

博士（歯学） 石亦文

学位論文題名

ヒト歯牙における象牙芽細胞間線維に関する研究

学位論文内容の要旨

【緒言】

象牙質の有機成分は主としてコラーゲンであり、それらはエナメル象牙境もしくはセメント象牙境に対してほぼ平行に配列する象牙質基質線維を構成している。その他に、象牙芽細胞下層より、象牙芽細胞層を通り抜け、象牙前質に対して垂直に進入するコラーゲン線維、すなわち象牙芽細胞間線維（IOF）の存在も報告されている。

1905年コルフによって、外套象牙質形成面へと連絡する、歯髓由来の好銀性のIOFが認められて以来、この様な線維は一般に「コルフの線維」の名称で呼ばれてきた。その後、髓周象牙質においても同様の線維が認められ、それについても、何ら区別されること無く「コルフの線維」の名称が用いられている。しかしながら、現在に至るまで、「コルフの線維」を含むIOFについては、その存在を否定する意見もあり、存在を肯定する意見においても、その形態、由来、象牙質形成への関与等に未だ統一された見解は無い。

本研究の目的は、ヒト髓周象牙質におけるIOFの微細構造、IOFの歯髓線維と象牙前質基質線維との関係について検索し、従来から知られている「外套象牙質におけるコルフの線維」と本研究で観察された「髓周象牙質におけるIOF」とを形態学的に比較する事により、両者の同一性について検討する事にある。

【材料と方法】

智歯周囲炎並びに歯列矯正に伴う便宜的理由により抜去された、16～23歳までの健全なヒト臼歯（上顎第三大臼歯10本、下顎第三大臼歯10本、上顎第一小白歯4本、下顎第一小白歯4本、上顎第二小白歯2本、下顎第二小白歯2本）を使用した。

抜歯後、直ちに破断した根尖部より、2.5%グルタールアルデヒド（pH7.4）を注入し、同固定液にて4日間、4℃で浸漬固定を行った。

光顕用の試料については、ギ酸・クエン酸ナトリウム混合液にて約1ヶ月の脱灰を行い、通法に従いパラフィンにて包埋し、近遠心方向に6μmの縦断切片を作成した。切片にはヘマトキシリソーエオジン染色と細網渡銀染色を行い、光顕にて観察した。

透過電顕用の試料については、5%EDTA (pH7.4) にて約3ヶ月の脱灰を行い、1%OsO₄ (pH7.4) による後固定を2時間、4%酢酸ウランによるブロック染色を1時間行った。通法に従い上昇アルコール系列にて脱水後、Epon812にて包埋し、象牙芽細胞長軸に対して直交するように準超薄切片と超薄切片を作成した。準超薄切片は methylene blue-azure II により染色し、光学顕微鏡にて観察した。また、超薄切片は酢酸ウラン、クエン酸鉛、燐タンゲステン酸による三重染色を施し、加速電圧 75kV で透過型電子顕微鏡にて観察した。

走査電顕用の試料については、通法によるものは、5%EDTA (pH7.4) にて約3ヶ月、4°Cで脱灰を行い、0.05M カニジル酸緩衝液 (pH7.4) にて洗浄後、マイクロスライサーにて近遠心方向に約 200 μm の縦断切片を作成した。切片は 1%タンニン酸 (1時間) と 1%OsO₄ (pH7.4、2時間) による導電染色を行い、通法に従って上昇アルコール系列にて脱水した。また、NaOH・水浸軟法によるものは、ギ酸・クエン酸ナトリウム混合液にて約1ヶ月の脱灰を行い、脱灰後、マイクロスライサーにて通法によるものと同様の約 200 μm の切片を作成した。それらを 10%NaOH にて 10~14 日間、さらに蒸留水にて 3~4 日間浸漬する浸軟処理を施した後、導電染色を行い、上昇アルコール系列にて脱水した。上記のように作成された、未処理又は浸軟処理された試料は、t-butyl alcohol にて置換し、凍結乾燥器にて乾燥後、SEM 観察用アルミニウム台にマウントし、オスミウム・プラズマコーダーにてオスミウム被膜を作成した後、加速電圧 10kV で走査型電子顕微鏡にて観察した。

