原 著

歯根膜線維芽細胞とマラッセ上皮遺残由来上皮細胞の 混合培養における細胞動態の研究

井 上 孝 真坂 た ま み 榎 谷 保 信 橋 本 貞 充 下 野 正 基

東京歯科大学病理学講座（主任：下野正基教授）

〔受付：平成 7 年 3 月 31 日，受理：平成 7 年 7 月 3 日〕

An experimental study on cell interaction between fibroblasts of periodontal ligament and cells
from Malassez epithelial rests co-cultured *in vitro*

Takashi Inoue, Tamami Masaka, Yasunobu Enokiya,
Sadamitsu Hashimoto and Masaki Shimono

Department of Pathology, Tokyo Dental College
(Chief : Prof. Masaki Shimono)

1-2-2, Masago, Mihama Chiba, 261, Japan

[Received on March 31, 1995 ; Accepted on July 3, 1995]

Key words : Periodontal ligament fibroblast/Malassez epithelial rest/Co-culture/Cell interaction/*in vitro*

Abstract : The purpose of this study was to investigate the interaction between cells from Malassez epithelial rest (MER) and fibroblasts of periodontal ligament (PLF) co-cultured *in vitro*. MER formed typical pavement-like sheets, while PLF were characterized by a long, slender shape and were arranged in a characteristic storiform pattern. PLF showed a marked increase in the number of cells on a daily basis, and cell proliferation followed an arithmetical progression. In contrast, MER exhibited a much lower proliferation rate. MER grew multilayers of PLF, but PLF did not grow well on multilayers of MER. When MER were co-cultured with PLF, although both cells showed almost the same population in the early time period, MER occupied a greater area in the later time period. These results suggest that MER begin to grow upon stimulation and may differentiate into keratinized stratified squamous epithelium on fibrous connective tissue.

抄録：本研究はマラッセの上皮遺残由来の上皮細胞（MER）と歯根膜線維芽細胞（PLF）を混合培養することにより，上皮一層の相互関係を検索することである。MER は数石状に配列する Keratin 弱陽性細胞で，PLF は紡錘形の Vimentin 弱陽性細胞であった。PLF は日数の経過とともに著明に増殖し，その増殖率は級数的であったが，MER の増殖率は緩やかであった。MER を PLF 上で培養した群では日数の経過とともに，PLF 上で MER の数石状細胞集団が形成されその領域を増加させていく像が観察された。PLF を MER 上で培養した群では集簇する PLF の細胞集団とその辺縁から放射状に増殖する細胞が観察されるようになった。しかしその

増殖は極めて弱いものであった。PLF および MER を混合培養した群では、2 日例で PLF の細胞が主体で、散在性に MER が観察されたが日数の経過とともに PLF の占有率をしのぐまで増殖していた。以上の所見よりマラッセの上皮遺残由来の細胞は線維芽細胞に比べると緩慢ではあるが徐々に増殖を開始し、線維性組織の上を覆い、角化重層扁平上皮の構造をとるようになることが示唆された。

緒 言

歯根膜は歯牙—歯槽骨間で生涯一定の幅を維持し、傷害に際してもその強い再生能によってこれを修復することが知られている^{1,2)}。また歯根膜組織の恒常性を調節する因子およびその機構に関しても、セメント質、セメント芽細胞、マラッセの上皮遺残などが関与しているとの報告がある³⁻⁶⁾。中でもマラッセの上皮遺残について Berglund *et al* (1991)⁶⁾ は加齢による歯根膜内マラッセの上皮遺残の占有率および分布には有意差を認めず、マラッセの上皮遺残が歯根膜空隙を一定に保つ因子の一つであると考察し、Spouge (1980)⁷⁾ は歯と歯根膜の間には常に一定の幅が必要で、この一定の幅が崩れた時にアンキローシス、歯の動揺および歯槽骨の吸収などが起こり、これらを司っているのはマラッセの上皮遺残の可能性があると述べている。われわれも、ビーグル成犬の歯牙—歯周組織を実験的に切断し、切断部に歯根膜の再生を認めたが、マラッセの上皮遺残は見られず、やがてその部位がアンキローシスに陥ったことにより、マラッセの上皮遺残が歯根膜の恒常性維持に重要であると考察した¹⁾。また、この恒常性が破壊されると歯肉や歯根膜および根尖組織内で積極的に増殖し、顎骨にできる嚢胞の裏装上皮となったり、歯源性上皮性腫瘍となることが報告されている^{8,9)}。

