

学位論文題名

加圧刺激による微小血管系の形態および機能の変化

— 生体顕微鏡による長期的観察 —

学位論文内容の要旨

【緒言】

歯科矯正治療においては、様々な様式の矯正力を歯に適用し、その結果歯根膜に生じる生体反応が歯槽骨のリモデリングを惹起し、歯が移動すると考えられている。このため、荷重の付与により歯根膜組織がどのような反応をしているかを知ることは歯の移動を考える上で重要なことと考えられる。しかし、これらの反応を経時的に長期間観察した報告はなく、詳細については不明な点が多い。そこで本研究では、荷重を付与した組織周囲の微小血管系の反応を、同一個体で長期間観察する方法を確立し、異なる荷重条件下における血管透過性の変化および血管形態の長期的変化を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

実験動物として、生後 6~8 週の雄性シリアンゴールデンハムスターを使用した。計 12 匹のハムスターを、対照群、12 時間周期で荷重の付与と除去を繰り返す間歇荷重付与群、および実験期間を通じて持続力が発揮される持続荷重付与群の 3 群にそれぞれ 4 匹ずつ分けて実験を行った。ハムスターの背側皮膚に独自に考案した荷重付与装置付きの dorsal skinfold chamber を装着し、荷重付与後 7 日目までの変化を経時的に観察した。

覚醒状態のハムスターを顕微鏡のステージに固定し、留置したマイクロカテーテルから蛍光標識剤として FITC labeled dextran(mw150000)を注入した。その後、落射蛍光顕微鏡にて圧迫部に近接する部位の微小血管の走行および血流を観察した。同時にこの像を CCD カメラを用いて撮影し、Digital Video Cassette Recorder (以下 DV) に記録した。

a)血管透過性の評価

血管内に投与した FITC の血管外への漏出程度を、画像処理ソフト (Adobe Photoshop) (以下 Photoshop) により計測した。DV から得た静止画の中に見られる直径 50 μm 以下の毛細血管後細静脈の血管中心部付近に、円状の領域を設定し、この部位の平均輝度を E1 とした。次に、この部位に近接する血管周囲組織の平均輝度を測定し E2 とし、これらの比を漏出度($E=E2/E1$)とし、血管透過性の変化の指標とした

b)毛細血管形態の観察

DV に記録した画像より、各時期における毛細血管の走行、血流の方向および直径を観察し、経時的变化および各群間の相違について比較した。直径は、Photoshop 上で計測用ツールを用いて毛細血管の長軸に対し垂直に血管の内径を計測し、これを毛細血管径とした。

【結果】

1. 血管透過性に関して

対照群の血管透過性は5日目までわずかに亢進し、その後わずかに減少した。間歇荷重付与群では、4日目まで経時的に亢進しその後わずかに減少した。2日目から7日目までは対照群に対し有意に亢進していた ($p<0.05$)。これに対して持続荷重付与群では、観察期間を通じて亢進し続け、いずれの時期においても対照群に対し有意に亢進していた ($p<0.05$)。

2. 毛細血管の形態と走行に関して

1)対照群

毛細血管はほぼ一定の方向性をもって走行するが、吻合や分岐をすることで毛細血管網を形成していた。DV の画像から血流はどの毛細血管の中でも実験期間を通じて一様で、毛細血管の閉塞や血流の停止は認められなかった。

2)間歇荷重付与群

荷重付与前は、対照群と同様の所見を認めた。3日目には圧迫部周囲の毛細血管は一部で閉塞したが、徐々に血流は回復し、5日目には圧迫部周囲の並走する毛細血管の間にループの形成が認められた。7日目にはこのループは明瞭になり明らかな血流を認めた。このループよりも圧迫中心に近接する部位では依然として血流が停止しており、このループと既存の吻合を通じ、圧迫部の周囲を迂回するように血液が流れを変えている様子が観察された。

3)持続荷重付与群

荷重付与前は対照群と同様の所見を認めたが、血管透過性が亢進し続けたため、5日目以降毛細血管網の構造の詳細については観察することができなかった。

3. 毛細血管の直径に関して

1) 対照群

観察開始時の毛細血管の直径は平均 $6.3 \mu\text{m}$ であり、これは観察期間を通じてほとんど変化しなかった。

2) 間歇荷重付与群

荷重付与前には平均 $5.9 \mu\text{m}$ であったものが、7日目には $12.9 \mu\text{m}$ ($p < 0.001$) へと増大した。

3) 持続荷重付与群

荷重付与前には平均 $6.6 \mu\text{m}$ であったものが4日目では $9.2 \mu\text{m}$ ($p < 0.005$) へと変化したが、5日目以降は血管透過性が著しく亢進したため観察不可能であった。

【考察】

1. 実験方法について

ハムスターの背側皮膚に chamber 法を用い、これに持続的および間歇的に荷重を付与することができる装置を新たに製作することにより、荷重付与に対する微小血管系の反応を生体下で長期間観察する方法を確立した。本研究では7日間の実験期間であるが、さらに長期間の観察も可能であることから、今後の研究に大きく役立つ手法であると考えられる。

2. 血管透過性の変化に関して

血管透過性を変化させる要因としては様々な理由が考えられるが、その一つに血管新生が考えられている。今回の実験の間歇荷重付与群では、実験開始5日目に毛細血管間に新たな吻合の形成が認められた。一方で、血管透過性は4日目をピークにその後はわずかに減少した。これより、実験開始後4日目までに血管新生が活発に行われ、この期間に血管透過性も亢進したものと考えられる。さらに、5日目には新生した血管がループとして確認されたことから、血管新生の活動は4日目をピークに減少し、結果として血管透過性が減少したと考えることもできる。一方、持続荷重付与群については、5日目以降も血管新生が引き続き活発に行われることで血管透過性が引き続き亢進したとも考えら

