

歯肉の創傷治癒に対する加齢の影響

—歯肉溝上皮および付着上皮の再生に関する実験的研究—

山 森 徹 雄

岩手医科大学歯学部歯科補綴学第二講座（主任：石橋寛二教授）

〔受付：1986年10月1日〕

抄録：歯肉溝上皮、付着上皮の創傷治癒に及ぼす加齢の影響を検索するために、5～51週齢のWistar系雄性ラットの臼歯部歯肉に対して歯肉切除術を施した場合（メス切除群）ならびに歯肉溝上皮と付着上皮をダイヤモンド・ポイントで削除した場合（ポイント削除群）の歯肉の創傷治癒経過を光顕的、電顕的に観察した。

対照群とした無処置のものでは光顕的に加齢にともなう付着上皮の深部への増殖がみられ、また、電顕的には歯肉溝上皮基底細胞と付着上皮細胞の小器官の発達程度に差異がみられた。実験群において、光顕的にメス切除群、ポイント削除群とも上皮の再生、炎症性変化の消退、結合組織線維の再構築が高齢のものほど遅延していた。また、電顕的には再生上皮が本来の付着上皮の構築に復する時期、上皮付着や基底膜の形成、歯肉溝上皮における角化層の形成などが高齢のものほど遅く、再生上皮の機能の回復も遅延することが示唆された。また、メス切除群とポイント削除群との間での治癒過程にも差が認められた。

Key words : wound healing of gingiva, aging, junctional epithelium, sulcular epithelium.

緒 言

近年、社会の高齢化が進むのにもない老年医学の分野が重要視されるようになり、口腔領域においても、歯、歯周組織、口腔粘膜、顎骨等の加齢変化に関する検討が行われている。歯科臨床からみると高齢者に対して処置を施すことが今にもまして多くなると予想されるため、加齢にともなう組織変化を十分に把握する必要がある。一方、歯冠修復に際しては、支台歯形成をはじめ、印象採得、合着などの操作が不可欠で、歯周組織には種々の物理的、化学的障害が加わりやすい。従来より歯周組織に損傷が生じた場合の治癒経過に関する検討はみられるも

の¹⁻⁶⁾、損傷に対する歯周組織の反応が加齢によりどのように変化するかを検索した報告はわずかにみられるにすぎない⁷⁻¹⁶⁾。

本研究ではラットを用い歯肉、とくに歯肉溝上皮と付着上皮の創傷治癒に対する加齢の影響を実験的に検索した。

材料と方法

実験には5～51週齢のWistar系雄性ラット84匹を用いた。これらをI群(生後5～6週齢)、II群(生後14～15週齢)、III群(生後50～51週齢)の3群に分け、さらに各群を実験群と対照群に分けた。I～III群の週齢を選択するにあたっては、臼歯部の萌出完了後の5～6週齢のも

Effects of aging on the wound healing of gingiva: an experimental study on the regeneration of the sulcular and junctional epithelia.

Tetsuo Y_{AMAMORI}

(Department of Fixed Prosthodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka 020)

岩手県盛岡市中央通1-3-27 (〒020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 11 : 202-228, 1986

のをⅠ群とし、長幹骨の成長が完了し成熟したと考えられる14~15週齢のものをⅡ群¹⁷⁾、さらに成熟後できるだけ長時間経過し、加齢以外の種々の要因の影響を受けにくいと考えられる^{10, 12)}50~51週齢のものをⅢ群とした。

実験群ではペントバルビタールナトリウム(ネプタール[®])腹腔内麻酔下で上顎両側第一臼歯頰側の歯肉頂部から歯面に沿って0.7~0.8mmの部分をも毎分8,000~10,000回転の条件で#104Rダイヤモンド・ポイント(松風社製)により擦過し、歯肉溝上皮と付着上皮および結合組織を削除した。また、#11外科用替刃メス(フェザー工業製)により口蓋側の辺縁歯肉を切除した。標本採取は処置直後、1, 3, 5, 7, 14日後とし、標本採取にあたってはペントバルビタールナトリウム(ネプタール[®])腹腔内麻酔下でカコジル酸ナトリウム緩衝2%パラフォルムアルデヒド-2.5%グルタールアルデヒド固定液(pH7.4, 4°C)による灌流固定を行った。灌流固定に際しては両側外頸静脈から瀉血すると同時に下行大動脈を横隔膜相当部で結紮し、マイクロチューブポンプ(MP-3B, 東京理科器材社製)を用いて上行大動脈から固定液を注入した。灌流固定後、上顎臼歯部を顎骨とともに切断して採取した。

処置を施した両側のうち一方を同固定液中で一昼夜固定した後、カコジル酸ナトリウム緩衝液(pH7.4, 4°C)で洗浄、10%EDTA-4Na水溶液(pH7.4, 4°C)で3~4週間脱灰した。次いで歯の頬舌的中央部で2分割した後、カコジル酸ナトリウム緩衝液で一昼夜洗浄、カコジル酸ナトリウム緩衝2%オスミウム酸固定液(pH7.4, 4°C)で2時間後固定を行った。その後アルコール系列で脱水、QY-1置換後Epon812に包埋した。LKB2088型超マイクロトームを用い、ガラスナイフ、ダイヤモンドナイフにより超薄切片を作製し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛重染色を施した後、透過型電子顕微鏡H-600A(日立製作所製、加速電圧100Kv)で観察した。また、反対側を光顕用とし、中性緩衝10%ホルマリンで7日間固定、Plank-Rychlo 迅

速脱灰液にて脱灰して通法のごとくパラフィン切片を作製した後、ヘマトキシリン-エオジン染色を施し観察した。

結 果

1. 光学顕微鏡所見

A. 対照群

歯肉溝上皮は十数層ないし二十数層の細胞よりなる角化重層扁平上皮からなり、付着上皮は非角化重層扁平上皮からなっていた。付着上皮歯根側部はⅠ群、Ⅱ群ではセメント・エナメル境付近に位置していたが(Figs. 1a, 1b)、Ⅲ群では、セメント・エナメル境を越えてさらに根側へ伸長していた(Fig. 1c)。上皮結合組織には線維芽細胞が散在し、炎症性細胞がごくわずかにみられた。

B. 実験群

1) メス切除群

i) Ⅰ群(5~6週齢群)

処置直後では歯肉頂部、歯肉溝上皮および付着上皮を切除した創面に多量の出血がみられた(Fig. 2a)。1日目では創面はフィブリンを主とした滲出物で覆われ、滲出物直下には創縁から数層の紡錘形の上皮細胞が伸長していた(Fig. 2b)。

3日目になると数層ないし十数層の細胞よりなる再生上皮が創面を覆い歯面に達していた。再生上皮細胞の配列は不規則であり、歯肉頂部の形成がはじまっていたが、いまだ不完全であった。歯肉頂部付近では角化層の形成が認められた(Fig. 2c)。

5日目では再生上皮は配列が規則的になり、明瞭な歯肉頂部の形成がみられ、1~2層の歯冠側部付着上皮が認められた。

7日目になると再生上皮における歯肉溝上皮と付着上皮との区別が明瞭となり、対照群に類似する構造を示した(Fig. 2d)。14日目になると再生上皮は対照群と同様の所見を呈した。

