歯周疾患罹患セメント質に対する治療法の研究

I. ヒト歯肉由来培養線維芽細胞の付着・増殖による評価

佃 宣 和

北海道大学歯学部歯科保存学第2講座

(指導: 加藤 熙教授)

(平成2年12月25日受付)

A Study of Treatments on Periodontally Diseased Root Cementum

I. *In Vitro* Assessments by Growth of Human Gingival Fibroblasts

Nobukazu TSUKUDA

Department of Periodontology and Endodontology,

Hokkaido University School of Dentistry

Kita 13, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060, JAPAN

(Director: Prof. Hiroshi KATO)

This study was performed to know the best way of some periodontal treatments on the diseased root cementum by attachment and growth of cultured human gingival fibroblasts.

Four modalities of root treatments were performed as experimental groups: 1) ultrasonic scaling, Sc. 2) polishing by rubber cup and paste followed by scaling, Sc+Po. 3) shaved 20 μ m surface layer of cementum by curette scaler followed by scaling, Sc+20 μ Rp. 4) removed all cementum was by curette type scaler followed by scaling (thoroughly root planing), Sc+Rp. Three groups were made as controls: 1) no treatment of diseased cementum 2) thoroughly root planing of healthy teeth 3) no treatment of healthy teeth.

Root fragments were prepared from surgically extracted human healthy and periodontally involved teeth and each tablet had 3 mm diameter and 1 mm thickness. Each group had 10 tablets. The treated root fragments were placed in petridis-

hes and seeded 1×10^5 /ml fibroblasts in E-MEM containing 200 units/ml penicillin and 200 μ m/ml streptomycin followed by incubation for 72 h. After the tablets were fixed and stained, the number of attachments and growth cells were counted by light microscopy and examined the morphologies by S.E.M.

The results were as follows:

1) the number of fibroblasts on the Sc-tablets was a few and their shapes were not enough to spread. 2) the number of cells attached on the Sc+Po-tablets was a few, but more than Sc group. 3) the number of cells attached on Sc+20 μ Rp and Sc+Rp groups was increased to the control level (C and C-Rp groups). Their cells were shaped flat and spreading, and they had many projections connecting to other cells.

These observations suggested that the treatments of shaving 20 μ m on the root surface and removing all cementum (thoroughly root planing) gave a good

condition for attachment and growth of fibroblasts.

Key words : Scaling, Polishing, Root planing, Diseased root cementum, Cultured human gingival fibroblast

要旨 : 歯周疾患罹患セメント質に対する適切な治療法を知る目的で各種根面処置を行い、ヒト歯肉培養線維芽細胞の付着・増殖状態の観察により比較検討した。その結果、1) 超音波 scaling した群 (Sc 群) では、付着細胞数が少なく、パラツキも大きく、細胞形態は突起の発達が不十分であった。2) scaling+polishing 群 (Sc+Po 群) は、罹患根面無処置の P 群と比べ付着細胞数はやや多いものの少なく、パラツキが大きかった。3) scaling+罹患セメント質 20 μ m 削除群 (Sc+20 μ Rp 群) の付着細胞数は多く、健全歯根面無処置の C 群と類似し、細胞はよく発育して数多くの突起が伸びていた。4) scaling+root planing 群 (Sc+Rp 群) の付着細胞数は C 群や Sc+20 μ Rp 群よりわずかに少ないが、その形態もよく発育しており多くの突起が見られた。以上より、Sc+20 μ Rp 群と Sc+Rp 群は両者とも治療処置として有効であると考えられた。

索引用語 : スケーリング, ポリッシング, ルートプレーニング, 罹患セメント質, ヒト歯肉培養線維芽細胞

緒 言

進行した歯周炎では深い歯周ポケットが存在し、歯根は歯周ポケット内に露出して歯根表層のセメント質には、プラークや歯石が沈着して病的な変化の起っていることが知られている。従来、歯周ポケットを形成している歯肉を、露出した罹患根面に再び付着させるためには scaling や root planing を行い、歯石や罹患セメント質を除去する必要があると考えられてきた。これはプラーク由来の汚染物質が、露出セメント質の深部にまで浸透しており、歯肉の付着を障害すると考えられていたためである¹⁻⁴⁾。これは Aleo ら (1975)⁵⁾ が細胞の付着増殖障害物質として endotoxin が重要な役割をしていることを示唆し、Jones ら (1978)¹⁾ や Daly ら (1982)⁶⁾ が根面への細胞の付着増殖のためには十分な root planing の必要性を報告したことなどに基づいている。しかし実際の臨床では罹患セメント質をどの程度除去すれば良いかについての明確な基準がなく、スケーラー操作時の擦過音や根面の滑沢度など術者の主観的判断に委ねられているのが現状である。一方 Nakib ら (1982)⁷⁾ がグラム陰性菌由来の endotoxin は根表面に局限して存在する可能性が高いことを報告し、さらに scaling のみや根表面の polishing のみでも再付着に有効であるという報告⁸⁾もなされ、現在まで種々の根面処置が検討されてきているが統一した見解は得られていない。

