歯肉剝離搔爬手術後の付着様式におよぼす 歯根表面粗さの影響

第1報 臨床的, 病理組織学的観察

本郷 興人 藤保 芳博 菅野 寿一*

石川 純 加藤 熙

北海道大学歯学部歯科保存学第2講座

(主任: 加藤 熙教授)

*北海道銀行医務室歯科

(昭和62年9月18日受付)

The Effect of Root Surface Roughness on Periodontal Reattachment in Monkeys

Part I Clinical and Histopathological Observation

Okito HONGO, Yoshihiro FUJIYASU, Toshikazu SUGANO*,
Jun ISHIKAWA and Hiroshi KATO

Department of Periodontology, Hokkaido University School of Dentistry

(Chief: Prof. Hiroshi KATO)

*Dental Clinic, Hokkaido Bank

The present investigation was to examine the effect of root surface roughness on periodontal reattachment after flap operation.

Four adult monkeys (*Macaca Irus*) with normal dentition were employed and their 88 buccal root surface of posterior teeth were used.

Before flap operation, each monkeys received professional tooth cleaning in order to establish healthy periodontium.

Full thickness gingival flaps were raised and buccal alveolar bony plates over the roots were removed 2 mm horizontally and 3 mm vertically. Then all exposed cementum was removed and roots were thoroughly planed until they were felt smooth to an explorer. Among 88 roots, 44 were made rough with ultrasonic

scaler and hand made tip (Rough group), and the rest were left as it is (Smooth group).

1, 2, 4, 8 weeks after surgery, the monkeys were sacrificed and examined histopathologically.

The results were as follows,

1. In the experimental period, there was no significant difference in clinical parameters (PL, I. G.I., Probing Depth, Probing Attachment Level) between two groups.

2. In the histopathological observation, there was no remarkable difference of epithelial migration between two groups. In both groups, new cementum formation was observed from 2 weeks after surgery. The cementum formation was thickest in the most apical portion, but in rough group, newly formed

cementum was observed not only in the most apical portion but also at a more coronal level in comparison to the smooth group. It was mainly located in the indentation of the rough surface and rough surface

turned smooth. Bone regeneration was observed from 4 weeks after surgery and there was no obvious difference between two groups.

Key words : Reattachment after flap operation, Root surface roughness, New cementum, Apical migration of epithelium, Bone regeneration

要旨 : 歯根の表面粗さが Flap operation 後の付着様式におよぼす影響を観察するために、サル4頭の上下顎臼歯頰側根頰側面 88 部位を用いて実験を行った。歯肉弁を剥離して一定範囲の骨を削除し、根面上のセメント質を完全に除去した後、滑沢に Root planing する滑沢群と、粗造化する粗造群とに分けた。実験計画を観察期間が 1, 2, 4, 8 週となるように組み、臨床診査を行い、sacrifice 後病理組織学的に観察した。その結果、

1. 臨床的計測値 (PL. I., G.I., Probing Depth, Probing Attachment Level) は、実験期間を通じて両群間に有意な差はなかった。

2. 病理組織学的観察では、上皮の根尖側移動は両群間に明確な差はなかった。新生セメント質は、両群とも術後2週から観察され、実験部位の最根尖側で最も厚かったが、粗造群では歯冠側寄りの粗造面の凹部にも形成され、根面を平滑化していた。なお、骨再生は術後4週から生じたが、両群間の差は明確ではなかった。

索引用語 : Flap operation 後の再付着、歯根の表面粗さ、新生セメント質、上皮の根尖側移動、骨再生

緒 言

歯肉剥離搔爬手術 (フラップオペレーション) は、慢性辺縁性歯周炎にみられる深い歯周ポケットを再付着によって改善することを目的として、広く臨床の場で行われる歯周外科処置である。

しかし、多くの研究が示すように、その術後の治癒形態は、長い上皮性付着¹⁾によるものがほとんどであり、生体に本来みられるようなセメント質を伴う線維性の付着機構が回復されるのは、根尖側付近のごく一部に限られている²⁻⁴⁾。上皮性付着による治癒であっても、プラークコントロールが適切に行われれば付着は維持されることが考えられるが、炎症に対する抵抗性、歯の支持の点から線維性付着を回復することが望ましい。従来、フラップオペレーションに際しては、根面から壊死セメント質を除去し、できるだけ滑沢にルートプレーニングすることが再付着のために有利であるとされてきたが^{5,6)}、それらは臨床観察に基づく見解であり、実験的に証明されていない。Squier ら (1981)⁷⁾ は、いろいろなポアサイズのミリポアフィルターを皮下に挿入して行った実験で、粗造な面では上皮が増殖しにくく、結合組織性付着が生じやすいことを報告し、また Morris (1969)⁸⁾ はノッチをつけた歯根と骨髓をラットの腹部皮下に移植した実験で、根面に形成したノッチ内で骨形成が起りやす

いと報告している。これらのことから、フラップオペレーションを行った場合においても、歯根の表面粗さが術後の治癒に影響をおよぼす可能性が考えられる。

本実験は、セメント質を取り除いたあとの歯根の表面粗さが、フラップオペレーション後の治癒形態、とくにセメント質の新生を伴う線維性再付着におよぼす影響を明らかにする目的で行った。

実験材料と方法

1. 実験動物

実験には、全身所見、口腔内所見ともに異常のない雄のカニクイザル4頭を用いた。4頭は、いずれも正常な永久歯列を有する成猿であり、その体重は 5.9~8.3 kg であった。また、これらの動物は、1頭ずつケージに入れて飼育した。

2. 実験方法と期間

実験方法と期間を図1に示した。実験期間は、12週間とし、準備期間、外科処置、観察期間の順で行った。

1) 準備期間

手術部位の実験条件を同一にし、術後の良好な治癒を得るためには、術前にできるだけ健康な歯周組織を確認することが必要と考え、術前4週間の準備期間を設けた。この期間は、2日に1度の割合でケタラール 50 (三共株式会社製) 0.2~0.6 ml/kg 筋肉内注射による全身麻酔下

図1 実験方法と期間

Ope.: Flap operation

サルA	8wks.	4wks.	サルB	1wk.	2wks.
	8wks.	4wks.		1wk.	2wks.
サルC	2wks.	8wks.	サルD	4wks.	1wk.
	2wks.	8wks.		4wks.	1wk.

