歯肉剝離搔爬手術後の新付着に関する研究

—脱灰搔爬セメント質に対する歯肉付着について—

山口 十紀夫

大阪歯科大学歯周病学講座

(指導：山岡 昭教授)

(平成元年9月4日受付)

Study on New Gingival Tissue Attachment Following Flap Surgery

—Gingival Attachment to Cementum in Curettage of the Superficial Layer Following the Use of Citric Acid—

Tokio YAMAGUCHI

Department of Periodontology, Osaka Dental University

(Director : Prof. Akira YAMAOKA)

Since endotoxin may be absorbed only in the superficial layer of cementum leaving the deep cementum unchanged morphologically, the cementum of teeth with periodontal involvement was examined. The author considered that the application of citric acid after curetting of only the superficial cementum was better root treatment than complete removal of the cementum. The aim of this study was to examine histological events during the formation of new fibrous attachment to demineralized ce-

mentum after flap surgery following citric acid treatment in fifteen dogs. The demineralized cementum prevented the apical proliferation of junctional epithelium. The fibroblasts apposed to the exposed cemental collagen produced numerous new fibrils. Furthermore, the newly-formed collagen fibrils appeared to link with the exposed ones. These findings suggest that this root treatment would facilitate the formation of new fibrous attachment.

Key words : Cured cementum, Citric acid conditioning, Diseased cementum, New attachment, Flap surgery

要旨：近年、露出セメント質深層へのエンドトキシン浸透の疑問視や深層セメント質は形態的にはほとんど変化していないことなどから、歯周疾患歯セメント質の取り扱いに再検討の機運がみられる。そこで本研究では、歯肉剝離搔爬手術後の新生歯肉に対して、より為害性のない適切な根面を提供するため、セメント質は表層だけの搔爬にとどめ、その後クエン酸を塗布した根面状況に対する歯肉付着様式を組織学的に検索した。

実験動物には雑種成犬15頭を用い、術後1, 2, 3週に光顕的、電顕的に観察した。その結果、クエン酸塗布例では、付着上皮の下方増殖はほとんど認められなかった。脱灰セメント質には、細胞が密に平行に配列していたが、脱灰セメント質線維と細胞間には、新生コラーゲン線維の形成がみられ、さらに、新生コラーゲン線維と脱灰セメント質コラーゲン線維との interdigitation が認められた。これらの所見より、セメント質表層を搔爬後、クエン酸塗布を施

した根面処理法によって、線維性付着を早期に確立するためのより適切な根面状況が得られることが示された。

索引用語：搔爬セメント質，酸処理法，汚染（病的）セメント質，新付着，歯肉剝離搔爬手術

緒 言

歯周ポケットという特殊な環境にさらされたセメント質は、構造的並びに物理、化学、生物学的にも変化をこうむると報告されている¹⁻⁵⁾。従って、歯肉剝離搔爬手術を施す際、このポケット対応セメント質の徹底除去が、手術の成否を左右する最重要操作として認識されている⁶⁻⁸⁾。しかし最近、この歯周疾患歯セメント質の取り扱いに再検討の機運がみられる。その理由として、(1)滑沢化した象牙質面には、新生セメント質の形成は根尖側のごく一部に限られる^{9,10)}、(2)セメント質深層へのエンドトキシン浸透の疑問視¹¹⁻¹⁵⁾、(3)深層セメント質は形態的にはほとんど変化していない¹⁶⁾、(4)セメント質保存は線維性付着を容易に再確立せしめる可能性が高い^{17,18)}、などのことがあげられている。

このような背景から、先に西村ら¹⁹⁾は、ヒト歯周疾患歯に対して、従来のようにセメント質すべてを搔爬するのではなく、表層のみの搔爬にとどめ、残存セメント質面への歯肉付着様式の検索を試み、その結果、かなりの

歯冠側部まで結合組織付着の獲得をみている。半面、この搔爬セメント質面に集積した細胞には、小器官の発達の悪いいわゆる resting phase の細胞もみられたことから、今後、この根面状況に対して治癒がどのように進行するかについては予断を許さないと述べている。このような所見を呈する原因の一つとして、やはりエンドトキシンが、疾患歯によってはセメント質深層へ浸透している可能性も考えられ、これに対処する適切な処理が必要なものもあると思われる。そこで著者は、新生歯肉に、より為害性のない適切な根面を提供するため、セメント質は表層だけ搔爬、その後エンドトキシンを除去するためクエン酸を塗布^{20,21)}し、この根面状況に対する歯肉付着様式を超微構造学的に検索した。

