

氏名	堀内正純
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第 1871号
学位授与の日付	平成11年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	スクレーラーによる歯垢除去及びブラッシングのイヌ歯周組織における病理組織学的研究
論文審査委員	教授 永井教之 教授 村山洋二 教授 渡邊達夫

学位論文内容の要旨

【緒言】

ブラッシングは歯周病の予防と治療に効果的である。その効果は歯垢除去だけでなく機械的刺激にも起因していると考えられる。ブラッシングの機械的刺激で歯肉血流量が増加することが報告されている。また、刺激に対する角質層や外縁上皮の肥厚という形態的な変化をみているものもある。

本研究では、ブラッシングに対するイヌ歯肉組織の応答を細胞増殖の面から組織学的、免疫組織化学的に検討した。

【材料および方法】

雑種犬6頭の口腔内を上下顎左右に4分割し、ブラッシング側と歯垢除去側にわけた。ブラッシングはひずみゲージを用いてモニターしながら200gの強さで20秒間行った。歯垢除去はキュレットタイプスクレーラーで歯肉を刺激することなく行った。対象歯は上顎は第2小白歯、第3小白歯、第1大白歯、下顎は第3小白歯、第4小白歯、第1大白歯とした。それぞれの歯に対して1, 3, 5週間、ブラッシングまたは歯垢除去を毎日行った。実験期間中、食餌は固形飼料に水を含ませた軟食を与えた。

1. 組織染色

屠殺後、歯と歯肉を4%パラホルムアルデヒド溶液で一昼夜浸漬固定、10%EDTA緩衝液で脱灰した後、パラフィン包埋を行った。各ブロックより頬舌断面が観察できるような厚さ4 μ mの連続切片を作製した。切片はHE染色、マロリー・トリクロム染色を行った。免疫染色は一次抗体としてマウス抗proliferating cell nuclear antigen (PCNA)モノクローナル抗体と反応させ、ABC法に従いDAB発色、そしてマイヤーのヘマトキシリンにて後染色を行った。

2. 定量組織学的方法

- 1) 上皮幅：Berglundhらの方法により内縁上皮最根尖部から歯肉頂までを3等分し、各々の中央部について外縁上皮角化幅(マロリー・トリクロム染色)、外縁上皮幅及び内縁上皮幅(HE染色)を計測した。
- 2) 上皮細胞：外縁上皮では外縁上皮幅を測定した部位の0.25mm幅の基底細胞について数えた。内縁上皮ではすべての内縁上皮の基底細胞について数えた。上皮細胞数、PCNA陽性上皮細胞数を0.1mmの長さあたりに換算し密度とした。
- 3) 上皮下線維芽細胞：外縁上皮下は、内縁上皮最根尖部から歯肉頂までを3等分し、

各中央部の上皮脚下の単位面積 (0.1mm×0.1mm) 当たりについて線維芽細胞密度, PCNA 陽性線維芽細胞密度を測定した。内縁上皮下線維芽細胞では, 内縁上皮最根尖部から歯肉頂までを7分割し, 上皮直下の単位面積 (0.1mm×0.1mm) 当たりの線維芽細胞密度と PCNA 陽性線維芽細胞密度を測定した。

- 4) 歯槽骨表面の線維芽細胞: 歯槽骨頂の結合組織について歯槽骨表面上の隣接する5部位の線維芽細胞密度と PCNA 陽性線維芽細胞密度を単位面積 (0.1mm×0.1mm) 当たりについて測定した。

