技 術 紹 介

歯学とくに歯科矯正学における実験動物としての
小型ブタ (miniature pig) の使用

野口規久男 黒田敬之中邨隆子

東京医科歯科大学歯学部矯正学教室 (主任: 三浦不二夫教授)

(昭和51年1月14日受付)

The Miniature Pig as an Experimental Animal
in Dental Research, especially in Orthodontics

Kikuo Noguchi, Takayuki Kuroda, Takako Nakamura

Department of Orthodontics, School of Dentistry

Tokyo Medical and Dental University

(Director: Prof. Fujio Miura)

はじめに

動物実験にあたり、研究目的に即した動物の選択は、きわめて重要な意義をもっている。すなわち、同一実験処置に対しても異なった反応が観察される場合があり、その原因は動物の種や系統の違い、あるいは成長過程の相違に起因することも少なくない。ラットやモルモットは実験動物としての扱いやすさからいえば実に簡便ではあるが、歯や顎骨の大きさ、形などがヒトのそれと比べて著しく異なり、実験対照としての相似性に難点がある。ヒトに最も近いサルにしても、出生・成長歴の不明な野性ザルの使用は、成長発育に関する実験を計画する上において、実験の均一性や再現性に問題が生じてくる。最近とくに注目されてきている動物として、小型ブタ (miniature pig) があげられるが、著者らはこの動物について、歯学とくに矯正学の立場から、実験動物としての利失を検討してみる機会を得たので、ここに紹介し

てみたい。

I. 実験動物としてのブタの一般的利点

ブタは古くから実験動物として、有用なものとして認められているが、その主要な理由を次にあげてみる。第1は解剖学的構造が人体と多くの類似点を有していることである。ことに消化器系、循環器系、皮膚などがきわめてヒトのそれに類似している。したがってヒトのモデルとして、その応用範囲が臨床各科にわたっている。第2の理由として医学的ないしは生物学的にわれわれの希望する条件下で飼育管理できる点にある。とくに SPF (specific-pathogen-free) 化が可能であることは、野性サルや捕獲イヌに比べてきわめて有利な点であろう。その他の理由として、飼育が簡単であり、比較的経済的であり、発育の早いことなどがあげられる。また感染にも強く、一腹の産子数が比較的多いので、個体差の小さい実験ができるともいわれている。しかしブタならどの品種の

ブタでもよいというわけではなく、実験の便宜上、小型ブタが必要とされてきたわけである。

II. 小型ブタの系統について

小型ブタの系には、ミネソタ系、ネブラスカ系、ピットマンムア系などがよく知られている。ミネソタ系はミネソタ大学ホームル研究所の依頼により、L. M. Winter の遺伝学的指導のもとに育種がなされた。M. E. Weaver ら¹⁾ はピットマンムア系を用いて、1962年をはじめて歯科領域における小型ブタの利用の有用性を報告している。この系は1967年に日本生物科学研究所が輸入し、小淵沢の実験動物研究所で繁殖を行っている。またドイツのゲッティンゲン大学では、ミネソタ系とベトナム系を基礎畜として独自の小型ブタの開発がなされている。J. C. Bodegon²⁾ はこの系を用いて、歯の萌出に関して広範な研究を行った。現在わが国で容易に入手できる系は、上記ピットマンムア系と日本家畜研究所(栃木県・近江弘所長)で開発されたオーミニ (OHMINI) である。この OHMINI は太平洋戦争中にわが国に入った満州ブタを近江氏が維持継代したものに由来する。この系の育種や特徴については1971年に国際実験動物アジア太平洋会議で報告³⁾ された。著者らは現在、この系について歯科矯正学的立場から実験動物としての有用性を検討している。

III. 小型ブタの特徴

小型ブタ OHMINI は原種の血を75%あるいは87.5%含む支配ブタをそれぞれ OHMINI・750, OHMINI・875 と称する。小型ブタの解剖学的構造が人体と多くの類似点を有しているにもかかわらず、歯学領域における報告は必ずしも多くない。

