

博士（歯学） 尾 田 充 孝

学位論文題名

Streptozotocin誘発糖尿病ラットにおける
骨代謝に関する病理形態学的研究

学位論文内容の要旨

緒言

糖尿病の場合には、創傷の治癒などが遅延し、このことに関連して骨組織においても、骨折をはじめ抜歯創や歯周組織などの組織修復過程が障害されることが臨床的にも良く知られている。しかし、糖尿病の場合、侵襲に対する生体の防禦機能が低下しており、細菌感染などの二次的影響を受けやすいため、骨そのものに及ぼす本質的な影響については、未だ不明な点が少なくない。一方、ラットなどの嚙齒類に抜歯を行った際、抜歯窓外側の骨膜が反応性に肥厚し、治癒過程の比較的初期より活発な骨の新生が起こることが知られている。抜歯窓外側の骨膜は、解剖学的にも感染などの二次的影響を受けにくく、多数の骨芽細胞による活発な骨新生が短期間に観察できること、さらに定量的にも把握することが可能なため、骨の代謝に関して糖尿病と健常の場合について比較検討する上で有用な場であると考えられる。そこで著者は、糖代謝障害が骨代謝に及ぼす基本的な影響を明らかにする目的で、ラットの抜歯窓外側の骨膜性の骨新生に着目し、以下の実験を行った。

材料と方法

1. 組織学的検索

体重100gのWistar系雄ラット106匹を用い、糖尿病群と対照群の2群に分け、糖尿病群には、Streptozotocin(STZ)70mg/kg B.W.を尾静脈内に注入した。

2日後、血糖値が300mg/dl以上になったのを確認した後、左側上顎第一臼歯を抜去した。対照群は抜歯のみを行い、両群ともに、抜歯後1、2、2.5、3、5、7、14、21、28日目に屠殺し、前頭断の平面で5μmの連続切片を作成し、抜歯窓外側の骨膜性骨新生部を対象に組織学的に検索した。

2. 組織計量学的検索

抜歯窓外側の骨膜性骨新生について、その経時的变化を定量的に把握する

ため、形成された骨組織の厚さ、外骨膜部の骨芽細胞の数ならびに大きさ、形成された骨組織中に占める骨基質の割合、骨基質単位面積当たりに占める骨細胞数を測定した。

3. 電顕的検索

ラットを糖尿病群と対照群に分け、組織学的検索と同様に、STZを投与し、抜歯を行い経時的に屠殺した。屠殺後、抜歯窓を含む上顎骨を摘出し、通法に従い固定、脱水、置換し、Epon812に包埋した。超薄切片作製後、電子染色を施し透過型電子顕微鏡にて観察した。

結果と考察

糖尿病群では、STZ投与後直ちに体重の増加率が低下し、多飲、多食、および頻尿の傾向が認められ、その状態は実験期間中継続していた。本研究で使用したSTZ投与ラットがヒト糖尿病と基本的には類似の病態を示しているものと考えられた。

1. 組織学的検索 ならびに 2. 組織計量学的検索

糖尿病群では、抜歯窓外側の骨膜において、比較的長期まで骨芽細胞による新生骨の形成が観察された。しかし、抜歯後初期における外骨膜の肥厚開始は対照群に比し遅延し、出現する骨芽細胞の大きさは、対照群に比し有意に小さく、骨芽細胞の増生や分化、ならびに個々の骨芽細胞自体にも重篤な障害が起きていることが示唆された。さらに、形成された骨梁は細く、幼若で、骨質は鬆疎であった。また、形成された骨組織中に占める骨基質の割合は少なく、骨基質単位面積当たりに占める骨細胞の数も対照群に比し有意に減少していた。こうした所見から、糖尿病群においては、骨形成能および骨の改造機転に糖代謝障害による影響が及んでいることが示唆された。

3. 電顕的検索

電顕的にも、糖尿病群の骨芽細胞は、小型なものが多く、細胞小器官の発達は不良で、種々の微細構造的变化が認められた。粗面小胞体は、不規則に拡張、融合し、内部には電子密度の低い物質を容れたものや、空胞化したものも観察され、Golgi装置は、一般に構造が不明瞭なもののが多かった。また、ミトコンドリアは、膨化したものが多く、クリスタが崩壊、消失して、内部

が空胞化していたものもみられた。また、骨芽細胞の細胞膜は、一般に不明瞭なものが多く、膜構造が崩壊しているもの、細胞質が空胞化しているものもみられた。このような微細構造的変化は類骨細胞や骨細胞にも認められ、経時的に顕著になる傾向を示した。また、骨芽細胞の周囲の類骨組織も量的に少なく、石灰化も軽度で、新生された骨質は鬆疎であった。

これまで、全身的な要因が骨芽細胞に及ぼす影響について電顕的に検索した報告があり、個々の骨芽細胞の微細構造的変化と、基質の形成障害や石灰化の異常との関連性が示唆されていることから、細胞の微細構造的変化は、細胞の機能に重篤な障害を及ぼすものと思われる。さらに、今回著者が観察した骨芽細胞や骨細胞の微細構造的変化のうち、細胞膜の崩壊や細胞質内の空胞化などの比較的高度な細胞障害を示唆する所見は、糖尿病の場合に、腎、毛細血管、末梢神経などの糖尿病の合併症と関連した組織で報告されている微細構造的変化と共通する所見であり、糖尿病に特徴的なものと思われた。また、分子生物学の分野では、局所における過剰なグルコースは、直接細胞内での代謝障害をもたらすこと、あるいは、過剰なグルコースが、赤血球内での非酵素的な蛋白の糖化を亢進させる結果、赤血球からの酸素解離に障害が生じて局所組織への酸素運搬に支障をきたすことが糖尿病の合併症の基本的な発症機序として考えられている。すなわち、このような微細構造的変化の発現には、糖尿病、主として高血糖そのものによる直接的な影響と循環障害を介した間接的な影響が密接に関与しているものと考えられ、骨組織においても同様の機序が働いているものと思われた。本研究で観察された糖尿病群の抜歯窓外側の骨膜性骨新生の障害は、高血糖によりもたらされた個々の骨芽細胞の微細構造的変化に基づく基質の産生障害および石灰化の異常によるものと思われた。

