原著

Autoradiography による付着部上皮の 細胞代謝に関する実験的研究

遠藤 慶子

大阪大学歯学部口腔治療学教室

(主任 横溝一郎教授)

Autoradiographic studies of the epithelial attachment cells in mice

Keiko ENDO

Department of Oral Medicine, Osaka University Dental School

(Director : Prof. Ichiro YOKOMIZO)

The cell turnover of the epithelial attachment was autoradiographically studied in mice. To keep the enamel as it was, the special method was employed according to Terasaki & Shiota. The investigation was performed, focused on the dynamic aspect of the radioactive index with normal and gingivectomized preparation after the wound was almost recovered in 4 weeks or 7 weeks.

From these the following results were obtained.

- 1) In the normal upper palatal gingiva, the labeled cells were recognized in the apical part 1 hour after the injection for the first time. At 1 day after they were in their maximum and at 10 days no labeled cells were observed. The radioactive indices were 6.22, 14.88, 7.23, 2.34 and 1.00 at 1 hour, 1 day, 3 days, 5 days and 7 days after H^3 -thymidine administration. On the other hand, in the coronal part they were not observed until 3 days after the injection. After 14 days they completely disappeared. The radioactive indices were 0.56, 4.83, 10.71, 14.03, 4.20 and 1.98 at 12 hours, 1 day, 2 days, 3 days, 5 days and 7 days respectively.

From these results it was postulated that the labeled cells migrated from the apical part to the coronal part as it was observed that the epithelial cells did not collapse to the enamel.

In the upper buccal gingiva the values of the respective radioactive index were almost same. The tendencies of the migration of these epithelial attachment cells were not different from those in the upper palatal gingiva.

- 2) In the preparation gingivectomized 4 or 7 weeks before, the same migration pattern was observed as the normal one, furthermore the epithelial cells did not fall into the enamel. In the so-called epithelial attachment the epithelial cells seemed to always be supplied and renewed. The values of the radioactive index were slightly higher in 4 weeks after operation than control, but in 7 weeks those were almost equal with control.

These observations imply that the relation between the enamel and epithelial attachment cells is not in the simple mechanical contact.

緒 言

歯肉の内縁上皮は歯面に対していわゆる上皮付着部を形成する組織であるが、この内縁上皮部は発生学的にはエナメル器に由来する組織とされ、口腔粘膜由来の外縁上皮との性質の差異が論じられている。とくに、上皮付着部は解剖学的には硬組織と軟組織の接触部という特殊性からも、また、臨床的にはこの部が歯周組織の正常性を維持するために重要な役割をなすところであり¹⁻⁵⁾、歯周疾患において最初に障害をうける部位として多大の注目を浴び、数多くの研究が報告されている。

例えば、上皮付着部の構造に関して Gottlieb⁶⁾ が、1921年に内縁上皮とエナメル質は cuticle を介して有機的結合をなしているとし、内縁上皮が歯面と付着するところを Epithelansatz と名付けて以来、その部は上皮付着部と呼ばれて、内縁上皮と歯面との間には、いわゆる有機的結合が存在するという考えが多くの研究者の支持をうけた⁷⁻¹⁴⁾。また一方では、Waerhaug¹⁵⁾ は1952年に薄い金属片を人、猿、犬の歯肉溝のセメント-エナメル境にまで、上皮に亀裂を起すことなく挿入しうることから、Gottlieb の上皮付着説に論駁し、epithelial cuff theory を提唱した。さらに、この部について細胞代謝の面からみると、同部の発生学的由来、その構造、すなわち有機的結合をなすという説とも関連して、内縁上皮部は歯牙萌出後も長期にわたり歯原性の細胞よりなり、また、細胞の新生、代謝もないという考えもある¹⁶⁾。なお一方では、歯牙萌出後は萎縮エナメル上皮は消失して、口腔粘膜由来の組織と置換され、したがって、歯牙萌出直後まで存在していた上皮付着部は失われ、内縁上皮は cuff を形成すると説く人もいる¹⁷⁾。

このように、いわゆる上皮付着部、すなわち、付着部上皮の歯面に対する関係、細胞代謝については見解を異にする多くの報告がなされている。その理由として考えられることは、一つには同部が組織学的に硬組織と軟組織の接触部という特殊性による組織切片作製上の困難性によるのではないかと、また、一つには従来の方法では組織の細胞代謝の動向をよりの確に把握し得なかったのではないと思われる。

そこで著者は、寺崎一塩田氏法¹⁸⁻²⁰⁾により、付着部上皮をエナメル質を含めて薄切し、付着部上皮が組織標本上でエナメル質に接着した状態で検鏡したいと考えた。さらに近年、H³-thymidine を利用した autoradiography により従来より正確に、しかも詳細に、経時的に細胞代

謝の動向を追求しうることから、この方法を用いて細胞を標識して、前述の組織標本上で同時に観察して、つぎのことを検討した。

まず、1) 肉眼的に正常と見做される歯肉の付着部上皮について、分割細胞の数、位置、移動を歯面との関係を含めて、いわゆる有機的結合の支持者により想像された細胞が静的状態にあるかを観察した。

