

〔原著〕 松本歯学 5 : 35~44, 1979

ヨードホルム・水酸化カルシウムパスタ（糊剤根管充填
材ビタペックス）の組織埋入に関する実験的研究
第1報 病理組織学的検索

川上敏行, 中村千仁, 林 俊子, 枝 重夫
松本歯科大学 口腔病理学教室（主任 枝 重夫 教授）

赤 羽 章 司
松本歯科大学 電子顕微鏡室（主任 赤羽章司 学士）

Studies on the Tissue Reactions to the Paste of Calcium Hydroxide added Iodoform
(Root Canal Filling Material : Vitapex®)
First report. A histopathological study

TOSHIYUKI KAWAKAMI, CHIHITO NAKAMURA, TOSHIKO HAYASHI and SHIGEO EDA
Department of Oral Pathology, Matsumoto Dental College
(Chief: Prof. S. Eda)

SHOJI AKAHANE
Laboratory of Electron-microscope, Matsumoto Dental College
(Chief: B. Sc. S. Akahane)

Summary

Using the rat the tissue reaction to calcium hydroxide added iodoform (Vitapex®: Root canal filling material) was studied by means of radiography, histopathology and enzyme histochemistry. A small amount of the paste was implanted into the subcutaneous tissues, muscles and the periosteums. Experimental period belongs between 4 days and 61 days (Table 1).

Results are as follows :

1. Radiographic examination revealed that the implanted paste showed a well demarcated radiopaque mass just after the experiment, then gradually diffused and was absorbed, and that the paste was disappeared approximately 40 days later (Figs. 1-15).
2. Histopathologically, granulation tissues gradually formed around the Vitapex. The round cells consisted chiefly of histiocytes (Figs. 16, 17).

3. These histiocytes were demonstrated to contain calcium salts by the von Kossa stain (Figs. 18,19) .

4. A lot of foam cells were observed around the Vitapex, showing histiocytes phagocytized the silicone oil in the paste (Figs. 20-22).

5. Foreign body giant cells appeared adjacent to the Vitapex (Fig.22), which contained many von Kossa positive granules in the cytoplasm (Fig. 23).

6. In some cases, implanted the paste into subcutaneous tissues and muscles, irregular calcified tissues had formed near the paste, but they could not be identified to be distinct bone tissues (Fig. 24).

7. In some specimens, implanted the paste near the bone, some irregular bone had formed at the surface of the original bone(Fig. 25).

8. Only one case demonstrated a small but clear induced bone adjacent but free to original bone (Fig. 26). It contained some osteocytes (Figs. 26, 27 arrows).

9. Although both alkaline and acid phosphatase activities were observed in the granulation tissues in the early period (Figs. 28, 29), the former had to disappear (Fig.30) and the latter remained (Fig. 31) in the 2 months later.

10. Based upon above mentioned facts the Vitapex was considered to be excellent for root canal filling.

結 言

糊剤根管充填剤(材)の場合、根管内空隙を閉鎖し根端組織の治癒を促進し、硬組織による根端孔の閉鎖をはかるといふ基本的所要性質のほか、根端孔外へ逸出した際にそれが吸収されて根端組織の治癒をさまたげないことも歯科临床上必要なことである。今回の実験の目的は、糊剤根管充填材ヨードホルム・水酸化カルシウムペースタ(ビタベックス)を生体内に埋入した場合、各種組織にいかにか作用するか、とくに硬組織を形成させ得るかかどうか、また糊剤そのものはどうなるのかを検索することにある。以上の目的で、ラットを用い実験を行なったところ若干の新知見を得たので、第1報として病理組織的所見について報告する。

実験方法

実験には Wistar 系および SD 系ラット計 21 頭を用いた。Nenbtal (0.2ml /生体) の腹腔内注射による麻酔と、A. C. E. (alcohol chloroform ether = 1 : 2 : 3 容量混合液) による吸入麻酔とを併用し、左右の大腿骨付近、上顎骨膜下および背部あるいは腹部皮下組織内にネオ製薬工業株式会社(東京)より提供を受けたビタベックスを

埋入させた。創口は一部縫合したものがあるが、大部分はシアノアクリレート系接着剤アロンアルファA「三共」[®]で接着した。各実験期間および例数は表1の通りである。

表1：実験期間および埋入部位別の例数

部位	経過日数											計	
	4	6	8	10	12	14	21	27	37	47	54		61
大腿部筋肉内	2	4	2	2	2	2	2	2	2	10	4	8	42
皮 下	1	2	1	1	1	1	1	1	1	5	2	4	21
上顎骨膜下	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	10
計	4	8	4	4	4	4	4	4	4	15	6	12	73