(A) 成長曲線

図1は OHMINI の体重曲線である。太線は中島⁴⁾ が OHMINI・875 について発表した full feeding の場合の標準曲線である。Ohshima ら⁵⁾ によれば、1日の食餌量は2～3ヵ月までで体重の1/20, 3.5～6ヵ月までは1/30, 6ヵ月以後

図1 体重曲線
太線は日本配合飼料研究所発表⁴⁾ による。点線および細線は著者らの経験例。

1/40とすれば、生後1年の体重はほぼ30kgに保てるという。点線および細線は著者らの経験例である。著者らの飼育条件は運動可能な動物舎で育て豚用固型飼料CS-17(日本クレア)を制限して与えたにもかかわらず、2ヵ月過ぎに体重の増加をみた。体重増加をできるだけ抑制しようとして、食餌量を制限し過ぎると成長発育が阻害され死亡される例が少なくない。また、寄生虫や皮膚病とくに疥癬に罹患しやすく、この点からも動物飼育の専門家の手により管理飼育することが望ましい。

(B) 生化学的ならびに生理学的特徴

図2は OHMINI がヒトと生化学的に相似している点について、マウスと比較したものである⁶⁾。これによると OHMINI は実験動物として多用されているマウスと比較して、total lipids および triglyceride を除けば、よりヒトに近いほとんど等しいことがわかる。

また豚の胎盤は上皮絨毛膜が5, 6層からなっているために、仔豚は母豚由来の免疫グロブリンをもつことがないといわれ、免疫学的処女の状態ではじめて抗原感作を受けた場合の免疫応答に関する研究に利用されている。

各器官の構造がヒトと類似していることは、同時に各器官に共通した生理作用も類似していると考えられ、例えば冠動脈の分布や機能の類似性

図2 ヒトとの生化学的類似性
・印が OHMINI, ○印がマウス, 囲まれた部分はヒトの正常範囲(大島慧ら: 実験動物としての小型ブタ, 医学のあゆみ, 81-4: 197-198, 1972. より引用)。

は, 多くの心臓血管の生理学的研究に利用されている⁶⁾。

口腔領域で注目すべきことは咀嚼様式がヒトに類似していることであろう。ブタは雑食性であり, ヒトと同様に咬断 *incision* も臼磨運動 *trituiting* も行う点は, ヒトの顎運動様式と十分類似しているものと思われる。

(C) 咬合の発育研究

ブタがヒトと相似していることの1つとして, 咬合の発育様式があげられる。すなわち, 乳歯咬合, 混合歯咬合, 永久歯咬合それぞれを識別でき, とくに側方歯群の歯の交換の様式はヒトのそれと著しく類似し, 歯の萌出, 歯齢の検討など咬合の発育研究を行うには, 格好の実験素材と思われる。ブタの歯式は, 乳切歯 *i*, 乳犬歯 *c*, 乳臼歯 *m*; 中切歯 *I*, 犬歯 *C*, 小白歯 *P*, 大白歯 *M* とすると, 乳歯咬合: *i*₁, *i*₂, *i*₃, *c*, *m*₁, *m*₂, *m*₃, 永久歯咬合: *I*₁, *I*₂, *I*₃, *C*, *P*₁, *P*₂, *P*₃, *M*₁, *M*₂, *M*₃ となる。

小型ブタを用いた咬合の発育研究は Bodegon (1969)²⁰⁾, 乳歯咬合のみを扱った Weaver ら (1966)²¹⁾ の研究を見るにすぎない。Bodegon によれば, 乳歯咬合は生後15~18週位まで続き, 第1

