

学 位 論 文 題 名

Three-dimensional cranio-maxillary characteristics
of the mouse with spontaneous malocclusion
using micro-computed tomography

(不正咬合自然発症マウスの頭蓋における
三次元的形態計測－マイクロ CT を用いた検討－)

学位論文内容の要旨

緒言

BALB/c-*bm/bm* (*bm*: brachymorphism)マウスは軟骨基質の低硫酸化により短肢症を生じるが、この *bm* マウスにおけるもっとも特筆すべき顎顔面的特徴は不正咬合（切歯の水平的交叉咬合）を自然発症することである。*bm* マウスのうち約 10 %がこの不正咬合を発症する。

今までは二次元的な形態計測が行われてきたが、近年、CT (computed tomography) を用いることによって三次元的な形態を評価することが可能となった。

本研究の目的は水平的交叉咬合を呈する BALB/c-*bm/bm* マウスの顎顔面形態の詳細や偏位の程度を三次元的な形態計測と三次元画像の重ね合わせを行うことによって明らかにすることである。

材料と方法

1. 実験動物

実験動物として、13 週齢と 25 週齢の雌性 BALB/c マウスを用いた。それぞれの週齢において、BALB/c-+/+マウス (control 群) 10 匹、BALB/c-*bm/bm* マウスのうち正常咬合のもの (Norm 群) 10 匹、BALB/c-*bm/bm* マウスのうち不正咬合のもの (Mal 群) 10 匹の 3 群に分けて実験を行った。

2. 実験方法

(1) 体重測定

各群における体重を 13 週齢時と 25 週齢時に測定した。

(2) 形態計測

通法にて作製したドライスカルを 3D マイクロ CT (R_mCT、リガク、日本) にて撮像し、画像再構築ソフト (i-VIEW-R、モリタ、日本) を用いて再構築して三次元立体画像を得た。以下のような 9 つの基準点を設定した (Oc ; 後頭顆最外縁、Tb ; 鼓室胞最後方点、S2 ; 側頭骨鱗部起始点、S1 ; 頬骨弓内縁最前点、Ba ; 大後頭孔最前点、SC ; 矢状縫合と冠状縫合の交点、N ; 前頭鼻骨縫合、Pr ; 齒槽突起最前点、A ; 鼻骨最前点)。S1 より前方を前方部、S1 と S2 の間を中央部、S2 より後方を後方部とした。本研究における正中矢状平面は左右の S1 を結んだ直線に垂直な平面でかつ N 点を通る平面と定義した。各群において、各点間の直線的距離と、各点から正中矢状平面までの垂直距離 (水平的距離と水平的偏位) とを計測した。さらに Mal 群において、前方部の点である A と Pr の偏位量の相関を調べた。

(3) 重ね合わせ

正中矢状平面を基準に Mal 群の三次元立体画像を左右反転させ、反転前の画像と重ね合わせ、偏位の程度を定性的に観察した。

結果

(1) 体重

どちらの週齢も bm マウス (Norm 群と Mal 群) の体重は control 群に比べて有意に小さかった ($P < 0.001$) が、Norm 群と Mal 群には有意差は認められなかった。

(2) 形態計測

13 週齢の群間比較では bm マウスの直線的距離計測項目は control 群に比べて有意に短かった ($P < 0.05$)。さらに Mal 群の S2-S1、S2-A、SC-A、SC-Pr、N-Pr、N-A は Norm 群に比べて有意に短かった ($P < 0.05$)。

Mal 群における群内比較では偏位側の S1-Pr、S1-A は非偏位側に比べて有意に短かった ($P < 0.05$)。

また 13 週齢の水平的距離において、bm マウスの Tb 点や Oc 点から正中矢状平面までの距離は control 群に比べて有意に短かった ($P < 0.05$)。

13 週齢の水平的偏位では、Mal 群における A 点や Pr 点から正中矢状平面までの距離が control 群や Norm 群より大きかった ($P < 0.05$)。

25 週齢の群間比較では bm マウスの直線的距離計測項目は control 群に比べて有意に短かった ($P < 0.05$)。さらに Mal 群の S2-S1、S2-Pr、S2-A、S1-Pr、S1-A、N-A は Norm 群に比べて有意に短かった ($P < 0.05$)。

