

# 歯髓の脂質に関する研究

## I ラット切歯歯髓の脂質ならびに脂肪酸組成の 解析と放射線全身照射による変動

岡山大学医学部口腔外科学教室 (主任) 西嶋克巳教授

(指導: 岡山大学医学部放射線医学教室山本道夫教授)

橋 本 郷 之 助

(昭和51年12月14日受稿)

### I 緒 言

口腔領域における脂質の生化学的研究は、他領域の臓器と対比すると比較的進んでいないのが現状と考える。その原因としては対象となる臓器がいずれも小臓器であり、得られる試料がごくわずかであることが一因と考える。歯髓は歯の代謝に重要な組織であり、象牙質が歯髓によって形成されること、また歯科の診療で大きな比重を占めるウ蝕およびそれから続発する歯髓疾患の処置などを考えると、歯髓を生化学的に研究することは極めて重要な事項と考える。

歯の組織学的研究から、ラットの歯のエナメル芽細胞に脂肪酸が存在すること<sup>1)</sup>、ヒトの象牙芽細胞に脂質が多くみられること<sup>2)</sup>、またその脂質は脂質-蛋白複合体を形成していること<sup>3)</sup>等が明らかにされている。さらに歯牙形成の際の石灰化過程<sup>4)</sup>にある種の脂質が関係していることが示唆されている<sup>5,6)</sup>ことは興味あることである。一方ウ蝕発生にも脂肪酸の関与が報告されている<sup>7,8)</sup>。このような報告から脂質、脂肪酸が歯の発生、成長、維持に関係していることは明らかであり、硬組織とともに歯髓脂質の生化学的役割を究明することは重要である。

歯の脂質に関する生化学的研究は1927年に Euler and Meyer<sup>9)</sup>により歯の成分として脂質が含まれていることが初めて報告されている。しかし以後歯における脂質の分布、機能、化学的組成の定性的定量的研究は比較的少ない。歯の硬組織の脂質についてはその組成や脂肪酸分析について最近報告が重ねられている<sup>10-14)</sup>。しかし歯の軟組織としての歯髓の脂質に関しては極めて少なく、Hodge<sup>15)</sup>によるヒトの歯髓における組成の研究、Shapiro and Wuthier<sup>16)</sup> Ma-

nzoli and Gelli<sup>17)</sup>による牛胎児歯髓のリン脂質組成の研究、谷本<sup>18)</sup>のカイウサギ歯髓の脂質組成の分析、その他若干の報告をみる<sup>19,20)</sup>にすぎない。

一方、歯髓に影響をおよぼす全身的な因子として、ビタミンの欠乏、ホルモンとの関係、糖尿病などから究明がなされている<sup>21)</sup>。エックス線の刺激によっても歯髓の変化が認められており<sup>22-24)</sup>、口腔領域での悪性腫瘍の放射線治療を受けた人の歯髓にも変化が認められる<sup>24)</sup>。

以上のような観点より歯髓における脂質の生化学的役割を明らかにする目的の一環として、まずラット切歯歯髓の脂質組成ならびに脂肪酸組成を解析するとともに、エックス線の全身照射にともなう歯髓脂質の変動を究明した。

### II 実験材料および実験方法

実験動物: 動物には吞竜系ラット200g~300gのものを用い、市販の固型飼料(オリエンタル, MF)ならびに水道水を自由に摂取せしめた。

上下顎切歯歯髓の採取: ラットをギロチンにて断頭、放血後、頭部を氷中にて冷却、上下顎より切歯を抜去、その切歯を破砕し歯髓を歯髓腔より抜き出すかたちで採取した。採取後直ちに0.9%冷却生理食塩液(以下生食と略す)中にてピンセットで引裂き、肉眼的に赤血球の血色がほとんど見えなくなるまで洗い出した。齧歯類の切歯は無根歯と呼ばれるものに属するから歯根はなく、押鐘は歯槽内に埋まっている部分を歯槽内植立部と呼び、露出している部分を露出部と呼んでいる<sup>25)</sup>。歯槽内植立部の端は常に未完成で歯髓は常に歯乳頭の状態にあり、歯髓は硬組織外にはみ出している。この部分は球状の軟組織でヒトの歯髓歯根膜球状体の区域に相当する。こ