またこの期間中は、ビタベックスのX線造影性を利用し、麻酔下にX線写真を撮影し、ビタベックスの状態を経時的に観察した。なおその目的のため可及的軟X線にすべく、普通歯科用X線撮影装置(J. M. X-Ray Apparatus Type MII)を用いて、X線管からの距離 37 cm, 60 KV, 10 mA, 3 秒で撮影した。各実験期間経過後は、下記により標本を作製した。

1) 病理組織標本：ビタベックス埋入部位を周囲組織とともに一塊として摘出し、10%ホルマリンで固定後、パラフィン切片あるいは10%ギ酸ホルマリンで脱灰後セロイジン切片を作製しH-E

染色を施した。さらに一部の切片には Schmorl チオニン・ピクニン酸染色または van Gieson 染色を行なった。

2) 組織化学標本：(i)前記非脱灰パラフィン切片についてそれぞれ von Kossa 染色を行なった。(ii)腹部あるいは背部からの摘出材料を直ちに -20°C の cryostat 内にて 15μ の新鮮凍結切片とし、スライドガラス上に貼布、伸展した。切片の剥離を防ぐため室温にて短時間乾燥してガラス面に粘着させた。固定は、冷アセトンにて5—10分間行なった。alkaline phosphatase については Gomori 法、acid phosphatase については Bark-Anderson の(a)法によって検出した⁶⁾。

成 績

1. X線による観察

皮下および筋肉内に埋入されたビタベックスは、直後では境界明瞭で均一なX線不透過像として認められるが(図1, 6), 次第に拡散して1~2週間経過すると境界が不明瞭となり、周囲は顆粒状物として観察される(図2, 7)。3~4週間後にはさらに拡散は進行し、全体的に顆粒状に散在するようになると同時に、吸収のためX線不透過性は弱くなる(図3, 8)。そして次第に吸収・消失していく(図4, 5, 9, 10)。一方上顎骨付近に埋入した場合には、ビタベックスはほとんど拡散せず、吸収されて次第に小さくなって行くが、その速度はきわめて緩徐であった(図11~15)。

2. 病理組織所見

i) 拡散・吸収の場合：

ビタベックスを埋入するといずれの場所においても、それを囲繞するように肉芽組織が増殖したが、特に上顎骨付近の場合顕著であった。しかし壊死を起したものはなく、炎症性の反応も軽度で、化膿を惹起したものは皆無であった。肉芽組織中の円形細胞は形質細胞とリンパ球が主体であったが、組織球を主とする場合もあった(図16~19)。この場合、von Kossa 染色を施すと組織球の細胞体内が強く反応したので、水酸化カルシウムを貪食していることが確認された(図18, 19)。埋入後2~3週間経過すると、1塊となったビタベックスの周囲に肉芽組織に囲繞された小塊が多数現われ、またその付近には胞体の明るい泡沫細胞(foam cell)が観察された(図20)。顎骨付近埋入

例では、線維芽細胞および泡沫細胞が多数出現し肉芽形成が活発なのに対し、皮下および筋肉内埋入例では、肉芽の増殖は弱いようであった(図21)。5~6週間後ではビタベックスの周囲は泡沫細胞が集積し、さらにビタベックスに接して多核の異物巨細胞が多数出現していた(図22)。von Kossa 染色標本によるとこの異物巨細胞の胞体内に微細な顆粒が無数に認められた(図23)。

ii) 硬組織形成の場合：

まずビタベックスが von Kossa 染色にどのような反応を示すかを調べるためスライドガラスに塗布し乾燥したものにセロイジンの被膜を作って染色してみたところ、黒色や黒褐色に反応した。従って、埋入ビタベックスと新生硬組織の初期との区別は困難なことが判明した。さて埋入ビタベックスは1週間を経過すると肉芽組織に接する一層がとくに von Kossa に強く反応するようになる。この時期の alkaline phosphatase および acid phosphatase の活性は高度であった(図28, 29)。ビタベックスは日時の経過とともに前述の如く多くの場合、分散し、吸収されて行くが、まれに硬組織形成を誘導することもある。図24は61日例で、ヘマトキシリンに濃染した不定形の石灰化物が形成されている。しかしその内部に細胞成分は認められず、骨ないし類骨であるという確認は得られなかった。一方ビタベックスが骨膜付近に埋入された場合には、大腿骨、上顎骨の区別なしに、不規則な骨増生が観察された(図25)。そしてそれは埋入後4~5週例から出現した。なおこれらの場合、増生骨組織付近にも泡沫細胞が蟻集しているのが注目された(図25)。また1例のみであったが、大腿骨の骨膜下に埋入された例において、あきらかに骨細胞が含まれている不正形の骨組織の新生が認められた(図26)。この基質は van Gieson 染色で赤染され、また Schmorl 染色標本では細胞の小突起が明瞭に観察され骨細胞であることが確認できた(図27)。また硬組織形成が明らかでなかった例ではあるが、61日経過例のビタベックス周囲の肉芽組織には alkaline phosphatase 活性はなかったが(図30)、acid phosphatase は強い活性を示した(図31)。

