各種修復材料が犬の象牙質および歯髄に与える 影響についての電子顕微鏡的研究

福岡歯科大学保存学第1講座（指導：井上 廣教授）

清 水 均

昭和59年4月25日受付

本論文の要旨は、昭和57年10月16日第77回日本歯科保存学会ならびに昭和59年4月18日九州歯科
学会例会において発表した。

Electron Microscopic Study of Canine Dentin and Pulp Following the Insertion of Various Restorative Materials into Experimentally Prepared Cavities

Hitoshi Shimizu

First Department of Conservative Dentistry
(Director : Prof. Hiroshi Inoue)
Fukuoka Dental College, Fukuoka, Japan

The study was performed on 192 contra-lateral canine and molar teeth of dogs. Uniform cavities, Class V, were prepared in the buccal surface. The floor of each cavity was covered by a thick layer of the following four restorative materials : (1) calcium hydroxide paste, "Dycal"; (2) non-zinc amalgam, "Hi-Atomic M"; (3) poly-carboxylate cement, "Unident"; or (4) composite resin, "Adaptic".

After varying times following the application of the restoratives, the cavity dentinal tubules were observed by scanning electron microscopy, and the odontoblastic layer beneath the cavity was examined by transmission electron microscopy. Energy dispersive x-ray microanalysis of the intratubular granules was performed with a spectrometer (Kevex 7000Q EDS) fitted to an electron microscope (H-700H) with a scanning transmission attachment.

Results were as follows :

A. Transmission electron microscopic findings :

1. Five and ten days after restoration, the odontoblastic changes beneath cavities filled with any one of the four restorative materials were much the same. Enlargement of the intercellular space and margination of the chromatin were observed in the odontoblastic layer, and the organelles were well developed.
2. Thirty days after restoration, the odontoblasts below the dentin which was

covered with Dycal, Hi-Atomic M and Unident were nearly normal, but in the case of Adaptic, the shape of the nucleus was markedly irregular and well-developed organelles, lysosomes and an increased number of lipofuscin granules were seen.

3. One hundred fifty days after restoration, ultrastructural changes were similar to those of thirty days after restoration.

B. Scanning electron microscopic findings :

1. Five days after restoration, fine granules attached to minute reticulate fibers were seen scattered on the dentinal tubules of cavities containing any of the four experimental restorative materials, although there were fewer granules on the Adaptic-covered dentinal tubules.

2. Twenty days after restoration, although the tubules of cavities coated with either Dycal or Unident were filled with the fine granules, the tubules of Hi-Atomic M and Adaptic treated cavities contained only a scattering of the granules.

Similar findings were seen at thirty and sixty days after restoration, too.

3. One hundred fifty days after restoration, the dentinal tubules were tightly sealed with the granular deposits in the Dycal and Unident groups, being moderately so in the Hi-Atomic M, and loosely in the Adaptic.

4. On the pulpal side of dentinal tubules covered with Hi-Atomic M and Adaptic, globular-shaped substances from 0.1 to 0.3 μm in diameter were often observed.

C. Energy dispersive x-ray microanalysis findings :

1. Analysis of the spots representing the fine granules in the cavity dentinal tubules disclosed high peaks for calcium and phosphorus.

2. The quantity of calcium in the fine granules was higher than that in intertubular dentin.

Key words : *Electron microscopy / Restorative material / Dentinal tubule / Odontoblast / X-ray microanalysis*

緒 言

歯冠修復の際、歯髄をいかに生物学的に保護するかは、その歯の寿命に大きな影響を与える実に重要な問題である。窩洞形成後の歯髄保護対策として考えねばならないことは種々あるが、その重要なものの一つは、窩洞内の慢性有害刺激が窩底象牙質から歯髄組織内へ移動することの阻止である。この移動阻止には残存象牙質内の象牙細管閉鎖にあり、この閉鎖は物理的ではなく、生物学的に行われることが望まれる。生物学的閉鎖、即ち、理想的な石灰化閉鎖がより速く、確実に行われる状態はい

かなる環境下にあるか、また、逆に石灰化を妨げる状態はいかなる因子によるものかを詳細に知る必要がある。これまでに、数多くの間接覆髄剤や充填材の研究がなされてきているが¹⁻⁵⁾、そのほとんどは歯髄反応を光顕的に追求したものであり、象牙質の変化についての報告は少ない。

そこで、従来より比較的石灰化を促進、助長すると考えられている水酸化カルシウム系覆髄剤を対照として、臨床で用いられている3種の充填材が象牙細管に及ぼす影響、さらには、象牙細管の石灰化に関与する象牙芽細胞の微細なる変化を電子顕微鏡的に観察すべく、前者を

走査型電子顕微鏡（以下、走査電顕と略す）、後者を透過型電子顕微鏡（以下、透過電顕と略す）を用いて観察を行った。また、象牙細管内石灰化物質の究明のため、一部にエネルギー分散型X線分析装置を用いて分析を行い、若干の知見を得ることができたのでその詳細を報告する。

実験材料と方法

I. 実験材料

A. 実験動物

実験動物には雑種成犬24頭を一定期間飼育し、その環境および飼料にならしてから実験に供した。実験には犬歯と第1大臼歯、192歯を用いた。

B. 使用材料

各々の部位別実験歯には次の4種の修復材料を使用した。

1. $M_1 C$ には Caulk 社製水酸化カルシウム製剤“Dycal”覆髄後アマルガムを充填。
2. $M_1 C$ には G-C 社製アマルガム“Hi-Atomic M”を充填。
3. $C M_1$ には三金工業社製カルボキシレートセメント“Unident”のみ充填。
4. $C M_1$ には Johnson and Johnson 社製コンポジットレジン“Adaptic”を直接充填。

II. 実験方法

実験動物を塩酸ケタミン (0.4ml/kg) 筋肉内注射による完全麻酔下で口腔内を3%過酸化水素水で十分に洗浄し、手術部位に稀ヨードチンキを塗布した。次いで、滅菌水の連続注水のもとにダイヤモンドポイント D11 (G-C 社製) で頬側歯頸部より 0.5mm 上方に、犬歯では約 4mm×5mm、第1大臼歯では約 2mm×3mm の5級窩洞の形成を行い (図1)、上記の4種修復材料にて充填し、実験手術を完了した。実験期間は5日、10日、20日、30日、60日、150日とした。

III. 試料作製法

A. 光顕用試料

所定の実験期間飼育後、各動物を塩酸ケタミン筋肉内麻酔下で実験歯を抜去した。抜去後、第1大臼歯は10%中性ホルマリンで固定、6%硝酸ホルマリンにて脱灰を行い、通法によりエタノール系列で脱水、セロイジン包埋を行った。次いで、15~20μm の連続切片標本を作製し、ヘマトキシリン-エオジン重染色を施して鏡検した。

B. 電顕用試料

犬歯は抜去後直ちに根尖部1/4を切断し、4% glutaraldehyde で12時間固定後、歯を長軸方向に注意深く分割して、歯髓組織を一部象牙前質と共に摘出し、再度4% glutaraldehyde で3時間固定を行った。次いで、1% osmium tetroxide で2時間の後固定を行ったあと、エタノール系列で脱水、Epon 812 にて包埋した。透過電顕用にはガラスナイフを用い、Porter-Blum ultramicrotome B2 で2~3μm の準超薄切片を調整し、0.1% toluidine blue 染色にて光顕的観察を行った。さらに、この部位を0.1μm 以下の超薄切片とし、Reynolds 氏法による uranyl acetate と lead citrate 重染色を施し、乾燥後 JEM-100B 型透過電顕で観察した。

歯髓組織摘出後の硬組織は、エタノール系列にて脱水、酢酸イソアミルにて置換後、臨界点乾燥を行い、Au-Pd 蒸着を施して日立405型走査電顕にて観察した。なお、走査電顕観察上、窩底直下象牙質をA帯、それよりやや深層をB帯、象牙前質近くをC帯とした (図2)。

また、走査電顕にて一度観察を行った硬組織の一部は、Epon 812 に包埋後、象牙細管を横断する方向に薄切、厚さ120~130nmの超薄切片とし、カーボン蒸着後日立 H-700H 電顕に Kevex-7000Q EDS を装着して加速電圧75kv、試料電流40pAにてX線分析を行った。

図1 窩洞外形

図2 透過および走査電顕観察部位

実験結果

I 光顕所見

Dycal, Hi-Atomic M, Unident, Adaptic 充填後の5日経過例では、どの充填材料においても歯髄は充血傾向を示し、象牙芽細胞層では軽度の空胞変性が見られた。ただ、Unident 群の一部においては著明な円形細胞浸潤が認められた。

