



Title	萌出期のラット歯胚におけるdental follicleが破骨細胞の形成に及ぼす影響
Author(s)	黒田, 晋吾
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3169314">https://doi.org/10.11501/3169314</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

学位論文

萌出期のラット歯胚における dental follicle が破骨細胞の形成に及ぼす影響

2000年1月

大阪大学大学院歯学研究科 歯学臨床系専攻  
(歯科矯正学)

黒田 晋吾

## 緒言

歯科矯正臨床においては、歯の埋伏や萌出方向の異常など、萌出障害を伴う症例を取り扱うことが多い。埋伏歯や萌出障害の原因として、歯胚の位置異常や歯槽骨の代謝異常等が考えられるが、未だ明らかではない (Moyers, 1988)。また、埋伏歯の治療において、萌出期の歯胚が周囲組織に及ぼす影響を知ることが、臨床的にも有意義であると考えられる。

歯の萌出には、歯胚周囲の歯槽骨吸収が必要である。骨吸収では破骨細胞が主な役割を果たしており、萌出中の歯胚周囲に、多数の破骨細胞の出現が観察される (Marks et al., 1983, Wise et al., 1985)。一方、dental follicle (DF) は歯胚を取り囲む、疎な結合組織であるが (Ten Cate, 1980)、歯胚から DF を除去すると、破骨細胞による歯槽骨吸収が起こらず、歯の萌出が阻害される (Cahill and Marks, 1980)。これらのことから、DF が歯胚周囲での破骨細胞の出現に、何らかの影響を与えていると考えられる。

破骨細胞の形成と機能には、いくつかの全身的または局所的な因子の関与が認められている。Colony-stimulating factor-1 (CSF-1) は、破骨細胞が前駆細胞から成熟細胞へ分化するために、不可欠な因子であることが報告されている (Tanaka et al., 1993)。また、CSF-1 分泌能が欠損した *op/op* マウスでは、破骨

細胞が減少または出現しないため、正常な骨吸収が行われず歯が埋伏するが、CSF-1 を腹腔内投与すると、多数の破骨細胞が骨中に出現し、歯が萌出する (Cielinski et al.,1994; Kodama et al., 1991)。このことから破骨細胞の制御に、CSF-1 が深く関わっていることが推測される。

CSF-1 および CSF-1mRNA の発現が、dental follicle 細胞に認められる (Wise and Zhao, 1995) ことから、萌出期の歯胚周囲では DF が CSF-1 をはじめとする破骨細胞の形成を促す因子を分泌している可能性が考えられる。しかし、歯の萌出時に DF や CSF-1 が、歯胚周囲の破骨細胞の形成と分化に果たす役割は、未だ不明な点が多い。

本研究の目的は、ラットの DF 培養細胞から採取した conditioned medium (CM) による破骨細胞の分化誘導能を調べ、ラット歯胚の周囲組織における CSF-1 受容体の発現様相を検討することにより、歯の萌出時における歯胚周囲での破骨細胞の形成に、DF が及ぼす影響を明らかにすることである。

## 方法と材料

### 実験 1.

生後 6-7 日の Harlan Sprague-Dawley 系のラット (日本クレア, 大阪) から下顎骨を摘出し、実体顕微鏡 (Stemi2000, Zeiss, Germany) 下で、下顎第一臼歯

歯胚を摘出した。Hanks' Balanced Saline（日水製薬，東京）中でDFを分離し，得られたDFを1%及び0.25%のトリプシン/EDTAでそれぞれ10分間処理した。分離したDF細胞を $2 \times 10^4$ cell/wellの割合で，6穴プレート（Corning, NY, USA）に播種し，15%のウシ胎児血清（FCS）（GIBCO BRL, ML, USA）を含むEagle's minimum essential medium（MEM）（日水製薬，東京）で14日間培養した。継代後の培養細胞から採取したCMを3000rpmで10分間遠心し， $-30^\circ\text{C}$ で凍結保存した。

6-8週齢の雄性ICRマウス（日本クレア，大阪）から大腿骨および脛骨を摘出し，骨髓腔に $4^\circ\text{C}$ の10%FCSを含む $\alpha$ -MEM（Sigma, MO, USA）を注入し，骨髓細胞を採取した。得られた骨髓細胞を洗浄し，24穴プレート（Corning, NY, USA）に $1.5 \times 10^6$ cell/mlの割合で播種した。10nMの $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および5%FCSを含む $\alpha$ -MEM（Sigma, MO, USA）に，5%，12.5%，25%および50%の各濃度のCMを添加し，3日ごとに培地交換を行った。培養は5%の二酸化炭素中， $37^\circ\text{C}$ ，加湿下で行った。

培養1週間または2週間後に，細胞を10%中性ホルマリンで固定した。破骨細胞のマーカーとして酒石酸抵抗性フォスファターゼ（TRAP）染色した。TRAP染色は，WijngaertとBurgerの方法（1986）に準じた。AS-BIリン酸ナトリウム塩（Sigma, MO, USA）とN,N-ジメチルホルムアミド（和光純薬，大阪）に，

6 窒素化パラローズアニリン (Aldrich, WIS, USA) を加えて、基質とした。これに、0.02 mol/L の L-(+)-酒石酸を含む 4% 亜硝酸と 0.2 mol/L の酢酸緩衝液を加え、pH 5.0 に調整した。固定した培養細胞を、この溶液で室温にて 20 分間反応させた。多核で大型の TRAP 陽性細胞を、倒立顕微鏡下で計測し、1 ウェルあたりの数で表した。

## 実験 2.

生後 0, 3, 7, 12 日の Harlan Sprague-Dawley 系のラットを用いた。ラットをエーテル麻酔し、0.1M, pH 7.4 のリン酸緩衝液 (PBS) で灌流後、0.1M カコジル酸緩衝パラホルムアルデヒド (和光純薬, 大阪) で灌流固定し、下顎骨を摘出した。

