原著論文

マウス歯根膜の加齢的变化

—形態学および蛍光抗体法による観察—

坂井 貴子 城戸 瑞穂 寺田 善博
河野 敬一 大崎 康吉* 栗栖浩二郎*

Age-dependent Changes in the Periodontal Ligament of Mice

— Morphological and Immunofluorescent Studies —

Takako Sakai, Mizuho Kido, Yoshihiro Terada,
Keiichi Kawano, Yasuyoshi Ohsaki* and Kojiro Kurisu*

Abstract : Morphological and immunofluorescent studies of age-dependent changes of the periodontal ligaments were performed in the lower first molars of mice ranging in age from 1 week to 80 weeks after birth. The alveolar bone which was completed by 20 weeks, was gradually decreased in amount and its surface bordered upon the periodontal ligament became irregular resulting in wavy appearance after 20 weeks postpartum. A space which was occupied by the periodontal ligament decreased in width with aging, probably because of deposition of newly formed cementum on the surface of the root. In addition, cells in the periodontal ligaments also became decreased in number with aging. Moreover, a interstitial space of each collagen fiber bundles enlarged.

The type I and type III collagens, and fibronectin were distributed in close association with the periodontal fibers. The immunoreactive products of the type III collagen was intensely deposited on the fiber bundles of periodontal ligament being close to the alveolar bone of mice ranging in age from 2 to 20 weeks after birth. This fact indicates that an active synthesis of type III collagen occurred in this region. In mice of after 30 weeks postpartum, the junctional epithelium proliferated and migrated down to the apical side along the cementum resulting in deepening gingival pocket. The fibronectin was strongly stained on the external basement membrane of migrating junctional epithelium. This finding suggests that the fibronectin played an important role in the proliferation and migration of the junctional epithelium.

Key words : aging change, periodontal ligament, collagen, immunofluorescent

九州大学歯学部歯科補綴学第1講座

* 九州大学歯学部口腔解剖学第2講座

First Department of Prosthetic Dentistry, Faculty of
Dentistry, Kyushu University

* Second Department of Oral Anatomy, Faculty of Dentistry, Kyushu University

平成3年4月1日受付

I. 緒 言

歯根膜は歯槽骨と歯根の間に介在する線維性結合組織で、歯牙を歯槽骨内に支持するのみならず、セメント質や歯槽骨の栄養、セメント質や骨の合成と吸収、感覚などの機能を有しており^{1,2)}、また歯周組織の一部として歯牙を支持することで咀嚼機能を維持し、さらに歯根膜内の固有受容器は咬合圧に対する咀嚼筋の収縮の調整機能を有するなど³⁾、歯根膜は咀嚼系において重要な役割を果たしているといえる。それゆえに歯冠修復時や義歯作製時に、歯根膜の健康状態を把握しておくことは、処置の予後を左右する重要な因子の1つと考えられている⁴⁾。その例として Nagasawa ら⁵⁾はオーバーデンチャーの鉤歯の歯根膜が義歯の咀嚼機能に重要な役割を果たすことを証明した。したがって、処置に先立ち、歯根膜の状態を正しく把握することは必要なことであり、そのためには、年齢を重ねるに従い歯根膜の状態がどのように変化するかを基礎的事項として知ることは重要なことであると考えられる。

歯根膜の加齢変化に関しては、秋吉⁶⁾や雨宮⁷⁾が歯周組織の加齢変化の一環として報告しており、また Grant ら⁸⁾や Severson ら⁹⁾はヒト歯根膜における加齢変化を組織学的に観察しているが、剖検例を材料としているため系統的な報告とはいいがたく、したがって詳細な報告は現在までに行われていない。

歯根膜線維の主成分はコラーゲンであるといわれており¹⁰⁾、身体の老化の影響が歯槽骨やセメント質および歯根膜線維の形態的变化だけでなく、これらの主成分であるコラーゲンの合成や吸収にも変化を与えていることは十分に考えられる。そこで今回、われわれは歯根膜の上記のような構成成分に加え、基質成分も含めた加齢による変化を総合的に捉えることを目的とし、1~80週齢までの雄 C3H マウスの下顎右側第1臼歯の歯根膜を用いて組織学的に観察を行い、さらに形態的变化に伴うコラーゲンの分布の変化、およびコラーゲンと密接な関係を持つといわれるファイブロネクチンの動態について免疫組織学的に検討した。