充填後10日経過例では、5日経過の所見と同様に歯髄充血や象牙芽細胞層の空胞変性が見られたが、特にAdaptic 群において強い象牙芽細胞の空胞変性や萎縮と、この細胞層直下付近に円形細胞浸潤が見られた。

充填後20日経過の歯髄においては各群とも歯髄充血を認め、出血もしばしば見られた。象牙芽細胞層には空胞変性が認められた。

充填後30日経過の歯髄においても充血傾向を示すが出血は減少し、象牙芽細胞層では軽度の空胞変性が見られた。Dycal 群では正常に近い象牙芽細胞層も見られたが（写真1）、Adaptic 群では冠部歯髄に強い円形細胞浸潤が認められた。

充填後60日経過の歯髄は、各群とも正常かやや充血傾向が見られるが象牙芽細胞層では依然として軽度の空胞変性が見られた。なお、Adaptic 群では一部に円形細胞浸潤が残存していた。

充填後150日経過の歯髄では60日経過例と大差なく、やや充血傾向を示し、象牙芽細胞層では一部空胞変性も見られるが、Adaptic 群においてその傾向が強いようであった（写真2）。

II 透過電顕所見

A. 正常表層歯髄の電顕所見

写真1 Dycal 覆髄後30日の光顕像

（H-E染色，×50）

歯髄は充血傾向を示すが、象牙芽細胞層はおおむね正常である。

写真2 Adaptic 充填後150日の光顕像

（H-E染色，×50）

象牙芽細胞層では軽度の空胞変性が見られ、歯髄には一部網様萎縮も見られる。

1. 象牙芽細胞

成犬の歯牙に見られる正常な象牙芽細胞は、円柱状を呈して数層をなし、象牙前質側に一本の細胞突起を形成、固有歯髄側に楕円形の核を有している。核は明瞭な二重膜構造を示し、切痕をもつものもあるが電子密度は比較的低いようである。核の近傍には発達のないゴルジ装置、円形や楕円形の mitochondria、少数の粗面小胞体、free ribosome が見られる。象牙前質側には長桿状の mitochondria と filament 様物質が見られるのみで他の細胞内小器官は少ない。象牙芽細胞間には若干の intercellular space が見られる（写真3）。

2. 毛細血管

象牙芽細胞層近くに存在する毛細血管の内皮細胞は核の存在する部位を除いて非常に細胞質が薄く、隣接細胞間は tight junction や desmosome 様構造によって結合されている。細胞内には波形をなした楕円形の核、その近傍にわずかの粗面小胞体、円い小さな mitochondria、free ribosome、小さなゴルジ装置、そして細胞膜と関連する多くの pinocytotic vesicle や細胞膜の薄い場所に fenestration が観察される。毛細血管内腔には細胞質突起である marginal flap や surface fold が、また内皮細胞の外側には連続的に走行する basal lamina が存在し、内皮細胞壁を周皮細胞から分離している（写真4）。

B. 充填後の観察所見

1. 充填後5日

Dycal 群における象牙芽細胞には良く発達したゴルジ装置、内腔の狭い粗面小胞体、これらの間にはいりこんだ円形や楕円形の小型の mitochondria が多く見

られた。核には切れこみが多少見られ、核膜は明瞭な二重膜構造を示していた。核の chromatin は膜周辺に沿って凝集傾向を示し、核小体はあまり著明ではない（写真5）。

また、象牙芽細胞間の intercellular space はやや拡大し、細胞間結合は一部において解離、消失した像も見られたが、terminal web では desmosome 様構造は残存していた。

毛細血管の内腔を囲む内皮細胞内には、多くの pinocytotic vesicle, pinocytotic vacuole が見られ、血管内腔に marginal flap, surface fold が存在して物質交換の比較的活発な様子を呈していた。これらの内皮細胞の外側には basal lamina があるが変化は認められなかった。

Hi-Atomic M, Unident, Adaptic においても Dycal 群と大差はないが、Hi-Atomic M群においては mitochondria の多くが膨化し、cristae が不明瞭となっていた。

Unident 群の一部には、核膜が膨化して象牙細管内に吸引された象牙芽細胞が見られ、直下の歯髄組織にはリンパ球、好中球、形質細胞の血管外遊出も認められた。

Adaptic群では核の切れこみが著しく、lysosome がやや増加して見られた（写真6）。

2. 充填後10日

Dycal 群では象牙芽細胞のゴルジ装置は比較的良く発達し、polysome の増加や lysosome の著明な増加が認められた（写真7）。

Hi-Atomic M群における象牙芽細胞には多くの小型 mitochondria, 粗面小胞体、良く発達したゴルジ装置が見られた。核はわずかに凹凸不整を示し、核膜はやや膨化していた。

Unident 群の象牙芽細胞には多数の mitochondria や粗面小胞体、発達したゴルジ装置が見られた。核は著しくくびれ、chromatin の辺縁凝集傾向が認められた。

Adaptic群における象牙芽細胞には mitochondria の数的増加が見られるものの、cristae の消失して空胞化したものや滑面小胞体の膨化傾向、さらには lipid droplet の増加が認められた（写真8）。

毛細血管の内皮細胞には marginal flap, surface fold, pinocytotic vesicle の増加傾向が4群の全てに見られた。

3. 充填後20日

Dycal 群の象牙芽細胞には一部膨化した mito-

chondria, 粗面小胞体、ゴルジ装置が散見され、polysome はやや増加して見られた。また、核は円形あるいは楕円形を呈し、intercellular space の拡大は認められなかった。

毛細血管の内皮細胞には小型球状の mitochondria, 多くの pinocytotic vesicle が見られた。

Hi-Atomic M 群における象牙芽細胞には膨化した mitochondria やわずかの粗面小胞体、polysome や lysosome の増加が認められた。また、核はほぼ楕円形を呈し、chromatin は核辺縁に凝集して濃染し、いわゆる marginal hyperchromatosis を示す像も見られた。これらの細胞では膨化し、cristae の消失した mitochondria, lipofuscin 顆粒, lysosome がみられるのみであり、細胞膜はしばしば断裂して autolysis 像を呈していた。毛細血管では、一部 basal lamina の肥厚、内皮細胞の fenestration が多く見られた。

Unident 群の象牙芽細胞には cristae の消失した mitochondria や膨化した粗面小胞体が見られたが、intercellular space の拡大は認められなかった。

Adaptic群では多くの象牙芽細胞は膨化し、ゴルジ装置、少数の膨化した mitochondria, lysosome, lipofuscin 顆粒のみとなり、細胞質のほとんどは amorphous な物質で満たされていた（写真9）。

毛細血管の内皮細胞には膨化した mitochondria や fenestration, さらに核縁凝集を示す chromatin がみられた（写真10）。

4. 充填後30日

Dycal群における象牙芽細胞の mitochondria は膨化傾向を示すとともにゴルジ装置は比較的良く発達しているが、粗面小胞体は散見される程度であり多くはなかった。核はやや凹凸不整を呈していた。

毛細血管の内皮細胞には marginal flap や pinocytotic vesicle が多数見られ、pinocytosis が旺盛であった。

Hi-Atomic M群の象牙芽細胞は Dycal と同様の所見を呈するが、一部には粗面小胞体の内腔が大きく拡大し、核膜がやや膨化したものも見られた（写真11）。

毛細血管の内皮細胞には marginal flap や fenestration, basal laminaの肥厚が認められた。

Unident 群における象牙芽細胞ではゴルジ装置は良く発達し、mitochondria はほぼ正常像を呈していた。lysosome や lipofuscin 顆粒はやや増加して見られた（写真12）。

Adaptic 群の象牙芽細胞にはやや膨化した mito-

chondria, 発達したゴルジ装置, 槽状あるいは内腔のわずかに拡大した粗面小胞体, 多くの lysosome や lipofuscin 顆粒が認められた. 核は凹凸不整を示し, さらに細胞間にはリンパ球, 形質細胞の浸潤も見られた.

5. 充填後60日

Dycal, Unident 群における象牙芽細胞にはわずかの粗面小胞体や mitochondria, lysosome, ゴルジ装置, さらに楕円形の核が見られた (写真13). 象牙芽細胞, 毛細血管の内皮細胞共に正常像に近い.

