

学位論文題名

機械的刺激による微小血管径の増大に伴う

白血球動態の変化

学位論文内容の要旨

緒言

矯正歯科治療における歯の移動において、歯根膜組織に機械的刺激が加わると骨髄由来の単球およびマクロファージ系細胞が血管を介して局所に誘導され、血管外に遊走して前破骨細胞へ分化した後、破骨細胞に癒合するとされている。歯根膜は微小血管に富んだ組織であるため、機械的刺激に対する微小血管系の反応を知ることは矯正力による歯の移動の機序を知る上で重要であると考えられる。しかし、歯根膜は歯根と歯槽骨との間に存在するため、同一個体における経時的な観察は困難であり報告はほとんど見られない。一方、同一個体における機械的刺激に対する微小血管系の経時変化に関しては、皮下組織などを用いた実験系を用いた、白血球の血管外への遊走に至る過程における初期の反応、すなわち白血球が血管内皮細胞上を転がる現象である rolling と、血管内皮細胞に強く接着する現象である adhesion に関する報告が見られる。この rolling および adhesion は破骨細胞の出現の前段階である単球およびマクロファージ系細胞が血管外へ遊走するために不可欠な現象とされており、毛細血管後細静脈(以下 PCV)で生じる。一方、皮下組織に持続的圧迫刺激を加えた実験において、一部の毛細血管(以下 CV)が PCV の太さまで拡張することが報告されている。しかしこれまで、同一血管において太さの変化に伴う機能的変化を検討した報告はない。

そこで本研究は持続的荷重付与部位の周囲組織において CV が PCV の太さまで直径が拡張した場合には、rolling および adhesion が起こるようになるという仮説のもと、同一個体のハムスター背部皮下組織に対し持続的荷重付与を行った際の、微小血管径と白血球動態の変化を観察し、機械的刺激に対する微小血管系の形態的変化と機能的変化の関係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、6週齢の雄性シリアンゴールデンハムスター(以下ハムスター)を用い、荷重付与および観察には荷重付与装置付き観察窓を用いた。荷重付与を行わない群を対照群(N=6)、持続的な荷重を行った群を実験群(N=6)とし、背部皮下組織における同一血管を光学顕微鏡で観察し、DVD画像として記録した。観察期間は5日間とし、1日目と5日目に観察を行った。実験群における荷重付与は1日目の観察直後に行い、対照群では荷重付与以外の処置をすべて同様に行った。DVD再生画像において微小血管径を計測し、対照群と実験群それぞれにおいて、1日目と5日目ともに CV の太さであった群、1日目と5日目ともに PCV の太さであった群、1日目で CV であったが5日目までに PCV の太さまで直径が増大した群の3群に分け、1日目と5日目の rolling 数および adhesion 数を比較した。

結果

1. 微小血管径の変化

対照群においては、1日目でCVであったが5日目までにPCVの太さまで直径が増大した群は認めず、1日目と5日目ともにCVの太さであった群、1日目と5日目ともにPCVであった群では著しい直径の増大を認めなかった。

実験群においてはすべての群において有意な直径の増大を認めた。

2. rolling 数および adhesion 数の変化

対照群と実験群のどちらにおいても、1日目と5日目ともにCVの太さであった群では1日目と5日目ともにrollingおよびadhesionを認めなかった。

対照群と実験群のどちらにおいても、1日目と5日目ともにPCVであった群では1日目と5日目ともにrollingおよびadhesionを認めたが、対照群では著しい増加は認めず、実験群では有意な増加を認めた。

実験群において認められた1日目でCVであったが5日目までにPCVの太さまで直径が増大した群では、1日目でrollingおよびadhesionを認めなかったが、5日目で認めるようになった。

考察

1. 微小血管径の変化について

生体組織に何らかの侵害刺激が加わると、局所に炎症反応が引き起こされる。炎症反応の初期に起こる微小循環の変化として、細動脈の血管拡張による血流量の増加の結果、伸縮性に富んだ構造を持つCVやPCVが拡張する。この血管拡張にはprostaglandin E₂やprostacyclinおよびNOなどが関わりとされており、圧迫刺激によるものは非感染性の炎症反応であると考えられる。

