

ラット切歯歯髓血管に関する形態学的研究  
ー超薄切片法および凍結割断レプリカ法を用いてー

鹿児島大学・歯学部・口腔解剖学講座第1

(指導：仙波輝彦教授)

田畑正志



①

ラット切歯歯髓血管に関する形態学的研究  
－超薄切片法および  
凍結割断レプリカ法を用いて－

田畑正志

鹿児島大学歯学部口腔解剖学講座第1 (指導: 仙波輝彦教授)

Examination of blood vessels in rat incisor pulps  
-using TEM of thin sections and freeze-fracture replicas-

Shoji Tabata

Department of Oral Anatomy, Kagosima University Dental School  
(Director: Prof. Teruhiko Semba)

仙波輝彦

1. この論文は、学位申請のために以下の論文の研究成果を中心にまとめたものである。

田 畑 正 志

ラット切歯歯髓毛細血管の部位的变化。

田畑正志，仙波輝彦。

歯科基礎医学会雑誌，27巻4号1985年12月公表。

凍結割断レプリカ法によるラット切歯歯髓血管の観察。

田畑正志，仙波輝彦，和田薫。

歯科基礎医学会雑誌，29巻6号1987年12月公表。

Examination of blood capillaries in rat incisor pulp by TEM of thin sections and freeze-fracture replicas.

Shoji Tabata & Teruhiko Semba.

Journal of Electron Microscopy, Vol.36, No.5, 1987. 公表。

超薄切片法および凍結割断レプリカ法によるラット切歯歯髓の動脈と静脈。

田畑正志，仙波輝彦。

歯科基礎医学会雑誌，30巻6号1988年12月公表。

Examination of arteries and veins in rat incisor pulp by TEM of freeze-fracture replicas.

Shoji Tabata & Teruhiko Semba.

Journal of Electron Microscopy, Vol.37, No.6, 1988. 公表。

上記記載のとおり相違ないことを証明します。

鹿児島大学大学院歯学研究科

仙波輝彦



2. 学位申請年月日      平成      年      月      日



## 目 次

Abstract	2
緒 言	5
第 1 編 超薄切片法による TEM 観察	7
第 1 章 はじめに	7
第 2 章 材料と方法	7
第 3 章 結果	8
第 1 節 動脈	8
第 2 節 静脈	8
第 3 節 切歯基底部	8
第 4 節 切歯中部	9
第 5 節 切歯切縁側部	9
第 4 章 考察	10
第 5 章 小括	13
第 2 編 凍結割断レプリカ法による TEM 観察	14
第 1 章 はじめに	14
第 2 章 材料と方法	14
第 3 章 結果	15
第 1 節 動脈	15
第 2 節 静脈	15
第 3 節 有窓型毛細血管	15
第 4 節 連続型毛細血管	16
第 4 章 考察	16
第 5 章 小括	18
全編総括	18
結 語	20
謝 辞	20
引用文献	21



Examination of blood vessels in rat incisor pulps  
— using TEM of thin sections and freeze-fracture replicas —

Shoji Tabata

Department of Oral Anatomy, Kagoshima University Dental School

(Chief: Prof. Teruhiko Semba)

The continuously erupting rat incisor is a suitable model for studying the process of cell changes. For example, the growth of odontoblasts can be seen from the basal portion of the incisor to its incisal portion and the process of dentine mineralization may be examined by using this model. To establish the relationship of the mineralization of dentine to the flow of body fluids in the incisor pulp, the blood vessels in the rat incisor pulp were investigated using transmission electron microscopy (TEM) of thin sections and freeze-fracture replicas. The results are summarized below.



I TEM of thin sections.

- 1) The central arteries, which were lined up in the median line of the pulp, were classified as arterioles according to their diameter. They were composed of three layers, the intima which included endothelium and the basal lamina, the media which included 2 to 4 layers of smooth muscle cells and the adventitia which was composed of loose connective tissue. The media was 3 to 4  $\mu$  m in thickness.
- 2) The central veins lay on the both sides of the central arteries. They were classified as venules, however they were larger in diameter than the normal venules. They were composed of endothelium, basal lamina and loose connective tissue. There were no smooth muscle cells in the walls of the central veins.
- 3) In the basal portion of the peripheral incisor pulp, where the odontoblasts were about 30  $\mu$  m in height and the mineralization of dentine began, many capillaries were seen in the subodontoblastic region. All of these were of the continuous type. The attenuated peripheral portion of the endothelial cells was very thin.
- 4) In the middle portion of the incisor, the odontoblasts, which were called young odontoblasts, were about 50  $\mu$  m in height. Active mineralization of dentine occurred in this region. The network of capillaries was near the terminal web of the odontoblasts. Two types of blood capillaries were seen in this network, continuous and fenestrated capillaries. The continuous type had thicker endothelial cells than those in the basal portion. The fenestrated capillaries had fenestrations of 60 to 80 nm in diameter closed by a very thin diaphragm. Thick endothelial swellings were seen in the lumen in this portion of the incisor.
- 5) In the incisal portion, where the odontoblasts were called old odontoblasts, a network of capillaries was seen near the terminal web of the odontoblasts. Many of these capillaries were of the fenestrated type, but a few were still continuous.
- 6) These observations suggested that the continuous capillaries might change to



fenestrated capillaries in the middle portion of the incisor and when this change occurred, a thick endothelial swelling might appear in the capillary lumen.

## II TEM of freeze-fracture replicas.

The advantage of the freeze-fracture method, was that it provided *en face* views of the junctions between adjacent endothelial cells.

- 1) The endothelial junction of the central arteries was composed of tight junctions comprising 2 to 5 or 6 strands with many intercalated gap junctions. The endothelial junction of the small arterioles displayed tight junctions comprising 7 to 10 strands but no gap junctions were found in it.
- 2) The endothelial junction of the central veins was composed of linear creases only, whereas that of the small venules was composed of tight junctions and linear creases.
- 3) The endothelial junction of the continuous capillaries was composed of tight junctions. These junctions appeared as 2 to 3 parallel strands and were thought to be discontinuous zonula occludens rather than perfect zonula occludens, because some gaps of about 10 nm were visible.
- 4) Fenestration of the fenestrated capillaries was seen as circular grooves on the P-fracture face or circular protrusions on the E-fracture face. The fenestrae were randomly distributed, circular and 50 to 60 nm in diameter. The coalescence of about 30 to 40 fenestrae constituted a fenestrated area. Nonfenestrated areas were so extensive that fenestrated areas were widely separated.



## 緒言

歯の機能形態学的研究を志す者にとり、硬組織の石灰化機構と歯の痛みの受容機構という二つの問題は、いずれも興味深い研究対象であろう。例えば、脊椎動物の骨、軟骨、歯といった硬組織の無機成分は例外なくすべてリン酸カルシウムであり(須田ら, 1986)、このうち象牙質は65%の無機質と35%の有機質および水から成る(Bhaskar, 1982)。この象牙質の石灰化に関して、Leblond & Weinstock (1976)は過去の業績を次の三説にまとめている。

- 1) 分泌説(the secretion theory)
- 2) 基質小胞説(the matrix vesicle theory)
- 3) 直接石灰化説(the direct deposition theory)

このうち基質小胞説は、象牙芽細胞で形成された基質小胞が細胞外基質中に放出され、無機イオンを蓄積しながら石灰化部位に到達するという理論である。この説による石灰化には、歯髄中の体液の流れを必要とすることが考えられる。

また、象牙質のリンタンパク質に対するモノクロナル抗体を用いた最近の研究によると、このリンタンパク質は象牙芽細胞で作られ、細胞体部から象牙芽細胞の突起へ移動し、石灰化部位近くの突起部分から基質中に放出されるという(Nakamura et al., 1985)。リンタンパク質の放出後、これらの運搬に歯髄中の体液の流れが関与していることは十分考えられることである。

一方、歯の痛みの受容機構に関する主な三説のうち流体力学説(hydrodynamic theory)は、象牙細管中の体液が象牙質への刺激に反応して流動を起こし歯髄中の神経を刺激するという理論である(Seltzer & Bender, 1984)。このことは歯髄中の体液が歯の痛みにも大きく関与していることを示唆するものであろう。

さらに、象牙質の形成は生涯を通して行われ、これと共に象牙芽細胞も生涯活動するという(Bhaskar 1982)。このことは、とりまなおさず歯髄中の体液環境が生涯において恒常性を持ち続けていることに他ならないと考えられる。

このような事柄から、歯髄中には特殊な体液の流れが存在するのではないかという考えに立って、仙波(1978, 1982)は分子量の異なった数種のトレーサー物質を用いて、ラット切歯歯髄中の体液流通について研究を行った。その結果、静脈内に注入された分子量5万以下のcytochrome c及びhorse-radish peroxidaseは歯髄中の毛細血管内皮細胞を容易に通過し、注入後3分で歯髄全域のみならず象牙細管を経由し、エナメル-象牙境にまで達した。一方、分子量約24万のcatalaseは2時間を経てもほとんど血管外へ漏出しなかった。これらのことは、歯髄中の特殊な体液の流れの存在を示唆するものであり、また歯髄中の血管内皮細胞による透過物質の選択の可能性をも示唆するものである。

そこで、著者らは、このような歯髄の特殊な体液環境をもたらしている原因の一つが歯髄中の血管にも(もし存在するならリンパ管にも)あるだろうと考え、走査型電子顕微鏡(SEM)及び透過型電子顕微鏡(TEM)を用いて形態学的立場から研究を行ってきた(仙波, 田畑ら, 1983; Semba & Tabata, 1985; 田畑と仙波, 1985; 仙波, 田畑ら, 1986a, b; Tabata & Semba, 1986; 田畑ら, 1987; Tabata & Semba, 1987; 田畑と仙波, 1988; Tabata & Semba, 1988)。その結果、ラット切歯という特殊な材料についてはあるが、今日までに少なくない新知見を得ることができたので、ここに学位請求論文として提出する。尚、本論文の骨子は超薄切片法及び凍結切断レプリカ法を用いた歯髄中の血管のTEM観察であるが、論旨の進行上、血管鋳型標本のSEM観察についてはどうしても述べておく必要があると考えるので、以下に大まかに著者らの行ってきた研究について述べるこ



とにする。

下歯槽動脈から分岐した一本の歯髓枝は下顎切歯歯髓に入る直前で15~20本程度の幹動脈(波田, 1957)(蒲, 1961は歯髓動脈幹, 長谷川, 1966は下歯槽動脈切歯枝と述べている)を形成した後, 正中面に沿って歯髓内に入る。これらの幹動脈は最も唇側に位置するものから, 唇側方向に順次分枝を派出し, それぞれの分枝はその途中から壁側動脈を形成する(図4)。尚, 前後の壁側動脈は互いに交錯することなく, 体節的に歯髓中に分布する。この壁側動脈の2次あるいは3次分枝は細動脈となって, 象牙芽細胞の内側に到達する。細動脈は象牙芽細胞の直下で花弁状に分岐し毛細血管叢(Adams, 1959の記述するsubodontoblastic plexusに相当する)を形成する(図5)。この血管は象牙芽細胞の長軸と平行な立ち上がりを示し, 直立毛細血管を形成する(図5)。直立毛細血管は歯髓表面近くで直角に折れ, 網目状を示し, 毛細血管網(Adams, 1959のpredentinal plexusあるいはBernick, 1962のterminal vascular capillary plexusに相当する)を形成する(図5)。毛細血管網の網目の大きさは部位によって多少の相違をしめす。即ち, 側面に比べて唇側における網目はかなり密なようである(図6, 7)。ところが, 基底部から切縁側部においては網目の大きさに変化はないようである。これらの毛細血管は集まり細静脈を形成する。細静脈は緩やかな傾斜で内方に走り, 数本集まりやや径の大きい細静脈となる。この細静脈はさらに集まり幹動脈の両側面にみられる歯髓の幹静脈を形成する。図1は, 幹動脈が唇側で分枝して毛細血管に移行する様子(図1左側)および細静脈が幹静脈に集まる様子(図1右側)を簡単な模式図として描いたものである。

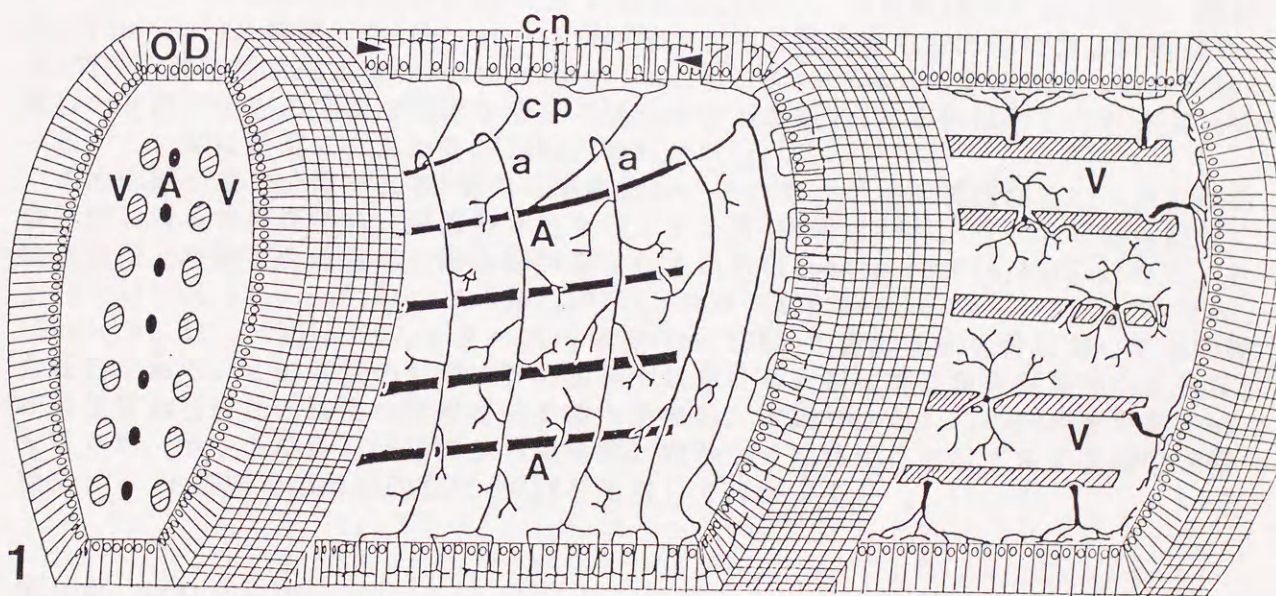


図1 幹動脈(A)が分枝して毛細血管に移行する様子(図左側)および細静脈が集まり幹静脈(V)に流入する様子(図右側)を模式的に示した図。図上方が唇側である。OD:象牙芽細胞, a:壁側動脈, cn:毛細血管網, cp:毛細血管叢, 矢頭は直立毛細血管を示す。



## 第1編 超薄切片法によるTEM観察

### 第1章 はじめに

超薄切片法で毛細血管を観察し、その形態を基に分類を試みたのはBennettら(1959)が最初である。現在、毛細血管はその内皮細胞と基底板の形態に基づいて3型に分類されている(Simionescu, N. & Simionescu, M., 1983)。まず第1が連続型毛細血管(continuous capillary)である。通常、筋組織中にみられるので(Palade, 1961; Muir, 1962)筋性毛細血管とも呼ばれるこの型の毛細血管は、連続する内皮細胞と基底板から成る。内皮の厚さはおよそ $0.2 \sim 0.3 \mu\text{m}$ であり、その中に $60 \sim 70\text{nm}$ 径の形質膜小胞(plasma-lemmal vesicle)を非常に多く含む。また筋以外にもこの型の毛細血管はみられる。例えば、膵臓の外分泌部(Bolendar, 1974)、あるいは胸腺実質部(Raviola & Karnovsky, 1972)、さらに中枢神経系(Reese & Karnovsky, 1967)、肺(Simionescu, D. & Simionescu, M., 1983)、骨のハーバース系に存在する毛細血管は連続型である。次に、第2が有窓型毛細血管(fenestrated capillary)である。この血管の内皮は特に薄く( $0.05 \sim 0.1 \mu\text{m}$ )、径 $60 \sim 80\text{nm}$ の円形の窓(fenestra)という構造を持つ。通常、この窓は単層の隔膜(diaphragm)によって閉じられ、中央に $10 \sim 15\text{nm}$ 幅の結節(knob)がみられる(Rhodin, 1962)。また基底板は連続して内皮を包む。この型の毛細血管は、腎臓(Hall et al., 1953; Yamada, 1955)、膵臓の内分泌部(Simionescu, M. et al., 1974; Hart & Pino, 1986)、副腎(Elfvin, 1965)、小腸などの内臓性臓器に多くみられることから内臓性毛細血管とも呼ばれる。さらに下垂体(Muir & Peter, 1962)、松果体(Matsushima & Reiter, 1975)、鼻粘膜呼吸部(Cauna & Hinderer, 1969)、甲状腺(Wissing, 1960)、脈絡膜(Pino, 1985)、精巢上体(Abe et al., 1984)などの毛細血管も有窓型である。最後の第3型が不連続型毛細血管(discontinuous capillary, sinusoid)である。この内皮は数百nmを越すほどの大きな間隙を持ち、基底板は不連続か、あるいは全くそれを欠いている。この型は肝臓にみられる(Wisse, 1969)。

この形態を基に分類される3型の毛細血管は、それぞれが血管透過性といった生理的機能における特性を持ち、臓器特異性を示している(山元, 1985)。ラット切歯歯髄中には連続型と有窓型の両型の毛細血管が存在している(Semba & Ishida, 1975)。また、ヒト(Riedel et al., 1966; Dahl & Mjör, 1973)、マウス(Corpron et al., 1974)、ウサギ(Okada et al., 1986)、ハムスター(Han & Avery, 1963)の歯髄毛細血管においても同様の報告がある。この両型の毛細血管の歯髄中における分布状態は象牙芽細胞の成長及び象牙質の石灰化と密接な関連を示すようである。本編ではこれらの関連を明らかにするため、ラット切歯の基底部から切縁側に向かって形態変化を示す象牙芽細胞を指標にして、毛細血管の部位的变化をTEMを使用して観察する。

### 第2章 材料と方法

生後20~30日のウィスター系ラットはエーテル麻酔下に開胸し、左心室より生理食塩水で灌流及び放血した。3.0%グルタルアルデヒド(0.1M cacodylate buffer, pH7.4)で灌流固定した後、下顎切歯を取り出し、基底部をカミソリを用いて切り離した。同固定液中で4時間、氷水温下で浸漬固定した。中部及び切縁側については、一部を除き固定終了直前に、実体顕微鏡下でピンセットを用いてエナメル質と象牙質を静



かに剥ぎ取った。このようにすると脱灰操作を行うことなく象牙芽細胞が歯髄側に付着した状態で、電子顕微鏡標本作製することができ、よい結果を得ることが可能となった(図3)。但し図26及び27についてはEDTAによる脱灰を行い(Beertsen & Niehof, 1986)標本作製している。この時点で中部と切縁側を切り離した。同緩衝液で数回洗浄した後、1.3%オスミウム酸(s-collidine buffer)で1時間後固定を行い、アセトン脱水してエポンに包埋した。LKB ultrotomeを用いてダイヤモンドナイフあるいはガラスナイフにより超薄切片を作製し、クエン酸鉛単独染色、一部は酢酸ウランとの重染色を行った。観察には日立H-300Sもしくは日本電子200CX透過型電子顕微鏡を使用した。

### 第3章 結果

象牙質の石灰化は象牙芽細胞の成長と密接に関連している。この点に留意して、主に歯髄中央に分布する動・静脈の記載は簡単に行い、歯髄周辺部特に象牙芽細胞付近に分布する毛細血管の部位的特徴をこの細胞の成長を指標にして記述することとし、それにより石灰化と血管との関連を述べることにする。

#### 第1節 動脈(図8)

歯髄幹動脈の内径は $15\sim 40\mu\text{m}$ である。この径からするとこれらは細動脈(arterioles)に分類される。しかし、本論文では歯髄の他の部位に散在する細動脈と区別するために、歯髄正中面に並ぶ細動脈を歯髄幹動脈と呼ぶことにする。また同様に、この幹動脈の両側面に並ぶ細静脈を歯髄幹静脈と呼ぶ。この幹動脈壁はやや厚い内皮細胞と基板より成る内膜、2~4層の平滑筋細胞より成る中膜及びその周囲の疎性結合組織より成る外膜の3層によって構成されている。単層の扁平もしくは立方状をした内皮細胞の核領域は、管腔側に膨隆し、核は分葉核の形態を示す場合もある。核領域以外の細胞質は $0.5\sim 1\mu\text{m}$ 程の厚さをもち、所々にひだが見られるが、管腔側に著しい凹凸を示すことはない。細胞質内にはゴルジ複合体、粗面小胞体、ミトコンドリアなどの細胞内小器官が見られる。また、数多くの形質膜小胞、被覆小胞、空胞等も含まれている。隣接する内皮細胞の接合面は複雑なかみあい(interdigitation)を示すことはあまりなく、直線的な境界面を形成し、所々にタイト結合、中間結合、ギャップ結合が存在する(図9)。中膜は $3\sim 4\mu\text{m}$ 程の厚さがあり、これは2~4層の平滑筋細胞から成る。各々の平滑筋細胞は基板に包まれ、中膜に弾性線維は見られない。

#### 第2節 静脈(図10)

幹静脈は歯髄の正中面内に配列する幹動脈のそれよりやや大きく $80\mu\text{m}$ 程に達する場合もある。幹静脈壁は単層の扁平な内皮細胞と連続する基板及びその周囲の疎性結合組織から成る。歯髄中の静脈は平滑筋細胞からなる中膜を欠くのが常である。内皮細胞の核は管の内外方向に強く圧平されている。核領域以外の細胞質は $0.3\sim 0.8\mu\text{m}$ の厚さをもち、細胞質中には細胞内小器官、小胞等が含まれている。隣接する内皮細胞間の接合面は、2つの内皮細胞が管の内外方向に重なり合うことにより形成されている。この境界の所々にタイト結合と中間結合がみられる(図11)。これから後の記述は、歯髄周辺部の毛細血管に限定して行う。

