



Title	破歯細胞に関する形態学的研究：歯髓処置経験乳歯における核数の分布について
Author(s)	八木原, 澄
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12149号
Issue Date	2016-03-24
DOI	<a href="https://doi.org/10.14943/doctoral.k12149">https://doi.org/10.14943/doctoral.k12149</a>
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/62053">https://hdl.handle.net/2115/62053</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Sayaka_Yagihara.pdf



# 博士論文

---

破歯細胞に関する形態学的研究：歯髄処置経験乳歯  
における核数の分布について

---

平成 28 年 3 月申請

北海道大学  
大学院歯学研究科口腔医学専攻

八木原 澄

# 破歯細胞に関する形態学的研究：歯髄処置経験乳歯における核数の分布について

八木原 澄

**抄録：**乳歯の生理的歯根吸収は多核巨細胞である破歯細胞によって行われる。過去に著者らはヒト健全乳歯歯根を吸収する破歯細胞の核数を調査し、平均値は5.3、中央値は4であることを報告した。乳歯の歯髄処置後、象牙質に象牙芽細胞は存在せず、根管にはアルカリ性の水酸化カルシウム製剤が充填されるため、その歯根象牙質は正常象牙質とは異なる構造を持つ。そのため、歯髄処置経験乳歯における破歯細胞の核数を明らかにすることは、健全乳歯破歯細胞の核数と比較検討し、歯髄処置の与える影響を考える上で重要である。本研究は歯髄処置に着目し、水酸化カルシウム系根管充填剤であるビタペックス®（ネオ製薬）にて歯髄処置後1年から1年10か月経過後に生理的交換期に達したヒト失活乳歯歯根吸収面にみられる破歯細胞の核数の分布を連続切片による観察から検索することを目的とした。

乳歯を抜去後、固定、脱灰、パラフィン包埋後、TRAP陽性反応を示す20本の乳歯から乳前歯3本、乳臼歯3本の合計6本の試料を無作為抽出した。試料において4μm厚の連続切片を作製し、TRAP・メチルグリーン染色後写真撮影を行った。連続切片による観察から歯根象牙質上に吸収窩を形成しているTRAP陽性を示す破歯細胞に含まれる核数を計測した。乳前歯99個、乳臼歯101個の破歯細胞の核数について検索した結果、平均値20.8、中央値14であった。本研究の結果とヒト健全乳歯の破歯細胞の核数の間には統計学的な有意差が認められた( $p < 0.01$ )。これらの結果は水酸化カルシウム系根管充填剤の存在と歯髄処置による象牙質のpHおよび構造変化が破歯細胞の核数に影響を与えている可能性を示唆している。

**キーワード：**歯髄処置、破歯細胞、核数、多核化、歯根吸収

## 結 言

後継永久歯の萌出に伴って生じる乳歯の生理的歯根吸収は多核の巨細胞である破歯細胞によって行われ、歯を吸収する破歯細胞と骨を吸収する破骨細胞は形態的、機能的に同じ細胞であると考えられている<sup>1-4</sup>。これら細胞に共通する特徴として多核<sup>1, 5-7</sup>、透過型電子顕微鏡によって硬組織吸収部位に観察される波状縁ならびに明帯の存在<sup>1, 8-12</sup>、組織化学的に酒石酸耐性酸フォスファターゼ（tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP）活性の存在<sup>11-16</sup>が報告されている。破骨細胞の形

態学的特徴である多核に関しては2~50個<sup>17</sup>、数十個から百個を越す<sup>18</sup>、数個ないし20個以上<sup>19</sup>、数個から数十個<sup>20, 21</sup>、50個まで<sup>22</sup>等様々に報告されている。多核と考えられてきた破骨細胞・破歯細胞の中に単核の細胞の存在が報告後<sup>12, 23</sup>、単核の破歯細胞の存在頻度についての研究が行われた。長内<sup>24</sup>、Domon et al.<sup>13</sup>は生理的交換期を迎えたヒト健全乳歯にみられる破歯細胞（以下、健全乳歯破歯細胞）の核数の分布を連続切片による観察から検索し、核数の平均値は5.3~5.4、中央値は4、単核の細胞は約4%、単核を含む10個以

〒060-8685 札幌市北区北13条西7丁目

北海道大学大学院歯学研究科 口腔機能学講座口腔機能解剖学教室（主任：土門卓文 教授）

北海道大学大学院歯学研究科 口腔機能学講座小児・障害者歯科学教室（主任：八若保孝 教授）

下の核数を持つ細胞は全体の 90%以上であると報告している。

う蝕や歯髄炎により乳歯歯髄処置を行った場合、冠部・根部歯髄に存在する象牙芽細胞は除去され、歯髄腔・根管にはビタペックス®等の水酸化カルシウム製剤が充填されるため、その象牙質は健全象牙質とは異なる構造を持つと考えられる。歯髄処置後のヒト乳歯歯根を吸収する破歯細胞（以下、失活乳歯破歯細胞）を観察した長内らは<sup>25)</sup>それらは健全乳歯破歯細胞より大型で細胞 1 個当たりの核数が多いものが多数観察されたと報告している。この報告から失活乳歯破歯細胞の核数の分布は健全乳歯破歯細胞のそれとは異なる可能性が考えられる。そのため、歯髄処置経験乳歯における破歯細胞の核数を明らかにすることは、健全乳歯破歯細胞の核数と比較検討し、歯髄処置の与える影響を考える上で重要である。

本研究は歯髄処置に着目し、歯髄処置後、臨床的に症状なく経過し、生理的交換期に達したヒト失活乳歯歯根吸収面にみられる破歯細胞の核数の分布を、連続切片による観察から検索することを目的とした。

## 材料と方法

### 1. 倫理審査

本研究は北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認を得て行った（承認番号：015-0013）。