れに従えば用いた歯髓は歯槽内植立部の歯髓歯根膜球状体の区域の歯髓が大部分をしめる。しかし本実験に用いた歯髓は、本来の歯髓に対して象牙芽細胞層がどの程度に付着しているか、その分離が困難なために不明である。したがって、歯髓歯根様組織を以後歯髓と略称する。

歯髓より脂質の抽出：Folch<sup>26)</sup>らの方法に準じた。採取した歯髓を5~10mlのクロロホルム：メタノール（容積比2：1）中にガラスホモゲナイザーを用いてホモゲナイズ、一日以上放置して脂質を溶出させた。濾紙にて濾過、濾過液の0.2倍量の0.73%食塩水を静かに混じ、放置、水層を除去し無水硫酸ソーダを加え脱水、濾紙にて濾過、濾液をN<sub>2</sub>ガス下にて蒸発せしめて総脂質分画として使用した。

薄層クロマトグラフィーによる脂質の分離<sup>27)</sup>：薄層はシリカゲルG（Merk, No.7731）を20×20cm、0.5mmの厚さに調製したものを用いた。また定性定量用としては市販のシリカゲルGプレート（Merk, No.5721）を用いた。単純脂質の分画展開液としてはn-ヘキサン：エチルエーテル：酢酸（容積比53：7：0.66）<sup>28)</sup>を用いた。リン脂質の分画展開液としてはクロロホルム：メタノール：水（容積比65：25：4）<sup>29)</sup>を用いた。脂質の薄層クロマトグラフ上での検出と同定には総脂質用としてヨウ素蒸気<sup>30)</sup>、リンモリブデン酸<sup>31)</sup>、ローダミン6G<sup>32)</sup>を用いた。アミノ基呈色にはニンヒドリン試薬<sup>33)</sup>、コリン呈色にはドラゲンドルフ試薬<sup>34)</sup>、糖脂質の呈色にはアンスロン-硫酸試薬<sup>35)</sup>を用いた。呈色後、アタゴ製デンシトマスター（オズモル8型）で計量し、含有組成比を算出した。

ガスクロマトグラフィーによる脂肪酸の分析：脂肪酸のメチルエステル化は5%塩酸メタノールを用い、Stoffelの方法<sup>36)</sup>に準じておこなった。エステルの抽出分離はn-ヘキサンを用いた。装置は島津ガスクロマトグラフ（GC-4B）に積分計（ITG-2A）を接続したものを用いた。カラム充填剤および液相としてDEGS-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>（20%，Mesh 60-80）を用い、200℃設定で測定した。同定には市販の標準試料（ガスクロ工業KK）を用いた。

蛋白量ならびに脂質量の測定：採取した歯髓を生食中でホモゲナイズ後、一部をとりビュレット法<sup>37)</sup>にて蛋白量を測定した。検量には牛血清アルブミン（BSA）を対照として用いた。一定量のホモゲナイズ液を目盛付共栓試験管にとり、クロロホルム：メタノール（容積比2：1）を加え激しく振盪、脂

質を溶出させた後、0.73%生食を0.2倍量加え、ゆるやかに混和放置後、クロロホルム層を検量した。水層を除去後、一定量の無水硫酸ソーダを加え脱水、検量、そのクロロホルム層の一定量をN<sub>2</sub>ガス下で蒸発、乾固、重クロム酸法<sup>38)</sup>にて脂質を検量、量的補正して蛋白量当りの脂質量を算出した。即ち重クロム酸液（2.5g重クロム酸カリウム/11濃硫酸）2mlで蒸発乾固した脂質を溶解した後、45分間沸騰水中で加熱、冷却後、その10倍量の水を加え希釈、島津分光光度計（UV-200）を用いて350mμの吸光度を測定、反応システム当りのパルチミン酸量より求めた検量線より脂質量を求めた。

