

成長期ラットにおける長期鼻閉塞および鼻閉塞解除による顎顔面の成長量と
NK細胞の変化

日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻

佐藤 友紀

(指導：葛西 一貴 教授)

本稿は、主となる参考論文 *Changes in maxillofacial morphology due to the improvement of nasal obstruction in rats* (*Orthodontics and Craniofacial Research* 投稿中) および副となる参考論文 成長期ラットにおける長期鼻閉塞および鼻閉塞解除による NK 細胞活性の変化 (*Orthodontic Waves-Japanese Edition* 日本矯正歯科学会雑誌 Vol 77, No 1, March 2018 掲載予定) をまとめたものである。

Abstract

We improved the experimentally reproduced rat nasal obstruction change over time and investigated the changes in the maxillofacial growth and percutaneous arterial oxygen saturation (SpO₂).

Six-week-old male Wistar rats (n=36) were divided into a control group (n=6) and a nasal obstruction group (n=30). In the nasal obstruction group, the right nostril was occluded with silicon, which was subsequently removed after a given experimental period (day 7, 21, 35, 49, and 63). These animals were then divided into groups D7, D21, D35, D49, and D63 (each n=6), according to the day at which the obstruction was released.

The SpO₂ was measured in rats with nasal obstruction at five experimental points.

The maxillofacial morphology in rats on the first day and 63 days after the start of the experiment was evaluated by micro-computed tomography. The spleen was removed from the rats of each group. The natural killer (NK) cell ratio, NK cell activity and T cell ratio in splenic lymphocytes were compared by flow cytometry.

The SpO₂ was still lower at two weeks after the improvement of the nasal obstruction in the D49 group than in the control group. Moreover, the height of the nasomaxillary complex of the D35, D49 and D63 groups was significantly smaller than that of the

control group. Furthermore, the width of maxillary bone was asymmetrically changed in the D49 and D63. In the D63 group, NK cell ratio, NK cell activity and T cell ratio were significantly lower than those in the control group.

The results of this study suggest that long-term unilateral nasal obstruction in growing rats may affect the growth of the nasomaxillary complex and reduce the SpO₂ permanently. Therefore, early improvement of nasal obstruction in rats during the growth period may improve the SpO₂ and cranial development and promote normal growth and development. Furthermore, it is suggested that early improvement of nasal obstruction may improve NK cell function.

緒 言

鼻呼吸は咀嚼および嚥下などの頭頸部の機能的活動と高度に関連し、顎顔面の正しい成長発達に関与している(1,2)。近年、アレルギー性鼻炎、扁桃肥大による呼吸障害を有する小児が増えており、その後天的な原因である口呼吸や舌突出癖は小児の顎顔面の成長に影響を及ぼしている(3,4)。小児における慢性的な口呼吸は、鼻上顎複合体の正常な発達に悪影響を及ぼし、結果として、下顎の時計回りの回転、上下の歯列弓の狭小化ならびに顎顔面形態の発育異常を引き起こす(5,6,7)。

さらに、上気道閉塞による口呼吸は低酸素症を引き起こす可能性がある(8)。Mbamら(9)によると、臨床的に扁桃肥大と診断された口呼吸の子供は、正常な子供よりも低レベルの経皮動脈酸素飽和度(SpO_2)を示し、さらにLundbergらの研究(10)では、鼻呼吸中に副鼻腔内で生成される血管拡張ガスである酸化窒素(NO)の生成を口呼吸が低下させるため、口呼吸時の動脈酸素圧(PaO_2)は鼻呼吸と比較して減少したと報告している。すなわち、鼻咽頭疾患による代償性の口呼吸は、組織レベルでの酸素供給を低下させることに加えて、軽度の低酸素症を引き起こす可能性がある。

また、小久江ら(11)の口呼吸における全身への影響に関するアンケート調

査によると、口呼吸をしている児童は鼻呼吸をしている児童より風邪をひきやす
いとの答えが多かったと報告しており、鼻閉塞による軽度低酸素状態が免疫
応答に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

生体防御の第一線の防御であるナチュラルキラー（ Natural killer; NK ）細胞
は自然免疫機構で非特異的に働く細胞傷害性リンパ球であり、殺傷すべき標的
細胞を識別している。NK 細胞活性を誘導する活性化受容体の一つとして CD314
受容体（ NKG2D ）が存在する。NKG2D などの活性化レセプターにより NK 細胞
は、ウイルスや、がん抗原、ストレスタンパク質などを認識し、活性化レセプタ
ーを介する活性化刺激によって、細胞傷害活性や IFN γ 産生を誘導する。

Murakami ら（ 12 ）は、軽度低酸素曝露モデルを用いて成長期ラットの NK 細
胞比率の変化を評価した。その結果、成長期ラットにおける軽度低酸素症への曝
露は、SpO₂ の持続的な減少および脾臓リンパ球における NK 細胞比率の低下の
可能性を示唆した。しかしながら、この研究は 21 日間と短期間での研究であり、
長期間の鼻閉塞による免疫系の変化は評価されていない。

そこで本研究では、鼻閉塞の改善が顎顔面形態にあたる影響を明らかにす
るため、ラットに片側鼻閉塞処置を施し、経時的（ 7 日、 21 日、 35 日、 49 日、 63
日 ）に鼻閉塞を解除していき、SpO₂、顎顔面の成長量、NK 細胞比率、NK 細胞活
性率ならびに T 細胞比率について検討した。

試料および方法

1. 実験動物

実験には生後 6 週の Wistar 系雄性ラット (n=36) (三共ラボサービス, 東京) を使用した。飼育条件は, 室温 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, 12 時間明暗サイクル (点灯時間: 午前 7 時, 消灯時間: 午後 7 時) とし, 個別に金網ゲージにて飼育した。飼育期間中は, 固形飼料および飲料水を自由に摂取させた。全ての動物実験は日本大学動物実験運営内規に基づき, 松戸歯学部動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号 第 AP15MD025 号)。

2. 鼻閉塞モデルの作製

片側鼻閉塞は Scarano らの方法 (13) を参考に, 生理食塩水に希釈した三種混合麻酔薬 (塩酸メドミジン 0.15mg/kg , ミダゾラム 2mg/kg , 酒石酸ブトルフェール 2.5mg/kg) を腹腔内投与し, 全身麻酔下で片側鼻腔に歯科用シリコン印象材 (ジーシー(株), 東京) を右側鼻腔内に流し込み, 封鎖した。対照群には偽手術を施した。対照群 (n=6) と鼻閉塞群 (n=30) に分けた。さらに鼻閉塞群は, ラットの鼻閉塞を行っていたシリコンを経時的に除去し, (7 日目で除去 : D7, 21 日目で除去 : D21, 35 日目で除去 : D35, 49 日目で除去 : D49, 63 日目で除去 : D63) の 5 つの群に分けた (Fig. 1)。前述の期間でラットの鼻閉塞を

行っていたシリコンを除去し、実験期間 63 日目ですべてのラットを炭酸ガスにて安楽死させ脾臓を摘出した。

3. 経皮動脈血酸素飽和度 (SpO₂) の測定

経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO₂) は、小動物用パルスオキシメーターを使用した。SpO₂ の測定には Mouse Ox システム (STARR Life Sciences, USA) を用いて実施した。Mouse Ox システムは実験開始後、鼻閉塞群、対照群共に覚醒下でラット頸部にセンサーを装着し測定した。すべてのデータは MouseOx ソフトウェア (STARR Life Sciences, USA) を用いて解析した。SpO₂ は、0, 7, 21, 35, 49, 63 日の時点で測定した。所定の実験期間後の鼻閉塞群 (D7, D21, D35, D49, D63) は、鼻閉塞を除去した状態で計測を行った。

