

# 深部象牙質う蝕と細菌

長岡成孝・劉宏志

鹿児島大学歯学部歯科保存学第一講座

## Deep dentinal caries and microorganisms

Shigetaka Nagaoka, Hong-Jih Liu

Department of Operative Dentistry and Endodontology,  
Kagoshima University Dental School, Kagoshima 890, Japan

### Abstract

Compared to our understanding of coronal plaque, less is known about the microbiology and the biochemistry of deep dentinal caries. It seems to be very important to clarify the bacteria at the advancing front of the caries process and the pulpal effect of the bacterial components. This study was designed to assess the ability of the oral microorganisms to induce dentinal caries by using *in vitro* system. In essence, the results of this study suggest that *Lactobacillus casei* strain PSR 3002, *Streptococcus mutans* strain 6715, and clinically isolated strain *L. casei* have capacity to invade into the exposed dentinal tubules. This ingrowth capacity, however, seemed to be mild in this experimental system. Therefore, future research will be taken to assess the bacterial ingrowth capacity for long incubation time.

### Key words

deep dentinal caries, bacteria, dentinal tubules, dental pulp

### I. はじめに

近年、う蝕の病因論に関する基礎的研究が急速に進展したために、う蝕の初発に関与する細菌の実態については、かなり多くのことが明らかになってきた。しかし、う蝕病変の最前線に位置し、その進行や増悪に大きな役割を果たしていると思われる細菌の種類や性

状については、まだ不明な点が数多く残されている。

これまでの報告によると、*Lactobacillus*, *Streptococcus* および *Actinomyces* に属する各菌種や、多くの未同定のグラム陽性桿菌などが、深部う蝕象牙質から検出されている。なかでも、もっとも高い比率で検出されて

いるのは *Lactobacillus* である。たとえば Edwardsson<sup>1)</sup> の報告では、被検歯の約1/3から *Lactobacillus* が分離同定されているが、これに比べて *Streptococcus* や *Actinomyces* の検出率は著しく低く1割にも満たない。一方、歯冠部のプラーク中からは、これとは逆に *Streptococcus* が高率に検出され、*Lactobacillus* や *Actinomyces* は非常に低い比率でしか検出されない<sup>2,3)</sup> ことがわかっている。したがって細菌叢のこのような構成からみても、深部う蝕象牙質内は、歯冠部のプラーク中とは生理的にかなり異なった環境下にあり、ここでは *Streptococcus* 以外の菌種が、う蝕の進行に重要なかわりを有している可能性が大きい。

象牙質う蝕も、それに継発しておこる歯髄炎も、ともに細菌のもつ病原因子によってひきおこされることは、すでに周知の事実である。しかし、その発症のメカニズムについては未解決な点も多い。われわれはこれまで約3年間、象牙質う蝕発症から歯髄炎発症にいたる一連の過程を解析するために、いくつかの基礎的研究を行ってきた<sup>4-8)</sup>。そこで本稿では、そのあらましについて述べ、あわせて内外で行われているこの方面の研究の現況について紹介する。

## II. 深部う蝕象牙質内の細菌叢

象牙質う蝕の進行・増悪のメカニズムを知るためには、まずう蝕の最前線、すなわち象牙質う蝕の最深部における細菌叢の実態を調べる必要がある。前述した Edwardsson<sup>1)</sup> は、象牙質う蝕を有する被検歯 (46本) を抜去後、その病変部を嫌気条件下で歯髄腔の方向から表層に向けて順に採取し培養した。この方法によれば、最初に培養成績が陽性になった部位が、う蝕病変の最深部ということになる。この部位における細菌叢の分離・同定の結果を Table 1 に示した。*Lactobacillus* が被検歯の約1/3に見出されてもっとも優勢である。ついでグラム陽性の嫌気性桿菌および糸状菌として *Arachnia*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, および *Actinomyces* が検出されている。*Rothia* や *Bacillus* 属も検出されているが、これらはいずれも1%にも満たない。グラム陽性の球菌である *Streptococcus* 属の出現率はここでは低く、本菌が歯冠部のプラーク中に占める比率とは著しく異なっている。この結果は、う蝕象牙質の最深部が、耐酸性を有するある種の嫌気性菌が優位に生育しうる特殊な環境下にあることをよく示唆するものだといえよう。事実、その後行われたいくつかの研究でも、これとほぼ同様の

Table 1 Organisms isolated from deep dentinal caries

Organisms	Mean	Range
Gram positive anaerobic rods	44	0-100
<i>Arachnia</i> sp.	12	
<i>Bifidobacterium</i> sp.	9	
<i>Eubacterium</i> sp.	9	
<i>Propionibacterium</i> sp.	11	
Gram positive facultative anaerobic rods	38	0-100
<i>Actinomyces</i> sp.	5	
<i>Lactobacillus</i> sp.	33	
Gram positive anaerobic cocci	7	0-100
<i>Streptococcus</i> sp.	7	
Gram positive facultative anaerobic cocci	6	0-100
<i>Streptococcus</i> sp.	6	