#### 第3節 切歯基底部(図12)

歯髄周辺部の象牙芽細胞は単層に並び、円形ないし楕円形の核はその基底側(歯髄側)に局在する。粗面小胞体は細胞質中に豊富にみられ、その腔は若干広がり中に中



等度の電子密度の物質を満たしている。ゴルジ装置は核上部に存在する。ミトコンドリアは球形あるいは楕円形の形状を示す。エナメル芽細胞側には細胞質の突起を出し、その突起中には種々の大きさの小胞、被覆小胞さらにNagai(1970)の述べるcytosome 3, に相当するプロコラーゲンを入れていると推測される小胞(Weinstock & Leblond, 1974; Leblond & Weinstock, 1976)などがみられる(図13)。これらの小胞はゴルジ野で形成され象牙芽細胞の突起より象牙前質中に放出される(Garant et al., 1968)。この柱状の象牙芽細胞の高さが $30\mu\text{m}$ 程に伸長すると象牙質の石灰化は始まる。この象牙芽細胞層直下には多くの連続型毛細血管がみられる(図14)。それは連続する内皮細胞と基底板からなり、周細胞の突起がしばしば観察される。内皮細胞は小数の粗面小胞体及びゴルジ装置そして円形ないし楕円形のミトコンドリアを含む。また核部以外の内皮細胞は $0.2\sim 0.3\mu\text{m}$ の厚さである。この内皮に含まれる形質膜小胞の径は $50\sim 100\text{nm}$ で、他の部位の連続型毛細血管内皮細胞に含まれる形質膜小胞に比べその数は少ない。隣接する内皮細胞間の接合面には、タイト結合と中間結合がみられる(図15)。

#### 第4節 切歯中部(図16)

象牙質の石灰化が進行すると、歯髄周辺部の毛細血管は象牙芽細胞層中に進入するようになる。ここにおいて三層の毛細血管すなわち毛細血管叢、直立毛細血管、毛細血管網が完成する。この部位の象牙芽細胞体は高さが $50\mu\text{m}$ にも達し、核上部にはよく発達したゴルジ領域が観察される(図17)。粗面小胞体は細胞質全体に豊富にみられ、その腔はあまり広くない。ミトコンドリアは大部分が長楕円形、まれには桿状を呈するものもあり、細胞質中に数多く存在する。また様々な大きさの小胞あるいは空胞も豊富である。Takuma & Nagai(1971)はこのような形態を持つ象牙芽細胞をyoung odontoblastと呼んだ。まさに若々しく活発な細胞活動を行っているような印象を受ける。毛細血管叢(図18)及び直立毛細血管(図19)とも、ほとんどが連続型毛細血管であるのに対し、最表層の毛細血管網は連続型と有窓型の両型の毛細血管が混在している。前者は連続する内皮細胞と基底板及び周細胞の一部からなる(図20)。内皮細胞は厚く、その中に $50\sim 100\text{nm}$ 径の形質膜小胞を多数含む。また管腔側に開口する小胞の開口部には隔膜がある(図21)。一方、後者は $50\sim 80\text{nm}$ 径の窓を持つ内皮細胞とそれを連続して取り囲む基底板及び周細胞の一部からなり(図22)、内皮の窓には隔膜が存在する(図23)。またこの部位にみられる有窓型毛細血管には、細胞質が管腔側に著しく突出しているものがしばしば観察される(図22, 矢印)。そしてこの突出部には $50\sim 100\text{nm}$ 径の小胞が非常に多く含まれている。さらに切歯中部には1本の血管の片方に連続型の特徴を有する内皮と他方に有窓型の特徴を有する内皮を同時に持つ毛細血管がみられることがある(図24)。その両者の移行部には $50\sim 100\text{nm}$ 径の非常に多くの小胞を含む著しく内皮の肥厚した領域が存在する(図25)。これは連続型から有窓型へ形態変化を起こしつつある毛細血管の特徴であろうと推測される。

#### 第5節 切歯切縁側部(図26)

切歯切縁側部に存在する象牙芽細胞体は、 $70\sim 80\mu\text{m}$ の高さを有し、これは切歯を通して最大の値である(図26)。Takuma & Nagai(1971)はこの丈を持つ象牙芽細胞はGolgi領域の不明瞭化とか、細胞体の狭小化に伴う細胞間隙の拡大といった変化を起こすと報告し、これらをold odontoblastと呼んだ。ところが、最近の我々の研究では図26と27に示されるように、この部位の象牙芽細胞のGolgi領域は明瞭に存在しているし、細胞体の狭小化に伴う細胞間隙の拡大といった事象も起こっていないようである。この結果の相違に関しては今後の研究を必要とするであろうが、本論文においては、



Takuma & Nagai(1971)の記載に従うこととする。この部位の毛細血管網は切歯中部の血管網の位置との比較からすると、象牙芽細胞のターミナルウェブよりやや基底側に分布している。ここには有窓型毛細血管が特に多く存在している(図28)。連続する基底板に包まれた内皮細胞には約80nm径の窓が存在しこの窓には隔膜がみられる。またそれらの窓は象牙質側に向かった側の内皮細胞に開口し、核は歯髄側にあるといった極性を有する血管内皮細胞が多いようである(図29)。窓の形状、分布状態、分布密度などについては第2編で凍結切断レプリカ法を用いた研究によりさらに詳しく述べることにする。一方、連続型毛細血管は非常に少ないが依然観察される(図30)。連続する基底板に囲まれた内皮細胞は切歯中部にみられたものに比べはるかに薄く0.05~0.1 $\mu$ m程しかない。またそれにともない、含まれる形質膜小胞の数は少ない。以上のことを模式図として要約したのが図31で、象牙芽細胞の部位における変化と毛細血管網を形成する血管の形態について描いたものである。

#### 第4章 考察

終生成長を続ける齧歯類切歯を用いると、一連の細胞の分化及び成長を見ることが可能である。象牙質の形成に関与している象牙芽細胞が切歯基底部から切縁側部へと成長していることも観察可能となるであろう。

切歯基底部において、象牙芽細胞が単層に並び、象牙質の初期石灰化が始まる頃になると多くの連続型毛細血管がこの細胞層直下に見られるようになる。この毛細血管の内皮に含まれる形質膜小胞の数は少ないことから、この小胞を通した物質の透過供給量は多くないことが推測し得る。切歯中部において、象牙芽細胞の高さが増し象牙質の石灰化が進行すると毛細血管がこの細胞層中に進入して、象牙芽細胞のターミナルウェブの近くで毛細血管網を形成する。毛細血管叢と直立毛細血管を作る毛細血管はどの部位においても大部分が連続型である。これに対し、毛細血管網を形成する毛細血管は連続型と有窓型の両型が混在している。この血管網に存在する連続型毛細血管の内皮細胞は肥厚し、その中に含まれる形質膜小胞の数は比較的多い。このことはこの小胞を通した物質の輸送が盛んであることを示唆している。切歯切縁側において、毛細血管網には有窓型毛細血管が特に多く見られるようになり、その窓は多くが象牙質の方向に開口している。このような極性を有する血管内皮の形態は、この毛細血管が象牙質側に多量の物質を供給することに密接に関わっていることの反映ではないかと思う。

本研究によりラット切歯歯髄周辺部毛細血管は象牙芽細胞の成長及び象牙質の石灰化にともないその形態を連続型から有窓型へ変化させると推測される。それは切歯中部の象牙質の石灰化がやや進行し、毛細血管が象牙芽細胞のターミナルウェブの近傍で網目状分布を呈し始める部位で起こっていると考えられる。これとは逆に、Abeら(1984)は精巣上体に存在する毛細血管が精巣上体細胞の機能低下にともない有窓型から連続型へと形態変化することを報告した。またOkadaら(1986)は、ウサギの切歯歯髄血管を用いて、切歯切縁側のshort odontoblast region中に分布する毛細血管は再び連続型のみになると述べ、機能の変化にともなう毛細血管の形態変化を示唆している。そこで象牙質の石灰化にともない形態変化を起こす歯髄毛細血管の機能について毛細血管透過性という点から考えてみる。

1950年代初頭、生理学者Pappenheimerら(1951)によりpore theoryが唱えられ毛細血管の透過性をこの説により論じようという試みがあった。それによると毛細血管内



皮には2種類の親水性の小孔が存在し、小さい孔が9nm以下、大きい孔は50~70nmであるとした。その後電子顕微鏡が生物学分野に登場するに及び形態学的証明がされるものと期待されていた。ところがそのような2種類の小孔を見いだすことはできなかった(Simionescu, N., 1976)。現在この単純な説では毛細血管の透過性を説明することができないことが明らかになってきた(山元, 1985)。以下現在考えられている透過経路を要約してみる。

#### 1) 細胞膜を直接通る経路

水とか脂溶性の小さな物質は、細胞膜を直接通過することが考えられる(Renkin, 1979)。また水溶性物質でもイオンなどの微小分子は膜タンパクの作る親水性チャンネルを通る経路も考えられる(山元, 1985)。

#### 2) 窓構造を通る経路

有窓型毛細血管が連続型毛細血管に比べ血管透過性が高いことはその形態からも想像に難くない(Bloom & Fawcett, 1975; Bundgaard, 1980)。Simionescu, N. ら(1981), Simionescu, M. ら(1981)によると、有窓型毛細血管の窓の隔膜は主にヘパリン硫酸から成り、陽イオン化フェリチンあるいはアルシアンブルーのような陽イオン性プローブに対して特に強い親和性を示し、この部位が内皮細胞中で最も強い陰イオン性部位(anionic site)であるとした。一方、トレーサーを用いた研究によるとHRP(4.5nm径)は有窓型毛細血管における非常に高い透過性を示すが、フェリチン(11nm径)はそれに比べるとやや低い(Clementi & Palade, 1969)。この結果に注目したBearer & Orci (1985)は窓の隔膜には透過間隙をもつ構造があり、その大きさは4.5から11nmの間にあると考えた。事実急速凍結ディープエッチ法を用いて彼らが見つけた窓の隔膜のスリットの大きさは平均5.46nmであった。我々も小腸上皮直下の有窓型毛細血管の窓に同様のメッシュ構造を見出している(図45)。このように内皮の窓は透過物質の大きさと荷電性による選択を行っていることが示唆される。

#### 3) 形質膜小胞による経路

非常に多くの形質膜小胞を含む内皮細胞は高度に分化した細胞である。他の多くの型の細胞において形質膜小胞あるいはmicropinocytotic vesicleは、それ自身あるいはより大きな構造物(pinocytotic vacuole, phagosome)のパートナーとしてendocytosisにあずかる。この小胞はその後二次ライソゾームに組み込まれ、最終的に細胞に利用できるものとそうでないものに分けられ、後者はexocytosisによって排出される(Palade, 1979)。ところが内皮細胞ではこの過程はかなりモディファイされていて、ライソゾームに組み込まれるのは少なく、大多数は形質膜小胞が血液面と組織面とを往復して物質の輸送に関与している(Palade, 1961; Palade & Bruns, 1968; Bruns & Palade, 1968a, b)。一般に多くの血漿タンパクを含む陰イオン性物質の血管内皮細胞を通した輸送は形質膜小胞により行われていると考えられている(Simionescu, N., 1983)。また形質膜小胞は内皮を貫くチャンネル(transendothelial channel)の形成にも大きく関与している(Simionescu, N. et al., 1975)。

#### 4) 内皮細胞を貫くチャンネルによる経路

上述の形質膜小胞による輸送過程には25~30秒ほどかかる(Simionescu, N., 1976)。したがってもっとすみやかに透過する水溶性分子の場合を説明することが困難であり、毛細血管の内外を直接つなぐ経路の存在を予想する必要が生じる。事実Simionescu, N. ら(1975)はトレーサーを用いてその存在を確認した。さらにタンニン酸ラベリング法(Wagner, 1976; Bundgaard et al., 1979), 超薄連続切片法(Bundgaard et al., 1983; Frokjaer-Jensen, 1984; Noguchi et al., 1987)によると形質膜小胞のほとんどは融合して、葡萄の房様をしており、内皮細胞内外を直接貫くチャンネルを形成していること



もある。またしまへびを用いたKobayashi(1970)の報告によると、毛細血管内皮細胞のほとんどの形質膜小胞は2個以上がつながり、内皮を貫くチャンネルを形成しているという。このチャンネルの膜は形質膜小胞の膜と同様、陰イオン性プローブに対する親和性を有するので(Ghinea & Simionescu, 1985), 負に帯電した物質の輸送に関与していることが想像される。

#### 5) 被覆小胞

分子量18万のクラスリンと呼ばれる単一のタンパクより成る被覆小胞が血管内皮細胞中にみられる。通常その数は形質膜小胞の数に比して著しく少ないが、hepatic sinusoidの内皮細胞中においては例外であり全小胞の大部分を占めている(Wisse, 1969)。以前、被覆小胞によるタンパク輸送が考えられていたが(Stehbens, 1965), 正確にはその機能はよくわからなかった。ところが、最近低密度リポタンパク(LDL)あるいはトランスフェリンに対するレセプターの存在がこの被覆小胞に証明されるに及び(Bretscher, 1986; Brown & Goldstein, 1986; Sanan et al., 1987), 被覆小胞によるレセプターを介した特定物質の選択的吸収が強く示唆されてきている。

#### 6) 内皮細胞間接合部

内皮細胞間接合部における物質透過性の有無については論争が止まず、未だ定説を得るに至っていない。このことについては第2編で詳しく述べる。

#### 7) 不連続型毛細血管の内皮細胞間隙を通る経路

内皮細胞に大きな間隙が存在するから(図46), この部分を通る経路は容易に理解できる(山元, 1985)。

上記のことから、象牙質の石灰化に必要なカルシウムイオンを大量に供給できる構造は内皮細胞の窓であり、そのためには有窓型毛細血管に形態変化することが必須のことであると想像される。一方、リン酸イオンは形質膜小胞を介した経路、あるいはもし存在するなら内皮細胞を貫くチャンネルを通した経路により歯髄中へ供給されていると推測することはあながち暴論とは言えまい。

有窓型毛細血管の内皮細胞に存在する窓の形成過程について、Paladeら(1979)は連続する内皮細胞中に含まれる1個の形質膜小胞の形質膜が、薄くなった内皮細胞と融合し、2枚の融合膜のうちいずれか片方が消失することにより完成すると考えた。ところがその後の彼らの研究によると、内皮細胞の形質膜小胞と有窓型毛細血管の窓の性質が非常に異なっていることを報告し、この形質膜小胞が単純に窓を形成するという考えに疑問を投じている(Simionescu, M. et al., 1981)。毛細血管が連続型から有窓型へ、あるいはその逆へ形態変化することは事実のようであるが、その正確な過程は依然不明である。Wolff & Merker(1966)は内皮細胞の肥厚領域による窓の形成に着目している。同様に著者は切歯中部の連続型毛細血管と有窓型毛細血管が混在する部位、換言すると有窓型毛細血管への形態変化が起こっていると思われる部位の内皮細胞に非常に多くの小胞を持つ著しく肥厚した領域があることを観察した。このことは有窓型毛細血管の窓の形成にこの著しく肥厚した領域が何らかの重要な役割を演じていることを示唆しているのかも知れない。

最後に歯髄幹動脈及び幹静脈について考察する。ラット切歯歯髄幹動脈の内径は最大のもので40 $\mu$ m程度であるので、この径からすると、これらは細動脈(arterioles)の範ちゅうに入るであろう(Simionescu, N. & Simionescu, M., 1983; Fawcett, D.W., 1986)。しかし、歯髄正中面に並ぶ10本程の細動脈は微細構造の点で他の細動脈と異なるところがあり、また位置的な点も考慮して、本論文では歯髄幹動脈と呼ぶことにした。この幹動脈の径に相当する他の組織に見られる細動脈の中膜は通常1層、多くとも2層の平滑筋細胞から成っている(Simionescu, N. & Simionescu, M., 1983; Fawcett,



D.W.,1986)。またRhodin(1967)は骨格筋組織中の内径 $50\mu\text{m}$ 以下の細動脈を特に終末細動脈(*terminal arterioles*)と呼び、その中膜は $0.5\sim 1\mu\text{m}$ の厚さをもち、ただ1層の平滑筋細胞から成ると報告している。これに対し、ラット切歯歯髄幹動脈の中膜は2~4層の平滑筋細胞から成り、その厚さも $3\sim 4\mu\text{m}$ とかなりよく発達している。歯髄は体中でも最も内圧の高い部位のひとつであり、また、ここを流れる血液は特に速いという(Bhaskar,1982)。歯髄幹動脈の中膜の発達は、これらの圧力に対する血管壁の抵抗性を示す構造であるのかもしれない。

一方、幹動脈の両側面にそれぞれ10本程度並ぶ細静脈を歯髄幹静脈と呼び他の細静脈と区別した。幹静脈の内径は $80\mu\text{m}$ 程に達しているにもかかわらず、中膜に相当する平滑筋細胞を全く欠いている。単層の扁平な内皮細胞と基底板とから成るこの幹静脈は、構造的には毛細血管と変わらない。このような形態の細静脈は周細胞性細静脈(*pericytic venules*)と呼ばれるが、その内径は通常 $50\mu\text{m}$ 以下である(Simionescu,N. & Simionescu,M.,1983)。通常これより大きい径の細静脈は、中膜に平滑筋細胞層を持ち筋性細静脈(*muscular venules*)と呼ばれる。但し、胎盤の母体側の静脈、骨の海綿質あるいは網膜などに存在する静脈においては例外であり、その壁に平滑筋細胞組織を欠いている(Clemente,1985)。

## 第5章 小括

歯髄中の血管の構造を超薄切片法によりTEMを用いて観察した。

歯髄幹動脈は $15\sim 40\mu\text{m}$ の内径を持ち、その壁は典型的な3層構造を示す。即ち単層の扁平もしくは立方状をした内皮細胞と基底板より成る内膜、2~4層の平滑筋細胞より成る中膜、その周囲の疎性結合組織より成る外膜の3層である。このうち中膜は $3\sim 4\mu\text{m}$ の厚さがあり、この径の動脈としてはかなり厚い。一方、歯髄幹静脈は幹動脈のそれよりやや大きく $80\mu\text{m}$ 程に達するものもある。その壁は単層扁平の内皮細胞と連続する基底板及びその周囲の疎性結合組織から成る。歯髄中の静脈は平滑筋細胞層即ち中膜を欠くのが常である。

切歯基底部の毛細血管は象牙芽細胞直下に多数存在し、ここには連続型のみ見られる。切歯中部において毛細血管は象牙芽細胞層中に進入し、ターミナルウェブの近くで毛細血管網を形成する。ここには連続型と有窓型の両型の毛細血管が混在する。切歯切縁側の毛細血管網中では大部分が有窓型毛細血管であり、連続型はまれである。一方、毛細血管叢及び直立毛細血管とも、ほとんどが連続型毛細血管である。

毛細血管網の毛細血管は連続型から有窓型へ変化を起こすと推測される。それは切歯中部のあたり即ちyoung odontoblastの部位であろうと考えられる。その際、内皮細胞には $50\sim 100\text{nm}$ 径の非常に多くの小胞を含む著しく管腔側に突出した領域が見られる。



## 第2編 凍結割断レプリカ法によるTEM観察

### 第1章 はじめに

硬組織に周囲を包まれ、保護されている構造上の点において歯髄は脳に似ている。事実、かなり太い静脈でさえその中膜の発達が悪いことなどは類似性があるといえる。ところが毛細血管の形態に関してはかなり違ってくる。血液脳関門で示されるように、脳では毛細血管はすべて連続型で、さらに内皮細胞間の接合部は閉鎖され、物質の透過性は非常に低いといわれている(Dobbing, 1961; Reese & Karnovsky, 1967; Tani et al, 1977; Shivers, 1979)。これに対し第1編で述べたように、ラット切歯歯髄中には、その微小領域に有窓型と連続型の両型の毛細血管がそれぞれ局在している。このことは硬組織特に象牙質形成という歯髄の機能に対して、歯髄中の血管が応えた結果だと考えられよう。はたして、この血管の透過性に関わる構造はどの様に形成されているのだろうか。第2編では、この疑問を明らかにするため、凍結割断レプリカ法により解明を試みた。

凍結割断レプリカ法は1950年代後半Steere(1957)により開発され、その後Branton(1967; Branton & Southworth, 1967)によりこの方法は、膜の内部すなわち疎水性部分が露出していることが示された。この方法の利点の一つは広い範囲で膜の、正確には膜内部の正面観(en face view)を得ることができることである。これに対し、超薄切片法は構造の立体的解明にはやや不向きな方法である。例えば歯髄血管に関して以下の事柄を超薄切片法により明白にするには非常な困難をとまなうであろう。すなわち隣接する血管内皮細胞間には透過物質のための間隙が存在するのかしないのか。また、有窓型毛細血管の窓の形状、分布密度、分布状態は組織差を示すのかどうか、といった点である。ところで、凍結割断レプリカ法は現在のところこのような問題に対する最もよい解決法であると考えてるので、歯髄の血管について得られた結果を論述する。

### 第2章 材料と方法

第1編で記述した方法により、硬組織部分を除去した歯髄標本を作製した。0.1Mカコジル酸緩衝液で数回洗浄後、phosphate buffered salineを溶媒にした30%グリセリン中に2時間から一晩、氷水温下で浸漬した。凍結は真空ポンプで急速に減圧しスラッシュ状を呈した液化窒素中に、試料台ごと試料をすばやく投入して行った。エイコー社製FD-3型凍結割断装置を用いて高真空、低温下( $3 \times 10^{-7}$  Torr以下,  $-130^{\circ}\text{C}$ )で凍結割断後、白金で回転蒸着し炭素を上方から蒸着してレプリカを得た。家庭用ハイター(花王石鹼株式会社)に1時間半浸漬して軟組織を溶解し、蒸留水で4回洗浄後300メッシュにすくい取った。切歯歯髄の有窓型毛細血管の窓の径、大きさ、分布状態、分布密度を他の組織のそれと比較するためラット小腸を用いた。同様にして凍結割断後 $-90^{\circ}\text{C}$ で20分間エッチングしてレプリカを得た。エッチング操作は加わっているが、窓の状態を比較する上で問題はないと思う。日本電子200CXもしくは日立H-300S透過型電子顕微鏡を用いて観察した。レプリカを撮影したネガフィルムは1回反転した後印画紙に焼き付けた。このため蒸着量の多い部分は白く、少ない部分は黒く見える。