考 察

従来より生活歯髄切断剤あるいは根管充填剤と

して、水酸化カルシウムを主成分とした糊剤が広く用いられており、前者の場合は象牙質が新生し、後者の場合、骨ないしセメント質が新生増殖することにより治癒に至ることは周知の事実である。歯髄に水酸化カルシウムを埋入することにより、歯髄固有細胞が象牙芽細胞に分化するわけであるが(枝, 1961²⁾), これは、歯髄固有細胞が傷害を受けることにより未分化間葉細胞に脱分化し、これがさらに水酸化カルシウムの誘導により象牙芽細胞に分化し象牙質を形成すると解釈される(山村, 1978⁹⁾). 水酸化カルシウムのこのような性質に着目し、これを用いて異所性の硬組織を形成させようという試みが行なわれている。すなわち Mitchell and Shankwalker (1958)⁶⁾ は水酸化カルシウムをラットの皮下組織内に埋入し、術後10日から35日経過した例において骨様石灰化物が形成されているのを観察し、Yoshiki and Mori (1961)¹¹⁾ も同様の実験を行ない、3週例において骨様組織を認めている。さらに吉木 (1961)¹⁰⁾ は酸化マグネシウムを用いた同様の実験により、2週間以上経過例において骨形成の初期と思われる組織像を得た。また枝, 他 (1962)³⁾ は歯科用ストッピング筒の中に水酸化カルシウムを填塞して犬の皮下、抜歯窩、骨膜下、筋肉内に移植し、抜歯窩や骨膜下の場合、それらの骨の増生は認められたが、完全な硬組織の新生はなかったとしている。

一方 Burdick (1968¹⁾) はラットの下顎骨骨膜付近にラット胎児のホモジネートを注入して、1週間例より幼若骨の添加が始まり、3週間例で成熟骨の添加・増生が認められたと報告した。

以上を通覧すると骨様硬組織の新生あるいは骨への添加増生はあるが、あきらかな異所性骨組織の形成の報告は皆無といえることができる。

ビタベックスの成分は、100 g中に水酸化カルシウム 33.3 g, ヨードホルム 40.4 g, シリコン・オイル 22.2 g, その他 6.9 gとされている(石川, 他, 1977⁵⁾; 瀧野, 他, 1978⁴⁾). 従って今回の成績は、以上述べた水酸化カルシウム単味を埋入した実験の結果とはおのずから異なっていた。まず第1に水酸化カルシウム単味の場合、その持つ強アルカリ性 (pH 12 以上) のため、それに接する軟組織に壊死が起り(枝, 他, 1962³⁾), とくに歯髄で著しいが(枝, 1961²⁾), 今回

はいずれの組織(歯髄は行なわず)においてもまったく観察できず、また炎症性反応もほとんど認められなかった。これはシリコン・オイルでパスタ状にしてあるため、強アルカリ性として作用しないためと思われる。第2に拡散が速かったことも注目すべきで、これもシリコン・オイルによるものと考えることができる。しかしながら上顎骨骨膜付近に埋入した場合には拡散はほとんどみられなかった。これは上顎骨骨膜付近には皮下組織や筋組織と異なり、粘膜下組織などの鬆粗結合組織が欠如することによると思われた。そしてこの部の病理組織像では、泡沫細胞を含む肉芽組織の形成が、他の部よりも活発で、吸収がさかに行なわれているのを示していた。泡沫細胞は組織球が脂肪類を摂取したものであるから、ビタベックスのシリコン・オイルを貪食したことを示すものであろう。水酸化カルシウムも組織球により貪食されることが今回の組織化学的検索により証明された。さらにまた5~6週経過例では、異物巨細胞が出現して貪食を営み、胞体内に von Kossa 陽性の顆粒を含有していたが、この本態は水酸化カルシウムばかりでなく、新生された硬組織の Ca 塩もあるものと想像される。なお、ヨードホルムの吸収については、それが血清に溶解するため形態的にこれをとらえることができなかった。

