総 説

エナメロイドのフッ素含量と魚の系統.

エナメル質形成機構の

進化へのアプローチ

須 賀 昭 一

日本歯科大学歯学部病理学教室 (主任: 須賀 昭一教授)

[受付: 昭和58年3月20日]

Review

Fluoride concentration in fish enameloid and its phylogenetic significance: An approach to the evolution of the mechanisms of enamel formation

Shoichi Suga

Department of Pathology, Nippon Dental University, Tokyo

(Chief: Prof. Shoichi Suga)

[Accepted for publication: March 20, 1983]

Key words: enameloid / enamel / fluoride / fish / evolution

Abstract: The enameloid of fish teeth is analogous to the enamel of mammalian teeth and similarly highly mineralized. Quantitative electron microprobe analysis of the teeth of various teleost fishes when considered from the view point of their systematic classification indicates that fishes may be placed into two groups in terms of the fluoride concentration in the enameloid; one group containing fluoride of more than about 2.0% in the enameloid; and the other containing less than about 0.3% (Figs. 6 and 8). The fluoride concentration in the enameloid is related to the fish phylogeny rather than to the fluoride concentration in the environmental water (Table 1, Figs. 2-8). It is also not related to feeding habits, though the form, size and distribution, of the teeth show a wide range of adaptation in association with feeding habits (Figs. 1 and 5, Table 2). It seems to indicate that the evolution of the chemical composition of enameloid is completely independent of morphological adaptation of teeth. Similar phenomena have been found related to the iron concentration in enameloid.

Crystallographic investigations indicate that, in the high fluoride enameloid, apparently fluoride is present in the apatite as $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F}, \text{OH})$ or $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ (Figs. 9-11).

Since the fluoride concentration in the dentin and bone is very low, in contrast the high concentration of fluoride which can be observed even in the developing enameloid, it seems that there is a peculiar mechanism under the control of the ameloblasts which concentrates the fluoride in enameloid.

The present investigations seem to provide evidence which could lead to a better understanding of the evolution of the mechanisms of tooth enamel formation (Figs. 12 and 13).

1. はじめに

アパタイト結晶の形成にあたってフッ素 (F)

東京都千代田区富士見 1-9-20 (〒102)

の果す役割は大きく、また、それは主として結晶格子内にとり込まれて、その結晶性に関連すると考えられている。

しかし、一方では、フッ素は細胞毒、酵素毒で

あり、その大量の摂取によって歯質の形成細胞、特に、エナメル器の細胞を障害し、石灰化不全や減形成を起すことも良く知られている。従って、歯質の形成のメカニズムを考えるにあたってフッ素の存在を無視することは出来ない。

歯質中のフッ素含量についての研究は多い。その多くが歯質中のフッ素量は飲料水や、食物に含まれるフッ素量と密接に関連していることを示しており、それはもはや常識化しているといっている。

ところで、魚のエナメロイド (enameloid, 哺乳動物のエナメル質に相当し、それと同程度に石灰化している) 中にエナメル質の場合には考えられないほど高濃度のフッ素が含まれている場合があり、筆者らの研究によってその含量は環境水中のフッ素含量よりもむしろ魚の系統発生と関連していることがわかって来た。その様な事実が明らかになった経過と所見に対する筆者らの考え、等をのべたいと思う。

2. 魚の歯質中のフッ素含量 (研究の経過)

1) 研究の発端

筆者らは以前から哺乳動物のエナメル質形成機構に関する検索を多くの哺乳動物の歯胚について行って来ており、その一部として形成期、並びに完成したエナメル質内での微量元素の濃度分布の観察を electron microprobe を用いて行っていた (Suga (1983)¹ を参照)。当然のことではあるが比較組織学の観点から魚の歯についても哺乳動物の場合と同じ方法と条件で観察することになった。エナメル質内での塩素(Cl), マグネシウム(Mg), ナトリウム(Na), それにフッ素の濃度分布パターンが動物種にかかわらず極めて良く似ていた (須賀ら, 1971², 須賀, 1976³)、魚の歯での所見をそれと比較して見るのは意義があると思ったからである。

先ず分析したのは硬骨魚のイシダイ (*Oplegnathus fasciatus*) とマダイ (*Chrysophrys major*) の顎歯で、それらのエナメロイド中では塩素濃度はエナメル質でのそれよりはるかに低く、それに対してフッ素濃度はいちぢるしく高く、4.18%以上にも及ぶことがわかった。その際、注目された

Table 1 Fluoride concentration in marine water

Area	F(mg/kg) (S=35‰)	Investigators
the Black Current	1.3	Miyake(1939) ⁵
the all oceans	1.3	Greenhalgh and Riley(1963) ⁶ and Riley(1965) ⁷

のは高いフッ素濃度はエナメロイド内のみ見られ、それに隣接する象牙質や骨では見られない(0.51%以下)ことであった。ところでそれと一諸に分析したコイ (*Cyprinus carpio*) の咽頭歯のエナメロイドと象牙質では共に0.15%以下であった (Suga ら, 1976)⁴。

これらの魚はいずれも硬骨魚の内、真骨類 (Teleostei) に属するもので前二者は海水魚、後者は淡水魚である。ところで海水中のフッ素濃度はほとんどすべての海域で約1.3ppm であることが知られていた (Table 1), 当初、海水魚のエナメロイドでの高いフッ素濃度は環境水中のフッ素濃度と関連するものと考えた。

その時点で行った文献調査によると、すでに化学分析によって軟骨魚であるサメのエナメロイドのフッ素濃度が約3.6%以上で、結晶学的に珪物成分はフルオルアパタイト (fluorapatite) であることがわかっていた (Trautz ら, 1952⁸, Glas, 1962⁹, Büttner, 1966¹⁰)。しかし、大ききのはるかに小さい硬骨魚の歯についてはこの様な検索は全く行われていなかった。

その後、筆者らは観察対象を硬骨魚の内、主に真骨類の魚にしぼり、その海水魚と淡水魚の魚種を増し、あらためて以前よりは系統的な調査を行うことにした (Suga ら, 1980)¹¹。観察対象を真骨類の魚にしぼったのは、その種類が軟骨魚よりはるかに多く、しかも様々な環境で生活しており、その上、歯の形も多様であるので、歯質中のフッ素含量とそれらの条件との関係をさぐるのに軟骨魚よりはるかに適当であると考えたからである。