Hi-Atomic M群の象牙芽細胞には mitochondria, わずかの粗面小胞体, lipofuscin 顆粒が見られた. 核は凹凸不整と共に chromatin の核膜周辺への凝集を示し, 一部では mitochondria が膨化して他の小器官は消失し, 暗調像を呈する細胞も認められた.

Adaptic 群において象牙芽細胞には発達したゴルジ装置, polysome や膨化した mitochondria, 拡張した粗面小胞体が見られ, 核は著しくくびれて活発な様相を呈していた. また, lysosome や lipofuscin 顆粒も比較的多く存在していた.

毛細血管の内皮細胞は凹凸が激しく, 発達した marginal flap, pinocytotic vacuole が多く見られた.

6. 充填後150日

Dycal 群における象牙芽細胞の多くには, わずかの mitochondria や粗面小胞体, ゴルジ装置が見られるのみであり, lysosome や lipofuscin 顆粒はあまり認められなかった. また, 核はほぼ楕円形を呈していた (写真14).

Hi-Atomic M や Unident 群の象牙芽細胞には少数の mitochondria や粗面小胞体が存在し, 核はやや凹凸不整をなして明調像を呈していた (写真15). 一部活性の強いと思われる細胞では多数の mitochondria や発達したゴルジ装置, 粗面小胞体, さらに lipofuscin 顆粒やくびれた核が認められたが, その多くは Dycal 群と比較してあまり変化に相違はないように思われた.

Adaptic 群における象牙芽細胞にはやや膨化した粗面小胞体, 小型あるいは膨化した mitochondria, lysosome や lipofuscin 顆粒の増加, 発達したゴルジ装置が見られた. また, 核には著しいくびれと核膜の膨化が認められた. 象牙前質寄りには mitochondria が膨化し, 核は分葉化をなして細胞質全体が暗調像を呈する象牙芽細胞も見られた (写真16).

毛細血管の内皮細胞には marginal flap, pinocytotic vesicle が多く認められた (表1).

写真3 正常象牙芽細胞の透過電顕像

写真4 正常な毛細血管の透過電顕像

写真5 Dycal 覆 髄 後 5 日 の 透 過 電 顕 像

象牙芽細胞のゴルジ装置は発達し、核には切れこみが多少見られる。

G：ゴルジ装置

写真6 Adaptic 充填後 5 日の透過電顕像

象牙芽細胞は核の切れこみ (←) が著しく, lysosome が増加して見られる.
Ly : lysosome

写真7 Dycal 覆髄後 10 日の透過電顕像

polysome の増加や lysosome の著明な増加が認められる.
Ly : lysosome

写真8 Adaptic 充填後 10 日の透過電顕像
象牙芽細胞にはmitochondria の増加や滑面小胞体の膨化傾向, さらには
lipid droplet の増加が見られる.
Li : lipid droplet

写真9 Adaptic 充填後 20 日の透過電顕像
象牙芽細胞は膨化し, ゴルジ装置, 少数の膨化した mitochondria,
lysosome のみとなっている.
G : ゴルジ装置 Ly : lysosome

写真10 Adaptic 充填後 20 日の透過電顕像
 内皮細胞の chromatin は一部に核縁凝集を示し (←), 膨化した mitochondria や fenestration が見られる。

写真11 Hi-Atomic M 充填後 30 日の透過電顕像
 象牙芽細胞には著しく膨化した粗面小胞体が見られる。
 RE: 粗面小胞体

写真12 Unident 充填後 30 日の透過電顕像

象牙芽細胞のゴルジ装置は良く発達し, lysosome や lipofuscin 顆粒がやや多く見られる.

G : ゴルジ装置

Lf : リポフスチン顆粒

写真13 Unident 充填後 60 日の透過電顕像

象牙芽細胞の核は楕円形を呈し, 細胞質内にはわずかの粗面小胞体, mitochondria, lysosome, ゴルジ装置が見られる.

G : ゴルジ装置

Ly : lysosome

写真14 Dycal 覆 髄 後 150 日 の 透 過 電 顕 像
象牙芽細胞の核はほぼ楕円形を呈し，細胞質内にはわずかな mitochondria, 粗面小胞体が見られる。

写真15 Hi-Atomic M 充 填 後 150 日 の 透 過 電 顕 像
象牙芽細胞の核はやや凹凸不整をなし（←），細胞質内には少数の mitochondria, 粗面小胞体が見られる。

写真16 Adaptic 充填後 150 日の透過電顕像
象牙芽細胞は全般的に暗調を呈する。
核は分葉化をなし、膨化した mitochondria が多数見られる。
M : mitochondria

Ⅲ 走査電顕所見

1. 充填後 5 日

Dycal, Unident 群の A 帯部象牙細管内には網状を呈する微細な線維に、径10~70nm の微細顆粒状物質の付着が認められた(写真17)。この顆粒状物質はその部位により、また、各々の細管により異なって見られるが、Adaptic 群においては、Dycal, Hi-Atomic M, Unident 群に比べその散在密度が低い(写真18)。B 帯部における象牙細管内では、このような顆粒はあまり見られなくなるが、Hi-Atomic M群では径0.1~0.3 μm の大型の球状構造物がまばらに認められた。

2. 充填後10日

Dycal群では5日経過例と比べて変化は見られないが、A 帯部象牙細管内において象牙芽細胞突起様構造物、あるいはその変性物に微細顆粒状物質が多数付着した像が見られた。その内面も同様の顆粒で満たされており、一部では象牙細管を閉鎖していた。この場合、管周象牙質との間には通常一定の間隙が見られる(写真19)。

Hi-Atomic M群では5日経過例と同様にB 帯部象牙

細管内で大型の球状構造物が散在して見られた。これらの構造物は単独で存在し、癒合するような所見はなく、細管に沿って縦に走る線維を伴うものも認められた(写真20)。

Adaptic 群ではA 帯部象牙細管内に顆粒が認められず空虚なもの、あるいは、何か残渣を思わせる糸状の物質が網目状をなしているのが観察された(写真21)。

3. 充填後20日

Dycal および Unident 群の A 帯部象牙細管は、5 日、10 日経過例と同様に網状の線維に付着した微細顆粒状物質で満たされていたが、Dycal 群では B 帯部においてもこれらの顆粒が多く見られた(写真22)。

Hi-Atomic M と Adaptic 群では象牙細管内顆粒はまばらな感じであるが、Adaptic 群の B 帯部細管内において、Hi-Atomic M群の 5 日、10 日経過例に見られたと同様の大型の球状構造物も認められた。また、この場合も細管壁に付着して細管と平行に走る40nm 前後の細い線維が見られた。

4. 充填後30日

A 帯部象牙細管において, Dycal 群では比較的密に線維に付着した顆粒で満たされていたが, Hi-Atomic M 群では同様の細管もまれに見られるものの, 空虚なものも多く, B 帯部において大型の球状構造物が見られた。

Unident 群では A 帯部象牙細管は顆粒状物質で閉鎖されたような像や竹の節様構造物が見られたが, Adaptic 群では一部の象牙細管において網状の線維に付着した顆粒が認められた。

5. 充填後60日

Dycal 群の多くは A 帯部象牙細管内に微細顆粒状物質が密に存在する傾向が見られた。また, 一部の細管では網状の線維は見られず, 管周象牙質との間にわずかに間隙は見られるものの, 顆粒状物質が非常に密に存在し, 管間象牙質様を呈して細管を閉鎖している像が認められた (写真23)。

Unident 群においても象牙細管内の顆粒は比較的密に存在し, 完全閉鎖に近いような細管も見られた。

Hi-Atomic M 群では象牙細管内に顆粒は認められるものの, Dycal や Unident 群に比べ, その密度は低い傾向にあった。

Adaptic 群では線維に付着して顆粒が見られる細管もあるが, 空虚なものも多く, 突起の残遺のようなものや細管を横切る膜様構造物が見られた (写真24)。

6. 充填後150日

Dycal および Unident 群において, A 帯部象牙細管は60日経過例と同様にその多くが微細顆粒状物質によって閉鎖しているが (写真25), Hi-Atomic M 群ではその密度が低いように思われた (写真26)。しかし, 5日や10日経過の Hi-Atomic M 群と比較すると細管の閉鎖は密になっている。

Adaptic 群ではまれに細管がつまったような像も見られるが, 多くの細管ではまばらに顆粒が見られる程度であった (写真27)。Adaptic 群の B 帯部象牙細管では緻密な管周象牙質に付着した大型の球状構造物が認められたが, 150日経過例以前に見られたような細線維は見られなかった。また, まれに Dycal や Unident 群においても, B 帯部細管内に球状構造物が存在していた。しかし, 4 群共にこれら球状構造物で B 帯部象牙細管を閉鎖するような所見はなく, 5 日経過例から 150 日経過例に致るまで常にまばらな状態であった (表1)。

