P-27 腱成熟に対する MMP の作用

○山本悦子、保坂善真、植田弘美、竹花一成（酪農学園大・獣医・獣医解剖）

【目的】浅指屈筋腱は腱細胞、コラーゲン細線維と非コラーゲン性マトリックスにより構成されている。ウマの腱における細胞外マトリックスの加齢性変化の研究は、コラーゲンについては多数報告されているが、マトリックス分解系についての報告はほとんどない。そこで、コラーゲンの細胞外分解系の1つであるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)に着目し、腱の加齢性変化と MMP の関与を検索した。

【材料および方法】材料は、サラブレッド種（0歳5例、1歳2例、2歳2例、3歳1例、計10例）の浅指屈筋腱中手骨中央部を用いた。形態学的には、電子顕微鏡を用いてコラーゲン細線維の走行と直径の変化を観察した。生化学的には、二次元電気泳動法にてグリコサミノグリカン(GAG)の分離・同定を行った。さらに、Film *in situ* Zymography とザイモグラフィにて MMP の分離・同定を行った。

【結果および考察】コラーゲン細線維は0歳では波状に走行しており、3歳では長軸に沿って平行に走行していた。細線維直径は0歳では20nmと100nmが多く、加齢に伴ってそれぞれ60nm、220nmと太くなり、その割合は加齢に伴い細いものが増加した。GAGはヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸で構成されており、加齢に伴いデルマトン硫酸が減少し、コンドロイチン硫酸が増加した。MMPはMMP-2とMMP-9の潜在型と活性型が存在し、加齢に伴いMMP-9が減少し、MMP-2が増加した。以上のことより、腱コラーゲン細線維の加齢に伴う形態変化は、コラーゲン細線維形成調節作用を持つGAGによって起こり、分解系であるMMPも作用していることが示唆された。

THE ROLE OF MMP IN THE TENDON MATURATION

Etsuko Yamamoto, Yoshinao Hosaka, Hiromi Ueda and Kazushige Takehana

Dept. of Vet. Anat., School of Vet. Med., Rakuno Gakuen Univ.

P-28 肝線維化改善における肝幹細胞の役割新岡真希¹、渡辺 哲²、下境佳織¹、岡崎 勲¹¹東海大学医学部地域・環境保健系地域保健学、²同環境保健学

【目的】我々は、四塩化炭素によるラット肝線維症の改善過程で間質性コラーゲナーゼ (MMP-13) の発現が著明に上昇することを既に報告した。しかし、MMP-13発現細胞については十分解明されていない。また、線維化改善における他のMMPやMT-MMP、TIMPなどとの関連についても十分解明されていない。そこで、今回肝線維化改善過程におけるMMP-13発現細胞の同定およびMMP-2、MT1-MMP、TIMP-1、TIMP-2の発現について検討した。【材料と方法】肝線維症は、Wistar系雄生ラットに30%四塩化炭素を1ml/kgの濃度で腹腔内に週2回投与し作成した。8週間および12週間投与後、最終投与から2日目、5日目、7日目、14日目に肝臓を摘出し、MMPs、MT1-MMP、TIMPsの遺伝子発現を、*in situ* hybridization (ISH) およびRT-PCRにより検討した。MMP-13陽性細胞の解析のため、 α -smooth muscle actin (α -SMA)、albumin、 α -fetoprotein、CK-19、CD34、nestin、Musashi-1の発現を酵素抗体法、蛍光抗体法で検索した。【結果】肝線維症改善過程におけるISHによるMMP-13の発現は、吸収過程にある線維束に沿ってみられ、発現細胞の一部は α -SMA陽性であり肝星細胞と考えられた。他の細胞はalbumin、 α -fetoprotein、ED2は陰性であった。MMP-13陽性で α -SMA陰性の細胞の性状解析のため、連続切片、ミラーイメージ切片を用いてさらにISHと酵素抗体法による検索を行ったところ、四塩化炭素12週投与群の投与中止後5日目で、一部のMMP-13陽性細胞はMusashi-1が陽性であった。Musashi-1陽性細胞は連続切片でCD34も陽性であった。一方、MMP-2、MT1-MMP、TIMP-1、TIMP-2の遺伝子発現は、RT-PCRでは四塩化炭素投与8週、12週群とも投与終了直後に最も発現が強く、改善過程では漸減したが、ISHではMMP-2およびMT1-MMP陽性細胞はともに改善過程では線維束に沿ってみられた。【結語】肝硬変モデルの改善過程では、MMP-13陽性細胞の一部は神経幹細胞であると考えられた。MMP-2、MT1-MMP、TIMP-1、TIMP-2も線維化改善に働いていることが示唆された。