

## **サテライトシンポジウム3 (SS3)**

### **メッケル軟骨の特異性を考える**

座長: 中村雅典(昭和大学 歯学部 口腔解剖学講座)  
天野 修(明海大学歯学部 形態機能成育学講座 解剖学分野)

日時: 9月23日(火)9:00～10:30

会場: B会場 (TOC 有明コンベンションホール W-3,4)

メッケル軟骨は哺乳類の第一鰓弓に発生する胎生期軟骨であり、下顎骨の発生に先立って生じるが、出生前に消失して生後の下顎にはその痕跡を留めない。しかし後端部は骨化して耳小骨のうちのツチ骨とキヌタ骨となり、下顎骨より後部は蝶下顎靭帯になるといわれている。また下顎骨と部位的に重なる前部は完全に消失してしまう。組織学的には尤も一般的な硝子軟骨でできているにもかかわらず、このように他の軟骨とは全く異なった多くの特徴を有している。しかし、メッケル軟骨が何故、どのようなメカニズムで消失してしまうのか、骨化する部位は他の部分とはどう違うかなど、基本的な多くの問題点が未解決のまま残されている。

本シンポジウムでは、このメッケル軟骨の特異性を主に消失過程に焦点を当てて取り上げ、国内でこの問題に関わっている研究者に最新の研究結果を発表していただき、問題点を整理すると共に、メッケル軟骨の特異性をより鮮明にし、歯学部におけるメッケル軟骨研究の拡大発展に寄与することを目的とする。

#### **SS3-1. イントロダクション：メッケル軟骨の消失とその意義**

天野 修(明海大学歯学部 形態機能成育学講座 解剖学分野)

#### **SS3-2. メッケル軟骨の形質転換の意味するもの**

石関清人、鍵谷忠慶、藤原尚樹、原田英光(岩手医科大学 歯学部 口腔解剖学)

#### **SS3-3. メッケル軟骨基質の改造と吸収における軟骨細胞の役割と代謝モード**

坂倉 康則(北海道医療大学 歯学部 口腔構造・機能発育学系 解剖学分野)

#### **SS3-4. メッケル軟骨消失過程における遊走系細胞関与**

中村 雅典(昭和大学 歯学部 口腔解剖学教室)

## SS3-1. イントロダクション：メッケル軟骨の消失とその意義

天野 修(明海大学歯学部 形態機能成育学講座 解剖学分野)

メッケル軟骨は約 200 年前、19 世紀前半のドイツの解剖学者、J. F. Meckel によって発見された。Meckel の死後、彼の業績を記念してその名が冠されるようになった。哺乳類の第一鰓弓に、下顎骨の発生に先立って生じ、出生前に消失する胎生期軟骨の意義については未だに不明な点が多く残されたままである。メッケル軟骨に関する基本的な事柄と、爬虫類では下あごの骨の原基となっていたメッケル軟骨が、どのような理由から哺乳類では不要とされるに至ったか、咀嚼と聴覚の進化との関連を含めて簡単に紹介する。その後、本シンポジウムでは、メッケル軟骨の消失機構についての研究の最新の状況を、メッケル軟骨の軟骨としての特異性と多様性、吸収の分子機構とその調節、吸収時期の調節と吸収細胞の分化に関わる免疫学的機構、について、長年取り組んでいる研究者に発表いただく。

## SS3-2. メッケル軟骨の形質転換の意味するもの

○ 石関清人、鍵谷忠慶、藤原尚樹、原田英光(岩手医科大学 歯学部 口腔解剖学)

マウスメッケル軟骨を培養系や移植など異所性環境に移すと、軟骨細胞から骨細胞様細胞への形質転換がみられる。培養系での典型的な軟骨の形質発現に次いで、その性質が骨様の細胞に漸次推移することが形態的にも免疫組織化学的にも認められる。その一つの検証として、我々は蝶下顎靭帯の形成域とされるメッケル軟骨中間部について細胞培養と器官培養法を用いて、epidermal growth factor (EGF)に対する細胞増殖、分化および石灰化について解析した。EGF 非添加群では、軟骨細胞は旺盛に増殖し、軟骨結節の形成と基質の石灰化へと推移するのに対し、EGF 添加群では細胞増殖を促進する反面、分化と石灰化を抑制し、細胞形態を線維芽細胞様に転換させるなど、EGF に強く応答することが示された。

