原 著

ラット切歯の実験的萌出促進・停止が歯質形成と 顎顔面頭蓋骨の成長発育に及ぼす影響

岩 坪 正 剛 柳 下 寿 郎 青 葉 孝 昭

日本歯科大学歯学部病理学教室（主任：青葉孝昭教授）

〔受付：平成12年7月19日，受理：平成12年10月24日〕

Effects of Experimentally Accelerated or Inhibited Eruption of Rat Incisors on Tooth Formation and Maxillary and Craniofacial Bone Growth

Seigou Iwatsubo, Hisao Yagishita and Takaaki Aoba

Department of Pathology, The Nippon Dental University, School of Dentistry at Tokyo

(Chif : Prof. Takaaki Aoba)

1-9-20 Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8159, Japan

[Received on July 19, 2000 ; Accepted on October 24, 2000]

Key words : rat incisor / eruption / tooth formation / maxillary and craniofacial bones

Abstract : In the present work, we examined histologically the effects on enamel and dentin formation of rat upper incisors, as well as on growth and modeling of maxillary and craniofacial bones, by modulation of incisor eruption. Male SD-rats (200 g b. w.) were used. The animals were divided into three experimental groups : (1) unimpeded or accelerated eruption by cutting the incisor edge twice a week throughout the experimental period ; (2) pinning the incisors to completely prevent eruption ; and (3) impeded eruption as control. Fluorescent labelings were given two or three times at 7-day intervals prior to sacrifice of the animals. At the end of the 4-week experimental period, resin-embedded cross-sectional ground sections were prepared from the individual incisors and from three regions of the skull corresponding to premaxillary-nasal, frontal-maxillary and parietal-squamosal planes. On the basis of macroscopic and histologic examination, histomorphometric analysis, and elemental analysis, it was found that : (i) kinetic aspects of enamel and dentin formation were markedly affected by either acceleration or prevention of tooth eruption, but there were no marked changes in either the quantity or mineralization of the mature enamel ; (ii) the alveolar bone surfaces facing the unimpeded or pinned incisors continued active modeling and remodeling in a comparative manner as observed in the control group ; (iii) pinning the incisor gave rise to an upward dislocation of the pinned tooth in the alveolar socket and a distorted appearance of premaxillary bones, but no further effects by the disturbed incisor eruption were ascertained on the contour and structure of bones in the craniofacial regions.

抄録：本研究では，ラット切歯の萌出異常がエナメル質および象牙質の形成と顎顔面頭蓋骨の成長に与える影響について，組織学的な検討を加えた。実験には雄性SD系ラットを使用し，両側あるいは片側の上顎切歯について，(1) 切歯萌出部を切断した非咬合（萌出促進）群，(2) 顎骨にピン止め固定した萌出停止群，および(3) 対

象となる無処置群を設けた。各実験動物には、処置後4週の観察期間内に多重蛍光標識を施し、屠殺後、切歯および顎顔面頭蓋の特定の部位より組織観察標本を作製した。形態・組織観察および形態計測、EPMAによる元素分析に基づき、以下の結論が得られた：(i) 萌出異常はエナメル質および象牙質を含む歯質形成の動力学的に大きな影響を及ぼしたが、成熟を遂げたエナメル質での形成量や石灰化度は、萌出状態の違いによる差異は検出されなかった。(ii) 萌出促進歯あるいは萌出停止歯を囲む歯槽窩壁では、対照歯と類似した骨の改造現象が継続していた。(iii) 萌出停止歯を含む前顎骨の一部では、萌出状態に関連した形態変化を生じていたが、顔面頭蓋骨の輪郭や構造には切歯萌出異常に関連した影響は認められなかった。

緒 言

歯の形成過程は、神経堤細胞の誘導によって口腔上皮が歯胚組織へと分化することから始まり、口腔内へ萌出して機能状態に達するまでの一連の生体反応として捉えられる。このような歯の形成は、歯胚組織内部での増殖分化にとどまらず、顎顔面の成長発育とも密接に関連して進行している¹⁻³⁾。この長期間にわたる歯胚形成から萌出完了にいたる連鎖的な組織反応を追跡する際には、有根歯モデルでは多数の実験動物からの試料採取と組織観察を通して、異なる発生段階での歯胚と萌出途上の歯質から得られた所見を時系列・空間的に並べかえる作業を必要とする。常生歯であるラット切歯は生涯にわたって組織分化と萌出とを続けており、歯質形成⁴⁾、萌出速度の計測⁵⁻⁷⁾、さらには萌出を制御する分子機構の解明に向けた研究⁸⁻¹⁰⁾において汎用されてきた。このラット切歯モデルを用いたこれまでの研究報告において、萌出速度の遅速に応じて象牙質厚さは大きく変動し、エナメル質では基質形成期に相当する分化段階が延長、あるいは短縮することが確認されている¹¹⁻¹⁴⁾。ただし、萌出速度の変動が基質形成期の終了時点でのエナメル質厚さに及ぼす影響については、正常の萌出速度の場合と差がない¹⁵⁾、あるいは萌出速度の変化に依存するという矛盾した報告^{16,17)}がなされている。また、ラットの上顎切歯は解剖学的に顎顔面領域に占める割合が大きく、生理的な不断の切歯の形成と萌出は、顎顔面頭蓋の成長や骨改造への刺激となることも推測される。ただし、切歯の萌出異常が顎顔面頭蓋骨の成長や改造現象に及ぼす影響についても、不明な点が多く残されている。

ラット切歯の萌出速度は、咬合・摂取食物の性状・摩擦などの局所要因¹⁸⁻²¹⁾とともに、遺伝²²⁾などの全身的要因による制御下に置かれている。実験的にも、ラットに種々の薬物を全身投与することにより、切歯の萌出は促進、あるいは遅延されることが明らかにされている²³⁻²⁶⁾。ただし、切歯の萌出とエナメル質・象牙質での歯質形成（基質産生・石灰化・成熟化を含む）との相互

関連を調べる実験においては、全身投与された薬物が歯質形成にも独自の影響を及ぼすため、実験結果の解釈に困難をきたすことが多い。そのため、本研究では、口腔内での外科的処置によりラット上顎切歯の萌出状態（切歯萌出部を切断して非咬合状態に保つことにより萌出促進、切歯を顎骨にピン止め固定することにより萌出停止）を調節し、蛍光標識法を加味して、歯質形成の変化と周辺の骨組織の成長・改造現象に及ぼす影響とを病理組織学的に検討した。

