

トインがオステオカルシンの産生を促進するのに対し、TGF- β は抑制的に働くなど、TGF- β のみでは説明できない部分も残されている。本研究は、下顎骨由来正常ヒト骨芽細胞においてフェニトインが、オステオカルシンの強力な産生促進因子として知られているBMPs産生に及ぼす影響を調べ、BMPsがフェニトインのosteogenicな作用にどのように関わるかについて明らかにすることを目的に計画された。加えてin vitroにおいて種々のフェニトイン誘導体が、フェニトインと同様のosteogenicな作用を有しているか否かについても検討した。

(結果) 1. 5-50 μ Mのフェニトインは短時間及び長時間でBMP-2のmRNAの発現を増加させた。2. フェニトイン24h作用により、免疫細胞化学法による検索において、フェニトインは、濃度依存性にBMP-2の免疫細胞化学的染色性を増加させた。3. ドットプロット法をもちいたフェニトイン培地中へのBMP-2の産生におよぼす効果

は、濃度範囲3~4倍の増加を有意に濃度依存性に認めた。4. フェニトインのオステオカルシン産生は、抗BMP-2抗体の添加により抑制された。5. 検索した5種類のフェニトイン誘導体のうち、5-hydantoin acetic acid (PHT-ACE), 5-(parahydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin (HPPH)の2種類が、濃度依存性に有意に細胞増殖およびALP活性, type I コラーゲン合成およびBMP-2, TGF- β 1の遺伝子発現を刺激した。

今回の研究結果より、1. フェニトインのosteogenicな作用機序をより詳細に明らかにしたこと、2. ある種のフェニトイン誘導体にフェニトイン類似のosteogenicな効果があることを明らかにしたことは、副作用の少ないフェニトイン様骨形成促進剤の開発につながるものと考えられた。以上より、本論文は病理学および歯科医学の進歩発展に寄与するところが大きく、学位授与に値すると判定した。

氏名・(本籍)	川上 譲治 (北海道)
学位の種類	博士 (歯学)
学位記番号	乙 第37号
学位授与の日付	平成11年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当 (論文博士)
学位論文題目	ラット下顎頭の過剰運動による顎関節滑膜の変化
論文審査委員	主査 教授 金澤 正昭 副査 教授 矢嶋 俊彦 副査 教授 溝口 到

論文内容の要旨

緒言

近年、歯科領域において顎関節症患者の増加が報告されている。この顎関節症については、顎関節に器質的変化はないが、顎運動時の疼痛などの障害がある者に関して1918年にPrentiss Summaにより初めて報告された。その後、1934年Costenが無歯顎患者、被蓋の深い患者などの低位咬合の患者に耳鳴、頭痛、耳閉感を伴う関節炎様症状を認める症例をCosten症候群として紹介し、広く知られることになったが、当初はその原因として低位咬合による下顎頭の遠心移動が挙げられていた。その後、

顎関節症の発生には、心理的ストレス、顎口腔系の咀嚼抵抗力の劣化、外傷、咬合不正などが関与しているとされているが、未だ十分に明らかにされておらず議論の多い分野である。

下顎運動において正常者では、最大開口時の下顎頭的位置は、大多数のもので関節結節頂部より前方に移動することをわれわれはすでに報告した。このような下顎窩を逸脱するほどの大きな滑走運動は顎関節以外の関節には認められず、この運動の中には下顎頭が過度に前方移動するため、顎関節に対して悪影響をもたらすことがあるのではないかとと思われる。顎関節症のうち顎関節円板

の前方転位患者の場合は最大開口時、下顎頭は正常者よりさらに前方に移動するとの報告もある。さらに、非復位性の関節円板前方転位症例では開口時に、前方移動した関節円板が下顎頭によりさらに前方に押しやられることになる。このような状態は関節円板を連結している滑膜組織にかなりの伸展と屈曲という傷害を与えることになり、外傷性滑膜炎を生じさせる可能性があると考えられるが、実験的に証明したものはなく、下顎頭の過剰運動が滑膜炎を引き起こすか否かは不明である。そこで、私はラットの下顎頭に過剰運動を与え、顎関節滑膜組織に生ずる変化とその経過を病理組織学および免疫組織化学的に検索した。