エックス線照射：東芝製KXO19型深部エックス線治療装置を使用した。照射条件は管電圧200KV、管電流25mA、フィルター0.5mmCu+0.5mmAlでFSD50cm、線量率76R/minで一時間一座全量1000R照射した。照射群としては照射後3日目の歯髓について検討した。頭部局所照射はネプタール麻酔したラットを上向けに固定し、歯部を直径1.5cmの円形の穴より露出させた状態で、その他の部分を鉛板で遮蔽し、一時間一座全量1000R照射した。全身照射同様、照射後3日目のものについて検討した。

### III 結 果

ラット切歯歯髓の蛋白質量当りの総脂質量の比を対照、全身照射両群（各4匹）について平均値を求めた（表1）。その比は両群とも0.26を示し、両者間に変動はみられなかった。

ラット切歯歯髓より抽出せる総脂質の脂肪酸組成の分析結果を表2に示す。対照、照射両群ともラット1匹の切歯歯髓（上下4本）を集め分析し、ラット5匹について平均値を求めた。ガスクロマトグラフィーにおいて得られた主ピークについて検討した結果、脂肪酸含量として多いものは、パルチミン酸（C16：0）、オレイン酸（C18：1）、ステアリン酸

Table 1. Rate of lipid-to-protein in the incisor pulps of rat. Lipid weight and protein weight were determined by the dichromate oxidizing method and the Biuret method, respectively. Mean ± S. D. was calculated in 4 rats.

Groups	Rate of lipid-to-protein
Control	0.259 ± 0.025
Irradiated	0.255 ± 0.006

Table 2. Effect of whole-body irradiation (1000R) on the fatty acid composition of the incisor pulps of rats. The values are mean  $\pm$  S. D. of five rats.

Carbon number	Fatty acid composition (%)	
	Control	Irradiated
14:0	2.9 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.6
16:0	35.3 $\pm$ 0.7	35.0 $\pm$ 0.8
16:1	2.2 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.2
18:0	19.8 $\pm$ 0.8	19.2 $\pm$ 0.4
18:1	23.1 $\pm$ 0.7	18.2 $\pm$ 0.5
18:2	6.5 $\pm$ 0.8	8.9 $\pm$ 1.4
20:4	10.2 $\pm$ 0.2	13.9 $\pm$ 1.2

Table 3. Effect of local irradiation to the oral region on the fatty acid composition of rat dental pulps. The values are mean  $\pm$  S. D. of five rats.

Carbon number	Fatty acid composition (%)	
	Control	Irradiated
14:0	2.4 $\pm$ 0.3	3.1 $\pm$ 0.7
16:0	35.5 $\pm$ 1.2	35.7 $\pm$ 0.4
16:1	2.2 $\pm$ 0.9	2.6 $\pm$ 1.4
18:0	18.1 $\pm$ 0.8	16.1 $\pm$ 0.9
18:1	23.1 $\pm$ 0.5	18.6 $\pm$ 0.6
18:2	6.4 $\pm$ 0.5	5.8 $\pm$ 0.7
20:4	12.2 $\pm$ 0.9	18.0 $\pm$ 0.5

Table 4. Change of the single lipid composition of rat incisor pulps after whole-body irradiation. Fractions were separated by a thin-layer chromatography developed with the solvent composed of n-hexane/ethylether/acetic acid (53/7/0.66, V/V/V), and composition is expressed as percentages of the total lipids.

