原	著
---	---

覆髄剤に対する無菌飼育ラット臼歯露出歯髄の反応

青 木 豊 明

東京医科歯科大学歯学部第3 歯科保存学教室（指導：砂田今男教授）

（1983年9月26日 受付）

Response of Exposed Pulp to Capping Agents in Germ-free Rat Molars

Toyoaki Aoki

Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

(Director: Prof. Imao Sunada)

The response of the dental pulp to calcium hydroxide or zinc oxide and eugenol cement was investigated histopathologically, using the germ-free and conventional rats. The upper first molar pulp was exposed with a #1/2 round bur through the mesial surface of the teeth and covered with the capping agents. The observation period was 1, 2, 4, 7, 10, 14 and 28 days postoperatively.

The results obtained were as follows:

- 1) In the conventional rats, severe inflammation of the pulp was observed as the result of bacterial contamination throughout the observation period. The response of the pulp itself to the capping agents could not be assessed exactly.
- 2) In the germ-free rat pulp covered with calcium hydroxide, the inflammation was slight and a higher calcified tubular dentin bridge was observed 28 days postoperatively.
- 3) In the germ-free rat pulp covered with zinc oxide and eugenol cement, the inflammation was moderate and a relatively poorly calcified dentin bridge without the dentinal tubules was observed 28 days postoperatively.
- 4) In the germ-free rat whose pulp was left open to the oral environment, the response of the pulp was the mildest of all the experimental groups. The calcification of the dentin bridge of this group was slightly higher than that of the pulp capped with zinc oxide and eugenol cement 28 days postoperatively.
- 5) The presence of the dentin chips weakened the response of the pulp tissue to the agent, but the formation of the dentin bridge was delayed.

I. 緒 言

覆髄剤の歯髄創傷治癒に及ぼす影響を検討するためには、細菌を完全に排除した環境での研究が行われなければならない。しかしながら、従来の方法では、術中、術後を通して常に無菌状態を維持することは困難であり、覆髄剤に対する歯髄の反応を観察する際に、細菌の刺激と薬剤の化学的

刺激の影響を同時にみている可能性が高い。したがって、覆髄剤の薬理作用を純粋に調べるためには、無菌動物を用いた実験がひとつの確実な手段となる。

近年、歯内療法学の分野においても無菌動物を利用した研究が徐々に行われるようになってきている。Takehashi¹⁾、小林²⁾、吉田³⁾は、無菌飼育ラットの臼歯露出歯髄開放創での dentin

bride の形成をみており, Paterson⁴⁾ は Dycal, Ledermix cement, EBA cement を, Watts⁵⁾ は, Silicate cement および Zinc oxide and eugenol cement を直接覆髄剤として無菌飼育ラット臼歯歯髄に応用し, 術後28日経過時の組織変化を観察している。

現在一般には, 水酸化カルシウムと酸化亜鉛ユージオールセメントが覆髄剤として用いられており, 両者を比較した場合, 直接覆髄剤としては, 前者が後者に勝るとされている。しかし, 多くの先人の報告をみると, 細菌の関与を完全に除外したとはいえないものが多い。そこで本実験では, 両覆髄剤の純粋な作用を調べるため, 水酸化カルシウムおよび酸化亜鉛ユージオールセメントに対する, 無菌飼育ラット臼歯歯髄の組織変化を経時的に観察し, 比較検討した。また, 同時に普通飼育ラットについても同様の実験を行った。

II. 実験方法

実験には8～12週齢の Wistar 系無菌飼育ラット (♂) 32匹, および8週齢の Wistar 系普通飼育ラット (♂) 17匹を用いた。無菌飼育ラットの飼育は, マウス・ラット用 No. 10 ビニールアイソレーター (日本クレア社製) 内で行い, 実験は, 手術用 No. 2 ビニールアイソレーター内にラットを移して行った。無菌性の確認は, 日本実験動物研究会の方法⁶⁾ に準じて行った。普通飼育ラットの実験は可及的に無菌的な状態でを行った。

ラットを Nembutal 30mg/kg (I. P.) で麻酔後, 村井のラット臼歯用実験装置⁷⁾ に固定し, 上顎左右第1臼歯を被験歯として #1/2 のラウンドバーにより露髄させ, 覆髄処置を施した。切削は, 咬合圧, 食片圧入の影響を避けるため, 近心面の歯肉縁直上より行い, 実験装置のハンドピース送りネジを1回転させて0.75mm 前進させ, できるだけ均一な形態の露髄面が得られるようにした。露髄面は滅菌水で洗浄し, 滅菌小綿球, 滅菌ペーパーポイントおよび気銃で乾燥させた。その後, 被験薬剤として, 水酸化カルシウム滅菌水 pasta あるいは酸化亜鉛ユージオールセメント (昭和薬品

化工業製) を露髄面に貼付し, 酸化亜鉛ユージオールセメントで窩洞を封鎖した。無菌飼育群では, 一部のものを露髄, 洗浄, 乾燥後, 何も貼付せずに開放創として観察した。

術後1, 2, 4, 7, 10, 14, 28日の各実験期間経過後, Nembutal 過量投与により被験ラットを屠殺した。被験歯を上顎骨ごとに取り出し, 10%中性ホルマリン溶液で固定後, EDTA 溶液 (pH 7.4) で2～3週間脱灰, Quetol-523-M に包埋した。その後, 通法に従い厚さ2～3 μ m の連続切片を作製, ヘマトキシリン・エオジン染色を施し, 露髄部の炎症程度, 変性壊死層の様相, 線維性組織の消長, dentin bridge の形成程度などを中心に病理組織学的変化を観察した。被験歯数, 実験期間については表1に示した。