そこで著者は、日常臨床において歯周ポケット内に露出した罹患セメント質に対する適切な治療法をより明確にする目的で本実験を行った。実験は、*in vitro* においてヒト歯周疾患罹患根面に対し、臨床と類似の方

法で4種類の根面処置を行い、処置後の根面上でヒト歯肉由来線維芽細胞を培養し、付着・増殖した細胞数の測定と走査型顕微鏡による付着細胞の形態観察を行って、各種根面処置法の効果について比較検討した。

材料および方法

1. 実験材料

1) 被験歯の選択

被験歯は、矯正の目的で便宜抜去した小白歯及び完全埋伏智歯 10 本と、高度の歯周炎に罹患し 5 mm 以上の深い歯周ポケットを有し、過去に歯周治療の既往がなく、最近 6 ヶ月間抗生物質を服用していない患者の歯周疾患罹患歯 50 本を用いた。各歯は歯周ポケットの深さを測定後抜去し、直ちに -80°C で保存した。

2) ヒト歯肉由来線維芽細胞の準備と増殖の評価

21 歳の健康な男性の炎症の認められない歯肉を初代培養し、歯肉片より out growth してきた線維芽細胞を primary cells として以後増殖継代し、E-MEM 中 -80°C で実験開始まで保存した⁹⁾。なお実験には 9~11 世代の線維芽細胞を使用した。培地は、10% 非動化ウシ胎児血清 (Foetal Bovine Serum, Flow Laboratories 製, U.S.A. 以下 FBS と略す) 及び L-glutamin 添加した E-MEM を使用した。

またこの細胞の増殖状態を調べる目的で、 ϕ 35 mm ペトリディッシュに浮遊細胞数が 1×10^5 cells/ml となる様に調整した 10% FBS 添加 E-MEM を 1 ml/分注し 7 日間培養した。3 日目と 5 日目に培養液を交換し、毎日 3 枚ずつ計 21 枚のペトリディッシュ内の細胞を 0.25% トリプシン溶液 (Gibco 社製, U.S.A.) で剝離し、その細胞数を Burkert-Turk の血球算定盤で計測

図 1 研磨剤とラバーカップによる
根表面の研磨

図 2 根表面の削除量の測定に使用
したデジマチックインジケー
ター

した。

2. 実験方法

1) 試料の作製

冷凍保存した被験歯を室温解凍後、対照群 3 群と実験群 4 群の計 7 群に分け、以下の条件に従い各種根面処置を行った。

〔対照群〕

C 群 (健全歯根面無処置) :

健全歯の根面を scaling や root planing せず、根面の軟組織のみを手用キュレットスケーラーで機械的に除去し、セメント質にはできる限り触れない様にした。

C-Rp 群 (健全歯根面 root planing) :

健全歯根面を手用キュレットスケーラーで十分 root planing してセメント質を全て除去した。

P 群 (歯周疾患罹患根面無処置) :

歯周ポケット内に露出していた根面を scaling や planing せず、水洗により遊離プラークのみを除去した。

〔実験群〕

Sc 群 (超音波 scaling) :

超音波スケーラー-ENAC と SC-5 チップ (オサダ社製, 東京)^{10,11)} を用いて肉眼で見える歯石のみを除去後、露出根面のうち比較的平坦な一面を選び、さらに 15 秒間根表面全体を丁寧に scaling した。セメント質は全く除去しなかった。

Sc+Po 群 (scaling+polishing) :

超音波スケーラーで scaling 後、ラバーカップと研磨剤 (ネオ製薬工業社製, 東京) で根表面全体を 15 秒間研磨した (図 1)。

Sc+20 μ Rp 群 (scaling+罹患セメント質 20 μ m 削除) :