結語

糖代謝障害が骨代謝に及ぼす基本的な影響を明らかにする目的で、STZ誘発糖尿病ラットの抜歯窓外側の骨膜性骨新生について組織学的、組織計量学的および電顕的に検索した。その結果を要約すると以下のとくである。

1.組織学的に、糖尿病群において抜歯窓外側の骨膜性骨新生に障害が認めら

れた。抜歯後初期における抜歯窓外側の骨膜の肥厚および骨新生の開始時期は対照群に比し遅延した。また、比較的長期まで著明な骨の新生像が観察されたが、新生された骨梁は対照群に比し細く、幼若で、骨の改造機転にも異常が認められた。

2.組織計量学的にも、糖尿病群において外骨膜性に形成された骨組織の厚さは対照群に比し著明に増加したが、骨芽細胞の数の増加は緩慢で、個々の骨芽細胞の大きさも小型であった。さらに、形成された骨組織中に占める骨基質の割合は少なく、封入された骨細胞の数にも減少が認められた。

3.電顕的に、糖尿病群の骨芽細胞や骨細胞の細胞小器官の発達は不良で、粗面小胞体の不規則な拡張やミトコンドリアの膨化をはじめ、膜の崩壊や細胞質の空胞化などの微細構造的变化が経時的に顕著になる傾向が認められた。

4.電顕的に、糖尿病群の骨芽細胞周囲の類骨組織の量は対照群に比し少なく、石灰化の傾向も軽度で、新生された骨質は鬆疎であった。

以上の所見から、糖尿病群において観察された抜歯窓外側の骨膜性骨新生の障害は、高血糖によりもたらされた個々の骨芽細胞の微細構造的变化に基づく基質の産生障害および石灰化の異常によるものと思われた。

学位論文審査の要旨

主査 教授 河村正昭

副査 教授 雨宮 章

副査 教授 福田 博

学位論文題名

Streptozotocin誘発糖尿病ラットにおける骨代謝に関する病理形態学的研究

本研究は、糖代謝障害が骨代謝に及ぼす基本的な影響を明らかにするために行われた。

従来の研究では、糖尿病に顕著にみられる細菌感染などの二次的影響が大きな問題点であったため、未だ糖代謝障害が骨そのものに及ぼす本質的な影響については不明な点が多く、一定した見解が得られていない。本研究ではこの点に検討を加え、二次的影響を受けにくいラットの抜歯窩外側の骨膜性骨新生に着目し、感染による種々の影響を除外し糖代謝障害が骨代謝に及ぼす影響を明らかにした。

実験には、Streptozotocin誘発糖尿病ラットを使用し、抜歯窩外側の骨膜性骨新生部を対象に組織学的検索、組織計量学的検索および電顕的検索が行なわれた。

組織学的検索では、糖尿病群の抜歯窩外側の骨膜の肥厚および骨新生の開始は対照群に比し遅延し、比較的長期にわたって著明な骨の新生が認められたが、新生された骨梁は細く幼若であり、骨の改造もみられなかつたことから、

糖代謝障害による骨形成能や骨の改造機転の異常を示唆している。組織計量学的検索では、定量的にも骨芽細胞は小型なものが多く、数の増加は緩慢で、形成された骨組織中に占める基質の割合や封入された骨細胞にも減少が認められ、骨代謝に関する細胞や基質形成の障害を確認している。以上の検索より個々の細胞や產生された基質に糖代謝障害による影響が及んでいるものと推察し、さらに細胞の微細構造や基質の性状について詳細に把握するため電顕的検索が行われた。微細構造的には、糖尿病群の骨芽細胞の細胞膜は、一般に不明瞭なものが多く、膜構造が崩壊しているもの、細胞質が空胞化しているものが認められた。粗面小胞体は不規則に拡張、癒合し、構造が不明瞭なGolgi装置や膨化したミトコンドリアなど細胞小器官に種々の変化が認められた。こうした変化は類骨細胞や骨細胞にも認められ経時的に顕著になる傾向を示していた。また、骨芽細胞周囲の類骨組織の量は少なく、石灰化は軽度で、新生された骨質も鬆疎であった。このような所見から、細胞の微細構造的变化が細胞の機能に重篤な影響を及ぼしていることを明らかにしている。さらに、骨芽細胞や骨細胞でみられた膜の崩壊や細胞質内の空胞化などの微細構造的变化は糖尿病に特徴的な所見で、高血糖による直接的な影響であると推察している。

以上のように、抜歯窓外側の骨膜性骨新生の障害は、高血糖によりもたらされた個々の骨芽細胞の微細構造的变化に基づく基質の产生障害および石灰化の異常によるこことを明らかにしている。

本論文に対し、主査および副査から本研究の概要について説明を求め、次いで論文に関する質問が行われたが、いずれについても適切、明確な回答が得られた。また、今後の研究の進め方についても適切な説明が得られ、専門分野に対する知識も充分であることが確認された。

本研究は、糖代謝障害が骨代謝に及ぼす基本的な影響を病理形態学的手法を用いて明らかにし、高血糖との関連性を解明する系口を提供したものとして高く評価され、糖尿病性骨粗鬆症などの代謝性骨疾患の実態を的確に把握する上でも重要な示唆を与えるものである。よって、博士（歯学）の学位を授与される資格があると認定した。