れ、結果として本実験において5日目以降血管網の確認が困難になったと考えられる。

3. 毛細血管の走行の変化に関して

今回の観察から、間歇荷重付与群には圧迫部に近接して5日目にそれまでには確認されていない新たなループがみられたことから、血管新生により新たなバイパスとしてループが形成されることが経時的な観察において初めて明らかとなった。血管の新生が血流量の増大を意味し、血流の増大が創傷治癒過程の重要な要件であると考え、歯科矯正治療において、荷重条件や解剖学的構造により部分的にでも変性組織が出現した場合には、同様に周囲の微小循環系で血管新生が生じ治癒機転に対する役割を担っているとも考えられる。

4. 毛細血管の直径の変化に関して

本実験の間歇荷重付与群では平均 $5.9\ \mu\text{m}$ であったものが、7日目には $12.9\ \mu\text{m}$ へと拡張した。一般的に圧迫側歯根膜において、毛細血管後細静脈の数が他の種類の血管に比べて有意に増加すると報告されている。組織学的には、直径 $12.9\ \mu\text{m}$ の血管は細静脈に分類される血管であるため、一時点の組織切片の観察からは細静脈の数が増加したものと結論付けられるが、今回観察した同一部位の経時変化から考えると、これは細静脈の新生ではなく、もともと存在する毛細血管の拡張であると考えるのが妥当である。毛細血管と毛細血管後細静脈は機能的に役割を異にするものであり、この血管の拡張という形態の変化が機能の変化をも伴うものとするれば、生体に与えられる様々な刺激に対して容易に機能をシフトすることで対応するという興味深い現象であるとも考えられる。

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

加圧刺激による微小血管系の形態および機能の変化

－生体顕微鏡による長期的観察－

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。

申請者から以下のような説明がなされた。

【緒言】歯科矯正治療においては、持続的矯正力、間歇的矯正力および断続的矯正力などの様々な様式の矯正力が用いられている。しかし、これらの矯正力により歯根膜に生ずる反応を経時的に長期間観察した報告はなく、詳細については不明な点が多い。そこで本研究では、持続的矯正力および間歇的矯正力が歯根膜血管の透過性ならびに形態に与える影響の違いを明らかにすることを目的として実験を行った。

【材料と方法】実験には12匹のハムスターを用い、これらを対照群、12時間周期で荷重の付与と除去を繰り返す間歇荷重付与群、および実験期間を通じて持続力が発揮される持続荷重付与群の3群にそれぞれ4匹ずつ分けた。背側皮膚に独自に考案した荷重付与装置付きのdorsal skinfold chamberを装着し、各群とも荷重付与後7日目までの血管透過性ならびに血管形態の変化を経時的に観察した。

【結果及び考察】対照群では、血管透過性は5日目までわずかに亢進し、その後わずかに減少したが、毛細血管の形態には変化は見られなかった。一方、間歇荷重付与群では、血管透過性は4日目まで経時的に亢進しその後わずかに減少した。圧迫部周囲の毛細血管は一部で閉塞したが、4日目以降血流は徐々に回復した。5日目には併走する毛細血管間に血管新生によるバイパスの形成が認められ、7日目にはこのバイパスに明らかな血流を認めた。また、毛細血管の直径は観察期間を通じて平均5.9 μm から12.9 μm へと対照群に対し有意 ($p < 0.001$) に増大した。これに対して持続荷重付与群では、血管透過性は観察期間を通じて亢進し続け、6、7日目には間歇荷重付与群に対しても有意 ($p < 0.005$) に亢進していた。毛細血管の直径は4日目までは間歇荷重付与群と同様増大したが、5日目以

降は血管透過性が著しく亢進したため、毛細血管の形態変化を観察することはできなかった。

【結論】以上の結果から、この方法を用いることにより、組織に荷重を付与した際の微小血管系の反応を生体下において長期間観察することが可能であった。また、血管透過性亢進反応は実験2群間において長期的に有意差を認めた。間歇荷重付与群においては血管新生によるループの形成を初めて確認することができた。荷重付与により毛細血管は有意に直径を増大することが確認された。

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. Dorsal skinfold chamber を自作した理由
2. 実験手技、特に皮膚の切除領域と切除方法
3. この方法で7日以上を観察が困難であった理由
4. 圧により血管透過性が亢進する理由
5. ループ形成と通常血管新生の相違
6. 微小血管の形態と機能の関連
7. 今後の研究の展開
8. 組織学的研究に関する一般的事項

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

本研究は歯科矯正学における歯の移動の機構を明らかにすることを大きな目的とし、機械的な圧迫刺激が微小血管の機能と形態に如何なる影響を及ぼすかについて、歯根膜を想定したモデル実験系を作成し観察したものである。刺激を加えながら同一の組織を7日間観察し続ける手法を開発したことに加えて、観察結果から血流の確保のために血管新生が生じていることを同一の組織で観察したこと、また機械的な圧迫刺激により毛細血管の直径に大きな変化が生じることを明らかにした。この結果は機械的的刺激を受けた歯根膜の性状を理解する上で重要な情報を提供したものと高く評価できる。更に、試問の内容から、学位申請者は、本研究に直接関係する事項のみならず、関連分野、組織学全般に亘って幅広い学識を有していると認められた。また研究の将来展望に関しても、本研究を基にして今後益々発展して行く可能性が高いものと評価された。

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。