超音波スケーラーで scaling 後、被験歯を万力に固定し根表面にマニキュアを塗布して、デジマチックインジケータ (三豊社製, 東京) (図 2) で計測しながら、手用キュレットスケーラーで根表層の罹患セメント質を root planing し、深さ 20 μ m まで削除した。

Sc+Rp 群 (scaling+root planing) :

超音波スケーラーで scaling 後、罹患セメント質を手用キュレットスケーラー (Hu-Friedy 社製, U.S.A.) No. 5-6 で全て除去し、健全象牙質を露出させた。

なお治療に用いた全ての器具は、オートクレーブ (132°C, 20 分) 滅菌して使用した。

2) 試験片の採取

試験片は各種根面処置を行った後、電気エンジンに滅菌したトレフィンバー #39 S (京セラ製, 京都) をつけて各群につき 10 個ずつ、直径 3 mm 厚さ 1 mm のタブレット状に採取した。尚、表面 (治療面) と裏面を区別するため裏面にグループを付与した (図 3, 4)。

図 3 試験片の採取

図 4 試験片の採取に使用したトレフィンバー及び試験片の表面と裏面

3) 各処置根面上での細胞培養

各根面処置を行った試験片を超音波洗浄 (10 分間) 後オートクレーブ滅菌 (132°C, 20 分間) を行い, ϕ 35 mm ペトリディッシュに 5 個ずつ静置し, 1×10^5 cells/ml の浮遊細胞を試験片が培養液中に浸漬するようにそれぞれ 2 ml ずつ植え付けた。培養液は 10% FBS 添加した L-glutamin を含む E-MEM (ペニシリン 200 U/ml, ストレプトマイシン 200 μ g/ml 添加) を使用し, 37°C 5% CO₂ 95% air 下で 72 時間培養した (図 5)。

4) 付着増殖細胞数の計測

ペトリディッシュより試験片を取り出し, カコジル酸緩衝液で表面を 2~3 度洗浄した後, 2.5% グルタルアルデヒド溶液 (pH 7.4, 4°C) で 1 時間固定し, 20 分間ギムザ染色を行った。各試験片上で付着増殖した細胞数の計測は落射照明下に光学顕微鏡 (OLYMPUS BH-2, 東京) 倍率 100 倍で行い, 顕微鏡の接眼レンズに方眼マイクロメーター (5×5 mm, 1 方眼 0.5×0.5 mm) を取り付け, 任意の 3 視野を選びマイクロメーターの対角線方向に方眼 10 カ所, 計 30 方眼中的細胞数を計測した (図 6)。

5) 走査型電子顕微鏡による観察

各種処置根面及び付着増殖した細胞の状態を観察す

図 5 細胞培養と評価

図 6 細胞数の計測

るために, 細胞数の計測が終了した試験片をエタノール上昇系列にて脱水, 酢酸イソアミル置換後, 臨界点乾燥 (HCP-1 形, 日立製, 東京) を行い, イオンコート (IB-3, Eiko 社製, 茨城) 走査型電子顕微鏡 (X-650 型, 日立製, 東京), 加速電圧 15 Kv で観察した。

結 果

1. ヒト歯肉由来線維芽細胞の増殖度

図 7 に実験に使用した線維芽細胞の増殖度を示した。培養 2 日目まではあまり細胞増殖は起こらないが 2 日目から 7 日目まではほぼ一定の増殖率を示した。しかし, 培養 5 日目からはシャーレ内の細胞の一部重層化がみられたので, 各処置根面上の付着増殖細胞数を測定する際には増殖率が一定しており, かつ confluence に達する前の期間として培養 3 日目 (72 時間後) の根面上に付着・増殖した細胞数を計測することにした。

図 7 ヒト歯肉由来
培養線維芽細胞の増殖度

2. 付着増殖線維芽細胞数の測定結果

1) 歯周疾患罹患根面無処置群 (P 群) と他の群との比較

各処置根面上的付着増殖細胞数を測定し、P 群と比較した結果を図 8 に示した。

P 群の付着増殖細胞数は、平均 2.4 ± 5.0 個で細胞の付着はほとんど認められなかった。Sc 群は、平均 6.5 ± 8.0 個で P 群に比べて、付着細胞数は多いもののバラツキが大きく、P 群との間に有意差は見られなかった。Sc+Po 群は、平均 9.0 ± 10.3 個であり Sc 群よりわずかに多いものの、バラツキは Sc 群と類似しており、P 群との間に統計学的に有意差は認められなかった。Sc+20 μ Rp 群は、平均 22.5 ± 6.3 個で P 群に比べて明らかに多く、統計学的に Wilcoxon 検定 1% の危険率で有意差が認められた。Sc+Rp 群は、平均 19.7 ± 7.5 個で P 群と比較して明らかに付着細胞数は多く、統計学的に 1% の危険率で有意差が認められた。