II. 材料および方法

生後 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 週齢の雄 C3H マウスを各週齢 5 匹ずつ使用した。マウスは全経過を通じクレア社製マウス・ラット用固形飼料

CE2 により飼育した。また歯牙の種類による咬合状態の違いを排除するため、観察部位を下顎右側第1臼歯近心根の近遠心の中央部の唇舌の断面とした。組織標本作製にあたっては PLP 固定液による灌流固定後、下顎骨を一塊として採取し、さらに同固定液により1時間、4°C で固定した。固定された組織はカコジル酸緩衝液中で一晩洗浄した後、クエン酸緩衝 10% EDTA-4 Na 溶液 (pH 7.3) により 20 日間脱灰した。脱灰した組織は上昇エタノール系列で脱水した後、パラフィン包埋し、下顎第1臼歯近心根の近遠心の中央部の唇舌の断面を含む厚さ 4 μm の切片とした。得られた切片はヘマトキシリン・エオジン染色 (以下 HE 染色と略す) とエラスチカ・ワンギーソン染色 (以下 EV 染色と略す) を施し、形態的観察を行った。また、同一ブロックより得た切片を、蛍光抗体法により I 型コラーゲン、III 型コラーゲンおよびファイブロネクチンの分布を観察するための試料とした。脱パラフィンの後、PBS で洗浄した切片に、一次抗体を室温で1時間反応させた。一次抗体はマウス皮膚より分離精製し、ウサギおよびモルモットを免疫させて作製した抗 I 型コラーゲン抗体と抗 III 型コラーゲン抗体、およびマウスの血清より分離精製してウサギに免疫させて作製した抗ファイブロネクチン抗体を使用した¹¹⁾。おのおのの基質成分の相互関係を知るために、抗 I 型コラーゲン抗体と抗 III 型コラーゲン抗体、抗ファイブロネクチン抗体と抗 III 型コラーゲン抗体を組合せた二重染色を行った。一次抗体との反応の後、切片は PBS 洗浄し、FITC 標識ヤギ抗ウサギ IgG 抗体とローダミン標識ヤギ抗モルモット IgG 抗体を二次抗体として室温で30分間反応させた。PBS による洗浄の後、緩衝グリセリンで封入し Zeiss 社製蛍光顕微鏡で観察を行った。なお、一次抗体のかわりに PBS を反応させ、以後の操作は同様に行ったものを対照とし、これらの切片ではいずれにも抗体の反応はみられなかった。

III. 結 果

今回の観察では実験の全経過を通じ歯牙の脱落はみられなかった。また歯根膜線維の両端はシャープリー線維として歯槽骨およびセメント質に埋入され、両組織と共同して歯根膜としての機能を果たしているため、今回は歯根膜を構成する組織として歯根膜線維と線維間に存在する細胞に歯槽骨とセメント質を加えて、組織学および免疫組織学的に観察した。

図1 歯槽骨量および歯根膜骨壁の経時的変化

生後2週齢のマウスでは歯槽骨の骨髓腔は大きく、歯根膜側の骨壁はまだ十分に形成されていない(a)。15週齢のマウスでは歯槽骨は厚く、歯根膜側の骨壁はかなり平坦である(b)。70週齢のマウスでは歯槽骨は厚みを減じ、歯根膜側の骨壁は凹凸不整である(c)。HE染色 ×100

1. 歯槽骨

1週齢では歯牙は数層から成る口腔粘膜下に歯胚の状態で存在し、歯槽骨は歯小嚢を取り囲むように、島状に散在性に形成されていた。2週齢目には、歯牙は口腔粘膜直下に位置し、歯根は形成途中にあり、根尖部では、ヘルトウィッヒ上皮鞘が内下方に向かい伸長していた。歯槽骨の骨髓腔は大きく、歯根膜に面する骨壁は凹凸が著しかった。骨表面には長円形で好塩基性の胞体を有する骨芽細胞が規則正しく配列し、また多核で胞体の大きな破骨細胞を少数認めた。3週齢では骨髓腔の狭小化と歯根膜側骨壁の凹凸の減少がみられ、骨表面には2週齢と同様に骨芽細胞と破骨細胞を認めた。5, 7, 10, 15週齢では基本的な構造はほぼ共通しており、歯槽骨の幅は広くなり、骨質も緻密であった。歯根膜側の骨壁はしだいに平坦になり、骨表面には規則正しく配列する骨芽細胞とそれらの間に存在する破骨細胞を認めたが、破骨細胞の数は2, 3週齢に比較して減少していた。20週齢から再び歯根膜側の骨壁に凹凸を生じ、骨芽細胞の配列にも乱れを生じていた。20週齢でみられた凹凸は2, 3週齢でみられたものと比較してその程度は弱く、骨の突出部と陥凹部との差が少なく、波状を呈していた。しかしながらこの凹凸は経時的にその程度が強くなっていった。30週齢では歯槽骨はやや厚みを減じ萎縮傾向を示していた。また歯根膜側の骨壁の凹凸は著しくなり、一部の例では加齢とともに増加したセメント質のために根尖部で

