

学位論文題名

歯に矯正力を加えた際の圧迫側歯根膜の
微細構造に関する研究

—無細胞の発現機構について—

学位論文内容の要旨

矯正力により歯根膜が強く圧迫されると、圧迫側歯根膜に細胞成分がほとんどみられない均質無構造な変性組織が出現することは多くの研究者により報告されている。このような変性組織は、種々の異なった用語で表現されているが、組織学的には同一の領域を示している。

最近、金子はネコを用いて荷重開始4日後と7日後の圧迫側歯根膜を三次元的に観察し、変性組織は、変性した細胞成分が残存して観察される内変性帯と、これらの周囲に分布し、内部にほとんど細胞成分が認められない無細胞帯とに区分されることを報告した。また、佐藤はこのような細胞のみられない領域は、歯根膜組織の修復が進行して変性組織の領域が狭くなった時期でも観察されることを報告している。

本研究は、このような無細胞帯の微細構造とその発現機構を明らかにすることを目的として、ネコの圧迫側歯根膜を光学顕微鏡ならびに透過型電子顕微鏡により経時的に観察した。

(材料と方法)

実験には雄の成ネコを用い上顎犬歯を上顎第3前臼歯を固定源として、矯正用クローズドコイルスプリングで遠心に移動した。歯の移動開始後、6時間、12時間、1日、4日および7日後に0.05M カコジル酸緩衝 2%パラフォルムアルデヒドと1.25%グルタルアルデヒド混合液で、30分間灌流固定を行った。その後、実験歯を周囲の歯槽骨ごと切り出し、5%EDTA水溶液で脱灰後、上昇アルコール系列で脱水し、通法に従って EPON 812 に包埋した。包埋試料から、1 m μ の準超薄切片を作製し、メチレン青・アズールⅡ染色を行い、無細胞帯の観

察される領域を光学顕微鏡で詳細に観察した後、その領域を含む超薄切片を作製し、酢酸ウラン・クエン酸鉛の二重染色を施して、透過型電子顕微鏡で観察した。

(結果)

光学顕微鏡による観察では、内変性帯は細胞核の著しい変形や歯根膜の染色性の増加等を特徴として観察され、荷重開始12時間後すでに圧迫側中央部にみられた。一方無細胞帯は、4日後になって初めて観察された。圧迫側歯根膜は、荷重開始6時間後には、歯根膜線維の間隙は狭くなり、正常歯根膜でみられた核の認められない間隙はほとんど観察されなくなっていた。また歯根膜線維は圧迫により走行が著しく変化していた。その中の細胞の核も明らかに変形していた。荷重開始12時間後になると、歯根膜細胞の核は変形が進み、線維間には顆粒状の物質が多数みられた。荷重開始1日後には、細胞核および顆粒状の物質が12時間後に比べて小さくなり、その周囲には大きな空隙が多数みられた。荷重開始4日後には、核がみられなくなり、無細胞帯が観察されたが、線維間には、色素を濃くとする微細な顆粒状の物質が多数みられた。荷重開始7日後では、無細胞帯に顆粒状の物質が少なくなり、正常歯根膜に近い領域では、顆粒状の物質もほとんどみられなかった。

また電子顕微鏡による観察では、荷重開始6時間後には、圧迫により歯根膜線維の間隙は狭くなり、ほとんどの線維束は横断像としてみられた。線維間の歯根膜細胞は、正常歯根膜に比べて著しく変形し、核周囲の細胞質は面積がかなり減少し細胞内小器官の変性も生じていた。荷重開始12時間後には、歯根膜線維間で細胞核の濃縮が進み、細胞質突起が存在していたと思われる狭い空隙が散在し、歯根膜細胞の崩壊が進んでいた。荷重開始1日後には、歯根膜細胞質の構造は失われ、強く濃縮した核の周囲や線維間には大きな空隙が多数観察された。荷重開始4日後には、荷重開始1日後までみられた電子密度の高い濃縮した細胞の核は全くみられず、線維間の所々には核の崩壊した結果と思われるさまざまな電子密度の物質がみられる不規則な空隙がみられた。光顕的無細胞帯のうち内変性帯との移行部分で準超薄切片上で濃染する顆粒状の物質がみられた領域では、歯根膜線維の間隙には様々な電子密度の物質も多数みられたが、細胞のほとんど見られない領域では横断された歯根膜線維間に狭い空隙が散在しているのみだった。

