

ラット胎生期歯胚の発達に伴う三次元的観察

和田 薫・中間 孝子

鹿児島大学歯学部 口腔解剖学第一講座

A Three Dimensional Observation of Developing Tooth Germs of Rat Fetus

Kaoru Wada and Takako Nakama

(1st) Department of Oral Anatomy, Kagoshima University Dental School,
Kagoshima 890, Japan

Abstract

Using Wistar rats from 14 to 20 days gestation, we observed the three dimensional growth rates of the mandibular incisor and molar teeth, through the measurement by microphotographs and wax reconstruction of the serial sections of the tooth germs.

In the incisor tooth germs, the enamel organ showed the bud-stage at 15 and the bell-stage at 16 days of fetal life. The crescentic enamel organ presented at 17 days gestation. There was a remarkable swelling toward the lingual side, and the whole tooth germ began to bend at 18 days fetus. At 19 days gestation, the deposition of the predentin was recognized in the tip of the incisor edge. In the 20 days fetus, the pulp cells around the tip of dentin formed the so-called "osteodentin". At this stage the incisor was represented by a very elongated tooth germ which extends farther back on the labial than on the lingual side.

On the other hand, only the tooth germs of the first and second molars were visible in the rat fetal life. The first appearance of the tooth bud was at 15 and 17 days gestation in the first and second molars, respectively. In these molars, the tooth germ primarily grew farther downward on the medial than on the lateral margin. By the 19th day of gestation, all of the positions of cusp were suggested in the first molar tooth germ, although no cusp of the second molar developed until the 20th day in utero.

Key words

tooth germ, mandibular incisor, mandibular molar, three dimensional development, reconstructed model

I はじめに

歯牙は身体中で最も硬い器官であるばかりでなく、その硬組織を形成する細胞の由来においても、また石灰化様式においても、個々に異なる、非常に興味ある口腔内器官の1つである。とりわけ象牙質形成過程における石灰化機構の解明については、形態学的¹⁻⁵⁾、生化学的⁶⁻⁸⁾手法を用いた研究が、今日も精力的に行われている。石灰化機構に関与すると考えられる高分子化合物の合成、分泌⁹⁻¹²⁾についても、最近とくに興味をひく問題の1つである。これらの機構解明の1つの手がかりとして、培養系を用いた *in vitro* の研究法もあげられる。それは培養条件を人為的に、自由に調節することによって、検討できることから、大いに有効な手段と考えられる。培養には細胞培養から組織および器官培養と、その材料選定にはいくつか考えられるが、その目的に応じた選択が要求されるのは、当然のことであろう。また細胞の分裂と分化能力等を考え合せれば、できるかぎり若い時期の材料を必要とするであろうし、脱分化方向での検討を考えるときには、もっと発生的に後期の細胞を用いることになろう。いずれにせよ *in vitro* で材料を得るには、可能な限り無傷で完全な原基を摘出せねばならない。そのためには、生体内における原基の正常な発生時期や箇所ならびに發育状態も含め、三次元的な位置や大きさを正確に把握しておく必要がある。

胎生期ラット歯胚の発生、成長については多くの報告もあるが¹³⁻¹⁸⁾、主として切片の二次元的な観察に基づいた記載が多い。反面顎内での三次元的な位置や大きさについての報告はなく、ただ歯胚の一部については報告がある^{19,20)}。

著者らは、培養的方法によって、石灰化機構の解析を行うための基礎資料を得る目的で、胎生期ラット歯胚の發育過程の三次元的な観察を進めてきた。胎生期ラット下顎切歯胚については、発生開始の時期から歯胚がどのような方向に向って、どれくらいの大きさで成長していくかという点を検討して、すでに報告してきた²¹⁾。加えて胎生期ラット下顎臼歯胚についても、同様の観察を行ってきたので、こゝでは合せて総説することにする。

II 胎生期ラットの全身成長

胎齢を算定するにあたっては、通常腔栓の確認をもって、胎齢0日にしているようだが^{22,23)}。また妊娠期間を21日^{13,18)}としているものもあるが、22~23日^{15,24)}と

している例もある。当然腔栓確認日を0日とするか、1日とするかでも、胎齢日は異なってくる。出産も1日くらいのずれは見られる。従って出産日を最終妊娠日とするか、生後0日もしくは1日とするかでも胎齢の判定が若干異なってくる。

我々はウイスター系ラットを用いて、雌雄同居後腔栓を確認(翌日の午前8時頃)した日を胎齢0日とした。胎生14日から出産直前の20日までの各胎齢期の胎仔(同腹仔数12~14頭、平均13頭)を摘出して、頭尾長ならびに湿体重を計測した。その成長の様子を示した数値を表1に、また胎齢に伴う成長度を図1のグラフに示した。頭尾長においては、胎齢14日のほぼ10mmから20日齢の38mmまで、なだらかな曲線でもって成育していく。一方湿体重においても、200mg前後から4g前後まで、同様に胎齢に伴って増加曲線を示すが、とくに16日以後の成長は非常に著しいことを示している。

胎生期ラットの發育について、とくに胎齢と頭尾長の相関についての Edwards²⁴⁾の報告によれば、胎生13.5日から21.5日までの各胎齢ごとに14頭と同腹胎仔中(最大と最小の個体の頭尾長をグラフにプロットしている)、胎齢と頭尾長の間には、はっきりした相関はなく、検索個体の数を増やすことによって、その数値のばらつきは大きくなるであろうと述べている。しかし我々の行なったように、同腹胎仔すべての頭尾長および湿体重を計測して、その平均値ならびに標準偏差をもって比較すると、ラット胎仔は明らかな成長曲線を示しながら、その大きさを増すと考えられる。従ってその両者の間には相関関係が認められる。ところが我々の場合でも、胎生14日に平均頭尾長10.1mm(同腹仔14頭)という胎仔群の中で、最大頭尾長11.3

Table 1. Crown-Rump Length and Wet Weight in Each Gestation Age

Gestation Age (Days)	Length (mm)	Weight (mg)
14	10.1 ± 0.5	186.1 ± 22.1
15	13.2 ± 0.2	314.1 ± 21.0
16	16.2 ± 0.5	542.2 ± 56.1
17	19.8 ± 0.6	928.6 ± 37.5
18	24.0 ± 0.6	1494.0 ± 129.7
19	30.0 ± 1.0	2364.7 ± 189.1
20	37.8 ± 1.4	4009.3 ± 179.4

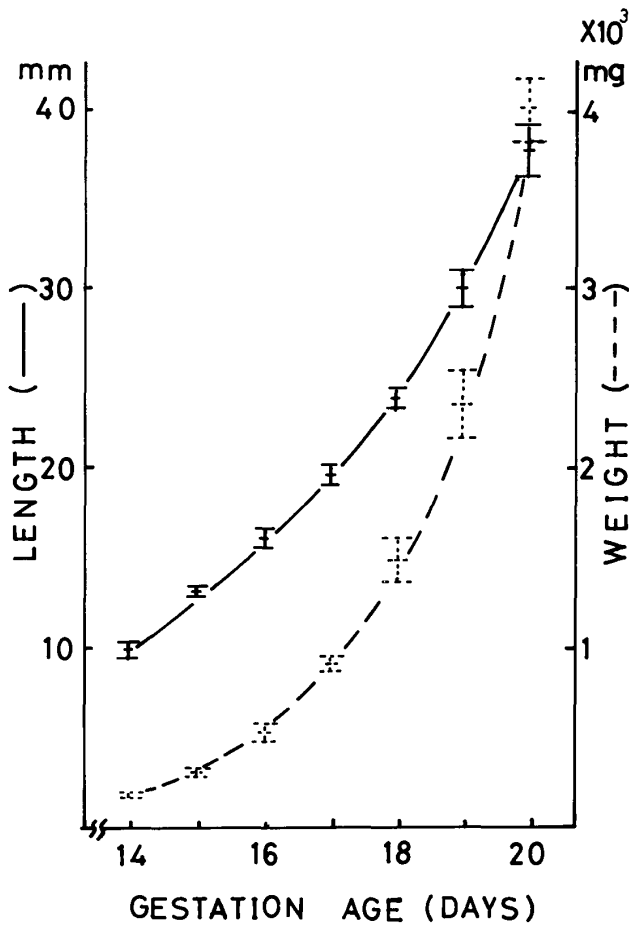


Fig. 1 Growth curves of the crown-rump length and the weight of the rat fetus.

mm, 最小10.0 mm という大きな差を認めた。さらに、胎生15日における二腹仔24頭の間の個体間最大差は3.5 mm であり、胎生16日になると、同腹胎仔間の最大差2.1 mm を観察した。

Christie²⁵⁾は胎齢を1/2日きざみに、9 $\frac{1}{2}$ ~18 $\frac{1}{2}$ 日まで細かく stage 16~32に分け、また Edwards²⁴⁾も胎齢10~11日までは1/2日きざみで、その後はほぼ1/2日間隔で stage 1 (10 $\frac{1}{2}$ ~10 $\frac{3}{4}$ 日)~stage 12 (18~18 $\frac{1}{2}$ 日)までの頭尾長を示している。しかし我々と彼らの結果との間には大きな差は認められない。

発育の著しい胎生期では、せめて半日間隔の sampling が望まれるところかもしれないが、夜半に行なわれる交尾時を、正確に決定することも不可能である。また同腹仔同士でも、さらに同じ妊娠齢の異腹仔間でも、かなりの発育段階のずれが観察される²⁴⁾。以上のことを考え合せると、胎齢を決める妊娠日を正確に判定することは困難に思える。従って膣栓確認から胎齢を算定し、1日間隔という大きな時間で sampling し

ても、さほど問題はないと考えられる。

III 胎生期ラット下顎歯胚切片と復構模型

A. 連続切片作製法

摘出、計測後の各胎齢期胎仔のうち、各胎齢の平均頭尾長を示す個体を選んだ。断頭して、舌を含む下顎を切り出し、ホルマリン固定後、上昇アルコールにて脱水、Sorval Embedding Mediumで浸透した。その後同樹脂を用いて、硬化包埋した。包埋した各胎齢ごとの試料を、下顎先端の方から顎に垂直方向に前頭断、および下顎外側端の方から同様に矢状断の3 μ m 連続切片を作製した。切片はヘマトキシリン-エオジン染色、もしくはトルイジンブルー染色を施した。

B. 歯胚復構模型作製

各胎齢下顎の包埋ブロックに、まず基準面として、歯胚に近接する三つの切断面、すなわち、前頭断方向に1面、矢状断方向に2面の計3面が、互いに垂直になるような面を作った。そのブロックを矢状断にて3 μ m の連続切片を作製し、トルイジンブルーを用いて染色した。得られた連続切片の顕微鏡写真を、胎生14日~19日は総合倍率87.5倍に、また胎生20日では52倍に引き延ばした。その拡大写真から、口腔上皮、唇溝堤およびエナメル上皮の形状を、歯科用ワックス板(厚さ1.5mmと0.45mm)にトレースした。トレースにそって切り抜いたワックス板を、それぞれ基準面に従って重ね合せて模型を構築した。

IV 胎生期ラット下顎切歯胚の成長

A 下顎内における位置的変動

各胎生期の切歯胚が下顎内において、どの部位から発生を始め、顎内をどのような方向に成長していくのかを知るために、図2に示すごとく、両切断方向の切片写真から距離測定を行なった。矢状断において顎先端から歯胚上皮前端までの距離を“a”，上皮後端までを“b”で示す。“c”と“d”は前頭断にて、下顎正中線からの歯胚上皮のそれぞれ内側端および外側端までの距離を表わしている。また両切断において歯胚上皮上端および下端までの距離を、それぞれ“e”と“f”で示している。