今回われわれは、マラッセの上皮遺残由来の上皮細胞と歯根膜由来の線維芽細胞を混合培養することにより、上皮—間葉の相互関係からマラッセの上皮遺残の動態について検討した。

材料および方法

1. マラッセ上皮遺残由来の上皮細胞の培養

マラッセの上皮遺残由来の上皮細胞は、University of British Columbia, Oral Biology 主任教授の D. M. Brunette 教授より供与戴いた、ブタ歯根膜より分離培養後に継代された細胞 (Malassez Epithelial Rest：以下 MER と略) を用いた¹⁰⁾。MER の培養には 10% 仔牛血清と抗生物質 (ペニシリン、ストレプトマイシン) を加えた α -MEM に、牛脳下垂体抽出液 1 μ /ml を添加し

たものを用いた。培養は I 型コラーゲンコート (750 mm 培養フラスコ (Sumiron, Sumitomo BakeLite Co LTD) にて細胞を増殖させ、その後 I 型コラーゲンコートの 35 mm 培養皿にて実験を行った。なお培養液の交換は 48 時間ごとに行い、培養中は位相差顕微鏡にて毎日観察撮影した。

2. 歯根膜由来の線維芽細胞の培養

歯根膜線維芽細胞は、ビーグル成犬の前臼歯歯根を初代組織培養することにより獲得した細胞 (Periodontal Ligament Fibroblast：以下 PLF と略) を、継代培養し実験に用いた。初代歯根膜の組織培養は、抜去した歯牙の歯冠部に付着した歯石とプラークを可及的にスクレーパーを用いて除去し、細菌性付着物と歯肉結合組織および根尖部の歯髄を死滅させる目的で、同部を 10% 次亜鉛素酸ナトリウム溶液に室温で 2 分間浸漬させ、PBS にて洗浄後、中央部の歯根膜組織のみを歯牙に付着生存させた。次いで歯牙に付着する歯根膜組織が 35 mm 培養皿の底面と密着するように静置させ、細胞の遊出をはかった。PLF の培養には 10% 仔牛血清と抗生物質 (ペニシリン、ストレプトマイシン) を含む α -MEM を用いた。培養は通常の 750 mm 培養フラスコにて細胞を増殖させ、その後 35 mm 培養皿を用いて実験を行った。なお培養液の交換は 48 時間毎に行い、培養中は位相差顕微鏡にて毎日観察撮影した。

また、MER および PLF の各細胞は 0.1% トリプシン溶液で細胞を培養皿より剥離させ、コールターカウンターにて細胞数を計測後、35 mm 培養皿に 2×10^5 個ずつ播種し、2 日、4 日、6 日および 9 日目に細胞数を計測し増殖曲線を作成した。計測値は Student t-test により統計学的に比較検討した。

透過型電子顕微鏡観察のために Karnovsky の固定液 (2% フォルムアルデヒドと 2.5% グルタルアルデヒド) にて各日数例の細胞を固定し、セルスクレイパーにて細胞を收拾し 1,500 rpm で遠沈した後、通法に従い脱水、エポン包埋を行い、超薄切片を作製後、ウラン・鉛染色を行い JEOL-100CX 電子顕微鏡にて観察した。

免疫組織化学ならびに走査型レーザー生物顕微鏡的観察のためには、20% 中性緩衝ホルマリンにて固定した。免疫組織化学的検索のために 1 次抗体として Keratin

(DAKO) ならびに Vimentin (DAKO) を用い, SAB 法に従い免疫染色を施し光学顕微鏡学的に観察した。また走査型レーザー生物顕微鏡 (Olympus LSM-GB200) 的观察のためには, phalloidin にてアクチンを蛍光染色し検鏡した。

3. 混合培養

十分に増殖した MER と PLF は次の3つのグループに分け混合培養した。

1 群: I 型コラーゲンコートの 35 mm 培養皿に MER を培養皿一面に増殖させた後, PLF を MER 上に 2×10^5 個ずつ播種した群。

2 群: 通常の 35 mm 培養皿および I 型コラーゲンコートの 35 mm 培養皿に PLF を培養皿一面に増殖させた後, MER を PLF 上に 2×10^5 個ずつ播種した群。

