

〔原著〕 松本歯学 24 : 252~261, 1998

key words : 歯の移動 — 骨改造活性 — 鉛生体染色 — ラット — 臼歯

## 実験的歯の移動に伴う歯槽骨骨改造活性の動的把握の試み ——鉛生体染色法を用いて——

芦澤雄二, 岸本雅吉, 中村康洋, 岡藤範正, 出口敏雄

松本歯科大学 歯科矯正学講座 (主任 出口敏雄教授)

長谷川 亨, 佐原紀行, 鈴木和夫

松本歯科大学 口腔解剖学第2講座 (主任 鈴木和夫教授)

Dynamic Events of Bone Remodeling Activity of the Alveolar Bone  
Incidental to Experimental Tooth Movement  
—Using a Lead Vital Staining Technique—

YUJI ASHIZAWA, MASAYOSHI KISHIMOTO, KOYO NAKAMURA,  
NORIMASA OKAFUJI and TOSHIO DEGUCHI

*Department of Orthodontics, Matsumoto Dental University School of Dentistry  
(Chief: Prof. T. Deguchi)*

TORU HASEGAWA, NORIYUKI SAHARA and KAZUO SUZUKI  
(Chief: Prof. K. Suzuki)

*Department of Oral Histology, Matsumoto Dental University School of Dentistry*

### Summary

Using a single injection for lead vital staining, we observed dynamic events of bone remodeling activity of the alveolar bone incidental to experimental tooth movement. Rat maxillary first molars were moved mesially, with a coil-spring appliance for 7 days. EDTA-Pb as intraperitoneally injected 3 hours before sacrifice. The animals were euthanized 3, 6, 12, 24, 48, 72 hours and 7 days after tooth movement. Lead deposition lines on the alveolar surface surrounding the roots were examined. Furthermore, histological changes after tooth movement were examined regarding the morphological alternations of osteoblasts on the alveolar surface. Non-treated rats were used as controls. In controls, only 1 lead

deposition line as clearly identified on the whole alveolar bone surface encircling the root. However, on the mesial/pressure side in experimental groups after 12 hours of mesial movement, lead deposition could not be found in any area on the alveolar bone surface, demonstrating that the bone formation activity began to disappear from this area due to tooth movement. Changes in the lead deposition line on the alveolar bone surface on the pressure side, closely corresponded to morphological alternations of osteoblasts on the alveolar bone surface after tooth movement. These results suggest that this lead vital staining technique can visualize bone formation activity on the alveolar surface surrounding the roots, and is an useful method to observe dynamic events of bone remodeling activity of the alveolar bone, incidental to experimental tooth movement.

## 緒 言

矯正的に歯を移動させた時、圧迫側の歯槽骨表面では骨吸収、牽引側では骨形成の骨改造現象が引き起される。このような歯の移動に伴う機械的刺激がどのように骨改造に関与しているのかについては、古くから Sandstedt<sup>1)</sup>をはじめとする実験的観察により、その骨改造の中心的役割を担っている骨芽細胞や破骨細胞に関連した組織変化が検討されてきた。特にラットを用いた歯の移動に伴う牽引側歯槽骨表面の骨形成能については、骨芽細胞などを対象とした計数的手法<sup>2,3)</sup>、DNAの分裂活性を調べる免疫組織化学的手法<sup>4)</sup>、オートラジオグラフィを用いた研究<sup>5-12)</sup>、さらに最近ではオステオポンチンやオステオネクチンなどの骨基質蛋白の遺伝子発現を調べる手法<sup>13)</sup>などが応用されている。しかし、このような研究では歯槽骨表面における骨形成活性が直接検討されているとはいえない。

歯の移動に伴う歯槽骨表面の骨形成を動的に捉えるために、硬組織内時刻描記法としてテトラサイクリン、カルセイン、アリザリンレッドなどの蛍光性色素<sup>14-17)</sup>、あるいは重金属類の鉛<sup>18,19)</sup>などによる生体染色法が用いられた研究が行われてきた。われわれもラットを用いて、EDTA-鉛の生体染色による時刻描記法で実験的歯の移動時の歯槽骨改造変化を調べ、鉛時刻描記法が歯の移動後の歯槽骨表面の骨形成を研究する優れた手法であることを報告した<sup>20)</sup>。

本研究では、この鉛生体染色法を応用し、歯の移動後の歯槽骨表面の動的な骨改造活性の変化を正確に把握することが可能かどうかを調べる試みとして、歯の移動後経時的に EDTA-鉛を1回

投与した際の骨表面における鉛沈着線の形成状態の変化を観察した。同時に、移動後の組織変化について骨芽細胞の形態変化を中心に観察し、1回投与の鉛生体染色法が移動後の歯槽骨表面の骨改造活性の動的把握に有効であるか比較検討した。

## 材料ならびに方法

### I. 実験動物

実験には13週齢のウイスター系雄性ラット（体重 $300 \pm 20$  g）で、歯の移動実験を行った実験群35匹と未処置の観察群8匹、合計43匹を用いた。実験期間中、動物には粉末飼料（オリエンタル酵母工業、東京）を与え、水道水を自由摂取させた。

