

学 位 論 文 題 名

ラット歯根膜の再生過程に関する形態学的研究

学位論文内容の要旨

緒 言

損傷に対する歯周組織の修復力は、歯周病等の歯周組織の疾患の治療の際にも重要な意義を有しているが、修復機転の詳細については、今なお不明な点が少なくない。今回、著者は歯周組織の修復の過程を明らかにする目的で、ラットを用いて歯周組織に外傷性の障害を惹起し、感染等が加わらない壊死巣を出現させ、その後の修復過程をそれに関与する細胞を中心として形態学的に検索した。

材料と方法

1. 組織学的検索：体重約130 gのWistar系雄ラット80匹を用いた。右上顎第1、第2臼歯歯間部に厚さ約1 mmの矯正用ゴムバンドを挿入した。挿入24時間後にゴムバンドを除去し、除去直後、6時間後、1、2、3、4、5、6、7、14、21、28、35日後にエーテルの吸入により屠殺し、右側上顎骨を取り出し、中性ホルマリンにて固定、脱灰後、通法に従い、パラフィンに包埋した。近遠心的に厚さ約4  $\mu$ mの連続切片を作製し、第1臼歯根間中隔部の歯周組織を中心に検索した。
2. 免疫組織化学的検索：組織学的検索と同様の方法で歯周組織に障害を与え、ゴムバンド除去直後、6時間後、1、2、3、4、5、7、14日後に屠殺した。屠殺1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を25mg/kgの割合で腹腔内に投与し、抗BrdUモノクローナル抗体を用いたABC法による免疫染色を施し、修復過程に関与する細胞の増殖活性を検索した。
3. 電子顕微鏡的検索：組織学的検索と同様の方法で処理を加えたWistar系ラット34匹を用い、ゴムバンド除去直後、6時間後、1、2、3、4、5、7、14、35日後に屠殺した。屠殺後ただちに4%グルタルアルデヒドで前固定、1%OsO<sub>4</sub>で後固定し、通法に従い、エボン812に包埋し、超薄切片作製後、酢酸ウラニル・クエン酸鉛二重染色を施して検索した。

## 結 果

1. 組織学的検索：ゴムバンド挿入24時間後には、歯牙の移動により、遠心根と齒槽骨は密着し、歯根膜の圧縮と壊死がみられた。ゴムバンド除去後6時間目には、圧迫部の歯根膜腔には広範囲な無細胞領域が観察された。ゴムバンド除去後1日目には、歯牙は復位し、圧迫側の歯根膜腔は牽引側の巾径とほぼ等しくなっていたが、細胞成分のほとんどみられない絮状の壊死組織が依然として広範囲にみられ、壊死組織中には好中球や食細胞が認められた。ゴムバンド除去後2日目には、周囲の健常部よりの毛細血管の伸長に伴い間葉系細胞が活発に増生し、これに伴う壊死組織の器質化が観察され、壊死部は縮小する傾向を示した。ゴムバンド除去後3日目には、壊死組織はほとんど認められなくなり、幼若な肉芽様組織により置換されていた。ゴムバンド除去後4日目には、新生された線維芽細胞が束状に配列する傾向を示し、周囲には不規則な方向性を示す幼若な線維が観察された。5日目には線維の走行に一致した細長い線維芽細胞が観察され、歯根膜線維はやや鬆疎ながら機能的配列を示していた。ゴムバンド除去後7日目には線維芽細胞による線維の産生が進み、機能的な配列傾向が強まり、明るい細胞質をもつ大型の線維芽細胞も観察された。ゴムバンド除去後14日目になると線維形成に伴う歯根膜線維の機能的配列と再付着が明瞭に観察された。大型の線維芽細胞が規則正しく配列し、線維はセメント芽細胞、骨芽細胞により産生された基質内に封入され、歯根膜の機能的構造がほぼ回復されていた。
2. 免疫組織化学的検索：BrdU陽性細胞は、ゴムバンド除去後1日目になって、主として根尖側に出現し、2日目にはセメント質側を中心としてその数を増し、壊死部にも観察された。ゴムバンド除去後3日目には、BrdU陽性細胞は減少する傾向を示していたが、セメント芽細胞の一部にBrdU陽性細胞が観察され、4日目には幼若な骨芽細胞にもBrdU陽性細胞が認められた。陽性細胞はゴムバンド除去後7日目には対照群とほぼ同様に散見される程度になっていた。
3. 電子顕微鏡的検索：壊死部歯根膜中には、細胞のさまざまな崩壊像が認められた。比較的早期から不規則な突起を伸長し、変性物を取り囲んでいる食細胞が観察された。2日目頃には無細胞領域に、血管がみられ、その周囲の小型の間葉系細胞には層板状に配列した粗面小胞体をもつものも観察され、膠原小線維の産生も認められた。7日目以降には、細胞小器官の発達した大型の線維芽細胞の周囲に、方向性をもった膠原小線維束が観察されるようになった。

## 考 察

歯間部へのゴムバンドの挿入により、24時間後には圧迫側の歯周組織に壊死巣が出現したが、ゴムバンドの除去後、壊死部の歯周組織は比較的速やかに修復され、14日以降には歯根膜線維の再付着と機能的配列が観察された。ゴムバンドの除去後1～2日後には壊死巣の周囲組織に分裂像を伴う細胞の増生がみられたが、この時期にはこのような部位に多数の BrdU 陽性細胞が観察されたことから、壊死巣の修復には周囲組織の細胞の増殖と分化が重要な役割を演じていることが示唆された。