### 2. 試料

本研究では5歳8か月から11歳6か月の男女20人から採取した20本の乳歯を観察試料として用いた。北海道大学病院小児・障害者歯科外来において交換期のため2%キシロカイン浸潤麻酔下にて抜去された乳歯のうち、歯髄処置経験を有し、水酸化カルシウム系根管充填剤であるビタペックス®（ネオ製薬）にて根管充填を施された1年から1年10か月経過後に生理的交換期に達した乳前歯9本、乳臼歯11本を試料として用いた。これら試料は本研究の目的を患児とその保護者に説明し、歯の提供を応諾後、抜去した。

### 3. 実体顕微鏡による観察

乳歯は抜去後直ちに 4%パラホルムアルデヒド（pH 7.4, 4°C）中に1週間浸漬固定後、Domon et al.<sup>13)</sup>の方法と同様に、アゾ色素法を用いて酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性（TRAP）<sup>11)</sup>を検出し、破歯細胞の存在を確認した。

方法として試料を 0.05M 酢酸緩衝液（pH 5.2, 4°C）に1時間浸漬後、基質として naphthol AS-MX phosphate (SIGMA), ジアゾニウム塩として fast red violet LB salt (SIGMA), 10 mM 酒石酸ナトリウムを含有した 0.05M 酢酸緩衝液（pH 5.2）を反応液として用いた。試料は一塊として反応液に浸漬し、活性反応は 37 °Cで 30 分間行った。試料において TRAP 活性反応を検出後、試料は生理食塩水（pH 7.4）中に浸漬し TRAP 活性反応を停止させた。その後試料は実体顕微鏡（NIKON SMZ-10）で観察し、倍率 10×4 で写真撮影後、以下の観察試料とした。

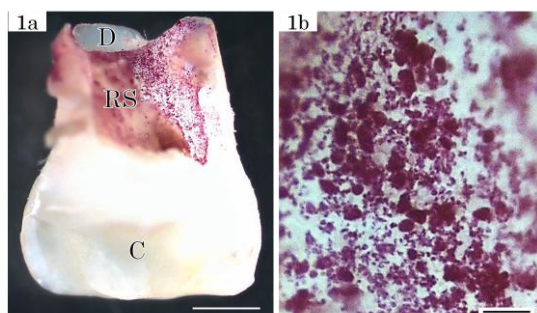


図1 TRAP染色後の上顎乳中切歯の実体顕微鏡像  
a: 歯根吸収面の広域にわたって赤く濃染する TRAP 陽性細胞が多数観察される。

D:象牙質, RS:歯根吸収面, C:歯冠部, bar=2mm.

b: TRAP 陽性細胞の拡大像

歯根吸収面上に様々な大きさと外形を示す細胞が多数存在している。 bar=0.5mm

### 4. 光学顕微鏡による観察

試料は 5% EDTA (Ethylene Diamine Tetra acetic Acid, 7% ショ糖含有, pH 7.4, 4°C) で 6 か月間脱灰後、0.05M カコジル酸緩衝液（7% ショ糖含有, 4°C）中に 2~3 日間浸漬した。その後、試料は通法に従い上昇エタノール系列を用いて脱水し、パラフィン包埋した。検索者の作意によって偏った

標本抽出を行わないために包埋試料は無作為抽出とし、TRAP 陽性反応がみられた乳前歯 9 本、乳臼歯 11 本の合計 20 本のうち、乳前歯 3 本、乳臼歯 3 本の合計 6 本の乳歯をその後の観察試料として用いた。試料は歯の長軸に対して垂直方向からマイクロトーム (YAMATO REM-700) を用いて 4  $\mu$ m 厚の連続切片を作製し、実体顕微鏡観察で TRAP 陽性細胞が存在する歯根表面部分を含めて薄切した。最初に、得られた連続切片の中から 20  $\mu$ m 間隔で抽出した一切片を HE (Hematoxylin Eosin) 染色し、光学顕微鏡 (NIKON FX-A) を用いて破歯細胞の存在を確認した。HE 染色切片上で破歯細胞の存在を観察した後、破歯細胞が観察される前後の連続切片を再度 TRAP 染色し、メチルグリーン (methyl green, MG) 染色による核染色後、光学顕微鏡を用いて破歯細胞を観察し、倍率 10 $\times$ 40 にて写真撮影を行った。

#### 5. 核数の計測

連続切片による観察から歯根象牙質上に吸収窩を形成している TRAP 陽性を示す破歯細胞を個々に選択し、その細胞体が切片上で出現してから消失するまでのすべての連続切片を倍率 10 $\times$ 40 で写真撮影した。得られた連続写真上で細胞体内に出現する核を前後の写真上における核の位置や形を参考とし、その核が写真上で消失するまで順に番号を付けていった。このような観察方法を用いて、1 個の破歯細胞に含まれる核数を計測した。

#### 6. 核数の分布

破歯細胞の核数の計測結果から、乳前歯、乳臼歯、および観察した乳歯全体において、縦軸を細胞数、横軸を核数とした細胞 1 個当たりの核数の相対度数分布グラフを作成し、平均値を算出した。また縦軸を細胞数、横軸を核数とした累積度数分布グラフを作成し、中央値と 11 個以上の核を有する細胞の割合を算出した。乳前歯と乳臼歯に見られた破歯細胞の核数の分布間、並びに本研究の結果と Domon et al.<sup>13)</sup> が明らかにした健全乳歯破歯細胞の核数の分布間について Mann-Whitney の U 検定を行った。

## 結 果

### 1. 実体顕微鏡による観察

実体顕微鏡による観察から TRAP 活性反応を検出した乳歯の歯根吸収面上には赤色の TRAP 活性陽性を示す細胞が多数観察された (図 1)。TRAP 活性陽性細胞が多く観察される領域を拡大して観察すると、陽性細胞の外形は不規則で、その大きさは大小様々であった。歯根象牙質上には陽性反応を認めない領域も観察された。