Fractions	Relative percentage of the composition	
	Control	Irradiated
Phospholipid	44.8	44.4
Monoglyceride	3.8	3.1
Cholesterol	30.4	21.1
Diglyceride	4.3	3.8
Fatty acid	0.5	0.9
Triglyceride	8.5	9.6
Cholesterol ester	7.7	17.2

(C 18:0), アラキドン酸 (C 20:4) の順で, リノール酸 (C 18:2) は少なかった。

エックス線全身照射後 3 日目のラット切歯歯髄の総脂質の脂肪酸組成比は対照に比して, パルミチン酸, ステアリン酸など飽和脂肪酸の変動はみられなかったが, オレイン酸が明らかに減少し, ステアリン酸の含量比より少なく, またアラキドン酸の含量比の増加がみられ不飽和脂肪酸の変動が認められた。

エックス線全身照射による切歯歯髄の脂肪酸の変動が直接切歯歯髄におよぼすエックス線の効果かどうかをみるために, 口腔部局所照射を試みた。その結果得られた歯髄の総脂質の脂肪酸組成比を表 3 に示す。対照群において表 2 の数値と若干異なる結果が得られているが, その組成比の傾向は変っていない。いずれにせよ対照群と照射群を比較した場合, 全身照射と同様にオレイン酸の減少, アラキドン酸の増加と不飽和脂肪酸の変動が明らかにかがわれる。

10匹のラット切歯歯髄を集め, それより抽出した総脂質について単純脂質分画をおこなった。薄層クロマトグラフィー展開分画後のリンモリブデン呈色により定量の結果, 得られた各単純脂質の組成比を表 4 に示す。対照群においてリン脂質は約 45% をしめる。単純脂質の中ではコレステロールが大部分をしめ (全脂質の 30%), ついでトリグリセリド, コレステロールエステルが多く, いずれも全脂質の 10% 弱で, 遊離脂肪酸は極く僅かであった。これに対し全身照射群ではリン脂質の含有比は対照群に比して変化はみられなかったが, 明らかにコレステロールの著しい減少とコレステロールエステルの増加がみとめられ, トリグリセリドの変化は著明ではなかった。

ラット切歯歯髄 (10匹分) のリン脂質組成についての検討結果を表 5 に示す。表 5 の展開図にみられる主画分について各呈色反応をおこない, 表に示す如く仮同定した。

これらのリン脂質組成比をリンモリブデン呈色後の画分について求めた (図 6)。ラット切歯歯髄のリン脂質の多くは, レシチン (PC), セファリン (ホスファチジルエタノールアミン (PE), ホスフ

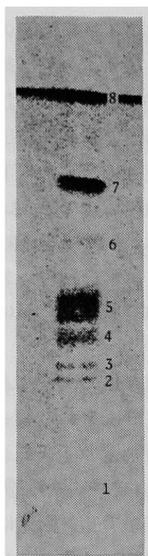


Table 5. Characteristics and identification of the major lipid components of rat incisor pulps. Fractionation was carried out by a thin-layer chromatography developed with the solvent composed of chloroform/methanol/water (65/25/4, V/V/V).

Spot No.	Staining characteristic					Tentative identification
	Rhodamine 6 G	I <sub>2</sub>	Ninhydrin	Dragendorff	Anthrone	
1	Yellow	+	-	-	-	Origin
2	Yellow	+	-	+	-	Lysolecithin
3	Yellow	+	-	+	-	Sphingomyelin
4	Blue	+	+	-	-	Phosphatidyl serine
5	Yellow	+	-	+	-	Lecithin
6	Blue	+	-	-	-	Phosphatidyl glycerol
7	Yellow	+	+	-	-	Phosphatidyl ethanolamine
8	Yellow	+	-	-	-	Neutral lipid

Table 6. The phospholipid compositions of the incisor pulps of normal and whole-body irradiated rats. Composition is expressed as percentages of the total phospholipids.