III. 実験結果

実験群を無菌飼育群と普通飼育群とに分け, それぞれに2種類の覆髄剤を貼付し, 一部は開放創として経時的に組織変化を観察した。その結果, 無菌飼育群と普通飼育群との間, および各薬剤間でかなりの所見の違いが認められた。また, 同一実験群の同一期間経過例であっても, 歯髄の損傷程度, 象牙質削片の分布状態により組織はさまざまな態度を示した。その結果を表2に示し, 各時期の所見を以下に記す。

表1 被 験 歯 数

無 菌 飼 育 ラ ッ ト								
実験処置	実 験 期 間							計
	1日	2日	4日	7日	10日	14日	28日	
Ca (OH) ₂	4	3	3	4	3	3	4	24
Z. O. E.	3	3	4	3	3	3	3	22
open	3	2	3	3	2	2	3	18
普 通 飼 育 ラ ッ ト								
実験処置	実 験 期 間							
	1日	4日	7日	14日	28日			
Ca (OH) ₂	3	3	3	4	4			
Z. O. E.	3	3	3	4	4			

表 2-1 術 後 1 日 の 所 見

実験処置	組織変化	出血, 充血				炎症性細胞浸潤				変性, 壊死				象牙芽細胞の新生機転				D. B. の形成				
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	A	B	C	D
無菌飼育	Ca (OH) ₂ (4 例)			4		1	3			3	1			1	3			4				
	Z. O. E. (3 例)		1	2		1	2			1	2				3			3				
	open (3 例)			3		2	1			1	1	1			3			3				
普育通飼	Ca (OH) ₂ (3 例)			3			3			2	1			1	2			3				
	Z. O. E. (3 例)			1	2			3		2	1			3				3				

出血, 充血, 変性, 壊死

- : 認められないもの

+ : 露髄部に限局したもの

++ : 周囲組織に波及したもの

+++ : 歯髄全体に認められるもの

炎症性細胞浸潤

- : 認められないもの

+ : 露髄部に限局した軽度のもの

++ : 露髄部に限局した中等度のもの

+++ : 広範囲に認められるもの

象牙芽細胞の新生機転

- : 認められないもの

+ : 紡錘形ないし多角形の未分化な細胞が増殖しているもの

++ : 核が歯髄側に偏在した楕円形の細胞が露髄面に垂直に配列しているもの

+++ : dentin bridge 直下に象牙芽細胞が新生されているもの

dentin bridge の形成

- : 認められないもの

A : 象牙質削片を核とした石灰化物が認められるもの

B : 象牙質瘤のつながったもの

C : 細胞, 血管等を封入した石灰化程度の低い硬組織が認められるもの

D : 細管構造を有する dentin bridge が認められるもの

表 2-2 術 後 2 日 の 所 見

実験処置	組織変化	出血, 充血				炎症性細胞浸潤				変性, 壊死				象牙芽細胞の新生機転				D. B. の形成				
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	A	B	C	D
無菌飼育	Ca (OH) ₂ (3 例)			3		2	1			2					3			3				
	Z. O. E. (3 例)		1	2		1	2			1	2			1	2			3				
	open (2 例)		1	1		2				2					2			2				

表 2-3 術 後 4 日 の 所 見

実験処置	組織変化	出血, 充血				炎症性細胞浸潤				変性, 壊死				象牙芽細胞の新生機転				D. B. の形成				
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	A	B	C	D
無菌飼育	Ca (OH) ₂ (3 例)			3		2	1			2	1				3			3				
	Z. O. E. (4 例)		2	2			4			2	1	1			4			4				
	open (3 例)			3		2	1			1	2				3			3				
普育通飼	Ca (OH) ₂ (2 例)			2			1	1		2					2			2				
	Z. O. E. (3 例)			3				3		2	1				3			3				

表2-4 術 後 7 日 の 所 見

実験処置		組織変化		出血, 充血				炎症性細胞浸潤				変性, 壊死				象牙芽細胞の新生機転				D. B. の形成				
				-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	A	B	C	D
無菌飼育	Ca (OH) ₂	(4 例)		1	3			3	1				2	2			3	1			2	2		
	Z. O. E.	(3 例)			3				3				1	2			3				3			
	open	(3 例)			3			3					2	1			3				3			
普通飼育	Ca (OH) ₂	(2 例)			2				1	1				2			2				2			
	Z. O. E.	(3 例)		1	2				1	1	1		1	1	1		1	2			3			

表2-5 術 後 10 日 の 所 見

実験処置		組織変化				出血, 充血				炎症性細胞浸潤				変性, 壊死				象牙芽細胞の新生機転				D. B. の形成														
		—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	A	B	C	D														
無菌飼育	Ca (OH) ₂	(3例)				1				2				3				1				2				1										
	Z. O. E.	(3例)				2								1				2				1				3										
	open	(2例)								1				1				2				1				1				2				1		

