

〔原著〕 松本歯学 16 : 152~159, 1990

key words : ポリエチレン繊維 — アスベスト — 組織反応 — ラット

ラットの皮下組織内に埋入したポリエチレン繊維 に対する組織反応

安東基善, 吉河 靖, 長谷川博雄
川上敏行, 枝 重夫

松本歯科大学 口腔病理学教室 (主任 枝 重夫 教授)

Tissue Reactions to Polyethylene Fibers Embedded Subcutaneously in Rats

MOTOYOSHI ANTOH, YASUSHI YOSHIKAWA, HIROMASA HASEGAWA,
TOSHIYUKI KAWAKAMI and SHIGEO EDA

Department of Oral Pathology, Matsumoto Dental College
(Chief : Prof. S. Eda)

Summary

Polyethylene fibers, which could be substituted for the asbestos component in certain pulp devitalizers (Neo-Arsen Black and Neo-Paraform Paste), were embedded subcutaneously in rats, and the tissue reactions were studied histopathologically and electron microscopically. These results were compared with similar observations made using asbestos as a control. Whereas the latter materials were encapsulated, the polyethylene fibers were phagocytized by foreign body giant cells and decreased in quantity with the passage of time. Based upon these observations and a review of the literature on tissue reactions to these materials, it was determined that polyethylene fibers are biologically useful as a substitute for asbestos.

結 言

近年, 産業界全般において健康障害をもたらすことからアスベストの使用を禁止する動きが年々高まって来ている。歯科領域においても, アスベストは歯髄失活剤 (ネオ・アルゼンブラック, ネオ・パラホルムパスタ) など種々のものに操作性

向上の目的およびその担体として使用されている。そこで我々は, その代替材としてポリエチレン繊維を利用すべく, それの生体に対する安全性を確認するため, これに対する組織反応を病理組織学的に検討し, 若干の見解が得られたので報告する。

材料と方法

被検材料：ポリエチレン繊維はネオ製薬工業株式会社より提供を受けたもので、その太さは約1~5 μm 、長さは約700~1600 μm である(図1)、また、その密度は0.96g/cm³、融点132°Cである。

対照として用いたアスベストはネオ・アルゼンブラックおよびネオ・バラホルムバスタ(ネオ製薬工業株式会社)に用いられているものである。その単繊維の太さは約16 nm~30 nmで、長さは10 μm ~1000 μm である(図2)。種類はクリンタイル； $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ で、これは1974年の石綿総生産量の90%を占める代表的なものである。なお、これら材料にはエチレンオキサイドによるガス滅菌を施して実験に供した。

実験動物：体重約100 g、4週齢のSD系の雌ラッ

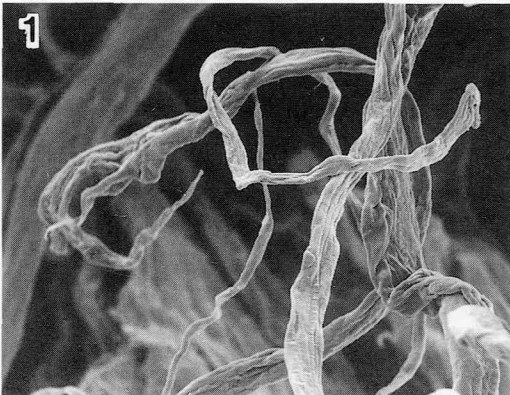


図1：ポリエチレン繊維の走査電顕像
($\times 1,000$)

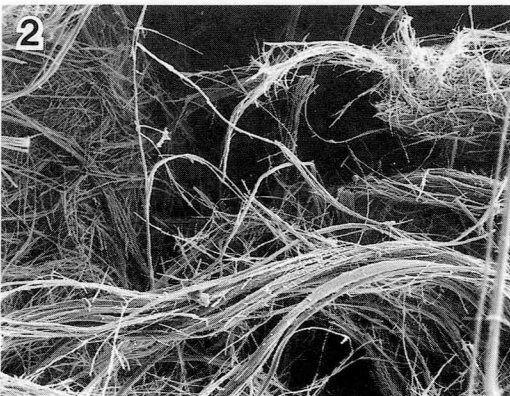


図2：アスベストの走査電顕像
($\times 1,000$)

