

板鰓類のエナメロイドの特徴

笹川 一郎*

軟骨魚類板鰓類(サメ・エイ類)の歯は脊椎動物の歯の原点と見なされ、古くから研究が行われている。その歯の表面を覆うエナメロイド(enameloid)は哺乳類のエナメル質に相当する高度に石灰化した組織である。硬骨魚類の歯の表面にも似たような高石灰化組織があり、やはりエナメロイドと呼ばれている。確かに完成した歯では板鰓類と硬骨魚類のエナメロイドはきわめてよく似た組織構造を持っている。そのためもあって従来の歯の比較形態学では哺乳類のエナメル質に対する魚類全体のエナメロイドの組織・発生学的特徴というところに重点がおかれ、板鰓類と硬骨魚類のそれぞれのエナメロイドの比較については、いくつかの先駆的な指摘や研究(Kerr, 1955; 後藤, 1978a; Shellis, 1978; Bendix-Almgreen, 1983など)はあるものの、あまり明らかにはなっていなかった。また、その主張内容の程度に差はあるが板鰓類のエナメロイドを哺乳類のエナメル質の直接の原形あるいは先祖型と位置づけるような説(Moss, 1970; 1977; 後藤, 1976; 1987; Fearnhead, 1979など)も強い影響力をもっている。しかしながら、現在のサメ・エイ類のエナメロイドと同じ硬組織が古生代において両生類や爬虫類のエナメル質の原形となったかどうかは多に疑問となるところである。さらに、板鰓類エナメロイドそのものの組織構造や発生、由来についても数多くの議論がある。本誌では後藤(1970)以降、軟骨魚類の歯と皮膚(楯鱗)の研究が次々と報告されており、諸説の詳細については後藤(1972, 1976, 1978a)にまとめられているが、その後も引き続き議論が行われている。ここでは板鰓類エナメロイドをめぐる主に最近の研究を紹介し、加えて特に硬骨魚類エナメロイドとの違いに注目して板鰓類エナメロイドの特徴について考察してみたい。なお、本論は化石研究会第93回例会(1990年, 松戸)および第97回例会(1991年, 新潟)で発表した内容に加筆したものである。

1) 板鰓類エナメロイドの有機基質

形態学的にとらえられる板鰓類エナメロイドの有機基質には二種類の特徴ある物質が存在する。ひとつはsmall membranous saccules (Garant, 1970), enameline fibrils (tubules) (Kemp & Park, 1974; Kemp, 1985), 小管 (tube) 状構造物(後藤, 1976; 1978a), 25-nm-wide unit fibers (Prostak et al., 1988; 1990)と記載された細線維状あるいは細管状の構造をもつように見える物質である。いまひとつは上記の基質のなかに介在する17.5nm (14.5nm, Kemp & Park, 1974; 17.9nm, Kemp, 1985; 17.5nm, Prostak et al., 1988; 1990) 間隔の横縞を持ち高電子密度で太い, giant fibers (Kemp & Park, 1974; Kemp, 1985)と称される独特な線維である(図版I, 図4)。

これら有機基質の性質や由来については大きく分けると従来3つの見解があった。すなわち1) enameline fibrils (tubules) は上皮細胞(内エナメル上皮細胞)によって分泌されたエナメルタンパクの一種エナメルイン(enamelin)に相当するものでgiant fibersを形成する(Kemp, 1985), 2) 小管 (tube) 状構造物は内エナメル上皮細胞によって分泌されたものであるが, giant fibersは(間葉系細胞に由来する?) コラーゲン線維の一種である(後藤, 1976: 1978a), 3) 25-nm-wide unit fibersはgiant fibersを構成するものであるが, これらは非コラーゲンタンパク, おそらくケラチン様のタンパク質であり間葉系細胞, すなわち象牙芽細胞によって分泌されたものである(Prostak et al., 1988; 1990), というものである。

近年の著者らの観察によると, サメ・エイ類のエナメロイドの有機基質の多くを占める細線維状あるいは細管状に見える構造物は強拡大すると単位膜に囲まれた小胞構造に見える(図版I, 図1, 2; Sasagawa, 1989; Sasagawa & Akai, 1992)。これはGarant (1970)のsmall membranous sacculesという概念とほぼ同じと思われるが, 形態的にこの小胞構造は最初は, すなわち結晶出現以前は細長いチューブ状を呈す

Ichiro Sasagawa : Features of tooth enameloid in elasmobranchs.

Department of Anatomy, The Nippon Dental University, 1-8 Hamaura-cho, Niigata, 951, Japan

*日本歯科大学新潟歯学部口腔解剖学教室

ることと、後に述べる基質小胞との関連を考慮して Sasagawa (1989) はこの構造をチューブ状小胞 (tubular vesicles) と称することを提案した。さらに、チューブ状小胞は象牙芽細胞の突起としばしば連結し、両者の膜が時々連続して見えることから象牙芽細胞由来とみなされている (図版 I, 図 3; Sasagawa, 1989; 1991; Sasagawa & Akai, 1992)。象牙芽細胞由来という考え方は Prostack ら (1988; 1990) と一致している。

次に、いわゆる giant fibers と呼ばれている特異な基質線維であるが、この線維の由来については前述のように意見がわかれており、それが解明できるような詳細な形態学的・生化学的研究はまだない。しかし、微細構造についての著者らの観察結果から考えると、チューブ状小胞によってこの線維が構成されているという考え (Kemp, 1985; Prostack et al., 1988; 1990) には無理がある、と思われる。なぜなら giant fibers とチューブ状小胞はしばしば接しているものの、両者の間に形態的連続性は認められないからである。単位膜で囲まれた小胞が集合して線維の形をとるとは考えにくいし、実際にそのような形態も観察されない。これはチューブ状小胞とは別な構造と思われる。また、giant fibers が象牙芽細胞の突起に接している様子はしばしば見られるが、上皮細胞の中あるいは周囲にこの線維は見られない。したがって、現在のところ giant fibers は象牙芽細胞に由来する線維と考えられ、この点では Prostack ら (1988; 1990) の見解が支持される。ただし、この giant fibers がコラーゲン線維の一種なのかどうかはまだ確認されていない。

コラーゲン線維と考えられるものもエナメロイド基質中には少量認められるが、その横縞の間隔は約 55nm (Prostack et al., 1988; 1990; Sasagawa & Akai, 1992) である (図版 I, 図 4)。これは真骨魚類のエナメロイド基質や哺乳類の象牙質基質に見られる縞間隔が 64-70nm の I 型コラーゲン線維とは形態的にやや異なったものである。

板鯨類エナメロイドの有機基質についての生化学的研究も古くから行われている。Moss ら (1964) はそのアミノ酸組成から、外胚葉由来のコラーゲン線維が存在することを主張したが、それに対し Levine ら (1966) はサメのエナメロイド有機基質は非コラーゲン性物質であり、哺乳類の成熟したエナメル質の有機基質と似ているとした。後藤 (1978b) は外層 (=エナメロイド) のアミノ酸分析の結果から、コラーゲン線維とそれ以外のタンパクの存在を示唆し、Kawasaki ら (1980) もヨシキリサメの皮歯 (楯鱗) からコラーゲン線維と、その外に哺乳類の成熟エナメル質から得られるものと似た成分の有機基質の存在を報告している。サメ類の皮膚のコラーゲン線維は哺乳類の I 型コラー

ゲンによく似ているといわれ (Kimura et al., 1981)、また、皮歯 (楯鱗) の象牙質のコラーゲン線維は皮膚のものとはほぼ同じであるが、哺乳類の象牙質と皮膚のその相違と同じような差が認められるという (Kawaguchi, 1985) しかし、先の giant fibers がコラーゲン線維か否かという問題、さらにコラーゲン線維が約 55nm 間隔の横縞という他の I 型コラーゲンと異なる形態を示す問題などが残っているので、板鯨類エナメロイドにおける線維成分、特にコラーゲン線維の分布や性質については今後さらに形態学的・生化学的検討がのぞまれる。