以上によって計測した数値を表2に示す。また図3~5は、下顎先端、口腔上皮上縁および正中線のそれぞれを横軸にみなした場合、歯胚上皮の位置が胎齢に伴ってどのように変動するかを、グラフに示したものである。すなわち胎生15日では、切歯胚はほぼ顎先端

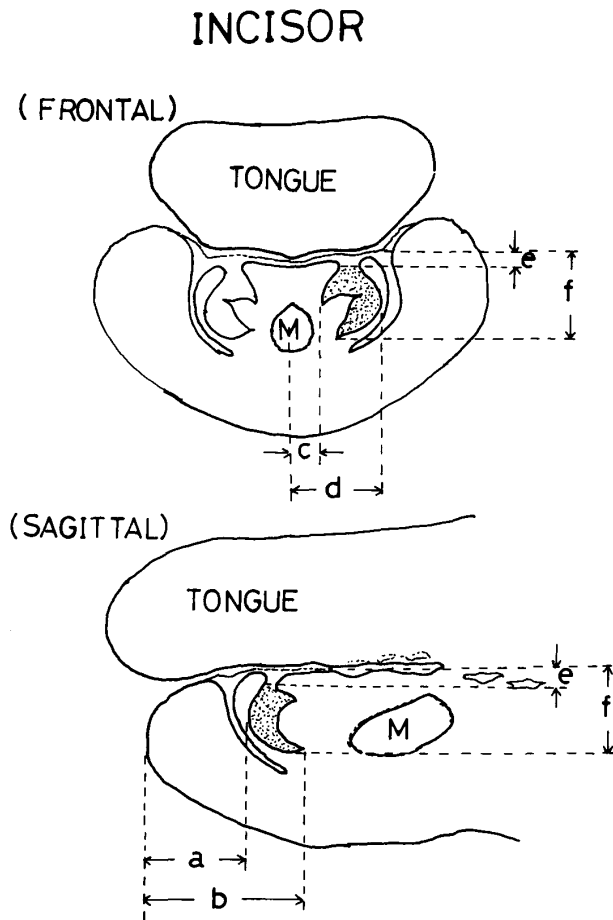


Fig. 2 Schematic drawing of demonstrating the points of measurement of the incisor tooth germ.

The distance from the tip of the mandible to the anterior end (a) and to the posterior end (b): the distance from the median line to the medial end (c) and to the lateral end (d): the distance from the oral surface to the superior end (e) and to the inferior end (f),

M: Meckel's cartilage

より0.5mmの位置から、後方0.75mmの所に位置しており、胎生20日になるとおよそ顎前方1mmから4mm強の位置に存在している。図3に示すごとく、歯胚前端部の位置は下顎内を若干深くなっていくが、下顎尖端からのその距離は、大きく変化していないのに対し、歯胚後端部は胎齢に伴って、下顎後方へ深く伸長していくことがわかる。ところが生後、切歯前端は下顎尖端に到達し、6~8日目¹⁵⁾には外部に萌出する。すなわち歯胚は前方への伸展も当然伴うわけである。

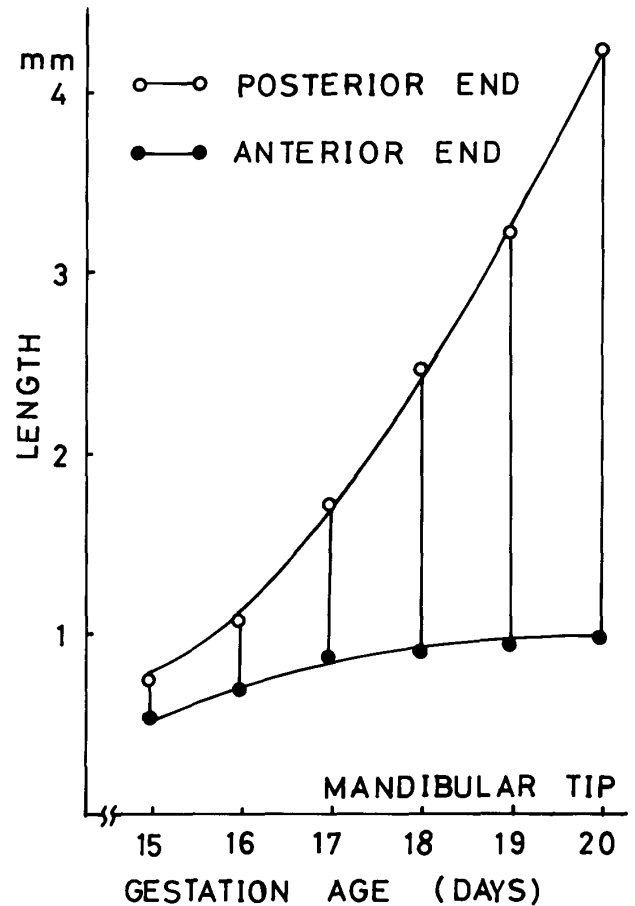


Fig. 3 Location of the anterior and posterior ends of the incisor tooth germ from the mandibular tip.

従って胎生期においては、歯胚の前方への伸びがまだ進んでいないのか、あるいは下顎それ自体の前方への成長が、切歯胚のそれに比して相対的に大きいために、切歯前端部に大きな位置的变化が見られないことを示すものと思われる。

一方図4は、口腔上皮上縁から切歯胚の深さにおける位置変化を、主として切歯胚の高さの増加に伴う変化として示している。また図5は、正中線からの歯胚の距離の増大を左右幅の増加に伴う変化としてグラフに表わしている。顎内における両位置の変化が、それぞれの胎齢に伴って顎内部深くに見られ、両者は同じような成長度を示して発育していくことがわかる。

B 切歯胚の大きさや形態的变化

発育に伴う歯胚の顎内の位置的变化に加えて、歯胚それ自身の三次元的大きさの変動を、正確に把握する意味で、切片からの計測値と連続切片からの復構模型

Table 2. Location of Incisor Tooth Germs in Fetal Mandible

Gestation Age (Days)	from to	Mandibular Tip		Oral Surface		Median Line	
		Anterior End	Posterior End	Superior End	Inferior End	Medial End	Lateral End
		(μm)	(μm)	(μm)	(μm)	(μm)	(μm)
15		526	749	42	206	125	282
16		671	1063	102	388	146	434
17		900	1760	192	578	260	634
18		932	2504	251	694	337	762
19		940	3210	406	968	486	958
20		1006	4246	546	1250	688	1302

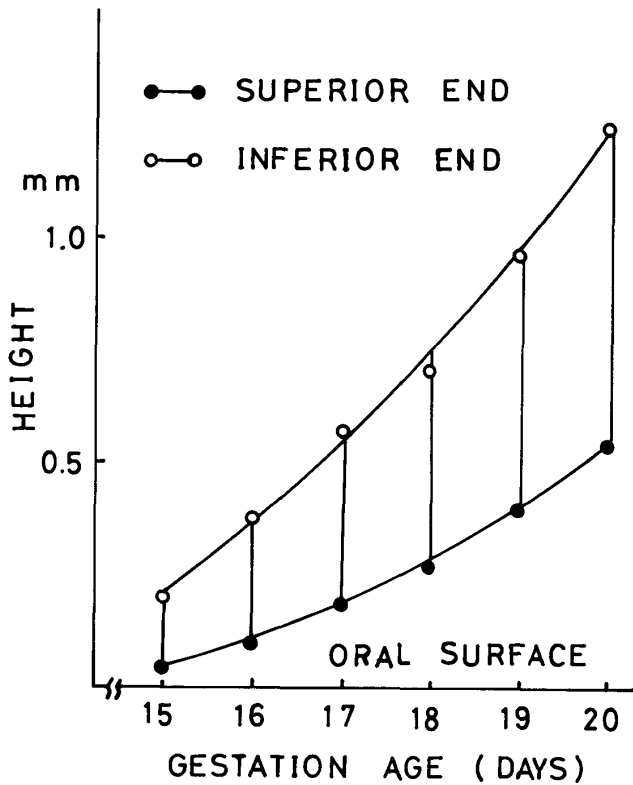


Fig. 4 Location of the superior and inferior ends of the incisor tooth germ from the oral surface.

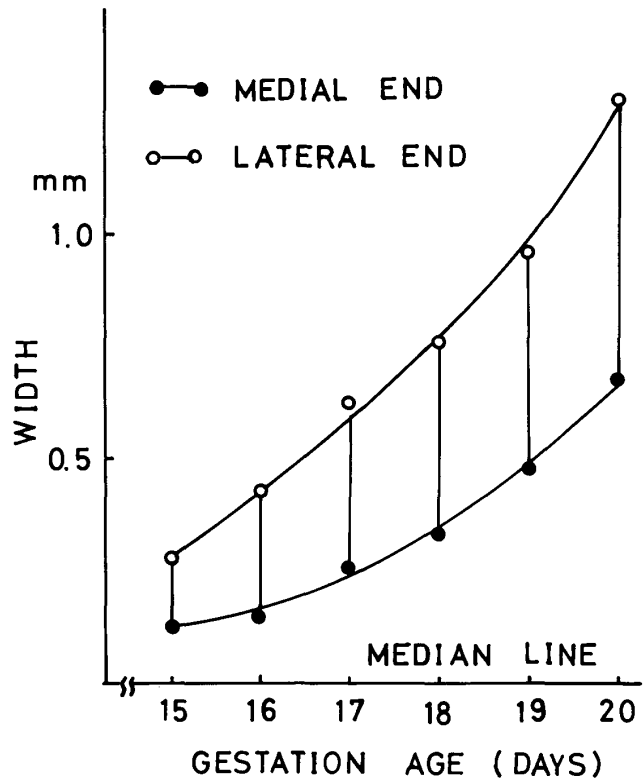


Fig. 5 Location of the medial and lateral ends of the incisor tooth germ from the median line.

を作製して比較検討した。図2に示すごとく、切歯長軸方向に、エナメル器の前端部から後端部までの前後径の最大長 (b-a)、歯胚の口腔側上縁から下縁までの上下径の最大高 (f-e)、さらに正中側内側縁から頰側外側縁までの内外径最大幅 (d-c) を、それぞれ切片写真から計測した。得られた値を前頭断および矢状断連続切片枚数の加算による値と平均して、切歯胚の歯胚長、歯胚高および歯胚幅を決定した。また、

歯胚は顎内において必ずしも各径が直線的ではなく、湾曲を示すことから、作製した復構模型の三次元的大きさも実際に測定した。

1. 歯胚の三次元的大きさ

各胎生期切歯胚の歯胚長、歯胚高および歯胚幅をそれぞれ表3に示す。歯胚長は、胎生15日の200 μm から20日齢の3mm強まで成長してゆくが、胎生期では歯胚高や歯胚幅においては、未だ1mm以下の大きさで

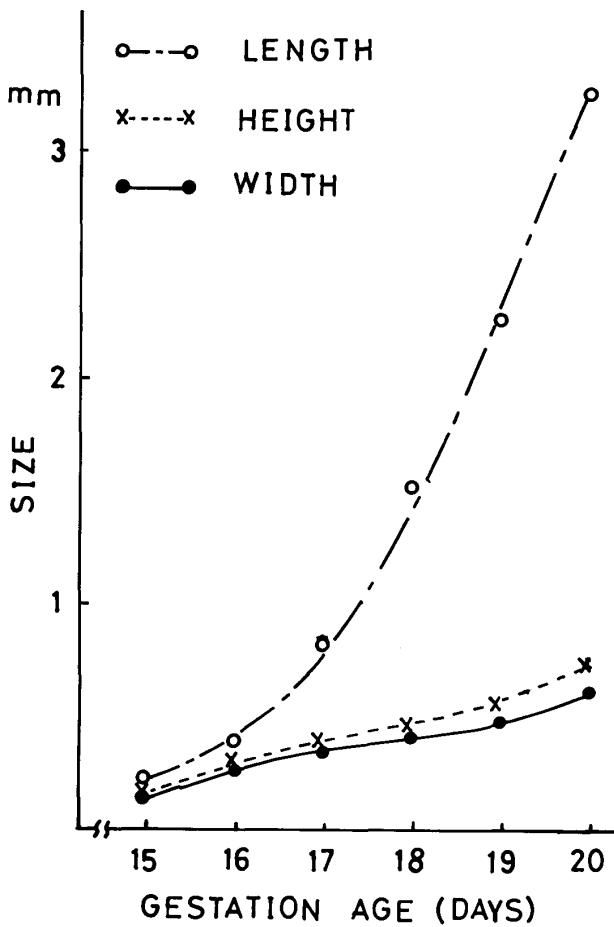


Fig. 6 Growth curves of the three dimensional size of the incisor tooth germs.

