

## ヒト乳歯の吸収と脱落

佐原 紀行

松本歯科大学 大学院 硬組織疾患制御再建学講座

Resorption and exfoliation of human deciduous teeth

NORIYUKI SAHARA

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,  
Matsumoto Dental University*

### Summary

The resorption and shedding of the human deciduous teeth are physiological processes associated with the replacement of permanent teeth. Numerous studies have been reported the tissue changes which occur during physiological root resorption of the human deciduous teeth, however, to date, the precise mechanism of this resorptive process is not fully understood. Especially, there is little information about how root resorption is initiated, and how the final shedding of tooth is regulated. In this review, firstly, we introduce the phenomenon of the odontoclastic resorption at the pulpal surface of coronal dentin prior to the shedding of human deciduous teeth. Secondly, the cytodifferentiation of human odontoclasts is described with special attention has been paid to the morphology and function. We also demonstrate cellular/extracellular events during the tooth resorption-repair process in this internal resorption. Finally, a possible mechanism of exfoliation of human deciduous teeth is discussed.

### はじめに

ヒトの歯は二生性の歯 (diphyodont) で、生後4歳ごろから6年間あまりの間に乳歯は順次吸収脱落し、継続して萌出してきた永久歯によって置き換わる。乳歯の吸収、脱落そして永久歯の萌出という一連の歯の交換現象は、体の他の部位には認められないダイナミックなものである。歯の交換期における乳歯の吸収は、決まった時期に一定の部位で必ず起こることから、特に生理的歯根

吸収とよばれている。このヒト乳歯の生理的歯根吸収の機構については、古くから多くの研究がなされてきた<sup>1-10)</sup>。しかし、歯根吸収の要因や脱落機構などについては、依然として不明な点が残されている。

図1は、同一の個体から得られた自然脱落したヒト乳歯を並べたものである。脱落歯の形態は上下顎とも正中に対しほぼ対称であるだけでなく、側面あるいは吸収面から見てもほとんど同様な形態をしている。このことから、乳歯根の吸収が開

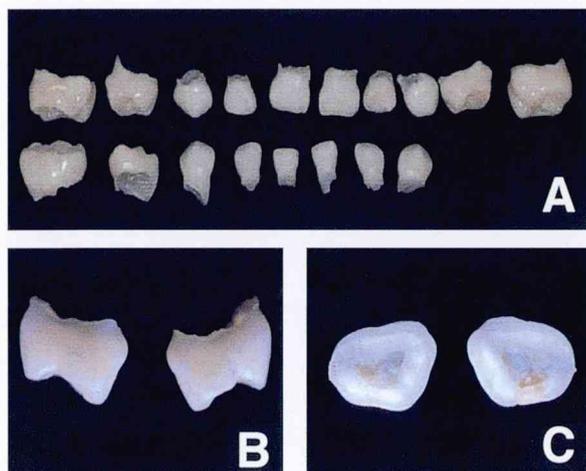


図1：同一固体から得られた自然脱落した乳歯 (A) 上下顎乳歯を並べたもの、左右の上顎乳歯の側面 (B) と吸収面 (C) の形態は類似している。

始され、最終的に脱落するに至るまでなんらかの機構により調節されている可能性が考えられる。

この総説では、脱落前におこるヒト乳歯の歯髄側からの内部吸収現象について紹介し、この内部吸収過程で観察された破歯細胞の分化や微細構造学的特徴、吸収終了後のセメント質様硬組織による修復現象、さらに最終的な乳歯の脱落機構などについて著者らが行ってきた一連の研究結果<sup>11-20)</sup>を中心に概説する。

脱落前のヒト乳歯に認められる歯髄側からの内部吸収について

ヒト乳歯の生理的歯根吸収過程における歯髄組織の変化については、現在まで様々な見解が示されてきた。簡単にまとめると、乳歯が脱落するまで歯髄組織は正常構造を示すという意見<sup>2)</sup>と、歯髄組織は変化し、歯髄側からも象牙質の内部吸収が認められ、歯髄組織は乳歯の吸収に関与していると考え<sup>3-8)</sup>二つの見解に大別できる。内部吸収が起こると主張する研究者の間でも、吸収の程度や時期についての意見は様々であった。しかし、これらの研究のほとんどは、症例数も少なく、歯根の吸収程度との関連性についてはまったく解析されていなかった。大野は<sup>5)</sup>抜歯した乳歯180例を用い、乳歯根の吸収段階を追って歯髄に生じる変化を組織学的に検索し、歯根の約1/2が吸収されると、吸収面付近の象牙芽細胞が萎縮消失して、破歯細胞による象牙質内からの吸収がみられると報告している。我々は現時点で、この

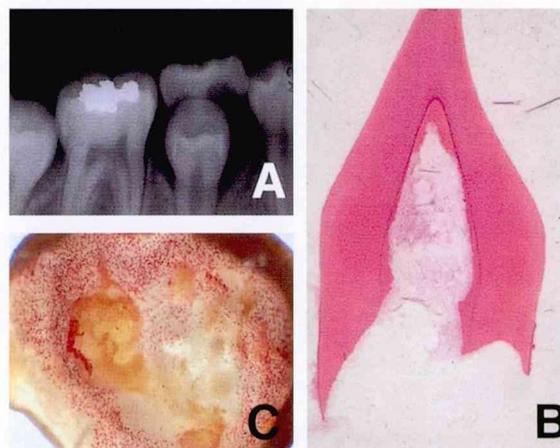


図2：脱落前のヒト乳歯  
A. X線所見。歯根はほとんど吸収されている。  
B. 脱灰標本。歯髄側からの内部吸収が認められる。  
C. 乳歯をそのままTRAP活性染色したもの。歯髄面には多数の陽性細胞が観察される。

大野の報告が最も信頼できるものと考えている。そこで我々も、脱落前の動揺を示す乳歯163例を用い、5μmの連続切片を作成、破歯細胞とその前駆細胞のマーカー酵素として広く用いられている酒石酸耐性酸性フォスファターゼ (TRAP) 活性染色を行い、脱落前の歯髄側からの内部吸収の可能性について検討した<sup>11)</sup>。その結果、観察した乳歯の80%に、歯髄側からの内部吸収が認められた (図2)。またその頻度については、歯種により明らかな差は認められなかった。しかし我々の観察でも、内部吸収の組織像は観察した乳歯によ

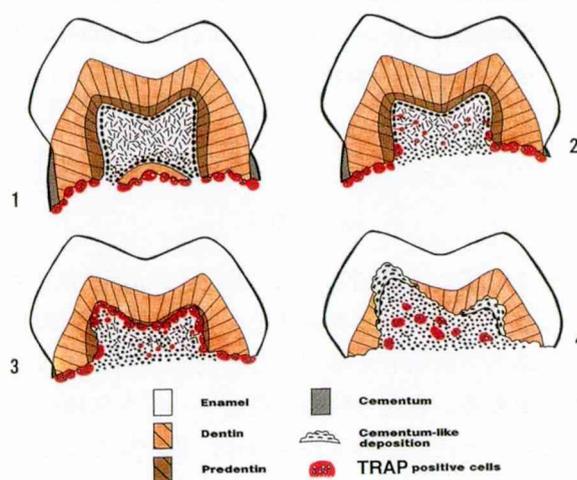


図3：組織学的特徴を指標により分類した内部吸収の進行段階を示した模式図

1. 吸収前期 (Preresorption stage)
2. 吸収初期 (Early resorption stage)
3. 吸収後期 (Later resorption stage)
4. 吸収終期 (Final resorption stage)

表1: 脱落前のヒト乳歯の歯根長と内部吸収の進行段階との関係

Stage of resorption	Number of deciduous teeth				Root surface length (mean±S. D.)	
	Incisor	Canine	Molar	Total (%)	Maximum	Minimum (mm)
1. Preresorption	17	4	9	30 ( 18.40)	1.86±0.80	1.09±0.73
2. Early	14	3	20	37 ( 22.70)	1.07±0.75	0.39±0.51
3. Later	10	9	34	53 ( 32.52)	0.69±0.75	0.03±0.54
4. Final	6	16	21	43 ( 26.38)	0.50±0.65	0.16±0.40
Total	47	32	84	163 (100.00)		

\*: p&lt;0.01, \*\*: p&lt;0.05

り様々であった。そこで、以下の組織学的特徴を指標にして、内部吸収の進行過程を4段階に分類した(図3)。

1. 吸収前期 (Preresorption) 歯髄内にはTRAP陽性の細胞はまったく認められず、象牙前質表面には象牙芽細胞が認められる。
2. 吸収初期 (Early resorption) 歯髄内にはTRAP陽性を示す単核あるいは多核の細胞が認められ、一部では象牙質に吸収窩が形成されているが、その他の部位では象牙芽細胞が認められる。
3. 吸収後期 (Later resorption) 象牙芽細胞はまったく認められず、多数のTRAP陽性細胞が象牙質全面に様々な吸収窩を形成している。
4. 吸収終期 (Final resorption) 内部吸収が進行しているが、一部では吸収が終了し吸収窩表面がセメント質様の硬組織で修復されている。

内部吸収の進行過程を4段階に大別したそれぞれの乳歯で、残っている歯根の長さを計測した結果を表1に示した。この結果、ヒト乳歯ではすべての歯種において、歯根の長さが1mm以下になると歯髄側からの破歯細胞による内部吸収が起こることが明らかになった。さらに、組織学的指標を用いて4段階に分類したものが、脱落前の乳歯の内部吸収の経時的な変化を反映していることも確かめられた。我々の研究結果は、大野の報告<sup>5)</sup>を確認するだけでなく、破歯細胞による内部吸収は象牙前質から始まり、象牙質さらにはエナメル質まで波及すること、内部吸収が停止した部位はすみやかにセメント質様硬組織が添加され修復されることなどの新しい知見を得ることができた。

脱落前のヒト乳歯において、歯髄側からの内部

吸収はなぜ起こるのかわからず。しかし、歯根が1mm以下になると内部吸収が開始されること、また破歯細胞が出現する以前に歯髄内に炎症性細胞の浸潤が観察されたことから、歯根を失った乳歯の動揺に伴う付着上皮の深部増殖が主な要因であると考えられる。脱落前の乳歯歯冠部の内部吸収は、一般的な生理的歯根吸収とは異なり、炎症に伴ういわゆる病理的な歯の吸収と思われる。