表2-6 術 後 14 日 の 所 見

実験処置		組織変化	出血, 充血				炎症性細胞浸潤				変性, 壊死				象牙芽細胞の新生機転				D. B. の形成				
			－	＋	++	卅	－	＋	++	卅	－	＋	++	卅	－	＋	++	卅	－	A	B	C	D
無菌飼育	Ca (OH) ₂	(3 例)		1	2		3				1	2				3				1	2		
	Z. O. E.	(3 例)		2	1		3				1	2				1	2			1	2		
	open	(2 例)			2		2				2					2				1	1		
普通飼育	Ca (OH) ₂	(4 例)		1	3		1	2		1	3	1				1	3			2		2	
	Z. O. E.	(4 例)			4				4		3	1				4				1	2	1	

表2-7 術 後 28 日 の 所 見

実験処置		組織変化				出血, 充血				炎症性細胞浸潤				変性, 壊死				象牙芽細胞の新 生機転				D. B. の形成				
		—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	+	++	+++	—	A	B	C	D
無菌 飼育	Ca (OH) ₂ (4例)			4		4				2	2					1	3								1	3
	Z. O. E. (3例)		1	2		3				1	2					3									3	
	open (3例)			3		3				2	1					1	2						1		2	
普育 飼	Ca (OH) ₂ (4例)			4				1	3		4			3	1			2	2						2	2
	Z. O. E. (3例)			3				2	1		1	2		2	1			1	2						1	2

A. 無菌飼育群

ビニールアイソレーター内で、実験操作にかなりの制約を受けたが、露髄面の形態は予想以上に均一であった。しかし、洗浄が不十分で象牙質削片のみられるものが多く、薬剤が歯髄に接触している部位と削片によって接触が妨げられている部位とでは、組織反応に差がみられた。

1. 水酸化カルシウム貼付例

i) 術後 1 日

薬剤が接触した部位は変性壊死に陥り、細胞外形が不明瞭で、核の染色性低下、基質の線維成分の断裂がみられた。また、壊死組織中には水酸化カルシウムの顆粒が散在し、一部残存歯髄中にも認められた。象牙質削片の周囲の歯髄細胞は、壊死に陥ってはいないが圧迫され変形し、象牙芽細胞は、壊死層に相当する部位で消失しており、核が象牙細管中に吸引されている所見が得られた。残存歯髄は、循環障害が顕著であるが、炎症性細胞浸潤は軽微であり、徐々に正常歯髄へ移行している。

ii) 術後 2 日

象牙質削片はほとんど存在せず、薬剤の接触状態は良好であった。変性壊死層と残存歯髄との境界が明瞭で、ヘマトキシリンに染まる狭い層が観察され、歯髄中には水酸化カルシウムの顆粒および顆粒を含む macrophage がみられたが、炎症性細胞浸潤は軽度であった。歯髄組織の循環障害が著明であり、歯髄細胞より大きな多角形ないしは紡錘形の細胞が存在している。また、この細胞間の線維性基質の密度は高い(図1, 2)。

iii) 術後 4 日

象牙質削片が多いために薬剤と歯髄との接触が不良な例では、充血、出血、線維性組織の増殖以外には著変が認められなかった。薬剤との接触が良好なものでは、広範な壊死層に垂直に紡錘形の細胞が並び、毛細管の新生もみられ、歯髄は修復期に入っているようである。

iv) 術後 7 日

露髄時に取り残された髄角部の歯髄は壊死に陥っていた。薬剤と接触した歯髄表層の壊死層は幅

図1 無菌飼育ラット
水酸化カルシウム貼付例、術後2日
露髄状態を示す

図2 図1の露髄面、強拡大
A: 変性壊死層
B: 未分化な細胞の増殖を伴う歯髄

図3 無菌飼育ラット
水酸化カルシウム貼付例、術後10日
A: 石灰化程度の低い硬組織
B: 象牙芽細胞様の細胞

が狭く、一部脱落しているようである。この部位の直下で石灰化が開始されているのが観察され、主に象牙質削片を核としたものが発達していた。象牙質壁の近辺の石灰化層直下には、とくに核が歯髄側に偏在した橢円形の細胞の配列が認められた。残存歯髄には炎症性細胞浸潤はみられず、充血、出血と線維芽細胞の混在した像が観察された。線維芽細胞はとくに血管の周囲に多くみられた。

v) 術後10日

創面を覆うように硬組織が形成されているのが観察された。石灰化の程度は低く、象牙質瘤と新生象牙質とが癒合したものが多く、被蓋硬組織直下には1～2層の象牙芽細胞を思わせる形態の細胞が配列していた。また、この層が認められない部位では、線維芽細胞が被蓋硬組織に平行に配列していた。既存の象牙質壁に添加された secondary dentin 中の細管は走行が変わっていた(図3)。

vi) 術後14日

Dentin bridge の石灰化は術後10日のものよりやや進行し、創面をほぼ閉鎖していた。歯髄組織の循環障害は依然として存在した。

vii) 術後28日

変性壊死層の直下に象牙細管を伴う dentin bridge が形成され、創面は完全に閉鎖されていた。残存歯髄には充血が残っているが、ほぼ正常に回復していた。石灰化がやや劣っているものでは、直下の歯髄に毛細管の新生が著明であり、線維芽