あることがわかる。その三次元的大きさの変化の様子を示したのが図6のグラフである。図6と先の図3のグラフからも示されるように、切歯胚はその高さや幅の増大に比べて、前後方向への伸びが著しい。とくに胎生16日以後の顎後方への顕著な伸長は前述した頭尾長の傾向に一致している。

表3に見られるごとく、切片からの計測値と模型からの値を比較すると、すべての胎齢で模型値の方が若干大きい値を示している。用いたワックス板の厚さも切片枚数に相当するように換算してはいる。また実際の模型は52倍から87.5倍に拡大して作製したものを、ノギスで計測し、再び μm 単位に換算してもある。従ってその誤差や、トレースからの切り抜きが大き目になること、さらにワックス板を密着して重ね合わせる際の誤差等により、切片計測値に比べて、模型値が大きくなっているものと考えられる。

2. 歯胚の形態的観察

各胎生期切歯胚の前頭断および矢状断連続切片のうち、歯胚の最大径を示す光学顕微鏡写真を図7~13に示す。ラット下顎切歯胚は、胎生14日で口腔上皮のわずかな肥厚が見られ(図7)のみである¹⁵⁾。胎生15日になって蕾状期を呈し、この歯蕾を取り囲むように、多くの血管が見られるようになる(図8)。胎生16日では鐘状期胚を示し、矢状断切片で観察すると、唇側(下顎底方向)エナメル上皮の後方への伸びが見られ、齧

Table 3. Three Dimensional Size of Incisor Tooth Germs

Gestation Age (Days)	Antero-Posterior Length (μm) (Tooth Length)	Superio-Inferior Length (μm) (Tooth Height)	Medio-Lateral Length (μm) (Tooth Width)
15 S	223	162	157
15 M	227	223	234
16 S	392	286	288
16 M	455	395	353
17 S	860	386	374
17 M	903	479	446
18 S	1572	443	425
18 M	1669	606	480
19 S	2270	562	472
19 M	2480	686	543
20 S	3240	704	614
20 M	3423	808	946

S: size from sections, M: size from model

Plate 1 Photomicrographs of sections of the widest (a) (frontal section) and the longest (b) (saggital section) incisor tooth germ in serial sections from 14th to 17th gestation ages. I: incisor tooth germ, M: Meckel's cartilage, T: tongue

Fig. 7: 14 days in gestation age (x 50)

Fig. 8: 15 days in gestation age (x 50)

Fig. 9: 16 days in gestation age (x 50)

Fig. 10: 17 days in gestation age (x 50)

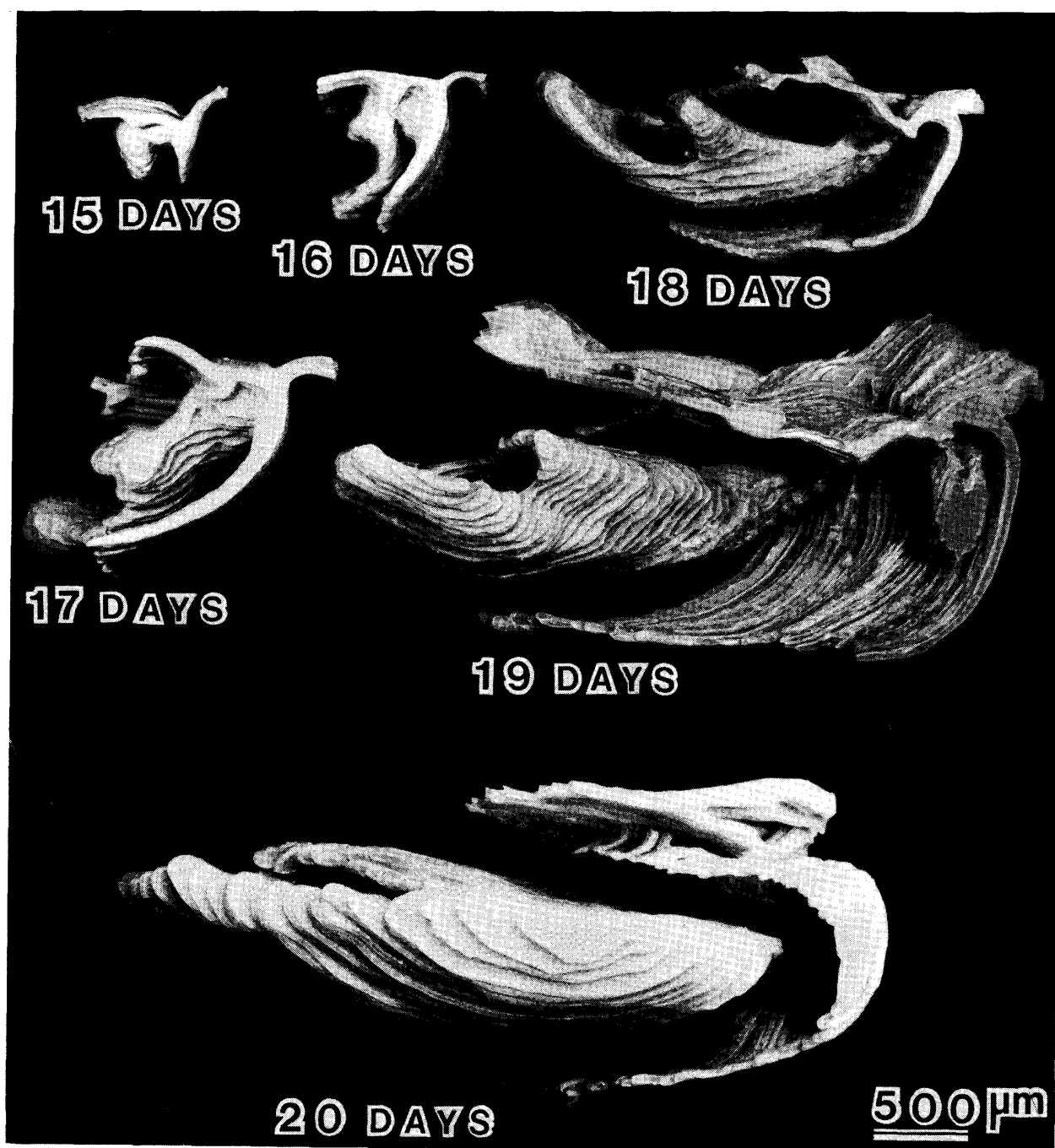


Fig. 14 Photomicrograph showing the reconstructed models of the incisor tooth germ at various developmental stage.

Plate 1

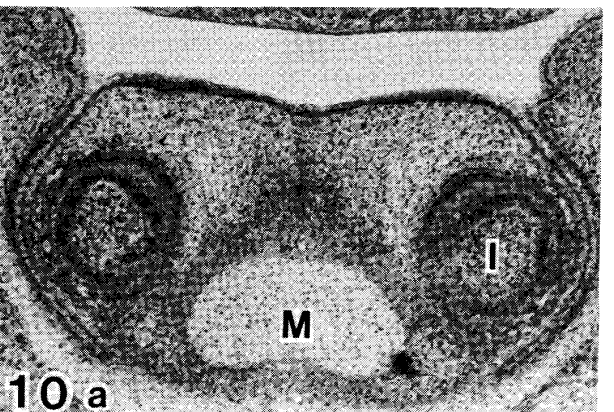
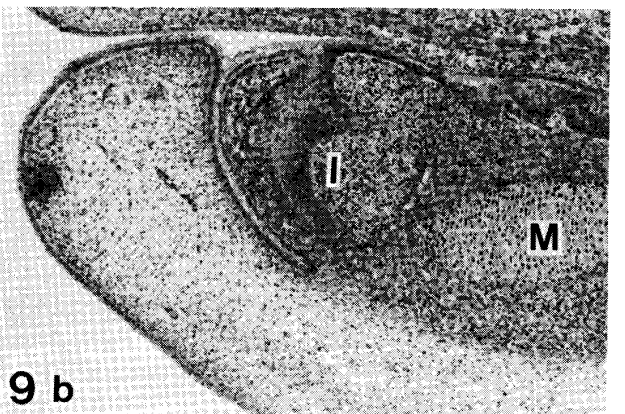
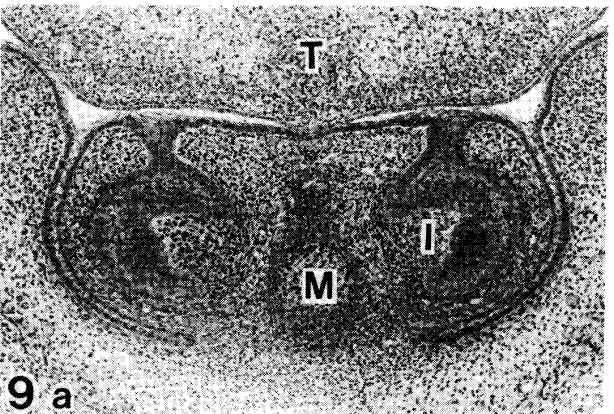
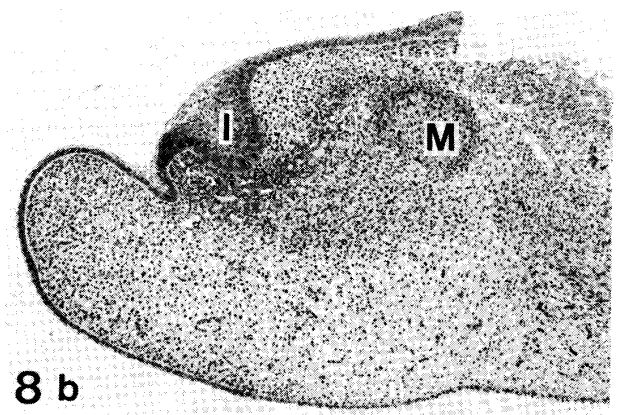
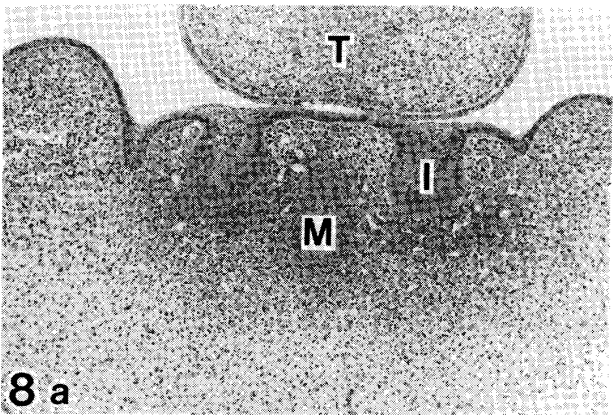
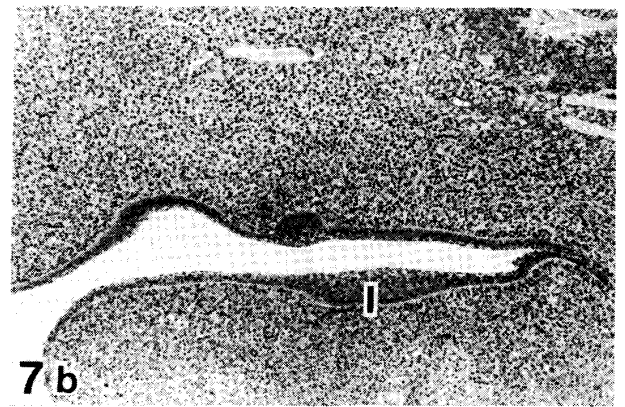
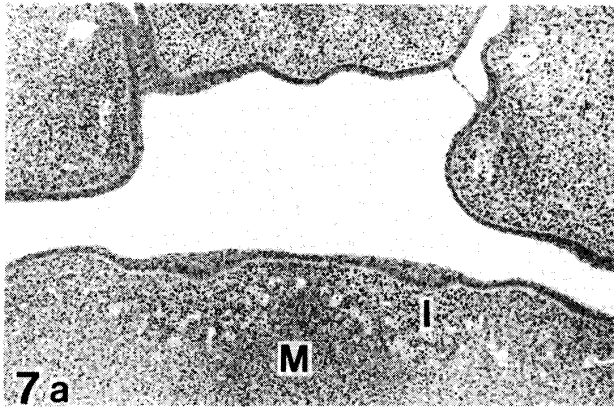