( Modified from Edwardsson, S.: Bacteriological studies on deep areas of carious dentine. Odontol. Revy 25 : Suppl. 32, 1-143, 1974)

結果が示されている<sup>9,10)</sup>。そのほか採取方法は異なるが、*Lactobacillus* をう蝕象牙質内におけるもっとも優勢な菌種としてあげている報告<sup>11,12)</sup> がいくつかみられる。われわれも、数例のヒトの深部う蝕象牙質内から *Lactobacillus casei* や *Streptococcus mutans* などいくつかの菌種を分離・同定した。

いずれにせよ、このように深部う蝕象牙質内の細菌叢が、歯表面のそれとかなり異なって嫌気性菌が優位を占めていることがしだいに明らかになってきた。したがって今後は、現在よりもはるかに多くのヒト集団を対象とした研究が、一定の試料採取方法と培養方法をもとに行われる必要があるだろう。これまでの報告ではこれらの条件はほとんど統一されていない。そのデータが豊富になるにしたがって、深部う蝕象牙質内における細菌叢の実態も、さらにはう蝕の進行過程におけるいわゆる pioneer bacteria の同定も、今よりもずっと明確になってくるものと思われる。歯周疾患の病因論をめぐる研究動向は、すでにそういった方向へ大きく転回し、多くのすぐれた成果を生み出しているからである。

## III. in vitro における象牙質う蝕の誘発

周知のように現在では、う蝕病因論のなかで *Streptococcus mutans* がう蝕原性細菌として占める位置は決定的である。一方、これに比べて、*Lactobacillus* がう

蝕の初発に關与する役割は非常に小さいとする意見が多い<sup>13)</sup>。しかし、これまでの深部う蝕象牙質内における検出結果でみる限り、象牙質う蝕の進行に際して *Lactobacillus* が果たす役割は、必ずしも小さくはないと思われる。

そこでわれわれは、多数の口腔常在菌のなかから、この *Lactobacillus* を含むいくつかの菌種を選び、これらの象牙質う蝕誘発能の有無を、人工的に露出させた象牙細管内への各細菌の侵入能という面にしぼり、形態学的、生化学的に調べることにした。まず最初に行ったのは被検菌株がどのような条件下でもっともよく細管内へ侵入しうるか、また脱灰能を強めうるかを調べるための実験である。

### A. 試料 (dentin block) の作成法

試料には矯正学的理由で抜歯されたヒトの健全な幼若小白歯を用いた。これらの歯を、Fig. 1 に示したような形態に歯根を切断し歯髄を除去したのち、パラフィンワックスでこの部分を封鎖した。ついで歯冠の全周にわたって象牙質に達するノッチを入れ、このノッチに沿って歯を割断して象牙細管の横断面を露出させた。なお、これらの操作はすべて無菌的に行った。

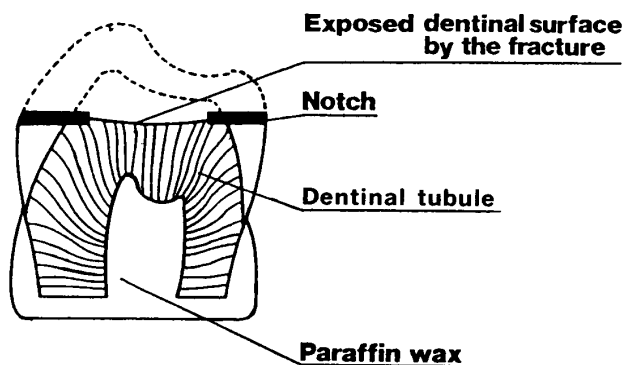


Fig. 1 Schematic representation of dentin block

### B. 培養条件

A. に述べた方法で作成した dentin block を滅菌したのち、チオグリコート培地中で前培養して、blockの無菌状態が保たれていることを確認した。ついで、これらの無菌 dentin block を B. H. I. ブロースに入れ、そのなかに被検菌株を代表して前述の *L. casei* の臨床分離株を接種した。培養は21日間、37℃

Table 2 Culture conditions of dentin block associated with clinically isolated strain of *L. casei*

Experimental Group	0.5% Sucrose	Exchange of culture medium	Aerobic(☆) or Anaerobic(★)
A	+	+	☆
B	+	-	☆
C	+	+	★
D	+	-	★
E	-	+	☆
F	-	-	☆
G	-	+	★
H	-	-	★

で行ったが、このときTable 2 に示したような組み合わせで計8通りの実験群を設けた。実験期間中、各群について培地中の pH の経時的な変動を測定し、培養条件の違いによってその値に違いが生ずるかどうかを調べた。また培養終了(21日)後には、走査型電顕(SEM)と光顕で細管内への菌の侵入の有無や脱灰の程度などを観察した。