図5 図4の露髄面、強拡大

A: 変性壊死層
B: 細管構造を有する dentin bridge
C: 象牙質

図6 無菌飼育ラット

酸化亜鉛ユージオールセメント貼付例、術後2日

A: 炎症性細胞浸潤
B: 変性壊死層

図4 無菌飼育ラット
水酸化カルシウム貼付例、術後28日

図7 図6の炎症巣、強拡大
好中球, リンパ球, macrophage がみられる

細胞も多くみられた(図4, 5)。

以上より、水酸化カルシウムに対する歯髄反応は過去の多くの研究業績とおおむね一致しており、炎症性細胞浸潤の少ないのが特徴的であった。

2. 酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例

i) 術後1日

象牙質削片が多く認められ、水酸化カルシウム術後1日例とほぼ同様の所見を呈した。

ii) 術後2日

薬剤に接して変性壊死層や出血巣、充血、炎症性細胞浸潤、薬剤の顆粒および顆粒を取り込んだ macrophage が混在した。この炎症巣を取り囲むように線維性組織の増殖がみられ、また毛細管の新生も観察された。大きな象牙質削片が創面を覆っているものでは、歯髄の反応は穏やかで炎症性細胞浸潤も認められなかった。歯髄が髄角部に取り残されたものでは均一無構造の壊死を起こしていた(図6, 7)。

iii) 術後4日

毛細管の新生、充血が著明である以外、術後2日の所見とほぼ同じであった。

iv) 術後7日

多形核白血球、リンパ球、単球等の炎症性細胞浸潤および充血が術後1～4日のものより顕著であり、毛細管の新生が盛んであった。線維性組織がよく発達しており、歯髄の修復期に入ったと思われる所見を呈していた。歯髄中に石灰化物は認められない(図8)。

v) 術後10日

炎症性細胞浸潤は消退し、象牙質削片を核とした石灰化物が認められるようになった。

vi) 術後14日

細胞や血管を封入した石灰化程度の低い硬組織が形成されているものがあるが、創面は完全には閉鎖されていなかった。また、象牙質壁への secondary dentin の添加により、創面を閉鎖しようとする所見もみられた。残存歯髄は充血が著明で、毛細管の新生、線維芽細胞の増殖が認められるが、炎症性細胞浸潤はみられなかった。

vii) 術後28日

図8 無菌飼育ラット
酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例、術後7日
A: 炎症性細胞浸潤

図9 無菌飼育ラット
酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例、術後28日
細胞、血管等を封入した石灰化程度の低い dentin bridge が観察される

Dentin bridge が発達し、創面が完全に閉鎖されているが、石灰化の程度は低く象牙質管も認められなかった。2～4層の象牙質細胞が新生されており、将来の dentin bridge の成熟が期待できる所見であった。象牙質壁への secondary dentin の添加が顕著であった。残存歯髄には充血が存在するが、線維芽細胞の増殖がおさまリ、正常状態に近くなっていた(図9)。

以上の結果より、酸化亜鉛ユージノールセメン

ト貼付例では、水酸化カルシウム貼付例のような壊死層と残存歯髄とが、明瞭な境界によって区別される所見は認められず、両者が増殖した線維性組織によって隔てられているのが特徴であった。また、水酸化カルシウム貼付例に比べ炎症性細胞浸潤がやや強く、術後28日の dentin bridge の成熟度も劣っていた。

3. 開放例

窩洞内に食片が存在したが圧入はみられなかった。

i) 術後1日

露髄時の機械的刺激の大小により壊死の程度はさまざまであるが、いずれも出血、充血、線維性組織の増殖が認められた。炎症性細胞浸潤はほとんどみられず、徐々に正常歯髄へと移行している。

ii) 術後2日

歯髄表層部は壊死に陥り、直下の歯髄は循環障害が著明であり、象牙質削片、細胞の切削片、紡錘形の細胞等が混在していた。炎症性細胞浸潤は認められなかった(図10, 11)。

iii) 術後4日

損傷された歯髄組織の修復期に入ったと思われる、術後1日および2日の所見に比べると線維性組織の増殖が顕著であり、炎症性細胞浸潤はほとんど認められなかった。象牙質削片が創面を覆っているものでは、歯髄内に出血巣がみられるだけで、おおむね正常像を呈していた。

図10 無菌飼育ラット
開放例、術後2日 露髄状態を示す

図11 図10の露髄面、強拡大
A: 変性壊死層
B: 象牙質削片

図12 無菌飼育ラット
開放例、10日

図13 図12の露髄面、強拡大
A: 石灰化程度の低い新生硬組織
B: 象牙芽細胞様の細胞層
C: 象牙質削片

iv) 術後7日

象牙質削片を核とした石灰化物がみられるようになり、癒合しているものも存在した。Secondary dentin の添加が盛んな象牙質壁の近辺では、線維成分を基質として石灰沈着を起こしたような所見があり、細胞の封入がみられた。残存歯髄中の充血、血管の拡張が著明で周囲には未分化の細胞が多く、新生硬組織の直下には核が歯髄側に偏在した楕円形の細胞がみられるものもあった。炎症性細胞浸潤は認められなかった。

v) 術後10日

術後7日のものより石灰化が進み創面をほぼ覆っていた。既存の象牙質壁に近い部分では3～4層の象牙芽細胞様の長楕円形の細胞を伴った硬組織が形成され、創面中央部の象牙質削片を核とした石灰化物と癒合していた。象牙質削片が少ないものでは細胞、血管等を封入した低石灰化組織が創面を覆っていた。直下の歯髄には、充血、血管の拡張がみられ、線維成分が豊富で毛細管の新生があった(図12, 13)。

vi) 術後14日

線維性組織を基質とした石灰化がみられたが創面の閉鎖は不完全であった。術後10日の所見とほぼ同様であった。

vii) 術後28日

Dentin bridge により創面は閉鎖されていた。形成された dentin bridge には2つの型があった。1つは象牙細管を有するもので、細胞、血管、象牙質削片等が埋入されていた。もう1つは象牙質削片を核としてできた石灰化物が癒合したものであり、象牙細管はみられなかった。いずれも直下に象牙芽細胞様の細胞層を有していた。歯髄には依然、充血がみられたが正常状態に近づきつつあった(図14～16)。

