

## エナメル芽細胞における CBFA-1/Ranx 2 の局在

桑田 文幸<sup>1,5</sup> 山本 達也<sup>2</sup> 坂口 豊<sup>3</sup>  
蓼沼 真樹子<sup>4</sup> 稲毛 稔彦<sup>2,6</sup>

### Localization of CBFA-1/Ranx 2 in ameloblasts during amelogenesis in rat incisor

Fumiyuki Kuwata<sup>1,5</sup>, Tatsuya Yamamoto<sup>2</sup>, Yutaka Sakaguchi<sup>3</sup>,  
Makiko Tatenuma<sup>4</sup> and Toshihiko Inage<sup>2,6</sup>

#### Abstract

Mutations in Runx 2/CBFA-1 (Core binding protein A-1) cause cleidocranial dysplasia (CCD), an autosomal dominant disorder in humans and mice characterized by defective bone formation. CCD also results in dental defects. Runx 2 is a critical transcriptional regulator of osteoblast differentiation, and also has an important role for this molecule in the tooth formation. However, little is known about function in the ameloblasts of the maturation stage. Therefore, Runx 2 localizations of ameloblasts were investigated in ameloblasts during amelogenesis in rat incisor, by means of immunohistochemistry. In the transitional stage, the ameloblasts and the outer enamel epithelium showed an intense immunoreactivity. The periodically stained bands were appeared in the maturation stage. The periodic bands were corresponded with the transitional region of ameloblastic modulation. During the modulation, immunoreactivity was detected in the ruffled-ended ameloblasts and the cells of papillary layer. Runx 2 plays an important role in the differentiation of the ameloblasts and enamel formation.

**Key words** : Runx 2, CBFA-1, amelogenesis, ameloblast, rat incisor

#### 緒言

鎖骨頭蓋異骨症 (Cleidocranial Dysplasia, CCD) は上顎や鎖骨の形成不全、過剰歯胚および歯の萌出異常も生じる疾患である。近年、CCD 患者の転写因子 Core Binding Factor A-1 (CBFA-1, Runx 2) を code する染色体の塩基配列に異常があり、CBFA-1 のヘテロ変異マウスではヒトの CCD と一致した表現型を示したことから、CBFA-1 は CCD の原因遺伝子であ

ることが同定された<sup>1)</sup>。また、その後の研究によって CBFA-1 は骨芽細胞や軟骨芽細胞の分化を調節する重要な転写因子であることも明らかにされた<sup>2,3)</sup>。

CBFA-1 の mRNA 発現は BMP によって誘導されるという報告<sup>2,4-9)</sup> がなされ、CBFA-1 は BMP の下流にある骨芽細胞の分化における主要な転写因子であることが明らかとなった。BMP は骨組織のマトリックスに含まれるタンパクで、異所性の骨形成能を有する<sup>10,11)</sup>。また、

<sup>1</sup>日本大学歯学部化学教室

<sup>2</sup>日本大学歯学部解剖学教室第 2 講座

<sup>3</sup>日本大学歯学部口腔外科学教室第 2 講座

<sup>4</sup>日本大学歯学部小児歯科学教室

<sup>5</sup>日本大学歯学部総合歯学研究所顎口腔機能研究部門

<sup>6</sup>日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門

〒101-8310 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13  
(受理：2003 年 9 月 25 日)

Departments of <sup>1</sup>Chemistry, <sup>2</sup>Anatomy, <sup>3</sup>Oral and Maxillofacial Surgery and <sup>4</sup>Pediatric Dentistry, Nihon University School of Dentistry

Divisions of <sup>5</sup>Oral and Graniomaxillofacial Research and <sup>6</sup>Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

1-8-13 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8310, Japan

BMPは胎児の軟骨および骨組織の骨格形成および成体における骨折治癒過程など、とくに硬組織形成における骨芽細胞の初期分化に重要な働きを担っていることも報告されている<sup>12~16)</sup>。稲毛ら<sup>17)</sup>は臼歯を用いたCBFA-1の免疫組織化学的研究を行い、CBFA-1が歯の形成過程において上皮間葉のsignal伝達物質として重要な役割を果たしていることを報告した。