Plate 2

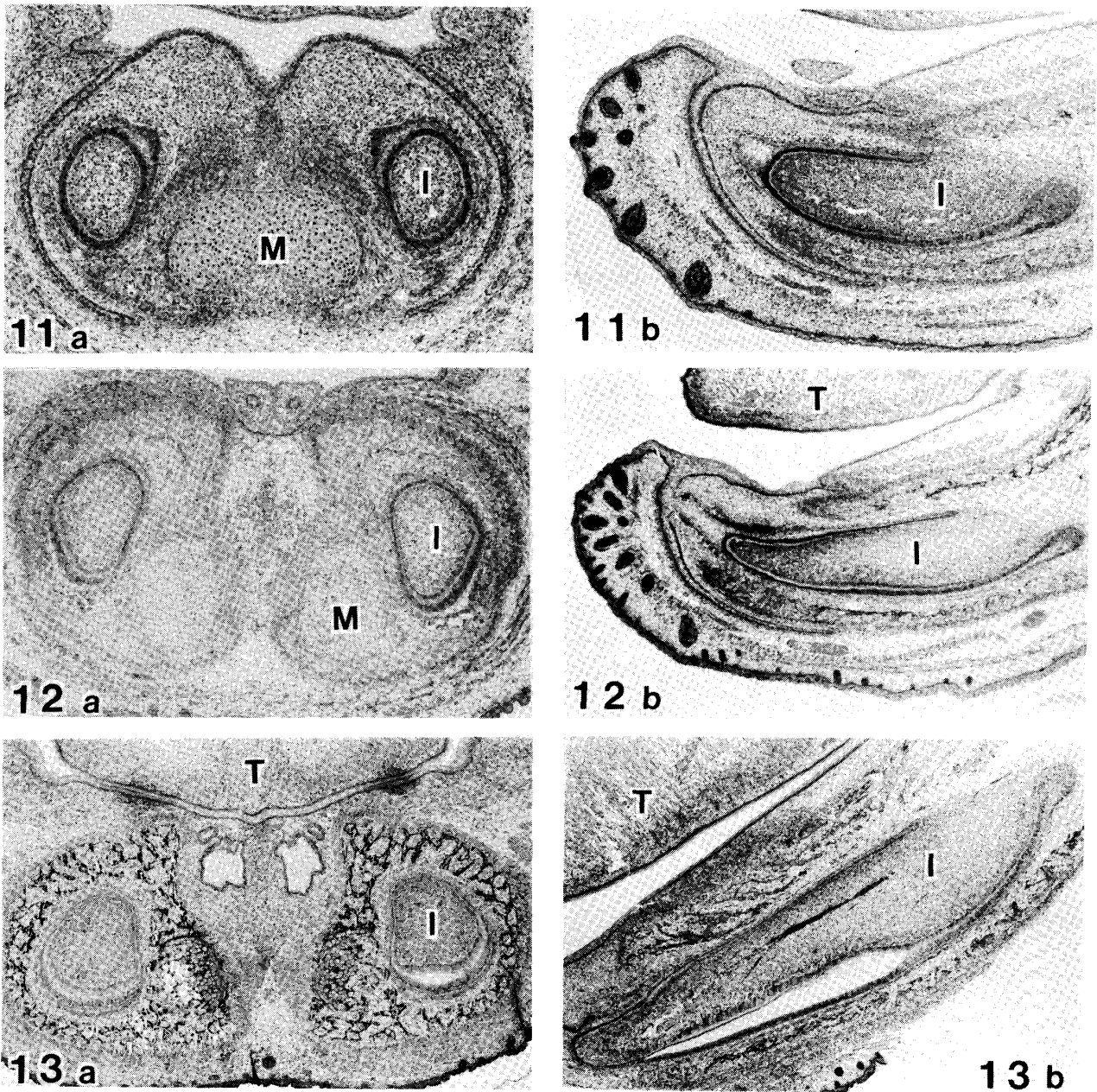


Plate 2 Photomicrographs of sections of the widest (a) (frontal section) and the longest (b) (sagittal section) incisor tooth germ in serial sections from 18th to 20th gestation ages. I: incisor tooth germ, M: Meckel's cartilage, T: tongue

Fig. 11: 18 days in gestation age (a: x 40) (b: x 30)

Fig. 12: 19 days in gestation age (a: x 33) (b: x 21)

Fig. 13: 20 days in gestation age (a: x 24) (b: x 21)

歯類特有の三日月形¹³⁾の形態を取り始めていることがわかる(図9 b)。その後、後方への伸長は胎生17日(図10 b)、18日(図11 b)、19日(図12 b)から更に20日(図13 b)へと著しい成長の様子を示し、出産直前のこの時期では、歯胚長3 mm 強の長さまで伸長している(表3)。

また胎生17日を見ると、切歯尖端の形成が観察され、18日では、後端側のいわゆる増殖域である *growing end*²⁶⁾が著明に観察されるようになる。この領域は無根歯として、生涯萌出し続ける齧歯類特有の場所で、図13 bのごとく、生後においても形態を保っている所である。図14に切歯胚の模型の写真を示す。

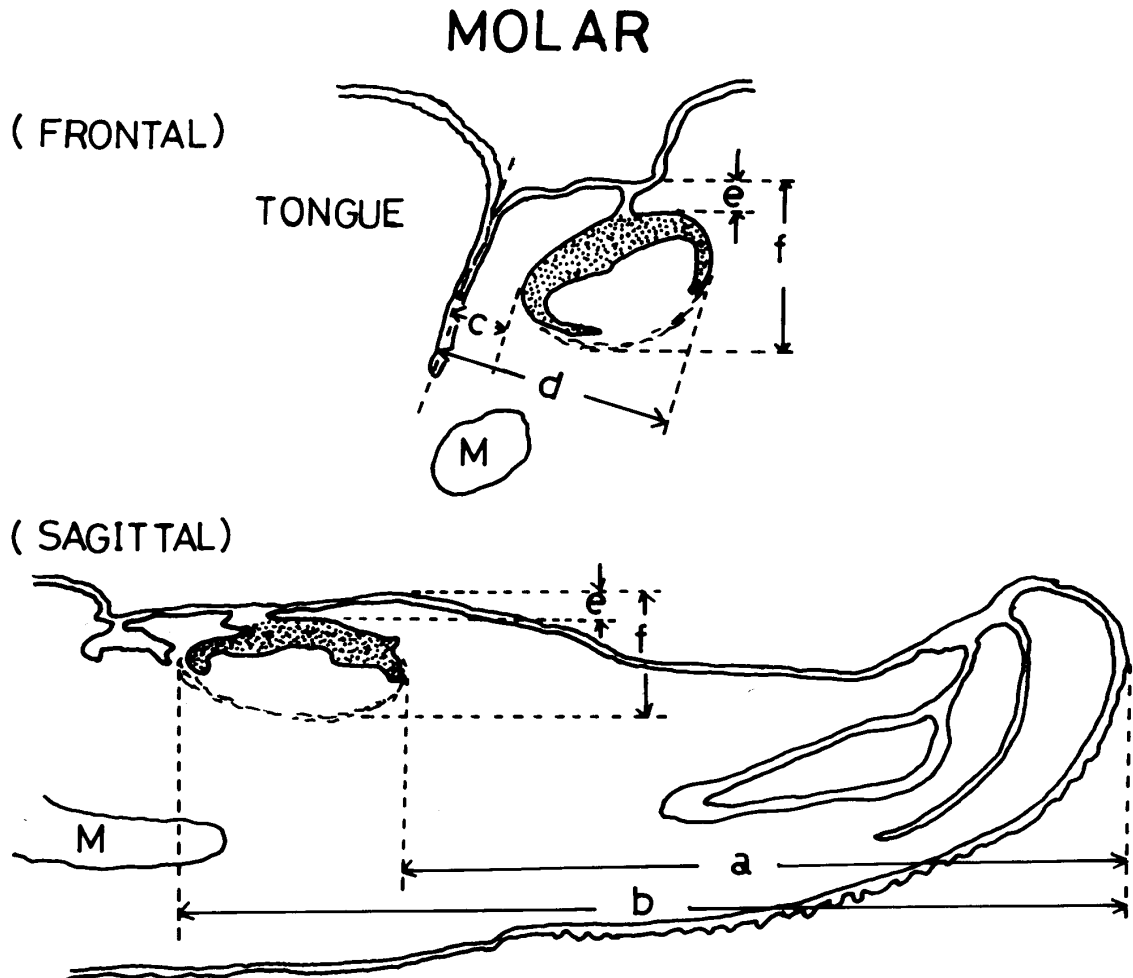


Fig. 15 Schematic drawing of demonstrating the points of measurement of the molar tooth germ.

The points of measurement with exceptions of "c" and "d" are same as in Fig. 2.

