

エナメル質形成の組織化学*

須賀 昭一**

I. ま え が き

硬組織の研究に用いられる組織化学的な研究方法の幅は、軟組織の場合に比して、かなり広いと考えられる。それは硬組織が有機質のみならず無機質(Ca塩)をも多量に含むからであり、また、そのために特異な物理的、及び、物理化学的性状をもつことによるからでもある。現在、硬組織研究において用いられる組織化学的方法としては、

- i) 染色、化学反応による組織化学(一般的な意味での組織化学)
- ii) Microradiography
- iii) Autoradiography
- iv) Tetracycline labeling
- v) 偏光顕微鏡法
- vi) 蛍光顕微鏡法
- vii) X線マイクロアナライザーによる分析

等があげられる。

本論文で組織化学と呼ぶものには、以上のものが含まれていると御理解いただきたい。

硬組織には様々なものがあり、その石灰化の機構も、基本的には共通の原則をもつとは云え、それぞれ何等かの特異性を持っている。しかし、その中でも、エナメル質のそれは極だっていると言って良い。

その機構についてのべる前に、完成したエナメル質と他の硬組織の代表的なものとして、骨、象牙質の組成と生物学的な性状を比較したものが表1である。

* 1968. 2. 13. 受理

** 日本歯科大学 病理学教室

表 1

	エナメル質	象牙質	骨
化学組成			
無機塩	96.0%	69.3%	46%
有機質	1.7	17.5	22
水分	2.3	13.2	32
線維性基質	ケラチン様 ²⁰⁾ 蛋白質	コラーゲン	コラーゲン
基礎物質	多糖類・脂質	多糖類・脂質	多糖質・脂質
細胞成分の含有	ない	歯細管内の歯 線維(象牙質 細胞の突起)	骨小体 (封入された 骨細胞)
体液の交流	維織液と唾液 (少ない?)	組織液	維織液
改造 (Remodeling)	ない	極く少ない	著明
質的変化	あるが少ない	あるが少ない	ある

これによっても、完成したエナメル質がいかに特異な性格をもっているかが了解されるであろう。一般的に、硬組織の形成の機構は次の二つの段階にわけられる。即ち、

(i) 有機性基質の形成。この段階でまず線維性の基質(the fibrous matrix)が細胞(象牙芽細胞、骨芽細胞等)によって形成され、次いで、そこに様々な基礎物質(the ground substances)が沈着する。この時期には石灰沈着は起らない。

(ii) 石灰化。(i)で形成沈着された線維性基質または基礎物質を、アパタイト結晶の種づけの場(the seeding site)として石灰化がはじまる。この際、石灰化の進行は骨や、象牙質では、最終的石灰化度の70-90%は短期間で終るが、残りの石灰化は、それ以後の長い期間をかけてゆっくりと進行するらしい。その間、有機性基質には、質的変化が起っても量的にはほとんど変化は起らないと考えられている。

II. エナメル質形成の機構

エナメル質の形成の過程については、それは終始継続的なもので、one-step として理解すべきだと考え(one-step theory)^{1) 2) 3) 9)}と、有機質性の基質の形成が行われている段階と、それが終わってから石灰化が完了するまでの段階との二つに分けて考えるべきだと云う考え(two-step theory)^{10) 14) 17) 18) 23) 26) 28) 29) 35)}とがある。

ここでは、それぞれの考えの論拠の比較を詳細にのべることはできないが、組織化学的な観察から見ると、two-step theory にもとづいて説明を行った方が理解し易いと思われる。

今、ここで有機性基質の沈着が行われている段階を基質形成期(the stage of matrix formation)、基質形成が終わってからエナメル質の石灰化が完了するまでの間を成熟期(the stage of maturation)と呼ぶことにする。以下、両時期に現われる組織化学的所見をのべるが、それは人、犬、ラット、モルモット等の材料から得られた成績から総合したものである。

