生体鉱物の相変化—歯のエナメル質結晶の場合—

寒河江登志朗*

Transformation of Biominerals – In the Case of Tooth Enamel Crystals–

Toshiro SAKAE*

Abstract: Vertebrate bone, tooth dentin and enamel, are composed of the so-called biological apatite, though these hard tissues originate and grow in a different manner and show their characteristic microscopic and ultramicroscopic textures. Tooth enamel has the largest and most perfect apatite crystals among them, even though the enamel crystals contain many crystal-imperfections. To realize the formation of these biological apatite, cell mediated crystal formation mechanisms are shortly reviewed.

1. はじめに

先の鉱物学会において、硬組織の生体鉱物の相変化について若干の例を紹介しました¹⁾。その折に、歯のエナメル質は象牙質より結晶成分が多い、すなわち自由空間が少ない、にもかかわらず結晶の形態がより六方晶系の理想形に近いのはなぜかという鋭い質問を受けました。このことを説明するためにはエナメル質と象牙質の形成過程の違いを明らかにしておく必要があると思われます。生物の硬組織における結晶成長は、有機質基質中に結晶が成長するという点で独特のもので、幸い編集委員会の方からシンポジウムのまとめを書くようにという話しがききましたので、この機会に硬組織の形成のなかで特にエナメル質の結晶成長について現在まで分かっていることを紹介したいと思います。

2. 骨と象牙質の結晶形成と成長

エナメル質は骨などの硬組織と発生学的、組織構造的、成分的、その他いろいろな点で異なっている²⁾。エナメル質の問題に入る前に、硬組織の典型である骨の出来方(骨の発生)を見ておきたい。

骨の組織発生は軟骨性骨化(手足の骨など)と膜性骨化(頭骸骨など)という2つの方法によって行われている。どちらにしても骨を造るのは骨芽細胞と呼ばれる細胞で、まずコラーゲンを主とした有機質基質を分泌する。

さらに有機質基質を分泌しながら、先に形成した有機質基質に無機質成分を送り込み石灰化(無機質沈着)する。このため、骨の形成面には絶えず未石灰化の有機質層(類骨、象牙質の場合は象牙前質と呼ぶ)が見られる。未石灰化の層と石灰化した層の境界を石灰化前線と呼んでいる。

石灰化が石灰化前線において急速に進行するという点、すなわち類骨あるいは象牙前質においては石灰化の材料は存在してもなぜか石灰化を起こさないという点についてはいろいろな説明がなされている。この場合最も受け入れられている説はインヒビター説であろう。すなわち、おそらくある種の蛋白が結合することによって石灰化が妨げられ、材料は無事石灰化前線に運ばれ、そこで蛋白が離れて初めて石灰化が生じるという説である。ただし、これも完全に証明されたわけではない。

骨の結晶の形成は石灰化前線において行われているが、石灰化(と結晶化)の具体的な過程については未だに基質小胞説、コラーゲン説、非コラーゲン蛋白説などがあり混乱している。基質小胞説は骨芽細胞内に石灰化の

Fig. 1 Bone calcification and matrix vesicles³⁾.

1994年8月25日受理

* 日本大学松戸歯学部第2解剖学教室

Department of Anatomy, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, 2-870-1, Sakae-cho Nishi, Matsudo, Chiba, 271

Fig. 2 Schematic illustration of intra-fibril collagen calcification⁴⁾.

Fig. 4 Electron micrograph of cross section of enamel-prism, or enamel rod⁶⁾. Size of a key-hole structure is about 5 μm. Apparent crystal sizes at the prism body (incomplete circle) area differ from the prism tail (narrow space) area.

材料を含む小胞がつくられ、それが細胞外の基質へ分泌されて石灰化を起こすというものである(Fig. 1)。これは象牙質の中でも最初に造られる第1層ではこの基質小胞が確認されているが、すべての石灰化過程に見られるわけでもないため主流となるまでには至っていない。コラーゲン石灰化説は古典的な説であり、はじめはエピタキシーによる結晶成長が考えられていたが、最近ではコラーゲン線維内における石灰化(Fig. 2)が主流となっており、透過型電子顕微鏡による観察でも確認されている。しかし、この説もまた石灰化に必要な材料の供給経路とコ

Fig. 3 Enamel crystal (right) and bone crystal (left)⁵⁾.

