

脱落乳歯吸収面の微細構造観察のための一法

吉 田 寿 穂¹⁾ 神 吉 秀 典²⁾ 鈴 木 礼 子¹⁾
明 坂 年 隆¹⁾

SEM Observations of Resorption Lacunae Formed by Odontoclasts in Human Deciduous Teeth Using the NaOH Method

YOSHIDA HISAHO¹⁾, KANKI HIDENORI²⁾, SUZUKI REIKO¹⁾
and AKISAKA TOSHITAKA¹⁾

生理的吸収を受けた乳歯の吸収面を走査型電子顕微鏡を用いて観察した。試料作製の過程で用いた水酸化ナトリウム浸軟法を種々検討し、吸収面を被う結合組織を適度に除去して破歯細胞と吸収歯面を選択的に剖出することができた。

吸収歯面には種々の大きさや形態を示すハウシッパ窩が観察され、その吸収窩には吸収の主役を担う破歯細胞を認めた。破歯細胞の大きさには長径が30 μ m以上の大型と10 μ m前後の小型円形のものとの観察し、細胞の辺縁には糸状偽足や背側の膜表面には多数の微突起を認め、それ以外の細胞とは容易に区別することができた。

セメント質の吸収窩では窩壁に吸収によって切断されたシャープピー線維とセメント質の固有線維が露出して観察された。細胞セメント質では基質の吸収によってセメント小腔やセメント細管の一部が吸収窩の壁面に開口していた。

象牙質の吸収窩では露出された基質線維が疎造な叢状を現し、破歯細胞が形成した吸収窩の形態からその移動方向が確認できた。象牙細管と管間象牙質との境界が明瞭で、吸収されやすい管間象牙質と、され難い管周象牙質が容易に識別できた。歯頸部エナメル質まで吸収が及んだ場合には、エナメル小柱の有機質が多い小柱鞘が選択的に吸収を受けて消失し、深い溝として小柱鞘の輪郭を示していた。

キーワード：乳歯，破歯細胞，浸軟法，走査型電子顕微鏡

To obtain further information on odontoclasts and their associated resorption pit, we applied the NaOH maceration method to physiological resorption in human deciduous teeth. After maceration, odontoclasts were associated with the areas of resorption lacunae on the tooth surface, such as enamel, dentin and/or cementum. Odontoclasts adjacent to a resorption pit showed variable sizes and shapes. They were clearly distinguishable from other types of cells by their large size, distinctive morphology and prominent microvilli. Odontoclasts adjacent to a shallow resorption pit showed resorption activity during migration. Resorption pits exhibited a well-defined outline and characteristic features for each matrix. In the resorption surface of enamel, various typical prismatic patterns were observed. In the dentin, exposed inter- and peritubular dentine became evident in the resorption pit. In the cementum, a bundle of Sharpey's fibers in a random orientation were distinguishable. Not only a more characteristic cellular morphology but also the resorption surface of teeth were revealed by the NaOH methods. The present study provided additional evidence of odontoclasts, as well as the value of the NaOH method for examining the resorption surface of deciduous teeth.

Key words : Deciduous teeth, Odontoclast, Maceration method, Scanning electron microscopy

¹⁾朝日大学歯学部口腔構造機能発育学講座口腔解剖学分野

²⁾朝日大学歯学部学生

501-0296 岐阜県瑞穂市穂積1851

¹⁾Department of Oral Anatomy, Division of Oral Structure, Function

and Development and ²⁾Undergraduate Student
Asahi University School of Dentistry
Hozumi 1851, Mizuho, Gifu 501-0296, Japan

はじめに

第一生歯である乳歯はその代生歯の萌出運動によって歯根が吸収され、生理的に脱落していく。歯根吸収は歯根の根尖部から歯頸部に向かって進行し歯冠部まで進行するが、組織学的には破骨細胞と同じ起源をもつ破歯細胞によって行われる。この細胞はセメント質、象牙質および時にはエナメル質まで吸収が及ぶ多核の大型細胞で、偽足様突起や微突起をもち形態学的に特異な構造を示す¹⁻³⁾。

このような吸収表面をそのまま走査型電子顕微鏡(SEM)で観察すると、結合組織が吸収面を覆い目的とする破歯細胞と吸収面を観察することができない。いかに細胞や基質を取除き目的とする破歯細胞だけを残して吸収歯面を割出するのか、方法論的に問題となる。1970年代後半から細胞表面のみならず細胞内部の観察法が考案され1990年代にはそれらの試料作製技法は広く応用されてきた⁴⁻⁶⁾。結合組織除去法の中で膠原線維を主体とする結合組織の線維成分をアルカリで消化する水酸化ナトリウム浸軟法は処理温度を一定に保てば、短時間の浸軟処理で実質器官の割出が可能であり、再現性のよい試料を作製することが可能である⁷⁾。

今回、生理的脱落時期にある乳歯を観察材料とし、水酸化ナトリウム浸軟処理を用いて破歯細胞と吸収表面を選択的に割出することで、SEMによって進行している吸収面の微細構造観察を行った。