Mal 群における群内比較では偏位側の S2-Pr、S1-Pr、S1-A は非偏位側に比べて有意に短かった ($P < 0.05$)。

また 25 週齢の水平的距離において、すべての計測項目で各群間に有意な差は認められなかった。

25 週齢の水平的偏位では、Mal 群における A 点や Pr 点から正中矢状平面までの距離が control 群や Norm 群より方が大きかった ($P < 0.05$)。

また Mal 群での Pr、A それぞれの点から正中矢状平面までの距離をそれぞれ Pr、A の偏位量として、上顎歯槽突起と鼻骨における相関係数を調べた。Pr と A の相関係数は 13 週齢では 0.936、25 週齢では 0.968 であり、散布図から正の相関が認められた ($P < 0.001$)。回帰係数は 13 週齢では 0.861、25 週齢では 0.716 であった。

(3) 重ね合わせ

Mal 群における重ね合わせ画像は 13 週齢、25 週齢ともに頭蓋骨の中央部と後方部においてほぼ重なっているが、前方部においては原型の画像からミラーリング画像（正中矢状平面を基準に反転させた画像）がずれており、重なる範囲が小さくなっていた。

考察

群間比較では、体重だけでなく直線的距離でも BALB/c マウス（control 群）に比べて bm マウスは有意に小さかった。特に前後的距離（正中矢状平面上にある点間の距離）でも著名な結果であったことから、bm マウスの脳頭蓋底や鼻中隔の軟骨内骨化が障害され、それによって脳頭蓋底や鼻中隔での劣成長を引き起こすことが示唆された。

顎顔面頭蓋の成長量においても各群間に差異が認められ、水平的距離において 13 週齢では後方部では bm マウスで BALB/c マウスに比べて有意に小さかったが、25 週齢では各群間に有意差は認められなくなった。このことから bm マウスの側方の成長量は BALB/c マウスとほぼ同程度だが、成長速度が遅いと考えられた。さらに後方部の側方への成長は軟骨性ではなく、主に縫合性や骨膜性の成長が関与しているが、軟骨の低硫酸化や *bm* 遺伝子に関わる何かがこれらの成長にも影響している可能性があることが示唆された。

続いて水平的偏位であるが、不正咬合の bm マウスではどちらの週齢においても前方部である鼻骨や上顎骨で偏位が生じていた。さらに重ね合わせた画像からも同様に中央部と後方部では左右対称性が認められるのに対し、前方部で非対称性が観察された。これらの定量的評価と定性的評価から不正咬合を自然発症する bm マウスにおいて上顎歯槽突起や鼻骨が有意に曲がっていることが三次元的に評価できた。また、上顎歯槽突起と鼻骨の偏位

量の相関をみると、正の相関が認められ、回帰係数は 13 週齢では 0.861、25 週齢では 0.716 であった。このことから 13 週齢では上顎歯槽突起の方が鼻骨よりも偏位しているが、25 週齢ではこの傾向がより明確となったと考えられた。つまり、上顎歯槽突起と鼻骨のねじれの量がより週齢を経たマウスの方で大きくなったと考えられた。

結論

1. 13 週齢の BALB/c-*bm/bm* マウスの頭蓋後方部の幅は BALB/c マウスに比べて有意に小さかった。
2. BALB/c-*bm/bm* マウスの脳頭蓋底や鼻中隔は BALB/c マウスに比べて有意に短かった。
3. 不正咬合の BALB/c-*bm/bm* マウスの鼻中隔は正常咬合の BALB/c-*bm/bm* マウスに比べて有意に短かった。
4. BALB/c-*bm/bm* マウスは上顎骨と鼻骨の水平的偏位が起こることにより前歯部水平的交叉咬合を呈した。
5. 歯槽突起と鼻骨のねじれの程度は週齢を経るほど大きくなることが示唆された。

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 中 村 太 保

学 位 論 文 題 名

Three-dimensional cranio-maxillary characteristics of the mouse with spontaneous malocclusion using micro-computed tomography

(不正咬合自然発症マウスの頭蓋における
三次元的形態計測－マイクロ CT を用いた検討－)

〔緒言〕BALB/c-*bm/bm* マウスは、先天的に短肢症を生じる C57BL-*bm/bm* マウスからの *bm* (brachymorphism) 遺伝子を BALB/c 系マウスに自然交配したものである。そのうち約 10%は前歯部左右的交叉咬合を自然発症する。本研究の目的は水平的交叉咬合を呈する BALB/c-*bm/bm* マウスの顎顔面形態の詳細や偏位の程度を三次元的な形態計測と三次元画像の重ね合わせを行うことによって明らかにすることである。