(i) 基質形成期

この時期においてはエナメル芽細胞は背が高く、それに接して中間層細胞、エナメル髓、外エナメル上皮細胞等が4層をなして配列している。エナメル基質物質の前段階物質の形成と沈着(分泌)を行うのは、エナメル芽細胞である。その端に基質物質が沈着し、エナメル芽細胞の外方への移動にともなって基質の幅は増して行く。

エナメル基質の組織化学的性状のうち、蛋白は、tyrosine のための Diazo 法, MILLON の反応, DNFB 反応, tryptophan のための DMAB-nitrite 法, indole のための post-coupled benziliden 法等の反応が、象牙質のそれに比して極立って強いことがまず注目される。また、histidine, lysine 等のための coupled tetrazolium 反応による染色態度も、象牙質のそれとは全く異っている。また、SS 基の反応は、エナメル芽細胞内での前段階物質と沈着したばかりの薄層で強いが、それより深層に入るとSS基の反応は弱くなり、逆にSは基の反応が陽性となり、それも、深層におもむくに従って弱まって行く。²⁸⁾

³H-glycine³⁶⁾, ³H-hystidine,⁽⁵⁾³H-metnionine 等⁽⁶⁾の autoradiography によると、これら蛋白の前段階物質の形成は、たしかにエナメル芽細胞内で行われる。それがエナメル基質として沈着すると、はじめの数時間は、はっきりした幅せまい層をなしているが、それ以後、時間の経過と共に、アイソトープ注射前にすでに形成されていた基質内にまでそれらは diffuse に浸透して、全層に拡ってゆくのが認められる。この様な現象は、他の硬組織(骨、象牙質)では見られない。

一方、酸性粘液多糖類の反応(Alcian blue, Aldehyde fuchsin, toluidine(pH2.4) のメタクロマジア)と中性多糖類の反応(PAS 反応)は、形成されたばかりの薄層でのみ陽性でそれより深層では、前者の陰性、後者は極めて弱い反応を示すのみとなる。²⁸⁾

今、硫酸粘液多糖類の沈着像を ³⁵SO₄ の autoradiography⁵⁾で見ると、先の ³H-gly-

cine 等のそれと、経時的にかなり似たパターンを示してとり込まれるのがわかる。従ってそれは、染色による組織化学像とは一致しない。

最近、一部の入々によって石灰化部位 (calcification site) に Sudan black 好性の脂質 (恐らくは磷脂質) が出現することが知られているが、この時期の基質には、ごく弱い反応しか見られない。²⁸⁾

以上の様な性格を持った基質がエナメル芽細胞によって沈着されると、それはすぐに極く軽く石灰化する。²³⁾⁹⁾²⁸⁾ これは microradiography や電顕によって確かめられており、骨や象牙質の場合と異なる点である。石灰化度は、深層に向ってわずかつ増加する。

以上述べた所見は、基質の形成が完了するまで継続的に見られると考えてよい。

(ii) 成熟期

基質の形成が終ると、まず注目されるのは、それまで基質を形成していた脊の高いエナメル芽細胞が低くなり、しかも、様々な細胞学的¹⁰⁾¹⁸⁾³⁴⁾ 乃至は組織化学的特徴⁴⁾²²⁾²⁶⁾ に変化が現われることである ("short ameloblasts")³⁴⁾

その様な細胞の変化が現われてしばらくすると、エナメル基質にかなり特徴的な変化が現われる。即ち、

- i) 非脱灰切片によると、蛋白のための組織化学的反応性が急速に低下する。²⁸⁾
- ii) 脱灰切片によると蛋白のための反応性が低下し、次いで急に脱灰液として用いられた酸に対して可溶性 (acid-soluble) となる。²⁾⁹⁾³⁴⁾³⁵⁾
- iii) 非脱灰切片では、酸性粘液多糖類の染色性が著しく強まる (Alcian blue 染色, Toluidin blue のメタクロマジア)。²⁸⁾
- iv) 脂質 (Sudan black B 好性) の染色性が増加する。²⁸⁾
- v) 石灰化度が急速に高まる。²⁸⁾³¹⁾³⁵⁾