トを約1週間飼育観察し、そのうちから健康と思われるもの20匹を使用した。

実験方法：埋入に先立ち、ラットにペントバルビタール・ナトリウム注射液の腹腔内注射による全身麻酔を施し、これを実験台に固定した。背部の手術野を毛刈バサミで剃毛した後、酒精綿で拭掃した。メスで皮膚に切開を加え、鈍的に剝離した皮下組織内にポリエチレン繊維0.5gを滅菌生食水で混和したものを埋入した。対照としては同量のアスベストを用いた。創口はシアノアクリレート系外科用瞬間接着剤で接着した。以後、ラット用ケージ内で、マウス・ラット用固形飼料MF(オリエンタル酵母株式会社)と飲料水を自由に摂取できるようにして飼育した。なお、実験期間およびそれらの例数は表1に示す。

表1：実験期間および例数

期	間(週)	1	2	4	8	12	計
ポリエチレン埋入群		2	2	2	2	2	10
アスベスト埋入群		2	2	2	2	2	10

検索方法：実験期間経過後、全身麻酔下にラットから埋入物を周囲組織と共に一塊として摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定後、通法によりパラフィン切片としヘマトキシリン・エオシン(H-E)染色を施して病理組織学的に観察した。また、一部のものには、マロリーのアザン染色やアゾ色素法による耐熱性の酸性フォスファターゼ活性についても検索した。さらに摘出材料の一部は、摘出直後に細切し、氷冷したKarnovsky液による前固定の後、オスミウム酸により後固定を施してエボン包埋試料とした。超薄切片を作成し酢酸ウラニル・クエン酸鉛(U-Pb)の二重染色を施して透過型電子顕微鏡(JEOL JEM 1200EXII)にて観察した。

結 果

光顕の検索では、1週経過すると、埋入したポリエチレン繊維は塊状で、その周りに多核の異物巨細胞を多数混じった肉芽組織が増殖していた(図3)。しかしこの肉芽組織の厚さは薄く、ポリエチレン繊維は大半が中央部に残っていた。