エナメロイド基質全体の組織構造についてもさまざまな特徴がみられる。サメ類ではチューブ状小胞が疎で比較的線維成分の多い部分がエナメロイド表層 (基底膜直下の層, crystallite-poor zone, Garant, 1970; pre-enamel zone と juxtra-laminar zone, Kemp, 1985) とそこから深層に侵入する隔壁 (collagenous lamellae, Mörnstad, 1974; interpalisadal zone, Kemp, 1985) を構成している。したがって、チューブ状小胞が密につまった基質はこの隔壁によっていくつかの団塊 (palisades, Garant, 1970) に分けられていることになる。しかし、この構造はサメ類では表面側約半分に見られるものであり (後藤, 1978a)、エナメロイド層の薄いアカエイやヒラタエイではこのような構造は認められず、基質は一様に分布しているように見える (図版 I, 図 1; Sasagawa & Akai, 1992)。サメ類のエナメロイドでも薄いところでは隔壁構造が不明瞭になるようであるから、隔壁のある基質構造はエナメロイドの厚さの増加に対応したものかもしれない。

初期の歯胚では歯髄側からエナメロイドへその表面とはほぼ垂直に侵入する好銀性線維が記載されている (reticular fiber, Kerr., 1955; Korff の線維, 後藤, 1978a など)。さらに、完成したエナメロイドにおいてもあるサメ類はエナメル細管 (enamel tubules) を有し、そこに象牙芽細胞の突起が侵入していることが報告されている (Akai et al., 1966; Ripa et al., 1972)。

さらに電顕で明瞭に認められるような構造体を作らない非コラーゲンタンパクや多糖類などの有機基質の存在も注目されている。Everett と Miller (1981) は組織化学的に検討して、アブラツノザメのエナメロイドは哺乳類の歯の石灰化組織のどれとも似ていない特異な組織であると考え、さらにサメのエナメロイド中にはウシの形成期エナメルタンパクに似たもの、ケラチン、基底膜物質、エラスチンは存在しないが、コラーゲン、炭水化物、ムコタンパクは存在する可能性があるとしている。一方、最近の免疫組織化学による研究では、サメの皮歯のエナメロイドにアメリゲニン (amelogenin) 抗体による反応が報告され (Herold et

al., 1980), アメロジェニン抗体 (ハツカネズミのアメロジェニンに体するウサギのポリクロナール抗体) を用いた免疫組織化学ではアブラツノザメの形成期エナメロイド基質中に反応を得ている (Slavkin et al., 1983b)。これらは上皮細胞がエナメルタンパクを合成し、エナメロイドへ分泌していることを示唆すると理解されている。円口類メクラウナギの角質歯にも哺乳類のエナメルタンパクに対する抗体に反応する物質が存在することから、円口類や軟骨魚類の段階ですでに上皮細胞はエナメルタンパク、おそらくエナメルリンに相当する物質を分泌していると推測されている (Slavkin et al., 1983a)。さらにエナメルリン (この場合 tuftelin) の抗体がネコザメのエナメロイドと反応したことも報告されている (Deutsch et al., 1991)。しかし、最新の電顕免疫組織化学では哺乳類のアメロジェニン抗体とエナメルリン抗体ではサメの形成期エナメロイドは反応しないという結果も出ている (Ishiyama et al., 1992)。免疫組織化学による研究はまだ多くの問題を含んでおり、抗原となる物質の吟味もふくめ今後さらに検討が必要と思われる。

2) 初期石灰化の特徴

板鰓類のエナメロイドではチューブ状小胞の所に最初に結晶が出現するという事は多くの研究者が認めている (Kemp & Park, 1974; 後藤, 1978a; Kemp, 1985; Probst et al., 1988; 1991)。さらに Garant (1970) と Sasagawa (1989; 1991), Sasagawa & Akai (1992) は最初の結晶は単位膜によって囲まれた囊状あるいは小胞状構造の中に存在するとしている。これは初期の結晶の周囲には必ず単位膜が見られ、この膜がチューブ状小胞と連続している、という観察結果にもとづいている (図版II, 図1, 3)。結晶がまだ出現していない段階の非脱灰超薄切片ではチューブ状小胞中に電子密度の高い斑点が多数存在し、この部分をエネルギー分散型X線微小部分分析装置 (EDX) 付透過電顕で分析すると、常にではないが時々カルシウムが検出されることから、この高電子密度の斑点は結晶の前駆物質である可能性も示唆される (Sasagawa, 1989; Sasagawa & Akai, 1992)。したがって、板鰓類エナメロイドの最初の結晶形成は単位膜で囲まれた空間、すなわちチューブ状小胞の中で起こるものと思われる。これら初期の結晶は特定の部位に集中して出現するものではなく、エナメロイドの表層から深層へかけての全層にわたってチューブ状小胞の集積している領域に点々と現われてくる (後藤, 1978a; Sasagawa & Akai, 1992)。しかし、エナメロイド全体としてみると歯頸部より尖頭側のほうに早く結晶の出現が見られ、その後の石灰化も先行する (Kerr, 1955; Sasagawa,

1989)。

萌出した歯の舌側につらなる歯胚列において、エナメロイドの石灰化が始まった段階の歯胚のすぐ唇側の歯胚はもうすでにエナメロイドの石灰化がかなり進んだ段階になっている。また石灰化が始まったエナメロイドでは、結晶が小さく、まばらに分布している部位と大型の結晶が多数出現している部位が隣接している。おそらくエナメロイドの中の結晶は急速に成長し、その数を増加させるものと思われる。さらに、結晶が多く見られる部位でも大型結晶の間には小さな結晶が存在するので、ある期間に結晶の形成、成長が次々と起こるものと思われる (図版II, 図2, 3; Sasagawa & Akai, 1992)。板鰓類のエナメロイド結晶の形態は比較的整った六角柱であることが報告されている (Garant, 1970; Kemp & Park, 1974; 後藤, 1978a; Sasagawa, 1989; Miake et al., 1991)。六角柱の形態が明瞭に認められるほど大きくなった結晶でもその周囲には単位膜状の構造が認められ、さらにそれがチューブ状小胞と連続してあたかも結晶が尾をひいているような像もしばしば見られる。この事から結晶はしばらくはチューブ状小胞の中で成長するものと考えられる (図版II, 図3; Sasagawa, 1989; Sasagawa & Akai, 1992)。

成長している結晶の間には giant fibers やコラーゲン線維が認められる。しかし、初期の段階では結晶がこれらの線維に集積する像は見られず、いわゆるコラーゲン線維性石灰化は起こらない (図版II, 図2)。この段階では基質の線維成分は石灰化にあまり関係していないものと思われる (Kerebel et al., 1977; Sasagawa, 1989; Probst et al., 1990)。しかし、結晶の長軸の方向は、線維成分の配列によって規定されているようである (Kemp & Park, 1974; 後藤, 1978a)。

石灰化が進行した段階のエナメロイドには大型の結晶が密に詰まっている様子が観察されている (後藤, 1978a)。また、エナメロイドの歯頸部端や象牙質との境界部では大型の結晶の間に象牙質のものと思われる小型で細い針状結晶が入りこみ、間隙を満たしている様子も観察される (Sasagawa, 1989)。