一方、内変性帯では無細胞帯と異なり変性した細胞が均質な電子密度の物質として歯根膜線維間の不規則な空隙に残り、このような部分以外では空隙等がほとんど認められなかった。

以上の観察結果から、パラフィンあるいはセロイジン切片上では同一に見える無細胞帯の領域は、準超薄切片上では、ほとんど細胞がみられない領域だけでなく崩壊した細胞成分が残存している領域も含まれていることがわかった。

(考察)

透過型電子顕微鏡による観察では、無細胞帯と内変性帯とを問わず歯根膜線維の圧迫による走行変化と線維間の空隙の減少がみられたが、その組織学的相違は細胞成分あるいはその残骸がどの程度含まれているかによるものであると考えられた。また横断像の増加や空隙の減少のような圧迫による歯根膜線維の変化は、荷重開始6時間後すでに生じその後の様相に大きな変化は無かった。しかし歯根膜線維間に存在する歯根膜細胞は、時間の経過とともに次第に変性崩壊していくことが示された。佐藤が報告した修復が進み変性組織の領域が狭くなった時期においても正常な歯根膜組織に隣接する変性組織領域に細胞のみみられない領域が存在する事実は、無細胞帯はかつての内変性帯の領域からも形成され得ることを示している。そのためには内変性帯でみられた歯根膜線維間の細胞成分が修復に伴って消失しなければならない。一方、観察結果は内変性帯の方が無細胞帯よりも強く圧迫されていることを示していた。

一般に壊死した細胞は細胞自体のもつ蛋白酵素の働きで自己溶解するといわれている。こように圧迫の強い内変性帯に細胞成分が残存し、圧迫の弱い無細胞帯の細胞成分が消失する理由としては以下のことが、考えられる。変性組織の中心部にある内変性帯では圧迫が強いために組織空隙に組織液も還流できないが、これよりも圧迫が弱い周辺部の無細胞帯では組織液が還流することが可能である。したがって、変性・融解した細胞は組織液により、わずかな歯根膜線維の空隙を通過して正常歯根膜組織に運ばれて除去されるということである。また、顆粒状物質がみられる領域は、組織液が十分に還流されない領域であると思われる。内変性帯が荷重開始12時間後にすでに出現しているのに対し無細胞帯の出現に時間がかかるのは、組織液による変性融解した細胞の除去に時間がかかるためであると考えられる。またこのような仮

説により、変性組織の修復が進んだ時点で変性組織の周辺部に観察される無細胞帯の出現も説明可能である。すなわち、修復が進んだ変性組織の周辺部においては次第に圧迫が減少するために、組織液が還流が可能になり、残存していた変性・融解した細胞が、組織液により正常歯根膜組織に運ばれて除去されるためと考えられる。

以上のように、無細胞帯には初期の移動における変性組織の周辺部に出現するものと、歯周組織の改造にともなって内変性帯より移行するものとの2つが考えられるが、いずれにしても歯根膜線維間で変性融解した細胞が、組織液によって正常歯根膜組織に流出することにより、細胞のみられない領域すなわち無細胞帯が発現することが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 中 村 進 治

副 査 教 授 脇 田 稔

副 査 教 授 吉 田 重 光

学 位 論 文 題 名

歯に矯正力を加えた際の圧迫側歯根膜の

微細構造に関する研究

—無細胞の発現機構について—

審査は脇田、吉田および中村審査委員全員の出席のもとで、口頭試問により提出論文の内容とそれに関連する学科目の知識について行った。

矯正力による歯周組織の変化、特に強く圧縮された歯根膜に出現する変性組織は、歯科矯正学にとって非常に関心の深い問題で多くの研究者により報告されている。しかし、このような変性組織は、種々に異なった用語で表現され、組織学的な観察結果も多様である。本学歯科矯正学講座の金子および佐藤は、変性組織を部位により無細胞帯と内変性帯に分け、その分布状態を時間の経過とともに三次元的に観察し報告した。

