

実験的歯周炎罹患歯根面に関する超微形態学的研究

廣 島 英 雄*

Ultrastructural Study on the Periodontally Diseased Root Surfaces Experimentally Induced in Beagle Dogs

Hideo Hirohata

(平成 8 年 2 月 16 日 受付)

緒 言

歯周病の発症と進行により口腔環境や歯周ポケット内に露出した歯根面に、再び正常歯周組織におけると同様の上皮性ならびに結合組織性付着構造を獲得することは容易ではない^{1,2)}。歯周病罹患歯根面は、物理化学的³⁻⁶⁾、細菌学的⁷⁻¹¹⁾、病理学的¹²⁻²⁰⁾に種々の変化をきたしており、これらの因子を取り除くことが付着構造を再獲得する上で極めて重要である。しかし、この罹患歯根面の変化がセメント質あるいは象牙質のどの範囲まで達しているのかについて定説はなく、また汚染歯根面をどの程度取り除くと新生セメント質の形成および結合組織性付着が得られるのかについては研究者間で意見の分かれるところである。

最近の研究では、歯周ポケット内に露出した歯根面の形態的变化はセメント質の極く表層にとどまること^{19,20)}、根面汚染の指標とされているグラム陰性菌由来のエンドトキシンは歯根表面に存在する電子密度の高い層あるいは極く表層に限局して吸着していること^{21,22)}などが報告されている。これに対して従来から、病的顆粒¹²⁻¹⁹⁾やブラク細菌の侵入^{7-9,22,23)}がセメント質深部や象牙質まで達し、セメント小腔内のセメント細胞の変性・消失や、小腔周囲の基質線維の変性などが起こることが観察されている。しかし、これらの研究のほとんどは、ヒト抜去歯を対象として行われたものであり、歯周病の発症および進行過程と対

応して論じられていない。歯根面が歯周ポケット内に露出するに至るまでの変化や露出後の病態を経時的に詳細に観察することは、種々の病態を示す歯根面に付着構造を再生する上で重要な知見を与えると考える。

本研究では、歯周炎の発症と進行過程における罹患歯根面の変化を明らかにする目的で、イヌの実験的歯周炎における歯根表面の上皮性ならびに結合組織性付着構造の喪失過程および歯周ポケット内露出後の歯根セメント質の変化を超微形態学的に検討した。

材 料 と 方 法

実験的歯周炎の形成方法

実験には、1歳ビーグル犬7頭の切歯部を用いた。図1に示すスケジュールに従い、各当該歯には予めスケーリングとブラッシングによるブランクコントロールを施し、健康な歯周組織の状態を確立した。

実験的歯周炎の形成法は前著²⁴⁾に詳述した方法と同様に行った。すなわち、両側の上顎第1、第2切歯、下顎第2、第3切歯部の歯肉溝内に綿糸を挿入し、舌側隅角部で結紮した。綿糸の脱落防止のために各歯の舌側面をグラスアイオノマーセメント（ジーシー社製、東京）で被覆し綿糸を固定した。綿糸結紮後は、ブラッシングを中止し、水道水で軟化した固形飼料を与えることによりブランクの蓄積を促した。観察期間は、結紮前ならびに結紮後2、4、6、8、16、32、48週とし、同一動物の左右側で異なる実験期間を設定した。

試料の調整と観察方法

各観察期間経過時に、1%グルタルアルデヒドおよび2%パラホルムアルデヒド液によって灌流固定を行い、歯を含む試料を摘出し、half Karnovsky 液によ

* 広島大学歯学部歯科保存学第二講座（主任：栗原英見教授）本論文の要旨は、平成元年11月16日、第91回秋期日本歯科保存学会総会、平成2年5月18日、第33回春期日本歯周病学会総会および平成2年11月9日、第33回秋期日本歯周病学会総会にて報告した。

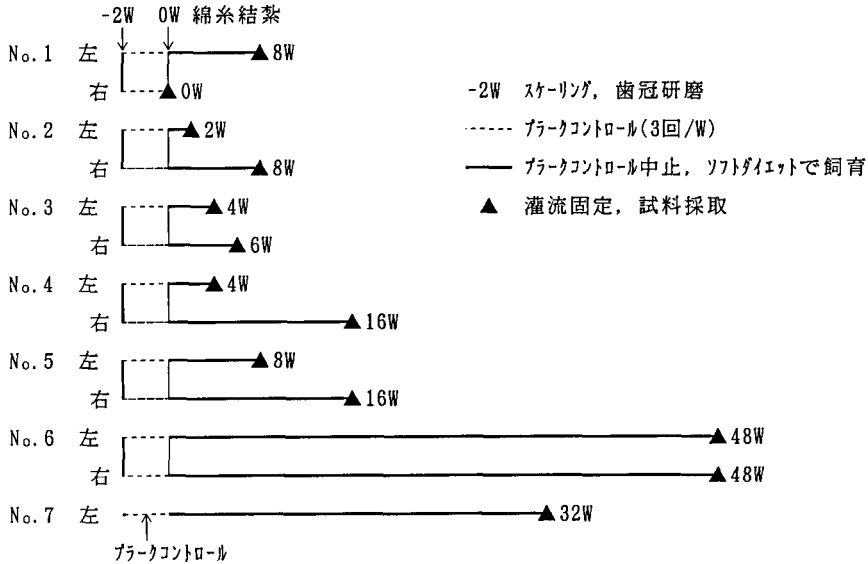


図1 実験期間と主な処置。

て一晚浸漬固定を行い、一部は非脱灰、他は 0.5 M EDTA によって脱灰し、1%オスミウム酸によって後固定の後、エポンに包埋した。超薄切片に対する染色は、脱灰試料では酢酸ウラニル・クエン酸鉛重染色およびリンタングステン酸とタンニン酸染色²⁵⁾を施し、非脱灰試料では未染色でそれぞれ観察した。

露出根面の細胞化学的観察方法

付着構造の喪失過程における酸性ホスファターゼ (ACPase) 反応の推移を一部の試料について細胞化学的に観察した。灌流前に採取した歯を含む試料を half Karnovsky 液にて固定、10% EDTA 脱灰後、40~80 μm の切片を作製し、 β グリセロリン酸を基質とするセリウム法²⁶⁾を施し、エポンに包埋した。これらの超薄切片には、酢酸ウラニル単染色を行って観察した。

一方、露出歯根面の糖質反応を検討する目的で、ルテニウムレッド染色²⁷⁾、過ヨウ素酸-メテナミン銀反応²⁸⁾を、また、蛋白質反応としてニンヒドリン-蛋白銀反応を施した。さらに、露出歯根面に対してヒアルロニダーゼ (0.01%, ウシ峯丸, シグマ社製)、トリプシン (0.1%, シグマ社製)、コラゲナーゼ (0.1%, シグマ社製) による消化試験を施し、それぞれによる基質の形態学的変化を観察した²⁹⁾。

