Lathyrism ラットの臼歯歯根膜に及ぼす咬合機能の 影響に関する電子顕微鏡的研究

阿 部 智

北海道大学歯学部口腔病理学講座（指導：雨宮 璋教授）

〔受付：昭和57年3月20日〕

Electron microscopic studies on influence of occlusion on the molar periodontal ligament in lathyric rats

Satoshi Abe

*Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Hokkaido University,
Kita 13, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060*

(Director : Prof. Akira Amemiya)

[Accepted for publication : March 20, 1982]

Key words : lathyrism / periodontal ligament / functional demand / fibroblast / ultrastructure

Abstract : The purpose of the present studies was to clarify the significance of functional demand by occlusion on the periodontal ligament (PDL) of rats suffering or recovering from lathyrism. 130 Wistar male rats, weighing 70-150 g, were intraperitoneally given a 2.5% aqueous solution of aminoacetonitrile (AAN) in dosages of 200 mg/kg daily, and divided into three groups. Group I : On the 15th day of the experiment, their upper left molars were extracted. Group II : AAN administration was stopped on the 14th day. Group III : On the 14th day of the final administration of AAN, their upper left molars were extracted. 3 to 5 rats of the each group were sacrificed at intervals of 6 hours to 14 days after extraction of the opposed teeth or the final administration of AAN. The specimens including the left mandibular molars were dissected and processed for electron microscopy.

The PDL of lathyric rats free from functional stress showed rapid disappearance of the characteristic lathyric changes by 2 days after extraction followed by atrophic changes consisting of slender fibroblasts and some collagen fibrils approximately parallel to the long axis of the tooth.

In the PDL of rats recovering from lathyrism, the lathyric changes disappeared after a relatively short duration. The reformation of bundles of collagen fibrils occurred from about 5 days after final administration of AAN followed by reorganization of the functional structure.

On the other hand, the absence of occlusal force during the recovery process resulted in disuse atrophy instead of reorganization of the PDL.

The results of the present studies suggest that functional demand by occlusion plays an important role in reorganization of the PDL recovering from lathyrism as well as in preservation of lathyric changes and that the fibroblast participates in these processes in response to demand.

緒 言

スイートピー (*Lathyrus odoratus*) の種子を

札幌市北区北13条西7丁目 (〒060)

食餌に混ぜて、ラットなどの実験動物を飼育すると、成長速度の減少¹⁻⁴⁾、剥離性大動脈瘤などの血管の変化^{2,5,6)}と共に、脊柱後側彎^{1,2,6-8)}、胸骨彎曲¹⁾、関節の変位^{6,9)}、上腕骨や大腿骨の筋付着部

の過骨症^{1,7,10)}、出血性関節症⁷⁾などの骨格系の変化を主徴とする osteolathyrism と呼ばれる病変が発症する。この様なラシリズムにおける変化は、スイートピーの種子に含まれる β -aminopropionitrile (BAPN) によって惹起されることが明らかにされているが^{11,12)}、それに類似の構造を有する aminoacetonitrile (AAN) はさらに強力なラシリズム誘起物質^{13,14)}としてラシリズムの病態、特に骨格系を中心とする間葉系組織の病変の研究に用いられている¹³⁻²⁴⁾。

ラシリズムでは、前記の様な変化の他に、口腔顔面領域においても、顎骨の筋付着部の過骨症^{3,4,17,23-26)}、歯牙の動揺^{25,26)}、歯槽骨の多孔症^{3,4,15,26,27)}、及び歯根膜における線維芽細胞の棚状配列とその間の均質無構造な硝子様物質の出現を特徴とする変化^{3,4,8,15,17,19,20,22-31)}が認められる。

特に歯根膜にみられる変化は、ラシリズムに特有な変化として、その本態について多くの検索がなされてきた。

Gardner (1960)²⁸⁾は、均質無構造な硝子様物質を組織化学的に検索し、この物質はコラーゲン線維と同様の染色性を示すが線維としての形態は明らかではないことから、altered collagen (paracollagen) であろうと報告した。

Krikos (1964)²⁹⁾も組織化学的検索により同様な結果を得ているが、基質における中性多糖の増加を認め、均質無構造な物質中の線維は正常な歯根膜のコラーゲン線維と染色性は同じだが、存在様式が異なるのかも知れないと述べている。

また、この様な均質無構造な物質を囲んで棚状に配列した細胞は、好塩基性を増すと言われている^{8,25,28,30)}が、鈴木 (1973)²²⁾は、組織化学的に強いピロニン好性を認め、RNA が多量に存在することを示唆した。

酵素組織化学的な検索では、西原 (1967)²⁰⁾は、棚状に配列した細胞に中等度のアルカリホスファターゼ、酸ホスファターゼの活性を認め、また鈴木 (1973)²²⁾は NADH 脱水素酵素をはじめとする各種脱水素酵素やチトクローム酸化酵素などの比較的強い活性を認めているが、Yoshikawa (1971)³¹⁾は、アルカリホスファターゼ、酸ホスファターゼ、

乳酸脱水素酵素などの酵素活性は、非常に低下すると述べている。

この様に歯根膜にみられるラシリックな変化についての検索は、種々の手法を用いて行なわれてきたが、ラシリックな基質や細胞の変化に関して依然として不一致な点が残されており、不明瞭な点も多い。

生化学的な研究により、AAN の様なラシロゲンは、架橋結合を阻害することにより、コラーゲン線維の成熟を障害することが明らかにされており³²⁻³⁴⁾、ラシリックな変化の発現には、この様な細胞外におけるコラーゲン線維の成熟障害が基盤にあると考えられているが、一方では糖代謝における変化も報告されており^{16,35,36)}、細胞自体にも何らかの変化が存在するものと思われる。

Amemiya (1966)¹⁸⁾は、ラットの大腿骨過骨症部の骨形成細胞を電顕的に観察し、細胞小器官、特に粗面小胞体の減少を認めた。

また Enomoto (1969)²¹⁾は、ラット脛骨骨幹部の骨芽細胞を電顕的に観察しているが、比較的多量の AAN を投与した急性のラシリズムでは、粗面小胞体の減少とゴルジ装置の発達を認めるが、少量の AAN による慢性のラシリズムでは、細胞はほとんど変化しないと述べている。この様な電顕的観察は、結合組織形成細胞に対するラシロゲンの作用を明らかにする上で重要なものと思われるが、歯根膜についての電顕的検索は、渉猟した範囲ではなされていない。

ラシリズムにおける変化の発現に際して、機械的な刺激が重要な因子として作用していることを示唆する報告も多くみられる^{15,25,30,37,38)}。口腔領域においては、未萌出歯や咬合位に達していない歯牙^{25,30)}、或は対合歯の抜去により咬合機能を喪失した歯牙^{15,30)}の歯根膜にはラシリズムに特有な変化がみられないことが明らかにされ、咬合による機械的刺激がラシリックな変化の発現に重要な役割りを演じていることが示唆されている。

一方、ラシロゲンの投与によって引き起こされた変化は、その投与を中止することにより、速やかに消失し、もとの正常な構造に回復することが知られている^{4,15,22-24,27)}。

Barrington and Meyer (1966)²⁷⁾は、BAPN

を含む食餌をラットに与え、その後投与を中止すると、体重の著明な回復がみられること及び、歯根膜におけるラシリックな変化は中止後2日目頃から減少の傾向を示し、5日目には正常な状態にまで回復することを報告している。