2) 試料の作製と分析の方法

フッ素の定量にあたっては electron microprobe を用いることにした。硬骨魚の歯の様に小さく、しかも、その内、エナメロイドが占める範囲がそ

の極く一部に限られている様な場合には electron microprobe の様な直径数ミクロンにしばった電子線の照射による非破壊的な定量分析が効果的に行える唯一の方法であると考えたからである（須賀と副島，1973）¹²⁾。

試料は合成樹脂（ポリエステル樹脂）に包埋の後、厚さ60 μ m 前後の研磨片とし、先ず、microradiogram を撮影する。これによって、歯の組織像と石灰化像が記録される。次いで、研磨片はエポキシ樹脂によってアルミニウムの試料台上にはり着けられ、カーボン蒸着を行い、electron microprobe による分析にそなえる。分析部位は常に先に撮影された microradiogram の観察によって決定されている。

フッ素の定量は点分析によって、分布の観察は線分析によったが、標準試料としては fluorapatite（Durango 産）が用いられた。そのフッ素含量は予めフッ素電極法によって計測されている（Suga ら，1980）¹¹⁾。

3) エナメロイド中のフッ素含量と魚種、その他の条件との関係

あらためて行った多数種についての検索（Suga ら，1980）¹¹⁾によると先ず、コイやフナ（*Carassius carassius*）のエナメロイド中のフッ素含量が0.17%以下であるのに、同じ淡水魚である3種のティラピア（*Tilapia nilotica*, *T. zillii*, *T. mossambica*）のエナメロイドでは2.65%以上であることがわかった。それらの内、コイとフナ、それに *Tilapia nilotica* は同じ池（水のフッ素含量は0.07 p.p.m.）で同じ飼料で飼育されたものであった。尚、コイやフナはコイ目（Cypriniformes）に属しているのに対して、ティラピアは先のインダイヤマダイと同じくスズキ目（Perciformes）に属していることが注目された。

一方、調査した海水魚の内、8種の魚のエナメロイドが3.28%以上のフッ素を含んでいるのに、4種のフグ（*Fugu rubripes rubripes*, 等）のエナメロイドは0.17%以下であった。フグはフグ目（Tetraodontiformes）に属している。

以上の所見はエナメロイド中のフッ素濃度は環境水中のそれとは関係なく、むしろ魚の系統と関係していることを示唆している。この様な事実は

かって誰によっても指摘されたことはなかった。この事実を一層確かめるための第一の作業として先のフグを含むフグ目の多くの魚をあらためて系統的に集め、それらの歯の分析を行うことにした（Suga ら，1981）¹³⁾。

フグ目は二つの亜目に分けられる。モンガラカワハギ亜目（Balistoidei）とフグ亜目（Tetraodontoidae）で、前者にはモンガラカワハギ、カワハギ、ハコフグなどが含まれ、後者には各種のフグ、ハリセンボン、マンボウなどが含まれる。いずれも一部を除いて海水魚であり、分析したのはすべて海水魚である。モンガラカワハギ亜目に比べるとフグ亜目はより進化したグループであることが様々な解剖学的な調査によって確かめられている（Winterbottom, 1974¹⁴⁾, Tyler, 1980¹⁵⁾）。歯の形態を見ると、モンガラカワハギ亜目では長い根を持った犬歯形、シャベル形、臼歯形で、一本一本が分離しており、別々に交換している（Fig. 1a）のに対して、フグ亜目ではマンボウ科の魚を除くすべてで、形成の過程にある歯が何層にも積み重っており、それらは骨によって取り囲まれて全体としてナイフ状、又は臼状の歯板（tooth plate）を形成している（Figs. 1b,c）。二つの亜目間で以上の様な違いがあるが、microradiogram 上、エナメロイドの石灰化進行の様相にはほとんど違いはない。

元素分析の結果（Fig. 2 と 3）、2つの亜目の間でエナメロイド中のフッ素濃度に極めて明瞭な違いがあることがわかった。即ち、モンガラカワハギ亜目（13種）のいずれの魚のエナメロイドも2.3%以上のフッ素を含んでいるのに対して、フグ亜目（14種、ただしマンボウ（*Mola mola*）の歯はエナメロイドが薄いので分析不能）のすべてで0.17%以下であった。同じ系統に属する海水魚であるのに進化の程度の異なる亜目間でエナメロイド中のフッ素含量がこの様に明瞭に異なることは注目してよいと思う（Fig. 4）。

次にスズキ目に属する79種の魚について分析を行った（Suga ら，1983）¹⁶⁾。スズキ目は現存する真骨類の魚の中で最大のグループで、多数の科からなり海水魚と淡水魚の両方を含んでいる。

尚、スズキ目に限らず淡水魚はその系統、棲息状

Fig. 1 Microradiograms of the undemineralized ground sections of the teeth of fishes of the Tetraodontiformes. **a**: *Balistoides conspicillum*, the Balistoidei. **b**: *Chilomycterus affinis*, the Tetraodontoidei. **c**: *Triodon macropterus*, the Tetraodontoidei. The fishes of Balistoidei have separate and well-developed chisel-like teeth with long root. On the other hand, the fishes of Tetraodontoidei have a knife shaped plate formed by the fusion of individual teeth. A longitudinal labio-lingual ground section of the tooth plate shows that the layers of the tooth from the early stage of mineralization to the fully formed stage are surrounded firmly by the alveolar bone (Suga et al., 1981)¹³⁾.