4. 試料採取

1) 体重変化

実験開始後、7 日毎に体重測定した。

2) 顎顔面の成長量の変化

顎顔面の成長量の変化は、麻酔下にて実験 0 日目と 63 日目にマイクロコンピュータ断層撮影 (Rigaku- μ CT, Tokyo, Japan) によって測定した。スキャンは、管電圧 90kV, 管電流 160mA, および画像ピクセルサイズ 11.72 μ m で行った。データはまた、三次元画像解析ソフトウェアプログラム (TRI / 3D-BON; Ratoc

System Engineering, Tokyo, Japan) を用いて解析した。計測点の定義および計測項目を示した (Figs. 2A, B)。

3) リンパ球の分離および細胞数の調整

ラットから脾臓を採取し、組織培養皿上でシリンジのプランジャーで押しながらか脾臓から細胞を分離し、2% new born calf serum (Wako, 大阪) を含む RPMI1640 (Wako, 大阪) に浮遊させ、lysing buffer (Wako, 大阪) にて赤血球を破壊しリンパ球を分離した。セルストレーナーを通して組織と脾細胞懸濁液とを分離後、血球算定板にてリンパ球数を算定し細胞数の調整を行った。

5. フローサイトメトリー

ラットにおける NK 細胞は $CD3^- CD161^+$ 表面マーカーを発現する大型リンパ球であり、脾臓 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 (Biolegend, CA, USA) , APC 標識 anti-rat CD161 抗体 (Biolegend, CA, USA) , PE 標識 anti-rat CD314 (NKG2D) 抗体 (BD bioscience, CA, USA) を用いた。解析には FACS Calibur (BD bioscience, CA, USA) を使用した。標識抗体と同じアイソタイプの抗体 (FITC 標識 Mouse IgM, κ isotype Control 抗体, APC 標識 Mouse IgG1, κ isotype Control 抗体, PE 標識 Mouse IgG1, κ isotype Control 抗体) を、ネガティブコントロールとして使用した (Fig. 3)。

6. 統計分析

対照群と鼻閉塞群の比較をすべて Mann-Whitney *U*-test を用いて行った。いずれにおいても有意水準は $P < 0.05$ とした。

結 果

1. 体重変化

すべての計測日で、対照群と鼻閉塞群とを比較してすべての群において体重変化に差は認めなかった (Fig. 4)。

2. SpO₂

SpO₂ は片側鼻閉施術後、すべての群において約 93%と対照群に比べて有意に減少した (Fig. 5A)。7日目、21日目での SpO₂ 計測日において、D7, D21 群の鼻閉塞シリコン除去後の SpO₂ は、対照群と同様であった (Figs.5B, C)。35日目の SpO₂ 計測日において、D35 群の鼻閉塞シリコン除去後の SpO₂ はやや低い数値を示したが、有意差は認められなかった (Fig.5D)。49日目と63日目での SpO₂ 計測日において、D49 および D63 群の鼻閉塞シリコン除去後それぞれの SpO₂ は対照群と比較し有意に低かった (Figs.5E, F)。D49 群では鼻閉塞改善2

週間経過後（63日目）においても SpO₂ は有意に低い数値を示した（Fig.5F）。

3. 顎顔面の成長量の変化

Fig. 6 は、実験期間中の鼻閉塞の改善による頭蓋顔面の成長量の変化を示す。X1-P, X2-P および X1-X2 の幅は、いずれの群においても変化しなかった。しかし、頭蓋前部において D7, D21 および D35 群で L1-O は対照群と比較して差はなかったが、D49 および D63 群で L1-O は有意に大きかった。また、D63 群では、L2-O の幅が対照群と比較して有意に小さかった。実験期間中、A-I（頭蓋骨の距離）に差はみられなかったが、E-U（鼻上顎複合体の高さ）においては D35 群, D49 群, D63 群で対照群と比較して有意に小さかった。

4. リンパ球中 NK 細胞比率

63日目の脾臓リンパ球中NK細胞比率（Fig. 3B; R2）において、対照群と比較して D7, D21, D35, D49 群に差は認められなかったが、D63 群において有意に減少した（Fig. 7）。

5. リンパ球中 NK 細胞活性率（NKG2D）

63日目の脾臓リンパ球中NK細胞活性率（Fig. 3C）において、対照群と比較して D7, D21, D35, D49 群に差は認められなかったが、対照群と比較して

D63 群において有意に減少した (Fig. 8)。

6. リンパ球中 T 細胞比率

63 日目の T 細胞比率において, 対照群と比較して D7, D21, D35, D49 群に差は認められなかったが, 対照群と比較して D63 群において有意に少なかった (Fig. 9)。

考 察

本研究は実験開始時 6 週齢ラットに片側鼻閉を 63 日 (9 週間) 行った。成長期ラットの SpO₂ は成長とともに変化する可能性があり, ラットの肺において肺胞の形成や肺胞中隔の発生および毛細血管の成長などの構造変化が約 5 週齢までの間に成長は完了するとの報告がある (14, 15)。Uchima らの研究 (16) によると, ラットの乳児期から徐々に SpO₂ が低下していき, 5 週齢で安定し, 少なくとも 5 週齢から実験終了の 11 週齢までは同程度の SpO₂ を示したと報告されている。そのため, 今回の研究では 6 週齢のラットを用いて, 成熟期になる 15 週齢まで実験に供した。実験の結果, 体重変化においてすべての群で差は認められなかった。また, 鼻閉塞解除後も体重増加や減少などは認められなかった。これらの結果は, 片側鼻閉が体重に影響を及ぼさなかったという舟木らの研究 (17) と一致している。

ヒトの血中の SpO₂ は、96~99% が理想とされ、95% 以下で何らかの呼吸障害が疑われる(18)。慢性的な組織の低酸素状態は、腎臓でのエリスロポエチン分泌が増加させ、赤血球増加に伴い、中枢性のチアノーゼを引き起こし SpO₂ を低下させる。本研究において SpO₂ の変化は片側鼻閉施術後、7 日目から 63 日目まで約 93% で対照群と比較し有意に減少し、鼻閉塞は軽度低酸素状態であったと考えられる。計測を行った 7, 21, 35 日目でそれぞれ鼻閉塞を解除した群は SpO₂ の改善が認められた。また、49, 63 日目で鼻閉塞を解除した D49, D63 群では SpO₂ が 95% 以下の低い数値を示し、さらに D49 群の 63 日目でも SpO₂ は低い数値を示し続けた。顎顔面の成長量においても、D49, D63 群で L1-O の大きい値、L2-O, U-E の小さい値が認められ、片側鼻閉塞は、結果的に鼻上顎複合体の垂直方向の発達を減少させた。軽度低酸素状態を伴う片側鼻閉塞はストレスの多い状況であり、Padzys ら(19)はラットの早期鼻閉は、ストレスにより骨代謝に関与するグルココルチコイドや甲状腺ホルモンなどの成長ホルモン顎顔面形態に影響を与え鼻上顎複合体に影響を及ぼすと報告している。また、山田ら(20)は、幼若日本ザルを用いた研究において鼻閉塞がサルの上顎骨の成長方向の変化による顎顔面の垂直的不調和に影響を与えたと報告した。さらに、成長期の鼻中隔軟骨に発達異常が起こることで、鼻中隔湾曲を引き起こすとの報告もあり、その結果として顎顔面形態異常や鼻中隔

