

学位論文題名

ヒト歯髄におけるリンパ管の微細分布に関する

酵素組織化学的研究

学位論文内容の要旨

歯牙に何らかの傷害が加わった際の歯髄の反応およびその修復過程において、血管系から組織間隙に多量に滲出した組織液をいかにすみやかに取り除くかは、その後の治癒および予後の良否を左右すると言っても過言ではない。このような組織液の吸収・排除にはリンパ管系が重要な役割を果たしているわけであるが、歯髄のリンパ管については、歴史的にその存在の有無そのものが論争の的となってきたが、近年、透過型電子顕微鏡を用いた観察によって、歯髄にリンパ管が存在することが相次いで明らかにされ、リンパ管の有無そのものに関する論争には終止符が打たれた。すなわち、それぞれ不規則な外形、非常に薄い内皮細胞壁、不完全あるいは欠如した basal lamina、内皮細胞の離開、および anchoring filament など、微細構造的に明らかにリンパ管であると同定される特徴を有する管腔構造が存在することをヒト歯髄やネコ歯髄で明らかにしている。しかしながら、透過型電子顕微鏡による検索では微細分布・構築に関しては、ほとんど明らかにすることはできないことから、光学顕微鏡にてリンパ管を同定する方法の開発が待ち望まれていた。

1989年、Kato は凍結切片標本に 5'-nucleotidase-alkaline phosphatase 二重染色を施すことにより、酵素組織化学的にリンパ管と血管を鑑別する染色法を新たに開発した。これは両管壁の酵素活性の差、すなわちリンパ管内皮では血管内皮に比べて 5'-nucleotidase 活性が著しく高いこと、また逆に血管内皮ではリンパ管内皮に比べて alkaline phosphatase 活性が著しく高いことに着目したものであり、光学顕微鏡レベルでリンパ管を同定する方法では画期的である。そこで、5'-nucleotidase-alkaline phosphatase 二重染色法をヒト歯髄組織に応用し、歯髄におけるリンパ管の存在を光学顕微鏡ならびに透過型電子顕微鏡で明らかにしたが、その過程でそれらの分布には個体差がある可能性に気づいた。そこで本研究では、ヒト歯髄におけるリンパ管の微細分布、特にその差異に注目して検索を行った。

【材料と方法】本学歯学部附属病院口腔外科外来において、外科的理由により抜歯された 18~25 歳のヒト上下顎第三大臼歯 34 本を用いた。このうち根完成歯は 16 本、根未完成歯は 18 本であった。抜歯後ただちにマイセルにて分割して歯髄組織のみを取り出し、剃刀を用いて幅約 1 mm に横断・細切した後、

O.C.T.compoundにて包埋して-20℃のクリオスタット内で厚さ約10 μ mの凍結横断連続切片をスライドガラスに張り付けたのち、冷6%paraformaldehydeで10分間固定した。そして、Katoの方法に準じて5'-nucleotidase-alkaline phosphatase二重染色を施して光学顕微鏡で観察した。なお、連続する切片の一部にはH-E染色を施した。

【結果と考察】検索に用いたすべての歯髄において5'-nucleotidase反応陽性を示すリンパ管の存在が確認されたが、その数および分布は特に冠部歯髄において著しく異なっており、歯髄のリンパ管分布には個体差のあることが明らかとなった。すなわち、①髄角部を除く歯髄全体でリンパ管が観察されるもの、②冠部歯髄の中央1/2以下にならないとリンパ管が観察されないもの、③歯頸側1/3以下になってはじめてリンパ管の分布が観察されるものの3つのタイプに大別されることが明らかとなった。このことは、歯科臨床においてしばしば経験される歯髄炎などの臨床症状、および治療の予後などにおける歯髄反応の個体差と深く関わっている可能性を示唆していると思われた。今後さらに炎症歯髄を用いた検索を行うことによってこのことが明らかにされるであろう。