### 2. 光学顕微鏡による観察

実体顕微鏡により TRAP 陽性細胞が多数観察される歯根象牙質の切片を光学顕微鏡で観察すると、不規則な細胞外形を示す多核の破歯細胞が多数観察され、これらの細胞は細胞質中に TRAP 陽性を示す多数の赤色顆粒を有していた (図 2)。切片上では、象牙質上に吸収窩を形成する破歯細胞の周囲に、象牙質表面から離れて、吸収窩を形成していない破歯細胞も多数観察された。本研究ではこのような吸収窩を形成していない細胞は核数の計測対象から除外した。

### 3. 核数の計測

図 3 に連続切片の観察による核数計測の一例を示す。TRAP 陽性を示す破歯細胞の細胞体が切片上に出現してから消失するまでのすべての連続切片の観察から、この破歯細胞は細胞体中に 39 個の核を有しており、歯根象牙質上に吸収窩を形成していた。本研究において核数を計測した中で 1 個の細胞体中に最も核数が多かった破歯細胞は 189 個の核を有しており、一切片上では 39 個の核が観察され、それらの大部分は細胞体の周辺に存在していた (図 4)。核数の計測を行った破歯細胞は乳前歯で 99 個、乳臼歯で 101 個であった。

### 4. 核数の分布

乳前歯における 99 個の破歯細胞の核数の相対度数分布と累積度数分布を図 5 に示す。乳前歯の破歯細胞 1 個当たりの核数の平均値は 13.6、中央値は 10、11 個以上の核を有する細胞は 38.4% を占めていた。乳臼歯における 101 個の破歯細胞の核数の相対度数分布と累積度数分布を図 6 に示す。乳

臼歯の破歯細胞1個当たりの核数の平均値は27.9, 中央値は18, 11個以上の核を有する細胞は80.2% 占めていた. 図7に乳前歯と乳臼歯を含めた乳歯 全体における破歯細胞の核数の相対度数分布と累 積度数分布を示す. 細胞1個当たりの核数の平均 値は20.8, 中央値は14, 11個以上の核を有する細

胞は64%, 20個以上の核を有する割合は28%を占 めていた. 本研究における乳前歯と乳臼歯にみら れた破歯細胞の核数の分布間において Mann-Whitney のU検定の結果, 有意差が認められ た( $p < 0.01$ ).

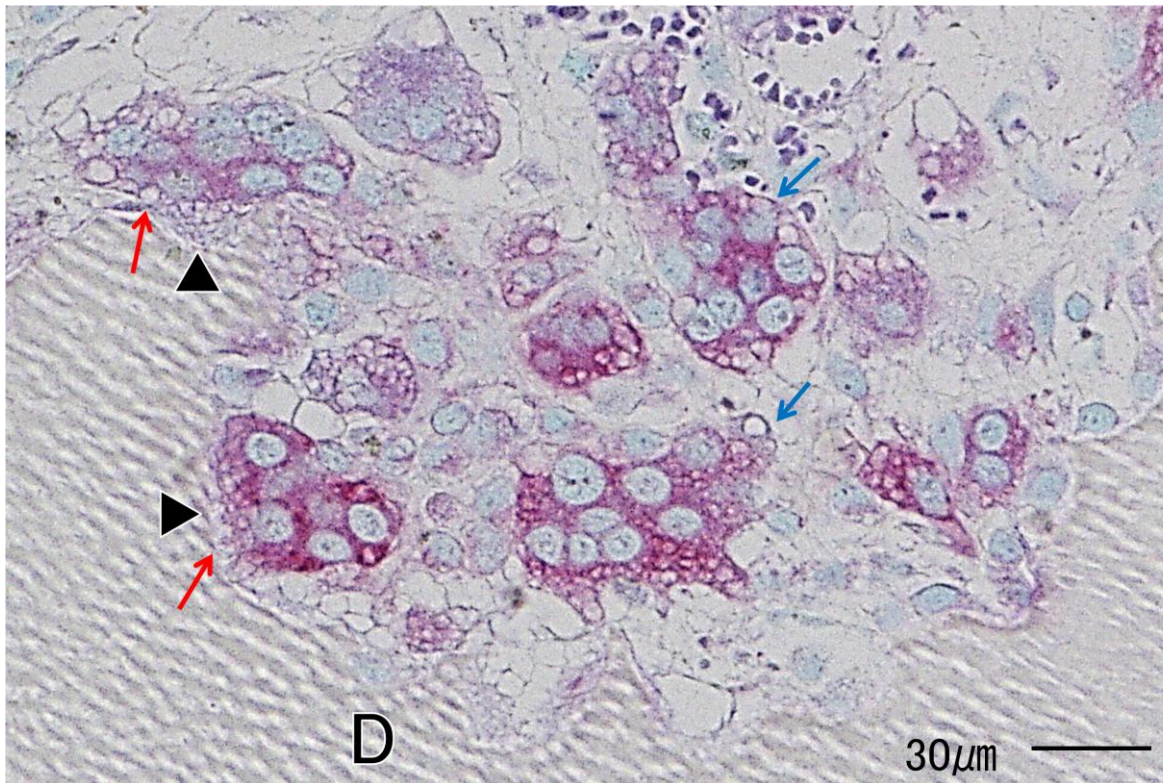


図2 歯根吸収面にみられる破歯細胞の光学顕微鏡像

象牙質上に吸収窩を形成する破歯細胞 (→) の周囲に, 吸収窩を形成していない破歯細胞 (←) が観察される. D:象牙質, ▲:吸収窩, TRAP・MG染色.