湾曲は鼻腔通気量を減少させる可能性がある (21)。Scarano ら (13) は、使用したラットの種および実験期間は本研究と異なっていたが、本研究の D49, D63 群と同様に片側鼻閉塞が上顎骨の発達に左右差を生じさせ、鼻上顎複合体の高さおよび幅を減少させたと報告している。このことから 49 日, 63 日目における D49, D63 群は、鼻上顎複合体の形態変化により鼻腔通気量が減少し、SpO₂ が減少した可能性が考えられる。また、これらの結果は鼻閉塞の早期改善が SpO₂ の回復につながる可能性があることを示唆している。

NK 細胞比率, NK 細胞活性率ならびに T 細胞比率において D63 群は対照群と比較し有意に低い値を示した。これは山口ら (12, 22) のラットによる 21 日目間の片側鼻閉塞が軽度低酸素状態により NK 細胞比率が低下したという結果と一致した。慢性的なストレスは複数の機序が働き、免疫力の低下を引き起こす。持続的なストレスにより交感神経系の興奮に伴い、リンパ球動態の変化は獲得免疫応答を弱める方向に作用する (23, 24)。T 細胞に対する主要な抗原提示細胞である樹状細胞は、 $\beta 2$ アドレナリン受容体を刺激することにより、抗原提示能およびサイトカイン産生能が低下する。また、骨代謝にも関与するグルココルチコイドの合成・分泌により NK 細胞およびリンパ球を減少させ、自律神経系ではアセチルコリンやサブスタンス P などの神経伝達物質が受容体を介して NK 細胞を含むリンパ球の機能を抑制する (25, 26)。本研究においても鼻

閉塞に伴う SpO₂ の低下が軽度低酸素状態を引き起こし、慢性的なストレスにより D63 群の NK 細胞比率, NK 細胞活性率ならびに T 細胞比率が減少したと考えられる。また, D7, D35, D49 群は鼻閉塞の改善によりストレス状態が解放されて, NK 細胞比率, NK 細胞活性率ならびに T 細胞比率が回復したと推測される。しかし, 免疫機能は NK 細胞および T 細胞だけではなく様々な細胞活性・経路があり, 今後感染状態での活性化された免疫機能も検討する必要がある。

本研究の結果から, 鼻閉塞の早期の改善が NK 細胞比率, NK 細胞活性率ならびに T 細胞比率を回復させたことから, 上顎歯列狭窄弓の患者に対して成長期における鼻閉塞の改善は SpO₂ の改善を通して, 低下した免疫機能の一部を改善する可能性が考えられる。さらに, 早期の鼻閉塞改善は, 顎顔面形態に正常な発育をもたらす SpO₂ レベルを改善するのに役立つことが示唆された。しかし, ヒトとラットの成長パターンは異なるため (27), ヒトにおいてはさらなる研究が必要である。

結 論

本研究の結果より, 成長期ラットにおける長期間の鼻閉塞は顎顔面の成長量の変化ならびに SpO₂, NK 細胞比率, NK 細胞活性率ならびに T 細胞比率を低下させるが, 鼻閉塞の早期改善によりこれらは改善する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Mattar SE, Anselmo-Lima WT, Valera FC, et al. Skeletal and occlusal characteristics in mouth-breathing pre-school children. *J Clin Pediatr Dent* 2004; 28: 315-318.
- 2) Moss ML, Salentijn L. The primary role of functional matrices in facial growth. *Am J Orthod* 1969; 55: 566-577.
- 3) Ruby P, Giorgio WC, Stephen TH, et al. WAO 情報 世界アレルギー機構 (WAO) アレルギー白書 要旨. *アレルギー* 2011; 60: 614-628.
- 4) Chung Leng Muñoz I, Beltri Orta P. Comparison of cephalometric patterns in mouth breathing and nose breathing children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2014; 78: 1167-1172.
- 5) Hulcrantz E, Larson M, Hellquist R, et al. The influence of tonsillar obstruction and tonsillectomy on facial growth and dental arch morphology. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1991; 22: 125-134.
- 6) D'Ascanio L, Lancione C, Pompa G, et al. Craniofacial growth in children with nasal septum deviation: a cephalometric comparative study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2010;74:1180-1183.
- 7) Harari D, Redlich M, Miri S, Hamud T, Gross M. The effect of mouth breathing versus nasal breathing on dentofacial and craniofacial development in orthodontic patients. *Laryngoscope* 2010;120: 2089-2093.
- 8) Niaki EA, Chalipa J, Taghipoor E. Evaluation of oxygen saturation by pulse-oximetry in mouth breathing patients. *Acta Med Iran* 2010; 48: 9-11.

- 9) Mbam TT, Adeosun AA, Akinyemi OA, et al. Comparing oxygen saturation of normal children with that of children with adenotonsillar hypertrophy. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 2014; 66: 173-177.
- 10) Lundberg Jo, Settergren G, Gelinder S, et al. Inhalation of nasally derived nitric oxide modulates pulmonary function in humans. *Acta Physiol Scand* 1996; 158: 343-347.
- 11) 小久江 由佳子, 猪狩 和子, 小松 偉二, 他. 小児の口呼吸に関する実態調査 —保育園年長児の保護者に対するアンケート調査—. *小児歯誌* 2003; 41: 140-147.
- 12) Murakami Y, Yamaguchi M, Sato T, et al. Exposure to Mild hypoxia associated with oral breathing affects the NK cell ratio in the spleen. *Int J Oral-Med Sci* 2016; 14: 67-73.
- 13) Scarano E, Ottaviani F, Di Girolamo S, et al. Relationship between chronic nasal obstruction and craniofacial growth: an experimental model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1998; 45: 125-131.
- 14) Bolle I, Eder G, Takenaka S, et al. Postnatal lung function in the developing rat. *J Appl Physiol* 2008; 104: 1167-1176.
- 15) Tschanz SA, Makanya AN, Haenni B, et al. Effects of neonatal high-dose short-term glucocorticoid treatment on the lung: a morphologic and morphometric study in the rat. *Pediatr Res* 2003; 53: 72-80.
- 16) Uchima Koecklin KH, Hiranuma M, Kato C, et al. Unilateral nasal obstruction during later growth periods affects craniofacial muscles in rats. *Front Physiol* 2017; 7: 669. doi: 10.3389/fphys.2016.00669.
- 17) Funaki Y, Hiranuma M, Shibata M, et al. Effects of nasal obstruction on maturation

- of the jaw-opening reflex in growing rats. Arch Oral Biol 2014; 59: 530-538.
- 18) 相澤 久道, 阿部 直, 安藤 守秀, 他. 呼吸機能検査ガイドライン~血液ガス, パルスオキシメーター 第4版. 東京: メディカルビュー社, 2006: 34-37.
- 19) Padzys GS, Tankosic C, Tralalon M, et al. Craniofacial development and physiological state after early oral breathing in rats. Eur J Oral Sci 2012; 120: 21-28.
- 20) Yamada T, Tanne K, Miyamoto K, et al. Influence of nasal respiratory obstruction on craniofacial growth in young *Macaca fuscata* monkeys. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1997; 111: 38-43.
- 21) 高橋 良. 鼻中隔の成立と鼻中隔彎曲の成因について. 耳鼻展望 1986; 29: 1-124.
- 22) 山口 大, 村上 嘉規, 佐藤 友紀, 他. 鼻閉塞が成長期ラットにおける脾臓NK細胞比率に及ぼす影響. 日矯歯誌 2016; 75: 126-132.
- 23) Grebe KM, Hickman HD, Irvine KR, et al. Sympathetic nervous system control of anti-influenza CD8+ T cell responses. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106: 5300-5305.
- 24) Herve J, Dubreil L, Tardif V, et al. β 2-Adrenoreceptor agonist inhibits antigen cross-presentation by dendritic cells. J Immunol 2013; 190: 3163-3171.
- 25) 小島 英史. ストレスと免疫系: 細胞性免疫を中心に. Animus 2008; 13: 21-24.
- 26) Vuletić AM, Jovanić IP, Jurišić VB, et al. In-vitro activation of natural killer cells from regional lymph nodes of melanoma patients with interleukin-2 and interleukin-15. Melanoma Res 2015; 25: 22-34.