2) 健全歯根面無処置群 (C 群) と他の群との比較
各処置根面上的付着増殖細胞数を測定し、C 群と比較した結果を図 9 に示した。

C 群の付着増殖細胞数は、平均 23.4 ± 4.2 個で多くの細胞の付着が見られた。Sc 群、Sc+Po 群は、C 群と比べて明らかに少なく、統計学的に 1% の危険率で有意差が認められた。Sc+20 μ Rp 群は、C 群とほぼ同

図 8 各治療処置根面上の細胞数 (P 群との比較)

図 9 各治療処置根面上の細胞数 (C 群との比較)

じ付着増殖細胞数を示し、統計学的にも有意差は見られなかった。Sc+Rp 群、C-Rp 群は、C 群に比べるとわずかに少ないが、統計学的に有意差は認められなかった。

3) 各種根面処置群間の有意差検定

各処置群間の付着増殖細胞数の有意差検定の結果を表 1 に示した。

P 群、Sc 群、Sc+Po 群との間にはお互いに有意差は認められなかった。またこれら 3 群と Sc+20 μ Rp 群、Sc+Rp 群、C-Rp 群および C 群との間に各々 Wilcoxon 検定 5% から 1% の危険率で統計学的に有意差が認められた。Sc+20 μ Rp 群、Sc+Rp 群、C-Rp 群、C 群との間にはお互いに有意差は認められなかった。

3. 走査型電顕による付着細胞の形態学的観察

〔対照群〕

C 群：数多くの細胞が細長い突起を伸ばし、お互いに密着して根表面を被っている像が観察された (図 10)。

C-Rp 群：根表面は比較的滑らかで、細胞はよく発育して根面に密着しており、多くの細長い突起が伸びている像が観察された (図 11)。

P 群：根表面はセメント質様の小隆起が著明で、細胞はきわめて少なく、細長く伸長してはいるが突起の

表 1 各種治療処置群間の有意差

	Sc群	Sc+Po群	Sc+ 20 μ Rp群	Sc+Rp群	C-Rp群	C群
P群	n.s.	n.s.	0.01	0.01	0.01	0.01
	Sc群	n.s.	0.01	0.01	0.01	0.01
		Sc+Po群	0.05	0.05	0.05	0.01
			Sc+ 20 μ Rp群	n.s.	n.s.	n.s.
				Sc+Rp群	n.s.	n.s.
					C-Rp群	n.s.

n.s.=not significant

図 10 健全歯根面無処置 (C群)の根面上の細胞

根表面 (*) は凹凸が見られるが比較的平坦で、細胞 (Fb) は数多く見られ、細長い突起 (矢印) を伸ばし、お互いに密着して根面を被っている。

図 11 健全歯根面 root planing (C-Rp 群) の根面上の細胞

根表面 (*) は比較的平坦で、細胞 (Fb) はよく発達して根面に密着しており、多くの細長い突起 (矢印) が伸びている。

発達は悪く、根表面と細胞の密着も不十分であった (図 12)。

〔実験群〕

Sc 群：根表面が無構造なもので被われており、細胞は少なく、その形は伸びてはいるものの突起の発達は不十分であった (図 13)。

Sc+Po 群：根表面の凹凸は少なく比較的平坦で、細胞は細長く伸びてはいるが突起の発達は不十分であった (図 14)。

Sc+20 μ Rp 群：根表面が鱗状となっており、細胞は数多くの短い突起が表面の凹凸に入り込み、密着して扁平な薄い多角形を呈していた。また多くの細長い

突起が四方八方に伸び、他の細胞突起ともつながっている像が観察された (図 15, 16)。

Sc+Rp 群：根表面の凹凸が少なく象牙細管の開口部も観察された。細胞は薄く扁平で数多くの短い突起によって根面と密着しており、細長い突起を伸ばして他の細胞ともつながっている像が観察された (図 17)。