Fractions	Relative percentage of the composition	
	Control	Irradiated
Lysolecithin	2.5	2.1
Sphingomyelin	2.2	2.5
Phosphatidyl serine	15.4	12.6
Lecithin	45.1	49.3
Phosphatidyl glycerol	3.2	2.5
Phosphatidyl ethanolamine	31.8	30.5

ァチジルセリン (PS) がしめ、その両者はほとんど同比を示した。

全身照射後のリン脂質画分の組成変動はレシチン (PC) の若干の増加、ホスファチジルセリン (PS) の若干の減少がうかがわれる。

#### IV 考 察

ラット切歯歯髓の総脂質の構成脂肪酸をガスクロマトグラフィーで分析した結果得られる主ピークについてその組成比をみると、正常ラットでパルミチン酸が一番多く、ついでオレイン酸、ステアリン酸が多く、この三者で約78%をしめた。ついでアラキドン酸、リノール酸の順であり、リノール酸はラット肝などと比較すると少ないと言える。歯髓の脂肪酸組成について、谷本<sup>10)</sup>はカイウサギにおいてパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、アラキドン酸が多いことを報告しているが、その組成比は明らかにしていない。また、Graziano<sup>11)</sup>は牛歯髓の脂

肪酸組成でパルミチン酸、オレイン酸、ステアリン酸の順に多いこと、この三者で約63%の数値をしめると報告し、リノール酸は少ないことを認めている。これらのことから歯髓においてはパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸の三者が主要脂肪酸を形成することが明らかである。一方 Das and Harris<sup>10)</sup>が報告している動物16種の歯の硬組織の脂質脂肪酸組成ではパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸の三者内に動物種によって相対量的変動はみられるものの、この三脂肪酸が70~96%しめることが明らかにされ、また Prout and Shutt<sup>12)</sup>のラットのエナメル質と象牙質における脂肪酸組成で同様の報告がみられるのと比較して、歯髓の脂肪酸構成が歯の硬組織のそれと類似していることは興味あることであり、歯髓と硬組織部の脂質の密接な関係が示唆される。

ラットの健康状態は肉眼的に見てエックス線 (亜致死線量) 全身照射後 3 日目が最悪を予想される時期で、

その後一過性に回復が観察される<sup>39)40)</sup>。1000 R 全身照射後 3 日目のラット切歯歯髄より抽出された脂肪酸組成比はオレイン酸含有比の減少とアラキドン酸含有比の増加を示し、高級不飽和脂肪酸に照射の影響が認められた。他の臓器の脂肪酸構成におよぼすエックス線全身照射の影響は測定条件の差のためか、報告によっては臓器の脂肪酸の組成比において不飽和脂肪酸の増加、逆にその減少と相反する報告がなされているが、いずれの場合も不飽和脂肪酸の変動がみられている<sup>39)40)</sup>。エックス線全身照射における歯髄脂肪酸組成比の変化は、口腔領域への部分照射によってもその差こそあれ同じ不飽和脂肪酸の変動がみられることから、歯髄への直接的なエックス線の影響が他の臓器の変動による全身的影響とともに考えられる。

ラット切歯歯髄の薄層クロマトグラフィーによる分析の結果、正常ラットにおいてリン脂質が総脂質の 45% をしめることが示された。単純脂質の中ではコレステロール (C) 30%、トリグリセリド (TG) 9%、コレステロールエステル (CE) 8% が示された。Hodge<sup>15)</sup> はヒト歯髄の脂質においてリン脂質は 78% をしめ、コレステロールが 12% をしめることを報告し、また Manzoli and Gelli<sup>17)</sup> は牛胎児歯髄脂質におけるリン脂質は 55%、コレステロールは 27% の報告をしているが、それらの傾向とラット歯髄で得られた結果は類似している。谷本<sup>18)</sup> もカイウサギ歯髄の脂質分析でその脂質はリン脂質、コレステロールエステル、コレステロール、トリグリセリドからなることを認めている。これらの報告を合わせると、歯髄の単純脂質としてはコレステロール、トリグリセリド、コレステロールエステルが主構成成分であることは明らかである。

エックス線全身照射にともなう切歯歯髄脂質組成比の変動はリン脂質、トリグリセリドにはあまりみられず、コレステロール含有比の著しい減少とそれに見合うコレステロールエステルの増加が認められた。このことはエックス線照射により歯髄コレステロールのエステル化が促進されたことを示唆する。エックス線照射にともなうコレステロールの肝、副腎における生合成は亢進されることが見出されているが、腸では軽度の低下がみられている<sup>41)</sup> また肝コレステロール含量について全身照射後、遊離型は変化しないが、エステル型は減少することを Berndt は観察している<sup>42)</sup>。本実験で観察されたコレステロールエステルの増加は、Berndt の報告と傾向を異にするが、コレステロールエステルについての代謝が