その結果、培地にスクロースを加えた実験(A~D)群の平均最終 pH は約4.3、加えなかった(E~H)群の平均値は約5.2で、培地交換(3日ごとに半量ずつ交換)の有無や好気培養であるかどうかの条件は、培地中の pH の低下にまったく影響を及ぼさないことがわかった(Table 3)。これは培地にスクロースを加えることによって、細菌の代謝過程におけるエネルギー源としての糖の量が増えたためと考えられる。形態学

Table 3 Degree of decalcification and bacterial invasion of dentin block

Experimental Group	Decalcification	Bacterial invasion	Final pH of Culture broth
A	+	+	4.27
B	+	-	4.24
C	++	+	4.30
D	++	-	4.25
E	+	+	5.19
F	+	-	5.15
G	+	+	5.21
H	+	-	5.26

的所見では、脱灰はすべての実験群で種々の程度で認められた。また細管内への菌の侵入は、一定の間隔で栄養成分が補給される培地交換 (A, C, E, G) 群ではすべてに認められたが、非交換 (B, D, F, H) 群では非常におこりにくいようであった (Fig. 2, Table 3)。

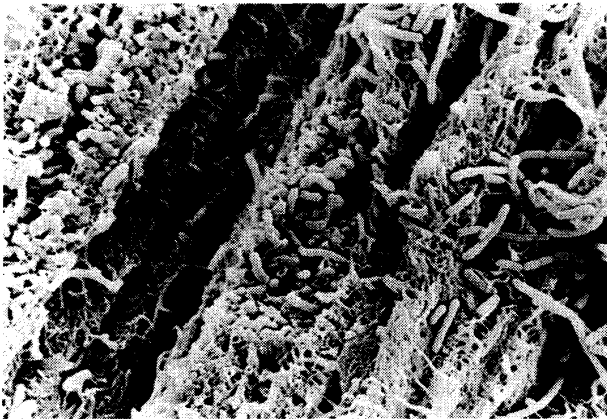


Fig. 2 SEM of the longitudinally fractured tubules. Clinically isolated strain of *L. casei* are present in the dentinal tubules: experimental group; C.  $\times 5,440$ .

したがって以上の結果から、この実験系におけるおおまかな至適培養条件はつかめたと考えられたので、ついで下記に述べるような実験にうつった。すなわち、*Lactobacillus casei* の標準株である PSR3002 株 (以下 *L. casei* PSR 3002 と略) と、代表的な口腔細菌の標準株である *Streptococcus mutans* 6715 株 (以下 *S. mutans* 6715 と略) および *Staphylococcus aureus* 209P 株 (以下 *S. aureus* 209P と略)、さらにさきの *L. casei* の臨床分離株を用いて、これらの菌株の象牙質う蝕誘発能の有無を形態学的、生化学的に調べた。培養はさきの実験で示唆されたことから 21 日間、37℃、嫌気条件 (10% CO<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub>, 80% N<sub>2</sub>) 下で行い、培養終了時まで 3 日ごとに培地の一部をグラム染色して純培養であることを確認した。またこのとき同時に培地の pH を測定し、そのあと、その半量ずつを新鮮な培地と交換した。培養終了 (21 日) 後、培地から dentin block を取り出し、通法により SEM および顕微鏡用の標本を作製した。以下に本実験でえられた結果を示す。

C. 各種細菌の酸産生能

Fig. 3 は、使用した各菌株間における酸産生能の

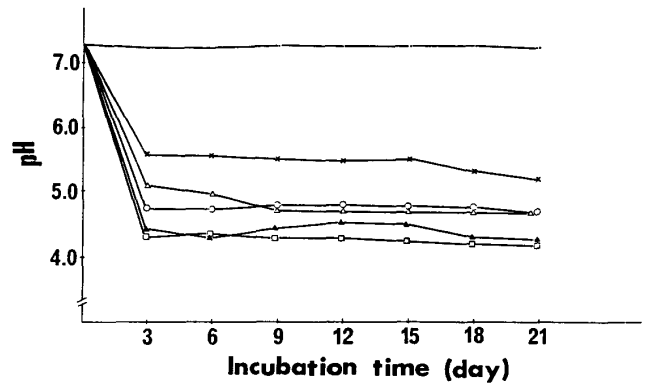


Fig. 3 pH changes of culture broth associated with the growth of organisms in dentin block :  $\Delta$ - $\Delta$ , *L. casei* PSR 3002;  $\blacktriangle$ - $\blacktriangle$ , *L. casei* (clinically isolated strain);  $\square$ - $\square$ , *S. mutans* 6715;  $\circ$ - $\circ$ , *A. viscosus* ATCC 19246;  $\times$ - $\times$ , *S. aureus* 209 P;  $\cdot$ - $\cdot$ , control.