IV X線分析所見

走査電顕により見出し出した微細顆粒状物質を含む細管を透過電顕により観察すると, 象牙細管の輪郭は非常に不規則で, 管周象牙質と管間象牙質の境界は不明瞭であ

った。管周象牙質はコラーゲン線維の走行が象牙細管を取りまくように見られ, わずかに電子密度が高い。細管内には, 片側によって不定型の集塊からなる電子密度の高い物質が見られた (写真28)。このような物質に対してスポット分析を行ったところ, 2013eV の部に PK α , 3690eV の部に CaK α , 4012eV の部に CaK β のピークが見られた。P, Ca 共に細管内顆粒状物質は管間象牙質のピークより高い値を示している (写真29)。

さらに, 象牙細管を横断するライン分析を行うと, Ca 含有量は細管内顆粒状物質の部位で管間象牙質に比し高い値を示していた (写真30)。その比率は, わずかに高いものから著しく高いものまでさまざまであった。

考 察

I 光顕所見について

各種の覆髄剤や充填材による刺激が歯髄組織に及ぼす影響について, 光顕的にはすでに多くの研究報告が見られる。今回, 著者が実験に使用した水酸化カルシウム製剤, アマルガム, カルボキシレートセメント, コンポジットレジンについても病理組織学的な検討がなされている。

それらの中で, 水酸化カルシウム製剤に関しては Heys ら (1976)⁵⁾ が赤毛ザルの乳歯および永久歯に4種の水酸化カルシウム製剤を応用し, 術後3日, 5週, 8週経過の歯髄を病理組織学的に検索している。その結果, 歯髄は Dycal 群において3日経過例で象牙芽細胞の破壊, 空胞化など中等度の反応を示すが, 5週経過例では炎症性反応は減少し, 修復象牙質を形成するようになるという報告している。

岡田 (1978)⁶⁾ はヒト永久歯 100歯を用い, 窩洞形成後, 3種の水酸化カルシウム製剤およびガッタパーチャテンポラリーストッピングを対照として填塞し, 実験直後から最長 560日にわたる臨床病理学的検索を行っている。それによると, Dycal 群25例中, 出血や円形細胞浸潤, 象牙芽細胞の変化はいずれも術後20日以内の9例に認められるものの, 25日から560日経過例においては見られず病理成績良好であったと述べている。このような報告は, 著者の Dycal 応用による病理組織所見と非常に類似したものと考える。

アマルガムに関して, 石山 (1969)¹⁾ はヒトの歯を用いてノンジンクアマルガム充填の歯髄に及ぼす影響を検索, 実験後4日から405日間の45例について病理成績を判定している。その結果, 良好64.4%, 概良15.6%, 不

写真17 Dycal 覆 髄 後 5 日 の 走 査 電 顕 像

A 帯部象牙細管内には微細顆粒状物質が認められる。

FG: 微細顆粒状物質 DT: 象牙細管 ID: 管間象牙質

写真18 Adaptic 充 填 後 5 日 の 走 査 電 顕 像

A 帯部象牙細管内に微細顆粒状物質はわずかに見られる。

DT: 象牙細管 ID: 管間象牙質

写真19 Dycal 覆 髄 後 10 日 の 走 査 電 顕 像

A 帯部象牙細管内には象牙芽細胞突起様構造物に微細顆粒状物質が多数付着している。

FG：微細顆粒状物質

ID：管間象牙質

写真20 Hi-Atomic M 充 填 後 10 日 の 走 査 電 顕 像

B 帯部象牙細管内に大型の球状構造物が散在して見られる。

GS：大型の球状構造物

ID：管間象牙質

写真21 Adaptic 充填後 10 日の走査電顕像

A 帯部象牙細管内には網目状を呈する糸状の物質が見られる.

DT: 象牙細管

ID: 管間象牙質

写真22 Dycal 覆 髓 後 20 日の走査電顕像

B 帯部象牙細管は網状の線維に付着した微細顆粒状物質で満たされている.

FG: 微細顆粒状物質

ID: 管間象牙質

PD: 管周象牙質

写真23 Dycal 覆 随 後 60 日 の 走 査 電 顕 像

A 帯部象牙細管内では、一部で顆粒状物質が管間象牙質様を呈して細管を閉鎖している。

FG：微細顆粒状物質 ID：管間象牙質 PD：管周象牙質

写真24 Adaptic 充 填 後 60 日 の 走 査 電 顕 像

A 帯部象牙細管内は空虚なものが多く、細管を横切る膜様構造物 (←) が見られる。

写真25 Unident 充填後 150 日の走査電顕像

A 帯部象牙細管は多くが微細顆粒状物質で閉鎖している。

FG：微細顆粒状物質

ID：管間象牙質

写真26 Hi-Atomic M 充填後 150 日の走査電顕像

A 帯部象牙細管内には微細顆粒状物質が見られる。

FG：微細顆粒状物質

ID：管間象牙質

写真27 Adaptic 充填後 150 日の走査電顕像
A 帯部象牙細管にまばらに微細顆粒状物質が見られる。
DT：象牙細管 ID：管間象牙質

写真28 Dycal 覆髄後30日経過した象牙細管内微細顆粒の透過電顕像
微細顆粒は管間象牙質に比べ著しく電子密度が高い。
FG：微細顆粒状物質 ID：管間象牙質

写真29 スポット分析による元素分析スペクトル

左：象牙細管内顆粒状物質のスペクトル

右：管間象牙質のスペクトル

象牙細管内顆粒状物質はP, Ca 共に管間象牙質より高いピークを示している。

表1 透過および走査電顕観察所見

所 見		研究材料および 観察期間	Dycal					Hi-Atomic M					Unident					Adaptic								
			5	10	20	30	60	150	5	10	20	30	60	150	5	10	20	30	60	150	5	10	20	30	60	150
象牙芽細胞	核 の 凹 凸		+	+		+		+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	核 膜 の 膨 化							+			±			±						+	+		+	+	+	+
	chromatin の凝集		+					+				+		+	+					+		+				+
	小 胞 体 の 膨 化									+	±					±					+	+	±	+	+	
	mitochondriaの膨化					±		+		+		±				±					+	+	+	+	±	
	lysosome の 増 加			+						+							±					+	+	+		
毛 細 血 管	lipid (lipofuscin) の増加												±			±	±			+		+	+			
	pinocytosis		+	+	+	+		+	+					+	+		+			+	+			+	+	
象牙細管	basal laminaの肥厚									±	+	+														
	顆 粒 状 物 質		+	+	+	+	+	+	+	±		±	±	+	+	+	+	+	±	+	+	+	±	±	±	±

写真30 Ca 量のライン分析

象牙細管内顆粒状物質の Ca 量は管間象牙質のそれに比べ著しく高いピークを示している。

FG：微細顆粒状物質

ID：管間象牙質

良20.0%であったが実験期間別に判定すると、アマルガム充填後、一旦、傷害をこうむった歯髄が日時の経過と共に次第に自然修復される傾向を示したとはいえ、多数例にしかも比較的長期間にわたって損傷性病変を残遺したと述べている。

また、尾崎 (1970)⁷⁾ は乳歯50例にノンジンクアマルガム充填を施し、病理組織学的に検討した結果、良好42例、概良6例、不良2例で術後30日以内例にのみ不良例が認められ、概良例も術後90日以内に限られていたと報告している。石山 (1969)¹⁾ に比べ尾崎 (1970)⁷⁾ の報告は歯髄の炎症反応が軽度であるが、著者の実験でも象牙芽細胞層の軽い空胞変性は残るものの、比較的穏やかな反応を示していた。

次いで、Safer ら (1972)⁸⁾ が赤毛ザルの60歯に窩洞形成を行い、4種のカルボキシレートセメントおよび酸化亜鉛ユージノールセメントを対照群として充填し、最長8週間観察して病理組織学的に検索している。それによると、4種のカルボキシレートセメントにおける歯髄反応は軽微で象牙芽細胞層のわずかな崩壊が認められるものの、炎症性細胞浸潤はほとんど見られず、かすかな第2象牙質の形成が見られたと述べている。