材料および方法

1. 実験動物と上下顎切歯の処置

本実験では雄性SD系ラット（6週齢）50匹を使用した。すべての実験動物について、本学の動物施設に搬入後、数日の予備飼育を行い、経日的な体重変化を観察した。動物施設の環境条件は温度 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ 、明暗12時間（明時間帯として8:00—20:00）で、粉末飼料と飲料水（フィルター濾過、紫外線照射水）を自由摂取させた。この飼育期間中に体重増加率で異常を認めなかった動物（実験開始時の体重は200g前後）について、無作為に以下の実験群（上顎切歯への処置内容）に振り分けた：(a) 両側の上顎切歯を非咬合歯、(b) 両側をピン止め固定歯、(c) 片側のみを非咬合歯（特記しない場合は左側切歯を処置）、反対側を無処置のままの咬合歯、(d) 片側のみを固定歯、反対側を無処置歯とした。なお、両側上顎切歯を無処置歯とした同じ週齢の対照群動物も設定した。非咬合状態での萌出促進を計る目的では、ペントバルビタールによる全身麻酔の後、歯科用ディスクを用いて近心歯肉縁に相当する位置で水平に歯質を切断し、萌出部分を除去した。切歯のピン止め固定処置に際しては、全身麻酔を施した動物を特注した動物頭部保持装置²⁷⁾の上で仰向きに静置し、口腔内を直視下で切歯頰側から歯肉頂を一層残すように切開を加え、歯肉弁と骨膜とを剝離して歯槽骨表面を露出させた。次いで、歯槽骨頂から切歯形成端寄りに約2mmの位置にラウンドバー（#1/2）によって、歯槽骨表面から象牙質と反

対側の歯槽骨を貫通するように細孔をあけた。細孔径に適合する歯科用ブローチを固定用ピンに選び、細孔に挿入し、骨表面から余剰のブローチが突出した状態にならないように、骨面にあわせて余剰部分を切断した。その後、細孔内の固定ピンを覆うように歯肉弁を復元し縫合した。

いずれの切歯においても、外科処置の終了後、唇側面の近心歯肉縁より少し下がった位置に、歯科用ダイヤモンドポイントで水平な指示線を刻み込んだ。2日間隔でこの指示線と歯肉縁最深部との距離をノギスを用いて測定し、指示線の移動度から切歯の萌出速度を求めた。咬合歯の場合には、咬耗（あるいは摩耗）に伴い約4、5日間で指示線が切端に達するために、3、4日ごとに新たな指示線を設置した。萌出促進状態にある非咬合歯では、切断位置がほぼ3日間で咬合歯の切端と同じレベルに達してしまうため²⁸⁾、切断処置を3日間隔で施し、実験期間を通じて非咬合状態を維持した。萌出距離の測定、および萌出促進歯での切端切除に際しては、各動物にエーテル麻酔を施した。以上の処置を含めた実験観察期間としては、生理的な萌出条件下で歯胚形成端ループで発生した歯質が切端まで移動するのに要する期間を考慮して4週間とした。この観察期間内に、エナメル質の成熟過程、象牙質の形成量、歯槽窩壁面と周囲の骨組織での改造部位を調べる目的で、各実験動物には蛍光標識剤（アリザリンレッド 1.6 mg/kg 体重、カルセイン 0.4 mg/kg 体重）を7日間の間隔をおいて2回もしくは3回腹腔内投与した。

2. 観察試料の摘出と標本作製

観察期間を経た動物を深麻酔下で4%パラフォルムアルデヒド（カコジレート緩衝液、pH 7.2）による灌流固定により屠殺し、両側下顎を関節頭部より分離した後、上顎頭蓋を一塊として摘出した。これらの摘出材料から骨表面に付着した軟組織を注意深く剝離し、頭頂側と側方より軟X線像を撮影した。その後、同じ固定液中に浸漬（4°C、1昼夜）した。上顎頭蓋試料の一部については、左右側を一体としたまま、骨に埋入されている切歯部分が外部から直視できるまでスチレンに浸漬・透徹した後、樹脂包埋（リゴラック、応研商事）した。これらの試料から、Fig. 1の（I）―（IV）の組織領域（歯槽骨頂近傍で成熟期エナメル質を含む切歯前頭断、および前頭部、前頭部、頭頂部骨組織）から硬組織薄切装置（Exact、盟和商事）を用いて分割切片（250 μ m 厚さ）を切り出した。これらの切片を砥石上で鏡面研磨し、最終的に100 μ m 厚さの前頭断研磨標本を作成した。残りの上顎頭蓋試料

Fig. 1 Diagram showing four sectioning locations in a lateral view of rat skull.

(I) transverse plane of an incisor and surrounding bone in the vicinity of alveolar bone ridge; (II) premaxillary-nasal plane; (III) frontal-maxillary plane; (IV) parietal-squamosal plane.

については、正中部で左右側を分離し、上顎切歯の歯軸に沿った矢状縦断標本（樹脂包埋・非脱灰研磨標本、あるいはギ酸脱灰後にパラフィン包埋・薄切標本）を作製した。

3. 顕微X線法と蛍光顕微鏡による組織観察と形態計測

作製された研磨標本について、日本ソフテックス社の顕微X線装置（CMS 特注型）を用いて顕微X線像（以下CMRと記す）を撮影した。CMRの撮影後、研磨標本をグリセリン封入して落射型蛍光顕微鏡（Nikon, Microphot-FXA/Microphot-S）を用いて観察した。各動物個体より撮影された上顎頭蓋の軟X線像に加えて、特定の部位より作成された研磨標本のCMR像と蛍光像とをコンピュータに入力し、同じ拡大率で入力した標準スケールを参照して、Fig. 2に示した各項目について形態計測を行った。

4. X線マイクロアナライザ（EPMA）による元素分析

前頭部研磨試料（Fig. 1の（II）に相当する部位）に含まれる切歯断面を計測対象として、エナメル質表層からエナメル象牙境を越えて象牙質歯髓側までと、セメント質側での象牙質について歯根膜に面した表層から歯髓側までの線分析（Simadu EPMA-8705）を行った。歯質組成の指標としては、主要元素であるCaに加えて、石灰化速度の変動を反映して歯質組織濃度に変化を生じやすいMgとNa²⁹⁾を選んだ。分析に先立って、横断研磨片を鏡面研磨したアルミニウムの試料台に貼り付け、試料表面を滑沢にした後、カーボン薄膜を蒸着した。

Fig. 2 Diagrams showing locations and parameters for histomorphometric analysis.

