

〔原著〕 松本歯学 33 : 172~186, 2007

key words : ラット臼歯 — 咬合圧除去 — 歯周組織 — 加齢

咬合圧除去による歯周組織の変化 —特に加齢による比較—

安東 孝治¹, 石和田敏貴¹, 森山 敬太¹,
影山 康子^{1,2}, 影山 徹¹, 佐原 紀行¹

¹松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座

²松本歯科大学 歯科矯正学講座

Histological changes in the periodontal tissues surrounding hypofunctional teeth
—Age effect—

KOJI ANDO¹, TOSHIKI ISHIWADA¹, KEITA MORIYAMA¹, YASUKO KAGEYAMA^{1,2},
TORU KAGEYAMA¹ and NORIYUKI SAHARA¹

¹*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University*

²*Department of Orthodontics, School of Dentistry, Matsumoto Dental University*

Summary

This study investigated the effects of age on histological changes in periodontal tissues surrounding occlusal hypofunctional molars in rats. Rats (n=60) of 3 different age groups, i. e., 10-, 50-, and 80-wk-old animals, were used for the experiment. To eliminate occlusal force on the mandibular first molars, the maxillary first molar crowns were resected below their gingival margins. Thirty age-matched untreated rats were used as control groups. Ten days after operation, the animals were sacrificed, and histological changes in the periodontal tissues, such as cementum, alveolar bone, and periodontal membrane, were investigated. In all aged rats, there were rapid atrophic changes in the periodontal membrane, and new bone formation on the alveolar surface narrowed the periodontal space to about half that of age-matched control animals. Fluorescent labeling demonstrated that woven-bone formation was noted at the top of the interradicular septa and at the bottom of the sockets. However, the amount of bone formation of the alveolar bone surface decreased with age. The results of the present study demonstrate that histological changes of the periodontal tissues surrounding rat molars after experimental hypofunction differ in degree but not in kind between the different experimental age groups, and suggest that the degree of histological changes is age-dependent and decreases with age.

緒 言

加齢に伴う歯や歯周組織の変化についてよく理解することは、歯科臨床にとって重要なことである。それは、同じ治療を行う場合でも患者の年齢に対応した治療計画をたてなければならないからである。高齢者人口が急増している現在の我が国においては、加齢に伴う歯や歯周組織の変化を詳細に再検討する必要がある。特に、齲蝕や抜歯などにより咬合関係を喪失する患者は年齢に比例して増加する傾向があり、咬合関係を喪失した歯や歯周組織の変化が年齢によりどのように異なっているか理解しておく必要がある。

歯周組織は咬合と密接な関係を持ち、咀嚼機能に伴う咬合圧に適応した機能構造を持っている。しかし、外傷、齲蝕や抜歯などにより咬合関係が失われると、歯根膜線維は萎縮し、歯周組織の機能的構造が失われることはよく知られている¹⁻⁵⁾。実験的にも、歯の抜去や歯冠の削除などにより咬合機能を喪失させた動物では、対合歯の歯周組織は速やかに機能的構造を失い、歯槽骨表面に骨の新生や歯根膜腔の狭窄などが起こることが報告されている⁶⁻²⁷⁾。しかし、咬合圧除去による歯周組織の変化が、加齢によりどのような影響を受けているのか検討した研究はほとんどなされていない。

そこで本研究では、加齢が咬合圧除去による歯周組織の変化にどのように影響しているのかを明らかにする目的で、10, 50, 80週の週齢の異なるラットを用い、対合歯の歯冠削除により咬合圧を除去し、咬合圧除去後10日目それぞれの週齢のラットでの歯周組織の変化について比較検討した。

実験材料及び方法

1 実験動物

実験には10, 50, 80週齢のWistar系雄性ラット各20匹、計60匹を用いた。各週齢ラット10匹は実験群として用い、対照群には未処置の各週齢ラット10匹を使用した。飼料はオリエンタル固形飼料(MF)を与え、飲料水は十分な水道水を与え飼育した。

なお、本実験は松本歯科大学動物実験委員会の許可を得て行った。

2 咬合圧除去の方法と観察部位

実験群の各週齢ラット10匹はケタラル麻酔下で、両側の下顎第一臼歯(M1)の歯冠を歯科用スチール・バー(#702)で歯肉縁部まで削除した。すべての動物は術後直ちに軟X線撮影を行い、咬合圧除去が十分できているか確認した(図1)。ラットは咬合圧除去後10日間飼育し、屠殺した。固定後、下顎骨部の非脱灰および脱灰組織標本作製し、咬合圧を除去したM1周囲の歯周組織を観察した。

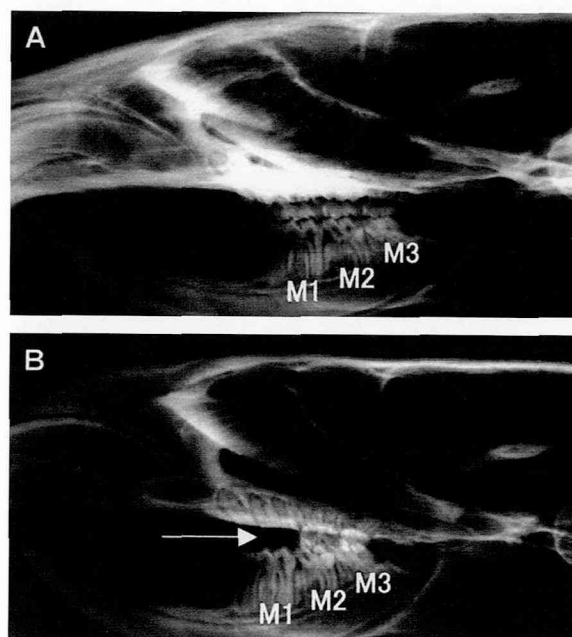


図1：咬合圧除去の方法

- A. 対照群
B. 実験群. 下顎 M1 の咬合圧が除去されている (矢印)
M1：下顎第一臼歯, M2：下顎第二臼歯,
M3：下顎第三臼歯

3 テトラサイクリン (TC) によるラベリング

実験群の10匹のラットは、術後直後、5日後、屠殺12時間前の3回にテトラサイクリン (TC) (30 mg/kg) を腹腔内投与した。なお、各週齢の対照群の未処置のラット10匹にも、実験群と同様な間隔で TC を投与した (図2)。

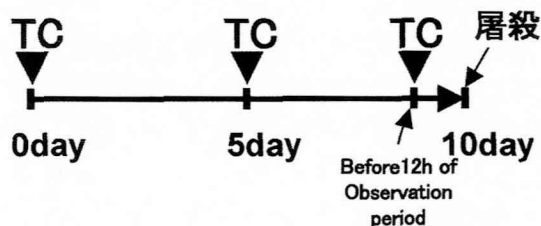


図2：テトラサイクリン (TC) のラベリング期間

4 走査電顕による組成像と TC によるラベリングの観察

咬合圧除去後10日目に動物を屠殺, 下顎骨を摘出し, 10%中性緩衝ホルマリン溶液中で約1週間固定した. 固定後試料はアルコールで脱水し, エポマウント (リファインテック) に包埋した. 樹脂包埋した試料は, ダイヤモンドディスクを装着した高速切断機 (Buehler, IL, USA) で, M1の近心根と遠心根の中央部を結んだ線で縦断した. 標本の切断面を鏡面研磨したのち, カーボン蒸着し, 走査電子顕微鏡 (JBM-6360, JEOL) で研磨面の組成像を観察した. 走査電子顕微鏡の観察後, 試料は高速切断機で研磨面と平行に約1 mmの厚さに切断した. 切断試料は両面から研磨し, 約70 μm の厚さの研磨標本を作製した. 研磨標本は蛍光顕微鏡で観察した.

5 組織学的観察

実験群と対照群の各週齢の残りの10匹については, 術後10日目にケタラル麻酔下で心臓から4%パラフォルムアルデハイド溶液で30分間灌流固定した. 下顎骨を摘出し, 同じ固定液中でさらに約20時間浸漬固定した. 固定終了後, 10% EDTA 溶液中で約4週間脱灰し, 脱水操作後, パラフィンに包埋した. 包埋試料はM1の近心根中央部と遠心根中央部を結んだ線と平行に5 μm の連続縦断切片とした. 切片はヘマトキシリン・エオシン (H・E) 染色あるいは酒石酸耐性酸性フォスファターゼ (TRAP) 活性染色をおこない, 光学顕微鏡で観察した. なお, TRAP 活性染色は Burstone²⁸⁾の方法に準じて, 酵素基質に naphthol AS-BI phosphate (Sigma), 発色剤としては fast red violed LB salt (Sigma), 阻害剤に50 mM 酒石酸ナトリウムを含んだ0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 5.0) で30~60分間37°Cで反応した.