しかしながら、ラシリックな変化の発現に対する対合歯抜去の影響に関する研究やラシリズムからの回復過程に関する研究は、専ら光顕的な観察が主で、電子顕微鏡を用いて、細胞及び線維を含む基質を観察した報告はなされておらず、この分野を明らかにすることにより、これまでの光顕的検索の解釈にも大きな裏づけを与えることが出来ると考えられる。

本研究は、上述してきた様なラシリズムに関する種々の研究をもとに、ラシリズムの場合、及びラシリズムからの回復過程において対合歯の抜去により咬合機能を喪失したラットの臼歯歯根膜について、線維芽細胞とコラーゲン線維を含む基質の微細構造的変化を中心に観察し、歯根膜の構造と代謝に及ぼす咬合機能の役割りを明らかにすることを目的としてなされた。

実験材料及び方法

実験開始時体重70~150gのWistar系雄ラット130匹を用い、実験期間中、オリエンタル固型飼料(MF)と十分な水道水を与えて飼育した。

各実験動物には、aminoacetonitrile 酸性硫酸塩(AAN)の2.5%水溶液を200mg/kgの割合で連日腹腔内に投与した。それらの実験動物を次の3群に分け、ラシリズムにおける対合歯抜去の影響、咬合を営む場合のラシリズムからの回復過程、及び回復過程における対合歯抜去の影響について検索した。

1群: AAN投与15日目に上顎左側臼歯をエーテル麻酔下で抜去し、その後も投与を継続した。

2群: AANを14日間投与後、投与を中止した。

3群: AANを14日間投与し、最終投与と同時に、エーテル麻酔下で上顎左側臼歯を抜去した。

対合歯抜去後或はAAN投与中止後6時間目から、12時間、1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14日目までの間隔で経時的に、各群3~5匹のラットを0.05M cacodylate 緩衝液でpH 7.4に調整した

2.5% glutaraldehyde (4°C, 7%蔗糖を含む)で灌流固定を行い屠殺した。

なお1群と3群との間で抜歯後1日目までの期間の重複を避けるため、1群では15日目の投与時間よりも6時間早く抜歯を行った。

下顎左側臼歯部を歯槽骨と一塊にして取り出し、第一臼歯遠心根と第二臼歯近心根を含む歯槽中隔部を面出しした後、0.05% cacodylate 緩衝液(pH 7.4)で調整した5% glutaraldehyde (4°C, 7%蔗糖を含む)にて再度固定した。標本を0.05 M cacodylate 緩衝液(pH 7.4, 4°C, 7%蔗糖を含む)で洗浄した後、同液で緩衝(pH 7.4)した1%オスミウム酸(4°C)で後固定を行った。

次いでアルコール系列で脱水、プロピレンオキサイドで置換の後、Epon 812に包埋した。

全体像を把握するため、各標本について1~2μの切片を作り、トルイジンブルーにて染色し観察したが、部位により多少の差異が認められたので、本研究では第二臼歯近心根の近心側歯根膜の中央部よりやや歯頸部に近い部位を主な観察部位とした。この部位はラットの歯根膜のうちでは一般に比較的安定した機能的構造を示す部位である。

超薄切片に酢酸ウラニール・クエン酸鉛で二重染色をほどこした後、日立HU-11DS型電子顕微鏡にて観察した。

また対照群として、正常ラットの上顎左側臼歯をエーテル麻酔下にて抜去し、実験群と同様の間隔で屠殺し、電顕的に観察した³⁹⁾。

結 果

1. ラシリズムラットの歯根膜の変化

ラットにAANを投与すると、投与14日目には線維芽細胞の棚状配列とその間の均質無構造な硝子様物質の出現を特徴とするラシリズムに特有な変化が、検索した全てのラットの歯根膜のほぼ全域に認められた(Fig. 1)。

線維芽細胞は一般に楕円形~洋梨状のふっくらとした外形で、偏在する核とよく発達した粗面小胞体を有しており、隣接する細胞どうしの接触は密で、典型的な場合には交互に極性を示して配列していた(Fig. 2)。

棚状に配列した線維芽細胞に接してみられる均質無構造な硝子様物質、いわゆるラシリックな基質は、電顕的には方向性を失なった輪郭の不鮮明な線維様物質より成り (Fig. 3)、所により周期構造を示すコラーゲン小線維がみられるが、太さは一定ではなく、輪郭も不鮮明であった (Fig. 4)。

2. ラシリズムラット歯根膜の対合歯抜去による変化

実験1群で検索したラットの歯根膜では、AANによって惹起されたラシリズムに特有な変化は、対合歯の抜去により速やかに消失する。

対合歯抜去後6時間目ですでに、線維芽細胞の棚状配列の乱れが認められる。線維芽細胞は細長くなる傾向を示すと共に、細胞どうしの接触が疎になり、均質化の傾向を示す基質の中に突起を伸ばしてゆく。その様な細胞周囲には線維様構造のみられない明るい領域が認められた (Fig. 5)。線維芽細胞の細胞質においては、粗面小胞体の層板構造が不鮮明になり、遊離のリボゾームが増加する。また随所に線維様物質を含む構造がみられたが (Fig. 6)、この様な構造はコラーゲン小線維の外形に一致した電子密度のやや低い構造として認められることが多かった。

対合歯抜去後12時間目には、基質の均質化と基質内への線維芽細胞の侵入がさらに明らかになる。

ほとんど淡明な基質中に不規則な外形の細胞突起を有する線維芽細胞がみられるが、それらは一般に、中等度迄に発達した粗面小胞体や比較的大きなゴルジ装置の他に散在性に線維様物質を含む構造を有していた (Fig. 7)。また一部には、遊離のリボゾームと共に、多数の微細小管或は飲小胞及び線維を含む食胞、ライソゾームなどの構造を有する活発な線維吸収を示す細胞もみられた (Fig. 8)。

対合歯抜去後1日目には、部位により多少の差は認められるが、ラシリックな基質の中に多数の線維芽細胞が侵入し、ラシリズムに特有な像はほとんど失われる。所により棚状配列を保存している部もみられるが、細胞は細長く、細胞間は著るしく拡張し、ほとんど基質を含まない明るい空隙として観察された。ラシリックな基質に侵入し

た線維芽細胞は層板状の粗面小胞体や明瞭なゴルジ装置など比較的良好に発達した細胞小器官を有しているが、この時期には血管周囲を中心に比較的幼若な線維芽細胞がみられる様になり、一部では一層の内皮細胞より成る小血管を細胞が取り囲む様な所もみられた。その様な細胞のなかには、周囲の基質内に突出した細長い突起と細胞辺縁に限局した多数の小胞を有する細胞がみられた (Fig. 9)。

対合歯抜去後2日目には、ラシリックな基質の均質化と細胞小器官に乏しい比較的幼若な線維芽細胞の侵入によりラシリズムに特有な変化は全く失われる。

対合歯抜去後3日目には、不規則な外形を示す線維芽細胞が歯根膜中にほぼ均等に分布する様になるが、その様な細胞は細胞小器官に乏しい比較的幼若なものや (Fig. 10)、遊離のリボゾームや微細小管の他に多数の線維片を含む食胞を有する細胞より成っていた (Fig. 11)。細胞間基質は絮状かほとんど淡明で、ごくわずかに周期構造を有するコラーゲン小線維がみられるに過ぎない。

