

学位論文題名

上顎側方拡大による口蓋粘膜コラーゲン線維の変化

—正常組織と瘢痕組織の比較—

学位論文内容の要旨

【緒言】

唇顎口蓋裂患者に対して広く行われている口蓋形成手術法の1つである push back 法は、術後に口蓋瘢痕組織が形成されるため、その後の顎顔面の成長が抑制されることが多い。また、成長抑制によって引き起こされた不正咬合を改善するために行われる矯正治療の際には、この瘢痕組織が歯の移動や歯列弓の拡大を困難にするとともに、治療後の後戻りの大きな原因となっていると考えられている。そこで本研究では、ラット口蓋の上顎側方拡大を行った際の正常組織ならびに瘢痕組織における I 型、III 型および XII 型コラーゲン線維の変化を免疫組織化学的手法により検索した。

【材料と方法】

本研究では、生後 20 日の雄のラットを無処置群 (C 群)、瘢痕群 (S 群)、無処置拡大群 (C-E 群) および瘢痕拡大群 (S-E 群) の 4 群に分けた。S 群と S-E 群については生後 20 日に口蓋粘膜骨膜を切除して口蓋瘢痕組織を形成し、C-E 群と S-E 群における上顎側方拡大は生後 55 日 (S-E 群では術後 5 週) に開始した。また、瘢痕組織による影響を定量的に観察するために、すべての実験群について生後 55 日と生後 62 日 (C-E 群と S-E 群では拡大開始後 7 日) に口蓋幅径を計測した。さらに、C 群と S 群については生後 55 日、C-E 群と S-E 群については生後 55 日と拡大開始後 1, 3, 7 日に組織標本作製し、ワンギーソン染色と免疫染色を施した。

【結果】

計測学的検索の結果、拡大開始前の S 群・S-E 群の口蓋幅径は C 群・C-E 群に比べて有意に小さく、瘢痕組織による成長抑制が明瞭に観察された。また S 群・S-E 群間での側方拡大量の差は C 群・C-E 群間に比べて有意に小さく、瘢痕組織の存在により口蓋

の側方拡大が抑制されることが示された。

組織学的検索の結果、以下の所見が得られた。

C群：粘膜固有層全体にランダムに走行するコラーゲン線維が観察された。一方、I型コラーゲン線維は粘膜固有層全体にランダムに走行する線維として、III型コラーゲン線維は乳頭層と粘膜固有層浅層のみに、またXII型コラーゲン線維は粘膜固有層に散在性に観察された。

S群：切除部位に相当する粘膜固有層には癒痕組織が形成されており、水平方向に密に走行する太いコラーゲン線維束が骨表面およびセメント質と結合していた。一方、I型コラーゲン線維は粘膜固有層に太い線維束として水平方向に走行しており、骨およびセメント質と結合していた。また、III型コラーゲン線維は乳頭層と粘膜固有層浅層のみに、XII型コラーゲン線維は粘膜固有層に散在性に観察された。

C-E群：拡大開始後7日における粘膜固有層のコラーゲン線維は、C群と比べて線維の密度が低い傾向が認められた。一方、I型コラーゲン線維は弱く水平方向に引かれたような走行を示し、拡大開始後すべての時期でセメント質表面で強い免疫反応が認められた。また、III型コラーゲン線維は拡大開始後もほとんど変化はみられなかった。これに対してXII型コラーゲン線維は、拡大開始後1日で骨とセメント質の間の領域で急増し、骨表面にも強い免疫反応がみられた。しかし拡大開始後3日になるとやや減少し、7日ではC群とほぼ同程度にまで減少した。

S-E群：拡大開始後7日では、上皮脚と結合組織乳頭のほとんどが消失し、平坦化していた。また、粘膜固有層のコラーゲン線維はS群と比べて水平方向に強く引かれていた。一方、I型コラーゲン線維は拡大開始後すべての時期で水平方向に強く引かれたコラーゲン線維束として観察され、C-E群と同様にセメント質表面で強い免疫反応が認められた。また、III型コラーゲン線維は拡大開始後1, 3, 7日と経過するのに伴い、粘膜固有層の分布領域が次第に縮小した。これに対してXII型コラーゲン線維は、拡大開始後1日では骨とセメント質の近傍で強い免疫反応を示し、3日になると骨とセメント質の間の領域で急増し、7日ではC群とほぼ同程度にまで減少した。

【考 察】

I型コラーゲン線維：ワンギーソン染色によるコラーゲン線維の観察結果と免疫染色によるI型コラーゲン線維の観察結果はほぼ一致していた。このことは、ラット口蓋の粘膜固有層におけるコラーゲン線維の大部分はI型コラーゲン線維であることを示して