上皮結合組織における炎症性細胞の浸潤は、3日目には著明にみられたが、5日目から減少

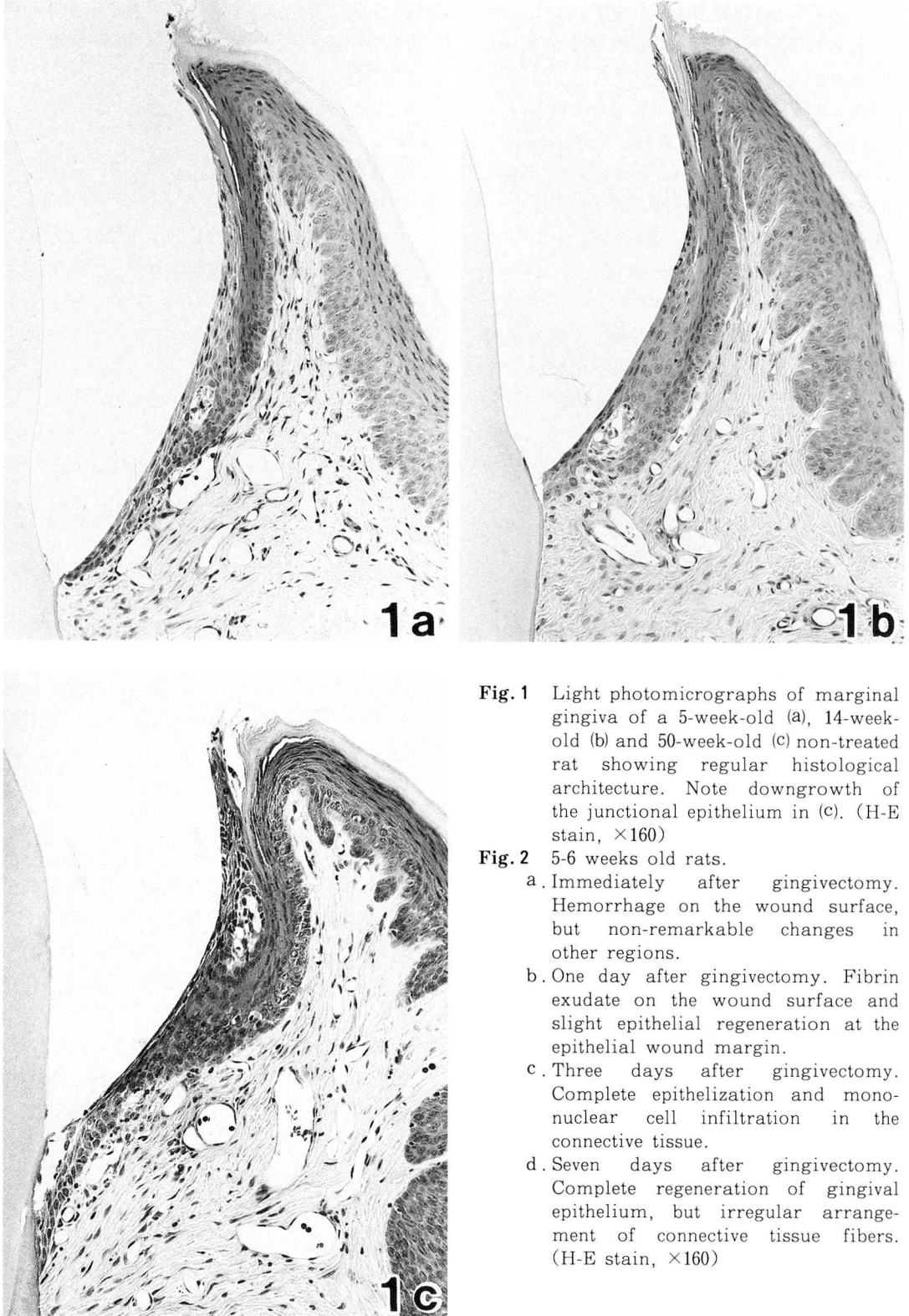
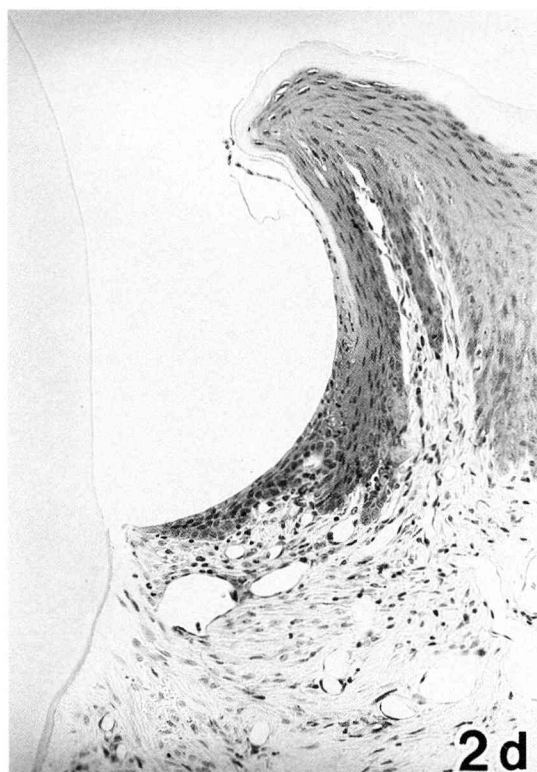
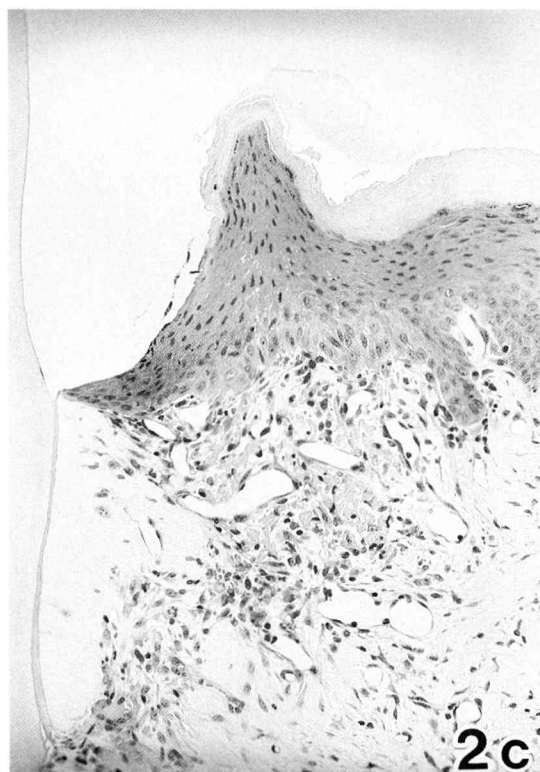
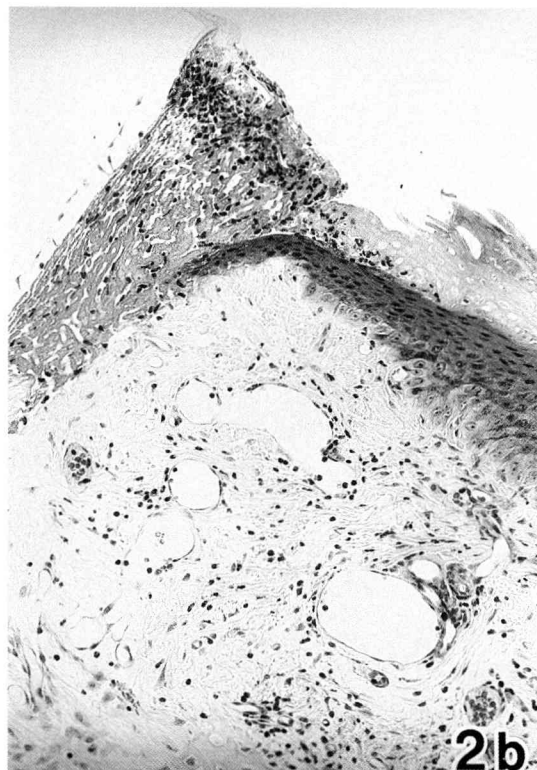
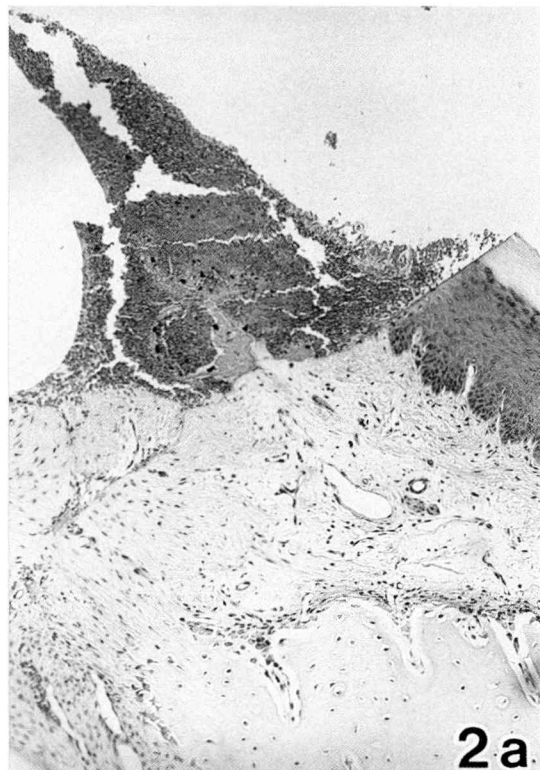
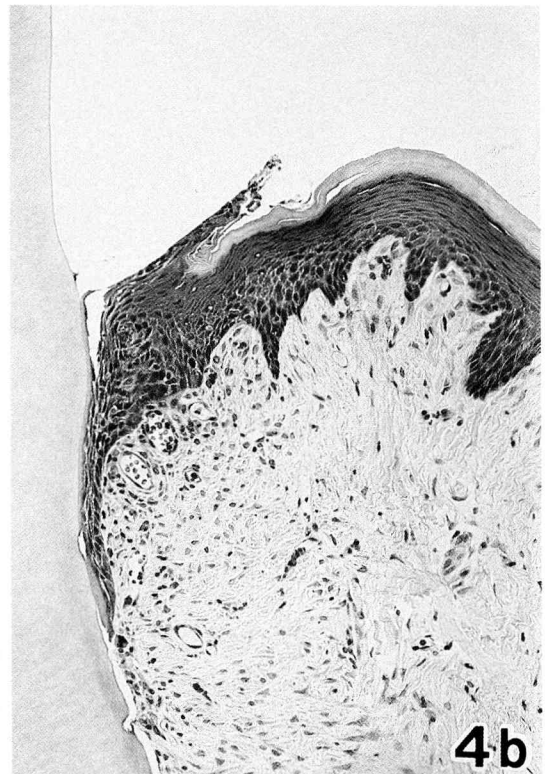
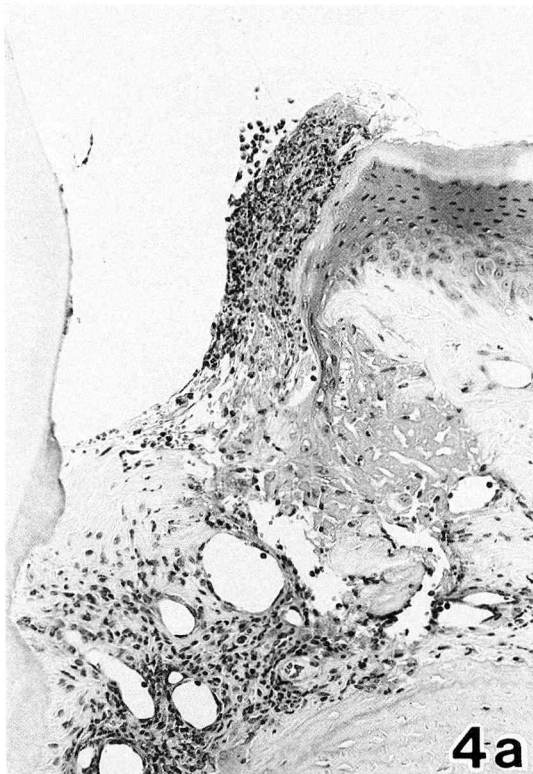
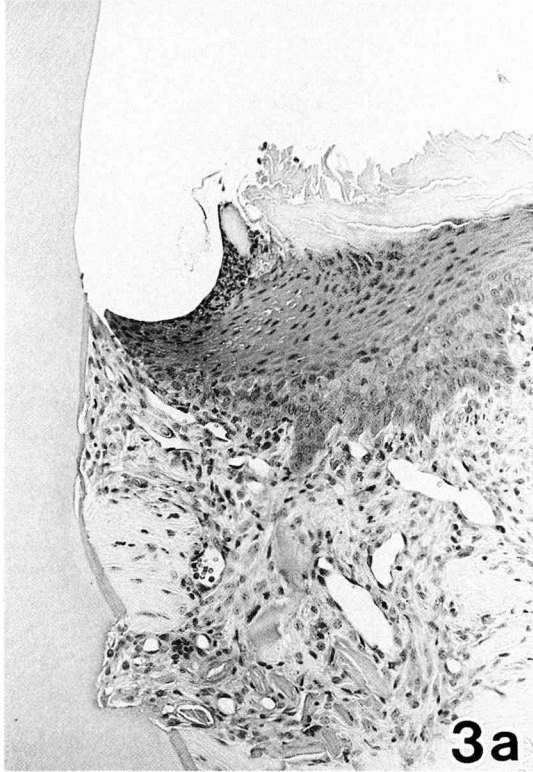


Fig. 1 Light photomicrographs of marginal gingiva of a 5-week-old (a), 14-week-old (b) and 50-week-old (c) non-treated rat showing regular histological architecture. Note downgrowth of the junctional epithelium in (c). (H-E stain, $\times 160$)

Fig. 2 5-6 weeks old rats.

- a. Immediately after gingivectomy. Hemorrhage on the wound surface, but non-remarkable changes in other regions.
- b. One day after gingivectomy. Fibrin exudate on the wound surface and slight epithelial regeneration at the epithelial wound margin.
- c. Three days after gingivectomy. Complete epithelization and mononuclear cell infiltration in the connective tissue.
- d. Seven days after gingivectomy. Complete regeneration of gingival epithelium, but irregular arrangement of connective tissue fibers. (H-E stain, $\times 160$)





しはじめ、7日目ではごく軽度となっていた。また、線維芽細胞の増生は3日目よりみられ、5日目で最も著明になるが、7日目には減少し、14日目になると線維芽細胞の数、結合組織線維の走行とも対照群と同様になっていた。

ii) II群 (14~15週齢群)

処置直後と1日目の所見はI群と同様であった。しかし、I群に比較すると再生上皮による歯肉頂部の形成は5日目になっても不明瞭であった (Fig. 3 a)。14日目になると歯肉頂部の形成が明瞭になり対照群に類似する構造を呈するようになった (Fig. 3 b)。

一方、上皮下結合組織における炎症性細胞の浸潤は7日目から減少するものの、14日目になっても線維芽細胞の増生が軽度のみられ、結合組織線維は対照群に比較してその走行ははまだ不規則であった。

iii) III群 (50~51週齢群)

処置直後と1日目の所見はI群、II群と同様であったが、3日目になっても創面への再生上皮の伸展は不完全であった (Fig. 4 a)。5日目には再生上皮は創面を覆うようになるが、14日目になっても歯肉頂部の形成は不十分で再生上皮は肥厚し、明瞭な歯肉溝上皮、付着上皮の構造は認められなかった (Fig. 4 b)。

上皮下結合組織の炎症性細胞の浸潤は3日目からみられ、14日目においても残存していた。線維芽細胞の増生も3日目からみられ、5~7

日目で最も著明となり、14日目においても認められた。また、この時期になっても対照群と比較して結合組織線維の走行は不規則であった。

2) ポイント削除群

i) I群 (5~6週齢群)

処置直後では、歯肉溝上皮および付着上皮を削除した創面に波状を呈した上皮下結合組織層が露出しており、削除された歯肉組織片を混入した出血巣がみられた (Fig. 5 a)。

1日目では創面は好中球、リンパ球などの炎症性細胞を含む滲出物で覆われ、歯肉頂部付近では創縁から再生上皮細胞が伸長し (Fig. 5 b)、3日目には伸長した再生上皮が創面を覆い歯面に達していた (Fig. 5 c)。その後再生上皮細胞の配列はしだいに規則的になり、7日目になると歯肉溝上皮と付着上皮の区別が明瞭となり、対照群に近い構築を示した (Fig. 5 d)。さらに14日目では再生上皮は対照群と同様の所見を呈した。

上皮下結合組織における炎症性細胞の浸潤は1日目から3日目までは著明であったが、次第に減少し、7日目にはごく軽度のみられるにすぎなかった。また、線維芽細胞の増生は3日目よりみられ、5日目で最も著明になるが、7日目には減少し、14日目になると線維芽細胞の数、結合組織線維の走行とも対照群と同様になっていた。

ii) II群 (14~15週齢群)

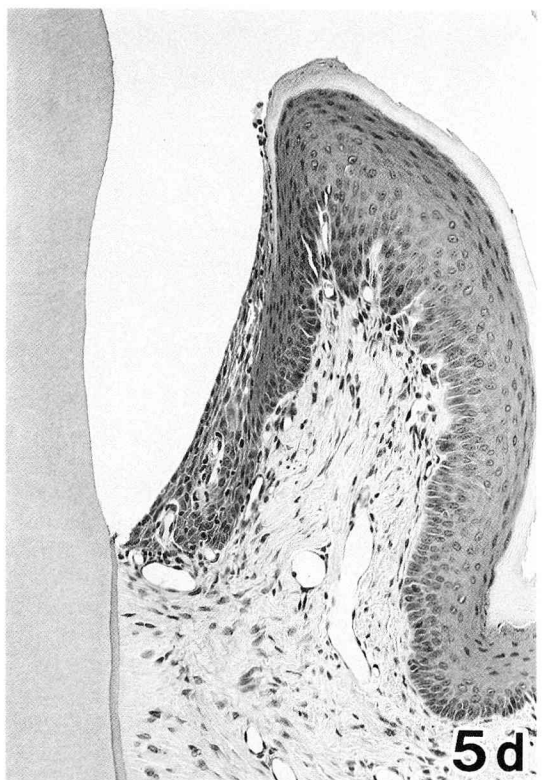
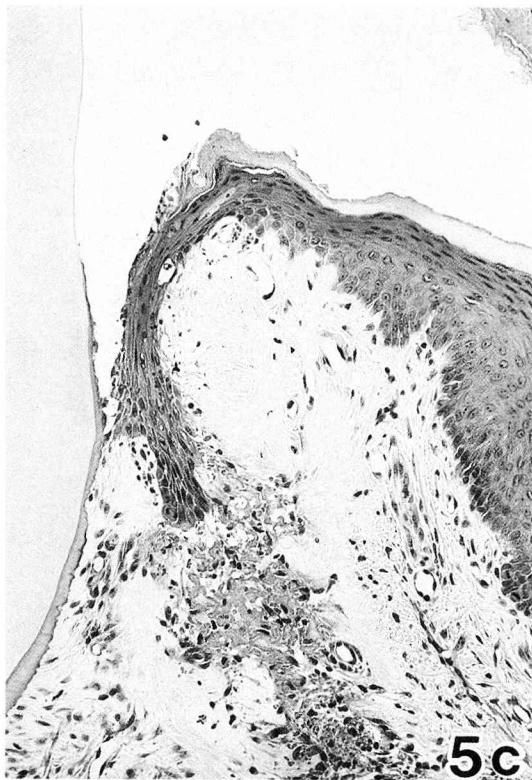
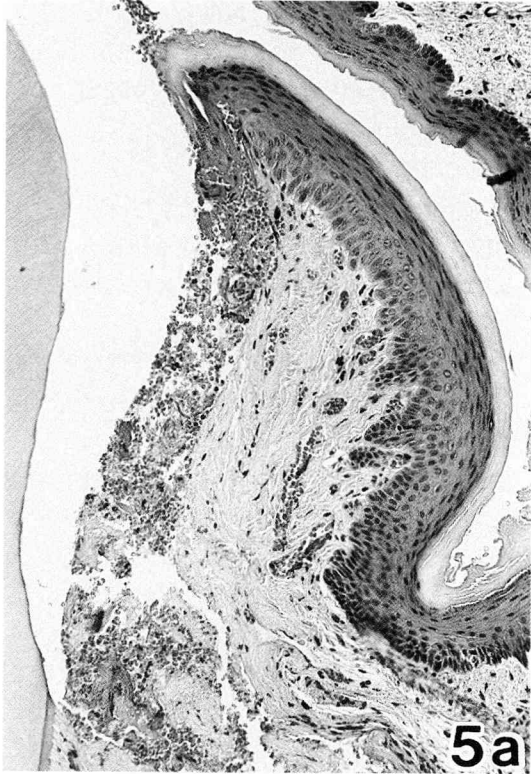
処置直後と1日目ではI群と同様の所見を呈

Fig. 3 14-15 weeks old rats.

