

学位研究紹介

ラット顎関節関節腔の発生過程
- 血管内皮細胞およびマクロファージの
動態に着目して -

Development of the articular cavity
in the rat temporomandibular joint
with special reference to the behavior
of endothelial cells and macrophages

新潟大学大学院医歯学総合研究科
口腔生命科学専攻 口腔解剖学分野
鈴木 晶子

Division of Oral Anatomy, Department of Oral Biological Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
Akiko Suzuki

【緒 言】

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遅れている。特に、円滑な関節運動に不可欠で、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、四肢関節での研究から得られた結果から、大別すると5つの仮説、すなわち顎運動による機械的因子説、アポトーシスによる細胞の消失説、アポトーシスと機械的因子の共働作用説、細胞間の組織液の増加説、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。本研究では、血管新生に参与する血管内皮細胞とマクロファージの動態に着目し、顎関節関節腔形成機構を免疫組織化学的に検索した。

【材料と方法】

材料として、胎生18, 19, 21日齢、生後1, 3, 5日齢のウィスター系ラット胎仔および新生仔を用い、0.0125%グルタルアルデヒド加4%パラホルムアルデヒド固定液にて浸漬または灌流固定後、脱灰した。矢状断連続凍結切片(35µm)およびパラフィン切片(5µm)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。また、アポトーシス細胞の有無をTUNEL法を用いて検討した。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作製した。

【結 果】

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。関節腔形成開始前の胎生18日には、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陽性反応が認められた。胎生19日では(図1)、側頭骨と下顎頭原基間の間葉組織内に、細胞間隙の拡大が開始した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

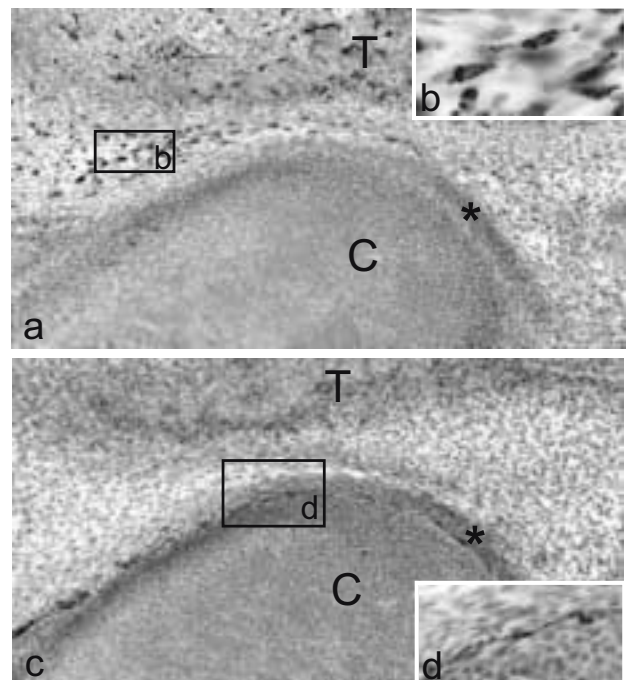


図1：胎生19日齢ラット顎関節矢状断切片。左側が前方を示す。a, b: 関節円板原基(*)が扁平な細胞の薄い層として下顎頭原基(C)表層に明瞭となる。不整形または紡錘形を示す多数のED1陽性細胞が、側頭骨(T)と関節円板原基(*)間の間葉組織内に観察される。c-e: 下顎頭(C)表層に沿ってCD31(c, d)およびRECA-1(e)陽性血管内皮細胞の侵入が認められる。(Suzuki et al., Anat Rec 286A: 908-916, 2006より許可を得て転載)