#### 破歯細胞の分化過程とその微細構造について

歯の吸収に中心的な役割を果たしているのは、破歯細胞と呼ばれている多核の巨細胞である。破歯細胞は、骨を吸収する破骨細胞に対して、歯の硬組織を吸収する細胞として命名された。しかしその後、in vitroで破骨細胞もセメント質、象牙質あるいはエナメル質などの歯の硬組織を吸収できることが分かり<sup>21,22)</sup>、吸収する基質による両細胞の違いについては曖昧になってきた。さらに、両細胞の微細構造が類似していること<sup>23-27)</sup>や、H<sup>+</sup>-ATPase, TRAP, cathepsin K, MMP-9などの破骨細胞に特異的に認められるタンパクが破歯細胞にも認められること<sup>28,29)</sup>から、現在では破歯細胞と破骨細胞は同一の細胞であると考えられるのが一般的になってきた。しかし、破歯細胞と破骨細胞の機能的相違についての報告もある。以前より、臨床的に副甲状腺機能亢進症 (hyperparathyroid) の患者でもほとんど歯の吸収は起こらないことは知られていた<sup>30,31)</sup>。また、Okamuraら<sup>32)</sup>はウシの乳歯の吸収組織から破骨細胞と破歯細胞それぞれ単離し、破骨細胞はコラゲナーゼを産生しないのに対し、破歯細胞はコラゲナーゼを産生す

ることを報告している。松本<sup>33)</sup>は同様な実験系を用いて、破歯細胞は破骨細胞に比較し、象牙質スライス上での吸収窩形成量が優位に多く、IL-1 $\alpha$ の刺激によって優位に増進することを明らかにしている。さらに Lasfargues and Saffar<sup>34)</sup>は、*in vivo*の実験で、Prostanoidの産生を阻害するインドメサシン投与は破骨細胞の吸収を抑制したが、破歯細胞の吸収が活性化されたと報告している。

常に骨吸収と骨形成のリモデリングが行われている骨組織を吸収する破骨細胞と、ほとんど吸収が起こらない歯の組織を吸収する破歯細胞では、両細胞の機能発現に関与する周囲の組織/細胞の機能が異なっていることや、生理活性物質などの局所での微小環境が異なっている可能性も考えられる。今後、破歯細胞と破骨細胞の機能的相違については *in vivo* で一つ一つ比較検討するか、生体内から単離した両細胞を *in vitro* で検索するなどの更なる研究が必要である。

生体内での破骨細胞の分化過程について観察した報告は多くあり<sup>35-37)</sup>、造血系幹細胞由来の単球-マクロファージ系の前駆細胞が骨基質に接触した後、多核化し、吸収面に *ruffled border* と *clear zone* を持った多核巨細胞に分化し、骨を吸収することが明らかになっている。しかし、生体内での破歯細胞の分化過程を観察することは困難であり、現在まで、破歯細胞の分化過程を詳細に検討した報告<sup>38)</sup>は少ない。今回我々が紹介したヒト乳歯の歯髄側からの内部吸収現象は、次の点からも破歯細胞の分化過程を検討するには優れた観察モデルであると考えた。1. 内部吸収が開始される前には、歯髄組織には破歯細胞やその前駆細胞がまったく存在しない。2. 内部吸収が開始される歯髄壁は平坦で全面は象牙前質で覆われているため、初めて形成される吸収窩を簡単に同定できる。3. 吸収は象牙前質から象牙質さらにエナメル質にも進行し、吸収の進行過程が明確である。4. 吸収が終了した吸収窩表面には速やかにセメント様硬組織の添加がおり、この修復現象は乳歯が脱落するまで一度しか認められない。以下に、ヒト乳歯の内部吸収を観察モデルにして明らかになった破歯細胞の分化過程とその微細構造的な特徴について簡単に述べる<sup>16)</sup>。

歯根が完全に吸収された頃、歯髄内に TRAP

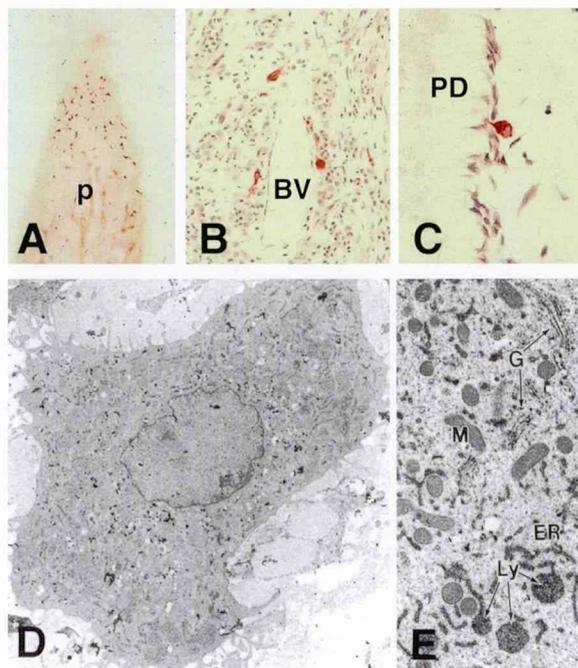


図4：吸収初期に歯髄内に認められる TRAP 陽性単核細胞  
 A. 歯根が吸収された後、歯冠部の歯髄 (P) 内には多数の TRAP 陽性の単核細胞が出現する。  
 B. これらの単核細胞は拡張した血管 (BV) 周囲に多く存在している。  
 C. 一部の TRAP 陽性細胞は細胞質突起で象牙前質 (PD) に接触している。  
 D. TRAP 陽性単核細胞の電顕像。  
 E. TRAP 活性は小胞体 (ER) ゴルジ装置 (G)、ライソゾーム (Ly) などに認められる。ミトコンドリア (M)。

陽性の単核細胞が認められるようになる (図 4 A)。これらの TRAP 陽性の単核細胞は拡張した血管の周囲に多く認められ (図 4 B)、一部の細胞は象牙前質に細胞突起を伸ばし接触していた (図 4 C)。歯髄内の TRAP 陽性単核細胞の微細構造を観察すると、細胞質内には多数のミトコンドリアと粗面小胞体 (rER) が存在し、破骨細胞の前駆細胞である前破骨細胞と同様な特徴を持っていた (図 4 D)。これらの単核細胞では、TRAP 活性は rER、ゴルジ装置、ライソゾームなどタンパク形成経路の細胞内小器官に局在していた (図 4 E)。しかし、細胞外面の細胞膜にはまったく活性は認められなかった。象牙前質に接触した TRAP 陽性単核細胞には次々に TRAP 陽性単核細胞が癒合し、多核化していた。単核細胞は始め *clear zone* 様の構造を介して象牙前質に接触後、吸収面に *ruffled border* の形成が認められた (図 5 A)。電顕的には、TRAP 活性は *ruffled border* の形成に伴い細胞外に初めて認められる

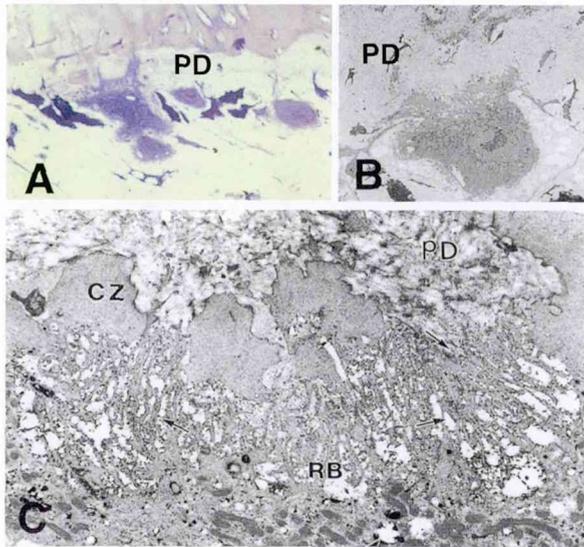


図5：象牙前質上での破歯細胞の分化

- A. 象牙前質に接触した単核細胞に単核細胞が次々に癒合し多核化が起こる。
- B. 象牙前質上には ruffled border と clear zone を持つ単核細胞も認められる。
- C. TRAP 活性は ruffled border (RB) 形成時に始めて細胞外にも認められるようになる (矢印). 象牙前質 (PD), clear zone (CZ).

ようになった (図5C). このような吸収面での細胞膜の特殊化と多核化は急速におこると思われる、一部では clear zone と ruffled border を持った単核細胞も観察された (図5B).

象牙前質の吸収は、硬組織を吸収する細胞の機能から考えても特異な現象である。つまり、一般的には破骨細胞は未石灰化の基質 (類骨) は吸収できないと考えられているからである<sup>39)</sup>。破骨細胞はコラゲナーゼ活性を持たず、類骨の溶解吸収はコラゲナーゼ活性を持つ骨芽細胞が関与し、骨芽細胞から分泌されたコラゲナーゼにより、露出された石灰化した骨面に破骨細胞の前駆細胞を誘導し、破骨細胞による吸収が始まると考えられている<sup>39,40)</sup>。象牙前質も類骨と同じように、吸収に対して最も抵抗性を示す部位と考えられている<sup>41)</sup>。事実、林檎の芯状に象牙前質だけが残っている歯根吸収の組織像が臨床的にも報告されている<sup>42)</sup>。我々の観察<sup>1)</sup>でも、外側からの歯根吸収が起こっている場合、象牙前質だけが残っている症例がしばしば観察されたが、内側からの吸収はすべて象牙前質から始まっていた。また、吸収が開始される前には、象牙前質の消失や石灰化現象などの変化は認められなかった<sup>15)</sup>。象牙前質を吸収している破歯細胞は、多核の TRAP 陽性細胞で

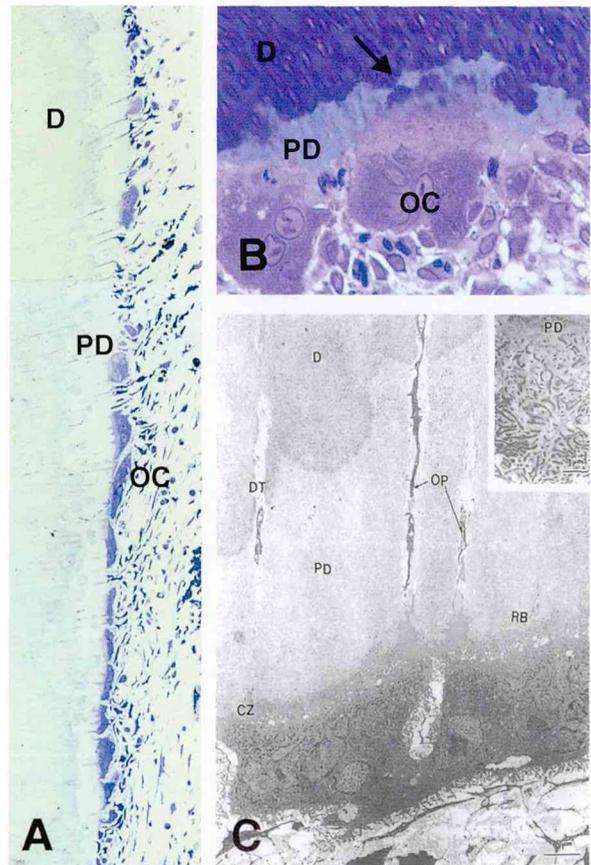


図6：象牙前質を吸収している破歯細胞

- A. 内部吸収開始時には、象牙前質 (PD) 上には多数の単核や多核の破歯細胞 (OC) が観察される。
- B. 破歯細胞 (OC) は象牙前質内の灰化球も同様に吸収している (矢印)。
- C. 電顕像。吸収面には ruffled border と clear zone を持ち、典型的な破歯細胞の微細構造的な特徴を示す。ruffled border 間には微細なコラーゲン細線維が認められる (挿入図)。破歯細胞 (OC), 象牙前質 (PD), 象牙質 (P), 象牙細管 (DT), 象牙芽細胞突起 (OP), ruffled border (RB), clear zone (CZ)。