27) Losken A, Mooney MP, Siegel MI. Comparative cephalometric study of nasal cavity growth patterns in seven animal models. Cleft Palate Craniofac J 1994; 31: 17-23.

図 説

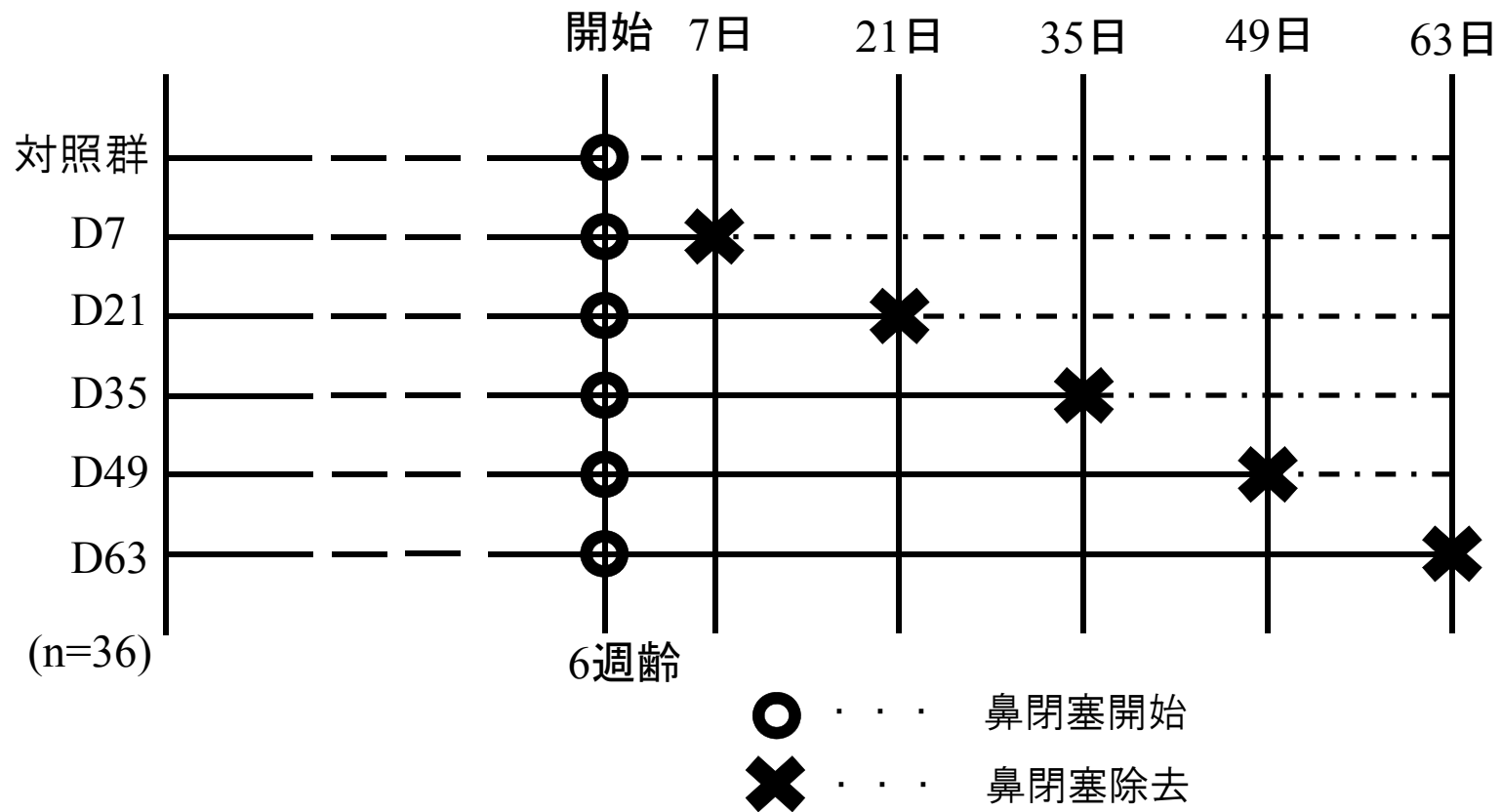


Fig. 1 実験スケジュール

鼻閉塞は開始日から、それぞれ7, 21, 35, 49, 63日目の時点で鼻閉塞を除去し、最終日ですべてのラットの脾臓を取り出した。

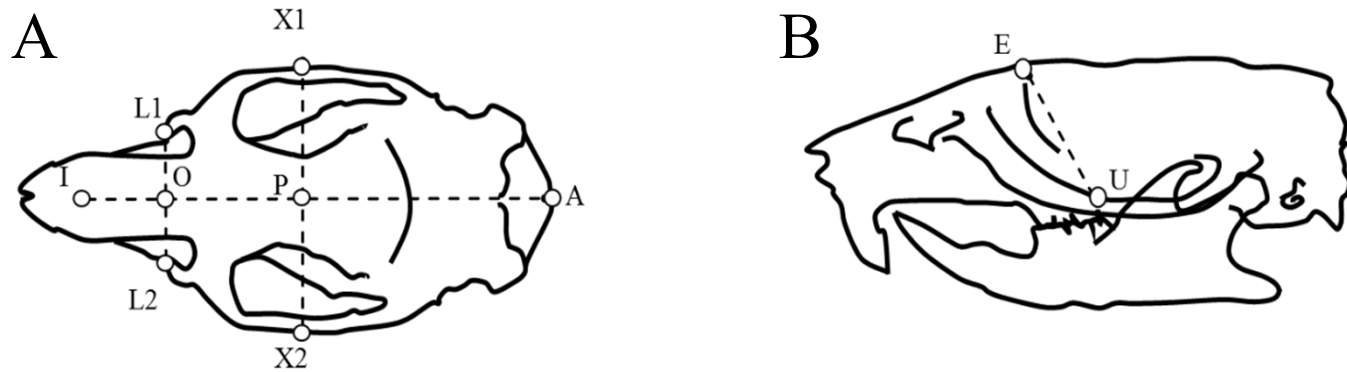


Fig. 2 顎顔面形態の計測点および計測項目

- A: 切歯の最後方点
- I: 後頭骨の最後方点
- L1: 上顎右側頬骨の最前方点
- L2: 上顎左側頬骨の最前方点
- O: L1-L2とA-Iの交点
- X1: P点を通り右側頬骨に接する点
- X2: P点を通り左側頬骨に接する点
- P: 蝶形骨軟骨結合中点
- E: 鼻骨と前頭骨の交点
- U: 上顎洞底と第3大臼歯遠心面との交点

- A-I: 点Aから点Iの距離 (頭蓋骨の距離)
- L1-O: 点L1から点Oの距離 (右側上顎骨の距離)
- L2-O: 点L2から点Oの距離 (左側上顎骨の距離)
- L1-L2: 上顎骨の距離
- X1-X2: X1-X2の距離 (頬骨弓の距離)
- X1-P: 点X1から点Pの距離
- X2-P: 点X2から点Pの距離
- E-U: 点Eから点Uの距離 (鼻上顎複合体の高さ)

