

ラット切歯象牙質のストロンチウム投与によって 形成された成長線について (予報)

三島 弘幸 *

1. まえがき

塩化ストロンチウムをラットに投与すると、切歯象牙質に石灰化異常がおこることは、古くから知られている。筆者らは、塩化ストロンチウムを用いて象牙質に石灰化異常をおこし、石灰化異常の出現様式を光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡を用いて研究してきた(小沢ほか, 1980)。

Weinmann (1942) は塩化ストロンチウム投与によって、象牙質にヘマトキシリンの浸染する層が現われることを、最初に記載した。その後、Irvig & Weinmann (1948) はヘマトキシリン・エオジン重染色により、塩化ストロンチウム投与後の象牙質に高石灰化層と低石灰化層が現われることを報告した。Yaeger & Eisenmann (1963) は象牙質に現われた石灰化異常層をマイクロラジオグラフィーにより観察し、低石灰化層だけが現われると報告した。さらに塩化ストロンチウム投与により、低石灰化層だけが現われることは、Yaeger (1963), Yaeger et al. (1964), 姥山 (1964), Grady & Yaeger (1965), Ogawa et al. (1980) によっても報告されている。しかし、Suga (1973) はマイクロラジオグラフィーとX線マイクロアナライザーを併用して、塩化ストロンチウム投与によって、低石灰化層のほかに、ときには高石灰化層も現われると報告している。このようにストロンチウムが硬組織に与える影響はまだ十分に明らかになっていないといえない。

従来はストロンチウム溶液の pH については、あまり問題にされてこなかった。しかし、石灰化異常をひきおこす際の、ストロンチウム溶液の pH と濃度の間に密接な関係のあることを筆者らは報告した(三島ほか, 1979)。この実験の結果より、pH 7.4 のストロンチウム溶液を用いることによって、pH による石灰化への影響を無視できるものと考えられる。

本実験では、ラットの切歯象牙質を対象に pH 7.4 の

塩化ストロンチウム溶液を投与することによって、人工的な成長線を出現させ、その成長線の出現様相を偏光顕微鏡およびマイクロラジオグラフィーを用いて観察した。まだ不十分ではあるが、ストロンチウム投与による成長線についての所見を報告する次第である。

2. 材料と方法

ここで用いた歯牙はウィスター系ラット(体重150-200g)の雄・雌の上顎切歯である。このラットに pH 7.4 の塩化ストロンチウム溶液(2%, 20%)を腹腔内投与した。投与量は25, 50, 100, 250, 500 mg/kg である(LD 50: 400 mg/kg)。ストロンチウム投与後7日目、および15日目で屠殺し、上顎切歯を抜去後、直ちに中性ホルマリンで固定した。

上顎切歯は非脱灰標本として、厚さ80-100 μm の唇舌方向の縦断研磨標本を作成した。研磨標本は偏光顕微鏡とマイクロラジオグラフィーにて検索し、切歯象牙質の光学的特性および石灰化の変化を観察した。マイクロラジオグラフィーに用いた装置は理学電気(株)製のX線顕微カメラで、使用条件は管電圧40 kv, 管電流20 mA, 白色X線を用い、コダック649-0フィルムに1-8分間露出させた。

3. 観察および結果

1) 偏光顕微鏡による観察

i) 平行ニコルによる観察

a) 500 mg/kg 投与の場合

投与後7日目に屠殺した切歯象牙質の舌側に、以下の4本の形成異常な成長線が平行に配列している。

①表層側の明るい成長線(幅20-25 μm)

投与前に形成された象牙質との境界は不明瞭であるが、透明度が良くなっている(図1の1)。

②表層側の暗い成長線(幅5-8 μm)

幅がせまく、暗くみえる成長線で、切縁へは連続して

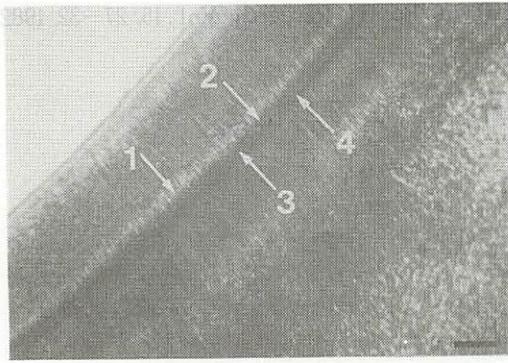


図1 塩化ストロンチウム 500 mg/kg 投与の切歯唇舌方向の縦断標本の偏光顕微鏡像 (平行ニコル)。X 100。右上が切縁側。スケールは 100 μm。1: 表層側の明るい成長線, 2: 表層側の暗い成長線, 3: 歯髄側の明るい成長線, 4: 歯髄側の暗い成長線。