(図6A)、微細構造的には吸収面に ruffled border と clear zone を持ち、細胞質内にミトコンドリアを含む典型的な破歯細胞であった (図6C)。また、象牙前質の吸収では象牙前質内にある灰化球も同様に吸収されていたことから、破歯細胞は未石灰化部も石灰化部も同様な機構により吸収している可能性が示唆された (図6B)。ヒト乳歯の象牙前質の吸収については、既に鈴木<sup>25)</sup>によりその詳細が報告されているが、今回の我々の観察結果もほぼ同様のものであった。また、Shimazu ら<sup>43)</sup>は、ラット臼歯で歯髓内部からの吸収を実験的に誘発させ、破歯細胞による象牙前質の吸収現象を報告し、象牙前質への破歯細胞の最初の接触には OPN (osteopontin) が必ずしも

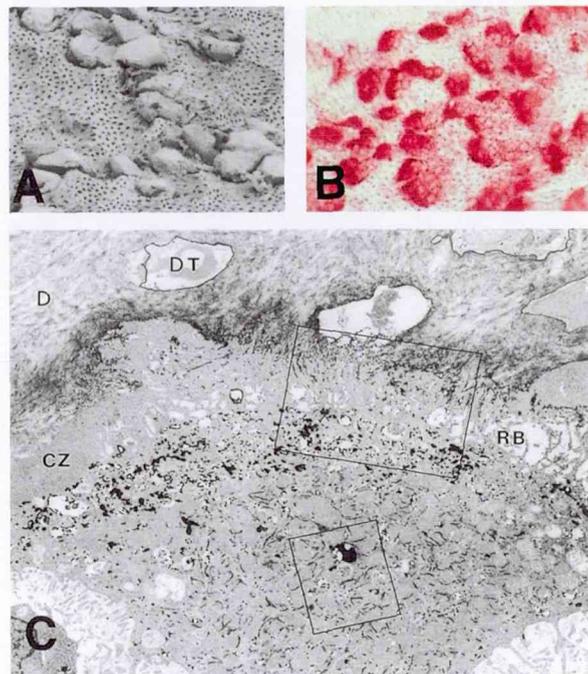


図7：象牙質を吸収している破歯細胞

- A. 走査電顕像.
- B. TRAP 活性染色.
- C. TRAP 活性染色した電顕像. Ruffled border や象牙質吸収窩縁にも TRAP 活性が認められる. a: Ruffled border 部. b: 細胞質部. 象牙質 (D), 象牙細管 (DT), clear zone (CZ), ruffled border (RB).

必要でないことを明らかにしている。象牙前質上での破歯細胞の分化の機構については、さらに検討が必要である。

その後、破歯細胞による吸収は象牙前質から象牙質へと進行した。図7A, Bには、象牙質を吸収している破歯細胞の走査電顕像とTRAP活性染色による破歯細胞の全体像を示した。この時期の破歯細胞では、TRAP活性は細胞質内のrERやライソゾームだけでなく、細胞外のruffled border間や象牙質吸収窩表面にも認められた(図7C)。破歯細胞の吸収活性低下の形態的特徴は、吸収面のruffled borderの消失に現れ、破歯細胞は次第にclear zone様の構造物だけで吸収面と付着した状態になる(図8A, B)。これに伴い、細胞質内では大型の空胞の出現、クロマチンの凝集などの変性が観察された。やがて変性傾向を示す破歯細胞は吸収面から離れ、吸収は終了した(図8C, D)。

ヒト乳歯の内部吸収で観察された破歯細胞の分化過程と微細構造について模式的に示したものが図9である。破歯細胞は破骨細胞と同様に、血管

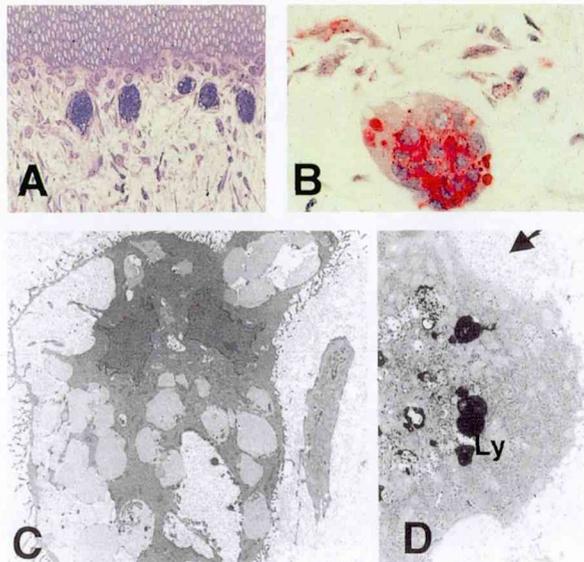


図8：吸収終了時の破歯細胞

- A. 吸収が終了すると破歯細胞は吸収窩表面から離れる.
- B. 吸収窩から離れた破歯細胞. TRAP 活性染色.
- C. 電顕像. 核の濃縮, 細胞内に大型の空胞の出現などの変性傾向が明らかである.
- D. TRAP 活性染色の電顕像. ライソゾーム (Ly) に強い傾性が認められるが, 大型の空胞には反応はない (矢印).

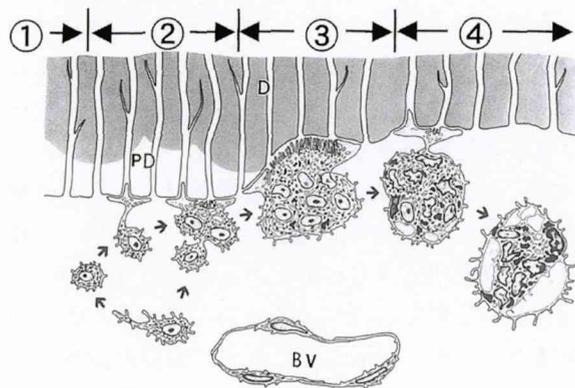


図9：ヒト乳歯の内部吸収時に認められ破歯細胞の分化過程を示した模式図

歯髄内の血管(BV)から遊走した単核の前駆細胞は、象牙前質(PD)に接触すると多核化する。破歯細胞による吸収は象牙前質から象牙質(D)に進行する。しかしその後、破歯細胞からruffled borderが次第に消失し、吸収窩面から離れ吸収が終了する。

から遊走した単核-マクロファージ系の単核の前駆細胞から分化し、吸収面に接着後多核化し、破骨細胞と同様な機構により象牙質と象牙前質を吸収することが明らかになった。なお、破歯細胞のこのような分化過程は、ウサギの生理的歯根吸収の開始時にも認められた<sup>20)</sup>。

破歯細胞によるエナメル質の吸収について

生体内でエナメル質も破歯細胞により吸収されることは報告されている<sup>26,44,45)</sup>。しかし、生体内でエナメル質の吸収現象が認められることはきわめて稀で、高度に石灰化した基質で試料の作成が困難であるなどの理由から、エナメル質を吸収する破歯細胞の微細構造についてはほとんど報告がない。エナメル質は、その他の間葉性の硬組織（骨、象牙質、セメント質）とは異なり、外胚葉性で、基質はコラーゲンを全く含まず、わずかな量のエナメルタンパクが含まれているだけである。この高度に石灰化した特異な硬組織であるエナメル質を吸収する破歯細胞の微細構造を知ることが、破歯細胞の機能を検討する観点からも興味がある。さらに、エナメル質基質には破歯細胞を引きつけたり (chemotaxis)<sup>46,47)</sup>、付着させたり (attachment)<sup>48,49)</sup>、あるいは分化の促進 (differentiation)<sup>50,51)</sup> などに関与すると考えられている因子はまったく含まれていないので、エナメル質を吸収する破歯細胞の分化過程を比較検討するのも興味深い。

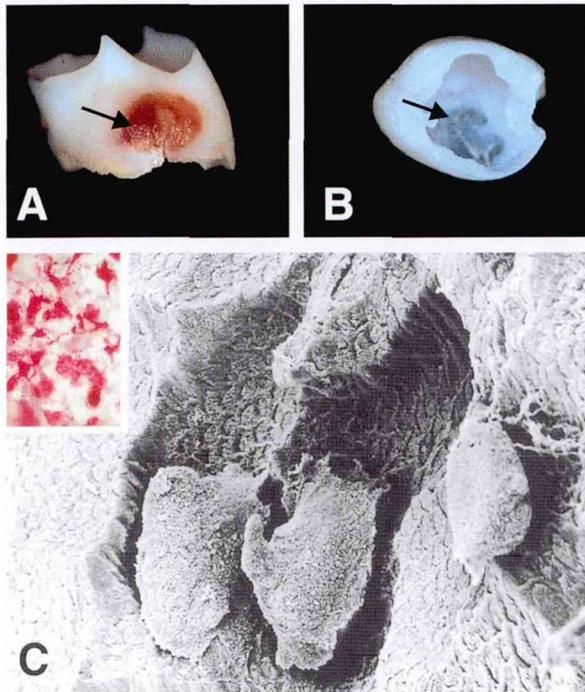


図10：破歯細胞によるエナメル質吸収

- A. 脱灰した乳歯。脱灰によりエナメル質は消失し、象牙質が完全に吸収された部位には歯髄様の組織が見える (矢印)。
- B. 次亜塩素酸で処理した乳歯。歯髄組織は溶解し、エナメル質の吸収部位は半透明に透けて見える (矢印)。
- C. エナメル質を吸収している破歯細胞の走査電顕像。吸収窩表面は、脱灰により小柱構造が明瞭になっている。同様な部位の TRAP 活性染色 (挿入図)。