### II. 実験的歯の移動方法

歯の移動装置はすでにわれわれが報告した装置<sup>20-22)</sup>と同様な装置を用いた。上顎切歯を固定源とした固定式コイルスプリング装置により上顎右側第一臼歯を初期荷重約25 gで近心方向に牽引した（図1）。実験動物は適量のペントバルビタール系麻酔薬を腹腔内投与し、全ての処置を麻

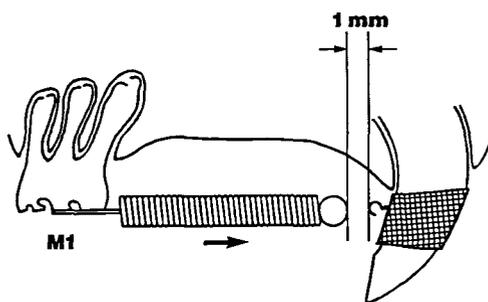


図1：実験的歯の移動装置の模式図。

M1：上顎第一臼歯。矢印：牽引方向。

酔下で行った。まず、上顎切歯側面と上顎第一臼歯咬合面を35%リン酸液で酸処理後、湿綿球で洗浄、さらに乾燥綿球にて刷掃した。上顎切歯部には直径0.014インチのステンレススチールワイヤー（モリタ、東京）のフックを取り付けたリング状に加工した金属メッシュ板のバンドを、また第一臼歯には8.0 mmの長さのステンレス製クローズドコイルスプリング（0.008×0.032インチ、ユニテック、東京）を取り付けた2.0×3.0 mmの大きさに切断した金属メッシュ板を、それぞれα-エチルシアノアクリレートセメント（ニッシン、京都）を用いて接着した。コイルスプリングの前部と切歯バンドのフックの距離は一定の牽引力を発揮するように1.0 mmに調整し、接着剤硬化後連結した。

歯の移動期間は、装置装着後3、6、12、24、48、72時間および1週間とした。なお、実験期間中には装置の再活性化は行わなかった。

### Ⅲ. 組織学的観察

#### 1) 鉛生体染色法

エチレンジアミン四酢酸鉛錯塩（EDTA-鉛）（同仁化学、熊本）を1回の投与量が体重あたり30 mg/kgで腹腔内投与した。予備実験として、ラットにEDTA-鉛を1回投与し、歯槽骨上の鉛沈着線が何時間後から観察できるのかを調べた。その結果、投与後3時間に歯槽骨に明瞭な鉛沈着線が出現することが明らかになった。そこで本実験では、EDTA-鉛の投与は全て実験終了の屠殺3時間前とした。

本実験におけるEDTA-鉛の投与は、以下の方法で行った。

#### 時刻描記法による観察群：

歯の移動実験に先立ち、本実験に用いた同週齢のラットの上顎第一臼歯歯根周囲の生理的な歯槽骨表面における骨改造状態を調べるために、未処置のラットにEDTA-鉛を9日間で3日おき4回投与し、時刻描記を行った。

#### 1回投与の観察群：

歯の移動後の歯根周囲の歯槽骨表面における経時的な骨形成活性の変化を観察するために、移動開始より3、6、12、24、48、72時間、1週間後のそれぞれ動物を屠殺する3時間前にEDTA-鉛を1回投与した（図2）。なお対照群には未処置のラットにEDTA-鉛を1回投与したものを

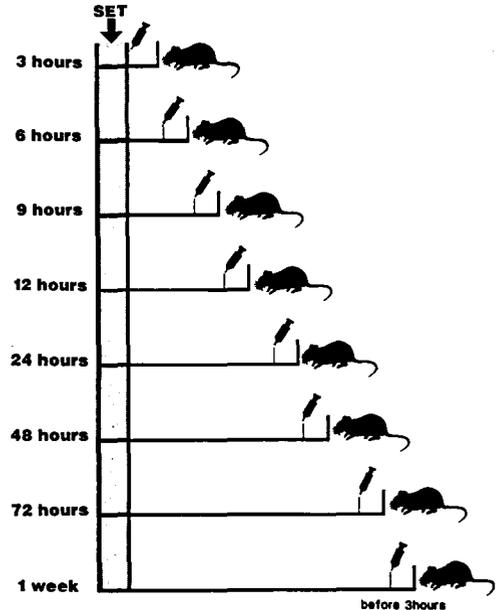


図2：EDTA-鉛の投与時期と歯の移動期間。  
EDTA-鉛は歯の移動期間終了3時間前に1回投与。

用いた。

各実験終了後、エーテル麻酔にて屠殺、直ちに右側上顎骨を摘出し、10%ホルマリンで1週間固定した。試料は骨組織に沈着した鉛を不溶性の硫化鉛にするために、硫化水素を飽和した0.2N塩酸溶液中で硫化脱灰した。脱灰終了後、試料は臼歯咬合平面と正中口蓋縫線に平行に切断し、ゼラチン包埋後、臼歯咬合平面と平行に厚さ15 μmの水平断連続凍結切片とした。各切片は、鉛沈着線を可視化するために0.1%塩化金溶液で90-120分間金鍍金処理後、グリセロールゼラチンで封入し、顕微鏡的に観察した。