そこで本研究はこのような無細胞帯と内変性帯の微細構造とその発現機序を明らかにしようと試みている。

実験には雄の成ネコを用い上顎犬歯を上顎第3前臼歯を固定源として、矯正用クロズドコイルスプリングで遠心に移動した。歯の移動開始後、6時間、12時間、1日、4日および7日後に0.05M カコジル酸緩衝 2%パラフォルムアルデヒドと1.25%グルタルアルデヒド混合液で、30分間灌流固定を行った。その後、実験歯を周囲の歯槽骨ごと切り出し、5%EDTA水溶液で脱灰、上昇アルコール系列で脱水、通法に従って EPON 812 に包埋した。包埋試料から、1 m μ の準超薄切片を作製し、メチレン青・アズールⅡ染色を行い、無細胞帯の出現する領域を光学顕微鏡で詳細に観察した後、その領域を含む超薄切片を作製し、酢酸ウラン・クエン酸鉛の二重染色を施して、透過型電子顕微鏡で観察した。

荷重開始6時間後には、歯根膜線維の走行は乱れ、線維間の歯根膜細胞は正常歯根膜に比べて、著しく変形し、核周囲の細胞質は面積がかなり減少し、歯根膜線維の間隙は狭くなっていた。荷重開始12時間後には、歯根膜線維間で、

細胞核は核の濃縮が進み、細胞質突起が存在していたと思われる狭い空隙が散在しており6時間後の像と比べ歯根膜細胞の崩壊が進んでいた。荷重開始1日後には、歯根膜細胞の核の構造は失われ、強く濃縮した核の周囲や線維間には大きな空隙が多数観察された。荷重開始4日後には、荷重開始1日後までみられた電子密度の高い濃縮した細胞の核は全くみられず、線維間の所々には核の崩壊した結果と思われるさまざまな電子密度の物質がみられる不規則な空隙がみられた。荷重開始7日後の準超薄切片上で内変性帯との移行部分で濃染する顆粒状の物質がみられた領域では、歯根膜線維の間隙には比較的電子密度の低い物質が多数みられ、細胞のほとんど見られない領域では、横断された歯根膜線維間に狭い空隙が散在しているのみであった。一方、内変性帯の領域では無細胞帯よりも広い線維間隙が存在し電子密度の高い物質や中等度の電子密度を有する小顆粒状の物質で満たされており、無細胞帯でみられたような空隙はほとんど観察されなかった。

以上の観察結果から、無細胞帯と内変性帯の両方で歯根膜線維の蛇行と線維間隙の減少がみられたが、このような変化は無細胞帯に比べて内変性帯でより著明に認められた。このことは、内変性帯の方が無細胞帯よりも強く圧迫されていることを示している。また、同じ無細胞帯であっても、内変性帯に近い領域では顆粒状の物質が比較的多いのに対し、正常歯根膜組織に近い領域ではほとんど観察されなかった。このことから、内変性帯と無細胞帯とを問わず、圧迫側歯根膜では歯根膜線維の線維間隙が狭窄することによってそこに存在する歯根膜細胞が変性崩壊するのであるが、内変性帯では、歯根膜線維の蛇行が強く線維が非常に密に配列しているために組織液が還流できないが、無細胞帯では、内変性帯に比べて歯根膜線維の蛇行は弱く線維間隙も広がっているために組織液が還流することが可能であろうと推測される。そのため、内変性帯では細胞成分が残存してしまうのに対し、無細胞帯では組織液の還流によって細胞成分が正常歯根膜組織に運び去られるのでであろうと考えられる。このことは、同じ無細胞帯においても、内変性帯に近い領域では顆粒状の物質が比較的多数認められるのに対し、正常歯根膜組織に近い領域では顆粒がほとんどみられないことから推察される。また、無細胞帯が内変性帯よりもかなり遅れて出現するのは、圧迫された歯根膜線維の線維間隙が狭いために、組織液による変性融解した細胞の除去に時間がかかるためと考えられる。以上のように無細胞帯は、歯根膜線維の線維間隙に存在する変性融解した細胞成分が、還流する組織液によって正常歯根膜組織に運び去られることにより出現する可能性が強く示唆された。

本研究は、これまでほとんど検討されていなかった変性組織の出現機序を無細胞帯と内変性帯の微細構造からかなり明確に推論した点で、今後の歯科矯正学の研究の発展に資するところ大である。

よって申請者は博士(歯学)の学位を授与される資格をもつものと認められる。