(A) a transverse plane of the upper incisor; (B) a frontal view of rat skull; and (C) through (E) transverse planes corresponding to I through III shown in Fig. 1, respectively. Singular characters used stand for: T, vertical dimension or thickness; W, horizontal dimension or width; H, antero-posterior length; L, perimeter length; B, inter-plane distance or breadth; E, enamel; D, dentin; C, cementum; PN, premaxillary-nasal; FM, frontal-maxillary; PS, parietal-squamosal; PO, parietal-Occipital. Subscript *c* and *i* stand for *control* (impeded) and *inhibited* (by pinning) tooth eruption, respectively. The data obtained are presented in Tables 1 and 2.

結 果

1. 実験処置と切歯の萌出速度

麻酔処置に伴う少数の死亡例を除いて、各実験群の動物は、予定した観察期間を通して生存した。切歯固定のための外科処置を施した動物では、侵襲が大きいために術後1日目で体重減少をきたしたが、2日目では元の体重にまで回復した。処置後の飼育期間を通して、実験動物群（両側無処置群を含む）の間で粉末飼料の摂食状況には顕著な差は認められず、両側あるいは片側切歯を切断あるいは固定した動物群でも体重は継続して増加した。ただし、萌出速度の計測（唇面への指標線の設置）

に際して必要な頻回のエーテル麻酔によって、エーテル麻酔を施していない対照群動物に比べて、体重増加率はやや抑えられる傾向が認められた。

今回の上下顎切歯の萌出速度（1日当たりの指標線の移動距離、mm/day）の測定結果においては、両側咬合歯の場合の平均萌出速度は0.41（±0.19）に対して、同じく非咬合歯では0.60（±0.19）と有意に促進されていた。なお、片側切歯のみに外科処置を施した動物では、反対側の無処置歯に過剰の咬合負担が加わる結果、歯質形成も影響されることも想定された。事実、片側を無処置歯、反対側を非咬合歯とした動物では、両側無処置歯の場合に比べて、片側無処置歯の萌出速度は0.39（±0.21）とやや遅くなる傾向はみられたが、両者の差は有意ではな

Fig. 3 Contact microradiograms of premaxillary-nasal planes prepared from (A) control group, in which the bilateral upper incisors remained impeded ; (B) unimpeded group ; and (C) pinned group. Note alterations of tooth structure depending on eruption conditions, although the contour and symmetric appearance of surrounding bones were still retained in all groups, except for a partial deformation of the premaxillary bone in the pinned group.

かった。ピン止め固定を施した切歯はいずれも、実験開始時に唇面に施した指標線が実験期間を通して移動せず、終了時点まで切歯唇面の元の位置に止まっていた。これらの観察結果に基づき以下の本文では、咬合歯を無処置歯、非咬合状態に保たれた歯を萌出促進歯、ピン止め固定した歯を萌出停止歯と呼ぶ。実験終了時の口腔内視診では、(a) 両側切歯が同一の萌出状態に保たれていた動物個体、あるいは片側を無処置歯、反対側を萌出促進歯とした動物個体でも、切歯の萌出部分の外観には検知できる差はなく、左右対称性は保たれていたが、(b) 片側が萌出停止歯の場合には、反対側の無処置歯に比べて、萌出部エナメル質の円弧は小さくなり、口蓋寄りに後退していた。

2. 切歯横断の研磨標本の顕微 X 線像

前顎部研磨標本の CMR 観察から、両側切歯が同じ萌出条件下に置かれた場合に以下の組織学的特徴が明らかとなった：(i) 無処置歯においては、切歯の輪郭と大きさ、歯槽窩内のほぼ中央での植立位置、エナメル質と象牙質の厚さや石灰化の進行度に関して、左右対称性が保たれていた (Fig. 3 A)。この試料採取部位におけるエナメル質は成熟期初期に相当し、頬側と口蓋側寄りの屈曲部エナメル質では基質脱却が未完了であり、X 線透過領域が一部に観察された。なお、図には示していないが、矢状断研磨標本(その CMR 像と蛍光像)の観察から、従来

の報告結果³⁰⁾と一致して、エナメル質表層への蛍光標識の取り込みは、歯槽骨頂の近傍で終了していた。(ii) 萌出促進歯においても、切歯断面は歯槽窩内のほぼ中央に位置していたが、エナメル質は基質形成期に相当して石灰化度が低い状態に止まっており、象牙質の菲薄化と歯髓腔の拡大が顕著であった (Fig. 3 B)。このエナメル質基質形成期の延長に呼応して、後述する成熟期エナメル芽細胞の存在領域と一致して、エナメル質表層への蛍光標識の取り込みは歯槽骨頂を越えて萌出端の近傍においても検出された。(iii) 萌出停止歯においても、左右対称性は維持されていたが、歯槽窩内での植立位置は前顎骨底部に近接して偏在しており、エナメル質側での歯根膜空隙が著しく狭く、セメント質側には広い歯根膜腔を生じていた。また、エナメル質は高度に石灰化しており、象牙質形成による歯髓腔の狭窄が認められた (Fig. 3 C)。

Fig. 4 A では、右側が無処置歯、左側が萌出停止歯の場合の前顎部断面での CMR 像を例示している。歯槽窩内での左右切歯の植立位置は非対称で上下にズレており、切歯の上端に位置する前顎骨断面の形状 (および石灰化度) や上顎洞の輪郭について左右側での対称性が失われていた。ただし、左右切歯間での萌出状態が異なった場合にも、鼻骨断面の対称性やより広い領域での顎骨組織の解剖学的な形状については、左右側での対称性が維持されていた。この実験動物には、観察期間内に 3 回 (最終投与時期は屠殺前 2 日目) の蛍光標識剤を投与したが、

Fig. 4 (A) Contact microradiogram of a premaxillary-nasal plane including the impeded (right side) and pinned (left side) incisors. Note the upward dislocation of the pinned incisor in the alveolar socket, resulting in prevention of premaxilla bone growth. (B and C) Fluorescent microscopic images of these impeded and pinned incisors: the animal was given three injections of fluorescent labelings, so the corresponding three parallel, almost equally-distant lines were observed in the impeded tooth. The three labelings in the pinned tooth were still distinguishable but crowded in the narrow region adjacent to the pulp. The alveolar bone margins in the palatal and buccal sides are indicated by arrows and arrow heads, respectively. Note the deposition of three-layered fluorescent lines on the palatal side of the alveolar bone surrounding the impeded incisor.