サメのエナメロイドの石灰化の仕方はマイクロラジオグラフィや EPMA (X線マイクロアナライザー) によって調べられているが、それによると部位によって進行が異なるものの歯頸部2/3では初めは中層の石灰化度の上昇が最も著しく、最終的には表層が最も石灰化度がよくなって深層に向かって低下していくという傾向がある (Fosse et al., 1974, 須賀ら, 1978; Risnes, 1990)。完成した板鰓類エナメロイドの構造や成分については多くの報告がある。EPMA による分析では高濃度 (3.0~3.5%) の F (フッ素) がサメ類の成熟エナメロイドから検出されている (須賀ら,

1978)。またX線粉末回折法や化学分析法、フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) 法によってFは結晶と密接に関係しており、その結晶成分はフルオルアパタイト (fluorapatite) にちかひもの (Glas, 1962; Møller et al., 1975, 後藤, 1978b; Daculsi & Kerebel, 1980; LeGeros & Suga, 1980), さらに fluoridated carbonate-apatites (Miake et al., 1991) とされている。Møllerら (1975) は萌出後にFが集積すると考えたが、Büttner (1966) は歯胚の段階ですでに純粋なフルオルアパタイトに近いほどFが濃縮するとしている。さらに、Fの濃縮はエナメロイド形成の間に起こると言われている (LeGeros & Suga, 1980)。形成初期の結晶そのものについてはまだ確認されていないが、結晶形成の初期から高濃度のF (2.5%かそれ以上) がエナメロイドに含まれていると報告されている (Miake et al., 1991) したがって、板鰓類のエナメロイド結晶が最初からフルオルアパタイトにきわめて近い結晶として作られる可能性も十分に考えられる。さらにFを濃縮する細胞は内エナメル上皮細胞であると考えられているが (Daculsi & Kerebel, 1980), 前述のように象牙芽細胞由来のチューブ状小胞の中で結晶が形成され、その結晶が最初からフルオルアパタイト様結晶であるならむしろFは象牙芽細胞によって供給され濃縮される、と考えられる。

3) 歯胚上皮性要素の形態的特徴と役割

前述のようにいくつかの組織化学や生化学的研究ではサメ類のエナメロイドに上皮由来の物質が存在することが示唆されてきた。従来の透過電顕を用いた細胞学的研究でも、板鰓類のエナメロイド形成には上皮細胞が大きく関与すると考えられていた (Kemp & Park, 1974; 後藤, 1978a; Nanci et al., 1983; Kemp, 1985)。しかし、エナメロイド形成は主要には象牙芽細胞によって行われ、特に初期には上皮細胞は以前考えられていたほど関与していない、という考えが最近発表されている (Prostak et al., 1988; 1990: Sasagawa, 1989; Sasagawa & Akai, 1992)。

内エナメル上皮 (IDE) 細胞はエナメロイド基質形成期にはすでに背の高い細胞になっており、大型の核がほぼ中央に位置している。しかし、細胞質全体に分布する糸粒体をのぞけば細胞小器官の発達はあるく、細胞質は明調である。この期のIDE細胞はPAS強陽性を示し (柿澤, 1984), 多数のグリコーゲン粒子とその集合体が存在するのが大きな特徴である (後藤・橋本, 1977; 後藤, 1978a; Sasagawa & Akai, 1992)。特に核の遠心側にはしばしばグリコーゲン粒子の集合体が見られる。隣合ったIDE細胞間には細胞膜のかみ合いがあり、近心側の閉鎖堤は認められるが遠心側のそれ

は見られない (後藤, 1978a, Sasagawa & Akai, 1992)。Kemp & Park (1974) と後藤 (1978a), Kemp (1985) はIDE細胞中、あるいは基底膜にエナメロイド基質を構成するチューブ状小胞構造が存在すると記載している。しかし、これはIDE細胞中の小胞体系とチューブ状小胞の区別の問題、チューブ状小胞が基底膜を通過するか否かという問題が残されており、またエナメロイド基質を合成・分泌するというIDE細胞の細胞小器官の実態、またその合成・分泌機構が不明瞭のまま残されている、と思われる。また、Graham (1984) はサメの歯胚を器官培養して、エナメロイド基質形成中のIDE細胞のタンパク合成能力をオートラジオグラフィーで調べ、IDE細胞は象牙芽細胞とともにその能力が高いとしている。一方、Prostakら (1990) はコルヒチン投与によってエナメロイド基質形成期のIDE細胞に起きる形態的变化はグリコーゲン粒子に関するもののみであったことから、この期のIDE細胞の主な役割はグリコーゲンの貯蓄とこれに由来する炭水化物をエナメロイド基質へ放出することのみと考えている。光顕での組織化学による研究でも炭水化物が存在する可能性を指摘した前述のEverettとMiller (1981) の他に、柿澤 (1984) が基質形成期のエナメロイドは反応を示さないが、石灰化期に入ると、多糖類、特にヒアルロン酸に豊富な酸性ムコ多糖が多くなることを示唆している。しかし、IDE細胞中のグリコーゲンにしてもIDE細胞そのものの以後の分化に使われる可能性も充分考えられ、はたして上皮側から多量の炭水化物がエナメロイド側に添加されているものかどうか、という疑問もある。

エナメロイド基質形成期が終わり石灰化が始まると、IDE細胞の細胞小器官は発達する傾向を示すようになる。特に遠心側細胞質に滑面小胞体や小胞、顆粒が増加する。グリコーゲン粒子の数は著しく減少するが、歯頸部のIDE細胞にはまだ多く見られる。隣接細胞間の膜のかみ合いも発達する。IDE細胞の近心側は2, 3層の比較的扁平で暗調な上皮細胞によって覆われている。後藤 (1978a) や Nanci et al. (1984) もエナメロイドの石灰化が始まってから、IDE細胞中の細胞小器官が発達し、特に後半では多様な顆粒や小胞体の発達が認められる、としている。したがって、上皮細胞がエナメロイド形成に関与するとしたら、この石灰化開始後の時期にもっとも可能性があるものと思われる。さらに、基底膜がエナメロイド基質形成期には常に存在し上皮細胞とエナメロイドを分けていることも問題のひとつである。KallenbachとPiesco (1978) によると、基底膜は石灰化期でもむしろ厚くなって存在しているという。もし、上皮細胞がある物質を合成し、エナメロイド側へそれを分泌・添加しているとしても、

IDE細胞の細胞小器官が発達してくるのはもうすでにエナメロイド基質が形成された後で石灰化が進行している時期だから、この物質は基質形成と初期石灰化に関与するものではなく、むしろエナメロイド有機基質の分解、脱却と結晶の成長、それによる石灰化の促進、あるいは基底膜を含めた最表層部（この部分は上皮性エナメル質と相同という考えがある、詳細後述）の形成に関係すると考えたほうがうまく説明できる。

4) 象牙芽細胞の形態的特徴と役割

エナメロイド形成における上皮細胞の役割の見直しによって、相対的に象牙芽細胞の役割の重要性が注目されていると言える。（ここでは象牙質のみに限定せずエナメロイドもふくめた広い意味での歯質を作ることに関与する間葉系細胞という意味で象牙芽細胞という用語を便宜的に使用する。）

エナメロイド基質形成期では象牙芽細胞は細長くなり、その細胞質に発達したゴルジ装置と豊富な粗面小胞体、糸粒体、小胞、多様な顆粒を含む。また形成中のエナメロイド基質に突起を伸ばしている。エナメロイド基質を構成するチューブ状小胞とコラーゲン線維は前述のように象牙芽細胞由来と考えられる (Prostak, et al., 1988; 1990; Sasagawa, 1989; Sasagawa & Akai, 1992)。さらに giant fibers も象牙芽細胞に由来する可能性が考えられている。そのうえエナメロイドの最初の結晶形成はチューブ状小胞の中で起こり、そこで結晶成長も進むので、初期石灰化を制御しているのも象牙芽細胞ということになる。板鰓類のエナメロイド形成では象牙芽細胞は有機基質の大部分を分泌しているのみか、初期石灰化の重要な部分を担っていることが強く示唆される。

