

トラフグ *Takifugu rubripes* 嘴状歯の構造と歯切りの影響

湯口 眞紀^{1,2,3} 山崎 洋介^{1,2,3} 金沢 紘史^{1,2}
玉木 理一郎^{1,2} 磯川 桂太郎^{1,2,3}

¹ 日本大学歯学部 解剖学第Ⅱ講座

² 日本大学大学院歯学研究科 口腔構造機能学分野

³ 日本大学歯学部 総合歯学研究所 機能形態部門

要旨：フグ科魚類の顎歯は、顎の上下左右に1歯ずつ存在し、その4歯を合わせた外観がくちばし状を呈するために嘴状歯とよばれる。その各々は、enameloid からなる多数の小歯が osteodentin に埋入された癒合歯である。本研究では、トラフグ *Takifugu rubripes* の天然個体と養殖下で「歯切り」を受けた個体の顎をCT スキャンニングし、嘴状歯内部構造の三次元的可視化を行うとともに、嘴状歯の形成過程と歯切りによって生じる異常の関係について考察した。enameloid からなる小歯は elongated laminar teeth (ELT; 細長い薄層状の歯) と称すべき形態を示し、ELT の積層体は、嘴状歯近心端の桿状肥厚部から緩やかなウェーブを示して翼のように伸び、その全体が osteodentin で覆われていた。切縁部では ELT の断端が露出し、基底部の骨内歯腔では後継 ELT の新生がみられた。ELT 形成を担う歯原性細胞の骨内歯腔への経路は、歯導孔・歯導管として、嘴状歯近心端の基部に見出された。同部の温存によって、歯切りによる損壊後も積層する ELT の再生は生じると考えられた。しかし、嘴状歯先端部の損傷が、嘴状歯 ELT 中層域の enameloid の消失もしくは脱灰を引き起こしていると思われる事例も観察された。また、ELT を内包する過剰小歯の出現をみた事例もあった。後者は、歯切りで生じた嘴状歯の破折・脱臼によって骨内歯腔への侵入が攪乱された歯原性細胞が過誤的に小歯を形成したものと考えられた。以上の知見は、多様性が著しい魚類の歯の組織形態学的検索における CT 活用の有用性を如実に示したものと考える。

キーワード：魚類、顎歯、エナメロイド、異所性歯、CT 解析

緒言

フグ目 Tetraodontiformes は 10 科、106 属 435 魚種を擁し¹⁾、真骨魚類 Teleostei 中で最も派生的なグループのひとつとされる²⁾。くちばし(嘴)のような形態を示す嘴状歯を有し、癒顎類 Plectognathi と記載されることもある。このグループに属するフグ科 Tetraodontidae の魚類は 26 属 196 種、トラフグ属 *Takifugu* の魚類は約 25 種である^{1,2)}。トラフグ *Takifugu rubripes* のゲノムサイズ (400 Mb) はヒトの約 7.5 分の 1 であるために早くからゲノム研究のモデル動物に採用され³⁾、その全ゲノム配列のドラフトは、ヒトに続いて 2002 年に発表されている⁴⁾。研究試料としての入手の便から淡水小型種などでもゲノム解析が進められているが^{5,6)}、歯の形態学あるいは歯を分類形質とする学問分野では、これまで長きに亘って種々のフグ科魚種が研究対象とされてきた⁷⁻¹⁷⁾。

後藤ら¹⁸⁾は、厚い enameloid と薄い象牙質で構成される小歯を顎骨内部に包み込んだ歯板が、*T. rubripes* の顎の上下左右に1歯ずつ存在すると記載している。Berkovitz と Shellis¹⁵⁾は、フグ科魚類の嘴状歯を beak と表現し、上下顎それぞれに有対性 element があって、その各々は enameloid からなる a stack of elongated

laminar teeth が硬組織で貼り合わされた構造だと記載している。貼り合わせを担う硬組織の性状については異論もあるが、osteodentin とする報告が多い^{9,10,16)}。すなわち、これらの記載は、用いられている表現や術語に違いはあるが、フグ科魚類の嘴状歯に共通する特徴を捉えている。フグ目には、フグ科の嘴状歯と形態的に類似する歯をもつ別のグループもある。マンボウ科 Molidae では enameloid が欠如し、osteodentin のみで嘴状の歯が構成され⁹⁾、ハリセンボン科 Diodontidae やウチワフグ科 Triodontidae の嘴状歯は、enameloid からなる前出の elongated laminar teeth (細長い薄層歯; ELT) の積層によって形成されるのではなく、多数の同一世代の小歯が dentin によって連なり、下方から次々と追加されて重層状になるとされる¹⁶⁾。

フグ科魚類の個体発生過程においても、各々に歯堤を有する小歯は第1世代歯として複数出現するが、第2世代以降では顎近位端の1歯以外では後継となる歯堤が消失する。このため、形成される近位端歯は、顎の近遠心的方向に細長い形態の ELT に変化するとされる¹²⁾。このことを明らかにした Fraser らのグループ^{12,16)}は、さらに、ELT の持続的形成に必須な歯原性上皮の分化とその移動経路を分子レベルで明らかにした。これによって、

(受付：令和元年12月2日)

〒101-8310 東京都千代田区神田駿河台1-8-13

フグ科魚類の歯の構造と形成の理解は大いに深まったが、ELTの積層による次世代歯の形成過程を立体的にイメージするのは、なかなか難しい。

そこで、本研究では、micro CTによるスキヤニングによって、トラフグ *T. rubripes* の上下左右各1歯、計4歯で構成される嘴状歯6個体分のボリュームデータを得て、multiplanar reconstruction(MPR)、3-dimensional volume rendering(3D-VR)等を利用した観察や検討を行った。試料とした *T. rubripes* は、トラフグ属の中でも本邦では食文化との関係から特に知名度が高い種である。Fraserら¹⁶⁾のグループの研究ではフグ科の4魚種を使用しているが、これには *T. rubripes* と同属のクサフグ *T. niphobles* が含まれている。*T. rubripes* は食物連鎖の結果として tetrodotoxin を摂りこむ¹⁹⁾。しかし、我々が本魚種に注目したのは、食材としての安全性を担保する有毒部位除去法「身欠き」²⁰⁾を行った製品に同梱された顎が入手可能なこと、また、養殖下の個体間での咬傷で生じる感染の防止や作業者の受傷防止のために行われる「歯切り」によってELTの持続的形成の中断や中止が生じると推測したためである。

材料および方法

1. 嘴状歯を含む上下顎試料

東京都中央卸売市場を介して流通した「身欠きフグ」に同梱されていたトラフグ *Takifugu rubripes* の顎を、2017年11月から2019年5月までの期間に6個体分入手し、試料番号 Tr#1 から #6 として記録した。Tr#1-5 は、養殖個体で「歯切り」によって嘴状歯の一部欠損や変形などが認められた。Tr#6 は、所謂「天然もの」の非養殖個体であり、視認する限り嘴状歯に特段の形態異常はみられなかった。Tr#1, 3, 6 は上下顎一体のままの試料、Tr#2, 4, 5 は上下顎分離の試料であった。Tr#1, 2, 6 は、10%中性緩衝 formalin 溶液に数日間浸漬後に洗浄し、CTスキヤニングに供した。Tr#3, 4, 5 は、酵素入りの入れ歯洗浄剤(ポリデント; GSK ジャパン)によって軟組織を浸軟・除去した乾燥標本とし、実体顕微鏡下での観察後にCTスキヤニングを行った。