The distance from the medial surface of the mandible to the medial end (c) and to the lateral end (d) of the tooth germ, M: Meckel's cartilage

一方内エナメル上皮細胞の分化，すなわち脊の高い円柱細胞への形態変化は，胎生17日ではっきり観察され¹³⁾，19日になると尖端側に象牙前質の形成が，また20日では，切端内部の歯乳頭内に骨様の石灰化の沈着が認められ，いわゆる骨様象牙質形成^{13,14,27)}が確認される。

V 胎生期ラット下顎臼歯胚の成長

A 下顎内における位置的变化

光学顕微鏡用に樹脂包埋した下顎試料を，切歯胚の場合と同様に，前頭断および矢状断のそれぞれ3 μ mの連続切片を作製した。

図15に示すごとく，臼歯胚は顎後方に位置しており，

メッケル軟骨も正中面から左右の顎内部に位置を占めてくる。しかも発育途上にある臼歯胚は，前頭断で示すごとく，歯胚の内側縁から外側縁にかけて，かなりの傾斜を示している。従って位置測定にあたっては，舌に近接する下顎内側縁から歯胚内側端までの距離を"c"，外側端までを"d"とした。また下顎上縁から歯胚上皮上端までを"e"，下端までを"f"として，それぞれの距離の測定を行なった。矢状断切片写真においては，切歯胚同様に，下顎尖端から歯胚上皮前端までを"a"，後端までを"b"として計測した。表4に第一臼歯胚と，第二臼歯胚の顎内に占める三次元的な位置を，a~fの数値で表している。前記の表2を合せ参照してわかるように，胎生20日齢の第一臼歯胚の前端側

Table 4. Location of Molar Tooth Germs in Fetal Mandibles

Gestation Age (Days)	from to	Mandibular Tip		Oral Surface		Medial Surface	
		Anterior End (μm)	Posterior End (μm)	Superior End (μm)	Inferior End (μm)	Medial End (μm)	Lateral End (μm)
15	1st	1039	1508	—	146	580	680
	2nd	—	—	—	—	—	—
16	1st	1854	2393	88	276	366	604
	2nd	—	—	—	—	—	—
17	1st	2701	3411	68	336	210	540
	2nd	—	—	—	—	—	—
18	1st	3545	4435	140	584	208	594
	2nd	4669	5057	134	396	228	376
19	1st	3714	4890	174	750	210	936
	2nd	4989	5515	182	450	374	696
20	1st	4147	5741	150	920	174	1020
	2nd	5642	6488	194	578	380	884

1st: First Molar Tooth Germ, 2nd: Second Molar Tooth Germ

は、切歯胚の後端側と一部重複している。すなわち、切歯後端はすでに第一臼歯胚の直下にまで伸長していることを示している。図16は、各胎齢における下顎尖端から後方にかけて、第一臼歯胚の存在する位置をグラフに示している。胎生18日以降は、歯胚前端の顎後方への移動速度が、後端部に比して小さくなっている。このことは、図3に見られるように、切歯胚と同じ傾向を示している。図17(a)と(b)には、顎内における各胎生期の第一臼歯胚の上下端および内外側端の位置の変動が示されている。臼歯胚の上端は、各胎生期を通じて顎上縁に近接しているが、歯胚下端は内部へ深く位置してゆく様子が示される。一方歯胚の内外側端をみると(図17-b)、最初、歯胚は顎外側寄から出現し、発育に伴って内側端は徐々に顎の内側、すなわち口腔側に延びてくる。ところが外側端の方は、とくに17日以降、急速に顎外側すなわち頬側へ伸長してゆき、歯胚幅は主として外側端の顎外側への顕著な成長によることがわかる。

B 臼歯胚の大きさと形態的变化

1. 歯胚の三次元的大きさ

切歯胚の項で述べたように、前頭断および矢状断連続切片を用いた計測値と模型を測定して得た値とを比較して、表5に示す。歯胚の前後径としての歯胚長、上下径としての歯胚高、さらに内外側径としての歯胚

幅の大きさを、それぞれ表わしている。また図18に歯胚長の、図19(a)と(b)には歯胚高と歯胚幅のそれぞれ胎齢に伴う変化の様子を、グラフにして示している。第二臼歯胚については、その大きさの三次元的変化が、第一臼歯胚の変動にほぼ平行していることがわかる。さらに臼歯胚の大きさの変化を見ると、切歯胚に比して歯胚長の増加と同様に、歯胚幅も急速に増大していくこともわかる。表5に見るごとく、切片からの計測値に比して、模型値の方が全体的に大きいのは、切歯胚の項で述べた理由と同じ事由によるものと考えられる。臼歯胚の復構模型の写真を、図26に示している。

2. 歯胚の形態的観察

成体ラット臼歯は、前方より第一、第二、第三の3つの歯として存在する。しかし第三臼歯の発育は遅れ、Schour & Massler¹⁵⁾によれば、この歯胚の最初の歯堤出現が胎生20日である。また Mallanby¹⁴⁾も、胎生20日までは第一と第二歯胚の出現のみであり、第三臼歯胚はまだ観察されないことを報告している。すなわち第三臼歯胚は生後発生開始の歯であるといえる。我々の胎生20日までの観察結果においても、第三歯胚の発生は認められなかった。

第一および第二歯胚の矢状断と前頭断によるそれぞれの最大径を示す切片の顕微鏡写真を、図20~25に示す。Schour & Massler¹⁵⁾は、最初の歯堤出現を歯胚

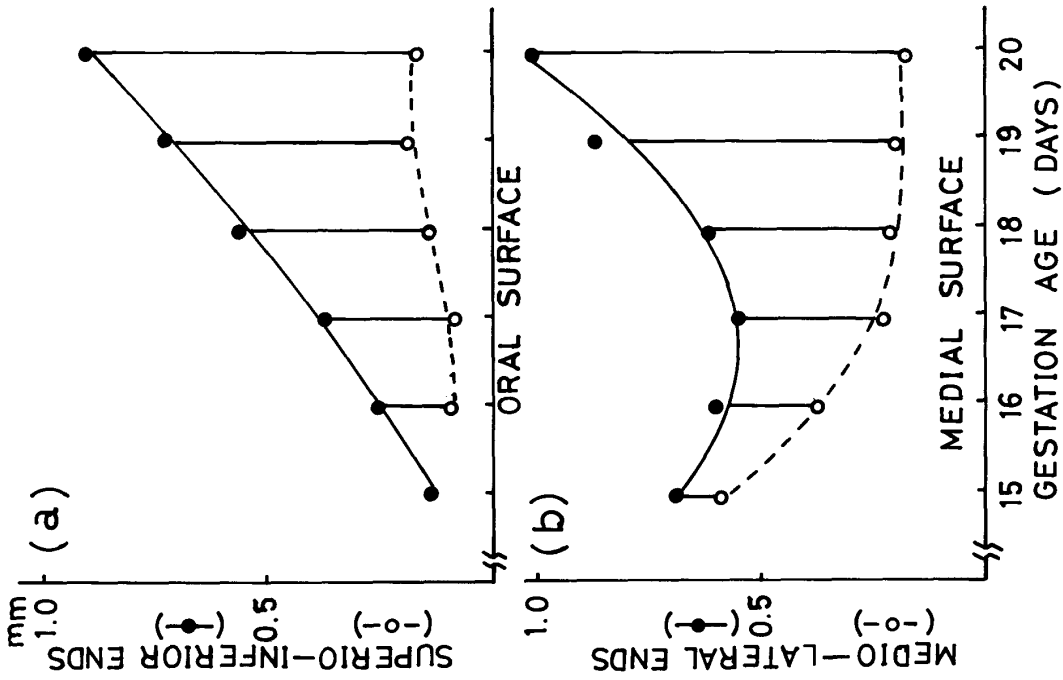


Fig. 17 Location of the superior and inferior ends of the first molar tooth germ from the oral surface (a), and the medial and lateral ends from the medial surface (b).

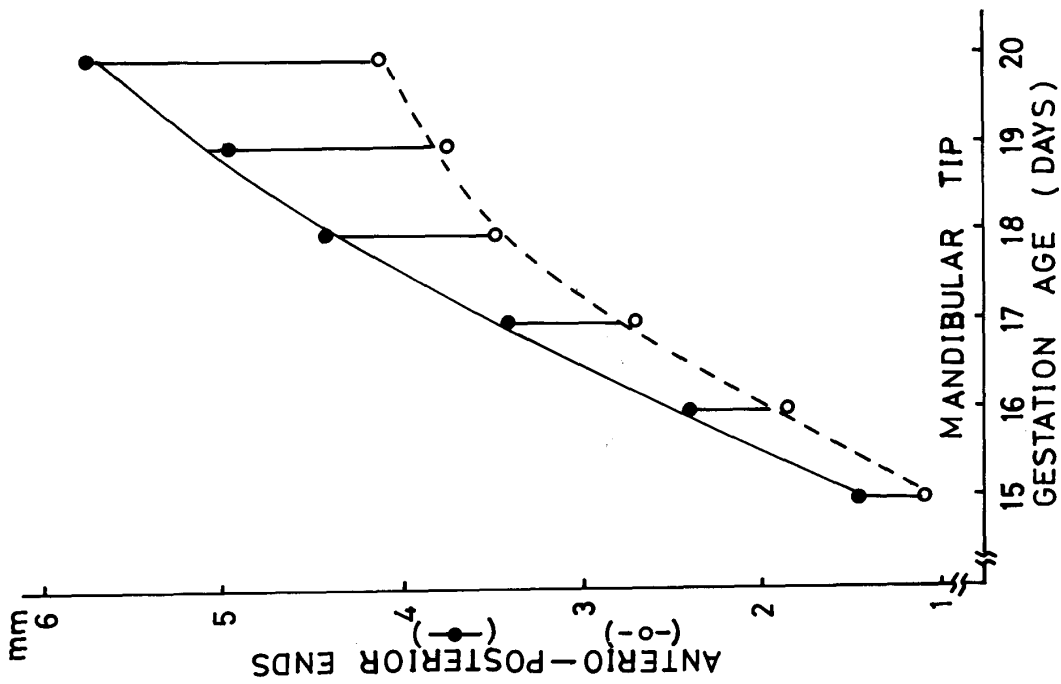


Fig. 16 Location of the anterior and posterior ends of the first molar tooth germ from the mandibular tip.

Table 5. Three Dimensional Size of Molar Tooth Germs

Gestation Age (Days)		Antero-Posterior Length (μm) (Tooth Length)		Superio-Inferior (Length (μm) (Tooth Height)		Medio-Lateral Length (μm) (Tooth Width)	
		1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd
15	S	460	—	146	—	100	—
	M	—	—	—	—	—	—
16	S	539	—	188	—	256	—
	M	—	—	—	—	—	—
17	S	710	—	298	—	399	—
	M	771	—	309	—	480	—
18	S	890	388	374	172	495	225
	M	1006	446	400	206	566	249
19	S	1116	526	614	344	724	396
	M	1269	531	657	423	789	423
20	S	1594	846	688	446	1045	630
	M	1981	827	712	510	1115	596

S: Size from Sections, M: Size From Model

1st: First Molar Tooth Germ, 2nd: Second Molar Tooth Germ

発生の開始とみて、第一歯胚は胎生13日に、第二は14～15日に発生開始するとしている。我々の観察では、第一歯胚は15日で、陥入した歯堤に続く歯蕾状の様子を示し、17日になると同様の形態を示す第二歯胚の開始が見られた。これは Bhasker¹⁶⁾の第一歯胚出現を、15～16日とした結果と一致している。ラット臼歯には、頬舌方向にそれぞれ近心、中心および遠心咬頭が存在する¹⁷⁾。そこで、第一臼歯胚の発育をみると、胎生15日で発生開始が見られ、16日になると帽状期を示し、その歯胚上皮の下方には、歯乳頭を形成すべき胎生期結合組織細胞の集積が明らかに認められてくる。以後内エナメル上皮層には、多数の細胞分裂像が観察される。18日で咬頭の位置が認められるようになり(図23b)、19日では舌側および頬側咬頭の位置が、よりはっきりしてくる(図24a)。Schour & Massler¹⁵⁾が指摘するように、この時期までは未だ内エナメル上皮細胞核の基底側への極在化の傾向も見られず、エナメル芽細胞への分化は、胎生20日になってから認められる。胎生20日齢においては、エナメル芽細胞への分化が観察されるのに加えて、近心、中心および遠心咬頭の形がはっきり形成されている(図25b)。しかし Mallanby¹⁴⁾も述べているごとく、この時期には象牙質の形成はまだ認められない。従って第一臼歯胚においては、胎生