図2 被験部位

で、ブラッシングによる機械的清掃と、0.2% クロルヘキシジン（住友化学社製ヒビテン）による化学的清掃⁹⁾を行った。さらに必要に応じて、フロッシングとスケーリングを行った。この期間の飼料は、ハードフードとし、サル用固形飼料（日本クレア社製）と生野菜を与えた。なお、この期間における口腔清掃状態は、後述する臨床診査によって確認した。

2) 外科処置

外科処置は、準備期間が終了して健康な歯周組織の確立を確認した時点（0週）として、0週、4週、6週、7週で行い、術後1週、2週、4週、8週の試料が得られるようにした（図1）。さらに、個体による偏りを少なくするために、各時期の試料をそれぞれ2頭の動物から得られるようにした。すなわち、各動物の口腔を左右に分け、片側の上下顎を1単位として、左右が異った術後経過日数となるようにスケジュールを組んだ（図2）。

手術には、上下顎小臼歯、 P_1 P_2 $\overline{P}_2$ および上下顎大臼歯 M_1 M_2 の頬側根の頬側面を用い（図3）、4頭の実験部位の合計は、88部位である。手術は、ケタラール 50 0.2~0.6 ml/kg 筋肉内注射による全身麻酔下で行ない、

D7	M7	D6	M6	5	4	4	5	6M	6D	7M	7D
D7	M7	D6	M6	5			5	6M	6D	7M	7D

図3 被験歯根面

図4 Flap operation 時写真

根面上の歯槽骨を削除したところ。S—滑沢群、R—粗造群。

局所麻酔剤として2% キシロカイン・エピネフリン（藤沢社製）浸潤麻酔を併用した。手術に先立って、被験歯根面の辺縁歯肉の高さの歯面に窩洞形成を行ない、アマルガム充填を施して臨床的計測の基準点とした。歯肉溝切開後、歯肉骨膜弁を剝離して歯槽骨を露出し、歯肉線維の付着していた骨縁上の根面からキュレット型スケーラーを用いて軟組織とセメント質をすべて取り除いた。

次に病理組織学的観察の基準点の1つとして、骨頂の高さの根面に #1/4 のラウンドバーを用いて、ノッチ N_1 を付与した。その後、歯科用チゼルを用いて歯根面上の骨を縦 3mm 横 2mm の範囲で剝離除去して歯根を露出させた。次にホー型スケーラーとチゼルを用いて、露出した歯根面から歯根膜線維とセメント質を完全に除去して象牙質を露出させた後、すべての根面をホー型スケーラーとチゼルを用いて滑沢にルートプレーニングした。

次に被験歯根面を滑沢群と粗造群の2群に分けた。滑沢群は滑沢にルートプレーニングしたままの根面とし、粗造群は滑沢化したのち以下に述べる方法で粗造化した根面として、それぞれ1歯根おきに設定した（図4）。歯根面の滑沢化と粗造化を行なったのち、第2の組織学的観察の基準点として、骨削除後の骨レベルの根面にノッチ N_2 を付与した。生理食塩水で十分洗浄した後、歯肉弁辺縁を元の位置にもどし、歯間部で単純結紮法を行ない、2~3分間、手指で圧迫した。また、術後の創面の保護、ヘアーインパクション（サルが自分の体毛を抜いて咬むことによって、創面にその毛が圧入されること）の防止および、歯肉弁の根面への密着を図るため、手術部位に模型上でエルコプレスと 0.5mm 厚エルコデュール（西

図 5 根面の粗造化に用いた ENAC および作製したチップ

独エルコデント社製)を用いて作製しておいたシーネを装着した。なお、シーネは、第3大臼歯咬合面と犬歯遠心面に形成した窩洞に即時重合レジンで充填してシーネと接着させる事により固定した。

3) 歯根面の粗造化とその観察

歯根面の粗造化は、この実験のために作製した特殊なチップを超音波発生装置 ENAC (オサダ社製)の先端に取り付け、軽圧、注水下、power 5 で歯根面を 30 秒間処理することにより行った。チップは、市販のカミソリの刃 (フェザー社製 #FA-10) を約 1 mm 幅に割り、10 枚重ね合わせて即時重合でレジンで固定したものである (図 5)。なお、粗造化の状態は、別に用意したサル抜去歯を用いて観察し、確認した。滑沢群は、前述したようにスケーラーを用いてセメント質を完全に除去して、滑沢にルートプレーニングし、粗造群は、ルートプレーニングした後、本実験に用いたチップで粗造化した。両者の表面の形状を走査型電子顕微鏡 (日立電子製 TSM-35) および、輪部形状測定器 (東京精密社製 Surfcom) を用いて観察した。