態から6種類ぐらいに分けられる(多紀, 1980)¹⁷⁾。今回、検索したスズキ目に含まれる淡水魚は次の三つの分類のいずれかに属している。

(1) 第1次淡水魚(primary freshwater fishes), 完全に淡水中にのみ棲息する魚類で、系統分化、種分化、分布の舞台が全く淡水域に限定されている。先にのべたコイなどもこれに属する。

(2) 第2次淡水魚(secondary freshwater fishes), ほとんど完全な淡水生活者であるが、ある程度の期間は塩分に耐え得るもの、従って少々海の障壁ならば乗り越えて分布を広げることが出来る。

本目に属するすでのべた テイラピアを含むシクリド科などがこれに属する。

(3) 代理性淡水魚(vicarious freshwater fishes), 本来は海産の系統から派生した完全な淡水生活者属。

同じ目(order)に属しながら海水魚と淡水魚とがあり、淡水魚であっても以上の様に進化と棲息の舞台が異なる魚を含むグループについて検索することは現在進めている研究にとって極めて有用であると考えられる。

その結果(点分析による定量値)を総括的に図

Fig. 2 The distribution of fluoride, magnesium and calcium in the teeth of two fishes, revealed by line scan analysis by the electron microprobe. *a*: *Alutera monoceros*, the Balistoidei. Fluoride concentration is much higher in the enameloid than in the dentin. *b*: *Chilomycterus affiniis*, the Tetraodontoidei. Line scan analysis was performed along the line crossing three layers of fully formed tooth. Fluoride concentration is very low in both the enameloid and dentin. Magnesium concentration is lower in the enameloid than in the dentin, of the teeth of these two fishes. ES, enameloid surface; EDJ, enameloid-dentin junction (Suga et al., 1981)¹⁸⁾.

示したのが Fig. 6 である。これによって、異なる環境水中で系統や種の分化をとげて来てもこの目に属する魚のエナメロイドは極く一部を除いて 2.0 % 以上のフッ素を含んでいることがわかった。それに対して象牙質や骨での濃度は低い。

スズキ目に属する魚の歯の形態は極めて多様である。そのすべての魚が原則として顎歯 (jaw teeth) と咽頭歯 (pharyngeal teeth) とを持ち、魚によっては他の部位にも歯を植立させている。その形は一般に先のモンガラカワハギ亜目の魚のその様に個々に独立して長い根を持ち、ショベル状、針状、犬歯状をしているが (Fig. 5b), 一部の魚 (例えば、イシダイ、ブダイ) ではフグ亜目の場合と同じ様な歯板を形成している (Fig. 5a)。更に、エナメロイドが一つの歯の中で占める容積

比は様々で、歯の大・小や形と関係しない。例えば、マダイ、クロダイ、又は、カワスズメ科 (シクリド科) (Cichlidae) に属する魚の様に比較的厚いエナメロイドが歯冠の広い範囲を被っている場合 (Fig. 5c) から、マグロやカツオを含むサバ科 (Scombridae) 等の魚の様にかなり長くて大きな歯牙の先端の極くせまい範囲にのみ見られる場合がある (Fig. 5b)。しかし、エナメロイド中のフッ素含量はその様な組織学的所見とは全く関係していない。

ここで 1980 年までに分析した様々なグループに属する 78 種の魚 (軟骨魚も含む) をエナメロイド中のフッ素含量によってプロットしたものを示しておく (Fig. 8)。これによるとこれらの魚は淡水魚と海水魚であることとは関係なく 2 つのグルー

Fig. 3 Histogram showing the fluoride concentration in the enameloid, dentin and bone of the Tetraodontiformes. The fluoride concentration in the enameloid of all the Balistoidei examined was higher than 2.31%, whereas that of the Tetraodontoidei was less than 0.28%, except for the Molidae. Dentin and bone of all the fishes of two suborders contain very low fluoride. The fluoride concentration in matured human enamel and fluorapatite are also shown (Suga et al., 1981)¹⁸⁾.

Fig. 4 The results of quantitative analysis of fluoride in the enameloid of the Tetraodontiformes shown in Fig. 3 were plotted with the phylogenetic tree proposed by Tyler (1980)¹⁵⁾ based upon osteological characters (Suga et al., 1981)¹⁸⁾.

Fig. 5 Microradiograms of undemineralized longitudinal ground sections of teeth of fishes of the Perciformes. **a**: *Scarus gibbus* (jaw tooth). **b**: *Pseudosciaena soldado* (jaw tooth). **c**: *Hemigymnus melapterus* (pharyngeal tooth) (Suga et al., 1983)¹⁶⁾.

Fig. 6 Distribution of 78 perciform species examined is plotted according to the fluoride concentration in the enameloid. The fluoride concentration in the human mature enamel, the enameloid of *Cyprinus carpio* (Suga et al, 1980)¹¹⁾ and *Fugu rubripes rubripes* (Suga et al., 1981)¹³⁾ and fluorapatite is also plotted. The fluoride concentration in the enameloid of all the Perciform fishes examined is higher than about 2.0%, whereas that

プ、即ち、エナメロイドのフッ素含量が高く2.0%以上のグループと、低くてヒトのエナメル質のそれに近いグループ、云い換えると、エナメロイドの形成機構において特にフッ素濃縮能を持つ魚とそれを持たない魚とに分けられることがわかる (Suga ら, 1981)¹⁸⁾。

3. エナメロイドのフッ素含量と アパタイトの結晶学的性状

筆者らの行った高フッ素と低フッ素のエナメロイド、象牙質、それに各種濃度のフッ素を含む合成アパタイトのX線回折法と赤外分光法による比較検索によって次の様なことがわかった (LeGeros と Suga, 1980)¹⁹⁾。

フッ素含量がふえるに従ってアパタイト結晶の α 軸の parameter の systematic な減少が見られる。又、様々な濃度のフッ素を含むエナメロイドから得られた所見は同時に分析した様々な濃度のフッ素を含む合成アパタイトの所見と良く平行している (Fig. 9 と 10)。高フッ素のエナメロイドの CO_3 含量は低フッ素のエナメロイドよりも低い。歯質のフッ素含量と結晶の α 軸の長さとの間に逆の相関が見られたことは結晶中でフッ素と OH の置換が起り、その結果、 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F}, \text{OH})$ か $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ (fluorapatite) を形成していることを示すと考えられる。

高フッ素のエナメロイドと低フッ素のエナメロイドの各3例を選んで、フッ素以外の無機相に関連する微量元素として塩素 (Cl), マグネシウム (Mg), それにナトリウム (Na) の濃度を electron microprobe によって計測し比較したものを Fig. 11 に示した (Suga ら, 1981)¹⁸⁾。これによって、両種のエナメロイドの間でマグネシウムとナトリウムは特に濃度の違いを示さないが、塩素濃度は高フッ素のエナメロイドではるかに低いことがわか

of *Cyprinus carpio*, *Fugu rubripes rubripes* and human enamel is lower than 0.2%. It is readily recognized that there is no significant difference in fluoride concentration among marine and freshwater species which have differentiated in the different geographical environment (Suga et al., 1983)¹⁸⁾.

