



Title	糖尿病モデルラットにおける下顎切歯歯根膜神経線維の再生
Author(s)	浜田, 尚香
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59267">https://hdl.handle.net/11094/59267</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【24】

氏 名	はま だ なお か 浜 田 尚 香
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯学)
学 位 記 番 号	第 2 5 0 3 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	糖尿病モデルラットにおける下顎切歯歯根膜神経線維の再生
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 丹羽 均 (副査) 教 授 脇坂 聡 准教授 社 浩太郎 講 師 石濱 孝二

## 論文内容の要旨

### 【目的】

糖尿病は糖代謝異常が持続し慢性の高血糖となる疾患で、日本人では成人の6.3人に1人が糖尿病といわれている。糖尿病は様々な合併症を引き起こす事が知られているが、特に糖尿病性神経障害は最も頻度の高い合併症であり、すべての末梢神経において早期から発症する。さらに、糖尿病は歯周病のリスク因子でもあることから、歯科においても遭遇する機会の多い基礎疾患の一つと言える。

ラット、マウスの切歯では舌側歯根膜にルフィニ神経終末が局在しており、観察が容易であるため末梢神経の再生過程を検索するには有用なモデルとして、これまで下歯槽神経損傷後の末梢神経再生過程に関して多くの報告がある。しかしながら、糖尿病モデルにおける口腔領域での報告は抜歯窩の治癒や歯の移動に関するものがほとんどで、歯根膜感覚や下歯槽神経損傷後の神経再生過程に関する報告はされていない。歯科の臨床において、支配神経が損傷される場合があるが、その患者が糖尿病に罹患している可能性は多いにあり、糖尿病患者の口腔領域における末梢神経再生過程の解明は非常に有用であると思われる。

そこで本研究では、I型糖尿病モデルラットを用いて、糖尿病発症後の下顎切歯歯根膜神経の動態、下歯槽神経損傷後の下顎切歯歯根膜神経の再生、顔面神経頰移植後の下顎切歯歯根膜神経再生について検討した。

### 【方法】

#### 実験動物の作製

6週齢の雄性 Sprague-Dawley 系ラット(体重 180~200g)を用いた。24時間絶食後に膵臓β細胞破壊薬であるストレプトゾトシン(STZ)を 65mg/kg 腹腔内投与したものを DM ラット、生理食塩水を腹腔内投与したものを CTL ラットとした。DM ラットは STZ 投与後 1 週間後に血糖値測定を行い、空腹時血糖 500mg/dl 以上のものを実験に用いた。固形飼料で飼育し、自由摂食・摂飲とした。

#### 実験 1 DM ラットにおける下顎切歯歯根膜神経の経日的動態

STZ 投与後 2,4,6,8 週後に試料を採取し、免疫組織化学的に歯根膜神経線維の動態を検討した。

#### 実験 2 CTL と DM ラットにおける下歯槽神経切断後の下顎切歯歯根膜神経再生の比較

各モデルラット作製後 2 週目に右側下歯槽神経を切断し、CTL 切断群と DM 切断群とした。各群 1,2,4,6,8 週後に試料を採取し、歯根膜神経線維の再生を検討した。

#### 実験 3 正常ラットと DM ラットにおける顔面神経頰移植後の下顎切歯歯根膜神経再生の比較

Group 1:CTL ラットの顔面神経頰枝を CTL ラットの下歯槽神経に移植

Group 2:DM ラットの顔面神経頰枝を CTL ラットの下歯槽神経に移植

Group 3:CTL ラットの顔面神経頰枝を DM ラットの下歯槽神経に移植

Group 4:DM ラットの顔面神経頰枝を DM ラットの下歯槽神経に移植

いずれの群においてもモデルラット作製後 2 週目に移植を行った。試料は移植後 8 週で採取した。

神経要素の染色は、軸索のマーカーとして protein gene product 9.5 (以下 PGP9.5)、シュワン細胞のマーカーとして S-100、機能的マーカーとして calretinin を一次抗体として用い、免疫組織学的に検索した。また、実験 1 および実験 2 においては終末シュワン細胞のマーカーとして非特異的コリンエステラーゼを併せて用いた。観察は第一臼歯近心根直下の下顎切歯歯根膜で行い、免疫染色の陽性領域について定量的解析を行った。

### 【結果】

#### 実験動物の評価

DM ラットは STZ 投与 1 週後から血糖値は 500mg/dl 以上で維持していた。STZ 投与から 8 週目のラットに糖尿病性網膜症や足病変と思われる所見があった。また、CTL ラットと比べ、DM ラットは体重が 20%程度軽量であった。

#### 実験 1

DM 発症後の切歯歯根膜における PGP9.5 陽性線維は形態や分布はほぼ正常に近く、陽性領域の面積は徐々に減少しているが、その変化はわずかであった。S-100 陽性細胞は発症 6 週以降、calretinin は発症 8 週以降で著しく減少していた。

#### 実験 2

CTL 切断群では、下歯槽神経切断後、約 4 週で軸索と終末シュワン細胞の形態や分布がほぼ正常に近い状態にまで回復した。さらに calretinin は、切断後約 8 週でほぼ正常な分布を示した。それに対して DM 切断群では PGP9.5 陽性線維は CTL 切断群と比べると再生の遅れが認められ、切断 8 週でも再生が完了していなかった。また calretinin 陽性神経線維の数も減少していた。終末シュワン細胞と思われる S100 陽性細胞の数も明らかに減少していた。CTL 切断群では非特異的コリンエステラーゼ陽性細胞が見られたが DM 切断群で陽性細胞は見られなかった。

#### 実験 3

レシピエント側が正常の場合、ドナーが CTL と DM どちらであっても PGP9.5 陽性線維、S100 陽性細胞共にほぼ正常の分布を示した。また、レシピエント側が DM の場合、ドナーの状態に関係なく PGP9.5 陽性線維の再生に遅れが認められ、S-100 陽性細胞の陽性面積は減少していた。

#### 【考察】

糖尿病により末梢神経障害が合併症として認められるが、本研究においても DM ラットの歯根膜において神経線維の減少が認められ、さらに歯根膜機械受容器の構成成分である終末シュワン細胞の変化が認められたことから、歯根膜においても感覚受容障害が起こっている可能性が示唆された。

下歯槽神経切断後の歯根膜神経再生が DM ラットでは明らかに遅れ、切断後 8 週でも再生が完了していなかった。これは糖尿病発症により神経線維の維持、再生に重要な機能をはたしている終末シュワン細胞が、高血糖下において、その数の減少や組織化学的特性の変化から機能低下に陥っていたためと思われる。

神経移植により、レシピエントが DM である場合は神経再生が遅れていることから、神経再生には損傷神経の状況よりも、再生の場が重要であることが推察される。

以上の事から、糖尿病患者では経過が長期に渡るほど神経機能が低下し、神経損傷後の再生能力も低下することが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は I 型糖尿病モデルラットを用いて歯根膜神経の動態について検討したものである。その結果、糖尿病モデルラットの歯根膜神経は経過が長期に渡るほど神経機能の低下が認められ神経損傷後の再生能力も低下することが判明した。

以上の研究結果は、実際の歯科臨床で遭遇する機会の多い糖尿病患者の歯根膜感覚の解明に重要な知見を与えるものであり、博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認める。