結 果

1 軟 X 線所見

対照群と実験群の下顎骨を軟 X 線写真で比較すると, それぞれの週齢において実験群のM1は対照群のそれと比較し, わずかに挺出していた.

2 走査電顕所見

対照群の研磨面を走査電顕で組成像を観察する

と, 加齢に伴い歯冠エナメル質の著しい咬耗が認められた. さらに, 根尖部にはセメント質の加齢に伴った肥厚も観察することができた. また加齢に伴い歯根膜腔や歯髓腔が狭窄している傾向を示していた. 一方, 咬合圧を除去後10日間経過した実験群ラットでは, 各週齢の対照群と比較し, 歯根膜の幅が減少していた.

3 ラベリング所見

図3には, 各週齢ラットの対照群と実験群のTCラベリング像を示した. 10週齢の対照群では, 下顎臼歯すべてにおいて根間中隔頂部と歯根の近心側歯槽骨表面, 一部の根尖部歯槽骨表面に3本のTCラベリングラインが観察された. 10週齢の実験群では, M1周囲のTCラベリング像は対照群とほぼ同様な分布を示していた. しかし, 3本のTCラベリングラインの幅は対照群のそれと比べると著しく拡大していた. この傾向は特に根間中隔頂部と根尖部の歯槽骨表面で特に顕著であった (図3A).

50週齢の対照群ラットでは, 10週齢の対照群と比較すると, すべての臼歯の歯根周囲のTCラベリングは著しく減少していた. しかし咬合圧除去した実験群では, 同じ週齢の対照群と比較し, M1の根間中隔頂部や根尖部の歯槽骨表面にラベリングが増加していた (図3B).

80週齢対照群ラットでは, 10週齢, 50週齢の対照群ラットと比べ, TCラベリングは激減し, 歯根周囲のラベリングラインはわずかにしか認められなかった. しかし80週齢の実験群では, 咬合圧を除去したM1の根間中隔頂部や根尖部の歯槽骨表面にTCラベリングラインが出現していた (図3C).

図4に各週齢の対照群及び実験群の根間中隔頂部, 根中央部, 根尖部の各部位におけるTCラベリング変化を示した.

1) 根間中隔頂部

対照群間の比較では, 根間中隔頂部の歯槽骨表面のTCラベリングラインは10週齢で最も多く, 50週齢, 80週齢と加齢に伴い減少していた. 咬合圧を除去した実験群では, すべての週齢において対照群に比べ歯槽骨表面のTCラベリングが増加し, 咬合圧除去後10日間でこの部位では盛んな骨形成が認められた. また, この部位の骨形成の量は, 10週齢ラットがもっとも多く, 50週齢, 80週

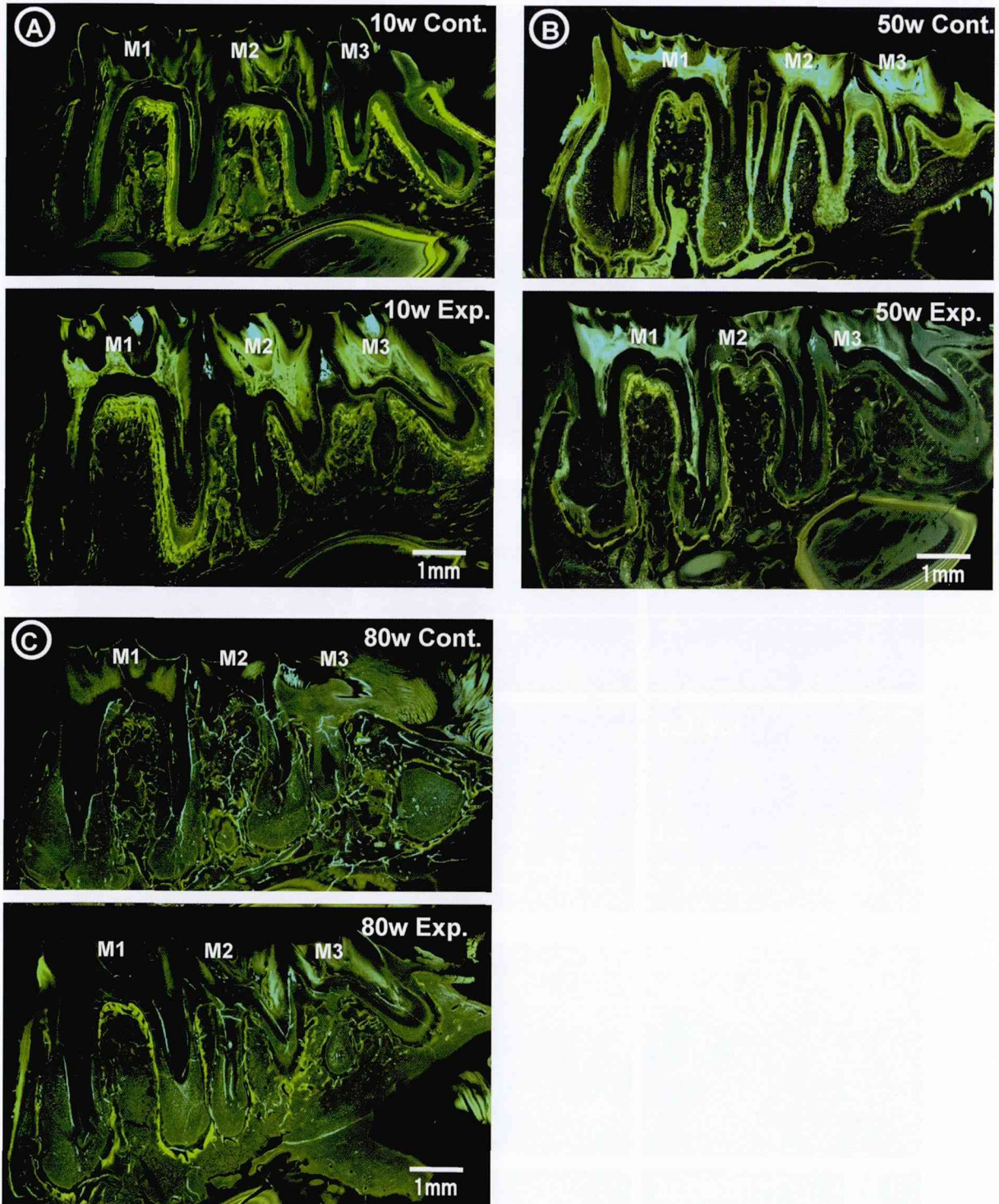


図3：テトラサイクリン (TC) によるラベリング像

A. 10週齢ラットの対照群と実験群

B. 50週齢ラットの対照群と実験群

C. 80週齢ラットの対照群と実験群

M1：下顎第一臼歯，M2：下顎第二臼歯，M3：下顎第三臼歯

齢ラットと加齢に伴い減少していた (図4 A)。

2) 根中央部

図4 Bのそれぞれの写真では，中央にM1の遠心根を挟み，左に近心側，右に遠心側の歯槽骨

を示した。対照群では，10週齢ラットの近心側の歯槽骨表面に規則的な3本のTCラベリングラインが認められるが，50週齢と80週齢ラットではこのような明確なTCラベリングは認められなかつ

