

学位論文題名

Histological studies of the nasal septal cartilage in  
BALB/*c-bm/bm* mice which spontaneously  
induces malocclusion

(不正咬合を自然発症する BALB/*c-bm/bm* マウスにおける  
鼻中隔軟骨の組織学的研究)

学位論文内容の要旨

【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て、BALB/*c* マウスに短肢症を生じさせたものである。*bm* 遺伝子による短肢症は常染色体劣性遺伝の形をとるが、この発症には、軟骨におけるプロテオグリカン中のグリコサミノグリカンの低硫酸化が関係することがすでに知られている。

さらに、この BALB/*c-bm/bm* マウスのうち約 10%のものが不正咬合（前歯部左右的交叉咬合）を自然発症することが明らかとなっている。

これまでの研究により BALB/*c-bm/bm* マウスにおいては下顎骨を除く頭蓋顎顔面（以後、頭蓋顎顔面とする）の前後的成長が前方部、後方部ともに劣っていることが形態計測から明らかにされており、その中で頭蓋顎顔面の後方部領域における劣成長は蝶後頭軟骨結合の軟骨内骨化の異常によるものであることが明らかにされている。しかしながら、頭蓋顎顔面の前方部領域における劣成長の要因に関連する検討はいまだ行われていない。

これまでに頭蓋顎顔面の成長に関しては、特に鼻中隔軟骨の役割が注目されてきている。Scott は、鼻中隔軟骨は顔面の骨に置き換わる最初の部位であり、ここに新生骨が添加されることにより中顔面の前下方への成長を促すと述べた。また、ラットの鼻中隔軟骨を培養して鼻中隔軟骨の成長方向と成長能を観察するという *in vitro* での報告では、鼻中隔軟骨の成長能は骨端軟骨のそれに匹敵することが示されている。

このような背景から、本研究は BALB/c-*bm/bm* マウスにおける鼻中隔軟骨の組織学的な所見を明らかにし、頭蓋顎顔面の前後的劣成長の要因を検討することを目的とした。

### 【方法】

BALB/c 系マウス (以下、対照群), BALB/c-*bm/bm* マウスで正常咬合のもの (以下, *bm* 群) の 2, 4 および 8 週齢の雌をそれぞれ 5 匹用いて矢状断切片を作成し, 通法に従いヘマトキシリン-エオジン染色を施した。その後, 光学顕微鏡を用いて主に鼻中隔軟骨と篩骨の境界部, および鼻中隔軟骨と蝶形骨の境界部を組織学的に観察し, 篩骨との境界部における増殖軟骨細胞層の上端から肥大軟骨細胞層の下端までの前後的な厚みと, 篩骨および蝶形骨との境界部における増殖軟骨細胞数を定量した。

### 【結果】

鼻中隔軟骨と篩骨との境界部の組織学的所見について, 対照群では, すべての週齢においても静止軟骨細胞層, 増殖軟骨細胞層, 肥大軟骨細胞層の 3 層からなる成長軟骨に特有の構造が認められた。*bm* 群においては対照群に比べて, 2 週齢では増殖軟骨細胞層から肥大軟骨細胞層までの軟骨柱の構造全体の厚みが有意に薄く, 特に増殖軟骨細胞層でその傾向は著明であった。4, 8 週齢においても, *bm* 群では対照群に比べて軟骨柱の構造の厚みは薄い傾向を示したが, 有意差は認められなかった。また, 4, 8 週齢の *bm* 群においては, 軟骨柱の構造における個々の軟骨細胞の大きさと配列が不規則であり, すべての週齢において対照群と比較して増殖軟骨細胞数が有意に少なかった。

群内の週齢差については, 対照群の増殖軟骨細胞層から肥大軟骨細胞層にかけての軟骨柱の構造の厚みが週齢を重ねるにつれて有意に薄くなっていた。*bm* 群においても週齢を重ねるにつれて薄くなる傾向がみられたが, 有意差は認められなかった。増殖軟骨細胞数については, 対照群および *bm* 群でともに週齢を重ねるにつれて有意に少なくなっていた。