3 群: I 型コラーゲンコートの 35 mm 培養皿に PLF および MER とともに 2×10^5 個ずつ混合し培養した群。

以上3群とも, 培養液の交換は48時間ごとに行い, 培養中は位相差顕微鏡にて毎日観察撮影した。なお第3群の混合培養例は, 培養後2日, 4日, 6日および9日後に透過型電子顕微鏡観察のために Karnovsky の固定液 (2%パラフォルムアルデヒドと2.5%グルタルアルデヒドを含む) にて固定し, 前述のごとく, 通法に従い試料を作製し観察した。また2種類の細胞占有率を評価するためには, 経時的に位相差顕微鏡で撮影した写真を約200倍となるように引き伸ばし, MER が写真上で占める領域をパーソナルコンピュータ (Apple Macintosh II ci) を用いて, 画像解析プログラム (NIH Image 1.47) にて計測し全面積当たりの各細胞占有率 (%) を算出した。細胞の全く生えていない領域は Blank として計測し, 線維芽細胞の占有率 (%) は $100 - (\text{MER 占有域面積} + \text{Blank})$ とした。計測値は Student t-test により統計学的に比較検討した。

結 果

1. MER 由来の上皮細胞の形態学的特徴

位相差顕微鏡的に MER は敷石状に配列し, 1~数個の核小体を含む卵円形の核を有する多角形の細胞として観察され, 重層する部も散見された (Fig. 1)。重層する部では, 上層の細胞は細胞質を大きく広げ, その中央に小さな円形の核を有していた。電子顕微鏡学的には細胞質内にトノフィラメントを多数有し, 少量の細胞小器官を持ち, いわゆる上皮細胞の性格を持つ細胞で, 培養皿と接する部は基板と半接着斑により接着していた

Fig. 1 The cultured cells from Malassez epithelial rest which formed pavement-like sheets appearance (Phase contrast microscope).

Fig. 2 TEM photograph of the cell from Malassez epithelial rest. Gathering of tonofilaments in the cytoplasm can be seen.

Nu: Nucleus, CD: Culture dish, $\times 17,000$

(Fig. 2)。しかし免疫組織化学的には, 重層している上層の細胞のみが Keratin に弱陽性を示していた。また走査型レーザー生物顕微鏡でも, アクチンが下層の培養皿に付着する細胞の細胞質内によく発達しており (Fig. 3), 重層した上層の細胞はアクチンが細胞質の周囲に集簇する像として観察された (Fig. 4)。

2. PLF 由来の細胞の形態学的特徴

位相差顕微鏡的に PLF は紡錘形で, 中央に卵円形から紡錘形の核を持ち, 杉綾模様, 花むしろ状など種々な配列を示す像が観察された (Fig. 5)。免疫組織化学的に, Vimentin に弱陽性を示した。電子顕微鏡学的には紡錘形の線維芽細胞様細胞で, 種々の程度の細胞小器官を有していた (Fig. 12 参照)。

3. PLF および MER の細胞増殖曲線

PLF の増殖率 ($\times 10^5$ 個) は, 2 日例で 150.3 ± 16.3 ,

Fig. 3 The cells from Malassez epithelial rest which attached to the bottom of the culture dish contain stress fibers in their cytoplasm (Cone-forcal laser microscope).

Fig. 4 The cells from Malassez epithelial rest which located upper layer contains stress fiber in the periphery of the cells (Cone-forcal laser microscope).

4 日例で 508.7 ± 48.0 , 6 日例で 768.5 ± 42.6 , 9 日例で 824.2 ± 158.6 と日数の経過とともに級数的な増殖を示したのに対し, MER は 2 日例で 64.2 ± 26.5 , 4 日例で 90.3 ± 21.2 , 6 日例で 154.7 ± 20.6 , 9 日例で 204.5 ± 38.8 と緩やかな増殖を示した (Fig. 6). 統計学的には各日数例において, 有意差 ($p < 0.001$) を持って PLF の増殖率が MER の増殖率より高かった (Table 1)。

4. 混合培養における結果

1 群: PLF を MER 上に播種した群。

この群では, 2 日後で MER 上に不規則な凝集を示す細胞集団が観察され, この状態は日数が経過しても著変は示さないものの, 6 日例および 9 日例では, この細胞集団の辺縁から放射状に伸び出す線維芽細胞様細胞が観察されるようになった (Fig. 7)。しかしその増殖は極め

Fig. 5 The fibroblasts from periodontal ligament which have a characterized by its long slender shape and are arranged in the characteristic with storiform pattern (Phase contrast microscopy).

