

原 著

咬筋切断によるラット下顎頭軟骨組織の
基質産生能に対する影響について

田島一滋 那須優則* 石川晴夫

日本歯科大学歯学部歯科矯正, *歯科放射線学教室

Kazushige TAJIMA, Masanori NASU* and Haruo ISHIKAWA

Department of Orthodontics, *Department of Radiology, School of Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

キーワード: 光顕オートラジオグラム, 下顎頭軟骨, 咬筋, ラット, ^{35}S -sulfate

生後4週齢のWistar系雄性ラットの両側咬筋切断に伴う環境の変化が下顎頭軟骨組織の基質産生能に与える影響について、術後1, 3, 5, 7, 10, 14日目の下顎頭軟骨層の厚径と、増殖層、成熟層、肥大層における基質産生能を ^{35}S -sulfateを用いたオートラジオグラフィにより比較し、以下の結果を得た。

1. 線維層、増殖層の厚径変化は対照群で実験期間を通じてほぼ一定なのに対し、実験群では線維層で3日目に、増殖層では1, 3, 5日目に菲薄し有意差を認めしたが、線維層では5日目以降、増殖層では7日目以降両群間に有意差は認められなかった。

2. 成熟層、肥大層の厚径変化は対照群で7日目まで経時的に菲薄し、その後はほぼ一定なのに対し、実験群では成熟層で1, 3, 5日目に、肥大層では3, 5, 7日目に有意に低い値を示した。2層ともに3日目に最低値を示したが、その後は経時的に増加し、成熟層では7日目以降両群間に有意差は認められず、肥大層では14日目に対照群より有意に高い値を示した。

3. 増殖層、成熟層および肥大層の基質産生能については、対照群では実験期間を通じて前方部、中央部、後方部でほぼ一定であった。

4. 増殖層、成熟層の基質産生能は対照群と比較して3部位ともに1, 3日目に有意に低い値を示し、その後は増加し対照群とほぼ同じように推移した。肥大層の実験群においても1, 3日目では対照群に比べ有意に低い値を示し、5日目以降は対照群より高い値を示す傾向が認められた。

以上より咬筋切断によって惹起された下顎頭軟骨層における厚径の変化と基質産生能の変化には発現時期にずれの生じることが認められた。

(日矯歯誌 56(2): 65~74, 1997)

The influence of mutilation of masseter
muscle to the matrix synthesis
in the mandibular condylar

This study investigated how mutilation of the masseter muscle in both sides of the mandible affects the synthesis of the matrix of the condylar cartilage tissue in 4-week-old rats. The thickness of the mandibular condylar cartilage layers was measured and matrix synthesis in the proliferative, maturative and hypertrophic zones, respectively, was observed by autoradiography using ^{35}S -sulfate. The results were as follows:

1. In the experimental group, the thickness was significantly lower than the control group on the 3rd day after surgery in the fibrous zone and on the 1st, 3rd and 5th days in the proliferative and maturative zones, and on the 3rd, 5th and 7th days in the hypertrophic zone. No significant differences were observed from 5th day on in the fibrous zone and from the 7th day on in the proliferative and maturative zones, whereas in the hypertrophic zone, the experimental group was significantly high in thickness on the 14th day.

2. Regarding the synthesis of the bone matrix in the proliferative, maturative and hypertrophic zones, the control group showed near-constant activity at each period in the anterior, central and posterior parts of the condylar cartilage structure.

3. The synthesizing activity of the experimental group was significantly low in all three zones and in all three parts on the 1st and 3rd days. After the 5th

day the experimental group was similar to the control group in the proliferative and maturative zones, while it was high in the hypertrophic zone.

4. The changes in the thickness of the mandibular

condylar cartilage layers after the resection of the masseter muscles did not occur at the same time as the changes in matrix synthesis.

(J. Jpn. Orthod. Soc. 56(2):65~74, 1997)

結 言

一般に軟骨内骨化における骨形成は内因的要因により大きく影響を受ける^{1,2)}とされているが、下顎頭軟骨は線維性の結合組織に被われ、また下顎頭が外側翼突筋により対向する関節円板と連動し、大きな自由度を有するなど、他の骨端軟骨とは異なった組織構造であり、その成長発育には環境的要因も大きく関与する^{3,4)}と考えられる。

この環境的要因による下顎頭軟骨細胞への影響については、従来より多くの研究^{5~16)}がなされており、環境的要因の軟骨基質産生能に与える影響も注目され、有間⁵⁾はラット下顎骨を顎外固定で後退させ軟骨基質をトルイジンブルー染色し、下顎頭軟骨の成長発育と環境的要因の密接な関係を示唆している。さらに、環境的要因と軟骨基質産生能について、深澤^{6,7)}はラットの咀嚼筋の切断による影響を、また本澤⁸⁾はラットの咬合挙上による影響をそれぞれトルイジンブルー染色、PAS染色等を用いて報告し、両者には標本の染色性に対する所見の解釈に違いが認められるが、環境的要因が軟骨基質へ影響を及ぼすとする考え方は一致している。しかしながら、これらは環境的要因の影響を顕微鏡下で定性的に検討したものであると考えられる。

一方、軟骨基質に関する定量的検討には、³⁵S-sulfateが多く用いられ^{1,17~21)}、ラットの下顎頭軟骨基質の基礎代謝についてグリコサミノグリカン(GAG)の各層における産生量が異なることを船木¹⁷⁾、SilvermannとFrommer¹⁸⁾は報告している。また、環境的要因による影響について、ラットの切歯切断および臼歯削合による下顎位に変化を与えることによって、基質産生能が細胞活性の低下に伴って減少するとの報告もみられる^{19,20)}。しかしながら、咀嚼筋に外科的な侵襲を与えることが軟骨基質産生能へおよぼす変化についての詳細な報告は見られない。