#### 2) トルイジンブルー染色

歯の移動終了後、上顎歯槽骨部を摘出し、直ちに4%パラホルムアルデヒド0.5%グルタルアルデヒド混合液（10 mmol/L カコジル酸緩衝液、pH 7.3）にて6時間室温で固定した。固定後試料は、10% EDTA 溶液（10 mmol/L カコジル酸緩衝液、pH 7.3、4℃）により1ヵ月間脱灰し、上昇アルコール系列にて脱水、JB-4（Poly science, USA）に包埋後、厚さ3-5 μmの水平断連続切片を薄切して、トルイジンブルー染色を行い、顕微鏡的に観察した。

## 結 果

## I. EDTA-鉛の時刻描記法による観察

実験に先立ち、観察に用いる13週齢の雄性ラットの上顎第一臼歯歯根周囲の生理的な歯槽骨表面における骨改造状態を把握する目的で、未処置の同ラットにEDTA-鉛を9日間で3日おき4回投与し、時刻描記法によって観察した。

上顎第一臼歯5根の全ての歯根の近心側歯槽骨には、規則的な4本の鉛沈着線が認められたが、4本の沈着線の形成状態は各歯根によって異り、特に遠心側の2根の近心側歯槽骨で最も明瞭に観察された(図3 a)。遠心側根の拡大像では、近心側歯槽骨の4本の鉛沈着線は鮮明で、それらの鉛線間にはほぼ均一な状態が認められ、この部位では規則的な骨形成が行われていた。一方遠心側歯槽骨表面では、4回の投与にも関わらず、凹凸状の1本の沈着線のみが観察され、この部位では盛んな骨改造が行われていると考えられた(図3 b)。鉛時刻描記法の結果、遠心側根周囲の歯槽骨表面では骨形成、骨吸収が近遠心的に明瞭に区別されていることがわかった。

以上の結果より、本研究では移動後の歯根周囲

の骨改造活性を観察するために、生理的条件下で歯根周囲の歯槽骨表面の骨形成部位と骨吸収部位が明確な遠心側2根を観察対象とした。また観察には、歯の移動後圧迫側歯根膜に硝子様変性組織の認められない中央部付近の横断切片を用いた。

## II. EDTA-鉛の1回投与における鉛沈着線の観察

対照群：未処置のラットにEDTA-鉛を1回投与した際の上顎第一臼歯遠心側根の鉛沈着線を図4 aに示す。1本の連続的な鉛沈着線が歯槽窩骨表面の全周に観察された。

この1本の鉛沈着線は歯槽窩の近心側と遠心側においてその状態が異り、近心側の歯槽骨表面の拡大像(図4 c)では、比較的滑らかな直線状の黒褐色の鉛線が認められた。時刻描記法の結果を参照すると、一定した骨形成が行われていることを示している。一方、遠心側の拡大像(図4 b)では、歯槽骨表面の鉛線は鋸歯状を呈し、骨改造状態を示している。吸収窩の吸収点と考えられる部位では、鉛沈着線の断続的な状態(図4 b：矢印)が観察された。

移動群：歯の移動終了3時間前にEDTA-鉛を1回投与し、遠心側根の近心(圧迫)側歯槽

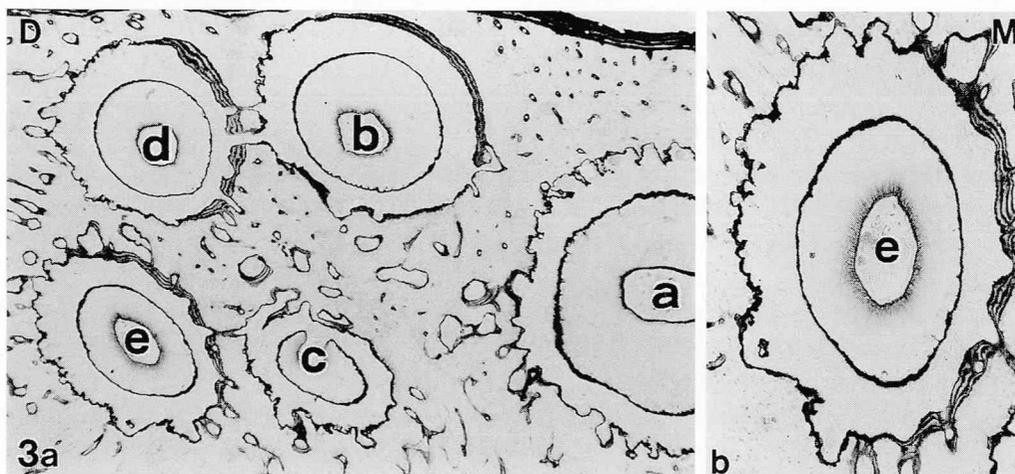


図3：生理的条件下の上顎第一臼歯の歯根中央部付近における水平断鉛沈着線像。未処置のラットに鉛時刻描記法としてEDTA-鉛を3日おき9日間で4回投与。

- a：上顎第一臼歯5根。近心根を除いた歯根近心側歯槽骨では4本の鉛沈着線が観察され、特に遠心側の2根で明瞭である。×27。  
 b：遠心側根の拡大像。近心側歯槽骨では均一な骨形成を示す規則的な4本の鉛沈着線が観察される。一方遠心側では骨表面が凹凸状を示し、骨形成、骨吸収部位が明確に区別される。×50。  
 a：近心根。b：近心舌側根。c：近心側根。d：遠心舌側根。e：遠心側根。M：近心側。D：遠心側。