壊死組織の貧食には、複雑な多数の突起をもつ、食細胞が主体を成しており、壊死組織がほとんど認められない幼若な線維性組織中にもしばしば観察されたことから、組織の修復機構にも関与している可能性が推測された。

組織の修復には、主として血管の増生に伴い増殖した幼若な間葉系細胞が関与しており、一部には胎生期の細胞にみられる特徴的な所見も観察された。経時的に間葉系細胞は分化の傾向を強め、線維芽細胞、骨芽細胞、セメント芽細胞により、組織の再構成が行われ、7日目以降には多数の方向性をもった膠原小線維束が観察された。このような所見から、線維の方向性を含め、組織の再構築には分化した細胞の関与が考えられた。

## 結 論

本実験の結果、一旦変性した歯周組織も、その後、感染等が加わらない条件下では、比較的速やかに修復され、歯根膜線維の再付着と機能的配列が起こることが明らかとなったが、このような修復過程において、周囲組織から増殖分化した細胞が重要な役割を演じていることが示唆された。

## 学位論文審査の要旨

主 査	教 授	雨 宮	璋
副 査	教 授	加 藤	熙
副 査	教 授	脇 田	稔

種々の障害に対する歯周組織の修復力は、歯周病等の歯周組織の疾患の治療の際にも重要な意

義を有しているが、修復機構の詳細については、今なお不明な点が少なくない。今回、本論文提出者は歯周組織の修復、特に歯根膜の再生過程を明らかにする目的で、ラットを用いて歯周組織に外傷性の障害を惹起し、感染等が加わらない壊死巣を出現させ、その後の修復過程をそれに関与する細胞を中心として形態学的に検索した。

実験には体重約130 gのWistar系雄ラット177匹を用いた。実験方法として、ラットの右上顎第1、第2臼歯間部に厚さ約1 mmの矯正用ゴムバンドを挿入した。ゴムバンドを24時間挿入した状態、24時間後にゴムバンドを除去し、6時間後、1、2、3、4、5、6、7、14、21、28、35日後にエーテルの吸入により屠殺し、通法により、パラフィン連続切片を作製した。歯周組織の修復過程の経時的变化を組織学的に検索すると共に、再生過程に出現する細胞の増殖活性を検索するために5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を用いて免疫組織化学的に検索した。また、修復過程に出現する細胞の微細構造を明らかにするために電顕的検索を行っている。

歯間部へのゴムバンドの挿入により、24時間後には圧迫側の歯周組織に壊死巣が出現したが、ゴムバンドの除去後、壊死部の歯周組織は比較的速やかに修復され、14日目以降には歯根膜線維の再付着と機能的配列が観察された。この過程で、ゴムバンドの除去後1～2日後には壊死巣の周囲組織に分裂像を伴う細胞の増生がみられたが、この時期にはこのような部位に多数のBrdU陽性細胞が観察されたことから、壊死巣の修復には周囲組織の細胞の増殖と分化が重要な役割を演じているものと考察している。

壊死組織の貧食には、多数の複雑な突起をもつ、食細胞が主体を成しており、壊死組織がほとんど認められない幼若な線維性組織中にもしばしば観察されたことから、このような食細胞が壊死組織の貧食によってのみではなく、より積極的に組織の修復機構に関与している可能性を示唆している。

組織の修復には、主として血管の増生に伴い増殖した幼若な間葉系細胞が関与しており、一部には胎生期の細胞にみられる特徴的な所見も観察された。経時的に間葉系細胞は分化の傾向を強め、線維芽細胞、骨芽細胞、セメント芽細胞により、組織の再構成が行われ、7日目以降には多数の方向性をもった膠原小線維束が観察された。このような所見から、線維の方向性を含め、組織の再構築には分化した細胞が関与しているものと考察している。

以上の結果から、一旦変性壊死した歯周組織も、その後、感染等が加わらない条件下では、比較的速やかに修復され、歯根膜線維の再付着と機能的配列が起こることが明らかにされたが、このような修復過程において、周囲組織から増殖分化した細胞が重要な役割を演じているものと結論している。

論文の審査は、審査員全員により口頭で行われた。論文提出者による要旨の説明後、主査及び副査より論文の内容及び関連事項についての質問がなされたが、いずれの質問にも明快な解答が得られた。

障害を受けた歯周組織の修復に関する研究は、歯周病の治療に際して重要な意義をもっているが、従来の研究の多くは組織学的検索を主体としたものであり、その修復機構の詳細については不明な点が少なくなかったが、本研究では組織学的検索に加えて、BrdUを用いた免疫組織化学的手法を用いて、歯周組織の修復に関与する細胞の増殖活性を明らかにし、さらにこれらの細胞の微細構造を観察することにより、歯周組織の修復過程を詳細に検討し、歯根膜の再生過程の一端を明らかにしたことが高く評価された。

また本研究において、感染等の加わらない外傷性壊死巣を惹起し、その修復過程を明らかにしたことは、歯周病の発症機構やその修復機転を検討する際にも、重要な示唆を与えるものと評価された。

以上のような本研究の成果は、口腔病理学の分野はもとより、関連領域にも寄与するところが大きく、博士（歯学）の学位授与に値するものと認められた。