脱落前の歯髄側からの内部吸収は、象牙質だけでなくエナメル質まで波及することがある (図10 A, B)。このような乳歯を用い、エナメル質を吸収している破歯細胞を走査電顕で観察すると、大型の細胞が吸収窩内に認められ、吸収窩表面は破歯細胞から分泌される酸により脱灰され、針状のエナメル結晶を含むエナメル小柱構造が明瞭になっていた (図10C)。図11はエナメル質が吸収されている脱灰標本の組織像を示した。歯髄側から始まった内部吸収は象牙質を完全に吸収した後、エナメル象牙境を越えエナメル質基質まで及んでいる。エナメル質の吸収窩面には多核の破歯細胞が確認できる (図11A, C)。これらの破歯細胞は TRAP 陽性で、象牙質を吸収している破歯細胞と同様な細胞と考えられた。また興味深いのは、吸収されているエナメル質吸収窩縁にも

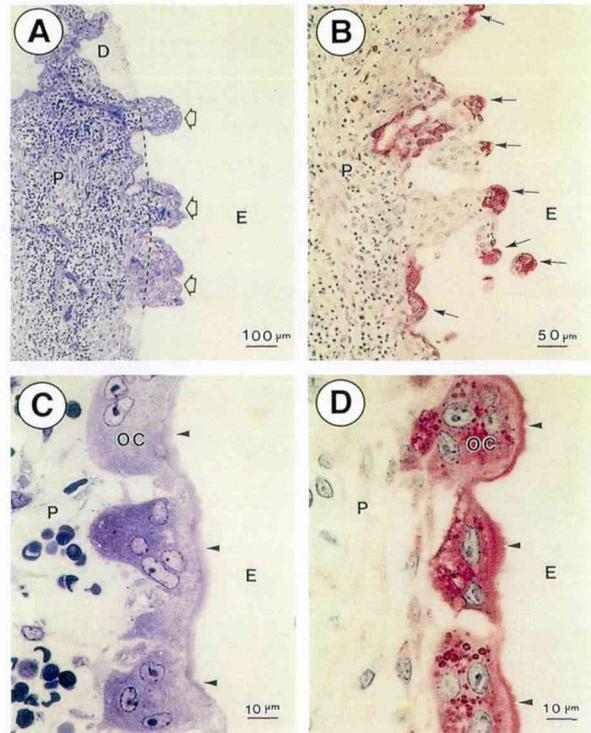


図11：エナメル質吸収の組織像 (脱灰標本)

- A. トルイジンブルー染色。吸収は歯髄 (P) 側からエナメル象牙境 (破線) を越え、エナメル質基質にまで及んでいる (矢印)。
- B. TRAP 活性染色。エナメル質吸収窩表面に対応して多核の陽性細胞が観察される (矢印)。
- C. トルイジンブルー染色。エナメル質を吸収している破歯細胞 (OC)。吸収窩表面に ruffled border が形成されている。エナメル質吸収窩縁 (矢頭) もトルイジンブルーに染まっていることに注目。
- D. TRAP 活性染色。破歯細胞 (OC) の細胞質内には多数の顆粒状の陽性部位が認められる。エナメル質吸収窩縁にも TRAP 陽性の層 (矢頭) が認められることに注目。象牙質 (D)、エナメル質 (E)、歯髄 (P)。

TRAP 陽性の層が観察されることである (図11 B, D). 非脱灰標本でも, エナメル質吸収窩縁の基質内には, トルイジンブルーに濃染する明瞭な層が確認された. このことから, 破歯細胞から分泌される TRAP などの有機成分が, エナメル質吸収窩縁の基質内に浸透している可能性が考えられた. 電顕的には, エナメル質を吸収している破歯細胞は, 象牙質を吸収する破歯細胞とほぼ同様な微細構造的特徴をもっていた. しかし, エナメル質を吸収している破歯細胞では, 吸収面に発達した ruffled border は認められたが, 典型的な clear zone はあまり存在しなかった (図12A). また, エナメル質を吸収している破歯細胞に特徴的だったのは, 細胞質内にエナメル結晶を含んだ多数の大型の小胞が観察されたことである. これらの小胞は二次ライソゾームと考えられ, 吸収面に隣接する部位だけでなく (図12B), 吸収面と離れた部位にも観察された (図12C). エナメル質吸収面の微細構造は, 破歯細胞により吸収される方向, エナメル結晶の並び方, あるいは切片の薄切方向などにより様々な形状を示していた. エナメル小柱の長軸に対して吸収が進行している部

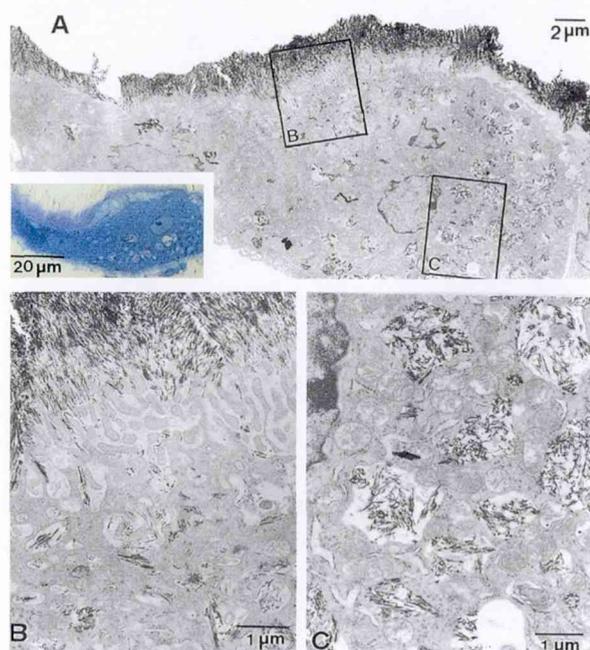


図12: エナメル質を吸収している破歯細胞の電顕像

- A. エナメル質吸収窩面にはよく発達した ruffled border が観察される. しかし, 典型的な clear zone は認められない. 同一細胞の光顕像 (挿入図).
- B. Ruffled border 部. 微細なエナメル結晶が ruffled border 間と細胞質内の小胞に認められる.
- C. 吸収面と離れた部位. 細胞質内にはエナメル結晶を含む多数の大型の小胞が観察される.

位では, エナメル結晶が破歯細胞から分泌された酸により脱灰され, 微細な板状あるいは針状のエナメル結晶になっていた. 細胞質内の多数の小胞に含まれるエナメル結晶は, 脱灰された針状のエナメル結晶がエナメル基質から遊離し, 細胞質内に取り込まれたものと考えられる. 一般的に破歯細胞や破骨細胞は, 細胞外でハイドロキシアパタイト結晶を完全に脱灰すると考えられている. しかし, 部分的に脱灰されたハイドロキシアパタイト結晶は細胞内に取り込まれた後, 水解されると主張する研究者もいる<sup>4,9,52,53</sup>. 我々の観察結果から, 少なくともエナメル質を吸収している破歯細胞は, ハイドロキシアパタイト結晶を貪食する能力を持っていることが明らかになった<sup>17</sup>. 破骨細胞や破歯細胞の吸収面に存在する clear zone は, 吸収細胞から分泌された酸が外部に漏れないように働き, 酸性の微小環境を維持していると考えられている<sup>54,55</sup>. clear zone はその様な働きから, 特に sealing zone とも呼ばれている. しかしエナメル質を吸収している破歯細胞においては, 典型的な微細構造構造を示す clear zone はほとんど観察されず, 破歯細胞は細胞辺縁の細胞突起で接触していた. この様に clear zone を持たない破歯細胞であるが, 吸収窩面では明らかにエナメル結晶が脱灰されていたことから, clear zone は微小環境の維持以外にも別の働きを持っている可能性ある. また, エナメル質吸収面は多数の針状結晶で構成されているので, 典型的な clear zone の形成が抑制されている可能性も考えられた.

以上述べてきたように, エナメル質を吸収する破歯細胞は, 吸収する基質内に破歯細胞を誘導, 接着, 分化する因子が存在しなくても, エナメル質を吸収できることが明らかになった. また, エナメル質を吸収する破歯細胞は, 2, 3 の特異的な微細構造的特徴を持っていたが, 骨を吸収する破骨細胞やセメント質, 象牙質を吸収する破歯細胞と類似した微細構造的特徴を持ち, 同様な吸収機構によりエナメル質を吸収していると考えられた<sup>17</sup>.

#### 内部吸収終了後の修復現象について

生理的条件下で常に改造が行われている骨組織では, 破骨細胞により吸収された吸収窩には, 新

たな骨組織が形成されることはよく知られている。古い骨と新しくできた骨の境界面には、トルイジンブルーに濃染される薄い層が必ず認められ、この層は特にセメントライン (cement line) あるいは反転線 (reversal line) とも呼ばれている。骨吸収窩表面に部位特異的に新生骨が形成される現象から、骨吸収と骨形成はカップリング (共役) しているのではないかと考えられ、吸収窩表面に骨芽細胞の誘導、活性化に関する共役因子 (coupling factor) の存在が予想された。1980年代には骨組織の吸収から形成への細胞連鎖については盛んに形態学的な検索が行われ<sup>56-58)</sup>、セメントラインには BSP (bone sialoprotein) や OPN (osteopontin) などのタンパクが特異的に局在していることも明らかになった<sup>59,60)</sup>。しかし、これらのタンパクが骨吸収と骨形成の共役現象に関与しているかどうかは依然として不明である。また最近になり、TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ )、BMP (bone morphogenetic protein)、IGF (insulin-like growth factor) など骨形成を刺激する因子が骨基質内に大量に含まれていることが分かり、これらの因子が破骨細胞から分泌された酸で脱灰され骨基質外に遊離し、局所的な骨芽細胞の誘導活性化に関与している可能性が提示されている<sup>61)</sup>。しかし、これらの因子が果たして骨の吸収と形成を連携している共役因子であるかは明らかでない。

乳歯の生理的歯根吸収の過程でも、破骨細胞による歯根吸収は持続的に進行するのではなく、吸収が一時停止して、吸収窩表面にセメント質様硬組織の添加がおこることは良く知られている。この場合、吸収された歯の硬組織と新しく形成されたセメント質の境界面には、骨組織と同様なトルイジンブルーに濃染するセメントライン様構造物が存在する (図13)。しかし、歯の吸収窩表面の修復機構については、適当な観察モデルがないこともあり、報告は少ない<sup>62-66)</sup>。今回紹介したヒト乳歯の脱落前の内部吸収現象は、破骨細胞による吸収が終了し、吸収窩面にセメント質様の硬組織で修復されるまでの経時的組織学変化を観察でき、この修復機構を研究できる優れた観察モデルである。

