原

著

歯小皮に関する観察

1. ヒトの機能歯における歯小皮の基本構造について

山下靖雄 一條 尚 寺島達夫
鹿野俊一 東郷やす子 西川英次

東京医科歯科大学歯学部口腔解剖学教室（主任：一條 尚教授）

（1980年12月25日 受付）

Observations on the Dental Cuticle

1. Fundamental Structures of the Dental Cuticle in Human Teeth

Yasuo Yamashita, Takashi Ichijo, Tatsuo Terashima,
Shun-ichi Shikano, Yasuko Togo and Eiji Nishikawa

Department of Oral Anatomy, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
(Chief : Prof. Takashi Ichijo)

The materials used for this study were the normal enamel from freshly extracted human erupted permanent teeth. The structural features of dental cuticle were observed using light microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope.

The preparations used for light microscopic observations were ground sections and sections decalcified with Kirino's decalcification method. The decalcified sections were stained with hematoxylin-eosin. The material used for transmission electron microscopic observations were cut from the surface layer of enamel using a dental diamond disc. The cubes of enamel were fixed and embedded with routine method. The ultrathin sections were cut nearly vertical and parallel to the enamel surface through the surface layer of enamel with diamond knife without decalcification.

As the results, the dental cuticle was divided into two layers, the primary dental cuticle and the secondary dental cuticle.

The primary dental cuticle was composed of enamel crystals and the secondary dental cuticle was composed of fine granular crystals.

The dental cuticle was more resistant to acid than normal enamel, especially the secondary dental cuticle showed the highest resistance for acid etching.

緒 言

歯冠のエナメル質表面をおおっている歯小皮について最初に記載を行ったのは、一般に Nasmyth, A. (1839)¹⁾ であるとされている。Nasmyth

は歯を脱灰した際、エナメル質の表面に薄膜が残存することに注目し、この膜様の構造物に対して初めて persistent capsular investments と名付けている。その後、多くの研究者がエナメル質表面に存在するこれらの薄膜について観察をなし、

cuticula dentis, enamel cuticle, Schmelzoberhäutchen などの名称が用いられている。またこれらは、発見者の名にちなんで Nasmyth's membrane と呼ばれている。

歯小皮の構造ならびにその由来については古くから多くの研究者によって種々な見解が述べられている。

初期の研究者のなかで, Owen, R. (1840)²⁾, Tomes, J. (1859)³⁾, Tomes, C. S. (1872)⁴⁾および Talbot, E. S. (1920)⁵⁾らは, 歯小皮をセメント層であるとしている。

また Huxley, T. H. (1853)⁶⁾は, 内エナメル上皮がその細胞の表面に分泌した薄膜, すなわち Raschkow のいう membrana praeformativa と Nasmyth's membrane が構造的によく似ているという理由から, この membrana praeformativa がのちに歯小皮になるという見解をとっている。

Kölliker, A. (1863)⁷⁾は, Nasmyth の persistent capsular investments に対して, Huxley と同様に Raschkow の membrana praeformativa と同一のものと考え, 初めて Schmelzoberhäutchen という表現を用いている。さらにこの Schmelzoberhäutchen は石灰化しているが, 酸に対して抵抗する無構造な膜であると述べている。Lent, E. (1855)⁸⁾も Kölliker や Huxley と本質的には同じ意見であった。

Waldeyer, W. (1871)⁹⁾は, エナメル質が存在しない歯においても, Schmelzoberhäutchen がみられることから, この構造物に対して Cuticula dentis というべきであると主張している。またさらに Waldeyer は, エナメル上皮の細胞自身が角質化して cuticula dentis となるという, いわゆる転化説の見解をとっている。Waldeyer によるこの考えは, 後述の Gottlieb など Wien 学派に少なくともなんらかの影響を与えているものと思われる。

Paul, F. T. (1894¹⁰⁾, 1895¹¹⁾) は 未萌出歯で観察を行い, Nasmyth's membrane は上皮性の構造物であり, 外エナメル上皮に由来すると考え, また 歯小皮が 2 層からなっていることを指摘し

た。

その後, Wien 学派の Gottlieb, B. (1921 a¹²⁾, b¹³⁾), Orban, B. (1926)¹⁴⁾ とも, 歯小皮を内外 2 層に分け, 内層を primäres Schmelzoberhäutchen (第 1 エナメル小皮), 外層を sekundäres Schmelzoberhäutchen (第 2 エナメル小皮) と表現している。primäres Schmelzoberhäutchen は, エナメル質の形成の最終段階で Schmelzellen によって形成され, のちに石灰化したもので, それらは酸に対して抵抗性が弱いために, 通常のエナメル質と区別が困難になるという。また外層の sekundäres Schmelzoberhäutchen は外エナメル上皮の細胞自体が角質化し, 萌出と同時に第 1 エナメル表皮の表面に密着したものであるという。

そのために Gottlieb は, Nasmyth のいう persistent capsular investments, Kölliker のいう Schmelzoberhäutchen, Waldeyer のいう cuticula dentis を primäres Schmelzoberhäutchen と sekundäres Schmelzoberhäutchen に区別しなければならないと述べている。

以上のような Gottlieb, Orban らの見解は, 光学顕微鏡のみによって観察が行われていた時代に一般に広く支持され, ほぼ定説となっていた。

Gross, H. (1930)¹⁵⁾, Lehner, J. (1931)¹⁶⁾ は光学顕微鏡により, また Bhaskar, S. N. (1976)¹⁷⁾ は電子顕微鏡による観察で, これら歯小皮は上皮細胞によって形成された basement membrane に由来するものであるという考えも出されている。

これに対して Hodson, J. J. (1966 a)¹⁸⁾, Hodson, J. J. & Path, F. C. (1966 b)¹⁹⁾ は, 上皮に由来することは考えられずとし, 歯小皮は変性した赤血球のヘモグロビンに由来するものであると述べている。

また近年 Stallard, R. E., Diab, M. A. & Zander, H. A. (1965)²⁰⁾をはじめ, Schroeder, H. E. & Listgarten, M. A. (1977)²¹⁾ など多くの研究者が²²⁻²⁴⁾, 上皮付着の観点から歯小皮についても論じている。