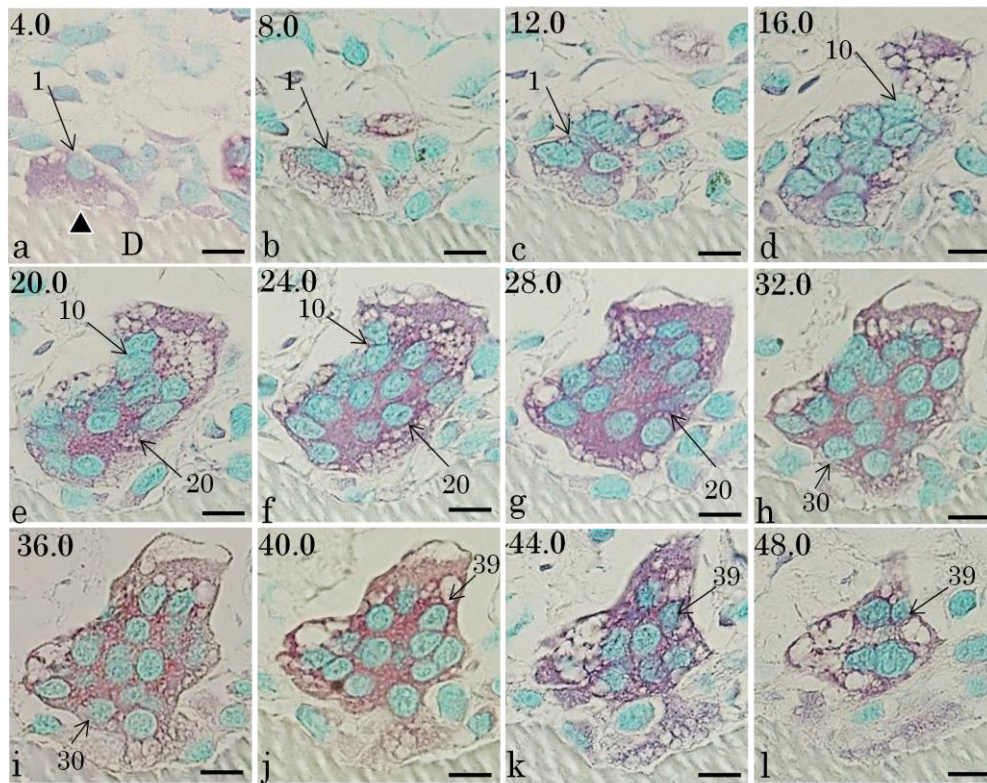


図3 破歯細胞の連続切片像

切片上で細胞が見え始めて (a) から見えなくなる (l) まで、細胞体中には矢印で示す 39 個の核が観察される。矢印番号は細胞が見えてから出現した核の個数を示す。