違いを、培地中の pH の変化を経時的に測定することによって調べたものである。用いた 5 種の菌株のうちでは *S. mutans* 6715 と *L. casei* 臨床分離株の pH がもっとも低く、その最終値は約 4.3 であった。ついで *L. casei* PSR 3002 と *A. viscosus* ATCC 19246 が約 4.7 を示し、*S. aureus* 209P は約 5.3 であった。この値は歯に脱灰がおこる際の臨界 pH 5.5 に非常に近接した値といえる。

なおこのような現象は、各菌株間における酸産生能の違いを、各培地中に溶出した Ca 量の差として調べた場合にも認められた。すなわち各 dentin block の単位面積 (cm<sup>2</sup>) 当たりの Ca 溶出量は、*L. casei* PSR 3002 や *S. mutans* 6715 などを接種した群が *S. aureus* 209P 接種群よりも多く、約 2 倍量に達していた。

したがって以上のことから、われわれの用いたこの実験系のなかで、培地中に投入されたおのおのの dentin block は、同時に接種された種々の細菌 (この場合とくに *L. casei* PSR 3002 や *S. mutans* 6715 など) の産生する酸によって徐々に脱灰されていったことがあらためて確認できたわけである。以下その所見を SEM 写真によって述べる。

D. 象牙細管内への細菌侵入

ここでは代表例として、最初に *L. casei* PSR 3002 接種例の所見をあげる。まず Fig. 4 で示したように、接種された *L. casei* PSR 3002 は、脱灰されて管周象牙質の大部分が消失した露出象牙質面の細管開口部か

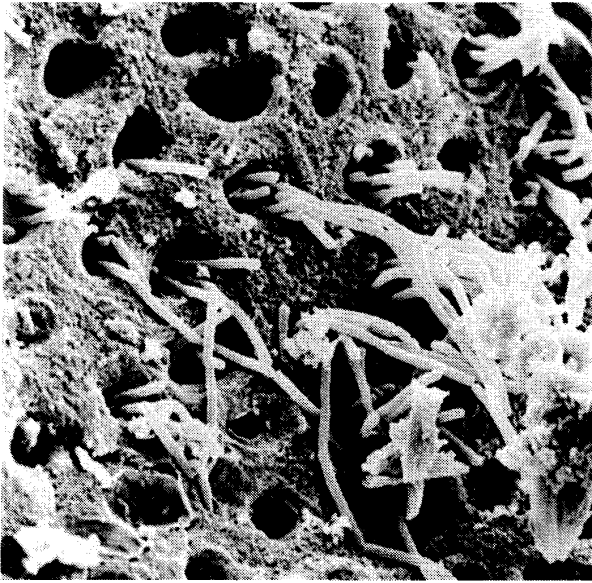


Fig. 4 SEM of the exposed dentinal surface. *L. casei* strain PSR 3002 are invading into the dentinal tubules. Peritubular dentins are partially dissolved.  $\times 5,700$

ら、細管内部へ大量に侵入しているのが観察された。さらにこれを縦断標本でみてみると、これらの細菌群は、周囲の細管壁を溶解しながらしだいに深部へ増殖、侵入をつづけていた (Fig. 5)。このときの細菌の侵入度はもっとも深い部位で約 $200\mu$ であった。なお、これとほぼ同様の所見は、*L. casei* 臨床分離株と *S. mutans* 6715 接種群でも認められたが、いずれの侵入度ともまだ低く、各菌株間にとくに優劣はないようであった (Fig. 6, 7)。



Fig. 5 SEM of the longitudinally fractured dentinal tubules with ingrowing *L. casei* strain PSR 3002. Destruction caused by bacterial products is present in the peritubular and intertubular dentin.  $\times 5,440$



Fig. 6 SEM of longitudinally fractured dentinal tubules with ingrowing *S. mutans* strain 6715. The fibrillar structure of the intertubular dentin is visible.  $\times 5,440$

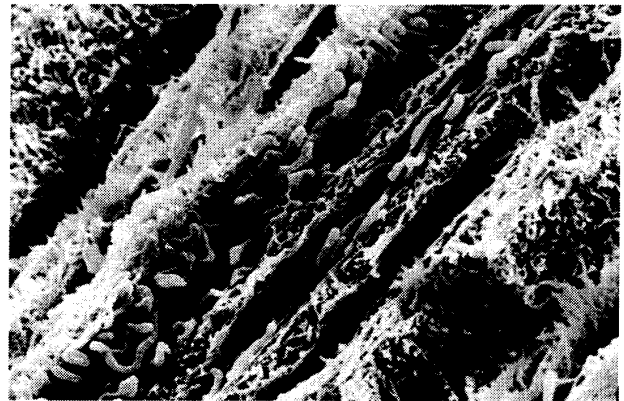


Fig. 7 SEM of the longitudinally fractured dentinal tubules. Clinically isolated strain of *L. casei* are also invading the tubules.  $\times 5,440$