以上の結果をまとめると、開放例では炎症性細胞浸潤が3群中最も軽く、壊死層の範囲も狭く、歯髄の状態も初期の頃は正常に近い所見を呈するのが特徴であった。術後28日で dentin bridge が形成されていたが、象牙質瘤のつながったものと細管構造を有するものの2つの型がみられた。後

図14 無菌飼育ラット
開放例、術後28日

図15 図14の強拡大
象牙細管を有する dentin bridge が観察される

図16 無菌飼育ラット
開放例、術後28日 象牙質削片を核としてできた硬組織の癒合が観察される

者では、水酸化カルシウム貼付例と大差がなかった。食片の圧入は認められなかった。

B. 普通飼育群

1. 水酸化カルシウム貼付例

歯髄反応は、過去の多くの研究報告とほぼ同様であったが、本実験では全体的に幾分強い反応を示した。薬剤に接して無菌飼育群よりも強度で広範な壊死がみられ、直下の歯髄には全期間を通じて炎症性細胞浸潤が顕著であった。循環障害は著明で、術後28日までほとんど同じ状態であった。線維芽細胞の増殖、毛細管の新生は活発でなく、術後14日頃からみられる硬組織の形成は、術後28日経過時でもその石灰化程度が低かった。明瞭な象牙芽細胞の新生は認められず、dentin bridgeによる創面の完全な閉鎖にはまだ時間を要しそうであった。比較的発達したdentin bridgeがみられるものでも、直下の歯髄中には炎症性細胞浸潤が数多く存在した。術後14日例に1例だけ象牙芽細胞を伴ったdentin bridgeが認められたが、その創面は他のものと比較するとかなり小さかった(図17)。

2. 酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例

炎症性細胞浸潤が著明で、経時的に広範囲に波及していく傾向があった。術後4日以降のもので膿瘍の形成もみられた。循環障害は、水酸化カル

シウム貼付例よりも激しく、根尖部歯周組織にも充血がみられたが、これは時間の経過とともに消退した。薬剤に接する部位の壊死は軽度であり、初期には認められないものが多かった。硬組織の形成は術後14日頃よりみられるが、形成量は微量であり、術後28日でやや厚みを増し血管や細胞を封入した所見を呈した。その石灰化程度は極めて低く、創面は閉鎖されず、直下の歯髄には炎症性細胞が数多く観察された。全期間を通じて線維性組織の増殖は緩慢であった(図18)。

C. 各実験群の比較

歯髄にみられる充血は、無菌飼育群においても普通飼育群においても、全実験期間を通じほぼ同程度であったが、普通飼育群の酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例で、根尖歯周組織にまで充血を生じているものが術後1日で3例中2例みられた。

炎症性細胞浸潤は、術後初期の間は無菌飼育群でもみられ、酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例の術後4～7日のものに顕著であったが、開放例にはほとんどみられなかった。いずれも術後10日以降完全に消退した。普通飼育群では、炎症性細胞浸潤は常に無菌飼育群よりも激しく、全実験期間を通じて存在しており、とくに酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例では化膿性のものもみら

図17 普通飼育ラット
水酸化カルシウム貼付例、術後28日
A：広範な壊死層
B：石灰化程度の低い新生硬組織
C：炎症性細胞浸潤

図18 普通飼育ラット
酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例、術後28日
A：炎症性細胞浸潤
B：石灰化程度の低い新生硬組織

れた。

水酸化カルシウム貼付例では、覆髓面直下の変性壊死層は、無菌飼育群、普通飼育群ともに認められ、明瞭に残存歯髄と区別されていたが、他の実験群ではそのような所見はみられなかった。一般に、普通飼育群では、時間の経過とともに周囲組織にまで壊死層が広がる傾向があり、感染を疑わせた。

象牙芽細胞の新生機転についてみると、普通飼育群では著明でなく、炎症の波及をくいとめるための線維性組織の増殖がみられる程度で、象牙芽細胞を思わせる形態のものは術後28日例でも少なかった。核が歯髄側に偏在した楕円形の細胞がみられるのは、無菌飼育群の水酸化カルシウム貼付例で最も早く、術後10日であった。新生象牙芽細胞は、術後28日で無菌飼育群の水酸化カルシウム貼付例および開放例に著明にみられた。

細管構造を有する dentin bridge は、無菌飼育の水酸化カルシウム貼付例術後28日で4例中3例、開放例術後28日で3例中2例認められたが、その成熟度は前者の方が高かった。無菌飼育の酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例でも、創面を閉鎖する dentin bridge が術後28日で3例すべてにみられたが、石灰化程度がやや劣り、細胞や血管を封入したものが目だった。普通飼育群では術後28日経過例でも1例も dentin bridge の形成は認められなかった。比較的発達したもののでも創面を閉鎖するまでには至らなかった。