義川ら (1980)⁹⁾ は成犬の歯牙に5級窩洞を形成し、Unident を充填、3日、7日、14日、31日経過後に抜去して病理組織学的検索を行っている。その結果、充填後3日目には象牙芽細胞に軽度の空胞変性が見られ、歯髄には血管の拡張、充血が著明であるが、充填後7日、14日目になると歯髄は充血状態を呈しているものの象牙前質や象牙芽細胞層は正常像を呈するようになったと報告している。

著者の実験では、Unident 充填後5日経過例の一部において円形細胞浸潤が見られたものの、反応は軽微であり両者の報告に類似しているものと思われる。

さらに、コンポジットレジンについては、Brännström ら (1972)¹⁰⁾ がヒト歯牙66対の頰側に可及的に深い窩洞を形成し、片顎は未裏層とし、反対側は裏層を施し3種のコンポジットレジン充填を行って検索している。それによれば、Adaptic 充填64例中、術後1～2週経過の未裏層14例では細胞浸潤が13例、象牙前質の幅の減少が12例、象牙芽細胞数の減少が14例に見られ、4～8週経過の未裏層18例では細胞浸潤が18例、象牙前質の幅の減少が2例、象牙芽細胞数の減少が13例などに分類された。しかし、裏層例32例には象牙芽細胞数の減少が約半数に認められたのみであると述べている。

内上堀 (1980)¹¹⁾ は成犬65頭の歯牙に4種のコンポジ

ットレジン充填を施し、テンボラリーストッピングを窩底に置きアマルガム充填を行った症例と病理組織学的に比較検討している。その結果、対照のアマルガム充填群では術後14日経過例において形成時にうけた反応性炎症は軽微となり、21日、35日経過例ではほぼ完全に消失し、象牙芽細胞層やその付近の歯髄細胞も正常像近くに回復が見られた。しかしながら、4種のコンポジットレジン中の Adaptic では充填後14日経過例で窩底直下の象牙芽細胞は空胞変性、萎縮が認められ、歯髄は充血、出血が見られた。さらに、35日、92日経過例では充填材のもつ影響を示唆しているように、この時期になっても未だ窩底直下の象牙芽細胞層には空胞変性ならびに萎縮が見られたと報告している。

著者の Adaptic を用いた実験でも内上堀 (1980)¹¹⁾ の報告と類似しているが Brännström ら (1972)¹⁰⁾ の報告するような激しい反応は見られなかった。これは残存象牙質の厚さによるものと思われる。即ち、充填材自体の歯髄刺激は残存象牙質の厚径に無関係のこともあるが、窩洞形成による物理的刺激は残存象牙質が薄い場合、より太い象牙細管、太い象牙芽細胞突起を切断する結果となり、やはり著しいダメージを歯髄に与えるであろう。

II 透過電顕所見について

充填後5日、10日経過例では覆髄剤や充填材による象牙芽細胞の変化に大きな差は見られなかったが、毛細血管を構成する内皮細胞には pinocytotic vesicle や pinocytotic vacuole が多く、管腔に向かっては marginal flap の発達が見られた。

Searls (1967)¹²⁾ はラット下顎切歯に高速切削による窩洞形成を行い、酸化亜鉛ユージノールセメントで充填したものと、充填を行わなかった対照群とを比較したところ、象牙芽細胞は実験直後から15日経過まで非常に似通っていたと報告している。従って、著者や Searls (1967)¹²⁾ の実験結果から考えると、充填後5日、10日経過という期間ではいまだ覆髄剤や充填材などの有する薬理作用的刺激による象牙芽細胞の変化が著明に現われているとは思われず、これらの象牙芽細胞や内皮細胞の観察所見は窩洞形成刺激に対する活発な防禦的生理反応であり、旺盛な物質代謝を示す現象と考える。

山田 (1976)¹³⁾ はヒトの歯に窩洞形成を行い、外科用油紙をひきアマルガム充填を施した症例と Dycal で覆髄を行いアマルガム充填を施した症例の歯髄反応を術直後から30日間にわたって透過電顕にて検索している。それによると、Dycal 覆髄例では20日後において象牙芽細

胞は粗面小胞体や free ribosome が多数散在し蛋白質合成の旺盛な像を呈すると共に、内皮細胞は pinocytosis が盛んであったと述べている。さらに、覆髄後の象牙芽細胞や毛細血管に見られる変化は初期において、覆髄を施さなかった場合のそれとは大差は見られなかったと報告している。これは窩洞形成後15日間の観察を行った前記の Searls (1967)¹²⁾ の報告と類似しており、実験後20日経過頃より覆髄剤や充填材自体の歯髄に対する影響が窩洞形成刺激に対する歯髄反応をいっそう助長したり、あるいは鎮静して現われるものではなかろうかと考える。

著者の観察では、20日後の Dycal 覆髄例は山田 (1976)¹³⁾ のような蛋白合成像は示さず比較的正常に近いものであり、Hi-Atomic M や Unident ではやや強い変化が、Adaptic では細胞の膨化などさらに強い変化が見られた。しかしながら、反応にばらつきが多く詳細なる解明には、もう少し症例数を増やす必要があると考える。また、Hi-Atomic M, Unident, Adaptic 充填例の内皮細胞内にしばしば fenestration が見られたが、これらの fenestration は Corpron ら (1973)¹⁴⁾, Rapp ら (1977)¹⁵⁾ により象牙芽細胞に近接して観察され、毛細血管から象牙芽細胞への急速な物質輸送に関与するものと考えられている。象牙芽細胞の正常な機能、形態への復帰や細胞層の再配列に貢献するものであろうし、炎症反応の程度にも影響されるのではなかろうか。

充填後30日経過例の Dycal, Hi-Atomic M, Unident 群とも細胞像に大差はなく、象牙芽細胞のゴルジ装置は比較的発達して見られるものの、mitochondria や粗面小胞体はほぼ正常像を呈していた。一方、Adaptic 群において細胞内小器官は発達して lysosome や lipofuscin 顆粒が多く認められた。この lysosome は細胞自身にとって異物化した自己の細胞質部分を無害化し排除する自己防禦機能を有すること、また、lipofuscin 顆粒は消耗性色素と考えられていることなどより、これらの現象は象牙芽細胞が周囲に存続する刺激に対し抗炎症的に作用している結果ではないかと考える。

窩洞形成後の Dycal 覆髄例では術後20日、Unident 充填例では30日、Hi-Atomic M 充填例ではやや組織変化が残存するものの術後30日で象牙芽細胞はほぼ正常な状態に回復したにもかかわらず、Adaptic 充填例では150日経過後も比較的強い反応を示しており、Adaptic の組織刺激が Dycal や Unident, さらに Hi-Atomic

M に比べ長く持続しているものと思われる。ただ、Adaptic の収縮により歯質との間に辺縁漏洩が起こり、その結果生じる種々なる刺激、特にバクテリアの感染を考慮しなければならないが、著者の細胞レベルでの観察においては認められず、やはり Adaptic 自体の刺激が十分考えられるゆえんである。

Ⅲ 走査電顕所見について

象牙質は外来刺激に対し、防禦反応としてその歯髄側に第2象牙質の形成が行われるが、もうひとつ見られる主たる変化は象牙質の透明化および不透明化である。象牙質の透明化や不透明化は象牙細管の石灰化の程度の差によると考えられるが¹⁶⁾、いずれにせよ、象牙細管内無機質の沈着によるものである。このような硬化象牙質に関しては従来から咬耗歯、磨耗歯について Beust (1931)¹⁷⁾, Huysen ら (1937)¹⁸⁾, Berggren (1965)¹⁹⁾, 戸田ら (1966)²⁰⁾, 桑島 (1973)²¹⁾, 木津 (1979)²²⁾, Mendis and Darling (1979 a, b)^{23, 24)}, Brännström and Garberoglio (1980)²⁵⁾, 井上ら (1981)²⁶⁾ が光顕的、X線の、あるいは電顕の観察を行い、また、増齢歯では Nalbandian ら (1960)²⁷⁾, Takuma and Eda (1966)²⁸⁾, 久保田ら (1977)²⁹⁾, 見明 (1978, 1979)^{30, 31)}, 山崎 (1981)³²⁾, 赤羽ら (1981)³³⁾, 齲蝕歯では Takuma and Kurahashi (1962)³⁴⁾, 三上 (1971)³⁵⁾, 荻原 (1975)³⁶⁾, 横山 (1979)³⁷⁾, Mendis and Darling (1979 b)²⁴⁾, 高橋 (1981)³⁸⁾ が観察している。特に、象牙細管内結晶物に関する報告では、赤羽ら (1981)³³⁾ がヒト歯冠硬化象牙質の観察の結果、象牙細管内沈着物の結晶形態を斜方面体晶系、立方晶系、正方晶系、六方晶系、微細顆粒状結晶に分類し、また、木津 (1979)²²⁾ は咬耗歯の dead tract 部の象牙細管内結晶構造物を spindle shaped crystal, cuboidal shaped crystal に分類、cuboidal shaped crystal をさらに simple type と complex type に分けている。そして、横山 (1979)³⁷⁾ は齲蝕象牙質における観察で木津 (1979)²²⁾ の分類する結晶形態に plate like crystal を追加している。このようにヒト硬化象牙質の象牙細管内には種々なる形態の結晶が見られ、象牙細管の閉鎖、即ち、外来刺激の遮断に関与しているものと考ええる。