そこで本研究は、咀嚼筋の1つである咬筋を切断した後の咀嚼機能低下に伴う軟骨細胞の基質産生能に対する影響を把握するため、ラットの両側の咬筋を切断し、³⁵S-sulfateをトレーサーとしたオートラジオグラフィにより基質産生能の変化を定量的に検討することを目的とした。

研究 方法

I. 実験材料

実験材料は、生後3週齢 Wistar 系雄性ラットを1

週間予備飼育したもの42匹を用いた。その内訳は表1に示すように、実験期間を6群に分け、実験群には4匹ずつの計24匹、対照群には3匹ずつの計18匹とした。

実験群のラットはペントバルビツール系麻酔薬(ソムノペンチル;ピットマン・ムーア社製)を0.06 mg/gの割合で腹腔内に投与し、全身麻酔下で両側咬筋の切断を行った。手術に際しては、手術部位を剃毛後、ヨードチンキおよび70%エタノールにて消毒し、下顎下縁の上方3 mmの表皮を下顎下縁と平行に約10 mm切開した。咬筋を露出し、歯科用探針により咬筋を骨膜より剥離した後、咬筋中央部を完全に切断し、完全に切断がされたことを確認後、切開部を縫合した(図1-A, B)。対照群としては、皮膚切開のみを施したものをを用いた。

なお、予備飼育、実験期間を通じ、固形飼料(M-固形、オリエンタル酵母社製)と水道水を常時与え、術後の感染予防としては、1日1万単位のペニシリン(ペニシリンG;明治製菓社製)を両群ともに実験期間を通じて毎日腹腔内に投与した。

II. 実験の構成

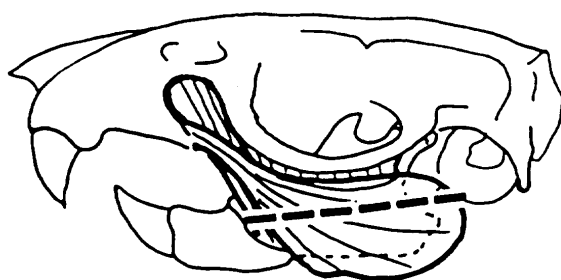
オートラジオグラム作製に際し、対照群、実験群ともに1, 3, 5, 7, 10および14日目のラット(表1)に³⁵S-sulfate溶液(比放射能:3.7 GBq/mmol; New England Nuclear 社製)を37 KBq/gの割合で腹腔内に投与し、3時間後にエーテル麻酔下で屠殺した。すみやかに下顎頭を摘出し、Lillieの10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で2日間固定後、10%蟻酸水溶液にて4℃下で24時間脱灰を行い、アルコール系列で脱水し、パラフィン包埋したものを矢状方向に厚さ約3 μmの連続切片とし、これらを標本とした。この薄切標本をdipping法を応用し蒸留水で1.5倍希釈した乳剤(Autoradiographic emulsion NR-M2;コニカ社製)に約3秒間浸漬し、室温で3時間乾燥させた後、乾燥剤入り暗箱内で4℃下、1週間露光し、現像(20℃, 12分間, コニカドール;コニカ社製)、定着(18℃, 10分間, コニカフィックス;コニカ社製)を行った。さらに後染色としてH-E染色を施し検鏡した。

III. 検索項目

1. ラットの体重変化について

咬筋切断による外科的侵襲の全身状態への影響を検討するため、予備飼育期間を含め、実験期間ごとに体重計測を行った。

2. 下顎頭軟骨層厚径の経時的変化について



B

図 1 A: 咬筋切断手術
歯科用探針とメスにより咬筋を完全に切断した。
B: 咬筋の切断部位
下顎下縁の上方 3 mm で下顎下縁と平行に切断した。

表 1 実験試料数

術後日数	対照群(匹)	実験群(匹)
1 日目	3	4
3 日目	3	4
5 日目	3	4
7 日目	3	4
10 日目	3	4
14 日目	3	4
計	18	24
総計	42	

咬筋切断による下顎頭軟骨層厚径への影響を経時的に観察するため、各実験期間で対照群、実験群ともに矢状断連続薄切標本のうち下顎頭頭頂部を中心とした切片を 10 標本ずつ計測した。各試料について Bloom と Fawcett の方法²²⁾に準じ、細胞の形態および組織学的構造を基準として線維層 (F: fibrous zone), 増殖層 (P: proliferative zone), 成熟層 (M: maturative zone), 肥大層 (H: hypertrophic zone) の 4 層に区分し、厚径の計測を行った。計測に際しては、観察倍率 100 倍の写真上 (図 2) で佐藤の方法⁹⁾を参考にして軟骨組織の最大厚径部位の各層厚径をキャリパス (1/20

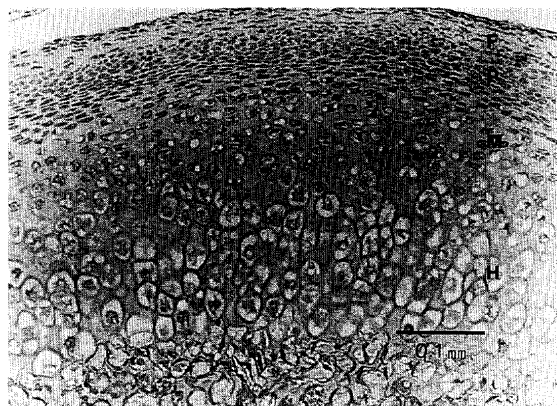


図 2 ラット下顎頭軟骨組織の層区分方法
F: 線維層, P: 増殖層, M: 成熟層, H: 肥大層
(撮影倍率×100, H-E 染色)