2. CTスキヤニングと観察

CTスキヤニングは、本稿著者らのグループ²¹⁻²⁴⁾が魚類あるいは鶏胚試料の観察・解析で利用してきた本学部設置の実験動物用3DマイクロX線CT(R_mCT; リガク、東京)で行った。撮影は、2.0, 4.0 および 6.7 倍で行い、条件は Kanazawa ら²⁴⁾に準じて 90 kV, 100 μ A とした。得られたボリュームデータは i-VIEW software(モリタ、京都)で再スライスし、DICOM形式でエクスポートした(各倍率での isotropic voxel サイズはそれぞれ 100, 50 および 30 μ m)。使用した DICOM ビューワーは、RadiAnt(Ver. 4.6.9 & 5.5.0; Medixant, Poznan, Poland)

および Mango(Ver. 4.1; Research Imaging Institute, UTHSCSA, USA)である。

RadiAntでは主に、MPRによって断層像の解析、3D-VRによって3次元再構成像の観察を行った。Mangoは3Dサーフェスレンダリング(3D-surR)像を作製する目的で使用した。なお、本研究での着目点となる bone, osteodentin および enameloid などの硬組織において、前二者の識別は困難であったが、高石灰化した enameloid は window level(WL)値や window width 値の調節で容易にハイライト(あるいは仮想的抽出)することが可能であった。voxel サイズに基づく解像度限界はもとより、可視性優先で閾値設定を随時行うため、組織学的な判定による enameloid と CT 像で示される enameloid は必ずしも完全にはマッチしないと思慮するが、enameloid の三次元的な分布を可視化する上で極めて有用であることから、そうした像を本論文の図では多数用いている。

結 果

1. 3D-VRによる嘴状歯外部形態

天然のトラフグと歯切りが施された養殖個体とは、嘴状歯およびそれを支持する上下顎に明らかな形態的差異が認められた。

天然(非養殖)個体(Tr#6)の嘴状歯は、その名称が示すとおり「くちばし」状で、上下顎とも両側嘴状歯の切縁は正中に向かって弧を描くように突出し、閉口時は下顎歯正中の先端は上顎歯によって覆われていた(図1A, B)。上下の嘴状歯とこれらそれぞれを支持する骨(前上顎骨 premaxillary と歯骨 dentary)との境界は3D-VR像から推し量ることはできるが明瞭ではなかった(図1A, B)。左右の上顎嘴状歯の唇側近位端と、下顎嘴状歯の舌側近位端には、先細りの桿状形態を示す肥厚部が観察された(図1A, C)。また、前上顎骨と歯骨には、それぞれ左右の骨体が合する正中側に鋸歯状構造が存在していた(図1A, C)。鋸歯という語を用いたが、これはMPR像の観察では、歯ではなく骨性の縫合様構造であった。Tr#1-6の試料で同部を比べると、緊密に嵌合してはおらず、ある程度の可動性を有する骨間結合だと推測された。

一方、歯切りが施された養殖個体のひとつ(Tr#2)では、コントロールとしての天然個体と比較すると、上下顎とも特に嘴状歯の先端部に損壊がみられ(図1D, E)、加えて、切縁部の欠落、更には片側の嘴状歯のほぼ全体が破折し舌側へ押し込められている像も観察された(図1D, F)。損壊の大きい部位では、骨様隆起の増生がみられ、上下顎の正中のずれや矢状面の傾きも生じていた(図1D, F)。

2. MPRによる嘴状歯の内部構造

積層するELTからなる嘴状歯の内部構造を精査するため、MPRによってTr#6個体の嘴状歯の唇側表面と接線方向、すなわち嘴状歯の近遠心軸と並行に断層解析を行った(図2)。enameloidはエックス線不透過性が高いために、嘴状歯内部に積層するELTは明瞭な「すだれ(簾)状」構造として観察された。これらELTはその全体をosteodentinで覆われていた(図2)。ただし、切縁部では、摂餌によると思われる磨耗のため、複数層に及んでELT断端が露出していた(図2C6-7, 3B2および3C2)。また、切縁とは逆方向の基底部には、骨内歯腔tooth cavityが存在し(図2の*印)、骨内歯腔に近接する数層のELTはこれらより切縁側のELTと比べてエックス線的に石灰化度がやや低かった。骨内歯腔の壁をなすboneと、積層するELTの唇側および舌側を覆っているとされるosteodentinとは、エックス線的に識別することが困難で、両者の境界は不明であった。

嘴状歯の近心端から遠心端に及ぶELTは、基底側で順次追加される後継ELTの長径が先行ELTの長径よりも大であった(図2Cおよび3A)。これらELTのエックス線不透過性は長径に沿って一様ではなく、途中不規則な間隔でエックス線透過性の高い暗帯がみられた(図2C2-8の矢印、2Cインセットで拡大)。3D-VR像の観察で嘴状歯近心端の肥厚部として示された桿状形態(図1A)とその外側との境界部では、ELT全層で同期した暗帯がMPRで観察された(図2C3-8の矢印)。また、これらとは別に、積層するELTと交わる方向の線条がMPRで観察された(図2C7-9の両矢印)。これらは、積層するELTの舌側を覆うosteodentinおよび顎骨部のboneの構造によると考えられ、前者についてはELT舌側の硬組織表面に、背腹方向に走行する多数の溝の存在が確認された(図2Aのインセットに拡大像)。

3. 3D-VRによる嘴状歯の内部構造

ELTの広がり三次元的に捉えるために、boneやosteodentinよりも高いCT値をもつenameloid主体の描出を意図したWL値の設定で3D-VRを行った。その結果、ELTは全体として、嘴状歯近心端の桿状肥厚部から緩やかなウェーブを示して伸びる翼のように三次元的な分布をしていることが判明した(図3A)。吻側正面観(図3Aの上)では、上顎嘴状歯先端のELTは下顎の積層したELTの下縁よりも下方にあり、前下方から吻側を見上げることで、上下顎の嘴状歯のオーバーラップがない全体像が観察できた(図3Aの下)。正中の桿状肥厚部に積層するELTと、遠心方向に伸びる翼状の部分に積層するELTとは、積層状態が同期していた(図3B1およびC1)。両者の境界部分には、積層するELTのほぼ全層に互る不連続部が観察され(図3B1およびC1の矢印)、これは図2Aのp矢印で示す断層像にお