追跡できるが、歯根側では消滅する (図1の2)。

③歯髄側の明るい成長線 (幅約 15 μm)

②の成長線と④の成長線にはさまれており、透明度は投与前の象牙質に近い (図1の3)。

④歯髄側の暗い成長線 (幅 10 - 18 μm)

②の成長線と同様に幅がせまく、暗くみえる。この成長線は切縁から歯根まで連続して追跡できる (図1の4)。

切歯象牙質の唇側でも、①~④の成長線は部分的に認められる。

投与後 15 日目のものでは、投与後 7 日目のものに比較して、4本の成長線がより表層側へと移行している。

b) 250 mg/kg 投与の場合

投与後 7 日目に屠殺した切歯象牙質の舌側に 3本の形成異常な成長線が認められる。この3本の成長線は根尖側で特に明瞭に認められる。500 mg/kg 投与でみら

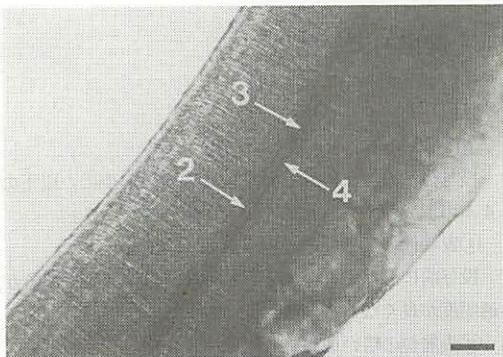


図2 塩化ストロンチウム 250 mg/kg 投与の切歯唇舌方向の縦断標本の偏光顕微鏡像。X 100。左下が切縁側。2: 表層側の暗い成長線, 3: 中央の明るい成長線, 4: 歯髄側の暗い成長線。

れた①の成長線は、ここでは認められない。250 mg/kg 投与では 500 mg/kg 投与でみられた②, ③, ④の成長線が認められる。

②表層側の暗い成長線 (幅 5 - 8 μm) (図2の2)。

③中央の明るい成長線 (幅約 13 μm) (図2の3)。

④歯髄側の暗い成長線 (幅約 10 μm) (図2の4)。

②-④の3本の成長線は唇側でも認められるが、舌側に比較して不明瞭となる。

投与後 15 日目のものでは、3本の成長線は認められなくなり、不明瞭な1本の暗い成長線 (幅 20 - 25 μm) が認められるようになる。

100 mg/kg 以下の投与では、切歯象牙質内に変化が認められない。

ii) 直交ニコルによる観察

a) 500 mg/kg 投与の場合

切歯象牙質の舌側において、投与前に形成された象牙質はほぼ直消光する。消光位から 45°回転すると、暗黒の部分は再び明るくなる (対角位)。

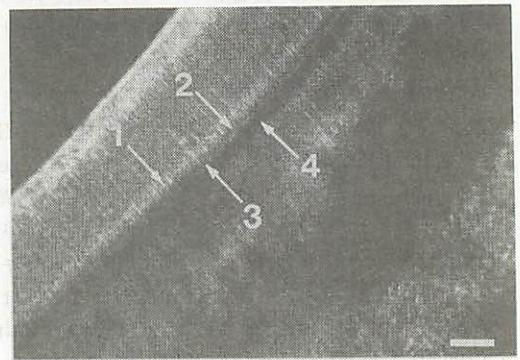


図3 図1と同じ領域の直交ニコル下での偏光顕微鏡像。X 100。

4本の形成異常な成長線は次のように観察される。

①表層側の明るい成長線。

投与前の象牙質と同様に、ほぼ直消光である (図3の1)。

②表層側の暗い成長線

ステージを回転しても、常に暗黒である (図3の2)