IV. 考 察

A. 実験方法

露出歯髄に対する覆髓剤の効果を純粋に調べるためには、薬剤以外に歯髄反応に影響を及ぼす因子をできるだけ排除しなければならない。考えられる因子としては、切削時の物理的刺激、歯髄に与える損傷の程度、細菌感染、咬合圧等がある。このうち細菌の影響は無菌動物を利用することで完全に排除できるが、従来の無菌動物による実験の病理組織所見をみると^{1-5,8)}、いずれも切削が過度で、歯冠歯髄が除去されていたり、髓床底の穿

孔を起こしたりしており、歯髄の損傷が激しすぎるようであり、露髓面の切断状態も悪く、かつ一定でなく創傷治癒にかなり影響を及ぼしていると思われる^{9,10)}。

著者の実験方法では、ビニールアイソレーター内での実験処置という制約にもかかわらず、これまでの方法に比べるとかなり均一な露髓面が得られ、仮封材の脱落もほとんどなかった。また、近心面から露髓させたため、咬合圧の影響はないものと思われ、開放創とした実験例においても食片の圧入がみられず、咬合面から露髓させた Kakehashi ら⁴⁾、小林ら²⁾、吉田³⁾の実験に比べ、歯髄反応は穏やかであった。

覆髓剤に対するラット臼歯歯髄の反応は、露髓面の大きさや歯髄に加わる物理的刺激の大小に依存するとされており¹¹⁾、無菌飼育ラットを用い、近心面から均一な露髓をはかった著者の方法は、各実験群間の微妙な差異の検討を可能にし、かつ同一実験群中の個々の実験例における反応の違いが極めて少なく、今回の実験目的にかなり優れた方法といえる。ただし、無菌飼育群では、歯髄創傷面に象牙質削片がみられるものが多く、それが創傷面を覆うように存在するものでは歯髄の反応が比較的穏やかであり、薬剤の作用が歯髄に及びにくいように思われる。今後、無菌飼育群の露髓面の洗浄方法には改良を加える必要がある。

B. 病理組織変化

1. 無菌飼育群と普通飼育群の比較

両群の間で炎症性細胞浸潤の程度にかなりの差がみられた。無菌飼育群では、術後4～7日の酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例で中等度に観察される以外、炎症性細胞浸潤はほとんどみられず、術後28日以降、どちらの薬剤を用いた場合にも dentin bridge を形成し、良好な予後が期待される。普通飼育群の炎症性反応はかなり激しく、とくに酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例では、日ごとに細胞浸潤が広がるようであり、術後28日で dentin bridge の形成はほとんどなく、石灰化程度の低い硬組織形成がみられるものでも直

下に炎症性細胞や壊死が存在し、予後が疑わしく思われる。

普通飼育群だけの組織変化をみれば、そこで生じた反応を薬剤の作用によるものと考えてしまう可能性がある。しかし、無菌飼育群と比較すると、普通飼育群に生じた反応が、薬剤の作用によるよりもむしろ細菌の刺激によるものである可能性が高いことに気がつくであろう。直接覆髄法の成否に感染の有無が大きな要因を占めていることは明らかである。

2. 露髄の位置

本実験では、露髄処置が臼歯近心面の歯肉縁直上で行われた。その結果、歯冠歯髄近心の髄角部が取り残され、循環が阻止されて壊死に陥っている例が実験群を問わずみられた。これまで、髄角部が取り残されたり、露髄部における残存歯髄の幅が狭いような場合、生活歯髄切断法と直接覆髄法のどちらを行うか取り沙汰されてきたが¹²⁻¹⁵⁾、無菌動物を用いた今回の実験では、上記のような原因により予後が左右されることはなく、無菌的条件下では露髄の位置は歯髄の治癒にほとんど影響を及ぼさないものと思われる。

3. 覆髄剤の評価

水酸化カルシウムと酸化亜鉛ユージノールセメントの覆髄剤としての性能に関しては、GlassとZander¹⁶⁾の実験以来、両者の露出歯髄に対する作用が全く異なっていることが報告されており、酸化亜鉛ユージノールセメントによる治療には限界があり、臨床の場では水酸化カルシウムを使用するように提案している。その後、Berger¹⁷⁾、堀川¹⁸⁾は、酸化亜鉛ユージノールセメントを用いると長期にわたり炎症が持続し、起炎性、醗酵性を有していることを報告しており、dentin bridgeの形成については、まず不可能であるとしている。

本実験の無菌飼育ラット水酸化カルシウム貼付例では、炎症性細胞浸潤が軽微であり、術後28日で細管構造を有する dentin bridge を形成するものが多い。無菌飼育ラット 酸化亜鉛 ユージノールセメント 貼付例 では、炎症性細胞浸潤がや

や多いが術後10日で消退し、術後28日でやはり dentin bridge を形成する。しかし、細管構造を有するまでに成熟したものはなく、その前段階の石灰化程度の低い像を呈している。将来この dentin bridge は、水酸化カルシウム 貼付例と同程度に発達していくことは予想されるが、両薬剤間には治癒の速度に差がみられる。その原因のひとつとして、創傷面における初期の組織変化の違いが考えられる。水酸化カルシウム貼付例では反応の初期段階で、生活歯髄と薬剤の刺激により生じた壊死層とを明瞭に区別する境界が出現するが、酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例にはこのような所見はみられず、壊死層と炎症巣が混在し、その直下に、これを取り囲むように線維性組織が増殖している。この場合、水酸化カルシウムによって形成された壊死層が、その直下の歯髄の保護層となり、dentin bridge の形成促進に役立つが、酸化亜鉛ユージノールセメントによって覆髄された場合には、このような壊死層が形成されず、セメント中の一成分ユージノールの刺激が持続的に歯髄に加えられ、dentin bridge の形成が障害されたものと考えられる。