〔材料と方法〕実験動物として、13、25 週齢の雌性 BALB/c マウスを用いた。それぞれの週齢において、BALB/c-+/+マウス (control 群) 10 匹、BALB/c-*bm/bm* マウスのうち正常咬合のもの (Norm 群) 10 匹、BALB/c-*bm/bm* マウスのうち不正咬合のもの (Mal 群) 10 匹の 3 群に分けて実験を行い、各群における体重を 13 週齢時と 25 週齢時に測定した。通法にて作製したドライスカルをリガク社製実験動物用 3D マイクロ X 線 CT (R_mCT) にて撮影し、データをモリタ社製画像再構成ソフト (i-VIEW-R) を用いて形態計測を行なった。9 つの基準点 (Oc ; 後頭顆最外縁、Tb ; 鼓室胞最後方点、S2 ; 側頭骨鱗部起始点、S1 ; 頬骨弓内縁最前点、Ba ; 大後頭孔最前点、SC ; 矢状縫合と冠状縫合の交点、N ; 前頭鼻骨縫合、Pr ; 歯槽突起最前点、A ; 鼻骨最前点) を設定し、S1 より前方を前方部、S1 と S2 の間を中央部、S2 より後方を後方部とした。本研究における正中矢状平面は左右の S1 を結んだ直線に垂直な平面でかつ N 点を通る平面と定義した。各群において、各点間の直線的距離と、各点から正中矢状平面までの垂直距離 (水平的距離と水平的偏位) とを計測した。さらに Mal 群において、前方部の点である A と Pr の偏位量の相関を調べた。また、正中矢状平面を基準に Mal 群の三次元立体画像を左右反転させ、反転前の画像と重ね合わせ、偏位の程度を定性的に観察した。

〔結果と考察〕群間比較では、どちらの週齢においても体重だけでなく直線的距離・前

後的距離（正中矢状平面上にある点間の距離）でも BALB/c マウス（control 群）に比べて bm マウスは有意に小さかった。このことから、bm マウスの脳頭蓋底や鼻中隔の軟骨内骨化が障害され、それによって脳頭蓋底や鼻中隔での劣成長を引き起こすことが示唆された。また顎顔面頭蓋の成長量においても各群間に差異が認められ、水平的距離において 13 週齢の bm マウスの後方部は BALB/c マウスに比べて有意に小さかったが、25 週齢では各群間に有意差は認められなくなった。このことから bm マウスの側方の成長量は BALB/c マウスとほぼ同程度だが、成長速度が遅いと考えられた。水平的偏位に関しては、不正咬合の bm マウスではどちらの週齢においても前方部である鼻骨や上顎骨で偏位が生じており、直線の距離における不正咬合の bm マウスの群内比較でも前方部で偏位側の方が非偏位側より有意に短かった。さらに重ね合わせた画像からも同様に中央部と後方部では左右対称性が認められるのに対し、前方部で非対称性が観察された。これらの定量的評価と定性的評価から不正咬合を自然発症する bm マウスにおいて上顎歯槽突起や鼻骨が有意に曲がっていることが三次元的に評価できた。また、上顎歯槽突起と鼻骨の偏位量の回帰直線の回帰係数は 13 週齢では 0.861、25 週齢では 0.716 であった。このことから上顎歯槽突起と鼻骨のねじれの量がより週齢を経たマウスの方で大きくなったと考えられた。

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. CTを用いることによって新たに得られた知見について
2. 生体における縦断的な検索の可能性について
3. ドライスカルを作成することによる影響について
4. 正中線の設定方法について
5. 今後の研究の展望について

本研究は不正咬合を自然発症することで注目される BALB/c-bm/bm マウスにおいて、不正咬合が発症する要因を形体的に追求したものである。マイクロCTによるデータを計測することにより、このマウスの頭蓋においては前後的に有意な劣成長があること、および不正咬合を発症すると左右の非対称性が増悪していくことを明らかにした。この結果は、このマウスは遺伝的に不正咬合を発症しやすい骨格的特徴を有していること、また不正咬合が発症するとそれが骨格的な大きな形体異常に結びつく可能性を示したものであり、今後の歯科矯正学の発展のために重要な情報を与えたものと高く評価できる。加えて、試問に対する回答は適切なものであり、申請者は本研究に直接関係する事項のみならず、関連分野における基礎的、臨床的な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。