しかしなかにはこれら歯小皮の存在を否定する報告や、部分的に欠如するという報告も少なくない。Lund, O. (1924)²⁵⁾ は未萌出の歯の歯冠部あるいは咬合面には cuticle が存在しないと述べている。

一方、1963 年 Dawes, C., Jenkins, G. N. & Tonge, C. H.²⁶⁾ がエナメル質の表面に直接する膜構造を獲得皮膜 acquired pellicle と呼んで以来、pellicle に関してもとくに微生物学や生化学の分野で検索がなされてきている²⁷⁻³²⁾。

しかし acquired pellicle の構造に関しては、現在の段階で、形態学的には明瞭にとらえられていない。またエナメル質や歯小皮に関して未脱灰のまま電子顕微鏡によって観察することが非常に困難なことから、近年においてもほとんど脱灰切片による観察にとどまっている。しかもそれらのほとんどが、歯肉内縁上皮との関連のもとに歯頸部において観察がなされたものである²⁰⁻²⁴⁾。そのために従来の光学顕微鏡による観察所見との関係においても、歯小皮に関する概念が再び混沌とし、不明の点が多い現状となっている。

したがって、著者らは歯小皮が臨床的にも重要な役割を果たすこともあって、歯小皮の概念を明確に確立するために、形態学的な立場からまず機能歯の口腔内に露出した領域にみられる歯小皮の構造について、光学顕微鏡、走査ならびに透過電子顕微鏡を用いて観察を行った。

材料と研究方法

観察に用いた材料はヒトの健全な永久歯(機能歯)で、材料の一部は10% formol alcohol で固定し、一部は5% glutaraldehyde (pH7.4, cacodylate buffer, 4℃) で3時間固定後、stock solution (pH7.4, 0.1M cacodylate buffer + 0.22M sucrose, 4℃) にて24時間放置し、さらに2% OsO₄ (pH7.4, cacodylate buffer, 4℃) で4時間後固定を行った。

formol alcohol 固定標本は、光学顕微鏡ならびに一部走査電子顕微鏡による観察に用い、glutaraldehyde-OsO₄ 固定標本は走査ならびに透過電

子顕微鏡用標本とした。

光学顕微鏡による観察には、一部桐野氏脱灰法による脱灰 hematoxylin-eosin 染色標本を用い、また一部歯の縦断研磨標本を作製し、さらに標本上で0.1N HCl にて30秒～5分間の各段階で酸腐蝕を施したものを用い、酸腐蝕像について観察するとともに、構造による酸に対する溶解度の差について観察を行った。

さらに一部の研磨標本については、酸腐蝕後 hematoxylin 染色を施したのものを用いて観察を行った。

走査電子顕微鏡による観察には、歯の縦断研磨面に0.1N HCl を15～30秒間作用させ、酸腐蝕を行った標本を用いた。また一部の標本については、歯の表面を無処置のまま、また一部は歯の表面から酸腐蝕を施して観察を行った。走査電子顕微鏡用の標本はいずれもカーボンと金の二重蒸着を施して観察を行った。

透過電子顕微鏡の観察に用いた標本については固定後、定法に従って脱水した後 Epon 812 にて包埋し、いずれも未脱灰のまま超薄切片を作製した。超薄切片の一部は無処置のまま、また一部は切片上で0.01N HCl を用いて5～10秒間酸腐蝕を行って観察した。

観 察 所 見

1. 光学顕微鏡による観察

研磨標本を作製し、無処置のまま観察を行った場合には、通常のエナメル質と歯小皮を明瞭に区別することが不可能である。

研磨標本に酸腐蝕を行って観察すると、通常のエナメル質の部分は、酸による溶解度が高いため順次溶解していく。しかしエナメル質の表面に存在する歯小皮の部分は、通常のエナメル質に比して酸に対する腐蝕度ははるかに低いために、通常のエナメル質の領域と酸による腐蝕度の差から落差が生じるようになる。そのため歯小皮が通常のエナメル質と明瞭に区別されるようになる(図1, 2)。

しかし、酸腐蝕を行いつつ歯小皮の部分を観察

すると、歯小皮の中でも深層の部分は、一般に通常のエナメル質が溶失したあとも残存し、それらの領域が通常のエナメル質に比して酸による溶解度が低いことが理解される。さらに酸腐蝕を続けると歯小皮深層の領域は大部分溶失し、残存した部分は均質な状態となる。しかし歯小皮深層の領域が溶失したあとも、歯小皮の最表層約1～数 μm の部分のみが残存する。したがって歯小皮の表層約1～数 μm の部分は、酸に対する溶解度が最も低いことが理解される(図3)。このように酸で残存する歯小皮最表層の部分を第2膜、それ以外の歯小皮の深層の部分を第1膜とする。

一方、酸腐蝕を行った研磨標本に hematoxylin 染色を施して観察を行うと、第1膜の部分は hematoxylin に対して親和性が低く、あまり染色されない(図1)。しかし、第2膜に相当する部分は第1膜に比して hematoxylin に対する親和性がわずかに高い。

さらに通常のエナメル質が溶失するまで酸腐蝕を行った標本に hematoxylin 染色を施して観察すると、歯小皮の部分、とくに第2膜の部分は、hematoxylin 染色研磨標本における所見に比して、hematoxylin に対する染色性がわずかに増した状態となる(図3)。

また桐野氏脱灰法による脱灰 hematoxylin-eosin 染色標本について観察を行うと、歯小皮第1膜の部分は hematoxylin に対する染色性が低いのに反し、歯小皮第2膜の領域は濃染し、第1膜とは明瞭に区別される(図4)。

また歯小皮第1膜と通常のエナメル質との境界は比較的凹凸を示している場合が多い(図1, 2)。

歯小皮、ことに歯小皮第1膜の厚さは歯によって、また同一歯においても部位によりかなり差がみられる。歯小皮第1膜は一般に歯頸部では厚く、歯の切縁や咬頭頂に向かうに従って厚さが減少し、切縁や咬頭頂に近い部分では、第1膜がほとんど観察されない場合が多い。また臼歯の咬合面も、裂溝などの部分をのぞき、第1膜が観察されない場合が多く、存在してもきわめて薄いのが

普通である。

歯小皮の部分には小柱構造がみられず、いわゆる無小柱である。エナメル質の表層に無小柱エナメル質が存在する場合にも、歯小皮は通常のエナメル質からなる無小柱エナメル質と酸腐蝕によってはじめて区別される状態となる。また歯小皮下に無小柱エナメル質が存在しない場合には、エナメル小柱が歯小皮の境界部まで達し、ここで終わっている(図1, 2)。

