

一 般 演 題 抄 錄

21. 軟骨細胞におけるムスカリンレセプターの作用

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

細胞表面のレセプターの刺激は、細胞内情報伝達機構である phosphatidylinositol 代謝回転 (PI レスポンス) を介し、diacylglycerol (DG) と inositol 1, 4, 5-trisphosphate (1, 4, 5-IP₃) を生じさせる。DG は protein kinase C (PKC) を活性化させる。軟骨細胞のグリコサミノグリカン (GAG) 合成にはこれまで PKC を介する細胞内情報伝達系の関与が明らかにされている。また、多くの組織細胞において、ムスカリン受容体刺激による PI レスポンスの亢進が報告されており、軟骨細胞においてもその作用が生じていることが考えられるが確証は得られていない。われわれはウサギ関節軟骨の単層培養を用い、軟骨細胞におけるムスカリン受容体を介する PKC の変化を検索した。

[³H]-QNB を用いた結合実験にて、濃度結合曲線の Scatchard 解析で負の傾きを持つ直線が得られ、

軟骨細胞にシングルクラスのムスカリン受容体が存在することが示唆された。また、PKC の測定では oxotremorine (OXO) にて PKC は濃度依存性に活性化され、QNB を添加することで抑制されることがわかった。さらに、ムスカリン受容体サブタイプの作用を調べるため、M1, M2, M3 受容体特異的アンタゴニストまた、PKC 阻害剤をそれぞれ OXO と同時添加し測定した。M1 特異的アンタゴニストの pirenzepine の同時添加により、PKC 活性が有意に抑制されたのに対し、M2, M3 特異的アンタゴニストの同時添加では抑制は見られず、また、PKC 阻害剤の同時添加で活性が抑制されたことから、ムスカリン受容体の刺激は、主に軟骨細胞表面の M1 受容体を介して PKC の活性化を生じていることが明らかとなった。

22. Interleukin-1による軟骨細胞における nitric oxide の誘導：層別に解析

熊野文雄 福田寛二 上野貢生 王 正道 朝田滋貴 田中清介

近畿大学医学部整形外科学教室

Interleukin-1 (IL-1) は軟骨破壊を引き起こす最も強力なサイトカインとして知られている。軟骨破壊には基質破壊と基質合成抑制の二つの機序が存在し、その調節機構にガスメディエーターが関与していることが明らかになりつつある。教室の高山は既に基質破壊における superoxide の関与を報告した。IL-1 による軟骨基質合成の抑制因子として prostaglandin E₂ (PGE₂) が重要な働きをしているがフリーラジカルである nitric oxide (NO) はより強い基質合成抑制作用を持つことが確認できた。

次に軟骨を IL-1 存在下で培養すると、サフラニン染色で見る methacromasia の低下は表層に強く認められ、今回の検討はこの現象を出発点とし関節軟骨の層別解析を始めた。表層・深層の細胞とも無刺激の状態でも少量の NO を産生しているが有意な差は認めなかった。IL-1 (10 ng/ml) 添加により

表層では約200倍、深層では約4倍の NO を誘導した。この NO の誘導は、両者とも NO の合成阻害剤である NMA 添加により抑制された。同時に測定したプロテオグリカン合成能は増加した NO により両層とも抑制され、NMA 添加により完全に回復した。したがって、表層・深層ともに IL-1 による NO の誘導を介してプロテオグリカン合成が抑制される機序は共通のようである。

IL-1 の濃度による違いを検討してみると、表層の軟骨細胞は深層より低濃度の IL-1 に反応し爆発的に NO を誘導した。またプロテオグリカン合成についても表層の細胞は深層に比べ10の1の濃度の IL-1 に反応し合成が抑制されていた。以上の結果により表層、深層の軟骨細胞の IL-1 に対する反応性は異なりこの機序には NO が関与していることが明らかとなった。