【結果】

観察した全ての歯種の全ての部位において、歯髄線維と象牙前質形成面の両方に連絡する IOF が認められた。

IOF は直径約 60nm の細線維により構成され、それらは 0.2 μm から 1.4 μm と極めて変化に富んだ太さを呈しているものの、部位により差異が認められた。歯冠部である髄角部及び天蓋部では、IOF は 0.2~0.6 μm と細くて立体的な網状を示すものが多く、他方、歯根部及び髄床底では、0.6~0.8 μm と比較的均一で、歯冠部と比較して太くてより単純な構造を示すもの多かった。この様な IOF の電顕による形態学的特徴は、光顕による所見と一致するものであった。

IOF と象牙前質形成面との関係には、IOF の末端の細線維が放散せずに象牙前質基質線維間を通過して、さらに深層へと進入する形態を持つ進入型、細線維が放散し象牙前質の基質線維へと移行し、それらと区別がつかなくなる移行型、上記の両者の特徴を併せ持つ混合型、の三つの型が認められた。特に歯冠部では、象牙細管開口部の管壁に対しても同様の連絡形態が多く認められた。また、これら IOF の象牙質形成面への連絡形態の分布についても、部位により差異が認めら

れ、歯冠部では移行型と混合型の二つの型が均等に多く認められ、歯根部及び齧床底では、進入型が大部分を占めていた。

象牙芽細胞層は、歯冠部では多列上皮様の配列を示し、他方、歯根部や齧床底では1~3層のより単純な配列を示していた。

【考察】

象牙芽細胞間には、歯髄線維と象牙前質基質線維の両方に連絡するIOFが認められることから、IOFは象牙前質基質線維の形成に関与すると共に、その大部分は歯髄の線維芽細胞により分泌されている事が示唆された。

IOFの太さと形態、象牙前質形成面での象牙前質基質線維との連絡形態の多様性は、象牙芽細胞の配列の違いが以下の様に関与しているものと考えられた。

- (1) 細胞間隙が単純な構造を示すような時期や部位においては、IOFは象牙芽細胞突起起始部において、分泌された象牙前質の基質線維に先立ち分泌される事により、象牙前質基質線維中に垂直に埋入する進入型として存在する。
- (2) 象牙質形成の進行に伴い、象牙芽細胞の配列が密となる部位では、細胞間隙の狭小化と構造の複雑化によりIOFの一部または全部の細線維が途切れる。
- (3) この様な細胞間隙中へ新たに進入した細線維の自由末端は象牙前質形成面の基質線維との結合する。
- (4) この時、全部途切れたIOF細線維の全てが象牙前質基質線維と結合した場合には、移行型の連絡形態が生じ、また、部分的に途切れたIOF細線維が結合した場合には、混合型の連絡形態が生じる。
- (5) それゆえ、細胞間隙の構造が複雑であると考えられる歯冠部では、IOFは細くて三次元的な網工を示すと共に、移行型と混合型が共に多く認められ、細胞間隙の構造が単純であると考えられる歯根部や齧床底では、比較的太いIOFが多く認められると共に、進入型が大部分を占めている。

「コルフの線維」とは、象牙芽細胞層を通過して象牙質形成に関与する歯髄由来の線維であると定義付けられている。本研究では、「コルフの線維」と同様の組織学的特徴を持つIOFが、観察した齧周象牙質の全ての部位において観察される事から、「コルフの線維」とは外套象牙質形成期におけるIOFの一形態であることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主査 教授 佐野英彦
副査 教授 脇田 稔
副査 教授 吉田重光