材料と方法

朝日大学病院小児歯科外来にて本人と保護者の承諾の下に採取した生理的脱落期の乳歯を観察材料とした。乳歯は抜去後ただちに自由表面を生理食塩水で洗浄した後、2.5%グルタルアルデヒド固定液(0.1M Sorensenリン酸緩衝液, pH7.3)で室温、5日間振盪器を用いて浸漬固定した。同リン酸緩衝液(pH7.3)で洗浄後、水酸化ナトリウム浸軟法による観察面の割出を行った。

水酸化ナトリウム浸軟法は試料を6NのNaOH水溶液で60℃、10~15分間浸漬処理した。15分間浸漬では微細線維はそのほとんどが除去され吸収面を覆う細胞群の観察は可能となるが、吸収面を広く観察できなかった。細胞と吸収窩が同時に観察可能とするためにNaOH水溶液中で緩やかな水流を作り試料面を15分間洗浄した。その後0.1Mリン酸緩衝液(pH7.3)で十分に洗浄され、1%オスミウム酸(0.1Mリン酸緩衝液, pH7.4)による後固定を2時間行った。後固定した試料は上昇アルコール系列による脱水、酢酸イソamil置換後に、臨界点乾燥(臨界点乾燥装置HCP-2, 日立製作所)を行った。

乾燥した試料はカーボン両面テープを貼り付けた試料台に載せ、ホローカソードプラズマCVDオスミウムコーター(HPC-1S形, 真空デバイス)で試料の帯電防止処理を施し、走査型電子顕微鏡(S-4000形, 日立製作所)にて観察した。

一部の試料は光学顕微鏡観察のため10%フォルマリン固定後、脱灰し、上昇アルコール脱水、アルコール・エーテル混合液置換後、セロイジン包埋、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色(H・E染色)を行った。

結 果

代生歯の萌出にともない乳歯の歯根は吸収されるが、乳前歯と乳臼歯では吸収の進行に差があることが知られている。吸収は乳前歯では歯根尖舌側から、乳臼歯は歯根分岐の内側から始まり、その広がり歯頸側へ向かって進行していた。乳前歯は歯根歯頸1/3を残して、乳臼歯では多くが歯冠歯頸まで吸収が及んで脱落すると考えられる(図1)。

生理的脱落期の抜去乳歯の脱灰H・E染色標本では歯根部が吸収で消失し、その境界は不規則な波状を現した(図2a)。未吸収領域ではセメント質、セメント芽細胞、歯根膜が、歯髄では象牙前質、象牙芽細胞、歯髄細胞などが観察された。吸収領域を拡大し観察するとエオジン好性の多核破歯細胞が象牙質を吸収し吸収