Fig. 6 Graph shows a growth curve of both the cells from Malassez epithelial rest (MER) and fibroblasts of periodontal ligament (PLF) ($\times 10^5$ cells).

て弱いものであった。

2 群: MER を PLF 上に播種した群。

この群では 2 日例でわずかな数の MER が PLF 上に付着する像が観察されたが, 日数の経過とともに, PLF 上で MER の数石状細胞集団が形成され, その占有領域を増加させていく像が観察された (Fig. 8)。

3 群: PLF および MER を混合培養した群。

この群の 2 日例では, PLF が主体をなし散在性に MER が観察されるものの, 細胞の貼りつかない培養皿の表面も見える状態であった (Fig. 9)。4 日例では培養皿の多くを PLF が占有していたが, 数個から数十個の細胞集団よりなる MER が観察されはじめた。さらに 6

Table 1 Statistic analysis of cell growth ratio between cells from Malassez epithelial rest and fibroblast of periodontal ligament *in vitro* ($\times 10^5$ cells)

	2 days	4 days	6 days	9 days
Malassez	150.3 ± 16.3	508.7 ± 48.0	768.5 ± 42.6	824.2 ± 158.6
Fibroblast	64.2 ± 26.5	90.3 ± 21.2	154.7 ± 20.6	204.5 ± 38.8
t-test	* * *	* * *	* * *	* * *

*** $p < 0.001$

Fig. 7 Fibroblasts from periodontal ligament (PLF) cultured on the cells from Malassez epithelial rest (MER). PLF aggregate on the MER and could not grow well (Phase contrast microscopy).

Fig. 8 The cells from Malassez epithelial rest (MER) cultured on the fibroblasts of periodontal ligament (PLF). MER is growing day by day and formed pavement-like sheets appearance on the PLF (Phase contrast microscopy).

Fig. 9 Two days after co-culture of both fibroblasts of periodontal ligament (PLF) and cells from Malassez epithelial rest (MER). Small number of MER could be seen in the PLF (Phase contrast microscopy).

Fig. 10 Nine days after co-culture of both fibroblasts of periodontal ligament (PLF) and cells from Malassez epithelial rest (MER). MER formed pavement-like sheets appearance on the PLF and occupied about 60% of the area (Phase contrast microscopy).

Table 2 The ratio of the area occupied by the cells of Malassez epithelial rest co-cultured with the fibroblast of periodontal ligament.

	2 days	4 days	6 days	9 days
Malassez	3.8±1.2	12.3±2.8	34.6±8.1	57.8±13.9
Blank	7.3±5.7	0	0	0

Fig. 11 Graph shows area occupied by Malassez epithelial rest (MER) when co-culture with fibroblast of periodontal ligament (PLF) (Mean±SD%). **Fig. 12** Electron microscopic picture of co-culture of fibroblast from periodontal ligament (PLF) and the cells from Malassez epithelial rest (MER). Desmosome like structure (arrow head) observed focally between two cells. Nu : Nucleus, ×12,300

日例では MER の細胞集団はその構成細胞の数を増し、9 日例では PLF の占有率をしのぐまで増殖していた (Fig. 10)。Fig. 11 は MER の占有率を経時的に表したものである。つまり 2 日例で、MER の占有率 (%) は

Table 3 Comparison between areas occupied by the cells from Malassez epithelial rest at the each time periods.

	4 days 12.3±2.8	6 days 34.6±8.1	9 days 57.8±13.9
2 days 3.8±1.2	*	**	**
	6 days 34.6±8.1	9 days 57.8±13.9	NS
4 days 12.3±2.8	*	**	

NS : No Significant difference

* p < 0.05 ** p < 0.01

3.8±1.2 で細胞がまったく生えていない領域 (Blank) は 7.3±5.7 であった。その後 Blank はなくなり、MER は 4 日例が 12.3±2.8、6 日例が 34.6±8.1、9 日例が 57.8±13.9 と徐々に増加していった (Table 2)。また、4 日例の占有率は有意差 (p < 0.05) を持って 2 日例より多く、6 日例の占有率は有意差 (p < 0.05) を持って 4 日例より多かったが、9 日目の占有率は 6 日例のものと有意差は認めなかった (Table 3)。電子顕微鏡学的には、MER と PLF が重層する部位でお互いの細胞突起を連結するようなデスモゾーム様構造による細胞間結合がわずかに観察された (Fig. 12)。その部では、MER、PLF いずれの細胞内でも束状のフィラメントがデスモゾーム様構造に一致して集簇する像が観察された。