右側無処置歯の象牙質ではほぼ等間隔に3本の蛍光標識線が観察された (Fig. 4 B)。さらに、歯槽窩壁を構成する骨組織では、骨モデリングを反映した蛍光標識像が観察された。すなわち、口蓋側の薄い隔壁となる骨組織 (図内の矢印で示す) では、歯根膜腔に面した骨面全域で3本の積層した蛍光標識線が認められたのに対して、頬側の隔壁 (矢頭で示す) では、骨膜側の骨表面で標識線が観察された。ただし、骨膜面での標識線は不連続で、異なる蛍光色を発する標識線の間隔は狭く、一部の骨表面では互いに重なり合っていた。左側の萌出停止歯においては、歯髓腔をほぼ閉鎖するように象牙質形成が進行していたが、歯髓腔周辺の象牙質内に3本の蛍光標識線が分離して検出された。これらの標識線の間隔は狭く、屠殺2日前に投与した最内層の標識線は歯髓組織と隣接しており、象牙質形成速度の低下を示していた (Fig. 4 C)。萌出停止歯は歯槽窩内の上方に固定されており、切歯断面の上方から側面にあたる歯根膜空隙は狭窄されていた。これらの狭窄された歯根膜組織に面する骨表面では、スポット状の不連続な蛍光標識像が認められるに止まっていた。ただし、固定された切歯の下方では、前顎骨や鼻骨の発育に伴って歯根膜腔が拡張していた。なお、エ

ナメル基質タンパクは固有の自家蛍光³¹⁾を発するが、無処置歯エナメル質においては薄緑色の自家蛍光が観察されたのに対して、基質脱却がほぼ完了していた萌出停止歯エナメル質では、自家蛍光もほとんど消失していた。

3. 矢状断脱灰薄切標本で観察されたエナメル芽細胞の形態変化

無処置歯においては、従来の報告結果と一致した内エナメル上皮から機能分化に伴うエナメル芽細胞の形態変化が観察され、Fig. 5 A に示したように、萌出直前のエナメル質表面は退縮した上皮細胞で覆われていた。萌出促進歯 (Fig. 5 B) においては、基質形成期エナメル芽細胞の特徴が切歯円弧の約半分を占めていたが、その後、成熟期に移行して、歯槽骨頂部に相当する位置では大部分の基質は脱却されていた。歯肉上皮との移行部においても、乳頭層細胞と背丈の高い成熟期エナメル芽細胞の形態的特徴を残しており、萌出直前の狭い領域 (細胞数で10個以内) においてエナメル上皮は急速に短縮して剥離していった。

萌出停止歯では、基質形成期エナメル質は形成端近傍の狭い領域でのみ観察され、切歯の大部分は石灰化の亢

Fig. 5 Micrograms of ameloblasts and surrounding tissues of (A) impeded and (B) unimpeded incisors in the vicinity of the gingival margin. The regions enclosed are enlarged in the right side of each figure. Note the persistence of functioning ameloblasts and papillary epithelial cells to accomplish the maturation of enamel prior to eruption of the unimpeded tooth.

進したエナメル質によって覆われていた (Fig. 6 A)。この形成端付近では、切端へ向けた空間移動を妨げられたエナメル芽細胞が形成端からの細胞増殖圧によって配列を乱し、歯質の屈曲が繰り返して生じていた (Fig. 6 B)。これらの屈曲部に位置する基質形成期エナメル芽細胞では、分泌端付近の細胞質内に細胞外基質と同じ染色性を示す物質が貯留していた。複雑に屈曲した基質形成期エナメル芽細胞は、比較的整然とした細胞配列を示す成熟期エナメル芽細胞へと移行していった。この基質形成期から成熟期への移行部においては、エナメル象牙境に近接して残存したエナメル基質は分解・吸収の途上を想わせる細網状を呈しており、エナメル象牙境を越えて一部膨隆した象牙基質内ではエナメル基質様の物質が飛び石状に散在していた (Fig. 6 C)。基質タンパクの脱却が進行した切端寄りの領域では、脱灰標本上では空隙として観察された。同じ切歯の萌出端近傍では、退縮した上皮細胞あるいはエナメル小皮を想わせる薄膜がエナメル質表面を覆っていたが、上皮組織の一部は重層扁平化をきたし、組織液の貯留による嚢胞形成や結合織に向けた増殖活性をきたしていた (Fig. 6 D)。

4. EPMA による元素分析結果

Fig. 7 では、無処置歯、萌出促進歯、萌出停止歯の前顎部切歯断面での Ca, Mg, Na の組織内分布を比較している。各試料間での線分析の距離の差は、形成された象牙質幅の違いを反映しており、萌出促進歯においてはエナメル質が依然として基質形成期に属したため、その Ca 濃度は象牙質での Ca 濃度よりも低く現れていた。唇側

(エナメル質側)での Ca 分析では、いずれの試料においても、エナメル表層から EDJ, 象牙質領域でも EDJ から歯髓側に向かって減少する濃度勾配が認められた。口蓋側(セメント質側)での Ca 分析においては、無処置歯と萌出促進歯の場合には同様の濃度勾配が観察されたが、萌出停止歯では象牙質中央部で最も低い濃度を示した。Mg の組織内分布の特徴として、唇側では Ca 濃度と逆比例の関係にあり、いずれの試料においても歯質内部に向かう昇り勾配が認められた。また、萌出停止歯、無処置歯、萌出促進歯の順に象牙質での Mg 濃度は高まっていた。口蓋側象牙質での Mg 分布においては、歯髓側の近傍で著しく濃度が低下し、特に萌出停止歯の場合に顕著であった。Na の分析結果では、組織内の分布状態と濃度の点においても、各切歯間で顕著な差異は検出できなかった。

5. 形態計測結果

萌出状態に依存した歯質形成量と歯根膜組織の変化を比較する目的で、エナメル質形成が完了した上顎切歯断面 (Fig. 1 の領域 (I) に相当する) を対象として、Fig. 2 A に示した各項目(切歯の前頭断面での縦径と横径、エナメル質厚さと断面積、エナメル質側とセメント質側での象牙質厚さ、象牙質の断面積、歯冠周囲長、歯根周囲長、歯槽骨周囲長、歯髓腔と歯根膜腔の断面積)について計測した (Table 1)。注目された所見として、(i) 切歯の輪郭を反映する最大縦径/最大横径 (T/W) の値では、萌出促進歯は圧扁されており、萌出停止歯は丸みを帯びている傾向が認められた。(ii) 萌出状態の違いに

Fig. 6 (A) Representative microscopic image of a ground section of the pinned incisor. Enamel and dentin newly formed in the region close to the cervical loop were compressed and exhibited wavy appearance (arrows). (B through D) Micrograms of the corresponding fixed tooth after decalcification (H.E. stain). Alignment of ameloblasts was also disturbed, but the programmed maturation accompanying removal of organic matrices was executed accordingly to the yield of the hard enamel; an open space after decalcification as indicated by asterisk.