ついで、2) 歯肉切除を行い治癒した後に、付着部上皮が切除前の状態に戻り得るかは、臨床的には重要な問題であり、前述の同部が歯牙萌出後も長期にわたり歯原性の細胞よりなり、また、細胞の新生もないという説をもあわせ検討するために、歯肉切除後略治したと思われる時点での付着部上皮の細胞代謝を検索した。

なお、付言すれば、H³-thymidine を用いた autoradiography^{21,22)} は1960年頃から細胞学にとりいれられ、現在では動的細胞学の中心的な役割をなしているもので、その主役は H³ である。

この H³ は β 線を放射するが、そのエネルギーは平均 5.69KeV と小さく、水中、組織内での平均飛程は約 1μ で²³⁾、感光乳剤膜中では 0.2μ で90%以上の β 線が吸収されるので、その中での飛程はほぼ 0.2μ の解像力をもつといわれる²⁴⁾。したがって、細胞内にとり込まれた H³-thymidine は autoradiogram 上に、非常に高い鮮鋭度を示す核内粒子として認めることができる。一方、thymidine は DNA のみに選択的に^{25,26)}、かつ、DNA 合成期にある細胞に30分～1時間でとり込まれ²⁷⁾、DNA の前駆物質として利用されるものである。しかも、DNA は核中のみ存在し²⁸⁾、また、DNA は組織切片作製中に失われることはない²⁹⁾。この DNA にとり込まれた thymidine は DNA 合成後、他の thymidine と置換されることはなく、細胞が分裂すると、等量の DNA が娘細胞に分配されるが、その radioactive content もまた2分され娘細胞にうつり²⁴⁾、これらの新生細胞のあるものは表面に移動し、残りのものはそこにとどまりさらに分裂し、radioactivity は比例的に減少するが、移動細胞はそれ以上には分裂しない²⁹⁾。このように細胞は一たび標識されると、細胞が破壊され、死んでいかない限り、とり込まれた細胞と運命をともにすることになるのである。さらに、H³ の β 線照射による細胞の放射線障害が考えられないこともないが、その投与量が $1\mu\text{c/gr}$ 以下の場合においては、放射能の影響が全く認められないことが確かめられている。したがって、H³ で label した H³-thymidine を生体に投与すると、その時期にたまたま細胞分割前の DNA 合成期にあるすべての細胞は、そ

の生活機能を障害されることなく H^3 で標識され、しかも組織学的に H^3 -thymidine をとり込んだ細胞を他の細胞から明確に区別し、その位置をも確認することができるのである。

実験材料、ならびに、実験方法

実験 1 正常と見做される付着部上皮の細胞代謝

生後、約 7 週間の Na2/Nishida 系マウス（雄性）60 匹を使用し、尾静脈に H^3 -thymidine $1 \mu\text{C}/\text{gr}$ を静注、その後、1, 6, 12, 24 時間、2, 3, 5, 7, 10, および、14 日後に屠殺。上顎両側臼歯部各々 2 歯を摘出し 10% 中性ホルマリンにて固定後、2% 寒天に包埋し、表 1 に示す寺崎—塩田氏液により脱灰した。脱灰程度は日本ソフテックス社製、Softex-CMR 型 X 線発生装置を用いて検討。すなわち、エナメル質が残存し、しかも薄切可能な時点で脱灰液よりとり出し、通法によりパラフィン包埋した。4 μ の切片標本作製後、脱パラフィンし、オートラジオグラフ用乳剤 NRM₂ を dipping 法により標本に密接させ、乾燥後 4°C にて約 4 週間露出した。露出後、通法により現像、定着し、H-E 重染色を行って検鏡した。

表 1 脱灰液（寺崎—塩田氏液）

2.5% Formic acid in	
10% Formalin solution.....	100ml
Saturated with calcium salts	
Ion exchange resin (IR-120)	25 g

- O — Oral epithelium
D — Downgrowing oral epithelium
A — Epithelial attachment
E — Enamel

図 1 歯肉の模式図

観察は図 1 に示すように、付着部上皮のエナメル質側を、細胞の動向をよりの確に把握するために、歯根尖側部(下部)と、歯冠頂側部(上部)に 2 分し、各部の全細胞数に対する標識細胞数の百分率、すなわち、radioactive index を計算した。なお、核中に顆粒 5 個以上を認めうるものを標識細胞とし、切片上での細胞の重なりのためにか、少数例ではあるが細胞質中に顆粒のみられるものがあつたが、これらは除外した。

実験 2 歯肉切除後 4 週、および、7 週における付着部上皮の細胞代謝

実験 1 に同じく、生後、約 7 週間の同系マウス(雄性) 80 匹を使用し、上顎左右臼歯部各々 2 歯について、内縁上皮部を完全に除去するために口蓋側歯肉を、口腔粘膜を含めて電気メスにて切除した。その 40 匹を 4 週間飼育し、残る 40 匹を 7 週間飼育した後、尾静脈に H^3 -thymidine $1 \mu\text{C}/\text{gr}$ を静注、その後、1, 6, 12, 24 時間、2, 3, 5, 7, 10, および、14 日後に屠殺し、上顎両側臼歯部摘出後の標本作製過程は実験 1 と同様にした。