対合歯抜去後5日目では、基本的には3日目までと類似の所見を示すが、細胞のあるものは歯牙の長軸と平行に配列する傾向を示す様になる。

細胞は細長く、層板状の粗面小胞体と比較的大きなゴルジ装置を有するものが多いが、ゴルジ装置の層板或は小胞構造は一般に不鮮明で、周囲より電子密度の低い領域として認められた (Fig. 12)。

対合歯抜去後7日目には、線維芽細胞が歯牙の長軸方向に配列する傾向はさらに明らかになる。線維芽細胞は細長く萎縮性で、わずかの遊離のリボゾームや粗面小胞体が見られる他は膜構造は一般に不鮮明である。

細胞間には淡明な基質中に、細胞に並行して少数のコラーゲン小線維が認められるに過ぎない (Fig. 13)。

〔小括〕

咬合を喪失したラシリズムラットの歯根膜にみられる変化を要約すると次の如くである。

① 対合歯抜去後6時間目ですでに線維芽細胞の棚状配列が乱れ、ラシリックな基質の中に突起

を伸ばす。

② ラシリックな基質への線維芽細胞の侵入と基質の均質化により、対合歯抜去後2日目には、ラシリズムに特有な変化は全く失われる。

③ この過程において、線維芽細胞には線維を含む食胞やライソゾームなどの構造が増加する。また、血管周囲を中心に比較的幼若な線維芽細胞が淡明化した基質にみられるようになる。

④ 対合歯抜去後5日目頃から、線維芽細胞は歯牙の長軸方向に配列する傾向を示す。その様な細胞は、層板状の粗面小胞体と比較的大きなゴルジ装置を有するが、ゴルジ装置には膜構造の不明瞭化がみられる。

⑤ 対合歯抜去後7日目には、ほとんど淡明無構造な基質の中に細胞小器官に乏しい萎縮性の線維芽細胞が、歯牙の長軸方向に配列し、細胞間には、ごく少数のコラーゲン小線維がみられるに過ぎない。

3. 正常ラット歯根膜の対合歯抜去による変化

対照群として検索した正常ラットにおいても、対合歯の抜去により咬合機能を喪失した場合、歯根膜には速やかに著しい変化が生じる。

対合歯抜去後6時間目には、歯根膜線維及び線維芽細胞の配列に乱れがみられる。線維芽細胞は大小の突起を有する不規則な外形を示すと共に、細胞間ではコラーゲン小線維の輪郭が不鮮明になり、均質化の傾向を示し、対合歯抜去後2日目には、歯根膜線維の機能的配列は全く失われる (Fig. 14)。

対合歯抜去後5日目頃から、線維芽細胞が歯牙の長軸方向に配列する傾向を示す様になり、対合歯抜去後14日目には、歯牙の長軸方向に整然と並んだ線維芽細胞がみられる。その細胞体は非常に細長く、層板状の粗面小胞体、明瞭なゴルジ装置など比較的良好に発達した細胞小器官を有しており、細胞間には絮状の基質に混じってわずかながらコラーゲン小線維の形成がみられる (Fig. 15)。

4. ラシリズムからの回復過程における歯根膜の変化

実験2群として検索したラットにおいて、AANの投与によって歯根膜に引き起こされた変化は、その投与を中止することにより、速やかに消失し、

歯根膜は再び機能的構造を示す様になる。

投与中止後1日目以前では、ラシリズムに特有な像はほとんど変化を示さず、粗面小胞体に富むふっくらとした外形の線維芽細胞が密に接して配列していた。

棚状に配列した細胞間にみられるラシリックな基質は、依然として方向性を失った輪郭の不鮮明な線維様物質より成るが、一部では、細胞に接する部分に基質を含まない無構造な領域がみられた。

投与中止後2日目においても、線維芽細胞は棚状配列を示し、その間にはラシリックな基質が残存しているが、一般に細胞は細長くなる傾向を示し、隣接する細胞間には空隙がみられる様になる (Fig. 16)。

また、ふっくらとした胞体のラシリズムに特有な細胞も、多角形で突起を伸ばす傾向を示し、細胞周囲には線維構造を示さない明るい領域がみられる。その様な細胞の粗面小胞体は層板構造が不鮮明になり、遊離のリボゾームが増加するが (Fig. 17)、一部にはライソゾームや線維構造を含む食胞もみられた。

投与中止後3日目には、細胞の棚状配列がかなり乱れ、ラシリックな基質の中に細胞小器官の比較的良好に発達した突起を有する細胞が侵入するが (Fig. 18)、この様な細胞或は細胞の一部には、遊離のリボゾームに富み、飲小胞やライソゾーム及び微細小管を含むものがみられた (Fig. 19)。

ラシリックな基質は一般に均質化の傾向を示し、線維構造をほとんど示さない絮状を呈する部位が多くなるが、一部には、周期構造を有する輪郭の明瞭なコラーゲン小線維がみられた (Fig. 19)。

投与中止後4日目には、突起を有する多数の線維芽細胞が均質化したラシリックな基質の中、特に血管周囲を中心にみられる様になる (Fig. 20)。

線維芽細胞は一般に偏在する大きな核と層板状に発達した粗面小胞体、大きなゴルジ装置などの細胞小器官を有していた (Fig. 21)。

基質は、一部では活発な線維の形成を示す部もみられるが、大部分は線維性の構造を含まない淡明か絮状の物質より成っている。

投与中止後5日目になると、光顕的には、ラシリックな変化はほとんど消失し、線維芽細胞がほぼ均等に分布するようになる。

電顕的にも、部位によりラシリックな基質が散在性に残存してはいるが、一般にはコラーゲン小線維の再生が進み、淡明な基質の中に束状に配列したコラーゲン小線維がみられるようになる (Fig. 22)。

以後、歯根膜線維の機能的再配列が進み、投与中止後14日目には、束状に密に配列したコラーゲン小線維の間に細胞小器官に乏しい線維芽細胞がみられ、歯根膜は正常に近い機能的構造を示すようになる (Fig. 23)。

〔小括〕

ラシリズムからの回復過程における歯根膜の変化を要約すると次の如くである。

① 投与中止後2日目頃から、線維芽細胞の棚状配列は乱れて細長くなり、周囲に突起を伸ばす傾向を示す。

② 投与中止後3日目には、ラシリックな基質への線維芽細胞の侵入と基質の均質化の傾向が明らかになる。

③ 投与中止後4日目には、細胞小器官のよく発達した突起を有する線維芽細胞が絮状を呈する基質の中にみられる様になり、棚状の配列はほとんど失なわれる。

④ 投与中止後5日目には、線維芽細胞がほぼ均等に分布し、細胞間には束状に配列したコラーゲン小線維がみられる。

⑤ 歯根膜線維の機能的再配列が進み、投与中止後14日目には、束状に密に配列したコラーゲン小線維の間に、細胞小器官に乏しい線維芽細胞がみられ、歯根膜は正常に近い機能的構造を示す。

5. ラシリズムからの回復過程において対合歯を抜去した歯牙の歯根膜の変化

AAN の最終投与と同時に対合歯を抜去した実験3群のラットでは、ラシリックな変化は正常に咬合を営んでいる場合よりもさらに速やかに消失する。

対合歯抜去後6時間目ですでに、線維芽細胞の棚状配列に乱れが生じる。細胞は細長く、細胞間は拡張し、線維様物質を含まない明るい空隙がみ

られるようになる。

ラシリックな基質は依然として方向性を示さない分断された輪郭の不鮮明な線維様物質より成っている。

対合歯抜去後12時間目では、基質の均質化と基質内への線維芽細胞の侵入が明らかになる。ほとんど無構造な基質の中に複雑な突起を有する線維芽細胞がみられるが、その様な細胞は層板状の粗面小胞体、大きなゴルジ装置など比較的良好に発達した細胞小器官を有しているが、部位により線維様物質を含む食胞や飲小胞及びライソゾームなどの構造がみられた。