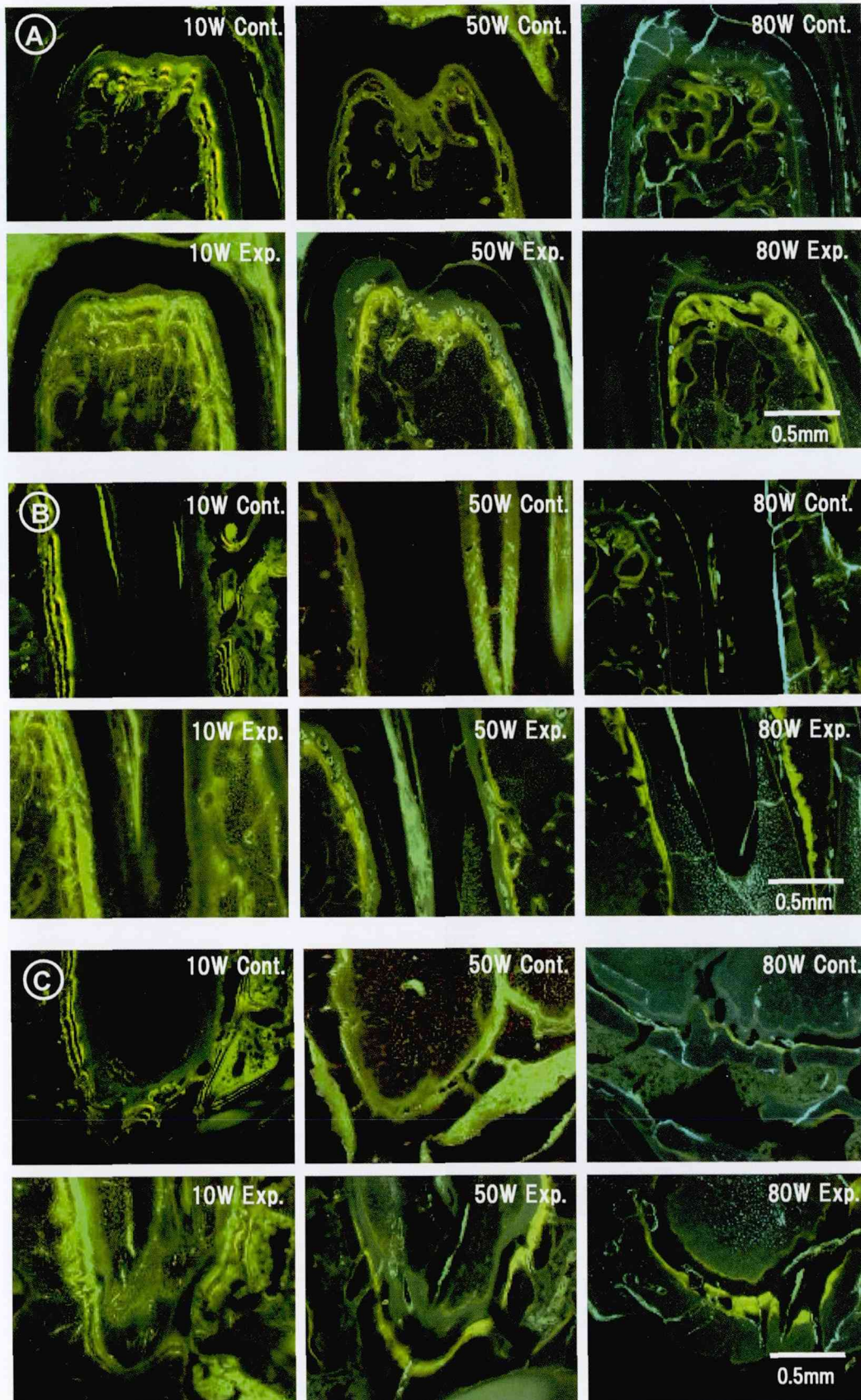


図4：歯槽骨の各部位におけるテトラサイクリンラベリング像

- A. 根間中隔頂部, 各週齡の対照群と実験群
- B. 根中央部, 各週齡の対照群と実験群
- C. 根尖部, 各週齡の対照群と実験群

た。実験群の10週齢ラットでは、咬合圧除去後、対照群に比較し近心側の歯槽骨表面のTCラベリングの幅が増大していた。しかし、遠心側の歯槽骨表面にはほとんど変化が認められなかった。50週齢と80週齢の実験群では、それぞれの対照群に比べ歯槽骨表面にわずかながらTCラベリングが出現していた。しかし、10週齢の実験群にみられたように近心側の歯槽骨表面だけでなく近遠心の両側の歯槽骨表面にTCラベリングが認められた。

3) 根尖部

各週齢ラットの対照群と実験群の根尖部でのラベリングを比較したものを図4Cに示した。対照群では、10週齢ラットにおいて根尖部の近心側歯槽骨表面に規則的なTCラベリングラインが観察されるが、50週齢や80週齢ラットでは根尖部の歯槽骨表面にわずかなラベリングが認められるだけであった。一方すべての週齢の実験群では、根尖部の歯槽骨表面には明瞭なTCラベリングが出現し、咬合圧除去により早期から根尖部の歯槽骨表面に骨形成が起こることを示していた。実験群間でTCラベリングの状態を比較すると、咬合圧除去後の根尖部歯槽骨表面の骨形成量は加齢に伴い減少していた。また、実験群のすべて週齢で、根尖部のセメント質にはTCラベリングは認められなかった。

4 組織学的所見

図5はH・E染色した標本を、M1とその歯周組織を低倍率で観察した組織像を示してある。上

段には対照群の10、50、80週齢ラット、下段はそれぞれの週齢に対応した実験群を示した。対照群を各週齢間で比較すると、加齢に伴い歯冠の咬耗が進んでいた。また、歯髓腔の狭窄や歯根膜の幅の減少、歯根セメント質の肥厚など典型的な加齢に伴う変化も確認できた(図5A)。各週齢ラットで対照群と咬合圧除去した実験群で比較すると、週齢による差は認められるが、対照群に比較し実験群ではさらに歯根膜腔の幅が減少していた(図5B)。同様な切片をTRAP活性染色し、低倍率で観察したものを図6に示した。同様に上段に对照群、下段には実験群を示した。10週齢の対照群では、ラット臼歯の生理的遠心移動のため近心根と遠心根の2根の遠心側の歯槽骨表面には破骨細胞によると思われるTRAP活性が集中していた。しかし、50週齢ラットでは歯槽骨表面のTRAP活性も減少し、その分布状態にも変化が認められた。さらに80週齢ラットでは、歯根周囲の歯槽骨にはほとんどTRAP活性が認められなかった(図6A)。一方、下段の咬合圧を除去した実験群では、対照群に比べ歯槽骨表面のTRAP活性は弱くなり、50週齢、80週齢では歯根周囲の歯槽骨にはほとんど活性がなかった(図6B)。