今日、臨床の場において、覆髄剤として両者を比較した場合、一般には、酸化亜鉛ユージノールセメントよりも水酸化カルシウムが優れているとされている。しかし、著者の実験結果からは、酸化亜鉛ユージノールセメントにおいて、貼付後4～7日で炎症性細胞浸潤が多くみられ、dentin bridge の形成速度が遅いこと以外、とくに覆髄剤として不利な点はみられなかった。さらに、酸化亜鉛ユージノールセメントは創傷の保護材であるとされ、鎮静、鎮痛効果を有し優れた操作性、硬化度、封鎖性をも合わせてもつことを考えると、不快症状の発現防止、術後の感染防止という点で水酸化カルシウムより優れているといえる。したがって、細菌感染を招かないように適用すれば酸化亜鉛ユージノールセメントも、直接覆髄剤としての応用価値が高いものと考えられる。

4. 無菌飼育ラット開放例

窩洞内に食片が存在することがあったが圧入は

認められず、したがって、術後に創面に加わった刺激は少ないものと思われる。本実験群の所見は、切削により歯髄に直接加えられた物理的刺激からの組織の回復を単純な形でとらえており、薬剤を貼付しなかった場合の歯髄創傷の自然治癒の過程をみる上での最適なモデルになったと思われる。

本実験群においても、歯髄表層には壊死がみられ、その直下には線維性組織を伴い、歯髄側に向かうに従って徐々に正常組織へと移行しており、炎症性細胞浸潤は3つの実験群のうちで最も少なかった。このことは、壊死層が切削時の物理的刺激だけでも生じることを示しているが、生存組織との間に明瞭な境界をもつような壊死層は、水酸化カルシウムの力を借りなければ形成されないようである。炎症性細胞浸潤がほとんどみられないのは、薬剤の刺激がないためと考えられ、反応初期の歯髄にとって、物理的刺激よりもむしろ薬剤の化学的刺激の方が大きな障害となることがうかがわれる。その後、壊死層下の歯髄は線維性組織の増殖をきたし、そこに石灰沈着を起こすか、あるいは象牙質削片を核とした石灰化物が癒合するかして dentin bridge が形成される。この結果は、歯髄が薬剤を貼付されなくても自然に治癒する能力をもっていることを証明したことになる。しかしながら、水酸化カルシウム貼付例に比べると dentin bridge の形成速度はやや遅いようである。水酸化カルシウムにより生じた壊死層が歯髄の保護層となり、かつ持続性の弱い刺激が象牙形成を促進するためか、あるいは開放創に加えられる食物成分の化学的刺激により象牙質形成が抑制されるのか、その他の原因によるものかは今後の検索にまたねばならない。

5. Dentin bridge の形成

無菌飼育ラットの3群とも、壊死層あるいは炎症巣下に、まず未分化な細胞の増殖をきたし、やがてそれが象牙芽細胞様の細胞へと分化し、術後28日までには、全例に dentin bridge による創面の閉鎖がみられた。その成熟度は、水酸化カルシウム貼付例で最も高く、酸化亜鉛ユージノールセ

メント貼付例と開放例では同程度か、後者がやや勝っているようであった。

水酸化カルシウム貼付例では、壊死層のでき方に特徴があり、Masterton¹⁹⁾, Cotton²⁰⁾, Hørsted¹⁵⁾は、この壊死層が dentin bridge の形成開始に関与していると考えており、市川²¹⁾は、壊死層が組織の増殖を促す物質を含んでいる可能性もあるとしている。一方、Zander と Glass²²⁾ は、壊死層と dentin bridge 形成との間に直接関係はないとし、Schroder²³⁾は、壊死層をむしろ有害因子と考えている。また、Tronstad²⁴⁾ は Dycal を用いた時にこのような壊死層がみられなかったことを報告している。Berk²⁵⁾によると、ヒトの歯では dentin bridge は3カ月以内に完成しそれ以後は変化がなく、dentin bridge が完成した時点で象牙芽細胞の作用は再び刺激をうけるまで停止するとしている。

著者の実験では、dentin bridge の形成速度は明瞭な壊死層が観察される水酸化カルシウム貼付例で最も速く、また象牙質削片が創面を覆うように存在するものでは実験群を問わず治癒がゆるやかに進み、dentin bridge の形成も遅かった。

以上のことから、歯髄が本来有する創傷治癒能力、硬組織形成能力を賦活するためには何らかの刺激が必要であり、水酸化カルシウム貼付例における特異的な壊死層の出現は、その能力が十分に発揮される適度の場合を提供するものと考えられる。

V. 結 論

覆髄剤として一般に使用されている水酸化カルシウム、および酸化亜鉛ユージノールセメントに対する歯髄の反応を、できるだけ純粋に調べる目的で、無菌飼育ラットおよび普通飼育ラットの上顎第1臼歯を用いて病理組織学的検索を行い、以下のような結論を得た。