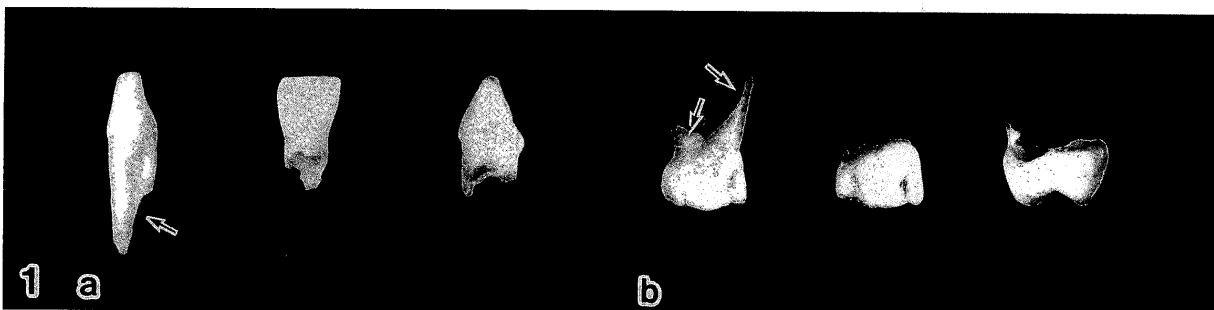


図1 歯根が吸収され脱落する乳歯。a: 乳切歯, b: 乳臼歯。乳切歯では歯根歯頸1/3を残して脱落するが、乳臼歯は歯冠歯頸まで吸収が及ぶ。矢印は吸収面を示す。

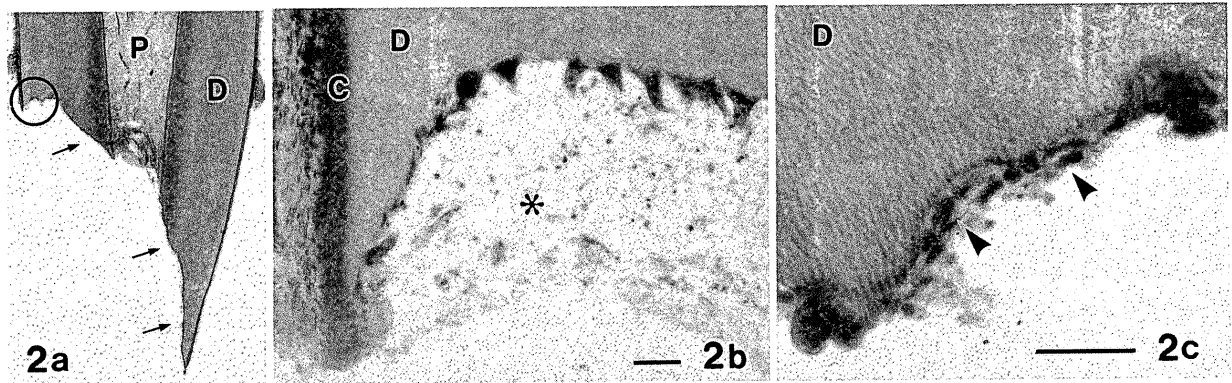


図2a 歯根が吸収されている乳切歯の脱灰H・E染色像。

2b 2a内での拡大像。吸収面の多核巨細胞は破歯細胞。厚く炎症性の浮腫(*)が吸収面を覆っている。

2c 吸収面の細胞。多核巨細胞とともに吸収窩に小型の単核細胞(矢頭)が観察される。

C:セメント質, D:象牙質, P:歯髄, 矢印は吸収面。スケールは50 μ m。

窩を形成していた(図2b)。一方、吸収窩には破歯細胞以外に、単核の細胞が数個並んで観察された(図2c)。また吸収窩によっては吸収面を炎症性浮腫が薄く、場所によっては200 μ m以上と厚く覆っていた(図2b)。SEM観察では疎性結合組織が吸収面の直接観察を困難にしている。

この研究では試料作製に水酸化ナトリウム浸軟処理法を用い吸収面を覆う疎性結合組織成分を除去した。未処理では微細線維が表面を覆い、細胞や吸収面を直接に観察できなかった(図3a)。60 $^{\circ}$ C10分処理で微細線維の大部分が除去され(図3b)、15分処理では吸収面に接して散在する細胞群と吸収面の一部が観察できた(図3c)。さらに浸軟15分間水流処理は破歯細胞と吸収窩が最もよく観察される条件であった(図3d)。しかし、強い水流では吸収面の破骨細胞を含むほとんどの細胞が除去され吸収窩のみが割出される結果となった(図3e)。

1. セメント質の吸収面

SEMの低倍率観察では幾重にも連なるようにハウシップ窩が吸収面を形成し、吸収窩が波状に広がる様子が観察された(図4a, b)。吸収窩にセメント小腔やセメント細管の一部が観察され、細胞セメント質か無細胞セメント質かの判定が可能であった(図4c, d)。また窩面には歯根膜線維束が埋入したシャーピー線維やその吸収断面とこれに直交するセメント質固有線維が観察できた(図4d)。セメント象牙境は両者の基質線維の配列の違いと象牙細管の有無で判定が容易であった。

2. 象牙質の吸収面

吸収面の広い範囲を占める象牙質では浸軟15分間水

流処理によって細胞以外の多くの基質成分が除去され吸収窩に開口した象牙細管を観察することができた。割出された吸収面には吸収窩に一致して破歯細胞を観察するが、長径が30~50 μ mの巨細胞と10 μ m前後の小型の円形細胞が確認できた(図5a)。細胞形態と大きさ、吸収面に接する細胞辺縁には多数の偽足様突起が、背側の細胞膜には微小突起物を有することから破歯細胞と識別することができた。さらに吸収窩に数個の小型円形細胞が共存していた。

吸収面には破歯細胞による基質の脱灰と吸収で露出した象牙質の基質線維が象牙細管を織り込むように配列しているのが観察された(図5b)。吸収窩では管周象牙質は管間象牙質より破歯細胞の吸収抵抗性を示しているように観察された。この境界は象牙質表層では厚みが薄い(図5b)、象牙質深層では厚く明瞭である(図5c)。象牙質深層で細管が縦走する吸収窩では管間象牙質の基質線維が吸収され疎造な吸収面を現し、管間象牙質と象牙細管の境界は太い輪郭として確認できる(図5d)。同じく象牙質深層で象牙細管が横断像で観察される吸収窩では、厚みのある細管の境界とそこに突起様の構造物を観察する。この象牙細管と管間象牙質の境界は吸収され難いもので、管間象牙質の吸収されやすい構造と識別できる。吸収され難いものが象牙細管内壁の境界板であるかは判定できない。

3. エナメル質の吸収面

歯冠歯頸部まで吸収が進行している乳臼歯(図1のb)では歯頸部エナメル質の吸収が観察できた(図6)。

歯頸部ではエナメル質の厚さが薄く、小柱構造が歯冠中央、咬頭に比べて明瞭でない。しかし、吸収窩はエナメル象牙境を越えて広がり、破歯細胞による歯質の連続的な吸収が観察できた(図6a)。エナメル質の吸