3. 統計処理

測定値の平均についてのブラッシング側と歯垢除去側の比較は Wilcoxon の順位和検定で行った。

【結果および考察】

1. 上皮幅: ブラッシング側の外縁上皮角質層は実験期間に応じて肥厚し, 3週目より歯垢除去側に対して厚くなった。外縁上皮幅も3週目より有意に厚くなった。ブラッシング側の内縁上皮幅は実験期間を通じて大きな変化は示さなかった。
2. 上皮細胞: 外縁上皮の PCNA 陽性細胞密度及び PCNA 陽性率は歯垢除去側に対しブラッシング側で1週目のみに有意に高い値を示した。内縁上皮の細胞密度, PCNA 陽性細胞密度, PCNA 陽性率は, 歯垢除去側に対しブラッシング側で1, 3, 5週目の全てで有意に高い値を示した。特に PCNA 陽性細胞密度の歯垢除去に対するブラッシングの比率は2倍程度の高い値を常に示した。
3. 上皮下線維芽細胞: 外縁上皮下の線維芽細胞の細胞密度は, 歯垢除去側に対しブラッシング側の方が1週目に1.24倍と有意に高い値を示し, その後経時的に減少した。PCNA 陽性細胞密度の歯垢除去側に対するブラッシング側の比率は1週目を最大に経時的に減少した。PCNA 陽性率は3週目が最大であった。内縁上皮下の線維芽細胞密度, PCNA 陽性細胞密度, PCNA 陽性率は1, 3, 5週目の全てにおいて歯垢除去側に対してブラッシング側で有意に高い値を示した。特に PCNA 陽性線維芽細胞密度の歯垢除去に対するブラッシングの比率は2倍程度の高い値を常に示した。
4. 歯槽骨表面の線維芽細胞: 細胞密度は歯垢除去側に対してブラッシング側で5週目に有意に高い値を示した。PCNA 陽性細胞密度は1, 3, 5週目の全てにおいて有意に高い値を示した。PCNA 陽性率は3週目より歯垢除去側に対してブラッシング側で有意に高い値を示した。

ブラッシング側の外縁上皮側と内縁上皮側を比較すると内縁上皮側の上皮細胞や上皮下線維芽細胞に高い細胞増殖活性の亢進を示した。特に内縁上皮細胞では上皮表層の剥離が認められた。このことより, 上皮細胞のターンオーバーの促進が感染防御作用を向上させるとも考えられる。

ブラッシングの効果は歯垢除去効果であると考えられていたが本研究の結果, 歯垢除去よりブラッシングの方が組織の細胞増殖を促進し, 歯肉炎の予防や治療により効果的であることが示唆された。

【結論】

ブラッシングの機械的刺激により外縁上皮の角質層や幅が肥厚し, 上皮細胞や線維芽細胞の細胞増殖活性の亢進が認められた。その活性の経時的な変化は, 部位によって異なっていた。

論文審査結果の要旨

本研究はスケーリングおよびブラッシングがイヌ歯周組織にいかなる影響を及ぼすかを病理組織学的及び免疫組織化学的に検討したものである。なお、ここでいうスケーリングは歯肉の機械的刺激が加わらないようにして歯肉縁上歯垢を除去すること、そして、ブラッシングは歯肉縁上歯垢の除去と歯肉への機械的刺激を意味する。

イヌ6頭の72歯をスケーリング群とブラッシング群に分けた。実験開始1, 3および5週後のイヌ歯周組織にヘマトキシリン・エオジン染色及びPCNA抗体を用いた免疫染色を施し、定量的に観察した。

その結果、歯周組織に以下の変化を認めた。

スケーリング群においては、口腔内診査結果、炎症性細胞浸潤の密度、上皮幅、上皮細胞密度、線維芽細胞密度、及び上皮細胞ならびに線維芽細胞のPCNA陽性細胞密度は経時的に大きな変化はなく、5週目でも1週目の値を維持した。

ブラッシング群では、歯肉溝の深さが0週目に比較して3週目から有意に減少した。外縁上皮幅と角化幅が経時的に増加し、そして炎症性細胞浸潤が1週目の密度に比較して5週目に改善した。外縁及び内縁上皮細胞の密度は大きな変化がなかったが、外縁上皮下線維芽細胞数は経時的に減少した。これに対し内縁上皮下線維芽細胞数は1週目に比べ3及び5週目に増加した。また、歯槽骨表面線維芽細胞の数は経時的に増加した。PCNA陽性細胞密度は、内縁上皮下線維芽細胞と歯槽骨表面線維芽細胞で1週目に比べ3及び5週目に増加した。

口腔清掃に基づく刺激の影響が歯周組織にどのような変化を及ぼすかについてのイヌやサルを用いた研究は一般的に困難であるとされている。本研究はその困難を克服して、上述した現象を導いたものであり、その点を評価した。本申請論文は学位論文としての価値があると判定した。