- a. Five days after gingivectomy. Incomplete regeneration of gingival margin, diffuse inflammatory cell infiltration and increase in the number of fibroblasts in the connective tissue.
- b. Fourteen days after gingivectomy. Complete formation of the gingival margin, but irregular architecture of the junctional epithelium and connective tissue fibers. (H-E stain, $\times 160$)

Fig. 4 50-51 weeks old rats.

- a. Three days after gingivectomy. Incomplete epithelization with inflammation.
- b. Fourteen days after gingivectomy. Incomplete formation of the gingival margin and many fibroblasts in the connective tissue. (H-E stain, $\times 160$)



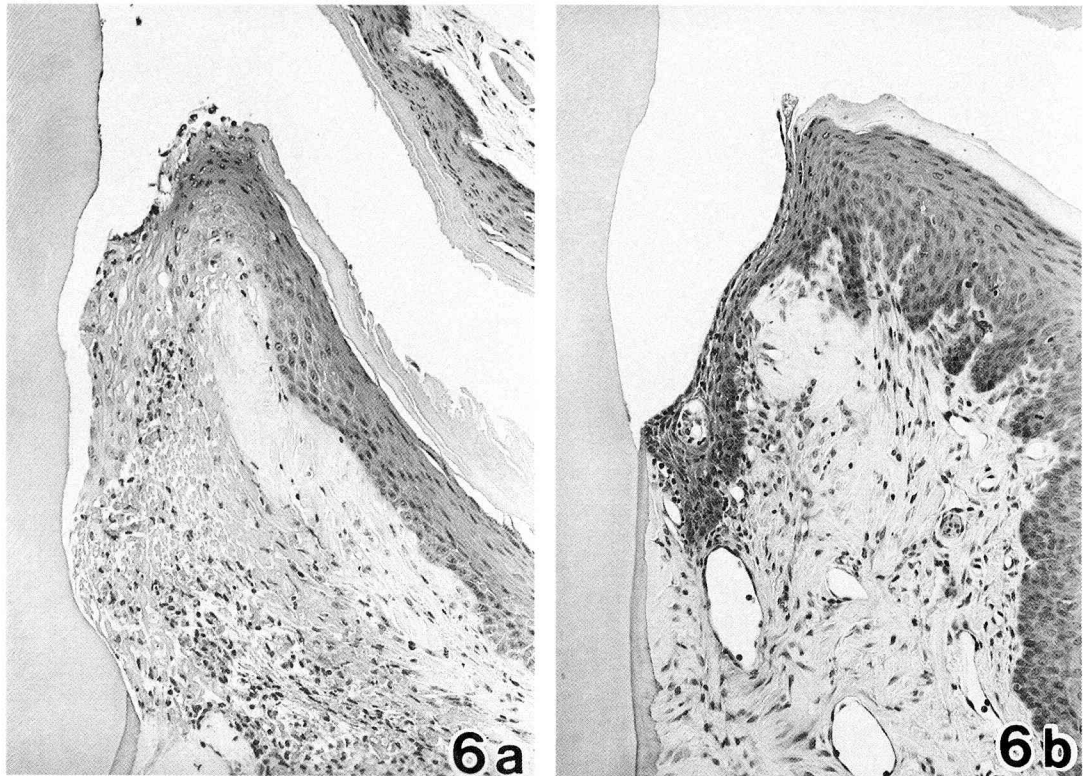


Fig. 5 5-6 weeks old rats.
 a. Immediately after gingival cutting by a diamond point. Hemorrhage and accumulation of necrotic cell debris on the wound surface.
 b. One day after gingival cutting by a diamond point. Initial epithelial regeneration at the epithelial wound margin.
 c. Three days after gingival cutting by a diamond point. Complete epithelization and a little granular tissue in the connective tissue.
 d. Seven days after gingival cutting by a diamond point. Complete regeneration of gingival epithelium resembling that of a non-treated rat. (H-E stain, $\times 160$)

Fig. 6 14-15 weeks old rats.
 a. Three days after gingival cutting by a diamond point. Complete epithelization without regular histological architecture.
 b. Seven days after gingival cutting by a diamond point. Formation of gingival margin, but no differentiation into sulcular epithelium, and increase in number of fibroblasts in the connective tissue. (H-E stain, $\times 160$)

した。3日目では創面は数層の細胞からなる再生上皮によって覆われるが、I群に比較して再生上皮細胞の配列は不規則であった(Fig. 6 a)。

7日目になると歯肉頂部の形成は明瞭になるが、I群に比較して上皮細胞の配列は不規則であり、いまだ歯肉溝上皮と付着上皮の区別も不明瞭で

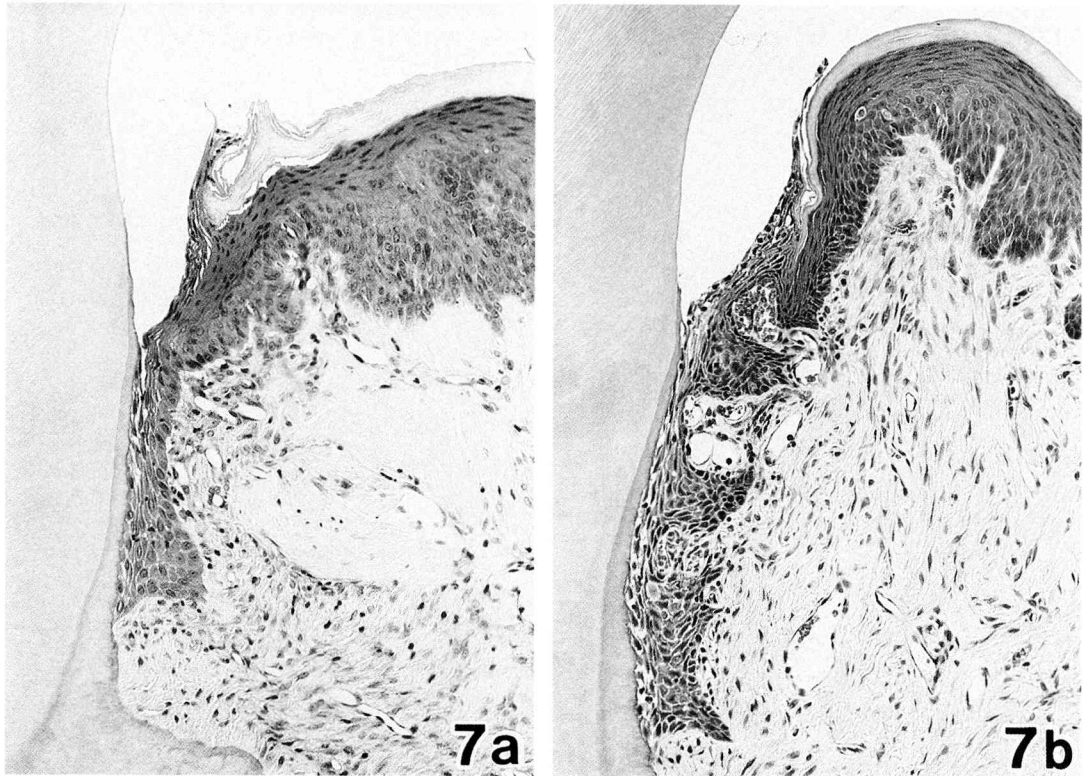


Fig. 7 50-51 weeks old rats.

- a. Seven days after gingival cutting by a diamond point. Downgrowth of the gingival epithelium along cementum, without formation of gingival margin.
- b. Fourteen days after gingival cutting by a diamond point. Marked downgrowth of the junctional epithelium along cementum, and many fibroblasts in the connective tissue. (H-E stain, $\times 160$)

あった (Fig. 6 b)。14日目になると角化傾向を示す歯肉溝上皮と付着上皮が明瞭に区別されたが、歯冠側付着上皮はⅠ群に比較して薄かった。

上皮下結合組織では3日目から炎症性細胞の浸潤がみられ、7日目には減少しつつあった。一方、線維芽細胞の増生も3日目からみられたが14日目でも軽度のみられ、また、この時期になっても結合組織線維の走行は不規則であった。

iii) Ⅲ群 (50~51週齢群)

処置直後と1日目ではⅠ群、Ⅱ群と同様の所見を呈した。再生上皮細胞の配列は5日目になっ

ても不規則であった。7日目では再生上皮はセメント・エナメル境を越えて根側へ伸長するが、細胞配列は不規則で、歯肉頂部の形成も不完全であった (Fig. 7 a)。14日目になると根側への再生上皮の伸長は著しくなるが、細胞配列はⅠ群、Ⅱ群に比較して極めて不規則であった。また、歯肉溝上皮、付着上皮の区別は明瞭となっていた (Fig. 7 b)。

上皮下結合組織では3日目からみられた炎症性細胞が7日目から減少しはじめていたが、線維芽細胞の増生や結合組織線維の走行の不整は14日目でも認められた。

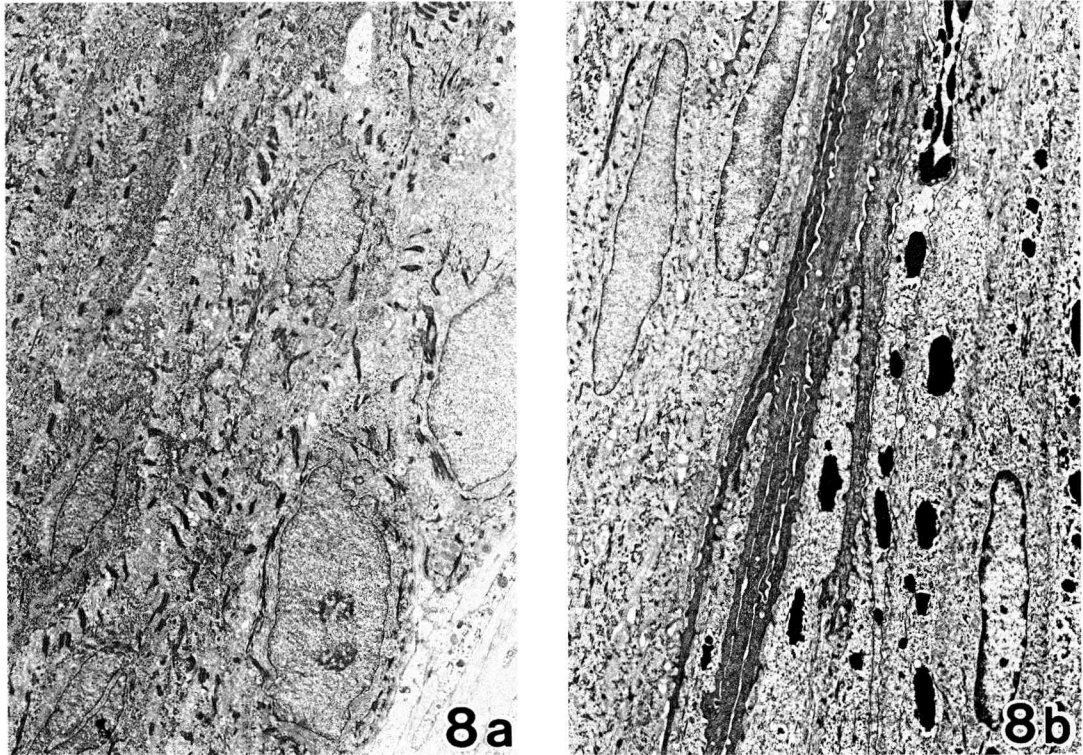


Fig.8 a. Electron photomicrograph of the basal and spinosal layers of the sulcular epithelium with regular arrangement in a 5-week-old non-treated rat. ($\times 4,000$)

b. The granular layer (right $\frac{1}{3}$) and cornified layer of the sulcular epithelium (center $\frac{1}{3}$), and the coronal side area of the junctional epithelium (left $\frac{1}{3}$) with regular arrangement in a 5-week-old non-treated rat. ($\times 4,000$)

2. 電子顕微鏡所見

A. 対照群

歯肉溝上皮と付着上皮はⅠ群 (Figs. 8 a, 8 b, 9 a), Ⅱ群, Ⅲ群とも基本的には, 山森らの報告¹⁸⁾と同様の所見を呈した。しかしながら各群間の差についてみると, 歯肉溝上皮基底層および付着上皮でのミトコンドリアの数はⅠ群で最も多く, Ⅱ群, Ⅲ群の順に少なくなっていた。一方, トノフィラメントはⅠ群, Ⅲ群に比べⅡ群で最も発達していた (Figs. 9 a~9 c)。

