

# 一 般 演 題 抄 録

## 19. 軟骨細胞におけるムスカリン受容体の軟骨代謝に及ぼす作用

橋 間 誠 濱 西 千 秋 薩 摩 博 梅 原 滋 宮 崎 浩 山 口 博 史 田 中 清 介  
近畿大学医学部整形外科学教室

細胞表面の受容体の刺激は、細胞内情報伝達機構である phosphatidylinositol 代謝回転 (PI レスポンズ) を介し protein kinase C (PKC) 活性、細胞内貯蔵部位からの  $\text{Ca}^{2+}$  の動員を生じさせる。また PI レスポンズと軟骨細胞代謝機構との関与については多くの報告がされている。われわれはウサギ培養軟骨細胞を用い、細胞膜上にムスカリン受容体が存在し、特に M1 受容体に刺激が加えられると、PI レスポンズの亢進を介して軟骨細胞の PKC 活性化を引き起こすことを報告してきた。今回、PI レスポンズのもう一つの経路である細胞内カルシウム濃度

( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) の変化と軟骨細胞代謝機構との関係を見るためケラタン硫酸 (KS) の遊離、プロテオグリカン合成への影響について検討した。ムスカリン受容体非特異的作働薬の刺激により  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の上昇、KS 遊離の促進、プロテオグリカン合成の抑制を生じた。また M1 特異的拮抗薬を添加することでそれらの作用は阻害された。M2, M3 特異的拮抗薬の添加では変化はみられなかった。以上のことから、軟骨細胞のムスカリン受容体、特に M1 受容体の刺激は PI レスポンズを介し軟骨細胞代謝機構の調節と関与していることが示唆された。

## 20. ヒト滑膜線維芽細胞プロテインキナーゼC活性とそれに対するサブスタンスPの影響

藤 田 昌 彦 宗 圓 聡 堀 越 正 智 大 江 久 之 福 岡 宏 西 坂 文 章 田 中 清 介  
近畿大学医学部整形外科学教室

これまで当教室では、ニューロキニン1レセプター選択的アゴニストといわれており、慢性関節リウマチ (RA) 患者の関節液中に多量に存在するサブスタンス P を RA 滑膜線維芽細胞に作用させることにより、軟骨との接着が亢進し、また軟骨基質からの GAG 遊離も増加することを見出してきた。今回はサブスタンス P の滑膜線維芽細胞における細胞内情報伝達機構の1つとしてのプロテインキナーゼC (PKC) について検討した。材料は人工関節置換術時に採取した RA 患者滑膜8例と閉塞性動脈硬化症や糖尿病の患者で大腿部切断の際に採取した滑膜4例を正常例として用いた。方法は採取した滑膜を約2 mm<sup>3</sup> に細切してコラゲナーゼ処理した後遠沈し、得られた滑膜線維芽細胞を単層培養してサブスタンス P を作用させ、細胞を破碎して細胞成分を抽出し、得られた細胞成分から PKC アッセイシステムを用いて PKC 活性を測定した。まず滑膜線維芽

細胞全体の結果を示すと無刺激の状態での PKC 活性は正常に比し RA で有意に高い結果が得られた。またサブスタンス P を投与すると正常では15分, 30分, 60分の各時点で刺激前と比較して PKC 活性は有意に減弱し、RA では逆に15分, 30分, 60分で有意に亢進した。そこで以下の検討はサブスタンス P 投与後15分で検討した。次に細胞分画に分けて検討すると細胞質成分では、細胞全体の結果と同様にサブスタンス P 投与により PKC 活性は正常で有意に減弱し、RA で有意に亢進していた。細胞膜成分では、サブスタンス P 投与により PKC 活性は正常では有意差を認めなかったが、RA では細胞全体、細胞質と同様に有意に亢進していた。以上の結果から、サブスタンス P 刺激による RA 滑膜線維芽細胞の軟骨との接着促進や軟骨基質からの GAG 遊離促進といった現象に細胞内 PKC 活性の亢進が関与している可能性が示唆された。