規則性のレチウスの線条が歯小皮にまで進入している場合には、それが通常のエナメル質から連続した状態で、歯小皮第1膜を斜めにつらぬいている(図1, 2)。

2. 走査電子顕微鏡による観察

歯の研磨面を無処置のまま走査電子顕微鏡で観察を行った場合には、歯小皮の部分と通常のエナメル質の部分を明瞭に区別することができない。

しかし研磨面に酸腐蝕を行って観察すると、通常のエナメル質の部分が酸に溶解され、陥凹するのに対し、エナメル質の表層に存在する歯小皮の領域は、研磨標本について光学顕微鏡を用いて観察された状態と同様に、通常のエナメル質に比して酸に対する抵抗性が高く、やや突出した状態で観察されるようになる(図5, 6)。歯の最表層に約1 μm の厚さでほとんど酸に侵蝕されない非常に滑沢な層がみられる。この領域が歯小皮第2膜に相当するものである(図5, 6)。またさらにその部分より深層で歯小皮第1膜に相当する領域は、酸によって腐蝕されるが、通常のエナメル質の部分に比してはるかに酸に対する抵抗性が高く、突出した状態で認められる(図5, 6)。

深層の歯小皮第1膜の厚さは歯により、また同一歯においても部位によりかなり変化に富んでおり、また酸による腐蝕の程度も部分的にかなり差が認められる。

歯小皮第1膜の領域は酸に対する抵抗性の違いにより、通常のエナメル質とは区別されるものの、通常のエナメル質と同様な結晶構造が観察され、しかもそれらの結晶は歯の表面に対してほぼ直角方向に配列している。しかし、歯小皮の部分には

小柱構造はみられない(図5, 6)。歯小皮の深部に通常のエナメル質からなる無小柱エナメル質が存在しない場合には、エナメル小柱が歯小皮との境界にまで達し、そこで終わっている(図5)。

歯小皮と通常のエナメル質との境界は、一般にかなり凹凸を示した状態で観察される。また、規則性のレチウスの線条が通常のエナメル質の部分から歯小皮にまで達している部分では、方向を変えることなく、そのまま連続した状態で歯小皮第1膜を斜め方向につらぬいてその表面にまで達している。

レチウスの線条が歯小皮第1膜の表面にまで達している部分では、それらの表面に第2膜がおおひ、レチウスの線条が第2膜をつらぬく状態はみられない。さらにレチウスの線条が歯の表面に達し、周波条を形成し、周波条が屋根瓦状をなす場合においても、歯小皮第2膜は周波条(図7の矢印)の溝状になった部分の表面をおおっている(図7)。

また歯頸部などで歯の表面にいわゆるエナメル小窩が存在する場合においても、それらの表面に第2膜がおおっているのが普通である(図7)。

また歯の表面から観察すると歯小皮第2膜の表面は、非常に滑沢な状態を示している。しかし歯小皮第2膜の表面には、咬合時に生じたと思われる直線的な溝状のキズが認められる場合が多い。しかしなかには、図8にみられるように幅広く歯小皮が剥離している状態が観察される。それらのキズは歯軸に平行な方向や、歯軸に直角な方向に認められるものが多く、なかでも歯軸に平行な方向に生じているものが最も多い(図8)。

通常の状態では、歯の表面にみられるそれらのキズは、歯小皮第2膜にとどまっているものが多い。しかし、キズによって第2膜が剥離し、第1膜が露出しているもの、あるいは第1膜が剥離して、エナメル質が露出しているものもある(図8, 9)。

歯の表面から酸腐蝕を行って走査電子顕微鏡で観察を行うと、表面が平滑で均質構造の第2膜が存在している部分では、酸腐蝕に対して構造の変

化がなんら認められない(図9, 10)。しかし、第2膜が損傷を受け機械的に剥離し、第1膜が露出しているような部分では、第1膜が酸によって表面からやや腐蝕されている。また第1膜、第2膜とも部分的に剥離し、その側面が露出しているような部分では、側方からの酸の侵蝕により第1膜がやや腐蝕され、第2膜よりわずかに陥凹した状態で認められる(図10)。またこれらの歯小皮が損傷を受け、剥離してエナメル質が直接露出している部分では、それらのエナメル質が酸によって歯小皮第1膜よりもさらに著しく腐蝕され、とくに歯小皮下に無小柱エナメル質が存在しない場合には、エナメル小柱の表層端が明瞭に観察される(図9)。

3. 透過電子顕微鏡による観察

エナメル質の表層を未脱灰超薄切片を作製し、無処置のまま透過電子顕微鏡を用いて観察を行うと、歯小皮の深層領域すなわち第1膜に相当する部分は、通常のエナメル質の結晶から構成されている(図11, 12)。歯の表面に対して直角となるような歯の縦断面で観察すると、歯小皮第1膜を構成する結晶は、結晶の長軸が第1膜の表面に対して直角方向に互いに平行方向に密に配列している。しかし第1膜の部分には小柱構造が認められない。この部分の結晶は通常のエナメル質の結晶に比べてやや細いものが多く、とくに第1膜の中でも第2膜に近いごく表層の領域の結晶は、とくに通常のものに比してやや未発達な幼若な結晶が観察される場合が多い(図11, 12)。歯の表面に対して切線方向の断面で第1膜の結晶を観察すると、通常のエナメル質の結晶と同様に、不規則な形態のものが多く、それらが全体として石垣状に配列している。

歯小皮のうち最表層約1 μ m前後の領域、すなわち歯小皮第2膜の部分は、エナメル質の結晶や第1膜の結晶とは形の異なった結晶によって構成されている。第2膜は、エナメル質の結晶に比してはるかに微細で不規則な形態の顆粒状の結晶よりなる(図11, 12)。第2膜の顆粒状結晶の大きさは大小さまざまである。しかし第2膜の中でも一

般に深層から表層に向かうに従って結晶の大きさが小さくなっている(図12)。

以上のように、第1膜と第2膜の結晶形態がかなり異なっているために、両者は明瞭に区別される。しかし第1膜と第2膜の境界部では、両者の結晶が多少なりとも混在している。また第2膜の中にも第1膜を構成する結晶が散在している場合が多い。しかしこの場合に、第2膜に散在する第1膜の結晶は、第2膜の表層に向かうに従って数が減少しているのが普通である(図12)。