次にビタベックスの硬組織形成促進作用について考察を加えたい。本章の冒頭で展望した如く、従来の水酸化カルシウムを組織内に埋入した実験では、あきらかな異所性骨組織形成は認められていない。今回の実験においても、皮下や筋肉内へ埋入した場合には、まれに不定形の石灰化物が形成されることもあったが、骨形成という確実な証拠は得られなかった。しかし、骨の付近に埋入した例では、その表面に不規則な骨の添加・増生が多く観察された。これはビタベックスを臨床的に応用した場合、X線的に根端歯周組織の改造機転が観察されたという報告(石川他, 1977⁵⁾)と一致するものである。さらに1例のみであったが、骨細胞の明瞭な骨組織新生が認められたことは注目されてよいと思われる。以上の事実を、生体における『場』ということを取り入れて思考してみると、生体にとり骨の過剰増殖や異所性骨組織の新生ということは病的な異常現象であるに違いな

い。ビタベックスによりそれが認められたということは、逆に考えると、根端病巣のような病的に骨が欠損した部に応用すれば、消炎後ではその硬組織形成の促進作用は、より強力に発揮されるものと期待される。

最後に本実験における alkaline phosphatase および acid phosphatase の動態についてふれる。phosphatase は石灰化に最も密接に関係している酵素であることは論を俟たない。alkaline phosphatase については最初ビタベックス周囲の肉芽組織に強い活性がみられた。これは Yoshiki and Mori (1961)¹¹⁾ や吉木 (1961)¹⁰⁾ の所見とはまったく異なっている。これも前述の如く、シリコン・オイルのために、単味の際に示すような強アルカリ性として作用しないためと考えられる。しかし、alkaline phosphatase が新生膠原線維に高い活性を示すこと(阪本, 1959⁸⁾) や小腸における Ca の吸収の際に増加すること(大井田・佐々木, 1977⁷⁾) などの事実から、今回の実験で高い活性が認められたのは当然のことといえよう。一方 acid phosphatase については、Yoshiki and Mori (1961)¹¹⁾ や吉木 (1961)¹⁰⁾ の報告と一致していた。

結 論

ラットの皮下、下肢筋肉内および上顎骨あるいは大腿骨の骨膜付近にヨードホルム・水酸化カルシウム pasta (ビタベックス) を埋入し、その運命と組織反応を X 線像および病理組織像とにより検索し、次のような結論を得た。

1) X 線の観察によると埋入 pasta は、最初は境界明瞭で均一な不透過像を示すが、時間の経過とともに拡散し、さらに吸収されて、実験後 30 日から 40 日を経過すると消失するに至る。しかし上顎骨骨膜付近に埋入した場合には拡散はほとんど出現しない。

2) 病理組織的に、埋入 pasta の周囲に肉芽組織が形成されるが、壊死組織はみられず、また炎症性反応も軽度である。

3) またその肉芽組織には組織球が多数含まれており、それが水酸化カルシウムを貪食することが von Kossa 染色により確認された。

4) 大多数の組織球は泡沫細胞に変化していたが、これはシリコン・オイルを摂取したものと考えられた。

5) pasta に接して異物巨細胞が出現することがあり、この胞体内にも von Kossa 陽性の顆粒が認められた。

6) 皮下組織または筋肉内に埋入した例において pasta を中心に不定形の石灰化物の形成をみたものがあるが、骨組織であるという証明は得られなかった。

7) 骨付近に埋入された場合には上顎骨、大腿骨を問わず、その表面に不規則な骨の添加・増生が認められた。

8) 骨膜付近埋入の 1 例においてあきらかな骨組織の新生が起っていた。

9) pasta を囲繞する肉芽組織には最初、alkaline phosphatase と acid phosphatase の両者に活性があったが、2 か月経過後には、前者は消失し後者はなお認められた。