Fig. 7 Distribution patterns of fluoride, magnesium and calcium in the teeth of two species, of the Perciforms revealed by line scan analysis with the electron microprobe. **a**; *Prionurus microlepidotus* (marine fish, jaw tooth). **b**; *Tilapia nilotica* (secondary freshwater fish, pharyngeal tooth). In the teeth of both the marine and freshwater fishes, fluoride concentration is much higher than in the dentin. ES, enameloid surface, EDJ, enameloid-dentin junction (Suga et al., 1983)¹⁶⁾.

る。このことは高濃度にとり込まれたフッ素は塩素とも置換していることを示すのかも知れない。

一部の試料（例えばクロダイ）でフッ素含量は fluorapatite の理論値（3.77wt %）を上まわっているが、余分のフッ素がどのような形で歯質内に沈着しているのかは明らかでない。

4. エナメロイドのフッ素含量と魚の系統との関係

すでにのべた所見から真骨類の魚はエナメロイドのフッ素含量が約2%以上のグループと、約0.3%以下のグループとに分けられ、その違いは魚の系統発生（phylogeny）と関連していることが明らかである。このことは未だ予報的な段階ではあるが同じ真骨類に属する他の魚のグループについての調査によっても裏付けられる。例えば、コイ

目に属するコイ科（Cyprinidae）とカラシン科（Characidae）のほとんどの魚のエナメロイドは低フッ素である（Suga ら, 1979²⁰⁾, 1981¹⁸⁾）。

真骨類は陸水と海洋を問わずあらゆる水域で覇をとっている魚の一大グループである。真骨類の魚が全骨類にとって変って白堊期に出現して以来おびただしい適応放散の系統に分かれて発展して現在に及んでいる。真骨類ほど種類も多く、体型や適応形質の多様なグループは脊椎動物のほかにはないと言われている。その様な意味で、筆者らが現在行っている様なエナメロイド・エナメル質系の組織の組成と構造の進化の研究にとって真骨類の魚は極めて興味ある観察材料であると言えることが出来る。

ただし、真骨類はおびただしい属や種を含んでおり、上目レベルの大きな分類群でも9つに及ん

Fig. 8 The distribution of 78 species of various orders (both teleosts and elasmobranchs) examined by us until 1980 was plotted according to the fluoride concentration in the enameloid. The fluoride concentration in the surface layer of human enamel and fluorapatite is also plotted. It is readily recognized that the fishes may be divided into two separate groups (Suga et al. 1981)¹⁸⁾.

でいる。すでにのべたスズキ目とフグ目は棘鰭類 (Acanthopterygii) の、コイ目は骨鰾類 (Ostariophysi) の一部であるにすぎない。魚の系統とエナメロイドのフッ素含量との関係を明らかにするには、今後、他の分類群に属する代表的な魚種についての系統的な検索と言う極めて気の長い作業が必要であり、現在進行中である。

エナメロイドのフッ素含量が魚の系統と関連し

Fig. 9 X-ray diffraction patterns of enameloid of some fishes. A : *Lepisosteus spatula* (F : 0.2%), B : *Fugu rubripes rubripes* (F : 0.2%), C : *Pagrus major* (F : 4.5%). The *a*-axis dimensions ($\pm 0.003\text{\AA}$) are (A) 9.441, (B) 9.438 and (C) 9.375. X-ray diffraction patterns of the enameloid showed differences in the broadening of diffraction peaks corresponding with the differences in fluoride contents (LeGeros and Suga, 1980)¹⁹⁾.

て変化するとすれば、高フッ素と低フッ素のいずれが本来の状態であるのか、その違いは魚の進化の過程のどの段階から、どの様な条件との関連で現われて来たのかは興味ある問題である。未だ予報的な段階であるが筆者らの行った各種の原始的な硬骨魚の歯についての検索によると真骨類の前の段階にあった全骨類の内、アミア (*Amia calva*, Bawfine) (淡水魚) がすでに高フッ素のエナメロイドを持っていることを確かめている (Suga と Taki, 1981)²¹⁾。

なぜ、フッ素濃度のちがうエナメロイドが存在するのかを考えるにあたって、一応、機能的な面から検討しておくことも必要である。魚の食性は極めて多様であり歯はそれに適応して様々な型を

Fig. 10 a -axis dimensions as function of fluoride concentration in fish enameloid apatite (■) and in synthetic apatite (○). Their corresponding c -axis dimensions ($6.881 \pm 0.003 \text{ \AA}$) are not significantly different. In comparison, human enamel (F: 0.2%) has an average a -axis dimension of $9.441 (\pm 0.003 \text{ \AA})$; mineral fluorapatite (F: 3.77%), $9.377 (\pm 0.003 \text{ \AA})$. An inverse correlation between a -axis dimension and fluoride concentration was observed in both enameloid and synthetic apatites. No significant differences were observed in their respective c -axis dimensions. The present results show that the presence of fluoride affects the crystallite size and lattice parameters of apatite phase (LeGeros and Suga, 1980)¹⁹⁾.