ける暗帯に相当する。特に上顎嘴状歯で顕著であったが、WL値を調整することで、これらが細く連続している状態のようにも、不連続な構造であるようにも表示させることができた。このことは、近遠心的に長い翼状の部分で不規則に現れる暗帯についても同様で、WL値の調整次第で、連続性の高い状態にも、幾つかのセグメントに区分されているようにも表示できる性状であった(図3Aの矢印)。つまり、積層するELTの各層は一連の構造だが、CT値あるいは石灰化度という点では、その全長にわたって必ずしも一様な構造ではないと考えられた。

4. 嘴状歯の歯導孔と歯導管

MPRによる骨内歯腔精査の過程において、ELT形成を担う歯原性上皮が骨内歯腔へ侵入する歯導管gubernacular canalと考えられる構造が見出された。骨内歯腔は、近遠心的に長い積層状のELTの基底部に存在したが(図2の*印、図4Aのtc)、ELT唇側面の硬組織と骨内歯腔の底部の硬組織との間に狭小ながら左右

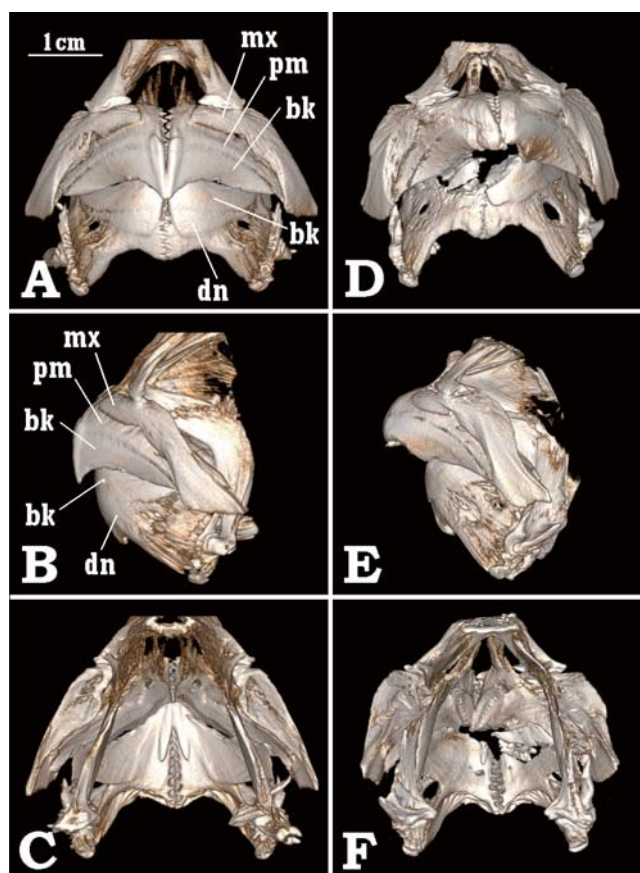


図1 天然のトラフグと歯切りされた養殖個体の上下顎の形態
天然のトラフグ(A-C)と養殖個体(D-F)の上下顎試料(Tr#6とTr#2)から得たCTデータをもとに生成した3D-VR像で、吻側面観(A, D)、左側面観(B, E)および尾側面観(C, F)を示す。図中のラベルは、bk: beak, pm: premaxillary, mx: maxillary, dn: dentaryである。すべて同倍率で、A中のスケールは1cmである。

1対の管路を認めた(図4Aのgnc)。その管路が嘴状歯外面と交通する開口部は、上顎では長径約200 μ m以下で、唇側正中の桿状肥厚部の基部に認められた(図4A3およびBのgnf)。なお、この外側に、微小な(おそらく有対性の)管路が存在する可能性も窺われた(図4A1の矢印)。一方、下顎では、唇側正中で左右嘴状歯が対合する部分の基部に、上顎の歯導管に類似の空隙がみられたが、Tr#6個体では、唇面と骨内歯腔と結ぶ管路をMPRで明示することができなかった。

5. 歯切りを受けた嘴状歯の形態と内部構造

歯切りを受けた5尾の養殖個体(Tr#1-5)では、歯切り

の施術対象とされる嘴状歯先端を中心に形態の異常や損壊が認められたが、それが甚だしい個体(図5A, B)、比較的軽微な個体(図5C, D)あるいは過剰小歯の出現の如く特記すべき異常がみられた個体(図5E)があった。外観で確認できる形態の異常や損壊が、ELTの積層による内部構造にどのように影響しているかを検討するため、図5A-Eでは、WL値の引き上げによるenameloid描出像(白くハイライトされた部分)を通常の3D-VR像上に重ね合わせた。