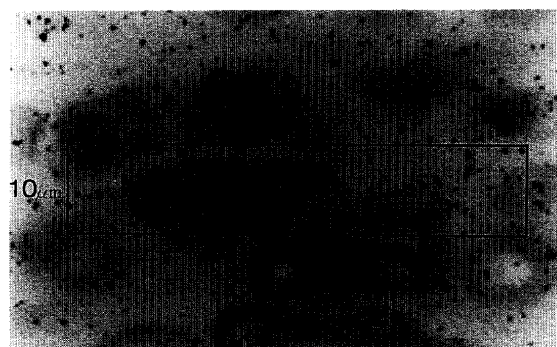


図 3 ³⁵S-sulfate 投与後 3 時間の成熟層における還元銀粒子およびその計測方法
各層の中央付近で 10 μm×50 μm の範囲の還元銀粒子数を計測した。
(撮影倍率×1000, H-E 染色)

mm) を用いて、10 標本についての平均値を求め、対照群 3 匹、実験群 4 匹についてその平均値および標準偏差を求めた。さらに両群間における平均値の差の検定を行った。

3. 各軟骨層の基質産生能の経時的变化について

咬筋切断による軟骨細胞の基質産生能に与える影響について各層の単位面積当たりの還元銀粒子数を経時的に計測し比較した。各実験期間で対照群、実験群ともに矢状断連続薄切標本のうち下顎頭の下顎頭頭頂部を中心とした 10 標本を試料とした。各試料において前方部、中央部、後方部の 3 箇所を基質産生能を評価する観察部位とした。計測に際しては、観察倍率 1000 倍の H-E 染色写真上で佐藤の方法⁹⁾を参考に図 3 のように 10 μm×50 μm あたりの還元銀粒子数を増殖層、成熟層、肥大層の各層における 10 標本についての平均値を求め、対照群 3 匹、実験群 4 匹についてその平均値および標準偏差を求めた。さらに両群間における平均値の差の検定を行った。

なお、各実験ともに同一実験日における対照群と実

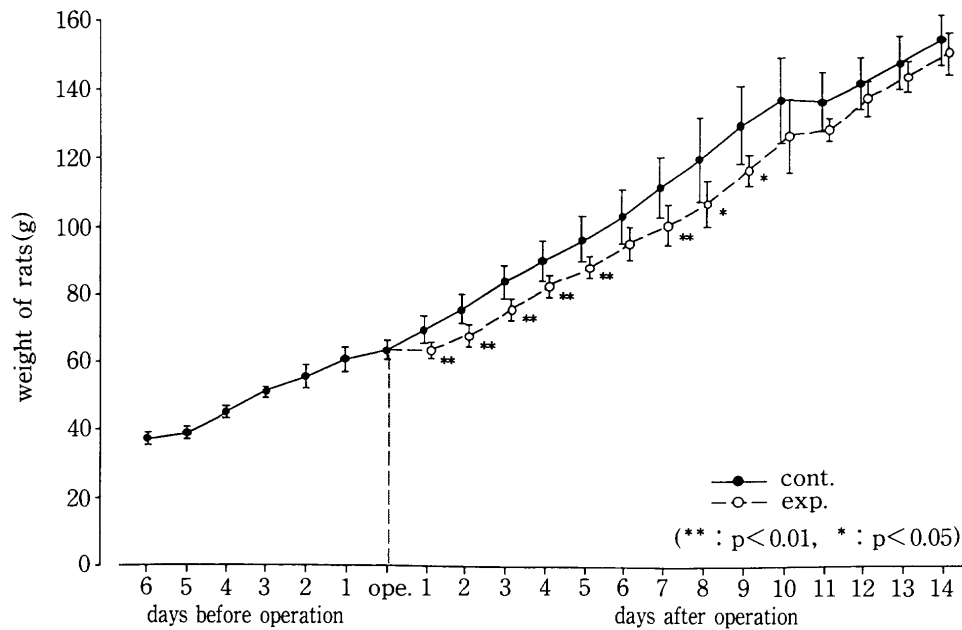


図4 ラット体重の経時的変化

験群の差の検定は Welch の t 検定法を用いて行った。

結 果

I. 体重の経時的変化について

図4に体重の経時的変化の結果を示す。

対照群は実験期間を通じて予備飼育期間と同様に順調な体重増加を示した。一方、実験群の術後1日目から5日目までと7日目から9日目までの体重は対照群より有意に低い値を示した。しかしながら2日目以降の実験群の増加量は対照群の増加量と同程度であった。

II. 軟骨層各層の厚径変化について

対照群および実験群の3日目の下顎頭軟骨層最大厚径部の組織像を図5-A, Bに示す。

また対照群と実験群における下顎頭軟骨層各層における厚径の平均値と標準偏差, ならびに両群間における平均値の差の検定結果を図6-A~Dに示す。

1. 線維層の厚径変化

対照群の厚径は実験期間を通じてやや変動はあるもののほぼ一定であった。実験群は対照群と比較して3日目では有意に低い値を示し、1日目および5日目以降では両群間に有意差は認められなかった。

2. 増殖層の厚径変化

対照群の厚径は実験期間を通じてほぼ一定であった。実験群は1日目、3日目、5日目では対照群より有意に低い値を示し、7日目以降では両群間に有意差は認められなかった。

3. 成熟層の厚径変化

対照群の厚径は7日目まで経時的に減少し、その後

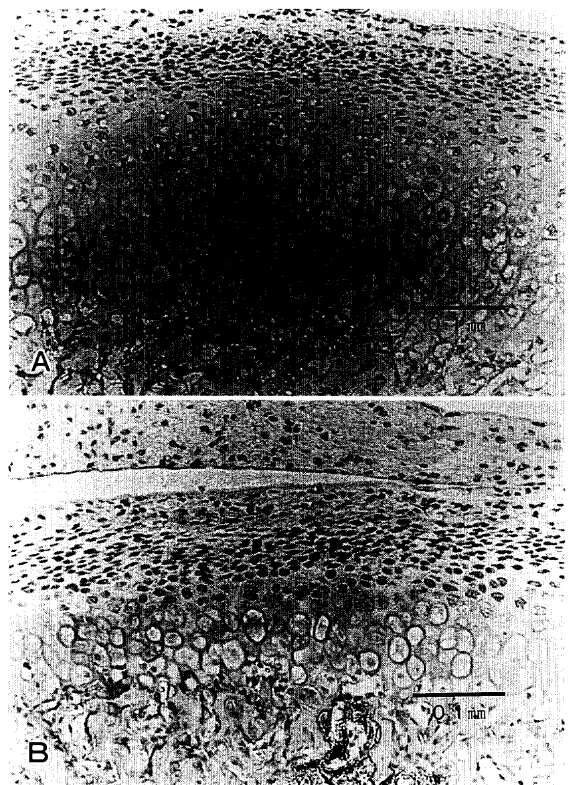


図5 A: 実験開始後3日目における対照群の下顎頭頭頂部の組織像(撮影倍率×100, H.E.染色)