### 第3章 結果

本研究には切歯全長中央部の切縁に近い部を材料に用いた。この部位には象牙芽細胞層の中に有窓型毛細血管が、またこの細胞層直下には連続型毛細血管が存在するといったように、2種類の毛細血管が近接した範囲内に存在する。これは凍結切断法のような偶然性にたよる技術を用いる場合、目標とする血管の観察頻度が多くなるという利点を持っている。

#### 第1節 動脈 (図32~35)

凍結切断法レプリカ法を用いると、内皮細胞間のタイト結合はP面上の線条隆起とこれに対応したE面上のくぼみとして確認できる。幹動脈のタイト結合はP面上において、少ない場所で2条、多い場所で5~6条の膜内粒子を持った線条隆起から成る。これはギャップ結合の介在によって、とぎれることなく内皮細胞間を取り巻いている (図32)。またE面上のタイト結合のストランドのくぼみの中にも多数の膜内粒子を残していることも特徴のひとつである (図33)。図34は10 $\mu$ m径の細動脈である。歯髄中央部の幹動脈と歯髄周辺部の毛細血管を連絡する動脈である。この血管の内皮細胞間結合部が図35に示されている。それは、7~10条のストランドからなるタイト結合によってのみ形成されていおり、ギャップ結合は見られない。

#### 第2節 静脈 (図36~38)

図36は幹静脈内皮細胞間接着部位のE面像である。2~4条のカミソリの刃で切れ込みを入れたような鋭い線条のくぼみが見られる。これはSimionescu, M.ら(1975)が記述した線条ひだ (discontinuous low-profile ridges and grooves) に相当するものと考えられる。このE面上のひだの中には膜内粒子がほとんど見られないのを特徴としている。

次に歯髄周辺部の毛細血管と歯髄中央部の幹静脈を連絡する血管である小さい径の細静脈について述べる (図37)。内皮細胞間の接着部位には、P面上の隆起あるいはE面上の溝として認められる1~2条のタイト結合が見られる (図38)。またこの細静脈の内皮細胞間結合部位には、1~2条の線条ひだがP面上では畝状隆起として、E面上では溝状として存在している (図38, 小さい矢印)。図38に見られるように、E面上のタイト結合のストランドの溝の中に多数の膜内粒子を残すのもこの切歯歯髄周辺部に存在する細静脈の特徴である (図38, 大きい矢印)。

#### 第3節 有窓型毛細血管 (図39~41)

切歯中部より切縁側にかけて、象牙前質近傍の象牙芽細胞層中に毛細血管網が存在する。ここに見られる毛細血管は象牙質が切縁側へ成長するに従い、連続型から次第に有窓型へと形態変化する。内皮細胞の窓は象牙質側に向かって分布する傾向が特に強く、その径は50~60nmとほぼ均一である。その形は正円に近く、P面でのくぼみあるいはE面での突出として認められる (図39)。その中心部には超薄切片法での隔膜に見られる結節と同等構造物と考えられる肥厚部分が見られる場合もある。形質膜小胞の開口部に比べると、窓の径は大きくまたその底面は浅いので、両者の識別は容易である。窓は30~40個がひとつの集団として有窓野 (fenestrated area) を形成するが、これらの窓の配列については、この有窓野の中で一定の規則的分布を見いだし得なかった。また有窓野相互間には窓を持たない内皮部分 (nonfenestrated area) が介在しそれらを互いに隔てている (図40)。なお窓状構造のなかには底面が極端に浅く膜内粒子を



認め難いものがある(図41,矢印)。これらは内皮細胞に黒い円形の縁どりが見られることにより、ようやくその存在が認められる。その形は正円をして、径は約60nmである。これらの構造物は窓の形成過程中にあるものではないかと思われる。

#### 第4節 連続型毛細血管(図42,43)

象牙芽細胞層直下あるいはそれより内側の歯髄中に存在する毛細血管は連続型である(図42)。内皮細胞間接合部の正面観を広い範囲で観察するには、凍結切断法が有用である。ここにはP面上の線条隆起とE面上の溝から成る内皮細胞間のタイト結合が認められる(図43)。このタイト結合のストランドにはP面上の線条隆起の上ばかりでなく、E面上の溝の中にも多数の膜内粒子を残している。また、ほぼ平行に走る2~3条のストランドは、ところどころで分断し結果として幅10nm程の不連続部分より成る間隙を作っている(図43,矢印)。この結合は内皮細胞間を完全にシールしているわけではないので、密着帯(zonula occludens)というよりは、不連続密着帯(discontinuous zonula occludens)と呼ぶのが適切であるように思われる。

### 第4章 考察

凍結切断レプリカ法による動脈及び静脈の内皮細胞間接着装置の研究には、ラットの弾性及び筋性動脈、そして中径及び大径静脈を用いたSimionescu, M.ら(1976)の報告、また培養した牛大動脈及び静脈内皮細胞を用いたLarson & Sheridan(1982)の報告などがある。さらに、ラットの網(omentum)及び腸間膜(mesentery)に存在する細動脈と細静脈(Simionescu, M., 1975),あるいはネコ及びヒト歯髄の細動脈と細静脈(Ekblom & Hansson, 1984)に関する報告もある。ラット切歯歯髄中に存在する幹動脈及び幹静脈はその管径からするとそれぞれ細動脈及び細静脈に相当するので、以下これらの血管をSimionescu, M.ら(1975)及びEkblom & Hansson(1984)の報告と比較して考察する。ラットの網及び腸間膜の細動脈内皮細胞間接着装置はタイト結合とギャップ結合から成っていると報告されているのに対し、ネコ及びヒト歯髄のそれは2~5条のタイト結合だけから成り、ギャップ結合は全く見られなかったと報告されている。ラット切歯歯髄の幹動脈の場合、内皮細胞間接着装置はタイト結合ばかりでなくギャップ結合も豊富に存在するという結果を得た。ところが、10 $\mu$ m径の細動脈の場合、内皮細胞間接着装置は7~10条のストランドからなるタイト結合によってのみ形成されており、ギャップ結合は見られなかった。ところで, Claude & Goodenough(1973)はタイト結合のストランドの数と上皮細胞間の密着性の関係を調べて報告している。彼らの結果を歯髄幹動脈と小さい径の細動脈にあてはめるならば、前者はタイト(tight)であり、後者は非常にタイト(very tight)ということになる。

一方、ラット網及び腸間膜の細静脈の内皮細胞間接着装置は線条ひだ(discontinuous low-profile ridges and grooves)だけから成ると報告され、ネコ及びヒト歯髄の細静脈のそれも同様の報告がなされている。著者の用いたラット切歯歯髄幹静脈の場合、全く同じ様な結果を得た。ところが、小さい径の細静脈の場合、それはタイト結合と線条ひだの両構造により形成されていた。幹静脈内皮細胞間接着装置が線条ひだのみによって形成されていること、そして連続型毛細血管内皮細胞間接着装置がタイト結合のみによって形成されていることからして、この小さい径の細静脈の結合はこれらの中間形態を示すものであると理解される。

凍結切断レプリカ法を用いた、有窓型毛細血管に関する報告は多くの研究者により



行われている(Maul, 1971; Simionescu, M. et al., 1974; Köling & Rask-Andersen, 1983; Ekblom & Hansson, 1984; Bearer & Orci, 1985; Lombardi et al., 1986)。図44はラット小腸上皮直下の有窓型毛細血管を凍結切断後、エッチングして得たレプリカ像である。方法は切歯歯髓の場合とやや異なるが、窓の径、分布状態、分布密度などを比較検討する上での問題はないと考える。窓の形あるいはその径に関しては歯髓中にみられるそれと大差ないが、その分布状態に著しい違いが認められる。内皮の隣接する窓の中心間距離を計測したところ、平均して歯髓有窓型毛細血管で170nm、小腸のそれで120nmであった。一般に有窓型毛細血管の窓の中心間距離は130nmと考えられているから(Fawcett, 1986)、歯髓の有窓型毛細血管の窓の密集度はかなり低いわけである。さらに窓のない内皮部分である細胞質稜(cytoplasmic crest)は小腸で狭いが歯髓では非常に広い。これらのことから歯髓有窓型毛細血管の体液透過量は小腸のそれに比べてかなり少ないのではないかと推測し得る。

次に、連続型毛細血管の隣接する内皮細胞相互の間隙に見られる接着装置について述べることにする。分子量およそ4万、径約3nmのhorse-radish peroxidase (HRP)を用いたKarnovsky(1967)のトレーサー実験によると、筋組織中の連続型毛細血管の場合、内皮細胞間をHRPが通過することから、彼はそこに幅4nm程度の間隙が存在すると考えた。そして、内皮細胞間の結合は密着帯(zonulae occludentes)ではなく密着斑(maculae occludentes)であると論じた。また、肺の連続型毛細血管を用いたトレーサー実験でも同様の結果を得たとの報告がある(Schneeberger-Keeley & Karnovsky, 1968)。実験材料として前者はラットを後者はマウスを用いている。マウスでは問題ないとされるが、ラットの場合HRP投与はヒスタミン及びセロトニン放出による、内皮細胞間接合部の開大化に伴う透過性亢進を引き起こすことが知られている(Cotran & Karnovsky, 1967; Heltianu et al., 1982)。そのためKarnovskyはHRP投与に先立ちヒスタミン及びセロトニンに対する拮抗剤を用いており、また超微形態的にもHRPによる影響は見られなかったと述べている。一方、Paladeらのグループによると、血管内皮の細胞間接合部のほとんどは形態的にタイト(tight)な状態であり、機能的に11nmの大きさのフェリチンから3nmのミオグロビンあるいは2nmのヘムペプチドに対して透過性を示さなかったと報告している(Bruns & Palade, 1968; Clementi & Palade, 1969; Simionescu, N. et al., 1975; Simionescu, N., 1976; Palade et al., 1979; Simionescu, N., 1983)。このように物質の毛細血管内皮細胞間接合部における透過性の有無に関してはいまだ定説を得るに至っていない。

凍結切断法の利点は膜内部の広い正面観を得られることである。この方法を用いると、広い範囲に隣接する内皮細胞間の接合部位を観察できる。歯髓の連続型毛細血管の場合、幅10nm程度の間隙が接着装置のストランド中に点在していた。このタイト結合は不連続型密着帯(discontinuous zonula occludens)と呼ぶにふさわしい。実際にはこの方法で、内皮細胞間の接合面における細胞膜の真の表面での微細構造に関して、直接情報を得ることはできないが、著者はここに述べた間隙の存在がこの部位で小物質が出入りしていることを、形態的に反映しているものだと考えている。

管径10 $\mu$ m程の細静脈の内皮細胞間接着装置はタイト結合と線条ひだとから成っていた。毛細血管内皮細胞間接着装置がタイト結合だけから成っていること、そして幹静脈のそれが線条ひだだけから成っていることからすると、この小さい径の細静脈は毛細血管と幹静脈の中間的形態を示す構造であると考えられる。

タイト結合のストランドに関してSimionescu, M.ら(1985)は細動脈と毛細血管はE面上の溝の中に多数の膜内粒子を残すと報告している。ラット切歯歯髓血管の場合、幹動脈及び毛細血管ばかりでなく、細静脈内皮細胞間接合部においてもE面上のストラ



ンドの溝の中に多数の膜内粒子を残すという結果を得た。このようなことは、他の上皮に見られるタイト結合では滅多に起こらないことである。{(そのようなまれな例はマウス近位尿管で報告されている(Claude & Goodenough, 1973))}。絶えず流れ続ける血液に対し、細胞膜外葉を安定化させるための内皮細胞の適応性を示すものと彼らは述べている。

生涯成長を持続するラット切歯の歯髄に存在する毛細血管は、連続型から有窓型へと形態変化する。なかんずく、切歯の中部は変化中の血管が多くみられるため、窓の形成過程を研究するのに好都合の材料であり、部位でもある。この毛細血管内皮細胞に、底面のかなり浅い円形の輪郭を持った構造が認められた。その形状及び径が通常の窓構造と一致すること、さらにこの部位で窓形成が盛んに進行していることなどから、それらは窓形成過程の一段階を示す構造ではないかと思われる。Lombardiら(1986)は単離クローン化した牛副腎皮質中の血管内皮細胞を用いて、phorbol myristate acetateによりその窓の形成を増加方向へ刺激を行い、この内皮細胞の凍結切断エッチングレプリカを得た。その結果、同様の円形の輪郭を持った浅いくぼみ構造が出現すると報告し、彼らもこの構造が窓形成過程の一段階を示すものと考察している。

## 第5章 小括

歯髄中の血管標本を凍結切断レプリカ法により作製しTEMを用いて観察した。

歯髄幹動脈の内皮細胞間の結合は、少ないところで2条多いところで5~6条のストランドから成るタイト結合とその間に介在するギャップ結合により形成されており、とぎれることなく内皮細胞間を取り巻いている。管径10 $\mu$ mの細動脈の場合、内皮細胞間結合部は7~10条のタイト結合からなり、そこにギャップ結合は見られない。歯髄幹静脈の内皮細胞間の結合は、2~4条の線条ひだにより形成されている。小さい径の細静脈の内皮細胞間は1~2条のストランドからなるタイト結合と線条ひだにより形成されている。

有窓型毛細血管の窓は円形で、その径は50~60nmである。窓は30~40個がひとつの集団として有窓野を形成する。有窓野相互間には幅広い無窓野が介在し、互いに隔てられている。小腸に見られる有窓型毛細血管と比べると、その窓の径及び形において違いはないが、窓の分布密度においてはかなり異なり、歯髄中の毛細血管の窓の密度はかなり低い。連続型毛細血管の隣接する内皮細胞間のタイト結合は、2~3条のストランドから成るが、所々に、幅10nm程の間隙が存在しているので不連続密着帯と呼ぶにふさわしい。

## 全編総括

生涯成長を持続するラット切歯の歯髄中に存在する血管を超薄切片法と凍結切断レプリカ法によりTEMを用いて観察した。

歯髄中にみられる幹動脈を超薄切片法で観察すると、核領域が管腔側に膨隆した形態を持つ単層扁平もしくは立方状の内皮細胞と基底板から成る内膜、2~4層の平滑筋



層から成る3~4 $\mu$ m厚とよく発達した中膜，さらにその周囲の疎性結合組織から成る外膜の三層構造により形成されている。内皮細胞間のタイト結合の状態は凍結切断法により観察される。それによると歯髄幹動脈の場合，P面上の隆起あるいはE面上の溝として認められるタイト結合のストランドは，少ない部分で2条多い部分で5~6条からなり，ストランドの作る網目の中には，いたるところでギャップ結合が見られる。このタイト結合とギャップ結合からなる接着装置は，内皮細胞間を途切れることなく取り巻いている。ところが，小さい径の細動脈では，その内皮細胞間結合部にギャップ結合は見られずタイト結合のみが観察される。

切歯中部において，象牙芽細胞がyoung odontoblast(Takuma & Nagai,1971)と呼ばれる単層長円柱様形態に成長すると，毛細血管はこの細胞層中に進入し，象牙前質の直下で網目状の分布をする。ここにおいて毛細血管叢(Adams,1959の記述するsub-odontoblasticplexusに相当する)，直立毛細血管，毛細血管網(Adams,1959のpre-dentinal plexusあるいはBernick,1962のterminal vascular capillary plexusに相当する)により作られる象牙芽細胞層を入れる立体的な籠が完成する。超薄切片法によると，これらのうち毛細血管叢と直立毛細血管のものは，ほとんどが連続型である。一方，毛細血管網には連続型と有窓型の両型の毛細血管が混在して見られる。切歯中部におけるこの混在状態は，切縁側のold odontoblast(Takuma& Nagai,1971)層中の毛細血管網では，大多数の毛細血管が有窓型を示す状態に変化する。このことは切歯中部で毛細血管が連続型から有窓型へと，形態変化を起こしていることを強く示唆するものである。凍結切断レプリカ法を用いて観察すると，連続型毛細血管の内皮細胞間のタイト結合が幅広く見られる。このタイト結合はP面上での隆起あるいはE面上での溝として認められる，2~3条の平行に走るストランドにより作られている。ところが，所々に幅10nm程度の不連続部分より成る間隙が存在しているので，このタイト結合は不連続密着帯(discontinuous zonula occludens)と呼ぶにふさわしい。この間隙部分を通した小物質の透過性はその構造から十分想像される。一方，有窓型毛細血管の窓は象牙質側を向く傾向が強く，透過物質のこの方向への流れを導く構造であると解される。また窓の径は50~60nm，その形は正円に近く，他の組織に見られる窓と比較して大きな違いは認められなかった。ところがその分布状態において，少なからず様相を異にしている。歯髄の有窓型毛細血管の窓は30~40個がひとつの有窓野を形成しているが，この有窓野相互間にはかなり広い無窓野が介在し，結果として窓の分布密度はかなり低いようである。この切歯中部に存在する有窓型毛細血管には超薄切片法，凍結切断レプリカ法ともに窓形成過程中にあるものと思われる構造が観察された。

超薄切片法で見る歯髄中の静脈は，単層の扁平な内皮細胞と基底板のみから成り，構造としては毛細血管様ではあるが，その管径が大きいことから容易に区別できる。凍結切断レプリカ法で観察すると，小さい径の細静脈の内皮細胞間の結合は，1~2条のストランドからなるタイト結合と，1~2条の線条ひだ(Simionescu,M.ら,1975の述べる，discontinuous low-profile ridges and groovesに相当する)から形成されている。またこの血管の内皮細胞のタイト結合では，E面上のストランドの溝の中に多数の膜内粒子を残すという結果も得られた。一方，幹静脈の内皮細胞間の接合部は2~4条程の線条ひだのみにより形成されている。



## 結語

ラット下顎切歯歯髄中に存在する血管を超薄切片法及び凍結割断レプリカ法によりTEMを用いて観察し、以下のような結果を得た。

### I 超薄切片法によるTEM観察

- 1) 動脈は核領域が管腔側に膨隆した形態を持つ単層の内皮細胞，連続する基底板，2～4層の平滑筋細胞層及びその周囲に存在する疎性結合組織から成る。
- 2) 歯髄中に存在する大多数の静脈は扁平な内皮細胞と基底板からなり，平滑筋細胞層を欠くことが常である。
- 3) 切歯基底部には連続型毛細血管のみ見られる。また中部から切縁側に存在する毛細血管叢と直立毛細血管に見られるものもほとんどが連続型を示す。
- 4) 切歯中部において毛細血管は象牙芽細胞層中に進入し，毛細血管網を形成する。この血管網には連続型と有窓型の両型の毛細血管が混在する。
- 5) 切歯切縁側部の毛細血管網では大部分が有窓型毛細血管であり，連続型毛細血管はまれである。
- 6) これらのことから歯髄周辺部毛細血管は象牙質の石灰化にともない連続型から有窓型へ形態変化を起こすと考えられる。

### II 凍結割断レプリカ法によるTEM観察

- 1) 幹動脈の内皮細胞間の結合は，少ないところで2条多いところで5～6条のストランドからなるタイト結合とそのあいだに介在するギャップ結合により形成されており，とぎれることなく内皮細胞間を取り巻いている。一方，小さい径の細動脈の結合は7～10条のストランドからなるタイト結合のみによって形成されている。
- 2) 幹静脈の内皮細胞間には，2～4条程の線条ひだのみが見られる。一方，小さい径の細静脈の内皮細胞間は1～2条のストランドからなるタイト結合と線条ひだにより形成されている。
- 3) 有窓型毛細血管の窓は円形で，その径は50～60nmである。窓は30～40個がひとつの集団として有窓野を形成する。有窓野相互間には幅広い無窓野が介在し，互いに隔てられている。
- 4) 連続型毛細血管の隣接する内皮細胞間のタイト結合は，2～3条のストランドからなるが，所々に幅10nm程度の間隙が存在しているので不連続密着帯(discontinuous zonula occludens)と呼ぶにふさわしい。

## 謝辞

終わりに臨み懇篤なるご指導とご校閲の労をとられた仙波輝彦教授に深甚なる謝意を捧げます。また，本研究にご協力下さいました和田薫助教授ならびに中間孝子先生に厚くお礼申し上げます。尚，本研究の一部は昭和61年度並びに平成元年度文部省科学研究費補助金，奨励研究(A)（課題番号61771409並びに01771473）により行われた。



# 引用文献

- 1 Abe, K., Takano, H. and Ito, T.: Microvasculature of the mouse epididymis, with special reference to fenestrated capillaries localized in the initial segment. *Anat. Rec.*, 209, 209-218, 1984.
- 2 Adams, D.: Peripheral capillaries in the rodent incisor pulp. *J. Dent. Res.*, 38, 969-978, 1959.
- 3 Bearer, E.L. and Orci, L.: Endothelial fenestral diaphragms.; A quick-freeze, deep-etch study. *J. Cell Biol.*, 100, 418-428, 1985.
- 4 Beertsen, W. and Niehof, A.: Root-analogue versus crown-analogue dentin: A radioautographic and ultrastructural investigation of the mouse incisor. *The Anatomical Record*, 215, 106-118, 1986.
- 5 Bennett, H.S., Luft, J.H. and Hampton, J.C.: Morphological classifications of vertebrate blood capillaries. *Am. J. Physiol.*, 196(2), 381-390, 1959.
- 6 Bernick, S.: Age changes in the blood supply to molar teeth of rats. *Anat. Rec.*, 144, 265-274, 1962.
- 7 Bhaskar, S.W. 編(尾持昌次訳): *Orban口腔組織, 発生学* 9th ed. (101-132頁), (141-168頁), 医歯薬出版, 東京, 1982.
- 8 Bloom, W. and Fawcett, D.W. (山田英智, 市川厚, 黒住一昌監訳): *組織学*, 10th ed., 411-451, 広川書店, 東京, 1975.
- 9 Bolendar, P.P.: Stereological analysis of the guiana pig pancreas. I Analytical model and quantitative description of nonstimulated pancreatic exocrine cells. *J Cell Biol.*, 61, 269-287, 1974.
- 10 Branton, D.: Fracture faces of frozen myelin. *Exptl. Cell Res.*, 45, 703-707, 1967.
- 11 Branton, D. and Southworth, D.: Fracture faces of frozen chlorella and saccharomyces cells. *Exptl. Cell Res.*, 47, 648-653, 1967.
- 12 Bretscher, M.S.: 細胞膜の分子群. 別冊サイエンス, 細胞分子生物学 (内田驍監修), (84-94頁), 日経サイエンス社, 東京, 1986.
- 13 Brown, M.S. and Goldstein, J.L.: LDLレセプターとコレステロール代謝. 別冊サイエンス, 細胞分子生物学 (内田驍監修), (118-129頁), 日経サイエンス社, 東京, 1986.
- 14 Bruns, R.R. and Palade, G.E.: Studies on blood capillaries. I General organization of blood capillaries in muscle. *J. Cell Biol.*, 37, 244-276, 1968.
- 15 Bruns, R.R. and Palade, G.E.: Studies on blood capillaries. II Transport of ferritin molecules across the wall of muscle capillaries. *J. Cell Biol.*, 37, 277-299, 1968.
- 16 Bundgaard, M., Frokjaer-Jensen, J. and Crone, C.: Endothelial plasmalemmal vesicles as elements in a system of branching invaginations from the cell surface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 6439-6442, 1979.
- 17 Bundgaard, M.: Transport pathways in capillaries - in search of pores. *Ann. Rev. Physiol.*, 42, 325-336, 1980.
- 18 Bundgaard, M., Hagman, P. and Crone, C.: The three-dimensional organization



