



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	成長期におけるソフトフード摂取がラット顎関節に与える影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	加藤, 剛士
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11246号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56135
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Tsuyoshi_Kato_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 加 藤 剛 士

学 位 論 文 題 名

成長期におけるソフトフード摂取がラット顎関節に与える影響

【目的】最近では軟らかい食事を好んで摂取している現代人が増加している．このような食習慣が咀嚼筋や顔面骨格に与える影響を調べるため，実験的研究が行われてきた．本研究では，成長期ラットにソフトフードを継続的に摂取させた時，顎関節にどのような影響が及ぶのかを形態学的，免疫組織化学的に明らかにすることを目的とした．

【材料と方法】実験には Wistar 系雄性ラット 24 匹を用い，21 日齢で離乳させた．離乳直後より対照群の動物には通常の固形食を，実験群の動物にはこの飼料を粉末状にしたものと水道水を重量比 1:2 の割合で混ぜ合わせた液状食を与えた．給水は自動給水とした．両群とも 1 週，4 週，8 週の 3 期間に分けて飼育し，各群各期間の動物数は 4 匹とした．実験期間中は毎日実験動物の体重を測定するとともに体調を目視にて観察した．飼育期間が終了した動物には 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) (2.5mg/体重 100g)を腹腔内投与し，1 時間後に全身麻酔下にて灌流固定を行った．次に顎関節を含む頭部を切り出し，浸漬固定および脱灰し，その後通法に従ってパラフィン包埋した．パラフィンプロックより顎関節部の 4 μ m 前頭断

連続切片を作製した。切片にはヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡にて組織学的に観察するとともに、下顎窩相当部の頬骨突起幅径と高径、下顎頭幅径と高径と長径、関節円板厚さを測定した。また、下顎窩と下顎頭の軟骨各層の厚さについても測定した。軟骨各層の分類は Blackwood の分類に従い、articular zone (AZ), intermediate zone (IZ), hypertrophic zone (HZ) とした。また一部の切片には BrdU 免疫染色を施し、光学顕微鏡下で、下顎窩の IZ, 下顎頭の IZ, 関節円板の全細胞数と陽性細胞数をカウントし、BrdU 陽性率を算出した。

【結果】組織計量学的には、実験群の下顎窩相当部頬骨突起は 4 週（高径）と 8 週（幅径、高径）で、下顎頭は 4 週（幅径）と 8 週（幅径、長径）で対照群よりも小さかった。関節円板に関しては両群とも経時的に厚みを増していたが、いずれの週数においても有意差は認められなかった。軟骨層の厚さに関しては、下顎窩では 4 週の AZ と HZ, 8 週の AZ と IZ で、下顎頭では 4 週の 3 層全てと 8 週の AZ で実験群の方が菲薄であった。免疫組織化学的には、BrdU 陽性細胞のほとんどは IZ に認められた。BrdU 陽性率では対照群より実験群が概して低く、下顎窩では 4 週、下顎頭では 1 週と 4 週で有意差が認められた。関節円板では各週の両群間に有意差は認められなかった。

【考察】本研究では液状食を使用して実験を行ったが、両群間でいずれの日数においても体重で有意差は認められなかった。従って本実験において観察される顎関節の変化はラットの全身状態の変化によるものではなく液状食の直接的な影響によるものと考えられる。

IZ は軟骨の成長に重要な層で、有糸分裂が頻繁に発生している部位である。本研究では、この IZ の増殖活性が実験群の下顎窩および下顎頭の両方で飼育期間 4 週以内において低下しているものが認められた。これまで、IZ における細胞増殖活性はメカニカルストレスによって高まることが *in vitro* の実験を中心に示されている。また、*in vivo* の実験では頭蓋底の軟骨においても同様のことが報告されている。以上のことを考え合わせると、本研究では液状食飼育により咀嚼刺激が低下し、それによって IZ の増殖活性低下が引き起こされたと思われる。

本研究では実験群の下顎窩および下顎頭の AZ はともに 4 週以降で対照群よりも薄くなっていた。これは長期間にわたる液状食摂取のため軟骨表面への咀嚼刺激が低下し、軟骨を保護する必要性が低くなったため、AZ が薄くなったのではないかと考えられる。なぜならば AZ は独自の細胞代謝能を持っていて、軟骨表面を保護する役割があるとされているからである。本研究では IZ と HZ に関しても 4 週あるいは 8 週で実験群が薄くなっている場合が多かった。IZ の細胞は増殖した後、軟骨芽細胞や軟骨細胞に分化して HZ へと移行する。このようなことから IZ と HZ の菲薄化は IZ の増殖活性低下によってもたらされたと考えられる。この考えは IZ の増殖活性低下より遅れて IZ と HZ の菲薄化が起こっていることとも符合していると思われる。また IZ の増殖活性に変化がみられた後、IZ 層の厚さに変化がみられる時期は、下顎頭に比べて下顎窩で遅れていた。本研究ではこの理由は明確ではないが、下顎頭の方が咀嚼刺激に対する反応が早いことによるのかもしれない。なぜならば、下顎窩

では成長すると軟骨層が消失するのに対して、下顎頭では生涯軟骨層が残り、咀嚼刺激に対して柔軟に対応しているからである。しかし、この点を明らかにするためには、さらなる検討が必要である。

これまでのソフトフードを摂取させた動物実験では、いずれにおいても実験群の方で下顎頭の大きさが小さくなっており、本研究の結果はこれらと一致した。一方、下顎窩相当部の骨の大きさについてはこれまで研究報告が無く、本研究によって実験群の方で小さくなるのが初めて明らかとなった。また、実験群の下顎頭と下顎窩の大きさが小さかったのは飼育 4~8 週目であり、両部分の HZ の厚さが薄くなった時期(4 週目)よりも遅れていた。このことは、両部分の骨の成長において HZ の軟骨細胞が一定期間後、骨へ置換されるという過程に要する時間を反映したものであると考えられる。これまで述べてきた下顎窩と下顎頭に関する考察を総合すると、ソフトフード摂取により両部分に加わる咀嚼刺激が低下し、IZ の増殖活性が低下する。これは HZ の発達を抑制し、その結果、下顎窩と下顎頭の成長が阻害されたと考えられる。これに関する詳細なメカニズムは、本研究のみならず過去の研究においても明らかではない。しかしながら *in vitro* の実験で、軟骨細胞に圧力を加えると **extracellular signal regulated kinase 1/2 (ERK 1/2)** のリン酸化が生じ ERK 1/2 経路が活性化して、これが軟骨細胞の増殖を引き起こすとした報告がある。本研究において実験群の IZ の増殖活性が低下したのは、咀嚼刺激低下により、この経路の活性が低下したことによるのかもしれない。

関節円板に関しては、厚さおよび細胞増殖活性では対照群と実験群の間に有意差は認められなかった。このことは、下顎窩や下顎頭とは異なり、関節円板は成長期におけるソフトフード摂取の影響を受けないことを意味している。本研究とは逆に顎関節に継続的な負荷をかけた研究によると関節円板のコラーゲン線維の減少が起こり、負荷を除去すると元の状態へ回復するという。これらを合わせて考えると、関節円板は強い咀嚼刺激にのみ影響を受け、適度ないし弱い咀嚼刺激には反応しないのかもしれない。

【結論】以上より本研究の結論として、成長期におけるソフトフード摂取はラット顎関節の発達を阻害することが明らかとなり、これには IZ の細胞増殖活性低下が深く関与していることが示唆された。