以上のように、われわれはこれまでに *in vitro* の実験系を用いて、象牙質う蝕誘発に関するいくつかの基礎的知見をうることができた。しかしこれまでにえられたデータでは、いずれの菌株の象牙細管内への侵入率、侵入距離とも非常に低値だったため、各菌株間におけるう蝕誘発能の強弱を判定するまでにはいたらなかった。この原因としては、生体内で咀嚼時などに通常生じている hydrostatic pressure<sup>14-16)</sup> が、本実験のような *in vitro* の条件下ではまったく生じていないことなどもあげられよう。そこでこの問題を解決する方法として、最近、簡単な長期 (90日) 培養実験を行ってみたところ、用いた *S. mutans* 6715 と *L. casei* PSR 3002 の両菌株とも、短期 (21日) 培養例に比べ著しい細管侵入能を示すことがわかった (Fig. 8)。したがって現在は、この長期培養システ

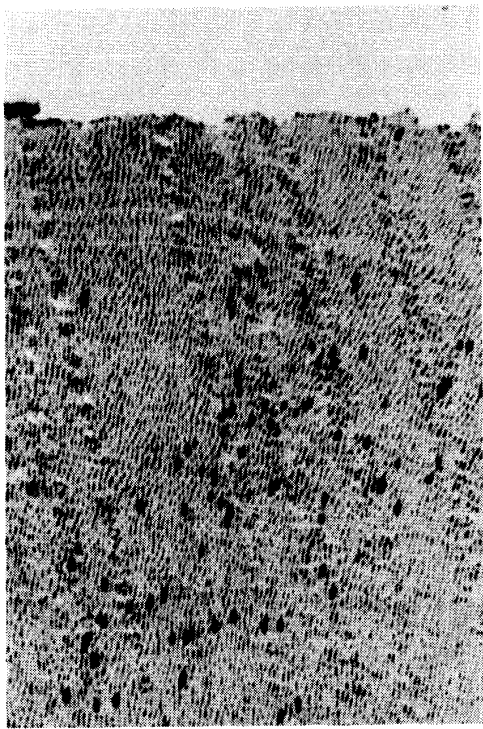


Fig. 8 Invasion into dentinal tubules of *L. casei* strain PSR 3002 after ninety days inoculation.  $\times 300$

ムを用いて象牙質う蝕進行過程の解析をすすめている。

#### IV. 歯髄の生・死と細菌侵入

Ⅲ. で述べた実験方法は、*in vitro* の条件下で各細菌間の象牙細管内への侵入能を比較検討することを主な目的として設定したため、細菌に侵入される側の象牙細管内部の解剖学的問題についてはとくに考慮は行われなかった。しかし実際の生体内における象牙細管内部には、象牙芽細胞突起やコラーゲン細繊維、dental fluid などが存在して、それぞれが多彩な機能を営んでいる。また加齢や各種刺激に対する生理的諸変化も、そこでは当然おこっていると考えられる。したがって歯髄に生じた種々の変化は、象牙細管を通じてこれらの構成々分にも、さまざまな影響を及ぼしていることが十分予想される。

これまで一般に、歯髄が生活機能を営んでいる生活歯(有髄歯)では、象牙細管内部に象牙芽細胞の突起などが存在し、さらに歯髄側からは一定の圧でdental fluid が流入しているために、これらを欠いた失活歯(無髄歯)よりも、露出象牙質表面から細管内部への細菌の侵入程度は劣るとされてきた<sup>14), 15), 17), 18)</sup>。しかし一方では、歯髄側からつねに栄養成分が供給されるた

め、生活歯のほうが失活歯よりも細菌は細管のより深部まで侵入するという報告<sup>19), 20)</sup>もある。

そこでわれわれは、さきの *in vitro* の実験と併行して、補綴学的に不要と診断されたヒトの健全な永久歯(8 | 8)を用いて、歯髄の生死が以後の象牙質う蝕の進行の程度(露出象牙質面から細管内部への細菌の侵入の程度)にどのような影響を及ぼすかを組織学的に調べてみた。実験にあたっては、まず被験歯(8 | 8)のいずれか一方を抜髄、根管充填して失活歯とし、未処理の反対側同名歯とともに口蓋側歯面に、象牙質に達する5級窩洞を形成した(Fig. 9)。ついで仮封をしないまま一定期間(短期例として30日間、長期例として150日間)放置後、これらの被験歯を抜歯し、窩洞形成後の露出象牙質面から細管内部への細菌侵入の程度、象牙質基質の変化の状態などを、顕微鏡およびSEMで観察した。なお細管内部への細菌侵入率は、細菌染色(Brown-Brenn染色)を行った連続切片のうち、細菌がもっとも深部まで侵入した標本と、その前

