

氏名	すずきあきこ 鈴木 晶子
学位	博士(歯学)
学位記番号	新大院博(歯)第78号
学位授与の日付	平成18年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Development of the articular cavity in the rat temporomandibular joint with special reference to the behavior of endothelial cells and macrophages (ラット顎関節関節腔の発生過程 - 特に血管内皮細胞およびマクロファージの動態 -)
論文審査委員	主査 教授 前田 健康 副査 教授 小野 和宏 教授 網塚 憲生

博士論文の要旨

人体で唯一の両側性滑膜性関節である顎関節は、咀嚼運動の重要な構成要素であるが、その正常構造の解明は、四肢関節と比較して遅れている。特に、円滑な関節運動に不可欠で、かつ顎関節の最大の特徴である上下の完全に分断された関節腔および関節円板の発生学的研究はほとんどなされていない。関節腔形成機構に関しては、四肢関節においてさまざまな仮説が提唱されているが、顎関節とは発生学的、形態学的、機能学的にも異なるため、その仮説を当てはめることはできない。現在、顎関節腔形成機構の仮説として、①顎運動による機械的因子説、②アポトーシスにより間葉組織に裂隙が生じるとする説、③アポトーシスと機械的因子の相互作用説、④組織液の増加説、⑤毛細血管の侵入説、が提唱されているが、いずれの説も支持する確定的な所見は得られていない。そこで本研究は、血管新生に関与する血管内皮細胞とマクロファージの動態に着目し、顎関節腔形成機構を免疫組織化学的に検索した。

材料として、胎生18、19、21日齢、生後1、3、5日齢のラットを用い、アルデヒド系固定液で浸漬または灌流固定後、脱灰を行った。矢状断連続凍結切片(35 μ m)およびパラフィン切片(5 μ m)を作成し、血管内皮細胞のマーカーとして抗CD31抗体、抗rat endothelial cell antigen-1(RECA-1)抗体を、マクロファージ・単球系細胞のマーカーとして抗ED1抗体を用いて免疫染色を行った。アポトーシスの有無を検討するため、TUNEL法を用いた。さらに毛細血管の連続性を明らかにするために墨汁注入標本を作成した。

ラット顎関節関節腔の形成は、上関節腔形成が下関節腔形成に先行して胎生21日目に開始し、生後1日目に完成した。続いて下関節腔形成が生後1日目に開始し、3日目に完成した。胎生18日以下顎頭原基と側頭骨原基が出現し、これらの間の間葉系組織内にはわずかなED1陽性反応を、また下顎頭原基内には弱いCD31陽性反応を認めた。胎生19日では、側頭骨と下顎頭原基間の間葉組織内に、細胞間隙の広い上関節腔形成予定部位と、扁平な細胞が層をなす関節円板原基が明瞭になり、上関節腔形成予定部位には多数の紡錘形を示すED1陽性細胞が存在したが、CD31陽性細胞は存在しなかった。下関節腔形成予定部位では、下顎頭表層に沿ったCD31およびRECA-1陽性細胞の配列のみ

が認められた。胎生 21 日目には、形成を開始した上関節腔周囲に ED1 陽性細胞が局在したが、下関節腔形成予定部位には確認できなかった。また、下顎頭表層に加えて、それに直交するように下顎頭内に伸びる血管に CD31 および RECA-1 陽性反応が強く認められた。上関節腔形成が完成する生後 1 日目以降、ED1 陽性単球/マクロファージは形成途中の滑膜内に広く存在し、5 日目までには滑膜表層細胞層として配列するものも出現した。一方、下関節腔形成開始とともに、CD31 陽性血管内皮細胞は下顎頭と円板の連結部にのみ残存し、生後 3 日目以降、滑膜の毛細血管と下顎頭線維層の血管にのみ陽性反応を認めた。これらの血管系の分布の変化は、墨汁注入標本において確認された。上下いずれの関節腔形成部位においても TUNEL 陽性を示すアポトーシス細胞は観察されなかった。