エナメロイドの石灰化が始まると象牙質の形成も始まる。初めに形成される未石灰化の象牙質基質（象牙前質）は主にコラーゲン線維から成り、さらに giant fibers とチューブ状小胞、基質小胞、象牙芽細胞の突起が加わる。ここでも象牙芽細胞の突起とチューブ状小胞、giant fibers は密に接している。象牙芽細胞の突起中には時々チューブ状小胞を取り込んだように見える多胞体や二次水解小胞が認められる。象牙芽細胞の細胞質には発達したゴルジ装置や多くの糸粒体、拡張した粗面小胞体、多数の一次水解小胞や顆粒と小胞の他にいくつかの大型の多胞体も認められる。この時期の象牙芽細胞は象牙質の形成とともに過剰に形成された象牙質基質中のチューブ状小胞などを吸収、破壊しているようにも見える (Sasagawa, 1989)。

5) 全頭類および真骨魚類との比較

板鰓類とならび軟骨魚類を構成するもうひとつのグ

ループは全頭類（ギンザメ類）である。全頭類はエナメロイドを有していないが、その骨質の歯板のなかにプレロミン (prelomin, あるいは preloimic hard tissue, ϕ rvig, 1967) という高石灰化組織を持っている。プレロミンはきわめて高い石灰度を示す組織であるが、上皮細胞の関与がなく間葉系の細胞のみによって形成されるという特徴がある。またギンザメのプレロミンを構成する鉱物はフィトロッカイト (whitlockite, Ishiyama et al., 1984) であり、これは正常な歯牙組織としてはめずらしいことである。プレロミンの結晶はチューブ状小胞によく似た、同じく単位膜で囲まれた間葉系細胞由来の tubular saccules の中で形成される (Ishiyama et al., 1991)。板鰓類のエナメロイドで起こるチューブ状小胞中の結晶形成は、真骨魚類エナメロイドの基質小胞性石灰化よりこの全頭類のプレロミン中の結晶形成様式にはるかに近いように思われる。板鰓類のエナメロイドや全頭類のプレロミンに見られる、象牙芽細胞のような間葉系細胞に由来する単位膜で囲まれた微小な小胞あるいは囊胞のなかで結晶が形成され、成長するという様式は脊椎動物硬組織の系統発生のなかで基質小胞性石灰化が発達する以前の原始的な多様な石灰化形式のひとつをとどめているのかもしれない。あるいは、最初からコラーゲン線維の乏しい部位ではこのような結晶形成が可能なのかもしれない。

硬骨魚類中現在最も繁栄している真骨魚類のエナメロイドと板鰓類のエナメロイドは同様に歯冠表面を覆う高石灰化組織であり、共にエナメロイドという名称 (ϕ rvig, 1967; Poole, 1967) が使われることがおおい。さらに真骨魚類のエナメロイドと板鰓類のそれとは相同である (Moss, 1969; 1977), あるいは、サメ類のエナメロイドは真骨魚類のエナメロイドと同じようにして作られる (Reif, 1979) とする見解がある。しかし、それらの発生過程を比較してみると有機基質や石灰化様式にいくつかの大きな違いが認められる。

板鰓類のエナメロイド基質の多くは象牙芽細胞由来と思われるチューブ状小胞によって占められているが、一方、数種の真骨魚類のエナメロイド形成においてもチューブ状構造物の出現が知られている (小野, 1974; Yamashita & Ichijo, 1983)。しかし、その出現時期は板鰓類のチューブ状小胞がエナメロイド基質形成期の最初から現われるのに対し、真骨魚類のチューブ状構造物はエナメロイド基質形成終了後の石灰化期から見られるようになる。また、板鰓類のチューブ状小胞はエナメロイド基質の主要成分であるが、真骨魚類のチューブ状構造物はエナメロイド表層に存在するのみである。さらに、真骨魚類のチューブ状構造物は板鰓類のチューブ状小胞と違って単位膜で囲まれた構造を呈していない。おそらく、この両者は別な構造であろ

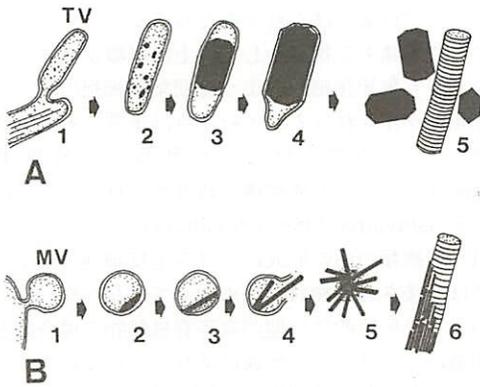


図1 A, 板鰓類エナメロイドの初期石灰化様式

1. チューブ状小胞 (TV) が象牙芽細胞の一部より形成される。
2. チューブ状小胞中に高電子密度の斑点が出現する。これらは結晶の前駆物質である可能性がある。
3. チューブ状小胞中に結晶が出現する。
4. 結晶が成長してある程度大きな六角柱となっても単位膜に囲まれている。
5. コラーゲン線維を含む線維成分に沿う結晶の集積, 沈着は不明瞭である。

B, 真骨魚類エナメロイドの初期石灰化様式。

1. 基質小胞 (MV) が象牙芽細胞より形成される。
- 2と3. 基質小胞中に針状結晶が形成される。
4. 針状結晶の成長によって基質小胞がやぶれる。
5. 栗の毬状の針状結晶の小集塊が形成される (以上, 基質小胞性石灰化)。
6. 続いてコラーゲン線維 (I型) に沿う結晶沈着が起こる (コラーゲン性石灰化)。

う。しかしながら, 真骨魚類でも大型結晶の出現する領域に板鰓類のチューブ状小胞と似たような構造物が見られることはきわめて興味深い。次に線維成分についてみると, 板鰓類に観察された17.5nm 間隔の横縞を持つ giant fibers は真骨魚類のエナメロイド基質には認められない。さらに, 板鰓類のエナメロイド基質に見られるコラーゲン線維は約55nm の横縞間隔を示しており, 真骨魚類のエナメロイド基質の主体をなしている64-70nm の横縞間隔をもつ I 型コラーゲン線維ともやや異なっている。

石灰化様式もいくつかの点でおおきく異なっている。真骨魚類では最初の石灰化はエナメロイド基質形成後, エナメロイドと象牙質の境界付近で始まる (Sasagawa, 1988)。板鰓類では尖頭部のエナメロイド基質中で最初の石灰化が起こり (Kerr, 1955; 須賀ら, 1978), 初期の結晶はエナメロイドの表層から深層にか

けて一様に出現し特に象牙質との境界部に集中することはない (Sasagawa, 1989)。また, 真骨魚類エナメロイドの初期石灰化は他の脊椎動物の歯や骨で見られるのと同様な基質小胞性石灰化であるが (Sasagawa, 1988), 板鰓類エナメロイドの場合は基質小胞は認められず, かわってチューブ状小胞が出現しその中で結晶が形成される (Garant, 1970; Sasagawa, 1989)。真骨魚類では深層から発した石灰化がエナメロイド表面に達するまでは結晶は小型で針状のままであるが, 板鰓類エナメロイドではチューブ状小胞中に生じた結晶はすぐ六角柱状と判定できるまでに成長する (Sasagawa, 1988; 1989)。真骨魚類エナメロイドでは最初の基質小胞性石灰化からコラーゲン線維に針状結晶が集積する様式 (コラーゲン線維性石灰化) に引き継がれて石灰化が進行する (Sasagawa, 1988)。一方, 板鰓類エナメロイドでは結晶が基質中の線維に集積していく像は得られず, 初期では基質線維は石灰化に関与していないようである (第1図; Kerebel et al., 1977; Sasagawa, 1989)。