セメント質と連絡する像もみられた。骨の突起部では歯根膜線維の侵入が明瞭で、これらの線維の一部では、骨に近い線維束がエオジンにより強染された。一方、陥凹部には血管が分布していた。骨壁の骨芽細胞に配列の乱れを認めた。40, 50週齢では、歯槽骨はさらに萎縮傾向を示し、歯根膜側の骨壁は著しい凹凸を呈していた。60, 70, 80週齢では、歯槽骨はさらに厚みを減じ、特に歯槽骨頂部歯根膜側の骨質の減少は著しかった(図1, 2)。70週齢と80週齢の一部の例では根尖部の歯槽骨の減少により骨髓腔が直接歯根膜腔と連絡する像が観察された。

免疫染色の結果(図3)、全週齢を通じて歯槽骨は抗I型コラーゲン抗体に対し強陽性に反応した。抗III型コラーゲン抗体には、骨の基質は反応しなかったが、2, 3, 5, 7, 10, 15, 20週齢でシャーピー線維が陽性を示した。抗ファイブロネクチン抗体には、骨基質、シャーピー線維ともに弱陽性であった。

2. 歯根膜線維と細胞

1週齢では形成途上の象牙質の先端から斜め内下方に伸びたヘルトウィッヒ上皮鞘の外側に紡錘形の細胞がみられ、これらは長軸を上皮鞘に平行に向けて配列し、数層の細胞層を形成していた。2週齢では、ヘルトウィッヒ上皮鞘はさらに内下方に伸長し、上皮鞘の内側には類円形の細胞が多数集合していた。また外側には1週齢と

図2 歯根膜線維の経時的変化

生後2週齢のマウスの歯根膜では歯根膜線維はセメント質から歯槽骨まで歯槽頂方向へ走行し、豊富に存在する線維芽細胞も長軸を同方向に向けて配列している(a)。15週齢のマウスでは歯根膜線維の走行は明瞭に認められ、線維芽細胞の数は2週齢例と比較して少ない(b)。70週齢のマウスでは歯根膜線維の走行は乱れ、線維に硝子化がみられる(c)。HE染色 ×200

同様に紡錐形の細胞が長軸を上皮鞘に平行に向けて数層配列していた。この時期の歯根膜腔は大きく、細長い胞体を有する線維芽細胞が歯根表面から歯槽骨へ歯冠側に長軸を向けて密に配列し、その間隙を歯根膜線維が走行していた。EV染色では、赤色に染色されるコラーゲン線維が歯根表面から線維芽細胞間を走り、歯槽骨側で束状に集合し歯槽骨内に侵入する像が明瞭に観察された。歯槽骨頂部では、歯槽骨と歯根膜線維との連絡が密なため、両者の境界が不明瞭であった。3週齢では歯根膜腔は広く、線維芽細胞と歯根膜線維は歯根表面から歯冠側方向へほぼ並行に走行し、歯槽骨へ到達していた。また接合上皮の根尖側端に接する結合組織線維がエオジンにより強染された。5週齢では歯根膜腔はやや狭窄し、歯根膜線維や線維芽細胞の走行状態は3週齢と同様の所見を呈していたが、2、3週齢と比較してエオジン好性の線維成分が増加していた。7、10週齢では、歯根膜腔はさらに狭窄し、歯根膜線維の走行は明瞭で歯槽骨側での束状形成が著明であった。接合上皮の根尖側端に接する結合組織線維が3週齢と同様にエオジンにより強染された。15週齢では、歯根膜腔は狭く歯根膜線維は前述のごとく走行し、一部の例で線維の硝子化を認めた。20週齢では歯槽骨側に多数の血管を認め、血管は主に歯槽骨の陥凹部に一致して分布していた。30週齢以後、歯根膜腔は著しく狭窄し、前述のような歯根膜線維の走行は、歯槽骨頂部で不明瞭となっていた。また歯根膜線維全般にわたり線