③歯髄側の明るい成長線

淡褐色に色づき、投与前の象牙質より高い干渉色を示している (図3の3)。

④歯髄側の暗い成長線

直交ニコル下では、幅が 18 - 24 μm と広がる。ステージを回転しても、常に暗黒である。

b) 250 mg/kg 投与の場合

切歯象牙質の舌側において、3本の形成異常な成長線が認められる。①の成長線は認められない。

②表層側の暗い成長線 (図4の2)

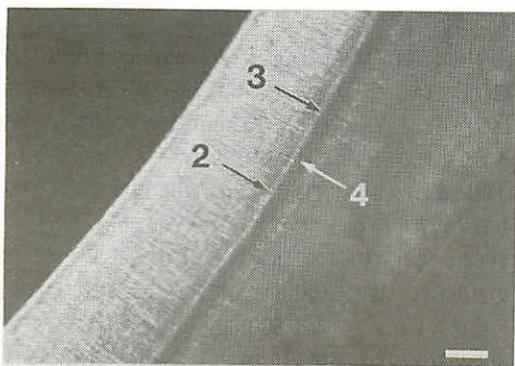


図4 図2と同じ領域の直交ニコル下での偏光顕微鏡像 X100。

③中央の明るい成長線(図4の3)

④歯髄側の暗い成長線(図4の4)

これら3本の成長線は500 mg/kgと同様の所見を示す。

iii) 複屈折性の観察

石膏検板を用いて、象牙質内の干渉色を観察した。投与前の象牙質は象牙細管の方向が十字線の縦線に平行な時の消光位では、赤紫色になる。+45°対角位では黄色(相減)を示し、-45°対角位では青色(相加)を示す。

a) 500 mg/kg 投与の場合

①表層側の明るい成長線

+45°対角位では投与前の象牙質より明るい黄色(相減)を示し、-45°対角位では投与前の象牙質より明るい青色(相加)を示す(図5の1)。

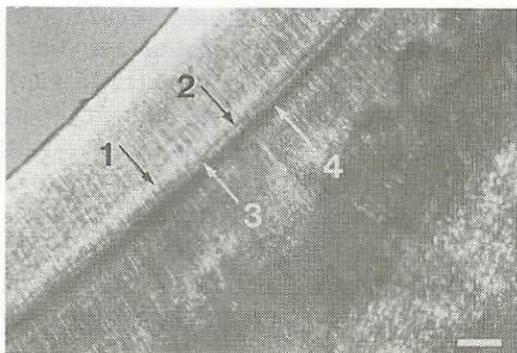


図5 図1と同じ領域の石膏検板を用いた偏光顕微鏡像 X100。

②表層側の暗い成長線

成長線自体が不明瞭であるが、消光位でも対角位でも暗黒である。赤紫色の中間色を示さないことから、不透明物質が含まれていると判断される(図5の2)。

③歯髄側の明るい成長線

+45°対角位では投与前の象牙質より明るい黄色(相減)を示し、-45°対角位では投与前の象牙質より明るい黄色(相加)を示す(図5の3)。レターデーションは投与前の象牙質より高い。

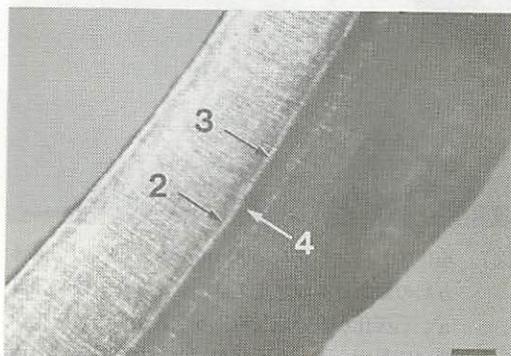


図6 図2と同じ領域の石膏検板を用いた偏光顕微鏡像 X100。

④歯髄側の暗い成長線

消光位でも、対角位でも赤紫色を示すことから、光学的な等方性物質からなると判断される(図5の4)。

b) 250 mg/kg 投与の場合

切歯象牙質の舌側において、3本の形成異常な成長線が認められる。①の成長線は認められない。

②表層側の暗い成長線(図6の2)

③中央の明るい成長線(図6の3)

④歯髄側の暗い成長線(図6の4)