20日齢までに、頬舌方向のそれぞれ3つの咬頭の形成までは起こるが、象牙質形成を含め、石灰化の徴候は見られない。すなわち切歯胚の発育に比して、1～2日遅れてくるようである。

一方第二臼歯胚については、胎生17日に図22aに示すごとく、陥入した歯堤末端に歯蕾の形成が見られる。従って Schour & Massler¹⁵⁾や Paynter & Hunt¹⁷⁾の示すように、最初の歯堤出現は、もう少し早い時期になるものと思われる。図25bに見られるように、胎生20日になっても第二歯胚は、咬頭の位置がはっきり判別されうる状態にまでは発育していないことがわかる。

矢状断連続切片写真からのトレースによって、ワックス板で作製した胎生17日～20日齢の臼歯胚の模型を、図26に示している。切歯胚同様に、臼歯胚上皮の顎内における三次元的位置、並びにその大きさの変化が観察できる。とくに二次元的切片観察からでは把握しがたい湾曲度や膨らみの様子が、明瞭に理解される。

VI おわりに

胎生期ラットの発育、成長に関しては、体節や体表面の形態形成を含めた全身的な詳しいデータが、こ

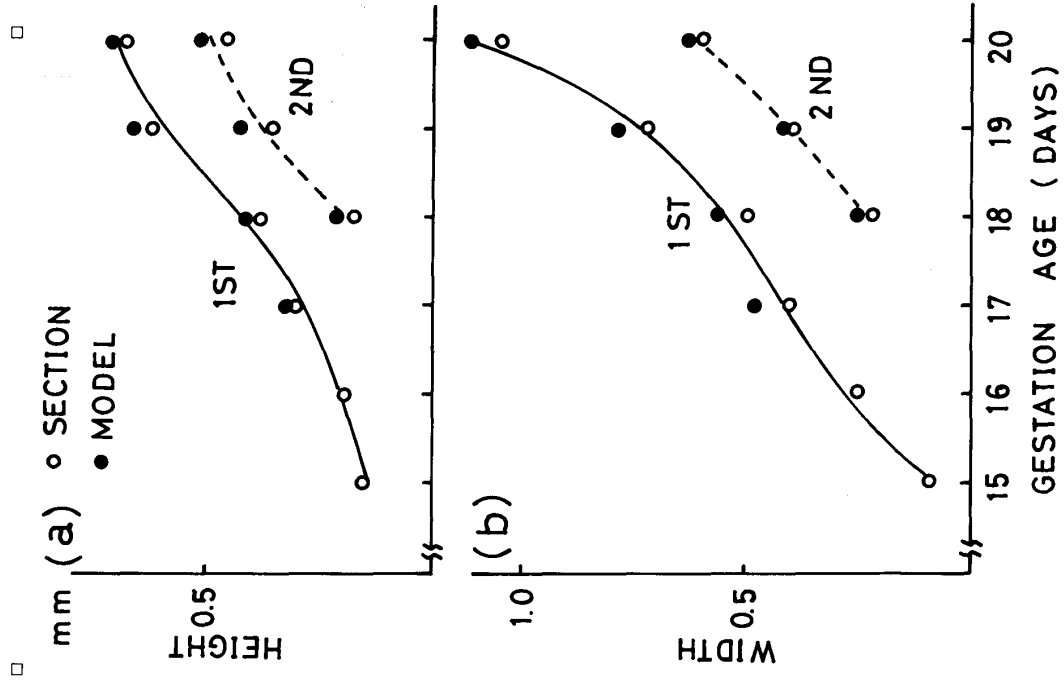


Fig. 19 Growth curves of the tooth height (a), and the width (b) of the molar tooth germs. — : first molars, - - - - : second molars

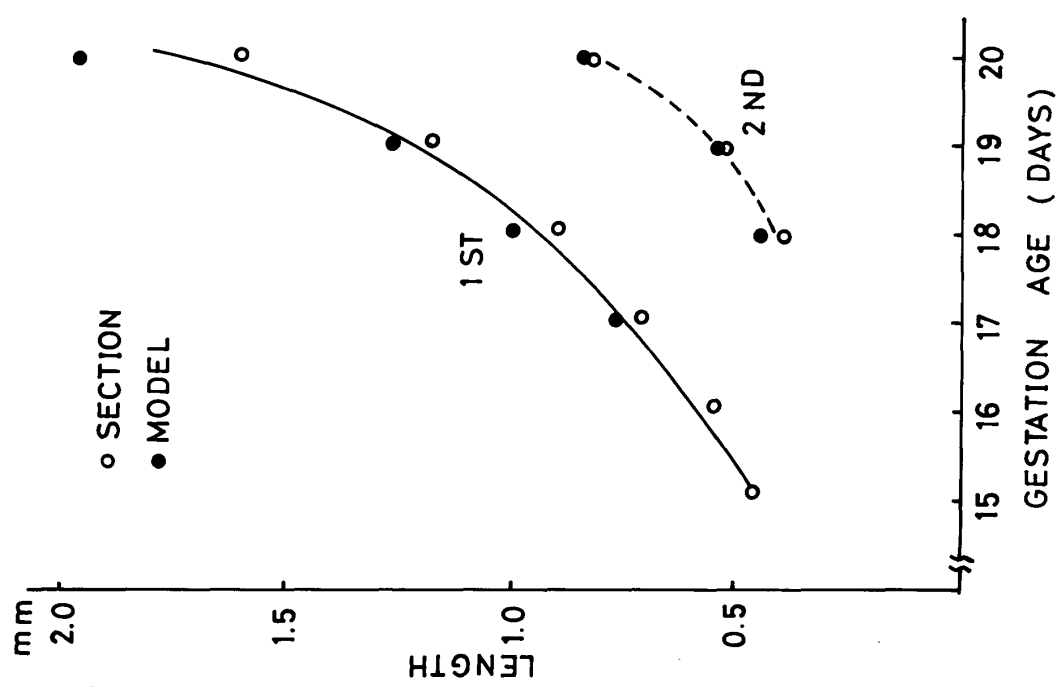


Fig. 18 Growth curves of the tooth length of the molar tooth germs. — : first molars, - - - - : second molars

Plate 3

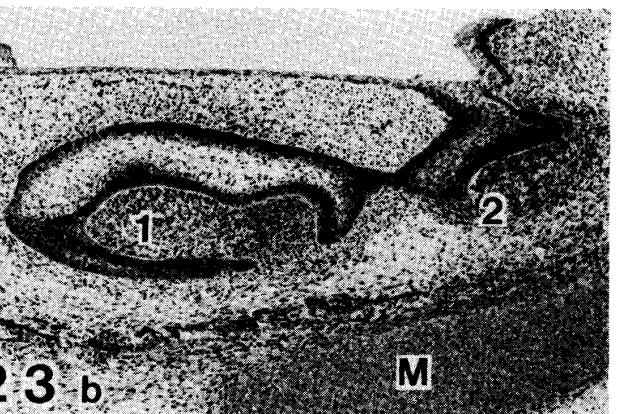
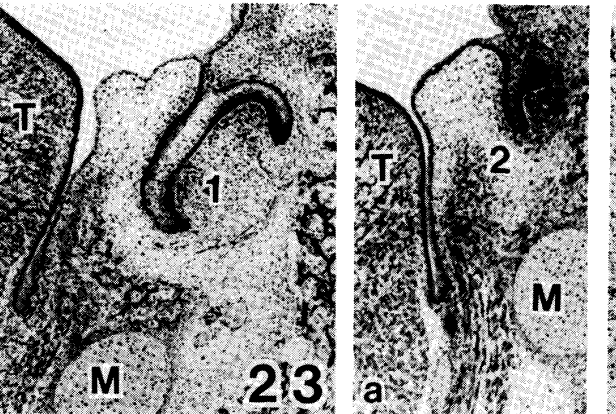
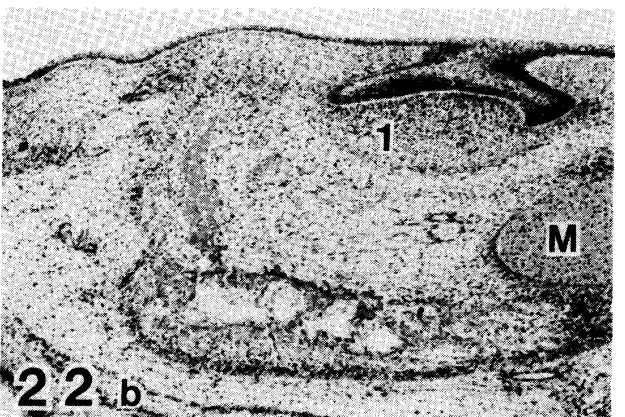
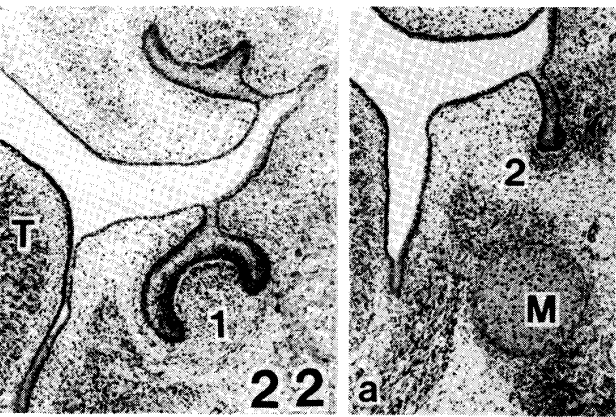
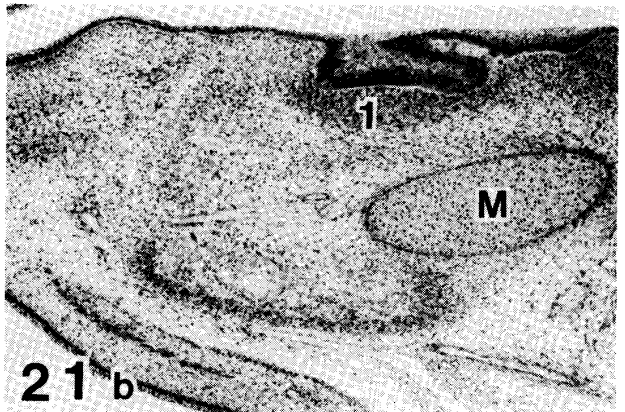
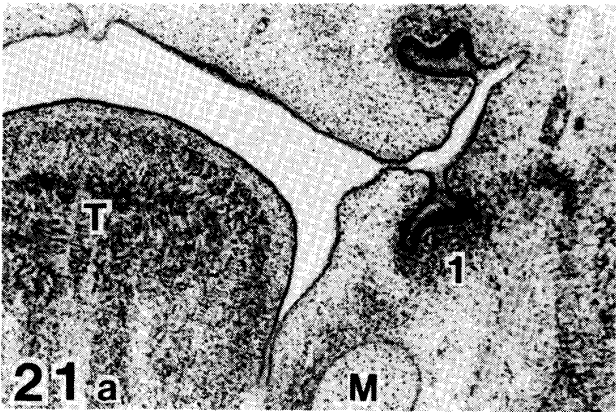
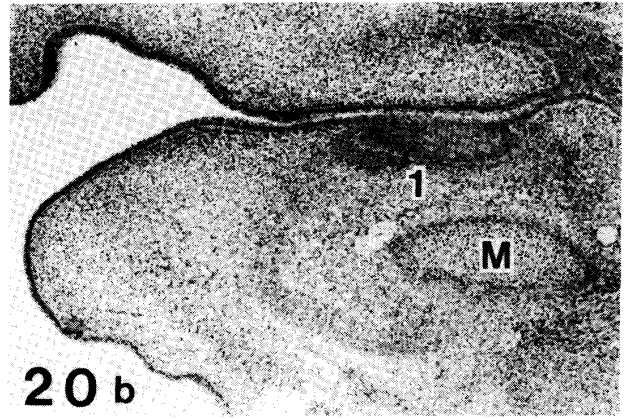
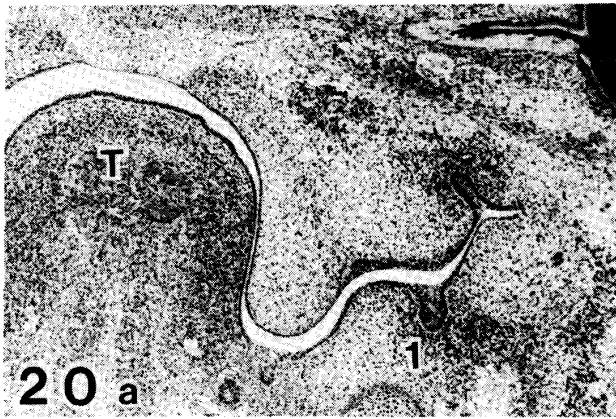