ThesleffとNieminen<sup>18)</sup>, およびVaahtokariら<sup>19)</sup>は、歯の形成過程においても様々な成長因子や転写因子が関与しており、BMPは上皮-間葉相互作用におけるsignal伝達物質で、エナメル芽細胞や象牙芽細胞などの分化およびアポトーシスを調節していることを報告した。成熟期では遠心端にruffle borderを持つruffled-ended ameloblast(RA)と遠心端にruffle borderを持たないsmooth-ended ameloblast(SA)が交互に出現するamelo-blastic modulationがみられる。エナメル芽細胞が示す形態変化は何らかの因子によって制御されていると考えられるが、どのような因子であるか知られていない。そこで、著者らは、ラット切歯の成熟期エナメル芽細胞におけるCBFA-1の局在を免疫組織化学によって検索した。

## 材料および方法

### 1. 組織学的方法

実験動物は体重約40gのWistar系ラットを使用した。体重10g当たり0.5mgの割合でNembutal(Dainabot)を投与して麻酔を行ったのち、左心室より約3分間灌流固定を行い、同固定液でさらに4℃, 4時間浸漬固定を行った。次いで、0.1M EDTA(pH 7.4)で3週間脱灰を行い、エタノールで脱水し、パラフィン包埋を行った。その後、切歯が矢状断される方向に切片を作製し、スライドガラスに貼付した。

### 2. 免疫組織化学的方法

#### 1) 抗体

polyclonal goat anti-human CBFA-1(Santa Cruz Biotechnology)を用いた。この抗体は、使用した他の抗体とそれぞれ交差反応を示さないことおよびマウスCBFA-1およびマウスBMP-4と交差反応を示すことを免疫ブロッキング法で確認した。

#### 2) 免疫染色

切片をキシレンで脱パラフィンし、0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を含むメタノール溶液で30分間処理して内因性ペルオキシダーゼを不活化した。次いで、切片は下降エタノールを用いて親水処理を行ったのち、pH 7.4の10mM PBSで10分間、2回洗浄した。さらに、非特異的反応を防止するために10%ウサギ正常血清(ニチレイ)で20分間処理してブロッキングを行った。一次抗体を切片上で反応させたのち、Biotin標識ウサギ抗ヤギIgG抗体(ニチレイ)を反応させた。その後、Streptavidin-HRP(Perkin Elmer Life Sciences)を反応させて37℃で1時間、インキュベートし、さらにBiotin Tyramide(Perkin Elmer Life Sciences)を37℃で20分間インキュベートした。これによりラジカル化されたTyramideがHRPのごく近傍の組織やブロッキングタンパクに結合して免疫反応を増感する。その後再び室温でStreptavidin-HRPで反応し、0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>および3'3'-diaminobenzidine hydrochloride(DAB)を含む溶液で発色反応を行った。さらに、切片を1% methyl greenで核染色を行い、光顕下で免疫反応の局在を観察した。

対照実験は一次抗体のかわりにPBS,あるいはウサギ正常血清を用いて同様に反応を行った。

## 成 績

成長端では、免疫反応がcervical loopの内エナメル上皮にみられる(第1図)。免疫反応は細胞質あるいは核内にみられた。前エナメル芽細胞では免疫反応は弱いですが、エナメル質が形成され

た分泌期エナメル芽細胞では免疫反応性は増加した(第2図)

分泌終期ではエナメル芽細胞の遠心端の Tomes 突起が消失し、遠心端は平坦になる。この後、エナメル芽細胞は背丈が低くなり、移行エナメル芽細胞になる。移行期エナメル芽細胞およびその上部の乳頭層細胞にみられた(第3図)。

移行期以後、エナメル芽細胞はさらに背丈を減じ成熟期エナメル芽細胞になる。成熟期では、遠心端に ruffle border を持つ ruffled-ended ameloblast (RA) と遠心端に ruffle border を持たない smooth-ended ameloblast (SA) が交互に出現する“ameloblastic modulation”がみられる。RA では terminal bar は基底端、SA では遠心端に位置している。成熟期では切端側に向かうにしたいがい、細胞内に ferritin 顆粒が増加し、pigmentation stage になる。移行期になると免疫反応は、移行期エナメル芽細胞および乳頭層細胞に反応が強かった。

成熟期の弱拡大像では、エナメル芽細胞層に強い免疫反応を示す periodic band が観察された(第4図)。banding は接合上皮に至る pigmentation stage にもみられた。強拡大で観察すると、免疫反応は RA およびその上部の外エナメル上皮に強かった。SA の band では免疫反応は SA にはみられず、その上部の乳頭層細胞および外エナメル上皮に観察された。