10) 以上のことを総括すると、ビタベックスは病理学的にみてもすぐれた根管充填材であるといえることができる。

稿を終るにあたり、ご教示を得た東京歯科大学歯科保存学教室 石川達也教授に深謝の意を表する。

文 献

- 1) Burdick, F. A. (1968) Bone induction. *J. dent. Res.* 47: 41—46.
- 2) 枝 重夫 (1961) 歯髓内における実験的硬組織形成に関する組織化学的研究. *歯科学報*, 61: 339—382.
- 3) 枝 重夫, 坂野一郎, 平田昌弘, 伊藤正通 (1962) 水酸化カルシウムによる異所性硬組織形成に関する実験的研究 (予報). *歯科学報*, 62: 477—483.
- 4) 洲野智弘, 業師寺仁, 町田幸雄 (1978) Vitapex による乳歯根管充填に関する臨床 X 線の研究. *小児歯誌*, 16: 360—365.
- 5) 石川達也, 浅井康宏, 長谷川康, 川島 康 (1977) 水酸化カルシウム系改良根管充填材ビタベックスの臨床応用について. *日歯保誌*, 20: 532—533.
- 6) Mitchell, D. F. and Shankwalker, G. B. (1958) Osteogenic potential of calcium hydroxide and other materials in soft tissue and bone wounds. *J. dent. Res.* 37: 1157—1163.
- 7) 大井田新一郎, 佐々木哲 (1977) 硬組織のアルカリリホスファターゼの生理的意義. *口病誌*, 44: 141—149.
- 8) 阪本義樹 (1959) 創傷治癒過程の組織化学的研究, 第 1 編正常ラット並びにモルモットの創傷治癒経過の Alkaline Phosphatase, Nucleotidase, 多糖

- 体に関する組織化学的研究. 阪大歯誌, 4 : 643—659.
- 9) 山村武夫 (1978) 口腔領域における未分化間葉細胞の分化と誘導について. 歯科学報, 78 : 1591—1603, 1663—1679.
- 10) 吉木周作 (1961) 酸化マグネシウム埋入皮下組織の病理組織的ならびに組織化学的研究. 歯科学報, 61 : 275—279.
- 11) Yoshiki, S. and Mori, M. (1961) Enzyme histochemistry on the tissue reaction to calcium hydroxide. Bull. Tokyo dent. Coll. 2 : 32—43.