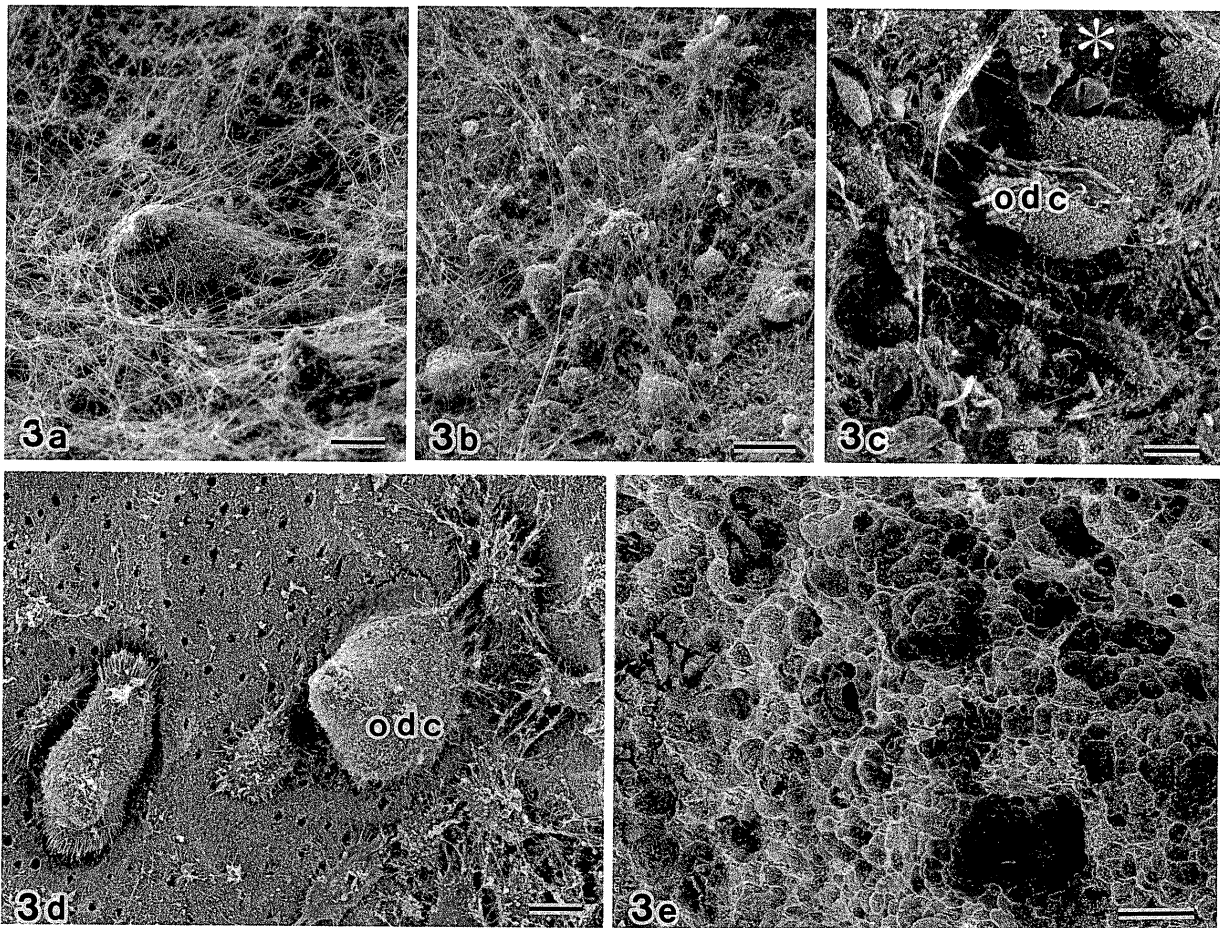


図3 観察面剖出の水酸化ナトリウム浸軟処理時間とSEM像。

- 3a 未処理。微細線維網が観察面を覆っている。
 3b 10分間処理。微細線維がかなり除去されて吸収面に接する細胞が確認可能である。
 3c 15分間処理。細胞の形態は良好に保たれ、さらに吸収面の一部(*)が観察される。
 3d 浸軟15分間水流処理。吸収面には破歯細胞と吸収窩が観察され、他の細胞や微細線維は除去されている。
 3e 強い水流処理では吸収面に存在する細胞がほとんど除去され、吸収窩が剖出する。
 odc：破骨細胞 スケールは3eが50 μ m、他は10 μ m。

収窩の特徴は密なエナメル質結晶の結晶間が拡大した様相を呈し、吸収窩の表面は細長い結晶が小柱内で一定方向に毛羽立って見える(図6b)。

考 察

試料の表面を立体的に観察するには走査型電子顕微鏡(SEM)が適しているが、そのために試料作製は透過型電子顕微鏡と異なった試料のクリーニングまたは剖出が必須となり、その方法も材料と観察目的に応じて工夫しなければならない^{4,7)}。

脱落期抜去乳歯の歯根吸収面は永久歯の萌出圧力、咀嚼による咬合力や吸収による歯の動揺などが原因で炎症性浮腫が覆うと考えられる。また吸収表面は結合組織の細胞や基質で覆われている。観察面を覆う物質の除去を行わずに試料作製し観察すると、目的の構造

が観察できない。

SEMを用いたヒト乳歯の吸収面の観察は1967年 Boydeら⁸⁾の報告以来、多数にわたっている^{9,10)}。それらの剖出処理法は、アルカリ性試薬によるもの、超音波洗浄や生理食塩水の流水中でピンセットによる除去など物理的なもの、消化酵素を用いたものなど多様で主に吸収面の構造を明らかにしてきたが、細胞を含めた検索を目的としたものではなかった。

Takahashi-Iwanagaら¹¹⁾はラット肝臓をNaOHで処理しディッセ腔にある伊藤細胞のみを露出させSEM観察を行った。Evanら¹²⁾によって酸やコラゲナーゼを用いて結合組織を分解し、結合組織に覆われていた面を剖出する方法が報告され、さらにそれを基に各種の変法がSEM観察に応用されルチーン試料作製法の一つである結合組織消化法として多用されている^{13,14)}。