4) 術後の管理

術後 4 日間は、感染予防のために合成ペニシリン (ブリistol社製パーサペン筋注用) を 25 mg/kg の割合で筋肉内注射した。7 日後にシーネの除去と抜糸を行なった。シーネ除去までの 7 日間は、手術部位のブラッシングとスケーリングを中止し、プラークの付着を抑制するためにシーネの辺縁から 0.2% クロルヘキシジンを流し込み、化学的に清掃するにとどめた。なお、この期間の飼料は手術部位の保護のためソフトフードとし、サル用粉末飼料 (オリエンタル社製) を水で湿らせたものと果物を与えた。シーネ除去と抜糸を行なった後は、2 日に一度のブラッシングとスケーリングを再開し、飼料もハードフードに戻した。0.2% クロルヘキシジンを用いた化学的清掃法も継続した。いずれの動物もその観察期間

図 6 臨床計測のために用いたステントと probing の状態

の最終日に外頸、内頸両動脈より灌流固定により Sacrifice した。

3. 検索方法

1) 臨床診査

術前および術後は、週に一度臨床診査を行った。診査項目は、歯垢付着指数 Pl. I. (Silness & Løe 1964¹⁰⁾、歯肉炎症指数 G.I. (Løe 1967)¹¹⁾、Probing depth, probing attachment level である。なお、Probing depth と Probing attachment level の計測には、Williams 型ポケット探針 (Hu-Friedy 社製) を用い、計測が常に同一部位を同一方向から行なわれるように、咬合面に着脱可能なレジン製ステントを作製し、測定部位誘導溝を作り、それに沿って軽圧で歯肉溝に挿入した。なお測定は 0.5 mm 単位で行った (図 6)。

2) 病理組織学的検索

① 標本の作製

灌流固定は、4% パラホルムアルデヒド (0.1 M リン酸緩衝) を用いて行ない、断頭後、同固定液に浸漬した。脱灰は、迅速脱灰法 (Plank-Rychlo 法) によって行い、トリミング後パラフィン包埋し頬舌的に 8 μ の連続切片を作製した。各実験部位ごとに、根の近遠心的中央に位置する部位の標本と、そこから近心、および遠心にそれぞれ約 120 μ 離れた標本の合計 3 枚を選んで、H.E. 染色を施し、検索に供した。

なお、術後局所感染や壊死など急性症状を起こした部位、標本作製過程で薄切できなかった部位は、検索の対象から除外した。その結果、組織学的検索に十分供し得た標本数は滑沢群 98、粗造群 98 の合計 196 枚であった。

② 病理組織学的検索

作製した標本について、通常の病理組織学的観察を行った。

図 7 サル抜去歯根面を滑沢に Root planing した試料 (滑沢群 S) スケール 50 μm

図 8 滑沢化したのち ENAC を用いて粗造化した試料 (粗造群 R) スケール 50 μm

3) 統計学的処理

各臨床的計測値および表面粗さについて、滑沢群と粗造群との間の比較は、Students-t testによって行なった。なお、これらの統計学的分析処理には、パーソナルコンピュータ (富士通社製 FM-8) を使用し、プログラミングにあたっては、統計解析 (培風館)¹²⁾ を参考にした。

結 果

1. サル抜去歯根面の粗造化の確認

実験に先立ってサル抜去歯根面を滑沢化および粗造化した結果を図 7, 図 8, および図 9 に示した。図 7, 8

図 9 表面粗さ Ra と断面曲線

図 10 Plaque Index (Silness & Loe 1964) の推移

に示した SEM 像では、滑沢群の試料は表面に大きな凹凸はなく、粗造群の試料ではカミソリの歯によると考えられる深いキズが見られた。どちらの試料でも、象牙細管の開口部ははっきりとは確認できず、表面はスメア層で覆われていると考えられた。

Surfcom で測定した中心線平均粗さ Ra は、滑沢群では平均 1.2, 粗造群では平均 6.9 であり、粗造群は滑沢群よりも危険率 1% で有意に高い値を示した (図 9)。

2. 臨床所見

1) 全身状態

実験期間を通じて 4 頭の実験動物の体調は良好であり、フラップオペレーション後の食欲も旺盛であった。また、体重の増減もわずかであった。

2) 口腔内の肉眼所見

準備期間の初期には、歯垢、歯石の沈着が著明で、辺縁歯肉の発赤、腫脹が認められたが、2 日に 1 度のブラッシングと、必要に応じて行ったスケーリングによってこれらは徐々に消退し、準備期間 3 週目には、歯肉の炎症はほとんど消失した。また、フラップオペレーション後に創面をシーネで覆ったため、シーネ除去時には創面に剝離上皮、歯垢の沈着が著明であり、また外科的侵襲による反応性炎症と考えられる歯肉の発赤、腫脹が見られた。しかし、1 週目から再開したブラッシングとスケ

図 11 Gingival Index (Løe 1967) の推移

ーリングにより発赤、腫脹は、徐々に消退した。

3) 歯垢付着指数 P.I.I.

両群の歯垢付着指数 P.I.I. の推移を、図 10 に示した。創面に装着したシーネとブラッシングを中止した影響で術後 1 週目には、滑沢群平均 2.1、粗造群平均 2.0 と高い値を示したが、1 週間後に再開したブラッシングとスケーリングによってこれらはすぐに減少した。なお、全期間を通じて滑沢群と粗造群の間に有意な差は認められなかった。

4) 歯肉炎症指数 G.I.