## 考 察

CBFA-1 は collagen などの細胞外マトリックスの 5'領域に結合領域を持つことから、骨芽細胞の分化を調節する重要な転写因子であることが報告されている<sup>2,3)</sup>。しかし、硬組織形成における CBFA-1 の役割は十分に知られていない。

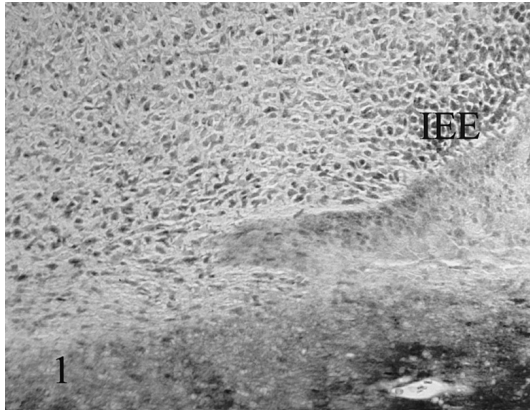
CBFA-1 の作用は TGF- $\beta$ <sup>8)</sup> および BMP における signaling と密接な関係を持っている

る<sup>2,4~9)</sup>。BMP における signal の伝達は BMP リガンドが BMP receptor (BMPR) と結合することにより開始される<sup>19)</sup>。BMP が receptor に結合すると、receptor がリン酸化され、活性化した I 型 receptor は Smad-1, -5, -8 をリン酸化し、Smad-4 と複合体を形成する。Smad の複合体は細胞質から核へ移行し、核の中で他の転写因子や転写共役因子とともに標的遺伝子の発現を誘導すると考えられている<sup>20,21)</sup>。

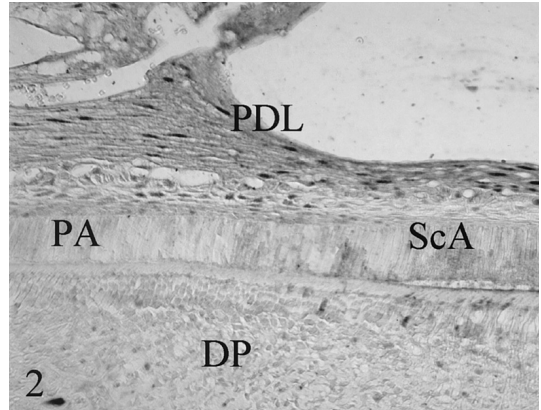
BMPR-IA および IB は機能が異なっており、in vitro の実験<sup>7)</sup>では、骨芽細胞あるいは脂肪細胞に分化することが可能な 2T3 細胞に、BMP-2 を加えて培養を行った場合では、2T3 細胞は CBFA-1、アルカリホスファターゼ (Alkaline Phosphatase, ALPase) および osteocalcin を合成することから BMPR-IB が骨芽細胞の分化に重要な signal を伝達していることを証明した。

近年の報告では、Zaidi ら<sup>22)</sup>は活性化した Smad は CBFA-1 が存在する場合にのみ細胞の核内に留まることが可能であることを示した。さらに、CBFA-1 の mRNA 発現は BMP-2, -4, -7 によって誘導されるという報告<sup>2,4~9)</sup>がなされたことから、CBFA-1 は BMP と BMPR によって mRNA の転写レベルが促進され、Smad を介して核内で target 遺伝子の転写レベルを調節しているものと考えられた。

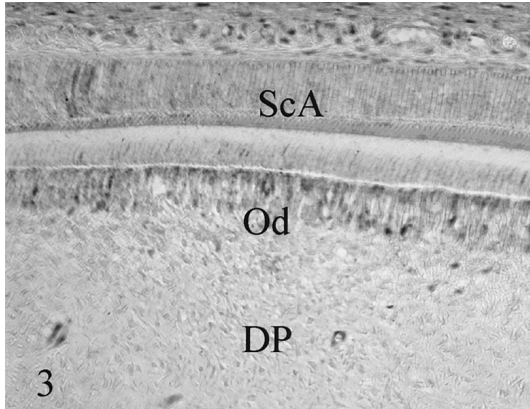
骨芽細胞の分化の stage は、骨芽細胞の産生する基質タンパクによって推定されている<sup>23)</sup>。骨芽細胞の前駆細胞は type I collagen, ALPase および osteonectin を発現する。これより分化の進んだ stage の前骨芽細胞では osteopontin, さらに BSP を産生する。成熟した骨芽細胞では、osteocalcin を産生し、骨芽細胞は分化が進行するにしたいがい、異なった種類の細胞外マトリックスを合成することが報告されている。従来の研究で、BMP は骨芽細胞の初期分化に深く関係していることが報告されてい



