

## 学位研究紹介

## ラット顎関節滑膜の発生過程におけるカベオリン-3タンパクの免疫細胞化学的局在 Immunocytochemical Localization of Caveolin-3 in the Synoviocytes of the Rat Temporomandibular Joint During Development.

新潟大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面口腔外科学分野  
庭野 将広

Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Niigata University  
Graduate School of Medical and Dental Sciences  
Masahiro Niwano

### 【緒 言】

カベオラは細胞膜の陥凹として認められる直径 50nm ~ 100nm の膜マイクロドメインであり、細胞においてシグナル伝達や物質輸送などさまざまな重要な役割を担う場とされている。その構築にはカベオリタンパクが必須であり、多くの細胞に発現するカベオリン-1、-2 (Cav 1, 2) と筋特異的なカベオリン-3 (Cav 3) に分類される。

顎関節滑膜は関節包内面のうち、関節軟骨および関節円板を除く部分を覆っており、関節腔に面している滑膜表層細胞層と下層の滑膜下層から成る。滑膜表層細胞層には A 型細胞と B 型細胞の 2 種類の細胞が存在しており、A 型細胞はマクロファージ様、B 型細胞は線維芽細胞様の機能を有するとされている。このうち、B 型細胞はヒアルロン酸などの滑液に必須の成分を産生、分泌する重要な役割を担っているが、その細胞生物学的な特徴に関して未だ不明な点が多く存在する。これまでの研究から、成熟ラット顎関節において、B 型細胞に特異的に Cav 3 を発現するカベオラが存在し、さらに一部の細胞内小器官の十分発達した B 型細胞のみが Cav 3 を発現することが明らかになっており、Cav 3 の発現は B 型細胞の分化、成熟を反映していると考えられるが、その詳細は明らかでない。そこで本研究では、発育過程のラット顎関節滑膜を対象とし、滑膜表層細胞の分化におけるカベオリンの局在と微細構造の変化について免疫細胞化学的に検討した。

### 【材料と方法】

材料として生後 1, 3, 5, 7, 14, 21 日目のウイスター系ラットを用い、灌流固定後、EDTA にて脱灰を行った。顎関節の矢状断連続凍結切片を作製し、抗 Cav 1, 3 抗体を用いて免疫染色を行った。一部の免疫染色切片は樹脂包埋後、準超薄切片と超薄切片を作成し、光線顕微鏡および透過型電子顕微鏡にて観察した。さらに、Cav 3 と Cav 1 および B 型細胞のマーカーである heat shock protein 25 (Hsp25) を二重標識し、蛍光顕微鏡にて観察した。

### 【結 果】

生後 1 日目には関節腔が形成されており、生後 3 日目には関節腔の拡大と上関節腔後方滑膜における滑膜ヒダの形成が始まった。生後 5 日目から 7 日目にかけて滑膜ヒダは大きさを増し、滑膜表層細胞層と滑膜下層の境界が明瞭化していた。この時期には Hsp25 免疫陽性の楕円形あるいは扁平な形態をした B 型細胞が滑膜表層に配列し、微細構造学的に明るい核や少数の粗面小胞体、

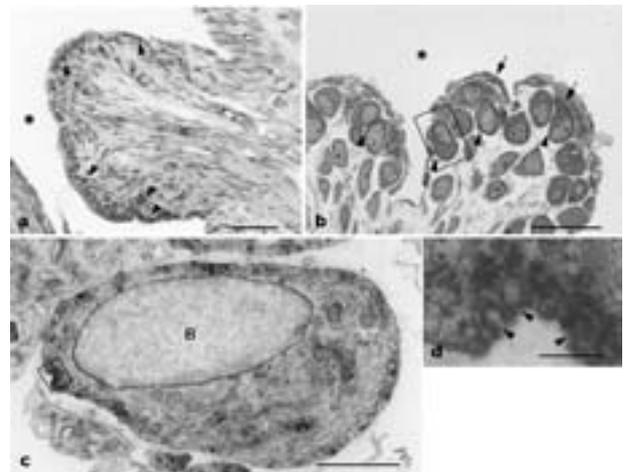


図 1. 生後 14 日の滑膜における Cav 3 免疫染色像  
(a, b: 光顕, c, d: 電顕). \*: 関節腔

a: 最表層のわずかな表層細胞 (矢尻) のみに Cav 3 免疫陽性反応を認める. b: Cav 3 陽性反応は表層にて細胞突起 (矢印) を伸ばす B 細胞 (矢尻) の細胞膜に局在している. c: b の枠内の Cav 3 免疫電顕像. 細胞膜に Cav 3 免疫陽性を示す滑膜表層細胞は細胞内小器官に富み、発達した粗面小胞体や多くのカベオラを有する. d: c の枠内の拡大像. 細胞膜のカベオラ (矢尻) に Cav 3 免疫陽性反応が認められる. (文献 1) より許可を得て転載)