学位論文題名

ヒト歯牙における象牙芽細胞間線維に関する研究

審査は、主査、副査がそれぞれ個別に学位申請者に対して、提出論文の内容とそれに関連した学問分野について口頭試問により行われた。審査論文の概要は、以下の通りである。

【目的】

象牙質は、一般に象牙芽細胞由来の象牙質形成面に対して平行に配列する象牙質基質線維により形成されると考えられている。それ以外に、歯髄由来の象牙芽細胞間線維（IOF）も象牙質形成に関与することが示唆されているが、これら IOF については現在に至るまで、その存在、形態、太さ、等について定説は無く、象牙質形成への関与についても依然不明な点が多い。本研究は、光顕及び電顕を用いてヒト新鮮抜去歯の観察を行い、髄周象牙質における IOF の微細構造、IOF の歯髄線維と象牙質基質線維との関係を検索し、従来から知られている「外套象牙質におけるコルフの線維」と、観察された「髄周象牙質における IOF」とを形態学的に比較し、その同一性について検討を行ったものである。

【材料と方法】

材料は、16～23歳までの健全なヒト臼歯を使用した。方法は、抜歯後、直ちに破断した根尖部より、2.5% グルタールアルデヒド（pH 7.4）を注入して固定を行い、光顕および透過電顕用の試料については、通法にしたがい作成した。走査電顕用の試料については、脱灰後、マイクロスライサーにて 200 μm の切片にした後、通法によるものと、10% NaOH と蒸留水により浸軟処理したものの二種類を作成した。これらの試料より、IOF を中心とした歯髄・象牙質界面の観察を行った。

【結果】

ヒト髄周象牙質における全ての部位において、IOF は歯髄線維と象牙前質基質線維との両方に連絡していた。コラーゲン細線維から構成された IOF は、歯冠部では細くて立体的な網状を示すものが多く、歯根部及び髄床底では、歯冠部と比較して太く

てより単純な構造を示すものが多かった。IOF の象牙前質基質線維への連絡形態には、IOF の末端の細線維が放散せずに象牙前質基質線維間に進入するもの（進入型）、細線維が放散し象牙前質基質線維に移行するもの（移行型）、上記の両者が混在しているもの（混合型）の三つの型が認められた。特に歯冠部では、象牙細管開口部の管壁に対しても同様の連絡形態が認められた。また、これらの分布には部位による差異が認められ、歯冠部では移行型と混合型の二つの型が均等に多く認められ、歯根部および髓床底では、進入型が大部分を占めていた。象牙芽細胞層は、歯冠部では多列上皮様の配列を示し、他方、歯根部や髓床底では 1～3 層のより単純な配列を示していた。

【考察】

観察した歯種の全ての部位において、歯髄線維と象牙前質基質線維との両方に連絡する IOF が認められることから、IOF の大部分は歯髄の線維芽細胞により分泌されていることが示唆された。したがって、象牙質基質の形成には、象牙芽細胞のみならず、歯髄の線維芽細胞もその形成に関与することが考えられた。IOF の太さと形態、象牙前質基質線維との連絡形態の多様性は、象牙芽細胞の配列状態が関連し、細胞間隙の構造と部位による形態的な差異がこれらに関与する因子であることが示唆された。また、コルフの線維と同様の組織学的特徴を持つ IOF が髓周象牙質の全ての部位において観察されることから、コルフの線維とは外套象牙質形成期における IOF の一形態であることが示唆された。

以上のように本論文は、その形態と発生の解釈に関して様々な異論がある「コルフの線維」と「IOF」に対して、特に水酸化ナトリウム浸軟法を使用した走査型電子顕微鏡による観察を行うことにより、歯髄あるいは歯乳頭領域で形成された線維の象牙質基質形成への関与を示唆にすると共に、従来不明瞭であった「コルフの線維」と「IOF」に関する概念について明確にしたものである。本研究は、象牙質の発生学研究に一石を投じるものであり、比較解剖学、比較発生学の分野に光明を与えるものである。同時に、口腔解剖学領域における、水酸化ナトリウム浸軟法の有用性を十分に示した点でも評価できる。これらのこととは、これから歯科医学の発展に十分貢献するものであり、学位申請者は博士（歯学）の学位授与に十分値するものと認められた。