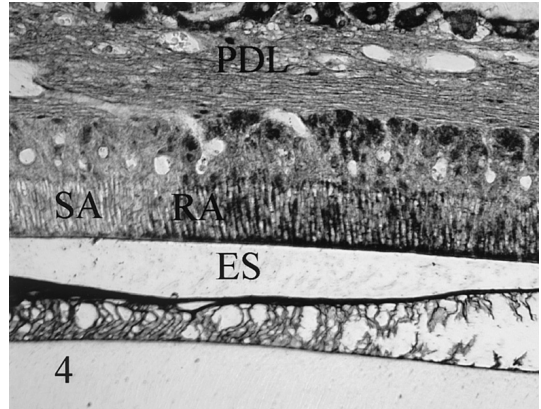
第1図 成長端



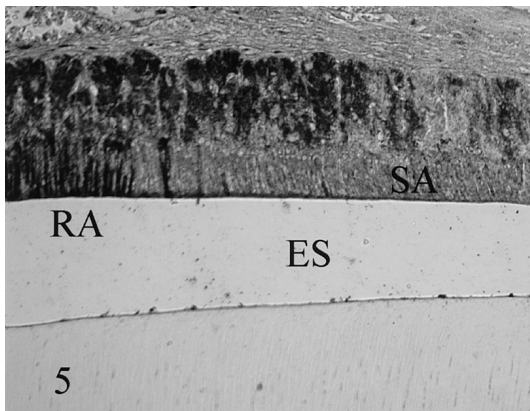
第2図 前エナメル芽細胞と分泌期エナメル芽細胞



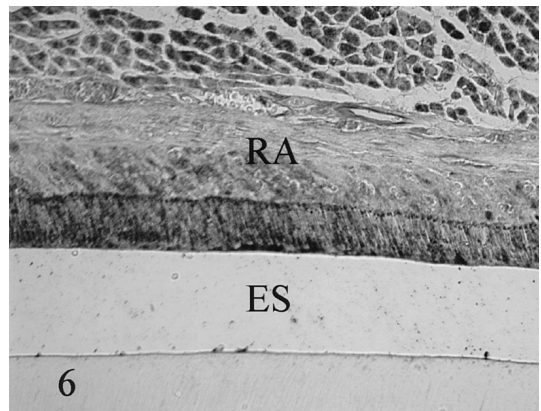
第3図 分泌期エナメル芽細胞



第4図 成熟期初期のエナメル芽細胞



第5図 成熟期中期のエナメル芽細胞



第6図 成熟期後期のエナメル芽細胞

る<sup>24-26)</sup>。

骨芽細胞の分化における CBFA-1 の機能は十分に解明されていない。CBFA-1 ホモ変異体マウスでは<sup>3, 27, 28-30)</sup>、膜性骨化や軟骨内骨化がみられないこと、および osteocalcin や osteopontin などの骨マトリックスタンパク遺伝子の mRNA を発現する成熟した骨芽細胞がみられなかったことから、CBFA-1 は骨芽細胞の分化、とくに成熟する時期で重要な役割を果たす転写因子であることを示唆されている。また、CBFA-1 ホモ変異体マウスでは頭蓋冠の膜内骨発生する部位の間葉細胞で ALPase を発現していたことから、分化のきわめて初期段階の骨芽細胞がみられることが報告された。しかし、Tsuji ら<sup>4)</sup>は osteocalcin や osteopontin ノックアウトマウスでは CBFA-1 の mRNA は発現しているが、成熟した時期の骨芽細胞が観察されたことを報告した。この所見は CBFA-1 が骨芽細胞の初期分化にも関係していることを強く示唆している。