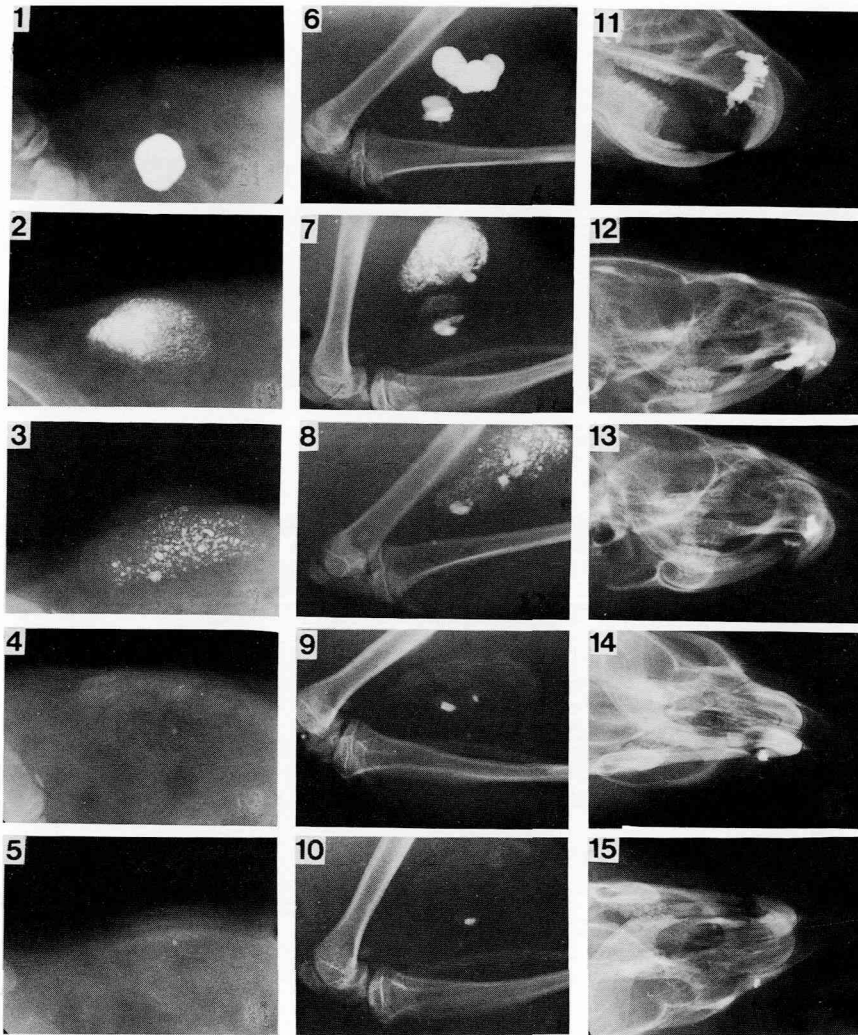


図1から図5までは腹部皮下埋入例のX線写真である。

図1：埋入直後。境界明瞭で均一なX線不透過像として認められる。

図2：14日経過。不透過部は拡散し境界不明瞭となり、周囲は顆粒状として観察される。

図3：21日経過。拡散はさらに大きくなりX線不透過性は弱くなる。

図4：35日経過。次第に吸収されている。

図5：40日経過。吸収により、ほとんど消失している。

図6から図10までは大腿部筋肉内埋入例のX線写真である。

図6：埋入直後。境界明瞭なX線不透過像が観察される。

図7：8日経過。やや拡散し、顆粒状化している。

図8：14日経過。顆粒状となって次第に吸収され、X線不透過性は弱くなっている。

図9：35日経過。次第に吸収され、X線不透過像は縮小している。

図10：40日経過。吸収によりX線不透過像はほとんど消失している。

図11から図15までは上顎骨膜下埋入例のX線写真である。

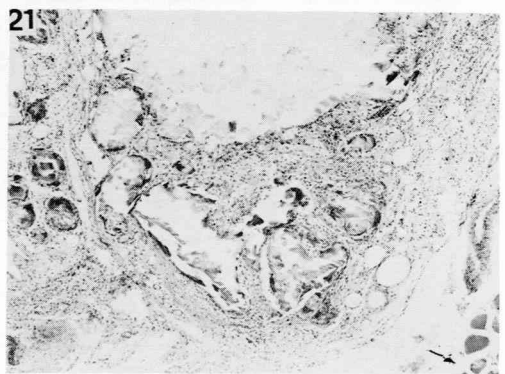
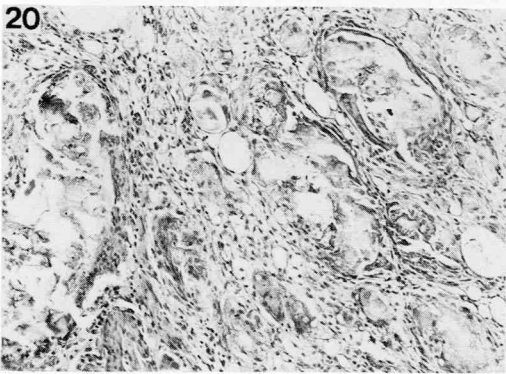
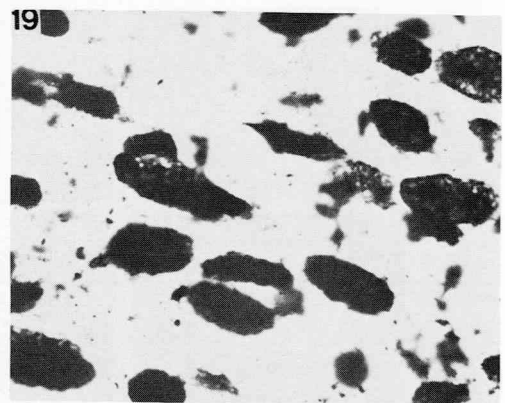
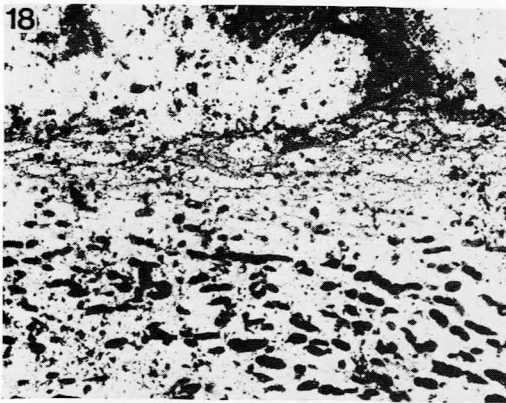
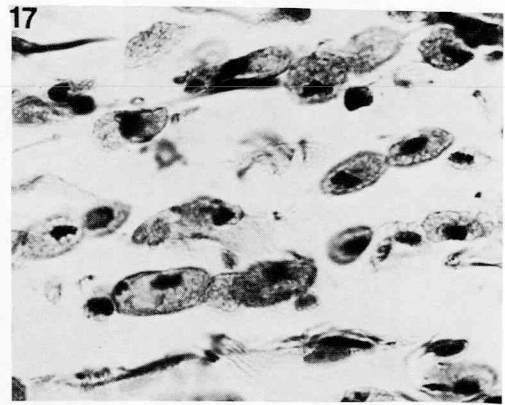
図11：埋入直後。均一なX線不透過像として認められる。