24 時間の浸漬固定後、pH 6.3 の 10% EDTA (和光純薬, 大阪) を用い、4°C 下で 14 から 28 日間脱灰した。アルコール脱水後、パラフィン包埋し、7  $\mu$ m の矢状断薄切標本を作成した。標本は 0.01% のポリ-L-リジン (Sigma, MO, USA) で表面処理したスライドグラスに貼付した。

一部のラットに生後 0 日から 3 日まで、腹腔内に 1 日 1 回、1.7  $\mu$ g のリコンビナントマウス IL-1 $\alpha$  (Genzyme, Kenbridge) または 1.25 IU のサケカルシトニン (山之内製薬, 東京) を腹腔内投与した。対照群には 1.0ml の生理食塩水を投

与した。3日目にラットを灌流固定し、同様に矢状断薄切標本を作成した。

標本を脱パラフィンした後に PBS で洗浄し、0.02%の過酸化水素水を加えた PBS を用い、室温で 10 分間反応させ、内因性の脱水素酵素活性を低下させた。PBS で洗浄した後、標本をウシ血清アルブミン (Dako LSAB kit, Dako A/S, Glostrup, Denmark) と、室温で 10 分間反応させ、非特異性のバックグラウンドを減少させた。

さらに標本を抗 c-Fms/CSF-1R 一次抗体 (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) を 1:1000 に希釈し、0.1% Triton X-100 (Sigma, MO, USA) を含む PBS と、室温で 24 時間反応させた。さらに標本をビオチン標識抗ウサギイムノグロブリン・ヤギ抗体 (Dako LSAB kit, Dako A/S, Glostrup, Denmark) を 1:10 に希釈した 0.05M トリス塩酸緩衝液 (TBS) で、10 分間反応させた。次に、標本をペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン (Dako LSAB kit, Dako A/S, Glostrup, Denmark) に、室温で 10 分間反応させた。その後、ニッケルアンモニウム硫酸塩 (和光純薬, 大阪) と 0.04%ジアミノベンジルテトラヒドロクロライド (和光純薬, 大阪) を加えた TBS に、0.003%過酸化水素水を添加した溶液で、10 分間増感させた。これらの標本を 0.5%メチルグリーン (和光純薬, 大阪) で対比染色し、光学顕微鏡下で観察した。

TRAP 染色は 37°C で、60 分間行った。TRAP 染色には、c-Fms に対する免疫

染色を行った標本と隣接する，連続した標本を用いた。

C-Fms 陽性および TRAP 陽性多核細胞数を，光学顕微鏡下で計測した。下顎第一臼歯の DF に接し，3 個以上の核を持つ細胞を多核細胞とした。また DF 周長を，ソフトウェア (NIH Image, National Institutes of Health, USA) を用いて計測し，陽性細胞数を DF の単位長さ (mm) あたりの数で表した。

### 統計処理

計測した TRAP および c-Fms 陽性細胞の各群の値が，正規分布に従うか否かを， $\chi^2$  検定により検定した。次に Bartlett 検定により，各群の分散が均一であることを確認し，一元配置分散分析法 (ANOVA) を用いて，群間の有意差を検定した。ANOVA は，統計解析用ソフトウェア (Stat View IV, Abacus Concepts, Inc., Berkeley, USA) を用いて，有意水準 0.05 にて行った。

## 結果

### 実験 1.

骨髄細胞に 10nM の  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  を添加して，培養したところ，7 日目に TRAP 陽性多核細胞の形成，分化が観察された。しかし，培養 14 日目になると TRAP 陽性細胞は退化あるいは消失していた。これに対し，CM を添加すると，14 日

目においても多数の TRAP 陽性多核細胞が観察された (図 1)。

14 日目に観察された TRAP 陽性の多核細胞数は、対照群において 6.4 個/well であるのに対し、25%CM で  $32.2 \pm 7.8$  個/well、50%CM で  $83.6 \pm 11.6$  個/well と CM 濃度依存性を示して、有意に増加した (図 2)。

[図 1, 2 挿入]

## 実験 2.

多数の TRAP 陽性を示す多核巨細胞と単核細胞が、ラット下顎第一臼歯の周囲に観察された (図 3a)。TRAP 陽性の多核細胞は、DF に接した歯槽骨の小窩に観察され、活発な骨吸収像を示していた。一方、強い c-Fms/CSF-1R の発現も、歯胚周囲の多核細胞に認められた (図 3b)。連続切片の対比より、c-Fms 陽性の多核細胞は TRAP 染色にも陽性であることが示された (図 3a, 3b)。

[図 3 挿入]

C-Fms/CSF-1R は、多核細胞の細胞膜、特に歯槽骨に接する部位に強く発現した (図 4)。しかし、多核細胞の細胞質や核に、c-Fms/CSF-1R の発現は認めなかった。TRAP 陽性の単核細胞も、c-Fms/CSF-1R 抗体に陰性であった。また、星状網、エナメル、歯槽骨や DF を含む他の歯胚周囲の組織は、TRAP 染色および c-Fms/CSF-1R に対する免疫染色のいずれに対しても陰性であった。

## [図 4 挿入]

TRAP 陽性の多核細胞数を計測したところ、生後 3 日で 13.5 個/mm と、最も多く観察され、その後は有意に減少し、生後 12 日では 4.6 個/mm であった (図 5a, 6)。DF 周囲の多核細胞における c-Fms/CSF-1R の発現も、生後 0 日で 8.0 個/mm であるのに対して、生後 3 日で 10.3 個/mm と最大となり、生後 12 日では 2.5 個/mm と有意に減少していた (図 5b, 6)。以上より、DF 周囲における c-Fms/CSF-1R 陽性細胞と TRAP 陽性細胞の発現は、ともに生後 3 日に最も多く観察され、その後減少することが明らかとなった (図 6)。