さらに, エナメロイドを形成する細胞形態の変化についても差異が認められる。まず, 象牙芽細胞だが, 前述のように有機基質と石灰化様式に隔たりがあるわけだからそれらを直接つかさどっているそれぞれの象牙芽細胞にも当然形態的および機能的な違いがある, と思われる。しかし, 真骨魚類のエナメロイド基質であるコラーゲン線維が象牙芽細胞由来と考えると, 象牙芽細胞はエナメロイド基質のほとんどを形成し, さらに石灰化 (の少なくとも前半) をつかさどる, という大筋では真骨魚類と板鰓類は共通しているように思われる。

上皮細胞の形態変化を比較すると明らかに差異が認められる。真骨魚類のエナメロイド形成の基質形成期では内エナメル上皮 (IDE) 細胞は基質の沈着に伴ってしだいにその背の高さを増し, 細胞質中の小器官の数も増加していく。ゴルジ装置や粗面小胞体, 顆粒, 小胞などが発達して核の周囲を充たすようになり, IDE 細胞は合成と分泌をおこなう細胞の形態に分化すると言える (Shellis & Miles, 1976; Sasagawa, 1984)。この時期, 板鰓類の IDE 細胞は背が高くなるものの前述のごとくゴルジ装置や粗面小胞体などの発達が悪く, グリコーゲン粒子の貯留が見られる。次に石灰化が始まり石灰化期となり, それがエナメロイド表面に達して成熟期に入ると, 真骨魚類の上皮細胞は大きく形態的に変化する。すなわち, 粗面小胞体は目立たなくなり, 一方, 糸粒体や滑面小胞体, 小胞, 顆粒などが発達し, 遠心端には著しい細胞膜の陥入 (波状縁) が現れる。IDE 細胞は明らかに吸収を行う細胞の形に変化したと言える (Shellis & Miles, 1976; Sasagawa,

1984)。さらに IDE 細胞を取り巻く上皮細胞(この場合外エナメル上皮細胞)も細胞質中に細管構造が発達し、物質を輸送しやすい形態に変わる。真骨魚類のこの時期の上皮細胞はエナメロイドから基質を脱却して高石灰化組織の形成をおこなっているものと考えられる。板鰓類の場合は石灰化が起ってから IDE 細胞中の細胞小器官は発達する様子を見せ、小胞体や小胞、各種の顆粒などが増加する(後藤, 1978a)。しかし、石灰化がさらに進むと上皮細胞は退行を始め、遠心端に著しい細胞膜の陥入(波状縁)を持つような形態は現われないうである。また、何種類かの真骨魚類のエナメロイドでは Fe (鉄) が沈着することがあり(Suga et al., 1992 など)、この Fe はエナメロイド成熟期に上皮細胞によってエナメロイドへ輸送されるものと考えられる(Sasagawa, 1992 など)。しかし、板鰓類のエナメロイドではこの様な Fe 沈着は今のところ報告されていない。

以上はきわめて大まかな形態変化による比較ではあるが、エナメロイド形成についての上皮細胞の関与の程度、特に後半のエナメロイド成熟期における上皮細胞の関与は真骨魚類のほうが板鰓類よりはるかに大きいことが示されているように思われる。

この様に比較してみると板鰓類のエナメロイドは真骨魚類のエナメロイド、さらに哺乳類のエナメル質ともかなり異なった組織のように思われる。従来の研究でもいくつかの点で板鰓類エナメロイドの特異性は指摘されていた(Kerr, 1955; Everett & Miller, 1981)。最近の結晶学的研究でもこの3者は明らかに異なっているとされている(Miake et al., 1991)。Prostakら(1991)は硬骨魚類のエナメロイドと軟骨魚類のそれを明瞭に区別している。また、Bendix-Almgreen(1983)は化石のサメの歯を走査電顕で観察した結果、硬骨魚類のエナメロイドをアクロディン(acrodin, ϕ rvg, 1978)とするのに対し、板鰓類のエナメロイドをコロノイン(coronoïn)とよんで区別することを提唱している。

板鰓類のエナメロイドと真骨魚類のエナメロイドは高等脊椎動物の上皮性エナメル質に対して間葉系細胞が関与した非あるいは半上皮性エナメル質様硬組織という意味で「エナメロイド」として一括されてきた。今後はさらに板鰓類エナメロイドと真骨魚類エナメロイドを有機基質、石灰化機構、形成細胞の関与の度合が異なるものとして区別して考えるべきではないだろうか。

6) 系統発生の解明へむけて

はたして板鰓類のエナメロイドあるいは真骨魚類のエナメロイドは哺乳類のエナメル質の直接の原形(直

系)として位置づけられるのだろうか。

ここで興味ある視点として、上皮組織が直接に関与しなくても象牙芽細胞のような間葉系細胞のみで高石灰化組織が作られる、という点は重要である。全頭類ギンザメのプレロミンや肺魚の岩様象牙質(petrodentine)の形成機構の研究がそれを明らかにしている(Ishiyama, 1988; Ishiyama et al., 1984; 1990; 1991)。板鰓類の歯の形成における上皮細胞の役割については今後さらに検討を進めなくてはならないが、前述のように形態的には他の高等脊椎動物の場合ほど上皮組織はエナメロイド形成に関与していないように見える。一方、象牙芽細胞は基質形成と石灰化をおこなっているようである。したがって、板鰓類でも上皮組織と直接に接しているとはいえ象牙芽細胞が歯冠部高石灰化層(すなわちエナメロイド)の大部分を形成する可能性は十分考えられることである。

Sireら(1987)は硬骨魚類のポリプテルス類カラモイクティスのガノイン鱗の再生実験をおこないその発生過程を観察した。その結果、ガノイン鱗の表層はエナメロイドではなくて上皮性エナメル質であり、カラモイクティスでは上皮性エナメル質とエナメロイドが共存していると述べている。また、全骨魚類ゲーバイクの歯のカラーエナメロイド(collar enameloid)最表層も上皮性エナメル質といわれている(Prostak et al., 1989)。Smith(1989)は化石肉鰭類(総鰭類と肺魚類)の歯と鱗を走査電顕で観察し、それらの表層に上皮性エナメル質と思われる層を報告し、系統発生的には上皮性エナメル質の発生が先で、エナメロイドはその後に出現したという仮説を展開している。

ここで問題になるのが板鰓類の歯あるいは皮歯の構造である。もし板鰓類エナメロイドが象牙芽細胞によってそのほとんどが形成されるという全頭類ギンザメのプレロミンにきわめて近い高石灰化組織であったとしたなら、上皮組織と象牙芽細胞の両方が関与して形成される真骨魚類エナメロイドは系統発生的には板鰓類エナメロイドより新しい時代の産物になるかもしれない。また、板鰓類エナメロイドの最表層には薄い高石灰化層があり、ここは上皮性エナメル質に相当するという推測が古くからなされている(shiny layer; Poole, 1971; Clement, 1984)。この最表層の薄層は石灰化期中頃から特に高い石灰化度を示すようになり、その下の石灰化度の低い層とははっきり区別されるので、エナメル器由来かもしれない(須賀ら, 1978)とされ、また、エナメロイドの石灰化がかなり進んだ段階でも脱灰した標本では歯の表層には比較的厚い上皮細胞に由来すると思われる基底膜様構造が認められる(Sasagawa, 1989)。もし、この厚い基底膜様構造が石灰化して最表層となればここは上皮性エナメル質と相