図5Aに示す個体(Tr#1)では、上顎歯中央の損壊は積層したELTの基部(おそらくELTの形成部を含む)に

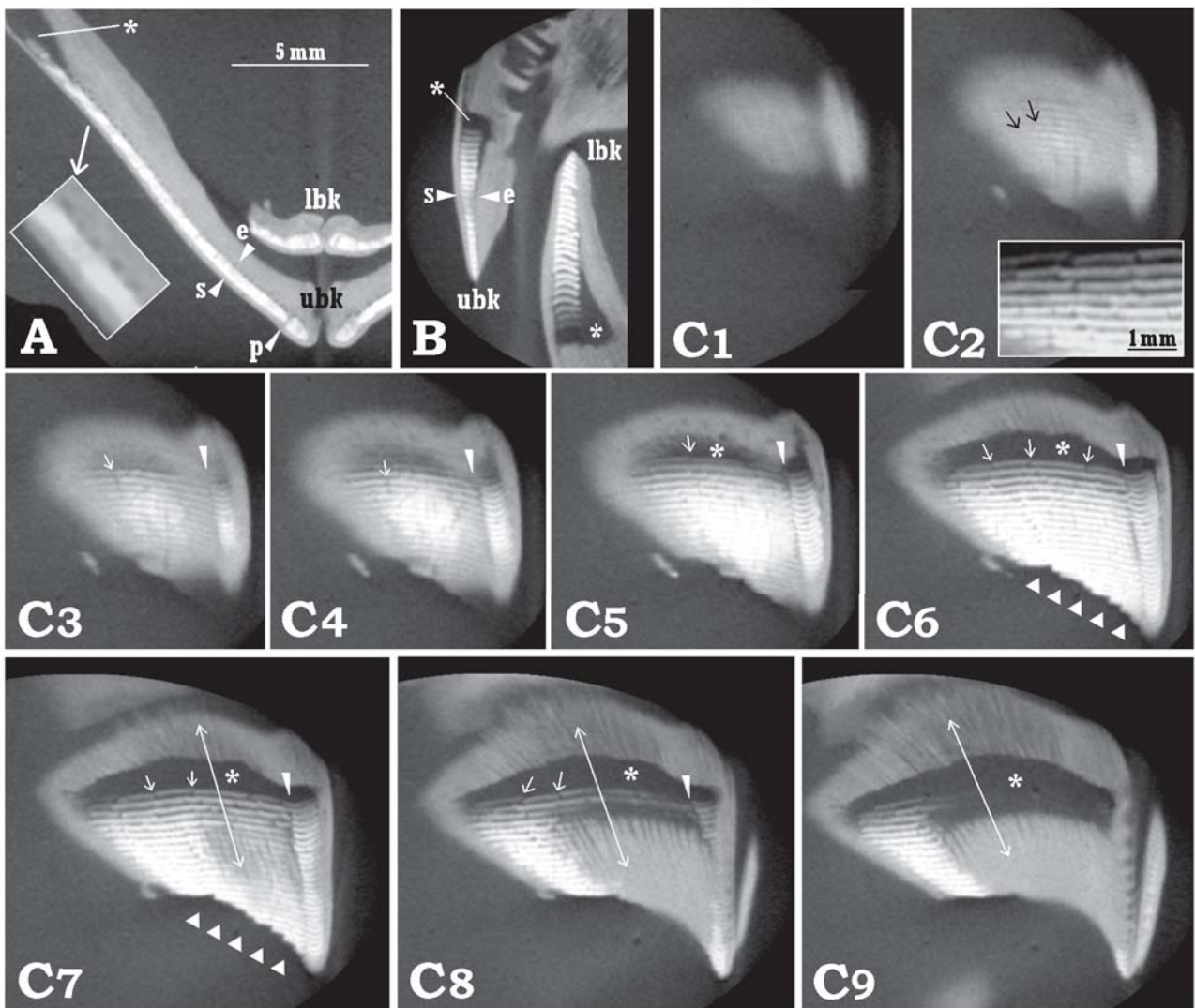


図2 上顎嘴状歯の唇側面から口腔側へのMPR解析

天然トラフグ(Tr#6)の上顎嘴状歯(ubk)の水平断(A)、矢状断(B)および嘴状歯近遠心軸に平行な面での断層像(C1-9)を示す。A, Bではubkが下顎嘴状歯(lbk)を被蓋している。C1は断層開始部(A, B中のs矢頭印)、C9は断層終了部(A, B中のe矢頭印)で、C1-9は等間隔でなく、形態の特徴が明瞭な断層面を抽出している。高いエックス線不透過性を示す「すだれ(簾)」状の構造がELTである。矢印が示すのはELTの透過性が高い部分(暗帯)であり、C2のインセットでその拡大像を示す。嘴状歯近位の矢頭印で示すのは暗帯がELTの全層で揃っている部位である。この部位は、水平断(A)ではp矢頭印が示す部位に相当する。*は骨内歯腔、5連の▲で示す切縁部では、磨耗で露出したELT断端が露出している。両矢印(↔)の方向に並ぶ線条はosteodentinもしくはboneの内表面構造に起因している(Aのインセット参照)。インセット以外はすべて同倍率で、A中のスケールは5mmである。

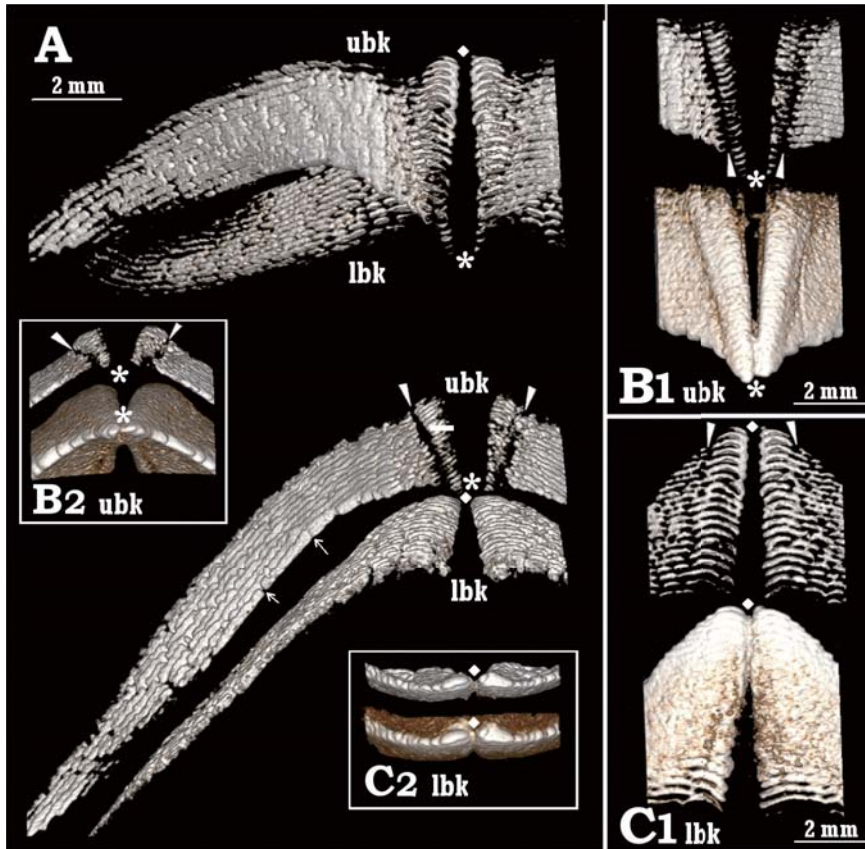


図3 上下顎嘴状歯内部のELTの分布

天然トラフグ(Tr#6)の上顎嘴状歯(ubk)と下顎嘴状歯(lbk)を構成するELTの可視化を図った3D-VR像で、右側嘴状歯の全体像(A)、両側の嘴状歯近位端からなる上顎正中部(B1,2)および下顎正中部(C1,2)である。Aは吻側の正面観(上)と、これを上方に回転させて前下方から眺めた像(下)を示す。また、B1とC1は正面観、B2とC2は切縁方向からの像であり、これらは、ELT可視化像(上)、osteodentinとboneをある程度残した像(下)をセットで示している。*は上顎嘴状歯の正中部突出部、◆は下顎嘴状歯の正中部突出部である。図2と同様に、矢印は出現位置が不規則な暗帯、矢頭印はELT全層で揃っている暗帯である。インセットはそれぞれB1, C1と同倍率である。

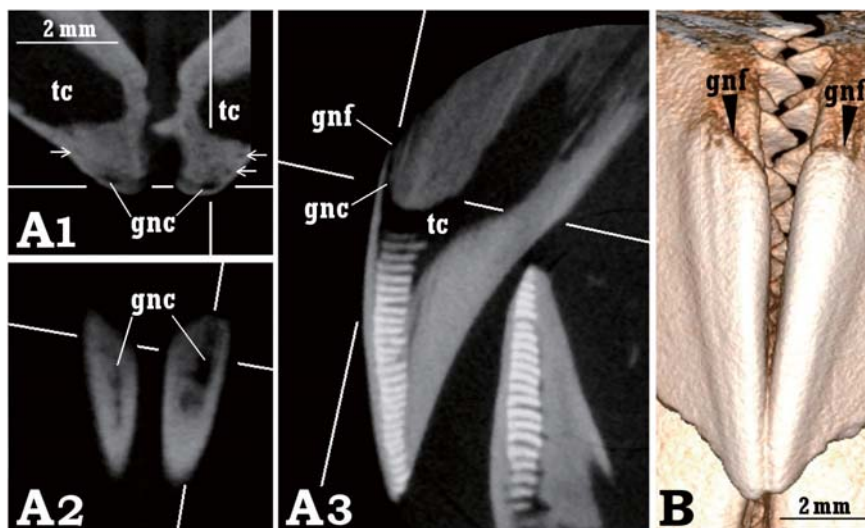


図4 上顎の歯導管のMPR解析

天然トラフグ(Tr#6)の上顎正中部に見出された歯導管(gnc)と歯導孔(gnf)を示す。MPRの水平断(A1)および前額断(A2)では両側のgncがみられる。矢状断(A3)では、右側のgnfからgncに入ると、その先が骨内歯腔(tc)に至っていることがわかる。A1中の矢印はgnc外側でみられた微小管路と思われる構造。A2-3では、管状のgncを適切に表示するために傾けたMPR軸も表示している。Bの3D-VR像では、gnf開口部の位置を矢頭印で示している。