以後、2週、4週(図4)、8週、および12週経過例(図5)ともに病理組織像は基本的には1週

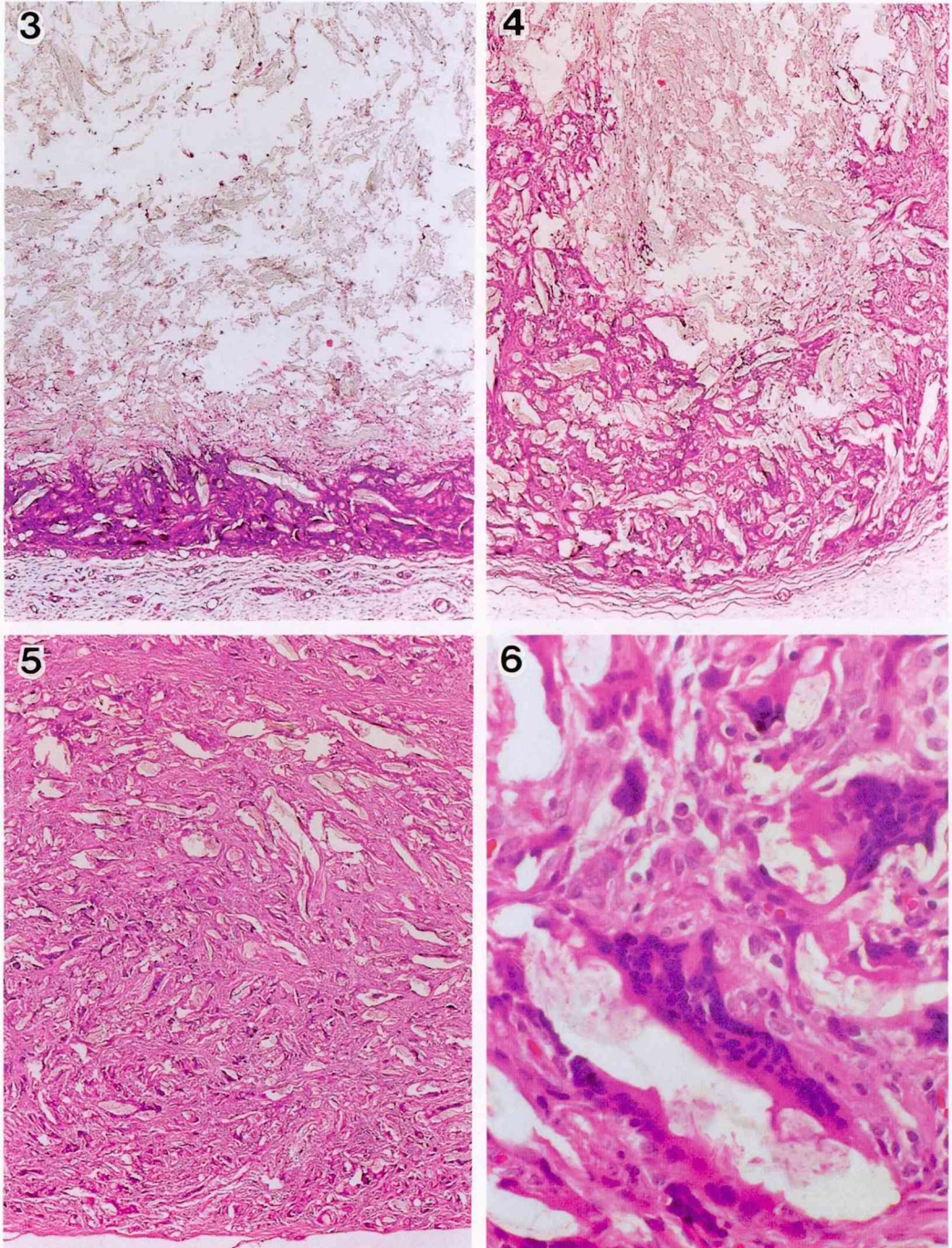


図3：埋入したポリエチレン繊維周囲の巨細胞を含む幼若な肉芽組織（ポリエチレン埋入群，1週例；H-E，×40）

図4：経時的に増加する巨細胞主体の肉芽組織（ポリエチレン埋入群，4週例；H-E，×40）

図5：巨細胞の豊富な肉芽組織によって置換した埋入部（ポリエチレン埋入群，12週例；H-E，×40）