図12：6日経過。X線不透過像はほとんど拡散していない。

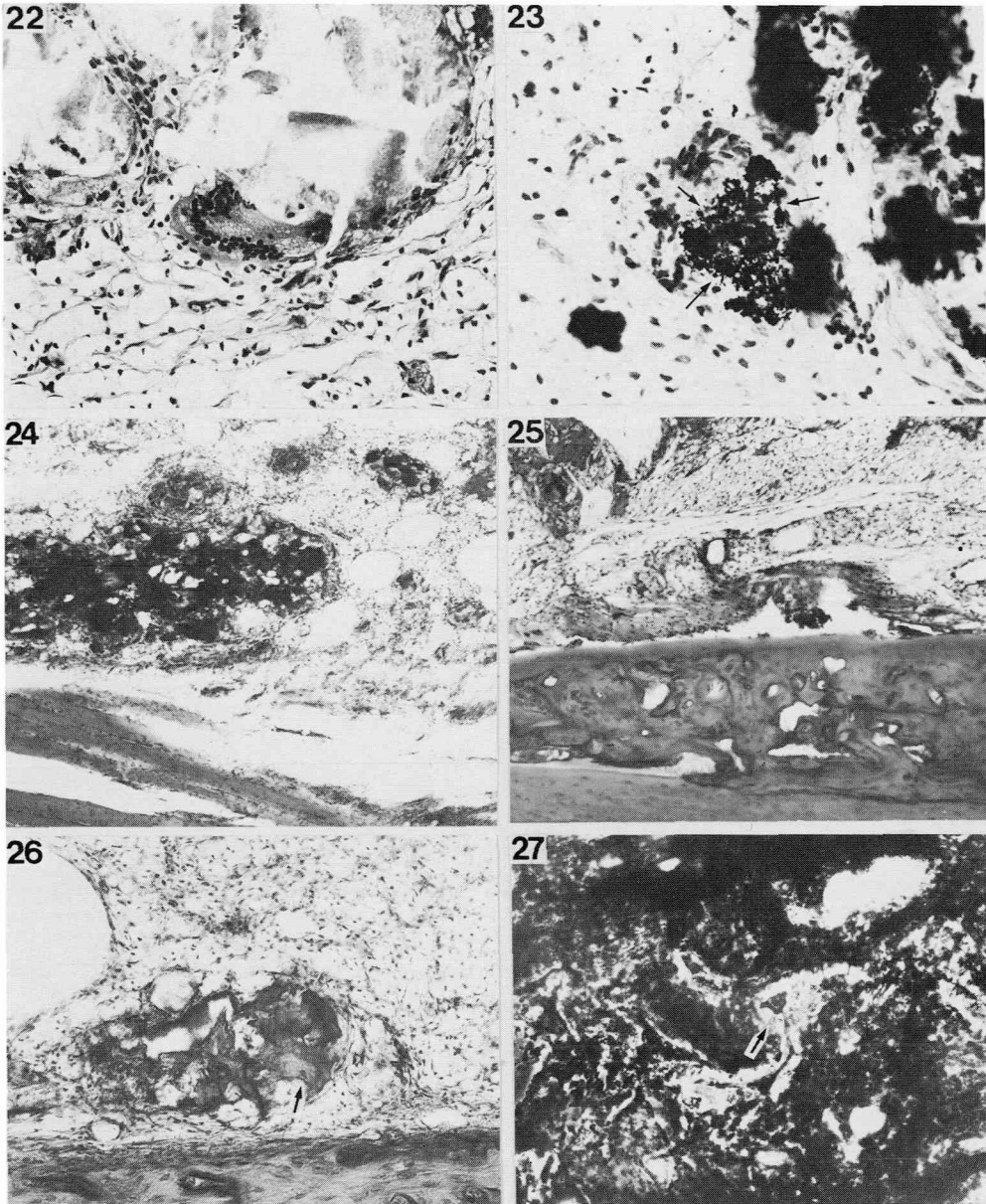
図13：14日経過。拡散はみられないが、吸収によりX線不透過像はやや小さくなっている。