考 察

マラッセの上皮遺残は、歯根発生時にヘルトウイッヒの上皮鞘が断裂し歯根膜内に残存したもので、歯牙崩出後も歯根膜内に残存することが知られている。その動態については、静止状態、変性状態、増殖状態または分化状態などの種々なる動態を示すものが観察されており、分裂を示したという報告もある¹¹⁻¹³⁾。また、歯頸部付近

に存在するマラッセの上皮遺残は、局所の歯肉の炎症により活発に増殖し、下方へ伸び出した付着上皮と結合することによりポケット上皮を形成するという報告や、Brunette *et al.* (1979)¹⁴⁾ はブタより分離したマラッセの上皮細胞の性格を *in vitro* で検索し、この細胞はプロスタグランジンや非プロスタグランジン性骨吸収活性化因子を産生し、これらが辺縁性歯周炎によっておこる歯槽骨の吸収に関与していると述べている。また、根尖付近に存在するマラッセの上皮遺残は、歯髓疾患による感染性の抗原性物質が根尖孔を通じて根管外へ出ることによって刺激され増殖を開始し、嚢胞の裏装上皮になるという説が通説となっている^{8,9)}。さらに種々なる歯原性上皮性腫瘍の上皮成分もマラッセの上皮に由来するという説が多い⁹⁾。いずれにせよマラッセの上皮遺残は、周囲の歯周組織に少なからず影響を及ぼしているとする考え方が多く、歯根膜腔の幅の維持、セメント質形成のための刺激、歯根吸収の保護機能なども報告されている^{15,16)}。

今回の実験結果から、PLF の増殖能は MER の増殖能の約 4 倍近い速度で増殖していたが、PLF は MER の上ではなかなか増殖しなかった。しかし、反対に MER は PLF の上で容易に増殖し、日数の経過とともに優位となっていた。さらに PLF と MER の混合培養実験においても、培養初期は PLF が優位に増殖していたが、日数の経過とともに逆転し、培養後 9 日後では MER が PLF 上で優位に増殖していた。つまり、MER は刺激が加わることで、PLF に比べると緩慢ではあるが徐々に増殖を開始し、線維性組織の上を覆ったことになる。このことは本来上皮は、生体の表面を被覆し内部環境を保護するもので、根管を通じて生じた感染巣を、マラッセの上皮遺残が嚢胞の裏装上皮となり、感染巣を外部環境へ排出するように増殖したものと考えられる。しかし、今回の日数例における *in vitro* による実験では、上皮細胞と線維芽細胞間に基底膜の形成は見られず、長期間の観察や免疫組織学的な詳細な検索が必用とされたとされた。

上皮と間葉の相互関係について Uitto *et al.* (1992)¹⁷⁾ はブタ歯根膜由来マラッセの上皮遺残細胞は、接着、遊走および伸展のために、フィブロネクチンを合成利用していると報告し、創傷部では血漿由来ならびに細胞が産生するフィブロネクチンが、細胞接着や細胞遊走のために有利な状態を作り出し、結合組織に侵入してポケット上皮や歯根嚢胞の裏装上皮となる可能性を示唆した。また Abiko *et al.* (1994)¹⁸⁾ はチタニウム表面でブタ由来マラッセの上皮遺残細胞を培養し、ラミニンは細胞周辺より核周辺に強くみられ、上皮細胞が動くためにはゼラ

チナーゼの移動が必要であると述べている。また Hou *et al.* (1993)¹⁹⁾ は、ヒト歯肉または歯根膜の線維芽細胞とマウス歯根上皮鞘由来上皮細胞またはヒト歯肉上皮細胞の混合培養により上皮細胞と線維芽細胞の相互関係、特に細胞外のコラーゲン I 型、II 型および線維芽細胞内のフィブロネクチンについて免疫蛍光法と micro-fluorometry を用いて検索し、線維芽細胞の細胞外基質蛋白と代謝活性は上皮細胞により調節されている可能性があると結論している。