## [図 5, 6 挿入]

1.7  $\mu$ g の IL-1  $\alpha$  を腹腔内に投与すると、対照群と比較して、TRAP 陽性細胞の数が有意に増加した (図 7a, 8)。C-Fms/CSF-1R 陽性細胞も 11.0 個/mm と、対照群の 8.1 個/mm に比べ、有意に増加した (図 7b, 8)。一方、1.25IU のカルシトニンを腹腔内に投与すると、DF 周囲における TRAP 陽性多核細胞と c-Fms/CSF-1R 陽性細胞の発現が有意に減少した (図 8)。また、TRAP 陽性の多核細胞は対照群と比較し、小さく丸みを帯び、核の数が減少していた。しかし、c-Fms/CSF-1R の発現部位は、対照群と同様であった (図 7a, 7b)。

## [図 7, 8 挿入]

## 考察

本研究により、ラット DF 培養細胞から採取した CM を添加して培養すると、TRAP 陽性多核細胞の形成、分化が促進されることが明らかとなった。また TRAP 陽性細胞数が、対照群で 6.4 個/well であるのに対し、25%CM で  $32.2 \pm 7.8$  個/well, 50%CM で  $83.6 \pm 11.6$  個/well と CM 濃度依存性を示して増加した。このことから、DF の CM が破骨細胞の形成、分化に影響を及ぼしていると考えられる。破骨細胞の形成と分化には、CSF-1 と Osteoclast Differentiation Factor (ODF) が必須であることが知られている (Suda et al., 1995)。ODF は破骨細胞の前駆細胞から多核細胞への分化と融合、及び破骨細胞の活性化に不可欠な因子で、CSF-1 と相互に作用することが報告されている (Takahashi et al., 1999)。CSF-1 は破骨細胞の前駆細胞の増殖と多核細胞への分化、融合に不可欠であり (Tanaka et al., 1993), DF 細胞においても、CSF-1 及び CSF-1 mRNA の発現が認められている (Wise and Zhao, 1995)。このことから、DF 細胞培養系より採取した CM に、CSF-1 が含まれていると考えられる。

CSF-1 の受容体は、プロトオンコジーンの *c-fms* にコードされる蛋白で (Sherr et al., 1985), 単核細胞の細胞表層に存在する (Rettenmier et al., 1985)。歯胚周囲では、これまで CSF-1 receptor が DF 細胞に存在すると考えられてきた (Wise et

al.,1997)。しかし本研究では、DF 周囲の歯槽骨表面に観察される TRAP 陽性多核細胞が、CSF-1 受容体蛋白に対する c-Fms/CSF-1R 抗体に陽性であり、DF を含むエナメル器は陰性であった。しかも TRAP 陽性多核細胞の細胞膜に認められたことから、c-Fms の発現は CSF-1 receptor の存在を示すものである。In vitro で形成された TRAP 陽性多核細胞に、c-Fms の発現が認められ (Kodama et al.,1991), in vivo においても破骨細胞に c-Fms が発現することが知られている (Weir et al., 1993)。また、分化の最終段階の破骨細胞に、c-Fms mRNA が発現することから (Hofstetter et al., 1992), 歯胚周囲の TRAP 陽性多核細胞が破骨細胞の性質を持つことが考えられる。歯胚周囲での TRAP 陽性細胞の発現は、生後 3 日で最も多く、その後減少することがすでに報告されている (Celinski et al., 1994)。本研究においても、TRAP 染色に陽性を示す c-Fms/CSF-1R 陽性細胞は、生後 3 日において最も多く観察され、その後減少した。一方、ラットの DF 培養細胞における、CSF-1 mRNA のレベルも、生後 3 日目において、最大になることが報告されている (Wise and Zhao, 1995)。したがって、下顎第一臼歯周囲の多核細胞における c-Fms/CSF-1R の発現と、DF 細胞での CSF-1 生成レベルの間に相関があることが推測される

臨床的に乳歯の根尖病巣、歯髄炎などの永久歯胚周囲において炎症性的変化があると、後継永久歯の萌出は早くなると言われている (Moyers, 1988;

Lauterstein et al., 1962)。一方、骨代謝異常を持つ患者では、乳歯・永久歯の萌出が遅延することが報告されている (Younai et al., 1988)。歯の萌出が歯槽骨の吸収・添加を伴うことから、歯胚周囲の破骨細胞の活性とは、密接な関係があると考えられる。炎症性の細胞間伝達物質 (サイトカイン) の一つである IL-1 $\alpha$  は、in vitro において骨吸収を促進し、ヒト骨髄培養細胞において破骨細胞数を増加させる (Pfeilschifter et al., 1989)。逆にカルシトニン $\alpha$  は、破骨細胞の骨吸収活性を低下させることが知られている (Rao et al., 1981; Warshawsky et al., 1980; Suzuki et al., 1996)。これらの因子が歯胚周囲の破骨細胞形成に及ぼす影響を明らかにするため、ラットに IL-1 $\alpha$  およびカルシトニン $\alpha$  を投与した。

ラットに IL-1 $\alpha$  を腹腔内投与すると、DF 周囲の TRAP 陽性細胞と c-Fms 陽性細胞が、いずれも増加した。IL-1 $\alpha$  の受容体が DF 細胞に存在し (Wise and Zhao, 1997), in vitro で IL-1 $\alpha$  が DF 細胞における CSF-1 遺伝子の発現を促進する (Wise and Lin, 1994) ことから、IL-1 $\alpha$  が受容体を通して DF 細胞を直接刺激し、DF 細胞からの CSF-1 分泌を促進する結果、DF 周囲での破骨細胞の増加が起こる、という機序が考えられている (Wise and Lin, 1995)。本研究において、IL-1 $\alpha$  の投与により歯胚周囲の TRAP 陽性細胞が増加し、その多くに c-Fms/CSF-1R の発現が認められたことは、この機序を裏付けるものと考えられる。