- of plasmalemmal vesicular profiles in the endothelium of rat heart capillaries. *Microvascular Research*, 25, 358-368, 1983.
- 19 Cauna, N. & Hindere, K.H.: Fine structure of blood vessels of the human nasal respiratory mucosa. *Ann. Otol.*, 78, 865-879, 1969.
  - 20 Claude, P. and Goodenough, D.A.: Fracture faces of zonulae occludentes from "tight" and "leaky" epithelia. *J Cell Biol.* 58, 390-400, 1973
  - 21 Clemente, C.D.: Gray's Anatomy, Thirtieth American Edition, pp850-861 Lea & Febiger, Philadelphia, 1985.
  - 22 Clementi, F. and Palade, G.E.: Intestinal capillaries. I Permeability to peroxidase and ferritin. *J. Cell Biol.*, 41, 33- 58, 1969.
  - 23 Corpron, R.E., Avery, J.K. and Lee, S.D.: Ultrastructure of terminal pulpal blood vessels in mouse molars. *Anat. Rec.*, 179, 527-542, 1974.
  - 24 Cotran, R.S. and Karnovsky, M.J.: Vacular leakage induced by horseradish peroxidase in the rat. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 126, 557-561, 1967.
  - 25 Dahl, E. and Mjör, I.: The fine structure of the vessels in the human dental pulp. *Acta Odontol. Scand.*, 31, 223-230, 1973.
  - 26 Dobbing, J.: The blood-brain barrier. *Physiol. Rev.*, 41, 130-188, 1961.
  - 27 Ekblom, A. and Hansson, P.: A thin-section and freeze-fracture study of the pulp blood vessels in feline and human teeth. *Archs Oral Biol.*, 29, 413-424, 1984.
  - 28 Fawcett, D.W.: Bloom and Fawcett, A Textbook of Histology, 11th ed., (pp367-405), Igaku-Shoin/Sounders, Tokyo, 1986.
  - 29 Frokjaer-Jensen, J.: The plasmalemmal vesicular system in striated muscle capillaries and in pericytes. *Tissue and Cell*, 16, 31-42, 1984
  - 30 Garant, P.R., Szabo, G. and Nalbandian, J.: The fine structure of the mouse odontoblast. *Arch. oral Biol.*, 13, 857-876, 1968.
  - 31 Ghinea, N. and Simionescu, N.: Anionized and cationized hemeundecapeptides as probes for cell surface charge and permeability studies; differentiated labeling of endothelial plasmalemmal vesicles. *J. Cell Biol.*, 100, 606-612, 1985.
  - 32 波田次郎: 大黒鼠の歯牙及び顎骨の微細血管分布構造に就いて. 広島医学, 10巻9号 (別刊号10巻7号), 699-707, 1957.
  - 33 Hall, V., Roth, E. and Jonson, V.: The ultramicroscopic structure and minute functional anatomy of the glomerulus. (abstr.), *Anat. Rec.*, 115, 315, 1953.
  - 34 Han, S.S. and Avery, J.K.: The ultrastructure of capillaries and arterioles of the hamster dental pulp. *Anat. Rec.*, 145, 549-572, 1963.
  - 35 Hart, T. and Pino, R.: Capillary permeability in the pancreas and colon: restriction of exogenous and endogenous molecules by fenestrated endothelia. *Am. J. Anat.*, 175, 49-58, 1986.
  - 36 長谷川一夫: 大黒鼠の下顎歯の血管分布について. 九州歯科学会雑誌, 20, 91-98, 1966.
  - 37 Heltianu, C., Simionescu, M. and Simionescu, N.: Histamine receptors of the microvascular endothelium revealed in situ with a histamine-ferritin conjugate: characteristic high-affinity binding sites in venules. *J.*



- Cell Biol., 93, 357-364, 1982.
- 38 蒲宣雄: 合成樹脂鑄型法による歯牙の血管系の立体的研究. 岐阜医大紀, 9, 160-175, 1961.
  - 39 Karnovsky, M.J.: The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. J. Cell Biol., 35, 213-236, 1967.
  - 40 Kobayashi, S.: Occurrence of unique colloidal particles in the snake blood and their transport across the capillary wall. A proposal of a new hypothesis on the permeability of the blood capillaries. Arch. histol. jap., 31, 511-528, 1970.
  - 41 Köling, A. and Rask-Andersen, H.: The blood capillaries in the subodontoblastic region of the human dental pulp, as demonstrated by freeze-fracturing. Acta Odontol. Scand., 41, 333-341, 1983.
  - 42 Larson, D.M. and Sheridan, J.D.: Intercellular junctions and transfer of small molecules in primary vascular endothelial cultures. J. Cell Biol., 92, 183-191, 1982.
  - 43 Leblond, C.P. and Weinstock, M.: A comparative study of dentin and bone formation. In "The Biochemistry and Physiology of Bone" (G.H. Bourne, ed.), (pp517-562), Academic Press, New York, 1976.
  - 44 Lombardi, T., Montesano, R., Furie, M.B., Silberstein, S.C. and Orci, L.: Endothelial diaphragmed fenestrae: In vitro modulation by Pholbol miristate acetate. J. Cell Biol., 102, 1965-1970, 1986.
  - 45 Matsushima, S. and Reiter, R.J.: Ultrastructural observations of pineal gland capillaries in four rodent species. Am. J. Anat., 143, 265-282, 1975.
  - 46 Maul, G.G.: Structure and formation of pores in fenestrated capillaries. J. Ultrastructure Research, 36, 768-782, 1971.
  - 47 Moor, H., Mühlethaler, K., Waldner, H. and Frey-Wyssling, A.: A new freezing-ultramicrotome. J. Biophysic. Biochem. Cytol., 10, 1-13, 1961.
  - 48 Muir, A.R. and Peters, A.: Quintuple-layered membrane junctions at terminal bars between endothelial cells. J. Cell Biol., 12, 443-448, 1962.
  - 49 Nagai, N.: Electron microscopy of the cytoplasmic bodies in the odontoblasts of young rat incisor. Bull. Tokyo. Dent. Coll., 11(2), 47-83, 1970.
  - 50 Nakamura, O., Ghoda, E., Ozawa, M., Senba, I., Miyazaki, H., Murakami, T. and Daikuhara, Y.: Immunohistochemical studies with a monoclonal antibody on the distribution of phosphophoryn in predentin and dentin. Calcif. Tissue Int., 37, 491-500, 1985.
  - 51 Noguchi, Y., Shibata, Y., and Yamamoto, T.: Endothelial vesicular System in rapid-frozen muscle capillaries revealed by serial sectioning and deep etching. Anat. Rec., 217, 355-360, 1987.
  - 52 Okada, S., Ohta, Y., Tokioka, T., Kuramae, K. and Lin, R.T.: Microvascular patterns of the dental pulp of the upper major incisor of the rabbit. Okajima Folia Anat. Jpn., 63, 255-264, 1986.
  - 53 Palade, G.E.: Transport in quanta across the endothelium of blood



- capillaries. (abstr.), *Anat. Rec.*, 136, 254, 1960.
- 54 Palade, G.E.: Blood capillaries of the heart and other organs. *Circulation*, 24, 368-384, 1961.
  - 55 Palade, G.E. and Bruns, R.R.: Structural modulations of plasmalemmal vesicles. *J. Cell Biol.*, 37, 633-648, 1968.
  - 56 Palade, G.E., Simionescu, M. and Simionescu, N.: Structural aspects of the permeability of the microvascular endothelium. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.*, 463, 11-32, 1979.
  - 57 Pappenheimer, J.R., Renkin, E.M. and Borrero, L.M.: Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes. A contribution to the pore theory of capillary permeability. *Am. J. Physiol.*, 167, 13-64, 1951.
  - 58 Pino, R.M.: Restriction to endogenous plasma proteins by a fenestrated capillary endothelium: An ultrastructural immunocytochemical study of choriocapillary endothelium. *Am. J. Anat.*, 172, 279-289, 1985.
  - 59 Raviola, E. and Karnovsky, M.J.: Evidence for a blood-thymus barrier using electron-opaque tracers. *J. Exp. Med.*, 136, 466-498, 1972.
  - 60 Reese, T.S. and Karnovsky, M.J.: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J. Cell Biol.*, 34, 207-217, 1967.
  - 61 Renkin, E.M.: Relation of capillary morphology to transport of fluid and large molecules: A review. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.*, 463, 81-91, 1979.
  - 62 Rhodin, J.A.G.: The diaphragm of capillary endothelial fenestration. *J. Ultrastruct. Res.*, 6, 171-185, 1962.
  - 63 Rhodin, J.A.G.: The ultrastructure of mammalian arterioles and precapillary sphincters. *J. Ultrastruct. Res.*, 18, 181-223, 1967.
  - 64 Riedel, H., Fromme, H.G. and Tallen, B.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Frage der Kapillarmorphologie in der menschlichen Zahnpulpa. *Archs oral Biol.*, 11, 1049-1055, 1966.
  - 65 Sanan, D.A., Van der Westhuyzen, D.R., Gevers, W. and Coetzee, G.A.: The surface distribution of low density lipoprotein receptors on cultured fibroblasts and endothelial cells. *Histochemistry*, 86, 517-523, 1987.
  - 66 Schneeberger-Keeley, E.E. and Karnovsky, M.J.: The ultrastructural basis of alveolar-capillary membrane permeability to peroxidase used as a tracer. *J. Cell Biol.*, 37, 781-793, 1968.
  - 67 Seltzer, S. and Bender, I.B.: The dental pulp -biologic considerations in dental procedures- Third Edition, 131-151, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1984.
  - 68 Semba, T. and Ishida, M.: On the fluid flow in the pulp of young rat incisors. *Proc. 10th Int. Cong. Anat.*, Yamada, E. ed., Science Council of Japan, 409, 1975.
  - 69 仙波輝彦: 象牙質と歯髄間にみられる体液の細胞間連絡について. Talmage, R.V., 小沢英浩編 硬組織の形成と石灰化-第10回国際解剖学会硬組織シンポジウム記録-, (83-101頁), 社会保険出版社, 東京, 1978.



- 70 仙波輝彦, 田畑正志, 山本博崇: 合成樹脂鑄型法によるラット下顎切歯血管の立体構築について. 鹿大医誌, 35, 141-152, 1983.
- 71 Semba, T. and Tabata, S.: Characteristic structures of the blood vessels in the rat incisor tooth as revealed by electron microscope. XII Int. Anat. Cong., London, A 637, 1985.
- 72 仙波輝彦, 田畑正志, 和田薫, 中間孝子: 炎症の場としての歯髄組織の特性に関する分子生物学的研究, 1 歯髄血管網に関する機能形態学的研究. 昭和60年度科学研究費補助金(総合研究A)研究成果報告書, 演題番号59370043, 代表者 小倉保己, 1-7, 1986.
- 73 仙波輝彦, 田畑正志, 和田薫, 中間孝子: 炎症の場としての歯髄組織の特性に関する分子生物学的研究, 2 歯髄毛細血管及び体液流動に関する研究の基礎となる事項の文献学的考察, 昭和60年度科学研究費補助金(総合研究A)研究成果報告書, 演題番号59370043, 代表者 小倉保己, 8-17, 1986.
- 74 Shivers, R.R.: The blood-brain barrier of a reptile, *Anolis Carolinensis*. A freeze-fracture study. Brain Research, 169, 221-230, 1979.
- 75 Simionescu, D. and Simionescu, M.: Differentiated distribution of the cell surface charge on the alveolar-capillary unit. Microvascular Research, 25, 85-100, 1983.
- 76 Simionescu, M., Simionescu, N. and Palade, G.E.: Morphometric data on the endothelium of blood capillaries. J. Cell Biol., 60, 128-152, 1974.
- 77 Simionescu, M., Simionescu, N. and Palade, G.E.: Segmental differentiations of cell junctions in the vascular endothelium. The microvasculature. J. Cell Biol., 67, 863-885, 1975.
- 78 Simionescu, M., Simionescu, N. and Palade, G.E.: Segmental differentiations of cell junctions in the vascular endothelium. Arteries and veins. J. Cell Biol., 68, 705-723, 1976.
- 79 Simionescu, M., Simionescu, N., Silbert, J.E. and Palade, G.E.: Differentiated microdomains on the luminal surface of the capillary endothelium, II partial characterization of their anionic sites. J. Cell Biol., 90, 614-621, 1981.
- 80 Simionescu, N., Simionescu, M. and Palade, G.E.: Permeability of muscle capillaries to small heme-peptides, evidence for the existence of patent transendothelial channels. J. Cell Biol., 64, 586-607, 1975.
- 81 Simionescu, N.: 毛細血管透過性の構造的基盤. 生体の科学, 27(2), 152-161, 1976.
- 82 Simionescu, N., Simionescu, M. and Palade, G.E.: Differentiated microdomains on the luminal surface of the capillary endothelium, I preferential distribution of anionic sites. J. Cell Biol., 90, 605-613, 1981.
- 83 Simionescu, N.: Cellular aspects of transcapillary exchange. Physiol. Rev., 63, 1536-1579, 1983.
- 84 Simionescu, N. and Simionescu, M.: Histology, Cell and Tissue Biology, 5th edition, Edited by Weith, L., 371-433, The Macmillan Press, New York, 1983.
- 85 Steere, R.L.: Electron microscopy of structural detail in frozen



- biological specimens. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 3(1), 45-60, 1957.
- 86 Stehbens, W.E.: Endothelial vesicles and protein transport. *Nature*, 207, 197-198, 1965.
  - 87 須田立雄, 小澤英浩, 高橋栄明: 骨の科学, (1-10 項) 医歯薬出版, 東京, 1986.
  - 88 田畑正志, 仙波輝彦: ラット切歯歯髓毛細血管の部位的变化. 歯基礎誌, 27, 1055-1064, 1985.
  - 89 Tabata, S. and Semba, T.: The blood vessels in the rat incisor pulp as revealed by TEM of thin sections and freeze-fracture replicas and SEM of resin casts. *Proc. 11th Int. Cong. on Electron Microscopy*, 3073-3074, Kyoto, 1986.
  - 90 田畑正志, 仙波輝彦, 和田薫: 凍結切断レプリカ法によるラット切歯歯髓血管の観察. 歯基礎誌, 29, 643-651, 1987.
  - 91 Tabata, S. and Semba, T.: Examination of blood capillaries in rat incisor pulp by TEM of thin sections and freeze-fracture replicas. *J. Electron Microsc.*, 36, 283-293, 1987.
  - 92 田畑正志, 仙波輝彦: 超薄切片法及び凍結切断法によるラット切歯歯髓の動脈と静脈. 歯基礎誌, 30, 786 - 793, 1988.
  - 93 Tabata, S. & Semba, T.: Examination of arteries and veins in rat incisor pulp by TEM of freeze-fracture replicas. *J. Electron Microsc.*, 37, 323 - 328, 1988.
  - 94 Takuma, S. and Nagai, N.: Ultrastructure of the rat odontoblasts in various stages of their development and maturation. *Arch. Oral Biol.*, 16, 993-1011, 1971.
  - 95 Tani, E., Yamagata, S. and Ito, Y.: Freeze-fracture of capillary endothelium in rat brain. *Cell Tiss. Res.*, 176, 157-165, 1977.
  - 96 Wagner, R.C.: The effect of tannic acid on electron images of capillary endothelial cell membrane. *J. Ultrastruct. Res.*, 57, 132-139, 1976.
  - 97 Weibel, E.R.: Morphological basis of alveolar-capillary gas exchange. *Physiol. Rev.*, 53, 419-495, 1973.
  - 98 Weinstock, M. and Leblond, C.P.: Synthesis, migration, and release of precursor collagen by odontoblasts as visualized by radioautography after [ $^3\text{H}$ ] proline administration. *J. Cell Biol.*, 60, 92-127, 1974.
  - 99 Wisse, E.: An electron microscopic study of the fenestrated endothelial binding of rat liver sinusoid. *J. Ultrastruct. Res.*, 31, 125-150, 1969.
  - 100 Wissig, S.L.: The anatomy of secretion in the follicular cells of the thyroid gland. I The fine structure of the gland in the normal rat. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 7, 419-432, 1960.
  - 101 Wolff, J. und Merker, H.J.: Ultrastruktur und Bildung von Poren im Endothel von Porösen und geschlossenen Kapillaren. *Zeitschrift für Zellforschung*, 73, 174-191, 1966.
  - 102 Yamada, E.: The fine structure of the renal glomerulus of the mouse.



J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 1, 551-566, 1955.

- 103 山元寅男：毛細血管の微細構造と透過性．細胞，12(1)，6-11，ニューサイエンス社，東京，1985．



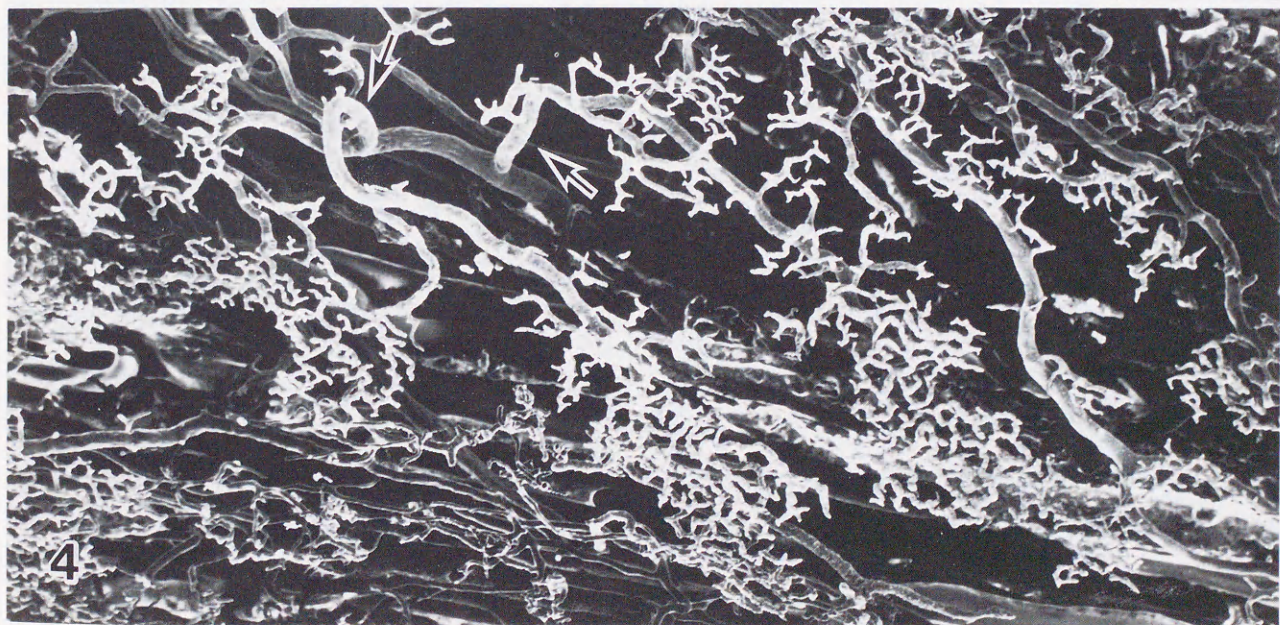
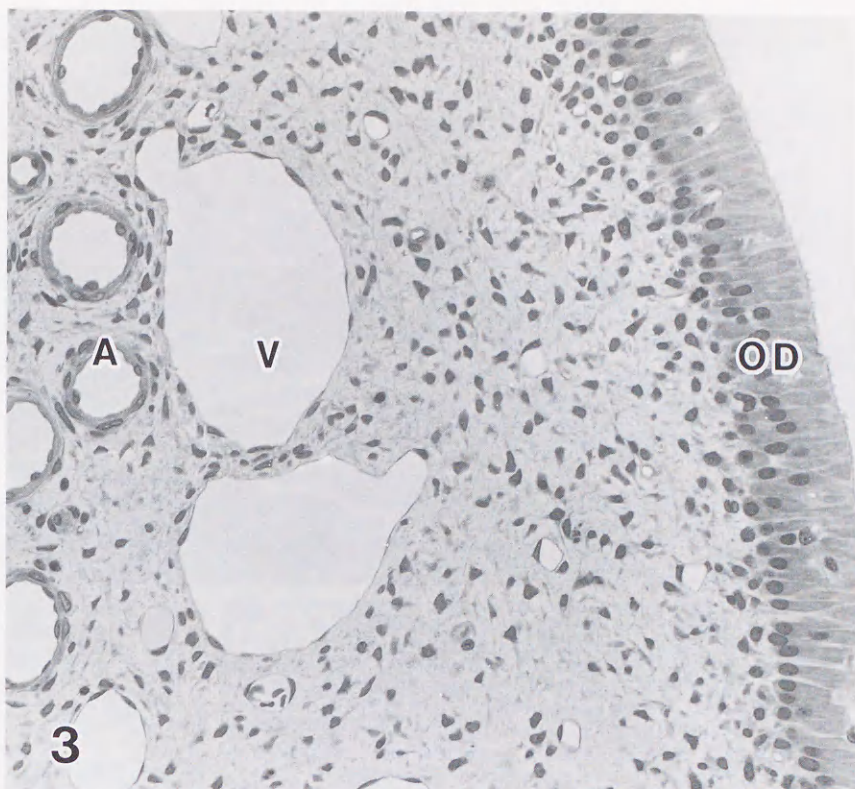


図2 切歯横断切片，H.E.染色. 60×

図3 切歯横断切片，H.E.染色. エナメル質と象牙質は除去されている.  
OD:象牙芽細胞，A:幹動脈，V:幹静脈. 320×

図4～7は合成樹脂血管鑄型をSEMで観察したものである.