また、根完成歯において、リンパ管が観察され始める冠部歯髄の咬頭側では歯髄辺縁部に近い領域で観察されたが、歯頸側に向かうにつれて次第に歯髄の中心部寄り観察されるようになり、根部歯髄ではそのほとんどが歯髄の中心部寄り観察された。このことは、歯髄リンパ管は主として冠部歯髄の辺縁部から起こり、次第に集まって集合リンパ管となり、根尖孔から出て行くものであることを示唆しているが、歯髄における炎症のほとんどが冠部歯髄の辺縁部から始まることを考えると、冠部歯髄におけるリンパ管の多くが歯髄辺縁部に近い領域に位置しているのは、合目的的であると思われた。そして歯髄辺縁部におけるリンパ管の起始については、象牙芽細胞層の下層に位置するものはみられたものの、明らかに象牙芽細胞層に進入していると思われる所見は得られなかった。但し、毛細血管が象牙芽細胞中に観察されるのは象牙質が活発に形成されている時期のみであり、それ以外の時期では毛細血管は象牙芽細胞層の下層に観察されることを考えると、この観察結果からだけではただちに、象牙芽細胞層の中にリンパ管は存在しないとは言い切れない。今後、象牙質形成期にある歯髄における経時的観察を行う必要があると思われる。一方、根未完成歯では、根完成歯に比べて観察されるその数が多く、しかも辺縁部よりはむしろ中心部寄りに位置する傾向にあった。このことは、歯根形成に伴い歯髄リンパ管の分布が変化、あるいは再構築される可能性を示唆しているものと思われた。これを明らかにするためには、今後さらに、乳歯歯髄ならびに永久歯歯髄の加齢変化も含めた歯牙の形成過程における経時的変化に関する検索を行う必要があると思われる。また、歯髄の中心部寄り観察されるリンパ管の一部には、その周囲にalkaline phosphatase陽性反応を示すものもみられたが、これまでも種々の動物・組織において行われている5'-nucleotidase-alkaline phosphatase二重染色法を用いたリンパ管の研究では全く報告されていないことから、これは歯髄リンパ管における特殊な機能を示唆している可能性があるとは思われたものの、その詳細は不明である。

【結論】 酵素組織化学的リンパ管検出法である 5'-nucleotidase-alkaline phosphatase 二重染色法を用いてヒト上下顎第三大臼歯歯髓の凍結横断切片標本を観察した結果、以下の結論を得た。

1. 検索したすべての歯髓でリンパ管の存在が確認された。
2. 歯髓のリンパ管は、一部は冠部歯髓の中心部に近い領域から起こるものもあるが、主として冠部歯髓の辺縁部から起こり、次第に集まって集合リンパ管となり、根尖孔から出て行くものであることが明らかとなった。
3. 歯髓のリンパ管分布には個体差が認められた。このリンパ管分布の個体差は歯科臨床においてしばしば経験する歯髓炎などの臨床症状の程度および治療の予後における歯髓反応と関連している可能性が示唆された。
4. 根完成歯と根未完成歯における歯髓リンパ管の分布状況から、歯根形成に伴い歯髓リンパ管の分布が変化、あるいは再構築される可能性が示唆された。
5. 一部の歯髓リンパ管周囲に認められる alkaline phosphatase 陽性反応は、歯髓のリンパ管における特殊な機能を示唆している可能性があると思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 口 春 久
副 査 教 授 吉 田 重 光
副 査 教 授 脇 田 稔

学 位 論 文 題 名

ヒト歯髄におけるリンパ管の微細分布に関する 酵素組織化学的研究

審査は主査および副査の個別の口頭試問により、研究の目的ならびに内容について詳細に実施された。先に、5'-Nase-ALPase 二重染色法を用いてヒト歯髄組織を光顕ならびに TEM にて検索し、歯髄におけるリンパ管の存在を明らかにしたが、その際に歯髄のリンパ管分布には個体差が存在する可能性が示唆された。そこで本研究では、ヒト歯髄におけるリンパ管の微細分布、特にその差異に注目して検索を行うことを目的とした。