B: 実験開始後3日目における実験群の下顎頭頭頂部の組織像(撮影倍率×100, H.E.染色)

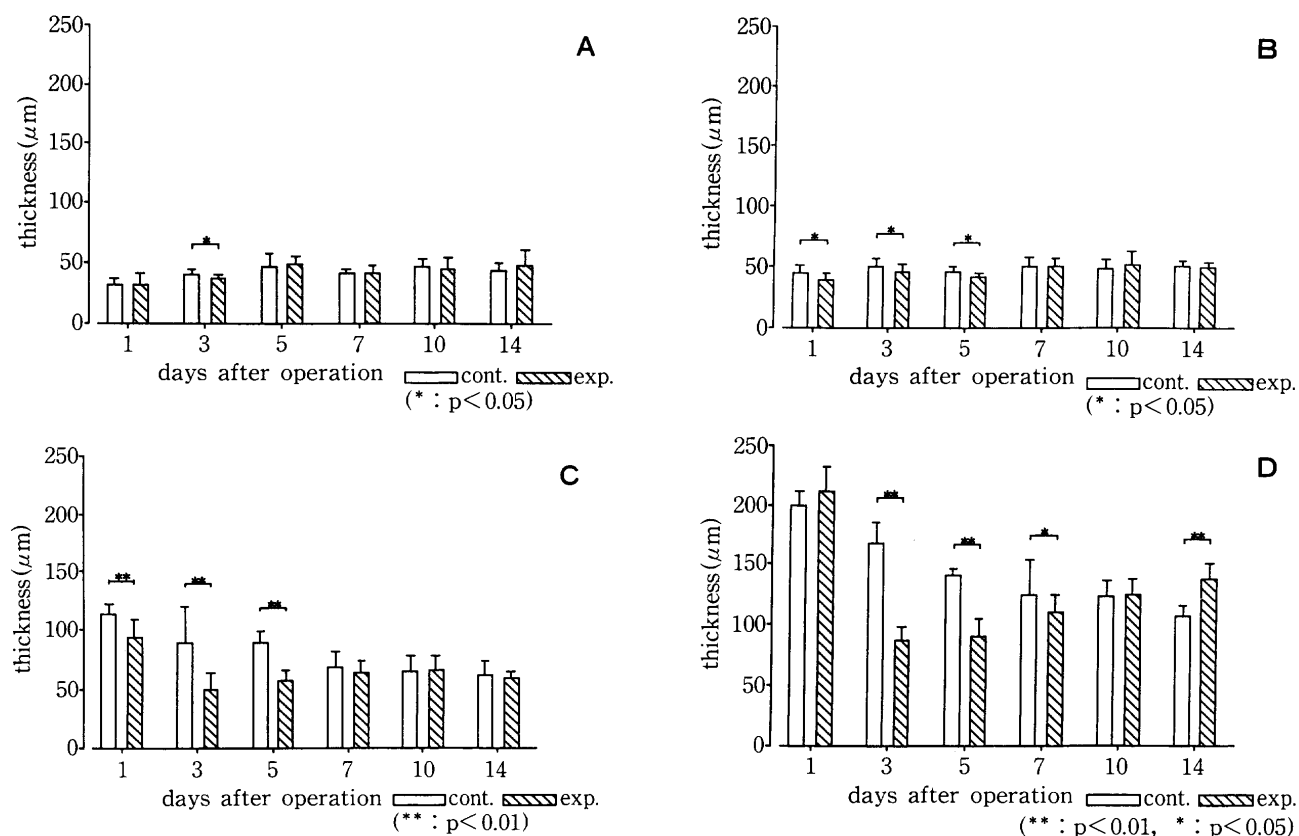


図 6 A: 線維層厚径の経時的変化 B: 増殖層厚径の経時的変化
C: 成熟層厚径の経時的変化 D: 肥大層厚径の経時的変化

はほぼ一定であった。実験群は対照群と比較して 5 日目まで低い値を示し有意差を認め、3 日目では最低値を示した。その後は、経時的に増加する傾向を示し、7 日目以降では両群間に有意差は認められなかった。

4. 肥大層の厚径変化

対照群の厚径は 7 日目まで経時的に減少し、その後はほぼ一定であった。実験群は対照群と比較して 1 日目では有意差が認められなかったが、3～7 日目で減少し有意差を認め、3 日目では最低値を示した。その後は経時的に増加する傾向を示し、14 日目では対照群より有意に高い値を示した。

III. 基質産生能について

対照群と実験群における下顎頭軟骨層各層の前方部、中央部、後方部それぞれについて還元銀粒子数の平均値と標準偏差、ならびに両群間における平均値の差の検定結果を図 7-A～I に示す。

1. 増殖層の還元銀粒子数

対照群は前方部、中央部、後方部ともに実験期間を通じてほぼ一定であった。実験群は対照群と比較して 1 日目、3 日目で前方部、中央部、後方部ともに低い値を示し有意差を認めた。その後は経時的に増加し、前方部、中央部、後方部ともに 5 日目以降で対照群に比べ高い値を示したものの、前方部および後方で 10