図4 表面の血管を一部取り除いている. 正中面を唇側に向かって斜走する細動脈は分岐して(矢印)壁側動脈となり，歯髓表面を側方に向かって広がる. 130×



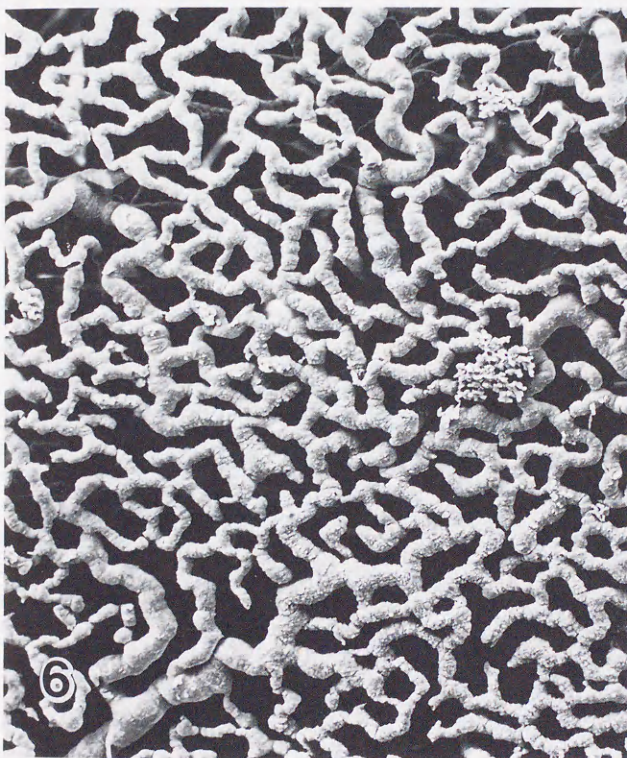
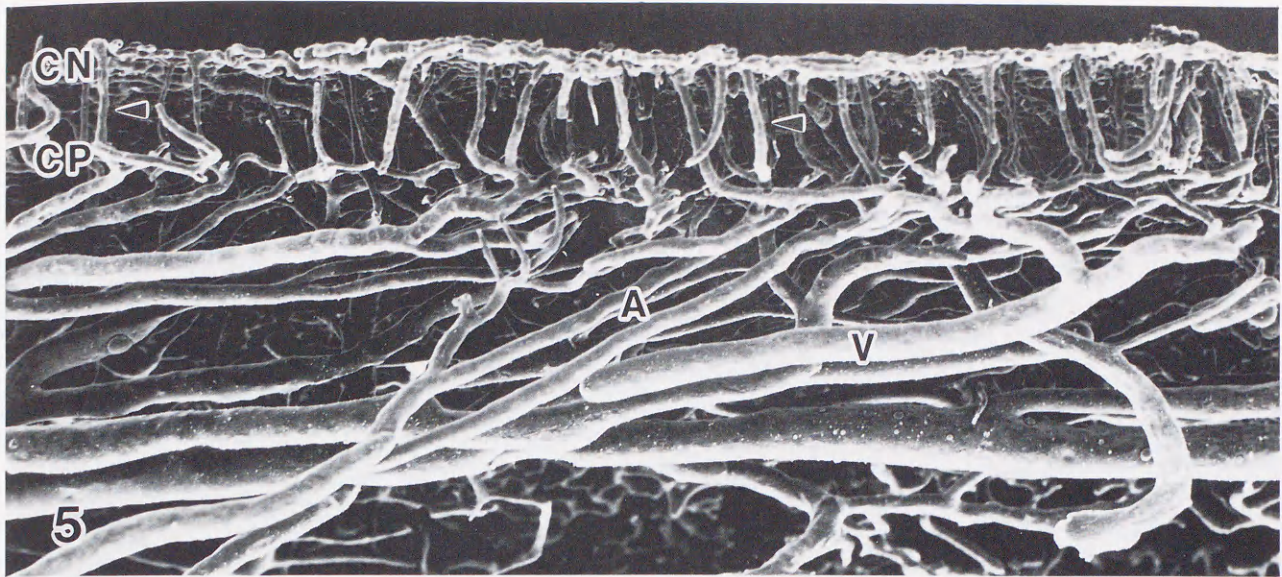


図5 歯髄表面の血管を正中断方向から見ている．上部に毛細血管網(CN)と直立毛細血管(矢頭)がみられ，その内部に毛細血管叢(CP)がある．細静脈(V)は細動脈に(A)比べて，緩やかな角度で走向している． 250×

図6 毛細血管網を唇側方向からみた像． 430×

図7 毛細血管網を側方からみた像． 430×



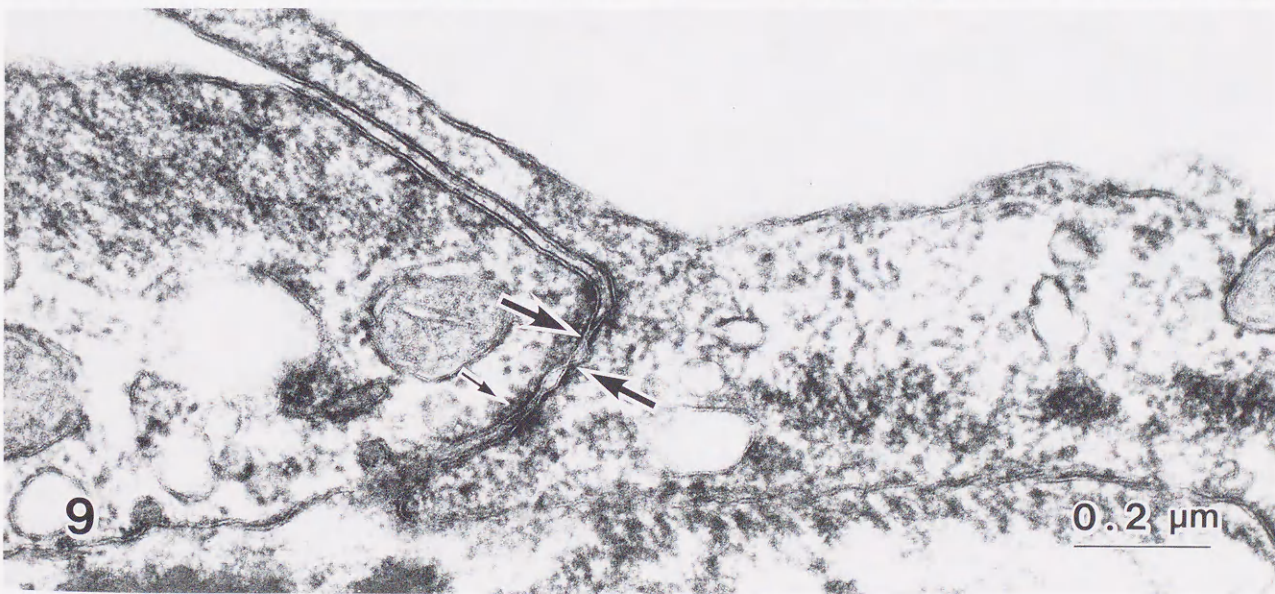
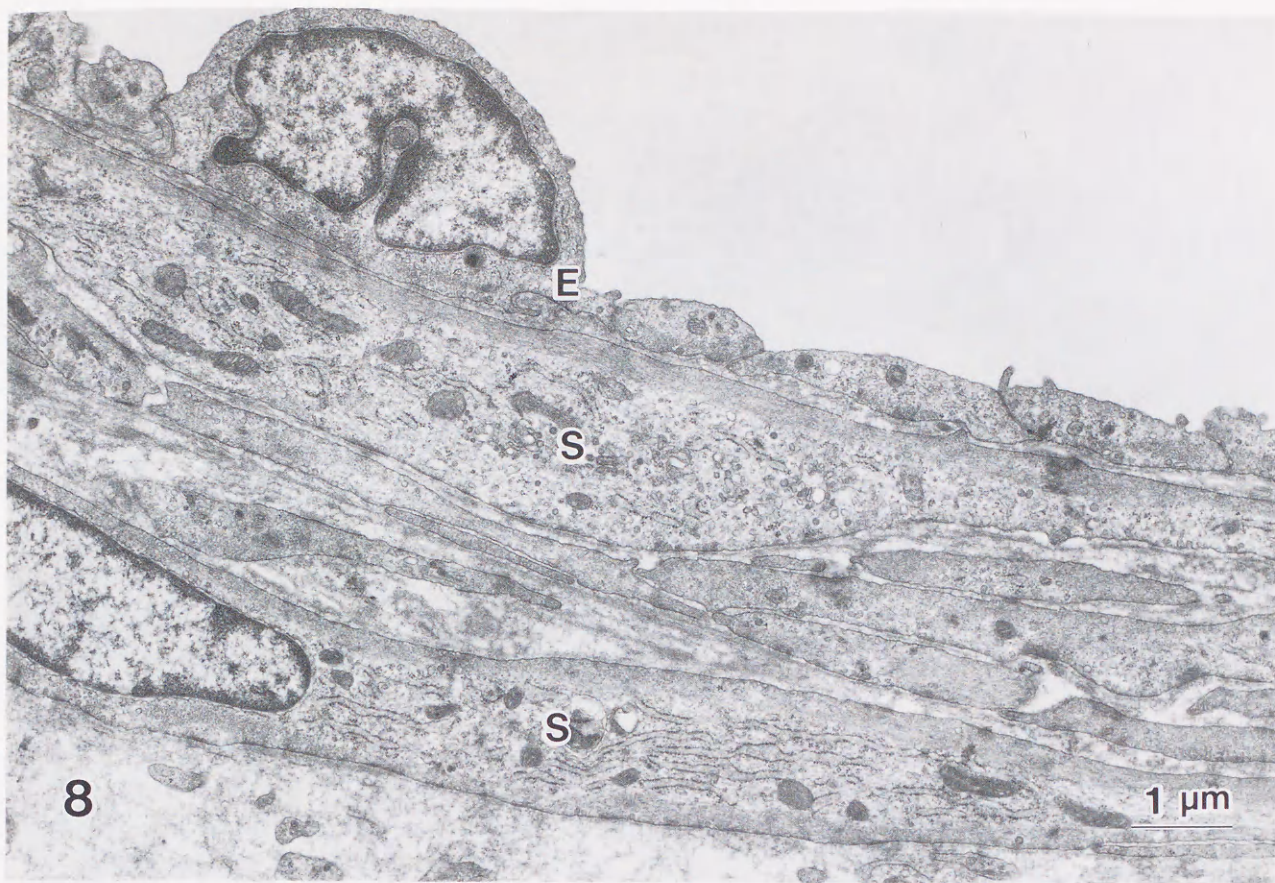


図8～30は超薄切片のTEM像である。

図8 歯髄中央の幹動脈。内皮細胞の核領域は管腔側に突出する。2～4層の平滑筋細胞層がこれを包む。E:内皮細胞, S:平滑筋細胞。 13,000×

図9 幹動脈内皮細胞間接合部。タイト結合（大きい矢印）と中間結合（小さい矢印）が見られる。 90,000×



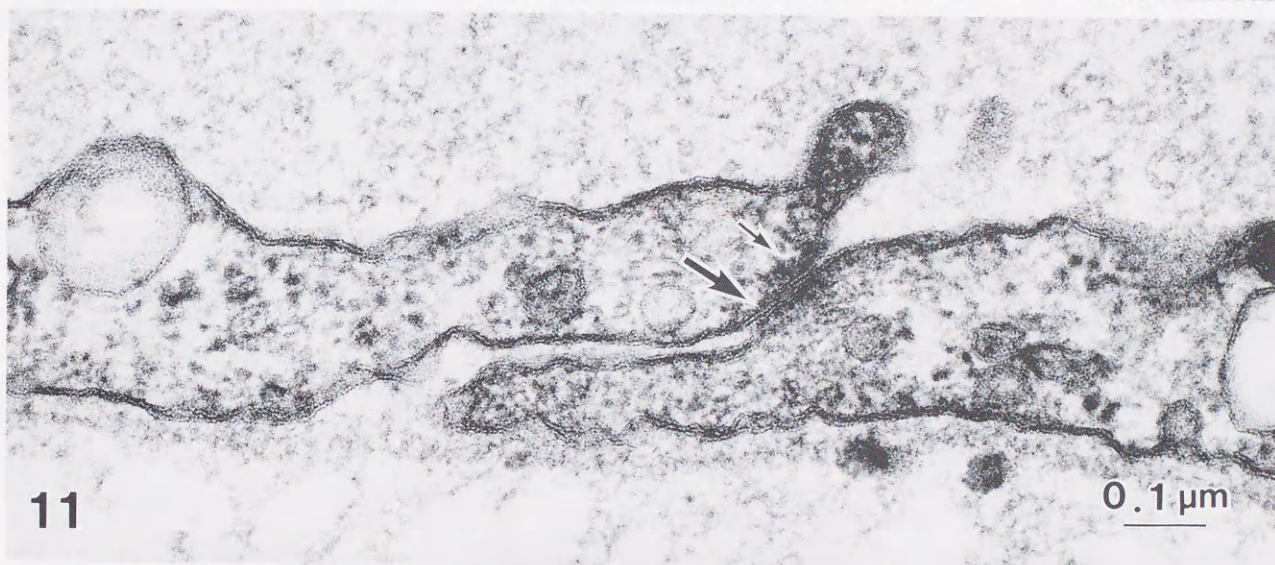
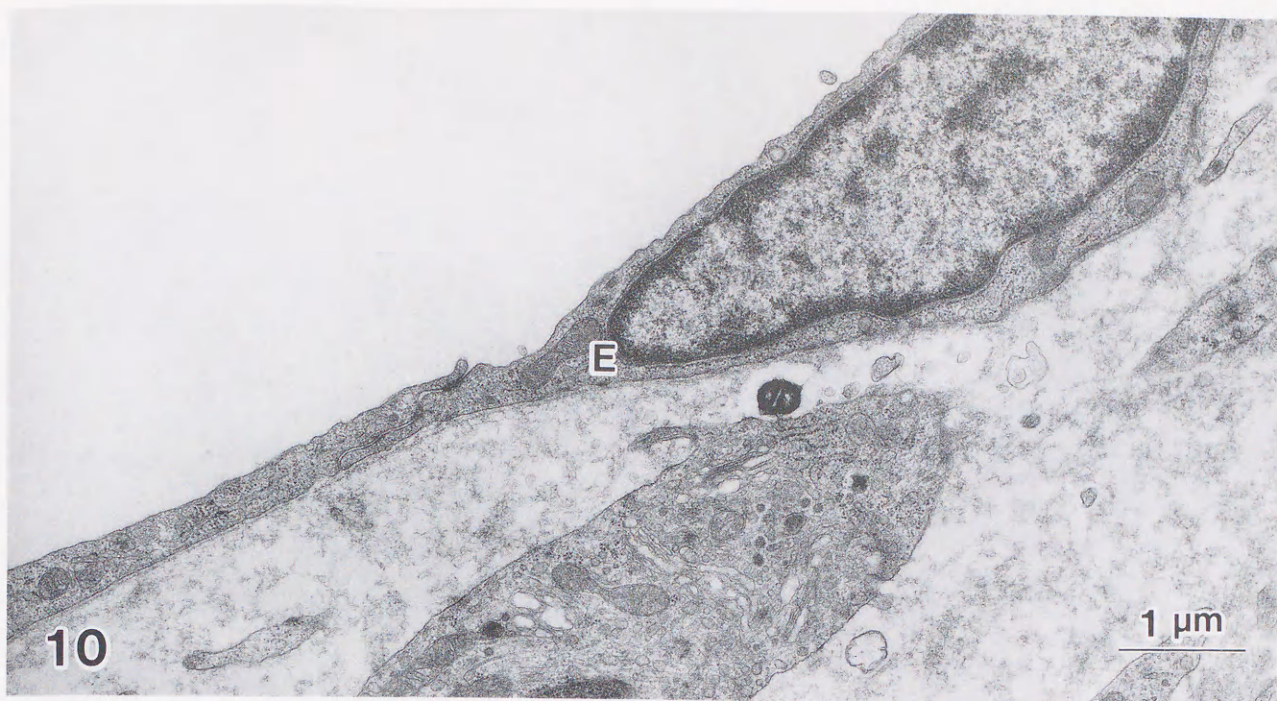


図10 歯髄中央の幹静脈. これは扁平な内皮細胞と基底板だけから成る. 構造としては毛細血管様であるが, 管径がそれに比べると非常に大きいことから区別できる.

E: 内皮細胞 17,000×

図11 幹静脈内皮細胞間接合部. タイト結合 (大きい矢印) と中間結合 (小さい矢印) とから成る. 111,000×



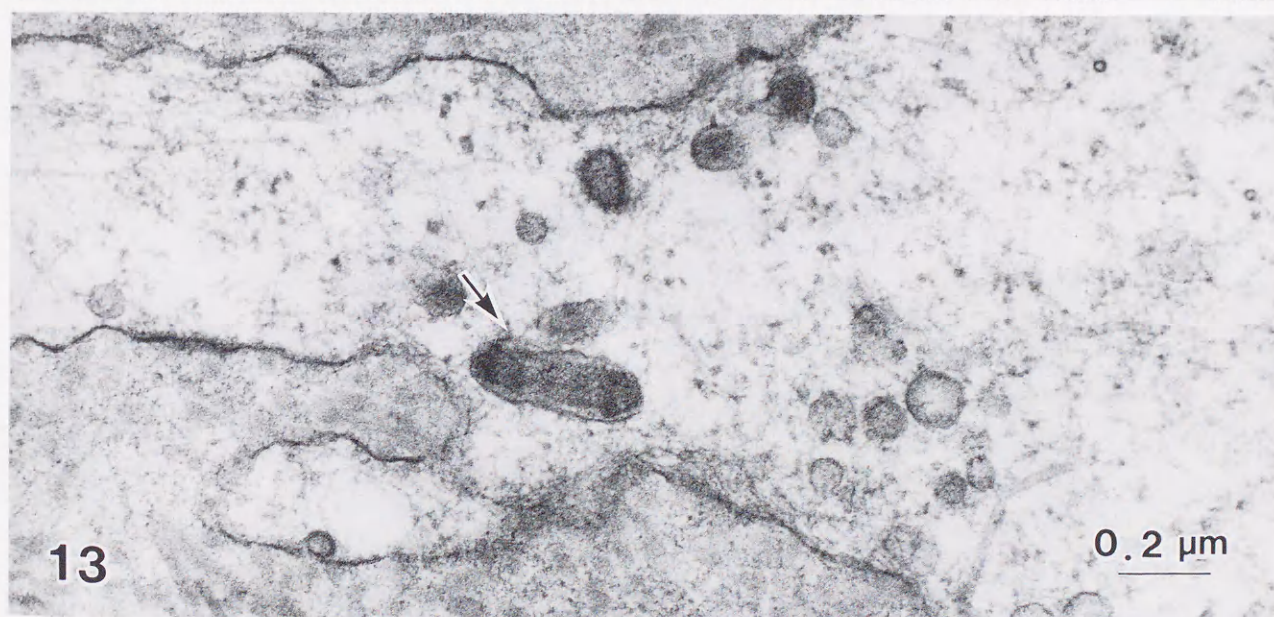
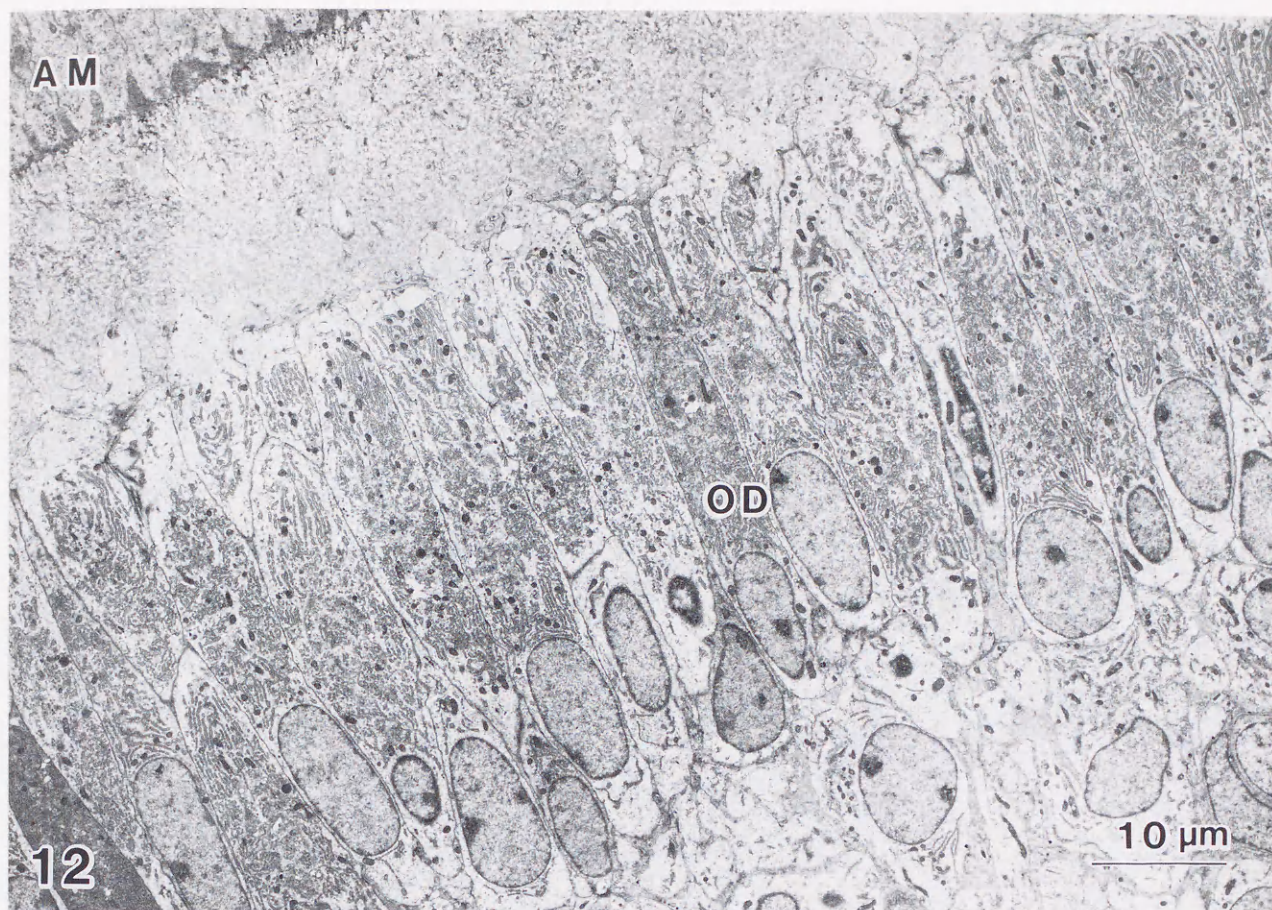