B. 実験群

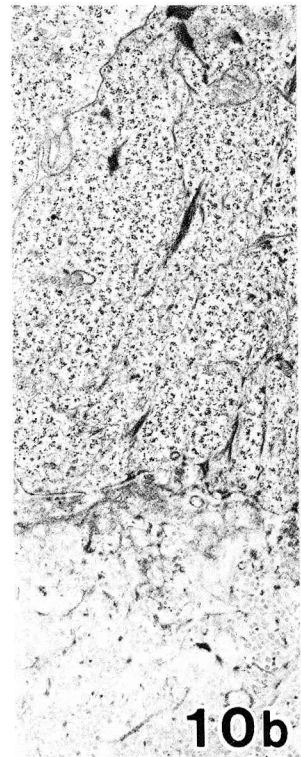
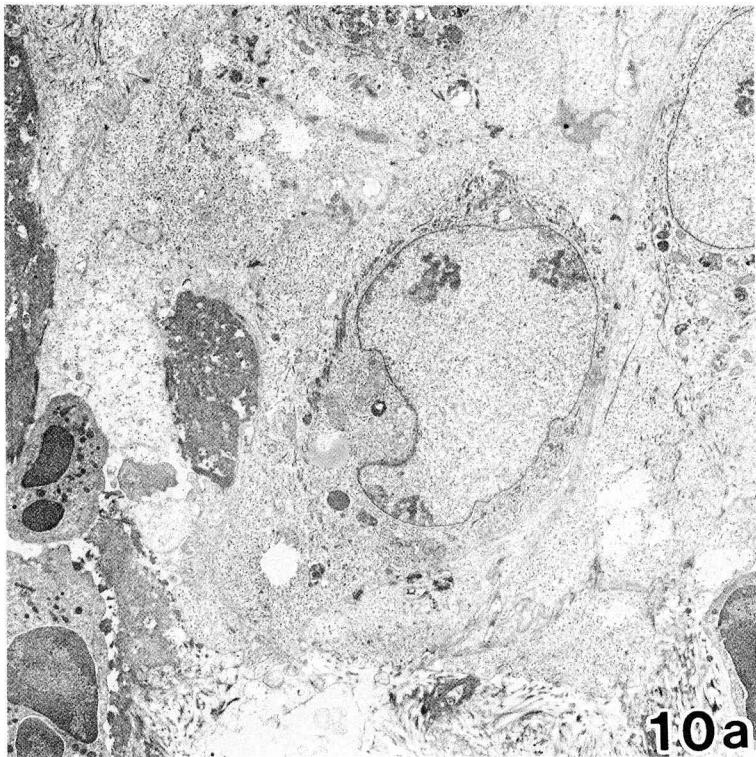
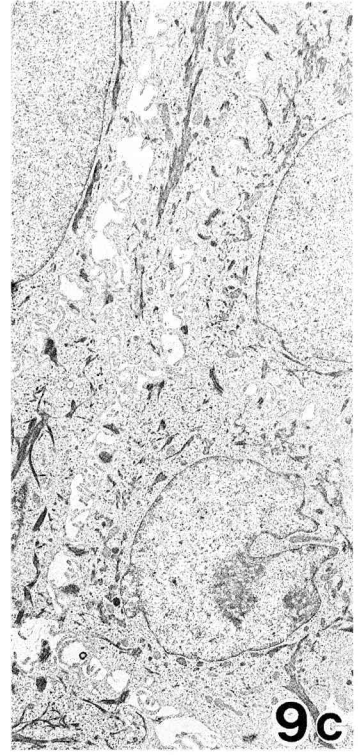
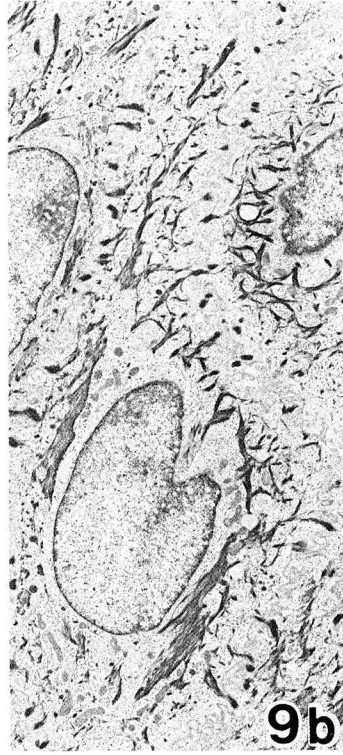
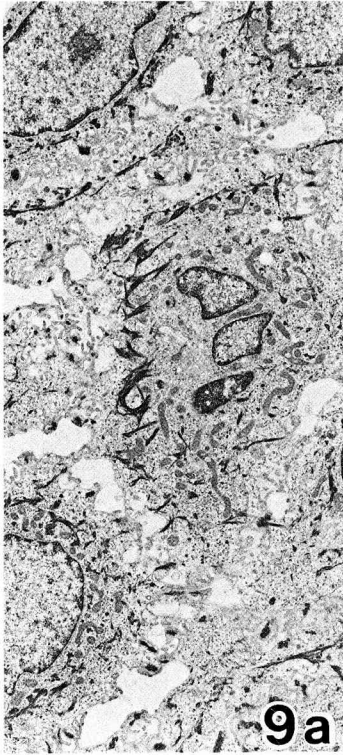
1) メス切除群

i) Ⅰ群 (5~6週齢群)

処置直後の創縁では上皮細胞の変性がみられ

たが, 創面下の結合組織や上皮層深部には変性像はみられなかった。

1日目では再生上皮は薄く, 再生上皮先端部は一ないし数層の細胞からなっていた。再生上皮先端部の細胞は低電子密度で不定形であり, 核は大きく楕円形で核小体は不明瞭であった。小器官は乏しく, また, 細胞質中に脂肪滴やライゾゾームを有するものがみられた。接着装置は未発達で, 隣接細胞との細胞間隙は狭小であった。上皮細胞間には好中球の浸潤がみられた。この部分の再生上皮基底側に基底膜はみられなかった (Fig. 10a)。再生上皮先端から既存上皮側よりの部分では基底層から表層に向かうにしたがい細胞が扁平となり, 最表層部では変性剥離する細胞もみられた。この部分の基底側は著しく凹凸不正を呈し, 基底膜は断続的であ



た (Fig. 10b)。より既存上皮側の部分では基底膜は連続的になっており、この部分の基底細胞には核分裂像をみるものもあった。

3日目では再生上皮は数層ないし十数層の細胞よりなり、細胞外形は不定形であったが、表層に向かうにしたがって扁平化していた。また、再生上皮基底層では核分裂像をみるものもあったが (Fig. 11a)、一方、表層では変性傾向を示す細胞もみられた。再生上皮細胞は核小体の明瞭な楕円形の核を有し、細胞質中には小器官が種々の程度に認められ、限界膜を有する高電子密度の小顆粒もわずかにみられた (Fig. 11b, 挿入図)。歯肉頂部付近では最表層に角化傾向をみたが、顆粒層の細胞は不定形であり、ケラトヒアリン顆粒の数も少なかった。上皮基底側の基底膜は連続的になっていたが、再生上皮の根側の先端近くではハーフデスマゾームが未発達であり、基底膜も断続的であった。さらに先端よりの部位では基底膜は認められなかった。また、再生上皮が歯面に接する部分の一部では再生上皮は中等度電子密度の薄層を介してエナメル質に接し、細胞膜にはハーフデスマゾームが形成されていた (Fig. 11b)。さらに、再生上皮の細胞間隙には好中球などの遊走細胞の浸潤が認められた。

5日目では再生上皮は角化傾向を示す歯肉溝上皮と、角化傾向を示さない付着上皮に不明瞭ながら区別された。歯肉溝上皮は十数層の細胞よりなり、その角化層は2~3層ではあるものの歯肉頂部から歯面に沿って根側へ伸長し (Fig. 12a)、歯肉頂部から付着上皮の根側先端までの約 $\frac{1}{4}$ を覆っていた。顆粒層の細胞には依然としてケラトヒアリン顆粒は少なかった。付着上皮は数層ないし十数層の不定形の細胞よりなるが、歯面側ではその外形は扁平であり、好

中球を主とする遊走細胞の浸潤が認められた。付着上皮細胞の核は大きく楕円形で核小体が明瞭であった。細胞質中には発達したゴルジ装置がみられ、各小器官の数は3日目より増加していた。根側先端近くを除き、連続的な基底膜が形成されており (Fig. 12b)、これらは歯肉溝上皮部でよく発達していた。また、付着上皮最表層と歯面との間には中等度電子密度の薄層が介在していた。

7日目になると再生上皮は付着上皮と歯肉溝上皮に明瞭に区別できるようになっていた。歯肉溝上皮では有棘層の細胞間隙が軽度に関大していたが、それ以外は対照群と同様の所見を呈していた (Fig. 13a)。付着上皮も対照群の構築に類似していた (Fig. 13b)。

14日目には再生上皮は対照群と同様の所見を呈していた。

ii) II群 (14~15週齢群)

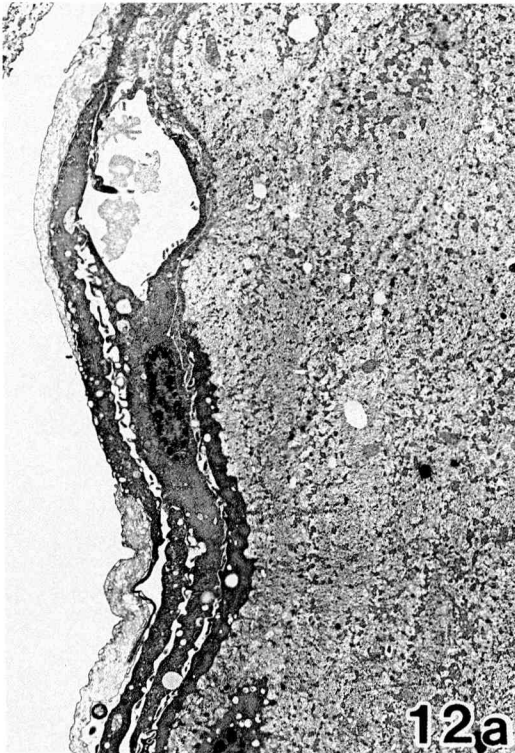
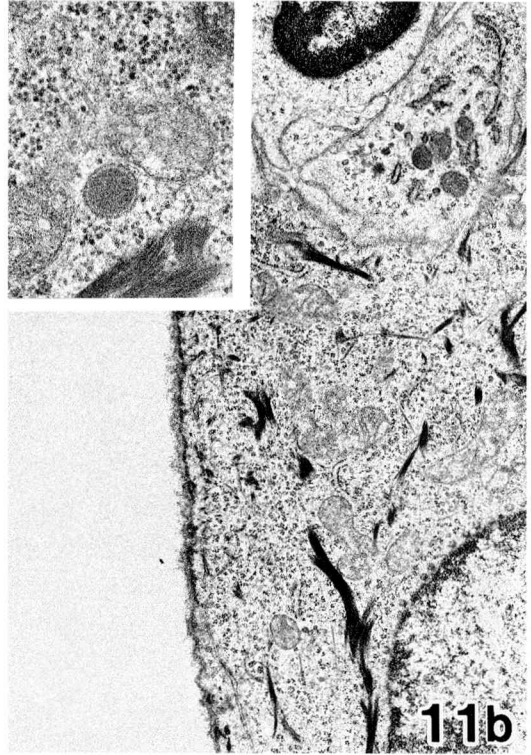
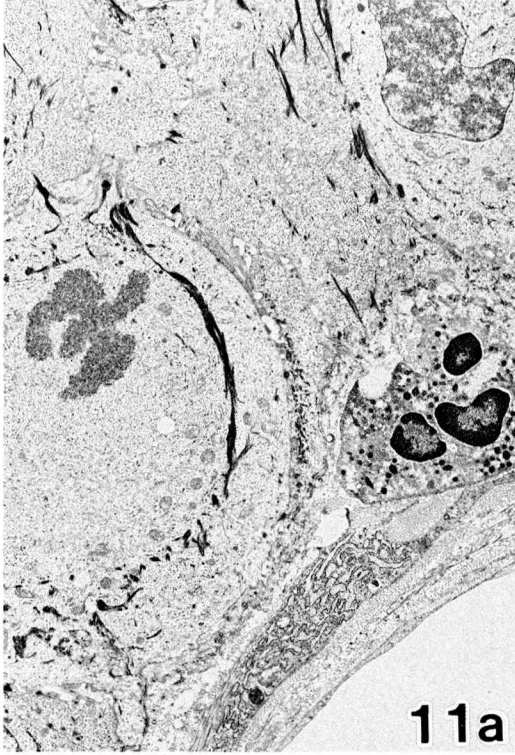
処置直後と1日目ではI群と同様の所見を呈した。しかし、3日目になっても再生上皮細胞質中の膜性小器官は未発達で (Fig. 14a)、脂肪滴を有する細胞や変性傾向を示す細胞もみられた。5日目では再生上皮細胞質中の小器官の数は増加し、限界膜を有する高電子密度小顆粒もわずかに認められた。変性傾向を示す細胞も歯面近くにのみみられるようになっていた。7日目には角化傾向を示す歯肉溝上皮と角化傾向を示さない付着上皮に区別できたが、歯肉溝上皮角化層は薄く歯肉頂部付近にみられるにすぎなかった。さらに14日目には対照群に類似する所見を呈したが、上皮細胞間にはいまだに多くの遊走細胞がみられた。

再生上皮の基底膜は5日目までは断続的であっ

Fig. 9 The intermediate area of the junctional epithelium in a 5-week-old(a), 14-week-old(b) and 50-week-old(c) non-treated rat. ($\times 4,000$)

Fig.10 One day after gingivectomy in a 5-week-old rat.