臓器によって差があるのかもしれない。いずれにしても先の脂肪酸の変化やコレステロールの変化等、複雑な生化学的要素が致死あるいは亜致死線量のエックス線の作用後でも十分機能を有し、活性の変化がみられることはそれら代謝調節の照射による変動<sup>43)</sup> が示唆される。

ラット切歯歯髄リン脂質の薄層クロマトグラフィー展開分画後の主リン脂質は、各種の呈色反応より、リゾレシチン (LysoPC)、スフィンゴミエリン (Sph)、ホスファチジルセリン (PS)、レシチン (PC)、ホスファチジルグリセロール (PG)、ホスファチジルエタノールアミン (PE) と仮同定した。正常ラット歯髄のこれらリン脂質の組成比は、レシチン 45%、ホスファチジルエタノールアミン 32%、ホスファチジルセリン 15% とこの三者が多いことが示された。谷本<sup>18)</sup> もカイウサギの歯髄リン脂質をレシチン、ホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリンの三者を約 81:14:5 の比で認めている。これに比してラット歯髄での実験結果は、レシチンに比してホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリンの含量が多い。このことはラットの歯の硬組織において、脱灰のあるなしで特にリン脂質の抽出のされ方が異なることがみられている<sup>11)</sup> と同様、また牛歯髄 (凍結乾燥) のエチレンジアミン 4 酢酸 (EDTA) 処理により、特にホスファチジルセリンとホスファチジン酸 (PA) の抽出がみられている<sup>16)</sup> ように、抽出のされ方に問題があるのかもしれない。ラットでの本実験も脱灰操作はしなかったが、ホスファチジルセリンが抽出されていることから、牛胎児歯髄における Shapiro and Wuthier<sup>16)</sup> の報告 (レシチン 39%、ホスファチジルエタノールアミン 11%、ホスファチジルセリン 13%)、Manzoli and Gelli<sup>17)</sup> の報告 (レシチン 33%、ホスファチジルエタノールアミン 26%、ホスファチジルセリン 10%) と傾向が一致する。Shapiro and Wuthier<sup>16)</sup> も指摘するように、歯髄脂質におけるホスファチジルセリンの含量は他の哺乳動物の軟組織の脂質における含量より非常に高い値を示す。このことはホスファチジルセリンが脱灰の操作により抽出され易くなることも合わせて歯の発生成長に重要な関連があるのかもしれない。

エックス線全身照射後、歯髄リン脂質組成は若干のレシチンの増加とホスファチジルセリンの減少が認められている。エックス線照射後 3 日目の検査時における歯髄総脂質含量は蛋白質含量との相対比に

において正常のものと差はみられず、また総脂質中のリン脂質の含有比にも変化がみられなかったことから、リン脂質へのエックス線全身照射の効果ははっきりせず、今後の検討を要する。

## V 要 約

ラット切歯歯髓の脂質組成ならびに脂肪酸組成を解析するとともに、あわせてエックス線全身照射の各々の組成に及ぼす影響を研究し次の如き結果を得た。

(1) 切歯歯髓の総脂質含量は蛋白量相対比にして0.26の値を得た。エックス線全身照射群(1000R照射後3日目のもの)の歯髓も同様0.26の値を得、その差は得られなかった。

(2) 正常切歯歯髓の総脂質の脂肪酸組成において、パルミチン酸、オレイン酸、ステアリン酸、アラキドン酸、リノール酸の順に主成分として認められ、前三脂肪酸で78%以上を占めた。エックス線全身照射群においてはオレイン酸の減少、アラキドン酸の増加が認められた。口腔領域への部分照射(1000R)でも同様の傾向がみられた。