の如くである。

v) の変化は、i) - iv) の変化の起る時期と部位に、ある程度一致して現われる。²⁸⁾

ii) の変化は、かなり以前から知られており、歯質の化学分析の成績との比較から、³⁵⁾ それは、形成期に一度沈着した有機性基質の一部が、石灰化度のたかまりに伴って脱却されることを示すのではないかと考えられていた。現実には、基質形成期における基質内での有機質の含量は、約 20% であるのに、成熟したエナメル質では 0.3% にすぎないので、このように考えざるを得ない。¹²⁾

この考えは、面白いことに、当初は一部の形態学者の間でのみ主張されていたのであって、意外にも生化学者の間では、かなり長い間、ほとんど無視されて来た。

しかし、最近になってエナメル質基質をいくつかの劃分にわけて、形成の各段階におけるそのアミノ酸組成の消長を研究した成績があい次いで発表され、以上の事実が生化学的にも明確になった。³⁾¹¹⁾¹²⁾

従って i) と ii) の様な変化は、たしかに基質成分の質的变化の脱却の一面を現わしていると考えてよさそうである。この様な現象は、今のところ、他の硬組織 (少くとも骨、象牙質、軟骨) の石

灰化については見出されていない様である。

それで、どの様にして一度沈着した有機性基質成分が脱却されるのか、現在のところ興味の対象となっている。

その問題を解く手がかりになるのは、その時期でエナメル芽細胞の示す特異な態度である。短少化した細胞("short ameloblasts")のエナメル質に接する部位に、小腸の吸収上皮の吸収面で見られる様な構造("striated border")が認められ、その部分を中心として、エナメル基質と同じ様な性状を示す物質がとりこまれていることが、組織化学的²⁶⁾にも電顕的²¹⁾にも認められたことや、また、同細胞が様々な酵素、たとえば alkaline phosphatase²⁶⁾、DPNH diaphorase⁴⁾、TPNH diaphorase⁴⁾、lactic dehydrogenase⁴⁾、succinic dehydrogenase²²⁾等の酵素活性が著しく高いことから(基質形成期では弱いから陰性である)、同細胞がこの時期での基質物質の変質、脱却に役かっているのであらうと考えられている。³⁵S autoradiographyによると、基質形成期において、基質は³⁵S によって強くラベルされるが、成熟期に入ってエナメル芽細胞が短少化すると同時に、形成期で行われていた基質の³⁵S によるラベリングが急速に失われること、その時期の "short ameloblasts" の層の内外に、黒化した銀粒子が多数見られることが最近報告されており、²³⁾以上の考えはいっそう確からしくなってきた。

それとは別に、それに接する象牙質の歯細管を介しての基質物質の脱却の可能性もある。³⁷⁾

とにかくエナメル芽細胞は、ここで基質形成期におけるのとは全く性質の異った機能を営んでいることになる。しかもそれは、以上の基質物質の吸収だけではない様である。即ち、上述の各酵素の活性のたかまる時期は、成熟期中でもその種類によってある程度 "ずれ" があること、さらに、ラット、マウス、ハムスター等の切歯エナメル質では、この時期の同細胞原形質内に鉄を含んだ顆粒が出現し、エナメル質形成の末期に、それはエナメル質表層に明らかに移行することが、また、³H-histidine の autordiography¹⁵⁾によっても、注射してまもなく、³H-histidine が成熟期における細胞から基質へ移行する像があることが認められている。

これ等の所見を考えると、短少化したエナメル芽細胞("short ameloblasts")は、この時期においても少なくとも二つ以上の、それも、全く反対方向の機能を営んでいることになる。同じ細胞であるにしてもこの様なことが同時に行なわれているのか、または成熟期間内では時期をずらせて行われているかは明らかではない。

いずれにせよ、一つの細胞が、その "life span" の間に三つ以上の全く性格の異った機能を営み、その結果エナメル質という特異な硬組織を作り上げるという事実は注目してよいと思う。

