

# ビスホスフォネート投与による ラット臼歯萌出遅延過程の病理組織学的解析

春山博貴 伊東博司<sup>1)</sup> 山崎 章<sup>1)</sup>

## Histopathological Examination of Experimentally Retarded Rat Molar Eruption Induced by Bisphosphonate Injection

Hiroki HARUYAMA, Hiroshi ITO<sup>1)</sup> and Akira YAMASAKI<sup>1)</sup>

In order to clarify the involvement of osteoclasts in the tooth eruption, the osteoclastic function of newborn rats was inhibited by the administration of bisphosphonate, a strong osteoclast inhibitor, and then the developing maxillary molars and their surrounding tissue were histopathologically examined.

Newborn rats were received daily injections of 0.2 mg/kg of incardronate, a member of aminobisphosphonate, that started at 3 days of age. The maxillae were dissected on the 9th, 12th, 15th, 17th and 20th days after birth and the paraffin sections of the first molars and surrounding tissue were stained with H-E or tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). The specimens from the age-matched non-injected rats served controls.

In the control group, the resorption of the bone tissue covering the occlusal surface began on the 9th day after birth, the covering completely disappeared on the 15th day after birth, and the tip of the tooth crown was exposed to the oral cavity. In the experimental group, on the other hand, the covering bone tissue still remained on the 15th day after birth and the formation of both root and interradicular septum was greatly disturbed.

Between the 9th and 15th days after birth, the injury of survival surface of the crown, and the distortion and interruption of Hertwig's epithelial sheath caused by the invasion of unresorbed bony trabeculae were evident in the experimental group. Osteoclasts observed in the experimental group tended to be large in size and often showed apoptosis.

From the present study, it is speculated that the disturbed bone resorption induced by the administration of bisphosphonate brings about multiple derangements in the tooth morphogenesis and their reciprocal influence leads to the retarded tooth eruption.

Key words : bisphosphonate, osteoclast, bone resorption, tooth eruption

### 緒 言

歯の萌出不全,あるいは遅延に対する対応は,

小児歯科臨床における重要な課題のひとつである。この異常はDown症候群などの遺伝性疾患や脳性小児麻痺,ビタミン欠乏などの全身疾患の一徴候

受付:平成20年6月30日,受理:平成20年8月5日  
奥羽大学大学院歯学研究科小児歯科学専攻  
奥羽大学歯学部口腔病態解析学講座<sup>1)</sup>  
(指導:福岡 章教授)

Department of Pediatric Dentistry, Ohu University, Graduate  
School of Dentistry  
Department of Oral Medical Science, Ohu University School  
of Dentistry<sup>1)</sup>  
(Director: Prof. Akira FUKUOKA)

として現れる場合<sup>1)</sup>と primary failure of eruption (PFE) と呼ばれる疾患のように特発性に生じる場合<sup>2)</sup>とがあるが、いずれにおいても病理発生メカニズムは不明である。正常な萌出メカニズム自体がいまだ完全には解明されていないことがその最大の理由と考えられる。歯の萌出は歯胚およびその周囲組織を構成する細胞が互いに関与し、協調し合う高度に複雑化された過程を経て行われる<sup>3)</sup>。したがって要因をひとつに特定することはできないし、また、考えられるそれぞれの要因を個々に論ずることも意味をもたない。現在、主要な要因として、歯根形成、骨リモデリング、退縮エナメル上皮のシグナリング効果、歯周靱帯の形成が挙げられているが<sup>4,5)</sup>、いずれにおいても完全に証明されたわけではなく、また、関与する細胞の時間的、空間的動態についても十分に解明されてない。

以上の要因を俯瞰したとき、それぞれの要因に共通して役割を演じる細胞として破骨細胞の存在が注目される。そこで我々は、骨吸収抑制剤として広く臨床応用がなされているビスホスフォネートを用い、歯が形成される時期のラットにおいて、実験的に破骨細胞の機能を阻害した場合、どの時期に、どの場所で、どのような変化が生じ萌出遅延に至るかを明らかにするために本研究を行った。これによって萌出のメカニズムの一端を明らかにすることができるかもしれないと考えた。

## 材料と方法

### 1. 実験動物

実験動物として、日本クレア社（東京）から購入した雌雄Wistar系ラットを交配させて得た仔ラット40頭を用いた。動物の取り扱いには奥羽大学実験動物規程に従った。ラットは室温23℃、湿度65%に調節された動物舎で飼育した。仔ラットには自由に授乳させ、また母ラットにはラット用固形飼料（MF、オリエンタル酵母社、東京）と水道水を自由に摂取させた。

### 2. 実験方法

ビスホスフォネートとしてインカドロネート（アステラス製薬、東京、より供与）を用いた。インカドロネートは使用時0.1mg/mlとなるようリン酸緩衝生理食塩水に溶解した。実験群では、生後3

日より実験終了前日まで0.2mg/kgのインカドロネートを毎日1回ラット背部皮下に注射投与した。生後9, 12, 15, 17, 20日にエーテル麻酔下でラットを屠殺し、上顎を採取した。各実験期間、5頭のラットを用いた。実験群と同じ日齢の無処置ラット各3頭から試料を採取し対照群とした。

### 3. 標本作製

採取試料は10%中性緩衝ホルマリンで24時間固定を行った後、10%EDTA水溶液に浸漬し14日間脱灰した。脱灰試料は通法によりパラフィンに包埋し、白歯列に平行な近遠心方向、厚さ4μmの連続切片を作製した。切片にH-E染色を施して病理組織学的検索を行うとともに、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ（TRAP）染色を行い破骨細胞およびその前駆細胞の動態を検索した。TRAP染色はナフトールAS-BIを基質とする酸性ホスファターゼ検出液にL-酒石酸ナトリウム（Sigma社、USA）を50mMの濃度で加えた反応液（pH 5.0, 37℃）に30分間浸漬して行った。反応終了後の切片にはヘマトキシリンで核染色を行った。