対合歯抜去後1日目には、ラシリックな基質の中に多数の線維芽細胞が侵入し、ラシリズムに特有な像は失なわれる。所により棚状配列を示す細胞がみられるが、細胞質はさらに細長く、細胞間は著しく拡張し、細胞周囲には基質を含まない明るい空隙がみられる。

ラシリックな基質に侵入した細胞は、四方に細長い突起を伸ばし、隣接する細胞の突起と接触するものもみられた。これらの細胞は一般に、粗面小胞体や遊離のリボゾームの他にミトコンドリアやゴルジ装置などの発達した細胞小器官を有している。

また一部には、飲小胞やライソゾームに富む細胞がみられるが、この様な細胞は、血管周囲を中心に比較的細胞小器官に乏しい幼若な線維芽細胞と共にみられることが多かった。

対合歯抜去後2日目には、ラシリズムに特有な変化は全く失なわれ、均質な基質の中に線維芽細胞はほぼ均等に分布するようになる。線維芽細胞は一般に、やや小型の不規則な外形で、比較的大きな核と細胞質には遊離のリボゾームを主体に少量の粗面小胞体を有する比較的幼若なものであった (Fig. 24)。

対合歯抜去後5日目には、遊離のリボゾームや層板状の粗面小胞体及び発達したゴルジ装置を有する線維芽細胞がみられ、その一部は歯牙の長軸方向に配列する傾向を示すようになる (Fig. 25)。細胞周囲の基質はほとんど淡明か無構造で、ごくわずかに輪郭の明瞭なコラーゲン小線維がみられるにすぎない。

対合歯抜去後10日目には、線維芽細胞が歯牙の長軸方向に配列する傾向はさらに明らかになる。その細胞体は細長く、比較的豊富な細胞小器官を有しており、それに並行して少数のコラーゲン小線維の形成がみられる (Fig. 26)。

【小括】

ラシリズムからの回復過程に咬合機能を喪失した歯牙の歯根膜にみられる変化を要約すると、次の如くである。

① 対合歯抜去後6時間ですでに、線維芽細胞の棚状配列に乱れが生じ、突起を有する細胞がラシリックな基質の中に侵入すると共に基質は均質化の傾向を示す。

② 対合歯抜去後2日目には、均質化した基質の中に比較的幼若な線維芽細胞がほぼ均等に分布する様になり、ラシリズムに特有な変化は全く失われる。

③ 対合歯抜去後5日目頃より、線維芽細胞は歯牙の長軸方向に配列する傾向を示す。

④ 対合歯抜去後10日目には、細胞が歯牙の長軸方向に配列する傾向は明らかになり、細長い、比較的豊富な細胞小器官を有する線維芽細胞に並行して、少数のコラーゲン小線維がみられる。

⑤ この様にラシリズムに特有な変化は、咬合歯歯根膜よりもさらに速やかに消失するが、咬合歯歯根膜の様にそれに引き続いて起こるコラーゲン小線維の活発な再生とその機能的再配列はみられなかった。

考 察

1. ラシリズムにおける歯根膜の変化について
ラシリズムでは、骨格系の変化と共に、臼歯歯根膜にも特徴的な変化が出現することから、これまで多数の報告がなされてきた^{3,4,8,15,17,19,20,22-31)}。しかしそれらは専ら光顕レベルのもので、微細構造的変化についての報告はほとんどされていない。

歯根膜におけるラシリックな変化は、一般にラシロゲン投与3～5日目頃から出現し^{19,20,22,23,27-31)}、7日目以降では明らかな変化を示すようになることから、本研究で観察を開始したAAM投与14日目頃の歯根膜の電顕像はラシリズムにおける

特徴的な変化を表わしているものと思われる。この時期の線維芽細胞は、ふっくらとした楕円形～紡錘形で、層板状によく発達した粗面小胞体を有しており、光顕的観察による好塩基性の増加^{8,25,28,30)}や強いピロニン好性²²⁾と一致する所見であったが、ゴルジ装置は退縮し、層板や小胞構造は明らかではなかった。

ラシリズムにおける歯根膜以外の部位を電顕的に観察した報告も比較的少ないが、Amemiya (1966)¹⁸⁾は、ラットの大腿骨過骨症部の骨形成細胞に細胞小器官、特に粗面小胞体の減少を認め、また Enomoto (1969)²¹⁾は、ラット脛骨骨幹部の骨芽細胞に粗面小胞体の減少とゴルジ装置の発達を認めている。

この様な所見は、ラシリズムではコラーゲンを含む骨基質の合成に何らかの障害があることを示しているものと考えられる。

本研究で観察した歯根膜の線維芽細胞においても同様な障害があるものと思われるが、歯根膜では架橋結合の阻害による線維の脆弱化を補うべく多量のコラーゲンの合成が必要であり、また、Sims (1977)⁸⁾が述べている如く、ラシリズムでは歯根膜の線維芽細胞の数には変化がないことから、個々の細胞に対するコラーゲン合成の要請が高まり、粗面小胞体の発達が引き起こされるのであろう。

ゴルジ装置の退縮は、Roy (1970)⁴⁰⁾が骨関節炎の滑膜細胞において認めている様に、糖類或は蛋白-糖複合体の合成と分泌の過程に何らかの障害があることを示唆するものと思われるが、オートラジオグラフィなどの手法を用いて今後さらに検討を加えたい。

光顕的に均質無構造な硝子様物質、いわゆるラシリックな基質は、電顕的には輪郭の不鮮明な線維様物質より成っており、一部には周期構造を有するコラーゲン小線維が混在していた。

従来の組織化学的研究によると、その様な物質はコラーゲン線維の染色性を示すが^{28,29)}、線維としての形態は明瞭ではなく、Gardner (1960)²⁸⁾は、“altered collagen (paracollagen)”と呼んでいる。また Sims (1977)⁸⁾の位相差顕微鏡による観察では、ラシリックな基質は構造的に全く均質な

のではなく、コラーゲン線維が横断する像が認められている。

AAN がコラーゲン線維の成熟過程において分子内或は分子間の架橋結合を阻害するという生化学的な報告³²⁻³⁴⁾と考え合わせると、ラシリックな基質の電顕的所見は、種々の段階で成熟を阻害されたコラーゲン線維を表わしているものと思われる。

2. 対合歯抜去によるラシリックな変化の消失について

ラシリズムに特有な変化の発症には、機械的な刺激が重要な役割りを演じていることを示唆する多くの報告がなされている^{15, 25, 30, 37, 38)}。

Hamre and Yeager (1957, 1958)^{37, 38)}は、大腿骨における過骨症が筋付着部にみられることに注目し、その部に付着する筋肉或は筋肉の運動を支配する神経を切断した後、ラットを BAPN を含む食餌で飼育した所、切断された筋肉及び神経の支配筋が付着する部には、過骨症がみられないことを確認した。

歯根膜においても、咬合を営む前の歯牙や咬合を中絶した歯牙の歯根膜には、ラシリズムに特有な変化がみられないことが明らかにされている^{15, 25, 30)}。

今回の電顕的検索では、すでに発症した変化に対しても咬合による機械的刺激が密接に関係し、対合歯の抜去により咬合機能を喪失するとラシリックな変化は速やかに消失することが示された。