結 果

1. 上皮性ならびに結合組織性付着の喪失過程

結紮前:

接合上皮は、比較的扁平な数層の細胞より成り、脱灰エナメル質空隙に面して発達した半接着斑および内側基板から成る上皮付着構造がみられた (図 2, 3)。一方、セメント質基質表面では、シャーピー線維を構成するコラーゲン原線維が結合組織へ走行し、それらが挿入されたセメント質内ではコラーゲン原線維の周期的横紋が明瞭であった (図 4, 5)。

結紮後 2 週:

接合上皮は、最歯冠側部の接合上皮内に間隙を形成していた (図 6)。しかし、その最表層細胞は、tonofilament 束や細胞内小器官が豊富で、脱灰エナメル質空隙側に健康時と同様の上皮付着構造を有していた (図 7)。一方、最根尖側部の接合上皮細胞は、しばしば、外側基板を欠いていた。この部に近いセメント質に接する結合組織では、コラーゲン原線維が消失していた (図 8)。また、さらに根尖側では、セメント質表面への挿入を示すシャーピー線維の大部分が健在であったが、しばしばそれらの線維束間にコラーゲン原線維を含有した線維芽細胞が介在していた (図 9)。

結紮後 4 週から 8 週:

結紮後 4 週では、接合上皮はシャーピー線維の消失したセメント質面上に比較的短く形成され、その広い細胞間隙には好中球や断裂したコラーゲン原線維束が

しばしばみられた(図10)。接合上皮は発達の悪い上皮付着構造を有し、鋸歯状を示すセメント質面のコラーゲン原線維の断端に接するところでは、接合上皮の細胞膜が陥凹して、空胞様の構造を呈していた(図11)。一方、接合上皮より根尖側の歯根表面では、セメント質表面のコラーゲン原線維は、2週よりも広範に消失しており、残存する線維束間には、好中球やリンパ球およびマクロファージが多数みられた(図12)。また、炎症の及んでいない根尖側では、セメント質表面に存在する線維束間にコラーゲン原線維の断片を含んだ多数の貪食空胞様構造を含有する線維芽細胞がみられ、その細胞質突起は伸長し、セメント質面に接していた(図13)。6週経過時には、セメント質表面の結合組織基質線維の破壊・消失は次第に根尖側へ拡大し、さらに根尖側のセメント質表面では、セメント質面に近接する線維芽細胞の陥凹した細胞膜内にセメント質基質コラーゲン原線維の断片がしばしば観察された(図14)。8週では、線維芽細胞の空胞内コラーゲン原線維とセメント質基質コラーゲン原線維との間に連続性が観察され(図15)、しばしばコラーゲン原線維の細線維化や横紋構造の消失が観察された。

結紮後16週から48週：

接合上皮は、結紮後4から8週におけると同様の超微構造を示し、シャープー線維の主体を成すコラーゲン原線維がほとんど消失したセメント質面に接していた。非脱灰試料では、接合上皮の接するセメント質表面において、残存するコラーゲン原線維間に結晶構造の消失した部分がしばしばみられた(図16)。一方、接合上皮より根尖側の結合組織も4から8週におけると同様の所見を呈し、残存したコラーゲン原線維に近接してコラーゲン原線維を含有した線維芽細胞が多数みられた。また、これらのセメント質表層を非脱灰試料でみると、深部セメント質よりも結晶密度が低くなった部分がしばしば観察された(図17)。

2. 露出歯根面構造の経時的変化

結紮後4週：

歯周ポケット内には、超微形態学的にグラム陰性とみなされる球状、桿状あるいは紡錘状の細菌やスピロヘータ等が多数蓄積しておりそれらの接するセメント質面には、接合上皮付着部にみられる電子密度の高い層と連続した構造物が認められた(図18)。露出直後のセメント質面には、シャープー線維は見当たらず、多くの場合、変性した接合上皮の遺残とみなされる構造物がみられ(図19)、しばしばこれにブラーク細菌が付着していた。

結紮後6週および8週：

セメントエナメル境(以下CEJと略す)に近い露出歯根面では、接合上皮の遺残構造物はみられず、セメント質表面を被う電子密度の高い層に対して多数のブラーク細菌が付着していた。また、セメント質表層の基質コラーゲン原線維の一部には横紋構造の消失がみられた(図20)。また、CEJ付近の非脱灰未染色試料では、剝離したとみなされるセメント質基質の陥凹がしばしばみられ、ブラーク細菌の侵入を伴っていた(図21)。一方、歯周ポケット底部の歯根面は、4週におけると同様の所見を呈していた。

結紮後16週および32週：

歯周ポケット底部付近では、深部セメント質基質に変化はなく、コラーゲン原線維の周期的横紋構造が明瞭であった。一方、歯冠側へ向かうに従って、セメント質表面ではコラーゲン原線維に著明な横紋構造の消失や細線維化がみられ(図22)、その部の表面に電子密度の高い構造物が観察された(図23)。セメント質基質では、横紋の不明瞭化や配列の乱れなどコラーゲン原線維に変性所見が著明に観察され、この変化は深部へ及んでいた。これらのセメント質表面には、歯石に相当するとみなされる結晶が沈着しており、セメント質基質表層では帯状に結晶密度の増加している所見が認められた(図24, 25)。

結紮後48週：

歯周ポケット歯冠側部の露出セメント質の変性像はかなり深部まで達し、変性セメント質表面には高電子密度の層が連続的に形成されていた。このようなところでは、しばしば、象牙細管内のトームス突起に消失および萎縮・変性像が観察された(図26)。また、セメント質基質の剝離によって、セメント質表面には陥凹が形成されていた(図27)。一方、歯周ポケット底部では、セメント小管がポケット内へ露出し、それらやセメント小腔への細菌侵入が観察された(図28, 29)。これらの小腔内では、セメント細胞は変性・消失し、その周開では、セメント質基質コラーゲン原線維の消失、細線維化などの変性像が観察された。

3. 細胞化学的観察所見

1) 線維芽細胞内の空胞様構造のACPase反応

線維芽細胞内のコラーゲン原線維を含む空胞は、その内部にセリウム法でACPase反応に陽性を示した(図30, 31)。なお、基質を含まない対照切片では反応は認められなかった(図32)。

2) 露出歯根面における糖質反応

ルテニウムレッド反応：

歯周ポケット底部にみられたセメント質基質表層の

電子密度の高い層はルテニウムレッドに陽性反応を示した(図33)。また、歯冠側部のセメント質表面とブラーク細菌との間にみられた層状構造物も同染色に陽性反応を示した(図34)。

過ヨウ素酸—メテナミン銀反応：

歯周ポケット底部付近に観察されたセメント質基質表面の電子密度の高い層は陽性反応を示していた(図35)。対照の過ヨウ素酸によって酸化を行わない切片では陰性所見を呈した(図36)。また、ポケット歯冠側部のセメント質表面とブラーク細菌との間に介在する層は反応を示さなかった。