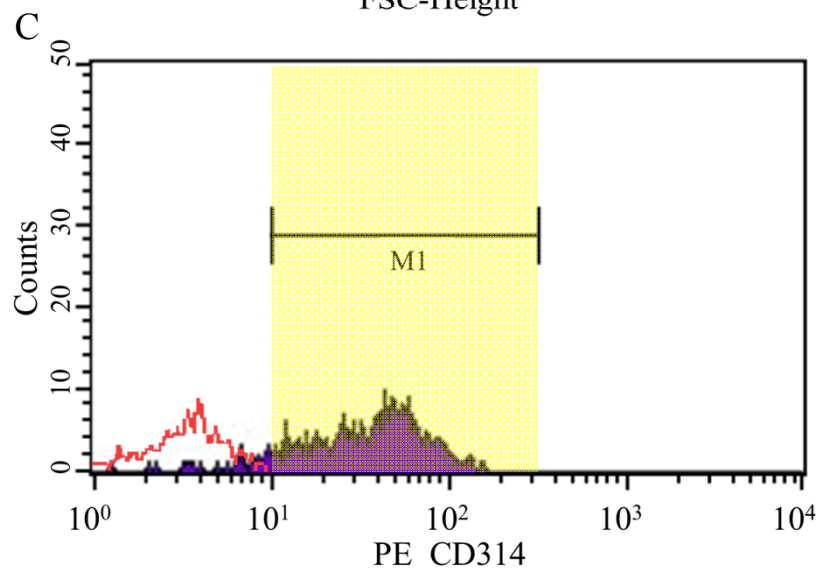
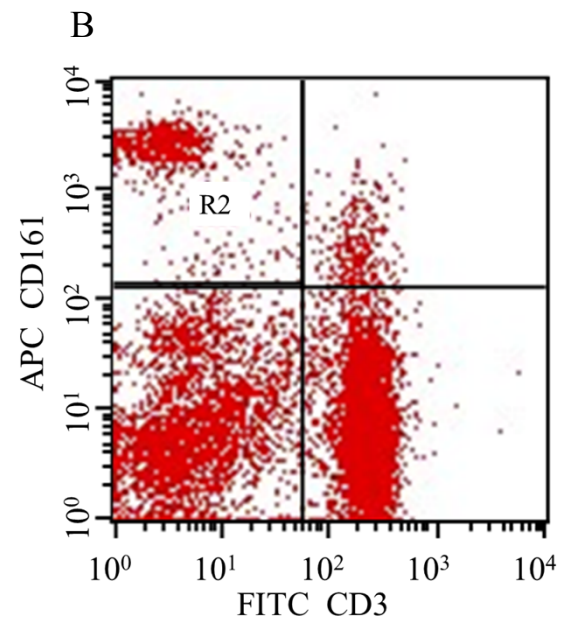
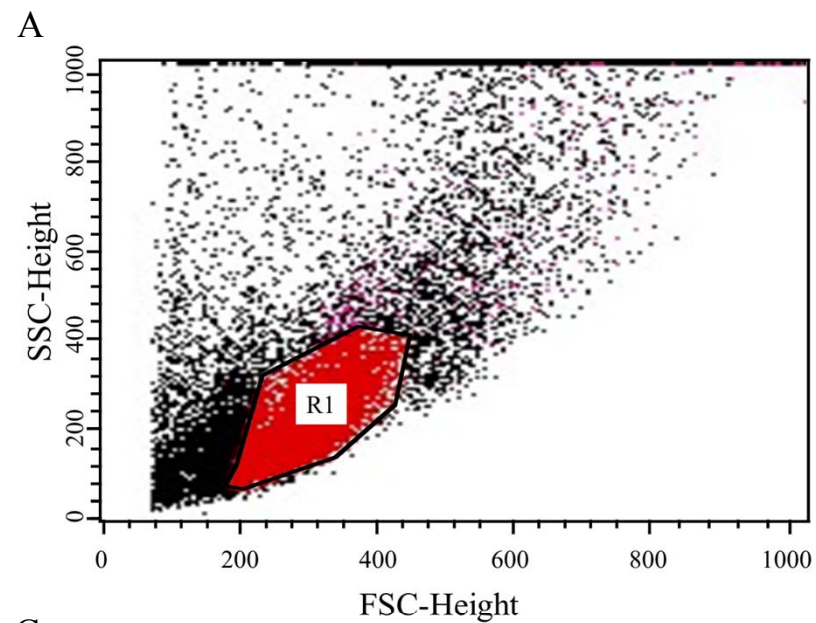


Fig. 3 フローサイトメトリーによるFACS像

A: 白血球中のリンパ球 (R1) を分画した。

B: CD3 抗体, CD161 抗体を用いて NK 細胞 (R2) を展開した。

C: NK 細胞 (R2) から CD314 抗体を用いて NK 細胞活性率 (M1) を展開した。

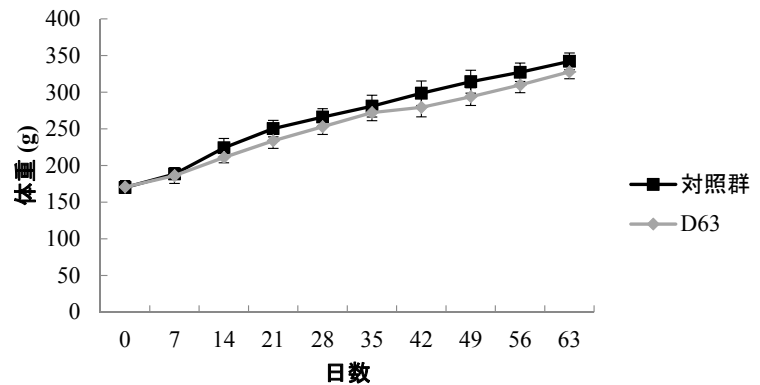
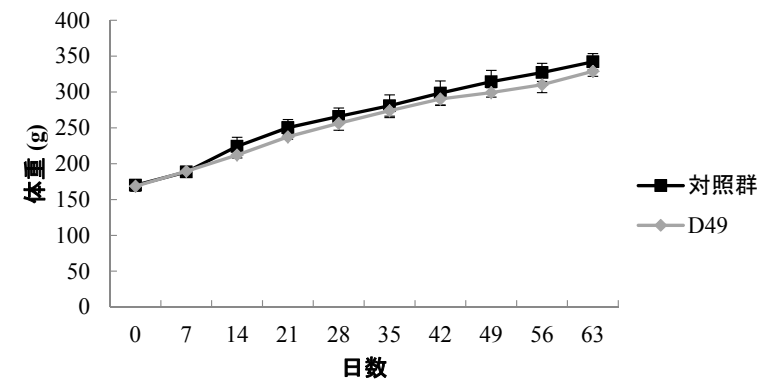
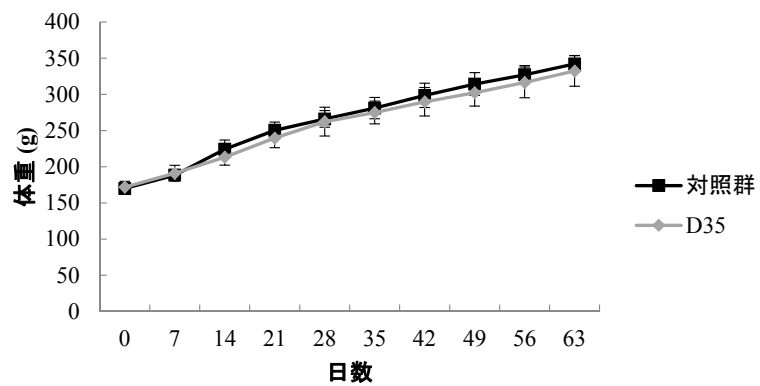
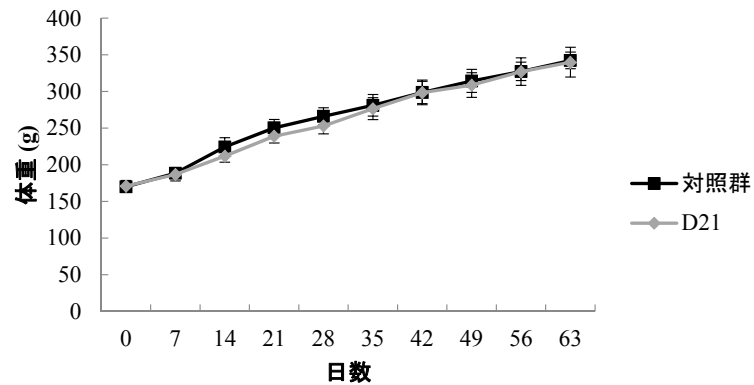
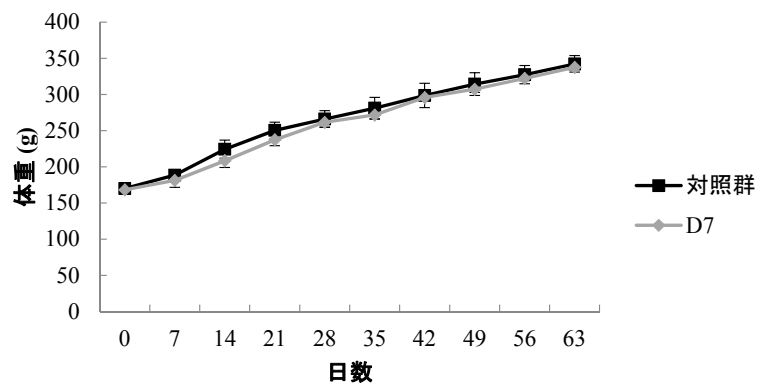