Thesleff と Nieminen<sup>17)</sup>、および Vaahtokari ら<sup>18)</sup>は歯の形態形成において様々な成長因子や転写因子が関与しており、enamel knot が BMP などの成長因子の合成分泌を行い、歯の形態形成における signal 中心であると報告している。歯の形成過程における CBFA-1 の研究は D'Souza ら<sup>5)</sup>の ISH を用いた研究によって詳細に研究されている。CBFA-1 ホモ変異体マウスではエナメル芽細胞および象牙芽細胞への分化はみられず、エナメル質や象牙質にも変形や減形成がみられた。マウス臼歯における CBFA-1 mRNA の発現は蕾状期と鐘状期初期の歯乳頭細胞に発現し、生後では分泌期エナメル芽細胞に強く発現することを示した。また、器官培養を用いた実験では、歯乳頭の CBFA-1 mRNA の発現レベルはエナメル器の上皮細胞によって調節されていることが示された。したがって、CBFA-1 は歯の形成の開始期や初期の細胞分化

で上皮・間葉の signaling network に関係しており、エナメル芽細胞の分化や形態形成に深く関係していると考えられた。

また、稲毛ら<sup>17)</sup>は臼歯を用いた CBFA-1 の免疫組織化学的研究を行い、免疫反応は蕾状期の歯堤の上皮細胞、帽状期歯胚では primary enamel knot の上皮細胞と鐘状期歯胚では secondary enamel knot の上皮細胞歯乳頭、分泌期エナメル芽細胞および歯小囊の細胞にみられた。また、Hertwig 上皮鞘付近のエナメル芽細胞、セメント芽細胞、および歯小囊の細胞に反応がみられ、CBFA-1 は歯の形成過程だけではなく、歯根および歯周組織の形成にも関与していることが示唆された。このことから BMP および BMPR を介して CBFA-1 に伝達される signal は顎顔面の骨組織形成とその形態形成および歯や歯周組織の形成に重要な役割を果たしているものと考えた。

これらの研究においてもエナメル芽細胞の分化、特に成熟期における研究は行われていない。CBFA-1 の免疫反応はエナメル芽細胞の分化の全 stage で観察された。この所見は CBFA-1 がエナメル質形成特にエナメル芽細胞の分化に重要な役割を果たしていることを示している。移行期においては約 25% のエナメル芽細胞が死滅し、残りのエナメル芽細胞は成熟期に移行するために、再分化を行う。このように移行期において、エナメル芽細胞には劇的な変化が生じる。CBFA-1 はこの時期に生じるエナメル芽細胞は変化を調節しているものと考えられた。

成熟期においては ameloblastic modulation がみられる。このエナメル芽細胞の形態学的な変化は様々な因子によって調節されていると考えられるが、具体的な因子に関しては未だ同定されていない。CBFA-1 の免疫反応は ameloblastic modulation で繰り返し出現する RA に一致して観察された。このことは CBFA-

1 が RA の形態や形態維持に重要な役割を果たしていることを示している。一方, SA には免疫反応はみられなかった。現在までの研究では SA に特異的に現れる因子は同定されていない。ameloblastic modulation を調節する因子に関して今後研究されることが要求される。

## 結 論

転写因子 Core Binding Factor A-1 (CBFA-1, *Ranx 2*) は鎖骨頭蓋異骨症の原因遺伝子であることが報告され, 骨形成のみならず歯の形成においても重要な機能を持つことが示唆されている。しかし, エナメル質形成とくに成熟期形成における機能は明らかにされていない。そこで, ラット切歯における CBFA-1 の局在を免疫組織化学的方法を用いて検索を行い, 以下の結論を得た。

成長端では, 免疫反応が cervical loop の内エナメル上皮にみられた。エナメル質形成が開始されると分泌期エナメル芽細胞に免疫反応性が増加した。免疫反応は細胞質あるいは核内に局在していた。移行期になると免疫反応は移行期エナメル芽細胞およびその上部の乳頭層細胞にみられた。成熟期の弱拡大像では, エナメル芽細胞層に強い免疫反応を示す periodic band が観察された。banding は接合上皮に至る pigmentation stage にもみられた。強拡大で観察すると, 免疫反応は ruffle-ended ameloblast およびその上部の外エナメル上皮に強かった。smooth-ended ameloblast の band では免疫反応は SA にはみられず, その上部の乳頭層細胞および外エナメル上皮に観察された。CBFA-1 はエナメル質形成を通してエナメル芽細胞の分化に重要な役割を果たしているものと考えられた。

## 謝 辞

本研究は日本大学学術研究助成金(総合研究), 日本大学歯学部総合歯学研究所研究費(プロジェク

ト研究), 日本学術振興会科学研究費補助金および日本大学歯学部・学術フロンティア推進事業「顎口腔領域の構造・機能を基盤とした先端的歯科医学研究」の一環として行った。