ニンヒドリン—蛋白銀反応：

ポケット歯冠側部のセメント質表面と細菌との間の構造物に陽性反応がみられた(図37)が、本反応を施さない対照試料では陰性所見を呈した(図38)。

3) 酵素消化試験

ポケット歯冠側部のセメント質基質表面とブラーク細菌との間の電子密度の高い層は、対照切片に比べて、トリプシン消化2時間では一部が、15時間ではほとんど全層が消失していた(図39, 40, 41)。また、ヒアルロニダーゼによる2時間消化やコラゲナーゼによる4時間消化の場合も、高電子密度構造の一部に消失が認められた(図42, 43)。

考 察

1. イヌの実験的歯周炎における細菌叢

歯周炎は、歯周組織が非特異的な慢性炎症性破壊を呈する疾患であり^{30,31)}、ヒトのみならずサルやイヌも罹患することが知られている³⁰⁾。イヌの歯周炎におけるブラーク細菌叢は、ヒトの歯周炎におけるものと類似している^{30,32)}。すなわち、イヌの緑上ブラーク細菌ではグラム陽性菌である *Actinomyces* やその他の嫌気性球菌、グラム陰性菌としては *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, や *Capnocytophaga* などが確認されている³⁰⁾。また、Courant ら³³⁾、Syed ら³⁴⁾ は、歯肉溝や歯周ポケット内から採取したブラークの細菌学的分析により、健康時や初期炎症の歯肉溝では球菌や桿菌が多く、炎症が進行するにつれてこれらが減少して運動性桿菌やスピロヘータが増加してくると述べている。一方、ビーグル犬の超微形態学的な歯肉縁下ブラーク細菌叢について、Soames と Davies³⁵⁾ は9カ月齢の歯肉炎を、Theilade と Atström³⁶⁾ は2歳齢の慢性歯肉炎について調べ、ヒト歯肉炎の細菌叢と類似することを指摘している。また、Ten Napel ら³⁷⁾ は実験的歯肉炎の形成に伴って、歯肉縁下細菌叢には、4週までにグラム陰性細菌やスピロヘータなどが増加し、ヒトにおける細菌叢と類似

した構成を有するようになることを明らかにした。本研究においても、歯周ポケットの成立する結紮後4週までの細菌叢は超微形態学的に彼らの結果と一致しており、それ以後の48週までの期間においても同様の細菌叢が維持されていたことから、ヒトの歯周ポケット^{30,32)}と類似の環境を形成できたものと思われる。

2. 上皮性付着の喪失過程

歯周ポケットの形成機序については、接合上皮内の細胞間隙から歯肉溝が深化することが推測されている³¹⁾。伊東³⁸⁾ は、初期病変における歯肉溝深化の過程について、ラットにブラークの付着を促すことにより実験的歯周炎を形成し、その接合上皮の破壊過程を観察した。それによると、始めに接合上皮内に間隙が生じて歯肉溝が深化し、結合組織性付着の喪失によって上皮が根尖側に移動して歯周ポケットが形成されると述べている。また、小川ら³⁹⁾も正常接合上皮と長い再生接合上皮について、ブラーク蓄積後に同様の所見を観察している。歯周ポケット内に露出した直後と考えられる本研究における結紮後2週の歯根面では、変性した上皮細胞が未だに付着しており、強固な上皮付着構造を保っていた。また、伊東³⁸⁾や小川ら³⁹⁾が観察したと同様の接合上皮内の間隙形成が認められた。

本研究結果では、歯周ポケット底部の露出直後のセメント質表面には、シャーピー線維を構成する結合組織コラーゲン原線維は全く姿を消していた。一方、これより根尖側の接合上皮細胞の接するセメント質表面では、消化されていない断裂した結合組織コラーゲン原線維がしばしば存在していた。このような歯根面に対しても、上皮付着構造が形成されていたが、しばしば接合上皮の細胞膜が陥凹し、貪食空胞様の所見を呈していた。接合上皮細胞内には、多数の空胞が存在していたが、これらにコラーゲン原線維の断片を含む所見はみられなかった。しかし、伊集院ら⁴⁰⁾は、接合上皮細胞が貪食能を有する可能性を示唆しており、本研究においても、接合上皮細胞内に多数の空胞様構造がみられた。その解釈については、Shimono ら⁴¹⁾の異論があるが、接合上皮細胞がセメント質表面に残存するコラーゲン原線維に影響を及ぼす可能性は否定できないと考えられる。確かに、セメント質表面の結合組織コラーゲン原線維の破壊・消失には、好中球、マクロファージや線維芽細胞などが直接的な役割を果たすであろうが、歯根面が露出するに至る過程では、接合上皮細胞の関与も考えられ、今後の検討が望まれる。

3. 結合組織性付着の喪失過程

結合組織の破壊には、細菌やその産生物質および炎症性産生物質が関与していることが知られている^{30,31)}。結合組織基質の主要な成分であるコラーゲンの破壊には、従来から細胞外消化が主体であると考えられていたが、好中球やマクロファージの他に、線維芽細胞もまたコラーゲンの細胞内消化を行っていることが報告されている。Yamasakiら^{42,43)}はヒト歯肉およびラット歯肉線維芽細胞内でコラーゲン原線維を含む空胞がACPaseに陽性反応を示すことを、YajimaとRose⁴⁴⁾およびRoseら⁴⁵⁾は、培養線維芽細胞において同様の結果を示している。歯肉結合組織や歯根膜組織の線維芽細胞には、機能的に異なった亜集団が存在するといわれている。McCullochとBordin⁴⁶⁾は、これらを少なくとも形態的に4つの亜集団に分類できるとし、また生理的条件下でコラーゲン原線維を貪食する線維芽細胞の亜集団の存在についても述べている。

一方、歯肉炎や歯周炎においては、小原⁴⁷⁾がサルに惹起した実験的歯肉炎において炎症が及んでいない結合組織中の線維芽細胞にコラーゲンの貪食像を観察している。また、SoamesとDavies⁴⁸⁾はイヌの実験的歯肉炎の成立過程を検討し、初期破壊の過程で線維芽細胞の細胞内消化が重要な役割を果たしていると言及している。DeporterとTen Cate⁴⁹⁾はラットに結紮法による実験的歯周炎を惹起させ、シャープ線維の崩壊は6週以降に始まり、接合上皮根尖側直下の線維性付着の完全喪失部と比較して、より根尖側の線維性付着の部分的喪失部にコラーゲンを貪食した線維芽細胞が数多く観察されると述べている。本研究においても彼らの結果と同様の所見が得られた。すなわち、歯周炎の発症過程では、線維性付着の主体を成すシャープ線維は、線維芽細胞の細胞内消化システムにより消化され、歯根面が歯周ポケット内に露出するまでにシャープ線維を構成するコラーゲン原線維のほとんどが消失されると考えられる。