左上の数字は細胞端からの距離 ( $\mu\text{m}$ ) を示す。

D: 象牙質, ▲: 吸収窩, bar=10  $\mu\text{m}$ , TRAP・MG 染色。

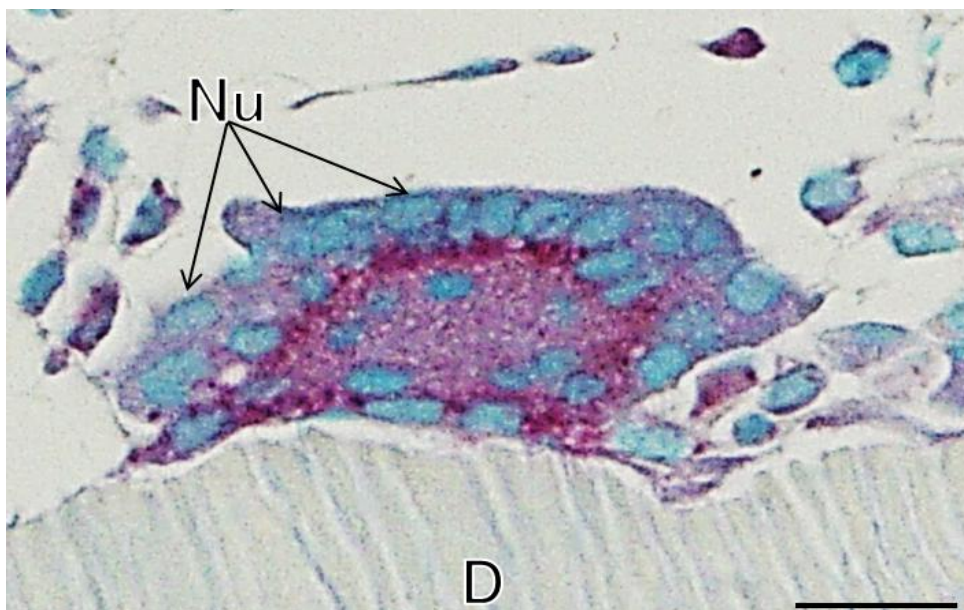


図4 破歯細胞の光学顕微鏡像

一切片上で 39 個の核が細胞体中に観察される。この破歯細胞は 189 個の核を有していた。

D: 象牙質, Nu: 核, bar=30  $\mu\text{m}$ , TRAP・MG 染色。

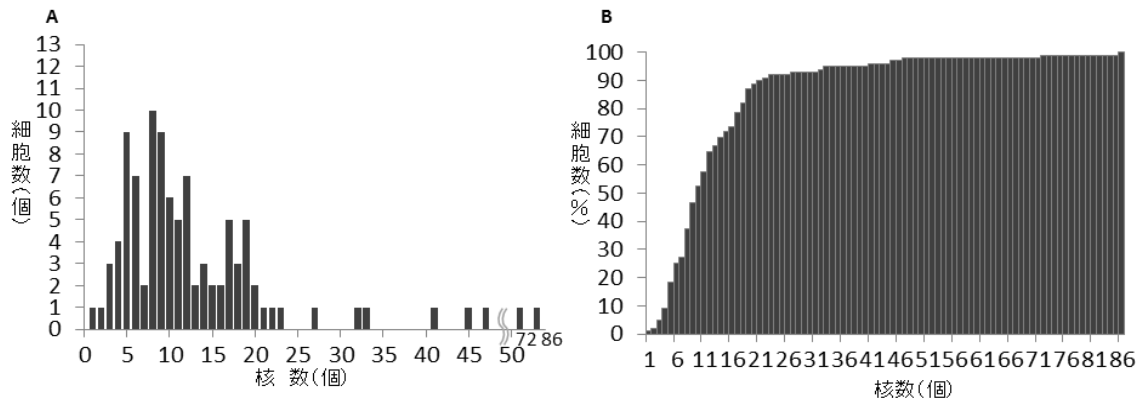


図5 乳前歯破歯細胞の核数の相対度数分布と累積度数分布

A. 相対度数分布：平均値は 13.6      B. 累積度数分布：中央値は 10

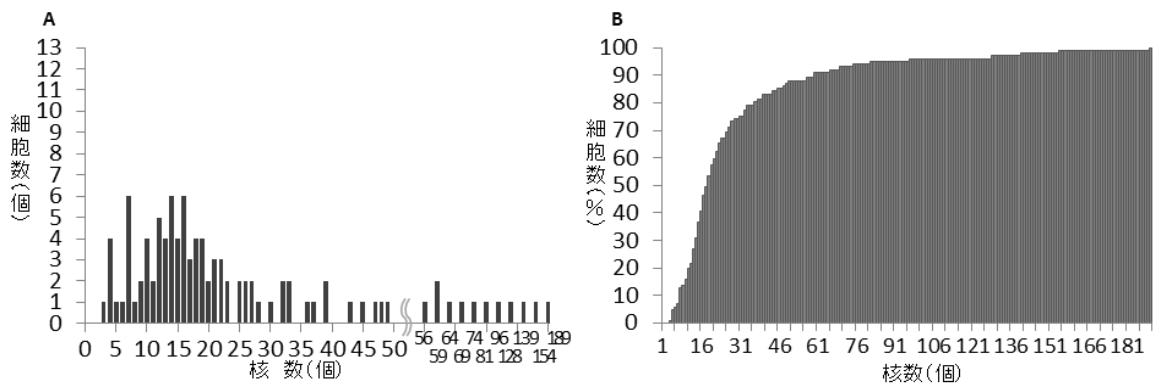


図6 乳臼歯破歯細胞の核数の相対度数分布と累積度数分布

A. 相対度数分布：平均値は 27.9.      B. 累積度数分布：中央値は 18.

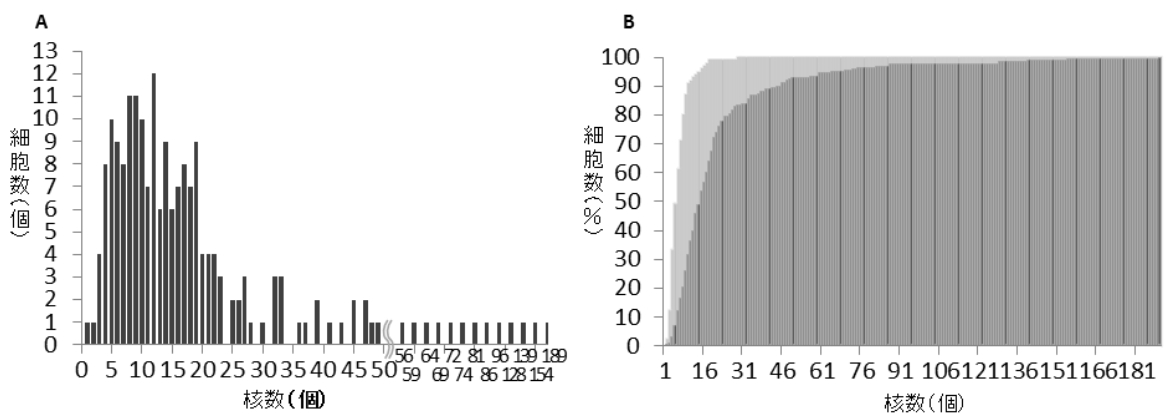


図7 乳歯全体の破歯細胞の核数

A. 相対度数分布：平均値 20.8, 最大値 189.

B. 累積度数分布：中央値 (黒カラム) 14.

この結果と健全乳歯(白カラム, Domon et al.<sup>13)</sup>)の結果の間には統計学的有意差が認められる ( $p < 0.01$ ).

## 考 察

本研究は生理的交換期に達したヒト失活乳歯破歯細胞の核数の分布を初めて明らかにしたものである。その結果、失活乳歯破歯細胞の核数の平均値は20.8、中央値14、11個以上の核数を有する細胞の割合は64%、最大値189であった。健全乳歯破歯細胞の核数の分布を調査したDomon et al.<sup>13)</sup>は平均値5.3、中央値4、11個以上の核数を有する細胞の割合は6%、最大値28と報告しており、本研究における失活乳歯破歯細胞の核数の分布とDomon et al.<sup>13)</sup>による健全乳歯破歯細胞にみられた核数の分布間においてMann-WhitneyのU検定の結果、有意差が認められた( $p < 0.01$ )。