Plate 4

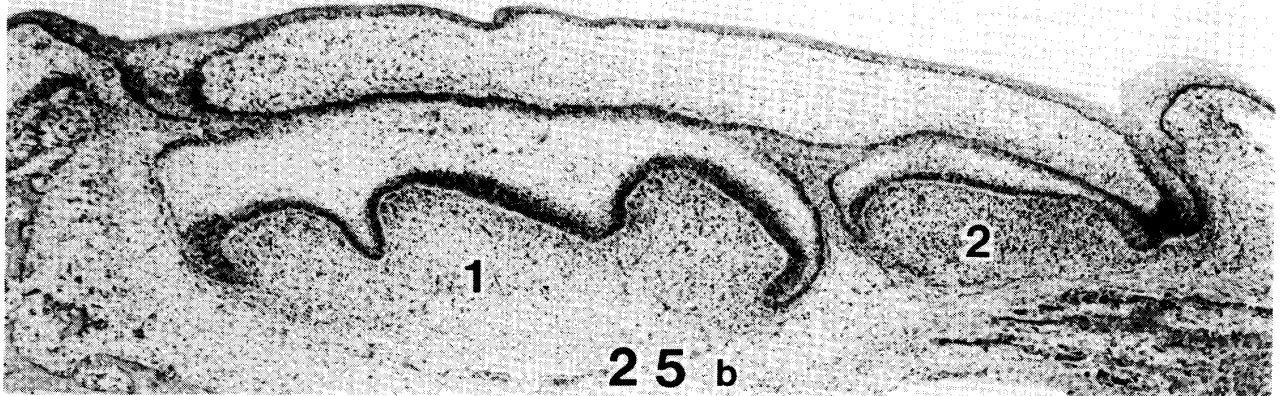
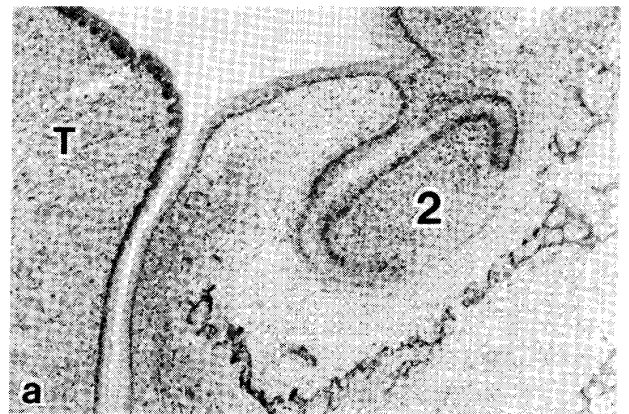
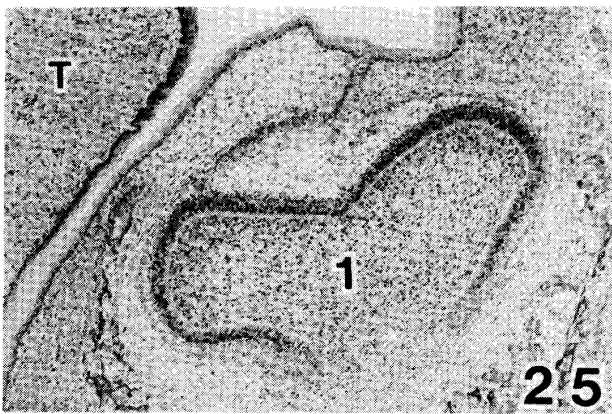
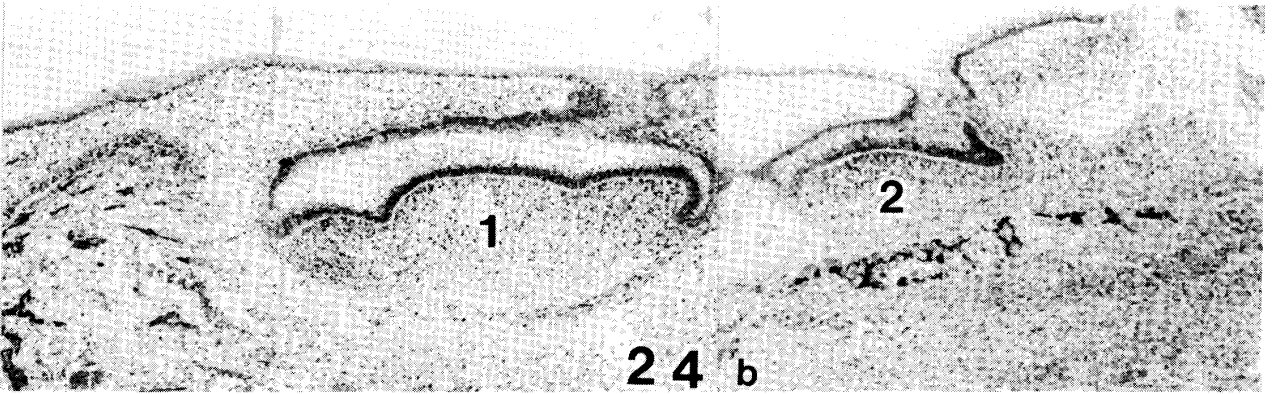
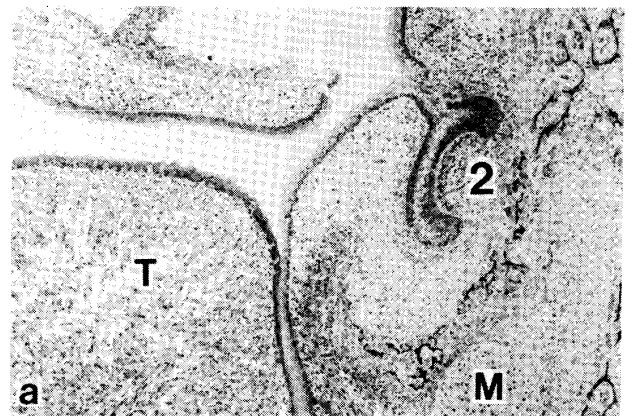
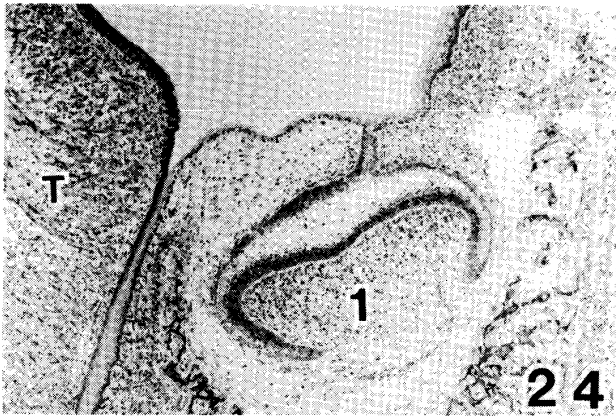


Plate 3 Photomicrographs of sections of the widest (a) (frontal section), and the longest (b) (sagittal section) molar tooth germ in serial sections from 15th to 18th gestation ages. 1: first molar tooth germ, 2: second molar tooth germ, M: Meckel's cartilage, T: tongue

Fig. 20: 15 days in gestation age (x 40)

Fig. 21: 16 days in gestation age (x 40)

Fig. 22: 17 days in gestation age (x 40)

Fig. 23: 18 days in gestation age (x 40)

Plate 4 Photomicrographs of sections of the widest (a) (frontal section), and the longest (b) (sagittal section) molar tooth germ in serial sections at 19th and 20th gestation ages. 1: first molar tooth germ, 2: second molar tooth germ, M: Meckel's cartilage, T: tongue

Fig. 24: 19 days in gestation age (x 40)

Fig. 25: 20 days in gestation age (x 40)

れまでにいくつか報告されているので^{24,25,28)}、参照されたい。ラットの胎生期歯胚の発生並びに発育過程についても、多くの報告がなされている^{13~18)}。しかしながら、これまでの歯胚についての報告は、ほとんど全て切片のみによる二次元的な観察であった。著者らは、歯胚の発生開始から、歯胚が実際に顎内を、どのような方向に、どれくらいの大きさでもって発育成長してゆくのかということ把握する目的で、特に歯胚の復構模型も作製して、その三次元的な位置並びに大きさの変動について検討してきた。今回の結果に示した歯胚の計測にあたっては、頭尾長が平均値にある胎仔を選んで行なっている。しかし胎齢判定においては、前述したごとく、困難な点も存在することは確かである。また同腹胎仔間での発生段階の進度の個体差、並びに同一胎齢における時間的レベルでの発育度の差については、培養系などに移して行なう研究の場合、十分に留意されるべき点であろう。さらに、Edwards²⁴⁾も指摘しているように、同一胎齢仔を含む数頭の妊娠雌を使い、試料の数を増やすということも必要かと思われる。

ラット胎生期歯胚の発生における二次元的形態変化並びにエナメル芽細胞、象牙芽細胞の分化時期に関しては、Addison & Appleton¹³⁾ほか^{14,15)}による報告もあり、またマウスについてはHay²⁹⁾やKollar³⁰⁾らが詳述している。例えば、これら齧歯類下顎切歯先端部に石灰質の沈着の開始するのが、胎生20日前後であるとしている。我々の結果でも、胎生19日で先端に象牙前質の形成を認め、20日目になって先端の歯乳頭内に骨様の石灰化沈着が明瞭に観察され、いわゆる osteodentin の形成も確認された。また臼歯胚についても、歯胚細胞の分化度や咬頭形成を含めその歯胚の形状など、