とっている。そこでいくつかの代表的な形態的特徴をそなえる歯を持つ魚を海水魚と淡水魚から選り出し、しかもその中には高フッ素エナメロイドと低フッ素エナメロイドを持つ魚種を含ませる様にし、それらと食性との関連を検討してみた (Table 2)。これによるとエナメロイド中のフッ素含量は食性や歯の形とはほとんど関連していないことが明らかである (Suga ら, 1981)¹⁸⁾。このことは食性や歯の形の極めて多様なスズキ目の魚についての検索成績からも推測することが出来る。この様に魚の進化の過程でエナメロイドのフッ素含量を決定した条件から食性や歯の形態の問題は除

外してよさそうである。

ここで注目して良い事実がある。実はフグ目はスズキ目から派生したグループで、その祖先形はニザダイ科 (Acanthuridae) の魚であると考えられている。又、骨や筋肉の解剖学的調査によると、フグ目の内、モンガラカワハギ亜目の魚は原始的な形態形質を多く残しているのに対して、フグ亜目の魚はより進化した形態的特徴をそなえていると言う (Winterbottom, 1978¹⁴⁾, Tyler, 1980¹⁵⁾)。すでに述べた様に、前者のエナメロイドは高フッ素濃度であり、後者のそれは低フッ素であることを考えると、この系統の魚では、原始的な段階でエナメロイド形成細胞が持っていたフッ素濃縮能が進化の過程で二次的に失われたことが想像される (Suga ら, 1981)¹³⁾。

一方、コイ目の多くの魚のエナメロイドは低フッ素であるが、それが果してフッ素濃縮能の二次的喪失によるものか、その系統本来の性状であるのかは今後の検索にまたなくてはならない。筆者らはすでにそれ以外のいくつかの系統に属する魚が低フッ素のエナメロイドを持っていることを確かめている。これらの成果を魚の系統図にあてはめる一方では、真骨類よりも原始的な魚種 (化石と現生) についても検索を進めることによって魚の系統進化とエナメロイドのフッ素含量との関係を明らかにしたいと考えている。

5. エナメロイド形成のメカニズムとフッ素濃縮

エナメロイドはすでにのべた様に哺乳動物のエナメル質と同様に歯冠を被う極めて高度に石灰化した組織である。その形成のメカニズムはエナメル質のそれと共通の点を多く含む一方では、いくつかの点で異っている。その比較は Fig. 12に示した。

1) エナメル質の形成 (Fig. 12A)

哺乳動物の場合も、魚の場合も、歯質の形成開始の直前において、エナメル器の内エナメル上皮細胞層と歯乳頭の象牙芽細胞層とが相接して配列していることは同じである。哺乳動物の場合、両細胞の分化が進んだ後、先ず象牙質の形成が始まる。象牙質基質の形成がある程度行われると、その外

Fig. 11 Comparison of distribution patterns of fluoride, chloride, magnesium and sodium revealed by the quantitative point analysis with the electron microprobe, between the high fluoride enameloid and the low fluoride enameloid of both the marine and freshwater teleosts. Chloride concentration is higher in the low fluoride enameloid than in the high fluoride enameloid (Suga et al., 1980)¹⁸⁾.

側にエナメル芽細胞によるエナメル基質の形成が始まる。エナメル基質が所定の厚さまで形成される間を基質形成期 (stage of matrix formation) と呼ぶ。この間に作られたエナメル基質は極く軽度石灰化する。この期間でエナメル芽細胞が果たす役割は蛋白、多糖類、等からなるエナメル基質物質の合成、分泌とカルシウムをはじめとするイオンの供給である。

基質形成期が終わると、エナメル芽細胞をはじめとするエナメル器の各細胞は形態や細胞学的な特徴を大幅に変える。特に、重要なのはエナメル芽細胞がエナメル基質からの基質成分を脱却する

能力と基質側にカルシウムを主とするミネラルイオンを transport する能力を獲得することである (Suga, 1959²²⁾, Takano ら, 1983²³⁾)。この時期に入るとこの様な細胞の働きによって、基質形成期で作られたエナメル基質の有機質成分の量は二次的に低下し、それに伴って石灰化度は急速に上昇する。この時期を成熟期 (stage of maturation) と呼ぶが、この間に要する時間は基質形成期の3~4倍に及ぶ (Suga, 1983¹⁾ 参照)。

この段階でのエナメル芽細胞の役割としては上にのべたものの他に、酸性ムコ多糖や蛋白の合成と分泌、等も行っているらしい (Weinstock,

Table 2 Relationship between the tooth form, the fluoride concentration in the enameloid and the feeding habits

Species	Tooth form	F concentration in enameloid	Feeding habits
<i>Pagrus major</i> * (Red seabream)	Knob-like jaw teeth	high	Crustaceans, mollusks, echinoderms, asteroids
<i>Cyprinus carpio</i> ** (Common carp)	Knob(molar)-like pharyngeal teeth	low	Crustaceans, mollusks, larvae, worms, other invertebrates, algae
<i>Oplegnathus fasciatus</i> * (Striped beakperch)	Knife-shaped plate formed by fusion of individual teeth ("fused teeth")	high	Crustaceans, mollusks, echinoderms, weeds
<i>Fugu vermiculare porphyreum</i> * (Purple puffer)	"	low	Crustaceans, mollusks, echinoderms, asteroids, fishes
<i>Stephanolepis cirrifer</i> * (Threadtail filefish)	Chisel-like jaw teeth	high	Crustaceans, mollusks, echinoderms, weeds
<i>Serrasalmo rhombeus</i> ** (Piranha)	Razor-sharp jaw teeth	low	Fishes
<i>Tilapia nilotica</i> ** (Nile mouthbreeder)	Small chisel-like jaw and pharyngeal teeth	high	Plankton, algae, small crustaceans

* Marine fish

** Freshwater fish

Present comparison shows that the fluoride concentration in the enameloid does not correlate either with the form of the teeth, or with the feeding habits.