- a. A few organelles in epithelial cells in the migrating end and absence of basement membrane in this area. ($\times 4,000$)
- b. Basement membrane with irregular continuity along regenerated epithelium neighboring the epithelial wound margin. ($\times 10,000$)



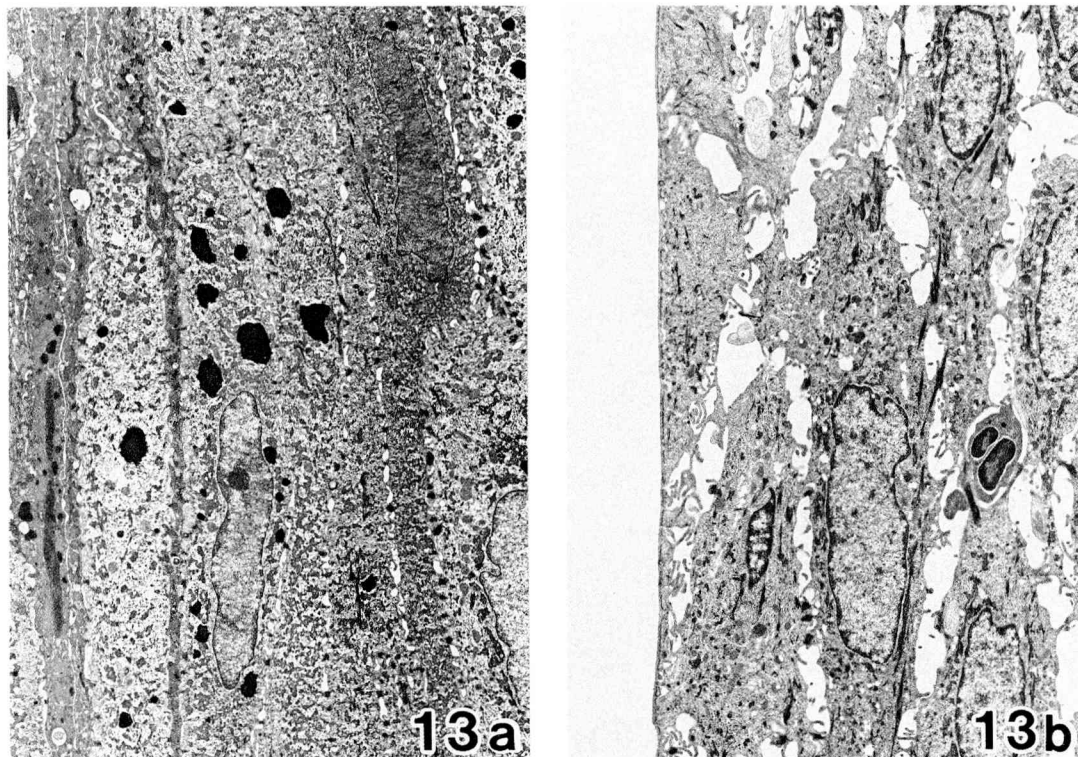


Fig.11 Three days after gingivectomy in a 5-week-old rat.

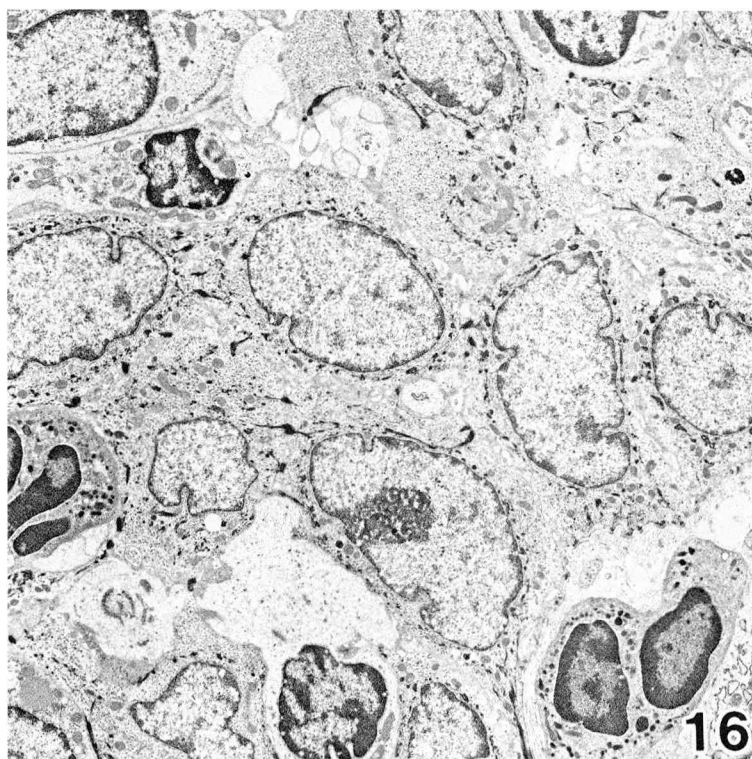
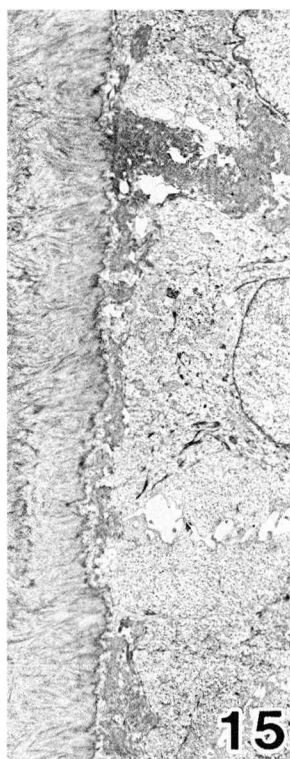
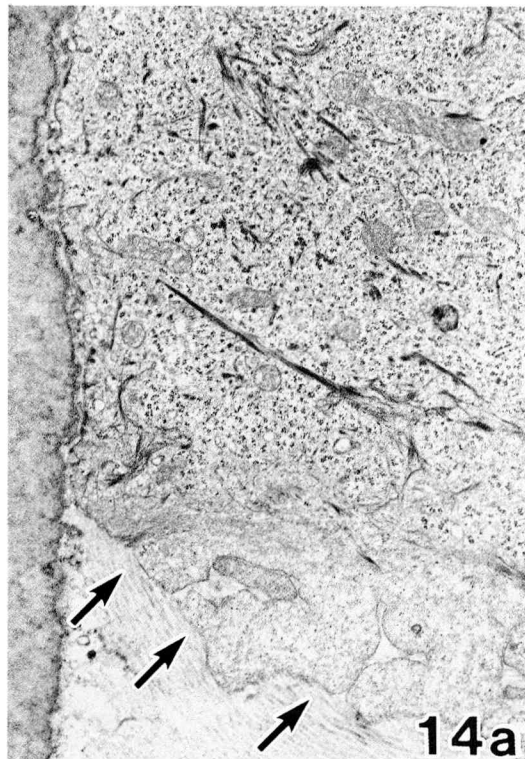
- a. Mitotic figure in the basal layer of the regenerated epithelial cells. ($\times 4,000$)
- b. Poorly-developed epithelial attachment between enamel and regenerated epithelium ($\times 4,000$). Inset : membrane coated dense granule in the regenerated epithelial cells, in part, found at three days after gingivectomy ($\times 30,000$).

Fig.12 Five days after gingivectomy in a 5-week-old rat.

- a. Thin cornified layer of the sulcular epithelium near the gingival margin, and a few keratohyaline granules in the granular layer of the sulcular epithelium. ($\times 4,000$)
- b. Absence of basement membrane along two to three epithelial cells in the apical end of the regenerated epithelium (arrows). ($\times 4,000$)

Fig.13 Seven days after gingivectomy in a 5-week-old rat.

- a. Regenerated sulcular epithelium resembling that of a non-treated rat. ($\times 4,000$)
- b. Regenerated junctional epithelium resembling that of a non-treated rat. ($\times 4,000$)



たが、7日目では根側の先端近くを除いて連続的になり、14日目になると根側の先端以外では連続した基底膜がみられた。また、再生上皮と歯面との関係は、3日目では再生上皮はセメント質と中等度電子密度の薄層を介して接し、再生上皮表層の細胞膜にはハーフデスマゾームが散見された。7日目まではエナメル質の間には同様の所見は認められず (Fig. 14b), 7日目に至ってみられるようになったが、その発達は顕著ではなかった。

iii) III群 (50~51週齢群)

各観察期間でII群に類似した所見を呈したが、3日目に再生上皮が中等度電子密度の薄層を介してセメント質と接する部分は、セメント質に面する再生上皮の一部にすぎなかった (Fig. 15)。14日目の上皮細胞の配列はI群、II群に比較して不規則で細胞間隙には多数の遊走細胞が認められた (Fig. 16)。基底膜は根側の先端近くでは断続的であった。

2) ポイント削除群

i) I群 (5~6週齢群)

処置直後では凹凸を呈する創面には赤血球や変性した上皮細胞、膠原線維の断片が付着していた。また、創面付近の上皮細胞、膠原線維には変性傾向を示すものもみられた。

創面付近における1日目の既存上皮細胞は著しく変性し、多くの好中球の浸潤を認め、再生上皮先端部でも変性しつつある細胞がみられた。再生上皮細胞は不定形で細胞外形に類似する大きな核を有し、小器官は乏しかった (Fig. 17a)。

再生上皮先端部よりやや既存上皮側では基底側の細胞は不定形であったが、表層に向かうにつれ扁平となっており、小器官を種々の程度に有していた (Fig. 17b)。既存上皮側の再生上皮基底面は凹凸不整を呈し、ハーフデスマゾームが散見され、それと平行に断続的な基底膜が認められたが、再生上皮先端側では基底膜は認められなかった。

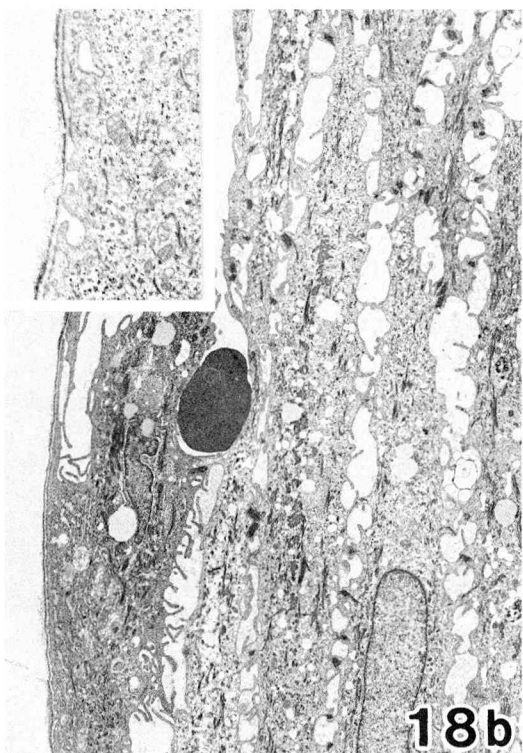
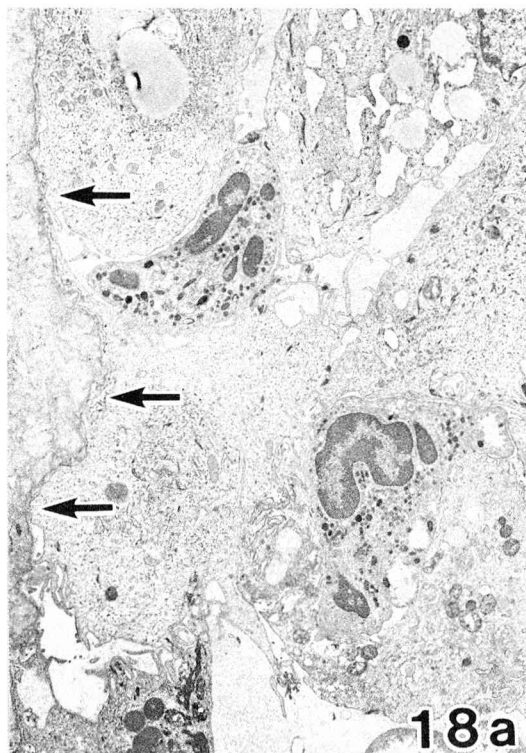
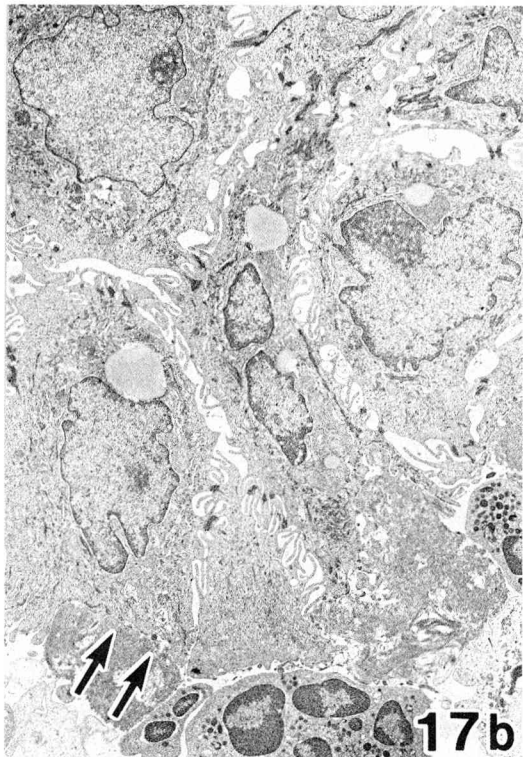
3日目になると約20層の細胞よりなる再生上皮が創面を完全に覆い、根側先端部は数層となってエナメル質、象牙質に接していた。上皮内には細胞間浮腫や好中球を主とする遊走細胞の浸潤が認められた。根側先端部の細胞は不定形で、その外形に類似する大きな核を有しており、細胞質中には各小器官が種々の程度に認められた。また、細胞質中に脂肪滴を有する細胞や変性しつつある細胞もみられた (Fig. 18a)。この部分の上皮基底側にはハーフデスマゾームや基底膜の形成はみられないか、もしくはごくわずかのハーフデスマゾームと基底膜が断続的に認められるにすぎなかった。再生上皮表層と歯面との間には中等度電子密度の薄層が介在していた。再生上皮の既存上皮側の部分では、歯面側の数層は扁平で細胞間隙が広く、細胞質中には比較的発達した小器官を有していたが対照群に比べその数は少なかった。さらにこの部分の一部の細胞には、種々の大きさの小空胞や限界膜を有する高電子密度の小顆粒が認められた。また、上皮表層は中等度電子密度の薄層を介して歯面に接していたが、対照群に比べハーフデスマゾームの発達は著しく劣っていた (Fig. 18b)。基底側の数層の細胞は不定形で、細胞外形に類似

Fig.14 Five days after gingivectomy in a 14-week-old rat.