Domon et al.<sup>13)</sup>は抜去健全乳歯のTRAP活性検出後、樹脂包埋し、乳前歯と乳臼歯からそれぞれ3歯を無作為抽出し、 $0.5\mu\text{m}$ 間隔の連続準超薄切片による観察から象牙質上に吸収窩を形成している242個の細胞の核数を調査している。本研究はDomon et al.<sup>13)</sup>の方法と同じく乳歯抜去後にTRAP活性を検出し、パラフィン包埋後、乳前歯と乳臼歯からそれぞれ3歯を無作為抽出後 $4\mu\text{m}$ 間隔の連続切片による観察から象牙質上に吸収窩を形成している200個の細胞における核数を調査した。両者における方法の違いは切片の厚さである。本研究では数 $\sim$ 十 $\mu\text{m}$ 程度の大きさを示すヒト破歯細胞の核をパラフィン包埋した連続切片上で見失うことのない厚さとして $4\mu\text{m}$ を設定しており、観察した切片の厚さは問題ないとする。核数を計測した細胞数も両者でほぼ同じであることから、本研究の結果とヒト健全乳歯を用いたDomon et al.<sup>13)</sup>の結果を比較することは十分に可能である。その結果、両者の間には統計学的な有意差が認められた( $p < 0.01$ )。このことは失活乳歯破歯細胞の核数は健全乳歯破歯細胞のそれより多いことを示している。

一般的に破骨細胞の核数は細胞体の大きさを反映し、細胞の吸収能力と相関すると考えられている<sup>21)</sup>。しかし、Piper et al.<sup>26)</sup>は破骨細胞の核数と形成した吸収窩体積の相関関係を検索し、核数増加に伴い核1個あたりの吸収量は低下する傾向を示すと報告している。硬骨魚類であるマスノスケの脱落歯にみられる破歯細胞の核数を調べたDomon et al.<sup>27)</sup>はその核数がヒト乳歯にみられる破歯細胞のそれよりも多いことを

報告し、その理由の一つとして多生歯性の歯の交換における高い吸収活性をあげている。これらの報告から、破骨細胞・破歯細胞の核数と吸収活性との関連性に関しては不明な点が多く存在しているものの、両者の間には何らかの関係があることが推測できる。

第一の理由は水酸化カルシウム系根管充填剤であるビタペックス®による根管充填が考えられる。ビタペックス®の成分は水酸化カルシウムとヨードホルム、そしてメチルポリシロキサンである。水酸化カルシウムはpH11~12のアルカリ性を示し、乳歯根管内にビタペックス®充填4週間でも根管pHは高い状態を保つことが報告されている<sup>28)</sup>。破骨細胞による骨吸収では波状縁にある液胞型プロトンポンプによって $\text{H}^+$ が細胞外に排出され明帯で囲まれた微小環境が酸性条件になることで無機質が溶解すると考えられている。根管内に水酸化カルシウム系充填剤が存在する場合、破歯細胞はアルカリ性を示す歯根象牙質を吸収することになり、通常の歯根象牙質吸収と比較して吸収しづらい組織を吸収することになる。このような象牙質を吸収するために破歯細胞が多核化した可能性が考えられる。しかし、本研究で用いた乳歯はビタペックス®充填後1年から1年10か月を経過した生理的交換期に達した乳歯を観察したものであり、破歯細胞が吸収した歯根象牙質が示していたpHについては不明である。ビタペックス®に含まれる他の成分であるヨードホルムとメチルポリシロキサンの破歯細胞への影響に関しては報告がなく、これらの影響に関しても不明である。

失活乳歯破歯細胞の核数が健全乳歯破歯細胞のそれより多いことを示した第二の理由として歯髓処置による象牙質の構造変化が考えられる。象牙質と同じく基質形成細胞が自らの細胞質突起を石灰化基質中に残している硬組織として骨があげられる。骨基質中の骨小腔に存在する骨細胞は多数の細胞質突起を骨細管内に伸ばし、隣接する骨細胞や骨芽細胞の細胞質突起間にギャップ結合<sup>29,30)</sup>を形成し、骨細胞・骨細管系と呼ばれるネットワークを形成している<sup>31)</sup>。破骨細胞は骨吸収中に骨細管内の細胞質突起や骨細胞と接触し<sup>32-34)</sup>、この情報は骨細胞・骨細管系により周囲の骨細胞や骨芽細胞に伝達され、これら細胞が破骨細胞の骨吸収を

調節していると考えられている<sup>31)</sup>。正常な象牙質には象牙細管が存在し、その中に象牙芽細胞突起を含んでいる。象牙芽細胞間にもギャップ結合は存在する<sup>35,36)</sup>ことから、乳歯においても骨にみられるような象牙芽細胞・象牙細管系ネットワークは形成されている。乳歯の生理的交換期において破歯細胞は歯根象牙質を吸収して象牙細管内の象牙芽細胞突起と接触し、この情報は象牙芽細胞・象牙細管系ネットワークにより周囲の細胞に伝達され、様々な細胞によって破歯細胞の歯根吸収が調整されていると考えられる。

歯髄処置を行った失活歯では冠部・根部歯髄に存在する象牙芽細胞や象牙前質は除去され、歯髄腔・根管にはビタペックス®等の水酸化カルシウム製剤が充填される。このため破歯細胞が歯根象牙質を吸収して象牙細管を露出させたとしても、その情報は象牙細管を通して周囲の細胞には伝達されない。それゆえこのような吸収を行う場合、破歯細胞はビタペックス®が充填された歯根象牙質を正常象牙質として認識せず、異物として認識している可能性が考えられる。ラットの皮下組織に石灰化した異物である珊瑚片を埋入すると多数の異物巨細胞が出現し、多核化して珊瑚片を取り囲むことが報告されている<sup>37)</sup>。破骨細胞は異物巨細胞と同じくマクロファージ・単球系の細胞であることから<sup>38)</sup>、後継歯の萌出に伴い生理的交換期に達したビタペックス®が充填された失活乳歯歯根を破歯細胞が吸収中にそれらを石灰化した異物として認識し、それら異物を取り囲みつつ吸収するために異物巨細胞のように多核化した可能性が考えられる。しかしながら、破歯細胞が失活乳歯歯根象牙質を異物として認識しているかどうかの証明はなく、この件に関しては今後の検討課題である。