考 察

進行した歯周疾患の治療、特に再付着を得る目的の治療を行うにあたっては、歯周ポケット内に露出してプラークや歯石が沈着し、病的な変化が生じている罹

図 12 歯周疾患罹患根面処置 (P 群) の根面上の細胞

根表面 (*) はセメント質様の小隆起が著明で、細胞 (Fb) はきわめて少なく、細長く伸びてはいるものの突起の発達は悪く、細胞の密着も不十分である。

図 13 超音波 Scaling した (Sc 群) 根面上の細胞

根表面 (*) は無構造なもので被われており、細胞は少なく、その形は伸びているものの突起の発達は不十分である。

図 14 Scaling+polishing した (Sc+Po 群) 根面上の細胞

根表面 (*) の凹凸は少なく比較的平坦で、細胞 (Fb) は細長く伸びてはいるが突起の発達は不十分である。

図 15 Scaling+罹患セメント質 20 μm 削除 (SC+20 μRp 群) した根面上の細胞

根表面 (*) は鱗状で、細胞 (Fb) は短い突起が表面の凹凸に入り込み密着して、扁平な薄い多角形を呈している。また細長い突起 (矢印) が伸びて他の細胞とつながっている。

図 16 Scaling+罹患セメント質
20 μ m 削除 (Sc+20 μ Rp
群) の根面上の細胞

図 15 の拡大像, 根表面 (*) は鱗
状をしており, 細胞 (Fb) は薄く
多角形をして, 細長い突起 (矢印)
を伸ばしている。

患セメント質と, ポケット壁を形成し炎症性細胞浸潤が著しい歯周組織との両面の処置が必要であり, 根面の処置として日常臨床では scaling と root planing が行われている。この中で scaling はプラーク, 歯石など歯面への付着物の除去に, root planing は, セメント質の汚染部分を除去することがその達成目標とされている。しかしこれらの処置をどの程度まで行うべきかについては, 術者の主観的判断に委ねられており明確な判断基準は得られていないのが現状である。すなわちこれまで罹患セメント質に対して, 種々の処置法が検討されているものの, 罹患セメント質をすべて除去する必要があるという報告¹⁻⁴⁾がある一方, セメント質表層を polishing や brushing するのみでも十分効果があるという報告^{8,12)}もあり, いまだ統一した見解はない。これは従来の研究では, 根面処置法として行っている scaling, polishing, root planing の操作基準が, “臨床と同様に”, “十分に”, “徹底的に”などと表現され明確でなく, 研究者により相違が見られ比較が困難なことから, 根面の処置効果の評価方法の違いにより十分判定できていなかったことが原因と考えられる。そこで今回, 著者は歯周ポケット内に露出した罹患セメント質に対し, 各治療処置の操作基準を一定にし, いかなる根面処置法が線維芽細胞の付着にとって

図 17 Scaling+root planing
(Sc+Rp 群) の根面上の細胞

根表面の凹凸は少なく象牙細管の開
口部 (*) が見られる。細胞
(Fb) は薄く扁平で数多くの短い突
起により根面と突着して, 細長い突
起 (矢印) を伸ばして他の細胞とつ
ながっている。

有効であるかを解明し, 日常臨床において行うべき適切な治療法を明確にする目的で実験を行った。

1. 実験方法について

各種根面処置は, 1) 超音波 scaling, 2) scaling 後 polishing, 3) scaling 後根表層 20 μ m root planing, 4) scaling 後十分な root planing の 4 種類を設定した。実験群の scaling は超音波スケーラーを用い, 肉眼で認識できる歯石を全て除去した後, さらに 15 秒間根表面を丁寧に scaling して, 超音波スケーラーの効果が十分得られるよう考慮した。Polishing は, scaling 後ラバーカップと研磨剤により研磨する方法を用いたが, これは再付着を目的とした根面に対する治療法としては, まだ臨床的には確立されていない方法である。今回は充填物の研磨に用いられる研磨剤で, 使用書に従い 15 秒間根面を研磨したが, この時間は研磨効果の現れる必要最小限の長さであり, 実際に臨床応用可能となった場合に, 処置時間として適当な長さであると考えられる。しかし今回の実験方法を実際の臨床で行う場合, 研磨剤の滅菌や polishing 後の研磨剤の洗浄など種々の解決すべき問題も存在している。罹患セメント質を 20 μ m root planing する方法は, 正確さが必要なことからデジマチックインジケーターを使用しながら手用スケーラーを用いて行った。この方法は, 削