- a. Absence of basement membrane in the apical end of the regenerated epithelium (arrows) and sparsely distributed organelles in the basal cells. ($\times 4,000$)
- b. No obvious formation of epithelial attachment between enamel and regenerated epithelium. ($\times 4,000$)

Fig.15 Three days after gingivectomy in a 50-week-old rat. Poorly-developed epithelial attachment between cementum and regenerated epithelium. ($\times 4,000$)

Fig.16 Fourteen days after gingivectomy in a 51-week-old rat. Regenerated epithelium with irregular arrangement. ($\times 4,000$)



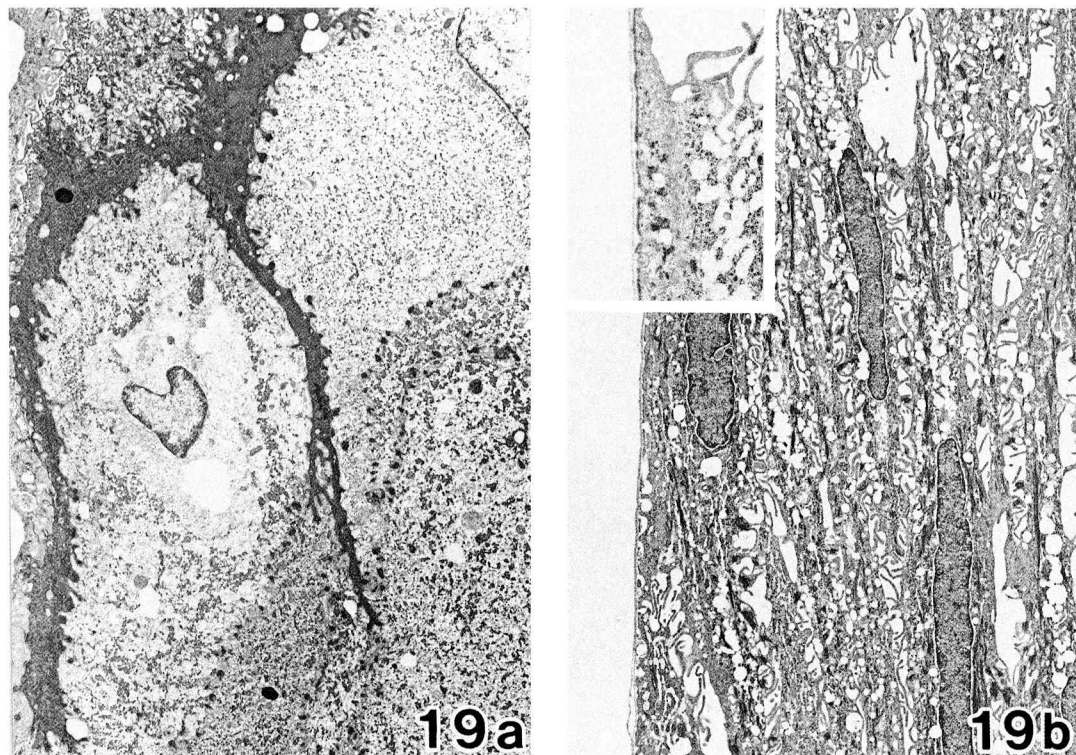


Fig.17 One day after gingival cutting by a diamond point in a 5-week-old rat.

- a. Necrotic or necrobiotic epithelial cells in the migrating end. ($\times 4,000$)
- b. Basement membrane without regular continuity (arrows) along the regenerated epithelium neighboring the epithelial wound margin. ($\times 4,000$)

Fig.18 Three days after gingival cutting by a diamond point in a 5-week-old rat.

- a. Formation of epithelial attachment between apical end of the regenerated epithelium and cementum (arrows). ($\times 4,000$)
- b. Flattened epithelial cells in the superficial region of the regenerated epithelium and a few vacuoles in the cytoplasm ($\times 4,000$). Inset : poorly-developed epithelial attachment ($\times 10,000$).

Fig.19 Five days after gingival cutting by a diamond point in a 5-week-old rat.

- a. Thin cornified layer near the gingival margin. ($\times 4,000$)
- b. Regenerated junctional epithelium with flat in shape, and many vacuoles in their cytoplasm ($\times 4,000$). Inset : epithelial attachment ($\times 10,000$).

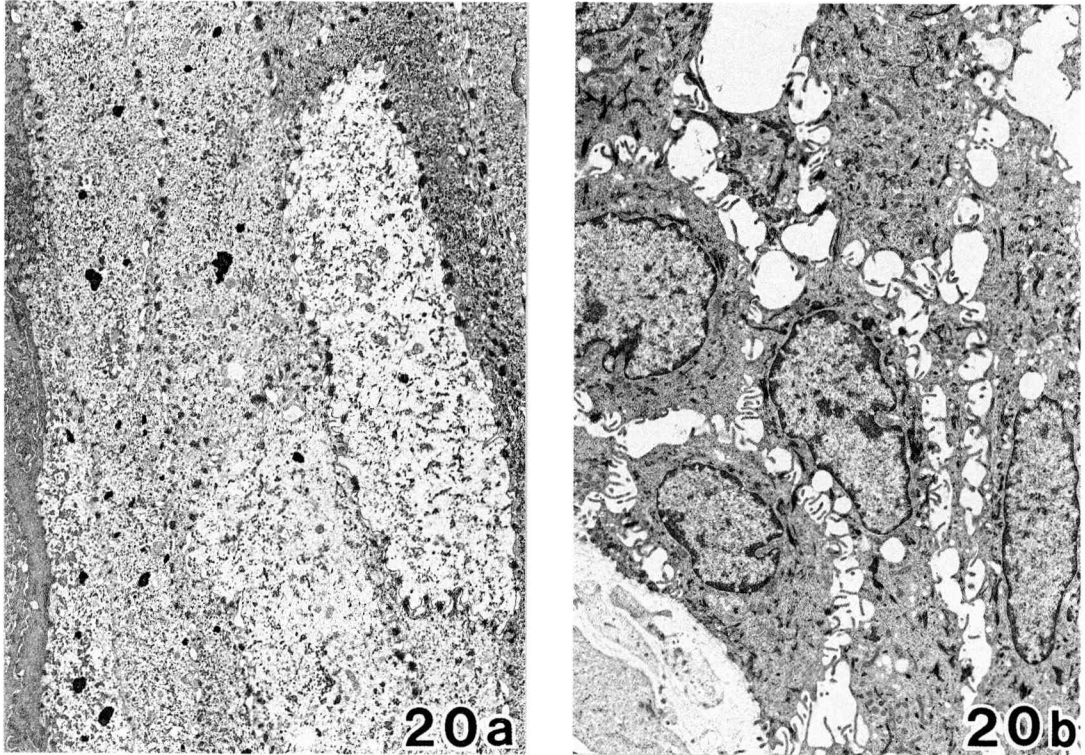


Fig.20 Seven days after gingival cutting by a diamond point in a 5-week-old rat.

- a. The cornified layer of the regenerated sulcular epithelium and scant keratohyaline granules in granular layer. ($\times 4,000$)
 b. The regenerated junctional epithelium resembling that of a non-treated rat. ($\times 4,000$)

した形の核を有し、小器官も種々の程度に認められた。また、その基底側に断続的な基底膜がみられた。

5日目では再生上皮は歯肉溝上皮と、附着上皮に不明瞭ながら区別ができた。歯肉溝上皮の細胞構築は対照群のそれに類似するが、角化層は歯肉頂部とそのわずかに根側よりの部分にのみみられ、また、顆粒層の細胞は不定形で、ケラトヒアリン顆粒の数も少なかった(Fig. 19a)。附着上皮も対照群に類似するが(Fig. 19b)、細胞配列は不整であった。この部分での細胞質中の小器官の数は処置後3日目より増加していたが、基底膜は断続的であった。

7日目では再生上皮は歯肉溝上皮と、附着上皮に明瞭に区別でき、歯肉溝上皮の細胞構築は対照群のそれに類似していた。薄い角化層が再

生上皮の歯肉頂側約 $\frac{1}{3}$ にみられ、顆粒層の細胞は扁平化が進んでいたが、ケラトヒアリン顆粒の数は少なかった(Fig. 20a)。附着上皮も対照群と類似する所見を呈し(Fig. 20b)、根側の先端を除き連続した基底膜がみられた。

14日目には再生上皮は対照群と同様の所見を呈していた。

ii) II群(14~15週齢群)

処置直後と1日目はI群と同様の所見を呈した。3日目では根側約 $\frac{1}{2}$ の再生上皮細胞は不定形で、既存上皮側半部の歯面側では変性した細胞が混在しており、再生上皮とエナメル質の間には多くの好中球が層状にみられた(Fig. 21)。また、細胞質中の小空胞は一部の細胞でわずかにみられる程度であった。5日目になると再生上皮細胞の小器官や小空胞の数はやや増

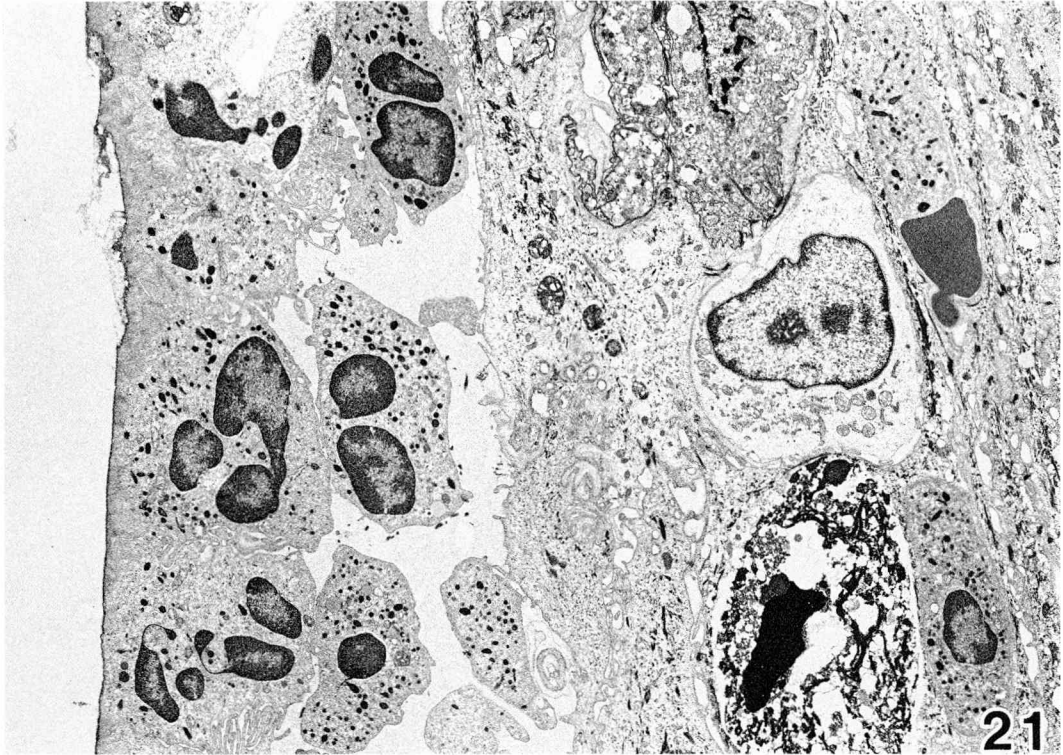


Fig.21 Three days after gingival cutting by a diamond point in a 14-week-old rat. A layer of neutrophils between enamel and the regenerated epithelium. ($\times 4,000$)

加し、限界膜を有する高電子密度の小顆粒もみられた。さらに7日目では再生上皮は角化傾向を示す歯肉溝上皮と角化傾向を示さない付着上皮に区別されたが、いまだ歯肉溝上皮角化層は歯肉頂部付近にみられるにすぎなかった。14日目になると再生上皮は対照群に近い所見を呈したが、付着上皮細胞の配列は不整で、遊走細胞の浸潤も著明であった。

基底膜は3日目の再生上皮先端部にはみられず、5日目では断続的であったが、7日目には根側先端付近を除き連続してみられ、さらに14日目になると対照群の状態に復していた。再生上皮と歯面との関係は、3日目ではセメント質に接する再生上皮の一部にハーフデスモゾームがみられ、中等度電子密度の薄層を介してセメント質と接していた。5日目になるとハーフデスモゾームの発達は劣るもののエナメル質との間にも同様の所見が認められ、7日目には対照

群と同様になった。

iii) III群 (50~51週齢群)

処置直後と1日目ではI群、II群と同様の所見を呈した。3日目では再生上皮は数層の不定形の細胞からなり、細胞質中の小器官は少なく、歯面との間にはフィブリン等からなる層が介在していた (Fig. 22)。その後、再生上皮が根側へ伸長するとともに、その表層では細胞の扁平化が進み、細胞質中の小器官や小空隙も増加して、14日目には歯肉溝上皮と付着上皮に区別できるようになった。しかし、歯肉溝上皮角化層は薄く歯肉頂部付近にみられるにすぎず、付着上皮は結合組織に向かって不規則に伸長し、その細胞配列も不整であった。