1970²⁴⁾, 相馬, 1975²⁵⁾)). 又, ケツ歯目や食虫目の一部の動物では, この間にエナメル芽細胞内に鉄を含む物質 (ferritin) の合成と蓄積が起こり, この段階の途中, 又は最後でエナメル質内に放出される。

2) エナメロイドの形成 (Fig. 12B)

魚の歯においては, 内エナメル上皮細胞層の歯乳頭側に先ずエナメロイド基質が形成される。このエナメロイド基質はコラーゲンを多量に含んでおり, それは象牙芽細胞によって形成されたものである。ただその間に, エナメル芽細胞によって合成, 分泌された蛋白成分もその中に浸透, 沈着している。この蛋白成分の性状は組織化学的にエナメル基質のそれと良く似ており (Shellis と Miles, 1974²⁶⁾, Shellis, 1975²⁷⁾)。又, サメではあるがそのエナメロイドの蛋白は両棲類, 爬虫類, 哺乳類のエナメル質の蛋白とアミノ酸組成上, また, 免疫抗体法の反応上よく似ていると言う (Slavkin ら, 1981)²⁸⁾。また, この時期のエナメル芽細胞は哺乳動物の基質形成期でのそれと良く似た細胞学的特徴を示している (Yamashita と Ichijo, 1983)²⁹⁾。

このエナメロイド基質はその所定の厚味が形成されるまでは石灰化しない。象牙質の形成が始まる前後にそれに接するエナメロイドの薄い層が急に高い石灰化度を示す様になり, それに伴って残りの幅広い層も極く軽度に石灰化する。以後, エナメロイドは全層にわたって石灰化度を急速に高めるが, それはエナメロイド・象牙境側から中層に及ぶ過程と, 表層側から中層に及ぶ過程との二つからなっている (Fig. 13) (Suga, 1982)³⁰⁾。

この石灰化進行の段階においてエナメル芽細胞をはじめとするエナメル器の細胞は哺乳動物の成熟期におけるそれらと良く似た細胞学的特徴と配列を示している (脇田, 1974³¹⁾ Yamashita と Ichijo, 1983²⁹⁾)。この間のエナメル芽細胞の役割はエナメロイド基質からの基質成分 (コラーゲンを含む) の脱却と基質へのカルシウム等, ミネラルイオンの transport であると考えられるが, 一部の魚においては, 「鉄を含む物質 (ferritin) の合成と基質への分泌を行っている。

高フッ素のエナメロイドの形成過程でフッ素はどの段階からエナメロイド内に沈着し濃縮していくかを microradiogram の所見との対比のもとで

Fig. 12 Schematic drawings showing differences of forming process between mammalian enamel (A) and fish enameloid (B). A. The slightly mineralized enamel matrix is formed on to the dentin layer (stage of matrix formation). After the enamel matrix is fully formed, the ameloblasts change their shape and cytological features and, concomitantly, the enamel matrix begins to mineralize very quickly and heavily (stage of maturation). The ameloblasts at this stage play various functional role as shown in the figure. B. The enameloid matrix comprises both collagen which was formed by odontoblasts and the enamel-like protein which was elaborated by ameloblasts. After it was fully formed, it begins to mineralize. During the stage of mineralization, the ameloblasts show very similar cytological features as observed in the ameloblasts at the maturation stage of enamel. During this stage, the ameloblasts seem to have various functional abilities including concentration of fluoride and iron into the enameloid. It is considered that the mechanism to concentrate such trace elements has been lost in the course of animal evolution.

electron microprobe によってイシダイ (*Oplegnathus fasciatus*) の顎歯で行った観察の結果を要約すると次の様である (Suga ら, 1981)¹⁸⁾。

- ① エナメロイドの石灰化が始まると間もなく、そのフッ素濃度は隣接する象牙質よりはるかに高い値を示す様になる (その石灰化度が象牙質と同程度であっても)。
- ② 石灰化度の二次的上昇が進行して行く過程においてフッ素濃度も全層にわたって上昇を示す。
- ③ フッ素濃度の上昇の勾配は表層側約 $\frac{1}{2}$ で特に急で、それは表層から中層に及ぶ石灰化度上

昇のパターンと良く一致する。その結果、完成したエナメロイドではフッ素濃度は表層で最も高く、深層に向って低下を示す。

- ④ しかし、その間、隣接する象牙質では二次的なフッ素濃度上昇は起らない。

⑤ ただし、エナメロイド・象牙境に沿う象牙質の幅せまい層内では、フッ素濃度はエナメロイド側に向ってわずかに上昇を示す (Fig. 2a と 7)。軟骨魚であるアオザメの歯胚についても同様の所見が得られている (須賀ら, 1978)³²⁾。

以上の所見から、フッ素の濃縮は恐らくエナメル器、特にエナメル芽細胞によって行われている

Fig. 13 Microradiogram of developing enameloid of a marine teleost fish (*Oplegnathus fasciatus*). a, the early stage of mineralization, b-d, the middle stage, and e, the late stage. Lower half of the figure was obtained by being exposed to soft X-ray longer than the upper half. Immediately after the enameloid matrix is fully formed, the very narrow innermost layer adjacent to the enameloid-dentin junction becomes more highly mineralized than the rest of enameloid and the dentin (a). During the middle stage of mineralization, heavy mineralization increase takes place from the surface to the inner layer, and also from the side of innermost layer to the middle layer (b-e) (Suga, 1982)³⁰⁾. High concentration of fluoride appears during the entire process of mineralization, especially, while heavy increase of mineralization takes place from the surface.

と想像される。それも、哺乳動物の成熟期におけると同じ様な細胞学的特徴を示す時期においてである。

以上はあくまでも結果像に基く想像である。今

後は細胞学的または、組織化学的な方法によって細胞の現場においてそのメカニズムを確かめなくてはならない。その際、期待されるのは、高フッ素エナメロイドを形成するエナメル器の細胞と低フッ素エナメロイドを形成する同細胞との間で細胞学的特徴にどんな違いがあるかを明らかにすることである。

尚、考慮すべき問題として、エナメロイドの有機性基質が持つ化学的性状がある。Crenshaw と Bawden (1981)³³⁾によるとエナメル蛋白中にはフッ素と親和性の高い fraction が含まれているという。エナメロイドにおいてその量が魚の系統によって異なることがあるかも知れない。今後、検討されるべき問題である。

ヒトの歯についての化学分析によるとフッ素濃度はエナメル質より象牙質においてはるかに高く (Jenkins と Speirs 1954³⁴⁾, Jackson と Weidmann, 1959³⁵⁾, 杉本, 1981³⁶⁾), また実験的にフッ素を飲料水に混ぜて飲ませたラットにおいても同様な傾向が認められる (Suga ら, 1981¹⁸⁾, 川口, 1982³⁷⁾). この様な事実も、エナメロイドでの高濃度のフッ素の沈着は魚のエナメル芽細胞、またはエナメロイド基質の持つ特殊な性状によるものであることを裏付けている。

エナメロイドへのフッ素濃縮と関連して注意を払わねばならないことに鉄 (Fe) の沈着がある。この様な現象については、かなり古くから組織学的な検索から指摘されており、それがエナメル質の成熟期におけるのと似た形態をとるエナメル芽細胞内での ferritin の出現と濃縮、エナメロイドに向っての放出によることが確かめられている (脇田, 1974)³¹⁾. Electron microprobe の線分析によると、それが石灰化進行の過程でエナメロイドのかなり深層にまで侵入し、沈着していることがわかっている (Suga ら, 1976)⁴⁾.