維束間が粗となっていた。歯根膜線維間に存在する線維芽細胞は数的には、2、3週齢で最も多く、以後漸次減少していた。また歯根膜線維が歯根膜と歯槽骨間に機能的に配列している部分では、線維芽細胞の形態に変化はないが、30週齢の歯槽骨頂部にみられるような線維の配列に乱れがある部分では細胞の大きさが小さく、走行状態もまちまちであった(図2)。

免疫染色の結果では、I型コラーゲンが歯根膜線維に一致して観察された。詳細な観察では、2週齢ではI型コラーゲンは細く粗い網状を呈し、特に歯槽骨に連絡する線維が強く染色された。5週齢になると、これらの抗I型コラーゲン抗体陽性の線維束は歯根面から歯槽骨間を歯冠側へ走行し、線状に密に染色された。7、10、15週齢では5週齢とほぼ同様の染色態度を示すが、20週齢以後では、線維束間が粗になり、その傾向は20週齢以後の週齢間で差はなかった。

抗III型コラーゲン抗体でも、HE染色で観察した歯根膜線維に一致して強い蛍光を認めた。2週齢ではさらに歯槽骨に連絡する線維が特に強く染色され、以後20週齢まで同部の線維が強陽性を示した。また20週齢までは接合上皮の根尖側端に隣接する線維群が強染された。20週齢以後は染色性に変化はみられなかったが、線維束間が粗となっていた。

抗ファイブロネクチン抗体は、1週齢では歯乳頭は網目状に強陽性を示し、歯小囊では形成されつつある象牙

図 3 図説は次頁

図 4 接合上皮におけるファイブロネクチンの局在

セメント・エナメル境を越えて根尖側に伸展した接合上皮の外側基底膜に一致してファイブロネクチンの局在が観察される。×110

質の外形を取り囲むように平行に細い線維状に染色された。また形成されつつある象牙質の尖端部ではヘルトウィッチ上皮鞘に一致して強い線状の蛍光が認められた。2, 3 週齢では、歯根膜線維の走行にほぼ一致して細い線維状の蛍光を認め、さらに歯槽骨付近では、線維束に一致して密に染色され、歯槽骨に連続していた。根尖部では、象牙質の内側からヘルトウィッチ上皮鞘に続く線状の強い蛍光を認めたが、染色性は 1 週齢と比較して弱かった。5 週齢以後も同様に、歯根膜線維の走行に沿って染色された (図 3)。7~20 週齢まで接合上皮の根尖側端に隣接する線維群がやや密に染色された。

3. セメント質

セメント質の形成は 3 週齢まではみられず、5 週齢になり根尖側にわずかに有細胞性セメント質の添加を認めた。歯頸側の歯根面近くに、胞体が大きく多核でエオジン好性の細胞質を持つセメント芽細胞がみられた。7 週

齢では歯頸側の歯根面にも、薄い無細胞性セメント質が層状に形成され、その表層部にセメント芽細胞を認めた。根尖側の歯根面にはさらにセメント質が添加されていた。セメント質層は 10 週齢以後、20 週齢まで漸次厚みを増し、有細胞性セメント質の添加は特に根尖側で著明であった。30 週齢になると根尖側のセメント質の表面に凹凸がみられるようになり、40 週齢以後は週齢を重ねるに従いセメント質層は厚みを増し、根尖側のセメント質表面の凹凸も著明となった。

3~20 週齢までは、接合上皮の根尖側端はセメント・エナメル境に位置していたが、30 週齢ではセメント・エナメル境を越え、セメント質上に移動し、以後漸次根尖側へ移動していた。

免疫染色の結果、抗 I 型コラーゲン抗体は 5~40 週齢までのすべての例および 50 週齢の一部の例で、無細胞性セメント質と有細胞性セメント質の双方に陽性を示した。しかしながら 60, 70, 80 週齢では無細胞性セメント質は染色されず、有細胞性セメント質のみに陽性像がみられた。