両群の歯肉炎症指数 G.I. の推移を図 11 に示した。0 週すなわちフラップオペレーション時は、滑沢群、粗造群とも平均 0.2 であり、ほとんど炎症が認められなかった。術後 1 週目では、P.I.I. の増加に伴って高くなり、平均 1.6 前後となった。しかし、ブラッシングの再開とともに改善し、術後 3 週目からは滑沢群平均 0.45、粗造群平均 0.27 と、ほぼ 0 週と同程度まで回復した。なお全期間を通じて、滑沢群と粗造群との間に有意な差は認められなかった。

5) Probing depth, Probing attachment level, Recession

両群の Probing depth, Probing attachment level, Recession の推移を図 12, 図 13 に示した。Probing depth は、滑沢群、粗造群とも約 1 mm であり、全期間を通じてほぼ一定に維持されていた。しかし、両群とも術前と比較すると約 1 mm の Recession がみられ、その結果、Probing attachment level すなわち臨床的な付着位置は、術前と比較して約 1 mm 根尖側へ移動していた。なお、3 者とも全期間を通じて、滑沢群、粗造群の間に有意な差は認められなかった。

3. 病理組織学的観察所見

1) 根表面の状態

ノッチ N₁ からノッチ N₂ までの根面を観察すると、1 週～8 週のすべての試料で、滑沢群では滑沢にルートプ

図 12 Attachment Level の推移 (滑沢群)

図 13 Attachment Level の推移 (粗造群)

レーニングされており (図 14, 16, 18, 20)、粗造群では著しく粗造化されていた (図 15, 17, 19, 21)。

根吸収は、滑沢群、粗造群とも術後 2 週から一部に認められ、粗造群の方が頻度が高かった。根吸収のタイプは、すべて表面の緩やかな吸収とセメントイドの添加を伴う表面吸収型のものであった。なお根吸収の観察される部位は、根尖側ノッチ N₂ 付近よりもむしろ、より歯冠側の N₁ と N₂ の中央部付近が多かった (図 41)。

2) 術後の治癒状態

術後 1 週では、両群ともノッチ N₁ と N₂ 間の根面に疎な結合組織が密着し、出血が認められた。なお、一部には歯肉溝部の上皮化がまだ完了していない試料もみられた (図 14, 15)。このことから術後の治癒は比較的遅かったと考えられる。

術後 2 週では、出血はなく上皮化が進み良好な治癒経過をとっていると考えられた。なお、組織内に骨の削片や歯質の削片と思われる組織塊が認められる試料も観察された (図 16, 28)。術後 4, 8 週では、セメント質の再性や骨の再生が生じているのが観察された。なお術後 1 週から 8 週までのすべての試料で、内縁上皮と接合上皮直下の結合組織中には炎症性細胞浸潤が認められた。この炎症性細胞浸潤は歯肉溝底部付近で最も強く、術後 1

図 14 術後1週滑沢群 (×8)

図 15 術後1週粗造群 (×8)

図 16 術後2週滑沢群 (×8)

図 17 術後2週粗造群 (×8)

图 18 術後4週滑沢群 (×8)

图 19 術後4週粗造群 (×8)

图 20 術後8週滑沢群 (×8)

图 21 術後8週粗造群 (×8)

図 22 A. 術後1週滑沢群 ノッチ N₂ とその上部 (×25)

図 23 B. 術後1週滑沢群 ノッチ N₁ と N₂ の中央部付近 (×50)

図 24 C. 術後1週粗造群 ノッチ N₂ とその上部 (×25)

図 25 D. 術後1週粗造群 ノッチ N₁ と N₂ の中央部付近 (×50)

週目で最も広範囲に広がっており (図 14, 15), その後経時的に減少した。

3) 内縁上皮と付着上皮

内縁上皮の厚さは、術後 1 週から 8 週のすべての標本で滑沢群、粗造群とも根尖側になるほど減少しており、ノッチ N₁ 下縁付近から上皮性付着が形成されていた。なお付着上皮の再根尖側の位置には両群間に明らかな差はないと思われた (図 14~21)。

術後 8 週の試料の一部に、根尖側に深く増殖している接合上皮が 1 度根面を離れた後、より根尖側で再び根面に付着している像が観察された。この上皮が根面から剝離した部分の根面には、線維性付着が認められ、孤立した結合組織性付着を形成しているのではないと思われた (図 38, 39)。

しかし、そこから約 30 μ 遠心に離れた部位の標本では上皮が結合組織中でとぎれ、孤立しているかのように観察された結合組織は周囲の結合組織と交通していた (図 40)。

4) 新生セメント質の形成

術後 1 週では両群とも新生セメント質の形成は認められなかった (図 22, 23, 24, 25)。

術後 2 週では両群とも根尖側ノッチ N₂ 内にわずかに認められた (図 26, 28)。なお、粗造群では N₁ と N₂ との中央部付近の粗造面の凹部にセメントイドの添加が認められた (図 29)。一方、滑沢群の N₁ と N₂ の中央部では根面と平行に走行する線維が存在し、セメントイドの添加は認められなかった (図 27)。

術後 4 週では両群とも根尖側ノッチ N₂ を越え、さらに歯冠側への添加が認められた。N₂ 内の新生セメント質の厚みは、2 週目よりも増し、とくに粗造群で著明だった (図 30, 32)。

2 週目に観察された粗造群の根中央付近の凹部のセメントイドはさらに発達し、凸部にも形成されて根面上の連続した新生セメント質として観察された (図 33)。

一方、滑沢群の歯根中央部では、セメント質の新生は明らかでなかった (図 31)。

5) 線維性付着

術後 1 週では両群とも疎な結合組織が根面に密着し、出血も見られた (図 22, 23, 24, 25)。

粗造群では粗造化した凹部に結合組織が入りこんでいた (図 25)。

術後 2 週では、滑沢群では根面に平行に走行する結合組織が認められた (図 26, 27)。一方、粗造群では滑沢群に比べ、垂直あるいは斜走する線維がかなり増加してい