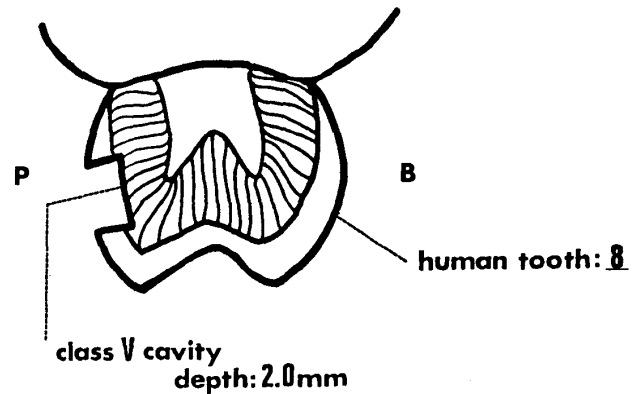


Fig. 9 Schematic illustration of the method of dentin exposure: P, palatal side; B, buccal side.

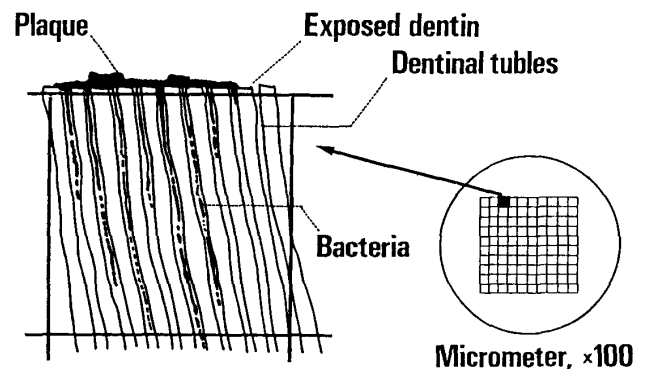


Fig. 10 Schematic illustration of the method used to measure the degree of bacterial invasion.

後各10枚目の標本, 計3枚を接眼マイクロメーターを装着した顕微鏡( $\times 100$ )下で観察し, えられた数値をもとに算定した(Fig. 10)。その結果をまとめたものが Fig. 11である。短期例では生活歯群(Fig. 12), 失活

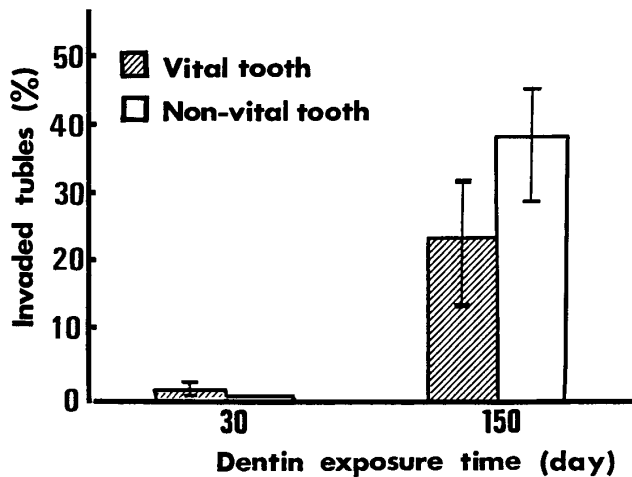


Fig. 11 Degree of bacterial invasion into the exposed dentinal tubules.

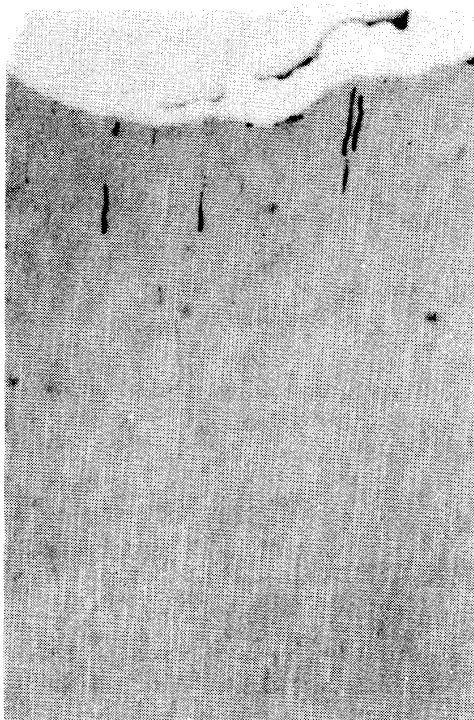


Fig. 12 Vital tooth cavity, exposed for 30 days. Bacteria are present only in a few tubules. Percentage of invaded tubules; 1.1%, Brown & Brenn stain.  $\times 300$ .