2. rolling 数および adhesion 数の変化について

対照群と実験群のどちらにおいても、1日目と5日目ともにCVの太さであった群に関しては、CVの太さでは白血球の直径を超えないため、1日目と5日目ともにrollingおよびadhesionが起これなかったと考えられる。

rollingにおける白血球と血管内皮細胞との一過性の結合は、セレクトインファミリー分子によるゆるい結合によって起こるとされている。また、adhesionにおける強固な結合は、免疫グロブリンスーパーファミリー分子とintegrinとの相互作用によって起こるとされている。これらのreceptorやregandは白血球や血管内皮細胞表面に存在し、サイトカインやケモカインによって活性化される。またrollingおよびadhesionの出現は、血流によって細胞を歪めたり引き剥がそうとする力、すなわちシアストレスの減少によって増強するとされている。

対照群と実験群のどちらにおいても、1日目と5日目ともにPCVの太さであった群に関して、1日目と5日目ともにrollingおよびadhesionを認め、さらに実験群では5日目までに有意な増加を認めた。これはrollingおよびadhesionに関わるreceptorやregandの活性化と、血管径の拡張に伴う血流速度の減少によるシアストレスの低下が原因だと考えることができる。

実験群における1日目でCVであったが5日目までにPCVの太さまで直径が増大した群において、1日目で認められなかったrollingおよびadhesionが5日目で認められるようになった。これは定常状態ではCVの太さの血管であってもその内皮細胞膜上にはrollingおよびadhesionに関わるreceptorやregandが存在し、それらが機械的刺激によって活性化されたと予測できる。さらに血管径の拡張に伴う血流速度の低下によって生じたシアストレスの減少もrollingおよびadhesionの出現の一因となっていると予測することも可能である。

本研究の結果から矯正力が加わった歯根膜においては、圧迫された部位周囲の CV が拡張し、単球およびマクロファージ系の細胞を含む白血球の血管外への遊走の場となり得る PCV が増加することが明らかとなった。すなわち、この現象が圧迫側歯根膜において骨吸収を活性化する一因となっている可能性があると考えることができる。

結論

持続的な荷重付与を行った部位の周囲組織において、毛細血管が毛細血管後細静脈に分類される太さまで直径が拡張した場合には機能的変化、すなわち rolling および adhesion を認めるようになる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 飯 田 順一郎

副 査 教 授 土 門 卓 文

副 査 教 授 進 藤 正 信

学 位 論 文 題 名

機械的刺激による微小血管径の増大に伴う

白血球動態の変化

審査は審査員全員出席の下で行った。まず申請者に提出論文要旨の説明を求めるとともに、適宜提出論文の内容と関連分野に関する説明を求め、その後、口頭試問の形式でその内容および関連分野について試問した。まず申請者から以下の説明がなされた。

【緒言】 矯正歯科治療における歯の移動は、矯正力が機械的刺激となって果骨髄由来の単球およびマクロファージ系細胞が血管を通して骨吸収部位に誘導されることがその端緒である。歯根膜は血管に富んだ組織であるため、機械的刺激に対する微小血管系の反応を知ることは、重要であると考えられる。これまで機械的刺激により一部の毛細血管径が毛細血管後細静脈の太さまで経時的に増大することが報告されている。しかし同一血管における太さの変化に伴う機能的変化を検討した報告はない。そこで本研究では持続的な機械的刺激によって起こった微小血管径の経時変化とそれに伴う血管内における白血球動態の変化について調べることを目的とした。