材料および方法

実験動物として、内国産雑種成犬15頭（体重9.3～15.6 kg）を用い、上下顎左右犬歯部を実験部位とした。術前処置として、実験1ヵ月前に動物用ケタラール50®（三共株式会社製、東京）0.1～0.2 ml/kg 筋肉内注射麻

Fig. 1 The schematic drawing illustrates the root treatment used in this study. After removal of only the superficial cementum (Left), the root surface was treated with citric acid (pH 1, 3 min) (Right).

酔下でスケーリングを行った。その後、可及的に歯肉の健康状態を維持する為、同様な麻酔条件下で、週1回のブラッシングを施した。

実験方法としては、ケタラール筋肉内注射とソムノベンチル® (Pitman Moore社製, U.S.A.) 0.5 ml/kg 腹腔内注射で完全麻酔した後、実験部歯肉弁を切開剝離、齒槽骨を骨縁から根尖方向に約5 mm 除去した。根面処理として、左側上下顎犬歯は、深層セメント質を残すように表層セメント質のみをスケーラーで搔爬、次いで pH 1 のクエン酸で搔爬セメント質を3分間脱灰した (Fig. 1)。

一方、右側上下顎犬歯は、表層セメント質の搔爬のみで、クエン酸塗布を行わなかった。これらの根面処理後、歯肉弁を元の位置に戻し縫合した。術後1, 2, 3週に屠殺、カコジル酸ナトリウム緩衝2.5% グルタルアルデヒド-2.0% パラホルムアルデヒド混合液にて灌流固定。続いて、術部の歯、歯肉および骨を一塊として採取、歯中央部にて切断した。

切断試料の半分は、モース氏の液で脱灰、型通りの方法で光顕切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、鏡検した。他の半分は、カコジル酸ナトリウム緩衝2.5% グルタルアルデヒド-2.0% パラホルムアルデヒド混合固定液 (pH 7.2) にて4°C で72時間、前固定した。試料は前固定開始12時間後にできるだけ小さくトリミングを行った。

前固定終了後、カコジル酸ナトリウム緩衝液で一晩浸漬し、その後、カコジル酸ナトリウム緩衝1% オスミウム酸 (pH 7.2) にて4°C で4時間、後固定を行い、エタノール系列にて脱水、Luft 法に従って Poly Bed 812 (Polysciences 社製, U.S.A.) に包埋した。包埋した未脱灰試料は、歯冠側部と根尖側部に2分割した。各々の試料は、まず、ダイヤモンドナイフを装着した Porter-Blum MT II B 型超マイクロトームで、約1 µm 厚さの半超薄切片を作成、メチレン青で染色して、光顕的に観察、撮影した。その後、光顕所見の一般的、ならびに特徴的な部位の超薄切片を作成、酢酸ウラニールとクエン酸鉛の重染色を施し、HITACHI H-800 透過型電子顕微鏡 (加速電圧 100 kV) にて観察、撮影した。

結 果

セメント質表層搔爬後クエン酸塗布例術後1週では、付着上皮対応部結合組織に軽度の炎症性細胞浸潤、上皮突起の側方への伸展が認められたが、付着上皮はセメント・エナメル境上部に位置し、上皮の深行増殖はみられ

なかった (Fig. 2-a)。上皮付着直下部では、異なる染色性を示す脱灰セメント質と剝離歯肉弁間に肉芽組織を介した付着がみられた (Fig. 2-b)。この上皮付着直下の電顕所見では、脱灰露出セメント質線維に inactive な線維芽細胞が近接する像を示したが、この細胞と露出セメント質線維間にはほとんど新生線維様物質の介在は認められなかった (Fig. 2-c)。より根尖側部の光顕所見では、細胞成分に富む肉芽組織が脱灰セメント質に接し、ここでは細胞自身が露出セメント質線維間に進入する像もみられた (Fig. 2-d)。電顕的には、euchromatic な核、発達した r-ER、リボゾームを有した細胞が、細胞外に活発な線維様物質の形成を行い、この細胞と露出線維間に線維様物質の介在がみられた (Fig. 2-e)。