よって、象牙質厚さや断面積（あるいは歯髄腔の周囲長や断面積）には顕著な差を生じていたが、エナメル質形成量に関しては、萌出促進歯で厚さの減少がうかがえたが、周囲長や断面積では有意の差は検出されなかった。また、(iii) 歯根膜腔については、他群に比べて萌出停止群での拡張が顕著であった。(iv) 象牙質での多重蛍光標識線（7日間隔で投与）の線間距離より求められた象牙質の形成量について、無処置群と萌出促進群では差を認め

なかった（両群での平均値は 0.16 mm）のに対して、萌出停止群では 0.12 mm と形成量が有意に低下していた。

上記の研磨標本の組織観察では、萌出促進による周囲骨への影響は認められなかったが、萌出停止歯は頭頂寄りに固定されており、切歯の発育成長が阻害されるなかで、そのエナメル質上面を覆う前顎骨は変形をきたしていた。以上の観察所見を補完する目的で、(a) 両側切歯

Fig. 7 Line-scanning profiles of Ca, Mg, and Na elements in the enamel and dentin of rat incisors under discrete eruption conditions. These profiles were determined by X-ray microanalysis, and the data of line scans shown on the left and right sides were obtained for the enamel- and cementum-sides of the same teeth, respectively. Relative concentrations of these elements are presented in arbitrary unit. ES, enamel surface; EDJ, enamel-dentin junction; CS, cementum surface; PD, pulpal dentin wall.

を無処置（対照群）あるいは萌出停止の状態に置いた動物（各3個体）の軟X線像（計測部位はFig. 2 B参照）と、(b) 別の実験動物（3個体）において、右側切歯を無処置、左側切歯を萌出停止した場合の前顎部、前頭部、頭頂部のCMR像を対象として、Fig. 2 B-Eに示した各項目について計測した（Table 2）。注目された所見として、(i) 軟X線像上で求められた鼻骨・前顎骨を含む前後径は縮小していたが、前顎骨の横径については無処置群での計測値と差は認められず、(ii) CMR像上で計測されたエナメル質表面から前顎骨頭頂部までの距離

(T_{PN})は短縮していたが、前顎骨下方は切歯の萌出停止にもかかわらず成長を続け、前顎骨断面長(T_{PN})は無処置側とほぼ同じ値を示した。したがって、上顎切歯の萌出停止は前顎骨頭頂側に限局した影響を及ぼすに止まることが確かめられた。

考 察

ラットにおいて切歯の萌出とエナメル質形成は食物の摂取による生命維持に不可欠であり、とりわけ、歯を保護する硬いエナメル質の形成を保障することが大切となる³²⁾。今回の形態計測を含む観察結果では、萌出速度や咬合状態（両側あるいは片側のみを処置）が大きく変化した場合にも、成熟期エナメル質での厚さや輪郭、断面積、さらには萌出部エナメル質の石灰化には異常をきたさないと結論できた。萌出速度が著しく変化した状況下でも、切歯本来の機能を果たすうえで必須なエナメル質形成量を確保するために、Fig. 8にまとめたように、ラット切歯のエナメル芽細胞は基質形成期から成熟期への組織分化の速度を調節している。無処置歯エナメル質での蛍光標識の取り込みは歯槽骨頂の近傍で終了し、この成熟化に向けた機能停止に対応して、萌出直前のエナメル芽細胞は退縮した細胞形態を示した。萌出促進歯では、単位時間内でのエナメル芽細胞による基質形成量が萌出に伴う切端側への移動速度に適合しきれないため、形態学的にはトームス突起を有する背の高い細胞配列が切歯円弧に占める割合を増すことにより、固有のエナメル質厚さ（基質形成量）を確保していた。この基質形成期から成熟期への移行が遅れることと関連して、エナメル芽細胞は萌出直前まで成熟期の形態的特徴を残していた。萌出停止歯でのエナメル質形成過程においては、今回の観察期間においては、切歯固定後も新たに分化した基質形成期エナメル芽細胞による基質産生が継続することにより、切端側への移動が妨げられた状況下で、形成端近傍ではエナメル芽細胞層の配列の乱れと過剰なエナメル基質の堆積をきたしていた。

今回の実験プロトコールにおいて、片側切歯のみを萌出促進あるいは萌出停止させた実験群を設定することにより、左右側の切歯間で萌出速度が異なった場合にも、同一動物個体内でそれぞれの切歯エナメル芽細胞は萌出条件に応じて機能分化の速度を調節しうることが確かめられた。これらの結果から、ラット切歯エナメル上皮細胞が一連の細胞増殖・分化を遂げるうえで、全身的な要因とは独立した局所の要因に大きく依存していることを示している。とりわけ、萌出停止歯において、エナメル

Table 1 Results of histomorphometry on transverse sections of rat upper incisors

Tissues and Parameters (unit) \ Tooth groups		Impeded	Unimpeded	Pinned
Incisor	Vertical dimension (T, mm)	2.75 (0.01)	2.78 (0.01)	2.68 (0.02)
	Horizontal dimension (W, mm)	1.45 (0.01)	1.34 (0.01)	1.47 (0.03)
	T/W	1.90 (0.01)	2.07 (0.02) [#]	1.82 (0.03)
	Perimeter length ($L_E + L_C$, mm)	7.10 (0.03)	7.05 (0.03)	7.01 (0.09)
Enamel	Thickness (T_E , mm)	0.09 (0.01)	0.08 (0.01)	0.09 (0.02)
	Perimeter length ($L_E + L_D$, mm)	4.08 (0.03)	4.04 (0.01)	4.18 (0.07)
	Cross-sectional area (mm ²)	0.16 (0.01)	0.16 (0.01)	0.17 (0.01)
	Length of EDJ (L_{EDJ} , mm)	1.90 (0.04)	1.79 (0.04)	1.95 (0.03)
Dentin	Thickness : Enamel-side (T_{D1} , mm)	0.61 (0.01)	0.31 (0.03) [#]	0.64 (0.02)
	Cementum-side (T_{D2} , mm)	0.52 (0.02)	0.25 (0.02) [#]	0.56 (0.02)
	Perimeter length of cementum side (L_C , mm)	4.88 (0.04)	5.00 (0.04)	4.78 (0.06)
	Cross-sectional area (mm ²)	1.85 (0.11)	1.29 (0.26) [#]	2.12 (0.13) [#]
	Distance between double labelings (mm)	0.16 (0.003)	0.16 (0.003)	0.12 (0.09) [#]
Pulp	Perimeter (L_P , mm)	3.99 (0.23)	4.45 (0.47) [#]	3.24 (0.21)
	Cross-sectional area (mm ²)	0.59 (0.11)	1.00 (0.26) [#]	0.28 (0.13) [#]
Periodontal area (mm ²)		0.98 (0.03)	0.91 (0.04)	1.25 (0.13)
Perimeter length of alveolar bone (L_B , mm)		8.52 (0.05)	8.38 (0.07)	8.80 (0.12) [#]

Tooth specimens under investigation were obtained from three animals in each group. The results are presented by the average (S. E.) of measurements of the three animals.