## 結 果

### 1) 生後9日

対照群では第一白歯歯冠の形態形成はほぼ終了し、根分岐部髄床底の形成が開始されていた。歯胚咬合面を覆う骨組織は菲薄で、遠心咬頭頂に面する部分が消失していた（図1a）。TRAP染色では破骨細胞が歯胚を囲む骨組織全体に分布していたが、歯胚の根形成相当部および髄床底に面する骨表面で特に密であった（図1b）。破骨細胞の多くは扁平な形態を示し、それらの周囲骨表面に反応産物の沈着が観察された（図1c）。

実験群では、歯冠の形態形成は終了していたが、咬合面は全面が厚い骨組織で覆われ、髄床底の形成は見られなかった（図1d）。TRAP染色で咬合面を覆う骨組織に多数の破骨細胞が観察されたが、歯胚歯根部に面する骨組織では少数であった。破骨細胞は対照群に比べ大型で、多角形ないし類円形を呈し多数の核を有しており、それらの多くが骨面から離れて観察された。またしばしばアポトーシスを示す像が観察された（図1e）。

### 2) 生後12日

対照群では咬合面を覆う骨組織は近遠心側の一部を除きその大半が消失していた。歯胚基底部では歯根および髓床底の形成が進行していた(図2a)。歯頸部では歯根表面から咬合面側へ向かって線維束が走行し(図2b)、髓床底直下には骨との間に一定の厚さで線維組織層の介在が認められた(図2c)。破骨細胞は、歯根部では形成中の歯根根尖に面する側の骨表面で(図2d)、髓床底部では反対側の骨表面(図2e)で観察された。

実験群では咬合面全面が骨組織で覆われていた(図2f)。歯根の形成は認められたものの、一部骨梁による圧迫で変形し(図2g)、対照群で観察されたような歯根表面から咬合面に向かう線維束の形成は認められなかった。髓床底の形成も認められたが、骨組織との間に明瞭な線維組織層の介在は見られず、骨梁による圧迫、変形、分断が観察された(図2h)。破骨細胞は咬合面を覆う骨組織や(図2i)、歯根先端(図2j)および髓床底に面する骨組織(図2k)で数多く認められたが、その多くは大型であった。

### 3) 生後15日

対照群では咬合面を覆う骨組織はほぼ全面で消失し、歯胚咬頭が口腔上皮に近接していた(図3a)。歯根部では歯根と髓床底の形成がさらに進行し、髓床底下部の線維組織では多量の線維骨が観察され、根間中隔の形成が明らかとなった(図3b)。TRAP染色では大型の破骨細胞が根尖に面する骨組織表面に規則正しく密に配列して観察された(図3c)。歯根側面の骨組織では、破骨細胞が近心根では歯根に面する外側に局在し(図3d)、遠心根では内側に局在していた(図3e)。

実験群では咬合面を覆う骨組織の一部が吸収されていたが、大部分は残存していた(図3f)。歯根および髓床底の形成状況には生後12日と比べ明らかな変化は認められなかった。髓床底下には既存の骨組織が近接して観察され、根間中隔の形成は見られなかった(図3g)。破骨細胞は歯胚周囲の骨組織に多数存在していたが、その分布状況に対照群で見られたような規則性や局在性は認められなかった(図3h, i)。

### 4) 生後17日

対照群では咬頭頂が口腔内に露出していた(図

4a)。根形成がさらに進行し、根間中隔は幼若な線維骨から成熟した層板骨へと変換しており造血髓の形成が見られた(図4b)。破骨細胞は根尖を含む歯槽骨表面と根間中隔内部で観察されたが、15日に比べ数が少なく小型のものが多かった。また遠心根に比べ近心根に面する歯槽骨でより多い破骨細胞が観察された(図4c, d)。根間中隔表面には破骨細胞は認められなかった。

実験群では咬合面の骨組織はほとんど消失していたが、歯は埋伏状態にあった。歯根形成は認められたが歯頸部での変形が著しく、髓床底は不規則な屈曲を示した(図4e)。髓床底下では線維組織の増生が多少みられるものの新生骨の形成は観察されなかった(図4f)。TRAP染色では大型の破骨細胞が周囲骨組織に分布していたが、特定の局在傾向は認められなかった(図4g)。

### 5) 生後20日

対照群の第一臼歯は完全に萌出していた(図5a)。TRAP染色で破骨細胞は近心歯槽骨表面に観察されたが(図5b)根尖に面する歯槽骨や遠心歯槽骨(図5c)、根間中隔の表面ではごくわずか、もしくはほとんど観察されなかった。

実験群では一部の咬頭頂が口腔内に露出していた(図5d)。生後17日に比べ歯根形成がより明らかになったものの不規則な形態を示し、対照群に比べはるかに遅延していた。根間中隔の形成も明らかでなかった(図5e)。TRAP染色で周囲の骨組織に大型の破骨細胞が観察され、特に根尖部および根間中隔相当部に数多く認められた(図5f)。

## 考 察

ビスホスフォネートはピロリン酸の構造類縁体で、骨のヒドロキシアパタイトに高い親和性を有し、骨の表面に選択的に吸着する。吸着したビスホスフォネートは骨吸収によって溶出し直接的に破骨細胞の機能を阻害する。ビスホスフォネートには窒素を含むアミノビスホスフォネートと含まないものがあるが、本研究で用いたインカドロンは前者に当たる。アミノビスホスフォネートはコレステロール合成のメバロン酸経路の酵素阻害を通じて細胞骨格の形成を阻害することが明らかにされている<sup>6-8)</sup>。このため破骨細胞では、