これら3本の成長線は500 mg/kgと同様の所見を示す。

2) マイクロラジオグラフィーにおける観察

a) 500 mg/kg 投与の場合

投与後7日目に屠殺、および投与後15日目に屠殺の切歯象牙質の舌側では表層より以下の4本の石灰化異常な成長線が認められる。しかし歯根側へいくと、不明瞭となる。唇側でも不明瞭となる。

a. 石灰化が良い成長線(幅15~20 μm)

投与前の象牙質との境界は不明瞭であるが、石灰化がやや良い(図7のa)。

b. 表層側の石灰化が悪い成長線(幅約10 μm)

この成長線は切縁側から歯根側まで連続して追跡される。

c. 石灰化が回復した成長線(幅約15 μm)

この成長線は歯根側では不連続となり、消滅する。bの成長線より石灰化が良く、投与前の象牙質より石灰化が低い(図7のc)。

d. 歯髄側の石灰化が悪い成長線(幅約8 μm)

この成長線は切縁側では連続して追跡されるが、歯根側では不連続となり、不明瞭となる。

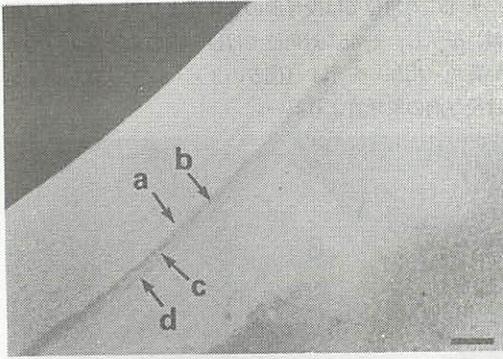


図7 塩化ストロンチウム 500 mg/kg 投与の切歯唇方向の縦断標本のマイクロラジオグラム像。X100。
a: 石灰化が良い成長線, b: 表層側の石灰化が悪い成長線, c: 石灰化が回復した成長線, d: 歯髄側の石灰化が悪い成長線。

b) 250 mg/kg 投与の場合

投与後7日目に屠殺した切歯象牙質(舌側・唇側)では、500 mg/kg 投与で観察された b, c, d の3本の成長線が観察される。投与後15日目屠殺の切歯象牙質では、石灰化に顕著な変化が認められない。

- b. 表層側の石灰化が悪い成長線(幅約 10 μm) (図8のb)
- c. 石灰化が回復した成長線(幅約 10 μm) (図8のc)
- d. 歯髄側の石灰化が悪い成長線(幅10-15 μm)

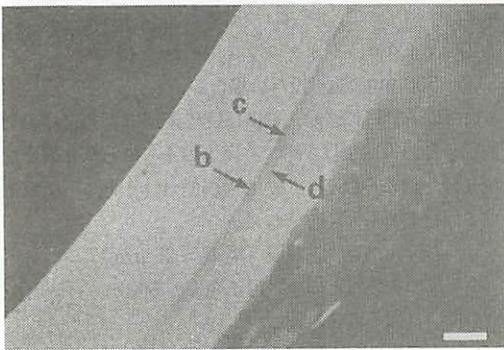


図8 塩化ストロンチウム 250 mg/kg 投与の切歯唇舌方向の縦断標本のマイクロラジオグラム像。X100。
b: 表層側の石灰化が悪い成長線, c: 石灰化が回復した成長線, d: 歯髄側の石灰化が悪い成長線。

(図8のd)

100 mg/kg 以下の投与では、象牙質内の石灰化に顕著な変化は認められない。

4. 考察

今回の実験では Irving & Weinmann (1948) が記載しているストロンチウムによる高石灰化層は観察されなかった。Yaeger & Eisenmann (1963) らがいうように低石灰化層だけが観察された。ストロンチウムは硬組織の形成を阻害させ、その作用は無機および有機基質の両者に働くといわれている (Yaeger et al., 1964; 姥山, 1964)。本実験もそのことを裏づけるものと思われ、特に石灰化に強く影響を与えると思われる。

塩化ストロンチウムを 500 mg/kg 投与した場合、切歯象牙質の偏光顕微鏡下での観察において、4本の成長線が観察された。これらの成長線はマイクロラジオグラフィーでも観察された。偏光顕微鏡の①-④の成長線は、セメント質からの距離、他の成長線との対比から、マイクロラジオグラフィーでの a-d の成長線に対応される。