4. 歯周ポケット内露出歯根面の経時的変化と病態

Schroeder⁵⁰⁾によると、歯根象牙質を覆うセメント質は歯冠側部1/3では無細胞性外部性線維性セメント質であり、構造的には固有基質線維は少なく、シャープ線維が主体である。また、根尖側1/3および根分岐部では細胞性重層混合性セメント質であり、細胞性セメント質と外部性線維性セメント質の両者から成る。従って、結合組織基質の破壊や歯根面の露出に伴う変化は、いずれの部位のセメント質においても、まず外部性線維性セメント質より始まる。しかし、根尖

側や根分岐部の細胞性重層混合性セメント質は、歯冠側の無細胞性外部性線維性セメント質に比べてシャープ線維の挿入部位の密度が低く、セメント細胞を含む小腔より多数のセメント小管が伸びてセメント質表面に開口しているなどの解剖学的な相違がある⁵⁰⁾。

歯根面の経時的変化は、まず、無細胞性外部性線維性セメント質に生じるが、歯周ポケット内に露出する前に、細胞の崩壊によって放出された酵素や炎症性産生物質によってセメント質がすでに何らかの影響を受けている可能性がある。SelvigとHaltz⁴⁾は接合上皮に接するセメント質の10~15 μ m幅の範囲において、セメント質表面のアパタイト結晶の径と数の減少、コラーゲン原線維の消失ならびに基質電子密度の低下を観察し、炎症性産生物質による脱灰の可能性を示唆している。歯根面が歯周ポケットへ露出するまでの過程において、セメント質がどの程度変化するかについては十分明らかにされてはいるが、本研究においてもセメント質表面のコラーゲン原線維の横紋構造の消失や細線維化がみられ、器質的な変化が生じていることは間違いないと思われる。

一般に、歯周ポケット底部の歯根面付近では、歯根の露出直後はブランク細菌が少なく⁵¹⁾、セメント質基質コラーゲンの変性も軽度であると報告されている^{19,20)}。本研究においても、ほぼ同様の結果が得られた。すなわち、露出直後の歯根面はブランク細菌の影響をほとんど受けておらず、接合上皮が接するセメント質表面の電子密度の高い層に連続した構造物が観察され、これにはしばしば接合上皮遺残構造が付着していた。ヒト、イヌあるいはサルでは正常なエナメル質と接合上皮との間に上皮細胞由来のprimary cuticleおよび唾液成分由来のsecondary cuticleが存在している⁵²⁾。本研究でみられた高電子密度物質は構造的にこれらに類似しており、ルテニウムレッド陽性所見を呈したことからdental cuticleとみなすことができる。

歯周ポケット歯冠側部では、この層の上にさらに一層の電子密度の高い層がみられ、経時的に幅が増大し、これに多数のブランク細菌が付着していた。この層は、ルテニウムレッドおよびニンヒドリン-蛋白銀に反応したことから、炎症性浸出液か唾液由来成分あるいは細菌産生物質の混合物と考えられる。このような露出セメント質表面の構造は露出後初期に形成され、細菌の侵入や有害物質の浸透のバリアーとなりうるとEideら^{53,54)}は述べている。本研究結果においても、この層に多数の細菌が付着しているものの、セメント質への細菌侵入は観察されなかった。

歯根面露出後のセメント質基質コラーゲンの変化については、ヒト抜去罹患歯根において、透過型や走査

型電顕によってセメント質基質表層のコラーゲン原線維の消失、細線維化、横紋の消失、線維間隙の拡大などの変化が報告されている^{14,15,17,18,20,21,55,56}。しかし、これらの変化はセメント質の極く表層にしかみられないと西村ら¹⁹ および萩原ら²⁰ は報告している。西村ら¹⁹ は歯周ポケット内の露出歯根面の構造を検討して、歯冠側部に比べてポケット底部付近ではセメント質の変化は少なく、また、歯冠側部においても深部セメント質まで変化は及んでいなかったことを指摘している。また、米沢⁵⁵ はラットの歯根を人工的に露出させ、ブラーク付着に伴う変化を検討している。それによると、細胞性重層混合性セメント質では、セメント質や小腔の表層で1週目にコラーゲン原線維の細線維化や膨化・癒合が始まり、6週後にコラーゲン原線維の構造は消失して一塊の沈着物となること、そして深部セメント質ではこれらの変化がみられなかったという。本研究結果においても同様の変化が観察され、経時的にセメント質変性層の幅が増大していた。また、より根尖側部の細胞性重層混合性セメント質においては、しばしば小腔内のセメント細胞の変性やその周囲セメント質基質の消失・変性がみられた。これらのことから歯周炎の経時的進行とともに病的変化は徐々に深部セメント質まで及ぶものと考えられる。

さらにこれらの変化の他に、Bass¹² および Benson¹³ は光顕で、Armitage と Christie^{14,15} は光顕と電顕で、凍結切片を用いてセメント質の深部および象牙質内に病的顆粒を観察している。この構造物については低石灰化コラーゲンの変性したもの^{14,15}、あるいは脂質である¹⁶ と考えられている。本研究では、凍結試料を用いて観察しなかったため、この病的顆粒の存在については確認できなかった。しかしながら、これまでに象牙細管の狭窄化などの変化を認めた報告もあり、罹患セメント質の深部には病的変化が及んでいないとする研究結果とは相反するものである。また、本研究では象牙質基質の変化は認められなかったが、象牙細管内にトームス突起が欠如している所見がしばしば観察され、象牙質へも病的変化が及んでいる可能性がうかがえた。

露出歯根面の過石灰化帯については、多くの報告がある。Selvig 一派^{3,4} はこの過石灰化帯がセメント質表面から約 10 μm の深さまで存在し、この部分には異常に大きいアパタイト結晶が出現し、Ca, P, Mg の含有量が大きくなっていることを明らかにした。同様の過石灰化帯は、歯周ポケット内の露出歯根面よりもむしろ口腔内に露出した部分、すなわち歯肉縁上でしばしば観察されており⁵⁷、唾液中の Ca 塩の沈着によ

るものと考えられている。また、この部は非脱灰切片における変性コラーゲンの表層に一致しており、過石灰化帯の発達した箇所ではセメント質基質線維の変化が大きく、根面の露出期間が長くなるほどこのような変化が顕著になると考えられる。