[#] The data obtained in the treated incisors were significantly different ($p < 0.05$, by student's *t* test) from the corresponding values in the control teeth.

Table 2 Results of histomorphometric measurements of the maxillary and craniofacial bones

Measurement parameters \ Tooth groups		Impeded	Pinned
1. Measurements of regional dimension on soft-X ray images (mm)			
Premaxillary-nasal length (H_{PN})		14.6 (0.4)	13.8 (0.3)
Premaxillary-nasal width (W_{PN})		8.1 (0.3)	7.8 (0.5)
Frontal-Maxillary length (H_{FM})		10.8 (1.0)	10.5 (1.1)
Parietal-Occipital length (H_{PO})		16.4 (1.0)	16.5 (0.7)
Parietal width (W_{PS})		16.2 (0.3)	16.2 (0.4)
2. Measurements on microradiogram of cross-sectional nasal-premaxillary bones (mm)			
Vertical dimension (T_{PN})		9.4 (0.3)	9.2 (0.2)
Hemi-horizontal dimension (W_P)		4.0 (0.2)	3.8 (0.1)
Length of upper portion of premaxillary bone (T_P) [*]		3.3 (0.2)	2.6 (0.1) [#]
Distance between nasal cavity and incisor (B)		2.5 (0.1)	2.3 (0.1)
3. Measurements on microradiogram of cross-sectional frontal-maxillary bones (mm)			
Vertical dimension (T_M)		10.7 (0.2)	10.9 (0.3)
Hemi-horizontal dimension (W_M)		4.1 (0.1)	4.1 (0.1)
4. Measurements on microradiogram of cross-sectional parietal-squamosal bones (mm)			
Vertical dimension (T_S)		11.1 (0.2)	11.4 (0.2)
Hemi-horizontal dimension (W_S)		7.3 (0.1)	7.4 (0.2)
Hemi-endosteal perimeter length (L_S)		16.1 (0.3)	16.5 (0.3)

Three pairs of the impeded and pinned teeth under investigation were collected from the same animals. The results are presented by the average (S. E.) of measurements on three animals in each group.

^{*} Length between enamel and premaxillary bone.

[#] The same as indicated in Table 1.

Fig. 8 Illustrative comparison of morphologic alterations of ameloblasts from the cervical loop toward the gingival end under discrete eruption conditions. The enamel portions marked by dots and horizontal lines correspond to the secretory (S) and maturation (M) stages, respectively. Two right-pointed open arrows of different sizes indicate the direction and relative rates of incisor eruption; no arrow means the complete prevention of tooth eruption after pinning the incisors. The blank incisal end of the impeded incisor represents the continuous loss of tooth substance due to attrition and/or abrasion. A. B., alveolar bone.

器細胞群あるいは形成された歯質の切端側への空間移動が阻害された状況下でも、エナメル芽細胞は基質脱却から石灰化亢進に必要な形態・機能変化を遂げていたことが注目された。この所見は、基質分泌の停止から基質脱却を経て退縮上皮にいたるエナメル芽細胞の形態変化には、切歯の萌出運動、切端方向への細胞移動に依存しないシグナルが関与していることを示唆している。現在のところ、作業仮説に止まっているが、エナメル芽細胞の形態・機能の制御に寄与する局所要因として、われわれはエナメル芽細胞の分泌産物（エナメル基質タンパクや酵素タンパク）によるフィードバック機構（たとえば、細胞外での酵素分解により産生された基質ペプチドがエナメル芽細胞に吸収される過程で、その吸収量あるいは吸収速度によって基質産生が抑制される）に着目している。このエナメル芽細胞の分泌産物と細胞間情報伝達との関わりに関連して、有根歯の萌出開始が歯冠エナメル質の基質産生の完了と同調して起こる機構として、エナメル質成熟化に向けて発現される分解酵素が歯小囊側へのシグナルとしても働くことが提唱されており²⁾、エナ

メル基質の分解産物が硬組織形成の誘導能を有することも報告されている³³⁾。なお、萌出を続ける切歯エナメル芽細胞は萌出端で変性・剥離していくが、萌出停止歯のエナメル質表面では薄膜状に退縮化し、長期間歯面に接して停滞していた。このような退縮化したエナメル上皮に由来して、顎骨内や歯肉結合組織内で歯原性嚢胞や歯原性腫瘍が発生すると考えられており、切歯の萌出抑制を表現型とするラット系統で歯牙腫の発症も報告されている³⁴⁾。今回の組織観察でも、エナメル質表面を覆う退縮上皮様構造の一部で嚢胞形成や扁平上皮の増生が観察された。今後、より長期間にわたる萌出停止実験において、萌出停止信号が最終的に歯胚ループでの細胞増殖の停止を引き起こすか否かを検証するとともに、萌出停止期間の延長に伴うエナメル上皮の形質転換の可能性について検討を進める予定である。

エナメル質形成にみられる厳密な形成量の制御に比べて、象牙芽細胞の基質分泌活性は萌出速度の変化に一次的には対応しておらず、切歯断面での象牙質厚さは大きな変動を示した。切歯の萌出促進は象牙質厚さの減少と歯髓腔の拡大をもたらしたが、この象牙質厚さの減少は、象牙芽細胞の基質分泌活性が萌出速度の促進に見合うほど亢進できないことを示している。ただし、今回の多重蛍光標識線の間隔から求められた象牙質添加速度については、無処置歯と萌出促進歯との間で明らかな差は認められなかった。これらの観察結果を総合してみると、萌出促進歯での1日当たりの象牙質形成量は、無処置歯よりも亢進されていると結論できる。萌出停止歯においても分離した多重標識線が観察できたことから、象牙質形成は歯髓腔の閉塞（象牙芽細胞層への血流の遮断）が生じるまでゆっくりとした速度で継続していることが確認された。この所見は、エナメル質形成では一定範囲内に形成量を制御するための停止機構が働いているのとは異なり、生理的な萌出を続けるラット切歯においては、不断の咬耗によって歯質損傷を受けることを前提としており、歯質損傷に備えた生体防御のために象牙質形成の停止機構を備えていないことを示唆している。機能的な象牙質形成のためには、象牙芽細胞は基質分泌と同調して無機イオンの輸送を継続させることが必要とされる。この細胞外での基質成分への無機塩の沈着に関して、EPMAの分析結果では、萌出停止歯において歯髓腔を埋めるように形成された骨様象牙質でCa濃度の亢進がみられた以外は、原生象牙質内でのCa濃度の組織内分布については、いずれの実験群切歯においても相同であることが確かめられた。萌出促進歯において、基質産生量の亢進に同調した急速な石灰化反応を必要とした場合に