いずれの方法によるにしても、成熟期で基質成分が脱却されるのに先立って、あらかじめそれが脱却され易い状態になっていなければならないはずである。

それについて、基質形成期において一度沈着した基質が、成熟期において細胞由来の proteolytic な酵素の働きで溶解し、しかる後に脱却するという考えがある。³⁴⁾ 事実、エナメル器内に proteolytic な酵素の存在することが明らかになっている。²⁴⁾ それとは別に、それはエナメル基質のもつ本来の特異な化学的、または物理化学的性格にも由来するという考えもある。¹¹⁾¹²⁾

この時期において、基質物質が脱却されることによってアパタイト結晶がより発育するためのスペースが提供され、その結果、高度の石灰化が行われるのだと考えられている。

事実、autoradiography によれば、このような変化が現われる時期に相当して、 ^{45}Ca や ^{32}P のとりこみが基質形成期におけるそれよりもはるかに高濃度に行われ、microradiography によっても、短期間でX線吸収度の急激なたかまりが認められる³¹⁾。その際、この時期になって著明な反応を示す酸性粘液多糖類や脂質等の基礎物質が、それを助長する働きを営むか、新しいアパタイト結晶のための seeding matrix として働いているのかも知れない。一方、基質脱却における基質自体の物理化学的性格の関与をあげる人々の考えは、それとはやや異っている。即ち、基質形成期において形成された基質は、アミノ酸組成上、次の様な特異な性格を持っていると云う。²⁾

i) 最も多いアミノ酸は proline で、他のいかなる蛋白の場合よりも多い。

ii) 塩基性アミノ酸の中では histidine は arginine や lysine よりもはるかに多い(他の蛋白では histidine はほとんどいつも最も少ない)。

このような性格は、コラーゲン、ケラチングループの蛋白、さらに成熟したエナメル基質蛋白等のそれとも異なる、全くユニークなものであると云う。EASTOE (1966) はこれを "Amelogenine" と呼んでいる。この蛋白は初期(基質形成期)においてエナメル質の外形を形作り、軽度の石灰化を許す基質としての役割の他に、"Second function" として、必要な時期(成熟期)には容易に脱却され、結晶発育のためのスペースを提供する性格を持っており、その際の基質の解重合は proteolytic な酵素の働きによるものではない様で、大きな結晶の発育に伴って局所的に加わる圧力によって、viscous sol または thixotropic gel としての性格を持つ基質成分は押し出される(squeeze out) のであろうと考えるのである。エナメル基質のこのような thixotropy または "autodepolymerization" を許す性格は、その proline 含量が異常に高いことになるのだという。

エナメル質の成熟化の過程での基質成分の脱却にあたっては、全ての成分が均等に脱却されるのではなくて、特定の劃分のみが選択的に脱却されるらしい。即ち、成熟したエナメル質の蛋白は glycine と serine に富んでおり、その組成は amelogenine のそれとは異り、むしろ上皮の蛋白のそれに似ている。

III エナメル基質の石灰化進行像の特異性

先に、エナメル質は基質形成期において軽度、成熟期において高度に石灰化することを述べたが、ここでもう少しくわしく石灰化進行のボタンについて述べたい。

他の硬組織の石灰化は、それがはじまると、極く短い間に、おそらく 24 時間前後で最終的な石灰化度の 70 - 90% にまで及び、残りの石灰化は、以後かなり長い期間をかけて行われる。犬の骨では、最初の石灰化は最終的石灰化度の 70% ほどまですぐに(24時間前後)行われるが、残

りの30%は18週たっても未だに完了しなかったと云う。象牙質はそれほどでないにしても、それに似た性格を持っている。

それに対してエナメル質では、そのはじめにおいては最終的石灰化度の数10%程度まで石灰化するにすぎない。次いで成熟期に入ると、はじめて石灰化度は急速に増して最終的石灰化度の90%以上に及ぶ。しかしそれに要する時間は、骨、象牙質の最初の高度な石灰化に要するそれよりはるかに長い。しかもその後もやや長い時間を経て後に完了する。