同と考えてもいいのではないかとすれば、板鰓類でも上皮性エナメル質と板鰓類エナメロイドは共存していることになる。

ところで、Reif (1973, 1979) は板鰓類エナメロイドの化石を系統的に検討し、原始的な板鰓類のエナメロイドはすべて single-crystallite enameloid (結晶が束を作らずに個々別々で、不規則か表面に垂直あるいは平行な配列をする) であるが、三疊紀以降に出現した Euselachii (正鰩類あるいはサメ類、現代まで存続する板鰓類の中心的グループ) では深層 (woven enameloid)、中層 (parallel-structured enameloid)、最表層 (いわゆる shiny layer) の3層が分化したと述べている。そうであれば、板鰓類の歯でも最表層の上皮由来と思われる層は系統発生でも個体発生でもエナメロイドの後から形成された可能性があることになる。

おそらく現在の上皮性エナメル質と板鰓類エナメロイド、真骨魚類エナメロイドはそれぞれすこし別な系統発生の過程を持っているものと考えられる。今後はさらに化石も含めた比較検討によって、それぞれの硬組織のもつ特徴のうちどれが原始的で、どれが二次的に獲得してきたものかを検討していくことが必要である。系統発生を明らかにしていくにはやはり化石の研究が不可欠であって、現生生物の個体発生の研究からだけで判断を下すのは明らかに片手落ちと思われる。

板鰓類の歯は硬組織の系統発生をたどる上で確かにその原点とも言える位置にあり、きわめて重要である。しかし、そうした面だけでなく、板鰓類ほど長く地球の歴史の中を生きぬき、かつ水中でなお繁栄している脊椎動物も他にないので、その進化の秘密を硬組織の面から解き明かすこともまた大切であると考えられる。

一方、少し別な視点から見ると歯の組織は生物の代謝を反映している、と考えられる。哺乳類の歯の成長線はその具体的な例のひとつである。板鰓類や硬骨魚類のエナメロイドには成長線に相当するものが認められないが、これらの順次交換している多生歯性の歯は歯のひとつひとつが哺乳類などの歯の成長線の1本1本と似たような意味を持っていると考えられる。したがって個々の歯の観察・分析のみならず、何代にもわたって連なる歯胚列中の個々の歯の比較検討も重要な意味を持つてくると考えられる。

また、板鰓類や硬骨魚類のエナメロイドには F や Fe (Fe は硬骨魚類の場合) が集積される事について、エナメロイドは過剰元素の排泄の場であるとする説 (須賀, 1988) がある。もし、生体にとって毒となる、あるいは不用となった上記のような過剰元素が解毒作用によって歯に濃縮されるのなら、他の有害物質もたまる可能性はないだろうか。この場合アパタイトとの

親和性も考えなければいけないが、この様な視点から逆にエナメロイドの組成と結晶を見ることも大切である、と考えられる。

以上の様な解析が進んでいけば硬組織からその生物体の代謝の一端が解明され、さらにそれらの環境を分析する上でも重要な要素あるいは示標になると思われる。これは、化石と現生生物を同じ土俵の上に乗せることができ、化石を現代と未来に生かすひとつの道と思われる。

謝 辞

本研究を進めるにあたり日本歯科大学歯学部病理学教室の故須賀昭一教授にはその端緒から終始貴重なご教示とはげましをいただきました。ご冥福をお祈りするとともに心から感謝の意を表する次第です。また、日本歯科大学新潟歯学部第二解剖学教室の石山巳喜夫博士には数々の貴重なご助言をいただきました。さらに、新潟大学理学部付属臨海実験所の本間義治教授と北見健彦博士、日本歯科大学新潟歯学部生物学教室の千葉晃教授、下田海中水族館の萩原宗一氏、北陸水技研 (当時) の方々には材料採集についてご協力、あるいは便宜を計っていただきました。ここに厚くお礼申し上げます。また、本研究の一部は文部省科学研究費補助金 (No. 60771487 と No. 62771442) によって行われた。

文 献

- Akai M, Kitamura T, Sakita M, Kariyama M, Nishijima S (1966): On the enamel tubes of a shark (*Heterodontus japonicus*), *J Osaka Univ Dent Sch* 6, 33-45.
- Bendix-Almgreen SE (1983): *Carcharodon megalodon* from the upper miocene of denmark, with comments on elasmobranch tooth enameloid: coronoin, *Bull geol Soc Denmark* 32, 1-32.
- Bütter W (1966): Konzentration und verteilung von fluoid in haifishczähnen. *Advances Fluorin Res* 4, 193-200.
- Clement JG (1984): Changes to structure and chemistry of chondrichthyan enameloid during development, In: *Tooth Enamel IV* (Fearnhead RW, Suga S eds), pp. 422-426, Elsevier, Amsterdam.
- Daculsi G, Kerebel LM (1980) Ultrastructural study and comparative analysis of fluoride content of enameloid in sea-water and fresh-water sharks, *Archs oral Biol* 25, 145-151.

- Deutsch D, Palmon A, Dafni L, Shenkman A, Sherman J, Fisher L, Termine JD, Young M (1991): Enamelin and enameloid, In: Mechanisms and Phylogeny of Mineralization in Biological Systems (Suga S, Nakahara H eds), pp. 73-77, Springer-Verlag, Tokyo.
- Everett MM, Miller WA (1981): Histochemistry of lower vertebrate calcified structures. I. Enamel of the dogfish *Squalus acanthius* compared with mammalian enamel and homologous dentine, *J Morphol* 170, 95-111.
- Fearnhead RW (1979): Matrix-mineral relationships in enamel tissues. *J Dent Res* 58, Special Issue B, 909-916.
- Fosse G, Risnes S, Holmbakken N (1974): Mineral distribution and mineralization pattern in the enameloid of certain elasmobranchs, *Archs oral Biol* 19, 771-780.
- Garant PR (1970): An electronmicroscopic study of the crystal-matrix relationship in the teeth of the dogfish *Squalus acanthias* L, *J Ultrastruct Res* 30, 441-449.
- Glas JE (1962): Studies on the ultrastructure of dental enamel. VI. Crystal chemistry of shark's teeth, *Odont Revy* 13, 315-326.
- 後藤仁敏 (1970): サメの歯の古生物学的研究(その1) 問題提起と基礎研究, 化石研究会誌, 3, 23-62.
- 後藤仁敏 (1972): サメの歯の構造と発生に関する諸問題, 化石研究会誌, 5, 17-35.
- 後藤仁敏 (1976): サメの歯の発生と脊椎動物における歯の系統発生に関する一考察, 地球科学, 30: 206-221.
- 後藤仁敏, 橋本 巖 (1977): 生きている古代魚ラブカ *Chlamydoselachus anguineus* の歯に関する研究, II. 歯と皮歯の発生について, 歯基礎誌, 19, 159-175.
- 後藤仁敏 (1978a): ドチザメの歯に関する組織発生学的研究. 口病誌, 45, 527-584.
- 後藤仁敏 (1978b): 現生および化石サメの歯に関する組織学的・生化学的研究. 鶴見歯学, 4, 85-104.
- 後藤仁敏 (1987): エナメル質の起源と進化: エナメル質, その形成, 構造, 組成と進化(須賀昭一編). 222-233頁, クインテッセンス出版, 東京.
- Graham EE (1984): Protein biosynthesis during spiny dogfish (*Squalus acanthias*) enameloid formation. *Archs oral Biol* 29, 821-825.
- Herold RC, Graver HT, Christner P (1980): Immunohistochemical localization of amelogenins in enameloid of lower vertebrate teeth, *Science* 207, 1357-1358.
- Ishiyama M, Sasagawa I, Akai J (1984): The inorganic content of pleromin in tooth plates of the living holocephalan, *Chimaera phantasma*, consists of a crystalline calcium phosphate known as β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Whitlockite), *Arch Hist Jpn* 47, 89-94.
- Ishiyama M, Teraki Y (1990): The fine structure and formation of hypermineralized petrodentine in the tooth plate of extant lungfish (*Lepidosiren paradoxa* and *Protopterus sp.*), *Arch Histol Cytol* 53, 307-321.
- Ishiyama M, Yoshie S, Teraki Y, Cooper EWT (1991): Ultrastructure of pleromin a highly mineralized tissue comprising crystalline calcium phosphate known as whitlockite, in holocephalian tooth plates, In: Mechanisms and Phylogeny of Mineralization in Biological Systems (Suga S, Nakahara H eds). pp453-457, Springer-Verlag, Tokyo.
- Ishiyama M, Inage T, Shimokawa H, Sasagawa I, Ferguson MWJ, Teraki Y (1992): Immunohistochemistry and immunocytochemistry of enamel proteins in lower vertebrates, *Connective Tissue Research* 27, 90.
- 柿澤佳子 (1984): ネズミザメ *Lamna ditropis* H_{UBBS} & F_{OLLETT} の歯について, 日本歯学, 58, 59-69.
- Kallenbach E, Piesco NP (1978): The changing morphology of the epithelium-mesenchyme interface in the differentiation zone of growing teeth of selected vertebrates and its relationship to possible mechanisms of differentiation, *J Biol Buccale* 6, 229-240.
- Kawaguchi T (1985): Chemical nature of collagen in the placoid-scale dentine of the blue shark, *Prionace glauca* L., *Archs oral Biol* 30, 385-390.
- Kawasaki H, Kawaguchi T, Yano T, Fujimura S, Yago M (1980): Chemical nature of proteins in the placoid scale of the blue shark, *Prionace glauca* L., *Archs oral Biol* 25, 313-320.
- Kemp NE (1985): Ameloblastic secretion and calcification of the enamel layer in shark teeth, *J Morphol* 184, 215-230.
- Kemp NE, Park JH (1974): Ultrastructure of the enamel layer in developing teeth of the shark *Carcharhinus menisorrhah*, *Archs oral Biol* 19, 633-644.