未脱灰の超薄切片について切片上に酸を作用させ、結晶の溶解状態を経時的に観察すると、歯小皮の領域に先だってまず通常のエナメル質の結晶が溶解消失するようになる(図13)。さらに長く酸を作用させると、通常のエナメル質の溶失に次いで第1膜を構成する結晶が徐々に溶解消失し、第2膜を構成する微細な顆粒状の結晶のみが残存する状態となる。

しかしこの際、第1膜の酸による溶解度は必ずしも均一なものではなく、第1膜の中でも部位によって比較的溶解しやすい部分と、溶解しにくい部分とがみられ、第1膜の酸による溶解度には部分的に多少差がみられる場合が多い。通常のエナメル質と歯小皮第1膜の部分が酸によって溶解するのに反し、第2膜の部分は酸に対する抵抗性が高く残存する。

考 察

Kölliker (1863)⁷⁾、Ebner (1890)³³⁾ らは Schmelzoberhäutchen に関して、エナメル質形成の最後に、エナメル芽細胞に生じる Kutikular Saum から生じるもので、Ebner はそれらが石灰化するために脱灰によって消失することを主張している。

Gottlieb (1915)³⁴⁾、(1921a)¹²⁾ や Orban (1925)³⁵⁾ もまたエナメル芽細胞の Kutikular Saum が Schmelzoberhäutchen の形成に関連があることを認めている。

しかし Gottlieb、Orban らはエナメル質の表面にみられる角化物がエナメル芽細胞の Kutikula

によって生じるものではないという見解をとっている。

Gottlieb、Orban らは Schmelzoberhäutchen を primäres Schmelzoberhäutchen と sekundäres Schmelzoberhäutchen の2層に分け、彼らはそれに対してほぼ同様な見解をとっている。Orban によると、primäres Schmelzoberhäutchen はエナメル芽細胞の最後の産物で、Schmelzzellen の Kutikular Saum がのちに石灰化し、primäres Schmelzoberhäutchen 下にあるエナメル質とほとんど区別がつかなくなるという。

sekundäres Schmelzoberhäutchen に関して、Gottlieb はエナメル質形成が完了した後、Schmelzzellen が連続性を失ってばらばらとなり、primäres Schmelzoberhäutchen の形成後消失し、次いでエナメル髓の消失後外エナメル上皮が Epithelansatz となり、その表層が角質化することによって sekundäres Schmelzoberhäutchen が形成されるという見解をとっている。

したがって Orban らは、従来の研究者が primäres Schmelzoberhäutchen の組織像と、角質化によって生じる sekundäres Schmelzoberhäutchen とを混同しているもので、従来の研究者が Schmelzoberhäutchen の特徴としてあげているアルカリや酸に対して抵抗性を有する性格は、primäres Schmelzoberhäutchen におきかえて考えると誤りで、従来の研究者による Cuticula dentis は sekundäres Schmelzoberhäutchen にあたることを指摘している。

また Orban らによると、primäres Schmelzoberhäutchen は厚さがせいぜい $1\mu\text{m}$ 程度のもので、hematoxylin-eosin 染色では常に hematoxylin の色をとり、sekundäres Schmelzoberhäutchen は $3\sim 9\mu\text{m}$ の厚さで赤みがかった黄色に出現するという。

さらに Gottlieb と Orban は primäres Schmelzoberhäutchen と sekundäres Schmelzoberhäutchen の Cuticula がともに出現することはまれで、とくに primäres Schmelzoberhäutchen

はエナメル質と同様標本作製時に消失することにも関連して、どちらか一方のみが観察される場合が多いことを指摘している。

Gottlieb や Orban ら Wien 学派の歯小皮に関する概念が確立されて以来、近年までそれらの見解が通説となってきた。

著者らの観察においても酸腐蝕を行うと、歯小皮はエナメル質の表面に、通常のエナメル質の領域に比べて酸に抵抗を示す膜状構造物として明瞭に認められる。これらの歯小皮は、さらに酸による溶解度および構造の差から内層の歯小皮第1膜と外層の歯小皮第2膜が区別される。

1. 歯小皮第1膜

著者らの観察においても、内層の歯小皮第1膜は研磨標本の光学顕微鏡による観察や、研磨面の走査電子顕微鏡による観察では、酸腐蝕などなら処置を加えない状態で観察すると、通常のエナメル質と区別することができない。

酸腐蝕を行った標本で観察すると、通常のエナメル質との間に酸による腐蝕度に差があり、通常のエナメル質の方が酸による腐蝕度ははるかに高いために、早く溶解することによって、第1膜と通常のエナメル質とは明瞭に区別されるようになる。しかし、歯小皮第1膜の領域も酸によって溶解するために、酸腐蝕を続けるとついには溶解消失する。

歯小皮第1膜の領域には、いわゆるレチウスの線条が通常のエナメル質の領域から連続した状態で観察される。

また歯小皮第1膜について電子顕微鏡を用いて観察すると、第1膜は通常のエナメル質と同じ形態の結晶によって構成されていることが理解される。これらの結晶はその長軸が第1膜の表面に対して直角な方向に互いに平行配列している。

さらに、歯の表面に対して切線方向の断面、すなわち結晶が横断されるような断面で観察すると、第1膜の結晶は通常のエナメル質結晶の横断面形態と同様の不規則な形態の結晶が多く、それらが全体として密に石垣状に集積している。

以上のように歯小皮第1膜は、第1膜を構成し

ている結晶の形態、あるいはそれらの集積状態、さらには第1膜におけるレチウスの線条などの所見からみて、歯小皮第1膜の部分は本来のエナメル質と本質的に差があるものでないことがうかがえる。

したがって、歯小皮第1膜が Gottlieb らが述べているように、最後に形成されたエナメル質の部分であることに関してはまちがいない。また第1膜の最表層には通常のエナメル質の結晶に比べて、やや未発達で幅の狭い結晶が存在している場合が多い。