術後2週では、週1回の少ないブラッシングの影響によるものと思われるが、上皮付着部直下には軽度の炎症性細胞浸潤が認められ、ほとんど脱灰されていないセメント質面に沿って上皮の深行増殖が認められた。しかし、その増殖は完全脱灰セメント質部の最歯冠側部でとどまっていた (Fig. 3-a)。付着上皮下では、介在する肉芽組織は、1週に比べてより線維化し、新旧歯肉組織の区別が付きにくくなっていた。脱灰セメント質には、細胞が密に平行な配列をしていた (Fig. 3-b)。電顕像では、それらが伸展して根面に近接していたが、露出セメント質とその細胞間には典型的な周期構造を有するコラーゲン線維が形成され、加えて、一部、新生線維は脱灰露出セメント質線維内に進入する像を呈していた (Fig. 3-c-i, 3-c-ii)。他方、クエン酸処理を施さなかった表層搔爬セメント質においては、術後1週でみられた歯冠側部の上皮の位置が術後2週例でもクエン酸塗布例と同様、かなり歯冠側に位置していた (Fig. 4-a)。さらに新生線維はセメント質面へ垂直に付着し、この週ですでに本来の付着様式が再確立されていた (Fig. 4-b)。

クエン酸塗布例術後3週では、1, 2週に比べて露出セメント質線維とそれに近接する細胞間には、より多くの新生線維の介在がみられた。また、脱灰露出セメント質線維と新生線維が交錯している部分も多くみられ、interdigitation が確立されつつあった (Fig. 5)。

考 察

歯肉剝離搔爬手術後の付着を考える際、軟組織側の対応の重要性は勿論のこと、根面性状がその付着成就に大きく関与することが知られている。現在行われている一般的な根面処理法は、セメント質を全て除去、象牙質新

生面を露出させる方法である。これはポケットの形成に伴って口腔内環境に曝されたセメント質が、エンドトキシンの浸透をはじめとして種々の変化をこうむっていると考えられることからである。しかし、このセメント質が全て除去されて滑沢化された象牙質面には、新生セメント質の形成が根尖側のごく一部にしか認められないこと^{9,10)}から、近年、他の有効な根面性状の検索に力が注がれている。その一つに、象牙質面へのクエン酸塗布がある。周知のように、これは象牙質面を脱灰することにより、象牙質コラーゲン線維を露出せしめ、それらと新生歯肉線維との結合を目的とした根面処理法である。しかし、この方法に対する現在の評価は、動物実験、特に犬を研究対象動物とした場合には良好な結果が得られているものの、ヒトへの臨床応用では、その成否が相半ばし、むしろ新旧線維の新結合獲得は余り期待できないというのが現状である^{17,18,22~29)}。

他方、西村ら³⁰⁾は、セメント質保存を前提に、セメント質の掻爬は、種々の変化、侵襲をこうむっている表層セメント質にとどめ、深層セメント質は残存させ、その残存セメント質に対する付着を検索している。その結果、この根面状況では、術後早期に集積した細胞が、新生コラーゲンを産生し、良好な付着が確立すると報告している。

本実験においても、表層掻爬にとどめたセメント質には、術後2週で、セメント質面に対して垂直的な封入を伴った線維性付着が再確立された。この所見は、本研究の主目的である脱灰露出セメント質線維と新生歯肉線維との linkage に比べても、より早く理想的な付着がなされており、西村ら³⁰⁾の結果を再確認した。このように健全歯の場合、表層掻爬セメント質に対する歯肉線維付着は、歯根面に歯根膜線維の残存した場合の根面状況に比べても、遜色のない速さをもって付着結合が回復される。

半面、冒頭にも述べたように、この根面操作をヒト歯周疾患歯に施した際、サル健全歯掻爬セメント質にみられたような良好な治癒様式とはらず、上皮付着部直下に炎症性反応がみられた¹⁹⁾。この原因として、術後ペリオドンタルバック下に沈着したブラック、あるいは表層セメント質の不完全な掻爬によるものとも考えられるが、従来からの指摘にもあるように、ある部位ではエンドトキシンが深層セメント質に浸透し、それが抗原として作用したのかもしれない。事実、疾患歯セメント質でのエンドトキシンや細菌の侵襲範囲については、現在なお、意見の対立がある。