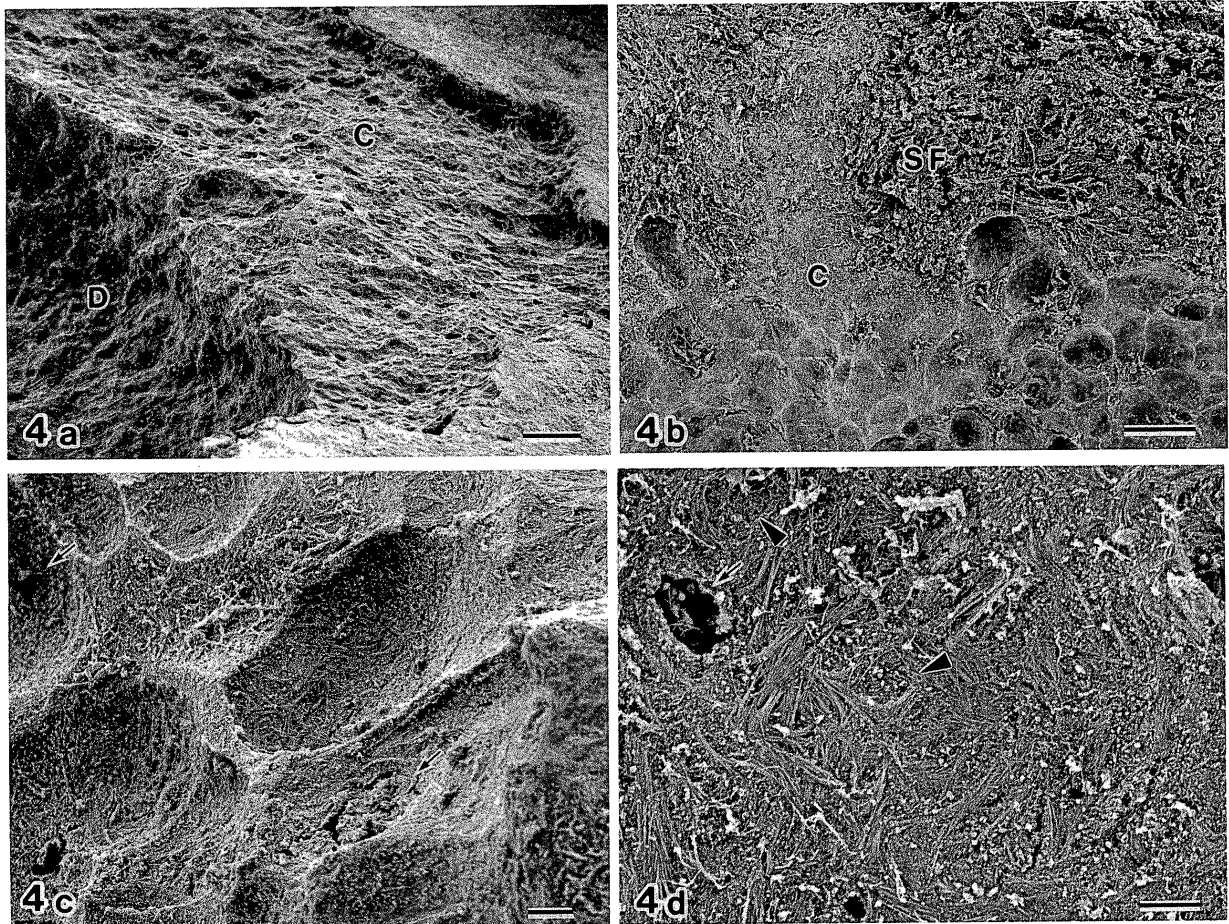


図4 歯根表面の吸収像。

4a 歯根吸収面の低倍率SEM像。ハウシッパ窩が幾重にも重なり合い吸収面を形成している。

4b 弱拡大SEM像。歯根表面を吸収窩が波状に広がる様子を示す。

4c セメント質の吸収窩。吸収によってセメント小腔、セメント細管が開口している(矢印)。

4d セメント質の吸収窩壁。吸収によって寸断されたシャーピー線維束が観察される(矢頭)。

C: セメント質, D: 象牙質, SF: 断裂した歯根膜線維。スケールはa, bが $100\mu\text{m}$, cが $10\mu\text{m}$, dが $5\mu\text{m}$ 。

今回の試料作製では水酸化ナトリウム浸軟法を用いて吸収面に接して存在する細胞のうち破歯細胞だけを残存させ吸収窩との関係を精査することができた。

その結果、吸収窩を形成している細胞には長径が $30\mu\text{m}$ 以上の大型のものと、 $10\mu\text{m}$ 前後の小型円形のものを観察された。

Inoueら^{21, 22)}は分離培養破骨細胞による酸指向性アミンのpHプローブ(DAMP)を用いた酸性領域の可視化と機能動態の解析で、骨片上に培養した破骨細胞のDAMP局在を共焦点レーザー顕微鏡観察後に同一細胞のSEM観察を行ない次のこと明らかにした。

1. 培養初期の破骨細胞は多数の偽足様突起を多数だした運動能が持続したものが多い。
2. 時間の経過とともに細胞辺縁部が伸展した運動能を喪失した固着型が大多数を占める。
3. 吸収窩を形成した活動中の破骨細胞は背側表面