及んでおり、損壊部に残存もしくは新生した ELT の配列は極めて乱れていた。下顎歯の ELT にも大きな損壊がみられたが、その下縁には及ばず、ELT 形成部への影響は少ないと考えられた。欠損が生じた部位では bone もしくは osteodentin の増生によると考えられる塊状の膨隆がみられた(図 5 A の矢頭印)。

図 5 B に示す個体(Tr#2)では、上顎歯の損壊は前例の図 5 A に類似していた。下顎右側歯では、積層した ELT の全層が大きく破断して舌側方向へ押し込められ(図 1 D)、このために図 5 B の*印の部位では、ELT を含む歯状歯構造はほぼ完全に消失しているかのようにみえた。一方、下顎左側歯では、切縁側の ELT が脱落もしくは消失した像が観察された。こうした所見は、他の歯切り個体の歯状歯でも多くみられた。

図 5 C および D で示す個体(Tr#3, Tr#5)では、上下顎とも歯状歯の先端は欠損していたが、全体としては損壊の度合いは比較的軽度であった。興味深いことに、Tr#3 個体の下顎歯状歯の ELT 中層には、ELT のない

帯状領域(図 5 C の me)が認められた。また、Tr#3 個体の下顎歯状歯の切縁付近(図 5 D の od)では、ELT が脱落もしくは消失し、切縁部が osteodentin もしくは bone のみからなっていた。なお、Tr#3, Tr#5 では、積層する ELT の下縁に欠損や異常はなく、形成部へ至る損壊はみられなかった。

図 5 E, F で示す個体(Tr#4)では、左側上顎歯の唇面に過剰小歯(dt)が存在していた。この個体も上下顎の歯状歯先端部および右側下顎歯の切縁が損壊しているが、左側上顎歯と顎の境界付近に損壊がみられ、過剰小歯はこの部位から伸び出していた。enameloid 描出像を重ね合わせを行った図 5 E では、過剰小歯の先端付近にエックス線不透過性の ELT が存在し、その位置は歯状歯の内部に積層している ELT の下縁(図 5 E の al と付した黄色ライン)と一致していた。過剰小歯がみられた部位のやや遠位に、当該の歯状歯が破折したことを窺わせる縦溝(fd)が存在し、正中からこの破折線痕跡までが、下方へ脱臼した結果、歯状歯と顎の境界付近が開大、損

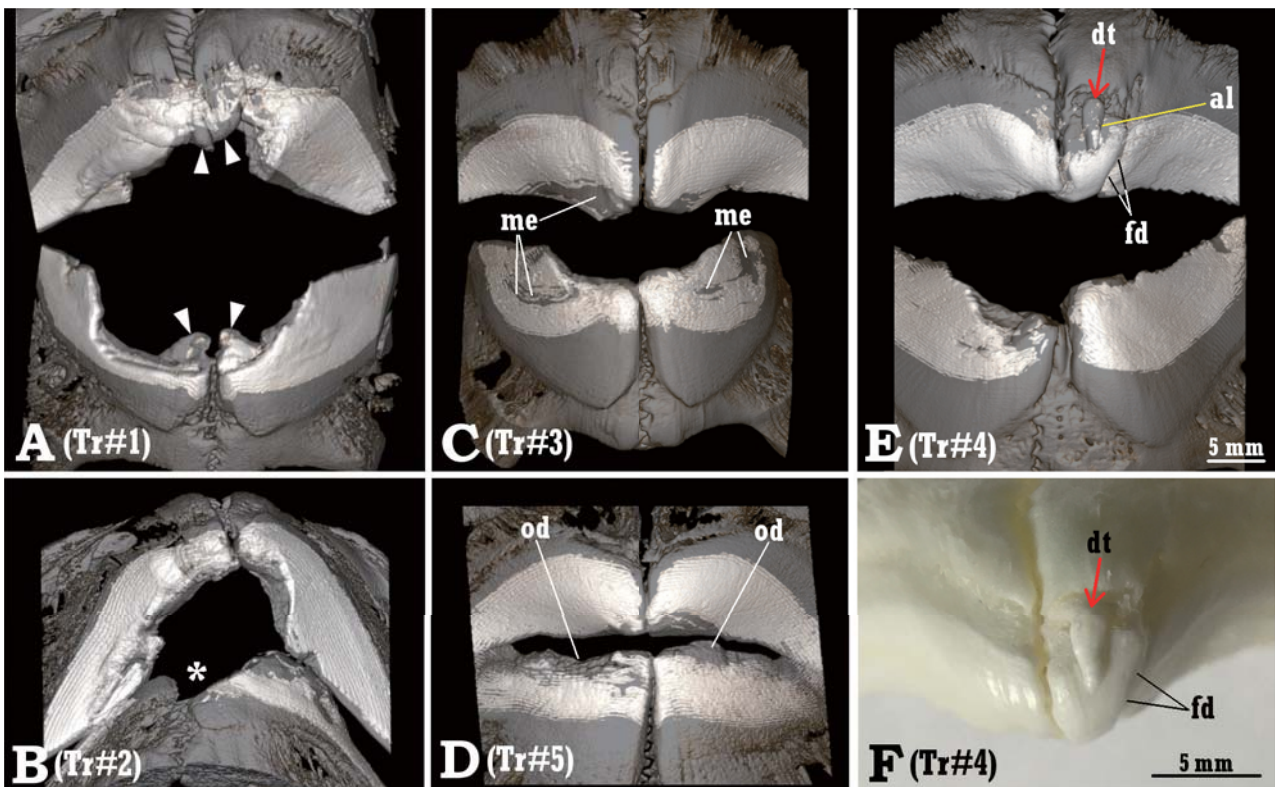


図 5 歯切りされた養殖トラフグ個体の 3D-VR 像

歯切り処理を受けている 5 個体の上下顎歯状歯 3D-VR 像それぞれに試料番号を付し A-E で示す。B は、図 1 D-F と同一個体の上下顎試料であるが、ここでは吻側を前下方から眺め上げた像を示している。また、F は E に示した試料(Tr#4)でみられた過剰小歯を拡大撮影した実体顕微鏡像である。A-E はいずれも通常の 3D-VR 像の吻側面観に、ELT の enameloid に注目した描出像(白くハイライトされている部分)を重ね合わせている。ELT を覆う osteodentin あるいは bone の損壊はもちろんだが、ELT の脱落や消失などがいずれの個体においてもみられる。矢頭印は bone もしくは osteodentin の増生によると考えられる塊状の膨隆、me は積層する ELT の中層域に現れた ELT 欠如の帯状領域、od は ELT を欠く硬組織からなる切縁部である。dt は過剰小歯、fd は破折線である。al は、過剰小歯に認められた ELT の基部が、上顎左側歯状歯の ELT 基部と揃っていることを示す補助線である。A-E はすべて同倍率で、E と F に 5 mm のスケールを示す。