内部吸収が終了し破骨細胞が離れた吸収窩縁には、トルイジンブルーと TRAP 陽性の薄い層 (約

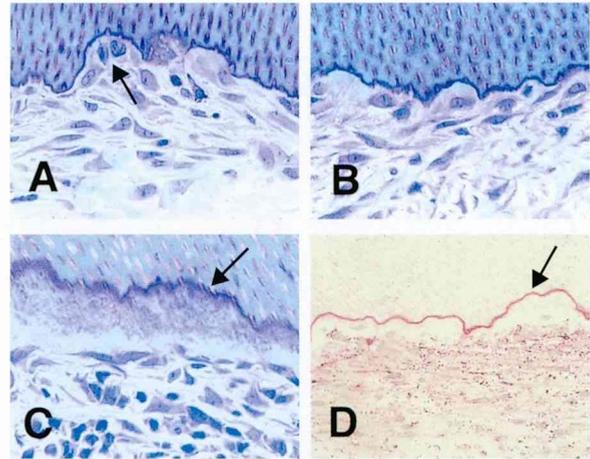


図13：内部吸収終了後の修復過程

- A. 破骨細胞が消失後、吸収窩表面には多数の単核細胞 (矢印) が観察される。吸収窩表面はトルイジンブルーに濃染される層が認められる。
- B. 吸収窩のトルイジンブルーに濃染される層上に、セメント質様硬組織の形成が始まっている。
- C. 吸収窩上のセメント質様硬組織の形成はさらに進み、石灰化も進行している様に見える。象牙質吸収窩表面と修復したセメント様硬組織の境界には、トルイジンブルーに濃染される層 (矢印) が介在している。
- D. PAS 染色。トルイジンブルーに濃染される層は、PAS 陽性でもある (矢印)。

1~3  $\mu\text{m}$ ) が必ず観察された。非脱灰標本を用い電顕的に観察すると、この層は微細なハイドロキシアパタイト結晶から構成され、破骨細胞から分泌された酸により部分的に脱灰された層であることが分かった。脱灰標本では、象牙質の吸収窩縁には電子密度の高い微細な顆粒状の構造物がコラーゲン細線維の間に観察された。この観察結果から、吸収窩縁は破骨細胞が分泌する酸により部分的に脱灰されていること、さらに、破骨細胞が分泌する TRAP などの水解酵素がこの脱灰層に吸着している可能性も考えられた。この脱灰層は、大野<sup>24)</sup>や鈴木<sup>25)</sup>が報告している吸収窩縁に認められる dark line と同一のものと考えられた。破骨細胞が移動あるいは離れた吸収窩表面には、多数の単核細胞が観察された (図14 A)。これらの単核細胞は細胞質内に小顆粒状の TRAP 活性を示すほか (図14 B)、マクロファージに特異的な非特異的エステラーゼ (non-specific esterase, NSE) 活性も持っていた (図14 C, D)。さらに、HRP (horseradish peroxidase) を用いたトレーサー実験から、これらの単核細胞が高い貪食能を持っていることも明らかになった<sup>14)</sup>。電顕的に単核細胞を観察すると、吸収窩縁に面した細胞膜に

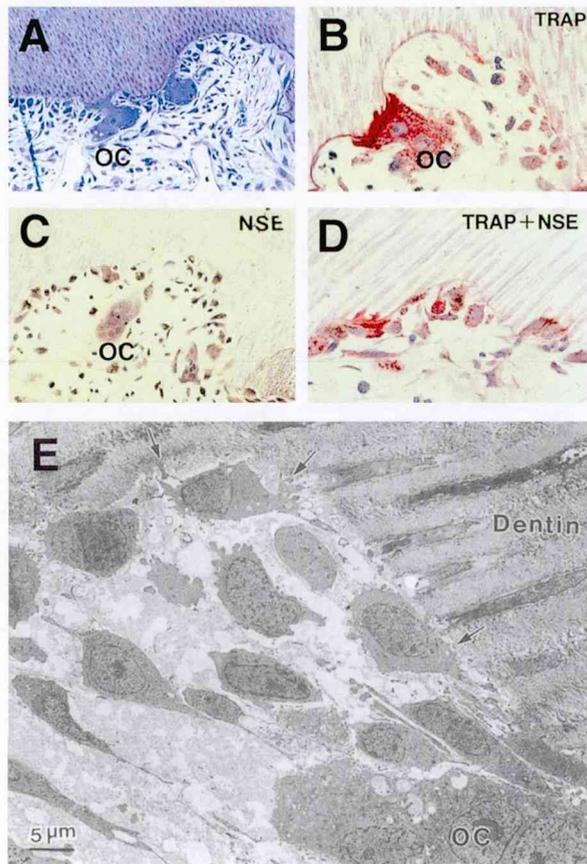


図14：象牙質の吸収と修復の転換期に、吸収窩表面に認められる単核細胞の特徴

- A. トルイジンブルー染色。破歯細胞が移動あるいは離れた吸収窩表面には、多数の単核細胞が観察される。  
 B. TRAP 活性染色。単核細胞の細胞質内には小顆粒状の反応が認められる。吸収窩表面も TRAP 陽性である。  
 C. NSE 活性染色。単核細胞は NSE 陽性である。  
 D. TRAP 活性と NSE 活性の共染色。単核細胞は両酵素の活性を示している。  
 E. 象牙質吸収窩面の電顕像。単核細胞は吸収窩表面に接触している（矢印）。破歯細胞 (OC)。

は無数の coated pits が観察された (図14 E)。これらの単核細胞の特徴は、骨改造の骨吸収から骨形成に移行する時期 (reversal phase) に一時的に吸収窩表面に出現する貪食能を持った単核細胞と類似していた<sup>56,57)</sup>。また、特に歯の吸収窩表面に頻繁に観察されるある種の単核細胞については、セメント芽細胞様細胞<sup>67)</sup>、マクロファージ様細胞や線維芽細胞様細胞<sup>66,68)</sup>あるいは special class of mononuclear cells<sup>64,65)</sup>などと報告されている。しかし、この単核細胞の由来や機能に関しては現在でも明確になっていない。おそらくこれらの単核細胞は、破歯細胞の吸収終了後吸収窩面に残されている未消化のコラーゲン細線維やヒドロキシアパタイト結晶の排除に関与し、形成細

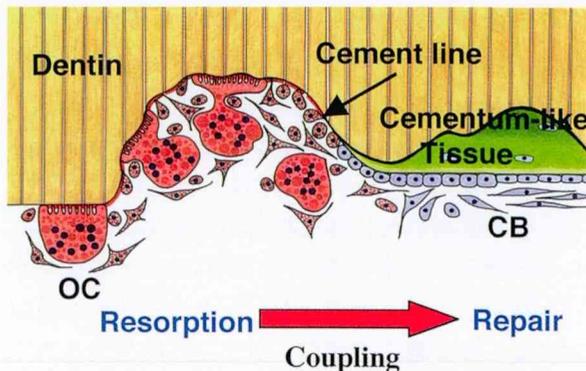


図15：象牙質での吸収から修復までの細胞/細胞外基質の連鎖。破歯細胞 (OC) が移動あるいは離れ吸収が終了した吸収窩には、TRAP 活性を示す層が存在する。さらに、吸収窩表面には TRAP 活性と NSE 活性を示し貪食能を持つ単核細胞が多数出現する。その後、これらの単核細胞は姿を消し、換わって TRAP 活性や NSE 活性を示さないセメント芽細胞様細胞 (CB) が出現する。セメント芽細胞様細胞 (CB) は、セメントライン上にセメント質様硬組織を形成する。象牙質の吸収とセメント質様硬組織による修復は共役 (Coupling) している。

胞による形成が開始前に吸収窩面の状態を整理、調整しているのかもしれない。あるいは、セメントラインの成分を吸収窩表面に分泌している可能性も考えられる。実際、これらの単核細胞が吸収窩表面から次第に姿を消すと、吸収窩表面は薄い顆粒状/網目状の有機物質により被覆されていた<sup>14)</sup>。歯の吸収窩表面のセメントラインは、骨の吸収窩表面に認められるセメントラインとは微細構造的にはわずかな相違は認められるが、骨のセメントラインと同様に BSP, OPN も特異的に局在していることが報告されている<sup>60,69)</sup>。その後、吸収窩表面付近には単核細胞に代わりセメント芽細胞様細胞が出現し、盛んに基質を分泌しセメント質様硬組織が形成された。図15は、ヒト乳歯の象牙質吸収窩表面で起こる吸収から修復までの細胞/細胞外基質の連鎖を模式的に示したものである。この観察結果は骨の改造現象で報告されている一連の細胞連鎖と類似しており<sup>56,57)</sup>、歯の硬組織においても吸収と修復は共役している可能性が示唆された。

ヒト乳歯の内部吸収では、まれにエナメル質も吸収されることがあることは既に報告した。このエナメル質の吸収窩表面もセメント質様硬組織により修復される。図16 A-C にエナメル質吸収窩が修復されている乳歯の脱灰標本と非脱灰標本を示した。ヒト乳歯では、エナメル質の吸収は菌頸

