

## 論 文 要 旨

区 分	①・乙	氏名	川越 慈
-----	-----	----	------

Matrix metalloproteinase-2 degrades Fibrillin-1 and Fibrillin-2 of oxytalan fibers in the human eye and periodontal ligaments in vitro

## 【研究目的】

弾性系線維は細胞外基質の一つで、組織に対し弾性を与える。弾性系線維はエラスチンと微細線維の2つの構成要素からなり、その構成比率により弾性線維、エラウニン線維、オキシタラン線維の3つに分類される。オキシタラン線維は純粋な微細線維により構成され、その主な構成分子は Fibrillin-1 と Fibrillin-2 である。ヒトにおいて純粋なオキシタラン線維は眼球と歯根膜に存在する。眼球と歯根膜におけるオキシタラン線維の分解メカニズムは明らかではない。本研究では、ヒト無色素毛様体上皮細胞とヒト歯根膜線維芽細胞を用い、両細胞におけるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-2 による Fibrillin-1 と Fibrillin-2 の分解過程を形態学的に比較解析した。

## 【材料および方法】

ヒト無色素毛様体上皮細胞およびヒト歯根膜線維芽細胞を培養した。培養 7 日目に培養液へ Concanavalin A (ConA) を添加し MMP-2 の活性化をザイモグラムにて確認した。MMP-2 活性化後、抗 Fibrillin-1 抗体、抗 Fibrillin-2 抗体を用いて二重蛍光免疫染色を行い、オキシタラン線維の分解過程を経時的に解析した。その際、Image J program を用いて陽性領域の面積解析を行った。また、培養液に ConA と MMP-2 阻害剤を添加し、同様の解析を行った。この時、培養液に 0.1% DMSO を添加したものをコントロール群とした。

## 【結果】

培養 7 日目においてヒト無色素毛様体上皮細胞では Fibrillin-1 陽性の線維の一部に Fibrillin-2 陽性の線維が認められた。ヒト歯根膜線維芽細胞では Fibrillin-1 陽性の線維と Fibrillin-2 陽性の線維の共在が認められた。培養 7 日目において 50 ng/ml の ConA 添加後、活性型 MMP-2 が確認された。

## 1. 形態学的観察

無色素毛様体上皮細胞では、MMP-2 活性化後 48 時間までに Fibrillin-1 陽性の線維径の減少が認められ、72 時間までに明瞭な線維は認められなくなった。一方、Fibrillin-2 陽性の線維は MMP-2 活性化から 24 時間までにほとんど認められなくなった。歯根膜線維芽細胞では、MMP-2 活性化後 24 時間で、Fibrillin-1 陽性の線維径の減少が認められ、48 時間までに明瞭な線維は認められなくなった。一方、Fibrillin-2 陽性の線維は 24 時間までに線維の断片化と減少が認められ、72 時間では明瞭な線維は認められなくなった。MMP-2 阻害剤の添加群において、無色素毛様体上皮細胞と歯根膜線維芽細胞では共に、Fibrillin-1 陽性の線維と Fibrillin-2 陽性の線維がコントロール群と同様の染色像を示した。

## 2. 面積解析

無色素毛様体上皮細胞では、MMP-2 活性化後 Fibrillin-1 陽性の線維は一定の減少率を示し、72 時間までに消失した。一方、Fibrillin-2 陽性の線維は 24 時間までに急速に減少し、72 時間で消失した。歯根膜線維芽細胞では、MMP-2 活性化後 24 時間で、Fibrillin-1 陽性の線維は急速に減少し、その後 48 時間までに消失した。一方、Fibrillin-2 陽性の線維は 24 時間以降から一定の減少率を示し、72 時間では 10% まで減少した。

## 【考察】

無色素毛様体上皮細胞と歯根膜線維芽細胞から形成されたオキシタラン線維は活性型 MMP-2 により分解されることが明らかになり、眼球と歯根膜におけるオキシタラン線維の Fibrillin-1 と Fibrillin-2 は MMP-2 に対し異なる感受性を有すると考えられた。成熟したヒト眼球オキシタラン線維においては Fibrillin-1 のみが存在すると報告されており、歯根膜オキシタラン線維においては Fibrillin-1 と Fibrillin-2 が存在することが霊長類において報告されている。本研究の結果は特に眼の発生過程において成熟したオキシタラン線維を形成する際の MMP-2 の役割を反映している可能性がある。

## 【結論】

無色素毛様体上皮細胞と歯根膜線維芽細胞において Fibrillin-1 と Fibrillin-2 は MMP-2 に対し異なる分解様式を示した。