(3) 正常切歯歯髓の脂質構成としてリン脂質、コレステロール、トリグリセリド、コレステロールエステルが主成分として認められ、リン脂質は45%、コレステロールは30%を占めた。エックス線全身照

射群ではリン脂質、トリグリセリドの構成比に変動はみられなかったが、コレステロールの減少とコレステロールエステルの増加が認められた。

(4) 正常切歯歯髓リン脂質の構成を各種呈色反応で仮同定した結果、レシチン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリンが主成分として90%以上を占めた。特にホスファチジルセリン含量が多いのが注目される。照射群ではレシチンの増加、ホスファチジルセリンの減少など若干の構成比に変動がみられたが、対照との差は有意とは言えなかった。

## 謝 辞

本実験は岡山大学医学部放射線医学教室(主任山本道夫教授)でおこなった。

擧筆するにあたり、御指導御校閲を賜った岡山大学医学部放射線医学教室山本道夫教授ならびに実験を遂行するにあたり終始御懇篤な御指導を賜った山本剛禧博士ほか各位に深甚の謝意を表します。

又本実験を遂行するにあたり深い御理解、御助言を賜った西嶋克巳教授に心からの謝意を表します。

なお、本実験論文の要旨は、第35回日本医学放射線学会(昭和51年5月)ならびに第24回日本口腔科学会中国・四国・兵庫地方部会(昭和51年11月)において発表した。

## 文 献

- 1) Philippi, J. : Rev. Fac. Odont. Univ. Sao. Paulo., **3**, 45, 1965.
- 2) Alfred, H. : Nature, **210**, 748, 1966.
- 3) Stewart, J. M. Claibourne, P. A. and Luikart, G. A. : J. Dent. Res., **44**, 608, 1965.
- 4) Irving, J. T. and Wuthier, R. E. : Arch. Oral Biol., **5**, 323, 1961.
- 5) Irving, J. T. : Arch. Oral Biol., **1**, 89, 1959.
- 6) Irving, J. T. : Chin. Orthop., **17**, 92, 1960.
- 7) Burton, H. S. and McWeeney, D. J. : Nature, **196**, 995, 1962.
- 8) Armstrong, W. G. : Adv. In Oral Biol., **1**, 309, 1964.
- 9) Euler, H. and Meyer, W. : "Histopathology of Teeth" (Ed. Bergmann, J. F.), Munich, Germany, p.106, 1927.
- 10) Das, S. K. and Harris, R. S. : J. Dent. Res., **49**, 119, 1970.
- 11) Prout, R. E. S., Odutuga, A. A. and Tring, F. C. : Arch. Oral Biol., **18**, 373, 1973.
- 12) Prout, R. E. S. and Shutt, E. R. : Arch. Oral Biol., **15**, 1105, 1970.
- 13) Radinowitz, J. L., Luddy, F. E., Barford, R. A., Herb, S. F., Orlean, S. L. and Cohen, D. W. : J. Dent. Res., **46**, 1086, 1967.