観察は、歯肉切除を行わない頬側を対照とし、実験側、対照側とも正常歯肉におけると同様に、付着部上皮のエナメル質側を歯根尖側部と歯冠頂側部に 2 分し、各部の radioactive index を計算した。

実験結果

実験 1 正常と見做される付着部上皮の細胞代謝

上顎口蓋側歯肉における H^3 -thymidine で標識された細胞の動向を要約すると、つぎのようであつた。

1 時間後；歯根尖側部にはわずかに標識された細胞が認められ radioactive index は 6.22 だが、歯冠頂側部では全く認められなかった。

6 時間後；歯根尖側部では radioactive index は 9.21 と増加するが、歯冠頂側部にはまだ認められなかった。

12 時間後；歯根尖側部ではさらに標識細胞が増加し、radioactive index は 13.60、歯冠頂側部にもわずかにその出現を認めた。

24 時間後；歯根尖側部での多数の標識細胞が顕著で、index は 14.88 とその極に達し、歯冠頂側部でも 4.83 と増加した。

2 日後；両側部共に標識細胞は数多く認められ、radioactive index は歯根尖側部では 10.62 と減少するが、歯冠頂側部では逆に 10.71 とさらに増加した。

3 日後；歯根尖側部での標識細胞はひきつづき減少傾向にあるが、歯冠頂側部ではなお一そう標識された細胞

が増加し、index は14.03と極に達した。

5日後；歯根尖側部では radioactive index は2.34と減少し、歯冠頂側部でも標識細胞の減少が著明で index は4.20となった。

7日後；歯根尖側部、および、歯冠頂側部のいずれにおいても標識細胞はすっかり減少し、radioactive index は各々1.00、および、1.98であった。

10日後；歯根尖側部では標識細胞は全く認められず、歯冠頂側部でもほとんど認められなくなった。

14日後；両側部共に標識細胞は全く認められなくなった。

以上における上顎口蓋側の radioactive index を表示してみると表2で、図3はそのヒストグラムである。

表2 Radioactive index
上顎口蓋側（正常群）

Time	Epithelial attachment	
	Lower part	Upper part
1 Hour	6.22	0
6	9.21	0
12	13.60	0.56
1 Day	14.88	4.83
2	10.62	10.71
3	7.23	14.03
5	2.34	4.20
7	1.00	1.98
10	0	1.10
14	0	0

図3 表2のヒストグラム

これら全実験期間を通じて、最エナメル質側にも標識細胞がみられ、エナメル質と上皮細胞が密接して存在し

標識顆粒がエナメル質上には全く認められなかった。また、その細胞の形態等からも付着部上皮細胞がエナメル質側に崩壊される像は全く認められなかった。

図2は、上顎口蓋側付着部上皮の標識細胞の時間的推移をあらわしたもので、任意にとり出した10枚の切片標本を、おのおの1枚の模式図上に転写したものである。前述のように標識顆粒は、その細胞が崩壊しない限り運命をともにすること、新生された細胞が胚芽層から移動した後は再び分裂をおこすことはないこと、さらに、歯牙表面に接した細胞が胚芽層の細胞と同じような性格をもち同部で細胞分裂を起す像は極めてまれにしか認められないこと^{30,31)}などの文献を参考にするとともに、本検索で観察された所見、すなわち、エナメル質側に細胞が崩壊しないこと、さらに経時的に下部が減少し、上部が増加し、また下部から上部へとその存在が全く認められなくなることを加えて付着部上皮の細胞代謝を推察すると、細胞の流れが下部から上部に移動することが考えられる。

図2 標識細胞の時間的推移

また、表3は上顎頰側の radioactive index を表示したもので、図4はそのヒストグラムであるが、上皮細胞の移動傾向は上顎口蓋側のものと同じような傾向を示している。

表3 Radioactive index
上顎頰側（正常群）

Time	Epithelial attachment	
	Lower part	Upper part
1 Hour	5.90	0
6	9.38	0
12	13.23	2.01
1 Day	15.06	4.77
2	11.50	9.45
3	8.11	13.92
5	2.72	3.84
7	0.94	1.68
10	0	0
14	0	0

図4 表3のヒストグラム

このように上顎の正常と見做される歯肉においては、頰側、口蓋側とも、下部と上部では radioactive index の推移に時間的ずれ、すなわち、その出現、極値が下部に比し、上部では遅延すること、また両側の各時間における radioactive index の値にほぼ差異のないことが認められた。さらに上記のように全期間を通じて、標識された細胞がエナメル質側に崩壊される像が全く認められなかったことから、マウスにおいて、いわゆる上皮付着部における上皮細胞は静止しているものではなく、常に新生、代謝されており、細胞は歯根尖側部（下部）より歯冠頂側部（上部）へと移動していくものと思われた。