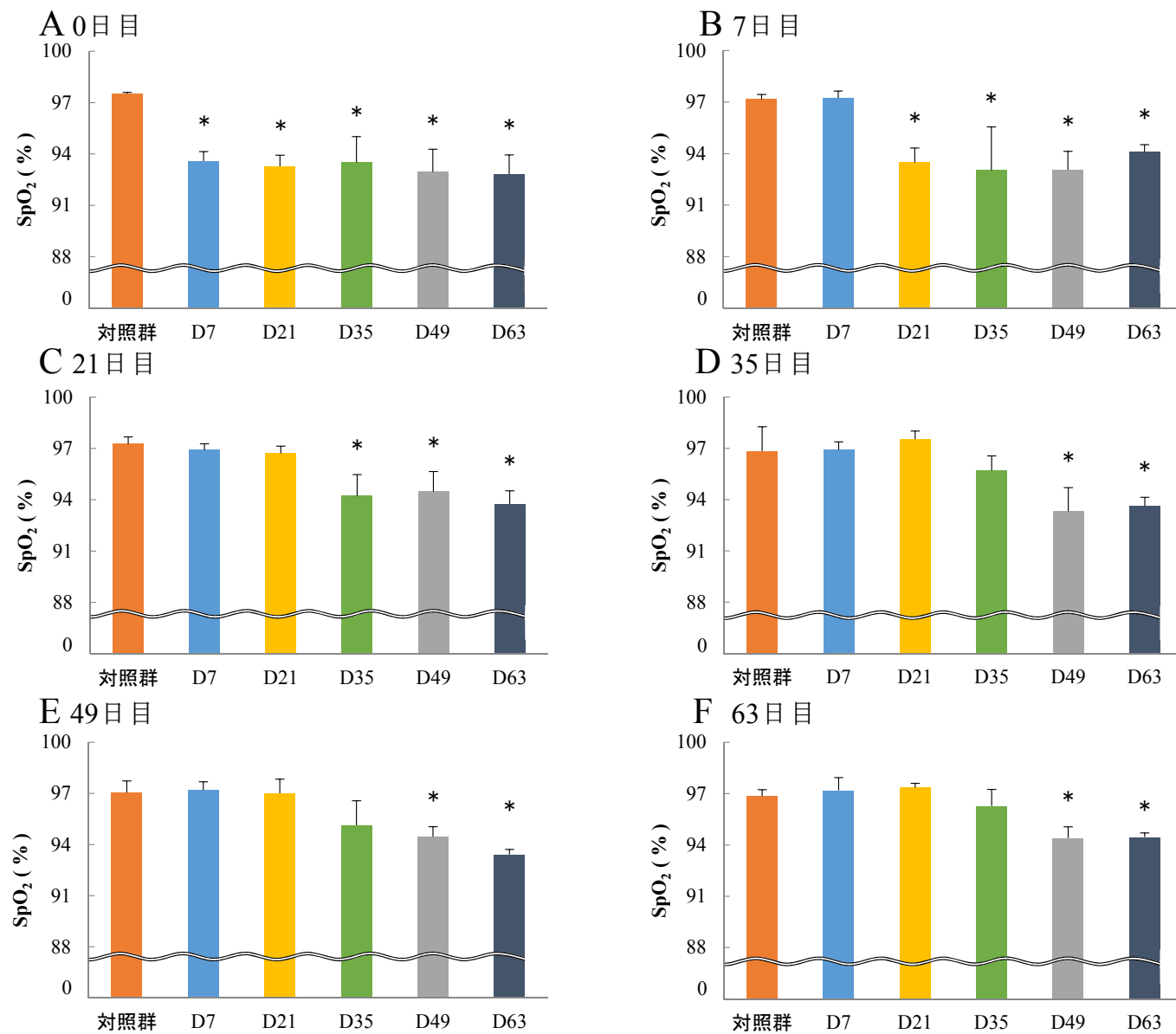
Fig. 4 体重変化

対照群と比較してすべての群において
差は認められなかった。

Fig. 5 経皮動脈血酸素飽和度 (SpO₂) の測定

49日目, 63日目での SpO₂ 計測日において, D49, D63群の鼻閉塞シリコン除去後それぞれの SpO₂ は低い数値を示し, 対照群との有意差を認めた (E, F)。D49群での鼻閉塞改善2週間経過後 (63日目) において, SpO₂ は低い数値を示し, 対照群との有意差を認めた (F)。

(* : $P < 0.01$)