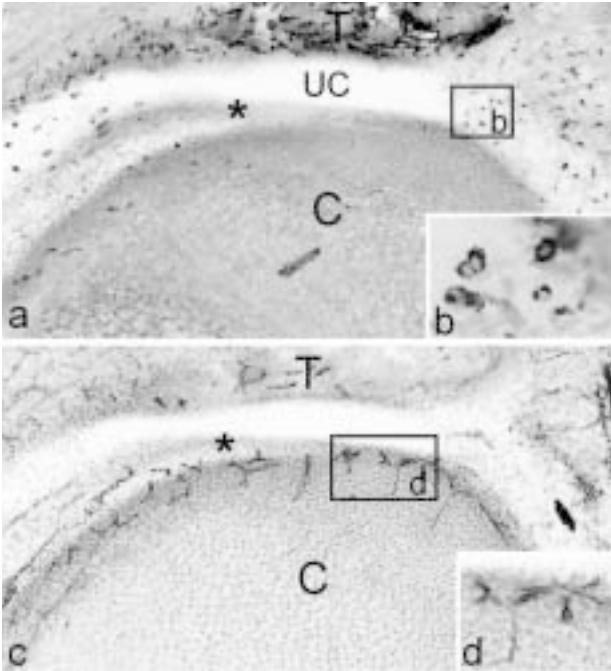


図2：胎生21日齢ラット顎関節における，ED1 (a, b) および CD31 (c, d) 免疫染色像。a, b: 上関節腔が，側頭骨 (T) と関節円板原基 (*) の間に形成されている。多数の ED1 陽性細胞が，上関節腔周囲組織内に存在し，その形態は，類円形を示す。一方，下顎頭 (C) 表層と関節円板原基間の下関節腔形成予定部位には，陽性反応は認められない。c: 下顎頭 (C) 表層に沿って配列する CD31 陽性細胞に加え，下顎頭の線維層内に垂直に侵入する陽性反応も認められる。d: c 枠内の拡大像。下顎頭表層に配列する CD31 陽性反応を示す血管内皮細胞は，これと直交するように下顎頭に侵入する血管と連続している。(Suzuki et al., Anat Rec 286A: 908-916, 2006 より許可を得て転載)

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 (図 1 a, b) が，CD31 陽性細胞は認められなかった。一方下関節腔形成予定部位では，下顎頭表層に沿って CD31 および RECA-1 陽性細胞の配列のみが認められた (図 1 c, d)。しかし，上下いずれの関節腔形成予定部位においても TUNEL 陽性を示すアポトーシス細胞は観察されなかった。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 (図 2 a, b) が下関節腔形成予定部位では陽性反応は確認されなかった。CD31 および RECA-1 陽性反応は，下顎頭表層に沿って侵入する血管に加えて，下顎頭内に直交するように侵入する血管にも強く認められた (図 2 c, d)。上関節腔形成が完成する生後 1 日目には，上関節腔周囲の形成途中の滑膜内および関節円板内に ED1 陽性細胞が存在し，また下関節腔形成開始とともに，CD31 陽性血管内皮細胞は，下顎頭表層と円板の連結部にのみ残存していた。これらの血管系の分布の変化は，墨汁注入標本において連続性が確認された。上下関節腔形成が完成する生後 3 日目以降，ED1 陽性の単球・マクロファージは，発達中の滑膜内に広く存在し，5 日目までには，滑膜表層細胞として配列する細胞も認められ，CD31 陽性反応は，滑膜の毛細血管および下顎頭線維層の血管に認められた。

【考 察】

本研究結果から，顎関節関節腔の形成は，上関節腔と下関節腔で時期，形成機序ともに異なることが明らかと

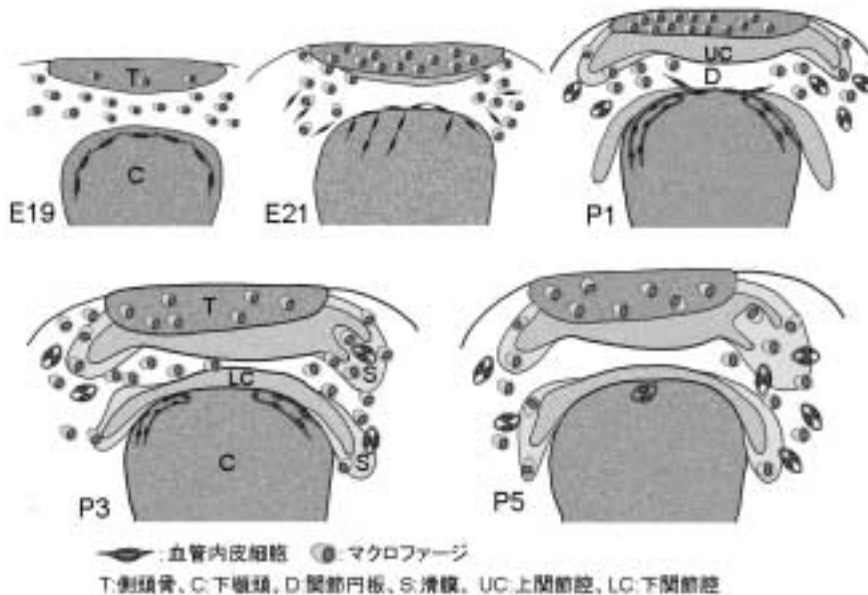


図3：ラット顎関節発生過程における血管内皮細胞およびマクロファージの分布 (Suzuki et al., Anat Rec 286A: 908-916, 2006 より許可を得て転載)

なった。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予定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血管内皮細胞、毛細血管の一過性の出現と消失が認められることから、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、腔の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、顎関節では関与しないことが示唆された。

従って、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、細胞間の拡大で残存する細胞外基質の処理に当たり、また下関

節腔形成時期に侵入する毛細血管からは、血管内皮細胞由来の組織破壊酵素が分泌され、周囲細胞外基質の分解、細胞変性を引き起こす可能性が考えられた。

【参考文献】

A Suzuki, K Nozawa-Inoue, N Ikeda, N Amizuka, K Ono, R Takagi, T Maeda: Development of the articular cavity in the rat temporomandibular joint with special reference to the behavior of endothelial cells and macrophages. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 286 (2) : 908-916, 2006.