歯小皮第1膜の部分には小柱構造が観察されない。著者らのラット^{36,37)}やワニ³⁸⁾の所見、ならびに川崎(1971)³⁹⁾のイモリの所見から、エナメル小柱はエナメル芽細胞のトームスの突起によって形成され、トームスの突起が存在しないものでは、エナメル小柱が形成されないで、無小柱エナメル質となることが認められている。それらの所見からみて、歯小皮第1膜の部分は少なくともエナメル芽細胞のトームス突起がすでに消失したあとと形成された部分で、エナメル質基質形成期の最終段階で形成された領域に相当する。いずれにしても、とくに第1膜の最表層における結晶は十分に発育しないまま成長を中止したものと思われる。

またエナメル質基質形成がエナメル質の最表層まで達し、エナメル質基質形成が完了すると、それに引き続きエナメル質形成は成熟期に入る。エナメル質形成が基質形成期から成熟期に移行するに伴って、エナメル芽細胞の機能的変化が生じる。エナメル芽細胞によって基質形成期の最終段階で形成された歯小皮第1膜の部分は他の部分と異なり、結晶沈着が生じた後、さほど時を経ずして成熟期に移行する。したがって第1膜の部分は、それらのことによってなんらかの形で影響され、結晶成長の状態が他領域のそれと多少なりとも異なるものと思われる。またそれらが第1膜の酸に対する溶解度の低下の原因に関連があるものとも思える。またそれに加えて、歯小皮第1膜の部分は萌出後唾液などによる二次的な要素が加味されることも考えられる。

著者ら⁴⁰⁾は先にラットの切歯においても、ヒトの歯と同様歯小皮第1膜がエナメル質の結晶によって構成され、それらの領域が通常のエナメル質の部分に比して酸に対する抵抗性が高いことを観察している。

さらに歯小皮第1膜下のエナメル質にはエナメル小柱が存在する有柱エナメル質の場合と、エナメル小柱が存在しない無柱エナメル質の場合とがある。第1膜下が有柱エナメル質の場合は第1膜との境界で小柱構造が消失している。

藤田(1957)⁴¹⁾は、歯小皮を酸などにより化学的に分離し、その歯小皮の裏面すなわちエナメル質に接する面を不染のまま、または種々の色素で染色して観察すると、エナメル小柱に付着していたあとがよく残っていることがあると述べている。

西嶋ら(1963)⁴²⁾、(1964)⁴³⁾もレプリカ法による電子顕微鏡で半萌出歯の薄膜(Nasmythsche Membran)は、内面(エナメル質に接する面)に小柱の横断面を思わせる像があるとし、また Lehner & Plenk(1936)⁴⁴⁾も、Schmelzoberhäutchenの内面が小柱の外形を示していると述べている。

したがって、藤田、西嶋ら、Lehner & Plenkらの所見は歯小皮下に有柱エナメル質が接している領域での所見に相当する。

2. 歯小皮第2膜

歯小皮第2膜は、第1膜よりさらに酸に対する抵抗性が高い。

研磨標本における所見と電子顕微鏡における所見から、第2膜は厚さ約1～数 μm の層として観察される。

また、歯の研磨面に酸腐蝕を行って走査電子顕微鏡を用いて観察すると、歯小皮第2膜の部分は酸に溶解することなく残存する。研磨標本に酸腐蝕を行ったのち、残存している歯小皮第2膜は、ごくわずかに hematoxylin に染色されるようになる。

未脱灰標本について透過電子顕微鏡によって観察すると、歯小皮第2膜の部分は、多数の微細な顆粒状の結晶が密に集積しているのが認められる。

しかしこのような歯小皮第2膜の部分は、切片上に酸を作用させて観察を行うと、これらの結晶は、酸に対する抵抗性が強く残存する。したがって光学顕微鏡ならびに走査電子顕微鏡による観察で、非常に平滑で均一な状態として観察される歯小皮第2膜の部分は、微細な顆粒状結晶の密な集積によって構成されていることが理解される。

またレチウスの線条が第1膜をつらぬいてその表面に達する場合においてもその表面を第2膜がおおい、レチウスの線条が第2膜をつらぬいて、第2膜の表面に達する状態は観察されない。

Frank & Brendel(1966)²⁸⁾は、calcified dental plaque にみられる結晶について透過電子顕微鏡を用いて観察を行い、それらの構造物における石灰化の初期には、エナメル質の apatite crystal より小さい結晶がみられると述べている。またさらに彼らは、plaque の石灰化が進行するとなかには、short rodlet shape の結晶や long needle shape の結晶もみられるようになると述べている。

Meckel(1965)²⁷⁾は透過電子顕微鏡で観察を行い、primary cuticle は、1～8 μm の厚さの退化エナメル上皮の細胞からなり、またこれらの細胞は部分的に石灰化も起こしていると述べている。さらにこの他に組織化学的には唾液由来と考えられる aquired cuticle が存在し、またこれら aquired cuticle は、エナメル質表面上にある surface cuticle と stained pellicle、およびエナメル質表面下にある subsurface cuticle の3種が区別されると述べている。このうち subsurface cuticle はエナメル質がわずかに損傷を受けた部分に生ずるもので、1～3 μm の厚さを示し、ここには小線維が認められると述べている。

しかし著者らが観察を行った歯小皮第2膜の結晶は、Frank & Brendel が記載している calcified dental plaque や、Meckel が述べている石灰化を生じた primary cuticle 内の結晶ならびに subsurface cuticle や stained cuticle にみられる結晶とは異質なものである。またこれら歯小皮第2膜を構成する微細な顆粒状の結晶の由来

については現段階では不明である。

歯小皮第2膜について歯の表面から観察すると、その表面には部位によって溝状のキズやあるいは第2膜が剝離した部分もみられる。これらはキズや剝離の状態からみて、咬合時などに、かなり強い物理的な力が作用することによって生じたものと思われる。

西嶋ら(1964)⁴³⁾は、萌出歯を酸によって脱灰した時に浮上してくる薄膜(Nasmythsche Membran)について透過電子顕微鏡を用いて観察し、これらの膜が無構造の層と細菌の集落からなり、細胞構造はみられなかったと述べている。

またそのほか、Gottlieb(1921 a¹²⁾, b¹³⁾らがいう角質化の問題に関して、歯小皮第2膜におけるKeratinの存在を否定するものや²⁴⁾、また角化した細胞の存在を否定するものも多い^{22, 43)}。