図12 切歯基底部. 象牙芽細胞(OD)が単層に並び, この後石灰化が始まるとこの層直下に連続型毛細血管が多数見られるようになる. AM:エナメル芽細胞. 1,800×

図13 象牙芽細胞の細胞質突起. 様々の大きさの小胞は象牙芽細胞の細胞質中で作られ, この突起から象牙前質中に放出される. 矢印はプロコラーゲンを入れている小胞を示す. 60,000×



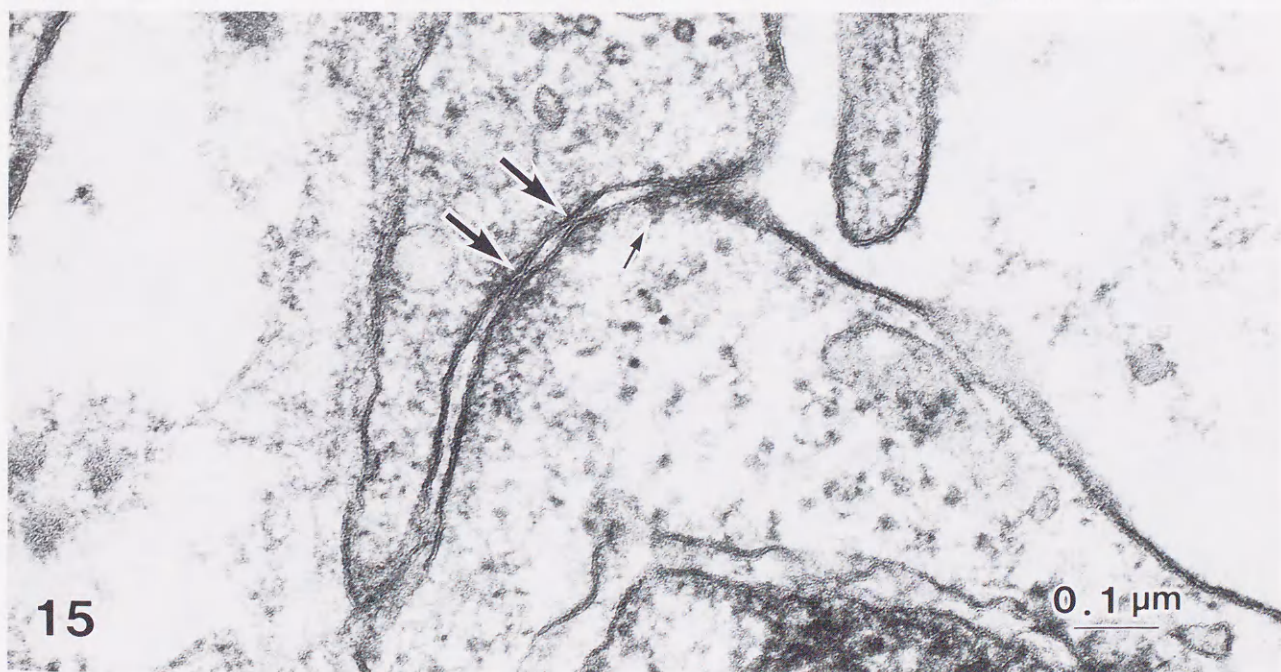


図14 象牙芽細胞直下の連続型毛細血管. 20,000×

図15 連続型毛細血管の内皮細胞間接合部. タイト結合（大きい矢印）と中間結合（小さい矢印）とから成る. 111,000×



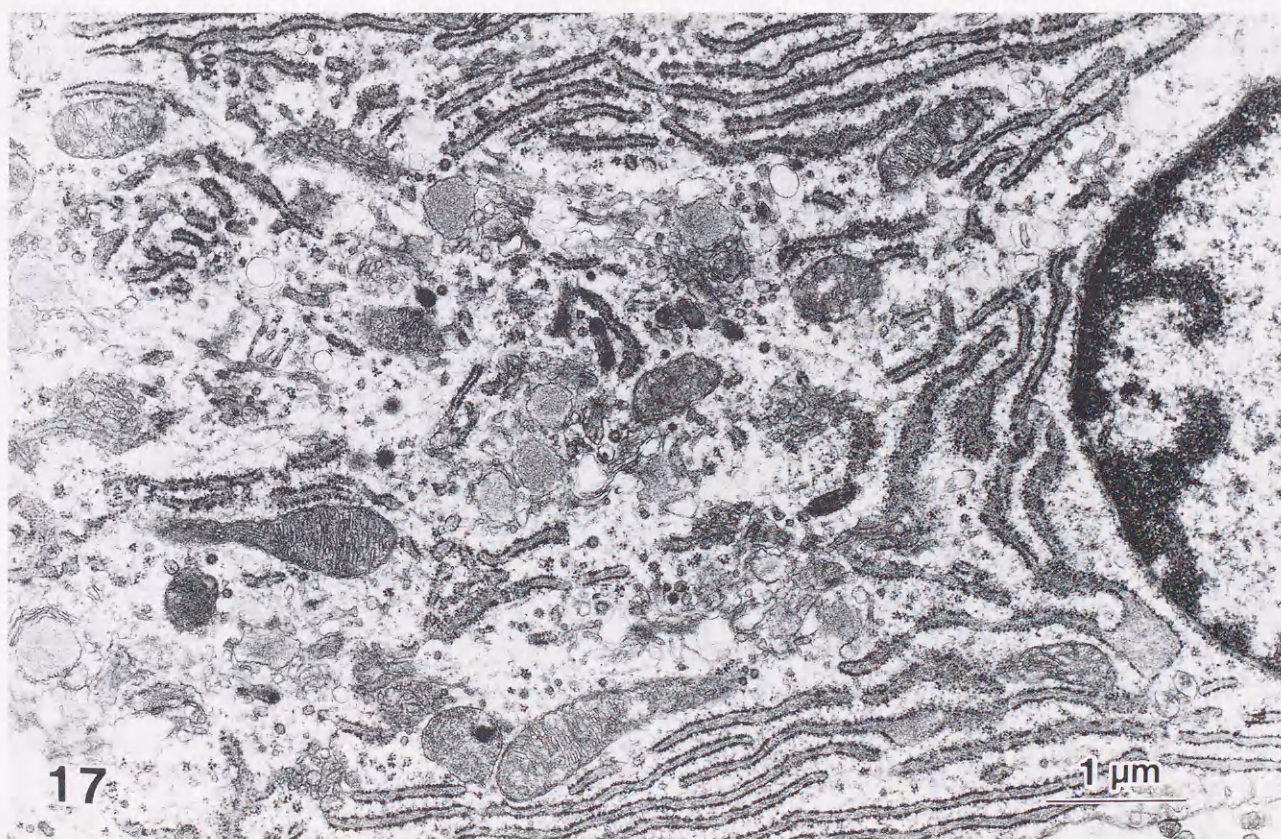
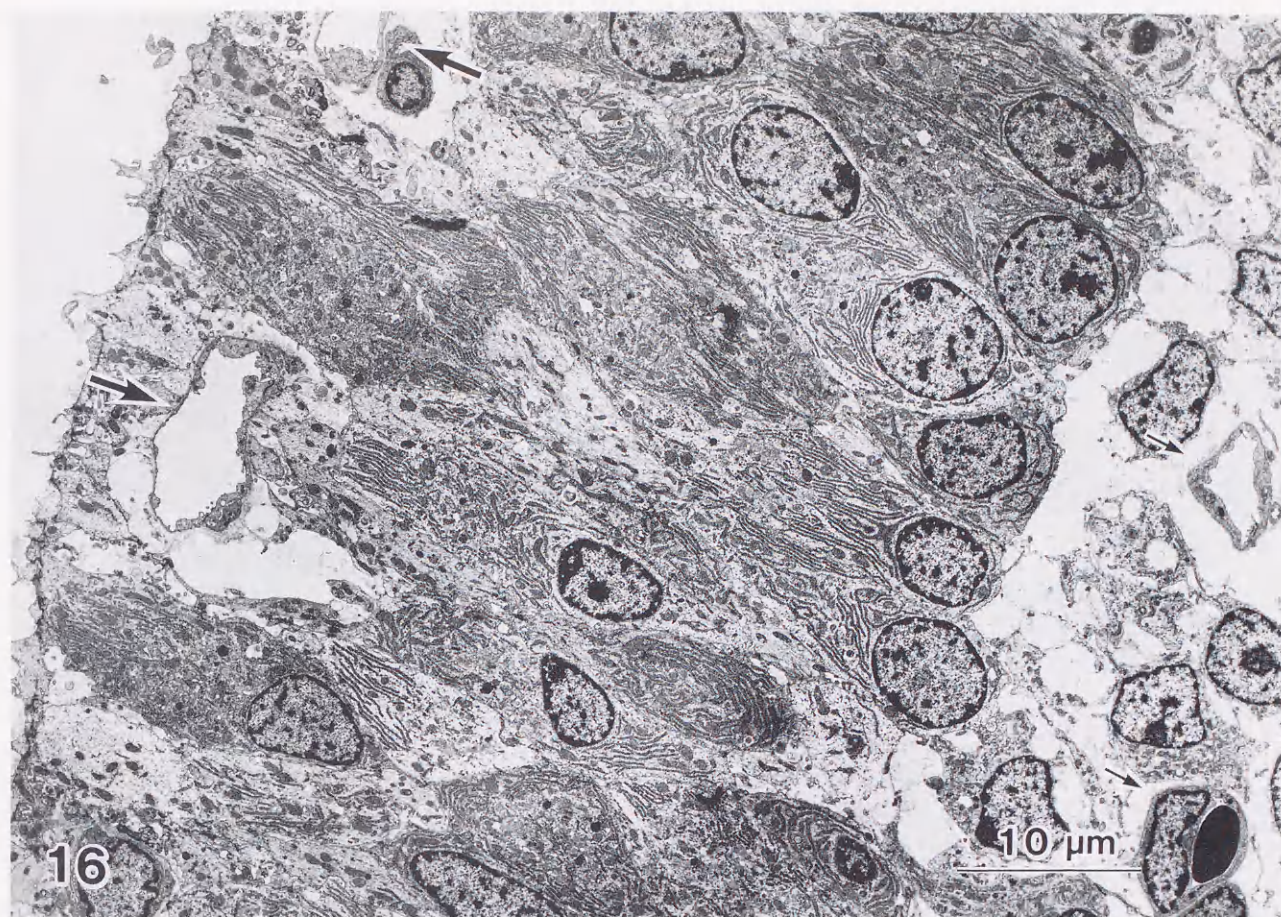


図16 切歯中部. 毛細血管は切歯中部において象牙芽細胞層中に進入し, 毛細血管網 (大きい矢印) を形成する. 象牙芽細胞層直下に毛細血管叢がみられる (小さい矢印) 象牙質は剥がれている. 2,400×

図17 象牙芽細胞の核上部細胞質を示す. 18,000×



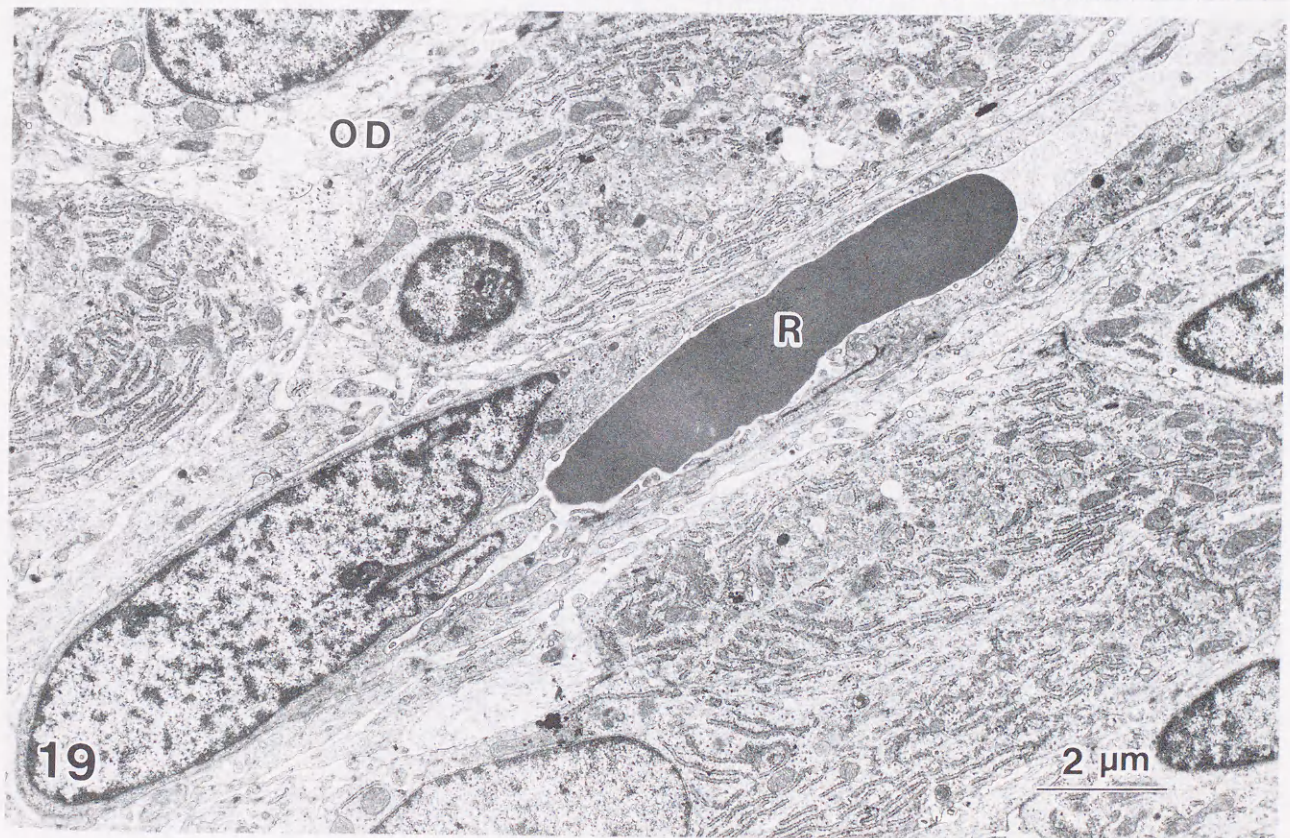
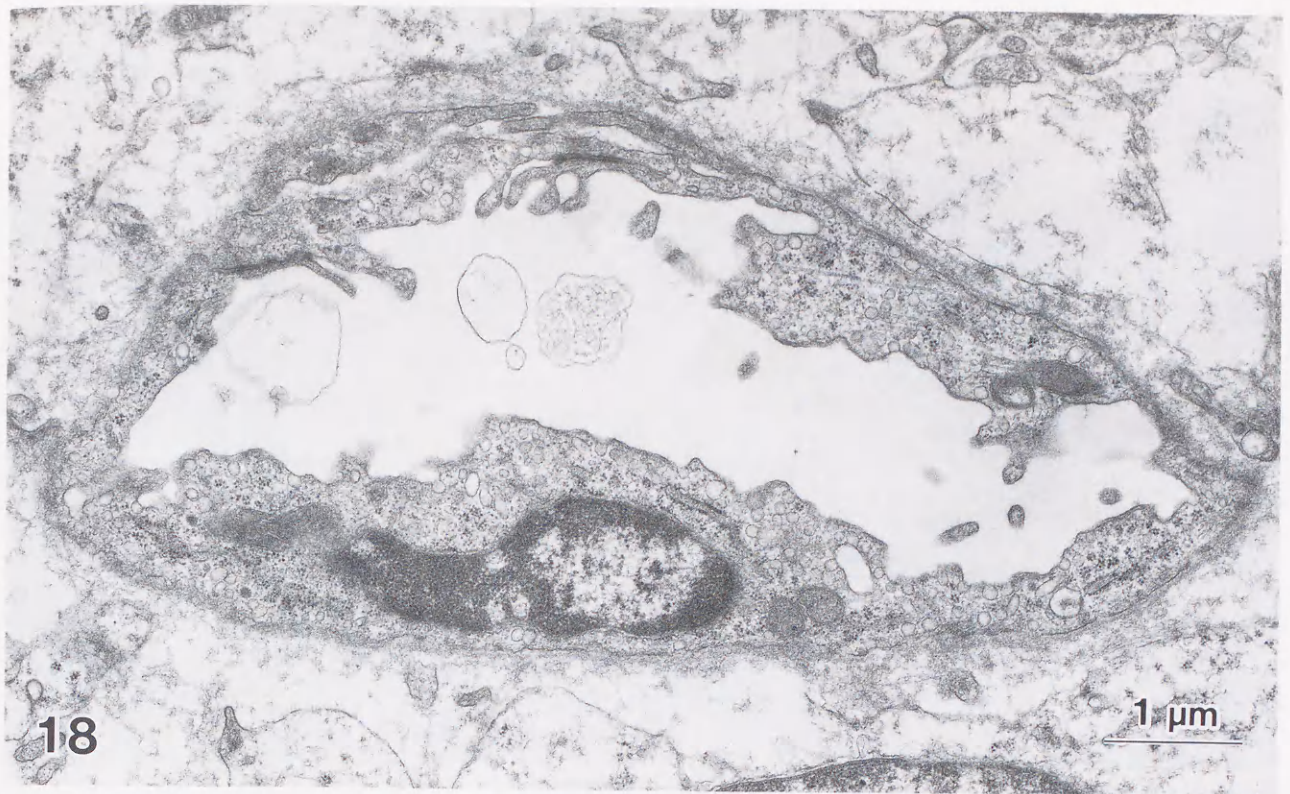


図18 象牙芽細胞層直下の毛細血管叢を作る連続型毛細血管. 18,000×  
 図19 象牙芽細胞層に入る直立毛細血管. OD:象牙芽細胞, R:赤血球. 8,400×