次に蝶形骨との境界部の組織学的所見について, 対照群では篩骨との境界部と同様の所見であった。*bm* 群では対照群に比べて, 週齢を問わず成長軟骨に特有の構造がほとんど認められなかった。また, 増殖軟骨細胞数は篩骨との境界部と同様にすべての週齢において対照群と比較して有意に少なかった。群内の増殖軟骨細胞数の週齢差については, 対照群では篩骨との境界部と同様に週齢を重ねるにつれて有意に少なくなっていたが, *bm* 群では有意差が認められなかった。

また、篩骨との境界部および蝶形骨との境界部の間における同週齢間の比較において、対照群に大きな差は認められなかったが、*bm* 群では篩骨よりも蝶形骨との境界部で増殖軟骨細胞層および肥大軟骨細胞層における軟骨細胞の配列が顕著に不規則であり、2 週齢の篩骨境界部では少ないながらも認められた増殖軟骨細胞は、同週齢の蝶形骨境界部においてはその数が大きく減少していた。

### 【考察】

今回の研究において、対照群である BALB/c マウスの鼻中隔軟骨と篩骨および蝶形骨との境界の経時的な変化をみると、篩骨における増殖軟骨細胞層および肥大軟骨細胞層の前後的な厚みは週齢を重ねるごとに有意に減少しており、また、増殖軟骨細胞数も週齢を重ねるごとに有意に減少していた。この所見は、2 週齢、4 週齢および 8 週齢と頭蓋顎顔面の前方領域が鼻中隔軟骨を介して盛んに前後的な成長をするものの、年齢とともにその前後的な成長量は減少していくことを示唆しているものと考えられる。

一方、BALB/c-*bm/bm* マウスにおける鼻中隔軟骨の組織像の所見としては、篩骨および蝶形骨との境界部において、BALB/c マウスに比べ増殖軟骨細胞数が観察週齢を通して有意に少なかった。また、篩骨との境界部において、2 週齢ですでに増殖軟骨細胞層から肥大軟骨細胞層にかけての厚みが有意に薄かった。さらに、蝶形骨との境界部においては 2 週齢ですでに成長軟骨に特有の構造はほとんど認められなかった。これら所見は、BALB/c-*bm/bm* マウスにおいては 2 週齢のときからすでに頭蓋顎顔面の前方領域の前後的な成長が BALB/c マウスと比較して劣っていることを示すものと考えられる。

また、BALB/c-*bm/bm* マウスの鼻中隔軟骨と篩骨および蝶形骨との境界部の比較において、蝶形骨との境界部の軟骨柱の構造の方でより軟骨細胞の配列が不規則であり、成長軟骨に特有の構造はほとんど認められなかった。この結果は、BALB/c-*bm/bm* マウスの頭蓋顎顔面の成長はその成長量が前後的に劣っているだけでなく、成長の方向あるいは骨格の形態にも差が生じている可能性を示唆するものと考えられるが、今後の精細な形態的な検討が必要である。

本研究において、BALB/c-*bm/bm* マウスの鼻中隔軟骨では BALB/c マウスに比べて、篩骨および蝶形骨との境界部において成長軟骨に特有の構造に異常をきたしていたことより、鼻中隔軟骨と篩骨および蝶形骨との境界部で産生される骨の量が少ない可能性が示唆された。BALB/c-*bm/bm* マウスにおいては一定の割合で前歯部左右的交叉咬合を生じるが、本研究で得られたこの結果から、その要因の一つとして、BALB/c-*bm/bm*

マウスの鼻中隔軟骨における成長軟骨に特有な構造の異常により頭蓋顎顔面の前方部における前後的な成長が劣り、切歯の早期接触が生じやすくなることが推測される。

以上、BALB/c-*bm/bm* マウスの鼻部や上顎の劣成長を発現する一因として、鼻中隔軟骨と篩骨および蝶形骨との境界部において、成長軟骨に特有な構造に異常が認められることが強く示唆された。

# 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 網 塚 憲 生

学 位 論 文 題 名

## Histological studies of the nasal septal cartilage in BALB/*c-bm/bm* mice which spontaneously induces malocclusion

(不正咬合を自然発症する BALB/*c-bm/bm* マウスにおける  
鼻中隔軟骨の組織学的研究)