抗 III 型コラーゲン抗体は抗 I 型コラーゲン抗体と同様に、5~40 週齢までのすべての例と一部の 50 週齢例で無細胞性セメント質に陽性を示したが、以後の週齢では無細胞性セメント質は染色されなかった。有細胞性セメント質層では、シャープ線維のみが抗 III 型コラーゲン抗体に陽性を示した。

抗ファイブロネクチン抗体は無細胞性セメント質、有細胞性セメント質の双方ともに基質には反応を示さず、セメント細胞の周囲のみが染色された。また 30 週齢以降の接合上皮の根尖側の外側基底膜に一致して強い蛍光を認めた (図 4)。

IV. 考 察

今回の観察では歯槽骨、歯根膜腔の形態、歯根膜線維と線維芽細胞、接合上皮に加齢による組織学的な変化を認めたので、そのおのおのについて考察する。

図 3 抗 I 型コラーゲン抗体、抗 III 型コラーゲン抗体および抗ファイブロネクチン抗体を用いた蛍光抗体法による免疫染色
抗 I 型コラーゲン抗体に対しては歯槽骨、象牙質および歯根膜線維に一致して蛍光を認める (a-c)。抗 III 型コラーゲン抗体に対しては歯根膜線維と血管壁に一致して蛍光を認める (d-f)。抗ファイブロネクチン抗体に対しては歯槽骨、象牙質、歯根膜線維および血管壁に一致して蛍光を認める (g-i)。抗 I 型コラーゲン抗体および抗 III 型コラーゲン抗体に対して蛍光を示す歯根膜線維束は太いが、抗ファイブロネクチン抗体に対して蛍光を示す歯根膜線維束は細い。2 週齢例では、抗 I 型コラーゲン抗体に対しても (a)、抗 III 型コラーゲン抗体に対しても (d)、抗ファイブロネクチン抗体に対しても (g)、歯槽骨に連絡する歯根膜線維に一致して太くて強い蛍光を認める。

a, d, g: 2 週齢, b, e, h: 10 週齢, c, f, i: 70 週齢, AL: 歯槽骨, C: セメント質, a~i×270

表 1 齒槽骨の加齢的变化

	1 week	2	3	5	7	10	15	20	30	40	50	60	70	80
骨量	-	-	+	+	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-
齒根膜側骨壁の凹凸	-	++	++	++	+	-	-	+	++	++	+	+	+	+
骨芽細胞の配列の規則性	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
破骨細胞	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
コラーゲンの分布状態														
type I	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
type III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ファイブロネクチンの分布状態	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

表 2 齒根膜の加齢的变化

	1 Week	2	3	5	7	10	15	20	30	40	50	60	70	80
幅	※	冊	冊	冊	冊	冊	++	++	+	+	+	+	+	++
細胞数	※	冊	冊	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
線維の方向	※	+	++	++	++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
血管の量	※	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++
マラッセの残存上皮	※	++	++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
線維の硝子化	※	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
コラーゲンの分布状態														
type I	※	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
type III	※	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+
ファイブロネクチンの分布状態	※	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

※：未萌出

**：一部に線維の走行の乱れを認める

*：齒槽骨に近接した部位に豊富にみられる

+：接合上皮に近接した部位に豊富にみられる

1. 齒槽骨の変化

齒槽骨においては、骨量、齒根膜側の骨壁の表面性状、骨芽細胞の配列、破骨細胞の出現に変化がみられた(表 1)。

生後 2, 3 週齢では齒槽骨は量的に少なく、齒根膜側の骨壁の凹凸も著しかったが、骨表面には骨芽細胞が整然とならび、その間に存在する破骨細胞の数が他週齢に比べ多いことから、この時期には齒槽骨の構築の改造が盛んに行われていることが推測される。齒根膜側の骨壁の凹凸は 5 週齢以後 20 週齢まで、週齢を重ねるに従い次第に減少し、一方骨量は次第に増加することから、20 週齢までは齒槽骨の成長が行われていると考えられる。しかしながら 20 週齢以後は、齒根膜側の骨壁に再び凹凸が出現し、週齢の増加に伴いその程度を増し、また骨表面の骨芽細胞の配列が乱れ、かつ齒槽骨量がしだいに減少していることなどから、この時期は骨が退行過程にあることが考えられる。以上のような骨芽細胞の配列状態、齒根膜側の骨壁の表面性状および全体の骨量の変化などから、20 週齢が齒槽骨の成長から老化へと変化する