- 14) Odutuga, A. A. and Prout, R. E. S. : Arch. Oral Biol., **19**, 729, 1974.
- 15) Hodge, H. C. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **35**, 53, 1936.
- 16) Shapiro, I. M. and Wuthier, R. E. : Arch. Oral Biol., **11**, 513, 1966.
- 17) Manzoli, F. A. and Gelli, M. : Arch. Oral Biol., **13**, 705, 1968.
- 18) 谷本門 : 日大歯学, **42**, 746, 1968.
- 19) Graziano, V. : Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., **38**, 1304, 1962.
- 20) Seltzer, S. and Bender, I. B. (福地芳則, 戸田忠夫共訳) : 歯髓臨床における生物学的考察, 医歯薬出版KK, 東京, p. 73. 1971.
- 21) Grenlich, R. C. and Ershoff, B. H. : J. Dent. Res., **40**, 1211, 1961.
- 22) Barstone, M. S. : J. Dent. Res., **29**, 220, 1950.
- 23) Kalnius, V. : J. Dent. Res., **33**, 389, 1954.
- 24) Stafne, E. E. and Bowing, H. H. : Am. J. Orthodont., **33**, 567, 1947.
- 25) 押鐘篤 : 歯学生化学, 医歯薬出版KK, 東京, p. 598, 1966.
- 26) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S. : J. Biol. Chem., **226**, 497, 1957.
- 27) 石川正幸. 原昭二. 古谷力. 中沢泰男. 編 : 薄層クロマトグラフィー基礎と応用, 南山堂, 東京, 1968.
- 28) Mangold, H. K. and Malins, D. C. : J. Am. Oil. Chem. Soc., **37**, 383, 1960.
- 29) Lepage, M. : J. Lipid Res., **5**, 587, 1964.
- 30) Skidmore W. D. and Entenman, C. : J. Lipid Res., **3**, 467, 1962.
- 31) Kaufmann, H. P. and Makus, Z. : Fette. Seifen. Anstrichmittel., **62**, 1014, 1960.
- 32) Marinetti, G. V. and Stotz, E. : Biochim. Biophys. Acta, **21**, 168, 1956.
- 33) Mottier, M. : Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg., **49**, 454, 1958.
- 34) Beiss, U. : J. Chromatog. **13**, 104, 1964.
- 35) 日本生化学編 : 生化学実験講座 **3**, 脂質の化学, 東京化学同人, 東京, p. 369, 1974.
- 36) Stoffel, E. C. and Ahrens, E. H. : Anal. Chem., **31**, 307, 1959.
- 37) Gornall, A. G. Basdawill, C. L. and David. M. M. : J. Biol. Chem., **177**, 751, 1949.
- 38) Amenta, J. S. : J. Lipid Res., **5**, 270, 1964.
- 39) 森野靖雄 : 岡山医学会誌, **83**, 537, 1971.
- 40) 渡辺節生 : 岡山医学会誌, **85**, 137, 1973.
- 41) Streffer, C. (山田武, 大山ハルミ共訳) : 放射線生化学, 図書出版社, 東京, p. 135, 1973.
- 42) Berndt, J. and Gaumet, R. : Radiat. Res., **42**, 292, 1970.

## Studies on the lipid of rat dental pulp

### I. Analyses of lipid component and fatty acid composition in rat incisor pulps before and after whole-body x-ray irradiation

Gonosuke HASHIMOTO

Department of Oral Surgery, Okayama University Medical School, Okayama, Japan

(Director : Prof. K.Nishijima)

Lipids and fatty acids extracted from rat incisor pulps before and after whole-body x-ray irradiation at 1000R were qualitatively and quantitatively analysed by means of thin-layer and gas-liquid chromatography, and the results are as follows.

1) Ratio of the total lipid weight to protein weight was obtained 0.26 in normal rat dental pulps. The ratio in the irradiated group (3 days after irradiation) did not change.

2) In fatty acid composition of lipid of normal rat incisor pulps, palmitic, oleic, stearic, arachidonic, and linoleic acids were much in this order, and palmitic, stearic and oleic acids were major component accounted for over 78% of the total fatty acids. In that of the irradiated group, the decrease of oleic acid and the increase of arachidonic acid were observed comparing those of normal pulp lipid.

3) The major lipid of normal dental pulps composed of phospholipid, cholesterol, triglyceride and cholesterol ester, and phospholipid and cholesterol accounted for about 45% and 30% of the total lipids, respectively. In the irradiated group, the decrease of cholesterol and the increase of cholesterol ester were represented.

4) In results of tentative identification by various color reaction on the thin-layer chromatograph, the major phospholipids of dental pulps were lecithin, phosphatidyl ethanolamine and phosphatidyl serine, which accounted for over 90% of the total phospholipids. It is significant that phosphatidyl serine in dental pulp is greater than in any other mammalian soft tissue so far studied. In the irradiated group, it was slightly observed the increment of lecithin and the decrement of phosphatidyl serine, but they are not predominant.