対合歯の抜去により、線維芽細胞の配列は疎になり、ラシリックな基質に突起を伸ばしてゆくが、このような細胞には、線維様物質を容れた多数の構造がみられた。また一方では、ラシリックな基質の均質化が認められた。対合歯抜去によるこのような基質の急速な消失は、対照群の正常ラットの歯根膜においても認められ、その機転については先に考察を行っているが³⁹⁾、細胞外でのコラゲナーゼなどの酵素による分解と線維芽細胞によるエンドサイトーシスにより、ラシリックな基質もまた代謝されるものと思われる。

このような線維芽細胞における機能的変化に対応して、細胞小器官にも構造的な変化が認められた。すなわち、粗面小胞体の減少とそれに代わる遊離

のリボゾームの増加及び飲小胞、食胞、ライソゾームの増加、そして微細小管の出現などが認められたが、このような変化は、コラーゲン合成の減少を示すと共にラシリックな基質のエンドサイトーシスとその分解の亢進を表わすものと考えられる。

対合歯抜去後1日目頃から、血管周囲を中心に幼若な線維芽細胞がみられる様になり、このような細胞もまたラシリックな基質に侵入し、その後の過程における主な構成細胞になると思われる。

Gould et al. (1977)⁴¹⁾は、マウス歯根膜の創傷治療部における前駆細胞の分布を検索し、歯根膜におけるほとんどの分裂細胞は血管に関係した“paravascular”な細胞であると報告している。また彼等(1980)⁴²⁾は、骨髓細胞の混入を除外した同様の実験を行い、前駆細胞の移動・分裂をオートラジオグラフィを用いて観察しているが、ラベルされた大部分の細胞が“paravascular”なもので、それらの幾らかは何度か分裂し、創傷部に移動することを認めた。

本研究においては、細胞分裂を示唆する像はほとんど認められなかったが、細胞が血管を数層に取り囲んでいる様な部位もみられたことから、ラシリックな基質に侵入する幼若な線維芽細胞は“paravascular”或は明らかに一部は“peri-vascular”な細胞と考えられる。

対合歯抜去後5日目頃から、線維芽細胞は歯牙の長軸方向に配列する傾向を示すが、対照群においても同時期に同様の傾向が認められた。このことは、対合歯抜去後の時間的な経過には、AAN はほとんど影響を与えないことを意味するものと思われる。

しかしながら、対合歯抜去後5日目以後の線維芽細胞を比較すると、ラシリズムラットでは、細胞小器官に乏しく、特にゴルジ装置における膜構造の不明瞭化が認められた。また細胞間にみられるコラーゲン小線維の形成もさらに少なかった。このような機械的刺激を失った歯根膜の線維芽細胞において認められる対照群との差異はAANによってもたらされた線維芽細胞に対する一次的な障害を意味しているものと思われる。

3. ラシリズムからの回復過程における変化について

従来の報告^{4,15,22,23,27)}でも明らかにされている様に、ラシロゲンの投与により歯根膜に発症した変化は、その投与を中止することにより消失し、歯根膜はもとの機能的構造を示す様になる。

Barrington and Meyer (1960)²⁷⁾は、ラットにBAPNを含有する食餌を28日間与え、その後の歯周組織の回復過程を検索しているが、歯根膜にみられる硝子様物質は、回復2日目頃から減少の傾向を示し、5日目には歯根膜は正常な状態にまで回復すると報告している。

本研究で観察したラシリズムに特有な変化の消失から歯根膜線維の機能的再配列に至る主な過程は、その様な光顕的研究とほぼ対応するものであった。

AANの投与中止によって線維芽細胞の棚状配列は乱れ、ラシリックな基質の中に侵入してゆくが、その様な細胞の中には、線維の貪食を示す像がかなりの頻度で認められた。また一方では、ラシリックな基質の淡明無構造化が認められた。

回復過程の初期におけるこの様な変化は、回復に際してラシリックな基質の分解が優先する反応であることを示唆するものと思われるが、抜歯群に比すと基質の分解が若干遅れて投与中止後2日目頃からみられたということは、それ以前には線維芽細胞の基質合成機能に対するAANの影響が残存していることを示すものと思われる。

投与中止後4日目頃から、比較的発達した粗面小胞体やゴルジ装置を有する線維芽細胞が血管周囲を中心に均質化した基質にみられる様になる。この時期には一部ではコラーゲン小線維の形成もみられるが、本格的な線維形成とその束状配列は、投与中止後5日目以降になる。

Barrington and Meyer (1960)²⁷⁾は、ラシリズムでは、細胞や線維は不可逆性の障害を受けずに、回復は、主に線維の再構成と線維芽細胞の再配列によると述べているが、今回の電顕的所見は、歯根膜の修復過程におけるコラーゲン線維の形成とその機能的配列が、主に回復期に出現した線維芽細胞によって行なわれることを示唆するものであり、この点については、今後さらに検討したい。

4. ラシリズムからの回復過程に及ぼす対合歯抜去の影響について

AANの最終投与と同時に対合歯を抜去した場合、ラシリックな変化は咬合を営む場合よりもさらに速やかに消失する。この消失時期における差は、咬合を営む場合には、AANの投与中止後もその作用が消失するまで線維芽細胞は基質を合成し続けるのに対し、投与中止と同時に対合歯を抜去した場合には、咬合による機能的要請が失われるとただちに線維芽細胞は基質合成を中止し、ラシリックな基質の分解を開始することによるものと考えられる。

従って本実験群においてみられた変化は、AAN継続投与群と同様な過程をとり、対合歯抜去後6時間目ですでに細胞の棚状配列は乱れ、ラシリックな基質への線維芽細胞の侵入と基質の均質化により、対合歯抜去後2日目には、ラシリックな変化は失なわれる。

対合歯抜去後5日目頃から線維芽細胞は歯牙の長軸方向に配列するようになり、以後対照群と同様な像を示した。

この様にラシリズムからの回復過程において対合歯を抜去した場合には、咬合機能を喪失することによって生じる変化が主体になり、歯根膜の修復性の変化は全く認められずに対照群でみられた様な³⁹⁾無機能性の廃用萎縮に移行する。

5. ラシリズム及びその回復過程における咬合機能の意義について

歯根膜におけるラシリズムに特有な変化の発現は、すでに述べた如く咬合による機械的な刺激と密接に関係している^{4,25,30)}。

Krikos et al. (1958)²⁵⁾は、BAPNを含む食餌をラットに与え、口腔領域に生ずる変化を検索した所、未萌出或は、咬合位に達していない第三臼歯の歯根膜にはラシリズムに特有な変化が出現しないことを認めた。

この様な結果に基づき、Krikos et al. (1965)³⁰⁾は、咬合を営む種々の年代のラットにBAPNを含む食餌を与え、片側の上顎臼歯を抜去し観察し、抜歯側の下顎臼歯歯根膜には、咬合側の様なラシリズムに特有な変化は認められないことを示した。また幼若ラットの未萌出第一臼歯歯根膜にもラシリックな変化が認められないことから、咬合による機械的な刺激がラシリズムに特有な変化の

発現に重要な役割りを演じていると述べている。

しかしながら、彼等は機械的刺激のない歯根膜には光顕的に明らかな変化はみられなくとも、塩可溶性コラーゲンの増加という変化は存在しており、外傷などの傷害が一旦加わると異常な反応を示すものと考えている。