除した深さを直接計測しながら root planing できる利点があるが、計測点が一点であるという欠点もあり、削除量に誤差が生じる可能性が考えられる。本実験ではこの欠点を補うために、被験歯根面に平坦な部分を選び、被験部位を直径 3 mm と狭くし、さらに根面にマニキュアを塗布して手用スケーラーのストローク圧をできるだけ一定にし、根面を均一に削除できるように工夫して、削除量の誤差を最小限にした。また 20 μm の値は、大島(1987)¹³⁾ が報告した罹患セメント質表層 0~20 μm の深さの歯質中に細胞増殖を抑制する物質が存在するという結果を参考にしてしている。セメント質を全て取り除く root planing は、臨床と同じ方法すなわち十分に研磨した手用キュレットスケーラーで根面の硬さと滑沢度および擦過音を参考にして処置完了を判定した。

一方対照群は、健全歯と病的歯根面の両方を設定し、各種根面処置による罹患根面の改善程度をより正確に比較検討できるよう考慮した。また健全歯根面以外に健全歯根面を root planing してセメント質をすべて取り除き、健全象牙質面を露出させた群を設けたのは、健全セメント質面とこれを取り除いた健全象牙質面、および病的セメント質を全て取り除いた象牙質面との間で、線維芽細胞の付着にどのような差があるかを知ることがあると考えたためである。

試験片の採取にはトレフィンバー#39 S を用い、直径 3 mm 厚さ 1 mm のタブレット状にして大きさと形を規定した。従来このような方法で試験片を作製した研究はなく、この方法を採用することにより線維芽細胞の植えつけ (seeding) や付着細胞数の測定の誤差を低く押さえることが可能になった。

2. 結果について

Sc 群は根面に付着する細胞が少なく、バラツキも多く、細胞の形態は細長く伸びてはいるものの突起の発達も不十分であった。これは濱ら (1982)¹⁴⁾、藤井ら (1989)¹⁵⁾ が、手用スケーラーで scaling した実験とほぼ同じ結果であり、使用した器具は異なっても類似した結果が得られている。

Sc+Po 群は、付着細胞数は Sc 群よりわずかに多かったが、バラツキが大きく細胞突起の発達も不十分であった。従って根面処置としては確実性に乏しいと考えられた。しかし Nyman ら (1988)¹⁶⁾ は、flap 手術において scaling 後に根面をラバーカップで清掃する治療法のみでも、治癒後の臨床診査では root planing 群と差はなく、polishing のみでも徹底した root plan-

ing とほぼ同等の治療効果があると報告している。しかし彼らの実験は bleeding on probing, pocket depth, attachment level など臨床診査のみでの評価であることから、本実験との比較は困難である。

Sc+20 μRp 群は、線維芽細胞の付着・増殖数が健全歯根面と同程度であり細胞の発育も良好なことから、罹患根面表層 20 μm 削除すれば、根面が細胞の付着・増殖に有利な状態に改善することが示唆された。

一方 Sc+Rp 群は、細胞の付着・増殖数は Sc+20 μRp 群や C 群よりわずかに少ないものの付着した細胞もよく発育しており、Sc+20 μRp 群同様細胞にとって良い環境であることが示唆された。この結果は、処置後の根面上で線維芽細胞を増殖させて、細胞数を計測した Wirthlin ら (1980, 1981)^{17,18)}、濱 (1982)¹⁴⁾、Cogen ら (1983)¹⁹⁾、FERNYHOUGH ら (1983)²⁰⁾ などの研究結果とほぼ一致している。

臨床的には、root planing によりセメント質を完全に取り除く方が良いか、それとも 20 μm 程度削除してセメント質を残す方が良いかが問題となる。今回の結果から、Sc+20 μRp 群、Sc+Rp 群、C 群、C-Rp 群をそれぞれお互いに比較して、セメント質面と象牙質面の線維芽細胞の付着増殖に与える影響を調べると、表層 20 μm の罹患セメント質のみを除去して、深部のセメント質を残存させた根面は、罹患セメント質を全て削除した根面に比べて、付着・増殖細胞数が多い傾向が認められた。また健全歯無処置の C 群と、健全歯セメント質を削除して象牙質を露出させた C-Rp 群と比較した結果も、C-Rp 群の付着増殖細胞数は C 群よりやや少なく、健全セメント質のほうが象牙質に比べて細胞の付着増殖しやすい環境であると推測された。これは Somerman ら (1987 a, 1987 b, 1989)^{21~23)} が歯槽骨、セメント質、象牙質から guanidin EDTA で抽出した物質を混入した培養液で、ヒト歯肉由来線維芽細胞を培養した結果、歯槽骨とセメント質からの抽出物は細胞の付着を促進し、象牙質からの抽出物は細胞の付着に影響を与えないことを示した報告とも一致するものである。しかし本実験では付着細胞数に統計学的有意差はなく、セメント質面の方が象牙質面に比べて細胞の付着・増殖にとって明らかに有利であると結論することはできない。一方、培養細胞の付着・増殖には根面の荒さや根面の裂溝の有無など物理的性状が影響することが知られており^{24~28)}、さらに罹患根面の状態としては、歯周ポケット内に根面が露出していた期間、セメント質内部へのブラク細菌の侵入及