なお、上皮細胞の移動傾向が口蓋側と頰側と同じ点から、実験2においては、歯肉切除を上顎口蓋側に行い、その対照を上顎頰側にとった。

実験2 歯肉切除後4週、および、7週における付着部上皮の細胞代謝

上顎口蓋側歯肉を切除後、4週間飼育し、 H^3 -thymidine $1 \mu\text{c/gr}$ を静注し、所定の時間後に屠殺したものについての所見を述べるとつぎのようである。すなわち、 H^3 -thymidine 投与1時間後には、歯根尖側部でかなりの標識細胞が認められるが、歯冠頂側部では全く認められなかった。

投与後6時間、および、12時間においては、歯根尖側部では標識細胞の増加が認められ、歯冠頂側部でもわずかに認められた。

24時間後、歯根尖側部で非常に多くの標識細胞が見られた。

2日後、歯根尖側部においてはわずかに標識細胞が減少するが、歯冠頂側部では逆に著明な増加が見られた。

表4 Radioactive index
(実験群：歯肉切除4週後)

Time	Epithelial attachment	
	Lower part	Upper part
1 Hour	10.53	0
6	12.36	0.86
12	13.58	2.04
1 Day	14.37	4.02
2	12.02	10.53
3	8.74	13.49
5	4.62	6.98
7	0.71	1.67
10	0	0.31
14	0	0

図5 表4のヒストグラム

3日後、歯冠頂側部で多数の標識細胞が認められた。

5日後、歯根尖側部、歯冠頂側部ともに顕著な標識細胞の減少があり、7日後にはいずれにおいてもほとんど標識細胞は認められなかった。

10日後においては歯根尖側部で、ついで、14日には歯冠頂側部でも全く認められなくなった。

以上、実験側の radioactive index を表4に、そのヒストグラムを図5に記載し、対照側については表5、および、図6に記載した。

なお、実験側、および、対照側ともに、標識細胞がエナメル質側に崩壊される像は認められなかった。

表5 Radioactive index
(対照群)

Time	Epithelial attachment	
	Lower part	Upper part
1 Hour	6.11	0
6	8.39	0
12	13.02	2.36
1 Day	13.37	4.70
2	10.30	7.01
3	6.62	10.85
5	2.41	3.78
7	0.63	2.17
10	0	0
14	0	0

図6 表5のヒストグラム

実験群と対照群の radioactive index を比較すると、実験群の radioactive index は対照に比べ一般にややその値の高いことが認められ、radioactive index の結果からみる限り、歯肉切除後4週間では切除創は完全には安

定していないのではないと思われる。

ついで、歯肉切除7週後における実験結果の radioactive index を表6、および、図7に示し、その対照群を表7、図8に示した。

表6 Radioactive index
(実験群：歯肉切除7週後)

Time	Epithelial attachment	
	Lower part	Upper part
1 Hour	6.21	0
6	9.87	0
12	13.70	1.87
1 Day	15.32	4.80
2	11.04	12.26
3	9.60	12.90
5	2.31	3.78
7	1.13	1.98
10	0	0
14	0	0

図7 表6のヒストグラム

実験側の標識細胞の動向については4週間飼育したものと同じであるが、radioactive index に関しては、実験側、対照側ともにその値が近似しており、このことから推察すると、切除後7週間では治癒がほぼ完了しているものと見做される。また、歯肉切除7週後におけるものにおいても、やはり標識された細胞がエナメル質側に崩壊されることはなかった。これら実験群、対照群とも基本的な細胞代謝の動向が同一であることから、付着部上皮と歯面との接着関係は歯肉切除を行っても基本的に切除前の状態に戻り得るものと考えられる。

表7 Radioactive index
(対照群)

Time	Epithelial attachment	
	Lower part	Upper part
1 Hour	5.35	0
6	9.96	0
12	13.54	2.03
1 Day	14.72	4.76
2	11.64	7.75
3	8.92	14.70
5	2.61	3.05
7	0.37	0.63
10	0	0
14	0	0

図8 表7のヒストグラム

考 察

歯周疾患において最初に冒される部位として歯牙—歯肉境は多大の注目を浴び、今日まで各方面から多くの業績が報告されている。1921年以前は、口腔上皮、および、歯原性上皮は歯牙が萌出すると癒合して連続被覆となり、この最根尖部がセメント—エナメル境で歯牙に付着していると考えられていた³²⁾。ところが、1921年にGottliebはいわゆる上皮付着部の組織学的証明をなし、amelogenesisの完了後、ameloblast, stratum intermedium およびstellate reticulumの崩壊に先だって、ameloblastがprimary enamel cuticleを産生し、これが残遺外エナメル上皮との間に有機的結合をなすとした。この場合に、外エナメル上皮はsecondary cuticleを分泌し、この両cuticleがいわばとけあい角化して構造的に連続してく