この様なラシリズムに特有な変化の発現ばかりではなく、本研究では、すでに発症した変化の持続にも、咬合による機械的刺激が重要な役割りを演じていることが示された。

対合歯を抜去し AAN を継続投与した際、ラシリックな変化は速やかに消失し、萎縮性的変化に移行するが、先にも述べた様に、対合歯抜去後 5 日目以降において、対照群と比較すると、線維芽細胞の微細構造及び基質における線維の形成には明らかな差異が認められた。

生化学的な研究により、AAN の様なラシロゲンは架橋結合の障害によりコラーゲン線維の成熟を障害することが明らかにされているが³²⁻³⁴⁾、一方では、糖アミノ糖の代謝における変化も認められており^{16, 35, 36)}、ラシリックな変化の発現には、この様な線維を含む結合組織基質の形成における分子レベルでの障害が関係しているものと思われる。

機械的な刺激が除かれ、それに対する反応が治まった後の比較的代謝活性の低い状態でみられる AAN 継続投与群の線維芽細胞の所見は、AAN による細胞の基質形成に対する一次的な障害を示すものと思われる。

Enzinger and Warner (1960)¹⁶⁾ は、ラシリズムラットの腹部皮下に挿入したポリビニールスポンジにおける結合組織形成の過程で、AAN によって線維形成が遅延することを認めている。そして、比較的機械的刺激を受けにくい挿入スポンジには、線維芽細胞の増殖を認めないことから、骨格系或は大動脈における過剰の細胞増殖は、ラシリズムに対する一次的な反応というよりは、機械的な刺激に対する修復現象であろうと述べている。

この様な点を考慮にいれて、今回の観察所見を考察するとラシリズムでは、細胞外でのコラーゲン線維の成熟障害のみではなく線維芽細胞などの

間葉細胞における障害が基盤にあることを示すものと思われる。

一般に正常に機能している歯牙の歯根膜は、大きな咬合力に耐え得る機能的構造を有している⁴³⁻⁴⁵⁾。一方、歯根膜を構成するコラーゲン線維には非常に高い代謝活性がみられ⁴⁶⁻⁴⁹⁾、歯根膜内では、古い線維の分解と新しい線維による置換が常に行なわれつつ形態的にも機能的にも安定した構造を保っている。その様な過程において、AAN はコラーゲン線維の合成から成熟に至る過程を阻害し、咬合力に耐え得ない脆弱な線維が形成されることになる。

線維芽細胞の棚状配列は、この様にしてもたらされた相対的に過剰な咬合力に対する一種の適応形態であると考えられる。

今回の電顕的研究により、AAN の線維芽細胞に対する一次的な障害を明らかにすることが出来たが、機械的刺激などの因子が加わることで、その適応現象としてラシリズムに特有な変化が惹起されるものと思われる。

また、本研究では、ラシリズムからの回復過程における歯根膜の機能的再構築においても、咬合による機械的な刺激が必要であることが示された。

このことは、咬合による機械的な刺激が機能的要請として作用し、歯根膜の形態の維持や修復に重要な役割りを演じていることを示唆するものであろう。

この様な機能的要請に対して、線維芽細胞は速やかに対応し、コラーゲン線維を含む基質の形成ばかりではなく、その吸収にも積極的に関与しているものと思われる。

結 論

歯根膜の構造と代謝に及ぼす咬合機能の意義を明らかにする目的で、ラットのラシリズムの場合、及びその回復過程に対合歯の抜去により咬合機能を喪失した臼歯歯根膜について電顕的に観察し、次の諸点を明らかにした。

1. 対合歯の抜去により咬合機能を喪失したラシリズムラットでは、ラシリックな基質への線維芽細胞の浸入と基質の均質化により、ラシリズムに特有な変化は速やかに消失し、萎縮性的変化に

移行した。

2. 萎縮性の線維芽細胞は、同時期の対照群に比べ、細胞小器官に乏しく、特にゴルジ装置における膜構造の不明瞭化が認められたが、この様な所見は、線維芽細胞に対する AAN の一次的な障害を示唆するものと考えられる。

3. ラシリズムからの回復過程において歯根膜では、ラシリックな基質の分解が先行するが、次第にコラーゲン線維の形成が活発になり、投与中止後14日目には、歯根膜は正常に近い機能的構造を示した。

4. AAN の投与中止と同時に対合歯を抜去したラットでは、ラシリックな変化は咬合を営む場合よりもさらに速やかに消失するが、それに引き続くコラーゲン線維の形成、機能的再配列はほとんどみられず、無機能性の廃用萎縮に移行した。

5. ラシリックな基質の消失に際し、線維芽細胞には、基質のエンドサイトーシスとその消化に関係した大小の滴胞や細胞小器官の発達が認めら

れた。

6. 以上の所見は、咬合による機械的な刺激が、機能的要請として作用し、ラシリズムに特有な変化の発現・持続・及びその修復に重要な役割りを演じていることを示唆するものと思われる。

今回の検索を基礎にして、ラシロゲンの間葉系細胞に対する基本的な障害について若干の考察を加えた。

稿を終えるに臨み、終始御指導と御鞭撻を賜った雨宮璋教授に深甚なる謝意を表します。

また、適切な御助言を下された向後隆男助教授ほか口腔病理学教室員各位に深く感謝致します。

本論文の要旨は、第19回歯科基礎医学会総会（1977年9月）、第20回歯科基礎医学会総会（1978年9月）、第26回 IADR 日本部会（1978年12月）、第58回 IADR 総会（1980年6月）において発表した。

本研究の一部は、昭和55年度および56年度文部省科学研究費補助金（一般研究（B））、課題番号00548301）によってなされた。

抄録：歯根膜の構造と代謝に及ぼす咬合機能の意義を明らかにする目的で、AAN の投与によりラットに惹起されたラシリズムの場合、およびラシリズムからの回復過程に対合歯の抜去により咬合機能を喪失した臼歯歯根膜について、線維芽細胞とコラーゲン小線維を含む基質の微細構造的変化を中心に検索した。

咬合機能を喪失したラシリズムラットでは、ラシリックな変化は速やかに消失し、歯根膜は萎縮性の変化を示した。AAN の投与を中止したラットでは、ラシリックな変化は比較的速やかに消失し、歯根膜は再び機能的構造を示したが、投与中止と同時に対合歯を抜去した場合には修復性の変化は起らなかった。

本研究の所見は、咬合による機械的刺激が機能的要請として作用し、歯根膜の構造の維持と代謝に重要な役割りを演じていること、および線維芽細胞がこの様な機能的要請に対して速やかに対応し、その過程に積極的に関与していることを示唆するものと思われる。