以上より、マラッセの上皮遺残に刺激が加わると穏やかではあるが増殖を開始し、種々なる物質を分泌し結合組織上を覆ったり結合組織細胞間に侵入したりすることが示唆された。また、今回の培養実験から、重層した上層の細胞がケラチンに弱陽性を示し、アクチンが細胞周囲に移動していたことより、刺激を受けて増殖したマラッセの上皮遺残由来の細胞は、分化勾配を持つ口腔重層扁平上皮のようになることも示唆される。これらのことは、刺激を受け歯根嚢胞の裏装上皮となったマラッセの上皮遺残が分化勾配を嚢胞内腔に向けた角化傾向を示す重層扁平上皮となることや、歯周疾患においてマラッセの上皮遺残の一部がポケット上皮となりセメント質側に向けて角化傾向を示す上皮となる可能性、つまり歯原性上皮であるマラッセの上皮遺残は刺激により線維性結合組織を被覆し、外部と内部を分ける上皮本来の機能を持つ扁平上皮に化生を起こすことが示唆された。

結 論

マラッセの上皮遺残由来の上皮細胞 (MER) と歯根膜線維芽細胞 (PLF) を混合培養することにより上皮-間葉の相互関係からマラッセの上皮遺残由来の上皮細胞の動態について検討した。

1. MER と PLF の単独培養における形態学的観察
位相差顕微鏡的に MER は敷石状に配列する多角形の細胞として観察され、重層する部もみられた。重層する部では、上層の細胞は細胞質を大きく広げ、その中央に小さな円形の核を有していた。培養皿と接する部は基底板と半接着斑により接着していた。しかし、免疫組織化学的に Keratin には重層している上層の細胞のみが弱陽性を示し、走査型レーザー生物顕微鏡でも、アクチンが下層の培養皿に付着する細胞によく発達しており、重層した上層の細胞はアクチンが細胞質の周囲に集簇する像として観察された。

位相差顕微鏡的に PLF は紡錘形で、中央に卵円形から紡錘形の核を持ち、杉綾模様、花むしろ状など種々な

配列をする像として観察された。免疫組織化学的には vimentin に弱陽性を示した。電子顕微鏡学的には紡錘形を呈する線維芽細胞様細胞で、種々の程度の細胞小器官を有していた。

2. PLF および MER の細胞増殖曲線

細胞の増殖率 ($\times 10^5$ 個) について、PLF は 2 日例で 150.3 ± 16.3 、4 日例で 508.7 ± 48.0 、6 日例で 768.5 ± 42.6 、9 日例で 824.2 ± 158.6 と日数の経過とともに級数的な増殖を示したのに対し、MER は 2 日例で 64.2 ± 26.5 、4 日例で 204.5 ± 38.8 とその増殖率は緩やかで、PLF のほぼ 1/4 程度の増殖率であった。

3. PLF を MER 上に播種した群

この群では、2 日後で MER 上に不規則な太い線維構造をもって配列する PLF と思われる細胞集団が観察され、この状態は日数が経過しても著変は示さないものの、6 日例および 9 日例では、この集簇する PLF の細胞集団の辺縁から放射状に遊出する細胞が観察されるようになった。

4. MER を PLF 上に播種した群

この群では 2 日例でわずかな MER が PLF 上に付着する像が観察されたが、日数の経過とともに、PLF 上で MER の敷石状細胞集団が形成されその領域を増加させていく像が観察された。

5. PLF および MER を混合培養した群

この群では、2 日例では PLF の細胞が主体で、散在性に MER が観察され、細胞の貼りつかない培養皿の表面が見える状態であった。4 日例ではその多くを PLF が占有していたが、数個から数十個の細胞集団よりなる MER が観察されはじめた。さらに 6 日例では MER の細胞集団はその構成細胞の数を増し、9 日例では PLA の占有率をしのぐまで増殖していた。MER の占有率は 2 日例で 3.8 ± 1.2 で Blank は 7.3 ± 5.7 であった。その後 4 日例が 12.3 ± 2.8 、6 日例が 34.6 ± 8.1 、9 日例が 57.8 ± 13.9 と有意に増加していった。また電子顕微鏡学的には、MER と PLF が重層する部位で、お互いの細胞間にわずかなデスマゾーム様構造による細胞間結合装置がみられた。しかし基底板の形成は見られなかった。

以上の所見よりマラッセの上皮遺残由来の細胞は刺激により、線維芽細胞に比べると緩慢ではあるが徐々に増殖を開始し、線維性結合組織の上を覆い、重層扁平上皮様の構造をとるようになることが示唆された。