本研究では失活乳歯にみられる破歯細胞の核数の平均値は乳前歯で 13.6、乳臼歯で 27.9 であり、両者の核数の分布間には統計学的有意差がみられた。長内<sup>24)</sup>、Domon et al.<sup>13)</sup> は健全乳歯にみられた破歯細胞の核数には乳前歯と乳臼歯間に統計学的有意差は認められなかったと報告している。それゆえ、この結果は失活乳歯前歯と乳臼歯を吸収する破歯細胞の核数が異なる理由が存在することを示唆しているが、これに関しては現時点では不明である。今回観察に用いた試料

数は乳前歯 3 本、乳臼歯 3 本の合計 6 本と少ないため標本誤差の可能性は否定できず、今後、観察試料数を増やしたより詳細な検討が必要であると考えられる。

## 結 論

水酸化カルシウム系根管充填剤であるビタペックス®にて歯髄処置経験を有し、処置後 1 年から 1 年 10 か月経過後に生理的交換期に達した乳歯歯根吸収面上にみられた 200 個の破歯細胞の核数の分布を検索した。その結果、核数の平均値は 20.8、中央値は 14、10 個以上の核数を有する細胞の割合は 64%、最大値 189 であった。この結果は健全乳歯破歯細胞の核数より多く、両者の間には統計学的な有意差が認められた。これらの結果は水酸化カルシウム系根管充填剤の存在と歯髄処置による象牙質の構造変化が破歯細胞の核数に影響を与えている可能性が示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の遂行に甚大なるご協力を頂きました口腔機能学講座口腔機能解剖学教室ならびに口腔機能学講座小児・障害者歯科学教室の教室員の皆様に心から感謝致します。本研究の一部は第 57 回歯科基礎医学会学術大会（平成 27 年 9 月）、および第 33 回日本小児歯科学会北日本地方会大会（平成 27 年 10 月）において発表した。

## 参 考 文 献

- 1) Furseth R: The resorption process of human deciduous teeth studied by light microscopy, microradiography and electron microscopy. Arch Oral Biol 13: 417-431, 1968.
- 2) Ten Cate AR and Anderson RD: An ultrastructural study of tooth resorption in the kitten. J Dent Res 65: 1087-1093, 1986.
- 3) 茂木伸夫: ヒト乳歯の生理的象牙質吸収に関する微細構造学的研究. 歯基礎誌 27: 1101-1114, 1985.
- 4) 柳下寿郎: ラット臼歯の生理的遠心移動ならびに矯正学的近心移動にともなう歯根吸収の酵素

- 組織化学・免疫組織化学による検討. 歯基礎誌 42: 283-292, 2000.
- 5) 松本芳郎: 破歯細胞の硬組織吸収能に対する形態的ならびに機能的検討. 口病誌 61: 123-143, 1994.
  - 6) 正木 正: 乳歯の脱落に関する組織化学的研究. 歯科学報 37: 337-357, 1932.
  - 7) 島 善一郎: 脱落期乳歯の緒種相殊に破歯細胞の態度について. 日本歯科学会雑誌 29: 468-493, 1936.
  - 8) Freilich LS: Ultrastructure and acid phosphatase cytochemistry of odontoclasts: effects of parathyroid extract. J Dent Res 50: 1047-1055, 1971.
  - 9) 大野紘八郎: ヒト乳歯歯根吸収時に出現する odontoclast の電子顕微鏡研究. 口病誌 39: 113-158, 1972.
  - 10) 鈴木駿介: ヒトの乳歯象牙質吸収に関する電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌 6: 186-244, 1974.
  - 11) 八若保孝: 酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性反応を利用したヒト乳歯における破歯細胞の観察法. 歯基礎誌 35: 409-430, 1993.
  - 12) Domon T, Sugaya K, Yawaka Y, Osanai M, Hanaizumi Y, Takahashi S and Wakita M: Electron microscopic and histochemical studies of the mononuclear odontoclast of the human. Anat Rec 240: 42-51, 1994.
  - 13) Domon T, Osanai M, Yasuda M, Seki E, Takahashi S, Yamamoto T, and Wakita M: Mononuclear odontoclast participation in tooth resorption: the distribution of nuclei in human odontoclasts. Anat Rec 249: 449-457, 1997.
  - 14) Domon T, Yasuda M, Osanai M, Suzuki R, Takahashi S, Yamamoto T, and Wakita M: Increase in odontoclast nuclei number by cell fusion: a three-dimensional reconstruction of cell fusion of human odontoclasts. Anat Res, 252: 462-471, 1998.
  - 15) Domon T, Osanai M, Yawaka Y, Suzuki R, Takahashi S, Yamamoto T, and Wakita M: Ultrastructural study of the root dentine surface resuming resorption on human deciduous teeth. Ann Anat 182: 175-184, 2000.
  - 16) Hammarström LE, Hanker JS, and Toverud SU: Cellular differences in acid phosphatase isoenzymes in bone and teeth. Clin Orthop Relat Res 78: 151-167, 1971.
  - 17) 石村和敬, 井上貴央: 最新カラー組織学. 121, 西村書店, 東京, 2003.
  - 18) 藤田尚男, 藤田恒夫: 標準組織学総論 第四版. 192, 医学書院, 東京, 2002.
  - 19) 伊藤 隆: 組織学. 348, 南山堂, 東京, 1996.
  - 20) 山田安正: 現代の組織学 第三版. 117, 金原出版, 東京, 1999.
  - 21) 磯川桂太郎, 稲井哲一朗, 中村雅典, 山本 仁, 渡邊弘樹: 組織学・口腔組織学 第四版. 65, 97, わかば出版, 東京, 2014.
  - 22) Fawcett DW and Raviola E: Bloom and Fawcett, a textbook of histology. 12th ed 207, Chapman and Hall, New York and London, 1994.
  - 23) Domon T and Wakita M: Electron microscopic and histochemical studied of the mononuclear osteoclast of the mouse. Am J Anat 192: 35-44, 1991.
  - 24) 長内正数: 破歯細胞に関する微細形態学的研究: ヒトにおける核数の分布について. 北海道歯誌 17: 251-265, 1996.
  - 25) 長内正数, 土門卓文, 八若保孝, 小口春久: ヒト破歯細胞に関する微細形態学的研究—感染根管処置経験乳歯について—. 小歯誌 37: 325, 1999.
  - 26) Piper K, Boyde A, and Jones SJ: The relationship between the number of nuclei of an osteoclast and its resorptive capability in vitro. Anat Embryol 186: 291-299, 1992.
  - 27) Domon T, Fukui A, Taniguchi Y, Suzuki R, Takahashi S, Yamamoto T and Wakita M: Odontoclasts in the Chinook salmon differ

