

学 位 論 文 題 名

漂白剤による歯髄組織の反応に関する病理組織学的検討

学位論文内容の要旨

【目的】

近年、変色をきたした生活歯の審美性を改善する方法として、歯の漂白の需要が高まり、広く臨床応用されている。いままでに様々な漂白法が開発されているが、問題点として、漂白後の色調の推測の難しさや後戻り、歯質の変化、漂白後に発生する疼痛症状や知覚過敏などがある。なかでも疼痛症状や知覚過敏の発生は注目すべき臨床症状であり、漂白剤中に含まれる過酸化水素による、エナメル質から象牙質を介しての歯髄への影響と思われるが、いまだに漂白剤が歯髄に及ぼす影響については未解明の事実が多く、基礎的な実験も少ない。そこで本研究では、象牙質が露出しているラット上顎第一臼歯の咬合面に漂白処置を行い、歯髄組織の病理組織学的、免疫組織化学的、ならびに組織計量学的検索を行うことにより、漂白剤が直接象牙質に作用した際の歯髄に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

12 週齢の雄性 Wistar 系ラットを用い、塩酸ケタミン（動物用ケタラルTM 50, 三共社製）およびキシラジン塩酸塩（セラクターTM 2%注射液, バイエル社製）の腹腔内注射（0.1 ml/100g 体重）による全身麻酔下でラットを実験台に固定し、上顎両側第一臼歯に漂白処置を行った。本研究に用いた漂白法は、写真撮影用ランプと 35% 過酸化水素を用いた従来法（C 群）、Hi-Lite 法（H 群）、FAP 法（F 群）とし、対照群は、生理食塩水を用いた。C 群は処置時間を 1, 5, 30 分とし、H 群, F 群, 対照群では処置時間を 1, 5 分とした。漂白処置直後、5, 10, 20, 30 日後に安楽死させ、臼歯部を含む上顎骨を摘出し、10%中性ホルマリンにて固定した。その後、通法に従い、矢状断連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色（HE 染色）、渡銀染色およびアザン・マロリー染色を施し、歯髄組織における経時的な変化について病理組織学的に検索した。また、歯髄の組織学的変化について、その経時的変化を定量的に把握するため、HE 染色した標本を用い、画像解析装置（IBAS V2.0, Carl Zeiss Vision 社製）にて、上顎第一臼歯の近心咬頭と中央咬頭との間の裂溝下に存在する、天蓋側と随床底側の髓腔内の象牙前質および修復象牙質の厚さを計測した。さらに、漂白後

の歯髓組織の線維芽細胞、象牙芽細胞の細胞動態に与える影響を明らかにするために、各群とも抗 BrdU モノクローナル抗体を用いて免疫染色を行い、BrdU 陽性細胞数の検索をおこなった。なお、組織計量学的検索により得られた測定値については、同一実験期間内での各群間 ANOVA および PLSD 法を用いた統計解析を行った。

【結果】

① 病理組織学的所見

処置時間 1 分と 5 分では、いずれの漂白法においても、処置直後において、歯髓腔の髓角部を中心に、歯髓に大きな空胞が形成された。さらに、象牙前質に接する象牙芽細胞の核は圧平され、消失している部分もみられたが、処置後 5 日目で歯髓の空胞は消失し、象牙芽細胞層は部分的に再生していた。また、歯冠歯髓の象牙前質の外側に修復象牙質が観察され、経時的に増加傾向を示した。処置後 30 日目では、象牙芽細胞層は対照群と変わらず規則的な配列を示していた。

処置時間 30 分では、処置直後の冠部歯髓において広範囲に空胞がみられた。処置後 5 日目で歯髓細胞は増加していたが、歯髓中央部の一部分において小空胞が残存していた。また、髓腔内には骨様象牙質の形成がみられた。経時的に骨様象牙質は密度と面積を増し、処置時間 30 日目では、冠部歯髓腔は石灰化した骨様象牙質で占められていた。

② 組織計量学的所見

処置時間 1 分と 5 分の象牙前質の厚さは、いずれの群においても実験期間を通じて変化は認められず、対照群とほぼ等しい値を示した。修復象牙質は、処置後 5 日目において、象牙前質に接して形成され、いずれの群においても、値に多少の違いはあるものの、経時的に増加傾向を示し、処置後 30 日目では歯髓腔の狭窄がみられた。

③ BrdU 陽性細胞数

処置時間 1 分と 5 分における BrdU 陽性細胞は、細胞稠密層から中心部歯髓において見られ、処置直後で、対照群と比較して各種漂白剤の BrdU 陽性細胞数は減少し、有意差が認められた。処置後 5 日目には、BrdU 陽性細胞数は、対照群と近似を示すまで増加がみられた。