基底膜は3日目では再生上皮先端部にはみられず、5日目に至って断続的な基底膜が認められた。7日目、14日目では基底膜は再生上皮の

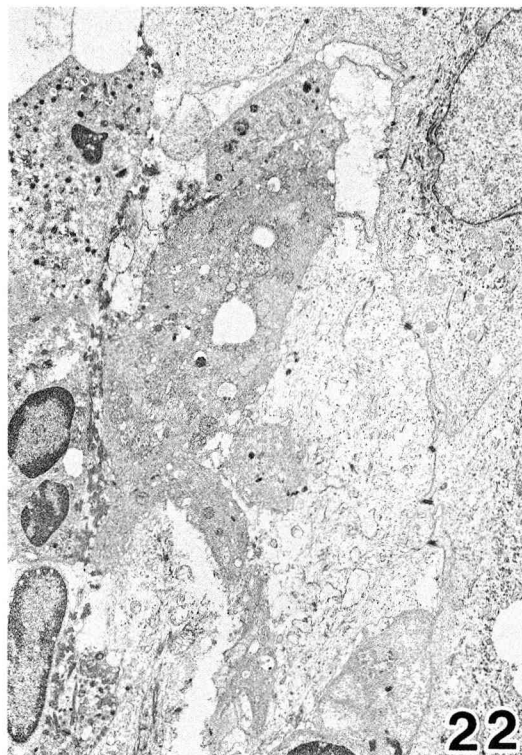


Fig.22 Three days after gingival cutting by a diamond point in a 50-week-old rat. The layer of fibrin exudate and necrotic cell debris between tooth surface and regenerated epithelium. ($\times 4,000$)

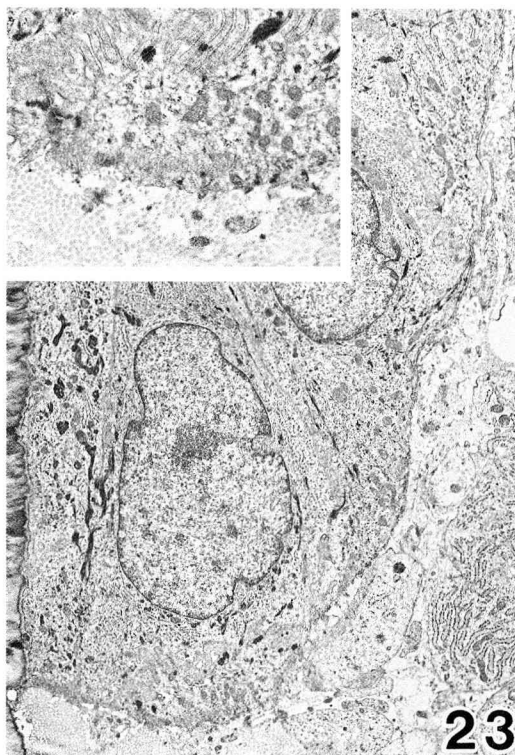


Fig.23 Fourteen days after gingival cutting by a diamond point in a 51-week-old rat. Intermittent basement membrane near the apical end of the regenerated junctional epithelium. ($\times 4,000$: Inset $\times 10,000$)

大部分で連続していたが、根側の先端付近ではいまだに断続的であった (Fig. 23)。また、5日目にはセメント質、エナメル質とこれに接する再生上皮細胞との間には中等度電子密度の薄層が介在していたが、再生上皮細胞のハーフデスモゾームの発達は著しく劣っており、14日目になっても対照群の状態には復さなかった。

考 察

本実験では実験動物として Wistar 系のラットを用いた。実験用小動物は比較的 life cycle が短く、加齢的な変化を検索するのに適しており、ことにラットは過去の組織学的研究から歯肉溝上皮や付着上皮の創傷治癒の判定が容易であり、本実験に適すると考えられた。

歯肉の創傷治癒に関して歯牙切削との関連から追求した報告は少ない¹⁹⁻²²⁾。本実験では、支台歯形成時の損傷をモデル化することを目的として、上顎両側第一臼歯頰側の歯肉頂部から歯面に沿って0.7~0.8mmの部分ダイヤモンド・ポイントにより擦過し、歯肉溝上皮と付着上皮および上皮下結合組織を削除する方法を採用した。また、これまでに報告がみられる歯肉切除後の治癒経過との比較を行うために、外科用替刃メスにより口蓋側の辺縁歯肉を切除した場合についてもあわせて検索した。

1. 創傷の付与方法による治癒経過の違いについて

歯肉切除後の治癒経過に関する報告はいくつかみられ¹⁻⁶⁾、メス切除群ではこれらの報告にほぼ準ずる結果となった。すなわち、上皮断端から創面に沿って一ないし数層の細胞からなる再生上皮が伸長し、歯面に達したのち上皮細胞が増生するとともに、上皮結合組織では線維化が進行し対照群と同様の形態に近づいていた。電顕的には上皮断端から伸長してきた不整形で小器官に乏しい再生上皮細胞は、歯面に達したのちその増生に伴って付着上皮細胞の特徴を備えるようになった。

これに対しポイント削除群では、歯肉頂部付近の上皮断端から伸長した再生上皮は、エナメル質に沿って根側に伸びセメント質にまで達していた。次いで、再生上皮がその細胞層数を増すと同時に結合組織では線維化が進行して対照群と同様の所見を呈するようになっていた。電顕所見によると伸長した再生上皮がセメント質に達した時点で、既存上皮側の再生上皮細胞は扁平となり、細胞質中の小器官が増加し、小空胞もみられるようになるほか、エナメル質との間に上皮性の付着も形成されはじめた。

歯肉溝上皮、付着上皮の組織発生については数多くの報告がみられるが、いまだ完全に解明されておらず、歯原性上皮由来の退化エナメル上皮の関連を示唆する種々の説がある²³⁻²⁸⁾。一方、歯肉切除後においては残存した歯肉上皮由来の細胞により本来の付着上皮と同様の組織構築を有する上皮が再生されると考えられている。このような付着上皮の再生は上皮-間葉系相互作用が関与していると考えられている²⁹⁾。移植後の上皮の性状は下部の結合組織によって左右されることから³⁰⁾、本実験で歯肉切除術を施したものに比較してダイヤモンド・ポイントにより擦過した場合の再生上皮が早期に付着上皮の特徴を獲得したのは、ダイヤモンド・ポイントにより擦過した場合は付着上皮直下の結合組織の欠損が小さく、その結果、再生上皮は残存していた本来の付着上皮直下の結合組織の影響を受けていたことによるのではないかと考えられる。

2. 加齢にともなう歯肉の変化について

対照群を光学顕微鏡的に検索した結果、付着上皮の根側の先端はI群ではセメント・エナメル境に位置していたがII群ではやや根側になり、さらにIII群ではセメント・エナメル境を越え、より根側に位置していた。このような加齢にともなう付着上皮の深部増殖については、生理的变化であるとする報告³¹⁾と、慢性炎症による結果であるとする報告³²⁾がみられる。付着上皮の根側先端がIII群で著しく根側へ移動していたが、今回の検索に用いたラットでは各群とも炎症所見はほとんどみられなかったことから、これは単なる慢性炎症による変化とは考え難い。

一方、Beltingら³³⁾はラット臼歯の萌出の割合が歯槽頂での骨添加より速いため、セメント・エナメル境と歯槽頂の距離は加齢により増加すると述べている。また、李³⁴⁾は剖検例の検索より、ヒト歯肉の上皮付着下端は加齢にともないセメント・エナメル境の根側へ位置していることを示している。すなわち歯と歯肉との相対的な位置関係は加齢により変化することが示されており、今回の検索で認められた加齢にともなう付着上皮の根側移動は、上皮の深部増殖とともに歯と歯肉との相対的な位置関係の変化によるものと考えられる。

歯肉上皮の加齢変化に関する電子顕微鏡的研究はいくつかみられるものの、歯肉溝上皮、付着上皮の細胞構築を対象としたものは少なく、いまだ詳細な知見は得られていない。本研究では歯肉溝上皮基底層や付着上皮の細胞中にみられる小器官のなかでもミトコンドリアの数はI群で最も多くII群、III群の順に減少していた。また、トノフィラメントはII群で最も発達し、I群、III群では束は細く量も少なかった。

河野³⁵⁾はヒトの歯肉を観察し、上皮細胞中のトノフィラメントの量が青年で最も多く、老人、乳幼児の順に減少していることを報告しており、今回のラットでの結果もこれと同様の傾向を示した。

また、竹花³⁶⁾はラット下顎切歯舌側の歯肉上皮の基底細胞を検索し、細胞小器官ではデスゾーム、トノフィラメント、ミトコンドリア、

ゴルジ装置に加齢による変化がみられたと報告している。本研究では各群間にこれほど著明な差を見いだすことができなかった。付着上皮細胞は上皮付着の形成や防御機構のための蛋白合成を行うと考えられており、そのため成熟後においても他の歯肉上皮に比べ小器官を豊富に有するものと考えられる。

3. 創傷治癒に対する加齢の影響について

加齢の機序については諸説がみられるが、現在のところ明確な解答は得られていない³⁶⁾。創傷治癒と加齢との関連については古くから皮膚科領域での報告がみられるが^{37, 38)}、歯肉の創傷治癒に対する加齢の影響についての報告は少なく、Butcher と Kingsberg の病理組織学的研究⁷⁾、Stahl ら、Tonna らによる一連の研究^{8~15)}、Holm-Pedersen と Löe の報告¹⁶⁾などがわずかにみられるのみで、説明されるべき多くの点が残されている。また、電子顕微鏡レベルでの検索は全くなされていない。

本研究ではラットの歯肉溝上皮と付着上皮の創傷治癒過程を病理組織学的に検索し、光学顕微鏡的には①再生上皮による創面の被覆、②炎症性細胞の消退、③線維芽細胞の増生と消退、④結合組織線維の配列の再構成、⑤メス切除群での歯肉頂部の再形成の時期などにおいてI群、II群、III群の間に相違がみられ、高齢のものほどこれらは遅延していた。また、電子顕微鏡的にも①エナメル質と再生上皮との間の上皮付着の形成、②再生上皮細胞における小器官の増加および高電子密度小顆粒の発現、③再生上皮細胞中の小空胞の発現、④基底膜の形成、⑤歯肉溝上皮における角化層の形成時期はI群で最も早く、II群、III群の順に遅くなっていた。

光学顕微鏡所見では、創面の上皮化、結合組織での炎症の消退、線維の再配列の進行が高齢のものほど遅延することが認められ、ラットの口蓋粘膜および口蓋から歯肉にいたる創傷の治癒を観察したButcher と Kingsberg の報告⁷⁾と同様の結果であった。また、Holm-Pedersen と Löe¹⁶⁾はヒトの歯肉切除後の治癒を形態計測し、

歯肉縁の位置が切除前と同等になるまでの期間は高齢者ほど長くなることを報告している。本実験でも歯肉切除を施した口蓋側においてラットの週齢が増すほど歯肉頂部の再形成の時期が遅くなり、III群では14日目になってもコントロール群の状態まで回復していなかった。

Stahl ら、Tonna ら^{8~15)}はラットおよびマウスの歯肉切除後の治癒過程において高齢のものほど歯周組織の細胞増殖活性が低下することを報告している。一方、山口³⁹⁾は器官培養したマウス耳殻表皮の増殖活性を検索し、創傷治癒の初期における上皮の増殖活性が高齢のものほど低下していることを示している。今回得られた結果には、上記のような細胞増殖活性の加齢による低下が影響を及ぼしていると考えられるが、増殖活性に差異が生じる原因について本研究の結果のみからは言及できない。今後その解明が望まれる。

次に電子顕微鏡的に認められた差異について述べる。Schroeder と Münzel-Pedrazzoli の形態計測的研究⁴⁰⁾、Lange と Schroeder の組織化学的研究⁴¹⁾によりヒトの付着上皮が他の口腔上皮よりもゴルジ装置、粗面小胞体、ライソゾームなどの小器官を多く有することが示され、上皮付着の形成や防御機構のための蛋白合成が行われていることを推察している。

したがって、今回の検索で上皮付着の形成がI群、II群、III群と週齢の増加にともなって遅れたことは、付着上皮細胞の小器官の増加する時期が高齢のものほど遅延していたことと相互に関連している可能性を示唆するものである。また、上皮付着は歯と上皮の位置関係を維持し機械的な侵襲から上皮組織を保護する働きをしているため、加齢により上皮付着の形成が遅延することは高齢になるほど創傷治癒進行の条件が悪くなることを示しているとも考えられる。

トレーサーを応用した研究により、ラット歯肉溝上皮の角化層と顆粒層上部では物質透過を著しく抑制し、外部からの刺激に対して強い抵抗性を有することが示されている⁶⁾。創傷の治癒過程においては、炎症の軽減にともなって再

生上皮の多層化や角化層が形成されることにより種々の刺激に対する抵抗性が高まっていくものと考えられる。今回の検索では歯肉溝上皮の角化層の形成がI群で最も早く、II群、III群の順に遅延しており、再生上皮機能の回復も遅延していることになる。

一方、基底膜は物質透過性に関与すると考えられているが、その程度は基底膜の存在する部位により異なるとされている⁴²⁾。Tanaka⁴³⁾はラットの付着上皮の基底膜が物質透過に対するある種の閾門機能をもつことを報告している。また、基底膜は表皮と真皮の接合、表皮の機械的支持などの機能を有するとされており⁴⁴⁾、これらの機能は上皮の再生過程での外的刺激に対する抵抗性に関与すると考えられる。本研究において再生上皮の基底膜の形成時期がI群で最も早く、II群、III群の順に遅延していたことは以上のような基底膜の機能の回復時期も遅延することを示唆するものと考えられる。