- Kerebel B, Daculsi G, Renaudin S (1977): Ultrastructure des améloblastes au cours de la formation de l'émailloïde des sélaciens, *Biol Cellulaire* 28, 125-130.
- Kerr T (1955): Development and structure of the teeth in the dogfish, *Squalus acanthias* L. and *Scyliorhynchus caniculus* (L.), *Proc Zool Soc Lond* 125, 95-114.
- Kimura S, Kamimura T, Takema Y, Kubota M (1981): Lower vertebrate collagen: Evidence for type I-like collagen in the skin of lamprey and shark. *Biochemica et Biophysica Acta* 669, 251-257.
- LeGeros RZ, Suga S (1980): Crystallographic nature of fluoride in enameloids of fish, *Calcif Tissue Int* 32: 169-174.
- Levine PT, Glimcher MJ, Seyer JM, Huddleston JI, Hein JW (1966): Noncollagenous nature of the proteins of sark enamel, *Science* 154, 1192-1194.
- Miake Y, Aoba T, Moreno EC, Shimode S, Prostack K, Suga S (1991): Ultrastructural studies on crystal growth of enameloid minerals in elasmobranch and teleost fish, *Calcif Tissue Int* 48: 204-217.
- Møller IJ, Melsen B, Jensen SJ, Kirkegaard E (1975): A histological, chemical and X-ray diffraction study on contemporary (*Carcharias glaucus*) and fossilized (*Macrotia odontaspis*) shark teeth, *Archs oral Biol* 20, 797-802.
- Mörnstad H (1974): On the histogenesis of shark enamel, *Odont Revy* 25, 317-326.
- Moss ML (1969): Phylogeny and comparative anatomy of oral ectodermal-ectomesenchymae inductive interactions, *J Dent Res* 48, 732-737.
- Moss ML (1970): Enamel and bone in shark teeth: With a note on fibrous enamel in fishes, *Acta Anat* 77, 161-187.
- Moss ML (1977): Skeletal tissues in sharks, *Amer Zool* 17, 335-342.
- Moss ML, Jones SJ, Piez KA (1964): Calcified ectodermal collagens of shark tooth enamel and teleost scale, *Science* 145, 940-942.
- Nanci A, Bringas PJr, Samuel N, Slavkin HC (1983): Selacian tooth development: III. Ultrastructural features of secretory amelogenesis in *Squalus acanthias*, *J Craniofac Dev Biol* 3, 53-73.
- 小野 毅 (1974): イシダイのエナメル質形成時におけるエナメル芽細胞の微細構造に関する電子顕微鏡的観察, 歯基礎誌, 16, 407-464.
- Ørving T (1967): Phylogeny of tooth tissues: Evolution of some calcified tissues in early vertebrates, In: Structural and Chemical Organization of Teeth (Miles AEW ed), pp. 45-110, Academic Press, London.
- Ørving T (1978): Microstructure and growth of the dermal skeleton in fossil actinopterygian fishes: *Birgeria* and *Scanilepis*, *Zool Scr* 7, 33-56.
- Poole DFG (1967): Phylogeny of tooth tissues: Enameloid and enamel in recent vertebrates, with a note on the history of cementum, In: Structural and Chemical Organization of Teeth (Miles AEW ed), pp.111-149, Academic Press, London.
- Poole DFG (1971): An introduction to the phylogeny of calcified tissues, In: Dental Morphology and Evolution (Dahlberg AA ed), pp.65-79. The University of Chicago Press, Chicago.
- Prostack KS, Skobe Z (1988): Ultrastructure of odontogenic cells during enameloid matrix synthesis in tooth buds from an elasmobranch, *Raja erinacae*, *Am J Anat* 182, 59-72.
- Prostack KS, Seifert P, Skobe Z (1990): The effects of colchicine on the ultrastructure of odontogenic cells in the common skate, *Raja erinacae*, *Am J Anat* 189, 77-91.
- Prostack KS, Seifert P, Skobe Z (1991): Tooth matrix formation and mineralization in extant fishes, In: Mechanisms and Phylogeny of Mineralization in Biological Systems (Suga S, Nakahara H eds), pp. 465-469, Springer-Verlag, Tokyo.
- Reif W-E (1973): Morphologie und ultrastruktur des hai-"schmelzes", *Zool Scr* 2, 231-250.
- Reif W-E (1979): Structural convergences between enameloid of actinopterygian teeth and of shark teeth, *Scanning Electron Microsc* 1979 II, 547-554.
- Ripa LW, Gwinnett AJ, Guzman C, Legler D (1972): Microstructural and microradiographic qualities of lemon shark enameloid, *Archs oral Biol* 17, 165-173.
- Risnes S (1990): Shark tooth morphogenesis: An SEM and EDX analysis of enameloid and dentin development in various shark species, *J Biol Buccale* 18, 237-248.
- Sasagawa I (1984): Formation of cap enameloid in the jaw teeth of dog salmon, *Oncorhynchus keta* *Jpn J oral Biol* 26, 477-495.