るようになるという。なお、Gottliebによると、理想状態では歯肉縁からセメント—エナメル境までの上皮の全長は、このようにして歯牙表面に付着していると説明している。Becks⁷⁾、および、Skillen³³⁾は、残遺エナメル上皮は存続せず変性し、角化してきてacellular secondary cuticleをつくるが、これがprimary cuticleと有機的に結合しているといい、Gottliebとは少し異なった見解を示した。また、Baume^{9, 10)}は、両組織間の構造的連続の仲介物としてのsecondary cuticleの概念に反対し、口腔上皮からおこってくる新生上皮がtonofibrilによってprimary cuticleに付着しているという見解をとり、また、Cohen³⁴⁾は、歯頸部上皮とエナメル質の間に、enamel lamellaに似ている細胞突起物が、時に存在することを証明した。

一方、1952年 Waerhaug はエナメル質に対する有機的上皮付着の存在を否定し、緒言で述べたように、正常歯肉溝の底はセメント—エナメル境にあることを実証して、歯牙に隣接する上皮をtightly adapted cuffとし、歯牙から容易に剝し得ることを明らかにし、epithelial cuff theoryとして^{15, 35, 36)}有力な支持を得た。

ところで autoradiography を利用して、正常と見做される歯肉について Greulich は、歯牙と上皮間には何ら堅固な付着は存在しないと、上皮付着部の細胞は、coronallyに移動するものとし³⁷⁾、Beagrie & Skougaard も同様の実験をなし、上皮付着部では細胞移動は根尖付近では水平で、残りのところでは垂直もしくは斜めの方に起こるのではないかと推測している³⁸⁾。また、柴田は、慢性辺縁性歯肉炎における歯肉上皮の細胞代謝について、正常時と炎症時での各部のradioactive indexを検討し、epithelial attachmentにおける細胞の移動についても推測して、downgrowing oral epitheliumの角質層に向うもの、中間層より歯肉の自由縁、または歯肉溝の方向に移動するもの、さらにエナメル質表面に向うものがあるというように言及している³⁹⁾。これらの付着部上皮の細胞代謝に関する研究は、いずれもすべて切片作製過程で、エナメル質を全脱灰している盲点をもっていた。そこで著者は、エナメル質の原形を保った上で、これと付着部上皮の連絡したより自然な状態における標本においてこそ、同部の細胞の動きを正確に把握する基本的条件であろうと考えて、脱灰液に寺崎—塩田氏液を用いて標本製作した。

この脱灰液は表1の内容物で、固定剤を混入しているので、組織を固定しながら脱灰を進め(fix-as-you-go)、また、歯牙無機主成分である磷酸カルシウムを含み、こ

の飽和液に少量のカチオン交換樹脂を加えて、飽和状態を少しずつ破りながら緩徐に脱灰していくものであるが、さらに、この方法はあらかじめコロイド物質（2% 寒天）で標本を被包し、低温にて徐々に脱灰させるという綿密な脱灰方法である。

さて、得られた標本では、エナメル質と付着部上皮は緊密に接着し、エナメル質に接した上皮細胞は角化も変性もしておらず、 H^3 -thymidine 投与後の所定の時間には、エナメル質に接触したところにも標識細胞が認められた。

このことと、著者が付着部上皮のエナメル質側を歯根尖側部と歯冠頂側部に2分し、歯根尖側部でまず標識細胞が多くなり極大値に達し、減少しだす時期において、歯冠頂側部で極大となり、歯根尖側部の流れを追うように減少することは、やはり付着部上皮の細胞は coronally に移動していくことを、実証しえたと考えられる。

ひるがえって、autoradiography による本研究の結果は、いわゆる有機的結合の多くの支持者、Baume^{9,10}、Orban¹³によって想像されたような細胞間の静的関係にまさに反論するものであり、この部の細胞が障害をうけると、同部は修復し得ないという Cohen²⁴の結論に反して、組織はそれらをおきかえる力を持つということを示している。さらに autoradiography による細胞代謝に関する Beagrie & Skougaard³⁸、Engler⁴⁰の研究は、上皮細胞と歯牙表面との間には attachment は存在しないという Waerhaug の結論を支持するのに使われ、急速な代謝をうけている上皮は付着することができないとも論ぜられている。しかし、autoradiography のみをしては歯肉の内縁上皮が歯面と有機的に連繫しているのか、または、単に同部の細胞は Waerhaug の考えるように機械的に接触しているにすぎないのか、否かについては、本検索でエナメル質を残した上での標本では、標識された細胞がエナメル質側に崩壊されなかったことと、付着部上皮がエナメル質と常に緊密な接触関係にあったことからみると、何らかの接着機構があるのではないかと考えられるが、上記関係はにわかに判断できないところでもある。よって、電子顕微鏡による報告や、いわゆる付着物質に関する組織化学的な報告を参考にしてこの関係を按じてみたい。

電顕的には、Stern⁴¹はrat切歯にて、Listgartenは人における未萌出の歯牙、および、萌出歯牙において^{42,43}退化エナメル芽細胞とエナメル質表面間に hemidesmosome と basement lamina とを実証し、これが両者間の attachment を構成するものとし、このものは上皮と結合