本実験の実験目的は、エンドトキシンが深層セメント質へ浸透した場合を想定し、クエン酸の持つもう1つの作用いわゆる解毒作用を利用すること^{20,21)}と、他方、酸処理するとはいえ、セメント質そのものの保存を図りたいという考えからである。従来から、セメント質全層を除去した象牙質面へのクエン酸塗布に関する報告は多数みられる。この根面処理に対する効果は、Ririe ら²⁶⁾がイヌを用いて行った実験では、実験7日目で露出コラーゲンと新生コラーゲンの interdigitation を報告している。しかし、サルを用いて同様の根面処理を行った西村らの報告³¹⁾では、術後10日目でも、interdigitation は認められず、露出線維対応創傷部は、なお線維組織として organization のみられない肉芽組織によって占められていた。一方、この根面処理に対しては、Ririe ら²⁶⁾と同様、良好な付着結果を報告するものもみられるが、総じて、interdigitation を認めなかった報告が多い。すなわち、interdigitation という付着様式とはらず、根面の広範囲な吸収あるいは ankylosis を呈したという報告^{32~34)}がそれらである。

脱灰セメント質に対する付着研究は、セメント質露出コラーゲンと培養線維芽細胞との interaction を観察した報告はみられる^{35~38)}が、現在のところ *in vivo* における検索は施されていない。わずかに、root planing 時に偶然取り残したセメント質にクエン酸塗布がなされ、それに対する付着観察があるにすぎない^{18,23)}。クエン酸脱灰露出セメント質線維に対する本実験結果では、術後1週で、細胞成分に富む肉芽組織による修復がみられ、電顕的にも、セメント芽細胞と考えられる細胞が露出線維上に集積し、それらが活発な細胞外基質産生を行っていた。

この新生細胞の、セメント質露出コラーゲンに対する明らかに良好な付着形成は、一体何に起因するのであろうか。以下の様な要因が関与すると著者は推測する。

(1) セメント質には、その位置的關係から、歯根膜線維、歯肉線維が埋入している。従って、コラーゲンのタイプという点から考えると、セメント質のコラーゲンタイプは、新生封入線維のコラーゲンタイプと遺伝子的に同一か、または非常に類似しているコラーゲンを含んでいる可能性がある。

(2) 象牙質とセメント質では石灰化の程度が異なり、セメント質の方が石灰化度が低い。このことは、セメント質コラーゲンが象牙質コラーゲンに比べて容易に露出してくることを意味する。換言すれば、石灰化度の低いセメント質では脱灰が迅速に行われるので、露出してく

るコラーゲンは酸による変性作用をほとんど受けていないのかもしれない。また、現在のところ何ら証明はなされていないが、このセメント質コラーゲンは、酸に対して、象牙質コラーゲンより抵抗性を有しているのかも知れない。以上挙げた可能性は、露出セメント質コラーゲンが、コラーゲンとしての基本分子構造である cross-linkage を保持するとともに、そのコラーゲンのタイプの同一性は、新生コラーゲンとの結合を促進せしめるものと思われる。すなわち、歯根膜線維が根面に残存した場合と類似した治癒様式をとるものと思われる。

(3) 象牙質露出線維とセメント質露出線維とは線維密度が違う。すなわち前者は高く、後者は低い。この差異が細胞の集積に何等かの影響を与えるかもしれない。事実、本組織所見が示したように、セメント質線維間には細胞の進入がみられ、この状態が細胞にとって好適な線維密度であるのかもしれない。ただ、この細胞がセメント芽細胞化するのではなく、破歯細胞化する可能性もあるが、本実験では観察し得なかった。

(4) 脱灰露出セメント質コラーゲン間基質物質の方が、脱灰露出象牙質コラーゲンのそれよりも集積する細胞の蛋白合成を賦活するのか、または、セメント質基質には、象牙質基質には含まれない何か未知の特異的物質が存在するのかもしれない。Nishimura ら³⁹⁾は脱灰セメント質、脱灰象牙質をはじめとして歯牙各物質の細胞に対しての chemoattractant を検索しているが、彼らの結果では、脱灰セメント質、脱灰象牙質ともかなりの chemoattractant を示したが、両者間には差異を認めなかった。

一方、Somerman ら^{40~43)}は歯の各組織からの抽出物が細胞の DNA 活性にどのような影響を与えるかを検索したところ、象牙質抽出物に比べセメント質抽出物に有意の数値を認め、セメント質基質物質が細胞の蛋白合成に影響を与えることを示している。このことは、象牙質、セメント質露出コラーゲンは、両者とも細胞に対して誘因力を有するが、ひきよせた細胞をセメント芽細胞化させる能力は、脱灰露出セメント質にしか存在しないのか、または脱灰露出セメント質では強いことを示している。