歯群ともに細菌侵入率は非常に低く(約1.0%), 両群間にはほとんど差がみられなかった。しかし長期例になると, 失活歯群(Fig. 13, 14)の方が生活歯群に比べ有意(危険率0.1%以下)に高い細菌侵入率(38.5%対23.5%)を示し, なかには侵入距離が約1.4mmの深さに及んでいる例もあった(Fig. 13)。

このように, われわれは今回行った実験結果から, 歯髓の生死は象牙質う蝕の進行に大きな影響を及ぼしうることを, そして失活歯のう蝕進行速度は生活歯に比べ著しく促進される傾向にあるという知見を与えることができた。この原因としては, 歯髓が失活すると, それにともなって細管内部の象牙芽細胞突起が変性, 収縮し, さらに免疫成分や抗菌性物質を含んだ dentinal fluid が消失することなどがあげられよう。

象牙細管内への細菌侵入度を左右する重要な因子のひとつである象牙芽細胞突起が, 象牙細管のどの部位にまで分布しているかという問題は, 象牙質の痛覚の面からも多くの研究者の関心をよんでいる問題であるが, 現在もなお明らかな決着はついていない<sup>21-23)</sup>。塩酸・コラゲナーゼ法の利用はこの問題を解明するう

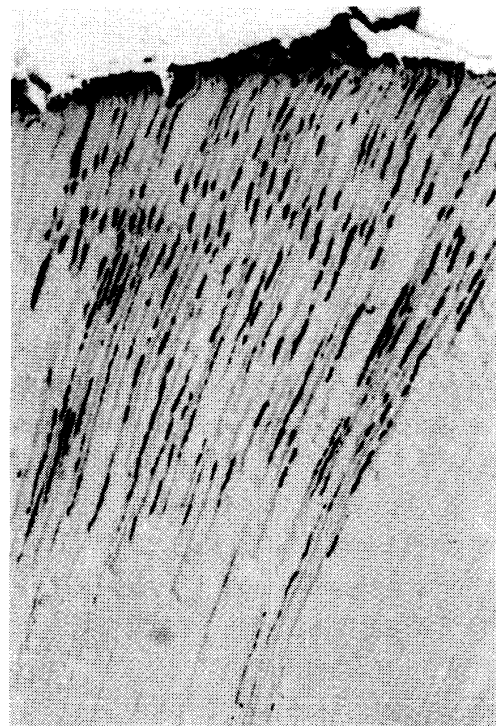


Fig. 13 Non-vital tooth cavity, exposed for 150 days. Bacteria are unevenly distributed over the surface, and chains of bacteria are present in many of the tubules at various levels. Percentage of invaded tubules; 39.0%, Brown & Brenn stain.  $\times 300$ .





Fig. 14 SEM of the non-vital tooth cavity, exposed for 150 days. Bacteria of coccal type and many rods invading the tubules.  $\times 5,440$ .

えでも、またわれわれの目的とする生活歯における象牙芽細胞突起と細菌侵入との関係を明らかにするうえでも有用な手法となる可能性がある。

## V. おわりに

象牙質う蝕の発症・進行から歯髄炎発症にいたる一連の動的過程を解析するために、これまでわれわれが行ってきた研究の概要について述べてきた。われわれ自身が行った実験結果を軸に話をすすめすぎたために、他の多くの論文の内容についてはほとんど紹介することができなかった。

実験にさいし、われわれが現在までに用いてきた菌種は *L. casei*, *S. mutans* などわずか数種にすぎず、しかも *in vitro* という限られた条件下で、個々の菌を別個に切り離してその生物学的諸性状のごく一部を調べたにすぎない。しかし、もとより生体内の口腔細菌叢はきわめて複雑であり、しかもそこではたえず細菌相互の拮抗作用や遷移現象が生じている。単感染ではつよい蝕原性を発揮する菌も、他の菌種とのかかわり合いのなかでそのままのう蝕原性を示すかどうかは必ずしも明らかでない<sup>24)</sup>。現にわれわれが行ったラットにおけるう蝕誘発実験でも、*S. mutans* 6715は *L. casei*

PSR 3002とともに混合感染させると、*S. mutans* 単独で感染させた場合よりも、う蝕原性を弱めることを示唆する所見をえている。したがって今後は、このような細菌間の相互作用の解析も *in vitro* および *in vivo* の両面からすすめていく必要がある。このとき、酵素抗体法をはじめとする免疫組織化学的手法はきわめて有用な手法になりうると思われる。(本稿に記した研究の経費の一部は文部省科学研究費補助金 No. 58570801, 58771348, 59771413, 60771591によるものである 記して謝意を表する。)