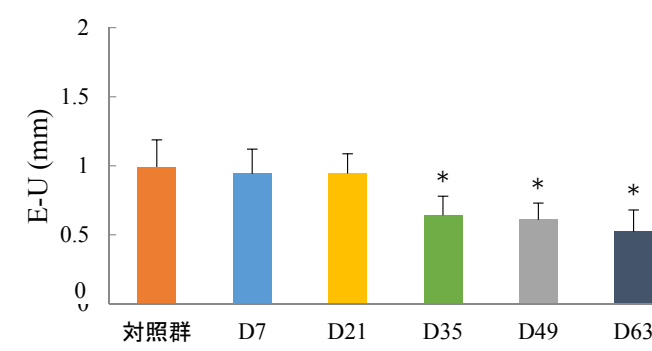
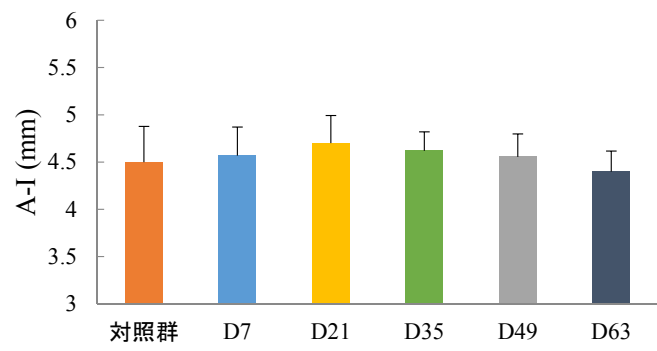
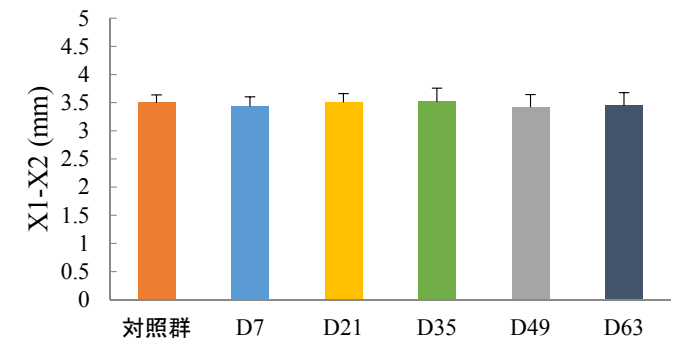
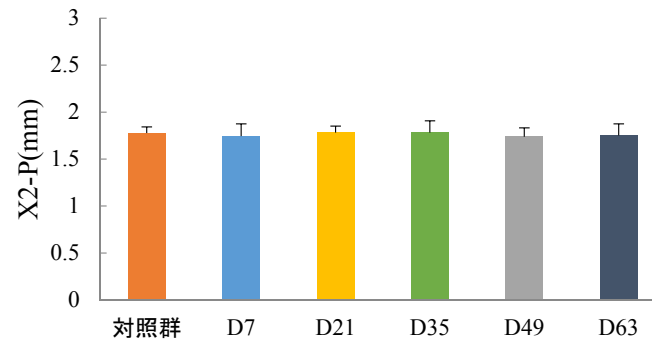
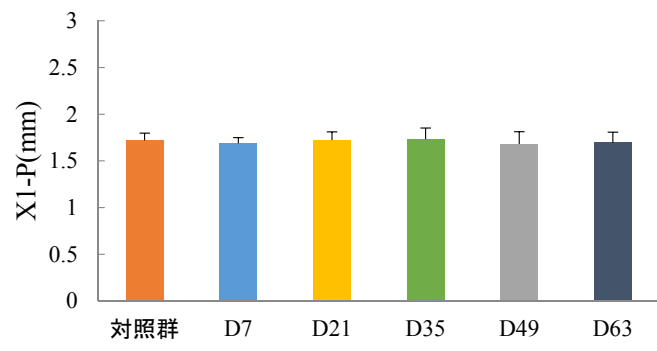
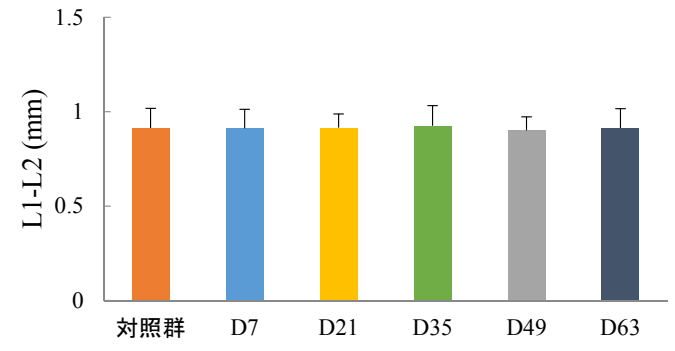
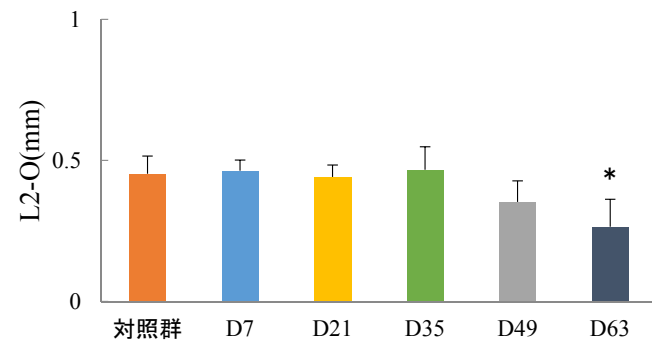
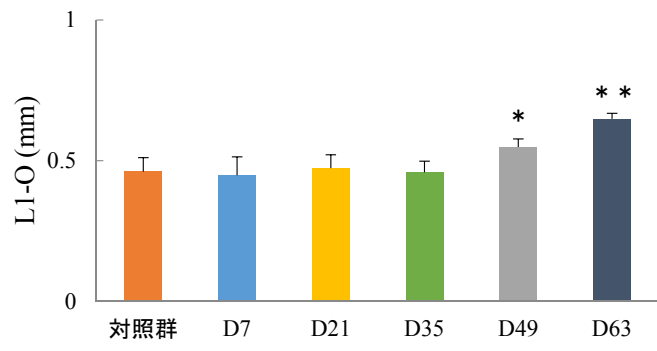


Fig. 6 顎顔面の成長量の変化
 実験期間中の鼻閉塞の改善による
 頭蓋顔面の成長量の変化を示す。
 (*: $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$)

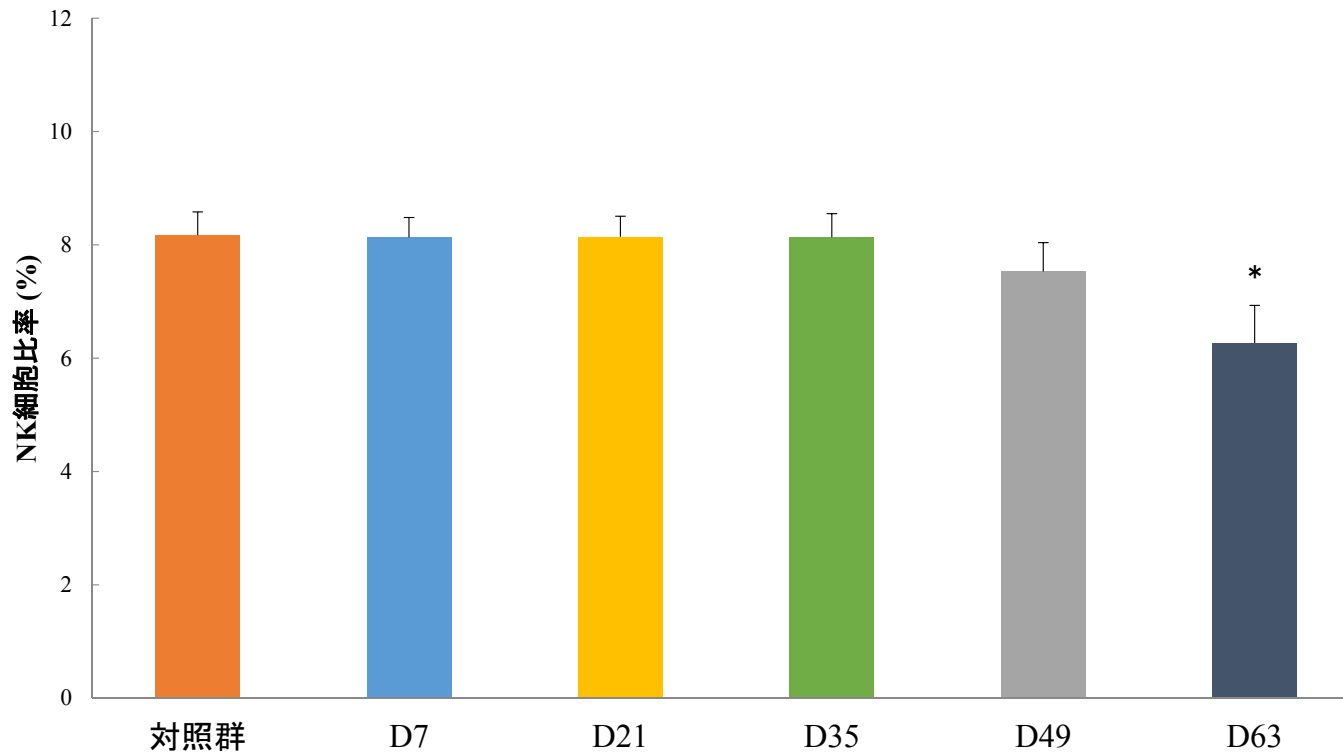


Fig. 7 リンパ球中NK細胞比率の評価

対照群と比較して D63 群においての NK 細胞比率は有意に減少した。 (* : $P < 0.05$)