文 献

- 1) Geiger, B. J., Steenbock, H. and Parsons, H. T.: Lathyrism in the rat. *J. Nutrition*, **6**: 427-442, 1933.
- 2) Ponseti, I. V. and Baird, W. D.: Scoliosis and dissecting aneurysm of the aorta in rats fed with lathyrus odoratus seeds. *Am. J. Pathol.*, **28**: 1057-1077, 1952.
- 3) Gardner, A. F., Dasler, W. and Weinmann, J. P.: Masticatory apparatus of albino rats in experimental lathyrism. *J. Dent. Res.*, **37**: 492-515, 1958.
- 4) Marwah, A. S., Dasler, W. and Meyer, J.: Reversibility of lathyrus damage to the periodontal structures. *J. Periodontol.*, **34**: 142-144, 1963.
- 5) Bachhuber, T. E. and Lalich, J. J.: Production of dissecting aneurysms in rats fed *Lathyrus odoratus*. *Science*, **120**: 712-713, 1954.
- 6) Ponseti, I. V.: Lesions of the skeleton and of other mesodermal tissues in rats fed sweet-pea (*Lathyrus odoratus*) seeds. *J. Bone Joint Surg.*, **36A**: 1031-1058, 1954.
- 7) Lewis, H. B., Fajans, R. S., Esterer, M. B., Chao-wen Shen and Oliphant, M.: The nutritive value of some legumes. Lathyrism in the rat. The sweet pea (*Lathyrus odoratus*), *Lathyrus sativus*, *Lathyrus cicera* and some other species of lathyrus. *J. Nutrition*, **36**: 537-559, 1948.
- 8) Sims, M. R.: The oxytalan fiber system in

- the mandibular periodontal ligament of the lathyrus mouse. *J. Oral Pathol.*, **6** : 233-250, 1977.
- 9) Chang, C. Y., Witschi, E. and Ponseti, I. V. : Teratogenic effects of *Lathyrus odoratus* seeds on development and regeneration of vertebrate limbs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **90** : 45-50, 1955.
 - 10) Robinson, J. J. and Bast, T. H. : Bone changes due to lathyrism in rats. *Anat. Rec.*, **59** : 283-295, 1934.
 - 11) Schilling, E. D. and Strong, F. M. : Isolation, structure and synthesis of a lathyrus factor from *L. Odoratus*. *J. Am. Chem. Soc.*, **76** : 2848, 1954.
 - 12) McKay, G. F., Lulich, J. J., Schilling, E. D. and Strong, F. M. : A crystalline "Lathyrus Factor" from *Lathyrus odoratus*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **52** : 313-322, 1954.
 - 13) Wawzonek, S., Ponseti, I. V., Shepard, R. S. and Wiedenmann, L. G. : Epiphyseal plate lesions, degenerative arthritis, and dissecting aneurysm of the aorta produced by aminonitriles. *Science*, **121** : 63-65, 1955.
 - 14) Enzinger, F. M. and Warner, E. D. : Wound healing in experimental lathyrism. *Lab. Invest.*, **6** : 251-258, 1957.
 - 15) 梅原義信 : 実験的に lathyrism を起したラットの臼歯の歯周組織の変化について. *口病誌*, **26** : 1432-1457, 1959.
 - 16) Enzinger, F. M. and Warner, E. D. : Experimental lathyrism. Effect of aminoacetonitrile on connective tissue formation in adult rats. *A.M.A. Arch. Pathol.*, **69** : 333-341, 1960.
 - 17) Kennedy, G. D. C. and Kennedy, J. S. : An autoradiographic study of the dental lesions of lathyrism in the rat. *Arch. Oral Biol.*, **8** : 207-217, 1963.
 - 18) Amemiya, A. : Electron microscopic study of periosteal hyperostosis in rats with lathyrism induced by aminoacetonitrile. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.*, **13** : 319-348, 1966.
 - 19) 伊藤正通 : 実験的 Osteolathyrism の病理組織学的研究, とくに歯牙および支持組織に見られる変化について. *歯科学報*, **66** : 115-151, 1966
 - 20) 西原円一朗 : 実験的 Osteolathyrism に関する組織化学的研究, とくに歯牙および長管骨における変化. *歯科学報*, **67** : 258-278, 1967.
 - 21) Enomoto, T. : Electron microscopic study of osteoblasts and their matrix in lathyrus rats. *J. Electron Microscopy*, **18** : 35-45, 1969.
 - 22) 鈴木公夫 : Lathyrism の場合の膠原線維の病変について, 特に歯根膜における病理組織学的変化ならびに酵素組織化学的变化について. *口病誌*, **40** : 189-214, 1973.
 - 23) 中村 亨 : 歯根膜における不溶性コラーゲン線維の変化と線維芽細胞の lysosome 酵素活性との関係に関する組織化学的研究. *日歯周誌*, **21** : 284-305, 1979.
 - 24) 雨宮 璋, 小野木正章, 大橋勝広 : Osteolathyrism におけるラット下顎骨の病理学的研究—形態計量学的所見を中心に—. *歯基礎誌*, **22** : 366-387, 1980.
 - 25) Krikos, G. A., Morris, A. L., Hammond, W. S. and McClure, H. H. : Oral changes in experimental lathyrism (odoratism). *Oral Surg.*, **11** : 309-321, 1958.
 - 26) Sciaky, I. and Ungar, H. : Effects of experimental lathyrism on the suspensory apparatus of incisors and molars in rats. *Ann. Dent.*, **20** : 90-99, 1961.
 - 27) Barrington, E. P. and Meyer, J. : Recovery of the rat dental organ from experimental lathyrism. *J. Periodontol.* **37** : 453-467, 1966.
 - 28) Gardner, A. F. : Morphologic study of oral connective tissues in lathyrism. *J. Dent. Res.*, **39** : 24-45, 1960.
 - 29) Krikos, G. A. : Histochemical studies of the periodontal ligament in lathyrus rats. *Arch. Oral Biol.*, **9** : 415-420, 1964.
 - 30) Krikos, G. A., Beltran, R. and Cohen, A. : Significance of mechanical stress on the development of periodontal lesions in lathyrus rats. *J. Dent. Res.*, **44** : 600-607, 1965.
 - 31) Yoshikawa, K. : Histochemical and autoradiographic study of osteolathyrism in skeletal and periodontal tissues. *Acta Histochem. Cytochem.*, **4** : 11-32, 1971.
 - 32) Martin, G. R., Piez, K. A. and Lewis, M. S. : The incorporation of [14 C] glycine into the subunits of collagens from normal and lathyrus animals. *Biochim. Biophys. Acta*, **69** : 472-479, 1963.
 - 33) Bornstein, P., Kang, A. H. and Piez, K. A. : The nature and location of intramolecular cross-links in collagen. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **55** : 417-424, 1966.
 - 34) Page, R. C. and Benditt, E. P. : A molecular defect in lathyrus collagen. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **124** : 459-465, 1967.
 - 35) Elders, M. J., Smith, J. D., Smith, W. G. and Hughes, E. R. : Alterations in glycosaminoglycan metabolism in β -aminopropionitrile-treated chick embryos. *Biochem. J.*, **136** : 985-992, 1973.
 - 36) DelBalso, A. M. and Kauffman, F. C. : The effect of β -aminopropionitrile on acid hydrolases and selected metabolites in orofacial structures of foetal rats. *Arch. Oral Biol.*, **20** : 251-255, 1975.
 - 37) Hamre, C. J. and Yeager, V. L. : Influence