組織間にみられる付着機構に似ていると述べている。

ところで Stallard, Diab & Zander⁴⁴ は、エナメル質と上皮間に、上皮細胞によって産生される付着物質が存在することを C.H マウスにて、 H^3 -proline を注入して実証し、この物質は4~8日で置換され、その蓄積物は secondary dental cuticle の一部をなすと結論している。こうした物質については、Toto & Sicher⁴⁵ はマウス、および、ラットの歯肉において、crevicular epithelium ならびに epithelial attachment は diastase-and-hyaluronidase-resistant, water-insoluble の中性粘液多糖類を含有し、basement membrane, intercellular area および、epithelial attachment は同じ染色性をもつ粘液多糖類を含むが、細胞表面は酸性粘液多糖類を組織化学的に実証している。なお、全上皮細胞はお互に結合する中性粘液多糖類中に埋まっており、付着部上皮によって産生された多糖類は歯牙に対して、上皮が付着するための接着剤として役立つと述べている。また、Powell⁴⁶は、牛上顎中切歯のエナメル質ブロック上に HeLa cell を incubate すると、ブロック表面上に monolayer culture が形成されることを実証し、Mlinek & Powell⁴⁷は、同様に牛中切歯のエナメル質ブロック上に、Syrian Baby Hamster kidney cell (BHK₂₁) を incubate し、BHK₂₁ cell がエナメル質表面に付着し、monolayer を形成し、同時に彼等は脱灰切片標本で、エナメル質表面に pellicle を認め、これに細胞が付着することを報告している。このように現在では、エナメル質と付着部上皮細胞の間に、これら何らかの粘液多糖類様の粘着物質が介在することを明らかにしている。

さて、上記のような文献を参考として、これに本検索の結果を併せて考えると、上皮付着部における上皮細胞と歯面との関係は、両者の間に何等かの物質による接着機構を介して、上皮細胞は歯面に有機的連繫を保ちつつ移動している状態が推察されるので、付着部上皮と歯面との関係は、歯面に対して上皮細胞は、いうならば流動的付着の状態にあるものと考えられる。

ひるがえって、付着部上皮を外科的に除去した後においても、上記のようなエナメル質との付着関係は回復するものであろうか。両者間の粘液多糖類様物質については、Cimasoni, Fiore-Donno & Held⁴⁸ が flap operation および reposition 後に、artificial dentinal groove に再付着した歯肉上皮の insertion zone に沿って、PAS, Alcian および Hale(+)物質を組織化学的に実証し、粘液多糖類が外科的処置後、epithelial human reattachment の actual structure に寄与するものであると結論づけて

いる。一方、電顕により Listgarten⁴⁹⁾ は猿において、乳歯第一臼歯の歯肉切除後2カ月、4カ月の時点で、hemidesmosome および basement lamina よりなる新生した上皮付着部を実証し、Innes⁵⁰⁾ は犬において、歯肉切除後の再生の模様を光顕、および、電顕で観察した。

本検索からは、付着部上皮の細胞の動向が切除前と全く同様の所見であって、標識された細胞がエナメル質側へ崩壊される所見のないこと、また、エナメル質との接着関係ももとのように緊密であったことから考えあわせると、歯肉切除後においても、歯肉上皮と歯面との関係は術前の形態のように復元されるものと考えられる。このことと、Fish⁵¹⁾ がきつ歯類において、歯牙萌出の際、歯原性上皮と口腔上皮との流れるような癒合により、きつ歯類独特の図1にみられる付着部上皮となると述べていることから推察すると、歯牙萌出後ある期間がすぎれば、内縁上皮はすでに歯原性の細胞から口腔粘膜由来の細胞へと置換されているのではなかろうかとも考えられる。

結 論

上皮付着部の細胞代謝を検べる目的で、エナメル質を残存させ、正常と見做される歯肉と、歯肉切除を行い略治したと思われるものについて autoradiography によって検討したところ、つぎのような結果を得た。

1) 正常と見做される歯肉の上皮付着部における上皮細胞では、radioactive index は H^3 -thymidine 投与後、歯根尖側部で1日目に、歯冠頂側部で3日目に極に達し index の変動からみて、標識細胞は歯根尖側部から歯冠頂側部へと移動するが、細胞はエナメル質側に崩壊することはなかった。

2) 切除後4週、および、7週においても、細胞代謝の動向は正常と見做される歯肉のものと同じ傾向で、いわゆる上皮付着部では上皮細胞は常に新生、代謝されている所見を示した。radioactive index においては、歯肉切除4週後ではやや対照より高いものの、切除7週後においては対照とほぼ差異のない値を示した。

以上の結果から、すなわち、正常と見做される歯肉群、および、歯肉切除群の上皮付着部における上皮細胞の細胞代謝は下部から起って、上部へと推移していくこと。エナメル質側に標識された細胞の崩壊像がみられないこと。これらのこと、上記の諸文献の成績とから総合判断すると、本検索でみられた所見は、エナメル質と付着部上皮との関係が、単に機械的に接触しているものではないことを示唆する一つの所見のように思われる。