図6：巨細胞の強拡大像（ポリエチレン埋入群，4週例；H-E，×400）

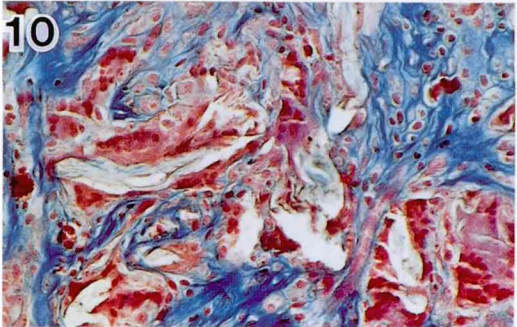
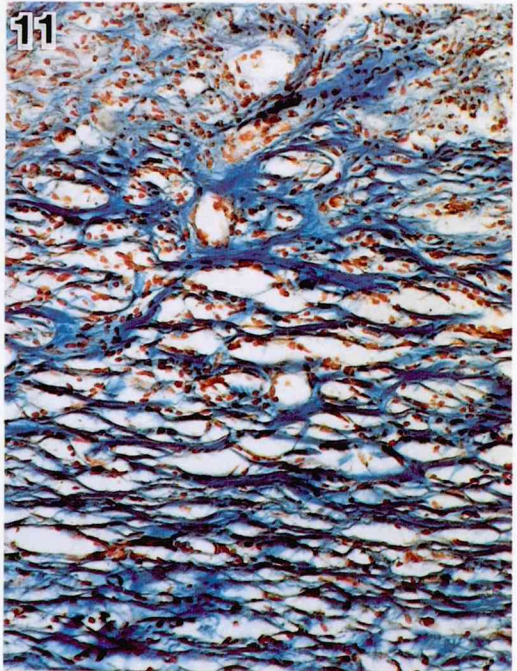
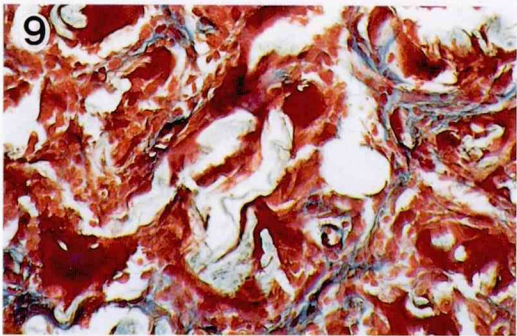
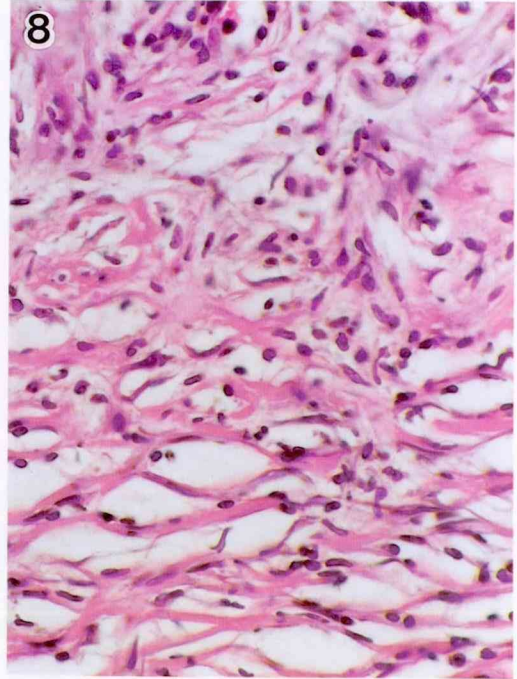
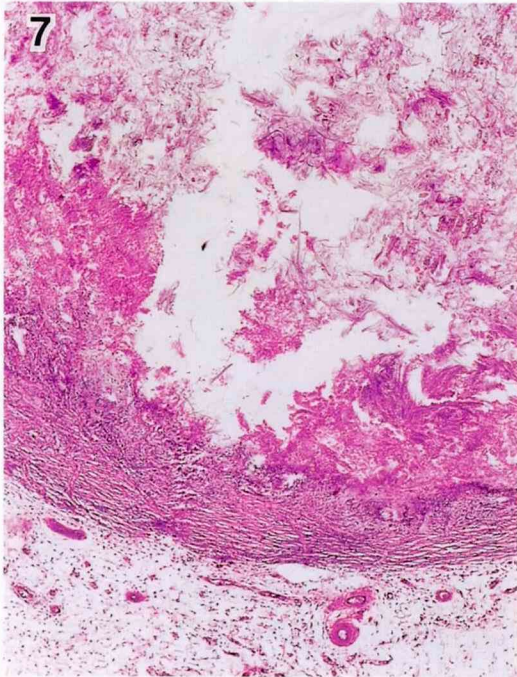