【材料と方法】 実験動物として、6週齢の雄性シリアンゴールデンハムスターを用い、荷重付与および観察には荷重付与装置付き観察窓を用いた。荷重付与を行わない群を対照群 (N=6)、持続的な荷重を行った群を実験群 (N=6) とし、背部皮下組織における同一血管を光学顕微鏡で観察し、DVD 画像として記録した。観察期間は5日間とし、実験群における荷重付与は1日目の観察直後に行い、対照群では荷重付与以外の処置をすべて同様に行った。DVD 再生画像において微小血管径を計測し、対照群と実験群それぞれにおいて、1日目と5日目ともに毛細血管 (以下 CV) の太さであった群、1日目と5日目ともに毛細血管後細静脈 (以下 PCV) の太さであった群、1日目で CV であったが5日目までに PCV の太さまで直径が増大した群の3群に分け、1日目と5日目の rolling 数および adhesion 数を比較した。

【結果】 対照群においては、1日目で CV であったが5日目までに PCV の太さまで直径が増大した群は認めず、1日目と5日目ともに CV の太さであった群、1日目と5日目ともに PCV であった群では著しい直径の増大を認めなかった。実験群においてはすべての群において有意な直径の増大を認めた。

対照群と実験群のどちらにおいても、1日目と5日目ともにCVの太さであった群では1日目と5日目ともにrollingおよびadhesionを認めなかった。

対照群と実験群のどちらにおいても、1日目と5日目ともにPCVであった群では1日目と5日目ともにrollingおよびadhesionを認めたが、対照群では著しい増加は認めず、実験群では有意な増加を認めた。

実験群において認められた1日目でCVであったが5日目までにPCVの太さまで直径が増大した群では、1日目でrollingおよびadhesionを認めなかったが、5日目で認めるようになった。

【考察】 実験群における1日目でCVであったが5日目までにPCVの太さまで直径が増大した群において、1日目で認められなかったrollingおよびadhesionが5日目で認められるようになった。これは定常状態ではCVの太さの血管であってもその内皮細胞膜上にはrollingおよびadhesionに関わるreceptorやlegandが存在し、それらが機械的刺激によって活性化されたと予測できる。さらに血管径の拡張に伴う血流速度の低下によって生じたシアストレスの減少も原因の一つと考えることができる。

本研究の結果から矯正力が加わった歯根膜においては、圧迫された部位周囲のCVが拡張し、単球およびマクロファージ系の細胞を含む白血球の血管外への遊走の場となり得るPCVが増加することが明らかとなった。すなわち、この現象が圧迫側歯根膜において骨吸収を活性化する一因となっている可能性があると考えられる。

【結論】 持続的な荷重付与を行った部位の周囲組織において、毛細血管が毛細血管後細静脈に分類される太さまで直径が拡張した場合には機能的変化、すなわち白血球のrollingおよびadhesionを認めるようになる。

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. 血流、血球の動きを観察するために用いたDextran、Rodamine6Gの作用について
2. 観察方法の詳細について
3. 毛細血管径が大きくなる際の内皮細胞の状態について
4. 本研究の臨床的な意義について
5. 今後の研究の展望について

矯正力が加わった歯根膜においては骨代謝に変化が生じ歯槽骨の吸収・添加が生じるが、その機構には歯根膜に多く分布する微小血管が重要な働きを担っている。これまでに組織に圧迫刺激が加わると、毛細血管が太さを増して毛細血管後細静脈の太さまでに太くなることが観察されていたが、そのような血管において機能的に毛細血管後細静脈の役割を担うように変化するか否かは不明であった。本研究はそこに焦点をあて、毛細血管が太くなった場合に、毛細血管後細静脈の重要な役割であるところの、単球を含む白血球が血管外へ遊走する場となるように、機能的にも変化していることを明らかにした。この結果は、矯正力の加わった歯根膜においては、毛細血管がその太さを増し、破骨細胞前駆細胞を局所に誘導する場を増加させていることが、歯槽骨吸収の一助になっていることを明らかにしたものである。機械的刺激による組織変化の機構の一部を明らかにした意義があり、高く評価できる。加えて、試問に対する申請者の回答は適切なものであり、本研究に直接関係する事項のみならず、関連分野における基礎的、臨床的な広い学識を有していること、さらに今後の研究の展望についても評価された。よって審査担当者は、申請者が博士（歯学）の学位を授与される資格を有するものと認めた。