

学位論文題名

酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性反応を利用した  
ヒト乳歯における破歯細胞の観察法

学位論文内容の要旨

【目的】乳歯の生理的歯根吸収に関与する破歯細胞を研究するにあたり、その存在位置を試料上で正確に把握することは困難であり、切片を作製しても破歯細胞を全く認めない試料に遭遇することも少なくない。このような欠点を補うことかできれば、破歯細胞の研究がより有効に行われるものとする。本研究は、破歯細胞や破骨細胞のマーカー酵素と考えられている酒石酸耐性酸フォスファターゼ（TRACPase）の活性反応を利用した、ヒト抜去乳歯の吸収部位における破歯細胞の存在の有無とその存在位置の同定法を確立し、この方法を用いて、任意の破歯細胞を光学顕微鏡（光顕）あるいは透過型電子顕微鏡（TEM）で観察することの有効性と優位性について検討するものである。

【材料と方法】北海道大学歯学部附属病院小児歯科外来において、局所麻酔下にて抜去された、生理的交換期に達した健全乳歯を試料とした。乳歯は、抜去後直ちに2.5%グルタルアルデヒド-3.0%パラフォルムアルデヒド混合固定液（0.06Mカコジル酸緩衝、pH7.3）で4℃、1週間浸漬固定を行った。固定後、5% EDTA 溶液（pH7.3、7%ショ糖含有）により、4℃、2カ月間脱灰した。脱灰後、歯髄腔が露出するように分割した試料片を作製し、一塊としてアゾ色素法による TRACPase 活性反応を37℃、2時間行い、吸収面に分布する陽性反応を示す領域を実体顕微鏡（実体鏡）にて観察し、顕微鏡写真撮影を行い、その後の光顕および TEM で観察された組織像との照合のための資料とした。試料片の一部は、通法に従い脱水し、acrytron E あるいは JB-4 に包埋し、薄切切片作製後、メチレン青-アズールⅡによる対比染色を施して、光顕で観察した。他の試料は、通法に従い、後固定、脱水後、Epon 812に包埋し、超薄切片作製後、ウラン、鉛の二重染色を施して、TEM で観察した。

【結果と考察】実体鏡による観察から、歯根吸収面および歯髄腔に、TRACPase 活性反応に

陽性を示す赤色の点状領域が多数認められた。しかし、陽性反応が観察されない領域も認められた。陽性反応を示す領域を顕微鏡で観察すると、大部分の点状の陽性反応は顆粒状の赤色反応産物を細胞質に有する多核巨細胞であった。この陽性細胞は、歯質の吸収窩もしくは吸収窩に隣接して存在していた。また、歯質に付着しないで歯髓腔に存在する、陽性反応を示す単核細胞もわずかながら観察された。実体鏡下で任意に特定した陽性細胞をTEMで観察すると、その多くは、吸収窩に存在し、歯質と密に接した部分に、典型的な波状縁 (ruffled border) と明帯 (clear zone) を有する、不規則な細胞外形を示す多核巨細胞で、細胞質中には、歯質に近い領域に多数の空胞が、細胞質中全体に多数のミトコンドリアが、歯質と反対領域に粗面小胞体が、核周囲に発達したゴルジ装置が観察された。これらは破歯細胞の形態学的特徴であり、歯質と接して観察された陽性細胞は、吸収期の破歯細胞であると考えられた。また、歯質に付着しないで存在する陽性細胞については、円形あるいは楕円形に近い細胞外形を示す多核巨細胞で、細胞全周に微絨毛が、細胞質中には、歯質に近い領域に多数の空胞が、全域に多数のミトコンドリアが、歯質と反対領域に粗面小胞体が、核周囲に発達したゴルジ装置が観察された。多数の空胞の中には、棒状あるいは枝状に空胞がいくつも連なったものも認められ、斜断された波状縁の一部に類似した像として観察されたが、典型的な波状縁や明帯は観察されなかった。また、歯質と反対側の細胞質中に、二次ラインゾームと思われる細胞器官も観察された。このような陽性細胞は、その存在位置や細胞内器官などから、休止期の破歯細胞であると考えられた。吸収期に比べ、休止期の破歯細胞が観察されることは多くなかった。歯髓腔に存在した、陽性反応を示す単核細胞は、TEMによる特定は困難であったが、顕微鏡下での存在位置、細胞形態などから、破歯細胞の前駆細胞と考えられた。

一方、陽性細胞が観察されなかった領域には、生理的歯根吸収の進行に対応した、3種類の異なった特徴的な組織像が観察された。それらは、a) 歯根の吸収が盛んに行われている時期の歯髓腔内壁に認められる、吸収を認めない歯質に存在する休止期の象牙芽細胞層、b) 歯髓腔内壁の吸収が行われている時期に認められる、単核細胞とその細胞突起およびコラーゲン線維の細かい束を含む細胞間物質で満たされた歯質の吸収窩、c) 歯根が認められないほど吸収が進行し、脱落が間近になった時期に認められる、歯質の吸収窩を修復するように添加されたセメント質様硬組織であった。その他に、抜歯操作の際、吸収組織が歯質より剥がれてしまい、硬組織が露出してしまった領域も、歯根吸収面に観察された。しかし、陽性細胞が観察されない領域に、破歯細胞のような多核巨細胞が観察されることはなかった。以上の結果から、ヒト抜去乳歯の歯根吸収面および歯髓腔において、TRACPase 活性反応に陽性を示す細胞は、破歯細胞であった。そ