著者らは、機能歯で、口腔内に露出した部分における歯小皮第1膜および第2膜の構造上の特徴について観察を行った。歯小皮に関する形態学的な観察において、GottliebやOrbanなど古い研究者の所見をはじめ、Listgartenその他近年の研究者における所見は、いずれも歯頸部における歯肉内縁上皮など上皮との関連のもとに観察されたものがほとんどである。

しかも著者らが観察を行ったように、口腔内に露出した部分について、エナメル質との関連のもとに、走査電子顕微鏡ならびに未脱灰切片を用いた透過電子顕微鏡による観察はみられない。

著者らは歯頸部における歯肉内縁上皮が存在する部分の歯小皮についても観察を行っているが、それらの領域における所見は、歯が露出した部分における所見と多少構造上の特徴が異なるため、それらに関しては別論文に譲りたい。

いずれにしても著者らの所見からみて歯小皮第1膜が最後に形成されたエナメル質であるということと、第2膜が耐酸性の性格を有することのみに関しては、GottliebやOrbanの見解と一致する。しかし第1膜の構造上の特徴に関しては異なる。

さらに第2膜に関しては、GottliebやOrban

などの上皮が角質化した構造であるとする見解とは全く異なるものである。

またGottliebやOrbanらとは第1膜と第2膜に対する見解が異なることは別にして、Orbanらが第1膜と第2膜が共存することはまれであるということに関しては、彼らも指摘しているように、とくに第1膜がエナメル質と同様に脱灰によって消失することによる。

しかし第1膜は元来エナメル質の一部であり、無小柱であることと、通常のエナメル質に比して酸に対する溶解度が低いことによって区別されるのみである。したがって酸による溶解度が通常のエナメル質と全く変化がみられない場合は、その存在について確認することは不可能となる。

また第2膜に関しては、とくに咬頭頂や切縁ならびにそれに近い領域、あるいは隣在歯との接触面、その他咬合などによって常に物理的な力が加えられ歯小皮が剝離している部分をのぞき、基本的に存在するものである。

歯小皮に関しては、近年種々の組織化学的な観察も行われてきている。

Wertheimer & Fullmer (1962)⁴⁵⁾は、歯頸部領域にみられるepithelial attachment cuticleは、ケラチンと異なった蛋白質に富み、酸好性で、dinitrofluorobenzen-H-acid反応は強陽性であり、tyrosine反応は陰性であるが、arginineとtryptophanを含んでいるものであろうと記載している。またPAS陰性であるが、CasellaやBauer染色では反応のみられる特殊なタイプの糖類、あるいは脂質(protein-bound lipid)を含んでいると述べている。

また須賀(1976)³¹⁾は、歯小皮(エナメル小皮)についてそれらの形成される時期や組織学的性状から3種に分類している。すなわち第一次のエナメル小皮は、エナメル質の形成が終わった後に作られる有機質性の薄膜(酸性ムコ多糖を含むと考えられる)であり、それに対して第二次のエナメル小皮はその後、萌出に伴ってエナメル質が露出しつつある間に、扁平化したエナメル器の細胞(いわゆる内縁上皮または付着上皮)とエナメル質

表面との間に作られるもので、両者の連結をはかると考えられると述べている。またこれら2種の薄膜は萌出後機械的な作用で失われ、隣接面や裂溝部などのように機械的作用の及ぶにくい部分には長く残存すると述べている。また他の一種は、萌出後エナメル質の表面に唾液中または食物中の有機質が膜状に沈着することがわかっており、これが組織学的に第三次のエナメル小皮と呼ばれるもので、生化学者などからは皮膜あるいは獲得皮膜と呼ばれているものであると述べている。

また近年、前述したごとく須賀が述べているように、ペリクル(獲得皮膜)に関しても多くの生化学者や形態学者が、その存在や性状ならびに物質透過性、耐酸性について、う蝕に対する防禦の観点から問題にしつつある^{26-27, 30-32)}。したがって、エナメル質の最表面に位置する歯小皮第1膜および第2膜について、著者らが観察を行った所見をもとに、今後ペリクルとの関連性をはじめ、生化学的所見とも対応しつつ、さらに観察を拡大していかなければならないものとする。

結 論

ヒト機能歯を材料とし、歯冠部で口腔内に露出している領域にみられる歯小皮の構造に関し、研磨標本と桐野氏脱灰法による脱灰切片を用いて観察を行う一方、歯の縦断研磨面や歯の表面について走査電子顕微鏡を用いて観察し、さらに未脱灰超薄切片について透過電子顕微鏡を用いて観察を行った。この際、研磨標本ならびに走査電子顕微鏡の観察に用いた標本については、いずれも酸腐蝕を行い、また透過電子顕微鏡の観察には、未脱灰未染色標本と、未脱灰切片に切片上で酸を作用させた標本について観察を行った。

1. 歯小皮は内層の歯小皮第1膜と外層の歯小皮第2膜に区別される。

2. 特に歯小皮第1膜は歯により、また同一歯でも部位によって厚さが異なり、一般に歯頸部付近で最も厚く、歯の切縁や咬頭頂に向かうに従って薄くなり、切縁や咬頭頂では観察されないことが多い。

3. 歯小皮第1膜はエナメル質と同様な結晶によって構成されている。それに反して、歯小皮第2膜は微細な顆粒状の結晶が密に集積することによって構成されている。

4. 歯小皮第1膜および第2膜は通常のエナメル質の領域に比べて酸に対する抵抗性が高く、なかでも歯小皮第2膜は酸に対する抵抗性がさらに高い。

5. 歯小皮第1膜の領域には、小柱構造が観察されない。またレチウスの線条が通常のエナメル質の領域から連続した状態で観察される。しかしそれらの表面には第2膜がおおっている。