ターニングポイントであると考えられる。

いずれの週齢においても、骨基質は抗 I 型コラーゲン抗体に強染され、抗 III 型コラーゲン抗体には染色されず、抗ファイブロネクチン抗体に弱染され、これらの染色態度に大きな差はなかった。このことから骨組織中の基質成分の性状は加齢による変化が少ないと考えられる。

2. 齒根膜腔の変化

週齢が増すとともに、齒根膜腔は狭窄する傾向にあった(表 2)。2, 3 週齢では齒槽骨およびセメント質ともに形成が不十分のため広い齒根膜腔を有していたが、齒槽骨の成長と 10 週齢以後明瞭になるセメント質の添加のため(表 3)、齒根膜腔は徐々に狭窄傾向を示していた。セメント質は根尖側の方が沈着量が大きく、また老齢のマウスでは齒槽骨壁もセメント質表面も凹凸が著しくなるので、齒根膜腔は複雑な形態を示した。Severson ら⁹⁾は、ヒト齒根膜では同一年齢群内でも個体差が大きいため齒根膜腔の狭窄については明言していないが、今回の

表 3 セメント質の加齢的变化

		1 week	2	3	5	7	10	15	20	30	40	50	60	70	80
厚さ	無細胞層	※	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	有細胞層	※	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
表面の凹凸不整		※	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
接合上皮の根尖側移動		※	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
コラーゲンの分布状態															
	type I 無細胞層	※	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
	有細胞層	※	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	type III 無細胞層	※	-	-	-	+	+	+	+	+	+	±	±	-	-
	有細胞層	※	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ファイブロネクチンの分布状態															
	無細胞層	※	-	-	-	-	-	-	-	-*	-*	-*	-*	-*	-*
	有細胞層	※	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

※: 未萌出

*: 接合上皮の外側基底膜に一致して局在

マウスを用いた実験では個体差は小さく、増週齢的に狭窄する傾向がみられるという Tonna¹²⁾ や Ive¹³⁾ の報告と一致しており、これらのことから歯根膜腔の狭窄傾向は加齢現象とみなすことができる。しかしながらこの狭窄傾向は、個体の成長段階にあると考えられる生後20週齢までの期間中にも認められた現象であり、狭窄傾向を即、老化現象と考えることには抵抗がある。

3. 歯根膜線維

歯根膜線維の線維束の形成、太さ、走行方向について経過的に変化を観察すると(表2)、歯牙が未萌出の2週齢では線維束は細く走行の方向性も明瞭ではないが、3週齢以後では明瞭となり、また線維束も太さを増していた。このことから歯牙を介して伝達される咬合力に反応して歯根膜線維は太さを増し、咬合という機能に合った配列をとったことが推定できる。20週齢以後、歯槽骨の歯根膜側骨壁に凹凸が生じ始めたのに伴い、歯根膜線維の走行に乱れを生じ、この傾向は週齢が増すにつれ大きくなったが、突出部には常に歯根膜線維が付着し、セメント質との間を連絡していた。このような線維束の骨との境界部でしばしば線維の硝子化がみられたが、今回の実験に使用したマウスでは80週齢まで歯牙の脱落はみられず、また飼料についても一定のものを使用しており、咬合状態の違いによる変化とは考えがたく、むしろ歯槽骨の減少に伴う機能的歯根膜線維の減少により、咬合力が個々の線維に過度の力となって働いた結果起こった退行性変化であると考えた。

コラーゲンの型別の分布をみると、前述した歯根膜線維の走行に一致してI型コラーゲンとIII型コラーゲンが

ともに染色され、両コラーゲンが歯根膜線維の主な成分であることが示され、多くの報告と一致した^{11,14,15)}。20週齢までの期間中に、歯槽骨に近接する線維束に一致してIII型コラーゲンが特に強く染色された所見や、一般にIII型コラーゲンは形成途中にある幼若な組織に多く存在するといわれていること、および組織学的観察でもこの期間中に線維束が太さを増しかつ機能的配列をとることから、この時期に線維束の形成が歯槽骨側で盛んに行われていると考えられる。またファイブロネクチンについては、いずれの週齢でも歯根膜線維の走行に沿って観察されたが、2週齢と3週齢では、歯槽骨に近接する線維束に一致してIII型コラーゲンと同様に密に存在していたことから、初期の線維束形成に深く関与していると考えられる。20週齢以後はI型コラーゲン、III型コラーゲンおよびファイブロネクチンの分布は均一で、この時期ではこれらの基質成分の合成と吸収のバランスが保たれていることがうかがえる。