アクチンリングや波状縁が形成されず骨面から遊離して、最終的にはアポトーシスに陥る。本研究でも、観察されたほとんどの破骨細胞が骨面から離れた状態で観察され、しばしばアポトーシスが観察された。また、対照群に比べ大型で数も多かったが、同様の所見が、インカドロネートを投与された成長期マウスの脛骨でも観察されている<sup>9)</sup>。これらの特徴はおそらく個々の破骨細胞の機能不全に起因した代償性変化であろう。Grier and Wise<sup>10)</sup>はビスホスフォネートの一種パミドロネートを投与したラット顎骨で同様の所見を観察し、破骨細胞分化因子CSF-1とその受容体の発現は阻害されていないところから、この現象が、破骨細胞機能障害後も代償性に単核前駆細胞の癒合が継続していることによると考えている。

本研究で歯が形成される時期のラットにインカドロネートを投与した結果、無処置対照群に比べ臼歯の萌出が著しく遅延した。萌出に至る一連の形態学的変化を病理組織学的に追求したところ、実験群では、咬合面を覆う骨組織の残存、根部における骨梁による歯胚、特にヘルトヴィッヒ上皮鞘の圧迫、破壊とそれに起因する歯根および髄床底、歯周靭帯さらには根間中隔の形成障害が観察された。このことから咬合面の骨吸収とともに歯槽骨、歯周靭帯を含めた歯の組織全体が歯の正常な萌出に必要であることが示唆される。

最近Baradachia-Correa<sup>11)</sup>はアミノビスホスフォネートであるアレンドロネートを歯が形成される時期のラットに投与したところ、骨梁の侵襲によりエナメル質が変形し、歯根はほとんど形成されず、30日後にも咬合面には骨組織が存在し、歯は完全に埋伏した状態であったと報告している。本研究では、遅延は明らかかなものの咬合面の骨は生後20日の時点で大半が消失し、わずかながら歯根の形成も見られた。また、パミドロネートを投与したGrier and Wise<sup>9)</sup>は、萌出の遅延を報告したが、歯の変形の有無については記載していない。ビスホスフォネートの種類による骨吸収抑制効果の違いが歯の形態異常や萌出障害の程度に影響を与えているものと思われる。本研究に用いたインカドロネートでは、歯の形成異常は観察されなかった。

歯の萌出のためにまず咬合面を覆う骨組織が吸収され萌出路が確保される必要がある。このことは大理石骨病ラット (*ia/ia*)<sup>12)</sup>またはマウス (*op/op*)<sup>13,14)</sup>を用いた実験で最初に立証された。大理石骨病は破骨細胞機能障害による疾患で、歯の萌出障害を病態のひとつとする。これらの動物に骨髓移植または破骨細胞の分化に必須の成長因子CSF-1の投与を行ったところ、機能的破骨細胞が出現して咬合面を覆う骨が吸収され、歯が萌出した。Wise and Lin<sup>15)</sup>は歯が萌出する時期の歯小囊においてCSF-1 mRNAの発現増強を認め、それを促進するIL-1が隣接するエナメル器においてEGFの誘導により産生されることを報告している。さらに最近、Heinrichら<sup>16)</sup>は新生仔マウス顎骨において破骨細胞の出現パターンと破骨細胞分化因子RANKLおよびそのアンタゴニストOPGのmRNA発現との関連を検索している。そのなかで彼らは、咬合面に骨組織が存在する間は、ここでのRANKLの発現はOPGの発現を上回り、これと連動して多数の破骨細胞が出現するが、吸収を終え歯の萌出が進むに従いOPGの発現がRANKLの発現を上回り、破骨細胞が出現しなくなったと述べている。

本研究では、インカドロネート投与後時間の経過とともに歯胚基底部分は周囲骨組織と密着し、部分的に歯小囊が圧迫され消失し、あるいはその存在が不明確になった。さらに歯胚の変形やヘルトヴィッヒ上皮鞘の屈曲、断裂、歯周靭帯や歯根の形成障害を来した。周囲の骨組織では、腫大した多数の破骨細胞が存在したが、対照群に見られたような分布の規則性は見られず、骨リモデリングの欠如が明らかであった。歯小囊を除去すると歯は萌出せず<sup>17)</sup>、逆に歯小囊を保存すると歯が人工レプリカであっても萌出する<sup>18)</sup>との実験結果から、歯の萌出における歯小囊の重要性が古くから指摘されている。その後の研究で歯の萌出に関連すると推定される因子が数多く報告されているが、その大部分は歯小囊に局在している<sup>19)</sup>。従って歯小囊の傷害は歯の萌出を障害する大きな要因になると推測される。

歯小囊はヘルトヴィッヒ上皮鞘との相互作用によって歯根形成に根源的な役割を有する。従って

インカドロネート投与によって生じた歯根形成の著しい遅延には、歯小囊の圧迫とヘルトヴィッヒ上皮鞘の変形、損傷が大きく影響していると思われる。歯根形成は古くから歯の萌出の一要因に挙げられていたが、本研究でそのことを明確に支持する所見は得られなかった。実験的<sup>17)</sup>あるいは臨床的<sup>20)</sup>に歯根を欠く歯が萌出した例があることから、むしろ現在では、歯根形成自体は萌出の直接原因にはなり得ず、萌出の結果であるとの考えが有力である。本研究の対照群で、形成中の歯根先端部に規則正しく配列する破骨細胞の存在が認められ、Heinrichら<sup>16)</sup>も、咬合面の骨組織がほぼ吸収され萌出が進行している時期に、根尖部では破骨細胞が増加することを観察している。このような破骨細胞の出現は、歯根成長の空間を確保するためのものである。

本研究において、対照群の生後12日では、髓床底下の歯小囊が肥厚し、生後15日では、著しい線維骨の形成が観察され、生後17日では、層板骨への改築が行われ根間中隔形成が完了した。一方インカドロネート投与群では生後20日においても髓床底下は既存の骨組織からなり、根間中隔の形成は認められなかった。根間中隔を含めた固有歯槽骨の形成は、一度既存の骨が吸収され、それがきっかけとなり歯小囊に存在する未分化な外胚葉性間葉細胞が骨芽細胞へ分化して行われるが、本研究の場合、歯小囊の圧迫と骨リモデリング欠如により根間中隔の形成が行われなかった可能性がある。根間中隔の形成は歯根形成と不可分の関係にある。従って、これが萌出の要因となりうるかについては、歯根形成を含めたより総合的な見地から検討していく必要があるように思われる。