## 文 献

- 1) Mundlos S, Otto F, Mundlos C, Mulliken JB, Aylsworth AS, Albright S, Lindhout D, Cole WG, Henn W, Knoll JH, Owen MJ, Mertelsmann R, Zabel BU, Olsen BR. (1997) Mutations involving the transcription factor CBFA 1 cause cleidocranial dysplasia. *Cell* 89 (5), 773-779
- 2) Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. (1997) *Osf 2/Cbfa 1* : a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 89(5), 747-754
- 3) Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, Shimizu Y, Bronson RT, Gao YH, Inada M, Sato M, Okamoto R, Kitamura Y, Yoshiki S, Kishimoto T. (1997) Targeted disruption of *Cbfa 1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 89(5), 755-764
- 4) Tsuji K, Ito Y, Noda M. (1998) Expression of the PEBP 2 alphaA/AML3/CBFA 1 gene is regulated by BMP 4/7 heterodimer and its overexpression suppresses type I collagen and osteocalcin gene expression in osteoblastic and nonosteoblastic mesenchymal cells. *Bone* 22 (2), 87-92
- 5) D'Souza RN, Aberg T, Gaikwad J, Cavender A, Owen M, Karsenty G, Thesleff I. (1999) *Cbfa 1* is required for epithelial-mesenchymal interactions regulating tooth development in mice. *Development* 126(13), 2911-2920
- 6) Shen ZJ, Nakamoto T, Tsuji K, Nifuji A, Miyazono K, Komori T, Hirai H, Noda M. (2002) Negative regulation of bone morphogenetic protein/Smad signaling by Cas-interacting zinc finger protein in osteoblasts. *J Biol Chem.* 277 (33), 29840-29846

- 7) Chen D, Ji X, Harris MA, Feng JQ, Karsenty G, Celeste AJ, Rosen V, Mundy GR. (1998) Harris SE. Differential roles for bone morphogenetic protein (BMP) receptor type IB and IA in differentiation and specification of mesenchymal precursor cells to osteoblast and adipocyte lineages. *J Cell Biol* 142(1), 295-305
- 8) Ji C, Casinighino S, Chang DJ, Chen Y, Javed A, Ito Y, Hiebert SW, Lian JB, Stein GS, McCarthy TL, Centrella M. (1998) CBFA (AML/PEBP 2)-related elements in the TGF-beta type I receptor promoter and expression with osteoblast differentiation. *J Cell Biochem.* 69 (3), 353-363.
- 9) Bae SC, Lee KS, Zhang YW, Ito Y. (2001) Intimate relationship between TGF-beta/BMP signaling and runt domain transcription factor, PEBP 2/CBFJ *Bone Joint Surg Am.* 83-A Suppl 1 (Pt 1), 48-55.
- 10) Urist MR. (1965) Bone : Formation by autoinduction. *Science* 150, 893-899
- 11) Urist MR. & Strates BS. (1971) Bone morphogenetic protein. *J. Dent. Res.* 50, 1392-1406
- 12) Suzuki A, Thies RS, Yamaji N, Song JJ, Wozney JM, Murakami K, Ueno N (1994) A truncated bone morphogenetic protein receptor affects dorsal-ventral patterning in the early *Xenopus* embryo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 91 (22), 10255-10259
- 13) Zou H, Nisander L. (1996) Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation. *Science* 272 (5262), 738-741.
- 14) Ganan Y, Macias D, Duterque-Coquillaud M, Ros MA, Hurler JM. (1996) Role of TGF beta s and BMPs as signals controlling the position of the digits and the areas of interdigital cell death in the developing chick limb autopod. *Development* 122(8), 2349-2357.
- 15) Kawakami Y, Ishikawa T, Shimabara M, Tanda N, Enomoto-Iwamoto M, Iwamoto M, Kuwana T, Ueki A, Noji S, Nohno T (1996) BMP signaling during bone pattern determination in developing limb. *Development* 122(11), 3557-3566
- 16) Zou H, Wieser R, Massague J, Niswander L. (1997) Distinct roles of type I bone morphogenetic protein receptors in the formation and differentiation of cartilage. *Genes Dev.* 11(17), 2191-2203
- 17) 稲毛稔彦, 蓼沼真樹子, 山本達也, 坂口豊, 中田智子, 佐藤吉則, 寺門正昭, 関和忠信, 横瀬勝美, 桑田文幸, 堀稔, 田中博, 後藤實, 赤坂守人, 小方頼昌, 福島一雅, 大井田新一郎 (2003) マウス顎顔面の発育における CBFA-1 および BMP-4 の局在について. *日大歯学*, 77, 141-149
- 18) Thesleff I, Nieminen P. (1996) Tooth morphogenesis and cell differentiation. *Curr Opin Cell Biol.* 8, 844-850
- 19) Vaahtokari A, Aberg T, Jernvall J, Kernen S, Thesleff I. (1996) The enamel knot as a signaling center in the developing mouse tooth. *Mech Dev.* 54, 39-43
- 20) Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P (1997) TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 390 (6659), 465-471
- 21) 鴨川大助 (2002) マウス臼歯歯胚における Smad の局在について *日大歯学* 76, 257-265
- 22) Zaidi SK, Sullivan AJ, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Lian JB. (2002) Integration of Runx and Smad regulatory signals at transcriptionally active subnuclear sites. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99(12), 8048-8053
- 23) Aubin JE, Liu F, Malaval L, Gupta AK. (1995) Osteoblast and chondroblast differentiation. *Bone* 17(2 Suppl), 77-83
- 24) Masuhara K, Nakase T, Suzuki S, Takaoka K, Matsui M, Anderson HC (1995) Use of monoclonal antibody to detect bone morphogenetic protein-4 (BMP-4). *Bone* 16(1), 91-96
- 25) Ohta S, Hiraki Y, Shigeno C, Suzuki F, Kasai R, Ikeda T, Kohno H, Lee K, Kikuchi H, Konishi J, et al. (1992) Bone morphogenetic proteins