4. 接合上皮の根尖側端の根尖側移動

接合上皮の根尖側端は一般に健康な状態ではセメント・エナメル境に位置するといわれ、歯周炎の際に歯周ポケットの深化に先行して接合上皮がセメント質面を根尖側方向へ沿って深行増殖することが知られている¹⁶⁾。Takata¹⁷⁾はヒト歯周ポケットの深化の際に、早期病変では接合上皮の根尖側端はセメント・エナメル境に位置するか、あるいはわずかに越える程度で、確立期病変で接合上皮が根尖側へ移動していることを観察している。また伊東¹⁸⁾はラットに実験的にポケットを形成させる過程で、初期ポケットの段階では接合上皮の深行増殖

はほとんどないことを報告している。今回の観察では接合上皮に隣接する粘膜固有層には著明な炎症性細胞の浸潤はなく、接合上皮の移動が炎症により引き起こされたとは考えにくい。Beertsen¹⁹⁾は、実験動物ではプラークもなく、炎症性細胞も存在しない状態でも接合上皮が根尖側に移動することを示し、持続的な歯牙の萌出の結果生じた現象であると考えている。われわれの観察では接合上皮の根尖側端が根尖側に移動している例において、接合上皮の外側基底膜に一致してファイブロネクチンの局在を認めた。皮膚²⁰⁾や角膜²¹⁾の創傷治癒の過程でファイブロネクチンが上皮の移動の際の provisional matrix であるといわれていることから、接合上皮の根尖側への移動にファイブロネクチンが関与していることが推測できる。

以上述べてきたように、形態的な変化と I 型コラーゲン、III 型コラーゲンおよびファイブロネクチンの分布状態から歯根膜線維は歯牙を介して伝達される咬合力により太さを増し、機能にあった走行方向をとることが考えられたが、これらの変化は 20 週齢までで、以後は大きな変化はなく、歯槽骨においてもターニングポイントは 20 週齢であると考えられ、共同して機能を果たす歯槽骨とターニングポイントは同時期であった。また、歯周組織の構造の変化に対する咬合状態の影響については、実験の全経過を通じ歯牙の脱落はなく、またマウスの飼育にはすべて同一の固形飼料を用いるなどの点から除外できると考えられる。今回観察した歯槽骨壁の粗造化、歯根膜腔の狭窄、歯根膜の細胞数の減少、歯根膜線維の硝子化などの変化はヒト歯根膜においても加齢による変化として報告されており⁶⁻⁹⁾、したがってマウスにおいても 20 週齢以後に観察された種々の組織学的変化は、加齢によるものであることが確認できた。

以上のようなことから歯根膜を中心とした歯周組織は、増齢に伴い歯牙に加わる力の変化に対する適応力が低下することが推定でき、高齢者における補綴物の設計や処置時に十分な配慮が必要であると考ええる。

V. 結 論

生後 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 週齢の雄 C3H マウスの下顎右側第 1 臼歯の歯根膜の加齢に伴う変化について、組織学的に観察し、さらに I 型コラーゲン、III 型コラーゲンおよびファイブロネクチンの分布について免疫組織学的に観察した結果、次のような結論を得た。

1. 歯槽骨量は 20 週齢まで次第に増加し、歯根膜側骨壁は次第に平坦となるが、以後、骨量は減少し、骨壁の凹凸も著しくなることから、20 週齢がターニングポイントであると考えた。I 型コラーゲン、III 型コラーゲンおよびファイブロネクチンの分布には加齢による変化はみられなかった。

2. 歯根膜腔は、週齢が増すとともに狭窄する傾向にあった。

3. 歯根膜線維は、2 週齢以後、歯根面から歯槽骨まで歯冠側方向へ、方向性の明瞭な走行を示したが、20 週齢以後、歯槽骨頂部で走行方向が不明瞭となり、また各線維束間は粗となっていた。

4. 前述の歯根膜線維に一致して I 型コラーゲンと III 型コラーゲンが同様に染色され、両コラーゲンが歯根膜線維の主成分であることを確認した。

5. さらに III 型コラーゲンは、20 週齢までの接合上皮の根尖側端に隣接する線維束と歯槽骨壁に近接する線維束で強く染色され、この部位において III 型コラーゲンの形成が盛んに行われていることが推測された。