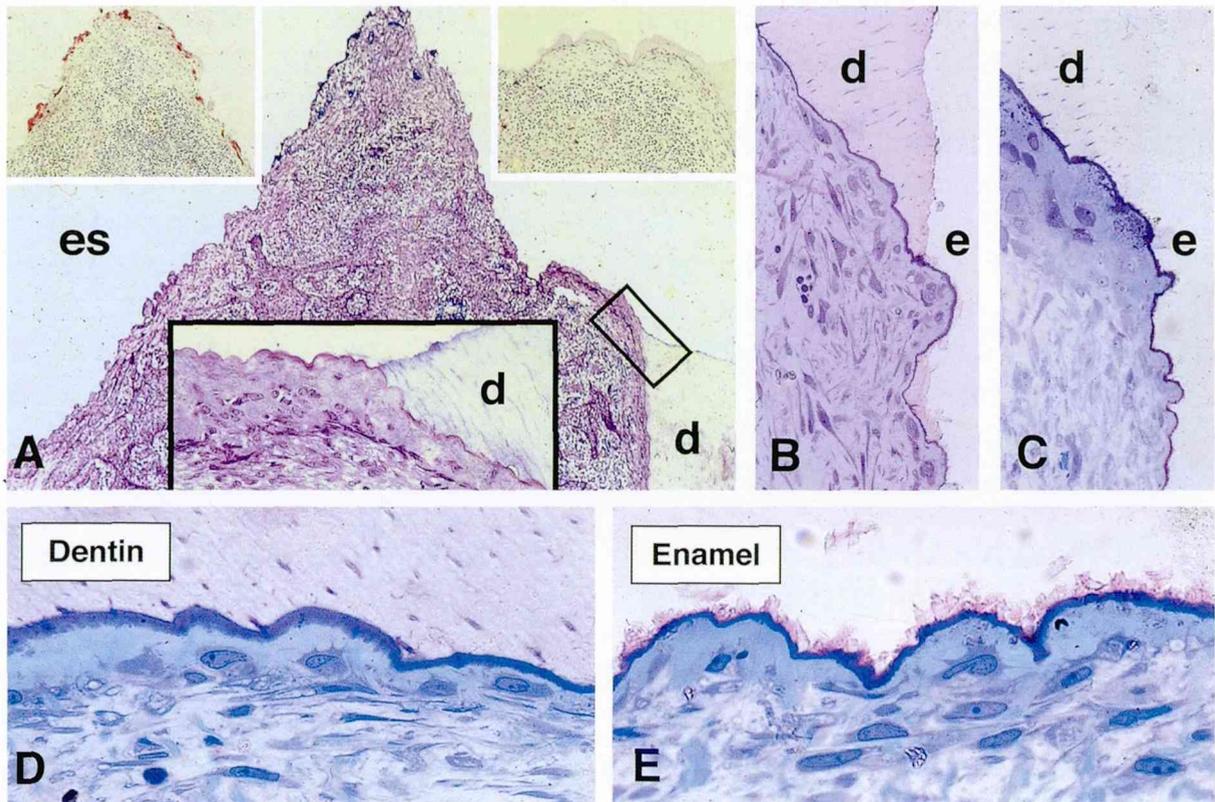


図16：ヒト乳歯で認められたエナメル質吸収後の修復

- A. 脱灰標本. 髄角部でのエナメル質吸収. エナメル質吸収窩表面には, TRAP 陽性細胞はわずかに認められるだけである (白枠挿入図). 一部ではセメント質様硬組織による修復が起こっている (黒枠挿入図). この部位では, 象牙質とエナメル質の吸収窩が, 同一のセメント質様硬組織で修復されている. 脱灰により消失したエナメル質 (es), 象牙質 (d).
- B, C. 非脱灰標本. 歯頸部でのエナメル質吸収. 象牙質とエナメル質の吸収窩には, 連続したトルイジンブルーに濃染される層 (セメントライン) が認められる. 象牙質とエナメル質の吸収窩は, 同一なセメント質様硬組織が形成されている. エナメル質 (e), 象牙質 (d).
- D. 非脱灰標本. 象牙質吸収窩の修復.
- E. 非脱灰標本. エナメル質吸収窩の修復.

部だけでなく髄角部でも起こる. しかし, これらのエナメル質吸収窩にはほとんどTRAP陽性の破歯細胞は観察されず, 一部の吸収窩表面にはセメント質様硬組織が添加している. また, 象牙質とエナメル質の吸収窩表面が連続している部位では, 基質の違いに関わらず同一のセメント質様硬組織によって修復がなされていた. 非脱灰標本で象牙質とエナメル質の吸収窩表面に認められたトルイジンブルーに濃染する層を比較すると, 両者の層が類似していることが分かった (図16 D, E).

コラーゲンを含まずわずかなエナメルタンパクだけが存在するエナメル質基質の吸収窩の修復現象は, 吸収される基質成分はほとんど無関係で, むしろ破歯細胞や吸収窩周辺に存在する種々の細胞が重要な役割を果たしていることを示唆している. 象牙質吸収窩の修復過程と同様に, その後エ

ナメル質吸収窩表面には単核の貪食能を持った細胞が現れ, 吸収窩表面は顆粒状/網目状の有機成分からなる薄い有機成分の0.2~0.6 μmの薄層 (セメントライン) で被覆され, セメント芽細胞様細胞によるセメント質様硬組織の形成が認められた<sup>20)</sup>. エナメル質吸収窩に起こる部位特異的な修復現象でも, 1. 破歯細胞による吸収窩表面の基質の脱灰および修飾, 2. 吸収窩表面の整備調整に関与すると思われる単核細胞の出現, 3. 吸収窩表面のセメントライン形成, 4. 形成系細胞による新たな硬組織の形成, などの細胞/細胞外基質の連鎖により行われていることが確認された<sup>20)</sup>.

#### 乳歯の脱落機構について

歯根吸収が進んだヒト乳歯は, 最終的にどのようにして脱落するのか? すでに分かりきってい

と思われるこの疑問については、文献的に検索してみても明快な解答を提示しているものは見当たらない。ほとんどの教科書には、歯根が吸収されて動揺を示すようになった乳歯は、咬合などの機械的な力によりやがて脱落するなど簡単に記載されているだけである。

しかし、臨床的には自然脱落した乳歯の下は薄い上皮で覆われていることがしばしば観察され、自然脱落した場合は抜歯した時より出血が少なく、傷も速やかに治癒することなどもよく知られている。さらに既に示したが、同一個体から自然脱落した乳歯の吸収面はほとんど左右対称で同じ形態を示していた。これらの事実は、ヒト乳歯は決して無秩序に脱落するのではなく、なんらかの機構により調節され秩序だてに行われている可能性が考えられる。そこで、乳歯が最終的にはどのようにして脱落するのか検討する目的で、自然脱落した乳歯や脱落寸前の抜去した乳歯の組織変化について光顕、電顕的に観察した<sup>12)</sup>。

図17 Aには自然脱落した乳歯の脱灰標本を示してある。この標本で特に注目し値するのは、内部吸収が進んだ歯冠内に僅かに残存している歯

髓組織が重層扁平上皮により被覆されていることである。なお、この上皮の一端は内部吸収終了後に歯髓腔壁に添加したセメント質様硬組織に付着している。この上皮の付着状態は、通常の上皮付着と同様にヘミデスモゾームによりセメント質様硬組織に接着していることが電顕的にも確認できた。残存した歯髓組織を被覆している重層扁平上皮は乳歯だけでなく、自然脱落した乳歯あるいは乳切歯にも認められた(図17 B)。また一部の標本では、残存歯髓を被覆した上皮が血管を含む結合組織により分断されている組織像も観察された(図17 C)。次に、残存歯髓を被覆する上皮の由来を調べるため、脱落前の抜去歯を観察した。その結果、乳歯により付着上皮の部位が異なっていることが明らかになった(図18)。歯根が完全に吸収された乳歯は、おそらく乳歯の動揺のため付着上皮が深部増殖を開始する(図18 A)。ヒト乳歯の脱落前の上皮付着の深部増殖についてはすでに、多くの報告がある<sup>2,7,8,70,71)</sup>。特に Bernick ら<sup>71)</sup>は付着上皮の深部増殖は乳歯の脱落と何らかの関連性を持っているだろうと考えた

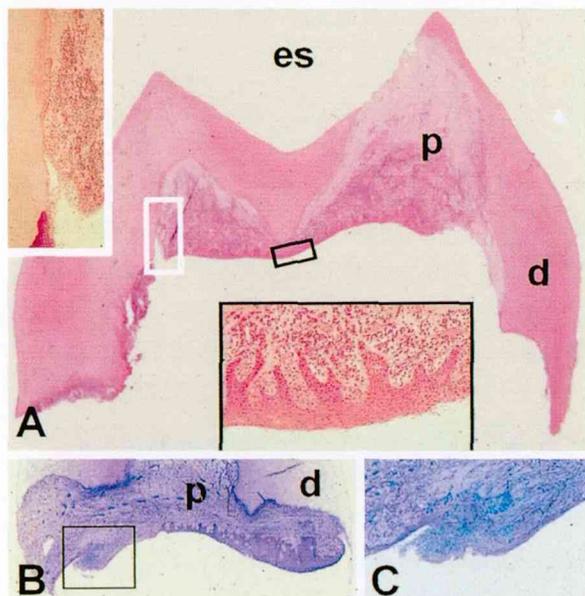


図17：自然脱落したヒト乳歯の組織像

- A. 乳歯。歯冠内部には残存した歯髓組織が認められる。歯髓組織は重層扁平上皮で被覆され(黒枠挿入図)、上皮の一端は歯髓腔壁に上皮付着している(白枠挿入図)。  
 B. 乳歯。残存歯髓を被覆した重層扁平上皮が認められる。上皮は一部で離断している。脱灰により消失したエナメル質(es)、象牙質(d)、歯髓(p)。  
 C. Bの黒枠部の拡大。上皮は血管を含む結合組織により離断されている。

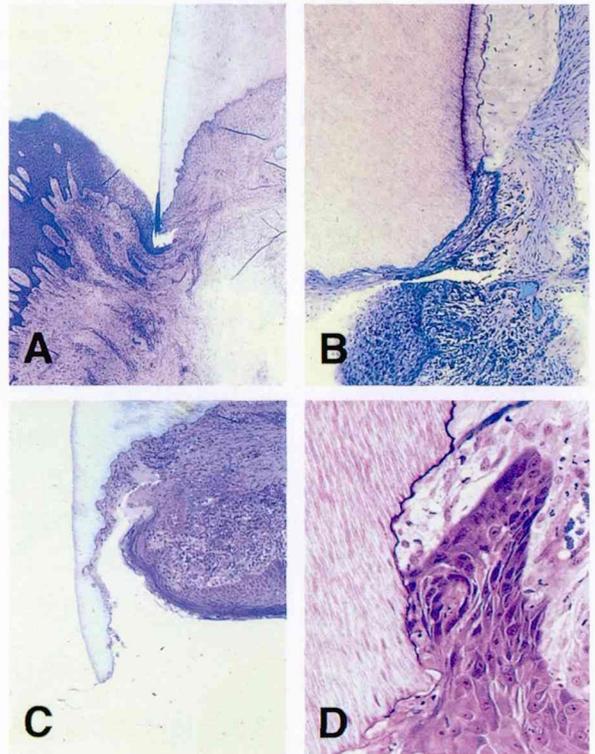


図18：ヒト乳歯の脱落前に認められる付着上皮の移動

- A. 深部増殖が始まった付着上皮。  
 B. 歯冠部象牙質吸収窩に移動した付着上皮。  
 C. 歯髓腔壁に移動した付着上皮。  
 D. 歯髓腔壁の象牙質吸収窩表面の上皮付着。

が、その証拠は示さなかった。Soskolne and Bimstein<sup>7)</sup>は付着上皮の移動は深部増殖ではなく、乳歯の吸収によるものであろうと述べている。