本研究結果から、顎関節腔の形成は上関節腔と下関節腔で時期、機序ともに異なることが明らかとなった。上関節腔形成時期には多数のマクロファージ・単球系細胞の侵入により関節腔形成部位の間葉細胞間が拡大されることで裂隙が生じることが示唆された。一方、下関節腔の形成は、下顎頭に沿った多数の毛細血管の一過性の出現と消失から、血管新生により下顎頭と関節円板原基間が押し広げられて裂隙形成が起こることが示唆された。さらに、四肢関節において関節腔形成への関与が強く疑われているアポトーシスについては、顎関節腔形成にはほとんど関与しないことが示唆された。

上関節腔形成部位に侵入する単球マクロファージは、アポトーシス細胞の処理ではなく、裂隙が広がる過程で残存するヒアルロン酸のような細胞外基質や細胞残渣の処理に当たると考えられる。近年、ヒアルロン酸とそのレセプター CD44 の関節腔形成への関与が示唆されており、顎関節においても同様の関係が働いている可能性がある。下関節腔形成時期に侵入する多数の毛細血管からは、血管内皮細胞由来の組織破壊酵素が分泌され、周囲の細胞外基質の分解、細胞の変性を引き起こす可能性がある。一方で、出生と同時に哺乳と呼吸により活発な顎運動が開始し、その時期に毛細血管が消失したことから、顎運動による機械的な作用も血管消失と下関節腔形成に重要な役割を担うと考えられた。

審査結果の要旨

両側性滑膜性関節である顎関節は、四肢の関節と異なり、二次関節として発生し、また、形態的には関節腔を上下に完全に二分するという特徴をもっている。また、顎関節は、円滑な関節運動に不可欠で、咀嚼運動の重要な構成要素であるが、その正常構造および発生過程の解明は、四肢関節と比較して遅れている。顎関節の発生学的な研究はほとんどなされていないものの、四肢の関節の発生学的研究から、顎関節腔の形成機構にはさまざまな仮説が提唱されている。しかしながら、これまでいずれの説も支持する確定的な所見は得られていない。

本研究は、血管新生に関与する血管内皮細胞とマクロファージ・単球系細胞の動態に着目し、顎関節腔形成機構を光線顕微鏡的、電子顕微鏡的免疫組織化学により追求している。細胞マーカーとして、血管内皮細胞のマーカーとして抗 CD31 抗体、抗 rat endothelial cell antigen-1(RECA-1)抗体を、マクロファージ・単球系細胞のマーカーとして抗 ED1 抗体を用いて免疫染色を行っている。また、アポトーシスの有無を検討するため、TUNEL 法を、さらに毛細血管の連続性を明らかにするために墨汁注入標本を作成している。

免疫染色結果および TUNEL 法により、顎関節腔の形成は上関節腔と下関節腔で時期、機序ともに異なることが明らかにされ、また、上関節腔形成時期には多数の単球/マクロファージの侵入により関節腔形成部位の間葉細胞間が拡大されることで裂隙が生じることが示唆されている。一方、下関節腔の形成は、下顎頭に沿った多数の毛細血管の一

過性の出現と消失から、血管新生により下顎頭と関節円板原基間が押し広げられて裂隙形成が起こると考察している。さらに、四肢関節において関節腔形成への関与が強く疑われているアポトーシスについては、顎関節腔形成にはほとんど関与しないことを明らかにしている。

以上のように、本研究はこれまで全く不明であった顎関節腔形成過程を明らかにし、上下の関節腔で形成機構が異なること、上関節腔形成にはマクロファージ・単球系細胞が、下関節腔形成には毛細血管の進入と消退が重要な役割を果たしている点、ならびに、これまで顎関節腔形成に重要な役割を果たすと考えられてきたアポトーシスが関与しないということを明らかにした点で、本研究の学位論文としての価値を認める。なお、主論文として提出された論文に加え、申請者は国際雑誌に掲載された多数の英文論文を発表しており、課程博士4年次修了者と同等以上の学力を有すると判断した。