大白歯は平均25週前後で咬合平面に達し, 以後側方歯群が順次交換し約1年半で永久歯咬合がほぼ完成するという。その平均的萌出順序は *m*₂→*m*₃→*m*₁→*M*₁→*M*₂→*P*₃→*P*₂→*P*₁→*M*₃ である。OHMINI を使用している著者らの場合は, 現在十分な頭数が得られてはいないが, 上記のものより若干永久歯の交換が早いようである。それにしても咬合の移り変りが1年半程度で観察しうることは霊長類では考えられないことであり, 成長にともなう変化を追突する実験に必要とされる期間としても, 大変都合のよい動物といえよう。小白歯部の萌出順序はヒトと異なるが, 歯の交換様式は, 代生歯を含む歯列の系統発生的研究に興味深いテーマを提供しているといえよう。

これらの利点に加えて, さらに矯正学分野での実験動物としての魅力は, 下顎頭の形態や下顎頭の下顎枝に対する位置的關係が, ヒトと比較的よく似ている点にある。例えば現在, 下顎頭の成長に関する研究で, 多くの未解明な問題が残されていることも, その原因の1つが, 従来これらの研究資料として, 形態や咀嚼機能がヒトとかなり異なった動物を用いていたことによるとも考えられる^{8~10)}。図3は OHMINI・875 の下顎頭の組織像である。線維性被膜, 増殖層, 硝子様軟骨, 肥大細胞層などの層状構造はヒトのそれとよく類似している。しかしながら, 軟骨の浅層から深層にいたるまで多くの毛細血管が観察されることやその周囲で線維性化骨が行われている事実はヒトでは見られない特異点である。この現象は下顎頭における石灰化のメカニズムにおいてどのような意義をもつものか大変興味深い点でもある。

(D) 頭部X線規格写真撮影法

著者らは OHMINI・875 を用いて, 次のような方法により頭部X線規格写真の撮影を行っている。

i) 麻酔

OHMINI は耳が大きく扱いやすく麻酔は比較的容易である。麻酔薬はネムブタールを用い, 生後2ヵ月位までは腹腔内に, 以後は耳静脈内に0.4 ml/kg 投与した。静脈内注射に上達すれば,

図3 OHMINI・750 (6ヵ月齢)の下顎頭組織像
(前頭断, ヘマトキシリンエオシン染色)
層状構造はヒトのそれと類似しているが、いたる所で毛細血管が観察され、その周囲で線維性化骨が行われている点はヒトと異なっている。

図4 小型ブタ用頭部固定装置
正中矢状面と film 間距離は一定に保たれ ear-rod が上下にスライドできる。正中矢状面に鉛入りのスケールが固定されている。

幼若な時からより少量で麻酔が可能となる。

ii) X線発生装置

X線発生装置にはヤマト-54P型を使用した。撮影条件は電流を 15 mA として、成長に伴う骨質の肥厚化を考慮し生後日数に応じて下記のように変化させた。

日齢	60	80	110	130
管電圧 (KVp)	60	62	64	66
曝射時間(sec.)	2.5	3.0	3.0	3.5

本条件で矯正学上必要な計測点は一部を除いて十分識別できたが、日齢による条件規定にはさらに検討の余地がある。これは成長に個体差が生じ

図5 OHMINI・875 の側方セファログラムにおける主な計測点を示す。
プロフィログラムは O 点と O-Na 平面を基準として重ね合わせた。

てきた場合、必ずしも上記の条件で望みどおりの X線写真が得られないためである。この場合むしろ麻酔時簡単な頭蓋計測を行い撮影条件を設定した方が確実であろう。

iii) 頭部固定装置

頭部が ear rod によって一定規格のもとに保持されるように、小型ブタ用頭部固定装置を考案した(図4)。正中矢状面—フィルム間距離は一定(12cm)に保たれ、ear rod が上下にスライドできるように調節されている。固定部分は ear rod と切歯部保持の3点支持にされている。焦点—頭部正中矢状面間距離は 120 cm, 焦点—フィルム間距離は 108 cm である。

iv) セファログラムを用いた研究への利用

頭蓋の成長発育の基準点として通常用いられている S 点は、sella turcica が頬骨弓に重なり判読に難点があるので、著者らは視神経管の中央を S 点の代りに O 点として用いている。成長期間を通じて視神経管は常に鮮明な透過像を示し O 点の判読が容易であった。また鼻骨と切歯骨との間に豚特有の吻鼻骨があり、鼻部から歯槽前壁にかけて鮮明な像を得るのが困難であった。図5は比較的容易に判読し得た計測点と O 点と ON plane