6. 線維芽細胞数は週齢が増すとともに減少し、形態的にも変化をきたした。

7. 30 週齢以後、接合上皮の根尖側端が根尖側へ移動し、接合上皮の外側基底膜に一致してファイブロネクチンが染色され、ファイブロネクチンの、接合上皮の深行増殖への関与が示唆された。

本研究は文部省科学研究費（一般研究 C、課題番号 01571069）の補助によった。

文 献

- 1) Glickman, I. : Clinical periodontology, 3, 30~36, W.B. Saunders, Philadelphia, 1966.
- 2) Melcher, A.H. : Periodontal ligament, edited by Bhaskar, S.N., Urban's Oral Histology and Embryology, 8 : 206~233, C.V. Mosby, St. Louis, 1976.
- 3) 保母須弥也 : オーラルリハビリテーション, 1, 44, 医歯薬出版, 東京, 1974.
- 4) Tylman, S.D. : Theory and practice of crown and fixed partial prosthodontics (bridge), 6, 78~96, C.V. Mosby, St. Louis, 1970.
- 5) Nagasawa, T. and Okane, H. : The role of the periodontal ligament in overdenture treatment, J Prosthet Dent, 42 : 12~16, 1979.
- 6) 秋吉正豊 : 歯周組織の老化, 渡辺郁馬編 老年歯科, 121~142, 医歯薬出版, 東京, 1981.

- 7) 雨宮 璋 : 加齢と歯周組織の変化, Dental Diamond, 188 : 24~30, 1990.
- 8) Grant, D. and Bernick, S. : The periodontium of ageing humans, J Periodontol, 43 : 660~667, 1972.
- 9) Severson, J.A., Moffett, B.C., Kokich, V. et al : A histologic study of age changes in the adult human periodontal joint (ligament), J Periodontol, 49 : 189~200, 1978.
- 10) 雨宮 璋 : 歯周組織, ペリオドンティックスの臨床, 1~17, 医歯薬出版, 東京, 1977.
- 11) Takita, K., Ohsaki, Y., Nakata, M. et al : Immunofluorescence localization of type I and type III collagen and fibronectin in mouse dental tissue in late development and during molar eruption, Archs Oral Biol, 32 : 273~279, 1987.
- 12) Tonna, E.A. : Histological age changes associated with mouse paradental tissues, J Gerontology, 28 : 1~12, 1973.
- 13) Ive, J.C., Shapiro, P.A. and Ivey, J.L. : Age-related changes in the periodontium of pigtail monkeys, J Periodont Res, 15 : 420~428, 1980.
- 14) Wang, H.W., Nanda, V., Rao, L.G. et al : Specific immunohistochemical localization of type III collagen in porcine periodontal tissues using the peroxidase-antiperoxidase method, J Histochem Cytochem, 28 : 1215~1223, 1980.
- 15) Tung, P.S., Domenicucci, C., Wasi, S. et al : Specific immunohistochemical localization of osteonectin and collagen type I and type III in fetal and adult porcine dental tissues, J Histochem Cytochem, 33 : 531~540, 1985.
- 16) 秋吉正豊 : 歯周疾患の臨床病理学, ペリオドンティックスの臨床, 19~41, 医歯薬出版, 東京, 1977.
- 17) Takata, T. and Donath, K. : The mechanism of pocket formation. A light microscopic study on undecalcified human material, J Periodontol, 59 : 215~221, 1988.
- 18) 伊東博司 : プラーク付着によるラットの実験的ポケット形成に関する病理学的研究, 広歯誌, 18 : 99~119, 1986.
- 19) Beertsen, W., Everts, V., Niehof, A. et al : Loss of connective tissue attachment in the marginal periodontium of the mouse following blockage of eruption. Light microscopic observations, J Periodont Res, 17 : 640~656, 1982.
- 20) Clark, R.A.F., Lanigan, J.M., DellaPelle, P. et al : Fibronectin and fibrin provide a provisional matrix for epidermal cell migration during wound re-epithelialization, J Invest Dermatol, 79 : 264~269, 1982.
- 21) Fujikawa, L.S., Foster, C.S., Gipson, I.K. et al : Basement membrane components in healing rabbit corneal epithelial wounds Immunofluorescence and ultrastructural studies, J Cell Biol, 98 : 128~138, 1984.