に多数の小胞状、顆粒状構造物を有し、細胞辺縁部は突起が欠如し平滑となる。

4. 吸収窩の骨面は無機質脱灰によって露出したコラーゲン線維によって疎造感を呈する。
5. 骨面に連続した吸収窩を形成し移動する破骨細胞のDAMP局在は破骨細胞内と骨吸収窩の領域に蛍光が識別される。

分離培養した破骨細胞²³⁾と乳歯根を吸収する破歯細胞を単純に比較できないが、上記所見は長径が $30\mu\text{m}$ 以上の大型吸収細胞の基本的な形態であることと吸収によって形成された吸収窩は吸収細胞が移動後も低pH領域であることを示している。一方、今回の観察では長径が $10\mu\text{m}$ 前後の小型円形細胞も吸収窩を形成している。

小型円形細胞は破歯細胞であるかどうかについてはDomonら²⁴⁾、長内²⁵⁾らは脱落する乳歯の歯根吸収面

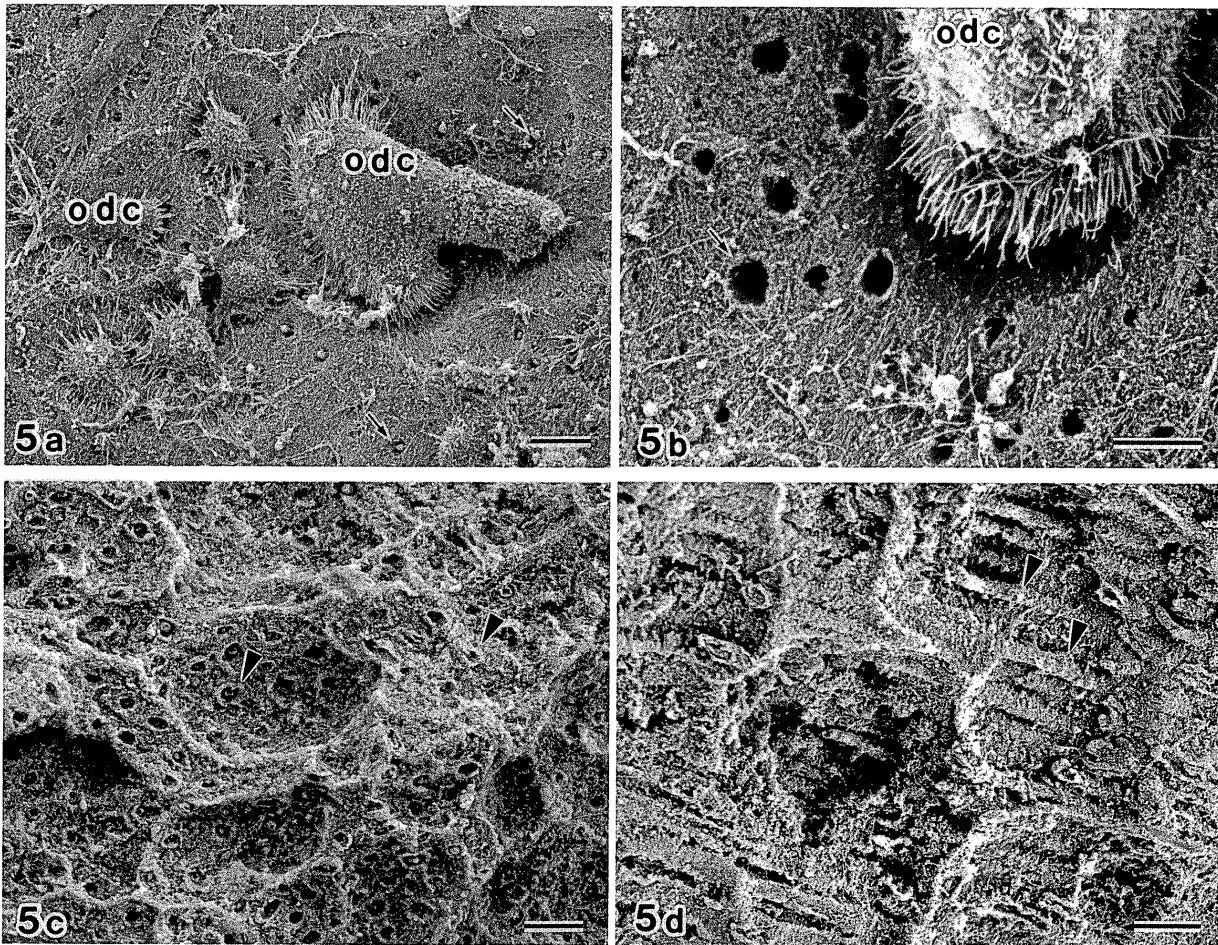


図5 象牙質の吸収面。

- 5 a 長径が $30\mu\text{m}$ 以上の大型と $10\mu\text{m}$ 前後の小型円形の破骨細胞が吸収窩に観察される。吸収面に開口する孔は象牙細管。
 - 5 b 象牙質表層の吸収窩。破骨細胞の細胞辺縁部は糸状の突起や偽足を現す。吸収窩の壁面には脱灰によって管間象牙質の基質線維が露出している。
 - 5 c 象牙質深層で象牙細管が横断される方向での吸収窩。
 - 5 d 象牙質深層で象牙細管が縦断される方向での吸収窩。何れも吸収窩壁面の露出した基質線維は疎造で、さらに象牙細管との境界部は厚い構造(矢頭)を現し象牙質表層と異なっている。
- odc：破歯細胞、矢印は象牙細管。スケールは5 bが $5\mu\text{m}$ 、他は $10\mu\text{m}$ 。