以上のことから、脱灰露出セメント質線維は脱灰露出象牙質線維に比べて、近接する細胞に活発な細胞外基質線維合成を行わせ、ひいては、早期に新生歯肉線維との interdigitation へ移行せしめるものと考えられる。

結 語

現在考えられる歯周疾患歯セメント質の不利益を最大限除去出来るとみなされる根面処理法、すなわち、セメント質表層を搔爬、加えてクエン酸塗布を施した根面と新生歯肉の付着機構を組織学的に検索した。その結果、この根面処理法によって、線維性付着を早期に確立するためのより適切な根面状況が得られることが示された。

謝 辞

稿を終るにあたり、ご懇篤なご指導とご校閲を賜った山岡 昭教授に深甚の謝意を表します。

また、本研究に際し、ご教示をいただいた西村和晃講師、野口吉廣助手をはじめ、ご協力くださった教室員各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Armitage, G.C. and Christie, T.M. : Structural changes in exposed human cementum. II. Electron microscopic observations. J. Periodont. Res., 8 : 356-365, 1973.
- 2) Stahl, S.S. : The nature of healthy and diseased root surfaces. J. Periodontol., 46 : 156-161, 1975.
- 3) Emslie, R.D. : Some considerations on the role of cementum in periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 5 : 1-12, 1978.
- 4) Wirthlin, M.R., Pederson, E.D., Hancock, E.B., Lamberts, B.L. and Leonard, E.P. : The hypermineralization of diseased root surfaces. J. Periodontol., 50 : 125-127, 1979.
- 5) 長谷川絃司 : 歯周病変によるセメント質の変化と臨床的対応。紫耀 (東京都歯科医師会雑誌), 30 : 1-19, 1982.
- 6) Garrett, J.S. : Root planing : A perspective. J. Periodontol., 48 : 553-557, 1977.
- 7) 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.
- 8) Nishimine, D. and O'Leary, T.J. : Hand instru-

- mentation versus ultrasonics in the removal of endotoxins from root surfaces. J. Periodontol., 50 : 345-349, 1979.
- 9) Listgarten, M.A. : Electron microscopic study of the junction between surgically denuded root surfaces and regenerated periodontal tissues. J. Periodont. Res., 7 : 68-90, 1972.
 - 10) 野口吉廣 : 歯肉剝離搔爬手術後の歯肉の付着に関する超微構造学的研究. —外科的に象牙質を裸出させた根面に対する剝離歯肉弁の付着について—. 日歯周誌, 26 : 21-48, 1984.
 - 11) Everhart, D.L., Dahab, O., Wolff, L. and Stahl, S.S. : The further localization of antibody on cemental tissue. J. Periodontol., 53 : 168-171, 1982.
 - 12) Nakib, N.M., Bissada, N.F., Simmelink, J.W. and Goldstine, S.N. : Endotoxin penetration into root cementum of periodontally healthy and diseased human teeth. J. Periodontol., 53 : 368-378, 1987.
 - 13) Eide, B., Lie, T. and Selvig, K.A. : Surface coatings on dental cementum incident to periodontal disease. I. A scanning electron microscopic study. J. Clin. Periodontol., 10 : 157-171, 1983.
 - 14) Eide, B., Lie, T. and Selvig, K.A. : Surface coatings on dental cementum incident to periodontal disease, II. Scanning electron microscopic confirmation of a mineralized cuticle. J. Clin. Periodontol., 11 : 565-575, 1984.
 - 15) Hughes, F.J. and Smales, F.C. : Immunohistochemical investigation of the presence and distribution of cementum —associated lipopoly—saccharides in periodontal disease. J. Periodont. Res., 21 : 660-667, 1986.
 - 16) 西村和晃, 高田耕平, 野口吉広, 永石真幸, 林 正純, 白井義英, 山田 実, 山口十紀夫, 山岡 昭 : 歯肉剝離搔爬手術後の新付着に関する研究 (第7報). —汚染セメント質に関する電子顕微鏡的観察—. 日歯周誌, 27 : 846-855, 1985.
 - 17) Cole, R.T., Crigger, M., Bogle, G., Egelberg, J. and Selvig, K.A. : Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. J. Periodont. Res., 15 : 1-9, 1980.
 - 18) 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.
 - 19) 西村和晃, 高田耕平, 野口吉廣, 道家浩之介, 英保武志, 中西 徹, 山口十紀夫, 山岡 昭 : 歯肉剝離搔爬手術後の新付着に関する研究. —根面処置法に対する付着について (2). 日歯周誌, 28 : 924-925, 1986.
 - 20) Daly, C.G. : Anti-bacterial effect of citric acid treatment of periodontally diseased root surfaces *in vitro*. J. Clin. Periodontol., 9 : 386-392, 1982.
 - 21) Fine, D.H., Morris, M.L., Tabak, L. and Cole, J.D. : Preliminary characterization of material eluted from the roots of periodontally diseased teeth. J. Periodont. Res., 15 : 10-19, 1980.
 - 22) Register, A.A. : Human pocket reattachment to root dentin, demineralized *in situ*. J. Dent. Res., 54 (special issue A) : 64, 1975.
 - 23) Register, A.A. and Burdick, F.A. : Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized *in situ*. 1. Optimum range. J. Periodontol., 46 : 646-655, 1975.
 - 24) Register, A.A. and Burdick, F.A. : Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized *in situ*. 2. Defect repair. J. Periodontol., 47 : 497-505, 1976.
 - 25) Crigger, M., Bogle, G., Nilvéus, R., Egelberg, J. and Selvig, K.A. : The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs. J. Periodont. Res., 13 : 538-549, 1978.
 - 26) Ririe, C.M., Crigger, M. and Selvig, K.A. : Healing of periodontal connective tissues following surgical wounding and application of citric acid in dogs. J. Periodont. Res., 15 : 314-327, 1980.
 - 27) Polson, A.M. and Proye, M.P. : Fibrin linkage : A precursor for new attachment. J. Periodontol., 54 : 141-147, 1983.
 - 28) Stahl, S.S. and Froum, S.J. : Human clinical and histologic repair responses following the