た (図 28, 29)。

術後 4 週では、滑沢群では 2 週目に比べると根尖側ノッチ N₂ 内で、根面に垂直あるいは斜走する線維が多く認められたが、根中央部付近では根面に平行に走っていた (図 30, 31)。粗造群では、ノッチ N₂ 内にセメント質から新生骨に向かって走行するいわゆる歯根膜線維と思われる線維が認められ、根中央部付近でも線維は新生セメント質から垂直に走行して、機能的な線維性付着が認められた (図 32, 33)。

術後 8 週になると両群とも新生セメント質から新生骨に向かう線維の走行が著明となっていた。しかし、根中央部付近では、粗造群のほうが滑沢群よりも根面に垂直に走る線維がよく発達していた (図 35, 37)。

6) 骨の再生

両群とも骨の再生は術後 1 週、2 週では、ほとんど認められなかった。

術後 4 週になると滑沢群ではわずかに認められるのみであったが、粗造群ではすでに著明な骨再生が認められた (図 32)。

術後 8 週では滑沢群、粗造群とも同程度の骨再生が認められた (図 34, 36)。

考 察

1. 実験方法について

1) 実験動物について

本研究ではサルを実験動物として用いたが、これはサルがヒトと類似した歯列を有し、歯肉弁の剝離、歯槽骨の削除、縫合などフラップオペレーションの一連の処置を十分な手術野をとって確実に行うことができるためである。

2) 実験の計画について

臨床で行うフラップオペレーションは、歯周ポケット内に露出した歯根面に歯周組織を再付着させることを目的としている。露出歯根面は、口腔環境に影響されて種々の変化を起こしており、無機成分の取り込み、エンドトキシンの吸着などが観察されている^{13~15)}。このような汚染された根面には上皮性付着も、線維性再付着も起こりにくいと言われている¹⁶⁾。一方、このような汚染根面もルートプレーニングを徹底することにより、健康な歯根面が得られると言われており^{17,18)}、臨床でもルートプレーニングが行なわれるようになっている。今回の検索では、口腔内に露出していない正常な歯根面を用いているが、セメント質全層を除去して象牙質を露出さ

図 26 A. 術後2週滑沢群 ノッチ N_2 とその上部 ($\times 25$)
 図 27 B. 術後2週滑沢群 ノッチ N_1 と N_2 の中央部付近 ($\times 50$)
 図 28 C. 術後2週粗造群 ノッチ N_2 とその上部 ($\times 25$)
 図 29 D. 術後2週粗造群 ノッチ N_1 と N_2 中央部付近 ($\times 50$)

図 30 A. 術後4週滑沢群 ノッチ N₂ とその上部 (×25)
 図 31 B. 術後4週滑沢群 ノッチ N₁ とN₂ の中央部付近 (×50)
 図 32 C. 術後4週粗造群 ノッチ N₂ とその上部 (×25)
 図 33 D. 術後4週粗造群 ノッチ N₁ と N₂ の中央部付近 (×50)

図 34 A. 術後 8 週滑沢群 ノッチ N₂ とその上部 (×25)
 図 35 B. 術後 8 週滑沢群 ノッチ N₁ と N₂ の中央部付近 (×50)
 図 36 C. 術後 8 週粗造群 ノッチ N₂ とその上部 (×25)
 図 37 D. 術後 8 週粗造群 ノッチ N₁ と N₂ の中央部付近 (×50)

せているため、歯周疾患罹患歯根面に対して徹底的なルートプレーニングを行なった場合とかなり類似した条件を作り出すことができたと考える。

3) 口腔清掃と準備期間について

フラップオペレーションを行なって、その術後の治癒を比較検討する場合には、実験条件を同一にするためと手術の経過を良好にするために、プラークコントロールを十分に行って術前、術後の歯肉の炎症を極力抑えることが必要である^{19,20)}。ブラッシングは毎日行なうことが理想であるが、サルブラッシングを行なう場合、全身麻酔が必要であり、サルの体力の低下を避けるために、歯肉の炎症を生じさせない範囲でその回数を減らす必要がある。本実験では、内山 (1981)²¹⁾、Caton (1979)²²⁾ などの報告を参考にして、その頻度を2日に1度とした。口腔清掃はブラッシングによる物理的清掃と、0.2% クロルヘキシジンを用いた化学的清掃を行ない、必要に応じてフロッシングとスケリングを行った。その結果、今回の実験では、両群とも術前、すなわち準備期間中の歯垢付着指数 PI.I. は0となり、歯肉炎症指数 G.I. は平均0.2と、ほとんど炎症のない状態にすることができた。なお、術後1週間はシーネの辺縁から0.2% クロルヘキシジンを流しこむことによる化学的清掃にとどめた。このため術後1週では両群とも炎症が一時的に生じたが、1週目から再開したブラッシングによって術後3週目には、ほぼ術前と同じレベルまで改善した。

このことから今回の実験は、日常臨床におけるフラップオペレーションの術前、術後の状態にかなり類似した状態を維持できたと考える。

4) フラップオペレーションについて

フラップオペレーションを行なう部位は、図2に示したように、術後同一期間の試料が、異なった動物から得られるようにし、それらの試料が左右どちらかに偏ることがないようにした。なお、滑沢群、粗造群は1歯根おきに設定した。これらは、各個体や部位の違いによる影響を最小限にするための配慮である。

手術後の創面に残る血餅を少なくすることが、手術後の治癒を良好にするとの報告²³⁾を参考にして、縫合前に手術野を生理食塩水で洗浄し、手指による歯肉弁の圧迫を十分に行なって、血餅を極力少なくした。