1) 根間中隔頂部

図7は各週齢ラットの対照群と実験群をH・E染色した組織像を比較したものである。右側には各週齢の対照群、左側には実験群を示してある。

10週齢の対照群の根間中隔頂部では、歯根膜は比較的広く歯根膜線維の走行も明確で、歯槽骨表



図5：下顎第一臼歯(M1)周囲の組織像(H・E染色)
A. 各週齢の対照群
B. 各週齢の実験群

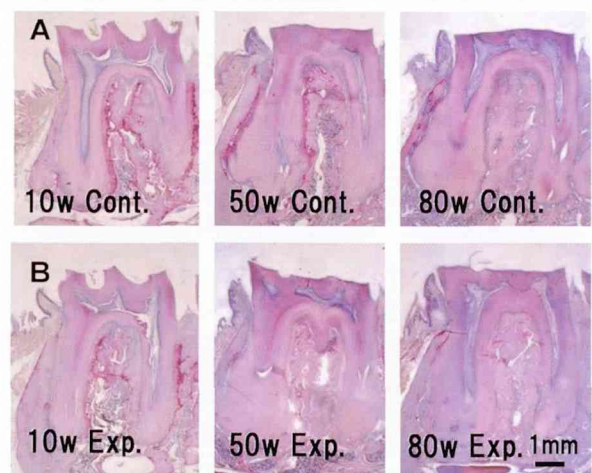


図6：下顎第一臼歯(M1)周囲の組織像(TRAP活性染色)
A. 各週齢の対照群
B. 各週齢の実験群

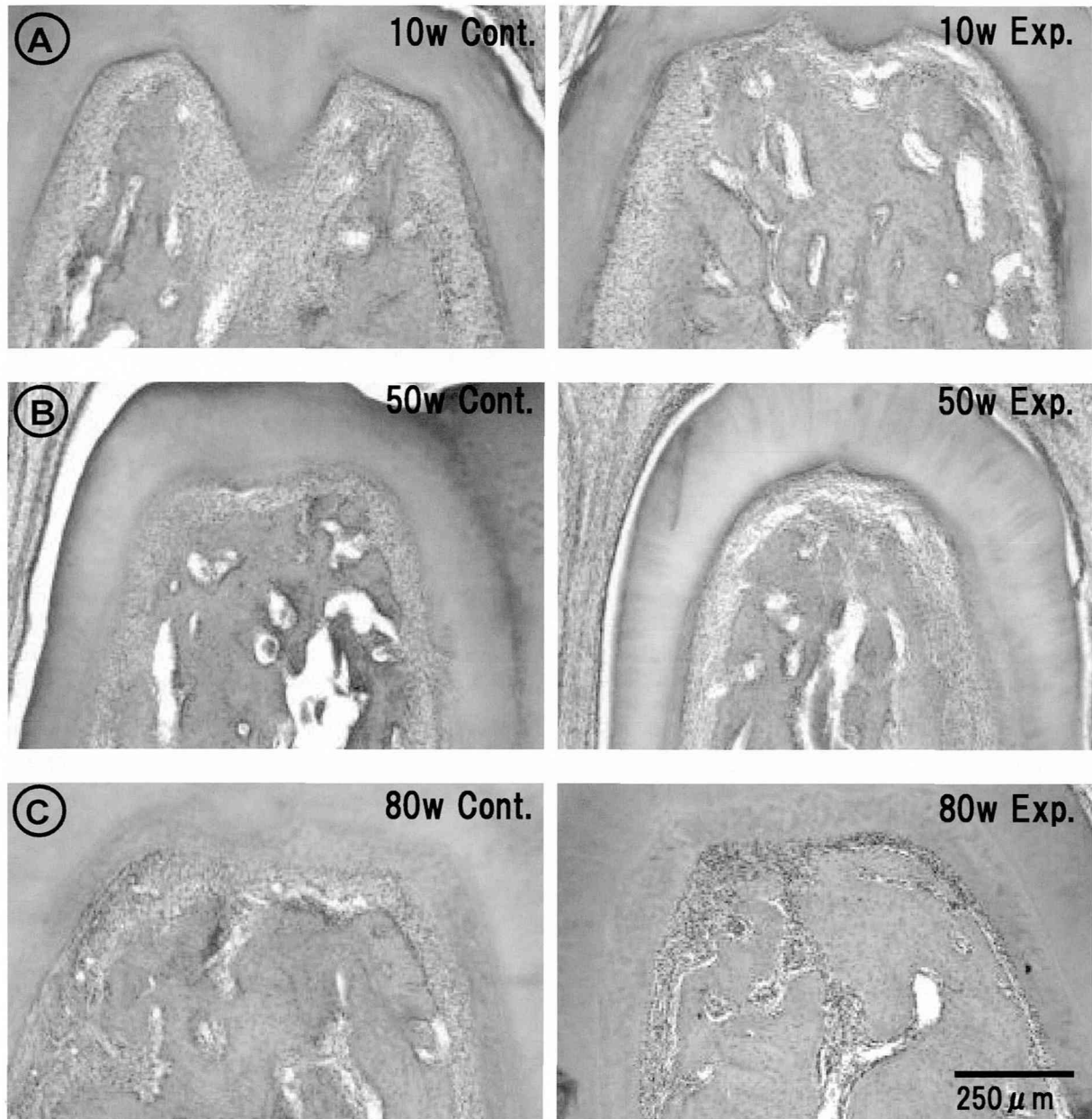


図7: 根間中隔頂部の組織像 (H・E 染色)

- A. 10週齢の対照群と実験群
- B. 50週齢の対照群と実験群
- C. 80週齢の対照群と実験群

面では盛んな骨形成が行われていた。一方、実験群の組織像では、対照群に比べ歯根膜の幅は減少し、歯根膜線維の走行も乱れていた (図7A)。TRAP 染色した10週齢の対照群では、骨吸収が遠心側の歯槽骨表面に集中していた。実験群でも同様な部位に TRAP 活性が観察されたが、その活性は対照群に比べ弱まっている傾向を示した。

50週齢ラットの対照群は、10週齢の対照群と比べ歯根膜の幅は狭くなっていたが、歯根膜線維の走行にはほとんど差はなかった。しかし、咬合圧

除去を行った実験群では、歯根膜線維は萎縮し歯根膜腔の幅も狭くなっていた (図7B)。また、TRAP 活性は弱く、歯根膜に面した歯槽骨表面ではほとんど認められなかった。

80週齢の対照群では、50週齢の対照群に比べ歯根膜の幅はさらに狭くなっていたが、歯根膜線維の走向にはほとんど変化は見られなかった。一方、実験群では歯根膜の幅は対照群に比べさらに狭くなり、歯根膜線維の走行はほとんど確認されなくなった (図7C)。80週齢のラットでは、対

照群と実験群の TRAP 活性にはほとんど差は認められず、海綿骨に弱い反応があるだけで歯槽骨表面には反応は全く認められなかった。

2) 歯根中央部

10週齢の対照群のラットでは、生理的遠心移動のため、近心側の歯槽骨には骨形成、遠心側の歯槽骨では骨吸収が盛んに行われていた。実験群ではこのパターンに変化はなかったが、近心側の歯槽骨表面ではさらに骨形成が進み、遠心側の歯槽骨表面では骨吸収活性が低下していた。また、歯根膜の幅は対照群では約70-100 μm、実験群では約50-70 μm と減少していた。さらに、歯根膜線

維の萎縮も観察された (図 8 A)。同様な試料を TRAP 染色すると、対照群に比べ実験群で遠心側歯槽骨表面の TRAP 活性は低下していた。

50週齢の対照群では約60-80 μm で、10週齢に比較し歯根膜の幅は減少していたが、歯根膜線維の走向にはほとんど差は認められなかった。実験群では約40-50 μm であり、10週齢と同様に対照群に比べ歯根膜の幅の減少が認められた。さらに、近遠心側の歯槽骨表面では共に骨形成が認められ、近遠心的な差はほとんど認められなくなった (図 8 B)。50週齢になると、TRAP 活性は対照群でも減少し、実験群ではほとんど観察されな

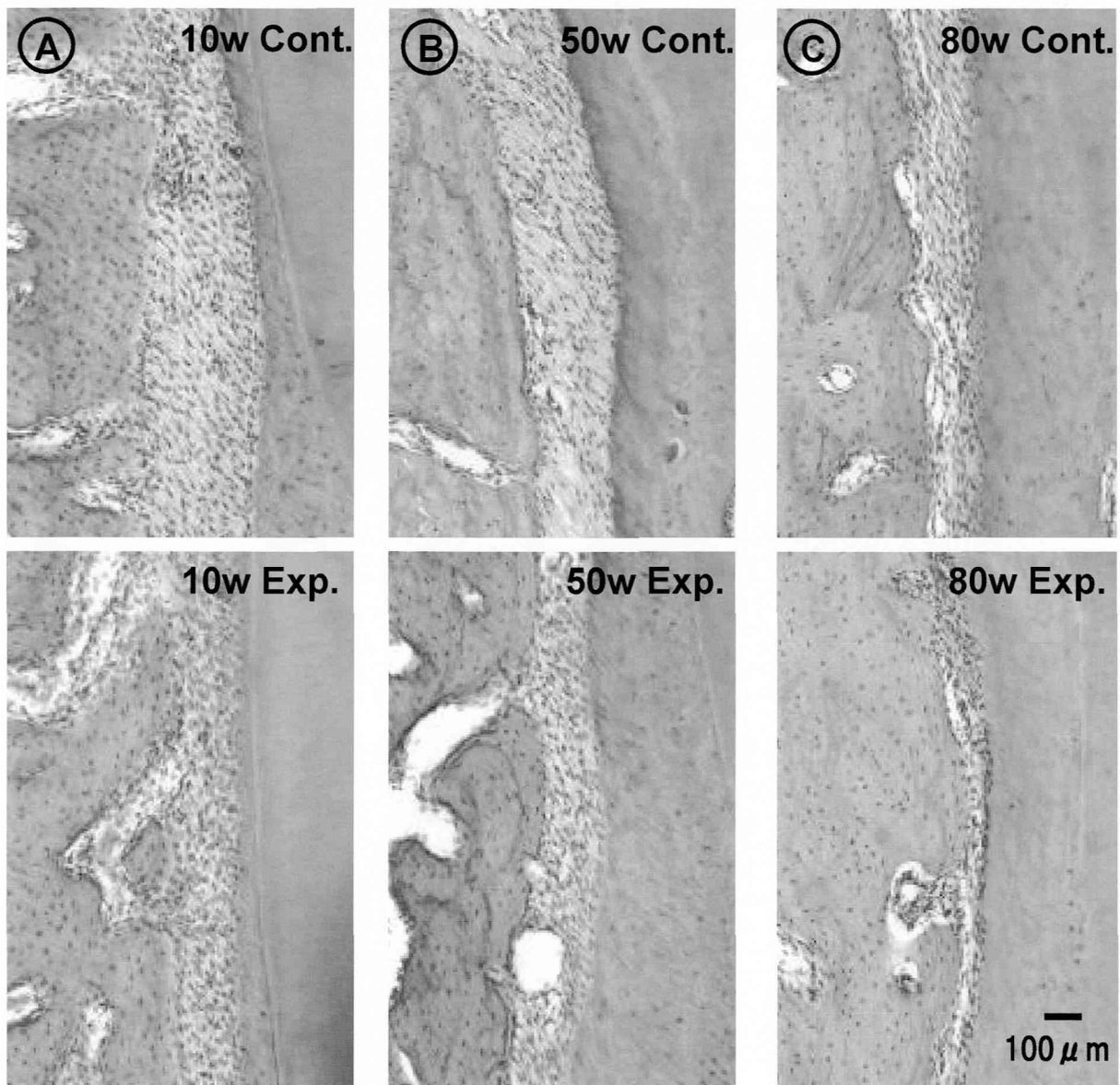


図 8 : 根中央部の組織像 (H・E 染色)
 A. 10週齢の対照群と実験群
 B. 50週齢の対照群と実験群
 C. 80週齢の対照群と実験群

かった。

80週齢対照群ラットの歯根膜の幅は約40–60 μm で、50週齢の対照群と比較して歯根膜の幅はさらに減少していた。また、咬合圧除去により80週齢ラットでも歯根膜の幅が狭まり約20–30 μm であった(図8C)。TRAP染色では、80週齢の対照群と実験群にほとんど破骨細胞は観察できなかった。