細胞質突起, Cav 1 免疫陽性のわずかなカベオラを特徴とする B 型細胞と, クロマチンに富む核, ライソゾーム, 空胞, 偽足様突起を特徴とする A 型細胞が区別された。この時期までは骨格筋以外に Cav 3 免疫陽性反応は認められなかった。生後 14 日目になると, 1 から 3 層の滑膜表層細胞層が形成され, 成熟ラットと同様の光顕像が確認された。この時期に初めて滑膜表層細胞層における Cav 3 の発現が認められ (図 1 a, b) 微細構造学的には, 良く発達した細胞質突起や粗面小胞体と, より多くのカベオラをもっており, 成熟した B 型細胞に類似していた (図 1 c, d)。21 日目になるといくつかの発達した滑膜ヒダがみられ, Cav 3 免疫陽性細胞数の増加と, 免疫陽性反応の増強が認められた (図 2 a, b)。Hsp25 免疫陽性 B 型細胞は太く長い細胞質突起をもち, 滑膜表層をシート状に覆っており, その細胞膜のカベオラに Cav 3 の発現がみられた。一方で, 粗面小胞体などの細胞内小器官に乏しい B 型細胞は Cav 3 の発現を欠いており, また, A 型細胞においても Cav 3 の発現は全く認めら

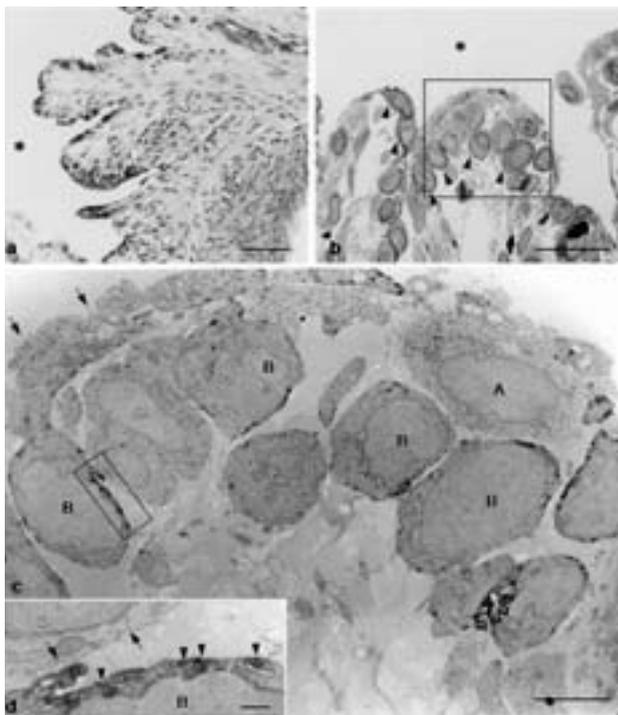


図 2. 生後 21 日の滑膜における Cav 3 免疫染色像

(a, b: 光顕, c, d: 電顕). \*: 関節腔

a: いくつかの発達した滑膜ひだがみられ, 形態の複雑化が認められる. b: 14 日と比べ, Cav 3 免疫陽性細胞 (矢尻) の数は増し, 細胞膜における免疫反応は強くなっている. c: b の枠内の Cav 3 免疫電顕像 B 型細胞 (B) は関節腔表面を覆うように細胞質の太い突起を伸ばしており, 細胞膜には Cav 3 免疫陽性反応を認める. 一方, 陽性反応を示さない B 型細胞も存在し (白字の B), その細胞内小器官は Cav 3 陽性細胞に比べて乏しい. d: c の枠内の拡大像. Cav 3 免疫陽性反応を示すカベオラ (矢尻) と反応を示さないカベオラ (矢印). (文献 1) より許可を得て転載)

れなかった (図 2 c, d)。

## 【考 察】

本研究結果から, 滑膜表層細胞層を構成している B 型細胞のうち, 成熟した形態学的特徴をもつものが Cav 3 を発現することが明らかになり, Cav 3 の発現は B 型細胞の分化段階に強く関与していることが示唆された。Cav 3 の機能として, 筋組織においてはカベオラ形成のみならず筋細胞の分化に関与し, 細胞増殖を抑制する働きを持っているとする報告がある。Cav 1 が未熟な B 型細胞のカベオラに存在したこと, また滑膜表層細胞が増殖を終了し, 成熟ラットと同様の多層配列を示す生後 14 日目より Cav 3 が発現していたことから, B 型細胞においても同様の機能を果たしている可能性があると考えられる。さらに, Cav 3 の発現が開始する生後 14 日目頃は第一臼歯の咬合が確立する時期であり, 顎関節においては顎運動の複雑化や滑膜表層細胞層における B 型細胞の急激な増加がみられる。その後の Cav 3 発現が増強する時期には咀嚼器官の発達による咬合力の影響により, 歯根膜の感覚受容器も急速に発達することが分かっている。すなわち, 咀嚼器官の活発化, 複雑化に伴う顎関節への負荷が Cav 3 の発現と深く関わっていることが示唆された。

表 1 滑膜表層 B 型細胞の発育段階における Cav 1 および Cav 3 の発現パターン

	生後 3 日	5 日	7 日	14 日	21 日
Hsp25	+++	+++	+++	+++	+++
Cav 1	-	+	+	+++	+++
Cav 3	-	-	-	±	++

+++ : 全ての細胞における強い免疫陽性反応

++ : 大部分の細胞における強い免疫陽性反応

+ : 大部分の細胞における弱い免疫陽性反応

± : 少数の細胞における弱い免疫陽性反応

- : 免疫陽性反応なし

## 【参考文献】

- 1) Niwano M, Nozawa-Inoue K, Suzuki A, Ikeda N, Takagi R, Maeda T : Immunocytochemical localization of caveolin-3 in the synoviocytes of rat temporomandibular joint during development. *Anat Rec*, 291: 233-241, 2008.
- 2) Nozawa-Inoue K, Suzuki A, Niwano M, Kawano Y, Maeda T : Expression of caveolin-3 in the fibroblast-like type B synoviocytes in the rat temporomandibular joint. *Anat Rec*, 289A: 238-242, 2007.