実験材料および方法

実験動物はWistar系 8 週齢の雄性ラットを用いた。

はじめに閉口時と切歯間距離 5, 10, 15 および 20mm でラット頭部の側面頭部エックス線規格撮影 (60KV, 10 mA, 0.4sec, 30cm) を行い、ラットの開口量と下顎頭および下顎窩との関係を観察した。

ラット滑膜炎誘発の実験は、エーテル麻酔下に上下切歯間距離が 20mm になるように鑷子を用いて過開口を 1 日連続 10 回、10 および 30 日間連続して行った。処置後 5 日、2, 4, 6, 8, 10 および 20 週で各時期 3 匹を屠殺後、頭部を 10% 中性緩衝ホルマリンで 24 時間固定し、左右顎関節を一塊として切り出し、さらに同液で 24 時間固定した。その後、10% EDTA (pH 7, 2) 液で 3 週間脱灰後、通常に従いパラフィン包埋して、厚さ 5 μ m の矢状断連続切片を作製した。切片は H・E 染色、レンドラムプレーザー染色およびワンギーソン染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

免疫組織化学的観察では、10 日処置群のパラフィン切片を抗ラットマクロファージ ED2 モノクローナル抗体を用い ABC 法で観察した。

結 果

1. エックス線学的所見

ラット下顎窩はヒトのそれとは異なり長い楕円形を示していた。切歯間距離 20mm での下顎頭の位置のエックス線像では、下顎頭は下顎窩を逸脱し、6 mm 前方に位置していた。

2. 病理組織学的所見

10 日処置群

処置後 5 日の変化は、主に上関節腔前方の関節円板との移行部の滑膜組織にみられた。このため、これ以降の観察部位は同部を中心に行った。

5 日および 2 週の所見は対照群に比し、滑膜細胞は 3

から 6 層に多層化し、その下の結合組織中には拡張した血管が著明にみられた。また、滑膜表面にはフィブリン析出を認め、フィブリン性の滑膜癒着がみられた。免疫組織化学的所見では、対照群に比し多層化を示した部位では、ED2 陽性細胞は減少していた。

4 および 6 週の所見は、滑膜細胞層も減少し、血管の拡張も軽微となっていた。また、フィブリン性滑膜癒着部では上下の滑膜細胞間は細い線維性の組織で接着していた。また免疫組織化学的所見では、上関節腔前方滑膜組織にみられた癒着部では、ED2 陽性細胞はほとんど認められなかった。

8 および 10 週の所見は、滑膜細胞層の数と拡張した血管はさらに減少し、処置後 4 および 6 週でみられた滑膜癒着も軽微となっていた。

20 週の所見は、滑膜細胞の多層化および血管の拡張、滑膜癒着は消失し、対照群と同様な所見を呈していた。

30 日処置群

5 日および 2 週の所見は、滑膜細胞は 2 から 4 層をなし、その部では血管の拡張はほとんど認められなかった。また、滑膜表面にはフィブリンの析出がみられないにもかかわらず、滑膜癒着が一部認められた。

4 および 6 週の所見は、滑膜細胞の多層化と血管の拡張は消失し、滑膜癒着部では上下の滑膜細胞が接し、一体となり上下の滑膜細胞間を細い線維がみられるようになった。

8 および 10 週の所見は、関節円板前方肥厚部に近接した滑膜固有層に線維性組織の肥厚が認められた。滑膜細胞の多層化と血管の拡張は見られず滑膜癒着も減少していた。

20 週の所見は、滑膜細胞は 1 から 3 層をなし、血管の拡張はみられず、関節円板前方肥厚部に近接した滑膜に癒着が一部みられ、滑膜固有層に線維性組織の肥厚が認められた。