3) 根尖部

10週齢の対照群では歯根膜腔は広く、歯根膜線

維も機能的な分布をしていた。実験群では歯根膜の幅は狭くなっていた(図9A)。TRAP活性染色した10週齢の対照群では、遠心側の歯槽骨表面に強い反応がみられたが、実験群では反応はわずかに認められるだけであった。

50週齢対照群ラットでは、10週齢対照群に比べ、さらに歯根膜の幅が狭くなっていた。また、咬合圧を除去した実験群では、その幅はさらに狭くなるとともに歯根膜線維の走行にも乱れが生じていた(図9B)。50週齢の対照群では根尖部周

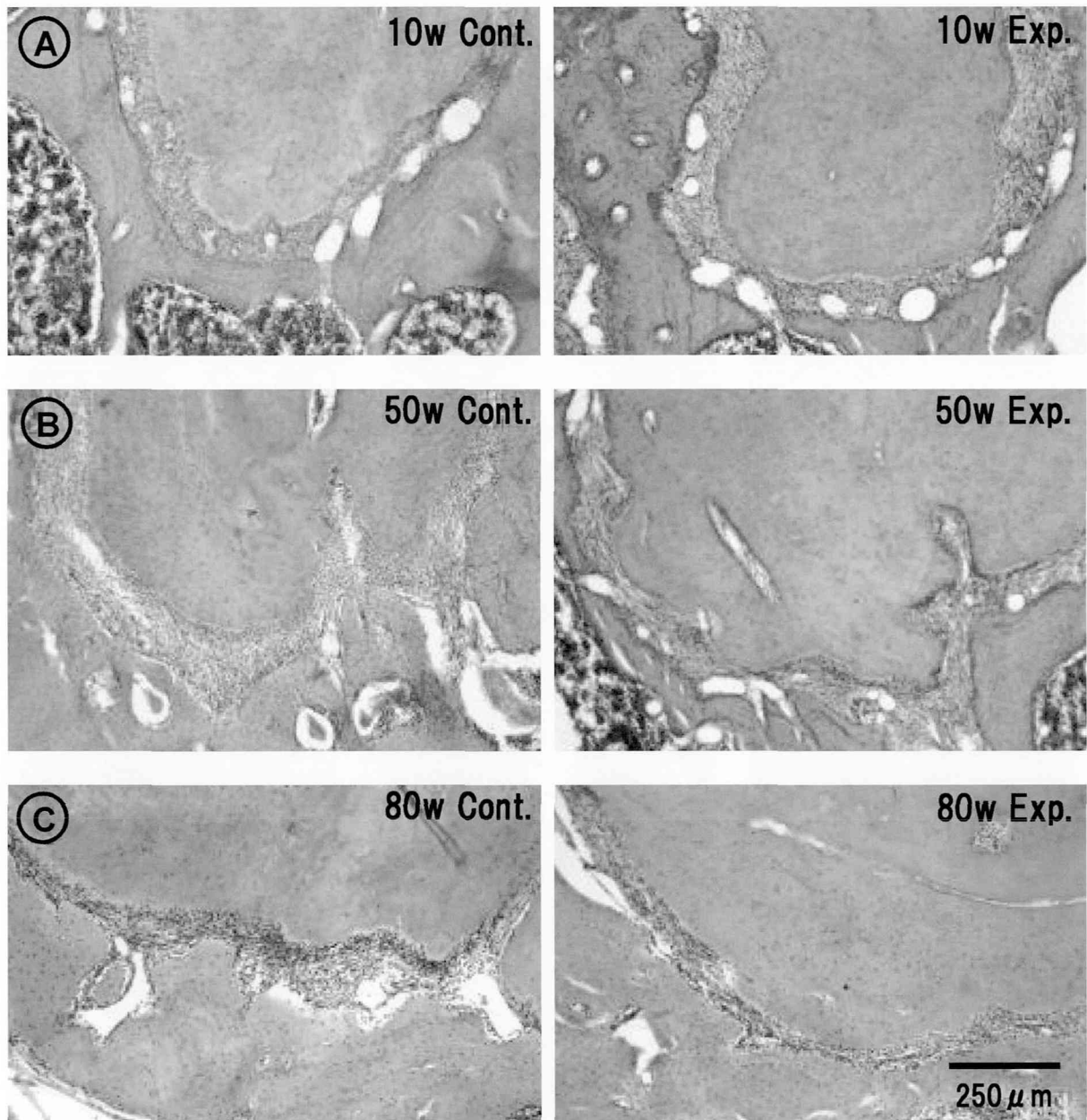


図9：根尖部の組織像(H・E染色)

- A. 10週齢の対照群と実験群
- B. 50週齢の対照群と実験群
- C. 80週齢の対照群と実験群

囲には TRAP 活性はわずかにしか認められなかったが、実験群ではこの活性も消失していた。

80週齢の対照群の狭い歯根膜の幅は、実験群でさらに狭くなっていた(図9C)。また、対照群と実験群ともに TRAP 活性は観察されなかった。

4) 歯間部歯肉

M1とM2の歯間部歯肉の組織像を図10に示した。それぞれ、上段に各週齢の対照群(図10A)、下段に実験群を示してある(図10B)。対照群では加齢に伴い歯肉上皮が深部増殖していたが、どの週齢ラットにおいても歯肉に炎症はほとんど観察されなかった。また、歯頸部の無細胞セメント質の厚さも加齢に伴い増加していた。

すべての週齢の実験群でも歯肉には炎症はほとんど認められず、咬合圧除去による歯肉の影響は少なかった。また、M1とM2のセメント・エナメル境の位置を比較すると、実験群では、明らかなM1の挺出が認められた。このようなM1

の挺出は10週齢で最も大きく、次に50週齢、80週齢と加齢に伴い減少する傾向を示していた。

考 察

1 実験方法について

1) 咬合圧除去の方法について

咬合圧除去後の歯周組織の変化を検討した研究は多くなされている。これらの実験では、対合歯を抜去する方法^{7,8,11,13-16,18,19,21-23,26,27}や咬頭や歯冠を除去する方法^{8-10,12,17}などが用いられているが、ほとんどは対合歯を抜去する方法である。問題は咬合圧除去後の観察期間であると思われる。臼歯は対合歯を喪失すると挺出することが知られているが、抜去すると約9ヶ月で対合歯歯肉と接触し始めることも報告されている¹⁰。従って、3-9ヶ月などの長期間の観察では、抜歯に伴う外科的影響もさほど問題にならないので抜去する方法が良いだろう。しかし、本研究のように加齢に伴った変化を検討するためには、50週齢や80週齢