- use of citric acid in periodontal therapy. J. Periodontol., 48 : 261-266, 1977.
- 29) Kashani, H.G., Magner, A.W. and Stahl, S.S. : The effect of root planing and citric acid applications on flap healing in humans. A histologic evaluation. J. Periodontol., 55 : 679-683, 1984.
 - 30) 西村和晃, 野口吉広, 永石真幸, 林 正純, 山田実, 中谷 聡, 山岡 昭 : 歯肉剝離搔爬手術後の新付着に関する研究 (第 11 報). 一表層一層搔爬セメント質に対する剝離歯肉弁の初期付着について. J. Clin. Electron Microscopy., 20 : 53-61, 1987.
 - 31) 西村和晃, 野口吉広, 永石真幸, 林 正純, 山口十紀夫, 山岡 昭 : 歯肉剝離搔爬手術後の新付着に関する研究 (第 10 報). 一クエン酸脱灰露出線維に対する剝離歯肉弁の初期付着について. J. Clin. Electron Microscopy., 19 : 237-244, 1986.
 - 32) López, N.J. : Connective tissue regeneration to periodontally diseased roots, planed and conditioned with citric acid and implanted into the oral mucosa. J. Periodontol., 55 : 381-390, 1984.
 - 33) Aukhil, I., Greco, G., Suggs, C. and Torney, D. : Root resorption potentials of granulation tissue from bone and flap connective tissue. J. Periodont. Res., 21 : 531-542, 1986.
 - 34) Aukhil, I., Suggs, C. and Pettersson, E. : Healing following implantation of partially-demineralized roots in palatal connective tissue. J. Periodont. Res., 21 : 569-575, 1986.
 - 35) Pitaru, S., Gray, A., Aubin, J.E. and Melcher, A.H. : The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts *in vitro*. J. Periodont. Res., 19 : 408-418, 1984.
 - 36) Pitaru, S. and Melcher, A.H. : Organization of an oriented fiber system *in vitro* by human gingival fibroblasts attached to dental tissue : Relationship between cells and mineralized and demineralized tissue. J. Periodont. Res., 22 : 6-13, 1987.
 - 37) Preisig, E. and Schroeder, H.E. : Longterm culture of human periodontal ligament cells with autologous root discs. J. Periodont. Res., 23 : 211-221, 1988.
 - 38) Nishimura, K. and Aukhil, I. : Matrix synthesis by HGF on dentin and cementum surfaces. J. Dent. Res., 68 (special issue) : 362, 1989.
 - 39) Nishimura, K., Hayashi, M., Matsuda, K., Shigeyama, Y., Yamasaki, A. and Yamaoka, A. : The chemoattractive potency of periodontal ligament, cementum and dentin for human gingival fibroblasts. J. Periodont. Res., 24 : 146-148, 1989.
 - 40) Somerman, M.J., Archer, S.Y., Foster, R.A. and Hassell, T.M. : Extracts of mineralized tissue enhance protein production by human gingival fibroblasts *in vitro*. J. Dent. Res., 64 (special issue) : 217, 1985.
 - 41) Somerman, M.J., Archer, S.Y., Shteyer, A. and Foster, R.A. : Protein production by human gingival fibroblasts is enhanced by guanidine EDTA extracts of cementum. J. Periodont. Res., 22 : 75-77, 1987.
 - 42) Somerman, M.J., Perez-Mera, M., Merkhofer, R.M. and Foster, R.A. : *In vitro* evaluation of extracts of mineralized tissues for their application in attachment of fibrous tissue. J. Periodontol., 58 : 349-351, 1987.
 - 43) Somerman, M.J., Foster, R.A., Imm, G.M., Sauk, J.J. and Archer, S.Y. : Periodontal ligament cells and gingival fibroblasts respond differently to attachment factors *in vitro*. J. Periodontol., 60 : 73-77, 1989.