稿を終るに臨み、終始ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜わった横溝一郎教授に深厚なる謝意を表するとともに、ご助言、ご教示にあずかった金沢医科大学山本明雄教授、ならびに、本学口腔病理学教室寺崎太郎教授に深謝の意を表します。なお、この研究に際し、種々ご協力下さった口腔治療学教室および口腔病理学教室の諸先生に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 美濃口玄、横溝一郎、小野尊睦、永井司郎、竹之内秀男、南清治、松井昌、天野義彦、青野正男：歯槽膿漏症の成因に関する研究。文部省科学研究費による「歯槽膿漏症の研究」班研究報告書。48-53, 1955.
- 2) Gargiulo, A. W., Wentz, F. M. and Orban, B.: Dimensions and relations of the dentogingival junction in humans. J. Periodontol. 32, 261-267, 1961.
- 3) 秋吉正豊：歯周疾患とは。歯界展望 26, 483-502, 1965.
- 4) 横溝一郎：歯槽膿漏症の治癒を臨床の場で判断するための一つの考え。日本歯槽膿漏学会会誌 8, 3-15, 1966.
- 5) Glickman, I.: Clinical periodontology. ed. 3, Philadelphia, 1964, W. B. Saunders Co., 188-194.
- 6) Gottlieb, B.: Der Epithelansatz am Zahne. Dtsch. Mschr. Zahnheilk. 39, 142-147, 1921.
- 7) Becks, H.: Normal and pathological pocket formation. J. Amer. Dent. Ass. 16, 2167-2188, 1929.
- 8) Toller, J. R.: The organic continuity of the dentine, the enamel and the epithelial attachment in dogs. Brit. Dent. J. 67, 443-449, 1939.
- 9) Baume, J.: Observations concerning the histogenesis of the epithelial attachment. J. Periodontol. 23, 71-84, 1952.
- 10) Baume, J.: The structure of the epithelial attachment revealed by phasecontrast microscopy. J. Periodontol. 24, 99-110, 1953.
- 11) Macapanpan, L. C.: Union of the enamel and gingival epithelium. J. Periodontol. 25, 243-245, 1954.
- 12) Ussing, M. J.: The development of the epithelial attachment. Acta Odontol. Scand. 13, 123-154, 1955.
- 13) Orban, B. J., Bhaite, H., Kollar, J. A. and Wentz, F. M.: The epithelial attachment. J. Periodontol. 27, 167-180, 1956.