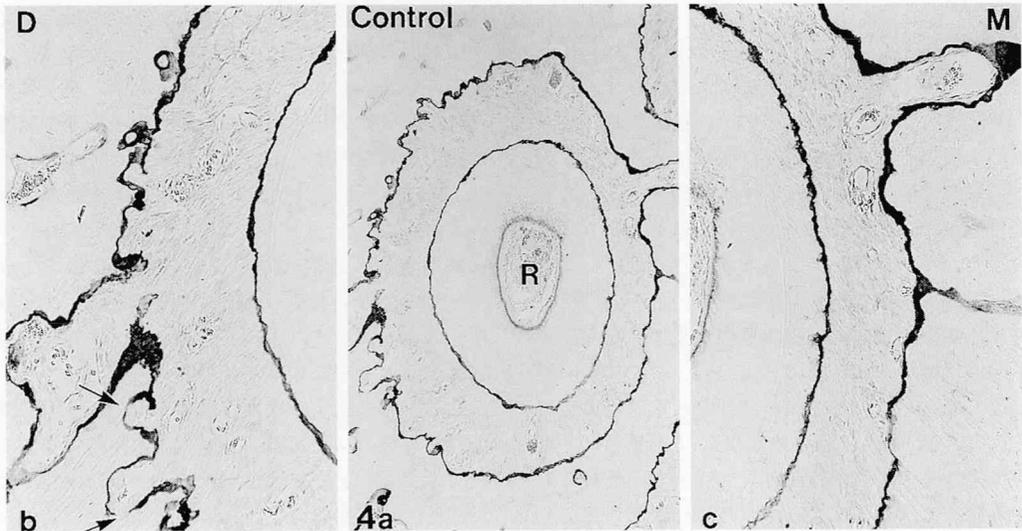


図4 対照群における上顎第一臼歯遠心頬側根周囲の鉛沈着線像。

- a (中央図)：全体像。歯槽壁全周に一層の鉛沈着線が観察される。×55。  
 b (左図)：遠心側の拡大像。歯槽骨表面に鋸歯状で、一部の吸収窩の吸収点と思われる部位で僅かな鉛線の未形成部(矢印)を認める。×118。  
 c (右図)：近心側の拡大像。骨表面に比較的滑らかな1本の直線状の鉛線が観察される。×160。  
 M：近心側。D：遠心側。R：歯根。

骨表面における骨形成活性が骨吸収状態に変化する過程で、歯槽骨表面上の鉛沈着線の形成状態の変化を観察した(図5)。

歯の移動後6時間(図5 a, d)では、対照群の近心側歯槽骨表面に形成された鉛線とほぼ同様な比較的滑らかな直線状の鉛沈着線が観察された。12時間経過後(図5 b, e)では、近心(圧迫)側歯槽骨表面の一部で鉛沈着線が観察されなくなった(図5 e：矢印)。さらに、移動48時間後(図5 c, f)では、さらに鉛の未沈着部位が次第に拡大しているのが認められた(図5 f：矢印)。また、移動48時間後の近心(圧迫)側では、歯槽骨表面の一部分で小さな骨吸収窩が存在し、骨形成から骨吸収へ骨改造活性の反転が認められた。

### Ⅲ. 移動後の近心(圧迫)側の経時的な組織変化の観察

鉛生体染色法で観察した部位と同様な近心(圧迫)側の歯槽骨表面をトルイジンブルー染色した脱灰切片で観察した。その結果、対照群(図6 a)では、歯槽骨表面に整然と並んだ骨芽細胞(図6 a：矢印)およびトルイジンブルーに淡染

の類骨層(図6 a：矢頭)が観察された。一方、歯の移動開始から12時間経過後(図6 b)では、圧迫側となった近心側歯槽骨表面の骨芽細胞(図6 b：矢印)は扁平化して類骨層もほとんど認められず、骨形成能の低下が推察された。

## 考 察

歯の移動に伴う比較的短時間の経時的な歯根周囲の骨改造現象を観察するためには、移動前の生理的な歯槽骨表面の骨改造現象を正確に把握していること、移動装置の活性化量、移動力、方向性などが一定であり、再現性のある移動を行うことが重要である。

生理的にラット上顎臼歯歯根周囲の近心側歯槽壁では持続的な骨形成が生じていると報告されている<sup>23,24)</sup>。われわれも、鉛時刻描記法によって、上顎第一臼歯5根の歯根周囲の骨形成状態を観察し、近心側の歯槽骨に規則的な鉛沈着線が形成されることを報告した<sup>25,26)</sup>。本実験でも歯の移動に用いた13週齢の雄性ラットにおいて、生理的条件下の上顎第一臼歯の歯根周囲の歯槽骨改造状態をEDTA-鉛を9日間で3日おき4回投与した時刻