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】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て、BALB/*c* マウスに短肢症を生じさせたものである。この短肢症はグリコサミノグリカンの低硫酸化に起因することがすでに明らかとなっている。また、この BALB/*c-bm/bm* マウスのうち約 10% のものが不正咬合（切歯部左右的交叉咬合）を自然発症し、不正咬合の発症要因を探求していく上で重要な動物と考えられている。

これまでの研究により BALB/*c-bm/bm* マウスにおいては下顎骨を除く頭蓋顎顔面（以後、頭蓋顎顔面とする）の前後的成長が前方部、後方部ともに劣っていることが形態計測から明らかにされているが、頭蓋顎顔面の前方部領域における劣成長の要因に関連する検討はいまだ行われていない。

これまでに頭蓋顎顔面の前方部における成長に関しては、古くから鼻中隔軟骨の役割が注目されてきている。本研究は BALB/*c-bm/bm* マウスにおける鼻中隔軟骨の組織学的な所見を明らかにし、頭蓋顎顔面の前後的劣成長の要因を検討することを目的とした。

【方法】BALB/*c* 系マウス（以下、野生型マウス）、BALB/*c-bm/bm* マウスで正常咬合のもの（以下、*bm/bm* マウス）の 2、4 および 8 週齢の雌をそれぞれ 5 匹用いて矢状断切片を作成し、ヘマトキシリン-エオジン染色を施して、鼻中隔軟骨と篩骨の境界部、および鼻中隔

軟骨と蝶形骨の境界部を組織学的に観察した。定量的計測としては、篩骨との境界部中央における増殖軟骨細胞層の面積、および篩骨および蝶形骨との境界部中央における増殖軟骨細胞数を計測した。

【結果】野生型マウスでは、すべての週齢においても静止軟骨細胞層、増殖軟骨細胞層、肥大軟骨細胞層の3層からなる特有な構造の成長軟骨が認められた。一方、*bm/bm* マウスにおいては野生型マウスに比べて、すべての週齢を通して篩骨との境界部中央で増殖軟骨細胞層の面積が有意に小さく、篩骨および蝶形骨との境界部中央でともに増殖軟骨細胞の数が有意に少なかった。また、特に蝶形骨との境界部では軟骨細胞の配列は不規則で、成長軟骨に特有の構造がほとんど認められなかった。

【考察】本研究において、*bm/bm* マウスの鼻中隔軟骨では、篩骨および蝶形骨との境界部において成長軟骨に特有の構造に異常をきたしていたことより、鼻中隔軟骨と篩骨および蝶形骨との境界部で産生される骨の量が少ない可能性が示唆された。また、*bm/bm* マウスでは、篩骨との境界部中央において2週齢ですでに増殖軟骨細胞層の面積や増殖軟骨細胞数が有意に減少しており、蝶形骨との境界部中央においては2週齢ですでに成長軟骨に特有の構造がほとんどみられなかった。この所見は、*bm/bm* マウスにおいては頭蓋顎顔面の前方領域の前後的成長が野生型マウスと比較して、2週齢ですでに劣っていることを示すものと考えられる。以上から、BALB/c-*bm/bm* マウスの鼻部や上顎の劣成長を発現する一因として、鼻中隔軟骨と篩骨および蝶形骨との境界部において、成長軟骨に特有な構造に異常があることが示唆された。

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. 鼻中隔軟骨における骨化の様式について。
2. BALB/c-*bm/bm* マウスにおける不正咬合発症の要因について。
3. 組織切片の作成方法について。
4. 本研究の組み立てについて。
5. 今後の研究の展望について。

BALB/c-*bm/bm* マウスは、不正咬合を自然発症することで注目されている。このマウスは、頭蓋顎顔面の前後径が短いという形態的特徴を有し、それが不正咬合発症の一つの要因と考えられている。本研究は、その形態的特徴をもたらす要因の一つとして、鼻中隔軟骨における成長軟骨としての組織学的な構造に異常があることを示したものである。このマウスは今後、不正咬合の成因を研究する上で重要なモデル動物であると考えられており、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な広い学識を有していると認められた。また、本研究を基にして今後益々発展させて行く可能性があるものと評価された。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。