- 14) Weinreb, M. M. : The epithelial attachment. *J. Periodontol.* 31, 186-196, 1960.
- 15) Waerhaug, J. : The gingival pocket. *Odontol. Tidskr.* 60 Suppl. 1, 5-186, 1952.
- 16) 藤田恒太郎 : 歯の組織学. 6版, 東京, 1964, 医歯薬出版株式会社, 170-190.
- 17) McHugh, W. D. : The development of the gingival epithelium in the monkey. *Dent. Pract.* 11, 314-324, 1961.
- 18) 寺崎太郎, 塩田研次 : 成熟した人類歯牙エナメル質の脱灰薄切法. *日本口腔科学会雑誌* 6, 424-430, 1957.
- 19) 塩田研次, 玉村維康, 伊集院直邦, 石田 武, 志築照和, 宮田光男 : 成熟エナメル質の脱灰切片作製に関する一改良法. *歯基礎誌*, 10(4), 149-155, 1969.
- 20) 塩田研次 : エナメル質脱灰切片の作り方. *歯界展望* 33, 739-747, 1969.
- 21) Cronkite, E. P., Bond, V. P., Flidner, T. M. and Rubini, J. R. : The use of tritiated thymidine in the study of DNA synthesis and cell turnover in hemopoietic tissues. *Lab. Invest.* 8, 263-277, 1959.
- 22) Messier, B. and Leblond, C. P. : Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine- H^3 into male rats and mice. *Amer. J. Anat.* 106, 247-285, 1960.
- 23) Robertson, J. S. and Hughes, W. L. : Intra-nuclear irradiation with tritium-labeled thymidine. *Trans. First Nat. Conf. Biophys.* 1958.
- 24) Taylor, J. H., Woods, P. S. and Hughes, W. L. : The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 43, 122-128, 1957.
- 25) Reichard, P. and Estborn, B. : Utilization of desoxyribosides in the synthesis of polynucleotides. *J. Biol. Chem.* 188, 839-846, 1951.
- 26) Amano, M., Messier, B. and Leblond, C. P. : Specificity of labelled thymidine as a deoxyribonucleic acid precursor in radioautography. *J. Histochem. Cytochem.* 7, 153-155, 1959.
- 27) Stohman, F., Jr. : Kinetics of cellular proliferation. New York, 1959, Grune and Stratton, 135.
- 28) Cantarow, A. and Schepartz, B. : Biochemistry. ed. 3, Philadelphia, 1962, W. B. Saunders Co., 594-619.
- 29) Lison, L. : *Histochimie et cytochimie animales*. Paris, 1953, Ed. Gauthier-Villars, 53.
- 30) McHugh, W. D. : The development of the gingival epithelium in the monkey. *Dent. Pract.* 11, 314-324, 1961.
- 31) McHugh, W. D. and Zander, H. : Cell division in the periodontium of developing and erupted teeth. *Dent. Pract.* 15, 451-457, 1965.
- 32) Black, G. V. : *Special dental pathology*. Chicago, 1915, Medico-Dental Publishing Co, 17.
- 33) Skillen, W. G. : A contribution to the anatomy and pathology of the human gingiva. *J. Dent. Res.* 11, 727-744, 1931.
- 34) Cohen, B. : A study of the periodontal epithelium. *Brit. Dent. J.* 112, 55-68, 1962.
- 35) Waerhaug, J. : Current concepts concerning gingival anatomy. *Dent. Clin. N. Amer.* 715-722, 1960.
- 36) Schultz-Hautd, S. D., Waerhaug, J., From, S. H. and Attramadal, A. : On the nature of contact between the gingival epithelium and the tooth enamel surface. *Periodontics* 1. 103-108, 1963.
- 37) Greulich, R. C. : Cell proliferation and migration in the epithelial attachment collar of the mouse molar. *Int. Ass. Dent. Res.* 40, 80, 1962.
- 38) Beagrie, G. S. and Skougard, M. R. : Observations on the life cycle of the gingival epithelial cells of mice as revealed by autoradiography. *Acta Odontol. Scand.* 20, 15-31, 1962.
- 39) 柴田昌治 : 実験的に惹起した慢性辺縁性歯肉炎における歯肉上皮の細胞代謝に関する研究. *日本歯周病学会誌* 12, 10-18, 1970.
- 40) Engler, W. O., Ramfjord, S. P. and Hiniker, J. J. : Development of epithelial attachment and gingival sulcus in rhesus monkeys. *J. Periodontol.* 36, 44-57, 1965.
- 41) Stern, I. B. : The fine structure of the ameloblast-enamel junction in rat incisors ; Epithelial attachment and cuticular membrane. *Electron Microscopy Fifth International Congress.* 2, QQ-6, 1962.
- 42) Listgarten, M. A. : Phase-contrast and electron microscopic study of the junction between reduced enamel epithelium and enamel in unerupted human teeth. *Arch. Oral Biol.* 11, 999-1016, 1966.

- 43) Listgarten, M. A. : Electron microscopic study of the gingivo-dental junction of man. J. Anat. 119, 147-177, 1966.
- 44) Stallard, R. E., Diab, M. A. and Zander, H. A. : The attaching substance between enamel and epithelium -a product of the epithelial cells. J. Periodontol. 36, 130-132, 1965.
- 45) Toto, P. D. and Sicher, H. : Mucopolysaccharides in the epithelial attachment. J. Dent. Res. 44, 451, 1965.
- 46) Powell, R. N. : The attachment of the HeLa cells to enamel. Dent. Pract. 18, 393-396, 1968.
- 47) Mlinek, A. and Powell, R. N. : Attachment of cells cultured in vitro to enamel. J. Periodontol. 41, 320-324, 1970.
- 48) Cimasoni, G., Fiore-Donno, G. and Held, A. -J. : Mucopolysaccharides in human epithelial re-attachment. Helv. Odontol. Acta 7, 60-67, 1963.
- 49) Listgarten, M. A. : Electron microscopic features of the newly formed epithelial attachment after gingival surgery. J. Periodont. Res. 2, 46-52, 1967.
- 50) Innes, P. B. : An electron microscopic study of the regeneration of gingival epithelium following gingivectomy in the dog. J. Periodont. Res. 5, 196-204, 1970.
- 51) Fish, E. W. : Surgical pathology of the mouth. London, 1951, J. B. Lippincott Co., 1-11.

図9 正常口蓋側歯肉の顕微鏡所見

- 1) H^3 -thymidine 投与1時間後の歯肉. ($\times 200$)
 - 1-a) 同上の歯根尖側部(下部).
明らかな標識細胞が認められる. ($\times 1000$)
 - 1-b) 同上の歯冠頂側部(上部).
標識細胞は全く認められない. ($\times 1000$)
- 2-a) H^3 -thymidine 投与1日後の歯根尖側部.
多くの標識細胞がみられる. ($\times 1000$)
- 2-b) 同上の歯冠頂側部.
標識細胞の出現がみられる. ($\times 1000$)
- 3-a) H^3 -thymidine 投与3日後の歯根尖側部.
標識細胞は減少している. ($\times 1000$)
- 3-b) 同上の歯冠頂側部.
標識細胞が多くなっている. ($\times 1000$)
- 4-a) H^3 -thymidine 投与10日後の歯根尖側部.
標識細胞は認められない. ($\times 1000$)
- 4-b) 同上の歯冠頂側部.
わずかに標識細胞が認められる. ($\times 1000$)