日目に有意差を認めたほかは両群間に有意差は認められなかった。

2. 成熟層の還元銀粒子数

対照群は前方部、中央部、後方部ともに実験期間を通じてほぼ一定であった。実験群は対照群と比較して前方部、中央部、後方部ともに 1 日目、3 日目で低い値を示し有意差を認めた。また前方部、中央部、後方部ともに 5 日目以降では両群間に有意差は認められなかった。

3. 肥大層の還元銀粒子数

対照群は前方部、中央部、後方部ともに実験期間を通じてほぼ一定であった。実験群は対照群と比較して前方部、中央部、後方部ともに 1 日目、3 日目で低い値を示し有意差を認めた。その後は経時的に増加し、前方部で 5 日目、10 日目に、中央部で 7 日目以降に、後方で 14 日目にそれぞれ対照群より高い値を示し有意差を認めた。

考 察

I. 実験方法

1. 実験動物について

ラットの下顎頭は出生後 21 日目に軟骨層の形成を開始し、30 日目になると十分な成熟を遂げ、50 日目に

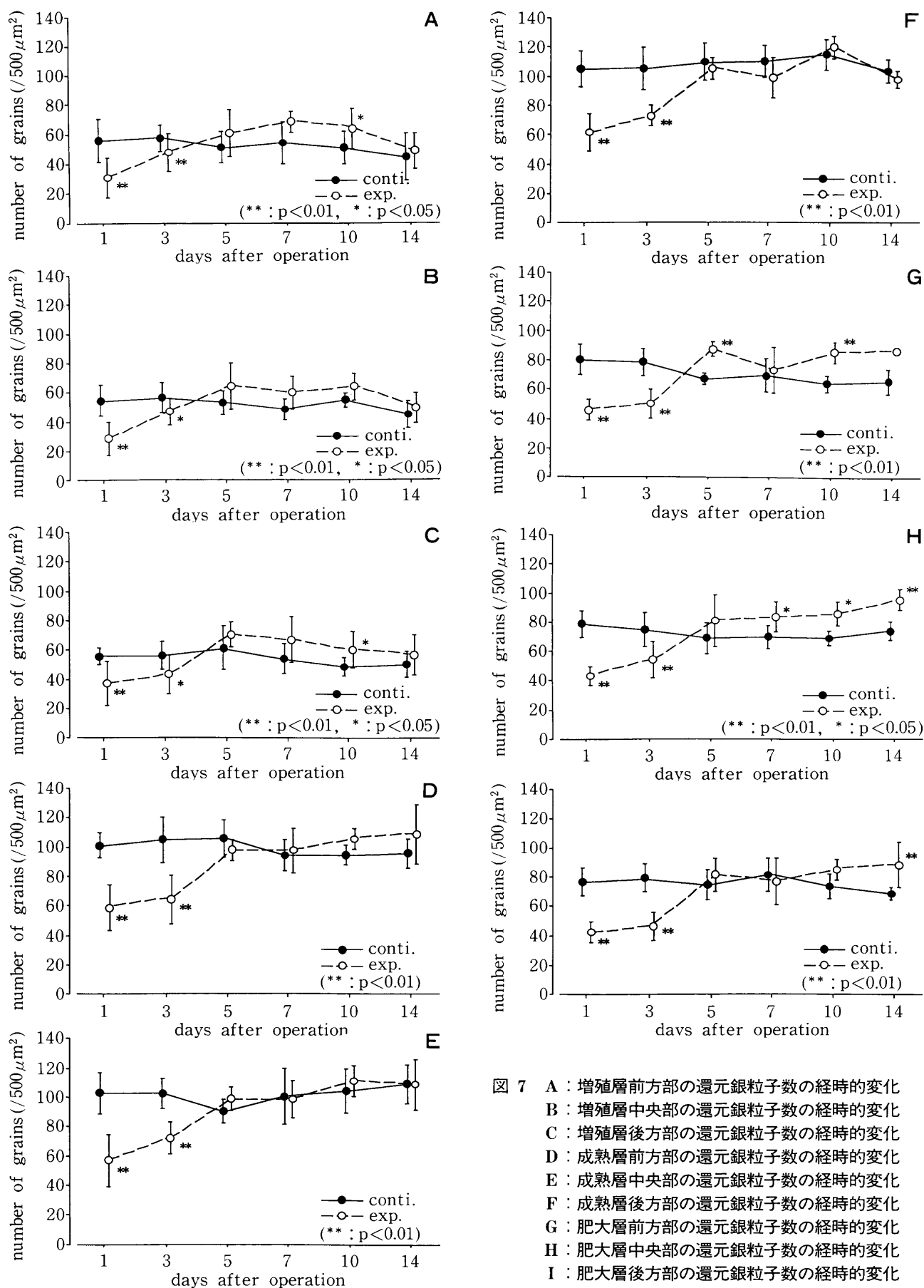


図 7 A: 増殖層前方部の還元銀粒子数の経時的変化
 B: 増殖層中央部の還元銀粒子数の経時的変化
 C: 増殖層後方部の還元銀粒子数の経時的変化
 D: 成熟層前方部の還元銀粒子数の経時的変化
 E: 成熟層中央部の還元銀粒子数の経時的変化
 F: 成熟層後方部の還元銀粒子数の経時的変化
 G: 肥太層前方部の還元銀粒子数の経時的変化
 H: 肥太層中央部の還元銀粒子数の経時的変化
 I: 肥太層後方部の還元銀粒子数の経時的変化

は下顎頭の構造がほぼ完了する²³⁾。また、下顎頭軟骨層の基質産生能は15日齢から20日齢で最高となり、45日齢以降では増齢に伴って減少する²⁴⁾。以上より本研究では軟骨組織の形態がほぼ安定する4週齢から、基質産生が比較的旺盛である6週齢までのラットを実験に供した。