1) 普通飼育群では歯髄の細菌感染による炎症性反応が激しく、薬剤の作用のみを正確にみているとはいえなかった。

2) 無菌飼育群の水酸化カルシウム貼付例で

は、炎症性細胞浸潤が軽微であり、術後28日で細管構造を有する dentin bridge を形成するものが多く、他の実験群より治癒がはやかった。

3) 無菌飼育群の酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例では、中等度の炎症性細胞浸潤がみられたが、術後10日以降消退し、術後28日で水酸化カルシウム貼付例よりやや石灰化の劣る dentin bridge が形成された。この dentin bridge は細管構造をもたなかった。

4) 無菌飼育群の開放例では、炎症性細胞浸潤がほとんどみられず、術後28日の dentin bridge の形成は、酸化亜鉛ユージノールセメント貼付例とほぼ同じかやや進んでいた。

歯髄には自然治癒能力があり、薬剤を作用させなくても dentin bridge を形成することが再確認された。

5) 象牙質削片が多いと、歯髄の反応は穏やかであり、dentin bridge の形成は遅れた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始ご懇篤なるご指導とご校閲を賜った砂田今男教授に対して、謹んで感謝の意を表します。

また懇切丁寧なご教示を載しました長崎大学歯学部第2歯科保存学教室加藤伊八教授に深く謝意を表します。さらに本研究の遂行に際してご指導ご協力いただきました本学歯学部第3歯科保存学教室小林千尋講師をはじめ教職員各位に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Kakehashi, S., Stanley, H. R. and Fitzgerald, R. J.: The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg.* 20: 340-349, 1965.
- 2) 小林千尋, 吉田治志, 服部 治, 青木豊明, 加藤伊八: 無菌飼育ラットの歯髄創傷の治癒に関する研究(第1報). *日歯保誌* 24: 747-753, 1981.
- 3) 吉田治志: 無菌ラットにおける露出損傷歯髄の組織変化について. *口病誌* 49: 591-602, 1982.
- 4) Paterson, R. C.: Bacterial contamination and the exposed pulp. *Brit. dent. J.* 140: 231-236, 1976.
- 5) Watts, A.: Bacterial contamination and the toxicity of silicate and zinc phosphate cements. *Brit. dent. J.* 146: 7-13, 1979.
- 6) 日本実験動物研究会, 無菌試験の規準に関する委員会: 無菌動物の無菌試験法について. *実験動物* 21: 35-38, 1972.
- 7) 村井正昭: ラット臼歯用新実験装置について. *日歯保誌* 24: 840-850, 1981.
- 8) Kakehashi, S., Stanley, H. R. and Fitzgerald, R. J.: The exposed germ-free pulp: Effects of topical corticosteroid medication and restoration. *Oral Surg.* 27: 60-67, 1969.
- 9) 廣田恵治: 組織溶解剤による歯髄の一部除去を行う生活断髄法の実験的研究. *口病誌* 26: 1588-1603, 1959.
- 10) 須藤智恵子: NaOClを用いて歯髄の一部除去を行った生活断髄法について. *口病誌* 26: 1013-1024, 1959.
- 11) Rowe, A. H. R.: Reaction of the rat molar pulp to various materials. *Brit. dent. J.* 122: 291-300, 1967.
- 12) Stanley, H. R. and Lundy, T.: Dycal therapy for pulp exposures. *Oral Surg.* 34: 818-827, 1972.
- 13) Berk, H., Krakow, A. A. and Stanley, H. R.: Clinical situations in which amputation is preferred to pulp capping because of biologic considerations. *J. A. D. A.* 90: 801-805, 1975.
- 14) Pereira, J. C. and Stanley, H. R.: Pulp capping: influence of the exposure site on pulp healing-histologic and radiographic study in dogs' pulp. *J. Endod.* 7: 213-223, 1981.
- 15) Hørsted, P. and Langeland, K.: Capping of monkey pulps with Dycal and Ca-eugenol cement. *Oral Surg.* 52: 531-553, 1981.
- 16) Glass, R. L. and Zander, H. A.: Pulp healing. *J. D. Res.* 28: 97-107, 1949.
- 17) Berger, J. E.: Pulp tissue reaction to formocresol and zinc oxide-eugenol. *J. Dent. for Child.* 32: 13-28, 1965.
- 18) 堀川栄二: 合着用亜鉛華ユージノールセメントの歯髄保護効果に関する臨床病理学的研究. *日歯保誌* 20: 322-383, 1977.
- 19) Masterton, J. B.: The healing of wounds of the dental pulp. *Dent. Practit.* 19: 325-339, 1966.
- 20) Cotton, W. R.: Bacterial contamination as a factor in healing of pulp exposures. *Oral Surg.* 38: 441-450, 1974.
- 21) 市川 徹: 犬における生活歯髄切断後のDentin Bridge 形成に関する光顕的ならびに電顕的研究. *歯科学報* 76: 1-49, 1976.
- 22) Zander, H. A. and Glass, R. L.: The healing

- of phenolized pulp exposures. Oral Surg. 2: 803-810, 1949.
- 23) Schröder, U.: Effect of an extra-pulpal blood clot on healing following experimental pupotomy and capping with calcium hydroxide. Odont. Revy 24: 257-268. 1973.
- 24) Tronstad, L.: Reaction of exposed pulp to Dycal treatment. Oral Surg. 38: 945-953, 1974.
- 25) Berk, H.: Preservation of the dental pulp in deep seated cavities. J. A. D. A. 54: 226-233, 1957.