いる。一方、C群でランダムに走行していたI型コラーゲン線維はS群では一定方向に走行する太い線維束となり、骨およびセメント質と結合することが示された。また、C-E群におけるI型コラーゲン線維は弱く水平方向に引かれたような走行を示したが、S-E群では強く水平方向に引かれていた。S群において骨と癒痕組織のI型コラーゲン線維の結合が観察され、S-E群ではこのI型コラーゲン線維が強く水平方向に引かれていたことを考えると、S-E群における側方拡大がC-E群と比較して有意に阻害された原因は、伸展性に乏しい癒痕組織の存在に加え、骨およびセメント質と結合した太いI型コラーゲン線維束が存在することによると思われる。なお、C-E群とS-E群の拡大開始後にセメント質表面で観察されたI型コラーゲン線維の強い免疫反応は、口蓋の側方拡大によりI型コラーゲン線維が強く伸展されたことに対応したものであると推測される。

Ⅲ型コラーゲン線維：正常組織の口蓋粘膜におけるⅢ型コラーゲン線維は主に乳頭層に分布し、組織の伸展性に関わると考えられている。乳頭層と粘膜固有層浅層のⅢ型コラーゲン線維はC群、S群、および拡大開始後のC-E群のすべてで観察され、その分布にも特に変化は認められなかった。しかしS-E群では、拡大開始後1、3、7日と経過するのに伴い粘膜固有層における分布領域が次第に縮小した。このことは、癒痕組織を有する口蓋を側方拡大すると、口蓋粘膜の伸展性が損なわれる可能性があることを示唆している。なお、Ⅲ型コラーゲン線維が減少する理由については不明であるが、S-E群では他の実験群と比べて上皮脚の消失が著しかったことを考えると、Ⅲ型コラーゲン線維の減少と上皮脚の消失との間に何らかの関連性があるのではないかと考えられる。

ⅩⅡ型コラーゲン線維：ⅩⅡ型コラーゲン線維はI型コラーゲン線維に結合すること、また各種のコラーゲン基質や線維束を統合する役割を果たすことが報告されている。ⅩⅡ型コラーゲン線維はC群やS群では粘膜固有層に散在性に観察されるのみであったが、C-E群とS-E群では拡大開始後に骨とセメント質の間の領域で急増し、再び減少した。ⅩⅡ型コラーゲン線維の増加は、側方拡大によりI型コラーゲン線維が急激に伸展された結果、断裂した線維を修復あるいは再構築する必要性が生じたために起こった現象であり、増加が一時的であったのは、I型コラーゲン線維が初期には急激に伸展されるが、その後の伸展量はほぼ一定となるためだと考えられる。また、C-E群に比べてS-E群でⅩⅡ型コラーゲン線維が最も強く観察される時期が遅かったのは、正常組織のI型コラーゲン線維は細く、力を受けると伸展しやすいのに対し、癒痕組織のI型コラーゲン線維は太い線維束を形成しているために、伸展に時間がかかるためではないかと思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 飯 田 順一郎
副 査 教 授 吉 田 重 光
副 査 教 授 向 後 隆 男

学 位 論 文 題 名

上顎側方拡大による口蓋粘膜コラーゲン線維の変化

—正常組織と癒痕組織の比較—

審査は飯田、向後審査委員は一同に、また吉田委員は個別に、口頭試問の形式によって行われた。まず論文の概要の説明を求めるとともに適宜解説を求め、次いでその内容および関連分野について試問した。

申請者から、まず以下のような説明がなされた。

唇顎口蓋裂患者に行われている口蓋形成手術法の1つである push back 法は、術後に癒痕組織が形成される為、その後の顎顔面の成長が抑制されることが多い。また、成長抑制による不正咬合を改善する為に行われる矯正治療の際には、癒痕組織が歯の移動や歯列弓の拡大を困難にするとともに、治療後の後戻りの大きな原因となると考えられている。そこで本研究では、上顎側方拡大を行ったラットの正常ならびに癒痕組織における I, III および XII 型コラーゲン線維の変化を免疫組織化学的手法により検索した。

ラットを無処置群 (C 群)、癒痕群 (S 群)、無処置拡大群 (C-E 群) および癒痕拡大群 (S-E 群) の 4 群に分け、S 群と S-E 群は生後 20 日に口蓋粘膜骨膜を切除して癒痕組織を形成し、C-E 群と S-E 群の上顎側方拡大は生後 55 日に開始した (拡大 1, 3, 7 日)。また、定量的に観察する為に、生後 55 日と生後 62 日 (拡大開始後 7 日) に口蓋幅径を計測した。さらに、組織標本を作製し、ワングーソン染色と免疫染色を施した。