本研究では、セメント質基質内への細菌侵入は観察されなかったが、細胞性重層混合性セメント質では、セメント小管や小腔内への細菌侵入が認められた。解剖学的形態からみて、無細胞性外部性線維性セメント質では、分岐部や根尖側に存在する細胞性重層混合性セメント質に比べて細菌侵入が少ないのではないかと推測される。細菌侵入の程度は報告者によってまちまちであり、Zander⁷ によると、セメント小腔や象牙細管まで、Daly ら⁹ はセメント象牙境から 12 μm まで、そして Adriaens ら^{22,23} はセメント質表面から 120 μm の範囲まで細菌の侵入を観察している。これに対して、細菌のセメント質や象牙質への侵入に否定的な見解も多い^{20,21,58}。本研究では、セメント質基質中への細菌の侵入について確証できなかったが、セメント質の解剖学的構造から細胞性重層混合性セメント質では、セメント小管や小腔内への細菌侵入やエンドトキシン浸透の可能性は高いものと考えられる。

5. 露出セメント質の変化の臨床的意味

罹患歯根面の生物学的為害性についてはよく知られている^{1,2,10,11,59-61}。また、臨床的に汚染セメント質を完全に削除すべきであることでは一致している。しかし、どこまでが汚染あるいは変性したセメント質であるかについては意見の一致をみていない。須田ら⁶² は、ヒトの抜去歯を用いた研究において、トレーサー物質の浸透が露出歯根面では非露出歯根面よりも劣り、高分子のトレーサーほど浸透性が低いと述べており、この要因として過石灰化帯の存在を挙げている。確かに、過石灰化帯の存在により為害性物質の浸透が防止されているという見解には頷けるものがある。また Wainwright⁶³ は、ヒト健全歯を用いた *in vitro* の研究で ¹³¹I がセメント質表面から象牙質まで到達したと報告している。

グラム陰性細菌由来のエンドトキシンについて、Huges ら²¹ および Nakib ら⁵⁸ はその浸透がセメント質表面かごく表層部に止まっていると述べ、大島⁶¹ および小田⁶⁴ も同様の結果を報告している。また、光崎ら⁶⁵ および Moore ら⁶⁶ は洗浄のみでも浸透したエンドトキシンを除去できると述べている。一方、Jones と O'Leary¹¹ や Aleo ら⁶⁰ はエンドトキシンはセメント質の深部まで存在するのでセメント質を完全に取り除くべきであると主張している。このようにエ

ンドトキシンの存在については相反する結果が得られているのが現状である。

根岸⁶⁷⁾は罹患歯根面および非罹患歯根面の象牙質片上にヒト歯肉線維芽細胞の培養を試み、罹患歯根の象牙質片上では付着培養細胞数が少なく、また一部の試料には細菌侵入が認められたことから、罹患歯根面の汚染は象牙質まで達している可能性を指摘している。また、小川ら^{68,69)}は、罹患セメント質表層のみの削除では、汚染歯質を完全に取り除くことができず、この場合、上皮性付着構造は得られても結合組織性付着の獲得は期待できないと述べている。

本研究結果からみると、セメント質基質中や象牙質への細菌侵入はなかったが、セメント質基質コラーゲン原線維の変性・消失など罹患歯根面の変化は、セメント質深部や一部象牙質にまで達しており、臨床的にはこれらを完全に取り除き、健康な歯根面を得る必要があるものと考えられる。

総 括

ビーグル犬の切歯部歯肉溝内に綿糸結紮によって実験的歯周炎を惹起させ、歯根面の変化を48週にわたり超微形態学的に観察し、以下の結果を得た。

- 1) 接合上皮は、結紮4週以降の全期間を通じて、シャープ線維の喪失したセメント質面に比較的短い範囲に形成され、しばしば歯面との間に発達した上皮付着構造を有していた。
- 2) 接合上皮より根尖側の歯根面に接する結合組織では、全実験期間を通じてシャープ線維や基質コラーゲン原線維が破壊されており、この変化にはACPase陽性の貪食空胞を有する線維芽細胞が関与すると考えられた。
- 3) 根面が歯周ポケット内へ露出する前に、セメント質表層のコラーゲン原線維の横紋構造の消失や細線維化がみられ、器質的な変化が根面露出に先行して生じていることが明らかであった。
- 4) 露出直後の歯根面上には、全実験期間を通じて接合上皮細胞の遺残構造が存在し、さらに歯冠側の歯根面には球状・桿状・紡錘状の細菌やスピロヘータ等の微生物が多数蓄積していた。
- 5) 歯根面の露出期間が長くなるに従って、セメント質基質線維の変性・消失はセメント質深層まで及んでおり、一部は象牙質まで達していた。しかしながら歯周ポケット底部付近ではこれらの基質変化が比較的少なかった。
- 6) 露出歯根面では、ブランク細菌とセメント質表面の間に全域にわたって電子密度の高い均一無構造な層が介在した。この層はルテニウムレッド、過ヨウ素

酸—メテナミン銀反応及びニンヒドリン—蛋白銀反応に陽性を示したことから外因性の糖蛋白より成ると考えられた。

本研究から、歯周病罹患歯根面の病的変化は上皮付着の喪失過程に始まり、セメント質・象牙質基質の変化の一部は歯根面の歯周ポケット内への露出前に生じるなど、歯周炎の成立・進行過程における歯根面構造の経時的変化の様相が超微レベルで明らかとなった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の御指導および御校閲を賜りました前本学歯科保存学第二講座教授岡本 莫 名誉教授ならびに御校閲を賜りました本学歯科保存学第二講座栗原英見教授に衷心より感謝の意を表します。

また、本論文作成に際してそれぞれ御専門の立場から御教示ならびに御校閲を賜りました本学口腔病理学講座二階宏昌教授ならびに口腔解剖学第二講座内田隆教授に深甚なる感謝の意を表します。

さらに、本研究を遂行する上で御指導をいただいた本学歯科保存学第二講座小川哲次講師に心より感謝の意を表しますとともに、多大なる御支援をいただいた河口浩之博士をはじめとする同講座の諸先生方に感謝いたします。

最後に本研究の御指導と御助言をいただいた本学歯科保存学第二講座故白川正治助教授に深く感謝の意を表しますとともに心より御冥福をお祈りいたします。

文 献

- 1) Nymans, S., Lindhe, J. and Karring, T.: Reattachment-new attachment. *Clinical Periodontology*. Munksgaard, Copenhagen, 409-429, 1984.
- 2) 小川哲次, 岡本 莫: 上皮性ならびに結合組織性付着構造の再形成について. *歯科ジャーナル* 36, 127-138, 1992.
- 3) Selvig, K.A. and Zander, H.A.: Chemical analysis and microradiography of cementum and dentin from periodontally diseased human teeth. *J. Periodontol.* 33, 303-310, 1962.
- 4) Selvig, K.A. and Haltz, E.: Periodontally diseased cementum studied by correlated microradiography, electron probe analysis and electron microscopy. *J. Periodont. Res.* 12, 419-429, 1977.
- 5) Furesth, R. and Johansen, E.: A micro-radiographic comparison of sound and carious human dental cementum. *Arch. Oral Biol.* 13, 1197-1206, 1968.