## 結 論

歯が形成される時期のラットにビスホスフォネートの一種インカドロネートを連日投与したところ著しい萌出遅延が起きた。組織学的に、咬合面を覆う骨組織の残存、既存骨梁の圧迫による歯胚の変形、ヘルトヴィッヒ上皮鞘の断裂、屈曲、歯小囊の圧迫それによる不明瞭化、歯根および髓床底、歯周靭帯、根間中隔の形成障害が観察された。これらの異常が複合的に影響し合って萌出遅

延が生じたものと考えられる。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究を御指導くださいました奥羽大学口腔病態解析制御口腔病理学、福岡 章教授、伊東博司准教授ならびに同大学成長発育歯学講座小児歯科学、鈴木康生教授に心から感謝致します。併せて、本研究の遂行に種々ご協力を賜った両講座の先生方にも心から感謝致します。

本論文の要旨は、第44回奥羽大学歯学会（平成19年11月 郡山市）にて発表した。

## 文 献

- 1) 石川梧朗, 秋吉正豊 : I. I -歯の発育異常(萌出遅延)口腔病理学 ; 38 永末書店 東京 1989.
- 2) Ahmad, S., Bister, D. and Cobourne, M. T. : The clinical features and aetiological basis of primary eruption Failure. *Euro J Orthodontics* 28 ; 535-540 2006.
- 3) Ten Cate, AR. and Nancy, A. : Physiologic tooth movement : Eruption and shedding. *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function*. 6th Ed ; 275-298 Mosby St Louis 2003.
- 4) Marks, S. C. and Schroeder, H. E. : Tooth eruption : theories and facts. *Anat Rec* 245 ; 374-393 1996.
- 5) Wise, G. E. and Frazier-Bowers, S., D'Souza, R. N. : Cellular molecular, and genetic determinants of tooth eruption. *Crit Rev Biol Med* 13 ; 323-334 2002.
- 6) Fisher, J. E., Rogers, M. J., Halasay, J. M., Luckman, S. P. *et al.* : Alendronate mechanism of action : Geranylgeraniol an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation in vitro. *Proc Natl Sci USA* 96 ; 133-138 1999.
- 7) Dunfold, J. E., Thompson, K., Coxson, F. P., Luckman, S. P. *et al.* : Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro by nitrogencontaining bisphosphonates. *J Pharmcol Exp Ther* 296 ; 235-242 2001.
- 8) Coxson, F., Helfrich, M. H., Van'thof, R., Sebti, S. *et al.* : Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, fusion, and survival ; inhibition by bisphosphonates and GGTT-298. *J Bone Miner Res* 15 ; 1467-1476 2000.
- 9) 奥山典子, 櫻井裕子, 遊佐淳子, 山崎 章ほか :

- 内軟骨性化骨における破(軟)骨細胞機能障害の影響. 奥羽大歯学誌 **33**; 57-64 2006.
- 10) Grier, R. L. and Wise, G. E. : Inhibition of tooth eruption in the rat by bisphosphonate. *J Dent Res* **77**; 8-15 1998.
  - 11) Braschia-Correa, V., Massa, L. F. and Arena-Chaves, V. E. : Effects of alendronate on tooth eruption and molar root formation in young growth rats. *Cell and Tissue Res* **330**; 475-485 2007.
  - 12) Marks, S. C. : Tooth eruption and bone resorption : experimental investigation of the ia (osteopetrotic) rat as a model for studying their relationships. *J Oral Pathol* **5**; 149-163 1976.
  - 13) Kodama, H., Yamasaki, A., Nose, M. *et al.* : Congenital osteoclast deficiency in osteopetrotic (op/op) mice is cured by injection on macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* **173**; 269-272 1991.
  - 14) Niida, S., Abe, M., Suemune, M., Yoshiko, Y. *et al.* : Resorption of disturbed tooth eruption in osteopetrotic (op/op) mice by injection macrophage colony-stimulating factor. *Exp Anim* **46**; 95-101 1997.
  - 15) Wise, G. E. and Lin, F. : Regulation and localization of colony-stimulating factor mRNA in cultured rat dental follicle cells. *Archs Oral Biol* **39**; 621-627 1994.
  - 16) Heinrich, J., Bsoul, S., Barnes, J., Woodruff, K. *et al.* : CSF-1, rankl and opg regulate osteoclastogenesis during murine tooth eruption. *Archs Oral Biol* **50**; 897-908 2005.
  - 17) Cahill, D. R. and Marks, S. C. : Chronology and eruption of mandibular premolars in dog. *J Morphol* **171**; 213-218 1984.
  - 18) Marks, S. C. and Cahill, D. R. : Experimental study in the dog of the non-active role of tooth in the eruptive process. *Archs Oral Biol* **29**; 311-322 1984.
  - 19) Wise, G. E. Freizar-Bower. and D'Souza, R. N. : Cellular, molecular, and genetic determinants of tooth eruption. *Crit Rev Biol* **13**; 323-334 2002.
  - 20) Carl, W. and Wood, R. : Effects of radiation on the developing dentition and supporting bone. *J Am Dent Assoc* **101**; 646-648 1980.
- 著者への連絡先 : 春山博貴, (〒963-8611)郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部成長発育歯学講座小児歯科学分野  
 Reprint requests : Hiroki HARUYAMA, Division of Pediatric dentistry, Department of Oral growth and Development, Ohu University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan

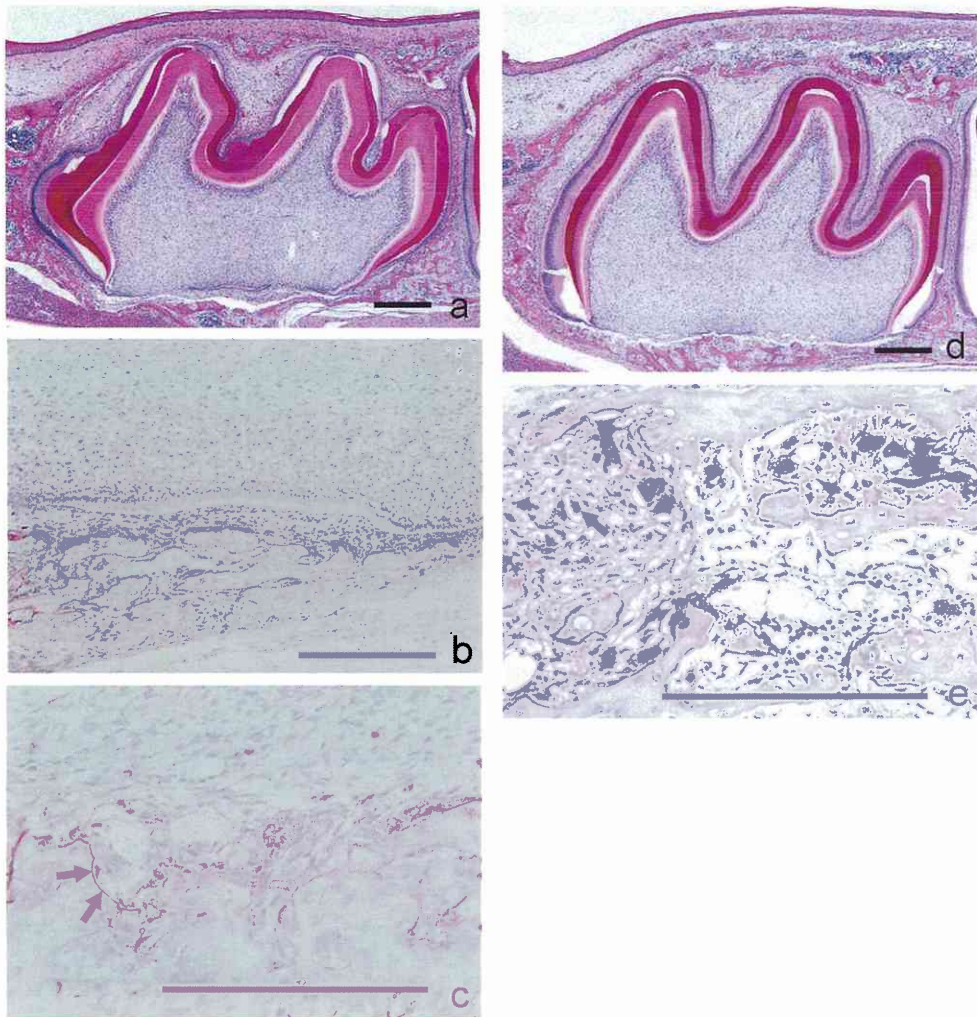


図1 生後9日

(a)-(c)：対照群。(a)H-E染色。咬合面部骨の一部消失が見られる。スケールバーは $500\mu\text{m}$ 。(b)TRAP染色。髓床底に面する骨表面に多数の破骨細胞が出現している。スケールバーは $200\mu\text{m}$ 。(c)TRAP染色，根尖部。多くの破骨細胞は扁平な形態をとる。矢印：骨梁表面で線状に沈着した陽性反応物。スケールバーは $200\mu\text{m}$ 。

(d), (e)実験群。(d)H-E染色。咬合面は造血髄を伴った骨で覆われる。スケールバーは $500\mu\text{m}$ 。(e)TRAP染色，咬合面部。破骨細胞は類円形・多角形で，豊かな胞体を有している。矢印：アポトーシスに陥った破骨細胞。スケールバーは $200\mu\text{m}$ 。