実験には、外科的理由により抜歯された 18～25 歳のヒト上下顎第三大臼歯 34 本を用いた。抜歯後ただちに歯髄を摘出し、 -20°C のクリオスタット内で厚さ約 $10\ \mu\text{m}$ の凍結横断連続切片を作製した後、5'-Nase-ALPase 二重染色を施して光顕で検索した。

その結果、検索に用いたすべての歯髄において 5'-Nase 反応陽性を示すリンパ管の存在が確認されたが、その数および分布は特に冠部歯髄において著しく異なっており、歯髄のリンパ管分布には個体差のあることが明白となり、3 つのタイプに大別されることが明らかとなった。すなわち、①髄角部を除く歯髄全体でリンパ管が観察されるもの、②冠部歯髄の中央 1/2 以下にならないとリンパ管が観察されないもの、③歯頸側 1/3 以下になってはじめてリンパ管の分布が観察されるものの 3 つのタイプに大別されることが明らかとなった。このことは、歯科臨床においてしばしば経験される歯髄炎などの臨床症状、および治療の予後などにおける歯髄反応の個体差と深く関わっている可能性を示唆していると思われる。また、根完成歯において、リンパ管が観察され始める冠部歯髄の咬頭側では歯髄辺縁部に近い領域で観察されたが、歯頸側に向うにつれて次第に歯髄の中心部寄りで見られるようになり、根部歯髄ではそのほとんどが歯髄の中心部寄りで観察された。このことは、歯髄リンパ管は主として冠部歯髄の辺縁部から起こり、次第に集まって集合リンパ管となり、根尖孔から出て行くものであることを示唆

しているが、歯髄における炎症のほとんどが冠部歯髄の辺縁部から始まることを考えると、冠部歯髄におけるリンパ管の多くが歯髄辺縁部に近い領域に位置しているのは、合目的的であると思われた。そして歯髄辺縁部におけるリンパ管の起始については、象牙芽細胞層の下層に位置するものはみられたものの、明らかに象牙芽細胞層に進入していると思われる所見は得られなかった。一方、根未完成歯では、根完成歯に比べて観察されるその数が多く、しかも辺縁部よりはむしろ中心部寄りに位置する傾向にあった。このことは、歯根形成に伴い歯髄リンパ管の分布が変化、あるいは再構築される可能性を示唆しているものと思われた。また、歯髄の中心部寄りで観察されるリンパ管の一部には、その周囲にALPase陽性反応を示すものもみられたが、これは歯髄リンパ管における特殊な機能を示唆している可能性があるとは思われたものの、その詳細は不明である。

以上の結果より、酵素組織化学的リンパ管検出法である5'-Nase-ALPase二重染色法を用いてヒト上下顎第三大臼歯歯髄の凍結横断切片標本の観察から、以下の結論を得た。

1. 検索したすべての歯髄でリンパ管の存在が確認された。
2. 歯髄のリンパ管は、一部は冠部歯髄の中心部に近い領域から起こるものもあるが、主として冠部歯髄の辺縁部から起こり、次第に集まって集合リンパ管となり、根尖孔から出て行くものであることが明らかとなった。
3. 歯髄のリンパ管分布には個体差が認められた。このリンパ管分布の個体差は歯科臨床においてしばしば経験する歯髄炎などの臨床症状の程度および治療の予後における歯髄反応と関連している可能性が示唆された。
4. 根完成歯と根未完成歯における歯髄リンパ管の分布状況から、歯根形成に伴い歯髄リンパ管の分布が変化、あるいは再構築される可能性が示唆された。
5. 一部の歯髄リンパ管周囲に認められるALPase陽性反応は、歯髄のリンパ管における特殊な機能を示唆している可能性があると思われた。

以上のような学位申請者からの説明に基づいて、個別に主査および副査から本論文の内容について詳細な説明が求められ、次いで本論文に関連して質問されたが申請者はそれらに対して正しく理解した上で明快な解答を述べた。また、将来における本研究の発展の可能性についても明確な展望を述べた。

本研究は、歯科医学の発展に十分貢献するものであり、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。