文 献

- 1) Nasmyth, A.: On the structure, physiology, and pathology of the persistent capsular investments and pulp of the tooth. Trans. roy. Med. Chir. Soc., Lond., 22: 310-328, 1839.
- 2) Owen, R.: Odontography, or a treatise on the comparative anatomy of the teeth, their physiological relations, mode of development, and microscopic structure in the vertebrate animals, vol. 1, London, 1840-1845, Baillière, p. 466.
- 3) Tomes, J.: A system of dental surgery. Philadelphia, 1859, Lindsay & Blakiston, pp. 309-316.
- 4) Tomes, C. S.: On the nature of the cuticula dentis (Nasmyth's membrane). Quart. J. micr. Sci., 12: 321-326, 1872.
- 5) Talbot, E. S.: Histo-pathology of the jaws and apical dental tissues. The so-called Nasmyth's membrane. Dent. Cos., 62: 162-176, 1920.
- 6) Huxley, T. H.: On the development of the teeth, and on the nature and import of Nasmyth's "Persistent Capsule". Quart. J. Micr. Sci., 1: 149-164, 1853.
- 7) Kölliker, A.: Handbuch der Gewebelehre des Menschen, 4. Aufl., Leipzig, 1863, Engelmann.
- 8) Lent, E.: Über die Entwicklung des Zahnbeins und des Schmelzes. Z. wiss. Zool., 6: 121-134, 1855.
- 9) Waldeyre, W.: Bau und Entwicklung der Zähne; in Stricker Handbuch der Lehre von den Geweben des Menschen und der Thiere. Leipzig, 1871, Engelmann, pp. 332-354.
- 10) Paul, F. T.: Nasmyth's membrane. Brit. J. dent. Sci., 37: 1021-1030, 1894.
- 11) Paul, F. T.: Nasmyth's membrane. J. Brit. Dent. Ass., 16: 4-5, 40-44, 1895.
- 12) Gottlieb, B.: Der Epithelansatz am Zahne. Dtsch. Mschr. Zahnheilk., 39: 142-147, 1921a.

- 13) Gottlieb, B.: Ätiologie und Prophylaxe der Zahnkaries. *Z. Stomatol.*, 19: 129-152, 1921b.
- 14) Orban, B.: Schmelz-und Zahnoberhäutchen. Schmelzlamellen und Büschel. *z. Stomatol.*, 24: 136-167, 1926.
- 15) Gross, H.: Genese der vertieften Zahnfleischtasche. *Paradentium*, 2: 70-86, 1930.
- 16) Lehner, J.: Ein Beitrag zur Kenntniss vom Schmelzoberhäutchen. *z. mikr.-anat. Forsch.*, 27: 613-629, 1931.
- 17) Bhaskar, S. N.: ORBAN'S Oral Histology and Embryology. 8th ed., St. Louis, 1976, Mosby, pp. 63-67.
- 18) Hodson, J. J.: Origin and Nature of the Cuticula dentis. *Nature*, 209: 990-993, 1966a.
- 19) Hodson, J. J. & Path, F. C.: A Critical Review of the dental cuticle with Special Reference to Recent investigations. *Int. dent. J.*, 16: 350-384, 1966b.
- 20) Stallard, R. E., Diab, M. A. & Zander, H. A.: The attaching Substance between Enamel and Epithelium - a product of the Epithelial Cells. *J. Periodontol.*, 35: 130-132, 1965.
- 21) Schroeder, H. E. & Listgarten, M. A.: Monographs in Developmental Biology. vol. 2 Fine structure of the developing Epithelial Attachment of Human teeth. Basel, 1977, S. Karger.
- 22) 小林健一: ヒトの上皮付着に関する電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌, 10: 101-118, 1968.
- 23) 佐藤 佐: 歯肉上皮付着部の電子顕微鏡的研究, 特に初期病変のみられた上皮付着部について. 日本歯周病学会誌, 15: 3-28, 1973.
- 24) Kobayashi, K., Rose, G. G. & Mahan, C. J.: Ultrastructure of the dento-epithelial junction. *J. Periodontal. Res.*, 11: 313-330, 1976.
- 25) Lund, O.: Histologische Beiträge zur Anatomie des Munddachs und Paradentiums. *Vierteljahrsschrift für Zahnheilk.*, 40: 1-21, 1924.
- 26) Dawes, C., Jenkins, G. N. & Tonge, C. H.: The nomenclature of the integuments of the enamel surface of teeth. *Brit. dent. J.*, 115: 65-68, 1963.
- 27) Meckel, A. H.: The formation and properties of organic Films on teeth. *Archs. oral Biol.*, 10: 585-597, 1965.
- 28) Frank, R. M. & Brendel, A.: Ultrastructure of the approximal dental plaque and the underlying normal and carious enamel. *Archs. oral Biol.*, 11: 883-912, 1966.
- 29) Houver, G. & Frank, R. M.: Ultrastructural significance of Histochemical reactions on the enamel surface of erupted human teeth. *Archs. oral Biol.*, 12: 1209-1210, 1967.
- 30) Mayhall, C. W.: Concerning the composition and source of the acquired enamel pellicle of human teeth. *Archs. oral Biol.*, 5: 1327-1341, 1970.
- 31) 須賀昭一: エナメル質形成の観点から見たエナメル質表層の構造と組成, 虫歯のシンポジウム 齲蝕感受性 エナメル質表層の構造と組成. 東京, 1976, 口腔保健協会, 5-42ページ.
- 32) 三代幸彦: ペリクルの生成と齲蝕, 虫歯のシンポジウム 齲蝕感受性 エナメル質表層の構造と組成. 東京, 1976, 口腔保健協会, 153-173ページ.
- 33) Ebner, V. v.: Histologie der Zähne mit Einschluss der Histogenese. *Scheffs Handbuch der Zahnheilkunde*. 1. Bd., Wien, 1890, Alfred Hölder, pp. 377-382.
- 34) Gottlieb, B.: Untersuchungen über organische Substanz im Schmelz menschlicher Zähne. *Vierteljahrsschrift für Zahnheilk.*, 31: 19-33, 1915.
- 35) Orban, B.: Zur Entwicklung und feineren Struktur des Schmelzes. *Z. Stomatol.*, 23: 599-622, 1925.
- 36) 一條 尚: Amelogenesis に関する電子顕微鏡的研究. I. Tomes の突起の形態とエナメル質基質形成について. 口病誌, 33: 57-87, 1966.
- 37) 一條 尚: エナメル芽細胞の発育による形態と構造の時期的な推移変化ならびに基質形成について, 硬組織研究. 東京, 1969, 医歯薬出版, 306-342ページ.
- 38) 山下靖雄: ワニ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, 18: 188-238, 1976.
- 39) 川崎堅三: イモリの歯の組織発生学的研究. 歯基礎誌, 13: 95-137, 1971.
- 40) 一條 尚, 山下靖雄, 伊藤 彰, 東郷やす子: ラット切歯のエナメル質形成の最終段階に関する観察. 口病誌, 43: 567, 1976.
- 41) 藤田恒太郎: 歯の組織学. 東京, 1957, 医歯薬出版, 127-130ページ.
- 42) 西嶋庄次郎, 今西市治, 赤井三千男, 村井真治郎, 三好作一郎, 中村 繁, 北村忠義: 歯小皮の電子顕微鏡的研究 (その1). 歯基礎誌, 5: 4-5, 1963.
- 43) 西嶋庄次郎, 今西市治, 赤井三千男, 村井真治郎, 三好作一郎, 中村 繁, 北村忠義: 歯小皮の電子顕微鏡的研究. 解剖誌, 39: 69-70, 1964.
- 44) Lehner, J. & Plenk, H.: *Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen*, 5 Bd. Berlin, 1936, Springer, pp. 526-567.
- 45) Wertheimer, F. W. & Fullmer, H. M.: Morphologic and Histochemical Observations on the Human Dental Cuticle. *J. Periodontol.*, 33: 29-39, 1962.