図14：21日経過。さらに吸収されて、X線不透過像は縮小している。

図15：27日経過。X線不透過像は小斑点として認められる。



- 図16：β-TCPを囲繞するように肉芽組織の増殖が認められる。（背部皮下埋入 6日経過例，H-E染色，×117）
- 図17：図16の一部拡大像。組織球が増殖している。（H-E染色，×537）
- 図18：図16と同一部，肉芽組織を構成する円形細胞は von Kossa 染色に強く反応している。（von Kossa 染色，×117）
- 図19：図18の一部拡大像。組織球の細胞質が強く反応し，水酸化カルシウムを貪食していることが確認される。（von Kossa 染色，×537）
- 図20：β-TCPの周囲には，胞体の明るい泡沫細胞（foam cell）が多数観察される。（腹部皮下埋入 14日経過例，H-E染色，×117）
- 図21：横紋筋（矢印）とβ-TCPの間に肉芽組織が増殖している。またβ-TCPの小塊の周囲にはヘマトキシリンに濃染する部もある。（大腿部筋肉内埋入 47日経過例，H-E染色，×45）



- 図22：ビタベックスに接して多核の異物巨細胞が出現している。その周囲は泡沫細胞である。（腹部皮下埋入 47日経過例、H-E染色、×126）
- 図23：異物巨細胞の胞体内には、von Kossa 染色に強く反応する微細な顆粒が無数に含まれている（矢印）。（腹部皮下埋入 47日経過例、von Kossa 染色、×310）
- 図24：横紋筋に接した肉芽組織内に不定形の石灰化物が形成されているが、その内部には細胞成分は認められない。（大腿部筋肉内埋入 61日経過例、H-E染色、×50）
- 図25：大腿骨に不規則な骨の増生が認められ、その付近には泡沫細胞が蟻集している。（大腿骨骨膜下埋入 47日経過例、H-E染色、×62）
- 図26：大腿骨と離れて骨細胞（矢印）を持つ、不正形の骨組織が新生されている。（大腿骨骨膜下埋入 61日経過例、H-E染色、×126）
- 図27：図26と同部位のSchmorl染色標本を観察すると、内部にみられる細胞に小突起（矢印）が認められる。（×310）

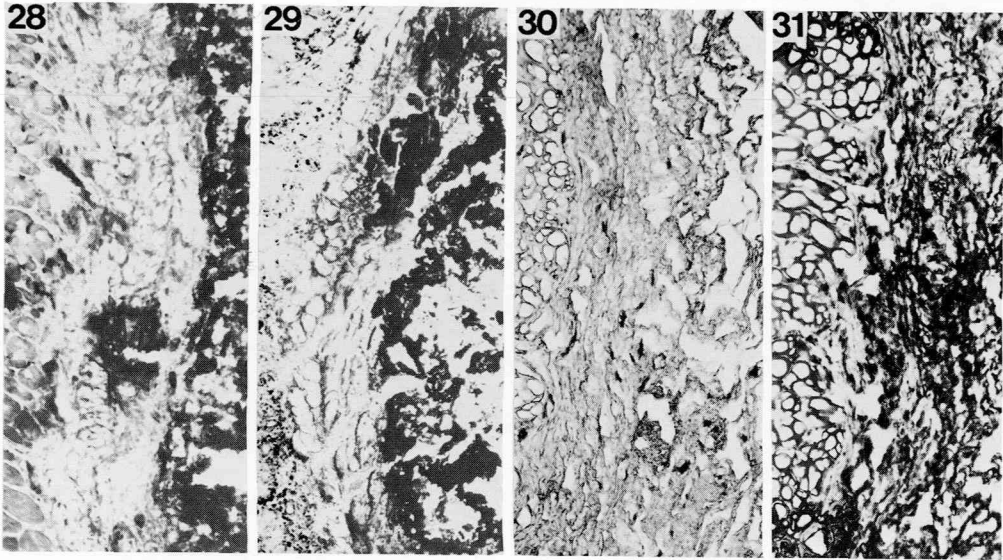


図28：ビタベックスおよび肉芽組織に alkaline phosphatase の強い活性がある。（腹部皮下埋入 6日経過例，×51）

図29：図28と同部位に，acid phosphatase の活性が強く認められる。（×51）

図30：ビタベックスおよび肉芽組織に alkaline phosphatase の活性は全く認められない。（腹部皮下埋入 61日経過例，×51）

図31：図30と同部位に acid phosphatase の活性が強い。（×51）