一方、骨髄細胞の培養系においてカルシトニン $\alpha$  を添加すると、TRAP 陽性細胞

の形成が阻害される (Scheven et al., 1991)。また、カルシトニン<sup>1</sup>は、破骨細胞の形態に変化を及ぼすことが知られている (Ikegame et al., 1996; Suzuki et al., 1996)。本研究においてもカルシトニンの腹腔内投与により、DF 周囲における TRAP 陽性細胞の減少と、核の減少や細胞の形態的な変化が観察された。しかも、DF 周囲における c-Fms 陽性細胞の発現も減少した。これらのことから、萌出中の歯の周囲に出現する c-Fms 陽性の多核細胞は、TRAP に陽性で IL-1 $\alpha$  やカルシトニンに強く反応する、破骨細胞の特徴を持っていることが明らかとなった。

## 結論

培養 DF 細胞由来の CM は、骨髓細胞から TRAP 陽性多核細胞への分化を促進した。一方、CSF-1 の受容体が、萌出中の歯胚周囲に存在する、TRAP 陽性の多核細胞の細胞膜に、強く発現することが明らかとなった。以上より、DF が破骨細胞の形成、分化に影響を及ぼしていること、特に CSF-1 が、歯胚周囲での破骨細胞の形成に、直接関与している可能性が示唆された。

## 謝辞

稿を終えるにあたり，本研究を行う機会を与えて頂き，かつ終始変わらぬ御指導，御校閲を賜りました大阪大学歯学部歯科矯正学講座 高田健治教授に，謹んで深謝の意を表します。また，研究計画の立案と実験の実施に際し，ご懇切なる御指導，ご教示を賜りました本学歯科矯正学講座 川上正良博士に心より謝意を表しますとともに，本研究に際し終始御理解とご協力を頂きました，大阪大学歯学部歯科矯正学講座各位に，心より御礼申し上げます。本研究の一部は文部省科学研究費（09771830, 10671935）の補助を受けて行われました。

## 文献

Cahill DR, Marks SC Jr (1980). Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. *J Oral Pathol* 9:189-200.

Cielinski MJ, Jolie M, Wise GE, Ando DG, Marks SC Jr (1994). Colony-stimulating factor-1 (CSF-1) is a potent stimulator of tooth eruption in the rat. In: *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption, Resorption and Replacement by Implants*. Davidovitch Z, editor. Birmingham, AL: EBSCO Media, pp.429-436.

Hofstetter W, Wetterwald A, Cecchini MC, Felix R, Fleisch H, Mueller C (1992). Detection of transcripts for the receptor for macrophage colony-stimulating factor, c-fms, in murine osteoclasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 9637-9641.

Ikegame M, Rakopoulos M, Martin TJ, Moseley JM, Findlay DM (1996). Effects of continuous calcitonin treatment on osteoclast-like cell development and calcitonin receptor expression in mouse bone marrow cultures. *J Bone Miner Res* 11:456-465.

Kodama H, Nose M, Niida S, Yamasaki A (1991). Essential role of macrophage colony-stimulating factor in the osteoclast differentiation supported by stromal cells. *J Exp Med* 173:1291-1294.

Kodama H, Yamasaki A, Nose M, Niida S, Ohgame Y, Abe M, Kumegawa M, Suda T (1991). Congenital osteoclast deficiency in osteopetrotic (op/op) mice is cured by injections of macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 173:269-272.

Lauterstein AM, Pruzansky S, Barber TK (1962). Effect of deciduous mandibular molar pulpotomy on the eruption of succedaneous premolar. *J Dent Res* 41:1367-1372.

Marks SC Jr, Cahill DR, Wise GE (1983). The cytology of the dental follicle and adjacent alveolar bone during tooth eruption in the dog. *Am J Anat* 168:277-289.

Moyers RE (1988). Early treatment. In: Handbook of orthodontics. Moyers RE, editor. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc, pp. 343-431.

Moyers RE (1988). Development of the dentition and the occlusion . In: Handbook of orthodontics. Moyers RE, editor. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc, pp. 99-144.

Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD (1989). Interleukin-1 and Tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclast cells in vitro. *J Bone Mineral Res* 4:113-118.

Rao LG, Heersche JNM, Marchuk LL, Sturtridge W (1981). Immunohistochemical demonstration of calcitonin binding to specific cell types in fixed rat bone tissue. *Endocrinology* 108:1972-1978.

Rettenmier CW, Sacca R, Furman WL, Roussel MF, Holt JT, Nienhuis AW, Stanley ER, Sherr CJ (1986). Expression of the human c-fms proto-oncogene product (Colony-stimulating factor-1 receptor) on peripheral blood mononuclear cells and choriocarcinoma cell lines. *J Clin Invest* 77: 1740-1746.

Scheven BA, Hamilton NJ, Duncan A, Robins SP (1991). Osteoclast growth factor activity in medium conditioned by fetal rat bones. *J Bone Miner Res* 14:221-235.

Sherr CJ, Rettenmier CW, Sacca R, Roussel MF, Look AT, Stanley ER (1985). The c-fms proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor, CSF-1. *Cell* 41: 665-676.

Suda T, Udagwa N, Nakamura I, Miyaura C, Takahashi T (1995). Modulation of osteoclast differentiation by local factors. *Bone* 17: 87S-91S.

Suzuki H, Nakamura I, Takahashi N, Ikuhara T, Matsuzaki K, Isogai Y, Hori M, Suda T (1996). Calcitonin-induced changes in cytoskeleton are mediated by a signal pathway associated with protein kinase A in osteoclasts. *Endocrinology* 137:4685-4690.

Takahashi N, Udagwa N, Suda T (1999). A new member of tumor necrosis factor ligand family, ODF/OPGL/TRANCE/RANKL, regulates osteoclast differentiation and function. *Biochem Biophys Res Commun* 256:449-455.

Tanaka S, Takahashi N, Udagawa N, Tamura T, Akatsu T, Stanley ER, Kurokawa T, Suda T (1993). Macrophage colony-stimulating factor is indispensable for both proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J Clin Invest* 91: 257-263.

Ten Cate AR (1980). Development of the tooth and its supporting tissues. In Oral histology Development, Structure and Function edited. Ten Cate AR, editor. St.Louis: C.V.Mosby, pp.60-84.