歯面に沿ってさらに深部に移行した上皮付着は、歯根がすでに消失しているため、歯冠の吸収窩表面を移動し(図18 B)、最終的には歯冠内面に移動するものと考えられる(図18 C)。この移動過程では、付着上皮はセメント質様硬組織だけでなく象牙質吸収面上にも認められた(図18 D)。このような付着上皮の移動に伴ってそれと連続している歯肉上皮も盛んに増殖する。付着上皮の歯冠内部への移行は、口腔内細菌の連続的な刺激を引き起こし、脱落寸前の残存歯髓のほとんどは慢性の炎症を示すようになる。この慢性炎症は歯肉上皮の歯冠内部での増殖をさらに促進させると考えられ、歯肉上皮は歯冠内部で反転し二層の上皮が形成される。ヒト乳歯の脱落時期の吸収領域に向かって伸びる歯肉上皮の増殖については、数人の研究者による報告がある。Urban<sup>72)</sup>とKronfeld<sup>7)</sup>は、伸びた歯肉上皮は永久歯胚のエナメル上皮と癒合し、永久歯の付着上皮の形成に関与すると述べている。一方、Johnson<sup>73)</sup>は歯肉上皮はエナメル上皮とは癒合せず、永久歯の歯肉溝の形成には関与しないと述べている。しかし、我々の観察では、増殖した歯肉上皮は永久歯胚のエナメル上皮とは無関係であり、歯冠の下部で二重の歯肉上皮を形成することが明らかになった。上皮付着の移行と歯肉上皮の増殖現象は歯冠の様々な部位でも起こるので、最終的には乳歯の残存歯髓は細い頸状の結合組織だけで結合している状態になる。

歯冠の下部の二層の歯肉上皮は、それぞれ異なる役割が考えられる。上部の歯肉上皮は、炎症を起こした残存歯髓が他の口腔組織に波及することを防いでいるのだろう。一方、下部の上皮は炎症の波及を防ぐだけでなく、口腔内細菌が永久歯胚を含む口腔組織に侵入するのを防ぐ働きをしていると考えられる。乳歯と上皮付着している上部の歯肉上皮は、自然脱落する乳歯と共に抜け落ちるのだろう。図17Aに示した自然脱落した乳歯に認められた残存歯髓を被覆した重層扁平上皮は、この上部の歯肉上皮である。乳歯の脱落では、付着上皮や歯肉上皮は乳歯の脱落するまで細

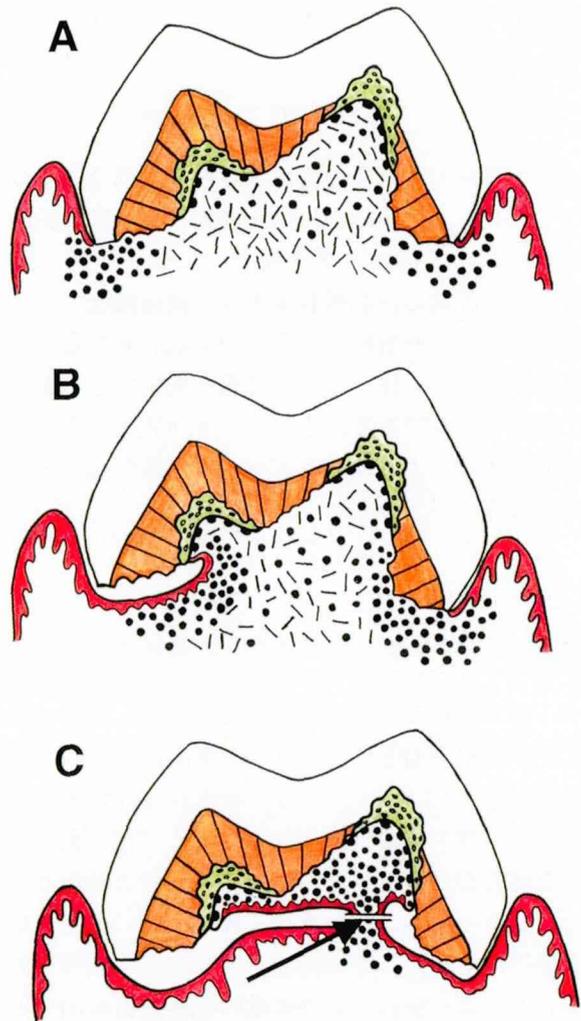


図19：ヒト乳歯の脱落期における付着上皮と歯肉上皮の動態  
 A. 歯根が完全に吸収された乳歯は動揺により上皮付着部で炎症が起これ、付着上皮は深部増殖する。  
 B. 深部増殖した付着上皮は歯冠部の吸収窩面に沿って移動する。付着上皮の移動に伴い、さらに炎症は増大し歯肉上皮の増殖を促進する。  
 C. 上皮付着が歯髓腔壁に到達する頃には、残存歯髓の炎症はさらに進み慢性炎症に移行する。歯肉上皮は更に増殖して歯冠下部で反転する。このような付着上皮の移動と歯肉上皮の増殖は歯冠部の様々な部位でも起これ、残存歯髓は栄養血管を含む細い頸状の組織だけで下部の組織と繋がった状態になる。最終的には、細い頸状の組織部(矢印)で離断が起これり乳歯は脱落する。

歯の侵入を防ぐ、重要な役割を果たしていることが示唆された。

図19は我々の観察結果を基にしてヒト乳歯の脱落までの付着上皮と歯肉上皮の移行過程を模式的に示したものである。我々の研究は、自然脱落した乳歯や抜去した乳歯を観察したもので、後続し萌出する永久歯胚との関係は明らかではない。しかし、模式図で示したような乳歯の脱落機構は、出血が少なく、傷の治癒も早いという自然脱落時

の臨床的所見をうまく説明できるのではないかと考えている。

#### 終わりに

ヒト乳歯の脱落前の歯髄側からの内部吸収について紹介し、破歯細胞の分化過程、吸収窩表面の修復現象、乳歯の脱落機構などについて概説した。ヒト乳歯の内部吸収現象は、破歯細胞のさらなる機能解析や吸収窩表面への部位特異的修復機構の解明など、様々な研究課題を提供できる優れた観察モデルである。また、ヒトの乳歯を用いた研究結果は、より臨床応用への可能性が高いと考えられる。

最近になり、歯周組織の再生法として歯根表面に enamel matrix-derived proteins (EMD) を用い、セメント質の形成を促進しようとする試みが数多く行われている。しかし、形成されたセメント質と歯根欠損部表面の間にはしばしば亀裂が生じ、歯根表面と修復セメント質の結合の弱さが問題にされている<sup>74)</sup>。一方、象牙質吸収窩と修復セメント質の間には亀裂はまったく存在せず、強固な結合が形成されている。ヒト乳歯の吸収と修復現象をモデルにし、異なる硬組織間の強固な結合機構の解析は、生体内で行われている機構を利用した、より優れた歯周組織の再建技術の開発と臨床応用を可能にするだろう。

#### 文 献

- 1) Hopewell-Smith A (1930) The process of osteolysis and odontolysis, or so-called "apsorption" of calcified tissues. A new and original investigation. *Dental Cosmos* **72** : 462-73.
- 2) Kronfeld R (1932) The resorption of the roots of deciduous teeth. *Dental Cosmos* **74** : 103-20.
- 3) 正木 正 (1932) 乳歯の脱落に関する組織学的観察. *歯科学報* **37** : 337-57, 441-7.
- 4) Furseth R (1968) The resorption processes of human deciduous teeth studied by light microscopy, microradiography and electron microscopy. *Archs Oral Biol* **13** : 417-31.
- 5) 大野和江 (1969) 生理的歯根吸収に伴う歯髄の変化に関する組織学的研究. *小児歯誌* **4** : 7-12.
- 6) 一条 尚 (1975) 乳歯の歯根吸収像に関する形態学的観察. *小児歯誌* **13** : 229-35.
- 7) Soskolne WA and Bimstein E (1977) A histomorphological study of the shedding process of human deciduous teeth at various chronological stages *Arch Oral Biol* **22** : 331-5.
- 8) Rolling I (1981) Histomorphometric analysis of primary teeth during the process of resorption and shedding. *Scand J Dent Res* **89** : 132-42.
- 9) Sasaki T, Motegi N, Suzuki H, Watanabe C, Tadokoro K, Yanagisawa T and Higashi S (1988) Dentin resorption mediated by odontoclasts in physiologic root resorption of human deciduous teeth. *Am J Anat* **183** : 303-15.
- 10) Yawaka Y, Wakita M and Oguchi H (1995) The process of physiological root resorption: Relationship between appearance of odontoclasts and resorbed root volumes. *Ped Dent J* **5** : 1-9.
- 11) Sahara N, Okafuji N, Toyoki A, Suzuki I, Deguchi T and Suzuki K (1992) Odontoclastic resorption at the pulpal surface of coronal dentin prior to shedding of human deciduous teeth. *Arch Histol Cytol* **55** : 273-85.
- 12) Sahara N, Okafuji N, Toyoki A, Ashizawa Y, Yagasaki H, Deguchi T and Suzuki K (1993) Histological study of the exfoliation of human deciduous teeth. *J Dent Res* **72** : 634-40.
- 13) Sahara N, Okafuji N, Toyoki A, Ashizawa Y, Deguchi T and Suzuki K (1993) Cementum-like tissue deposition on the resorbed pulpal chamber wall of human deciduous teeth prior to shedding. *Acta Anat* **147** : 24-34.
- 14) Sahara N and Suzuki K (1993) Resorption and repair of human deciduous teeth: Mononuclear phagocytic cells on the resorbed dentin surface in the transitional phase between resorption and repair. *Dentistry in Japan* **30** : 14-21.
- 15) Sahara N, Okafuji N, Toyoki A, Ashizawa Y, Deguchi T and Suzuki K (1994) Odontoclastic resorption of the superficial nonmineralized layer of predentin in the shedding of human deciduous teeth. *Cell Tissue Res* **277** : 19-26.
- 16) Sahara N, Toyoki A, Ashizawa Y, Deguchi T and Suzuki K (1996) Cytodifferentiation of the odontoclast prior to the shedding of human deciduous teeth: An ultrastructural and Cytochemical study. *Anat Rec* **244** : 33-49.
- 17) Sahara N, Ashizawa Y, Nakamura K, Deguchi T and Suzuki K (1998) Ultrastructural features of odontoclasts that resorb enamel in human deciduous teeth prior to shedding. *Anat Rec* **252** : 215-28.