を基準として作製した OHMINI・875 における profilogram の一例である。第1大臼歯萌出までのものであるが、前顔面部の成長量が著しく、顎顔面の大体の成長方向が理解できると思う。セファログラムを用いて小型ブタの成長発育について研究を行う場合、すでに述べたように、環境因子による個体間の成長変異が著しく、平均成長の研究を行う場合には、かなりのバラツキを覚悟せねばならないと思われる。

(E) 骨成長の研究への応用

近年骨成長に関する研究は、研究方法の細分化にとともに膨大な数となってきているが、これからの骨成長の研究にとって、この種の小型ブタの利用のもつ意義を考えてみたい。小型ブタを骨成長の研究における実験動物として用いる場合、小型化、SPF化、ヒトとの形態と機能の類似性といった特色を活用すべきであろう。小型ブタはすでに分娩直前に帝王切開あるいは子宮切断術で無菌的にとり出され、アイソレータ内などの無菌環境で飼育されている。このようにSPF動物が容易に入手できるようになれば、微生物学の分野はもちろんのこと実験成長学の分野にも新しい応用が考えられる。従来骨組織の培養を利用して行う基質形成、石灰化の研究は、用いられる骨がほとんど胚性でかつ特殊である鳥類の骨であることが多かった。哺乳類で生前生後の幼若な諸組織が特定病原物のない状態で得られることは、骨の培養研究で多様な可能性を秘めていることが示唆される。成長が早く、4、5カ月齢で妊娠可能となり、産仔数(10~12頭)の多いことは、この種の実験条

件を有利にしているものといえよう。

稿を終るにあたり、ご校閲いただいた主任三浦不二夫教授に深甚の感謝を捧げます。

なお本論文の要旨の一部は昭和50年10月、第34回日本矯正歯科学会において発表した。

文 献

- 1) Weaver, M. E., Sorenson, F. M. and Jump, E. B.: The miniature pig as an experimental animal in dental research, Arch. Oral Biol., 7: 17-24, 1962.
- 2) Bodegon, J. C.: Experiments on tooth eruption in the miniature pig, M. D. thesis, University of Nijmegen, 1969.
- 3) Ohshima, S., Satoh, H., Nagase, S., Hirohashi, K. and Ohmi, H.: A new strain of small-sized pig originating from a chinese breed, Exp. Animals, 22: 253-259, 1973.
- 4) 大島 慧, 二宮博義, 中島泰治, 信永利馬, 西村秀雄: ミニブタの応用領域, 解剖, 飼育の研究と催奇形性試験用動物に関する考え方, 東京, 1970, ソフトサイエンス社, 3-1~19.
- 5) 大島 慧, ら: 実験動物としての小型ブタ, 医学のあゆみ, 81-4: 197-198, 1972.
- 6) Mount, L. E. and Ingram, D. L.: The pig as a laboratory animal, London and New York, 1971, Academic press.
- 7) Weaver, M. E., Jump, E. B. and McKean, C. F.: The eruption pattern of deciduous teeth in miniature swine, Anat. Rec., 154: 81-86, 1966.
- 8) 松井泰生: 顎外固定法(頤帽装置)が成長発育中の下顎骨に及ぼす影響に関する研究, 日矯歯誌, 24: 165-181, 1965.
- 9) 野口規久男: 外力を与えた際の幼若ラット下顎頭の研究, 口病誌, 37: 222-241, 1970.
- 10) 今村正史: 下顎を偏位させた際のラット下顎頭軟骨の反応, 口病誌, 40: 457-475, 1973.