著者の実験では、4種類の修復材充填により象牙細管内に径10~70nmの微細顆粒状物質が見られ、特に Hi-Atomic M と Adaptic 群では径 0.1~0.3 μ m の球状構造物が認められた。微細顆粒状物質と類似の結晶は赤羽ら (1981)³³⁾ が75才のヒト上顎中切歯象牙細管内に見出し、直径40~50nmの微細顆粒状結晶として報告し

ているが、著者の観察では微細な網状線維に付着するように顆粒が認められたこと、さらに彼の述べる結晶が管周象牙質と同様に細管壁に沿って成長しており、結晶と管周基質との境界は判然としていないことなどから同様の結晶であるとは考えにくい。むしろ、赤羽ら (1981)³³⁾ の述べる微細顆粒状結晶とは管周象牙質そのものではなかろうかと考えている。大型の球状構造物に関しては、山崎 (1981)³²⁾ が老人の歯の象牙細管内に透過電顕観察で針状結晶の球状集合体として認めているが、直径が0.4~0.6 μ mで著者の観察よりやや大きく、表面の凹凸が異なっていることからやはり別のものであろうと推察する。

正常な犬の象牙細管の走査電顕像において、管周象牙質はヒトの象牙質のそれと比べ、その判別は明瞭ではない。また、ヒト象牙細管内にしばしば見られる立方形や方解石様、あるいは紡錘形の結晶は見られず多様性に乏しいようである。従って、象牙細管内に見られる結晶形態はヒトの歯と犬のそれでは大きく異なるのではないかと考える。

このような象牙細管内において結晶物の沈着、ならびに閉鎖はいかなる機序で起こるのであろうか。

まず、象牙細管の閉鎖には2つの過程が考えられる。管周象牙質の発達によるものと細管内結晶構造物の沈着によるものである。管周象牙質は象牙細管内で新生されたコラーゲン線維が密に石灰化したものであり、二次的に本来の細管壁から内側に向かって形成される。この管周象牙質の形成はある程度の幅まで進行すると中止され、しかる後、内面に種々の形の結晶物が沈着を始めるものと考えられている。

一条 (1975)³⁹⁾ は象牙細管構造の変化について詳細な観察を行い、その結果、象牙芽細胞の突起は管周象牙質の形成に関与しているが管周象牙質の形成が中止する頃には突起の径を減じ、それらの機能が失なわれて、管周象牙質の内層における結晶物の沈着が進行するに従って突起の先端から縮少し、突起が既に消失したのち、その領域の細管は閉鎖されると述べている。

著者も管周象牙質は慢性的刺激、あるいは年齢の増加などによりきわめて徐々に形成される石灰化の密な部分であり、これにはある程度、象牙芽細胞の突起が関与するものと考えられる。しかるに、その後の結晶物による細管の閉鎖は、過度の、または急激な刺激によって象牙芽細胞突起に変性や壊死が生じ、細管内組織液と共に細管内環境が変化して結晶の沈着を始めるのではなかろうかと推論する。

枝 (1980)⁴⁰⁾ は楔状欠損歯のマイクロラジオグラフによる観察から、Brännström and Garberoglio (1980)²⁵⁾ は抜去歯を可撤性義歯に植立した実験の走査電顕所見から、さらに、山崎 (1981)³²⁾ は高齢者の象牙細管内結晶形態からそれぞれ歯冠硬化象牙質内結晶物の成因について、唾液由来の可能性を報告している。事実、山岡ら (1971)⁴¹⁾、東ら (1978)⁴²⁾、森永 (1980)⁴³⁾ は歯石や唾石中に類似の立方形の結晶を多く認めている。

著者は露出象牙質表面における象牙細管の閉鎖に唾液が関与するという考えを否定するものではない。しかし、今回の実験においては窩洞形成直後に充填を行っており、細管内に唾液の侵入する機会はないはずである。また、仮りに、辺縁漏洩により唾液が侵入したものと考えたとしても、収縮率の著しく高いAdaptic群において顆粒状物質が最も少なかった事実と相反し、不条理なこととなる。従って、著者の実験において唾液の関与はあり得ないものと確信する。

窩洞形成のみ、あるいは窩洞形成後に充填を行い、経時的に象牙細管の変化を追求した実験的研究もいくつか見られる。

磯川ら (1965)⁴⁴⁾ は人工的に犬の歯の象牙質を裸出し、象牙細管に起こる変化をマイクロラジオグラフによって調べている。それによれば、象牙質の露出面部は管周象牙質の著明な増加を示したが、露出面部と歯髓腔との間に存在する象牙細管は研磨標本およびマイクロラジオグラフのいずれにおいても硬化を思わせるような像を示さなかったと述べている。

Mjör (1967)⁴⁵⁾ は若年者の小臼歯に1級窩洞を形成し、水酸化カルシウムや酸化亜鉛ユーージノールセメントで被覆、種々の期間経過後、窩底下象牙質をマイクロラジオグラフにて検索している。その結果、水酸化カルシウム被覆例では隣接象牙質と比較して放射線不透過性が高く、その程度は著明なものからはっきり区別できぬものまでさまざまであったと報告している。

さらに、Mjör and Furseth (1968)⁴⁶⁾ は若年者の小臼歯5本に窩洞形成を行い、水酸化カルシウムで裏層、10日、20日、29日後に未脱灰超薄切片として透過電顕にて観察を行っている。その結果、象牙細管は多くの場合、やや電子密度の高い結晶構造物により閉鎖されており、これらの細管内変化は水酸化カルシウムで被覆した象牙質の全範囲を通じて見られるが、管周象牙質や管間象牙質には正常象牙質と比較して変化は見られないと述べている。

また、新井 (1972)⁴⁷⁾ はヒト永久歯83歯の咬合面に単

純窩洞を形成し、Dycal とアマルガムで被覆後、生物学的代謝活性の少ない象牙質がどの程度影響を受け、硬化象牙質が形成されるかをビッカース硬度計を用い経時的、数量的に求める実験を行った。その結果、Dycal 貼布下の象牙質では特に窩洞内に断端をもつ象牙細管に沿って硬度は高く、その変化は象牙質深層にまで及んだが、アマルガムでは硬度の増加はほとんど見られなかったと述べている。

本実験では、これらの報告に対し充填後5日経過例において、Adaptic 群は Dycal, Unident, Hi-Atomic M 群に比べ微細顆粒状物質による象牙細管の閉鎖が弱く、10日以後経過例では Dycal, Unident 群は Hi-Atomic M 群や Adaptic 群よりも細管の閉鎖が密に見られたが、このような象牙細管の閉鎖状態は Mjör and Furseth (1968)⁴⁶⁾ が透過電顕にて観察したと同様の所見であり、Mjör (1967)⁴⁵⁾ や新井 (1972)⁴⁷⁾ がマイクロラディオグラフやビッカース硬度計にて検索した硬化象牙質につながるものであろうと考える。

ここで、このような象牙細管の閉鎖が何故充填材あるいは覆髄剤によって異なるのかについて論じたいと思う。

著者の観察では各充填材により形成された管周象牙質の幅の違いは認められず、象牙細管の閉鎖は細管内顆粒状物質により行われていた。これは窩洞形成の刺激、あるいは充填材自体の刺激により窩底直下象牙細管内の象牙芽細胞突起が死滅後退、管周象牙質形成が停止し、その後、象牙細管内は組織液で満たされ、これが直接充填材と接することにより種々の影響を受け、充填材質の違いが細管内顆粒状物質の沈着状態、あるいは閉鎖状態に差を生じるものと考ええる。また、象牙芽細胞突起は末端では壊死するものの、象牙前質部および歯髄に近い部位では生存し、なんらかの形で顆粒状物質の沈着に関与するのかもしれない。