Warshawshy H, Golzman D, Rouleau MF, Bergeron JJM (1980). Direct in vivo demonstration by radioautography of specific binding sites for calcitonin in skeletal and renal tissues of the rat. *J Cell Biol* 85:682-694.

Weir EC, Horowitz MC, Baron R, Centrella M, Kacinski BM, Insogna KL (1993). Macrophage colony-stimulating factor release and receptor expression in bone cells. *J Bone Miner Res* 8:1507-1518.

Wijngaert FP, Burger EH (1986). Demonstration of tartrate-resistant acid phosphatase in un-decalcified, glycomethacrylate-embedded mouse bone: A possible marker for (pre) osteoclast identification. *J Histochem Cytochem* 34:1317-1323.

Wise GE, Lin F (1994). Regulation and localization of colony-stimulating factor-1 mRNA in cultured rat dental follicle cells. *Arch Oral Biol* 39:621-627.

Wise GE, Lin F (1995). The molecular biology of initiation of tooth eruption. *J Dent Res* 74:303-306.

Wise GE, Lin F, Zhao L (1995). Transcription and translation of CSF-1 in the dental follicle. *J Dent Res* 74:1551-1557.

Wise GE, Marks SC Jr, Cahill DR (1985). Ultrastructural features of the dental follicle associated with formation of the tooth eruption pathway in the dog. *J Oral Pathol* 14:15-26.

Wise GE, Zhao L (1997). Immunostaining and transcriptional enhancement of Interleukin-1 receptor type I in the rat dental follicle. *Arch Oral Biol* 42:339-344.

Wise GE, Zhao L, Grier IV RL (1997). Localization and expression of CSF-1 receptor in rat dental follicle cells. *J Dent Res* 76:1244-1249.

Younai F, Eisenbud L, Sciubba JJ (1988). Osteopetrosis: a case report including gross and microscopic findings in the mandible at autopsy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 65:214-221.

## 図の説明

図 1 : 培養 14 日目における TRAP 陽性多核細胞の形成

(a) : 対照群, (b) : 50% Conditioned medium 添加, バーは  $20 \mu\text{m}$  を示す。

図 2 : CM が TRAP 陽性多核細胞の形成に及ぼす影響

\*は,  $P < 0.05$  を示す。

図 3 : 生後 0 日のラットの dental follicle 周囲組織における TRAP 陽性細胞  
及び c-Fms 陽性細胞の分布

(a) : TRAP 染色, (b) : c-Fms に対する免疫染色, バーは  $50 \mu\text{m}$  を示す。矢印は  
陽性多核細胞を示す。

図 4 : 歯胚周囲組織における c-Fms の分布

dental follicle (DF), 歯槽骨 (AB), 星状網 (SR), エナメル質 (E), バーは  $20 \mu\text{m}$  を示す。

図 5 : 生後 0, 3, 12 日のラット **dental follicle** 周囲組織における TRAP 陽性細胞および **c-Fms** 陽性細胞の分布

(a) : TRAP 染色, (b) : **c-Fms** に対する免疫染色, バーは  $50\mu\text{m}$  を示す。

図 6 : ラットの第一臼歯周囲における TRAP 陽性細胞および **c-Fms** 陽性細胞分布の経時的変化

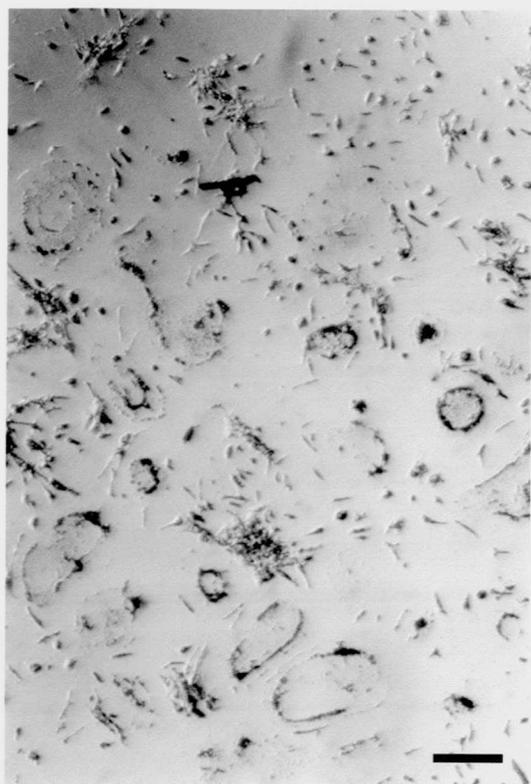
\*は,  $P < 0.05$  を示す。

図 7 : **IL-1 $\alpha$**  またはカルシトニンを投与した 3 日目のラット歯胚周囲組織 :  
TRAP 陽性細胞および **c-Fms** 陽性細胞の分布

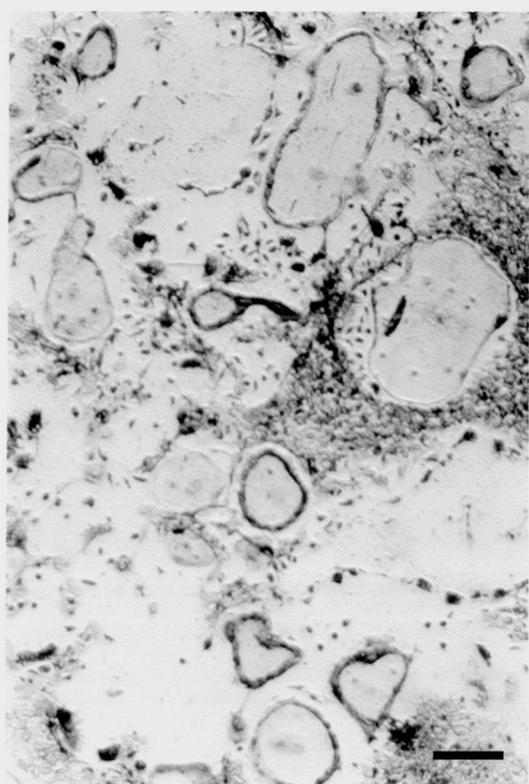
dental follicle (DF), 歯槽骨 (AB), 星状網 (SR), バーは  $50\mu\text{m}$  を示す。