図7：線維性組織によって被包されたアスベスト（アスベスト埋入群，4週例；H-E，×40）
図8：図7の一部強拡大像（アスベスト埋入群，4週例；H-E，×400）
図9：巨細胞の周囲には膠原線維の形成が少ない（ポリエチレン埋入群，4週例；アザン染色，×200）
図10：経時的に若干増加した膠原線維（ポリエチレン埋入群，12週例；アザン染色，×200）
図11：アスベスト埋入群には膠原線維の形成が著しい（アスベスト埋入群，4週例；アザン染色，×200）

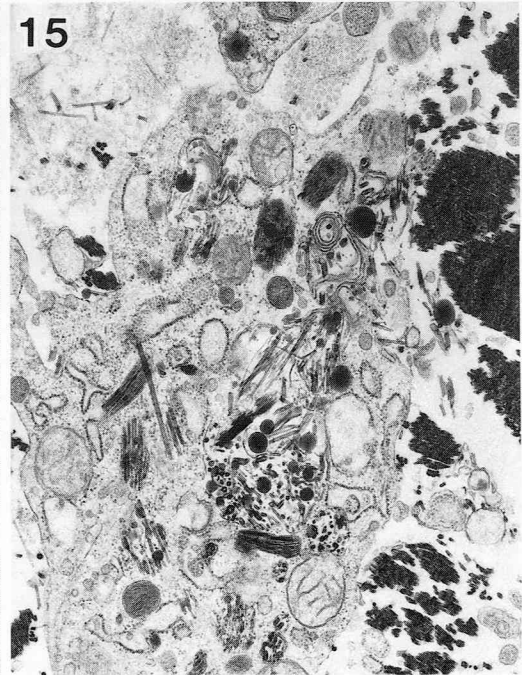
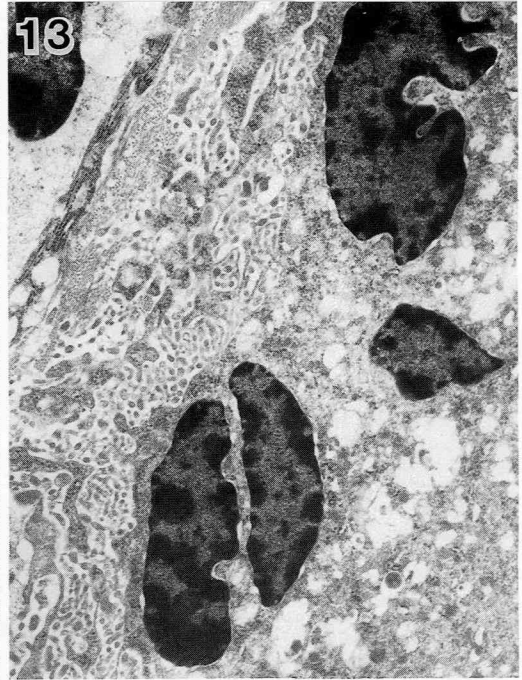
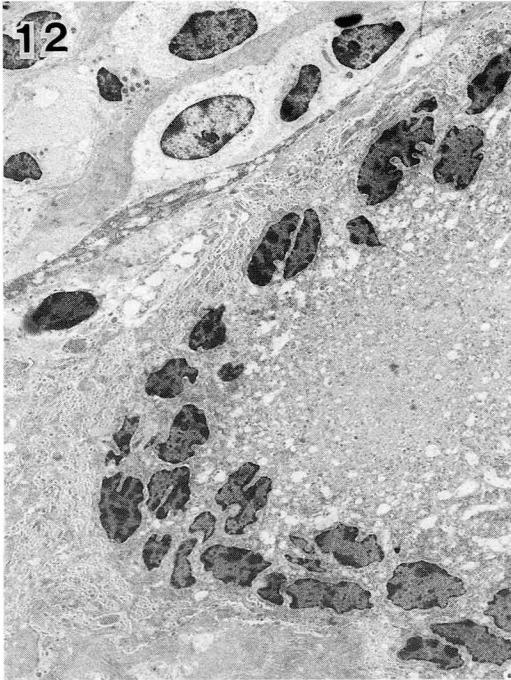


図12：巨細胞の透過電顕像（U-Pb, $\times 1,800$ ）

図13：図12の一部拡大（U-Pb, $\times 7,000$ ）

図14：線維芽細胞内外のアスベスト（U-Pb, $\times 1,9000$ ）

図15：取り込まれたアスベスト小片と散在する細胞小器官（U-Pb, $\times 16,000$ ）

経過例のものと同様であったが、日時の経過と共に肉芽組織の増殖が進行していた。とくに8週例および12週例のものでは、ほとんどが肉芽組織に置換されており、埋入したポリエチレン繊維の量は逆に、次第に若干減少していた。異物巨細胞は個々のポリエチレン繊維を取り囲むように配列し、繊維が縦断されたところでは、コレステリン結晶の周囲を取り巻く異物巨細胞と類似の所見を呈していた。その形は不整形で、繊維の形に相似して長紡錘形に近いものが多数認められた。核数は100を越えるものがほとんどで、その配列にはとくに規則性はなかった(図6)。このような異物巨細胞は増殖した肉芽組織の大半を占めており、炎症性細胞の浸潤、毛細血管の形成、周囲の線維性被膜の形成はほとんど観察されなかった。

これに対し対照のアスベスト埋入群では、1週経過例で、アスベストの埋入部周囲には比較的膠原線維の豊富な肉芽組織が形成され、周囲の皮下組織とアスベストを明らかに分界していた。膠原線維は、アスベストに接する内層よりも外層に多くみられた。肉芽組織や周囲の皮下組織には、リンパ球等、若干の炎症性細胞の浸潤を伴っていた。

以後、2週、4週(図7, 8)、8週、および12週経過例についても1週例の所見と同様で、経時的な変化はほとんど認められなかったが、炎症性細胞の浸潤は減少傾向にあった。

肉芽組織中の膠原線維について、マロリーのアザン染色標本によって検索したところ、ポリエチレン埋入群4週例では膠原線維の形成は非常に少ないが(図9)、12週例になると青染する膠原線維が比較的多く観察された(図10)。これに対しアスベスト埋入群では、膠原線維の量は実験群よりも圧倒的に多いが、経時的変化はなかった(図11)。また、耐熱性の酸性フォスファターゼ活性については、ポリエチレン埋入群に現われた異物巨細胞の一部に、赤く染まる陽性の反応が認められた。