びプラークの石灰化による歯石の付着状態、根面の硬さ^{25,26)}などが影響すると考えられる。すなわち臨床では、歯周ポケットの浅部と深部の位置によってセメント質の状態は変化するため、根面処置に差が生じ、結果にも影響を与えると考えられる。

臨床的にはセメント質表層 20 μm 程度のみを除去して深部セメント質を残す方法は、象牙質の露出を防止し、術後の知覚過敏の予防や象牙細管への細菌侵入による汚染を防ぐなどの面からも有利であると考えられる。従って不必要にセメント質を全て取り除くことは避けるべきで、今後さらにセメント質を残存させた場合に線維芽細胞の付着に有利であるというメカニズムの解明が必要であると思われる。また臨床的に正確に 20 μm 削除するのは困難であり、歯周炎によって剝離した歯周組織を再び根面に付着させるために、露出セメント質に対する薬物の併用や air-powder system^{28,30)} などによる新しい根面の処置法についても研究を進めていくことが必要である。

結 論

罹患セメント質に対する適切な処置法を知る目的で、4 種類の根面処置を行った後、根面上でヒト歯肉由来線維芽細胞を培養して付着・増殖した細胞数を計測するとともに、走査型電顕で細胞の形態観察を行った。その結果、以下の結論を得た。

1) 根面を scaling するのみでは、根面に付着する細胞は少なくバラツキも多く、付着した細胞の突起の発達は不十分であり、処置としては不適切であると考えられた。

2) Scaling+polishing では、付着細胞数は少なくバラツキは大きく、細胞の発育は不十分であり処置としては、確実性に乏しいと考えられた。

3) 罹患セメント質表層 20 μm 削除して root planing したものは、付着細胞数が健全歯無処置の対照群と同様多く認められ、発育も良好で有効な処置法と考えられた。

4) root planing して罹患セメント質を除去したものは、細胞の付着数は多く発育も良好で、有効な処置法と考えられた。

5) 20 μm まで root planing して深部セメント質を残す方法とセメント質をすべて取り除く root planing を比較すると、処置としては両者とも有効であった。しかし 20 μm 削除したものは統計学的に有意差は