- Sasagawa I (1988): The appearance of matrix vesicles and mineralization during tooth development in three teleost fishes with well-developed enameloid and orthodentine, *Archs oral Biol* 33, 75-86.
- Sasagawa I (1989): The fine structure of initial mineralisation during tooth development in the gummy shark, *Mustelus manazo*, Elasmobranchia, *J Anat* 164, 175-187.
- Sasagawa I (1991): The initial mineralization during tooth development in sharks, In: Mechanisms and Phylogeny of Mineralization in Biological Systems (Suga S, Nakahara H eds), pp 199-203, Springer-Verlag, Tokyo.
- Sasagawa I (1992): The accumulation of iron in the dental epithelial cells during enameloid maturation in *Tilapia nilotica*, a teleost, *Jpn J oral Biol* 34, 620-624.
- Sasagawa I, Akai J (1992): The fine structure of the enameloid matrix and initial mineralization during tooth development in the sting rays, *Dasyatis akazei* and *Urolophus aurantiacus*, *J Electron Microsc* 41, 242-252.
- Shellis RP (1978): The role of the inner dental epithelium in the formation of the teeth in fish, In: Development, Function and Evolution of Teeth (Butler PM, Joysey KA eds), pp. 31-42, Academic Press, London.
- Shellis RP, Miles AEW (1976): Observations with the electron microscope on enameloid formation in the common eel (*Anguilla anguilla*; Teleostei). *Proc R Soc Lond B* 194, 253-269.
- Sire J-Y, Geraudie J, Meunier FJ, Zyleberberg L (1987): On the origin of ganoine: Histological and ultrastructural data on the experimental regeneration of the scales of *Calamoichthys calabricus* (Osteichthyes, Brachyoptergii, Polypteridae), *Am J Anat* 180, 391-402.
- Slavkin HC, Graham E, Zeichner-David M, Hildemann W (1983a): Enamel-like antigens in hagfish: Possible evolutionary significance, *Evolution* 37, 404-412.
- Slavkin HC, Samuel N, Bringas PJr, Nanci A, Santos V (1983b): Selachian tooth development: II. Immunolocalization of amelogenin polypeptides in epithelium during secretory amelogenesis in *Squalus acanthias*, *J Craniofac Dev Biol* 3, 43-52.
- Smith MM (1989): Distribution and variation in enamel structure in the oral teeth of sarcopterygians: Its significance for the evolution of a protoprismatic enamel, *Historical Biology* 3, 97-126.
- 須賀昭一, 和田浩爾, 小川正昭 (1978): サメの形成期ならびに成熟した enameloid の石灰化像と弗素分布, 歯基礎誌, 20, 1-15.
- 須賀昭一 (1988): 歯に含まれる微量元素と動物の系統進化, 海洋生物の石灰化と系統進化 (大森昌衛, 須賀昭一, 後藤仁敏編), 東海大学出版会, 271-301頁, 東京.
- Suga S, Taki Y, Ogawa M (1992): Iron in the enameloid of perciform fish. *J Dent Res* 71, 1316-1325.
- Yamashita Y, Ichijo T (1983): Comparative studies on the structure of the ameloblasts, In: Mechanisms of Tooth Enamel Formation (Suga S ed), pp. 91-107, Quintessence, Tokyo.

Abstract

Features of tooth enameloid in elasmobranchs

Ichiro Sasagawa

Key words: elasmobranchs, enameloid, mineralization, tooth development.

The paper reviews recent data on the organic matrix and the initial mineralization, and also on the dental epithelial cells and the odontoblasts during enameloid development in elasmobranchs, with special respect to the differences of enameloid between elasmobranchs and teleosts.

Tubular vesicles which are limited by a unit membrane occupy the bulk of elasmobranch enameloid matrix in the stage of enameloid matrix formation. It is likely that the tubular vesicles originate from the odontoblasts, especially from their processes. Two kinds of electron-dense fibrils, with stripes at

intervals of approximately 17 nm or 55 nm, respectively, are often found in the enameloid matrix. Initial crystals are first observed in the tubular vesicles in elasmobranch enameloid. These crystals are scattered through the enameloid layer. It is assumed that crystals rapidly grow in the tubular vesicles and increase in number after their initiation. No crystals are concentrated along the fibrils in the enameloid at the early stage. It is postulated that odontoblasts are strongly involved in the initial mineralization of elasmobranch enameloid including fluoride concentration. In elasmobranchs, the inner dental epithelial (IDE) cells contain small numbers of organelles involved in secretion in spite of a large number of glycogen particles during the formation of enameloid matrix. It seems that the IDE cells come to exhibit a well-developed smooth endoplasmic reticulum, vesicles, vacuoles and granules that contained electron-dense materials in the mineralization stage. It is probable that the IDE cells are more active in the late stage, that is, the mineralization stage, rather than in the stage of enameloid matrix formation.

In teleosts, the prominent features of the enameloid matrix at the stage of enameloid matrix formation are the complicated arrangement of thick, dense collagen fibrils, probably type I, organized in bundles. The site of initial mineralization is the boundary between the enameloid and the dentine. At the site, there are many matrix vesicles containing small and slender crystals. Additional mineralization to the surface of the enameloid occurs along collagen fibrils. The IDE cells in teleosts show a well-developed rough endoplasmic reticulum, Golgi apparatus and secretory granules in the stage of enameloid matrix formation, so that they seem to begin secretory activity as does the odontoblast. In the enameloid maturation stage, the IDE cells have a ruffled border at the distal ends, implying that the cells are strongly involved in the enameloid maturation in teleosts.

It suggests that the organic contents and the mechanisms of the initial mineralization in the enameloid, and the role of IDE cells concerning enameloid formation are different in elasmobranch and teleosts, although the hypermineralized tissue covering the tooth surface named "enameloid" in both elasmobranchs and teleosts, is similar in its final form. The major features of mineralization in elasmobranch enameloid seem to resemble features of the formation of pleromin in *Chimaera phantasma*, an extant holocephalian. Further morphological and developmental studies including fossil materials will probably reveal the phylogeny of elasmobranch enameloid.

図版写真説明

図版 I

- 図 1 板鰐類エナメロイド基質の弱拡大透過電子顕微鏡像。矢頭は内エナメル上皮細胞の基底膜を示す。エナメロイド基質形成期。ヒラタエイ, EDTA 脱灰。縮尺は 1 μm 。
- 図 2 図 1 のエナメロイド基質の強拡大。単位膜に囲まれたチューブ状小胞が多数認められる。縮尺は 100nm。
- 図 3 同じくエナメロイド基質の強拡大。チューブ状小胞は象牙芽細胞の突起と連続しているように見える。縮尺は 100nm。
- 図 4 同じく象牙質基質に近い側の拡大。高電子密度で約 17nm の横縞間隔をもつ線維(矢印)と約 55nm の横縞間隔をもつコラーゲン線維(矢頭)が見られる。縮尺は 100nm。

図版 II

- 図 1 板鰐類エナメロイド初期石灰化部位の強拡大透過電子顕微鏡像。矢頭は結晶と思われる部位を示す。これらは単位膜に囲まれているように見

える。エナメロイド石灰化期。アカエイ。未脱灰。縮尺は 50nm。

- 図 2 結晶が多く見られるようになった部位。結晶は大型で、必ずしも線維にそって配列しているわけではない。縮尺は 100nm。
- 図 3 図 2 に近い部位の拡大。大小の結晶が見られる。これらの結晶の周囲には単位膜様の構造が認められる。縮尺は 100nm。

図版写真の材料と方法

アカエイ, *Dasyatis akajei* (2匹, 全長 24cm と 58.5cm) とヒラタエイ, *Urolophus aurantiacus* (全長 32cm) を用いた。断頭後, 歯胚を含む顎部を摘出し, カルノブスキー液で浸漬固定(室温, 10時間)した。材料の一部はその後 2.5% EDTA-2Na 液で脱灰した。1% 四酸化オスミウムで後固定を施し, 脱水してアルラダイト-エボン 812 に包埋した。超薄切した切片をウランと鉛の二重染色, あるいは鉛の単独染色を施して透過電顕で観察した。