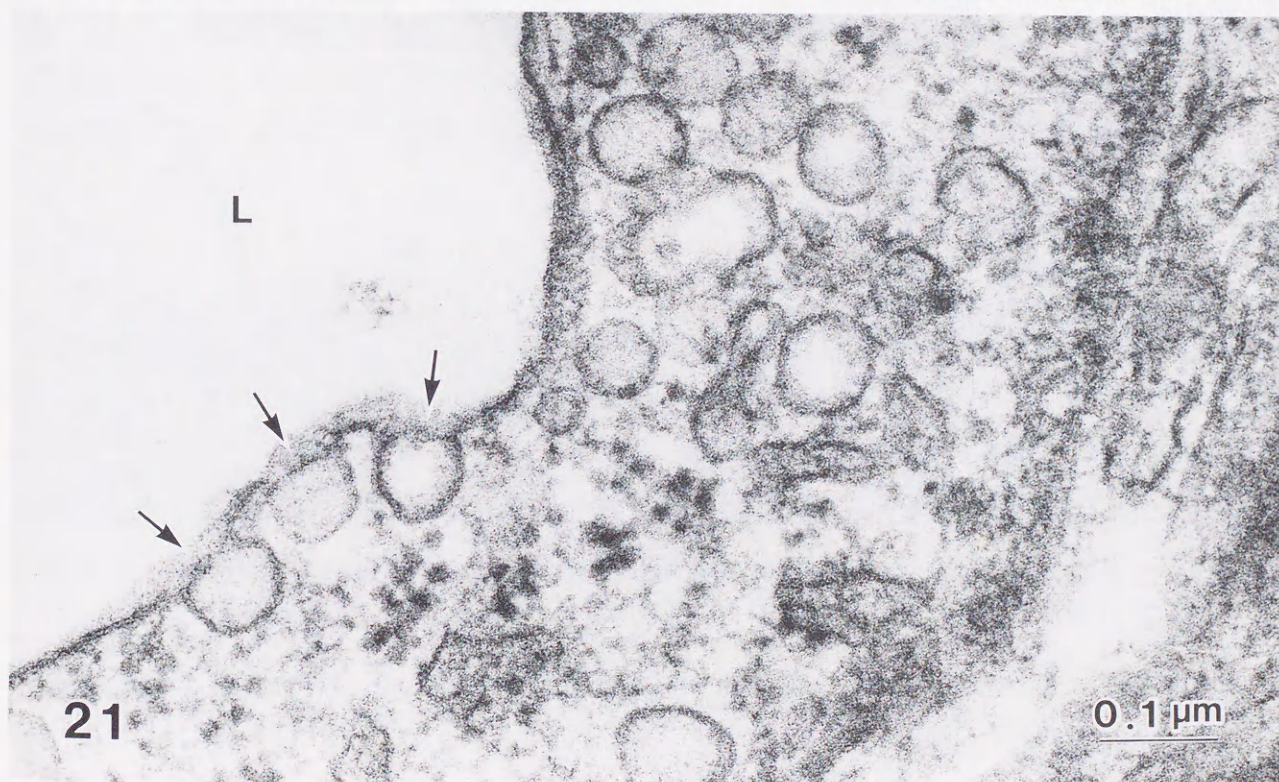
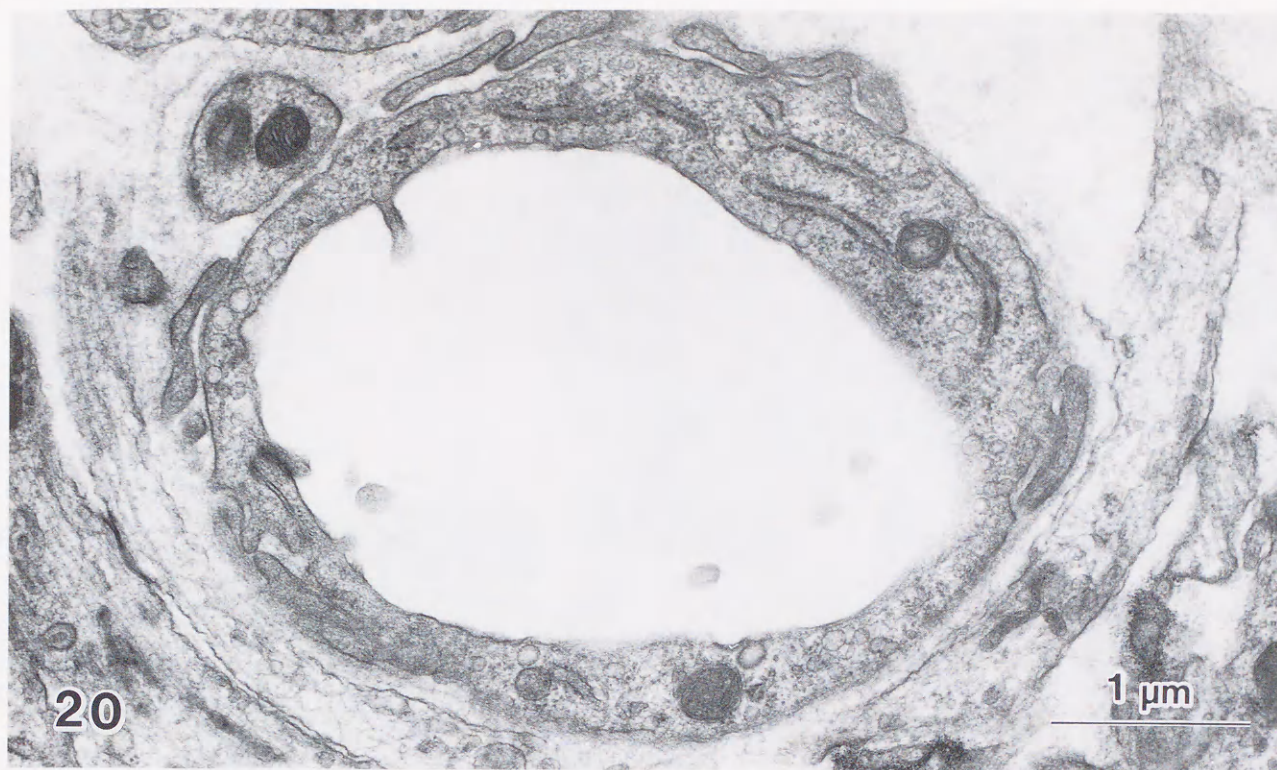
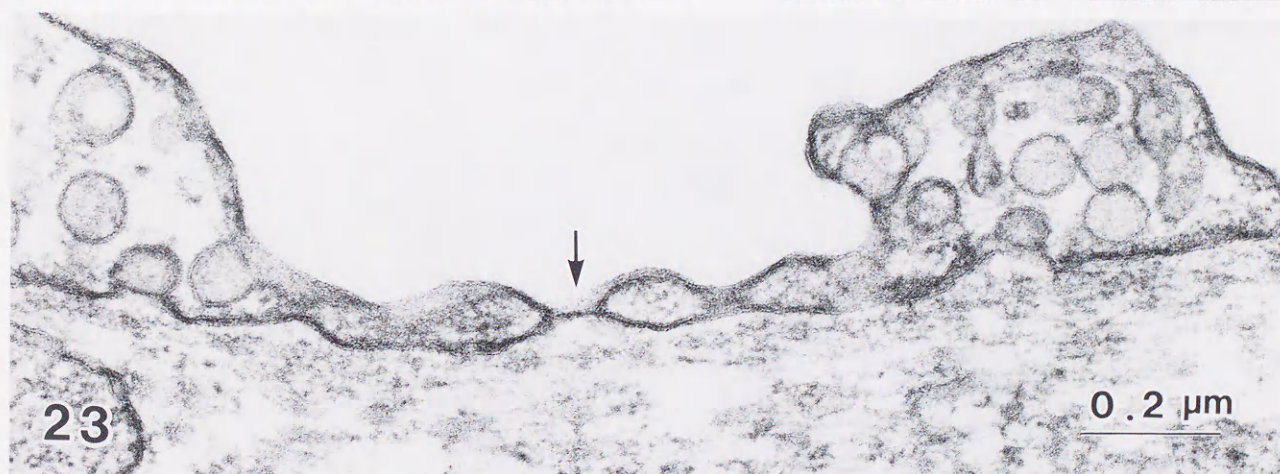
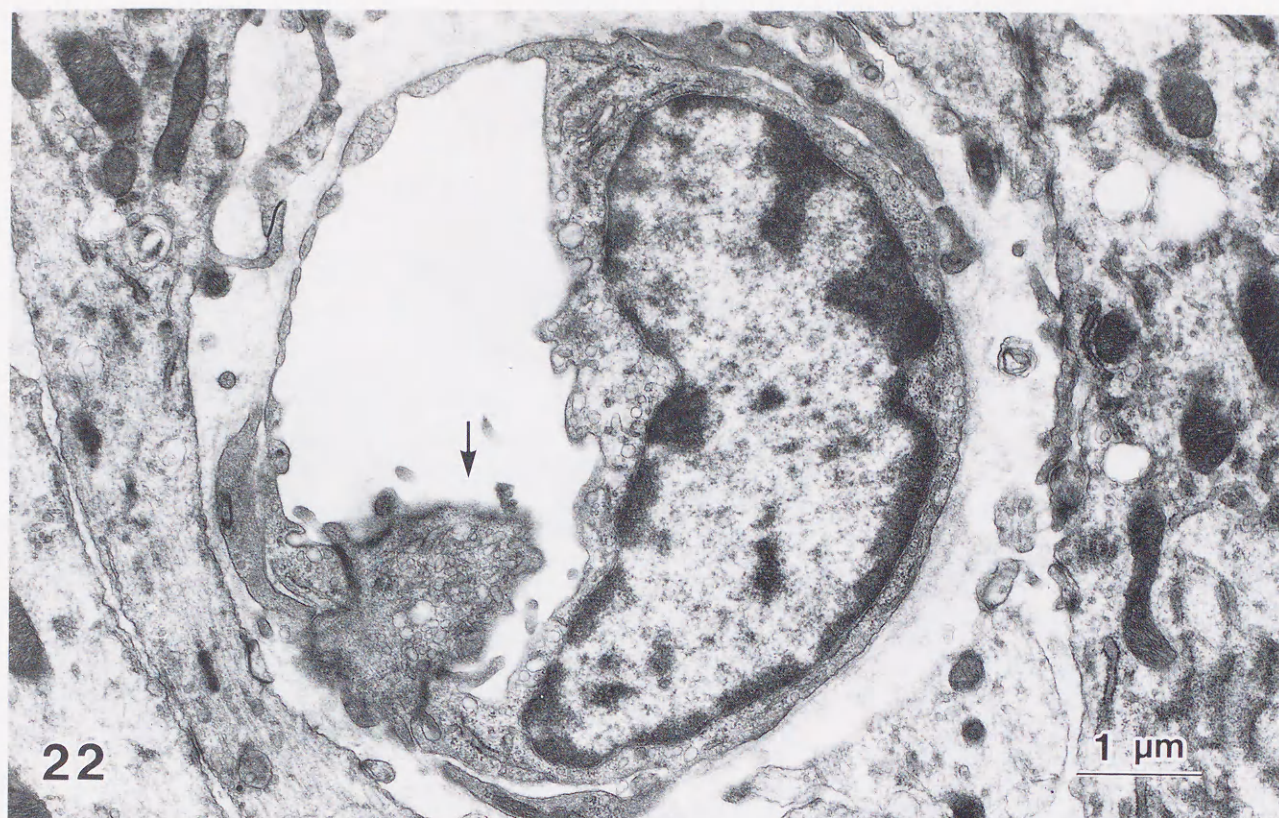


図20 切歯中部の毛細血管網を作る連続型毛細血管. 26,000×

図21 連続型毛細血管内皮の強拡大像. 管腔側(L)に開口する形質膜小胞の開口部には隔膜(矢印)がみられる. 150,000×





- 図22 切歯中部の毛細血管網を作る有窓型毛細血管. この部位の有窓型毛細血管には内皮の一部が管腔側に著しく突出した形態（矢印）を示すものをよく見かける. 16,000×
- 図23 有窓型毛細血管内皮の強拡大像. 内皮の窓は単層の隔膜（矢印）により閉じられている. 90,000×



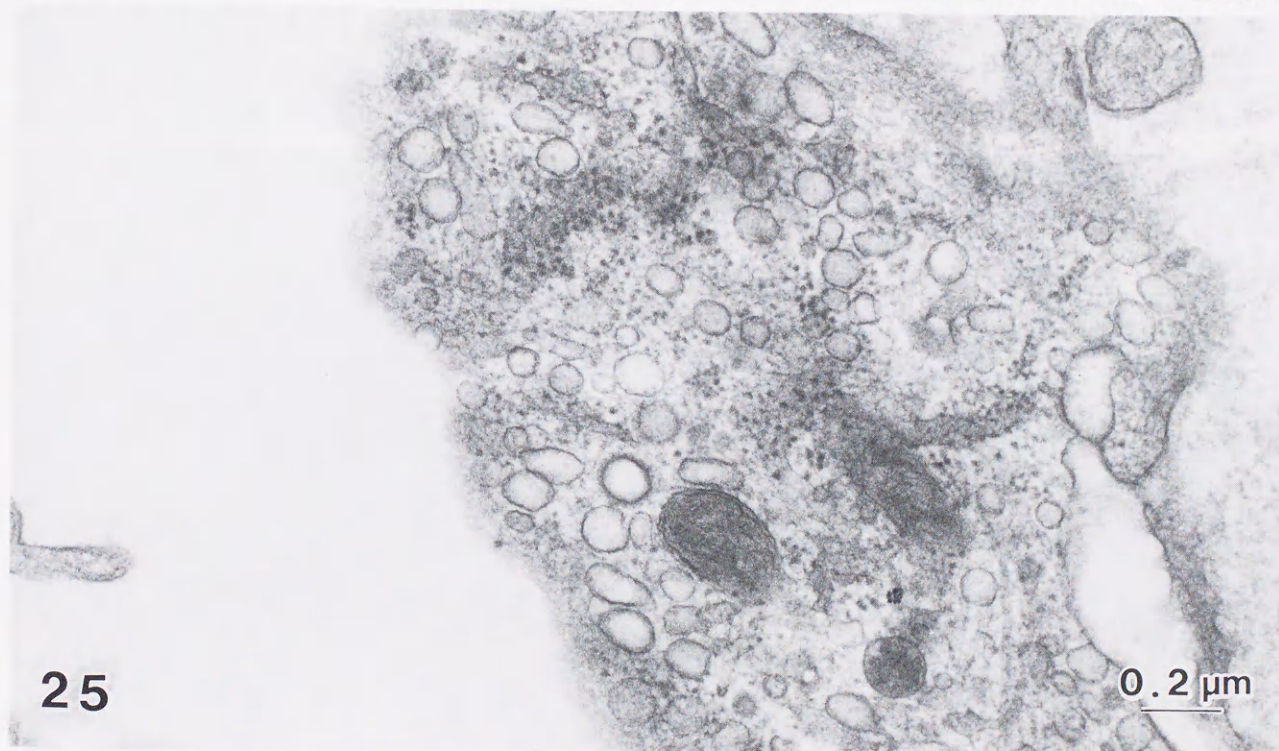
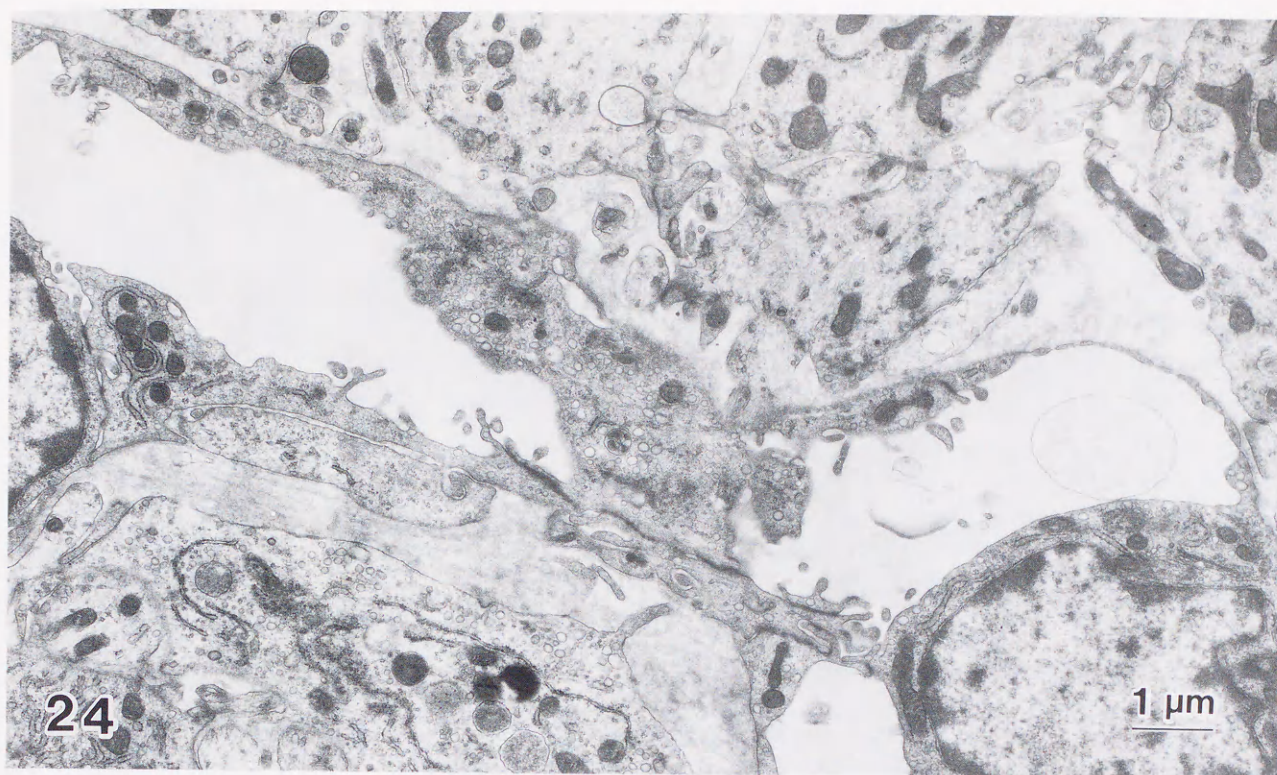


図24 切歯中部の毛細血管網に見られる珍しい型の毛細血管。内皮の左側は連続型毛細血管の特徴を示すのに対して右側は有窓型毛細血管の特徴を示す。その移行部には著しく突出した内皮の形態を示す。連続型から有窓型へ形態変化を起こしていることが考えられる。 11,000×

図25 図24の強拡大像。著しく突出した内皮には非常に多くの形質膜小胞が認められる。 52,000×



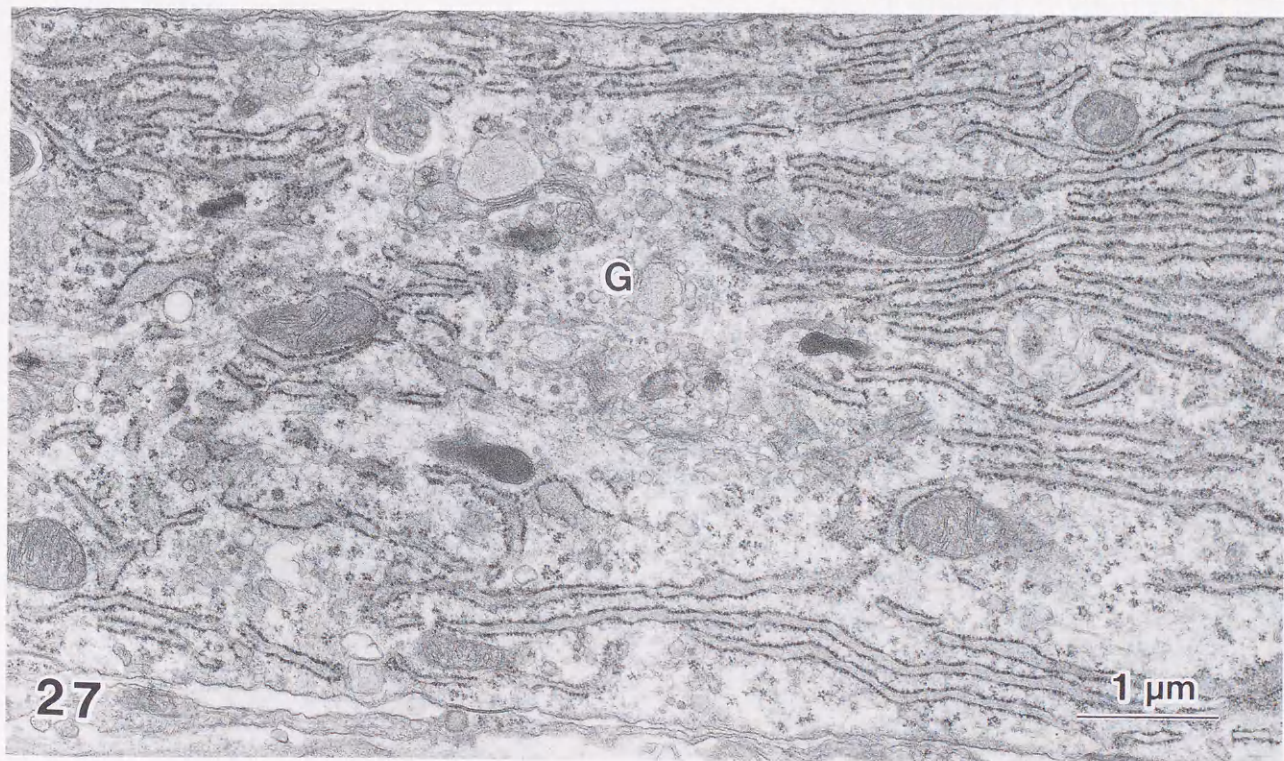
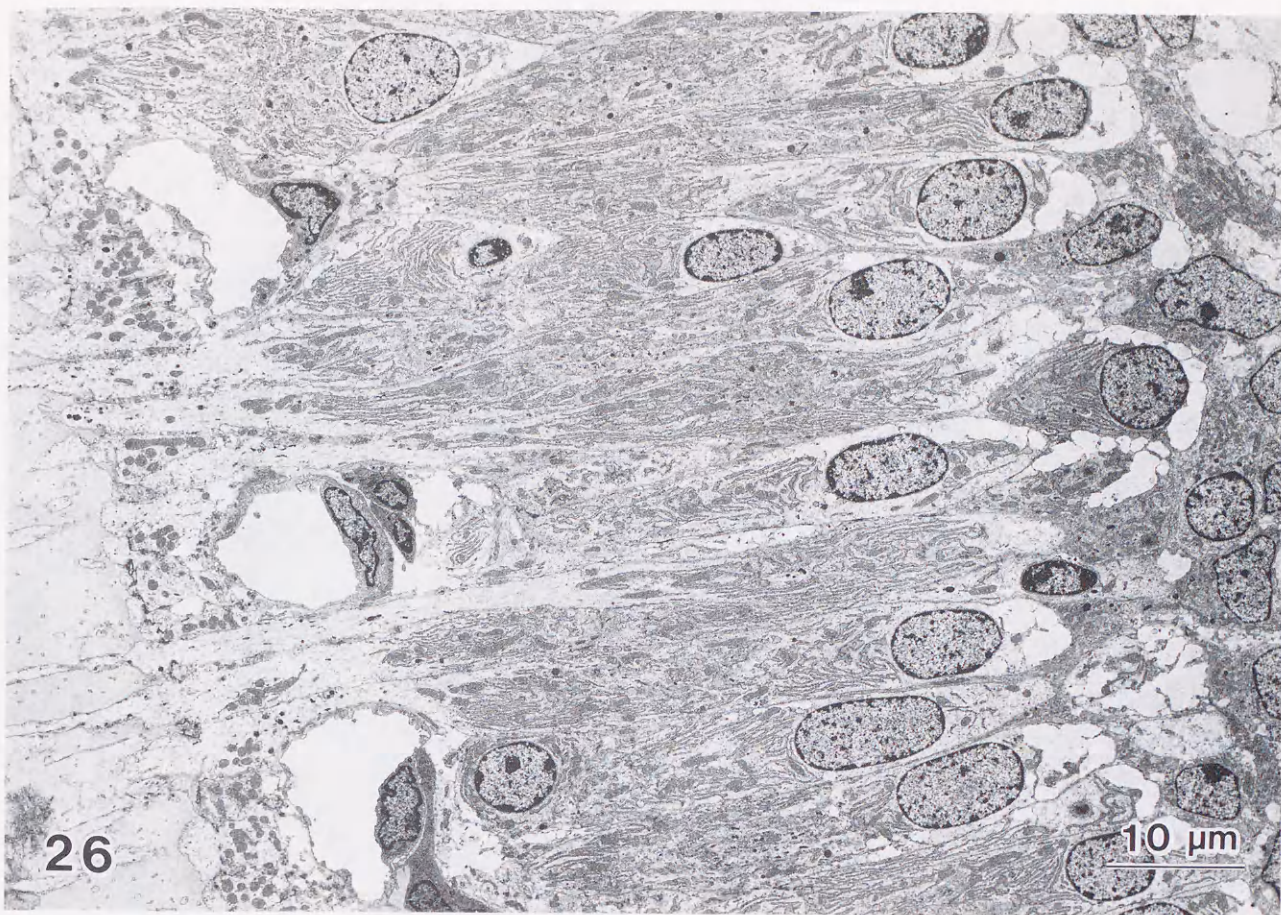