ラーゲン線維外の石灰化の問題が残されておりすべての研究者に受け入れられているわけではない。これに対してコラーゲンの

線維に結合した蛋白が石灰化の重要な役割を果たすという非コラーゲン蛋白説が最近広まってきた。

以上のように骨や象牙質の石灰化がどのようにして起きるかという基本的な点についてさまだははっきりしていない。結晶の性質についてはなおさらわかっていないというのが現状である。骨の結晶の大きさはエナメル質結晶と比較にならないくらい小さく(Fig. 3)、組成もアパタイトからは大きくはずれる²⁾。しかし、一方でエナメル質のような比較的しっかりした生体アパタイト結晶をつくる事が出来るのに、いつまでたってもあやふやな結晶を骨につくっているということは何を意味するのであろうか。骨は生涯を通じて改造(吸収と形成)を繰り返し、また生体の代謝にとって重要な無機質の貯蔵庫であることと無関係ではなさそうである。ちなみに、人工的に合成した”良い”アパタイト結晶は細胞は吸収できないことを指摘しておこう。

3. エナメル質の結晶形成と成長

エナメル質には幅約5 μmのエナメル小柱と呼ぶ構造の単位がエナメル象牙境からエナメル質表面に向かって走行しているのが観察される(Fig. 4)。歯の組織構造については文献²⁾を参照されたい。1つのエナメル小柱は1つのエナメル芽細胞によってつくられる。このエナメル質の石灰化は1次石灰化と2次石灰化の2段階に分けて行われる。

1次石灰化：エナメル芽細胞はエナメル質基質(有機質)

Fig. 5 Showing the orientations of ameloblasts (enamel forming cells) and crystallites⁷⁾. Crystallites are at almost right angle to the cell membrane.

Fig. 6 Transformation of OCP into apatite⁹⁾. Dehydration from OCP lead apatite structure.

を分泌すると同時に軽い石灰化(1次石灰化)が行われる。基質が分泌されたときにすでに石灰化をしている点が骨や象牙質の石灰化と異なる点である。エナメル芽細胞がエナメル質基質を分泌している時に電子顕微鏡では微少結晶が細胞膜と垂直方向に並んでいるのが観察される(Fig. 5)。

このときの結晶の大きさは厚さ約20 Å, 50-100 Å, 長さ数100 Åの微少な平板状であるという。これはアパタイトの属する六方晶系とは相容れないように思える。あとで触れる先駆物質説の1つにブラッシュ石(brushite, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)を考える人がいるが、電子顕微鏡による研究では、このときの結晶はすでにアパタイトでそのc

軸は長さ方向であるといわれている。

このときの結晶が細胞(膜)と接しているのか離れているのか明かではない。しかし、エナメル小柱において結晶は整然とした方向性を示している(Fig. 4)ので、結晶の向きを制御する何らかの機構が必要であると考えられている。細胞(膜)以外にエナメル質基質中のある種の蛋白がこの役割を果たしていると考え研究者もいる(文献⁹⁾参照)。

ヒトの硬組織の結晶はほとんどがアパタイトで構成されているが、アパタイト結晶の形成は生体内の環境では困難である。そのため生体アパタイトの形成について、a)より形成されやすい結晶が最初に析出しその後これがアパタイトに変わるという先駆物質説、b)結晶が沈着しやすい基盤が存在するというエピタキシー説、c)析出を阻害して濃度を高めてその結果アパタイトが析出するというインヒビター説などがあるということを以前に紹介した²⁾。

先駆物質説の1つに OCP (Octacalcium phosphate, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)説⁴⁾があり、これは i)結晶構造がアパタイトと類似している、ii)組成が生体アパタイトのCa/P比(約1.5-1.6)に近い、iii)生体アパタイトはMgを含有するがMgの存在によりOCPの形成は促進される、iv)生体アパタイトは一般的にかなりの CO_3^{2-} を含むがOCPの結晶構造には CO_3^{2-} を置換するゆとりがある、v)生体アパタイト結晶には central dark line と呼ばれる結晶格子の歪みが見られるがこ

れは最初に形成されたOCPの名残りであると考えられる。vi)生体アパタイトは正六角柱の形態を示すことはなく必ずどちらかのa軸方向に扁平な形を示しこれはOCPの結晶形と調和的である、などの理由で最も可能性が高いと考えられている¹⁰⁾。提唱者のBrownはOCPからアパタイトへの転移がOCPの脱水によって生じると考えた(Fig. 6)。

電子顕微鏡によるのがほとんど唯一の方法なので試料調整の問題もあり、最初に形成された結晶がアパタイトであるのかOCPであるのかあるいはそれ以外のものであるのか、また最初から結晶化しているのかもはっきりしたことは分かっていないと思える。先駆物質説の1つに非晶質リン酸カルシウム(Amorphous calcium phosphate, ACP)説¹¹⁾があるということを記しておいた方が公平であ

Fig. 7 Progress of enamel formation starting from enamel-dentin junction towards to eventual enamel surface. Enamel formation proceeds from the tip of tooth toward to cervical region. Therefore, a line of ameloblasts make a growth line at occasions. And the tip side ameloblast are almost finishing the formation, whereas the cervical side ameloblasts are now starting the formation.