傷したと推測された。

6. 過剰小歯の内部構造と歯導管

左側上顎歯の唇面に生じた過剰小歯(図5 E, F の dt)の先端部には、数層の ELT 積層部が存在していることが MPR や 3D-surR でも明確に示された(図6 A3 および C の上図)。加えて、嘴状歯の ELT 形成を担う組織を容れる骨内歯腔と、過剰小歯の ELT 形成を担う組織を容れている骨内歯腔は、互いに交通しており(図6 A3 および C 上部の二重矢頭印)、過剰小歯形成部位で上顎の唇側面と直接交通しているのは図6 A3 の gnf-d が示す部位であった。

前述の状況は、歯切りによって、上顎左側嘴状歯が正中に近い部位で縦破折して、正中側の組織が下方に脱臼したためと考えられる。これにより、嘴状歯とそれを支持する顎骨の境界部分が開大し、そこに過剰小歯が生じたと推測できる。実際、嘴状歯 ELT の形成細胞を容れる骨内歯腔は後下方に変位し、本来の歯導管開口部は、過剰小歯の ELT 形成細胞を容れる骨内歯腔への開口部となっていた(図6 A3)。つまり、口唇粘膜由来の歯原性上皮は前上顎骨内に侵入したのちに、過剰小歯ルート、

本来の嘴状歯ルートに二分することになったと考えられる。エックス線的に捉えられる積層 ELT の下縁は、過剰小歯と本来の嘴状歯ルートとで一致しており(図5 E の al および 6 A3)、これもまた、過剰小歯の成因についての我々の推測の妥当性を支持する所見のひとつだと考える。

考 察

フグ科魚類の共有形質のひとつとされる嘴状歯^{1,2)}は、enameloid からなる多数の微小な歯が osteodentin に埋入されて嘴状の外観を呈するようになったいわば癒合歯である。当該の微小な歯は、denticle^{10,18)}、dental band¹²⁾、dental unit¹⁶⁾、enameloid piece¹⁰⁾など様々に表現されているが、Berkovitz と Shellis¹⁵⁾による a stack of elongated laminar teeth という表現が、本研究での観察所見との相性が高いと考えた。図2, 3などで示したように、enameloid からなる構造はまさに「細長い薄層状の歯」(ELT)であり、これが積層 stack している様が、本研究で用いた 3D-VR あるいは MPR によって詳細に観て取れた。同時に、切片法に基づく丹念な記載

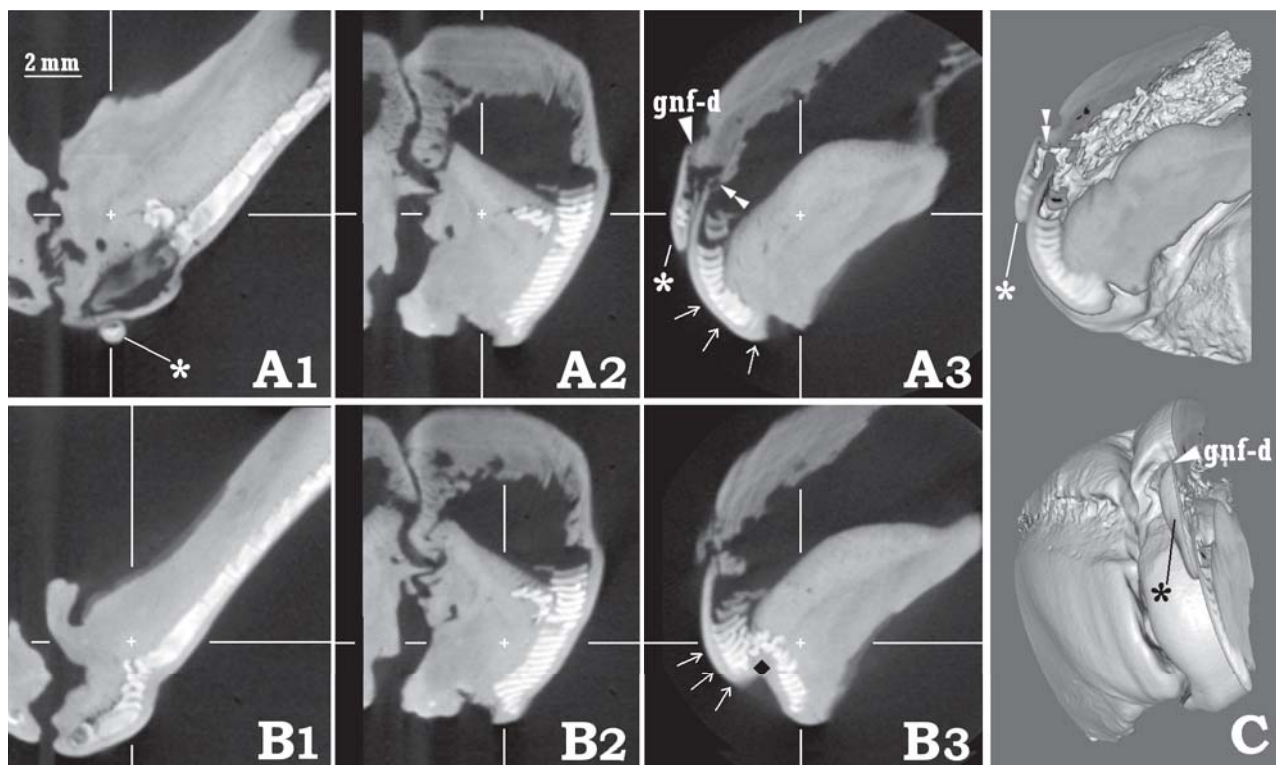


図6 歯切り個体でみられた過剰小歯

歯切り個体(Tr#4)でみられた唇側過剰小歯のMPR像(A, B)と3D-surR像(C)を示す。A, Bは1が水平断、2が前額断、3が矢状断である。唇側の過剰小歯(*印)は、A1, A3およびCでみられる。Bは、Aよりも矢状断像を外側に約1mm、水平断像をやや腹側としたMPRである。A3, B3において3連矢印で示す部分の嘴状歯が、破折と脱臼で変位し、それに起因する組織のズレとなっているのがB3◆印の部位だと考えられる。矢頭印は歯導孔を示すが、gnf-dは過剰小歯の骨内歯腔に通じ、これがさらに二重矢頭印が示す部位で、上顎嘴状歯の骨内歯腔と交通している。Cは、上図がA3に相当する3D-surR像であり、下図は、それを回転させて唇面の左前方観を示している。すべて同倍率で、A中のスケールは2mmである。