- 6) 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.
- 7) Zander, H.A.: The attachment of calculus to root surfaces. *J. Periodontol.* **24**, 16-19, 1953.
- 8) Longeland, K., Rodrigues, H. and Dowden, W.: Periodontal disease, bacteria and pulpal histopathology. *Oral Surg.* **37**, 257-270, 1974.
- 9) Daly, C.G., Seymour, G.J., Kieser, J.B. and Carbet, E.F.: Histological assesment of periodontally involved cementum. *J. Clin. Periodontol.* **9**, 266-274, 1982.
- 10) Hatfield, G.G. and Baumhammers, A.: Cytotoxic effects of periodotally involved surfaces of human teeth. *Arch. Oral Biol.* **16**, 465-468, 1971.
- 11) Jones, W.A. and O'Leary, T.J.: The effectiveness of *in vivo* root planing in removing bacterial endotoxins from the roots of periodontally involved teeth. *J. Periodontol.* **49**, 337-342, 1978.
- 12) Bass, C.C.: A previously undescribed demonstrable pathologic condition in exposed cementum and underlying dentin. *Oral Surg.* **4**, 641-651, 1951.
- 13) Benson, L.A.: A study of a pathologic condition in exposed cementum. *Oral Surg.* **16**, 1137-1144, 1963.
- 14) Armitage, G.C. and Christie, T.M.: Structural changes in exposed human cementum. I. Light microscopic observations. *J. Periodont. Res.* **8**, 343-355, 1973.
- 15) Armitage, G.C. and Christie, T.M.: Structural changes in exposed human cementum. II. Electron microscopic observations. *J. Periodont. Res.* **8**, 356-365, 1973.
- 16) Bigarre, C. and Yardin, M.: Demonstration of lipids in the pathologic granules in cementum and dentin in periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* **4**, 210-213, 1977.
- 17) Selvig, K.A.: Ultrastructural changes in cementum and adjacent connective tissue in periodontal disease. *Acta Odont. Scand.* **24**, 459-500, 1966.
- 18) Furseth, R.: Further observations on the fine structure of orally exposed and carious human dental cementum. *Arch. Oral Biol.* **16**, 71-85, 1971.
- 19) 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一. *日歯周誌* **27**, 846-855, 1985.
- 20) 萩原一宏, 東 富恵, 川西文子, 岡本 莫: 歯周病罹患歯セメント質断面の走査型電子顕微鏡的検索. *広歯誌* **18**, 324-330, 1986.
- 21) Hughes, F.J., Auger, D.W. and Smales, F.C.: Investigation of the distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease by scanning electron microscope immunohistochemistry. *J. Periodont. Res.* **23**, 100-106, 1988.
- 22) Adriaens, P.A., De Boever, J.A. and Loesche, W.J.: Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J. Periodontol.* **59**, 222-230, 1988.
- 23) Adriaens, P.A., Edwards, C.A., De Boever, J.A. and Loesche, W.J.: Ultrastructural observation on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. *J. Periodontol.* **59**, 493-503, 1988.
- 24) 廣島英雄, 小川哲次, 吉野美穂, 藤谷百合, 吉野 宏, 河口浩之, 白川正治, 岡本 莫: 実験的歯周炎成立過程における臨床的ならびに光顕所見について. *日歯周誌* **36**, 823-833, 1994.
- 25) 吉浜 勲: コラーゲン線維の染色法(超薄切後の染色法について). *細胞* **16**, 128-132, 1984.
- 26) Robinson, M.J. and Karnovsky, J.M.: Ultrastructural localization of several phosphatases with cerium. *J. Histochem. Cytochem.* **31**, 1197-1208, 1983.
- 27) 長戸康和, 嶋井和世, 串田つゆ香, 串田 弘: 準超薄切片のためのルテニウムレッド染色法—光学顕微鏡と電子顕微鏡のための包埋後染色法(2)—. *細胞* **21**, 31-35, 1989.
- 28) 二階宏昌, 伊集院直邦, 山崎 章, 河原和子: 唾液腺腺様嚢胞癌の電子顕微鏡的研究. 第2編 糖染色による細胞外物質の検討. *広歯誌* **10**, 109-122, 1978.
- 29) 村田久栄, 平林義章, 山田和順: 糖蛋白検出法: 酵素消化と化学修飾; 組織細胞化学. 日本組織細胞化学会編, 学際企画, 東京, 227-252, 1985.
- 30) Page, R.C. and Schroeder, H.E.: *Periodontitis in Man and Other Animals*. S. Karger, Basel, Munchen, Paris, London, New York, Tokyo, Sydney. 58-221, 1981.
- 31) 二階宏昌: 歯周組織破壊のメカニズム; 治療の病理. 山村武夫監修, 医歯薬出版, 東京, 38-54, 1988.
- 32) Listgarten, M.A.: Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. *J. Periodontol.* **47**, 1-18, 1976.
- 33) Courant, P.R., Saxe, S.R., Nash, L. and Roddy, S.: Sulcular bacteria in the beagle dog. *Periodontics* **6**, 250-252, 1968.
- 34) Syed, S.A., Svanberg, M. and Svanberg, G.K.: The predominant cultivable dental plaque flora of beagle dogs with gingivitis. *J. Periodont. Res.* **15**, 123-136, 1980.
- 35) Soames, J.V. and Davies, R.M.: The structure of subgingival plaque in a beagle dog. *J.*

