

論 文 要 旨

Anandamide Induces Matrix Metalloproteinase-2 Production Through Cannabinoid-1 Receptor and Transient Receptor Potential Vanilloid-1 in Human Dental Pulp Cells in Culture

ヒト歯髄細胞培養系においてアナンダマイドは
Cannabinoid-1 Receptor、Transient Receptor Potential
Vanilloid-1 を介して MMP-2 を産生する

宮下 桂子

【序論および目的】

マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) は細胞外マトリックスを分解する酵素で、様々な炎症性の疾患において重要な役割を果たすと考えられている。歯髄炎においては、MMP-2、-8、-9 の発現が上昇することが、また根尖病変においては MMP-1、-2、-8 および -9 のポジティブ細胞の割合の増加が報告されている。これらのことより MMP-2 を含む MMPs が、歯髄炎や根尖病変の発症に影響を及ぼしている可能性が示唆されている。

アナンダマイド (AEA) は生体内脂質メディエーターである内因性カンナビノイドのひとつであり、鎮痛作用のみならず、免疫調節、炎症、細胞浸潤など様々な作用を持つことが知られている。AEA のレセプターとしては、カンナビノイド (CB) レセプター (CB1、CB2) と TRPV1 が知られており、これまで歯髄組織の神経線維に CB1 と TRPV1 の発現が、さらにヒト培養歯髄細胞では TRPV1 の発現が報告されている。

種々の細胞において AEA やそのアナログが MMP-2 の産生を誘導すること、もしくは抑制することが知られているが、歯髄細胞における AEA と MMP-2 の関連についての報告はこれまでない。そこで本研究では、ヒト培養歯髄細胞における AEA の MMP-2 産生における作用とそのシグナル経路について研究した。

【材料および方法】

1. ヒト歯髄細胞を、D-MEM (10% ウシ胎児血清含有) でコンフルエントになるまで培養後、1% ウシ胎児血清含有 D-MEM で 24 時間前培養したものを以下の実験に使用した。
2. AEA 刺激による上清中の MMP-2 発現をウェスタンブロット、ELISA 法にて確認した。
3. ヒト培養歯髄細胞における CB1、CB2、TRPV1 の発現をウェスタンブロット法にて検討した。
4. ヒト培養歯髄細胞を CB1、CB2、TRPV1 のアンタゴニストを用いて前処理した後 AEA で刺激し、MMP-2 産生の阻害の有無をウェスタンブロット法にて検討した。さらに AEA 刺激時の MMP-2 産生への関与が示唆された CB1、TRPV1 については siRNA にて knockdown し、その影響を確認した。
5. ヒト培養歯髄細胞を AEA で刺激した時の MAPK (ERK1/2、JNK、p38MAPK) の活性化をウェス

タンブロット法にて確認した。さらに AEA 刺激による MMP-2 発現に対する MAPK 阻害剤 (U0126、SB203580、SP600125) の影響をウェスタンブロット法にて確認した。

【結 果】

1. ヒト培養歯髄細胞において AEA は時間、濃度依存的に MMP-2 産生を誘導した。
2. ヒト培養歯髄細胞における CB1、CB2、TRPV1 の発現をウェスタンブロット法にて確認した。
3. ヒト培養歯髄細胞において AEA が誘導する MMP-2 産生は CB1 および TRPV1 のアンタゴニストにより抑制された。また、siRNA による knockdown 実験でも同様の結果が得られた。
4. ヒト培養歯髄細胞において AEA が誘導する MMP-2 産生は主として JNK の阻害剤で抑制された。

【結論及び考察】

これまで CB1 は中枢および末梢神経系に、CB2 は末梢の免疫系の細胞に発現していることが報告されている。神経終末において CB1 は神経伝達物質の放出を抑制し、CB2 は免疫系の細胞においてサイトカインの放出を調節している。一方、イオンチャネル型受容体である TRPV1 は主に中枢神経系に認められ、機械、温熱、化学などの侵害刺激を感知する。本研究において、ヒト培養歯髄細胞において 3 種の AEA レセプターの発現を確認したが、ヒト培養歯髄細胞における CB2 発現の報告は今回が初めてである。本研究により、ヒト培養歯髄細胞における AEA の MMP-2 産生の誘導は CB1、TRPV1 を介したものであることが示された。

これまで AEA と MMP-2 産生に関連した報告はいくつかあるが、胃ガンでは CB1/CB2 アゴニストにより MMP-2 産生は抑制され、一方、肝臓では CB2 アゴニストにより MMP-2 産生が著しく増加するとされており、このような AEA による MMP-2 産生の誘導に関する相違は AEA の標的細胞やレセプターの違いに依るものと考えられる。

さらに本研究により、ヒト培養歯髄細胞において AEA 刺激による MMP-2 の誘導には主として JNK が関与することが示唆されたが、これは、ヒト内皮細胞において angiotensin II が誘導する MMP-2 産生に JNK が不可欠であるというこれまでの報告と一致する。

今回の研究結果は、ヒト培養歯髄細胞において AEA が CB1、TRPV1、さらには主として JNK を介して MMP-2 産生を誘導することを初めて明らかにしたものである。