【考察】

今回の実験から、象牙質が露出しているラット臼歯に漂白処置を行った場合、処置直後では、いずれの漂白剤においても、歯髓組織には空胞が形成された。過酸化水素から分解されたヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) が、露出した象牙細管を通じて瞬時に歯髓に達し、空胞を形成したものと思われた。また、その後、歯髓組織の修復がみられたが、未分化間葉細胞が象牙芽細胞および歯髓細胞に分化することで、歯髓組織を修復するものと考えた。さらに、経時的に処置時間 1 分と処置時間 5 分では、修復象牙

質が形成され、処置時間 30 分では骨様象牙質が形成されたことより、処置時間によって、傷害に対する歯髄組織の反応には違いがみられたが、このことには未分化間葉細胞の分化が関与しているものと思われた。また、漂白処置により刺激が加えられた歯髄は、部位によって修復に要する時間に違いがあることが示唆された。

歯冠歯髄中の BrdU 陽性細胞数の結果から、対照群に比べると、各実験群では BrdU 陽性細胞の数が処置直後で著しく減少するが、処置後 5 日目で対照群とほぼ同値にまで増殖し、その後は大きな変動がないことより、損傷した歯髄細胞はこの期間の間に歯髄の損傷治癒が行われているものと考えられた。

【結論】

象牙質に漂白剤を作用させた場合、ラット歯髄では、すべての漂白法において、漂白処置直後に歯髄組織の変化が認められた。また、漂白処置時間により歯髄傷害の程度には違いがあり、処置時間が長いほど傷害は強く起こっていた。処置後 30 日目で歯髄は修復されたが、処置時間によりその修復反応においても違いが認められた。以上の所見より、漂白処置において、楔状欠損、エナメルクラック、摩耗、不適切な保存修復物など、漂白剤が象牙質に作用し、歯髄に影響を及ぼす可能性が考えられる部位を事前に診査し、漂白剤を作用させないように十分に注意を払う必要があることが確認された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 大 畑 昇
副 査 教 授 向 後 隆 男
副 査 教 授 佐 野 英 彦

学 位 論 文 題 名

漂白剤による歯髄組織の反応に関する病理組織学的検討

審査は、提出論文とそれに関連した学科目について、申請者に対して各審査委員会が口頭試問により行い、各審査委員会の報告を元に主査がその結果をまとめた。

【目的】

近年、歯の漂白の需要が高まり、広く臨床応用されている。しかし、問題点として、漂白後の色調の推測の難しさや後戻り、歯質の変化、漂白後に発生する疼痛症状や知覚過敏などがある。なかでも疼痛症状や知覚過敏の発生は注目すべき臨床症状であり、漂白剤中に含まれる過酸化水素による、エナメル質から象牙質を介しての歯髄への影響と思われるが、いまだに漂白剤が歯髄に及ぼす影響については未解明の事実が多く、基礎的な実験も少ない。そこで本研究では、象牙質が露出しているラット上顎第一臼歯の咬合面に漂白処置を行い、歯髄組織の病理組織学的、免疫組織化学的、ならびに組織計量学的検索を行うことにより、漂白剤が直接象牙質に作用した際の歯髄に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

12 週齢の雄性 Wistar 系ラットを用い、全身麻酔下で上顎両側第一臼歯に漂白処置を行った。本研究に用いた漂白法は、写真撮影用ランプと 35%過酸化水素を用いた従来法 (C 群)、Hi-Lite 法 (H 群)、FAP 法 (F 群) とし、対照群は生理食塩水を用いた。C 群は処置時間を 1, 5, 30 分とし、H 群、F 群では処置時間を 1, 5 分とした。漂白処置直後、5, 10, 20, 30 日後に安楽死させ、臼歯部を含む上顎骨を摘出し、10%中性ホルマリンにて固定した。その後、通法に従い、矢状断連続切片を作製し、HE 染色を施し、歯髄組織における経時的な変化について病理組織学的に検索した。また、歯髄の組織学的変化について、その経時的変化を定量的に把握するため、HE 染色した標本を用い、上顎第一臼歯の近心咬頭と中央咬頭との間の裂溝下に存在する、天蓋側と随床底側の髓腔内の象牙前質および修復象牙質の厚さを計測した。さらに、漂白後の歯髄組織の線維芽細胞、象牙芽細胞の細胞動態に与える影響を明らかにするために、各群とも抗 BrdU モノクローナル抗体を用いて免疫染色を行い、BrdU 陽性細胞数の検索をおこなった。なお、組織計量学的検索により得られた測定値については、同一実験期間内での各群間 ANOVA および PLSD 法を用いた統計解析を行った。