- Periodont. Res.* 9, 333-343, 1974.
- 36) Theilade, J. and Attström, R.: Distribution and ultrastructure of subgingival plaque in beagle dogs with gingival inflammation. *J. Periodont. Res.* 20, 131-145, 1985.
 - 37) Ten Napel, J.H., Theilade, J., Matsson, L. and Attström, R.: Ultrastructure of developing subgingival plaque in beagle dogs. *J. Clin. Periodontol.* 12, 507-524, 1985.
 - 38) 伊東博司：ブラーク付着によるラットの実験的ポケット形成に関する病理学的研究. 広大歯誌 18, 99-119, 1986.
 - 39) 小川哲次, 河内美穂, 寿賀野泰司, 廣島英雄, 河口浩之, 藤谷百合, 佐藤裕紀, 白川正治, 岡本 莫: Long junctional epithelium に関する組織学的研究—ブラークコントロール中止後の超微形態の変化について—. 日歯周誌 33, 371-384, 1991.
 - 40) 伊集院直邦, 宮内睦美, 高田 隆, 伊東博司, 二階宏昌: ラット臼歯部接合上皮細胞の異物貪食能について. 一超微形態学的研究—. 歯基礎誌 30, 397-408, 1988.
 - 41) Shimono, M., Hashimoto, S., Abiko, Y., Hamano, H. and Chen, S-H.: Vacuoles and vesicles in the rat junctional epithelium: A study with serial ultrathin sections. *J. Periodont. Res.* 26, 85-90, 1991.
 - 42) Yamasaki, A., Rose, G.G. and Mahan, C.J.: Collagen degradation by human gingival fibroblasts. I. In vivo phagocytosis. *J. periodont. Res.* 16, 309-322, 1982.
 - 43) 山崎 章, 二階宏昌, 伊集院直邦, 高田 隆, 伊東博司: ラット歯周組織線維芽細胞のライソゾームシステムに関する超微細胞化学的研究. 日歯周誌 26, 289-296, 1984.
 - 44) Yajima, T. and Rose, G.G.: Phagocytosis of collagen by human gingival fibroblast *in vitro*. *J. Dent. Res.* 56, 1271-1277, 1977.
 - 45) Rose, G.G., Yajima, T. and Mahan, C.J.: Human gingival fibroblast cell lines *in vitro*. I. Electron microscopic studies of collagenolysis. *J. Periodont. Res.* 15, 53-70, 1980.
 - 46) McCulloch, C.A.G. and Bordin, S.: Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *J. Periodont. Res.* 26, 144-154, 1991.
 - 47) 小原三和: サル歯肉線維芽細胞によるコラーゲン線維の貪食に関する研究—とくに実験的歯肉炎の動態からみて—. 日歯周誌 24, 530-550, 1982.
 - 48) Soames, J.V. and Davies, R.M.: Intracellular collagen fibrils in early gingivitis in the beagle dog. *J. Periodont. Res.* 12, 378-386, 1977.
 - 49) Deporter, D.A. and Ten Cate, A.R.: Fine structural localization of acid and alkaline phosphatase in collagen-containing vesicles of fibroblasts. *J. Anat.* 114, 457-461, 1980.
 - 50) Schroeder, H.E.: The periodontium. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 23-128, 1986.
 - 51) Saglie, R.: A scanning electron microscopic study of the relationship between the most apically located subgingival plaque and the epithelial attachment. *J. Periodontol.* 48, 105-115, 1977.
 - 52) Schroeder, H.E. and Listgarten, M.A.: Fine structure of developing epithelial attachment of human teeth. 2nd Ed. Karger, Basel, 1977.
 - 53) 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.
 - 54) Eide, B., Lie, T. and Selvig, K.A.: Surface coatings on dental cementum incident to periodontal disease. II. A scanning electron microscopic confirmation of a mineralized cuticle. *J. Clin. Periodontol.* 11, 565-575, 1984.
 - 55) 米沢 実: ラット露出根面表層における膠原線維の変化に関する走査型電子顕微鏡的研究. 日歯周誌 23, 306-326, 1981.
 - 56) 竹本 史, 東 富恵, 川西文子, 谷川昌生, 白石 武, 岡本 莫: 歯周病罹患露出根面の透過電子顕微鏡的検索—未処理, ルートプレーニング, クエン酸処理後の形態学的変化—. 日歯周誌 34, 681-688, 1992.
 - 57) 古宅康久, 栗山正之, 宮下 元, 長谷川絏司, 滝口励司: 露出セメント質表層にみられる過石灰化帯のマイクロラジオグラフィによる観察. 日歯保誌 24, 157-164, 1982.
 - 58) 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.
 - 59) 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.
 - 60) 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.
 - 61) 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.
 - 62) 須田玲子, 茂手木義男, 小勝弘明, 宮下 元, 長谷川絏司, 立川哲彦, 吉木周作: 露出セメント質におけるトレーサー物質の浸透性に関する実験的研究. 日歯周誌 31, 849-859, 1989.
 - 63) Wainwright, W.W.: The permeability of human dental root structures to radioactive iodine. *J. Periodontol.* 23, 95-102, 1952.
 - 64) 小田 茂: 歯周炎罹患歯における endotoxin の

- 浸透程度について. 日歯周誌 34, 46-59, 1992.
- 65) 光崎潤子, 田中裕子, 大竹 徹, 長谷川絃司: 水洗による露出歯根の内毒素除去効果. 日歯周誌 30, 1055-1060, 1989.
- 66) 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.
- 67) 根岸 淳: 口腔内露出歯根象牙質に対する歯周治療法の研究. I. 歯周病罹患歯と健全歯の歯根象牙質への歯肉線維芽細胞の付着・増殖. 日歯周誌 34, 772-778, 1992.
- 68) 小川哲次: 上皮性ならびに結合組織性付着の再形成: ニューアタッチメント; 歯周病の科学. 青野正男編, 医歯薬出版, 東京, 215-221, 1991.
- 69) 小川哲次, 加納利文, 朱 正浩, 藤谷百合, 吉野美穂, 吉野 宏, 河口浩之, 白川正治, 岡本莫: 実験的歯周病罹患歯根面に対するルートプレーニング処置後の再生上皮性付着ならびに結合組織性付着の超微形態について. 日歯周誌 36, 552-562, 1994.

付 図 説 明

- 図2 結紮前の接合上皮。
脱灰エナメル質空隙 (ES) に面する比較的扁平な数層の細胞より構成されている。×1,800
- 図3 図2の拡大像。
脱灰エナメル質空隙 (ES) に面して発達した半接着斑および内側基板から成る上皮付着構造がみられる。×45,000
- 図4 結紮前の接合上皮より根尖側の歯根表面。
セメント質基質 (C) 表面では、シャーピー線維を構成するコラーゲン原線維が結合組織へ走行している。×3,600
- 図5 図4の拡大像。
セメント質基質 (C) 内のコラーゲン原線維は周期的横紋構造を有している。×54,000
- 図6 結紮後2週的最歯冠側部の接合上皮。
接合上皮内に空隙 (*) を形成している。ES: 脱灰エナメル質空隙 ×1,800
- 図7 図6の拡大像。
接合上皮の最表層細胞は、tonofilament 束や細胞内小器官が豊富で、脱灰エナメル質空隙 (ES) に対して上皮付着構造を有している。×66,000
- 図8 同上最根尖側部の接合上皮 (矢印)。
結合組織基質との間に外側基板を欠いている。また、この部のセメント質基質 (C) に接する結合組織では、コラーゲン原線維が消失している。×18,000
- 図9 同上接合上皮より根尖側のセメント質表面。
セメント質基質 (C) 表面のコラーゲン原線維は大部分が健在であるが、その線維束間にコラーゲン原線維を含有した線維芽細胞 (矢印) が介在している。×5,400
- 図10 結紮後4週の接合上皮。
コラーゲン原線維の消失したセメント質基質 (C) 面に比較的短く接し、その広い細胞間隙には好中球や断裂したコラーゲン原線維束 (矢印) がみられる。×1,800
- 図11 図10の拡大像。
接合上皮基底面には発達の悪い上皮付着構造がみられる。セメント質基質 (C) 面は鋸歯状を示し、コラーゲン原線維の断端に接する接合上皮の細胞膜が陥凹して、空胞様の構造を呈している (矢印)。×54,000
- 図12 同上接合上皮より根尖側の歯根面。セメント質基質 (C) 表面のコラーゲン原線維は、2週よりも広範に消失しており、残存する線維間には、好中球やリンパ球がみられる。×3,600
- 図13 図12の拡大像。
セメント質基質 (C) 表面に存在するコラーゲン原線維束間にコラーゲン原線維の断片を含んだ多数の空胞 (矢印) を有する線維芽細胞がみられ、その細胞質突起は伸長し、セメント質面に接している。×18,000
- 図14 結紮後6週の接合上皮より根尖側の歯根表面。セメント質基質 (C) 表層では、コラーゲン原線維の細線維化や横紋構造の消失像などがみられ、これに近接する線維芽細胞の陥凹した細胞膜内にコラーゲン原線維の断片が観察される (矢印)。×54,000
- 図15 結紮後8週の接合上皮より根尖側の歯根表面。
線維芽細胞の空胞内のコラーゲン原線維とセメント質基質 (C) コラーゲン原線維との連続性が観察される (矢印)。×45,000
- 図16 結紮後32週の非脱灰切片。
接合上皮の接するセメント質 (C) 表面では、一部残存するコラーゲン原線維間の結晶構造が消失している (矢印)。×27,000
- 図17 同上非脱灰切片。
接合上皮より根尖側の結合組織の接するセメント質基質 (C) 表層では、深部セメント質よりも結晶密度が低くなっているところが観察される (矢印)。×18,000
- 図18 結紮後4週の露出歯根面。
歯周ポケット内には、多数のブランク細菌がみられ、セメント質基質 (C) 面には接合上皮面にみられる電子密度の高い層と連続した構造物が認められる (矢印)。×1,800