- 18) Sahara N (1998) Resorption and repair of human deciduous teeth prior to shedding. In *Biological mechanism of tooth eruption, resorption and replacement by implant* (Eds. Davidovitch, Z and Mah, J) Birmingham : EBSCO media. PP 383-96.
- 19) Sahara N (2001) Cellular events at the onset of physiological root resorption in rabbit deciduous teeth. *Anat Rec* **264** : 387-96.
- 20) Sahara N and Ozawa H (2004) Cementum-like tissue deposition on the resorbed enamel surface of human deciduous teeth prior to shedding. *Anat Rec* **279A** : 779-91.
- 21) Boyde A, Ali NN and Jones SJ (1984) Resorption of dentine by isolated osteoclasts in vitro. *Br. Dent J* **156** : 216-20.
- 22) Jones SJ and Boyde A (1988) The resorption of dentin and cementum in vivo and in vitro. In : (Ed. Davidovitch Z) *The biological mechanisms of tooth eruption and root resorption*. EBSCO Media, Birmingham, p 335-54.
- 23) Freilich LS (1971) Ultrastructure and acid phosphatase cytochemistry of odontoclasts : effects of parathyroid extract. *J Dent Res* **50** : 1047-55.
- 24) 大野紘八郎 (1972) ヒト乳歯歯根吸収時に出現する Odontoclast の電子顕微鏡的研究. *口病誌* **38** : 113-58.
- 25) 鈴木俊介 (1974) ヒトの乳歯象牙質吸収に関する電子顕微鏡的研究. *歯基礎誌* **16** : 186-224.
- 26) Masuda E (1992) Ultrastructural and histochemical study of the odontoclasts in physiologic root resorption. *J Electron Microsc* **41** : 131-40.
- 27) 八若保孝 (1993) 酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性反応を利用したヒト乳歯における破歯細胞の観察法. *Jpn J Oral Biol* **35** : 409-30.
- 28) Oshiro T, Shibasaki Y, Martin J and Sasaki T (2001) Immunolocalization of vacuolar-type H<sup>+</sup>-ATPase, cathepsin K, matrix metalloproteinase-9, and receptor activator of NFκB ligand in odontoclasts during physiological root resorption of human deciduous teeth. *Anat Rec* **264** : 305-11.
- 29) Sasaki T (2003) Differentiation and functions of osteoclasts and odontoclasts in mineralized tissue resorption. *Microsc Res Tech* **61** : 483-95.
- 30) Rosenberg EH and Guralnick WC (1962) Hyperparathyroidism : A review of 220 prove cases, with special emphasis on findings in the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **15** : 84-94.
- 31) Silverman S, Gordan G, Grant T, Steinbach H, Eisenberg E and Manson R (1962) The dental structures in primary hyperparathyroidism. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **15** : 426-35.
- 32) Okamura T, Shimokawa H, Takagi Y, Ono H and Sasaki S (1993) Detection of collagenase mRNA in odontoclasts of bovine root resorbing tissue by in situ hybridization. *Calcif Tissue Int* **52** : 325-30.
- 33) 松本芳郎 (1994) 破歯細胞の硬組織吸収能に対する形態的並びに機能的検討. *口病誌* **61** : 123-43.
- 34) Lasfargues JJ and Saffar SL (1993) Inhibition of prostanoid synthesis depresses alveolar bone resorption but enhances root resorption in the rat. *Anat Rec* **237** : 458-65.
- 35) Ejiri S (1983) The preosteoclast and its cytodifferentiation into the osteoclast : Ultrastructure and histochemical studies of rat fetal parietal bone. *Arch Histol Cytol* **46** : 533-57.
- 36) Baron R, Tran Van JR, Nefussi JR and Vignery A (1986) Kinetic and cytochemical identification of osteoclast precursors and their differentiation into multinucleated osteoclasts. *Am J Pathol* **122** : 363-78.
- 37) Marks SC and Popoff SN (1988) The regulation of development, structure and function in the skelton. *Am J Anat* **183** : 1-44.
- 38) Sasaki T, Takahashi N, Watanabe C, Suzuki H, Higashi S and Suda T (1989) Cytodifferentiation of odontoclasts in physiologic root resorption of human deciduous teeth. In : (Ed. Davidovitch, Z) *The biological mechanisms of tooth eruption and root resorption*, Birmingham, EBSCO Media, PP. 321-28.
- 39) Chambers TJ, Darry JA and Fuller K (1985) Mammalian collagenase predisposes bone surfaces to osteoclastic resorption. *Cell Tissue Res* **241** : 671-5.
- 40) Rodan GA and Martin TJ (1981) Role of osteoblast in hormonal control of bone resorption -A pyptohesis. *Calcif Tissue Int* **33** : 349-51.
- 41) Hammarström LE and Lingskog S (1985) General morphological aspects of teeth and alveolar bone. *Int Endod J* **18** : 93-108.
- 42) Mueller E and Rony HR (1930) Laboratory studies of unusual case of resorption. *J Am Dent Assoc* **17** : 326-34.
- 43) Shimazu Y, Nanci A and Aoba T (2002) Immunodetection of osteopontin at sits of resorption in the pulp of rat molars. *J Histochem Cytochem* **50** : 911-21.

- 44) Boyde A and Lester KS (1967) Electron microscopy of resorbing surfaces of dental hard tissue. *Z Zellforsch* **83** : 538-48.
- 45) Arana-Chavez VE and Andia-Merlin RY (1998) Scanning electron microscopy examination of resorbing enamel surfaces in unexfoliated primary molar teeth. *J Dent Child* **65** : 182-5.
- 46) Malone JD, Teitelbaum SL, Griffin GL, Senior RM and Kahn AJ (1982) Recruitment of osteoclast precursors by purified bone matrix constituents. *J Cell Biol* **92** : 227-38.
- 47) Mundy GR and Poser JW (1983) Chemotactic activity of the  $\gamma$ -carboxyglutamic acid containing protein in bone. *Calcif Tissue Int* **35** : 164-8.
- 48) Reinholt FP, Hultenby K, Oldberg Å and Heinegård D (1983) Osteopontin-A possible anchor of osteoclasts to bone. *Proc Natl Acad Sci USA* **83** : 8819-23.
- 49) Ross FP, Chappel J, Alvarez JI, Sander D, Butler WT, Farach CM, Mintz KA, Roby PG and Teitelbaum SL (1993) Interactions between the bone matrix integrin  $\alpha v \beta 3$  potentiate bone resorption. *J Biol Chem* **268** : 9901-7.
- 50) Krukowski M and Kahn AJ (1982) Inductive specificity of mineralized bone matrix in ectopic osteoclast differentiation. *Calcif Tissue Res* **34** : 474-9.
- 51) Webber D, Osdoby P, Hauschka P and Krukowski M (1990) Correlation of an osteoclast antigen and ruffled border on giant cell formed in response to resorbable substrates. *J Bone Mineral Res* **5** : 401-10.
- 52) Bonucci E (1974) The organic-inorganic relationships in bone matrix undergoing osteoclastic resorption. *Calcif Tissue Res* **16** : 13-36.
- 53) Pierce AM (1989) Attachment to and phagocytosis of mineral by alveolar bone osteoclasts. *J Submicrosc Cytol Pathol* **21** : 63-71.
- 54) Baron R, Neff L, Louvard D and Courtoy PJ (1985) Cell-mediated extracellular acidification and bone resorption: Evidence for a low pH in resorbing lacunae and localization of a 100-kD lysosomal membrane protein at the osteoclast ruffled border. *J Cell Biol* **101** : 2210-22.
- 55) Silver IA, Murrills RJ and Etherington DJ (1988) Micro electrode studies on the acid microenvironment beneath adherent macrophages and osteoclasts. *Exp Cell Res* **175** : 266-76.
- 56) Baron R, Vignery A and Tran Van P (1980) The significance of lacuna erosion without osteoclasts: Studies on the reversal phase of the remodeling sequence. *Metab Bone Dis Rel Res* **2 S** : 35-40.
- 57) Tran Van P, Vignery A and Baron R (1982) An electron-microscopic study of the bone remodeling sequence in the rat. *Cell Tissue Res* **225** : 283-92.
- 58) Oguro I and Ozawa H (1988) The cytochemical localization of acid phosphatase activity in BMU. *J Bone Mineral Metab* **6** : 1-5.
- 59) Mckee MD and Nanci A (1966) Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth and osseointegrated implants: Ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover and repair. *Microsc Res Tech* **33** : 141-64.
- 60) Nanci A (1999) Content and distribution of noncollagenous matrix proteins in bone and cementum: Relationship to speed of formation and collagen packing density. *J Struct Biol* **126** : 256-69.
- 61) Harden JM, Mohan S and Baylink DJ (1995) The insulin-like growth factor system and coupling of formation to resorption. *Bone* **17** : 93-98 s.
- 62) 八木俊雄, 長谷川 清 (1977) 歯根の吸収と破歯細胞. *歯科展望* **50** : 35-42.
- 63) 長谷川 清, 矢木俊雄, 石田 武, 小川祐三, 吉岡千尋 (1978) ラット歯根象牙質吸収部へのセメント質沈着に関する電顕的観察. *歯基礎誌* **20** : 719-28.
- 64) Bosshardt DD and Schroeder HE (1994) How repair cementum becomes attached to the resorbed roots of human permanent teeth. *Acta Anat* **150** : 253-66.
- 65) Bosshardt DD (1994) Formation and attachment of new cementum matrix following root resorption in human deciduous teeth: A light- and electron microscopic study. (Ed, Davidovitch, Z) In *The biological mechanisms of tooth eruption, resorption and replacement by implants*. Harvard Society for the Advancement of Orthodontics, Boston, Massachusetts. p 423-32.
- 66) Kimura R, Anon H, Matsumoto A, Noda D and Maeda K (2003) Dental root resorption and repair: histology and histometry during physiological drift of rat molar. *J periodont Res* **38** : 525-32.
- 67) Sasaki T, Watanabe C, Shimizu T, Debari K

- and Segawa K (1990) Possible role of cementoblasts in the resorbant organ of human deciduous teeth during root resorption. *J Periodont Res* **25** : 143-51.
- 68) Tanaka T, Morioka T, Ayasaka N, Iijima T and Kondo T (1989) Endocytosis in odontoclasts and osteoclasts using microperoxidase as a tracer. *J Dent Res* **69** : 883-9.
- 69) Bosshart DD, Degen T and Lang NP (2005) Sequence of protein expression of bone sialoprotein and osteopontin at the developing interface between repair cementum and dentin in human deciduous teeth. *Cell Tissue Res* **320** : 399-407.
- 70) Bernick S, Rutherford RL and Rabinowitch Z (1951) The role of the epithelial attachment in tooth resorption of primary teeth. *Oral Surg* **4** : 1444-50.
- 71) Bernick S, Rabinowitch BZ and Rutherford RL (1948) Microscopic studies of the teeth of a 6-years-old-boy. II. Tooth absorption. *Anat Rec* **105** : 249-64.
- 72) Urban LB (1931) Findings in relation to resorption of deciduous teeth in the dog. *J Dent Res* **11** : 711-25.
- 73) Johnson HW (1962) Epithelial activity in the exfoliation of the deciduous tooth and emerging permanent tooth. *J Dent Res* **40** : 1231-41.
- 74) Bosshardt DD, Sculean A, Windisch P, Pjetursson BE and Lang NP (2005) Effect of enamel matrix proteins on tissue formation along the roots of human teeth. *J Periodont Res* **40** : 158-67.