2. 咬筋切断について

外科的侵襲による顎口腔機能低下を考慮した場合、咀嚼筋切断による咀嚼機能への影響は咬筋においてもっとも顕著に現れる^{25,26,27)}ことから、今回の実験では両側の咬筋を切断する方法を採用した。

3. 軟骨組織の組織学的な検討について

従来よりラットの下顎頭軟骨組織の区分は研究目的に応じ、研究者によって異なると考えられる。三木²³⁾は、下顎頭の発生を観察する目的で3層に区分している。また舟木¹⁷⁾は下顎頭軟骨と脛骨近位骨端軟骨を比較するために8層に区分している。しかし、細胞の形態および組織学的構造を基準として軟骨組織を区分した方が比較検討しやすいと考え、BloomとFawcett²²⁾の方法に準拠し、表層から線維層、増殖層、成熟層、肥大層の4層に区分した。

II. 実験結果

1. 体重変化について

対照群は実験期間を通じて予備飼育期間と同程度の増加量であったことより、全身麻酔、剃毛、皮膚切開の影響はほとんどないものと考えた。実験群は術後1日目で増加がみられず、咬筋切断の侵襲が食餌の摂取に影響を与えたためと思われる。しかし、2日目以降は増加量が対照群と同程度であった。LiebmanとKussick²⁵⁾は咬筋および側頭筋の切断時に手術をうけていない筋の活動性に変化が生じることを報告しており、本実験においても咬筋が活動を停止したことにより、他の咀嚼筋が代償的に働き咀嚼活動の恒常性を維持したものと考えられる。

2. 下顎頭軟骨層厚径の経時的変化について

森田²⁴⁾は下顎頭軟骨組織の各層の特徴について、線維層は細胞の増殖能に乏しく細胞活性の低い線維芽細胞様の細胞によって構成され、また増殖層は線維層と同様に線維芽細胞様の細胞で構成されるが、活発な細胞増殖能と基質膠原原線維の形成がみられると報告している。さらに、軟骨細胞への分化、成熟化が完了した成熟層では基質膠原原線維の形成は依然活発であると同時に、細胞はよく発達した粗面小胞体やゴルジ体を有することからGAGの産生能が強く、肥大層でもGAGの産生は活発であり、この層の深層での石灰化にこのGAGが関与していると述べている。

本実験における線維層は対照群と比較して3日目に有意に厚径の減少が認められたが、その後の厚径には統計的に有意な増減は認められなかった。深沢^{6,7)}は、ラットの閉口筋群をすべて切断した研究で、線維性結

合組織で占められている線維層は、下顎頭を外的刺激から保護する働きが主であり、軟骨細胞の成熟過程にはあまり関与していないと結論づけている。しかし、水野²⁶⁾は線維層をさらに2層に区分して観察した報告で、線維層の下層では咀嚼運動に呼応して線維芽細胞様細胞が線維芽細胞に分化し、膠原線維を著明に形成すると述べており、本研究の3日目の結果は膠原線維の形成不全により菲薄化した可能性があると考えられる。

増殖層では、1日目より5日目まで対照群に比較して有意に低い値であった。これは、線維層においてみられた咬筋切断の影響が増殖層へも影響しているものと考えられる。増殖層の線維芽細胞様の細胞は細胞活性が高く、この細胞活性にはある程度の外的刺激が必要である⁶⁾ため、咬筋切断が咀嚼活動による外的刺激を低下させ細胞活性に抑制効果として働いたものと考えられる。7日目以降では対照群と有意な差は認められなかった。これは咬筋切断による軟骨細胞への影響が軽減され、1日目以降徐々に細胞活性が回復したものと考えられる。さらに増殖層は成熟層、肥大層ほどではないが基質産生能を有すること、軟骨組織の成長において軟骨基質の産生量が厚径に大きく関与している²⁰⁾こと、基質産生能が1日目以降増加傾向を示していることから、結果として5日目から7日目にかけて対照群の状態に近づいたのではないかと推察される。

成熟層の厚径は、対照群では経時的に減少し、7日目以降ではほぼ一定の値を示していた。正常な成長過程にある下顎頭軟骨の成熟層および肥大層はその厚径が増齢的に減少し、生後30日齢以降で安定する^{23,24)}。これは本研究に使用した動物の日齢に相当し、かつその結果が類似していることから、対照群の軟骨層厚径の経時的減少は増齢的なものと考えられる。一方、実験群は1日目より5日目まで対照群と比較して有意に低い値を示した。また増殖層と同様に7日目以降では対照群との間に有意な差は認められなかった。これは成熟層の主な働きが基質の産生であることから、増殖層の厚径の推移と一致しながらも、より顕著に現れた結果と考えられる。

肥大層についても増殖層および成熟層と厚径の増減傾向が類似し、その増減量は著明であったが、厚径の減少は、増殖層や成熟層とは異なり3日目から始まった。上保¹⁰⁾によると軟骨細胞が増殖層から骨髄方向へ移行するまでには4～5日を要し、この期間は外的刺激に影響を受けにくいとしている。したがって1日目で厚径変化として影響が出現した成熟層の軟骨細胞が3日目に肥大層に移行したために1日目では菲薄しなかったとも推察される。このように肥大層への周囲環境の影響は増殖層、成熟層よりやや遅れて出現すると考えられるが、肥大層における厚径変化は軟骨細胞の活性低下によるものなのか、影響を受けた成熟層の軟骨細胞がこの層に移行した結果なのかは本実験では不

明である。

3. 各軟骨層の基質産生能について

Hinton¹⁹⁾はラットの切歯および臼歯を削合し、練飼料あるいは固形飼料を与え、それぞれの下顎頭軟骨の細胞活性および基質産生能を比較したところ、切歯部での咬断の方が臼歯部での臼磨より影響が強いと述べている。また、正常なラットの咬筋は下顎骨を上方に挙上すると同時に前方に誘導する作用を有している²⁷⁾。したがって、咬筋切断が下顎運動に影響を与え、その影響が下顎頭の軟骨組織内において部位の違いにより特異的な変化をもたらすと予想されたため、還元銀粒子の計測時には下顎頭を前方部、中央部および後方部の3部位に分けて計測を行った。