電顕的には、ポリエチレン埋入群においてポリエチレン繊維に接して現われた異物巨細胞は多数の細胞質突起を有し、細胞質内に比較的小さく、境界がやや不明瞭な貪食空胞が多く観察された。またその他の細胞小器官はほとんど認められなかった。核はクロマチンに富み、不整形で切れ込みを持つものが多かった(図12, 13)。

対照群では、アスベストは膠原線維や線維芽細胞

の付近でいたる所に観察され(図14)、線維芽細胞の細胞質内にも取り込まれたアスベストの小片が多数散在しており、さらに細胞外にも細胞小器官とともに無秩序に散在していた(図15)。

考 察

生体内に取り込まれたアスベストは、Muir (1972)¹¹⁾によると、マクロファージによって貪食され、フェリチンに似た蛋白・鉄複合体によって覆われた状態になると言っている。これは一般にアスベスト小体と呼ばれており、これは生体内の局所に長期間滞留すると述べている。またDavis (1965)³⁾やSuzuki and Churg (1969)¹³⁾は、アスベストはマクロファージによって貪食され、きわめて徐々に消化・寸断されて処理されると考えているが、生体にとって、完全には処理のできない異物であると言うことができる。一方、今回の我々の実験では、アスベストは肉芽組織によって被包されて、周囲皮下組織から分界されたのみで、貪食による異物の処理は、光顕的検索では確認できなかった。また電顕的にも、アスベスト小体は観察されなかったこと、さらに線維芽細胞にもアスベスト小片はほとんど取り込まれておらず、過量の貪食によって破壊された細胞が多くみられたことより、ラットの皮下組織に埋入されたアスベストはほとんど貪食による処理をうけないものと判断された。近年問題となっているアスベストの発癌性は、このように生体内に長く留まること、アスベストの鋭端な形状による生体内での移動、優れた吸着性による発癌性物質の蓄積によるものであると論じられている⁴⁾。したがって、たとえ少量であっても、アスベストの利用は、これを使用する歯科医師、患者、さらには製造者の健康への影響を考えると、この回避は当然のことであろう。

これに対し、今回アスベストの代替材として検討したポリエチレンに対する生体反応については、桜井(1977)¹²⁾が医用高分子などの材料に対する生体反応は材料側、生体側の多くの要因によって多彩な様相を示すと言っており、材料側の要因として、材料の生体に対する化学的刺激性、機械的刺激性、生物学的刺激性などを挙げ、生体に対して種々の影響をもたらすとしている。これらのことは今西ら(1982)⁷⁾の総説にも記載されており、同様に考えている。

材料の生体に対する化学的刺激については、ポリマー、可塑剤、安定剤など各種の添加剤、材料の劣化に伴う分解産物や溶出物などによるものがある。しかし、Autian(藤田訳)¹⁾の総説によると、ポリエチレンは成分の拡散傾向が極めて少なく、さらに使用添加物が極端に少ないことから生体反応はほとんど見だせないとされている。また、Guessら(1966)⁵⁾は添加剤についてウサギの筋組織の組織反応を調べ、その毒性について論じているが、ここで注目したいのは、ポリエチレン単独では毒性を示すような組織反応はなかったということである。材料の劣化に伴う問題についても彼の総説で多くの研究が紹介されているが、Kojima(1975)⁹⁾は犬の皮下組織に各種の高分子材料を埋入し、その材料の劣化について検索しており、12ヶ月の埋入期間でポリエチレンの引っ張り強さは変化がなく、伸び率は280%から240%に低下しただけであった。機械的刺激については、材料の形状、大きさ、生体と接する部位の表面の性状などがあり、Bichoff and Bryson(1964)²⁾は各種の高分子材料を形状別にラットに埋入し、発癌性の実験を行っている。それによると、シート状あるいはフィルム状のものは高い発癌性を示すが、粉末状、繊維状のものには発癌性はないと結論づけている。材料の表面の性状も、劣化などの生体内での変化に大きく関わる要因であるが、川原と久木崎(1974)⁸⁾によると、ポリエチレンは細胞に対する「ぬれ」は悪いと言っている。したがって、今回の繊維状のポリエチレンはあまり劣化せず、発癌性を含む生体為害作用はほとんどないものとして考えることができる。