によってもなかなか困難な三次元的な形態やその位置関係の理解においては、micro CTの利用による可視化が想像以上に益することを本研究の結果は示している。こうした可視化が可能であったのは、enameloidからなるELTと、osteodentinあるいはboneとが石灰化度つまりはCT値の差異から比較的容易に識別できたためといえる。

本研究の動機付けともなったFraserらのグループによる一連の研究^{12,16)}では、フグ科魚類の嘴状歯の形成を、その構成要素であるELTの歯堤と歯胚が発生する段階から分子レベルで詳細に解析している。嘴状歯をもつフグ科魚類の顎においても、上下左右各々で、多数の歯堤・歯胚が生じてそれと同数の第1世代歯が形成、萌出される。ところが、第2世代以降は上下左右の各々で最も近心の1歯以外では歯堤が消失し、残った最近心端の歯堤がelongated laminaな歯を第2世代以降の歯として次々に形成し、嘴状歯を形づくるとされる。本研究で我々が試料としたトラフグ *T. rubripes* は成熟個体であり、ELT形成の初期像は不明である。しかし、切縁側つまり先行ELTよりも、後継の基底側ELTで長径は順次増大し、また、基底部側の数層のELTではエックス線不透過性が未だ十分に高くない(図2C5-7)などといった所見が得られた。これは、近遠心的に長いELTが骨内歯腔で次々と形成され、積層するELTの基部に継代的に追加されることを示している。となれば、歯切りによって損壊した切縁部でのELT再生は望めない。代わって、残存するosteodentinのみの切縁部もしくは若干のosteodentin増生をみた切縁部となったり(図5Dのod)、あるいは、osteodentinやboneの過形成による塊状膨隆の出現をみた(図5Aの矢頭印)と考えられる。

第1世代以外では、最も近心の歯堤が嘴状歯近遠心の全長に及ぶ次世代ELTを生み続けるとするFraserらの報告^{12,16)}を踏まえるならば、積層するELTの各世代で要となる歯堤・歯胚の組織は、我々が本論文で記載した嘴状歯近位端の桿状肥厚部(図1A, C)の内部に存在していたことになる。また、桿状肥厚の基部では、それらがいまなお存在してELTの形成を継続していることになる。本研究でも、嘴状歯近位端の桿状肥厚部は、その外観だけでなく内部のELTで、より外側の嘴状歯の翼状部分とはやや異なる彎曲の状態が観察された(図2, 3)。そして、まさにこの桿状肥厚部の基部に、歯導管への入り口としての歯導孔が確認された(図4)。

積層するELTの各層(つまり世代ごとのELT)の形成の要が嘴状歯近位端にあることから、嘴状歯先端の歯切りで、積層部の中層でELT欠如の帯状領域が出現した現象(図5Cのme)が説明できるかもしれない。ただし、この場合、ひとたび形成されて石灰化度も上昇したELTが、その近心端が受けた損傷による影響を果たして被る

のかという疑問が残る。この観点で気になる形態所見は、本研究でELT舌側に面する硬組織表面に示された多数の溝(図2Aのインセット)である。これは積層するELTと交わる方向の線条としても観察された(図2C7-9の両矢印)。顕著な多層化を遂げているELTと基底部の骨内歯腔との間に何らかのfluid passのような仕組みが存在する可能性はないだろうか。もしそういった代謝的な背景があれば、近心端の損傷で中層域のELTに脱灰や消失といった現象が起きることが説明できるかもしれない。

積層するELTと交わる線条がfluid passの存在を示すのではないかという着想について、我々は別の観点からも興味を覚える。それは、ELTに不規則に現れる暗帯との関係である。仔魚や稚魚ではなく、個体のサイズも増大した成魚の嘴状歯のELTはかなり長大であり、図2Aの断層面では約10mmに達している。ELTの各層は、Fraserら^{12,16)}が報告したように、近心端の歯堤・歯胚に起因する一連の構造だとしても、石灰化という点では全長にわたって必ずしも一様ではなく、暗帯(図2C2-8の矢印)やセグメント状の形態(図3Aおよび図6A1, B2)が観察された。本研究と既報論文^{12,16)}では供試した魚種が異なるが、前者のトラフグ *T. rubripes* と後者で用いられているクサフグ *T. niphobles* とは同属魚種であることを踏まえれば、嘴状歯の増大にともなってさらに長径が増すELTの形成において、石灰化の開始や進行、そのためにイオン輸送等と関連するfluid passが、ELTと交わる方向に存在しているのではなかろうか。

*T. rubripes*の上顎において歯原性上皮が骨内歯腔へ侵入する経路は、図4に示した歯導孔・歯導管であるとみる我々の見解は、*T. niphobles*など複数種を扱った先行研究の結果¹⁶⁾とよく整合している。加えて、我々は、歯切りを受けたTr#4個体で非常に興味深い過剰小歯に遭遇した(図5E, Fおよび図6)。この過剰小歯は、歯切りの外力で当該嘴状歯が破折、脱臼して生じた嘴状歯-支持骨間開大部に出現していた(図5E, F)。この部位には歯導孔がもともと存在していたが(図4A3, B)、MPRの矢状断像で精査すると、Tr#4個体のこの部位にみられた歯導孔は、過剰小歯基部の骨内歯腔と交通していた。そして、その骨内歯腔の奥で、脱臼した嘴状歯基部の骨内歯腔への交通が認められた(図6A3, C)。つまり、嘴状歯の脱臼によってTr#4個体では、口唇粘膜由来の歯原性上皮は、歯導孔から内部に侵入したのちに、過剰小歯方面と嘴状歯方面との2つのルートに進んだものと考えられる。しかし、この上皮は、同じタイムテーブルでその後の分化およびELT形成が生じているようであり、ほぼ同時すなわち図5Eのalが示すラインの部位で、両者とも石灰化ELT出現に至っていた。ラインの手前(図5Eでは上方)では形成中で未石灰化のELTが不可視、

ライン以降(図5Eでは下方)ではエックス線不透過性のELTとなって可視となったと考えられる。

本研究では、3D-VRやMPRなどの解析手法を有用なツールとして駆使した。そして、トラフグの嘴状歯に埋入されているELTの三次元的な分布状態を、嘴状歯に損傷のない個体と、歯切りを受けた個体とで詳細に検討した。歯切りは、本邦の食文化の一角をなすトラフグ等の養殖業で、噛み合い、共食いの低減および生存・出荷率の向上を期し、さらに、養殖業や身欠き処理に関わる者の安全確保の目的で採用されている。しかし、歯切りは、我々の日常生活での爪切りと同様に繰り返し行う必要がある。近年、歯の石灰化に関わるSCPP(secretory calcium-binding phosphoprotein)遺伝子の操作によって、歯切り不要の品種を作出する試みもなされている²⁵⁾。本研究の結果が示す形態学的な知見に基づけば、歯導孔の封鎖による嘴状歯形成の抑止も可能だと考えられる。