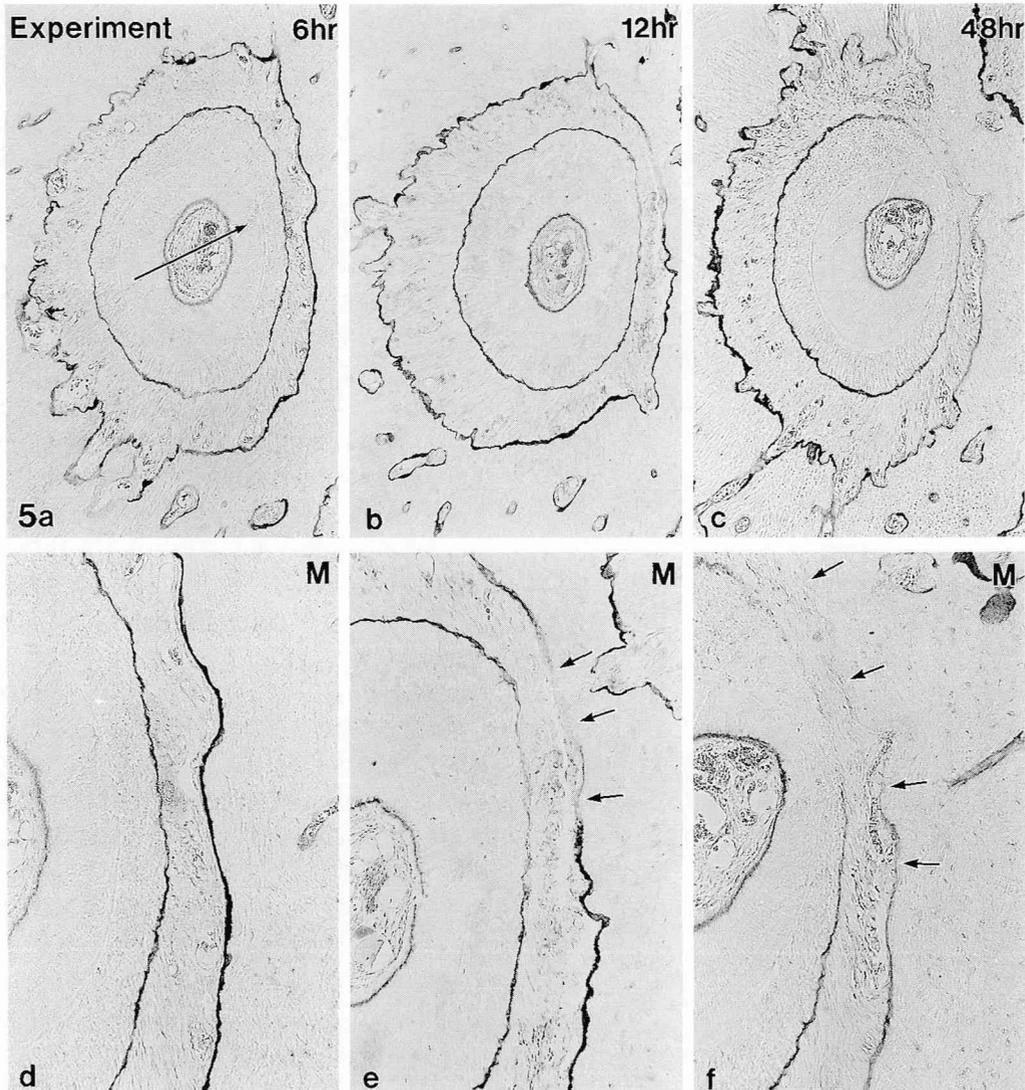


図5 移動群における遠心側根周囲の鉛沈着線像 (a, b, c), および近心 (圧迫) 側の拡大像 (d, e, f). 近心 (圧迫) 側歯槽骨表面の骨形成活性の経時的変化を示す。  
 a, d: 歯の移動開始6時間後. a: 矢印は歯の移動方向を示す。  
 b, e: 12時間後. e: 圧迫側歯槽骨表面で鉛沈着線の未形成部分 (矢印) が観察される。  
 c, f: 48時間後. f: 鉛沈着線の未形成部分 (矢印) がさらに拡大している。  
 a, b, c:  $\times 55$ . d, e, f:  $\times 118$ . M: 近心側.

描記法で詳細に調べ、遠心側の2根で骨改造パターンの顕著な状態を確認した。そこで本研究では観察根には遠心側の2根を選択した。

本実験では、過去にわれわれが改変したコイルスプリング装置<sup>20-22)</sup>を用いて、装置装着の容易な上顎右側第一臼歯を牽引した。この移動装置は、

ゴム片を第一臼歯と第二臼歯の歯間に挿入し、ラット臼歯の歯の移動を行うWaldo法<sup>27)</sup>に比べ、一定した活性化量、牽引力、方向性を与えることが容易にできる。また、ゴム片のように口腔内環境で変性劣化せず、経時的に安定した歯の移動を与えることが可能である。本実験で用いた移

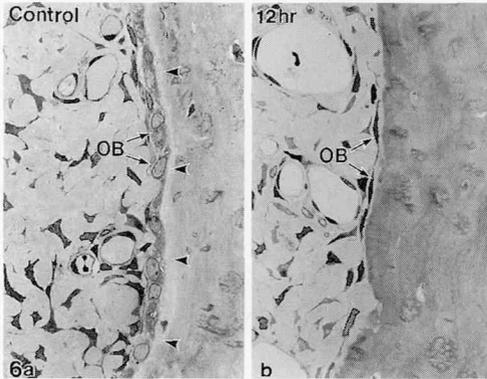


図6 近心(圧迫)側における歯槽骨表面の経時的な組織変化. トルイジンブルー染色.  $\times 365$ .