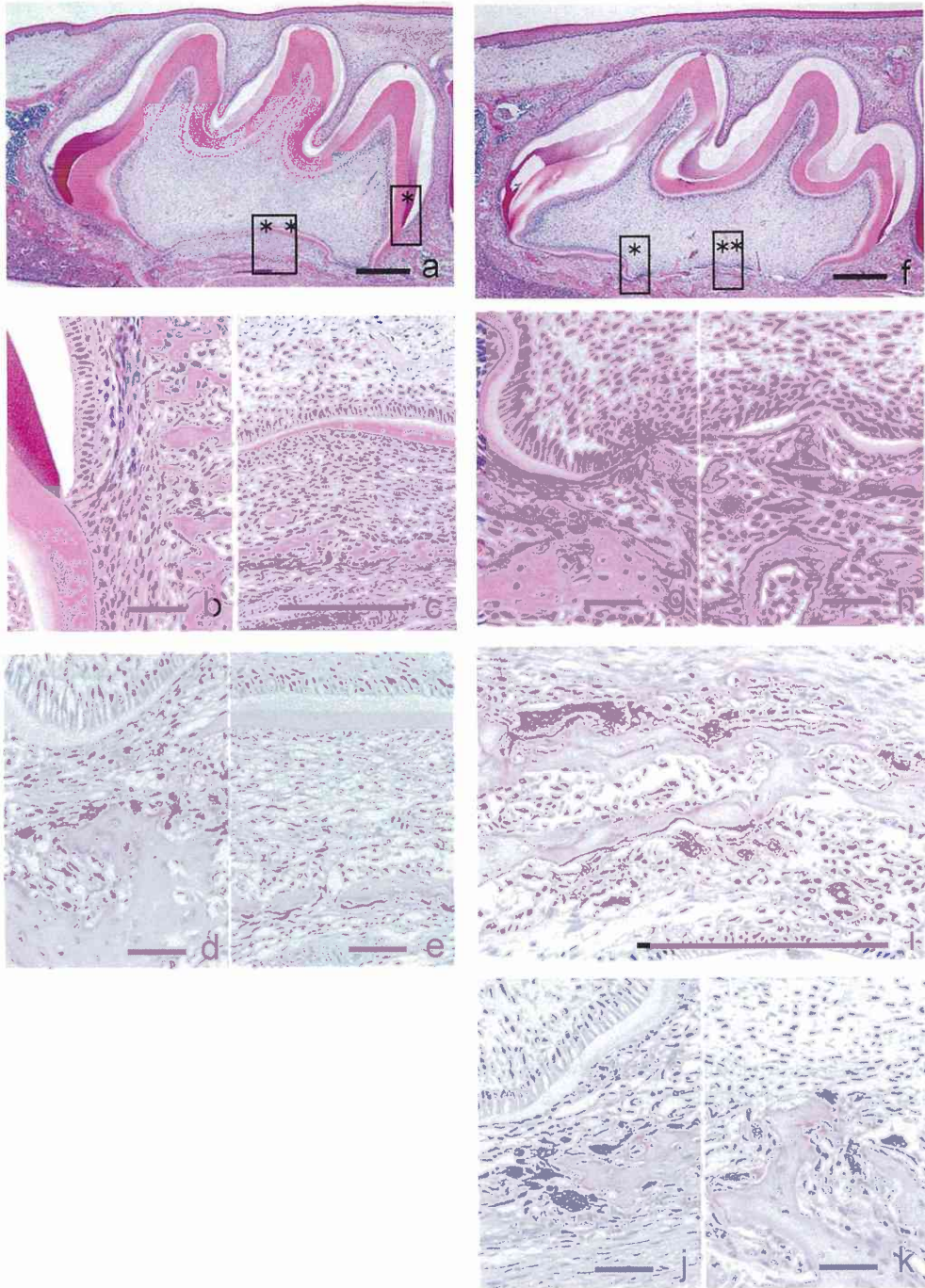


図2 生後12日

(a)-(e)対照群。(a)H-E染色。咬合面部の骨は大半が吸収されており、髓床底の形成が明らかである。スケールバーは500 $\mu$ m。(b)H-E染色。(a)\*の拡大図。歯頸部歯根から咬合面側へ向かって線維束が走向する。スケールバーは50 $\mu$ m。(c)H-E染色。(a)\*\*の拡大図。髓床下部における結合組織の増生。スケールバーは200 $\mu$ m。(d)TRAP染色。根形成部では多数の破骨細胞が観察される。スケールバーは50 $\mu$ m。(e)TRAP染色。髓床底下部においては歯胚側骨面に骨吸収が見られない。スケールバーは50 $\mu$ m。  
 (f)-(k)実験群。(f)H-E染色。咬合面部に骨が残存し、歯根・髓床底には変形が観察される。スケールバーは500 $\mu$ m。(g)H-E染色。(f)\*の拡大図。骨梁によるヘルトヴィッチ上皮鞘の変形が見られる。スケールバーは50 $\mu$ m。(h)H-E染色。(f)\*\*の拡大図。骨梁による髓床底の変形。スケールバーは50 $\mu$ m。(i)TRAP染色。咬合面。スケールバーは200 $\mu$ m。(j)TRAP染色。歯根部。多数の大型破骨細胞が見られる。スケールバーは50 $\mu$ m。(k)TRAP染色。歯乳頭内に突出する骨梁に破骨細胞が付着している。スケールバーは50 $\mu$ m。