図 8 : **IL-1 $\alpha$**  またはカルシトニンの投与が **dental follicle** 周囲における **c-Fms** 及び TRAP 陽性細胞分布に及ぼす影響

\*は,  $P < 0.05$  を示す。



(a)



(b)

图 1

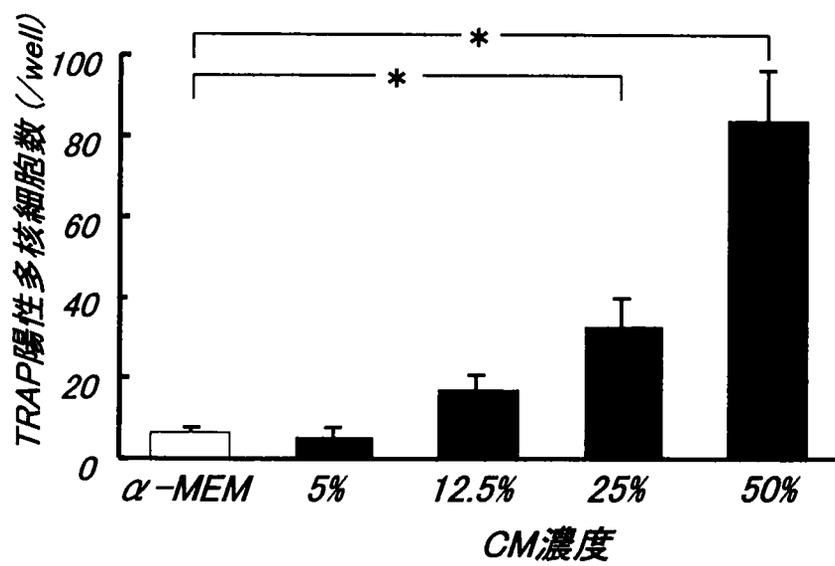
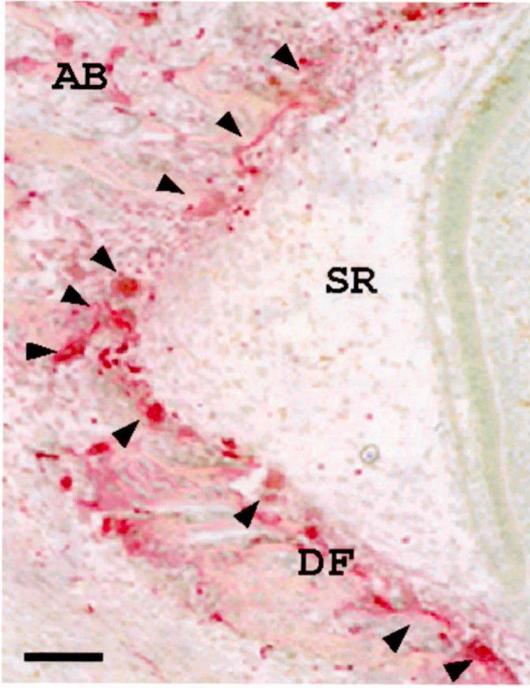
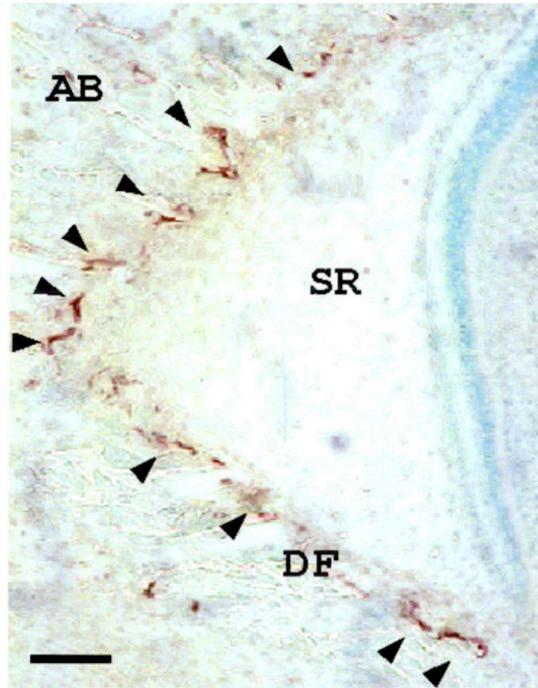


図 2



(a)



(b)