- a : 対照群. 骨表面に整然と並んだ骨芽細胞 (OB : 矢印) およびトルイジンブルーに淡染 (矢頭) の類骨層が観察される.
- b : 12時間後. 骨表面の骨芽細胞 (OB : 矢印) は扁平化して類骨層もほとんど認められない.

動装置は、歯の移動後の特に初期反応を観察するのに有効な方法であると考えられた。しかし、初期荷重25gの牽引力でも圧迫側の歯頸部の一部に硝子様変性帯が生じていた。そこで今回は、観察部位を歯頸部の変性部位より下方の歯根中央部に限定した。

鉛による生体染色法は、蛍光性色素を用いた生体染色法による未脱灰標本の観察方法と比べて、骨マーカである鉛を失わずに脱灰することが可能である。脱灰標本は、薄切片の連続性や方向性が容易に得られ、鉛沈着線は鮮明で通常の光学顕微鏡で観察できる利点を有している<sup>28-31</sup>。われわれは、この鉛生体染色法による時刻描記法を用いて、生理的条件下のラット臼歯歯根周囲の骨改造活性の経時的な動的変化を検討し、3日間隔の短い投与間隔にも関わらず、それぞれの沈着線が鮮明であり、再現性のある観察ができることを報告した<sup>25</sup>。

鉛の生体染色法による形成中の骨への沈着機構は、テトラサイクリンなどの蛍光性色素と同様に現在でも明確にされていない。しかし、麻生田<sup>29</sup>は、鉛塩が血中に入った場合、硬組織の石灰沈着の行われつつある部位にのみ沈着するのは、鉛が

この部位に存在するリン酸イオンと結合して生ずるリン酸鉛が、リン酸カルシウムの溶解積よりはるかに小さく、容易にカルシウムと置換し、沈着するのではないかと述べている。さらに Ozawa<sup>32</sup>は、酢酸鉛と EDTA-鉛を用いた研究で、鉛が石灰化の進行している部位の基質小胞とコラーゲン細線維に沈着していることを報告している。また、岡部<sup>33</sup>は、家兎にテトラサイクリン鉛キレート化合物を投与した結果、鉛とテトラサイクリンとが全く時間的に硬組織切片上に同じ位置に存在していたことを観察している。

われわれは、この鉛生体染色法を応用することにより、実験的な歯の移動時の歯根周囲の歯槽骨表面の動的な歯槽骨改造現象をより詳しく観察できるのではないかと考えた。その可能性を調べる試みとして、今回は歯の移動の様々な時間に EDTA-鉛を1回だけ投与して、移動後の各時間における歯槽骨の骨形成能を観察できるかどうかを検討した。

対照群の未処置のラットでは、上顎第一臼歯遠心頰側根の歯槽窩骨表面の全周に1本の連続的な鉛沈着線が観察された。近心側骨表面では持続的な骨形成状態であるため、EDTA-鉛の1回の投与に伴って骨表面に1本の比較的均等な鉛線が沈着したものと考えられる。一方、遠心側の歯槽骨表面でも凹凸状を呈した1本の鉛沈着線が観察された。この所見は、歯槽骨表面における骨吸収現象では、実際に骨表面で様々な改造状態が存在し、破骨細胞が骨表面に接着してその基質を溶解している部分以外では、鉛やテトラサイクリンなどの沈着が起こり得るものと考えられる。

骨吸収部における鉛沈着線の所見に関しては、過去の鉛<sup>18</sup>、あるいは蛍光性色素<sup>15,16,34-36</sup>を用いた観察結果でも報告されている。市之川<sup>18</sup>は、酢酸鉛を用いたラットの実験的な歯の移動時の組織学的所見の中で、無処置の対照歯の歯根遠心側の鋸歯状の歯槽骨表面に鉛線が一層存在し、特に破骨細胞の見られる小窩では、比較的濃い幅の鉛の沈着が認められたことを報告している。このことに関して市之川<sup>18</sup>は、鉛はリン酸と親和性が高くリン酸鉛の型で存在するので骨吸収部位でも鉛の沈着が起こるのではないかと推測している。またテトラサイクリンを用いた観察でも、ラットの生理的な骨吸収側の歯槽骨面の吸収窩縁や移動後の圧