文 献

- 1) 井上 孝, 榎谷保信, 橋本貞充, 福増一浩, 下野正基: 創傷の治癒後の歯根膜の恒常性維持に関する研究. 特にマラッセの上皮遺残の影響. 歯基礎誌 37: 58~69, 1995.
- 2) 井上 孝, 橋本貞充, 臼田 準, 下野正基: ビーグル犬における歯根膜の恒常性維持に関する因子の検索. 歯基礎誌 35: 485~495, 1993.
- 3) Pitaru, S., Savion, N., Hekmati, H., Olsen, S. and Narayanan, S. A.: Binding of a cementum attachment protein to extracellular matrix components and to dental surface. J. Periodont. Res. 27: 640~646, 1992.
- 4) Kawase T., Sato, S., Deguchi, S., Kato, Y. and Saito, S.: Character of osteoblastic fibroblast derived from human periodontal ligament *in vitro*. Bull. Kanagawa Dent. Coll. 18: 135~141, 1992.
- 5) Sterrett, J. D., Lindhe, J. and Berglundh, T.: Epithelial remnants in the crestal periodontium of the dog. J. Clin. Periodontol. 20: 109~116, 1993.
- 6) Berglundh, T., Lindhe, J. and Sterrett, J. D.: Clinical and structural characteristic of periodontal tissues of young and old dogs. J. Clin. Periodont. 8: 616~623.
- 7) Spouge, J. D.: A study of epithelial odontogenic residues in the pig. J. Periodontol. 57: 164~171, 1986.
- 8) Ten Cate, A. R.: The epithelial rests of Malassez and the genesis of the dental cyst. Oral. Surg. 34: 956~964, 1972.
- 9) 石川梧朗監修: 歯原性嚢胞, 歯原性腫瘍, 口腔病理学, 改訂版. pp. 371~386, 461~530, 永末書店, 東京, 1989.
- 10) Brunette, D. M., Melcher, A. H. and Moe, H. K.: Culture and origin of epithelium-like and fibroblast-like cells from porcine periodontal ligament explants and cell suspensions. Arch Oral Biol. 21: 179~205, 1976.
- 11) Gilhuus-Moe, O. and Kvam, E.: Behavior of the epithelial remnants of Malassez following experimental movement of rat molars. Acta Odontol. Scandinavica 30: 139~149, 1972.
- 12) Kvam, E. and Gilhuus-Moe, O.: Uptake of H-thymidine by an epithelial rest in the periodontal membrane. A preliminary report. Acta Odontol. Scandinavica 28: 143~146, 1970.

- 13) Main, D. M. G. : Odontogenic epithelial residues around rabbit mandibular cheek teeth. *J. Dent. Res.* **51** : 841, 1972.
- 14) Brunette, D. M., Heersche, J. N. M., Purdon A. D., Sodek, J., Moe, H. K. and Assuras, L. N. : In vitro cultural parameters and protein and prostaglandin secretion of epithelial cells derived from porcine rests of Malassez. *Arch. Oral Biol.* **24** : 199~203, 1978.
- 15) Lindskog, S., Blomlof, L. and Hammarstrom, L. : Evidence for a role of odontogenic epithelium in maintaining the periodontal space. *J. Clin. Periodontol.* **15** : 371~373, 1988.
- 16) Wesselink, P. R. and Beertsen, W. : The prevalence and distribution of rests of Malassez in the mouse molar and their possible role in repair and maintenance of the periodontal ligament. *Arch. Oral Biol.* **38** : 399~403, 1993.
- 17) Uitto, V. J., Larjava, H., Peltonen, J. and Brunette, D. M. : Expression of fibronectin and integrins in cultured periodontal ligament epithelial cells. *J. Dent. Res.* **71** : 1203~1211, 1992.
- 18) Abiko, Y., Saitoh, M., Inoue, T., Shimono, M. and Kaku, T. : Laminin localization and gelatinolytic activity of epithelial rest of Malassez grown on titanium. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* **35** : 55~59, 1994.
- 19) Hou, L. T., Kollar, E. J. and Yaeger, J. A. : Epithelial cell-fibroblast interactions : modulation of extracellular matrix proteins in cultures oral cells. *J. Periodont. Res.* **28** : 102~114, 1993.