- of muscle section on exostoses of lathyrus rats. A.M.A. Arch. Path., **64** : 426-433, 1957.
- 38) Hamre, C. J. and Yeager, V. L. : Influence of denervated muscles on exostoses of rats fed a sweet-pea diet. A.M.A. Arch. Path., **65** : 215-227, 1958.
- 39) 雨宮 璋, 阿部 智 : ラットの歯根膜に及ぼす対合歯抜去の影響に関する電子顕微鏡的研究 歯基礎誌, **22** : 72-83, 1980.
- 40) Roy, S. : Ultrastructure of synovial membrane in osteoarthritis Ann. Rheum. Dis., **26** : 517-526, 1967.
- 41) Gould, T. R. L., Melcher, A. H. and Brunette, D. M. : Location of progenitor cells in periodontal ligament of mouse molar stimulated by wounding. Anat. Rec., **188** : 133-142, 1977.
- 42) Gould, T. R. L., Melcher, A. H. and Brunette, D. M. : Migration and division of progenitor cell populations in periodontal ligament after wounding. J. Periodont. Res., **15** : 20-42, 1980.
- 43) 秋吉正豊 : 歯周組織の構造と病理, 第1版 : 1-134, 医歯薬出版, 東京, 1972.
- 44) 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, 1977.
- 45) 石川梧朗, 秋吉正豊 : 口腔病理学 I, 改訂版, 483-489, 永末書店, 京都, 1978.
- 46) Carneiro, J. and Fava de Moraes, F. : Radioautographic visualization of collagen metabolism in the periodontal tissues of the mouse. Arch. Oral Biol., **10** : 833-848, 1965.
- 47) Kameyama, Y. : Autoradiographic study of ^3H -proline incorporation by rat periodontal ligament, gingival connective tissue and dental pulp. J. Periodont. Res., **10** : 98-102, 1975.
- 48) Rippin, J. W. : Collagen turnover in the periodontal ligament under normal and altered functional forces. I. Young rat molars. J. Periodont. Res., **11** : 101-107, 1976.
- 49) Sodek, J. : A comparison of the rates of synthesis and turnover of collagen and non-collagen proteins in adult rat periodontal tissues and skin using a microassay. Arch. Oral Biol., **22** : 655-665, 1977.

Fig. 1 Photomicrograph of the molar periodontal ligament (PDL) of a lathyric rat receiving AAN for 14 days. Palisading arrangement of fibroblasts (Fb) surrounding amorphous hyaline like materials (AM). C: Cementum, A: Alveolar bone $\times 600$

Fig. 2 Electron micrograph of the PDL of a lathyric rat receiving AAN for 14 days. Plump palisading fibroblasts with prominent rough surfaced endoplasmic reticulum are in close contact with each other. N: Nucleus $\times 6,700$

Fig. 3, 4 Electron micrographs of the PDL of a lathyric rat receiving AAN for 14 days. The amorphous lathyric material consisting of fiber like structures without definite orientation and clear individual outline. In Fig. 4 collagen fibrils with cross striation (arrow) can be observed. Fig. 3: $\times 28,000$ Fig. 4: $\times 40,000$

Fig. 5 The PDL of a lathyric rat receiving AAN for 14 days. 6 hours after extraction of the opposed teeth. Palisading fibroblasts showing slender and irregular outline. Wide intercellular spaces containing few collagen fibrils. $\times 6,900$

Fig. 6 The PDL of a lathyric rat of the same experimental period as in Fig. 5. A fibroblast having the processes extending into the lathyrin substance. In the cytoplasm electron lucent fibrous structures (arrow) can be observed. $\times 8,400$

Fig. 7 The PDL of a lathyric rat receiving AAN for 15 days. 12 hours after extraction of the opposed teeth. Irregular shaped fibroblasts and surrounding homogenized substance. G : Golgi complex $\times 5,500$

Fig. 8 The PDL of a lathyric rat of the same experimental period as in Fig. 7. A fibroblast showing active phagocytosis of fibrous structures. L: Lysosome P: Phagosome MT: Microtubule $\times 19,600$

Fig. 9 The PDL of a lathyric rat receiving AAN for 16 days. One day after extraction of the opposed teeth. Young fibroblasts around a blood vessel. A cell with many slender processes containing pinocytotic vesicles locating in the cell margin can be observed. Lu: Lumen E: Endothelial cell $\times 6,000$

Fig. 10 The PDL of a lathyrism rat receiving AAN for 18 days. 3 days after extraction of the opposed teeth. Irregular shaped, relatively young fibroblasts in flocculent or almost clear matrix. $\times 7,000$

Fig. 11 The PDL of a lathyrism rat of the same experimental period as in Fig. 10. A fibroblast rich in free ribosomes, polysomes and microtubules. In the phagosome (P) electron lucent fibrous structures can be observed. M: Mitochondria $\times 17,500$

Fig. 12 The PDL of a lathyric rat receiving AAN for 20 days. 5 days after extraction of the opposed teeth. Fibroblasts approximately parallel to the long axis of the tooth. Golgi area (G) is relatively large, but indistinct (inset). $\times 6,000$ (inset: $\times 13,300$)

Fig. 13 The PDL of a lathyric rat receiving AAN for 22 days. 7 days after extraction of the opposed teeth. Atrophic slender fibroblasts poor in organelles and almost clear matrix containing a few bundles of collagen fibrils (CF). $\times 4,900$

Fig. 14 The PDL of a normal rat. 2 days after extraction of the opposed teeth. Disappearance of the functional structure of the PDL; the PDL consists of irregular shaped fibroblasts and loosened collagen fiber bundles in clear matrix. $\times 6,000$

Fig. 15 The PDL of a normal rat. 14 days after extraction of the opposed teeth. Long fibroblasts and some collagen fibrils approximately parallel to the long axis of the tooth. $\times 11,200$

Fig. 16, 17 The PDL of a rat recovering from lathyrisms. 2 days after final administration of AAN. Palisading fibroblasts. Fig. 16: Fibroblasts showing slender outline. $\times 8,400$ Fig. 17: Inconspicuous lamellar structure of RER and, increased ribosomes and polysomes. $\times 8,400$

Fig. 18, 19 The PDL of a rat recovering from lathyrisms. 3 days after final administration of AAN. Fig. 18: Invasion of fibroblasts into the lathyrus substance. $\times 6,500$ Fig. 19: Parts of cells rich in polysomes and pinocytotic vesicles. Around them collagen fibrils with cross striation can be observed. $\times 18,400$

Fig. 20 The PDL of a rat recovering from lathyrism. 4 days after final administration of AAN. A fibroblast neighboring a blood vessel; it contains eccentrically located nucleus (N) and relatively well developed organellae. Lu : Lumen E : Endothelial cell $\times 9,300$

Fig. 21 The PDL of a rat of the same experimental period as in Fig. 20. Relatively young fibroblasts with eccentrically located nuclei surrounded by flocculent matrix poor in fibrous structures. $\times 5,400$

Fig. 22 The PDL of a rat recovering from lathyrim. 5 days after final administration of AAN. Reformation of bundles of collagen fibrils (CF) in the clear matrix. $\times 6,200$

Fig. 23 The PDL of a rat recovering from lathyrim. 14 days after final administration of AAN. Reorganization of the PDL. Collagen fibrils are densely arranged in bundles. Organellae of fibroblasts are not so developed. $\times 6,000$

Fig. 24 The PDL of a rat recovering from lathyrism. 2 days after final administration of AAN and extraction of the opposed teeth. Disappearance of the characteristic lathyric changes. Young fibroblasts and the homogenized lathyric substance. $\times 8,000$

Fig. 25, 26 The PDL of a rat recovering from lathyrism. Fig. 25: 5 days after final administration of AAN and extraction of the opposed teeth. A fibroblast containing relatively well developed organelles, approximately parallel to the long axis of the tooth. $\times 6,500$ Fig. 26: 14 days after final administration of AAN and extraction of the opposed teeth. Fibroblasts and some collagen fibrils parallel to the long axis of the tooth. $\times 6,000$