考 察

これまで、顎関節症患者では関節円板の位置異常、変形、穿孔、下顎頭や下顎窩の退行性変化などが報告されている。最近では顎関節鏡所見や術中所見から滑膜病変が高頻度に認められ、注目されている。そこで、本研究ではラット下顎頭の過剰運動が顎関節滑膜に及ぼす影響について検討した。その結果、ラットの開口 20mm での下顎頭の位置は、下顎窩を逸脱して、かなり前方に位置しており、この下顎頭の過剰運動が上関節腔前方滑膜組織に滑膜炎および滑膜癒着を生じさせることが判明した。この滑膜炎の特徴は、初期では滑膜細胞の多層化と血管の拡張で、その後滑膜表層へのフィブリン析出であった。

さらにこれに継発してフィブリン性滑膜癒着、さらに線維性の滑膜癒着へと移行するのが認められた。免疫組織化学的所見から癒着部ではA細胞はほとんど認められなかった。以上の結果から、滑膜に加わる慢性の外傷性刺激によってA細胞が減少し、その結果、滑膜表層内に析出したフィブリンの吸収・清掃が不良となり、この残留したフィブリンにより滑膜癒着が惹起されることが示唆

された。

現在、顎関節症の発症原因に関しては、咬合、外傷、ブラキシズム、性ホルモン、成長因子等の危険因子が複合して顎関節症に関与していることが指摘されているが、今後はこれらの因子と下顎頭の過剰運動とを関連付けた検討が必要と考えられた。

学位論文審査の要旨

われわれ歯科医とかかわりの深い顎関節の疾患は多種多彩である。このうち、いわゆる顎関節症は、近年その発生頻度が富みに増大している。

顎関節症については、PrentissとSumma (1918年)が器質的変化のない顎関節の障害として報告し、その後Foged (1949年)が、また本邦では上野 (1956年)が顎関節疼痛、顎関節雑音および異常顎運動などの症状を有する非炎症性の病変を総括して命名したのに始まる。しかし、その成因に関しては、心理的ストレス、顎口腔系の劣化、外傷、咬合異常などが挙げられているが、未だ十分に明らかにされておらず、依然として論議の多い分野である。Schultz (1934年)は、顎関節症の原因の一つとして下顎の過剰運動に着目したが、臨床的にも関節円板前方転位例の関節鏡所見や手術所見から、下顎頭の過剰運動に伴い、外傷性刺激の加わりやすい上関節腔の前方および後方滑膜に炎症性変化が多く発現していることが知られ、下顎頭の過剰運動が顎関節症を惹起する可能性が十分考えられる。

しかしながら、これまで下顎頭の過剰運動によるヒト類似の顎関節症にみられる滑膜炎や滑膜癒着の発生に関する動物実験は皆無である。

そこで、川上は、ラット下顎頭に人為的に過剰運動を与え、顎関節滑膜組織に生ずる変化とその経過を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検討し、以下の結果を得た。

1. ラット下顎頭の過剰運動により上関節腔前方滑膜組織に外傷性の滑膜炎および滑膜癒着が生じた。
2. この滑膜炎の特徴的な所見は、滑膜細胞の多層化と滑膜固有層中の血管の拡張であった。
3. 滑膜癒着は滑膜表面に析出したフィブリンによって、フィブリン性滑膜癒着が生じ、これに継続して線維性滑膜癒着が惹起された。
4. その発現機序として、滑膜癒着部ではA細胞が減少していたことから、滑液中のフィブリンのA細胞による食作用の低下により析出したフィブリンによる癒着が惹起される。これに続いて、B細胞による線維性組織の増殖により線維性の滑膜癒着が生じることが推察された。

以上のことから、本研究は顎関節症発生の解明にとって、有用な実験モデルの一つになり得ることが示唆され、歯科医学の発展に寄与するところが大きく、審査の結果、学位授与に値するものと判定した。