これらのことを考え合わせると、象牙細管内の環境に影響を与える充填材質の組織作用が歯髄保護を考えるうえで重要な問題となるであろう。

真泉 (1974)⁴⁸⁾ は培養細胞を用いて実験したところ、練和したばかりの水酸化カルシウム糊剤の局所作用は激しいものであるが、時間の経過と共にそのような作用が急速に減少し、1～2時間後にはまったく無害なものになっていたと述べている。

また、銀錫アマルガムの細胞毒性については堤 (1971)⁴⁹⁾ が L 株細胞を用いて詳細な観察を行い、練和直後の試験片を細胞浮遊液中に浸漬すると細胞の増殖は抑制さ

れるばかりでなく、培養2日後には全細胞が変性死滅したと報告している。

カルボキシレートセメントに関しては、Spangberg ら (1974)⁵⁰⁾ が Hela 細胞を用い酸化亜鉛ユージノールセメントと比較している。それによると、練和直後では2種の酸化亜鉛ユージノールセメントは全ての細胞が崩壊したにもかかわらず、3種のカルボキシレートセメントの細胞毒性はわずかであり、その後、この細胞毒性はさらに急速に減少し、練和1週間経過まで徐々に減少したと報告している。

paste-paste type のコンポジットレジンを用いた報告は、西田 (1975)⁵¹⁾、川原ら (1976)⁵²⁾ が組織培養法を活用して行っており、その結果、練和後の未重合状態では強い毒性を示すが、その後やや減少し硬化試料はほとんど細胞毒性を示さなかったと述べている。この報告は硬化したレジン自体の歯髄為害性が少ないことにつながり、前記のアマルガムは逆に強烈な歯髄為害性を有することとなって従来からいわれている臨床上的問題点や成績と相反する結果となるが、本実験のアマルガムにおいては為害性はあまり考えられない。

さらに、新井 (1972)⁴⁷⁾ は水酸化カルシウム製剤に関する放射性同位元素による観察から、水酸化カルシウム製剤貼布下象牙質の Ca は水酸化カルシウム製剤中からのも、血行性と共に由来すると報告しているが、水酸化カルシウム製剤からの由来はただ単に石灰化のより良い環境を作り出すだけでなく、実際、石灰化の一因をなして興味深い。

次に時間的推移による象牙質の硬化に関して、先に述べた新井 (1972)⁴⁷⁾ は Dycal 貼布下の場合、特に若年者の歯牙では硬度上昇はすみやかに起こり、約2週間で有意差を示すようになり、後、経時的に硬度はゆるやかに上昇を見ると報告している。しかしながら、Mjör (1967)⁴⁵⁾ はマイクロラディオグラフを用いた実験で、水酸化カルシウム貼布下象牙細管の放射線不透過性は亢進して見られたが、観察期間の長さには関係しなかったと述べている。

本実験においては Dycal や Unident における象牙細管閉鎖の主体となる微細顆粒状物質の細管内密度は5日、10日経過例と比べ30日ではやや高い傾向を示し、60日ではさらに高く見られたが、60日経過例と150日経過例では細管内密度にあまり差がないように思われた。このことは、象牙細管の閉鎖が充填後1、2カ月である程度のレベルに達し、その後は石灰化が緩徐になるためであろうと考える。

IV X線分析所見について

細管内結晶物のエネルギー分析に関しては、枝(1980)⁴⁰⁾がエネルギー分散型(EDX)で元素分析を行い、PとCaの量を管間基質と比較した結果、P、Ca共に細管内結晶物の方がやや多かったと述べている。この報告の場合と著者の実験観察とは細管内結晶物の生ずる環境が異なっているため同一の比較は無理であるが、本実験でもP、Caは細管内顆粒状物質の方が管間象牙質に比して多く見られた。その程度は種々であり、このようなばらつきは細管内顆粒状物質の密度の違い、石灰化度の違いによるものであろうと推察する。

一方、この細管内結晶物の同定に関して、荻原(1975)³⁶⁾はヒト象牙細管内に見られる結晶物を制限視野電子回折により調べた結果、粒状や針状のものは水酸アパタイトと同定し、骰子状結晶はウィトロカイト、板状結晶は磷酸オクタカルシウム含有の公算が高いと述べている。本実験に見られた微細顆粒状物質も電子回折を行わなければ同定できないが水酸アパタイトに類似の結晶であろうと考えている。

結 論

犬の犬歯および第1大臼歯 192本に5級窩洞の形成を行い、水酸化カルシウム製剤として Dycal、アマルガムとして Hi-Atomic M、カルボキシレートセメントとして Unident、コンポジットレジンとして Adaptic の4種類の修復材を充填した。充填後、窩底象牙細管が生物学的に閉鎖される状態を走査電顕で、また、修復材の歯髄刺激を象牙芽細胞の変化を中心に透過電顕で観察を行った。さらに、象牙細管内顆粒状物質に対してはX線分析を行って以下のような結論を得た。

A. 透過電顕観察

1. 充填後5日、10日例では覆髄剤や充填材応用による象牙芽細胞の変化にあまり差はなく、各群とも細胞内小器官は良く発達し、核の chromatin は凝集傾向を示すと共に、intercellular space はやや拡大して見られた。

2. 充填後30日例では Dycal, Hi-Atomic M, Uni-

dent 群とも大差はなく、象牙芽細胞は正常像を呈していた。しかし、Adaptic 群の象牙芽細胞では、細胞内小器官は発達して lysosome や lipofuscin 顆粒が増加し、核においては凹凸不整が認められた。

3. 充填後150日例では、30日経過例と同様に Dycal, Hi-Atomic M, Unident 群は正常な象牙芽細胞に比べ大差はないが、Adaptic 群では膨化した粗面小胞体や発達したゴルジ装置、lysosome の増加などが見られた。

B. 走査電顕観察

1. 充填後5日例では各群とも窩底直下象牙細管内に網状の微細な線維に付着するように微細顆粒状物質が認められたが、Adaptic 群では他の3群に比べその密度が低かった。

2. 充填後20日例では Dycal, Unident 群の窩底直下象牙細管は微細顆粒状物質で満たされていたが、Hi-Atomic M と Adaptic 群では細管内顆粒はまばらに散在していた。このような傾向は30日、60日経過例にも認められた。

3. 充填後150日例では Dycal, Unident 群は象牙細管の多くが微細顆粒状物質によって閉鎖していたが、Hi-Atomic M 群ではその密度がやや低く、Adaptic 群では細管の多くに顆粒が点在する程度であった。

4. 窩底象牙質のやや歯髄側よりの細管内に径 0.1~0.3 μ mの球状構造物が Hi-Atomic M と Adaptic 群においてしばしば認められた。

C. X線分析

1. 窩底直下象牙細管の顆粒状物質にスポット分析を行ったところ、PとCaにピークが認められた。

2. 象牙細管内顆粒状物質のCa含有量は管間象牙質に比べ高い値を示していた。

稿を終わるにあたり、御指導、御校閲を賜った井上廣教授に深甚なる感謝の意を表します。

さらに、走査電顕撮影に御協力を戴きました森田兼市元助手、他教室員各位に心より感謝します。

引 用 文 献

- 1) 石山照雄：ノンジンクアマルガム充填が歯髄に及ぼす影響及びこれに対する間接歯髄覆罩法に関する臨床病理学的研究。歯科学報 69：322—381, 1969.
- 2) Tronstad, L. and Mjör, I.A.: Pulp reactions to calcium hydroxide-containing materials. *Oral*