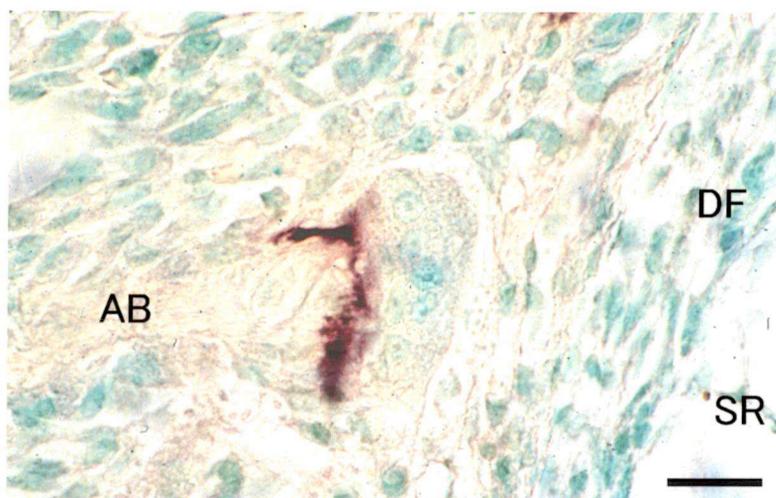
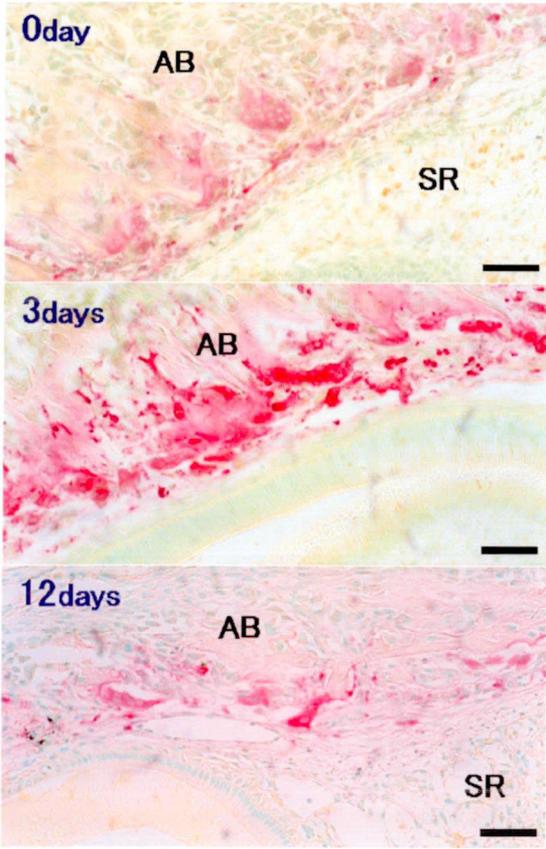
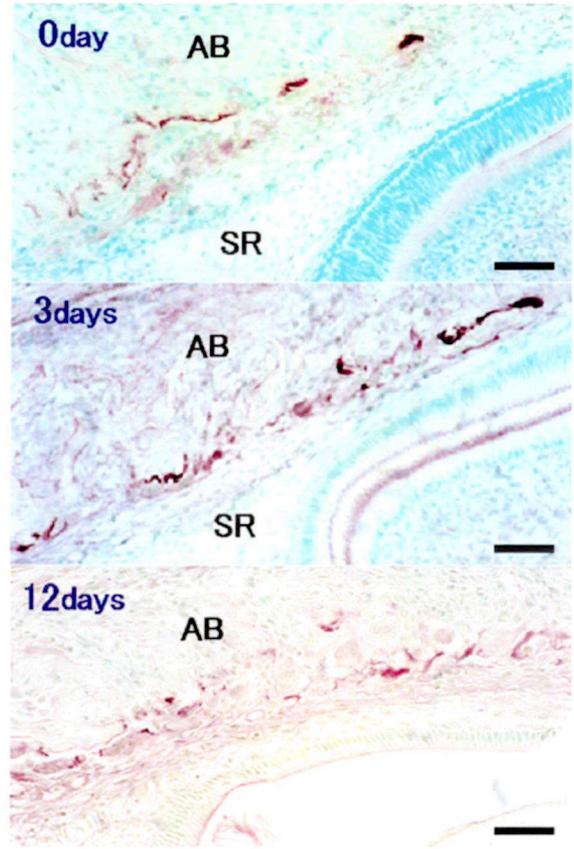


图 4



(a)



(b)