から破歯細胞の連続準超薄切片，超薄切片を作製し，細胞の核数と歯根吸収面を立体複構によって解析を行い，吸収能を持つ単核の破歯細胞が破歯細胞全体の約3%存在し，核数が少ない小型の破歯細胞と多核の大型破歯細胞の微細構造はほぼ同様で，両者間に形態学的な差異は認められないとの結果を報告している。

さらに，分離培養破骨細胞で少数の核を持つ破骨細胞ほど核一個あたりの吸収窩の形成量が増大する²⁶⁾との報告もあり，今回，観察された長径 $10\mu\text{m}$ 前後の小型円形細胞は小型の破歯細胞で，乳歯吸収の中心的役割を果たしている²⁵⁾ことを示している。

ここではNaOH浸軟法は試料へのダメージが少なく，乳歯の吸収過程における破歯細胞と吸収窩が三次元的

に観察できることを述べてきたが，吸収されつつある基質線維や吸収面の構造は強アルカリ処理で消失，あるいは二次的に構造変化を受けていると考えられる。それゆえ観察像の解析には処理による変化を考慮しなければならない。また観察目的にあった処理法を選択することも重要である。

結 論

生理的吸収を受けて脱落期にある乳歯を観察材料として水酸化ナトリウム浸軟法による試料作製を行い，乳歯吸収面を走査型電子顕微鏡で観察し，次の所見を得た。

1. 強アルカリ処理である水酸化ナトリウム浸軟法は

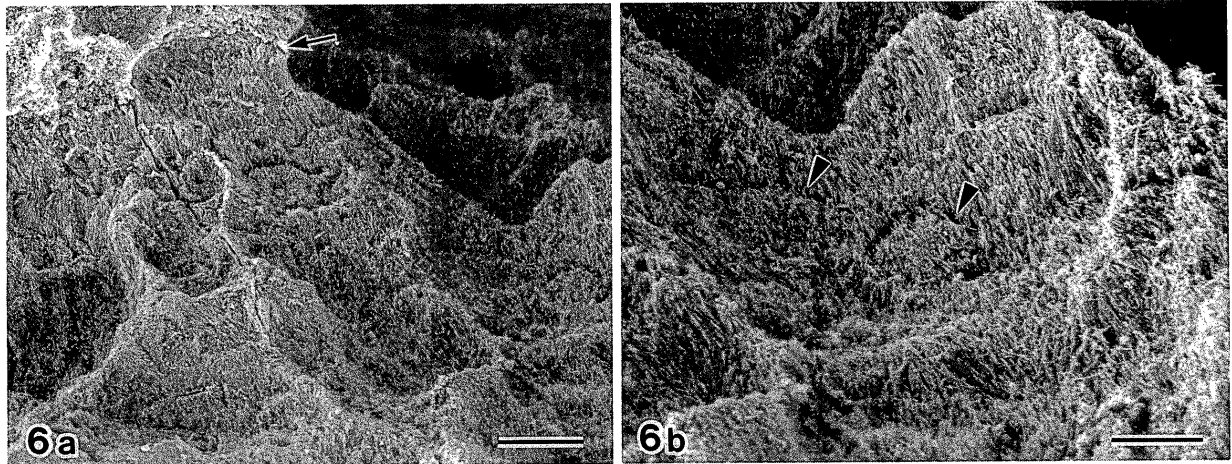


図6 エナメル質の吸収面。

6a エナメル質の吸収は象牙質に引続き連続して広がる。矢印はエナメル象牙境を示す。

6b 小柱構造はエナメル質結晶が細長い針状構造として観察される。環状の溝は吸収で消失したエナメル小柱鞘を示す(矢頭)。スケールは6aが100 μ m, 6bが10 μ m。

細胞の保存性がよく、短時間処理で再現性のよい結果が得られた。

2. 吸収面には大型と小型の破歯細胞が観察され、両者はともに吸収窩を形成し歯根の吸収に関わっていた。
3. セメント質の吸収が始まると吸収窩にはシャーピー線維の断裂面が露出し、セメント小腔やセメント細管の一部が開口されていた。
4. 象牙質の吸収窩では吸収されやすい管間象牙質とされ難い管周象牙質が識別された。
5. エナメル象牙境まで吸収が及んだ場合はエナメル質と象牙質の両者に連続する一体の吸収窩が形成されていた。
6. エナメル質では吸収によってエナメル結晶が細い針状の結晶となり、小柱鞘は吸収されて深い溝となり吸収窩に小柱の輪郭を現していた。