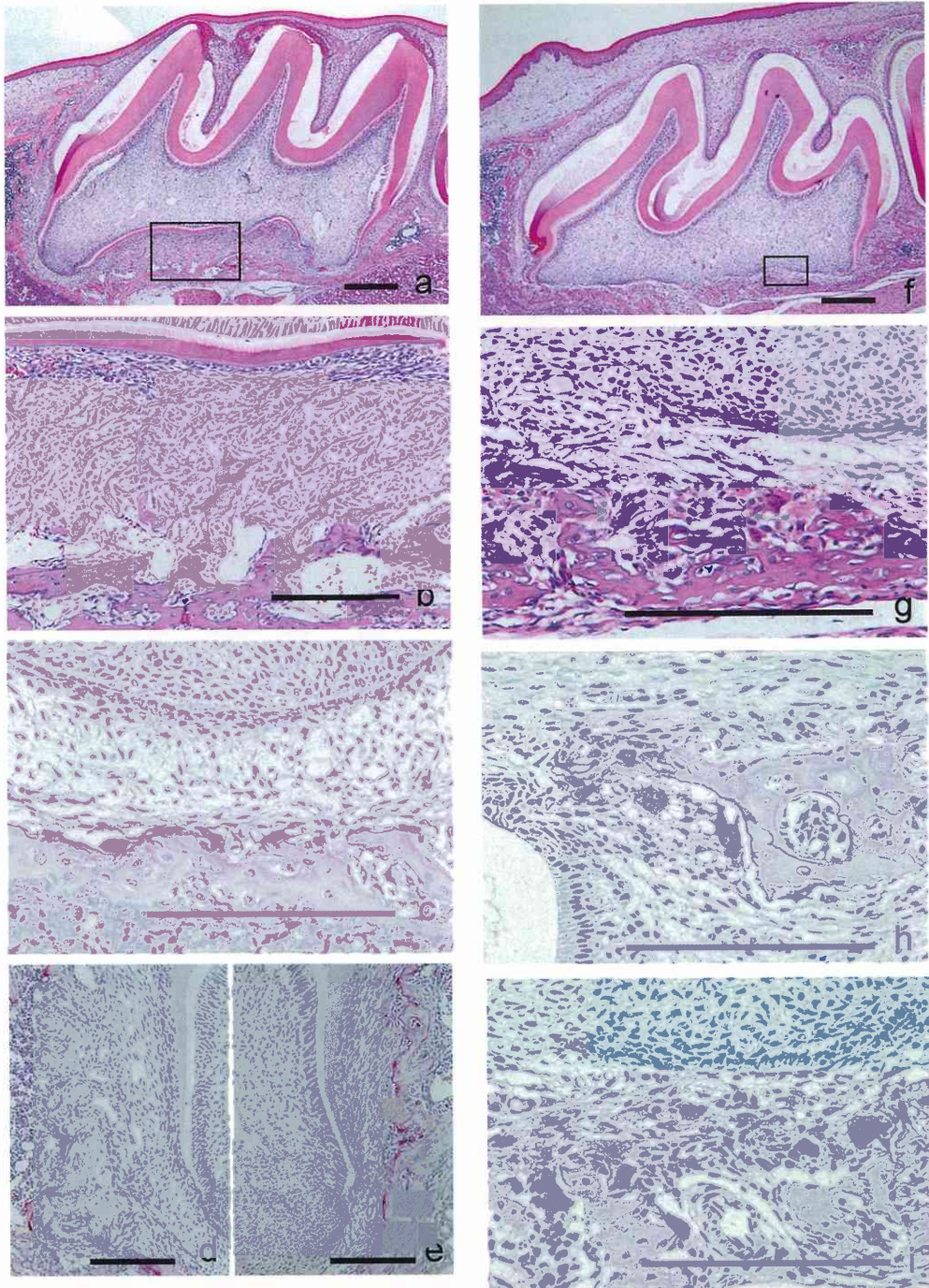


図3 生後15日

(a)-(e)対照群。(a)H-E染色。咬合面部の骨は消失し、歯根形成が明らかである。スケールバーは500 $\mu$ m。(b)H-E染色。(a)の拡大図。髄床底下部では多量の骨梁が形成されている。スケールバーは200 $\mu$ m。(c)TRAP染色。根尖部周囲骨の表面には破骨細胞が規則的に配列する。スケールバーは200 $\mu$ m。(d)TRAP染色。近心歯槽骨。骨髓に面する骨梁表面に破骨細胞が付着している。スケールバーは250 $\mu$ m。(e)TRAP染色。遠心歯槽骨。歯根に面する骨梁表面に破骨細胞が付着している。スケールバーは250 $\mu$ m。

(f)-(h)実験群。(f)H-E染色。咬合面部に骨が残存し、歯頸部硬組織には屈曲が見られる。スケールバーは500 $\mu$ m。(g)H-E染色。髄床底下組織。(f)の拡大図。結合組織・骨組織ともに増生は見られない。スケールバーは200 $\mu$ m。(h)TRAP染色。咬合面部。大型の破骨細胞が骨梁に付着している。スケールバーは200 $\mu$ m。(i)TRAP染色。遠心根尖部において破骨細胞は不規則に配列する。スケールバーは200 $\mu$ m。



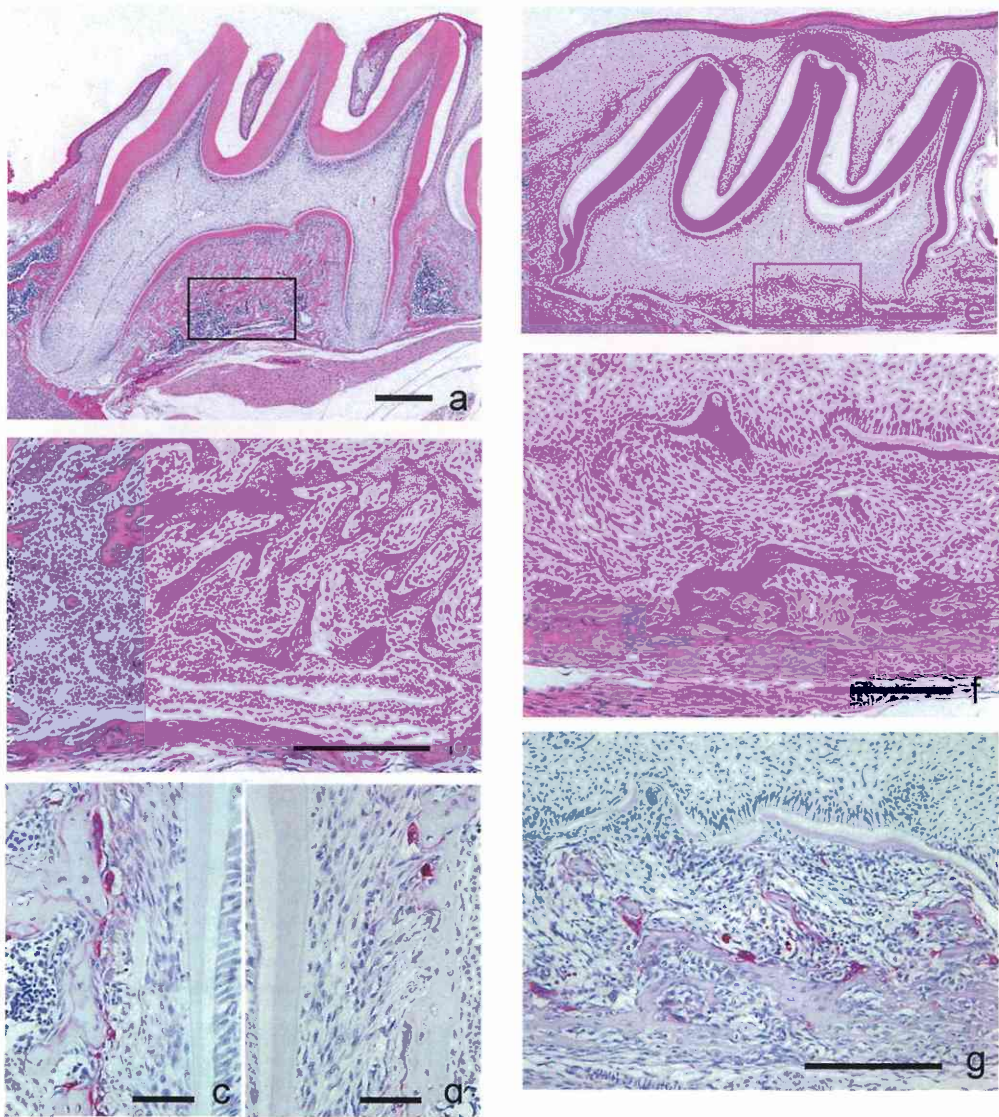


図4 生後17日

(a)-(d)対照群。(a)H-E染色。咬頭が口腔に露出し、根間中隔での骨形成と歯根形成が進行している。スケールバーは $500\mu\text{m}$ 。(b)H-E染色。(a)の拡大図。根間中隔をなす骨には造血髄が形成されている。スケールバーは $200\mu\text{m}$ 。(c)TRAP染色、近心歯槽骨。(d)TRAP染色、遠心歯槽骨。近心歯槽骨では遠心歯槽骨よりも多くの破骨細胞が観察される。スケールバーは $50\mu\text{m}$ 。