金属元素である鉄の沈着のメカニズムがハロゲンに属するフッ素の場合と同じであるとは考えないが、比較的、組織化学的に検出することの容易な鉄の細胞内濃縮と基質内沈着の所見は、検出の極めて困難なフッ素の沈着のメカニズムを考える上に大きな示唆を与えるであろう。しかも、この鉄のエナメロイド内濃度も魚の系統と関連してい

ること (Suga と Ogawa, 1980)³⁸⁾ を考えると、両元素の沈着過程の平行的な観察は重要な意義を持つと考えて検索を進めている。

6. エナメロイド・エナメル質系組織の形成機構の進化と微量元素濃度

すでにのべた様に エナメロイド形成の機構は哺乳動物のエナメル質のそれと同一線上に並ぶものと考えてよいと思われる。エナメロイド形成の基質形成期では、エナメル芽細胞によって合成、分泌された蛋白成分（その性状はエナメル蛋白に似ていることはすでにのべた）は象牙芽細胞によって作られたコラーゲンを主成分とする基質（哺乳動物の象牙質に相当すると考えられている）の上に形成されることはなく、その中に浸み込んで沈着する。このような現象は象牙芽細胞によって作られたコラーゲン基質が哺乳動物の象牙質基質よりも密度が低いことによるのか、それともエナメロイドのエナメル芽細胞によって作られた蛋白成分がエナメル質の同細胞によって作られた成分よりも低分子であることによるのかは今後検討すべき課題である (Fig. 12B)。

エナメロイドで石灰化が始まった時点での石灰化像はエナメル質の基質形成期での石灰化像によく似ている。以上の諸事実はエナメル質形成過程の内、基質形成期での機構の進化に係わるものであろう。

その次の段階で石灰化がはじまり、急速に進行する像にはエナメル質の成熟期での所見に類似する点が多い (Suga, 1982³⁰⁾, 1983¹⁾)。しかも、その間、エナメル芽細胞はエナメル質の成熟期における同細胞によく似た細胞学的性状を示すと言うから、エナメロイドの石灰化の過程の大部分はエナメル質の成熟期に相当すると考えてよさそうである。ところでその過程でエナメル質とエナメロイドのエナメル芽細胞が共通して果している役割と考えられるものは、すでにのべた様に有機性基質の脱却とカルシウムなどの transport, 新たな蛋白や酸性ムコ多糖などの合成と沈着である。しかし、以上の他に一部の魚ではフッ素や鉄の濃縮と沈着を加えなくてはならないであろう。また、それ以外にもいくつかの未知の役割があると考え

てよいかも知れない (Fig. 12B)。

この様な成熟期のエナメル芽細胞が本来持っていた多様な機能の一部が動物の進化の過程で一つずつ失われて来たと考えられないであろうか。その一つがフッ素の濃縮能であり、更にまた、鉄の濃縮能であったのではないか。更に、その他に未知の能力の喪失もあったかも知れない。魚で見られた様な高フッ素のエナメル質は今のところ両棲類、爬虫類、哺乳類の動物では見出されていないからフッ素濃縮能は魚の段階で全く失われてしまったと考えられる。ただし、ヒトのエナメル質の表層でフッ素濃度がわずかに高いのはその様な機能のなごりであるかも知れない。それに対して鉄を多く含むエナメル質は両棲類、爬虫類、哺乳類の一部に尚存在するから、鉄濃縮能は哺乳類の段階まで尚、維持されていたと考えられる。これらの問題はエナメル質形成過程の内、成熟期の機構の進化に係わるものと言ってよいであろう (Suga, 1983)¹⁾。

本稿は和田浩爾（水産庁 養殖研究所）、多紀保彦（東京水産大学）、小川正明（日本歯科大学）の方々との共同研究の成果の一部に基くものである。その他、御教示を賜わったり、試料を御恵与下さった多くの方々に御礼申し上げます。

文 献

- 1) Suga, S.: Comparative histology of the progressive mineralization pattern of developing enamel. in Mechanisms of Tooth Enamel Formation. edited by Suga, S. Quintessence Publishing Co., Tokyo, pp. 167-203, 1983.
- 2) 須賀昭一, 近藤 稔, 小野寺 章, 久保田安則, 大塚倫治: 各種動物エナメル質内での Cl, Mg, Na 分布のX線マイクロアナライザによる観察. 歯基礎誌 13 : 85-94, 1971.
- 3) 須賀昭一: エナメル質形成の観点から見たエナメル表層の構造と組成, 須賀昭一, 石井俊文編「齲蝕感受性」口腔保健協会, 5-42頁, 1976.
- 4) Suga, S., Wada, K and Ogawa, M.: Biophysical analysis of the enameloids of the teleosts, J. Dent. Res. 55D : 117, 1976.
- 5) Miyake, Y.: Chemical studies of the western pacific ocean, I. Bull. Chem. Soc. Japan 14 : 27-35, 1939.
- 6) Greenhalgh, R. and Riley, J. P.: Occurrence of abnormally high fluoride concentrations at depth in the oceans. Nature 197 : 371-372,