偏光顕微鏡下での④の成長線において認められた干渉色が赤紫色になる原因は次の三点が考えられる。

A 結晶が等方性である。

B. 結晶粒子が非常に小さく、その配列は無秩序である。

C. 非晶質である。

象牙質の無機質成分はアパタイト結晶からできていることが知られている。アパタイト結晶は等方性ではないので、Aは除外される。したがってBあるいはCの原因が考えられる。

またマイクロラジオグラフィーの結果から、b, dの成長線は正常な象牙質より無機質の量が少ないと判断される。

Ogawa et al. (1980) はストロンチウム投与によって2本の低石灰化層の出現を認め、その表層側の層は正常象牙質に比較して結晶の量が少ないと報告している。さらに Likins et al. (1961) はラットを用いて、Sr⁸⁹ と Ca⁴⁵ の投与実験をおこなって、硬組織における Sr⁸⁹ と Ca⁴⁵ の沈着性と結晶の大きさの変化を調べている。この結果によると、Sr⁸⁹ と Ca⁴⁵ が多く沈着した胫骨の骨端部では、結晶の大きさが小さくなり、また結晶が不完全になると報告している。これらの報告例は今回の結果と調和している。

以上述べたことから、4本の成長線の特徴は下記のようになる。

- I. 石灰化がやや増加し、光学性は投与前の象牙質とあまり変化がない(成長線①-a)。
- II. 低石灰化であり、不透明帯である(成長線②-b)。
- III. 投与前の象牙質よりやや石灰化が減少している。また淡褐色の干渉色を示し、投与前の象牙質より複屈折性が高い(成長線③-c)。
- IV. 低石灰化であり、また光学的等方性を示し、結晶が成長していないと考えられる(成長線④-d)。

成長線 I は投与時の象牙質の石灰化前線に相当すると考えている (小沢ほか, 1980)。成長線 II-IV は投与時の象牙前質とその後に形成された象牙質の一部であり, 投与後 24 時間以内で約 6 時間ごとにこれらの成長線が形成されると予想されるが, この点については今後さらに検討していきたい。*

ストロンチウムによるこれらの成長線の出現は生体内のカルシウム濃度の変化, あるいは象牙芽細胞の障害によると考えられるが, 今後さらに追求していかねばならない。

5. まとめ

ラットに塩化ストロンチウムを腹腔内に 500 mg/kg 投与した場合, 偏光顕微鏡とマイクロラジオグラフィの観察を組み合わせることにより, 象牙質に次の 4 本の成長線を認めた。

I. 石灰化がやや増加し, 光学性は投与前の象牙質とあまり変化がない。

II. 低石灰化であり, 不透明帯である。

III. 投与前の象牙質よりやや石灰化が減少している。また投与前の象牙質より複屈折性が高い。

IV. 低石灰化であり, また光学的等方性を示し, 結晶が成長していない。

稿を終るにあたり, 日本大学松戸歯学部第二解剖学の平井五郎教授を初めとする教室の方々には御指導, 御援助をいただいた。鶴見大学の小寺春人会員には御校閲をいただいた。以上の方々には心から御礼申しあげる。

文 献

Grady, J. H. and Yaeger, J. A. (1965): Polarizing Microscopy of Abnormal Dentine Produced by Injections of Strontium or Fluoride. *Archs. oral Biol.*, 10, 175-178.

Irving, J. T. and Weinmann, J. P. (1948): Experimental Studies in Calcification VI. Response of Dentin of the Rat Incisor to Injections of Strontium. *J. dent. Res.*, 27, 669-680.

小沢幸重, 三島弘幸, 平井五郎, 大門建夫 (1980): ストロンチウム投与ラットの象牙質のエネルギー分散型 X 線分析について。日大口腔科学, 6, 89-92。

Likins, R. C., Posner, A. S., Paretzkin, B. and Front, A. P. (1961): Effect of Crystal Growth on the Comparative Fixation of Sr^{89} and Ca^{45} by Calci-

fied Tissues. *J. Biol. Chem.*, 236, 2804-2806.