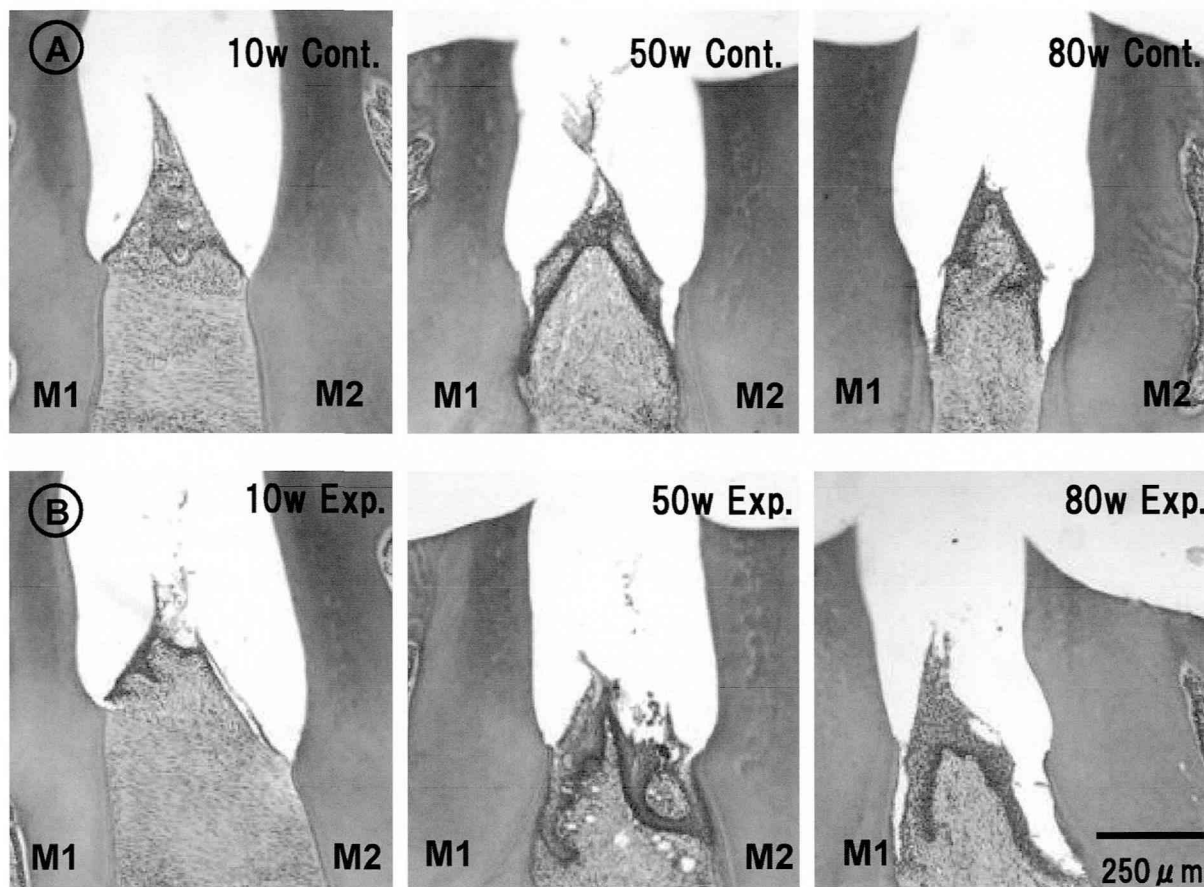


図10：歯間歯肉部の組織像 (H・E 染色)
 A. 各週齢の対照群
 B. 各週齢の実験群
 M1：下顎第一臼歯, M2：下顎第二臼歯

のラットのセメント質の肥厚が進んだ臼歯を抜去することは非常に困難なことも考慮しなくてはならない。そこで、ラットの臼歯の歯冠削除した場合、約30日で対合歯と接触し始めたとの報告¹⁰⁾を参考にして、今回の観察では歯冠を除去し、10日後の歯周組織の変化を観察することにした。このような歯冠削除の方法は、最小限の外科的処置で再現性のある組織反応が期待できると考えた。

2) 観察部位について

ラット臼歯の咬合関係はよく知られており、下顎M1は上顎のM1のみと咬合している。そこで、今回の実験では上顎M1の歯冠を歯肉縁部まで削去して、下顎M1の咬合圧を完全に除去し、下顎M1の歯周組織の変化を観察した。観察時にはM1だけでなくM2, M3周囲の組織変化も比較出来るよう、M1の近心根中央部と遠心根中央部を結んだ下顎骨の縦断標本を作製した。また、咬合圧除去により、反対側の下顎の臼歯にも影響が及ぶ可能性を考慮して、対照群には反対側の下顎骨を用いることなく、未処置ラットの同側の下顎骨を用いた。

3) 実験動物の週齢について

加齢変化を研究するためには、実験動物の一生の各段階を多く観察する必要がある。当然、このような観察には多くの実験動物と長期間の観察が必要になる。最近 Misawa et al.²⁹⁾は雄性 Wistar ラットを用い、10週齢から100週齢まで10週間隔のラットにおける歯槽骨の改造変化を形態計測学的に検討し、歯根周囲の歯槽骨では骨形成活性と骨吸収活性は10週齢で最も高く、その後40-50週齢までにそれらの活性は急激に減少することを報告した。さらに、50週齢の低い骨形成活性と骨吸収活性は100週齢まで保持されることを明らかにしている。そこで、本研究では Misawa et al.²⁹⁾の報告を参考にし、歯槽骨の改造活性の最も高い10週齢ラット、改造活性が激減したばかりの50週齢ラット、低い改造活性が継続している80週齢ラットの3つの異なる週齢のラットを用い、加齢に伴った歯周組織の変化と、咬合圧除去後の歯周組織変化の加齢による差異について比較検討した。

4) TC ラベリングについて

従来の咬合圧除去の実験では、テトラサイクリンやカルセインを投与して咬合圧除去による歯槽骨の骨形成の変化を報告した研究は以外と少な

い^{15,19,21)}。本実験では咬合圧除去後10日間の早期に起こる歯槽骨の骨形成部位と形成量を調べる目的で、歯冠除去直後、術後5日目、術後10日目の3回 TC ラベリングを行った。また、それぞれの週齢の対照群ラットにも同様な間隔でラベリングを行い、各週齢における歯槽骨の生理的条件下における骨形成の状態を把握した。対照群と実験群の両者の TC ラベリングの結果を比較検討することは、咬合圧除去後の早期に起こる歯槽骨での骨形成の部位とその形成量および速度の解析に有効であった。

2 加齢による歯および歯周組織の変化

ラット臼歯の歯周組織の加齢的变化については、すでに Hoffman and Schour³⁰⁾が下顎臼歯のセメント質、歯槽骨などの成長変化(生後直後-500日目)を Alizarin red S を用い生体染色し、量的変化を報告している。また、Sicher and Weinmann³¹⁾は生後4週から1年にわたって肉眼的ならびに X 線観察を行い加齢的变化について、Belting³²⁾らは下顎臼歯について生後21日から1000日にわたり上皮付着の位置、歯槽頂における細胞活動、根間中隔の幅、細胞セメント質の位置などについて報告している。我が国でも、酒井³³⁾によりラット臼歯歯根膜線維成分の増齢的变化を組織学的に観察したのを始め、上野と亀山³⁴⁾のラット臼歯の生理的な動きと歯周組織の加齢に伴う変化についてなどの報告がある。さらに最近になり、Kabasawa ら³⁵⁾や Misawa ら²⁹⁾により歯根周囲の歯槽骨における骨形成や骨吸収活性の加齢的变化についても報告されている。

今回の対照群ラットの観察結果は、従来の研究者により報告されている加齢に伴った歯及び歯周組織の変化とほぼ同様なものであった^{10,11,30-34)}。加齢に伴い著しい歯冠の咬耗が観察され、この咬耗は50週齢以降には歯冠表面のエナメル質のみならず、その下の象牙質にまで及び、50週齢と80週齢の歯冠の咬頭はほとんど消失していた。また加齢に伴い、歯髓腔の狭窄も50, 80週齢ラットで顕著に認められた。歯周組織においても、加齢に伴った歯根膜腔の幅の減少や細胞セメント質の肥厚なども確認された。今回の観察では、歯根中央部の歯根膜の幅は10週齢ラットでは約70-100 μm で、大体均等であるが、年齢の増加とともに多少狭くなる傾向を示し、50週齢では約60-80 μm