さて今回の病理組織学的検索によって、ポリエチレン繊維は異物巨細胞によって貪食されており、また一部にはあるが異物巨細胞の胞体に酸性フォスファターゼ活性の陽性反応が認められたことはこれが活発に処理されていることを示唆している。このことは病理学的に異物の処理という点から考えても、巨細胞によって貪食されるポリエチレン繊維と、肉芽組織によって被包されるに過ぎないアスベストを比較すると、明らかに前者の方が生体にとっては処理し易いものであると言える。また今回の検索結果は、松本(1978)¹⁰⁾や今井(1978)⁶⁾の高分子に対する局所の生体反応と同様であった。さらに今井(1978)⁶⁾は生体内に埋入

した材料の周囲に現われる線維性被膜の病理組織学的所見について次の様に述べている。毒性・刺激性の少ないシート状の材料では線維芽細胞を主体とする線維性組織が反応性に増殖してその厚さを増すのに対し、毒性・刺激性の強い材料では材料周囲の線維は硝子化し、その周りに円形細胞の浸潤があり、慢性の炎症反応が持続する。この線維性被膜の厚さは、同じ材料でもその形状によって左右され、それによる局所の代謝障害が発癌の要因と推定している。したがって今回のポリエチレンの発癌の可能性はほとんどないものと判断できよう。

さらに実験群において、前述した局所の異物反応の他には、壊死、著明な炎症性細胞の浸潤、全身性の毒性反応などは認められなかったことから生体に対するポリエチレンの為害作用はほとんどないものと考えられる。

以上のように、アスベストとポリエチレンの生体に対する毒性学的な影響の比較や、両者の異物処理の点での組織反応、さらには目的とする歯髄失活剤での用途やその使用が短期間であることを考え合わせれば、ポリエチレン繊維はアスベストよりも生体に対する為害作用は弱く、その代替材として極めて有用であるものと思われた。

総括と結論

歯髄失活剤(ネオ・アルゼンブラックおよびネオ・パラホルムバスタ)などに使用されているアスベストおよびその代替材としてのポリエチレン繊維について、ラットの皮下組織での反応を病理学的に検討した。その結果、アスベストは被包されたのに対し、ポリエチレン繊維は、異物巨細胞によって貪食され、経時的に減少した。このことと両者の生体に対する為害作用について若干の文献の考察を加え、アスベストの代替材として、ポリエチレン繊維は歯髄失活材の担体として極めて有用なものであると判断された。

文 献

- 1) Autian, J. (訳：藤田正一郎) (1975) プラスチックの毒性. 新毒性学の基礎と応用, 648—670. 日本メディカルセンター, 東京.
- 2) Bischoff, F. and Bryson, G. (1964) Carcinogenesis through solid state surface. *Progr. Exp. Tumor Res.* 5: 85—133.

- 3) Davis, J. M. G. (1965) Electron microscope studies of asbestosis in man and animals. *Ann. N. Y. Acad. sci.* **132**: 98—111.
- 4) Flowers, E. S. (1974) Relationship between exposure to asbestos, collagen formation, ferruginous bodies and carcinoma. *Am. Industr. Hyg. Assoc. J.* **35**: 724—729.
- 5) Guess, W. L., O'Leary, R. K., Calley, D. and Autian, J. (1966) Parenteral toxicity of a series of commercially available dioctyl and dibutyltin stabilizers used in PVC formulations. proceedings, 22nd Annual Technical Conference, XXV-4: 1—7. Society of Plastics Engineers, Inc.
- 6) 今井庸二(1978)医用材料の安全性. *化学総説* **21**: 55—84.
- 7) 今西幸男, 桜井靖久, 妹尾学, 竹本喜一 (1982) 医用材料と生体系との相互作用. *医用材料と生体*, 134—201. 講談社, 東京.
- 8) 川原春男, 久木崎重康 (1974) 生体内埋入材の生物学. *医科器械学誌*, **44**: 509—518.
- 9) Kojima, K. (1975) Interaction between polymeric materials and tissue —Biodeterioration of polymeric materials—. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* **22**: 263—272.
- 10) 松本博志 (1978) 材料と生体の界面 (2) 生体適合材料の界面現象. *化学総説* **21**: 35—54.
- 11) Muir, D. C. F. (1972) Asbestos. In "Clinical Aspects of Inhaled Particles" 84—129. William Heinemann Med. Books, London.
- 12) 桜井靖久 (1977) 医用高分子. *工業材料*, **25** (1): 25—32.
- 13) Suzuki, Y. and Churg, J. (1969) Structure and development of asbestos body. *Am. J. Pathol.* **55**: 79—107.