- 図19 図18の拡大像。
露出直後のセメント質基質 (C) 表面には、シャープ線維を構成するコラーゲン原線維は見当たらず、多くの場合、変性した接合上皮の遺残構造物がみられる。×18,000
- 図20 結紮後6週の露出歯根面。
CEJに近いセメント質基質 (C) 表面には、電子密度の高い層がみられ (矢印)、セメント質基質表層のコラーゲン原線維には横紋構造の消失がみられる。×18,000
- 図21 結紮後8週の歯冠側部の露出歯根面。CEJ付近の非脱灰未染色試料では、セメント質基質 (C) 表層には、やや電子密度の高い層が存在し、しばしば、セメント質の陥凹にブランク細菌が侵入している。×18,000
- 図22 結紮後16週の歯冠側部の露出歯根面。
歯冠側部に向かうに従って、セメント質基質 (C) 表面ではコラーゲン原線維に著明な横紋構造の消失や細線維化がみられる (矢印)。×9,000
- 図23 結紮後32週の歯冠側部の露出歯根面。
セメント質基質 (C) の線維変性層に接して電子密度の高い構造物が観察される (矢印)。×18,000
- 図24 同上非脱灰試料。
セメント質基質 (C) 表層では、コラーゲン原線維の走行による結晶密度が異なっており、その表面には、歯石様の結晶がみられる。×45,000
- 図25 同上非脱灰試料。セメント質基質 (C) 表層では帯状に結晶密度の増加しているところがみられる (矢印)。×18,000
- 図26 結紮後48週の歯冠側部の露出歯根面。
セメント質基質 (C) 表面には、電子密度の高い層が存在し、しばしば、象牙質 (D) の細管内トームス突起の消失および萎縮・変性像が観察される (矢印)。×54,000
- 図27 同上歯冠側部の露出歯根面。
セメント質基質 (C) が剝離し (矢印)、表面に陥凹が形成されている。×14,400
- 図28 同上歯周ポケット底部付近の露出歯根面。
セメント小管がポケット内へ露出し、細菌侵入が観察される (矢印)。C:セメント質基質 ×7,200
- 図29 同上歯周ポケット底部付近の露出歯根面。
深部のセメント小腔にも細菌が侵入し (矢印)、それらの周囲セメント質基質 (C) にはコラーゲン原線維の消失、細線維化などが観察される。×5,400
- 図30 β グリセロリン酸を基質とする ACPase 反応 (ACP)。結紮後16週の線維芽細胞内のコラーゲン原線維を含む空胞は、その内部に陽性所見を示している。×7,200
- 図31 図30の拡大像。
×45,000
- 図32 β グリセロリン酸を含まない基質での ACPase 反応 (ACP-)。結紮後16週の線維芽細胞内に陽性反応は認められない。×54,000
- 図33 ルテニウムレッド反応 (RR)。
歯周ポケット底部でのセメント質基質 (C) 表層の電子密度の高い層 (矢印) が陽性反応を示している。×18,000
- 図34 ルテニウムレッド反応 (RR)。
歯冠側部のセメント質表面とブランク細菌との間の層状構造物 (矢印) も陽性反応を示している。×54,000
- 図35 過ヨウ素酸—メテナミン銀反応 (PA-MS)。
歯周ポケット底部付近のセメント質基質 (C) 表層の電子密度の高い層 (矢印) が陽性反応を示している。×18,000
- 図36 過ヨウ素酸—メテナミン銀反応で過ヨウ素酸にて酸化を行わない対照。(PA-MS-)
セメント質基質 (C) 表層の電子密度の高い層は陰性所見を呈している。×18,000
- 図37 ニンヒドリン—蛋白銀反応 (N-SP)。
歯冠側部のセメント質基質 (C) 表面と細菌との間の構造物に陽性反応がみられる。×54,000
- 図38 ニンヒドリン—蛋白銀反応でニンヒドリンを作用させない対照 (N-SP-)。
歯冠側部のセメント質基質 (C) 表面と細菌との間の構造物は陰性である。×54,000

- 図39 酵素消化試験の対照 (cont).
歯冠側部のセメント質基質 (C) 表面とプラーク細菌との間に電子密度の高い層 (矢印) がみられる。×54,000
- 図40 トリプシン消化2時間 (try2h).
歯冠側部のセメント質基質 (C) 表面とプラーク細菌との間の高電子密度層の、一部が消失している (矢印)。×54,000
- 図41 トリプシン消化15時間 (try15h).
歯冠側部のセメント質基質 (C) 表面とプラーク細菌との間の電子密度の高い層は、ほとんど全層が消失している (矢印)。×54,000
- 図42 ヒアルロニダーゼ消化2時間 (hy2h).
歯冠側部のセメント質基質 (C) 表面とプラーク細菌との間の高電子密度層の一部が消失している (矢印)。×54,000
- 図43 コラゲナーゼ消化4時間 (col4h).
歯冠側部のセメント質基質 (C) 表面とプラーク細菌との間の高電子密度層の一部が消失している (矢印)。×54,000