- 1963.
- 7) Riley, J. P.: The occurrence of anomalously high fluoride concentration in the north atlantic. *Deep-Sea Res.* **12**: 219-220, 1965.
- 8) Trautz, D. R., Klein, E. and Addelston, H. K.: Variation in the X-ray diffractograms of dental enamel of man and shark. *J. Dent. Res.* **31**: 472-473, 1952.
- 9) Glas, J. E.: Studies on the ultrastructure of dental enamel, VI. Crystal chemistry of shark's teeth. *Odont. Revy* **13**: 315-326, 1962.
- 10) Büttner, W.: Konzentration und Verteilung von Fluorid in Haifiszähnen. *Adv. Fluor. Res.* **4**: 193-200, 1966.
- 11) Suga, S., Wada, K. and Ogawa, M.: Fluoride concentration in the enameloid of fishes. in *The Mechanisms of Biomineralization in Animals and Plants*, edited by M. Omori and N. Watabe, Tokai Univ. Press, Tokyo, pp. 229-240, 1980.
- 12) 須賀昭一, 副島啓義: X線マイクロアナライザ. 須賀昭一, 佐々木哲, 田熊庄三郎編「歯の研究法」, 医歯薬出版, 東京, pp. 262-295, 1973.
- 13) Suga, S., Wada, K. and Ogawa, M.: Fluoride concentration in teeth of Tetraodontiform fishes and its phylogenetic significance. *Japan. J. Ichthyol.* **28**: 304-312, 1981.
- 14) Winterbottom, R.: The familial phylogeny of the Tetraodontiformes (Acanthopterygii, Pisces) as evidenced by their comparative myology. *Smithonian Contr. Zool.* **155**: 1-201, 1974.
- 15) Tyler, J. C.: Osteology, phylogeny, and higher classification of the fishes of the order Plectognathi (Tetraodontiformes), US Dept. Commerce, Nat. Ocean. Atoms. Admin., Nat. Mar. Fish. Serv., NOAA Tech. Rep., NMFS Circ. 434, pp. 422, 1980.
- 16) Suga, S., Taki, Y. and Wada, K.: Fluoride concentration in the teeth of perciform fishes and its phylogenetic significance. *Japan. J. Ichthyol.* **30**: 81-93, 1983.
- 17) 多紀保彦: 淡水魚の系統と分布(1), コイ, ナマズ類の起源と伝播. *科学と実験* **31**: 39-44, 1980.
- 18) Suga, S., Wada, K. and Ogawa, M.: Fluoride concentration in the enameloid of fish teeth and its relationship to the phylogeny of fishes. in *Fluoride Metabolism*, edited by K. Binder and M. Hohenegger, Verlag Wilhelm Maudrich, Wien, pp. 79-88, 1981.
- 19) LeGeros, R. Z. and Suga, S.: Crystallographic nature of fluoride in enameloids of fish. *Calcif. Tissue Int.* **32**: 169-174, 1980.
- 20) Suga, S., Wada, K. and Ogawa, M.: Fluoride concentration in the enameloid of freshwater fishes. *J. Dent. Res.* **58**(A): 370, 1979.
- 21) Suga, S. and Taki, Y.: Fluoride concentration in the enameloid of primitive bonyfishes (Osteichthyes). *J. Dent. Res.* **60**(A): 488, 1981.
- 22) Suga, S.: Amelogenesis. Some histological and histochemical observations. *Int. Dent. J.* **9**: 364-420, 1959.
- 23) Takano, Y., Ozawa, H. and Crenshaw, M. A.: The mechanism of calcium and phosphate transport to the enamel. in *Mechanisms of Tooth Enamel Formation*, edited by Suga, S. Quintessence Publishing Co., Tokyo, pp. 49-64, 1983.
- 24) Weinstock, A.: Uptake of ^3H -fucose and ^3H -galactose label by "resorptive" ameloblasts and its secretion into periodic acid (PA)-Schiff-positive surface layer during the phase of enamel maturation. *Anat. Rec.* **166**: 395, 1970.
- 25) 相馬脩司: エナメル質形成のオートラジオグラフィによる研究. *歯学* **62**: 1026-1053, 1975.
- 26) Shellis, R. P. and Miles, A. E. W.: Autoradiographic study of the formation of enameloid and dentin matrices in teleost fishes using tritiated amino acids. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **185**: 51-72, 1974.
- 27) Shellis, R. P.: A histological and histochemical study of the matrices of enameloid and dentine in teleost fishes. *Archs. Oral Biol.* **20**: 183-187, 1975.
- 28) Slavkin, H. C., Zeichner-David, M. and Sidiqui, M. A. R.: Molecular aspects of tooth morphogenesis and differentiation. *Mol. Aspects Med.* **4**: 125-188, 1981.
- 29) Yamashita, Y. and Ichijo, T.: Comparative studies on the structure of the ameloblasts. in *Mechanisms of Tooth Enamel Formation*, edited by Suga, S. Quintessence Publishing Co., Tokyo, pp. 91-107, 1983.
- 30) Suga, S.: Progressive mineralization pattern of developing enamel during the maturation stage. *J. Dent. Res.* **61**: 1532-1542, 1982.
- 31) 脇田 稔: ニザ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研究. *歯基礎誌* **16**: 129-185, 1974.
- 32) 須賀昭一, 和田浩爾, 小川正昭: 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**: 67-81, 1978.
- 33) Crenshaw, M. A. and Bawden, J. W.: Fluoride-binding by organic matrix from early and late developing bovine fetal enamel determined by flow-rate dialysis. *Archs. Oral Biol.*

- 26 : 473-476, 1981.
- 34) Jenkins, G. N. and Speirs, R. L. : Some observations on the fluoride concentration of dental tissues. *J. Dent. Res.* **33** : 734 1954.
- 35) Jackson, D. and Weidmann, S. M. : The relationship between age and fluorine content of dentine and enamel. A regional survey. *Brit. Dent. J.* **107** : 303-306, 1959.
- 36) 杉本めぐみ : ヒトの象牙質内のフッ素とマグネシウム分布のX線マイクロアナライザによる観察. *歯基礎誌* **23** : 290-808, 1981.
- 37) 川口哲郎 : 実験的フッ素中毒症ラットの歯質内フッ素含量について. *歯学* **69** : 792-821, 1982.
- 38) Suga, S. and Ogawa, M. : Iron in the enameloid of fish tooth. *J. Dent. Res.* **59(D)** : 1891, 1980.