今回の検索では、創傷の治癒が進むにしたがい再生上皮細胞質中に小空胞や高電子密度の小顆粒が認められるようになり、これらの発現時期はI群、II群、III群と週齢が増すほど遅延していた。付着上皮細胞質中に小空胞がみられることについてはこれまでにいくつかの報告がある。しかし、その発現機序や機能についてはいまだ定説はなく、空胞変性により生じたとする説⁴⁵⁾、付着上皮細胞が生体防御反応として行う貪食により生じた貪食空胞であるという説⁴⁶⁾、および細胞膜の細胞質内への陥入によるとする説⁴⁷⁾がみられる。一方、橋本⁴⁸⁾、Saito⁴⁹⁾は付着上皮より細胞間隙に放出される顆粒がこの部分における防御作用に関与するものとしている。小空胞が貪食作用により形成されたものか否か、付着上皮細胞質中の顆粒が細胞間隙に放出されるか否か、という点に関して今回の検索では結論づけるべき所見は得られなかった。しかしながら上記の仮説に基づいて考えるならば、上皮の再生に際しては形態的な面のみならず生体防御機能の回復に関しても高齢のものほど遅延することが推測される。

4. 補綴処置との関連について

以上、本実験の結果について考察を加えたが、歯冠補綴処置に際しては支台歯形成、印象採得、暫間冠や最終補綴物のセメント合着などの操作が不可欠であり、さらに、日常臨床においては補綴前処置として歯肉整形、歯槽堤粘膜整形を行う必要のある症例に遭遇することも多い。今回の実験結果より、これらの侵襲によって歯肉溝上皮や付着上皮に何らかの損傷が生じた場合に形態的、機能的回復が高齢のものほど遅延することが示唆された。これを直ちにヒトに当てはめることはできないが、歯冠補綴処置を施すにあたっては、高齢者ほど歯周組織の損傷をより少なくすると同時に、損傷が生じたならばその回復までの十分な期間を置いて次の処置へ移るべきであろう。

結 論

Wistar系雄性ラットをI群(5~6週齢)、II群(14~15週齢)、III群(50~51週齢)に分け、歯肉切除術を施した場合(メス切除群)、および歯肉溝上皮と付着上皮をダイヤモンド・ポイントで削除した場合(ポイント削除群)の歯肉の創傷治癒を形態学的に検索し、以下の結論を得た。

1. 光学顕微鏡所見により無処置の対照群ではI群、II群に比べIII群においては付着上皮の深部増殖が認められた。
2. 再生上皮はメス切除群では創面に沿って伸長し歯面に達した後に増生したが、ポイント削除群では再生上皮はエナメル質に沿って根側へ伸び、セメント質に達した後に細胞層数を増した。
3. 再生上皮による創面の被覆が完了する時期および歯肉溝上皮角化層が形成される時期はI群で最も早く、II群、III群の順に遅かった。
4. 再生上皮下の結合組織において、炎症性細胞の消退、線維芽細胞の増生とその消退、結合組織線維の配列の再構成がみられる時期や、メス切除群での歯肉頂部の形成の時期に関してはI群で最も早く、II群、III群の順に遅かつ

た。

5. 電子顕微鏡所見により無処置の対照群では、高齢のものほど歯肉溝上皮基底細胞および付着上皮細胞中のミトコンドリアの数が減少し、また、トノフィラメントはⅡ群で最も発達していた。
6. メス切除群に比較し、ポイント削除群の再生上皮細胞は早期に付着上皮細胞と類似する所見を呈した。
7. 再生上皮細胞中の小器官の増加、小空胞や高電子密度小顆粒の発現、基底膜や上皮付着の形成が認められる時期はⅠ群で最も早く、Ⅱ群、Ⅲ群の順に遅延した。
8. 以上のことより、創傷の治癒においては高齢のものほど形態的な回復が遅れることが示され、また、再生上皮の機能の回復も遅延す

ることが示唆された。

謝 辞

稿を終るに臨み、ご指導ならびにご校閲を賜りました石橋寛二教授に謹んで感謝の意を表します。また丁寧なご教授、ご校閲をいただきました口腔病理学講座 鈴木鍾美教授、口腔解剖学第二講座 名和橙黄雄教授に深く感謝の意を表します。また始終ご教示をいただきました口腔病理学講座 武田泰典講師、歯科薬理学講座 吉田 熙講師に深く感謝の意を表しますとともに、本研究に際してご援助、ご協力をいただきました口腔病理学講座、電子顕微鏡室ならびに当講座の諸先生方に深謝いたします。

Abstract : The effects of aging on regenerative processes of the junctional and sulcular epithelia after surgical excision of the gingiva were examined experimentally. The animals used were 5 to 51-week-old male rats (Wistar-strain) and divided into 3 groups according to their age : Group I (5-6 weeks old), Group II (14-15 weeks old) and Group III (50-51 weeks old). The animals were sacrificed immediately after surgical excision of the gingiva by a sharp knife or a diamond point, and 1, 3, 5, 7, 14 days after the operation, and the gingiva and its neighboring tissues were morphologically studied under light and electron microscope. The results were as follows:

1. In non-treated animals, downgrowth of the junctional epithelium was seen in Group III. The number of cell organelles such as mitochondria and tonofilaments in the junctional epithelium decreased in Group III compared with that of Group I or II.
2. Under light microscopy, the regeneration of the gingiva was faster in Group I, slower in Group II and slower yet in Group III.
3. Under electron microscopy, the regenerative changes of the gingiva such as reconstruction of the junctional and sulcular epithelia, formation of the basement membrane and functional arrangement of connective tissues fibers were faster in Group I, slower in Group II and slower yet in Group III.

文 献

- 1) Innes, P. B. : An electron microscopic study of the regeneration of gingival epithelium following gingivectomy in the dog. *J. Periodont. Res.* 5 : 196-204, 1970.
- 2) Listgarten, M. : Ultrastructure of the dento-gingival junction after gingivectomy *J. Periodont. Res.* 7 : 151-160, 1972.
- 3) 笠井俊一 : 歯齦切除手術後の付着上皮再生に関する超微形態学的研究, 日歯周誌, 23 : 273-305, 1981.
- 4) 高田 隆 : ラット臼歯部付着上皮の再生過程に関する超微形態学的研究, 日歯周誌, 24 : 224-248, 1982.
- 5) Sabag, N., Mery, C., Garcia, M., Vasquez, V. and Cqeto, V. : Epithelial reattachment after gingivectomy in rat. *J. Periodontol.* 55 : 135-141, 1984.
- 6) 橋本貞充 : 付着上皮の微細構造に関する研究, 歯科学報, 84 : 1695-1728, 1984.
- 7) Butcher, E. O. and Kingsberg, J. : Age, gonadectomy, and wound healing in the palatal mucosa of the rat. *Oral Surg.* 16 : 484-493, 1963.
- 8) Stahl, S. S., Tonna, E.A. and Weiss, R. : Autoradiographic evaluation of gingival response to injury- I Surgical trauma in young adult rats. *Achs. Oral Biol.* 13 : 71-86, 1968.
- 9) Stahl, S. S., Tonna, E. A. and Weiss, R. : Autoradiographic evaluation of gingival response to injury- II Surgical trauma in young rats. *Achs. Oral Biol.* 14 : 19-34, 1969.
- 10) Stahl, S. S., Tonna, E. A. and Weiss, R. : The effects of aging on the proliferative activity of rat periodontal structures. *J. Gerontol.* 24 : 447-450, 1969.
- 11) Stahl, S. S., Tonna, E. A. and Weiss, R. : Autoradiographic evaluation of gingival response to injury- III Surgical trauma in mature rats. *Arch. Oral Biol.* 15 : 537-547, 1968.
- 12) Tonna, E. A., Weiss, R. and Stahl, S. S. : The cell proliferative activity of parodontal tissues in aging mice. *Arch. Oral Biol.* 17 : 969-982, 1972.
- 13) Tonna, E. A. and Stahl, S. S. : A [³H]-thymidine autoradiographic study of cell proliferative activity of injured parodontal tissues of 5-week-old mice. *Arch. Oral Biol.* 18 : 617-627, 1973.
- 14) Stahl, S. S. and Tonna, E. A. : Cell proliferative activity of injured periodontal tissue. *J. periodont. Res.* 7 : 328-333, 1972.
- 15) Tonna, E. A. and Stahl, S. S. : Comparative assessment of the cell proliferative activities of injured parodontal tissues in aging mice. *J. Dent. Res.* 53 : 609-622, 1974.
- 16) Holm-Pedersen, P. and Løe, H. : Wound healing in the gingiva of young and old individuals. *Scand. J. Dent. Res.* 79 : 40-53, 1971.
- 17) 松岡 理 : 成熟期における対応と問題点, 松岡理著 : 比較実験動物学概論 実験動物からヒトへの外挿, ソフトサイエンス社, 東京, 44-45ページ, 1978.
- 18) 山森徹雄, 石橋寛二, 武田泰典 : ラット歯肉上皮の微細構造について, 岩医大歯誌, 10 : 161-171, 1985.
- 19) 六人部慶夫 : 支台歯形成を中心としてみた歯肉創, 補綴誌, 3 : 130, 1959.
- 20) 下総高次, 六人部慶夫 : 創傷修復に際しての上皮細胞の移動, 阪大歯誌, 4 : 1067-1079, 1959.
- 21) Stahl, S. S. and Person, P. : Reattachment of epithelium and connective tissue following gingival injury in rats. *J. Periodontol.* 33 : 51-55, 1962.
- 22) 橋本 優 : 支台歯形成が歯肉内縁上皮に及ぼす影響について, 口病誌, 47 : 22-56, 1980.
- 23) Baume, L. J. : Observations concerning histogenesis of the epithelial attachment. *J. Periodontol.* 23 : 71-84, 1952.
- 24) Engler, W. O., Ramfjord, N. P. and Hinker, J. J. : Development of epithelial attachment and gingival sulcus in rhesus monkeys. *J. Periodontol.* 36 : 44-57, 1965.
- 25) Uohara, G. I. : Histogenesis of gingival sulcus epithelium in the rat. *J. Periodontol.* 30 : 326-340, 1959.
- 26) Hunt, A. M. and Paynter, K. J. : The role of cells of the stratum intermedium in the development of the guinea pig molar. A study of cell differentiation and migration using tritiated thymidine. *Arch. Oral Biol.* 8 : 65-79, 1963.
- 27) Diab, M. A., Stallard, R. E. and Zander, H. A. : The life cycle of epithelial elements of developing molar. *Oral Surg.* 22 : 241-251, 1966.
- 28) 仁井谷 究 : ラット臼歯部付着上皮の形成過程に関する超微形態学的研究, 日歯周誌, 21 : 111-133, 1979.

- 29) Ten Cate, A. R. : Oral histology, 2nd ed., Mosby Co., St. Louis. pp78-87, 1985.
- 30) Van Scott, E. J. and Reinertson, R. P. : The modulating influence of stromal environment on epithelial cells studied in human autotransplants. *J. Invest. Dermatol.* 36 : 109-131, 1961.
- 31) Belting, C. M. and Weinmann, J. P. : Age changes in the periodontal tissues of the rat molar. *J. Dent. Res.* 32 : 332-353, 1953.
- 32) 和久本文枝 : 辺縁性歯周炎の組織計測的研究, 口病誌, 25 : 206-229, 1958.
- 33) 李 載仁 : 下顎の老化に関する病理組織学的研究, 九州歯会誌, 32 : 564-589, 1979.
- 34) 河野信彦 : ヒト歯肉の加齢的变化に関する研究, 九州歯会誌, 28 : 529-558, 1975.
- 35) 竹花茂樹 : ラット歯肉の発育および加齢に伴う微細構造的変化について, 愛院大歯誌, 19 : 270-283, 1981.
- 36) 太田邦夫 : 老化学説のまとめ, 村上元孝, 太田邦夫, 今堀和友監修 : 基礎老年医学総論, 情報開発研究所, 東京, 425-437ページ, 1983.
- 37) Du Noüy, P. L. : Cicatrization of wounds. *J. Exp. Med.* 24 : 461-470, 1916.
- 38) Holm-Pedersen, P. and Zederfeldt, B. : Strength development of skin incisions in young and old rats. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 5 : 7-12, 1971.
- 39) 山口武雄 : 皮膚組織細胞について, 日老医会誌, 15 : 128-131, 1978.
- 40) Schroeder, H. E. and Münzel-Pedrazzoli, S. : Morphometric analysis comparing junctional and oral epithelium of normal human gingiva. *Helv. Odont. Acta.* 14 : 53-66, 1970.
- 41) Lange, D. and Schroeder, H. E. : Cytochemistry and ultrastructure of gingival sulcus cells. *Helv. Odont. Acta. Suppl.* IV, 15 : 65-86, 1971.
- 42) 梶川欽一郎 : 基底膜, 梶川欽一郎編 : 結合組織, 金原出版, 東京, 367-383ページ, 1984.
- 43) Tanaka, T. : Transport pathway and uptake of microperoxidase in the junctional epithelium of healthy rat gingiva. *J. Periodont. Res.* 19 : 26-39, 1984.
- 44) 河村基郎 : 表皮-真皮境界部, 清寺 眞, 小川和朗編 : 人体組織学2, 朝倉書店, 東京, 248-256ページ, 1984.
- 45) 山崎 章 : ラット臼歯部における上皮付着の電子顕微鏡的研究 : 阪大歯誌, 21 : 39-68, 1976.
- 46) 山崎 章, 二階宏昌, 伊集院直邦, 仁井谷 究, 高田 隆 : ラット臼歯部付着上皮における酸性ホスファターゼの電顕的証明, 日歯周誌, 21 : 435-444, 1979.
- 47) 下野正基, 橋本貞充, 浜田義信, 山村武雄 : 付着上皮の微細構造に関する研究-第3報-, 歯基礎誌, 27 (補冊) : 382, 1985.
- 48) Saito, I., Watanabe, O., Kawahara, H., Igarashi, Y., Yamamura, T. and Shimono, M. : Intercellular junctions and the permeability barrier in the junctional epithelium. *J. Periodont. Res.* 16 : 467-480, 1981.