この様にエナメル質石灰化進行の勾配(gradient)は、他の硬組織のそれとは全く異っている。また、microradiography によってそのパターンを形態学的に見ても、かなり特異的である。骨、象牙質の場合、高度な石灰化は明確な層状をなして木の年輪状に行われるが、エナメル質の成熟期の石灰化では、形成された基質のほぼ全層にわたって、ほとんど同時にdiffuseな型で行われる。このことは ^{45}Ca または ^{32}P の autoradiography, tetracycline labeling 等によっても確かめられている。

この様な石灰化進行像の特異性は、先にのべた有機性基質のもつ性状、たとえば autoradiography によると、 ^3H -glycine や ^3H -histidine 等または $^{35}\text{SO}_4$ が、基質形成期において全層に(注射前に形成された層にまで) diffuse に拡散して沈着する様な事実にもとづいている、と考えられる。

ただし、その様な性状を持つ蛋白質性基質がアパタイト結晶とどの様な結合をしているかは、目下のところ電顕的にも明らかでない。

IV. 成熟したエナメル質の組織化学

成熟したエナメル質の有機相の従来の染色組織化学による観察では、それが極めて高度に石灰化した組織で有機性基質が少なく、しかもそれはCa塩でmaskされていること、有機性基質の多くがacid-solubleであること等から、極めて困難である。従って、組織化学的観察は、もっぱらその無機相について行われている。その代表的なものはmicroradiographyによる石灰化像の観察で、それによると、完成したエナメル質のうち、最も石灰化度の高いのは表層で、エナメル象牙境に向うに従って低下する。当然のことながら、深層のエナメル叢の部分で最も石灰化度が低い。

エナメル質内での他の無機化学成分の分布については、組織化学ではないが、BRUDEVOLD 一門の系統的な化学定量分析的な研究がある。⁷⁾

彼等には、多数の人のエナメル質の表層から深層までを4-10層ほどにわけて削り出し、各層別に各種の化学成分の定量分析を行い、比較している。その結果、微量元素等の分布濃度はエナメル質の全層で均一ではなく、元素において、それぞれ表層まで特徴ある濃度勾配を示していることが明らかになっている。彼等は化学成分を次の三つのグループに分けている。

i) 表層から深層に向って濃度が低下するもの F. Zn. Pb. Fe. Sn.

ii) 全層に均等に分布する元素 Sr. Cu.

iii) 表層から深層に向って濃度が増すもの CO₂. Mg. Na.

彼等は以上のうち、Fが表層に多いことは、う蝕病変において、表層エナメル質が著るしい抗脱灰性を示すことに関連づけて考えている。また、以上の様な濃度勾配は、未萌出の歯牙において見られる本質的な所見であるが、一部の元素は歯牙の萌出後外部(唾液、食物を介して)から侵入して沈着する可能性もある。