これまでの報告とよく一致している。従って脛栓確認日を0日として、胎齢判定を行なえばよいといえる。

一方、連続切片と復構模型における歯胚の観察と計測によって、切歯胚では胎生16日において、エナメル上皮は下顎内へ陥入後、頬舌方向への膨らみと共に、唇側においては下顎後方へ向ってすでに伸長を開始することが示された。胎生17日では、エナメル上皮は頬側および後方へとさらに伸び、それによって歯乳頭が深くなり、齧歯類切歯特有の三日月形の形態を示し始めていた。胎生18日になると、主として切歯後方における舌側への膨らみが顕著になり、そのため切歯全体が湾曲し始める。臼歯胚においても、発育過程における膨らみや傾斜度の変化を含めた形態変化の様子が、はっきりと示される。従ってこのような三次元的な観察の重要性が指摘されよう。

ただ我々の行なってきた各胎生期における下顎標本の連続切片作製並びにトレース法によるワックス板を用いた復構模型の作製というのは、考えてみれば非常に時間と労力を要する方法である。1 mm 長の標本を 3 μ m の連続切片にすると、切片枚数だけでも 330 枚強となり、さらに大きく発育した試料を、いくつもつくるとなると、余りにも莫大な数量となる。しかもそれらの写真からトレース法によって模型をつくる作業まで考え合せると、賢明な方法ではないかもしれない。さらに用いたワックス板は切り抜きや、接着等の操作においては、容易である反面、熱や重さに弱く、軟弱でもあることから、永久的保存が困難となり、模型作製に関しては、もっと改善する必要はあろう。

しかしながら、目的とする発育段階の歯胚が、顎内部において、どのような位置に、どの程度の大きさで存在するかを知ることができれば、歯胚全体の、また

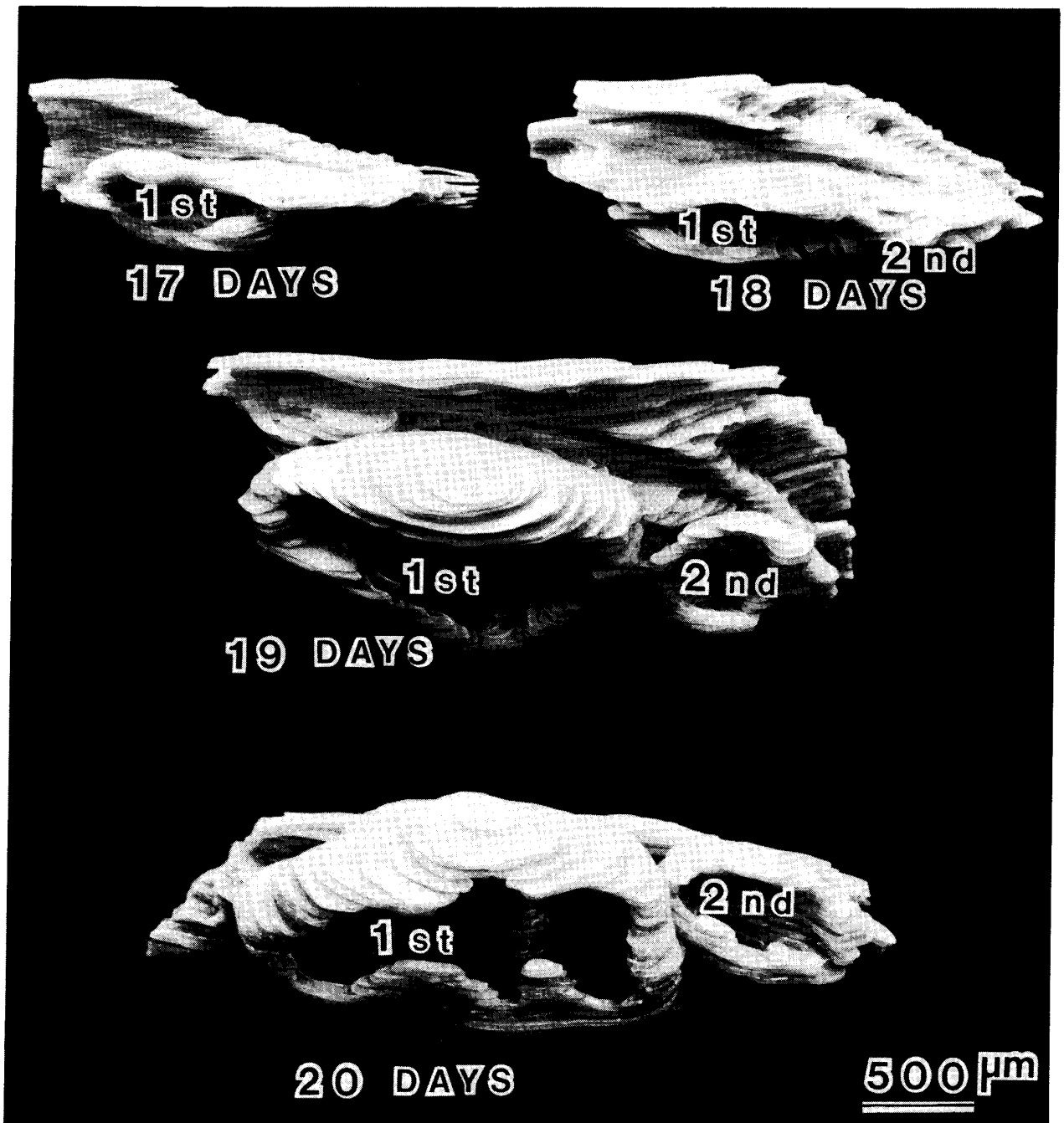


Fig. 26 Photograph showing the reconstructed models of the molar tooth germ at various developmental stage.

1st : first molar tooth germ, 2nd : second molar tooth germ

必要最小限の領域の摘出が損傷なくすみやかに行ないうる。従って歯牙形態形成並びに石灰化機構解明のために、培養系を用いた研究を計画する上にも、以上述べてきたような歯胚の経時的発育段階と、その三次元的形態変化とを十分に、把握しておくことは重要なことである。

今回のような報告例は今までほとんど見られないので、こゝに述べた方法も必要かつ有効なものと考えられ、図や表に示された結果も、今後の貴重なデータになるものと確信して稿を終わる。

稿を終るにあたって、本稿に記した結果の一部は、文部省科学研究費補助金（一般研究C 課題番号：57570654）の交付を受けて行なわれた研究結果の一部である。こゝに重ねて感謝の意を表する次第である。

引用文献

- 1) Bernard, G. W.: Ultrastructural observations of initial calcification in dentin and enamel. *J. Ultrastruct.* 41, 1-17, 1972
- 2) Eisenmann, D. R. & Glick, P. L.: Ultrastructure of initial crystal formation in dentin. *J. Ultrastruct.* 41, 18-28, 1972
- 3) Sisca, R. F. & Provenza, D. V.: Initial dentin formation in human deciduous teeth. An electron microscope study. *Calcif. Tis. Res.* 9, 1-16, 1972
- 4) Larsson, A. & Bloom, G. D.: Studies on dentinogenesis in the rat. Fine structure of developing odontoblasts and predentin in relation to the mineralization process. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* 139, 227-246, 1973
- 5) Bonucci, E.: Matrix vesicle. Their role in calcification., In; *Dentin and Dentinogenesis*, Vol. 1, A. Linde, Ed. 135-154, Boca Raton, CRC Press, 1984
- 6) Linde, A.: A method for the biochemical study of enzymes in the rat odontoblast layer during dentinogenesis. *Arch. Oral Biol.* 17, 1209-1212, 1972
- 7) Reith, E. J.: The binding of calcium within the Golgi saccules of the rat odontoblast. *Am. J. Anat.* 147, 267-272, 1976
- 8) Granström, G. & Linde, A.: ATP dependent uptake of Ca^{2+} by a microsomal fraction from rat incisor odontoblasts. *Calcif. Tis. Int.* 33, 125-128, 1981
- 9) Weinstock, M. & Leblond, C. P.: Radioautographic visualization of the depositions of a phosphoprotein at the mineralization front in the dentin of the rat incisor. *J. Cell Biol.* 56, 838-845, 1973
- 10) Dimuzio, M. T. & Veis, A.: The biosynthesis of phosphoryns and dentin collagen in the continuous erupting rat incisor. *J. Biol. Chem.* 253, 6845-6852, 1978
- 11) Linde, A., Bhowan, M. & Butler, W. T.: Non-collagenous proteins of dentin. *J. Biol. Chem.* 255, 5931-5942, 1980
- 12) Linde, A.: Non-collagenous proteins and proteoglycans in dentinogenesis., In; *Dentin and Dentinogenesis*, Vol. 2, A. Linde, Ed. 55-92, Boca Raton, CRC Press, 1984
- 13) Addison, W. H. F. & Appleton, P. L.: The structure and growth of the incisor teeth of the albino rat. *J. Morphol.* 26, 43-96, 1921
- 14) Mellanby, H.: The development of teeth in the albino rat. *Br. Dent. J.* 66, 76-86, 1939
- 15) Schour, I. & Massler, M.: Chap 6, The teeth., In; *The Rat in Laboratory Investigation*, E. J. Farris & J. Q. Graffin, Ed. 104-165, Hafner Press, New York, 1949
- 16) Bhasker, S. N.: Growth pattern of rat mandible from 13 days insemination age to 30 days after birth. *Am. J. Anat.* 92, 1-53, 1953
- 17) Paynter, K. J. & Hunt, A. M.: Morphogenesis of the rat first molar. *Arch. Oral Biol.* 9, 611-626, 1969
- 18) Navia, J. M. & Narkates, A. J.: Chap 3, Dental reserch., In; *The Laboratory Rat*, Vol. 2, H. J. Baker, J. R. Lindsey & S. H. Weisbroth, Ed. 59-74, Acad. Press, New York, 1980
- 19) Michaeli, Y. & Greulich, R. C.: A three dimensional representation of the odontogenic epithelium of the rat incisor. *Anat. Rec.* 174, 389-398, 1972
- 20) Smith, C. E. & Warshawsky, H.: Histologic and three dimensional organization of the

- odontogenic organ in the lower incisor of 100 gram rats. *Am. J. Anat.* 42, 403-430, 1975
- 21) 中間孝子, 和田 薫, 仙波輝彦: 胎生期ラット下顎切歯胚の発達に伴う形態変化について, 歯基礎誌, 25, 539-548, 1983
- 22) Kalter, H.: How should times during pregnancy be called in teratology? *Teratol.* 1, 231-234, 1968
- 23) Savastin-Asling, I.: Influence of incisor tooth development on osteoclast abundance and generation in the foetal rat mandible.
- 24) Edwards, J. A.: The external development of the rabbit and rat embryo. *Teratol.* 3, 239-263, 1968
- 25) Christie, G. A.: Developmental stages in somite and post-somite rat embryos, based on external appearance, and including some features of the macroscopic development of the oral cavity. *J. Morphol.* 114, 263-286, 1964
- 26) Reith, E. J.: The Ultrastructure of ameloblasts from the growing end of rat incisors. *Arch. Oral Biol.* 2, 253-262, 1960
- 27) Karim, A. C.: The initiation of osteodentin formation in the rat incisor after adriamycin administration. *Anat. Rec.* 213, 377-384, 1985
- 28) Beaudoin, A. R.: Chap 4, Embryology and teratology., In; *The Laboratory Rat*, Vol. 2, H. J. Baker, J. R. Lindsey & S. H. Weisbroth, Ed. 75-101, Acad. Press, New York, 1980
- 29) Hay, F. M.: The development in vivo and in vitro of the lower incisor and molars of the mouse. *Arch. Oral Biol.* 3, 86-109, 1961
- 30) Kollar, E. J. & Baird, G. R.: Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. I. Reorganization of the dental epithelium during tooth-germ reconstruction. *Embryol. Exp. Morphol.* 24, 159-171, 1970