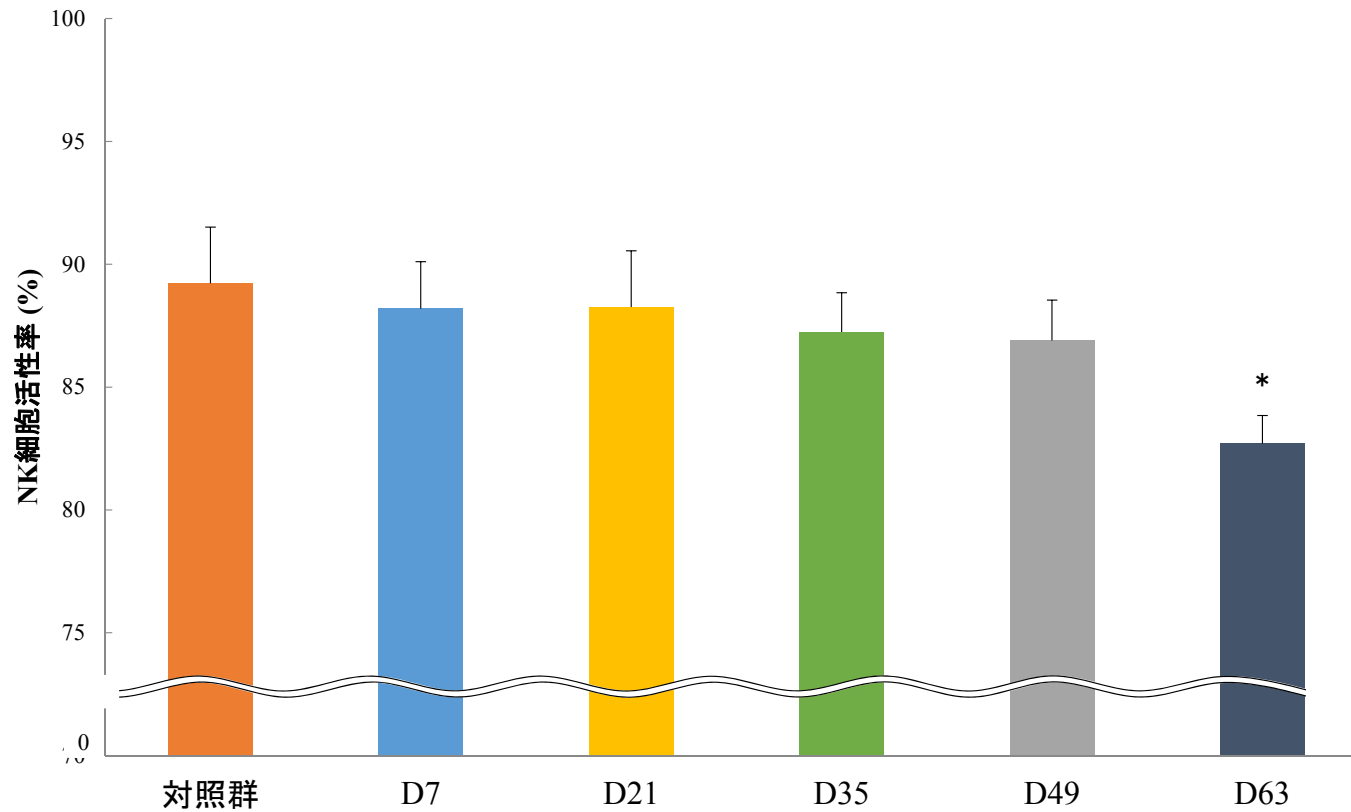


Fig. 8 リンパ球中NK細胞活性率の評価

対照群と比較してD63群においてのNK細胞活性率は有意に減少した。(* : $P < 0.05$)

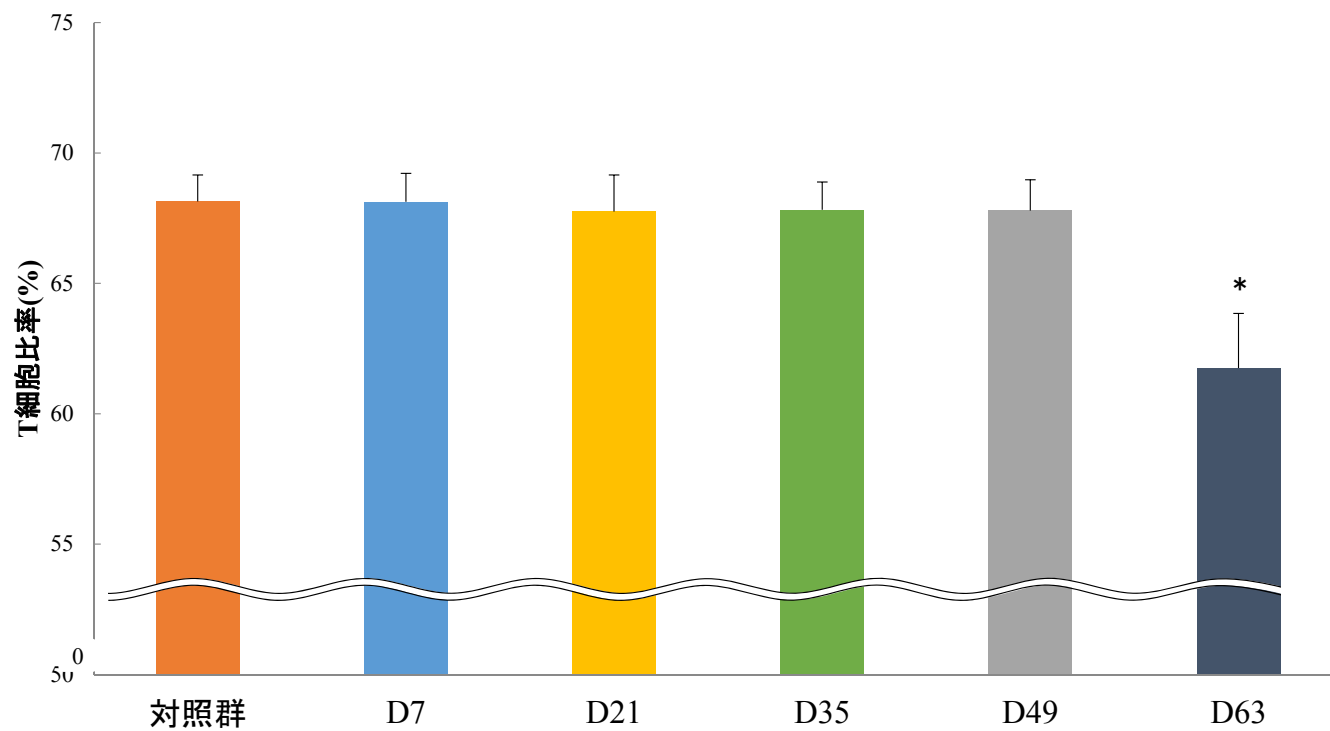


Fig. 9 リンパ球中 T 細胞比率の評価
対照群と比較して D63 群おいての T 細胞比率は有意に減少した。
(* : $P < 0.05$)