も、Ca 濃度は無処置歯象牙質とほぼ等しい濃度を保っていたことは注目される。ただし、象牙質に取り込まれる Mg 濃度については、萌出速度の変化を敏感に反映しており、萌出促進状態では Mg 低下、萌出停止状態では Mg 増加をきたした。歯質内への Mg の取り込みについては、石灰化部位での溶液組成（とりわけ、 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ のイオン活量比）によって制御されており³⁵⁾、Mg 増加は石灰化のための過飽和度の低下（その結果としての石灰化反応速度の低下）を反映していると解釈できる。なお、多重蛍光標識された切歯の歯髓腔周囲では、ほぼ等間隔の平行な標識線が観察され、形態計測においては部位別（エナメル質側とセメント質側、あるいは頬側と口蓋側）での象牙質形成量の違いを検出するのは困難であった。ただし、Mg 濃度の分析結果では、萌出状態の違い、さらには同じ歯においても部位（エナメル質側とセメント質側）により顕著な差が検出されており、象牙質の石灰化反応速度に違いのあることが推定できた。

切歯と周囲の骨組織との間での解剖学的な位置関係や機能面での動的平衡状態を維持していくうえで、萌出運動、咬合機能、さらに切歯自体を含む顎顔面頭蓋の成長発育に起因する刺激が重層的に働き、細胞組織応答を誘起していると考えられる。咬合機能が切歯周囲に骨組織に及ぼす作用と関連して、非咬合状態に保った萌出促進歯では、骨改造現象の一定程度の減衰を反映して、歯槽窩壁面の多重標識線の間隔が狭くなる、あるいは標識線が不連続となる変化が観察された。萌出停止歯においても、エナメル質側の歯根膜腔の狭窄をきたし、同部に相当する歯槽窩壁面への蛍光標識の取り込みは少なく、骨モデリングは不活性化されていた。他方、切歯のセメント質側では前顎骨の成長に伴い広い歯根膜腔が生じており、この拡張された歯根膜腔に面する骨表面では棘状の骨形成を含む活発な骨形成反応が起こっていた。この場合の骨形成反応の引き金となる要因として、固定された切歯もその切端部は口腔内に萌出していたことから、摂食行動に際して力学的負荷刺激を受けていた可能性と、顎骨成長につれて歯根膜線維を介した牽引効果が生み出された可能性が考えられる。このような切歯周囲での骨組織では、萌出状態の変化に対応した構造・改造現象への影響が大きく現れていたが、今回の顔面頭蓋骨での形態計測の結果では、萌出停止歯の周囲に位置する前顎骨の解剖学的形態を除き、形態変化は検知されなかった。したがって、外科的侵襲や切歯萌出異常にもかかわらず、顎顔面頭蓋骨の成長発育はプログラムに沿って左右対称性を維持するように遂行されていることが確かめられた。

結 論

1. 動物個体の成長に伴いラット切歯自体は大きくなっていく。萌出促進歯においては、切歯自体の成長は影響を受けないが、萌出停止歯においては、形成端での歯質形成は継続していたが、切歯の成長は阻害された。

2. 萌出促進歯では、両側処置と片側処置とにかかわらず、象牙質の菲薄化と歯髓腔の拡大が顕著であり、エナメル質においては基質形成期が延長していた。エナメル芽細胞の形態的特徴から、エナメル質の成熟化は萌出直前にいたるまで継続していた。

3. 萌出停止歯におけるエナメル質形成は、組織形態、形成量、成熟化に関してラット固有のプログラムに沿って遂行されていた。他方、象牙質形成は萌出停止期間も停止機構が働かず、歯髓組織を置換しながら増生を続けていた。

4. 萌出停止歯の高度に石灰化したエナメル質表面を覆う退縮上皮様の上皮細胞層の一部では、組織液の貯留による嚢胞形成や結合織に向けた重層扁平上皮の増殖傾向が認められた。

5. 切歯を含む前顎骨の一部では、萌出状態に関連した形態変化が生じていたが、外科的侵襲や切歯萌出異常にもかかわらず、顎顔面頭蓋骨は成長プログラムに沿って進行していることが確かめられた。

本研究課題の一部は、文部省科学研究費（課題番号 11771126, 12771306）の援助を受けた。

文 献

- 1) Westergaard, B. and Ferguson, M. W. : Development of the dentition in alligator *Mississippiensis* : upper jaw dental and craniofacial development in embryos, hatchlings, and young juveniles, with a comparison to lower jaw development. *Am. J. Anat.* **187** : 393-421, 1990.
- 2) Gorski, J. P. and Marks, S. C., Jr. : Current concepts of the biology of tooth eruption. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **3** : 185-206, 1992.
- 3) 須賀昭一 : 歯槽骨—その構造、機能と反応—。歯界展望 **61** : 840-852, 1983.
- 4) Smith, C. E. and Warshawsky, H. : Cellular renewal in the enamel organ and the odontoblast layer of the rat incisor as followed by radioautography using ^3H -thymidine. *Anat. Rec.* **183** : 523-562, 1975.