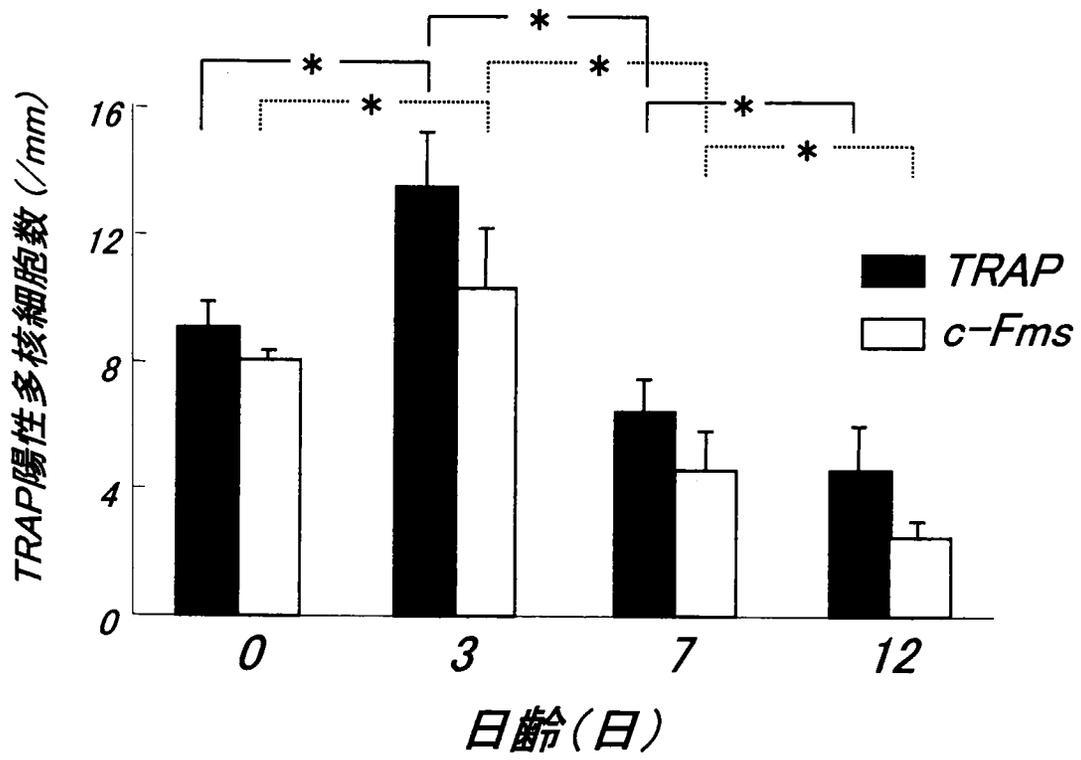
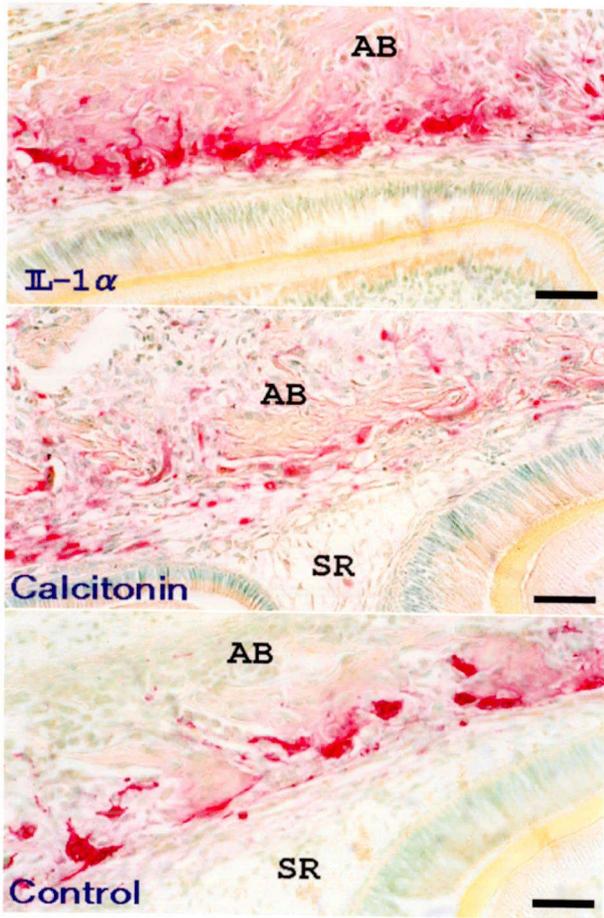
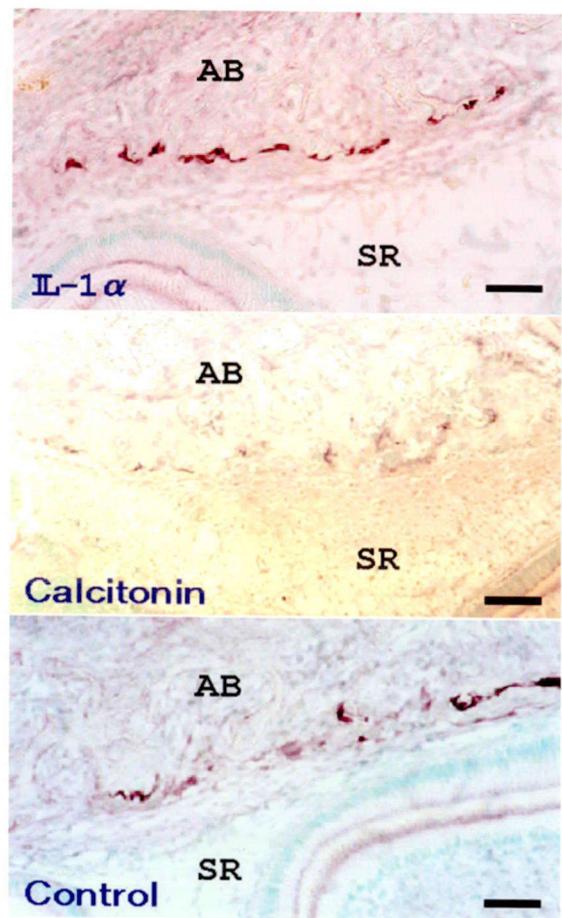


図 6



(a)



(b)

图 7

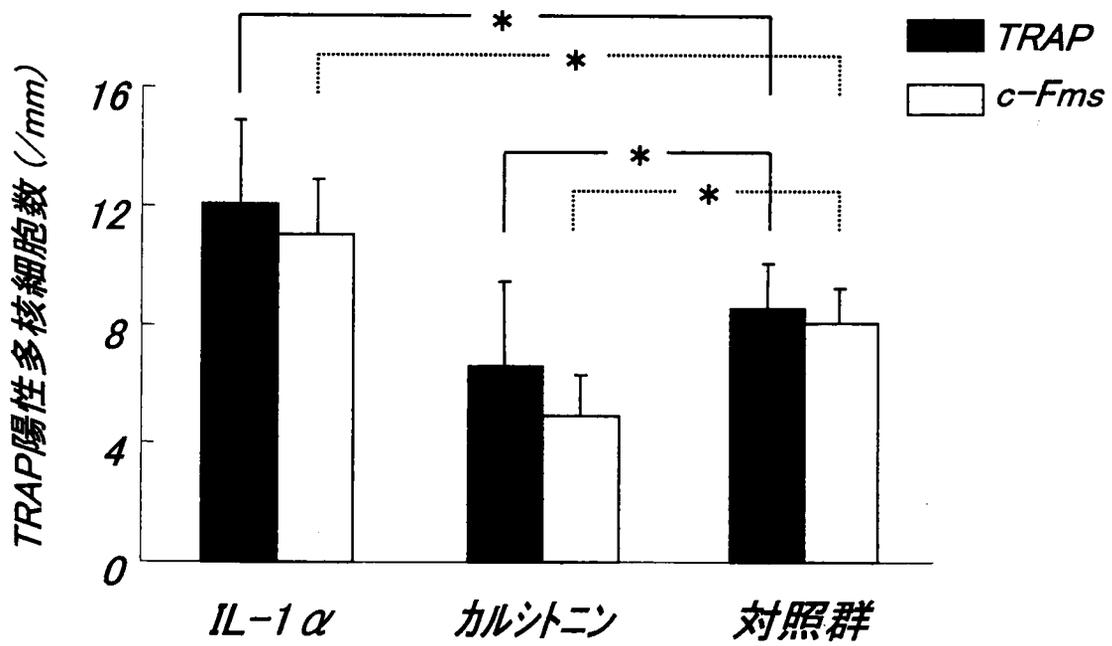


図 8