Legends

Fig. 2

Micrographs of the curetted cementum treated with citric acid one week postoperatively.

a :

A few inflammatory cells infiltrating into the connective tissue underlying the junctional epithelium and lateral extension of the junctional epithelium into the connective tissue are seen. Note the apical end of the junctional epithelium (arrowhead) located on the enamel surface.

b :

In the zone immediately beneath the junctional epithelium, granulation tissue is interposed between the lightly stained demineralized cementum and the replaced gingival tissue.

c :

Electron micrograph of the zone immediately beneath the junctional epithelium, in which an inactive fibroblast (Fb) with less r-ER and fewer Golgi-complexes is aligned parallel to the demineralized cementum (DC). No newly formed collagen material is seen between the exposed cement fibrils and the fibroblast.

d :

In a more apical portion, granulation tissue with greater cell density covers the demineralized cement surface. Note fibroblasts extending into the demineralized cementum.

e :

Electron micrograph of the zone in Fig. 2-d. The fibroblast (Fb) with well developed r-ER, euchromatic nucleus and numerous free ribosomes appears among exposed cement fibrils, resulting in newly formed collagen materials between the fibroblast and the exposed cement fibrils.

Fig. 3

Micrographs of the curetted cementum treated with citric acid two weeks postoperatively.

a :

A few inflammatory cells have infiltrated into the connective tissue underlying the junctional epithelium. The junctional epithelium has migrated apically along the undemineralized cementum. Note the apical end of the junctional epithelium (arrowhead) located on the coronal border of demineralized cementum.

b :

In the zone beneath the junctional epithelium, granulation tissue appears to be more fibrous after two weeks than after just one week, and the cells in the granulation tissue are oriented in parallel adjacent to the demineralized cementum. Note the junction between the new and old tissues.

c :

Electron micrograph of the zone in Fig. 3-b. Newly formed collagen fibrils showing typical periodicity have formed between the fibroblast (Fb) and the demineralized cementum (DC).

Note collagen fibrils (arrows) inserted perpendicularly into the exposed cement fibrils.

Fig. 4

Micrographs of curetted cementum without citric acid application two weeks postoperatively.

a :

The junctional epithelium is located on the coronal portion just as in the sites to which citric acid was applied.

b :

Newly formed collagen fibers are inserted perpendicularly into the cementum, i.e., a new fibrous attachment has been reestablished. Note resorption lacunae on the cement surface.

Fig. 5

Micrograph of the curetted cementum treated with citric acid three weeks postoperatively.

Newly formed collagen fibrils (NCf) have formed between the demineralized cementum (DC) and the fibroblasts (Fb) adjacent to them after three weeks rather than after one or two weeks. Note the interdigitation of exposed cement fibrils with newly formed collagen fibrils.

Fig. 2

Fig. 2 つづき

Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5