三島弘幸, 寒河江登志朗, 平井五郎 (1979): ストロンチウムによる象牙質の形成阻害作用について。歯基礎誌, 21, 193.

Ogawa, Y., Ishida, I. and Yagi, T. (1981): Ultra microscopy of Hypomineralized Responses in Rat Incisor Dentine to Injected Strontium. *Archs. oral Biol.*, 26, 229-236.

Suga, S. (1973): Disturbed Mineralization of Dentin Induced by $SrCl_2$ Injection and its Relationship to Element Distribution in the Matrix. *J. dent. Res.*, 52, 1001-1002.

姥山良雄 (1964): $SrCl_2$ 投与ラットの切歯にみられる石灰化不全象牙質について。口病誌, 31, 225-238.

Weinmann, J. P. (1942): The Effect of Strontium on the Incisor of the Rat I. Injections of Small Doses of Strontium Chloride as a Means of Measuring the Rate of Incremental Dentine Apposition. *J. dent. Res.*, 21, 497-504.

Yaeger, J. A. (1963): Fine Structure of the Matrix of the Respose in Rat Incisor Dentine to Injected Strontium. *J. dent. Res.*, 42, 1178-1182.

Yaeger, J. A. and Eisemann, D. R. (1963): Response in Rat Incisor Dentin to Injected Strontium, Fluoride, and Parathyroid Extract. *J. dent. Res.*, 42, 1208-1216.

Yaeger, J. A., Hinrichsen, C. F. L. and Cohen, M. J. (1964): Development of the Response in Rat Incisor Dentin to Injected Strontium and Fluoride. *Amer. J. Anat.*, 114, 255-272.

Yaeger, J. A. (1968): Recovery of Rat Incisor Dentin from Abnormal Mineralization Produced by Strontium and Fluoride. *Anat. Rec.*, 154, 661-673.

* この詳細は別に論ずる予定である。

On Incremental Lines by Strontium Injection in Rat Incisor Dentine.

Hiroyuki MISHIMA

(Abstract)

In case rats are injected strontium chloride (SrCl₂) intraperitoneally with the doses of 500 mg/kg, four kinds of incremental lines are recognized in the incisor dentine under polarizing microscopy and microradiography. Compared with normal dentine, each characteristic of those lines is as follows.

- 1) The first line is the slightly high mineralized zone, and the optical characters are similar to the normal dentine.
- 2) The second line is the hypomineralized opaque zone.
- 3) The third line is the slightly low mineralized zone showing high bi-refringence.
- 4) The fourth line is the hypomineralized, optical isotropic zone, and the crystals are of low grade.

(1982年11月30日受理)

Weinmann, J. B. (1982): The Effect of Strontium on the Incisor of the Rat. *J. Dent. Res.* 61, 1178-1183.

Yaege, J. A. (1982): Fine Structure of the Matrix of the Response to Injected Strontium. *J. Dent. Res.* 61, 1178-1183.

Yaege, J. A. and Weinmann, J. B. (1982): Response to Rat Incisor Dentine to Injected Strontium. *J. Dent. Res.* 61, 1208-1212.

Yaege, J. A., Hirschman, C. R. J. and Cohen, M. J. (1981): Development of the Response in Rat Incisor Dentine to Injected Strontium and Fluoride. *J. Dent. Res.* 60, 255-258.

Yaege, J. A. (1981): Recovery of Rat Incisor Dentine from Abnormal Mineralization Produced by Strontium and Fluoride. *Anat. Rec.* 194, 661-673.

Grady, J. B. and Yaege, J. A. (1982): Polarizing Microscopy of Abnormal Dentine Produced by Injection of Strontium or Fluoride. *Arch. Oral Biol.* 27, 173-178.

Yaege, J. B. and Weinmann, J. B. (1982): Experimental Studies in Calcification: VI. Response of Dentine of the Rat to Injection of Strontium. *J. Dent. Res.* 61, 680-685.

小松本邦, 三浦誠夫 (1980): ストロンチウムとフッ素の作用の比較的研究. *日本歯学雑誌*, 6, 89-92.

Laine, R. G., Pomeroy, A. S., Parvizi, H. and Front, A. R. (1981): Effect of Crystal Growth on the Comparative Fixation of Sr⁹⁰ and Ca⁴⁵ by Calcification.