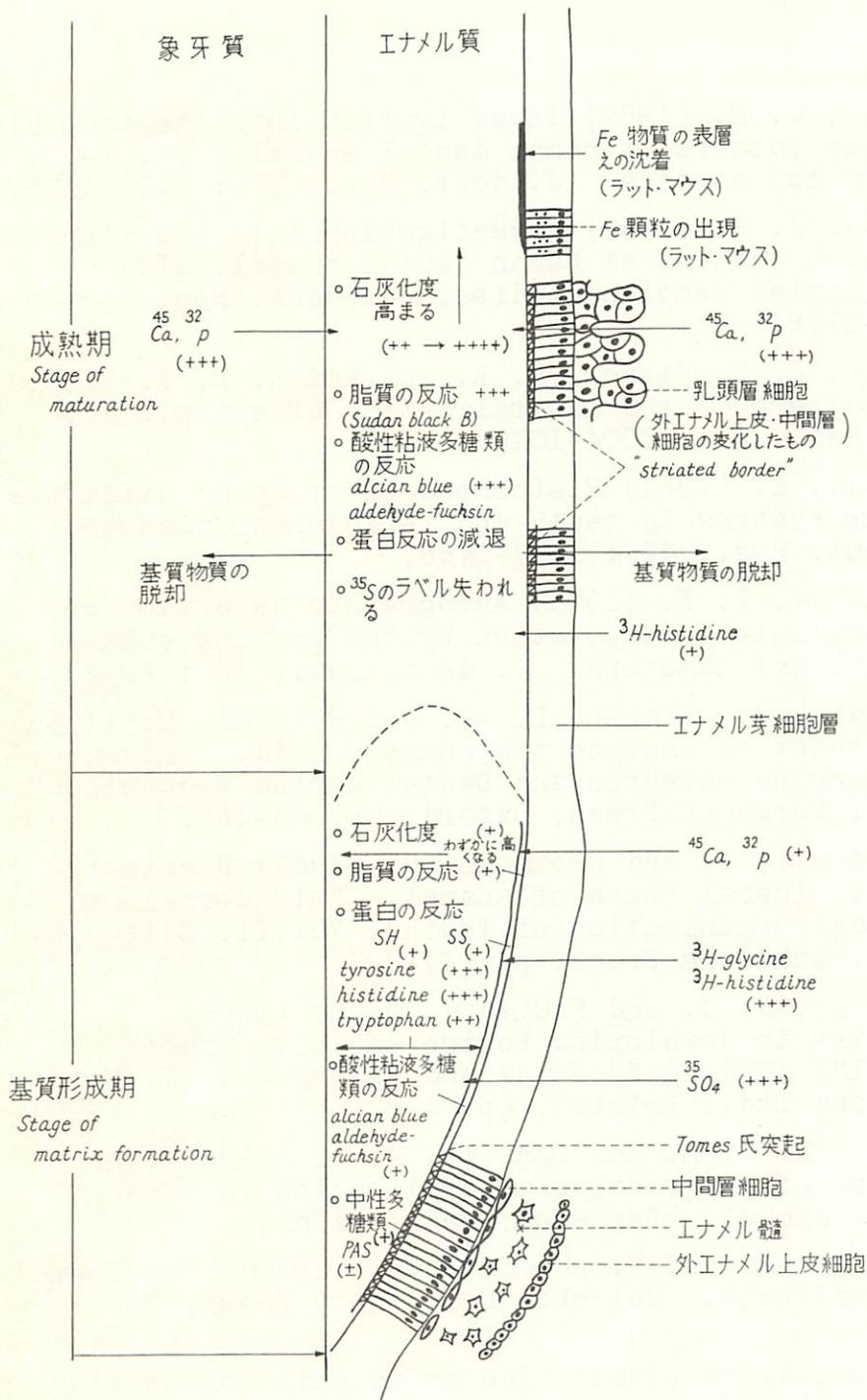
以上の様な多数の歯牙で平均的に得られている濃度分布を、特定歯牙の組織学的条件との関連において、またいくつかの元素間の関連において観察する試みははじめられている。

それはX線マイクロアナライザによる線分析(line analysis)によるもので、現在までのところ、Ca. P. Cl. Mg³²⁾についての報告がある。³⁾³²⁾³³⁾即ち、Ca. P. は表層において最も高濃度で、深層に向って徐々に低下、Cl も表層において高濃度であるが、深層に向って急勾配を示して低下する。それに対してMg濃度は、表層において最も低く、深層に向って徐々に増加する。この様な、エナメル質層内における化学成分の濃度分布の特異性は、形成期萌出後におけるエナメル質の代謝や、う蝕に対する感受性、抵抗性を理解する上に大切な足がかりになるものである。また、それはエナメル質の形成期において決定されたものであろうが、いったいそのどの段階においてどんな条件で決定されたのか、組織学的構造とどの様な関係があるか等は、今後検索されるべき課題である。