## 引用文献

- 1) Edwardsson, S.: Bacteriological studies on deep areas of carious dentin. *Odontol. Revy*, 25 (Suppl. 32) 1-143, 1974
- 2) Gibbons, R. J.: Bacteriology of dental caries. *J. Dent. Res.* 43, 1021-1028, 1964
- 3) Ducin, S. & J. Van Houte.: Relationship of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* to incipient smooth surface dental caries in man. *Arch. Oral Biol.* 23, 779-786, 1978
- 4) 劉宏志, 鬼ヶ原左知子, 長岡成孝, 川越昌宜: *In vitro* における象牙質う蝕の誘発 (1), *日歯保誌*, 26, 643, 1983 (抄)
- 5) 鬼ヶ原左知子, 劉宏志, 西岡慎一, 長岡成孝, 川越昌宜: *In vitro* における象牙質う蝕の誘発 (2), *日歯保誌*, 27, 256-257, 1984 (抄)
- 6) 渡辺敦子, 劉宏志, 鬼ヶ原左知子, 塚田洋子, 長岡成孝, 川越昌宜: *In vitro* における象牙質う蝕の誘発 (3), *日歯保誌*, 27, 700, 1984 (抄)
- 7) 劉宏志, 塚田洋子, 渡辺敦子, 古村左知子, 西岡慎一, 宮崎洋一, 北見真一, 諏訪素子, 長岡成孝, 川越昌宜: 実験う蝕における *Streptococcus mutans* と *Lactobacillus casei* の相互作用, *日歯保誌*, 28, 287-288, 1985 (抄)
- 8) 宮崎洋一, 諏訪素子, 北見真一, 竹下敦子, 塚田洋子, 劉宏志, 長岡成孝, 川越昌宜: 歯髄の生・死が象牙質う蝕の進行に及ぼす影響, *日歯保誌*, 28, 1136-1137, 1985 (抄)
- 9) McKay, G. S.: The histology and microbiology of acute occlusal dentine lesions in human permanent molar teeth, *Arch. Oral Biol.* 21, 51-58, 1976
- 10) Hoshino, E.: Predominant obligate anaerobes in human carious dentin, *J. Dent. Res.* 64, 1195-1198, 1985



- 11) Shovlin, F. E., & Gillis, R. E.: Biochemical and antigenic studies of *lactobacilli* isolated from deep dental caries: I. Biochemical aspects, J. Dent. Res. 356-360, 1969
- 12) Loeshe, W. J. & Syed, S. A.: The predominant cultivable flora of carious plaque and dentine, Caries Res. 7, 201-216, 1973
- 13) 大嶋隆: 実験動物のおけるう蝕の誘発; う蝕と歯周病—研究の進歩— 2, 初版, 浜田茂幸編, 1-29, 日本歯科評論社, 東京, 1982
- 14) Olgart, L., Brannstrom, M. & Johnson, G.: Invasion of bacteria into dentinal tubules; Experiments *in vivo* and *in vitro*, Acta Odontol. Scand. 32, 61-70, 1973
- 15) Michelich, V. J., Schluster, G. S. & Pashley, D. H.: Bacterial penetration of human dentin *in vitro*, J. Dent. Res. 59, 1398-1403, 1980
- 16) Trowbridge, H. O.: Chap. 10, Pulp histology and physiology., In: Pathways of the pulp, 3rd Ed., Cohen, S. & Burns, R. C. Ed. 323-378, C. V. Mosby, St. Louis, 1984
- 17) Michelich, V., Pashley, D. H. & Whiford, G. M.: Dentine permeability; A comparison of functional versus anatomical tubular radii, J. Dent. Res. 57, 1019-1024, 1978
- 18) Chirnside, I. M.: Bacterial invasion of non-vital dentin, J. Dent. Res. 40, 134-140, 1961
- 19) Brown, L. R., Wachtel, L. W. & Whiford, G. M.: Diffusion of niacin through extracted human teeth and its effect on bacterial penetration into dentin. J. Dent. Res. 41, 684-694, 1962
- 20) Wachtel, L. W. & Brown, L. R.: *In vitro* caries; Factors influencing the shape of the developing lesion, Arch. Oral Biol. 8, 99-107, 1963
- 21) Gunji, T. & Kobayashi, S.: Distribution and organization of odontoblast processes in human dentin, Arch. Histol. Jap. 46, 213-219, 1983
- 22) Thomas, H. F. & Carella, P.: Correlation of scanning and transmission electron microscopy of human dentinal tubules, Arch. Oral Biol. 29, 641-646, 1984
- 23) Sigal, M. J., Pitaru, S., Aubin, J. E. & Ten Cate, A. R.: A combined scanning electron microscopy and immunofluorescence study demonstrating that the odontoblast process extends to the dentinoenamel junction in human teeth, Anat. Rec. 210, 453-462, 1984
- 24) Michalek, S. M., Hirasawa, M., Kiyono, H., Ochiai, K. & McGhee, J. R.: Oral ecology and virulence of *Lactobacillus casei* and *Streptococcus mutans* in gnotobiotic rats, Infect. Immun, 33, 690-696, 1981