5) 歯根面の粗造化について

歯根面の粗造化は、市販のカミソリの刃を約1mm幅に割って重ね合わせたチップをこの実験のために作製し、超音波発生装置 ENAC の先端に取り付けて行った。

本実験に先立って行ったサル抜去歯根面の観察でも、

病理組織標本の観察でも、歯根面の滑沢化、粗造化は十分に行なわれていたと考えられる。しかし、粗造化の程度にはある程度のばらつきがみられた。なお、これらの処置を行なった後の歯根面には、スメア層が存在すると考えられる。サル抜去歯根面の SEM による観察においても、滑沢群、粗造群ともスメア層が存在するために象牙細管の開口部を確認することは難しい。

しかし、今回の実験では、健康な象牙質を露出させた後、ルートプレーニングと粗造化を行なっているので、スメア層が存在してもその層には多量の汚染されていないコラーゲン線維が含まれていると思われ、その存在が術後の治癒に影響する可能性は少ないと考えられる。

2. 実験結果について

1) 滑沢群と粗造群との条件の画一化について

臨床診査の結果、口腔清掃状態と歯肉の炎症状態とは、全期間を通じて滑沢群、粗造群間に有意な差は認められなかった。また、フラップオペレーション時には骨削除の大きさと形を規格化しており、本実験における滑沢群と粗造群の術後の治癒に影響を与える条件は、根面の滑沢化、粗造化を除けば両群とも同一であったと考えられる。

2) Probing depth, Probing attachment level, Recession について

本実験では、再現性を良くするためにステントを作製してプロービングを行なったが、Probing depth と Probing attachment level は、両者とも実験期間を通じて、滑沢群、粗造群間に有意な差は認められていない。これは、Khatiblou ら (1983)²⁴⁾ がヒトを用いて臨床実験を行なった結果と一致する。

Listgarten ら (1976)²⁵⁾、Armitage ら (1977)²⁶⁾、van der Velden & de Vries (1978)²⁷⁾ は、臨床的なプロービングで接合上皮の最根尖側の位置を正確に評価することは不可能であると述べている。Probing attachment level の改善は、必ずしも結合繊維性付着の位置の歯冠側への移動を示すものではなく、炎症の消退により歯肉のプロービングに対する抵抗性が増加した結果である可能性がある。これらのことから、臨床的にポケットの深さが減少しても、それは生体に本来みられる線維性の付着機構が回復したことを意味するのではなく、フラップオペレーション後の付着を評価する場合には、病理組織学的評価が必要であると考えられる。

3) 付着機構について

① 内縁上皮と付着上皮について

滑沢群、粗造群ともノッチ N₁ 下縁付近で上皮性付着

図 38 術後8週滑沢群 (×20)
上皮下に孤立した結合組織が認められる (矢印)。

図 39 図38の拡大像 (×50)

図 40 図38より約 30 μ 遠心に離れた部分 (×50)
結合組織中で上皮がとぎれている。

図 41 術後8週粗造群 (×50)
広範な根吸収を起こした部分がセメント質で修復されている。

が停止している試料が多く、両群に明らかな差は認められなかった。これは、プラークコントロールが充分に行なわれたためと思われ、粗造な面それ自体が上皮細胞の増殖を刺激するものではないとした Wearhaug(1956)²⁸⁾の知見と一致する。

接合上皮が一度根面を離れ、その部分に線維性付着が生じている所見が認められた標本があったことは、興味深い。この標本だけを2次的に観察した場合、結合組織は上皮下に孤立しているかのように思われたが、そこから遠心に約 30 μ 離れた部分で、この上皮はとぎれていた。すなわち、孤立しているかのように思われた結合組織は、周囲の結合組織と交通していた(図 38, 39, 40)。Caton ら (1979)²⁹⁾ は、根面で一度上皮がとぎれて結合組織性付着が生じ、さらに根尖側で再び上皮性の付着がみられたこと (window) を報告し、結合組織性付着の歯冠側への移動の可能性を示唆する所見であると述べている。今回観察された“孤立した結合組織巣”も、結合組織性付着が歯冠側へ移動する過程である可能性がある。

② 新生セメント質形成と線維性付着について

本研究では、滑沢群、粗造群とも根面からセメント質を完全に除去し、象牙質を露出させた。このような状況において、歯根面に線維性付着が生じる過程については、Frank ら (1974)³⁰⁾、Nalbandian & Flank (1980)³¹⁾が次のように述べている。

第1段階では、線維芽細胞が平行に配列した後、象牙質最表層が脱灰され、コラーゲン線維が露出される。第2段階では、線維芽細胞がコラーゲン基質を分泌して、これを介して線維が結合する。第3段階では、コラーゲン基質が石灰化されてセメント質となる。これらの過程で、線維芽細胞はセメント芽細胞に分化すると考えられる。なお、形成初期のセメント質では、コラーゲン線維は歯面と平行に配列しているが、経時的に新生セメント質が厚さを増し、線維束が歯面に直角に並びセメント質内に埋入して認められるようになるとしている。本研究の結果でも術後2週では、セメントイドが形成された部分でさえもその線維束は根面に平行に配列しており、その後4週、8週と経時的に根面に垂直あるいは斜走する形態に改造されていた。滑沢群と粗造群とを比較すると術後1週、2週では、根面に垂直あるいは斜走する線維性付着はほとんどみられず、滑沢群、粗造群間に明らかな差は認められなかったが、術後4週では、粗造群で滑沢群よりもより歯冠側にまで形成されていた。

ノッチ内に多量の新生セメント質が形成される所見は、フラップオペレーション後の再付着を調べた多くの研究で報告されており³⁰⁻³⁵⁾、本研究においても、滑沢群、粗造群とも実験期間を通じて、他の部位に比べて根尖側ノッチ N₂ 内で、新生セメント質形成量が著しく多いことが観察されている。粗造群における新生セメント質形成を観察すると、最初に粗造面の凹みのところでセメントイドの沈着が始まり、その後時間の経過とともに、この凹みの部分でその厚さを増し、根面全体を覆って、粗造な根面を平滑化している所見が特徴的であった。Resister (1973)³⁶⁾ は酸を用いて根面を処理し、拡大されてやや凹んだ象牙細管内にピン状にセメント質が入り込んでいることを確認しているが、このような所見は、今回の、凹みの部分で新生セメント質が厚みを増している所見と類似していると思われる。