で、80週齢では約40–60 μm であった。しかし、上野と亀山³⁴⁾が報告している様に、歯根膜線維の走行には加齢による顕著な差異は認められなかった。

加齢に伴い歯槽骨にも変化が認められることは既に報告されている。特に本研究のTCラベリングの観察から、10週齢のラットでは根間中隔頂部、根尖部さらに近心側の歯槽骨表面では規則的な骨形成が認められたが、50と80週齢ラットではこれらの部位の骨形成が激減することが分かった。また、TRAP活性を指標にした破骨細胞による吸収活性も10週齢では遠心側の歯槽骨表面に集中していた。しかし、加齢に伴いこの部位の破骨細胞数が激減し、80週齢ラットでは歯根全周の歯槽骨表面でTRAP活性はほとんど観察されなくなった。この結果は、Kabasawaら³⁵⁾やMisawaら²⁹⁾の報告と同様に、加齢に伴い歯根周囲の歯槽骨の骨形成活性や骨吸収活性が低下していることを示している。セメント質に起こる加齢による変化は、根尖部に見られる細胞セメント質の肥厚が特に顕著であった。10週齢では根尖部1/3が細胞セメント質で覆われていたが、根尖部においてもその厚さは比較的薄いものであった。しかし、50週齢ラットでは根尖部1/2に広がり、特に根尖部では著しい細胞セメント質の肥厚がみとめられ、80週齢になるとその肥厚はさらに進んでいた。一方、主に歯頸部に分布している無細胞セメント質も加齢に伴いその厚さが増加していたが、その変化は根尖部で認められる細胞セメント質の加齢変化に比べわずかであった。しかし今回の観察では、いずれの週齢においても、歯根のいずれの部位においてもTCラベリングは認められなかった。これは今回のラベリングの間隔が10日間であったことによるものと思われるが、少なくとも10日間の間では無細胞あるいは細胞セメント質の新たな添加は行われていないことを示し、セメント質の添加はゆっくりと起こっているものと思われた。

加齢に伴うラット歯肉の退縮については良く知られている^{32,34,36)}。しかし付着上皮の深部増殖に関しては、生理的なものであるか炎症によるものかいまだに明らかになっていない。今回の観察でも、50週齢や80週齢のラットでは、付着上皮がセメント・エナメル境を越え深部増殖している像が

観察され、加齢に伴った歯肉上皮の変化を確認することができた。しかし、歯間部の歯肉においても炎症細胞はほとんど観察することができなかった。今回の結果から、加齢に伴う歯肉の変化は炎症によるものでなく、生理的なものであると考えられた。

3 加齢と咬合圧除去による歯周囲組織の変化

1) 歯根膜

咬合圧除去後、歯根膜では速やかに歯根膜線維は萎縮し、機能的な配列は失われ、これに伴い歯根膜の幅も著しく狭窄することについてはすでに多くの報告がある^{8,10,13–19,22,27)}。さらに、光顕および電顕の観察から、これらの歯根膜における変化は迅速で、咬合圧除去後一週間以内に認められることも明らかになっている^{10,15,18,27)}。しかし、従来のほとんどの研究では、新陳代謝の高いと思われる10週齢以前の若いラットを用いた実験であり、加齢が咬合圧除去後のこのような歯根膜の変化にどのような影響を及ぼしているか比較検討したものはほとんどない。

本研究の対照群ラットの観察から、歯根膜の幅が加齢に伴い減少することについては既に述べたが、咬合圧除去を行った実験群と対照群を比較すると、すべての週齢で歯根膜の幅がさらに減少していた。10週齢では対照群では約70–100 μm の幅が、実験群では約50–70 μm に減少していた。さらに、50週齢ラットでは約60–80 μm の幅が約40–50 μm に、80週齢ラットでは約40–60 μm が咬合除去後には約20–30 μm になっていた。この結果は、歯根膜の幅の変化は、歯根周囲の歯槽骨の骨改造活性と密接に関連していることを示している。

歯根膜線維に関しては、実験群のいずれの週齢ラットにおいても歯根膜線維の萎縮、機能的配列の消失という廃用性萎縮を示し、咬合圧除去による歯根膜線維の組織学的変化について加齢による著しい差は認められなかった。歯根膜線維の走行は咬合圧に対応した機能的配列を持つことから考えれば、50週、80週齢ラットでも咬合圧に対応した歯根膜の機能は維持されている。つまり、いずれの週齢においても咬合圧に対応して分布している歯根膜線維が、咬合圧除去によりその機能を消失し、同様に廃用性萎縮がおこっているのではないかと考えられる。

2) 歯槽骨

咬合圧除去により歯根膜線維の萎縮の変化に伴い, 歯槽骨表層へ新生骨が添加されることについては多く報告がある^{7, 8, 10, 13-15, 18-20, 22, 27}. 小池²⁷は 5'-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を用い咬合圧除去後の歯根膜内の増殖活性を検索し, 標識率の急激な増加が咬合圧除去後2日後まで見られ, 4日後には急激に減少することを報告している. これは未分化間葉系細胞の増殖を示すものと思われ, これに引き続いて骨芽細胞の増加と骨形成が認められたことから, 咬合圧除去後一週間以内に起こる急速な歯槽骨の骨形成に関連しているだろうと述べている. Levy and Mailland¹⁹は, 咬合圧除去後0日, 5日, 10日, 20日そして25日に TC とカルセインを交互に投与しラベリング像を観察し, 各ラベリングラインの間隔から咬合圧除去による歯槽骨表面の骨形成は20日目までは盛んであるが25日目には激減することを明らかにしている.

今回の TC ラベリングによる観察では, 咬合圧除去後10日間で起こる歯根周囲の歯槽骨表面での骨形成の部位およびその形成量を知ることができた. また, TRAP 活性染色を用い破骨細胞による吸収活性の変化についても観察することができた. 10週齢の対照群ラットでは, 明確な3本の TC ラベリングラインがすべての臼歯の根間中隔頂部, 近心側と根尖部の歯槽骨表面に観察された. これは, 10週齢の対照群ラットの歯槽骨表面では局所的に規則的な骨形成が盛んに行われていることを示していた. 近心側の歯槽骨表面の形成は臼歯の生理的遠心移動に伴って生じたもので, 根間中隔頂部や根尖部に見られる骨形成は, 咬合により生じる Vertical Dimension の減少を修復するための絶え間ない歯の萌出によって生じたものであろう. 咬合圧除去した10週齢の実験群ラットの M1 でも対照群と同様な部位に明確な3本の TC ラベリングが観察された. しかし, TC ラベリングライン間の幅は対照群に比べ約2倍広くなっていた. この結果は, 咬合圧除去後10日の間に対照群で骨形成が認められた同様な部位でさらに骨形成が刺激されたことを示している. 一方, 50週齢や80週齢の対照群では, 歯根周囲の歯槽骨表面にはわずかな TC ラベリングしか認められず, 遠心移動や萌出運動も減少していると考え

られた. しかし, 根間中隔頂上部や根尖部の歯槽骨表面に TC ラベリングが出現していた. さらに, 根中央部の歯槽骨表面でも遠心側と近心側にわずかながら TC ラベリングを認めることができた. これらの TC ラベリング変化は, 50週齢と80週齢では咬合圧除去後, 主に歯の挺出運動に関連した垂直方向への骨形成が起こっていることを示していると考えられた. しかし, 10週齢に比較すると TC ラベリングライン間の幅も狭く, 骨形成量も著しく減少していた. また, 50週齢と80週齢の実験群を比較すると, 80週齢の骨形成の量がわずかに少なかった. これらの結果から, いずれの週齢においても咬合圧除去により歯槽骨表面に骨の新生が認められるが, 咬合圧除去後の骨形成は実験開始時の歯根周囲の歯槽骨の改造活性の状態を反映しているものと考えられた. Misawa-Kageyama ら³⁷は最近になり, 10週齢, 30週齢, 50週齢, 80週齢のラットを用い歯の移動に伴う歯槽骨改造活性を比較し, 牽引側の歯槽骨表面の骨形成量が加齢に伴って減少することを報告している.

2) セメント質

咬合圧除去後10日目の組織像を観察した本研究では, 各週齢の実験群ラットにおいてはセメント質の顕著な組織学的変化はほとんど観察されなかった. また TC ラベリング像からも, すべての週齢の対照群と実験群においてセメント質の添加は全く認められなかった. 井上¹¹は, セメント質における変化は対合歯抜去後15日で歯根の一部に発現して, 30日以上時期になると新生添加されているのが認められ, その厚さは30日, 40日, 60日と次第に増大すると報告している. さらに, 増田¹⁵はテトラサイクリンを咬合圧除去の48時間前と屠殺48時間前の2回投与し, 術後17日目と70日目の TC ラベリング像を観察し, 対照群と実験群の17日間に根尖部の細胞セメント質に2本のラベリングラインが観察されたことを報告している. これらの報告と本研究の結果の違いは, 咬合圧除去後の観察期間の違いによるものかもしれない. ともあれ, 咬合圧除去後のセメント質の添加は歯槽骨の骨形成に著しく遅れていることから, 咬合圧除去後10日間に見られる歯根膜の幅の狭窄は, 主に歯槽骨表面での骨の新生によることを示している.