- 5) Main, J. H. P. and Adams, D. : Measurement of the rate of eruption of the rat incisor. *Archs. Oral Biol.* **10** : 999—1008, 1965.
- 6) Weinreb, M. M., Assif, D. and Michaeli, Y. : Role of attrition in the physiology of the rat incisor, the relative value of different components of attrition and their effect on eruption. *J. Dent. Res.* **46** : 527—531, 1967.
- 7) Taverne, A. A. : Reliability of eruption rate measurements of the rat incisor. *Aust. Orthod. J.* **12** : 33—36, 1991.
- 8) Wise, G. E., Lin, F. and Fan, W. : Localization of epidermal growth factor and its receptor in mandibular molars of the rat prior to and during prefunctional tooth eruption. *Dev. Dynam.* **195** : 121—126, 1992.
- 9) Iizuka, T., Cielinski, M., Aukerman, S. L. and Marks, S. C., Jr. : The effects of colony-stimulating factor-1 on tooth eruption in the toothless (osteopetrotic) rat in relation to the critical periods for bone resorption during tooth eruption. *Archs. Oral Biol.* **37** : 629—636, 1992.
- 10) Shore, R. C., Kolokuris, I., Robinson, C. and Kirkham, J. : Immunohistochemical investigation of epidermal growth factor receptor expression during periods of accelerated rat incisor eruption. *Archs. Oral Biol.* **37** : 389—393, 1992.
- 11) Michaeli, Y., Zajicek, G. and Regev, J. : The adaptation of a two compartment cell renewal system to external demands : A study of the rat incisor inner enamel epithelium. *Cell Tissue Res.* **194** : 163—170, 1978.
- 12) Ohshima, S. and Chiba, M. : Changes in mitotic activity in the basal proliferative tissues after experimental shortening of the rat incisor. *Archs. Oral Biol.* **26** : 533—535, 1981.
- 13) Michaeli, Y., Pitaru, S. and Zajicek, G. : On the derivation of cell kinetics from histomorphology, observed in the rat incisor odontoblast. *Cell Tissue Kinet.* **14** : 73—84, 1981.
- 14) Weinreb, M., Jr., Steigman, S., Zajicek, G. and Michaeli, Y. : Odontoblast turnover in the impeded and unimpeded rat incisor derived from computerized histomorphometry. *Anat. Rec.* **211** : 218—225, 1985.
- 15) Risnes, S., Septier, D. and Goldberg, M. : Accelerated eruption of rat lower incisor relationship between impeded and unimpeded eruption rates, rate of attrition, tooth length, and production of dentin and enamel. *Connect. Tissue Res.* **32** : 183—189, 1995.
- 16) Robinson, C., Kirkham, J. and Nutman, C. A. : Relationship between enamel formation and eruption rate in rat mandibular incisors. *Cell Tissue Res.* **254** : 655—658, 1988.
- 17) Kirkham, J., Robinson, C., Phull, J. K., Shore, R. C., Moxham, B. J. and Berkovitz, B. K. B. : The effect of rate of eruption on periodontal ligament glycosaminoglycan content and enamel formation in the rat incisor. *Cell Tissue Res.* **274** : 413—419, 1993.
- 18) Weinreb, M. M., Assif, D. and Michaeli, Y. : Role of attrition in the physiology of the rat incisor. I. The relative value of different components of attrition and their effect on eruption. *J. Dent. Res.* **46** : 527—531, 1967.
- 19) Steigman, S., Michaeli, Y. and Zajicek, G. : The influence of calibrated loads upon the rate of eruption of mandibular rat incisors. *Archs. Oral Biol.* **26** : 327—331, 1981.
- 20) Steigman, S., Barad, A. and Michaeli, Y. : The effect of load duration on long-term recovery of the eruptive function in the rat incisor. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* **93** : 310—314, 1988.
- 21) Burn-Murdoch, R. A. : The effect of the consistency of the diet on eruption rates and lengths of incisor teeth in rats. *Archs. Oral Biol.* **38** : 699—706, 1993.
- 22) Sauk, J. J. : Genetic disorders involving tooth eruption anomalies. In : *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption and Root Resorption*. (edited by Davidovitch, Z.), pp. 171—179, EBSCO Media, Birmingham, 1988.
- 23) Berkovitz, B. K. B., Migdalski, A. and Solomon, M. : The effect of the lathyrus agent aminoacetonitrile on the unimpeded eruption rate in normal and root-resected rat lower incisors. *Archs. Oral Biol.* **17** : 1755—1763, 1972.
- 24) Chiba, M. and Ohshima, S. : Effects of colchicine and hydrocortisone on unimpeded eruption rates of root-resected mandibular incisors of rats. *Archs. Oral Biol.* **30** : 147—153, 1985.
- 25) Burn-Murdoch, R. A. : The effect of corticosteroids and cyclophosphamide on the eruption of resected incisor teeth in the rat. *Archs. Oral Biol.* **33** : 661—667, 1988.
- 26) Teng, C. M., Sobkowski, F. J. and Johnston, L. E., Jr. : The effect of cortisone on the eruption rate of root-resected incisors in the rat. *Am. J. Orthod.*

- Dentofacial Orthop. **95** : 67—71, 1989.
- 27) 安藤文人, 石川晴夫, 青葉孝昭: ラット臼歯への短期間の矯正力負荷にともなう骨吸収/骨形成活性の発現に関する病理組織学的研究. 歯学 **87** : 191—208, 1999.
- 28) 佐藤かおり, 青葉孝昭: 常生歯であるラット切歯の歯質形成と萌出の制御機構に関する研究: 微小管阻害薬コルセミドによる影響. 歯学 **84** : 210—226, 1996.
- 29) Aoba, T., Moreno, E. C. and Shimoda, S. : Labile or surface pools of magnesium, sodium, and potassium in developing porcine enamel mineral. J. Dent. Res. **71** : 1826—1831, 1992.
- 30) Suga, S. : Comparative histology of progressive mineralization pattern of developing enamel. In : Mechanisms of Tooth Enamel Formation. (edited by Suga, S.), pp. 167—203, Quintessence, Tokyo, 1983.
- 31) 柳下寿郎, 青葉孝昭: 落射型蛍光顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡を用いたヒト萌出歯および形成期ラット切歯におけるテトラサイクリン標識に関する研究. 歯学 **84** : 20—29, 1996.
- 32) Sato, K., Hattori, M. and Aoba, T. : Disturbed enamel mineralization in rat incisor model. Adv. Dent. Res. **10** : 216—224, 1996.
- 33) Nebgen, D. R., Inoue, H., Sabsay, B., Wei, K., Ho, V. S. and Veis, A. : Identification of the chondrogenic-inducing activity from bovine dentin (bCIA) as a low-molecular-mass amelogenin polypeptide. J. Dent. Res. **78** : 1484—1494, 1999.
- 34) Slootweg, P. J., Kuijpers, M. H. M. and van de Kooij, A. J. : Rat odontogenic tumors associated with disrupted tooth eruption. J. Oral. Pathol. Med. **25** : 481—483, 1996.
- 35) Aoba, T., Moreno, E. C. and Shimoda, S. : Competitive adsorption of magnesium and calcium ions onto synthetic and biological apatites. Calcif. Tissue Int. **51** : 143—150, 1992.