(e)-(g)実験群。(e)H-E染色。第一臼歯は埋伏しており、歯頸部、髓床底は屈曲、変形している。スケールバーは $500\mu\text{m}$ 。(f)H-E染色。(e)の拡大図。屈曲した髓床底の下部に骨梁形成は見られない。スケールバーは $200\mu\text{m}$ 。(g)TRAP染色。髓床底下組織。不規則な破骨細胞配列が観察される。スケールバーは $200\mu\text{m}$ 。

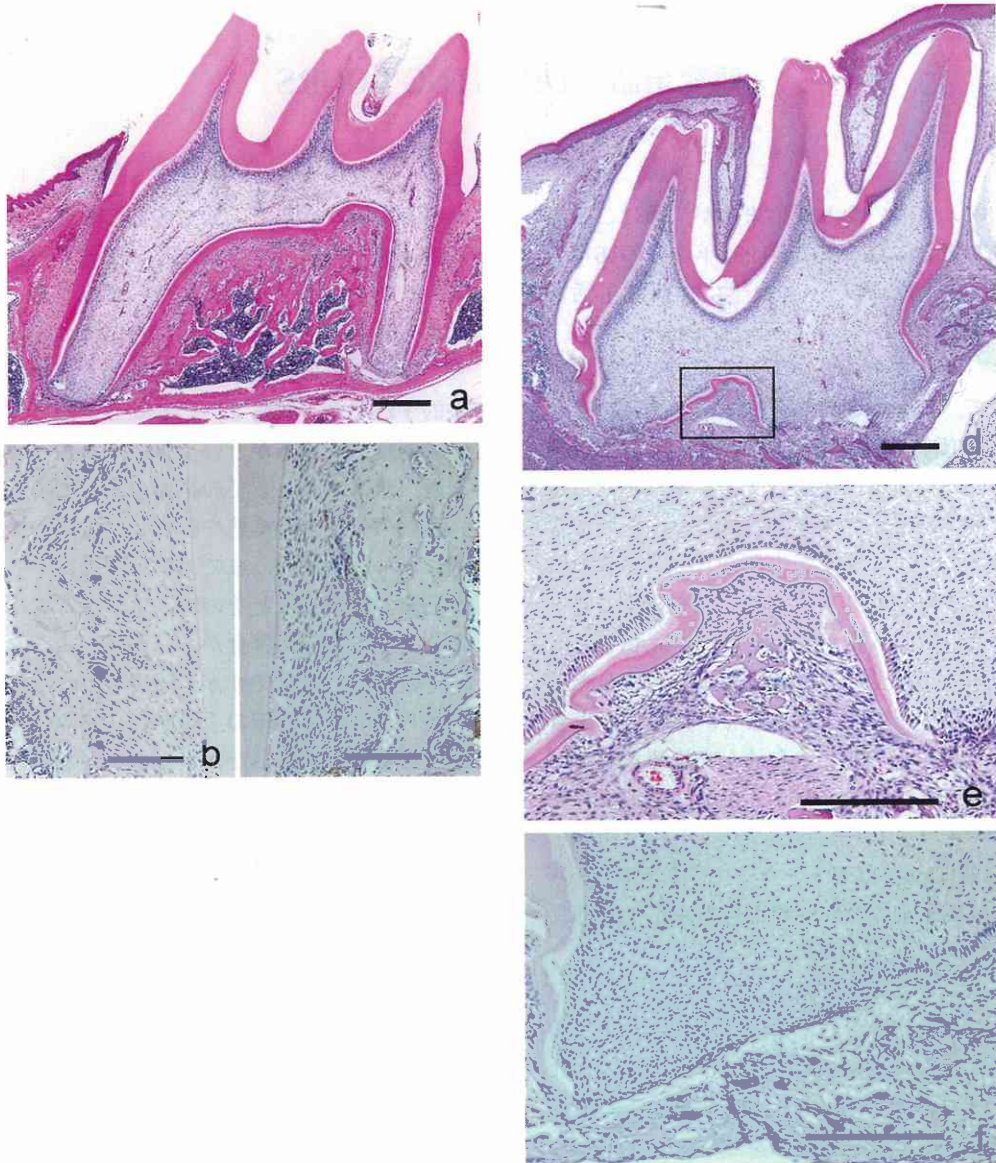


図5 生後20日

(a)-(c)対照群。(a)H-E染色。第一臼歯は完全に萌出している。スケールバーは500 $\mu$ m。(b)TRAP染色，近心歯槽骨。(c)TRAP染色，遠心根骨。近心歯槽骨ではしばしば破骨細胞が観察されるが，遠心歯槽骨では破骨細胞はほとんど見られない。スケールバーは100 $\mu$ m。

(d)-(f)実験群。(d)H-E染色。一部の咬頭が口腔に露出し，変形した短い歯根の形成が認められる。スケールバーは500 $\mu$ m。(e)は(d)の拡大図。根間中隔部で少量の骨形成が見られる。スケールバーは500 $\mu$ m。(f)TRAP染色。根尖部では数多くの破骨細胞が観察される。スケールバーは200 $\mu$ m。