迫側の歯槽骨面の吸収窩縁に蛍光線が報告されている<sup>34)</sup>。さらに永久歯胚の形成萌出に伴う骨吸収窩面や乳歯歯根吸収面でも蛍光線が観察されている<sup>35)</sup>。蓑輪<sup>35)</sup>は、このような吸収面でのテトラサイクリンの蛍光線について、石灰化の進行が起こっていることを示すものか否かは不明であるが、吸収によって破壊、または、脱灰されつつある無機塩の free な radical とテトラサイクリンが結合した結果であろうと推測している。ラット臼歯周囲の歯槽の骨改造過程を蛍光色素でラベリングして観察した Vignery and Baron<sup>36)</sup>は、蛍光ラベリングは骨改造過程の活性期、休止期、形成期の部位に観察され、吸収期の中で吸収窩の吸収点における部位 (約10%) のみに認められなかったという所見を述べている。これらの報告は、今回の観察で対照群の遠心側歯槽骨面における吸収窩の吸収点と思われる部位に、鉛沈着線が断続的に観察された所見と類似していた。

本実験の歯の移動群では、移動後12時間より圧迫側となった近心側歯槽骨表面の一部で鉛線が未沈着の状態に変化していた。先に述べた骨形成部への鉛の沈着機構より、この部位では骨形成能が消失した明確な証拠であると考えられる。言い換えれば、骨が形成している部位が歯の移動後12時間以降から歯根膜を介した圧迫刺激によって、骨形成能が消失し始め、以後経時的にその範囲が広がっているものと理解できる。

トルイジンブルーによる組織染色で観察した結果と比較すると、対照群の近心側歯槽骨面では広い類骨層上の整然と並んだ骨芽細胞が見られたが、移動後12時間では類骨層が消失し、その骨表面上に骨芽細胞が扁平化した状態で観察され、これらの形態的な骨芽細胞の骨形成能が少なくなったと推察される所見とも一致していた。岡藤<sup>21)</sup>は、本研究と同様な実験モデルを用い、圧迫側の歯槽骨壁を走査電顕で観察し、移動24時間後に歯槽骨壁に浅い吸収窩が形成され始め、その後、次第に拡大していたと報告している。

以上の結果より、今回用いた1回のみでの投与の鉛生体染色法は、実験的歯の移動後の歯槽骨表面における骨形成活性を直接可視化することができ、さらに組織学的な観察結果と対比させることにより、実験的歯の移動に伴う歯槽骨の骨改造現象をより明確に把握する有効な方法であることが

示唆された。

## 結 論

実験的歯の移動後の歯根周囲における歯槽骨骨改造活性の動的な変化を把握する試みとして鉛生体染色法を応用し、以下の結果を得た。

1) 対照群のラットでは、EDTA-鉛の1回の投与によって1本の連続的な鉛沈着線が、上顎第一臼歯遠心側根周囲の歯槽骨表面の全周に観察され、近心側で滑らかな直線状、遠心側では鋸歯状を示していた。

2) 移動群では、近心 (圧迫) 側の一定した骨形成を示していた連続的な鉛沈着線が、移動後12時間以上経過すると歯槽骨表面の一部分で未沈着の状態になり、骨形成活性の消失が認められた。この未沈着部は、その後経時的に範囲が拡大していた。

3) トルイジンブルー染色標本で移動後の経時的な変化を観察すると、対照群では、近心側歯槽骨表面に整然と並んだ骨芽細胞が類骨層上に認められた。歯の移動開始より12時間後では、近心側 (圧迫側) の歯槽骨表面の骨芽細胞が扁平化して類骨層もほとんど観察されず、骨芽細胞の骨形成能が著しく低下したと考えられる状態が観察された。

## 文 献

- 1) Sandstedt C (1905) Einige Beiträge zur Theorie der Zahnregulierung. Nord Tandläk Tidsskr 6 : 1—25
- 2) Macapanpan LC, Weinmann JP and Brodie AG (1954) Early tissue changes following tooth movement in rats. Angle Orthod 24 : 79—95.
- 3) Chao C-F, Shih C, Wang T-M and Lo T-H (1988) Effects of Prostaglandin E<sub>2</sub> on alveolar bone resorption during orthodontic tooth movement. Acta Anat 132 : 304—9.
- 4) 京面何吾 (1994) 歯周組織の加齢変化が実験的な歯の移動に及ぼす影響について。広歯誌 26 : 162—78.
- 5) Baumrind S and Buck DL (1970) Rate changes in cell replication and protein synthesis in the periodontal ligament incident to tooth movement. Am J Orthod 57 : 109—31.
- 6) DeAngelis V (1970) Observations on the response of alveolar bone to orthodontic force. Am J Orthod 58 : 284—94.