③ 根吸収について

フラップオペレーションを行ったあとの治癒を、病理組織学的に観察した研究には、根吸収が生じることを報告するものが多い³⁷⁻⁴¹⁾。本実験でも、術後2週から一部に根吸収が認められ、その頻度は粗造群のほうが高かった。

Andreassen (1966)⁴²⁾ は根吸収を表面吸収型、置換吸収型、炎症吸収型の3つのタイプに分類している。本実験では、そのうち根表面の緩やかな吸収とセメントイドの添加を伴う表面吸収型のものだけが観察された。根吸収はノッチ N₂ 付近でも認められたが、より歯冠側寄りの歯根中央部付近に多い傾向があった。この理由として

は、ノッチ N₂ 付近は残存した歯根膜に近く、歯根膜由来の間葉系細胞^{35,43)} が急速に根面に増殖して、根吸収を起こすと言われる歯肉結合組織由来や、骨由来の肉芽⁴⁴⁾ が根面に達する前に根面を覆ったため、根吸収が起こりにくかったと考えられる。

総括および結論

歯根の表面粗さが Flap operation 後の付着様式におよぼす影響を観察するために、サル4頭の上顎臼歯頰側根頰側面 88 部位を用いて実験を行った。歯肉弁を剥離して縦 3 mm、横 2 mm の骨を削除し、根面上のセメント質をスクレーパーを用いて完全に除去した。すべての根面を滑沢に Root planing した後、滑沢なままとする滑沢群と、そのあとさらに粗造化する粗造群とに分けた。根面の粗造化は超音波発生装置 ENAC の先端に市販のカミソリの刃を約 1 mm 幅に割って 10 枚重ねあわせたチップを取り付けて、根面を 30 秒間処理することによって行ない、洗浄後縫合した。実験計画を、観察期間が 1, 2, 4, 8 週となるように組み、臨床診査を行い、sacrifice 後病理組織学的に観察した。その結果、

1. 臨床的計測値 (PL.I., G.I., Probing Depth, Probing Attachment Level) は、実験期間を通じて両群間に有意な差はなかった。

2. 病理組織学的観察では、上皮の根尖側移動は両群間に明確な差はなかった。

3. 新生セメント質は、両群とも術後2週から観察され、実験部位の最根尖側で最も厚かったが、粗造群では歯冠側寄りの粗造面の凹部にも形成され、急速に根面を平滑化していた。

4. 骨再生は術後4週から生じたが、両群間の差は明確ではなかった。

本実験の結果から、フラップオペレーションにおいて術後のブランクコントロールが徹底されれば、根面が粗造な状態であっても、それが線維性再付着を妨げる要因とはならず、むしろ有利な条件となる可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、実験に際し常に御協力と御鞭撻を戴いた本学病理学教室の皆様、当教室の川浪雅光講師、戸田郁夫助手、林 亨氏、西岡敏明氏、菅谷 勉氏、合志晶子女史、熱田 勤氏、細井恵美子事務官をはじめとする第2保存学教室各位ならびに第2解剖学教室・本間義幸技官、動物室・田巻照房技官をはじめとする諸兄に心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) Caton, J., Nyman, S. and Zander, H. : Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. J. Clin. Periodontol., 7 : 224-231, 1980.
- 2) Morris, M.L. : The reattachment of human periodontal tissues following surgical detachment : A clinical and histological study. J. Periodontol., 24 : 220-228, 264, 1953.
- 3) Caton, J. and Nyman, S. : Histometric evaluation of periodontal surgery. I. The modified Widman flap procedure. J. Clin. Periodontol., 7 : 212-223, 1980.
- 4) Listgarten, M.A. : Electron microscopic study of the junction between surgically denuded root surfaces and regenerated periodontal tissues. J. Periodontal Res., 7 : 68-90, 1972.
- 5) Nabers, C.L., Prichard, J.F., Robinson, R.E. and Schallhorn, R.G. : In our opinion. In order to secure "fill" in osseous defects is it necessary or desirable to "plane" the exposed root surfaces until they are hard and smooth to the touch? J. Periodontol., 41 : 419-423, 1970.
- 6) Glickman, I. : Clinical periodontology, 5th. ed., W.B. Sander Company, Philadelphia, London, Toront.
- 7) Squier, C.A. and Collins, P. : The relationship between soft tissue attachment, epithelial downgrowth and surface porosity. J. Periodontal Res., 16 : 434-440, 1981.
- 8) Morris, M.L. : The implantation of human dentin and cementum with autogenous red marrow into the subcutaneous tissue of the rat. J. Periodontol., 40 : 571-576, 1969.
- 9) L, H. and Schitt, C.R. : The effect of mouth-rinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. J. Periodontal Res., 5 : 79-83, 1970.
- 10) Silness, J. and L, H. : Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta. Odont. Scand., 22 : 121-135, 1964.
- 11) L, H. : The gingival Index, the plaque index and the retention index systems. J. Periodontol., 38 : 610-616, 1967.
- 12) 古林 隆 : 統計解析, 培風館, 東京, 1981.
- 13) 濱 久友 : 歯周疾患に罹患した歯根面とその改善に関する研究. 日歯周誌, 24 : 8-25, 1982.
- 14) Selvig, K.A. and Hals, E. : Periodontally diseased cementum studied by correlated micro-radiography, electron probe analysis and electron microscopy. J. Periodontal Res., 12 : 419-429, 1977.
- 15) Aleo, J.J., De Renzis, F.A., Farber, P.A. and Varboncoeur, A.P. : The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. J. Periodontol., 45 : 672-675, 1974.
- 16) Stahl, S.S. : Repair potential of the soft tissue-root interface. J. Periodontol., 48 : 545-552, 1977.
- 17) Aleo, J.J., De Renzis, F.A. and Farber, P.A. : In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces. J. Periodontol., 46 : 639-645, 1975.
- 18) Jones, W.A. and O'Leary, T.J. : The effectiveness of *in vivo* root planing in removing bacterial endotoxin from the roots of periodontally involved teeth. J. Periodontol., 49 : 337-342, 1978.
- 19) Nyman, S., Lindhe, J. and Rosling, B. : Periodontal surgery in plaque-infected dentitions. J. Clin. Periodontol., 4 : 240-249, 1977.
- 20) Lindhe, J. and Nyman, S. : The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. J. Clin. Periodontol., 2 : 67-79, 1975.
- 21) 内山純一 : サルの実験的歯肉炎に対するブラッシング効果の臨床的病理組織学的分析. 日歯周誌, 23 : 249-272, 1981.
- 22) Caton, J. : Establishing and maintaining clinically healthy gingivae in rhesus monkeys. J. Clin. Periodontol., 6 : 260-263, 1979.