下顎頭の周囲環境の変化が下顎頭軟骨層の基質産生能におよぼす影響を検討するため、³⁵S-sulfateをトレーサーとして用い、オートラジオグラムにより析出した還元銀粒子数を経時的に計測した。下顎頭軟骨層における基質産生能に関する報告によると³⁵S-sulfateの取り込みは成熟層で最も多く、肥大層および増殖層が、これに続くといわれている^{17,18)}。本研究においても対照群、実験群ともに、成熟層での基質産生能が最も高く、軟骨細胞の基質産生は主に成熟層において行われていると考えられる。

基質産生能に関して Störksen ら²¹⁾はラットの下顎頭の成長を観察するために³⁵S-sulfateの取り込みを液体シンチレーションカウンターで測定したところ、生後17日齢で最高値を示し、その後は24日齢まで急激に減少することを報告しているが、24日齢以降の基質産生能を検討している報告は極めて少ない。しかし、森田²⁴⁾は組織学的な検討を加え、各層の粗面小胞体、ゴルジ体など基質産生に関与している細胞小器官やグリコーゲン顆粒の微細構造学的特徴は、25日齢以降、70日齢まで基本的に同一であると報告している。本研究においても今回使用した4週齢から6週齢の対照群で還元銀粒子数に大きな変化はみられず、基質産生能はこの期間では既に安定しているものと推察される。

実験群では、各層ともに対照群と比較して3日目まで基質産生能は有意に小さかった。これは、咬筋切断による機能低下により細胞活性に必要な物質の細胞内への取り込みが減少したためと推察され、下顎頭の機能の恒常性が失われると細胞の増殖や代謝が低下するとの報告^{6,7)}を裏付けるものと考えられる。

肥大層においても成熟層と同様の結果となった。これは、肥大層も基質産生能を有することを示唆しているものと考えられる。また、骨髓と接していることから基質産生と石灰化との関連性を検討する必要があると考えられる。肥大層に存在するGAGは石灰化に関与しているという報告^{3,8,28,29)}もあり、本研究では石灰化に対するGAGの役割については検討を加えていないことから、今後は免疫電顕法などを用いた追究の必要性が示唆された。

実験群の増殖層での経時的な基質産生能の変動は、対照群と比較し実験開始1日目、3日目で有意に低い値を示したが、5日目以降は逆に有意差を認めないながらも高い値を取った。これは、咬筋切断後、早期に咬筋以外の咀嚼筋が代償的に働き、下顎頭軟骨の周囲環境が対照群の状態に近づいたためと考えられる。さらに Kvinnsland³⁰⁾はDNA合成能と基質産生能は同時期に亢進すると報告しており、本研究でも1日目で活性が低下した細胞がそれ以降本来の状態に戻ろうとした結果、細胞活性が亢進したものと思われる。

成熟層および肥大層においても基質産生能は、対照群と比較し1日目、3日目で有意に低い値を示したが、1日目以降徐々に亢進し、成熟層では5日目から対照群と同程度の値を示し、肥大層においては、5日目以降では対照群と比べ高い値を示していた。新名³¹⁾は成熟層および肥大層での基質の主な役割が、軟骨細胞を障害することなく下顎頭軟骨層の厚さを最大30%も減少し得る力学的負荷の緩衝、吸収であり、さらに外部刺激によるこれらの層における厚径の菲薄化、基質産生能の変化は一時的なものであると述べている。したがって、増殖層と肥大層の中間に位置する成熟層は、外部刺激からの緩衝的作用を有するものと考えられる。

4. 下顎頭軟骨各層の厚径と基質産生能との変化の違いについて

対照群の下顎頭軟骨各層、特に成熟層、肥大層の厚径では、5日目あるいは7日目まで菲薄し、その後はほぼ一定の値を呈していた。これに対し基質産生能は厚径における変化とは異なり、実験期間を通じて一定の還元銀粒子数であった。これは軟骨基質のコンドロイチン硫酸Aとコンドロイチン硫酸Cの量比において加齢とともにコンドロイチン硫酸Aの割合が減少し²⁹⁾、またコンドロイチン硫酸Aがハイドロキシアパタイトの結晶化を抑制している³²⁾ことから、基質産生能全体に変化がない場合でも、コンドロイチン硫酸Aの加齢的減少により石灰化が促進され厚径の減少を促すことが考えられ、傾向の差が現われたものと推察される。

一方、実験群においても厚径変化が成熟層、肥大層で3日に最も菲薄化し、また、肥大層においては1日目に有意差が認められなかったのに対し、基質産生能の変化では、1日目より還元銀粒子数の減少が認められた。また、還元銀粒子数が1日目以降増加傾向を示したのに対し、厚径の増加傾向が見られたのは成熟層で3日目以降、肥大層で7日目以降であった。このように咬筋切除による環境変化は厚径と基質産生能との間に対照群でみられた加齢変化とは異なった発現時期の違いを生じさせたが、これは軟骨細胞の骨髓方向への移行によって軟骨組織の形態変化を惹起するまでと組織生化学的な変化を惹起するまでの時間差を生じたこと、および軟骨基質の有する緩衝作用の両者に起