この研究は2003年度朝日大学歯学部歯学科5学年の学生を対象に行われたアドバンスコースの学部学生が参加して行ったものである。

試料の収集に協力をいただいた朝日大学小児歯科学分野のスタッフの皆さんに心から感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Ten Cate, A. R : Orban's Oral Histology and Embryology (S.N Bhasker), 8th ed., The C.V. Mosby Company(St Louis), 376~394, 1976.
- 2) Ten Cate, A. R : Oral Histology Development, Structure, and Function (A. R. Ten Cate), 5th ed., Mosby-Year Book, Inc. (St Louis), 289~314, 1998.
- 3) Sahara, N., Okafuji, N., Toyoki, A., Ashizawa, Y., Yagasaki, H., Deguchi, T. and Suzuki, K. : A histological study of the exfoliation of human deciduous teeth. *J. Dent. Res.*, **72** : 634~640, 1993.
- 4) 鈴木昭男, 永谷 隆 訳 : 医学・生物学のための走査電子顕微鏡入門(M. A. Hayat), 丸善, 83~86, 1979.
- 5) 山内昭雄, 嶋田 裕, 鮎川武二 : ライフサイエンス電子顕微鏡入門, 朝倉書店, 56~64, 139~151, 1992.
- 6) 島田達生 : よくわかる電子顕微鏡技術 (医学生物学電子顕微鏡技術研究会), 朝倉書店, 99~119, 1993.
- 7) 堀 英明 : 現場で役立つ電子顕微鏡試料作製法 (関西電子顕微鏡応用技術研究会), 金芳堂, 236~249, 1999.
- 8) Boyde, A. and Lester, K. S. : Electron microscopy of resorbing surfaces of dental tissues. *Z. Zellforsch.*, **83** : 538~548, 1967.
- 9) Sasaki, T., Motegi, N., Suzuki, H., Watanabe, C., Tadokoro, K., Yanagisawa, T. and Higasi, S. : Dentin resorption mediated by odontoclasts in physiological root resorption of human deciduous teeth. *Am. J. Anat.*, **183** : 303~315, 1988.
- 10) Arana-Chavez, V. E. and Andia-Merlin, R. Y. : Scanning electron microscopy examination of resorbing enamel surfaces in unexfoliated primary molar teeth. *J. Dent. Child.*, **65** : 182~185, 1998.
- 11) Takahashi-Iwanaga, H. and Fujita, T. : Application of an NaOH maceration method to a scanning electron microscopic observation of Ito cell in the rat liver. *Arch. Histol. Jap.*, **49** : 349~357, 1986.
- 12) Evan, A. P., Dail, W. G., Dammrose, D. and Palmer C. : Scanning electron microscopy of cell surfaces following removal of extracellular material. *Anat. Rec.*, **185** : 433~446, 1976.

- 13) Ushiki, T. and Ide, C. : Scanning electron microscopic studies of the myelinated nerve fibres of the mouse sciatic nerve with special reference to the Schwann cell cytoplasmic network external to the myelin sheath. *J. Neurocytol.*, **16** : 737~747, 1987.
- 14) 井上貴央, 大谷 修, 村上宅郎 : 走査電子顕微鏡. 電子顕微鏡, **35** : 132~135, 2000.
- 15) Ejiri, S. and Ozawa, H. : Scanning electron microscopic observations of rat tibia using the HCl-collagenase method. *Arch. Histol. Jap.*, **45** : 399~404, 1982.
- 16) 岩永ひろみ, 藤田恒夫 : 神経組織の走査顕微鏡観察のための試料作製法. 医生物走査電顕, **15** : 59~62, 1986.
- 17) 岩永ひろみ, 三浦由佳, 安達一男, 藤田恒夫 : NaOH浸軟法による腎尿細管の観察. 医生物走査電顕, **16** : 76~78, 1987.
- 18) Miller, B. G., Woods, R. L., Bohlen, H. G. and Evan, A. P. : A new morphological procedure for viewing microvessels : A scanning electron microscopic study of the vasculature of small intestine. *Anat. Rec.*, **203** : 493~503, 1982.
- 19) 牛木辰男, 熊谷謙一, 井出千束 : KOH-コラゲナーゼ法の神経組織への応用. 医生物走査電顕, **16** : 79~82, 1987.
- 20) 牛木辰男, 井出千束 : KOH-コラゲナーゼ組織消化法の可能性と問題点. 医生物走査電顕, **17** : 73~75, 1988.
- 21) Inoue, M., Yoshida, H. and Akisaka, T. : Visualization of acidic compartments in cultured osteoclasts by use of an acidotrophic amine as a marker for low pH. *Cell Tissue Res.*, **298** : 527~537, 1999.
- 22) 井上恵 : 分離培養破骨細胞の酸性領域の可視化と機能動態の解析. 岐歯学誌, **26** : 29~42, 1999.
- 23) Jones, S. J., Boyde, A. and Ali, N. N. : The resorption of biological and non-biological substrates by cultured avian and mammalian osteoclasts. *Anat. Embryol.*, **170** : 247~256, 1984.
- 24) Domon, T., Sugaya, K., Yawaka, Y., Osanai, M., Hanaizumi, Y., Takahashi, S. and Wakita, M. : Electron microscopic and histochemical studies of the mononuclear odontoclast of the human. *Anat. Rec.*, **240** : 42~51, 1994.
- 25) 長内正数 : 破歯細胞に関する微細形態学的研究 : ヒトにおける核数の分布について. 北海道歯誌, **17** : 251~265, 1996.
- 26) Piper, K., Boyde, A. and Jones, S. J. : The relationship between the number of nuclei of an osteoclast and its resorptive capability in vitro. *Anat. Embryol.*, **186** : 291~299, 1992.