- Surg.* 33:961—965, 1972.
- 3) 岩久正明・斎藤允昭・清水芳保・的野良次: カルボキシレートセメントの歯髄刺激について. 日歯保誌 14: 254—259, 1972.
 - 4) 馬田克巨: 各種即硬性レジン修復材が歯髄に及ぼす影響に関する臨床病理学的研究. 歯科学報 73: 1172—1215, 1973.
 - 5) Heys, D.R., Heys, R.J., Cox, C.F. and Avery, J.K.: Histopathologic evaluation of the effects of four calcium hydroxide liners on monkey pulps. *J. Oral Path.* 5: 129—148, 1976.
 - 6) 岡田 孝: 各種水酸化カルシウム製剤の間接歯髄覆罩効果に関する臨床病理学的研究. 歯科学報 78: 1—58, 1978.
 - 7) 尾崎ますみ: アマルガム充填が乳歯髄に及ぼす影響に関する臨床病理学的研究. 歯科学報 70: 389—434, 1970.
 - 8) Safer, D.S., Avery, J. K. and Cox, C.F.: Histopathologic evaluation of the effects of new polycarboxylate cement on monkey pulps. *Oral Surg.* 33: 966—975, 1972.
 - 9) 義川伸一・寺下正道・長野三代太・木村光孝・内上堀征人・品川光春・長谷川 喬: 水硬性カルボキシレートセメントに関する研究, 第4報 歯髄の組織変化に関する病理組織学的検索. 日歯保誌 23: 138—145, 1980.
 - 10) Brännström, M. and Nyborg, H.: Pulpal reaction to composite resin restorations. *J. Prosthet. Dent.* 27: 181—189, 1972.
 - 11) 内上堀征人: 各種充填用レジンが歯髄に及ぼす影響に関する実験的研究. 九州歯会誌 33: 775—802, 1980.
 - 12) Searls, J.C.: Light and electron microscope evaluation of changes induced in odontoblasts of the rat incisor by the high-speed drill. *J. Dent. Res.* 46: 1344—1355, 1967.
 - 13) 山田繁治: 窩洞形成後におけるヒト歯髄の微細構造の変化に関する研究. 歯科医学 39: 357—386, 1976.
 - 14) Corpron, R.E., Avery, J.K. and Lee, S.D.: Ultrastructure of capillaries in the odontoblastic layer. *J. Dent. Res.* 52: 393, 1973.
 - 15) Rapp, R., El-Labban, N.G., Kramer, I.R.H. and Wood, D.: Ultrastructure of fenestrated capillaries in human dental pulps. *Archs oral Biol.* 22: 317—319, 1977.
 - 16) 石川梧朗・秋吉正豊: 口腔病理学 I. 永末書店, 京都, 1972, 134—142.
 - 17) Beust, T.B.: Physiologic changes in the dentin. *J. Dent. Res.* 11: 267—275, 1931.
 - 18) Huysen, G.V., Hodge, H.C. and Warren, S.L.: A quantitative roentgeno-densitometric study of the changes in teeth due to attrition. *J. Dent. Res.* 16: 243—265, 1937.
 - 19) Berggren, H.: The reaction of the translucent zone of dentine to dyes and radio-isotopes. *Acta odont. scand.* 23: 197—213, 1965.
 - 20) 戸田善久・鶴岡好明・和田憲夫・坪内 実・長谷川辰雄・西原 是: ヒトの露出した象牙細管の Historadiography. 日大歯学 40: 531—537, 1966.
 - 21) 桑島 馨: 接触局面および歯頸部クサビ状磨耗部の表面とその下層象牙質との走査電子鏡的研究. 日大歯学 47: 12—20, 1973.
 - 22) 木津健夫: Dead Tract 部象牙細管の走査電顕による観察. 日大歯学 53: 50—55, 1979.
 - 23) Mendis, B.R.R.N. and Darling, A.I.: Distribution with age and attrition of peritubular dentine in the crowns of human teeth. *Archs oral Biol.* 24: 131—139, 1979 a.
 - 24) Mendis, B.R.R.N. and Darling, A.I.: A scanning electron microscope and microradiographic study of closure of human coronal dentinal tubules related to occlusal attrition and caries. *Archs oral Biol.* 24: 725—733, 1979 b.
 - 25) Brännström, M. and Garberoglio, R.: Occlusion of dentinal tubules under superficial attrited

- dentine. *Swed. Dent. J.* 4 : 87—91, 1980.
- 26) 井上 廣・藤 英俊・明坂年隆・田村尚治：象牙質の電顕的観察．1．Dead tract 部象牙細管内の結晶形態．*福歯大誌* 8 : 194—200, 1981.
 - 27) Nalbandian, J., Gonzales, F. and Sognnaes, R.F. : Sclerotic age changes in root dentin of human teeth as observed by optical, electron, and x-ray microscopy. *J. Dent. Res.* 39 : 598—607, 1960.
 - 28) Takuma, S. and Eda, S. : Structure and development of the peritubular matrix in dentin. *J. Dent. Res.* 45 : 683—692, 1966.
 - 29) 久保田公雄・海老名利次・宮崎修二・永井 敏・佐藤孝治・山崎芳昭・安井正美：象牙細管腔の年齢による大きさの変化とその傾向についての走査電子顕微鏡的観察．*日大歯学* 51 : 268—272, 1977.
 - 30) 見明 清：歯の局所微細構造について—老化に対する超微細構造的变化—．*歯科学報* 78 : 353—367, 1978.
 - 31) 見明 清：増齢に伴う歯牙の変化—硬組織と歯髓について—．*日本歯科評論* 440 : 34—44, 1979.
 - 32) 山崎喜之：高齢者の歯牙による歯冠および歯根の硬化象牙質に関する電子顕微鏡的研究．*松本歯学* 7 : 16—49, 1981.
 - 33) 赤羽章司・枝 重夫・川上敏行・林 俊子・中村千仁・河住 信：硬化象牙質に関する電子顕微鏡的研究．第1報 歯冠硬化象牙質の細管内の沈着物と線維について．*松本歯学* 7 : 238—258, 1981.
 - 34) Takuma, S. and Kurahashi, Y. : Electron microscopy of various zones in a carious lesion in human dentine. *Archs oral Biol.* 7 : 439—453, 1962.
 - 35) 三上晃一：象牙質齲蝕円錐，とくにその透明層の顕微X線のおよび走査電子鏡的研究．*日大歯学* 45 : 414—421, 1971.
 - 36) 荻原 弘：ヒト象牙質齲蝕病巣の二次的石灰化—X線マイクロアナライザー，電子顕微鏡および電子回折法による研究—．*歯科学報* 75 : 256—285, 1975.
 - 37) 横山 健：ヒト齲蝕象牙質の走査電顕による観察．*日大歯学* 53 : 770—779, 1979.
 - 38) 高橋哲夫：健康および齲蝕象牙質表面の走査電子顕微鏡による観察．*歯科学報* 81 : 839—873, 1981.
 - 39) 一条 尚・山下靖雄・小野 毅・脇田 稔・鈴木駿介・小沢幸重・後藤仁敏：象牙質の基質線維と象牙細管の構造について．*口病誌* 42 : 75—139, 1975.
 - 40) 枝 重夫：歯牙硬組織の増齢的变化．*歯界展望* 56 : 893—903, 1980.
 - 41) 山岡 昭・西村茂宏・田治米保夫・横山邦生・佐川寛典・真下博敏：歯石，歯根面ならびに歯石除去後の歯根面の走査型電子顕微鏡による観察．1．歯石および歯石付着部根面像について．*歯科医学* 34 : 341—350, 1971.
 - 42) 東 昇平・小高鉄男・小林美由紀・井村哲子・中川宏明：歯石がセメント質に及ぼす影響についての組織学的研究．*歯基礎誌* 20 : 669—689, 1978.
 - 43) 森永 太：走査型電子顕微鏡による唾石の微細構造の観察．*口科誌* 29 : 254—267, 1980.
 - 44) 磯川宗七・久保田公雄・下山文輝・世羅 晃・本田 博：Historadiography による象牙細管の変化に関する予備的研究．*日大歯学* 39 : 337—340, 1965.
 - 45) Mjör, I.A. : Histologic studies of human coronal dentine following the insertion of various materials in experimentally prepared cavities. *Archs oral Biol.* 12 : 441—452, 1967.
 - 46) Mjör, I.A. and Furseth, R. : The inorganic phase of calcium hydroxide and corticosteroid-covered dentin studied by electron microscopy. *Archs oral Biol.* 13 : 755—763, 1968.
 - 47) 新井 洋：水酸化カルシウム製剤の窩底象牙質に及ぼす影響について．*歯学* 60 : 490—511, 1972.
 - 48) 真泉平治：臨床歯科薬理学．永末書店，京都，1974，125—155.
 - 49) 堤 真澄：L株細胞に対する銀錫アマルガム合金の影響．*歯科医学* 34 : 765—775, 1971.
 - 50) Spangberg, L., Rodrigues, H. and Langeland, K. : Biologic effects of dental materials. 4. Effect of polycarboxylate cements on Hela cells *in vitro*. *Oral Surg.* 37 : 113—117, 1974.

- 51) 西田堯吉：各種複合レジンの細胞毒性に関する実験的研究 (*in vitro*)．歯科理工学雑誌 16：87—109, 1975.
- 52) 川原春幸・西田堯吉・菱田 稔・磯村寿賀人・三瀬豊胤：コンポジットレジンの細胞刺激性．歯界展望 47：669—676, 1976.