- 23) Morris, M.L. : Healing of human periodontal tissues following surgical detachment from vital teeth : the position of the epithelial attachment. *J. Periodontol.*, 32 : 108-112, 1961.
- 24) Khatiblou, F.A. and Ghodssi, A. : Root surface smoothness or roughness in periodontal treatment. *J. Periodontol.*, 54 : 365-367, 1983.
- 25) Listgarten, M.A., Mao, R. and Robinson, P.J. : Periodontal probing and the relationship of the probe tip to periodontal tissues. *J. Periodontol.*, 47 : 511-513, 1976.
- 26) Armitage, G.C., Svanberg, G.K. and Le, H. : Microscopic evaluation of clinical measurements of connective tissue attachment levels. *J. Clin. Periodontol.*, 4 : 173-190, 1977.
- 27) van der Velden, U. and de Vries, J.H. : Introduction of a new periodontal probe. : the pressure probe. *J. Clin. Periodontol.*, 5 : 188-197, 1978.
- 28) Waerhaug, J. : Effect of rough surface upon gingival tissue. *J. Dent. Res.*, 35 : 323-325, 1956.
- 29) Caton, J.G. and Zander, H.A. : The attachment between tooth and gingival tissues after periodic root planing and soft tissue curettage. *J. Periodontol.*, 50 : 462-466, 1979.
- 30) Frank, R., Fiore-Donno, G., Cimasoni, G. and Matter, J. : Ultrastuctural study of epithelial and connective gingival reattachment in man. *J. Periodontol.*, 45 : 626-635, 1974.
- 31) Nalbandian, J. and Frank, R.M. : Electron microscopic study of the regeneration of cementum and periodontal connective tissue attachment in the cat. *J. Periodontal Res.*, 15 : 17-89, 1980.
- 32) Cole, R.T., Crigger, M., Bogle, G., Egelberg, J. and Selvig, K.A. : Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. *J. Periodontal Res.*, 15 : 1-9, 1980.
- 33) Nyman, S., Lindhe, J. and Karring, T. : Healing following surgical treatment and root demineralization in monkeys with periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 8 : 249-258, 1981.
- 34) Albair, W.B., Cobb, C.M. and Killoy, W.J. : Connective tissue attachment to periodontally diseased roots after citric acid demineralization. *J. Periodontol.*, 53 : 515-526, 1982.
- 35) Nyman, S., Gottlow, J., Karring, T. and Lindhe, J. : The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J. Clin. Periodontol.*, 9 : 257-265, 1982.
- 36) Register, A.A. and Burdick, F.A. : Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized *in situ*. II. Defect repair. *J. Periodontol.*, 47 : 497-505, 1976.
- 37) Gottlow, J., Nyman, S. and Karring, T. : Healing following citric acid conditioning of roots implanted into bone and gingival connective tissue. *J. Periodontal Res.*, 19 : 214-220, 1984.
- 38) Nyman, S., Houston, F., Sarhed, G., Lindhe, J. and Karring, T. : Healing following reimplantation of teeth subjected to root planing and citric acid treatment. *J. Clin. Periodontol.*, 12 : 294-305, 1985.
- 39) Magnusson, I., Claffey, N., Bogle, G., Garrett, S. and Egelberg, J. : Root resorption following periodontal flap procedures in monkeys. *J. Periodontal Res.*, 20 : 79-85, 1985.
- 40) Lpez, N.J. and Belvederessi, M. : Healing following implantation of healthy roots, with and without periodontal ligament tissue, in the oral mucosa. *J. Periodontol.*, 54 : 283-290, 1983.
- 41) 木村喜保 : 実験的歯肉剝離搔爬手術後の結合組織性再付着の可能性について. *日歯周誌*, 23 : 104-125, 1981.
- 42) Andreasen, J.O. and Hrting-Hansen, E. : Replantation of teeth. II. Histological study of 22 replanted anterior teeth in humans. *Acta Odont. Scand.*, 24 : 287-306, 1966.
- 43) Melcher, A.H. : On the repair potential of periodontal tissues. *J. Periodontol.*, 47 : 256-260, 1976.
- 44) Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J. and Plantn, S. : Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *J. Clin. Periodontol.*, 7 : 394-401, 1980.