因すると推察される。

本論文の要旨は平成5年9月3日、日本歯科大学歯学会大会、ならびに平成5年11月12日、第52回日本矯正歯科学会大会において発表した。

文 献

- 1) Katz, M. and Kvinnsland, S.: Matrix formation in the mandibular condyle of the rat (^{35}S)-Sulfate incorporation studies, *Acta Odont Scand* 37: 137-145, 1979.
- 2) 中邨隆子: 器官培養下における幼若兎の下顎頭の成長発育について— ^3H -thymidine オートラジオグラフィーによる観察—, *口病誌* 45: 618-636, 1978.
- 3) Engelsma, S.O., Jansen, H.W.B. and Duterloo, H.S.: An in-vivo Transplantation Study of Growth of the Mandibular Condyle in a Functional Position in the Rat, *Archs Oral Biol* 25: 305-311, 1980.
- 4) McNamara, J.A. and Carlson, D.S.: Quantitative analysis of temporo-mandibular joint adaptations to pro-trusive function, *Am J Orthod* 76: 593-611, 1979.
- 5) 有間英生: 下顎後方牽引装置がラット顎関節に及ぼす影響についての実験組織学的研究, *日矯歯誌* 47: 485-506, 1988.
- 6) 深沢裕文: 閉口運動に関与する筋群切除後のラット下顎頭の成長発育に関する研究, *日矯歯誌* 39: 303-318, 1980.
- 7) 深沢裕文: ラット下顎頭の成長発育に対する筋機能の影響, *日矯歯誌* 43: 478-496, 1984.
- 8) 本澤興人: 咬合挙上がラット下顎頭軟骨の微細構造に及ぼす影響, *日矯歯誌* 48: 29-47, 1989.
- 9) 佐藤康守: 咬筋機能の左右不均衡が下顎頭部の成長発育に及ぼす影響, *阪大歯学誌* 31: 137-164, 1986.
- 10) 上保 基: 下顎の側方偏位がラット下顎頭の細胞動態に及ぼす影響に関する研究, *歯学* 79: 1521-1546, 1991.
- 11) 野口規久男: 外力を与えた際の幼若ラット下顎頭の研究, *口病誌* 37: 222-241, 1970.
- 12) 菅野裕之: ラット下顎頭の軟骨内骨化にともなう軟骨基質の構造変化に関する観察, *口病誌* 55: 283-321, 1988.
- 13) 粉 浩一: 実験的咬合異常がラット下顎頭に及ぼす影響に関する病理組織学的および走査電子顕微鏡的研究, *九州歯会誌* 39: 66-85, 1985.
- 14) 柴田俊一: 肥大軟骨層における軟骨細胞の構造上の特徴に関する観察, *口病誌* 53: 536-563, 1986.
- 15) 今村正史: 下顎を偏位させた際のラット下顎頭軟骨の反応, *口病誌* 40: 457-475, 1973.
- 16) 檜山達郎: 抜歯による実験的咬合変化が顎関節に及ぼす影響に関する病理組織学的研究, *口病誌* 35: 598-612, 1968.
- 17) 船木純三: 下顎頭軟骨の基質代謝について, *口病誌* 48: 36-51, 1981.
- 18) Silbermann, M. and Frommer, J.: Further Evidence for the Vitality of Chondrocytes in the Mandibular Condyle as Revealed by ^{35}S -Sulfate Autoradiography, *Anat Rec* 174: 503-512, 1972.
- 19) Hinton, R.J. and Carlson, D.S.: Response of the mandibular joint to loss of incisal function in the rat, *Acta anat* 25: 145-151, 1986.
- 20) Hinton, R.J.: Effect of Altered Masticatory Function on (^3H)-Thymidine and (^{35}S)-Sulfate Incorporation in the Condylar Cartilage of the Rat, *Acta anat* 131: 136-139, 1988.
- 21) Störksen, K., Aukland, S. and Kvinnsland, S.: Matrix formation in craniofacial cartilages of the rat. [^{35}S]-Sulfate incorporation studies, *Acta Odontol Scand* 37: 29-35, 1979.
- 22) Bloom, W. and Fawcett, D.W.: A text book of histology, 10th ed., Philadelphia, London, Tront, 1975, W.B. Saunders Co., pp.271-273.
- 23) 三木 毅: ラット顎関節の発生並びに発育に関する研究, *京大口科紀要* 12: 1-31, 1972.
- 24) 森田修一: ラット下顎頭軟骨の生後発育に関する微細構造学的, 細胞化学的研究, *日矯歯誌* 41: 171-201, 1982.
- 25) Lieberman, F. M. and Kussick, L.: An electromyographic analysis of masticatory muscle imbalance with relation to skeletal growth in dogs, *J Dent Res* 44: 768-774, 1965.
- 26) 水野有功, 佐分利紀彰, 田口 望, 金田敏郎, 星野 洸: ラット下顎頭関節軟骨線維層の微細構図と細胞分裂能に関する実験的研究, *日口外誌* 34: 1874-1880, 1988.
- 27) Hiimae, K.: The structure and function of the jaw muscles of mastication in the rat (*Rattus norvegicus* L.).III.The mechanics of the muscles, *Zool F Linn Soc* 50: 111-132, 1971.
- 28) 岩田 久: ヒト軟骨および病的軟骨, 組織におけるコンドロイチン硫酸異性体の分別定量とその微細構造について, *日整会誌* 45: 455-473, 1969.
- 29) 鈴木不二男: 成長に伴う骨基質の変化, *歯科ジャーナル* 26: 861-870, 1987.
- 30) Kvinnsland, S.: Regional variations in cell proliferation and matrix formation in the cartilaginous nasal septum of the rat. (^3H)-thymidine and (^{35}S)-sulfate incorporation studies, *Growth* 41: 85-93, 1977.

- 31) 新名正由：骨代謝—研究の進歩とその臨床的意義—, 日整会誌 61 : 975-989, 1987.
- 32) Woodward, C. and Davidoson, A. : Structure function relationship of protein polysaccharide complexes, Proc Natl Acad Sci 60 : 201-205, 1968.

主 任：石 川 晴 夫 教授 1996 年 6 月 18 日受付

連絡先：田 島 一 滋

日本歯科大学歯学部歯科矯正学教室

〒 102 東京都千代田区富士見 2-3-16