

論文の内容の要旨

氏名：村上 嘉規

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：成長期ラットの片側鼻閉塞が脾臓NK細胞に及ぼす影響

成長期におけるアレルギー性鼻炎や扁桃肥大・副鼻腔炎などの鼻咽腔疾患に伴う鼻閉塞は、正常な鼻呼吸を阻害し口呼吸を引き起こす。成長期における鼻閉塞に伴う鼻から口への呼吸パターンの変化は、頭位、顎位、ならびに舌位を変化させ、結果として下顎骨の後下方回転・上下顎歯列弓の狭小・臼歯の過萌出に伴う顔面高の増大などを引き起こし、顎顔面複合体の正常な発育を阻害すると報告されている。全身的な影響として、鼻閉塞に伴う代償的な口呼吸は酸素供給量を低下させ、軽度の低酸素状態を惹起している。重度の低酸素症はチアノーゼや低酸素脳症、中枢神経障害といった症状を引き起こすが、軽度低酸素状態による生体に及ぼす影響に関しては、現在に至るまで多くは報告されていない。また、低酸素状態がヘルパーT細胞の分化を促進させると報告されているが、免疫細胞に対する酸素濃度の影響についての報告はいまだ少ない。そこで、本研究は鼻閉塞が免疫細胞にどのような影響を及ぼすか検証するために、成長期ラットに鼻閉塞モデル及び軽度低酸素モデルを用いて、経皮動脈血酸素飽和度（SpO₂）と脾臓ナチュラルキラー（NK）細胞への影響について検討した。

6週齢のWistar系雄性ラット（n=120）を使用した。鼻閉塞モデルにおいて、ラット（n=60）は、全身麻酔下で歯科用縮成型シリコン印象材を流し込み、片側鼻腔の完全閉鎖術を行う鼻閉塞群（n=30）と全身麻酔処置による偽手術を施した対照群（n=30）で比較した。軽度低酸素モデルにおいて、ラット（n=60）は、大気中の空気と窒素（窒素ガスボンベからの供給）の混合気を0.1%単位で酸素濃度を調整することができる酸素コントローラーを用い、混合気を供給した小動物実験用チャンバー内で飼育し、18%に酸素濃度を低下させた軽度低酸素群（n=30）と通常大気化で飼育した対照群（n=30）で比較した。実験開始後の1, 3, 7, 14および21日目のSpO₂を小動物用パルスオキシメーターにて測定した。さらに、それぞれの時点で脾臓を採取し、フローサイトメトリー法を用いてリンパ球中NK細胞比率を測定した。NK細胞はCD3⁻CD161⁺として定義した。免疫蛍光染色にはFITC標識anti-rat CD3抗体、APC標識anti-rat CD161抗体を用いた。解析にはBD FACS Caliburを使用した。統計分析は各計測項目について各群共に平均値、標準偏差を算出するとともに、群間比較にはMann-Whitney U testを用いて行った。いずれにおいても危険率5%を統計的有意性の判定基準とした。

1日目から21日目まで鼻閉塞群及び軽度低酸素群のSpO₂は対照群と比較して有意に低い値を示した（ $P < 0.05$ ）。鼻閉塞群におけるNK細胞比率は1日目から21日目まで対照群と比較して有意に低い値を示した（ $P < 0.05$ ）。軽度低酸素群におけるNK細胞比率は、1日目において対照群と比較して有意に高い値を示したが（ $P < 0.05$ ）、7, 14, 21日目ではいずれも有意に低い値を示した（ $P < 0.05$ ）。

鼻閉塞群のSpO₂は実験期間を通じて約93%であり、軽度低酸素群のSpO₂と近似した値を示したことから、鼻閉塞モデルラットは軽度低酸素状態であったと考えられる。過去に軽度低酸素暴露下において、ストレス時に発現されるアドレナリン、ノルアドレナリン、グルココルチコイドに含まれるコルチゾールの血中濃度が、通常大気化と比較し有意に高かったことが報告されている。つまり、本研究における鼻閉塞に伴うSpO₂の低下により引き起こされる軽度低酸素状態においても、生体に低酸素ストレスの影響を及ぼし、NK細胞比率が減少した可能性が考えられる。

本研究は、片側鼻閉塞における軽度低酸素状態が全身に及ぼす影響を検証するため、成長期ラットを用いた片側鼻閉塞モデル及び軽度低酸素モデルを作製し、フローサイトメトリーを用いて、自然免疫の主要因子として働く細胞傷害性リンパ球の1つであるナチュラルキラー（NK）細胞への影響について検討し、以下の結論を得た。

1. 片側鼻閉塞はSpO₂を低下させ軽度低酸素状態を引き起こす。
2. 片側鼻閉塞による軽度低酸素状態はNK細胞比率を低下させる。

以上のことから、片側鼻閉塞は軽度の呼吸障害を引き起こし、成長期ラットのリンパ球中NK細胞比率を低下させることにより、免疫系に影響を及ぼす可能性が示唆された。