3) 歯肉

加齢に伴うラット臼歯の歯肉の変化についてはすでに Belting et al.³²⁾, 上野と亀山³⁴⁾, Kindlova et al.³⁶⁾によって報告されている。今回の観察でも従来の報告と同様に、対照群ラットの歯肉内縁上皮は加齢に伴い深部増殖していたが、歯根膜や歯槽骨に波及するような炎症性反応が認められなかった。今回は咬合圧除去後10日目の観察であったが、すべての週齢においてM1の明らかな挺出が認められた。また、歯の挺出量は加齢に伴い減少していた。咬合圧除去による歯肉の組織変化は観察されず、歯の挺出などが歯肉組織にはほとんど影響していないと思われた。

結 論

本研究では10, 50, 80週齢ラットを用い、加齢に伴う咬合圧除去による歯周囲組織の組織変化の差異について比較検討し、次のような結果が得られた。

1. 対照群においては、歯根膜の幅の減少、細胞セメント質の肥大化、固有歯槽骨の改造活性の低下など歯周組織の加齢変化が確認できた。
2. 実験群ではいずれの週齢でも、咬合圧除去後10日間で根間中隔と根尖の歯槽骨表面に新生骨の形成が認められた。しかし、その骨形成量は加齢に伴い減少していた。
3. 咬合圧除去後、すべての週齢ラットにおいて対照群に比べ歯根膜線維は萎縮し、その幅が減少していた。
4. 咬合圧除去により、歯根周囲の歯槽骨表面の破骨細胞は対照群に比べ減少し、80週齢の実験群ではほとんど観察されなかった。
5. すべての週齢ラットにおいて、咬合圧除去後10日間にセメント質の新たな添加は認められなかった。

以上の結果より、咬合圧除去に伴う歯周組織の変化は加齢と密接な関連を持っていることが明らかになった。

文 献

- 1) Kronfeld R (1931) Histologic study of the influence of function on the human periodontal membrane. *J Am Dent Assoc* **25** : 1242-74.
- 2) Coolidge ED (1937) The thickness of the human periodontal membrane. *J Am Dent Assoc* **24** : 1260-70.
- 3) Gottlieb B (1943) Histologic consideration of the supporting tissue of the teeth. *J Am Dent Assoc* **30** : 1872-83.
- 4) 秋吉正豊 (1949) 歯周組織の構造と機能的刺激の影響について. *歯科学雑誌* **6** : 442-52.
- 5) 雨宮 璋 (1992) 歯周囲組織の構造と機能. *歯医学誌* **12** : 108-12.
- 6) Anderson BG, Smith AH, Arnim SS and Orten AU (1936) Changes in molar teeth and their supportive structures of rats following extraction of the upper right first and second molars. *Yale J Biol Med* **9** : 189-93.
- 7) Glickman I (1945) The effect of acute starvation upon the apposition of alveolar bone associated with the extraction of functional antagonists. *J Dent Res* **24** : 155-60.
- 8) 石田竹二 (1950) 大黒鼠の正常及び異常咬合状態に於ける臼歯セメント質形成並びに歯牙支持組織の構造に関する研究. *御茶ノ水誌* **2** : 140-50.
- 9) Stahl SS, Miller SC and Goldsmith DE (1957) The effect of vertical occlusal trauma on the periodontium of protein deprived young adult rats. *J Periodontol* **28** : 87-97.
- 10) 佐伯 誠 (1959) ラットの大臼歯の歯周組織における実験的廃用性萎縮の発生過程およびその修復過程について. *口病誌* **26** : 317-47.
- 11) 井上昌幸 (1961) 咬合機能変化に際して現れるラット臼歯歯根セメント質の変化について-対合歯を抜去した場合-. *日補歯誌* **5** : 29-34.
- 12) Stallard ER (1964) The effect of occlusal alterations on collagen formation within the periodontium. *Periodontics* **2** : 49-52.
- 13) Cohn SA (1965) Disuse atrophy of the periodontium in mice. *Arch Oral Biol* **10** : 909-19.
- 14) Cohn SA (1966) Disuse atrophy of the periodontium in mice following partial loss of function. *Arch Oral Biol* **11** : 95-105.
- 15) 増田 豊 (1971) 実験的な外傷性咬合と対合歯の喪失による歯根膜線維の変化について. *歯学* **58** : 794-829.
- 16) 中村 亨, 鈴木公夫, 岡 静夫, 秋吉正豊 (1971) 対合歯喪失臼歯の歯周組織における咬合機能回復への適応過程. *日歯周誌* **14** : 63-64.
- 17) 鈴木設矢 (1978) 実験的な咬合異常による歯周組織の変化に関する研究-外傷性咬合と対合歯の喪失による咬合-. *歯学* **65** : 817-57.
- 18) 雨宮 璋, 阿部 智 (1980) ラットの歯根膜に及ぼす対合歯抜去の影響に関する電子顕微鏡的研究. *歯基礎誌* **22** : 72-83.
- 19) Levy GG and Mailland ML (1980) Histologic study of the effects of occlusal hypofunction following antagonist tooth extraction in the rat. *J Periodontol* **51** : 393-9.

- 20) Tran Van P and Mailland ML (1981) Short-term effects of occusal hypofunction following antagonist tooth extraction upon periodontal tissues in the rat. *J Biol Buccal* **9**: 385-400.
- 21) 野村 篤 (1982) 咀嚼圧喪失による歯槽骨変化. *歯基礎誌* **24**: 951-77.
- 22) 及川浩志 (1982) 咬合機能を中絶したラット臼歯歯根膜における電子顕微鏡的变化. *歯基礎誌* **24**: 993-1018.
- 23) Deporter DA, Svoboda ELA, Motruk W and Howley TP (1982) A stereologic analysis of collagen phagocytosis by periodontal ligament fibroblasts during occusal hypofunction in the rat. *Arch Oral Biol* **27**: 1021-5.
- 24) Beertsen W (1987) Collagen phagocytosis by fibroblasts in the periodontal ligament of the mouse molar during the initial phase of hypofunction. *J Dent Res* **66**: 1708-12.
- 25) Johnson RB (1989) Effects of hypofunction on the distribution of 3H-prolin in the trasseptal fibers of the periodontium of rat. *Anat Rec* **225**: 87-95.
- 26) ElDeeb ME and Andreasen JO (1991) Histometric study of the effect of occusal alteration on periodontal tissue healing after surgical injury. *Endod Dent Traumatol* **7**: 158-63.
- 27) 小池 薫 (1996) ラット臼歯歯周組織におよぼす咬合機能喪失と回復の影響-病理組織及び組織計量学的検討-. *日歯周誌* **38**: 1-19.
- 28) Burstone MS (1958) Histochemical demonstration of acid phosphatases using AS phosphates. *J Nat Cancer Inst* **21**: 523-39.
- 29) Misawa Y, Kageyama T, Moriyama K, Kurihara S, Yagasaki H, Deguchi T, Ozawa H and Sahara N (2007) Effect of age on alveolar bone turnover adjacent to maxillary molar roots in male rats: A histomorphometric study. *Arch Oral Biol* **52**: 44-50.
- 30) Hoffman MM and Schour I (1940) Quantitative studies in the development the rat molar. II. Alveolar bone, cementum, and eruption (from birth to 500 days). *Am J Orthod Oral Surg* **26**: 854-74.
- 31) Sicher H and Weinmann JP (1944) Bone growth and physiological tooth movement. *Am J Orthod Oral Surg* **30**: 109-32.
- 32) Belting CM, Schour I, Weinmann JP and Shepro MJ (1953) Age changes in the periodontal tissues of the rat molar. *J Dent Res* **32**: 332-53.
- 33) 酒井信夫 (1968) ラット臼歯歯根膜線維成分の増齢的变化に関する組織化学的研究. *歯学* **55**: 488-503.
- 34) 上野和之, 亀山洋一郎 (1973) 成熟ラット臼歯の生理的な動きと歯周組織の増令的变化について. *日歯周誌* **15**: 238-47.
- 35) Kabasawa M, Ejiri S, Hanada K and Ozawa H (1996) Effect of age on physiologic and mechanically stressed rat alveolar bone: A cytologic and histochemical study. *Int J Adult Orthod Orthognath Surg* **11**: 313-27.
- 36) Kindlova M, Merklas L, Marikova Z and Broukal Z (1981) Age-dependant changes in the rat periodontium. *J Peiodontal Res* **16**: 497-503.
- 37) Misawa-Kageyama Y, Kageyama T, Moriyama K, Kurihara S, Yagasaki H, Deguchi T, Ozawa H and Sahara N (2007) Histomorphmetric study on the effect of age on orthodontic tooth movement and alveolar bone turnover in rat. *Eur J Oral Sci* **115**: 124-30.