本研究でCTスキヤニングに供した*T. rubripes*上下顎試料の入手にあたっては、本学部越川憲明特任教授および薬理学講座小林真之教授ならびに同講座員の皆様には特段のご理解とご協力を賜りました。ここに深く感謝の意を表します。

本研究の一部は平成29,30年度、令和元年度の日本大学歯学部佐藤研究費および総合歯学研究所研究費(B)の助成によって行われた。

本論文に関して、開示すべき利益相反はない。

文 献

- Nelson J, Grande T, Wilson M (2016) Fishes of the world. 5th ed, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 518-526.
- 山野上祐介(2015)フグ目魚類の多様性と系統,そして分類. タクサ 日本動物分類学会誌 39, 1-16.
- Brenner S, Elgar G, Sandford R, Macrae A, Venkatesh B, Aparicio S (1993) Characterization of the pufferfish (*Fugu*) genome as a compact model vertebrate genome. Nature 366, 265-268.
- Aparicio S, Chapman J, Stupka E, Putnam N, Chia JM, Dehal P, Christoffels A, Rash S, Hoon S, Smit A, Gelpke MD, Roach J, Oh T, Ho IY, Wong M, Detter C, Verhoef F, Predki P, Tay A, Lucas S, Richardson P, Smith SF, Clark MS, Edwards YJ, Doggett N, Zharkikh A, Tavtigian SV, Pruss D, Barnstead M, Evans C, Baden H, Powell J, Glusman G, Rowen L, Hood L, Tan YH, Elgar G, Hawkins T, Venkatesh B, Rokhsar D, Brenner S (2002) Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. Science 297, 1301-1310.
- Crnogorac-Jurcevic T, Brown JR, Lehrach H, Schalkwyk LC (1997) *Tetraodon fluviatilis*, a new puffer fish model for genome studies. Genomics 41, 177-184.
- Jaillon O, Aury JM, Brunet F, Petit JL, Stange-Thomann N, Mauceli E, Bouneau L, Fischer C, Ozouf-Costaz C, Bernot A, Nicaud S, Jaffe D, Fisher S, Lutfalla G, Dossat C, Segurens B, Dasilva C, Salanoubat M, Levy M, Boudet N, Castellano S, Anthouard V, Jubin C, Castelli V, Katinka M, Vacherie B, Biémont C, Skalli Z, Cattolico L, Poulain J, De Berardinis V, Cruaud C, Duprat S, Brottier P, Coutanceau JP, Gouzy J, Parra G, Lardier G, Chapple C, McKernan KJ, McEwan P, Bosak S, Kellis M, Volf JN, Guigó R, Zody MC, Mesirov J, Lindblad-Toh K, Birren B, Nusbaum C, Kahn D, Robinson-Rechavi M, Laudet V, Schachter V, Quétier F, Saurin W, Scarpelli C, Wincker P, Lander ES, Weissenbach J, Roest Crolius H (2004) Genome duplication in the teleost fish *Tetraodon nigroviridis* reveals the early vertebrate proto-karyotype. Nature 431, 946-957.
- Owen R (1840) Odontography; or, A treatise on the comparative anatomy of the teeth; their physiological relations, mode of development, and microscopic structure, in the vertebrate animals. Hippolyte Baillière Publisher, London, 77-84.
- Tyler JC (1980) Osteology, phylogeny, and higher classification of the fishes of the order Plectognathi (Tetraodontiformes). NOAA Tech Rep NMFS Circular 434, 1-422.
- Andreucci RD, Britski HA, Carneiro J (1982) Structure and evolution of tetraodontoid teeth: An autoradiographic study (pisces, Tetraodontiformes). J Morphol 171, 283-292.
- Britski HA, Andreucci RD, Menezes NA, Carneiro J (1985) Coalescence of teeth in fishes. Rev Bras Zool 2, 459-482.
- Trapani J (2001) Position of developing replacement teeth in teleosts. Copeia 2001, 35-51.
- Fraser GJ, Britz R, Hall A, Johanson Z, Smith MM (2012) Replacing the first-generation dentition in pufferfish with a unique beak. Proc Natl Acad Sci U S A 109, 8179-8184.
- Konstantinidis P, Johnson GD (2012) Ontogeny of the jaw apparatus and suspensorium of the Tetraodontiformes. Acta Zool 93, 351-366.
- Matsuura K (2015) Taxonomy and systematics of tetraodontiform fishes: a review focusing primarily on progress in the period from 1980 to 2014. Ichthyol Res 62, 72-113.
- Berkovitz B, Shellis P (2017) The teeth of non-mammalian vertebrates. Elsevier, London, 98-102.
- Thiery AP, Shono T, Kurokawa D, Britz R, Johanson Z, Fraser, GJ (2017) Spatially restricted dental regeneration drives pufferfish beak development. Proc Natl Acad Sci U S A 114, E4425-E4434.
- 山本 仁(2017)歯科医学研究における実験動物としての魚類. 歯科学報, 117, 377-379.
- 後藤仁敏, 大泰司紀之, 田畑 純, 花村 肇, 佐藤 巖(2014)歯の比較解剖学 第2版. 医歯薬出版, 東京. 81.
- Noguchi T, Arakawa O, Takatani T (2006) TTX accumulation in pufferfish. Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics 1, 145-152.
- 中村 誠, 太田博光, 平 雄一郎, 森元映治, 江副 覚, 前田俊道, 中村亮史(2012)下関トラフグ身欠きの熟練の品質評価の解析. 人間工学 48, 304-312.

- 21) Isokawa K, Yuguchi M, Nagai H (2008) Oxytalan fibers in the teleostean tooth and pedestal bone. *Matrix Biol* 27 (abst#54), S22.
- 22) 磯川桂太郎, 湯口真紀, 甲斐由紀子, 山崎洋介, 新井嘉則, 本田和也 (2010) 魚類の蝶番性可倒歯研究のトラックバックと今後の端緒. *エナメル質比較発生学懇話会記録* 11, 17-24.
- 23) Namba Y, Yamazaki Y, Yuguchi M, Kameoka S, Usami S, Honda K, Isokawa K (2010) Development of the tarsometatarsal skeleton by the lateral fusion of three cylindrical periosteal bones in the chick embryo (*Gallus gallus*). *Anat Rec* 293, 1527-1535.
- 24) Kanazawa H, Yuguchi M, Yamazaki Y, Isokawa K (2019) The teeth and dentition of a filefish (*Stephanolepis cirrhifer*) revisited tomographically. *J Oral Sci*, (in press).
- 25) 岡本裕之 (2015) ゲノム編集によるトラフグの育種戦略. *水産育種技術としての展開について*. *日本水産会誌* 81, 491.