- (BMP-2 and BMP-3) induce the late phase expression of the proto-oncogene *c-fos* in murine osteoblastic MC 3 T 3-E 1 cells. *FEBS Lett.* 314 (3), 356-360
- 26) Yamaguchi A, Katagiri T, Ikeda T, Wozney JM, Rosen V, Wang EA, Kahn AJ, Suda T, Yoshiki S (1991) Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates osteoblastic maturation and inhibits myogenic differentiation in vitro. *J Cell Biol.* 113 (3), 681-687
- 27) Komori T (1998) *Cbfa 1*, a transcription factor for osteoblast differentiation and bone formation. *J Bone Miner Metab.* 16, 1-4
- 28) Kobayashi H, Gao Y, Ueta C, Yamaguchi A, Komori T (2000) Multilineage differentiation of *Cbfa 1*-deficient calvarial cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 273 (2) 630-636
- 29) Harada H, Tagashira S, Fujiwara M, Ogawa S, Katsumata T, Yamaguchi A, Komori T, Nakatsuka M (1999) *Cbfa 1* isoforms exert functional difference in osteoblast differentiation. *J Biol Chem.* 274 (11), 6972-6978
- 30) Jimenez MJ, Balbin M, Lopez JM, Alvarez J, Komori T, Lopez-Otin C (1999) Collagenase 3 is a target of *Cbfa 1*, a transcription factor of the runt gene family involved in bone formation. *Mol Cell Biol.* 19 (6), 4431-4442

#### 付図の説明

図は全てラット切歯における CBFA-1 抗体を用いた免疫を行った光顕像×20

#### 第 1 図 成長端

内エナメル上皮 (IEE) に反応がみられる。

#### 第 2 図 前エナメル芽細胞と分泌期エナメル芽細胞

エナメル質形成が開始されると分泌期エナメル芽細胞 (ScA) に免疫反応がみられる。

DP: 歯髄, PA: 前エナメル芽細胞, PDL: 歯根膜

#### 第 3 図 分泌期エナメル芽細胞

分泌期エナメル芽細胞 (ScA) の免疫反応は強い。

DP: 歯髄, Od: 象牙芽細胞

#### 第 4 図 成熟期初期のエナメル芽細胞

遠心端に ruffle border を持つ ruffled-ended ameloblast (RA) には免疫反応がみられるが, smooth-ended ameloblast (SA) にはみられない。

ES: エナメルスペース, PDL: 歯根膜

#### 第 5 図 成熟期中期のエナメル芽細胞

免疫反応は RA にかみられるが, SA にはみられない。

ES: エナメルスペース

#### 第 6 図 成熟期後期のエナメル芽細胞

免疫反応は RA みにみられる。

ES: エナメルスペース