表1に示した様に、完成したエナメル質内には全く細胞成分は含まれておらず、もはや生物学的な(細胞学的な)代謝は営まれていない様に思われる。しかし、様々な実験によれば、歯髄側から象牙質を介して組織液の浸透がエナメル質表面に向って行われていることは確からしいし、⁶⁾また、表層への唾液の作用もあることも確かである。それによって、これ等の体液とエナメル質側との間で、常時化学的な交換や吸着が起っている可能性がある。もしそうならば、どの様な部分でどの様な物質について、行われているかを明らかにすることも、組織化学の果すべき今後の役割であると思われる。

V. おわりに

エナメル質の形成：完成したエナメル質について、最近の組織化学的な知見を中心に、極く概括的な説明を行った。エナメル質形成についての組織学、組織化学の詳細については、私の別の綜説ならびに近く発行される「硬組織研究」(医歯薬出版)中の私の原著「エナメル質形成の micro-radiography 並びに組織化学による研究」ならびに綜説「歯牙硬組織形成の組織化学」を参照されたい。また、最近発行された「Structural and chemical organization of teeth」(Academic Press)中の第9章、第10章、第11章、第14章、第15章、第18章ならびに第20章をも参照することをおすすめしたい。



エナメル質形成の組織学的所見の模式図

文 献

- 1) ALLAN, J. H. (1959) Investigation into the mineralization pattern of human dental enamel. II. X-ray absorption studies. *J. dent. Res.*, 38 : 1109-1118.
- 2) ALLAN, J. H. (1959) Investigation into the mineralization pattern of human dental enamel, III. Decalcified section studies. *J. dent. Res.*, 38 : 1119-1128.
- 3) AVERY, J. K. Visser, R. L. and Knapp, D. E. (1961) The pattern of the mineralization of enamel. *J. dent Res.*, 40 : 1004-1019.
- 4) BALOGH, K. (1963) Histochemical study of oxidative enzyme systems in teeth and periodontal tissues. *J. dent. Res.*, 42 : 1457-1466.
- 5) BELANGER, L. F. (1965) Autographic detection of radiosulfate incorporation by the growing enamel of rats and hamsters. *J. dent. Res.*, 34 : 20-27.
- 6) BERGMAN, G., LINDEN, L. -A. and RÖCKERT, H. (1966) An attempt to analyze the enamel fluid. "Advances in Fluorine Research and Dental Caries Prevention", Vol.4. Pergamon Press, Oxford, pp.163-168.
- 7) BRUDEVOLD, F. and SÖREMARK, R. (1967) Chemistry of the mineral phase of enamel. "Structural and Chemical Organization of Teeth", Vol.II. Edited by MILES. Academic Press, pp.247-277.
- 8) BURGESS, R. C. and MACLAREN, C. M. (1965) Proteins in developing bovine enamel. "Tooth Enamel". Edited by STACK and FEARNHEAD. J. Wright and Sons Ltd., Bristol, pp.74-82.
- 9) CRABB, H. S. M. and DARLING, A. I. (1962) The pattern of progressive mineralization in human dental enamel. Pergamon Press, Oxford.
- 10) DIAMOND, M. and WEINMANN, J. P. (1940) The Enamel of Human Teeth. Columbia University Press, New York.
- 11) EASTOE, J. E. (1963) The amino acid composition of proteins from the oral tissues. II. The matrix proteins in dentin and enamel from developing human deciduous teeth. *Arch. oral Biol.*, 8 : 633-652.