【結果】

① 病理組織学的所見

処置時間 1 分と 5 分では、いずれの漂白法においても、処置直後において、歯髄腔の髓角部を中心に、歯髄に大きな空胞が形成された。さらに、象牙前質に接する象牙芽細胞の核は圧平され、消失している部分もみられたが、処置後 5 日目で歯髄の空胞は消失し、象牙芽細胞層は部分的に再生していた。また、歯冠歯髄の象牙

前質の外側に修復象牙質が観察され、経時的に増加傾向を示した。処置後30日目では、象牙芽細胞層は対照群と変わらず規則的な配列を示していた。

処置時間30分では、処置直後の冠部歯髄において広範囲に空胞がみられた。処置後5日目で歯髄細胞は増加していたが、歯髄中央部の一部分において小空胞が残存していた。また、髄腔内には骨様象牙質の形成がみられた。経時的に骨様象牙質は密度と面積を増し、処置時間30日目では、冠部歯髄腔は石灰化した骨様象牙質で占められていた。

②組織計量学的所見

処置時間1分と5分の象牙前質の厚さは、いずれの群においても実験期間を通じて変化は認められず、対照群とほぼ等しい値を示した。修復象牙質は、処置後5日目において、象牙前質に接して形成され、いずれの群においても、値に多少の違いはあるものの、経時的に増加傾向を示し、処置後30日目では歯髄腔の狭窄がみられた。

③BrdU 陽性細胞数

処置時間1分と5分における BrdU 陽性細胞は、細胞稠密層から中心部歯髄において見られ、処置直後で、対照群と比較して各種漂白剤の BrdU 陽性細胞数は減少し、有意差が認められた。処置後5日目には、BrdU 陽性細胞数は、対照群と近似を示すまで増加がみられた。

【考察】

今回の実験から、象牙質が露出しているラット臼歯に漂白処置を行った場合、処置直後では、いずれの漂白剤においても、歯髄組織には空胞が形成された。過酸化水素から分解されたヒドロキシラジカルが、露出した象牙細管を通じて瞬時に歯髄に達し、空胞を形成したものと思われた。また、その後、歯髄組織の修復がみられたが、未分化間葉細胞が象牙芽細胞および歯髄細胞に分化することで、歯髄組織を修復するものと考えた。さらに、経時的に処置時間1分と処置時間5分では、修復象牙質が形成され、処置時間30分では骨様象牙質が形成されたことより、処置時間によって、傷害に対する歯髄組織の反応には違いがみられたが、このことには未分化間葉細胞の分化が関与しているものと思われた。また、漂白処置により刺激が加えられた歯髄は、部位によって修復に要する時間に違いがあることが示唆された。

歯冠歯髄中の BrdU 陽性細胞数の結果から、対照群に比べると、各実験群では BrdU 陽性細胞の数が処置直後で著しく減少するが、処置後5日目で対照群とほぼ同値にまで増殖し、その後は大きな変動がないことより、損傷した歯髄細胞はこの期間の間に歯髄の損傷治療が行われているものと考えられた。

【結論】

象牙質に漂白剤を作用させた場合、ラット歯髄では、すべての漂白法において、漂白処置直後に歯髄組織の変化が認められた。また、漂白処置時間により歯髄傷害の程度には違いがあり、処置時間が長いほど傷害は強く起こっていた。処置後30日目で歯髄は修復されたが、処置時間によりその修復反応においても違いが認められた。以上の所見より、漂白処置において、楔状欠損、エナメルクラック、摩耗、不適切な保存修復物など、漂白剤が象牙質に作用し、歯髄に影響を及ぼす可能性が考えられる部位を事前に診査し、漂白剤を作用させないように十分に注意を払う必要があることが確認された。

各審査委員が行った主な質問事項は以下の通りである。

- 1) 象牙質が露出した Rat を使用した目的は
- 2) 歯髄組織の空胞形成と修復の機序は
- 3) 空胞内部に存在するものは気体（酸素）であるのか
- 4) 各経過観察期間における、象牙芽細胞の突起と、象牙細管との連続性は
- 5) 処置直後における象牙芽細胞や歯髄細胞の生死は

- 6) BrdU 陽性細胞数が処置後 10 日目以降, 増加しない理由は
- 7) 漂白作用の定義および FAP 法を臨床で使った場合の結果は

これらの質問に対して, 論文申請者から明快な回答ならびに説明が得られ, さらに今後の研究についても明確な方向性をもっていると判定した。

審査委員は全員, 本研究が学位論文として充分値し, 申請者が博士(歯学)の学位を授与される資格を有するものと認めた。