ないものの細胞の付着増殖数が多かったことから、セメント質を残存させる方法は再付着に有効であることが示唆され、臨床的には知覚過敏の予防や象牙細管内への細菌侵入の防止の面からも有利であると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なるご指導と御校閲を賜りました加藤 照教授に心から感謝申し上げます。さらに本研究の遂行に際して、懇切丁寧な御教示ならびに御助言を賜りました本学歯科薬理学講座松本 章教授ならびに久田 洋講師に深謝申し上げます。さらに実験に際し、常に御協力と御鞭撻を戴きました当教室の川浪雅光助教授、岩並知敏助手、塚田 潔助手、藤保芳博氏、石川須美子女史、根岸 淳氏、松本敦至氏、藤井恵美子事務官をはじめとする第二保存学教室各位ならびに電顕室野田坂佳伸技官、東日本学園大学歯学部電顕室伊藤亜男技官さらには医療法人社団廣仁会しのろ歯科川口 清氏をはじめとする諸兄に心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) 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.
- 2) Nishimine, D. and O'Leary, T.J.: Hand instrumentation versus ultrasonics in the removal of endotoxins from root surfaces. *J. Periodontol.*, 50: 345-349, 1979.
- 3) Lopez, N.J., Belvederessi, M. and Sotta, R.: Inflammatory effects of periodontally diseased cementum studied by autogenous dental root implants in humans. *J. Periodontol.*, 51: 582-593, 1980.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Daly, C.G., Seymour, G.J., Kieser, J.B. and Corbet, E.F.: Histological assessment of periodontally involved cementum. *J. Clin. Periodontol.*, 9: 266-274, 1982.
- 7) 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, 1982.
- 8) Nyman, S., Sarhed, G., Ericsson, I., Gottlow, J. and Karring, T. : Role of "diseased" root cementum in healing following treatment of periodontal disease. An experimental study in the dog. *J. Periodont. Res.*, 21 : 496-503, 1986.
 - 9) 宗村庚修：これから細胞培養を始める人のために，宗村庚修，細胞培養マニュアル，講談社，東京，1986，1-33.
 - 10) 加藤誠也，管谷 勉，川浪雅光，国立尊子，飯沼賢司，加藤 照：試作ポケット探針型チップを応用した歯肉縁下超音波スケーリング，第1報深い歯周ポケットへの到達性について．*日歯周誌*，29 : 627-633, 1987.
 - 11) 管谷 勉，川浪雅光，加藤誠也，国立尊子，飯沼賢司，加藤 照：試作ポケット探針型チップを応用した歯肉縁下超音波デブリメント，深い歯周ポケット内の歯垢・歯石除去能力について．*日歯周誌*，29 : 959-965, 1987.
 - 12) Moore, J., Wilson, M. and Kieser, J.B. : The distribution of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in relation to periodontally involved root surfaces. *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 748-751, 1986.
 - 13) 大島光宏：細胞培養法を用いたスケーリング・ルートプレーニングの効果に関する研究．*日歯周誌*，29 : 65-75, 1987.
 - 14) 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.
 - 15) 藤井健男，岩井宏之，小鷲悠典，松尾 朗，矢嶋俊彦，加藤 照：歯周疾患罹患根面の結合組織性付着に関する研究，線維芽細胞の初期付着について．*日歯周誌*，31 : 176-183, 1989.
 - 16) Nyman, S., Westfelt, E., Sarhed, G. and Karring, T. : Role of "diseased" root cementum in healing following treatment of periodontal disease, A clinical study. *J. Clin. Periodontol.*, 15 : 464-468, 1988.
 - 17) Wirthlin, M.R. and Hancock, E.B. : Biologic preparation of diseased root surfaces. *J. Periodontol.*, 51 : 291-297, 1980.
 - 18) Wirthlin, M.R. and Hancock, E.B. : Chemical treatment of diseased root surfaces in vitro. *J. Periodontol.*, 52 : 694-696, 1981.
 - 19) Cogen, R.B., Garrison, D.C. and Weatherford, T. W. : Effect of various root surface treatments on the viability and attachment of human gingival fibroblasts. *J. Periodontol.*, 54 : 277-282, 1983.
 - 20) Fernyhough, W. and Page, R.C. : Attachment, growth and synthesis by human gingival fibroblasts on demineralized or fibronectin-treated normal and diseased tooth roots. *J. Periodontol.*, 54 : 133-140, 1983.
 - 21) 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, 1987a.
 - 22) 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, 1987b.
 - 23) 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.
 - 24) 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．*東京都歯科医師会雑誌*，30 : 1-19, 1982.
 - 25) 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：歯肉剥離掻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.
 - 26) 西川博之，岩田 真，白木雅文，岩山幸雄，竹沢保政，亀永秀男，後藤隆泰，森脇 豊：歯周疾患罹患歯の歯根象牙質硬度．*日歯周誌*，28 : 1070-1075, 1986.
 - 27) 西川博之：露出セメント質の性状変化に関する物理化学的研究．*日歯周誌*，29 : 338-351, 1987.
 - 28) 田中憲二：歯周疾患罹患歯の歯根面に対する培養細胞の付着増殖に関する研究，とくに表面粗さと上皮系培養細胞の関係について．*日歯周誌*，29 : 325-337, 1987.
 - 29) Berkstein, S., Reiff, R.L., McKinney, J.F. and Killoy, W.J. : Supragingival root surface removal during maintenance procedures utilizing an air-powder abrasive system or hand scaling. An in vitro study. *J. Periodontol.*, 58 : 327-330, 1987.
 - 30) Pippin, D.J., Crooks, W.E., Barker, B.F., Walters, P.L. and Killoy, W.J. : Effects of an air-powder abrasive device used during periodontal flap surgery in dogs. *J. Periodontol.*, 59 : 584-588, 1988.

連絡先：

北海道大学歯学部歯科保存学第2講座

〒060 札幌市北区北13条西7丁目