次に我々はメッケル軟骨の異所性移植実験から細胞の形質転換について検討した。胎生期メッケル軟骨をインタクトのまま、あるいは細胞集塊として脾臓内に移植した場合、軟骨細胞は骨型形質を獲得し、I 型コラーゲンなど骨基質蛋白を発現することが判明した。このような形質転換は中胚葉由来の軟骨ではみられないことから、神経堤由来の軟骨細胞のユニークな性質として捉えている。本シンポジウムでは、メッケル軟骨のもつ特異性から中胚葉由来の軟骨との相違性を挙げ、神経堤由来の軟骨細胞は“場の環境によって形質転換し得る”という我々の作業仮説を検証したい。

### SS3-3. メッケル軟骨基質の改造と吸収における軟骨細胞の役割と代謝モード

坂倉 康則(北海道医療大学 歯学部 口腔構造・機能発育学系 解剖学分野)

メッケル軟骨は胎生期下顎の支持組織として形成され、左右軟骨は吻側近位部で癒合し V 字形を呈し、近位部・中部・後部・遠位部で特異な運命をたどる。マウスのメッケル軟骨の中部では、胎生 15 日の切歯歯胚に面した外側面で軟骨膜細胞から分化した骨芽細胞が骨基質を形成し、同時に軟骨細胞は肥大化する。胎生 16 日には、石灰化した骨基質と軟骨基質が切歯歯胚の最接近した外側面から破(軟)骨細胞により吸収される。しかし、胎生 15 日には破骨細胞分化関連因子である RANKL と OPG は骨芽細胞ではなく切歯歯胚の歯小嚢に局在し、胎生 16 日にはメッケル軟骨細胞にみられる RANKL の反応が破軟骨細胞に隣接して観察された。また、基質改造に関わる gelatinase (MMP-2 と MMP-9)、collagenase (MMP-13) と MT1-MMP (MMP-14) の局在では軟骨細胞の肥大化に伴う軟骨基質の改造、外側面に形成された骨基質の改造そして破軟骨細胞による基質吸収への関与が示唆され、in situ zymography で MMP-2 と MMP-9 の gelatinase 活性そして他の MMPs と MMP 以外の酵素がもつ gelatinase 活性の関与が明らかになった。さらに、メッケル軟骨細胞は低酸素応答因子 HIF-1 $\alpha$  を酸素濃度に依存せずに安定化させ、代謝モードを好氣的解糖から嫌氣的解糖へシフトさせて生存し、その基質の改造と吸収における重要な役割を成し遂げるものと推察された。

### SS3-4. メッケル軟骨消失過程における遊走系細胞関与

中村 雅典(昭和大学 歯学部 口腔解剖学教室)

メッケル軟骨の消失過程を経時的に解析した。E14-E19 マウス顎骨組織標本を H-E 染色、ACP 染色、抗 I・II 型コラーゲン抗体と抗マクロファージ(M $\phi$ )抗体による免疫染色、並びに E14,17 メッケル軟骨を 10 日間器官培養した。更に、E14,17 のメッケル軟骨細胞での IL-1 $\beta$ 、I・II 型コラーゲン、M $\phi$  遊走性因子、MMP ファミリーの発現を RT-PCR で解析した。

軟骨基質は経目的に染色性に変化がみられ、E14 で II 型コラーゲンのみが、E19 では I・II 型コラーゲンが混在していた。基質の変化に伴い、軟骨細胞に ACP 活性が認められた。培養系では、E14 メッケル軟骨は変化が見られなかったのに対し、E17 は消失した。M $\phi$  は、E14 にはみられなかったが E16 に軟骨膜内に侵入していた。遺伝子解析の結果、E14 で IL-1 $\beta$  は見られなかったのに対し E17 では IL-1 $\beta$ 、I 型と II 型コラーゲンが発現していた。IL-1 レセプターは E14, E17 で認められた。MMP は、E14 では見られなかった MMP-9 が E17 では発現していた。M $\phi$  遊走性因子である MIP-1 $\alpha$  の発現が E16 の前後で認められた。

以上の結果から、メッケル軟骨細胞が I 型コラーゲンの分泌や MMP-1、MMP-9、MMP-13 等の発現を通して、線維芽細胞に脱分化し、その形質転換に M $\phi$  が関与し、その因子が IL-1 $\beta$  であることが示唆された。