して、それらの大部分は、歯質に接して波状縁と明帯を有する吸収期の破歯細胞であり、その他に、休止期の破歯細胞や破歯細胞の前駆細胞が含まれていることが明らかとなった。このことから、乳歯の歯根吸収面および歯髓腔に存在する陽性細胞を実体鏡で観察することにより、乳歯全体における破歯細胞の存在位置ならびにその分布を容易に把握することが可能となった。また、この方法を用いることにより、破歯細胞の存在位置が容易に把握できることから、破歯細胞の微細構造や周囲組織との関係に関する、より詳細な研究が可能となるばかりでなく、歯根吸収全体にわたる吸収の動態と破歯細胞の出現とその分布に関する研究や、吸収部位、吸収程度、破歯細胞の形態と分布に関する、生理的吸収と病的異常吸収との比較検討など、歯根吸収に関する研究が、より有効に進むものと考えられた。

## 【結 語】

1) ヒト抜去乳歯の歯根吸収面および歯髓腔において、TRACPase 活性に点状に陽性反応を示す領域は、光顕ならびにTEMによる観察から、破歯細胞であった。そして、それらの大部分は、吸収期の破歯細胞であり、その他に、休止期の破歯細胞や破歯細胞の前駆細胞が含まれていることが明らかになった。

2) 陽性反応が観察されなかった領域に、破歯細胞が観察されることはなかった。

3) 陽性反応が観察されなかった領域には、生理的歯根吸収の進行に対応した、3種類の異なった特徴的な組織像が観察された。

4) 以上のことより、生理的交換期に達した乳歯における、破歯細胞の存在位置およびその分布を、実体鏡下で、容易に把握する方法が確立された。

5) この方法により、破歯細胞の存在位置を容易に把握できることから、歯根吸収に関する研究が、より有効に進むものと考えられた。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 口 春 久  
副 査 教 授 脇 田 稔  
副 査 教 授 松 本 章

審査は、主査および副査全員の口頭試問により、研究目的ならびにその内容について詳細になされた。

乳歯の生理的歯根吸収は、多核巨細胞である破歯細胞が中心となって行われると考えられており、この細胞に関して種々の研究がなされている。しかし、この破歯細胞の存在位置を試料上で正確に把握することは非常に困難であり、多くの研究者は、様々な工夫をして破歯細胞を観察している。本研究は、破歯細胞や破骨細胞のマーカー酵素と考えられている酒石酸耐性酸フォスファターゼ（TRACPase）の活性反応を利用した、交換期に達したヒト乳歯の吸収部位における破歯細胞の存在の有無とその存在位置の同定法を確立し、この方法を用いて、任意の破歯細胞を光顕顕微鏡（光顕）あるいは透過型電子顕微鏡（TEM）で観察することの有効性と優位性について検討することを目的とした。本学歯学部附属病院小児歯科外来において、浸潤麻酔下で抜去された、生理的交換期に達した健全乳歯、乳前歯71本、乳犬歯17本、乳臼歯33本、合計121本を試料として、実験を行い、次のような結果を得た。

1. ヒト抜去乳歯を歯髓腔が露出するように分割し、一塊として、TRACPase 活性反応を行った。実体顕微鏡（実体鏡）による観察から、歯根吸収面および歯髓腔において、TRACPase 活性反応を示す点状の陽性領域が多数観察され、それらは、光顕ならびに TEM による観察から、破歯細胞であった。

2. 観察された破歯細胞は、その大部分が、歯質の吸収窩に存在する波状縁と明帯を有する吸収期の破歯細胞であり、その他に、歯質に付着しないで存在する休止期の破歯細胞や歯髓腔に存在する破歯細胞の前駆細胞が含まれていることが明らかになった。

3. TRACPase 活性反応を示さない領域に、破歯細胞が観察されることはなかった。

4. 以上の結果より、生理的交換期に達した乳歯における破歯細胞の存在位置およびその分布を、実体鏡下で、容易に把握する方法が確立された。

5. 陽性反応が観察されなかった領域には、生理的歯根吸収の進行に対応した、3種類の異

なった特徴的な組織像が観察された。

6. それらは、a) まだ吸収が及んでいない領域で、休止期の象牙芽細胞層により被覆された部分、b) 吸収が認められる領域で、その吸収窩を単核細胞とその細胞突起およびコラーゲン線維の細かい束を含む細胞間物質が満たしている部分、c) 吸収が認められる領域で、セメント質様硬組織の添加により吸収窩を修復された部分であった。

以上の結果から、この方法の使用により、破歯細胞の正確な存在位置を簡単に把握できることから、破歯細胞の微細構造や歯質および周囲組織との関係に関する、より詳細な研究が可能となるばかりでなく、歯根吸収全体にわたる吸収の動態と破歯細胞の出現とその分布などに関する研究や、吸収部位、吸収程度、破歯細胞の形態とその分布に関する、生理的吸収と病的異常吸収との比較検討など、歯根吸収に関する研究が、より有効に進むものと考えられた。

以上のような学位申請者（論文提出者）からの説明にもとづいて、主査および副査から詳細な質問がなされ、明確な回答が得られた。また、審査担当者から指摘された数多くの示唆に対しても、学位申請者は十分に理解した上で、端的に賛同し、将来における本研究の展望についても明確な説明を行った。

本研究は、歯科医学における基礎的研究として、破歯細胞に関する研究の発展にとどまらず、破歯細胞を中心とする乳歯歯根の生理的吸収機構の解明に今後大いに貢献していくものであり、この点が高く評価され、審査の結果、審査担当者全員によって、本研究の論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと認められた。