ろう。このACP説は骨の石灰化にとって魅力のある説である。

2次石灰化：1つのエナメル芽細胞が予定したエナメル質の厚さ分の基質形成を終える(Fig. 7)と、成熟期に入りエナメル質基質はさらに石灰化を進める(2次石灰化)。このときの石灰化は1次石灰化のときに出現した結晶の成長としてとらえることが出来る(Fig. 8)⁶⁾。

エナメル質の石灰化の特徴の1つは、この2次石灰化において有機質の脱却(細胞による吸収)と無機質の沈着(細胞からの分泌)が同時並行して行われる点にある。したがって、結晶は比較的自由な成長空間を保有することが出来ることになる。しかし、アパタイトが六方晶系に属しているのであるから、自由な成長を行わせたら六角

プリズムになりそうであるが、実際にはエナメル質結晶の成長は長さの成長が主体で厚さはそれほど変化が少なく、最終的には厚さ約200Å、幅約500Å、長さ約2000Åの平板状結晶となる¹³⁾。c軸は長軸方向にあることが確かめられている。ただし、結晶の形と大きさは動物によって異なっている。

4. おわりに

一般に、結晶成長は結晶の核形成とその後の成長に分けて考えることができます。これは丁度動物の発生と成長とに対応したものだと考えられます。発生の過程では著しい形態と内容の変化が見られ、質的な変化が主体となっています。その後の成長期では形態の変化は量的な

Fig. 8 Growth of enamel crystallites¹²⁾. At the starting stage (Upper) the crystallites are thin and small, and the later maturation stage the crystallites are grown larger and hexagonal-like (Lower). Left sides show tangential and right sides show cross sections.

変化によって起こされたもので質的な変化は影を潜めてしまいます。エナメル質結晶の形成は正しくこの過程をたどっていると考えられていますが、初期の核形成期における様子はまだはっきりとしたものではなく、さまざまな過程が推測されています。

これに対して、骨とその仲間であるセメント質、象牙質を構成する結晶の形成様式はエナメル質の場合と全く異なっています。これらの硬組織の石灰化(無機質沈着)は直接間接にコラーゲンと密接な関係をもっています。

どちらの石灰化にしても極論すれば何一つ明かとなつ

ていないと言ってよいと思います。生体アパタイトはそのあやふやさが特徴だと思いますが、このような込み入ったものを扱うことに鉱物学者は慣れているのではないのでしょうか。是非多くの鉱物学者がこの方面に興味を抱いて頂くことを願ってこの小文を終わりたいと思います。

文 献

- 1)寒河江登志朗(1994): 生体鉱物の相変化, 平成6年度鉱物学会年会抄録集.
- 2)寒河江登志朗(1992): 歯の硬組織のもつ問題のいくつか.

- 鉱物学雑誌, **21**, 141-147.
- 3)小澤英浩(1983): 結合組織, **15**, 1.
- 4)Glimcher, M. J. (1981): On the form and function of bone: From molecules to organs. Wolff's law revisited, 1981. In, Veis, A. Ed., *The Chemistry and Biology of Mineralized Connective Tissues*, Elsevier, North Holland, 641.
- 5)Carlstrom, D. (1964): In, Staple, P. H. Ed., *Advances in Oral Biology*, Academic Press, New York, 255.
- 6)Glick, P. L. (1986): In, Provenza, D.V. and Seibel, W. Ed., *Oral Histology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 58.
- 7)脇田 稔(1987): 須賀昭一編, エナメル質, その形成, 構造, 組成と進化, クインテッセンス出版, 81.
- 8)平井五郎・寒河江登志朗(1987): エナメル質形成期の結晶形成と変化. 須賀昭一編, エナメル質, その形成, 構造, 組成と進化, クインテッセンス出版, 191-201.
- 9)Brown, W. E.(1966): Octacalcium phosphate and hydroxyapatite. *Nature*, **196**, 1048-1055.
- 10)Young, R. A. and Brown, W.E. (1984): Structures of biological minerals. In, Nancollas, G.H. Ed., *Biological Mineralization and Demineralization*, Springer-Verlag, Berlin, 101-141.
- 11)Posner, A. S. and Termine (1984): In, Nriagu, J.O. and Moore, P.B. Eds., *Phosphate Minerals*, Springer-Verlag,
- 12)Nylen(1986): In, Provenza, D.V. and Seibel, W. Ed., *Oral Histology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 58.
- 13)Daculsi, G (1992): *J. Dent. Res.*