- from mammalian odontoclasts by exhibiting a great proportion of cells with high nuclei number. *Anat Embryol* 209: 119-128, 2004.
- 28) 豊田有希, 吉原俊博, 八若保孝: 各種根管洗浄法の洗浄効果と水酸化カルシウム製剤による水酸化物イオンの拡散. *北海道歯誌* 34: 53-644, 2014.
- 29) Weinger JM and Holtrop ME: An Ultrastructural study of bone cells: The occurrence of microtubules, microfilaments and tight junctions. *Calcif Tiss Res* 14: 14-29, 1974.
- 30) Doty SB: Morphological Evidence of Gap Junctions Between bone Cells. *Calcif Tissue Int* 33: 509-512, 1981.
- 31) 網塚憲生, Sobhan Ubaidus, 小島 拓, Paulo HL Freitas, 李 敏啓, 下村淳子: 骨細胞・骨細管系の顕微解剖学. *Kidney Metab Bone Dis* vol. 21 No. 3: 183-190, 2008.
- 32) Soskolne WA: Phagocytosis of Osteocytes by Osteoclasts in Femora of Two Week-Old Rabbits. *Cell Tissue Res* 195: 557-564, 1978.
- 33) Elmardi AS, Katchburian MV and Katchburian E: Electron microscopy of development calvaria reveals images that suggest that osteoclasts engulf and destroy osteocytes during bone resorption. *Calcif Tissue Int* 46: 239-245, 1990.
- 34) Suzuki R, Domon T, Wakita M: Some osteocytes released from their lacunae are embedded again in the bone and not engulfed by osteoclasts during bone remodeling. *Anat Embryol* 202: 119-128, 2000.
- 35) Tominaga H, Sasaki T, Higashi S: Ultrastructural changes in odontoblasts during early development. *Bull Tokyo Dent Coll* 25: 9-26, 1984.
- 36) Zaki AE and Weber DF: Fine structure of Intercellular Junctions in Human Odontoblasts. *J Dent Res* 64: 237, abstract, 1985.
- 37) Sugaya K, Domon T, Izumi H, Kozawa Y: Fusion of multinucleate giant cells and macrophage-like cells *in vivo* by electron-microscopy. *Jpn J Oral Biol* 35: 361-365, 1993.
- 38) Suda T, Takahasi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ: Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrine Review* 20: 345-357, 1999.

ORIGINAL

## The Distribution of Number of Nuclei of Odontoclasts in Human Deciduous Teeth with Endodontic Treatments.

Sayaka Yagihara, Takanori Domon and Yasutaka Yawaka

**ABSTRACT :** The root dentine of human deciduous tooth is physiologically resorbed by multinucleated odontoclasts. Previously, authors investigated the distribution of number of nuclei per human odontoclast and showed that the mean number of nuclei per cell is 5.3 and the median is 4. After endodontic treatments of human deciduous tooth, odontoblasts were removed and root canals were filled with material with alkaline calcium hydroxide. Therefore, the structure of root dentine after endodontic treatments is different from that before treatments. The present study aims to clarify the number of nuclei per odontoclast in human deciduous teeth after endodontic treatments with Vitapex<sup>®</sup>, a calcium hydroxide-based root canal filling material, and to compare it with that in human deciduous teeth without endodontic treatments.

After extraction of deciduous teeth, they were fixed, decalcified and embedded in paraffin, and six specimens were selected randomly. The specimens were serially sectioned into 4  $\mu\text{m}$ -thick sections and they were stained with TRAP and methyl green, and sections were observed by light microscopy. TRAP-positive cells forming resorptive lacunae on the dentine were identified as odontoclasts, and 99 odontoclasts in anterior teeth and 101 cells in molar ones were investigated to determine the distribution of nuclei per cell. The mean number of nuclei per cell was 20.8 and the median was 14. In the distribution of number of nuclei per odontoclast, there were statistically significant differences between teeth with endodontic treatments and ones without them. These results suggest that the presence of calcium hydroxide-based root canal filling material and root dentine with different structure may cause change in number of nuclei of odontoclasts.

**Key Words:** Endodontic treatment, Odontoclasts, Number of nuclei, Multinucleation, Tooth resorption

---

Department of Oral Functional Anatomy, , Division of Oral Functional Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine (Chief: Prof. Takanori Domon)  
Kita 13 Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060-8586, Japan.  
Department of Dentistry for Children and Disabled Person, Division of Oral Functional Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine (Chief: Prof. Yasutaka Yawaka)  
Kita 13 Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060-8586, Japan.  
[Received: November \*\*, 2015] [Accepted: November \*\*, 2015]