- 7) 出口敏雄 (1970) 歯の移動により誘発される細胞増殖について, Tritiated thymidine の取り込み. 日矯歯誌 **29** : 168—72.
- 8) Kvan E (1972) Cellular dynamics on the pressure side of the rat periodontium following experimental tooth movement. *Scand J Dent Res* **80** : 369—83.
- 9) Roberts WE and Jee WSS (1974) Cell kinetics of orthodontically-stimulated and non-stimulated periodontal ligament in the rat. *Archs oral Biol* **19** : 17—21.
- 10) Roberts WE, Chase DC and Jee WSS (1974) Counts of labelled mitoses in the orthodontically-stimulated periodontal ligament in the rat. *Archs oral Biol* **19** : 665—70.
- 11) Yee JA, Kimmel DB and Jee WSS (1976) Periodontal ligament cell kinetics following orthodontic tooth movement. *Cell Tissue Kinet* **9** : 293—302.
- 12) Roberts WE and Chase DC (1981) Kinetics of cell proliferation and migration associated with orthodontically-induced osteogenesis. *J Dent Res* **60** : 174—81.
- 13) Takano-Yamamoto T, Takemura T, Kitamura Y and Nomura S (1994) Site-specific expression of mRNAs for osteonectin, osteocalcin, and osteopontin revealed by in situ hybridization in rat periodontal ligament during physiological tooth movement. *J Histochem Cytochem* **42** : 885—96.
- 14) Lilja E, Lindskog S and Hammarström L (1984) Alkaline phosphatase activity and tetracycline incorporation during initial orthodontic tooth movement in rats. *Acta Odontol Scand* **42** : 1—11.
- 15) 佐藤俊仁 (1986) ラット上顎臼歯の圧下時にみられる歯周組織変化の非脱灰標本による観察 (第1報). 日矯歯誌 **45** : 274—85.
- 16) 土屋俊夫, 妻鹿宏子, 佐藤俊仁, 武内真利, 栗原三郎, 三浦不二夫 (1989) 圧迫側歯根膜にみられる壊死組織の石灰化について. 日矯歯誌 **48** : 614—22.
- 17) King GJ, Keeling SD and Wronski TJ (1991) Histomorphometric study of alveolar bone turnover in orthodontic tooth movement. *Bone* **12** : 401—9.
- 18) 市之川正孝 (1975) 人為的歯牙移動時の組織変化に関する研究, 酢酸鉛時刻描記法による光顕および電顕的観察. 歯科学報 **75** : 1435—72.
- 19) Mohri T, Hanada K and Ozawa H (1991) Coupling of resorption and formation on bone remodeling sequence in orthodontic tooth movement : A histochemical study. *J Bone Miner Metab* **9** : 211—23.
- 20) Ashizawa Y and Sahara N (1998) Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. *Archs oral Biol* **43** : 473—84.
- 21) 岡藤範正 (1995) 実験的歯の移動に伴う歯槽骨の改造過程—走査型電子顕微鏡による観察—. 日矯歯誌 **54** : 296—310.
- 22) 豊城あずさ (1998) 実験的歯の移動に伴う歯根吸収の開始機序に関する組織学的研究. 日矯歯誌 **57** : 213—29.
- 23) 長尾 俊 (1928) 新陳代謝毒黄燐ノ歯牙及ビ其ノ支持組織ニ及ボス影響ノ実験的研究 (一). 口病誌 **2** : 127—82, 付図 : 1—12.
- 24) Sicher H and Weinmann JP (1944) Bone growth and physiologic tooth movement. *Am J Orthod Oral Surg* **30** : 109—32.
- 25) Ashizawa Y, Matsuda Y, Okafuji N, Toyoki A, Nishimoto M, Sahara N, Suzuki K and Deguchi T (1995) Use of a chronological lead-labeling technique for the quantitative study of bone formation in the alveolar wall of the rat molar. *Jpn J Oral Biol* **37** : 306—13.
- 26) 芦澤雄二, 佐原紀行 (1997) 実験的歯の移動時における歯槽骨の骨形成の定量的評価. 日骨形態誌 **7** : 37—46.
- 27) Waldo CM and Rothblatt JM (1954) Histologic response to tooth movement in the laboratory rat, Procedure and preliminary observations. *J Dent Res* **33** : 481—6.
- 28) Okada M and Mimura T (1938) Zur Physiologie und Pharmakologie der Hartgewebe. I. Mitteilung : Eine Vitalfärbungsmethode mit Bleisalzen und ihre Anwendung bei den Untersuchungen über die rhythmische Streifenbildung der harten Zahngewebe. *Jap J Med Sci IV, Pharmacol* **11** : 166—70.
- 29) 麻生田亮 (1960) 硬組織における重金属塩の沈着機構に関する研究. お茶の水医誌 **8** : 510—8.
- 30) 麻生田亮 (1964) 鉛塩における硬組織の生体染色. 栄養生理研究会報 **11**—6.
- 31) Schneider BJ (1968) Lead acetate as a vital marker for the analysis of bone growth. *Am J Phys Anthropol* **29** : 197—200.
- 32) Ozawa H, Yamada M and Yamamoto T (1981) Ultrastructural observations on the location of lead and calcium in the mineralizing dentine of rat incisors. In : *Proceedings of Third International Conference on Matrix Vesicles*. pp. 179—87. Wichtig editore, Milano.

- 33) 岡部知之 (1970) 血中における硬組織沈着型鉛塩の研究. お茶の水医誌 **18**: 175—85.
- 34) 昼間登喜男 (1973) 実験的な歯牙移動後, その力を除去した場合の歯周組織の変化について. 歯学 **60**: 636—67.
- 35) 袁輪 肇 (1970) 歯牙交換に際して現われる組織変化の組織化学的研究. 歯学 **58**: 321—51.
- 36) Vignery A and Baron R (1980) Dynamic histomorphometry of alveolar bone remodeling in the adult rat. *Anat Rec* **196**: 191—200.