計測学的検索の結果、拡大開始前の S・S-E 群の口蓋幅径は C・C-E 群に比べて有意に小さく、癒痕組織による成長抑制が観察された。また S・S-E 群間での側方拡大量の差は C・C-E 群間に比べて有意に小さく、癒痕組織の存在により側方拡大が抑制されることが示された。

組織学的検索の結果、以下の所見が得られた。

C 群: 固有層全体にランダムに走行するコラーゲン線維が観察された。一方、I 型コラーゲン線維は固有層全体にランダムに、III 型コラーゲン線維は乳頭層と固有層浅層のみに、また XII 型コラーゲン線維は固有層に散在性に観察された。

S 群: 切除部位に相当する固有層には、水平方向に密に走行する太いコラーゲン線維束が骨表面およびセメント質と結合していた。一方、I 型コラーゲン線維は固有層に太い線維束として水平方向に走行しており、骨およびセメント質と結合していた。また、III 型コラーゲン線維は乳頭層と固

有層浅層のみに、XII型コラーゲン線維は固有層に散在性に観察された。

C-E群: C群と比べてコラーゲン線維の密度が低い傾向が認められた。一方、I型コラーゲン線維は弱く水平方向に引かれたような走行を示し、セメント質表面で強い免疫反応が認められた。また、III型コラーゲン線維は、ほとんど変化がみられなかった。これに対してXII型コラーゲン線維は、拡大開始後1日で骨とセメント質の間の領域で急増し、骨表面にも強い免疫反応がみられた。しかし拡大開始後3日で減少した。

S-E群: 拡大開始後、上皮脚のほとんどが消失し、平坦化していた。また、コラーゲン線維はS群と比べて水平方向に強く引かれていた。一方、I型コラーゲン線維は水平方向に強く引かれたコラーゲン線維束として観察され、セメント質表面で強い免疫反応が認められた。また、III型コラーゲン線維は拡大日数の経過に伴い、分布領域が次第に縮小した。これに対してXII型コラーゲン線維は、拡大開始後1日では骨とセメント質の近傍で強い免疫反応を示し、3日になると骨とセメント質の間の領域で急増し、7日では減少した。

以上の結果より、以下の結論が得られた。

1. 口蓋粘膜固有層におけるコラーゲン線維の大部分はI型コラーゲン線維であり、正常組織ではランダムな走行を示すが、癒痕組織では一定方向に走行する太い線維束を形成し、骨およびセメント質と強く結合した。
2. 口蓋に癒痕組織を有する上顎臼歯を側方拡大すると、固有層のI型コラーゲン線維は強く水平方向に伸展され、歯牙の側方移動を強く阻害した。
3. 上顎臼歯の側方拡大に伴い、セメント質表面でI型コラーゲン線維の強い免疫反応が観察されるとともに、XII型コラーゲン線維が骨とセメント質の間の領域で急増し、再び減少するというダイナミックな変化を示した。これは、側方拡大によりI型コラーゲン線維が急激に伸展された結果、断裂した線維を修復あるいは再構築する必要性が生じた為に起こった一時的な現象であると思われる。
4. 癒痕組織を有する口蓋を側方拡大した際にみられるIII型コラーゲン線維の減少は、口蓋粘膜の伸展性を損なう可能性があると思われる。また、III型コラーゲン線維の減少と上皮脚の消失との間に何らかの関連性があるのではないかと考えられた。

以上の論述に引き続き以下の項目を中心に口頭試問を行った。

1. 癒痕組織の定義とその形成過程
2. 骨膜の有無による癒痕組織の違い
3. III型コラーゲンがS-E群でのみ減少する理由
4. I型コラーゲンの変化とXII型コラーゲンの変化のずれ
5. 今後の研究の展開と将来展望

これらの試問に対して申請者は明快な回答、説明を行った。

本研究は口蓋裂患者の矯正治療において術後癒痕組織が矯正力に対して如何なる反応をするものかを、I, III, XII型コラーゲンに着目してそれぞれの変化を免疫組織学的に明らかにしたものである。矯正力に対する組織反応性に関して、癒痕組織の持つ特異性が組織学的に明らかにされ、将来の口蓋裂患者に対する歯科矯正学的、口腔外科的な治療法の開発に対して重要な基礎的情報を提供したものと評価できる。更に、試問の内容から、学位申請者は、関連分野にも幅

広い学識を有していると認められた。また今後は更に詳細な解析の準備を進めており、将来の展望についても評価された。

よって審査担当者全員は、申請者は博士(歯学)の学位を授与される資格を有するものと認めた。