- 12) EASTOE, J. E. (1966) The changing nature of developing dental enamel. Brit. dent. J., 121 : 451-454.
- 13) FRANK, R. M., CAPITANT, M. and GONI, J. (1966) Electron probe studies of human enamel. J. dent Res., 45 : 672-682,
- 14) HAMMARLUND-ESSLER, E. : A microradiographic, microphotometric and x-ray diffraction study of human developing enamel. Transactions of the Royal Schools of Dentistry, Stockholm.
- 15) HWANG, W. S. S., TONNA, E. A. CRONKITE, E. P. (1963) An autographic study of the mouse incisor using tritiated histidine. Arch. oral Biol, 8 : 377-385.
- 16) KARPISHKA, I., LEBLOND, C. P. and CARNEIRO, J. (1959) Radioautographic investigation of the uptake of labelled methionines by dentin and enamel matrix of growing teeth. Arch. oral Biol., 1 : 23-28.
- 17) MARSLAND, E. A. (1951) A histological Investigation of amelogenesis in rats. I. Matrix formation. Brit. dent. J., 91 : 252.
- 18) MARSLAND, E. A. (1952) A histological investigation of amelogenesis in rats. II. Maturation. Brit. dent. J., 92 : 109.
- 19) McLEAN, F. C. and ROWLAND, R. F. (1963) Internal remodeling of compact bone. "Mechanisms of Hard Tissue Destruction". Edited by Sognaes. A.A.A.S., pp.371-383.
- 20) PERDOK, W. G. and GUSTAFSON, G. (1961) X-ray diffraction studies of the insoluble protein in mature human enamel. Arch. oral Biol., Special Suppl., 4 : 70-75.
- 21) REITH, E. J. (1963) The ultrastructure of ameloblasts during early stages of maturation of enamel. J. Cell Biol., 18 : 691-696.
- 22) REITH, E. J. and ZUSSMAN, W. (1964) Succinic dehydrogenase in ameloblasts during formation and maturation of enamel. Arch. oral Biol., 9 : 31-38. IRVING, J. T. (1963) Calcification of the organic matrix of enamel, Arch. oral Biol., 8 : 773-774.

- 23) REITH, E. J. and COTTY, V. F. (1967) The absorptive activity of ameloblasts during the maturation of enamel. *Anat. Rec.*, 157 : 577-588.
- 24) 坂本征三郎(1967)ウシ歯胚の蛋白分解酵素に関する研究. I. 活性検出とその諸条件について. *口病誌*, 34 : 359-364.
- 25) STACK, M. V. (1954) Organic constituents of enamel. *J. Amer. dent. Ass.*, 48 : 299-306.
- 26) SUGA, S. (1959) Amelogenesis, some histological and histochemical observations, *Int. dent. J.*, 9 : 394-420.
- 27) 須賀昭一(1964)エナメル質形成時におけるエナメル基質物質の象牙質への侵透について. *日組録*, 20 : 477-498.
- 28) SUGA, S. and GUSTAFSON, G. (1963) Studies on the development of rat enamel by means of histochemistry, microradiography and polarized light microscopy. "Advances in Fluorine Research and Dental Cavities Prevention". Edited by HARDWICK, pp.223-244. Pergamon Press, Oxford,
- 29) 須賀昭一(1963)エナメル質の形成, 特にその石灰化について. *歯学*, 51 : 1-16.
- 30) 須賀昭一(1964)エナメル質の形成機序, 特にそのmaturationについて. *口腔生物学の研究*, 5 : 147-171
- 31) SUGA, S. and MURAYAMA, Y. (1965) Microradiographical, Ca autoradiographical and tetracycline labeling studies on the enamel mineralization of guinea pigs molar *Odontology*, 53 : 154-162.
- 32) 須賀昭一・副島啓義・田中康信(1967) Electron probe x-ray micro-analyser による歯牙硬組織の研究(第二報). *歯学*, 55 : 70(抄)
- 33) SÖREMARK, R. and GRÖN, P. (1966) Chloride distribution in human dental enamel as determined by electron probe microanalysis. *Arch. oral Biol.*, 11 : 861-866,
- 34) WASSERMAN, F. (1944) Analysis of the enamel formation in the continuously growing teeth of normal and vitamin C deficient guinea pigs. *J. dent. Res.*, 23 : 463.

- 35) WEINMANN, J. P., WESSINGER, G. D. and REED, G.
(1942) Correlation of chemical and histological
investigation on developing enamel. J. dent.
Res., 21 : 171-182.
- 36) YOUNG, R. W. and GREULICH, R. C. (1963) Dis-
tinctive autoradiographic patterns of glycine
incorporation in rat enamel and dentin matrices.
Arch. oral Biol., 8 : 509-521.