付図記号説明

DC.1 : 歯小皮第1膜, DC.2 : 歯小皮第2膜, E. : エナメル質, RS. : レチウスの線条, ER. : エナメル小柱, EP. : エナメル小窩

付 図 の 説 明

光学顕微鏡写真は撮影倍率, 電子顕微鏡写真は写真倍率を示す.

- 図1 歯の縦断研磨標本, 酸腐蝕後 hematoxylin 染色 ($\times 200$)。酸による腐蝕度の差によって歯小皮第1膜 (DC.1) の部分が通常のエナメル質 (E) の部分から明瞭に区別される。レチウスの線条 (RS) が通常のエナメル質から歯小皮第1膜の部分まで連続している。*印の部分は歯小皮下の無小柱エナメル質の領域を示す
- 図2 歯の縦断研磨標本, 酸腐蝕後 hematoxylin 染色 ($\times 1,000$)。酸に抵抗を示し, 突出している歯小皮第1膜 (DC.1) の表面にピントを合わせて観察したものである。歯小皮の部分は無小柱エナメル質であり, レチウスの線条 (RS) もみられる
- 図3 歯の縦断研磨標本, 酸腐蝕後 hematoxylin 染色 ($\times 1,000$)。通常のエナメル質が完全に溶解消失するまで酸腐蝕を行って観察したものである。歯小皮第1膜 (DC.1) の内面で通常のエナメル質に面する部分 (*印) には, 小柱の先端が付着していたと思われる像がみられる。また第1膜のさらに表面には, 歯小皮第2膜 (DC.2) が幅の狭い均質な層として認められる
- 図4 桐野氏脱灰法による脱灰 hematoxylin-eosin 染色標本 ($\times 400$)。歯小皮第1膜 (DC.1) の部分は hematoxylin に対する染色性が低いのに反し, 歯小皮第2膜 (DC.2) の領域は濃染し, 第1膜とは明瞭に区別される。レチウスの線条 (RS) が通常のエナメル質 (E) の領域から歯小皮第1膜の部分まで連続した状態と認められる
- 図5 歯の縦断研磨面に酸腐蝕を行ったのち, それら酸腐蝕面と歯の表面が同時に観察できるようにやや斜め上方からみた走査電子顕微鏡像 ($\times 2,000$)。歯小皮第2膜 (DC.2) が歯の最表面に約 $1\mu\text{m}$ の厚さでほとんど酸に侵蝕されない非常に滑沢な層として認められる。歯小皮第1膜 (DC.1) は無小柱エナメル質である。また歯小皮第1膜と通常のエナメル質との境界は凹凸を示し, その境界でエナメル小柱 (ER) が終わっている
- 図6 歯の縦断研磨面に酸腐蝕を行って観察した走査電子顕微鏡像 ($\times 3,500$)。歯小皮第1膜 (DC.1) の直下には, 通常のエナメル質からなる無小柱エナメル質 (*印) が存在している
- 図7 歯の表面の走査電子顕微鏡像 ($\times 600$)。エナメル小窩 (EP) の表面が比較的滑沢であることから, 歯小皮第2膜がこれらエナメル小窩の表面をもおっていることが理解される。矢印は周波条を示す
- 図8 歯の表面から酸腐蝕を行って観察した走査電子顕微鏡像 ($\times 600$)。歯小皮第2膜 (DC.2) や, これが剥離して歯小皮第1膜や通常のエナメル質が露出した領域にも多数のキズが観察される
- 図9 歯の表面から酸腐蝕を行って観察した走査電子顕微鏡像 ($\times 2,000$)。図8の一部拡大。歯小皮第2膜 (DC.2) が残存している部分では, 全く酸による影響が認められない。しかし歯小皮が剥離し, 通常のエナメル質が露出している領域では, 酸に腐蝕され, エナメル小柱 (ER) の形態が明瞭に認められる
- 図10 歯の表面から酸腐蝕を行って観察した走査電子顕微鏡像 ($\times 4,000$)。歯小皮第2膜 (DC.2) および第1膜 (DC.1) が剥離し, これら歯小皮の側面がともに露出している部分では, 酸によって歯小皮第1膜が側方からわずかに腐蝕され, 酸によってほとんど変化を受けない第2膜との間にわずかに落差が生じている
- 図11 未脱灰切片による透過電子顕微鏡像 ($\times 18,000$)。歯小皮第1膜 (DC.1) の部分はエナメル質の結晶からなり, 第2膜 (DC.2) の部分には微細な顆粒状の結晶が密集しているのが認められる
- 図12 未脱灰切片による透過電子顕微鏡像 ($\times 72,000$)。図11の一部拡大。歯小皮第2膜 (DC.2) の表層では, 顆粒状の結晶のみからなる場合が多いが, 第1膜 (DC.1) の境界部付近では両者の結晶が互に入り乱れている
- 図13 未脱灰切片について切片上で酸腐蝕を行って観察した透過電子顕微鏡像 ($\times 3,700$)。通常のエナメル質 (E) の領域の結晶が酸腐蝕によって溶失しているにもかかわらず, 歯小皮第1膜 (DC.1) および第2膜 (DC.2) の結晶はともに酸に抵抗を示し残存している