図26 切歯切縁側部. 象牙芽細胞は70~80 $\mu$ mの高さを持つ. 細胞間隙はほとんど認められないが, ここでは従来の記載に従いold odontoblastと呼ぶ. 1,800 $\times$   
 図27 図26の部位に存在する象牙芽細胞の強拡大像. Golgi領域(G)は明瞭に認められる. 18,000



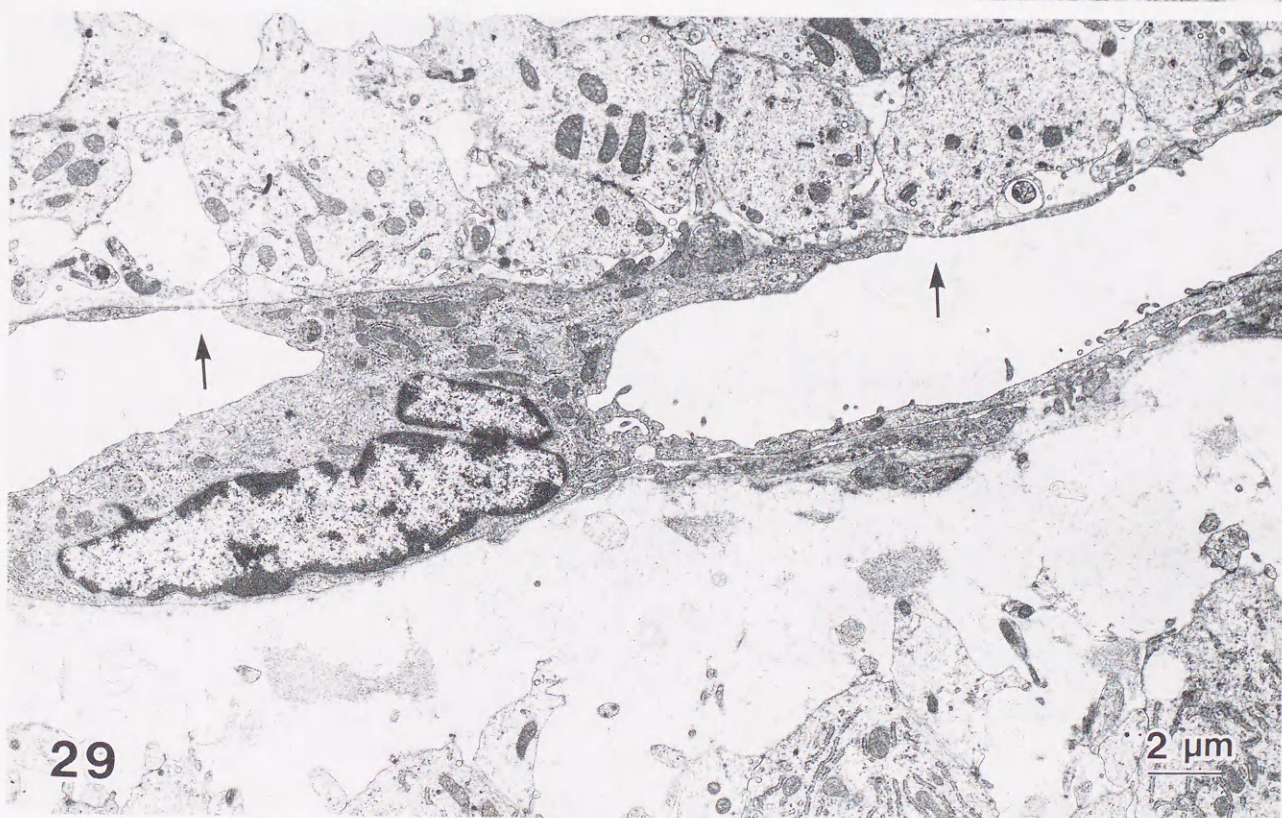
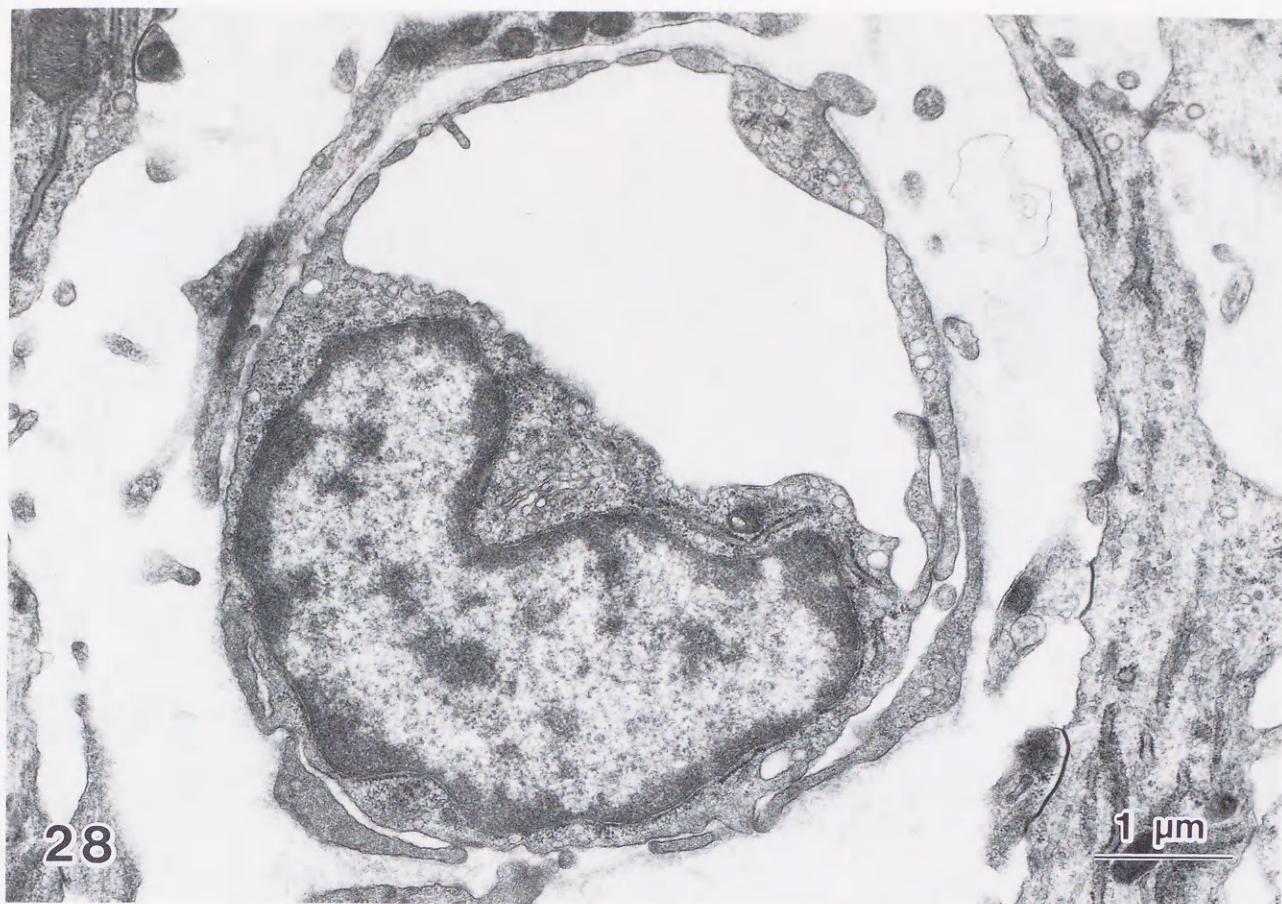


図28 切歯切縁側部の毛細血管網を形成する有窓型毛細血管。切歯切縁側部における大部分の毛細血管はこの型である。 18,000×

図29 毛細血管網を作る有窓型毛細血管の長軸方向に対して切られた切片。内皮の窓は象牙質（剥がれている）の方向に開口している（矢印）。 4,600×





図30 切歯切縁側部の毛細血管網に見られる連続型毛細血管. ごくまれにこの型の毛細血管が切歯切縁側部の毛細血管網に見られる. 20,000×



31

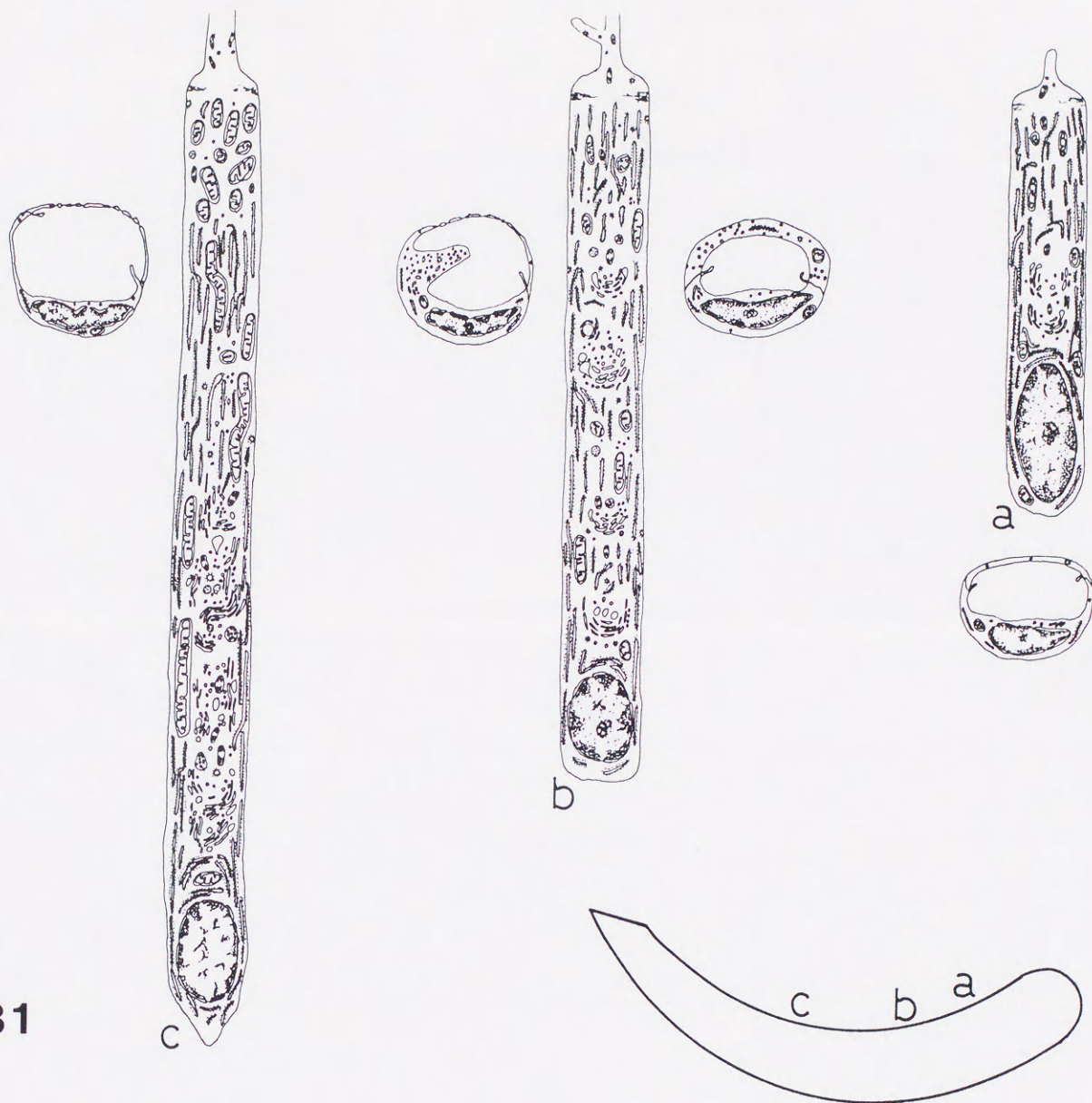


図31 象牙芽細胞の形態変化とその近くにみられる毛細血管の模式図.



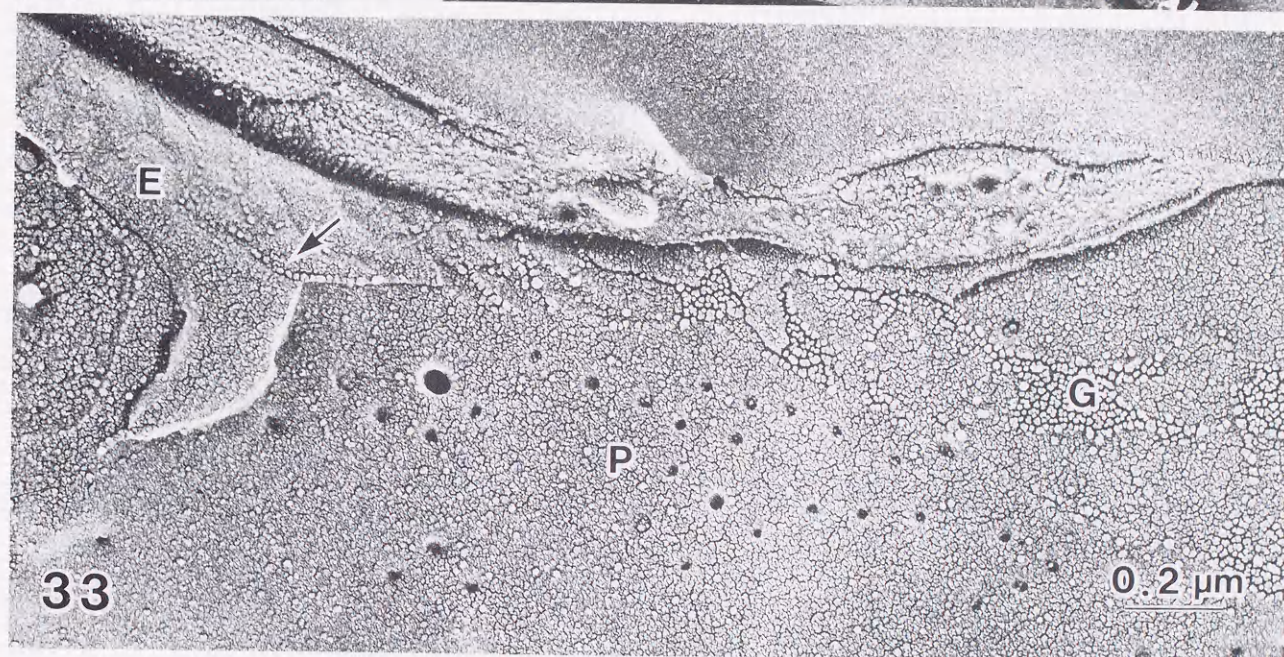
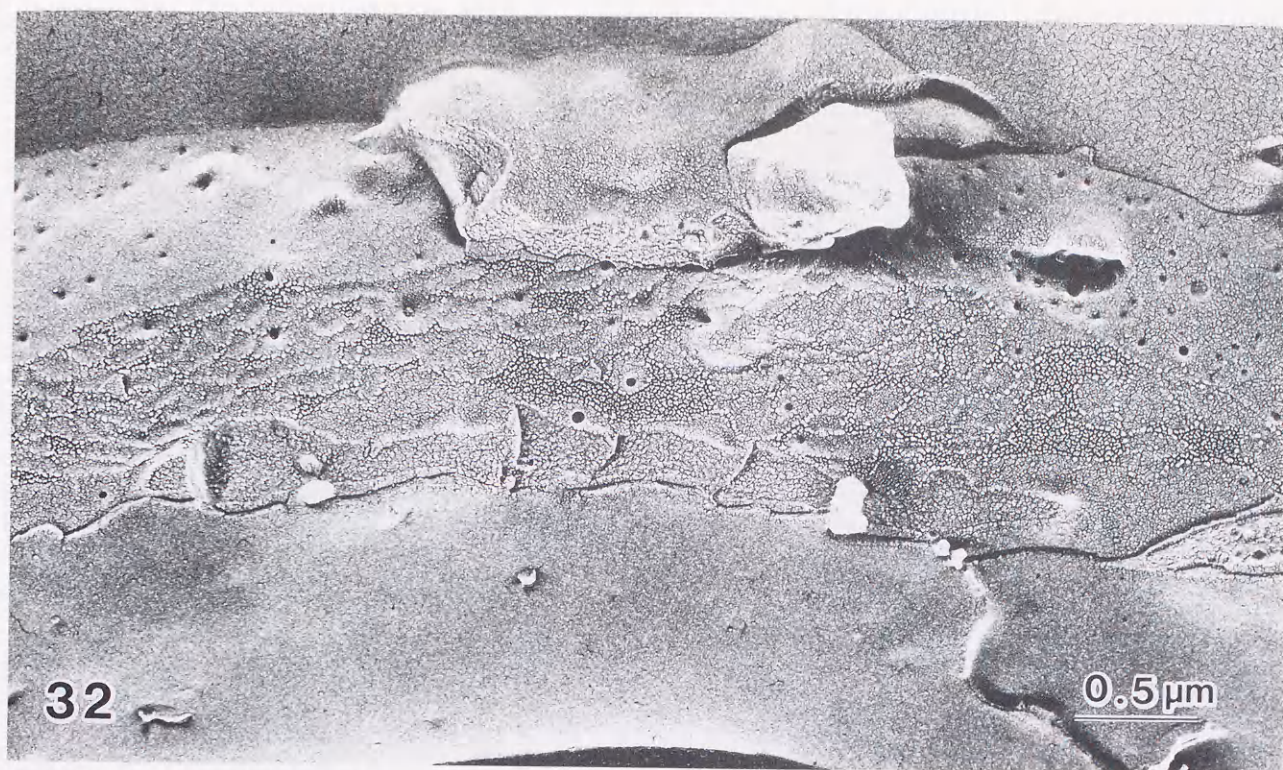


図32～46は凍結割断レプリカのTEM像である。

図32 歯髄中に存在する幹動脈の内皮細胞間接合部位を示す。タイト結合とギャップ結合は途切れることなく、内皮細胞を取り巻いている。 32,000×

図33 幹動脈内皮細胞間接着装置。E面（E）のストランドの溝の中にも膜内粒子を入れている（矢印）。G:ギャップ結合，P:P面。 64,000×



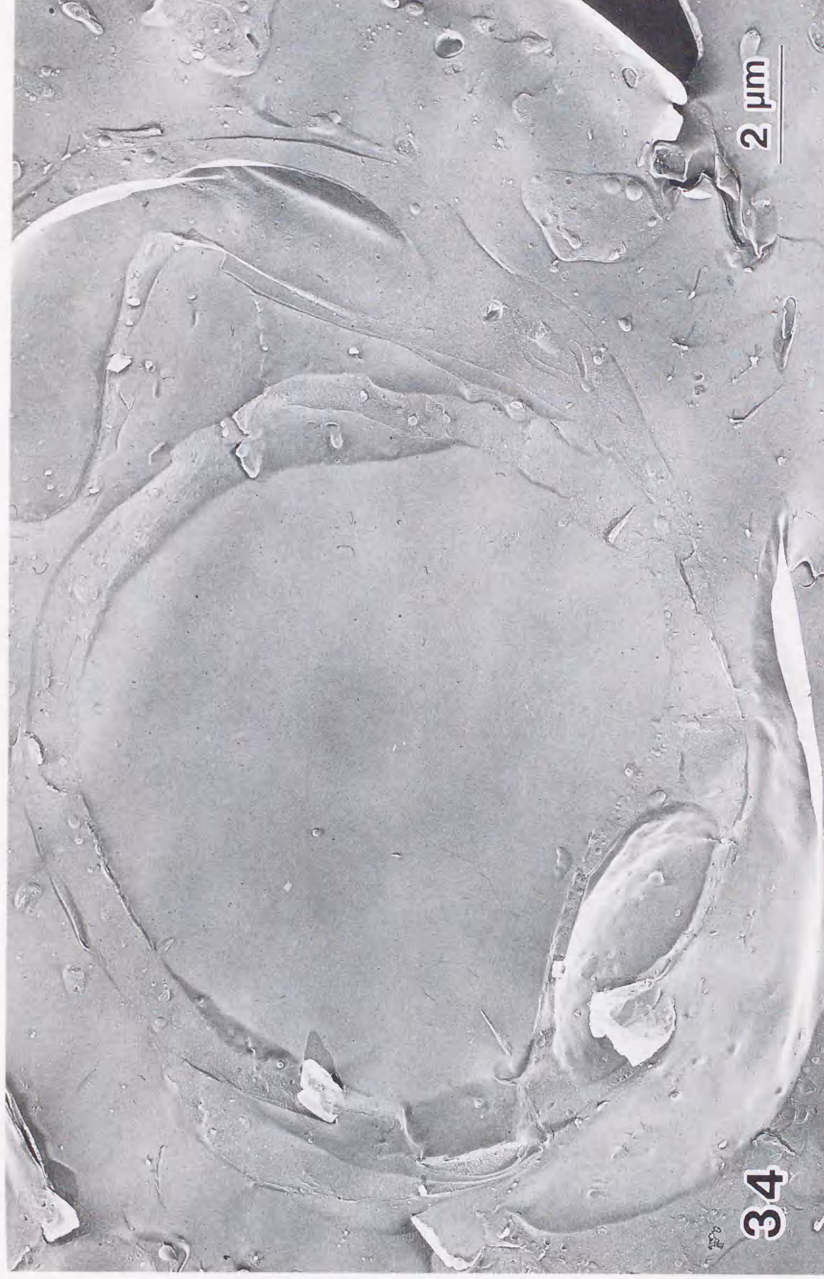


図34 小さい径の細動脈. 内径は約 $10\mu\text{m}$ .  $7,800\times$

図35 小さい径の細動脈内皮細胞間接合部.  $7\sim 10$ 条のストランドからなるタイト結合により形成される.  $140,000\times$



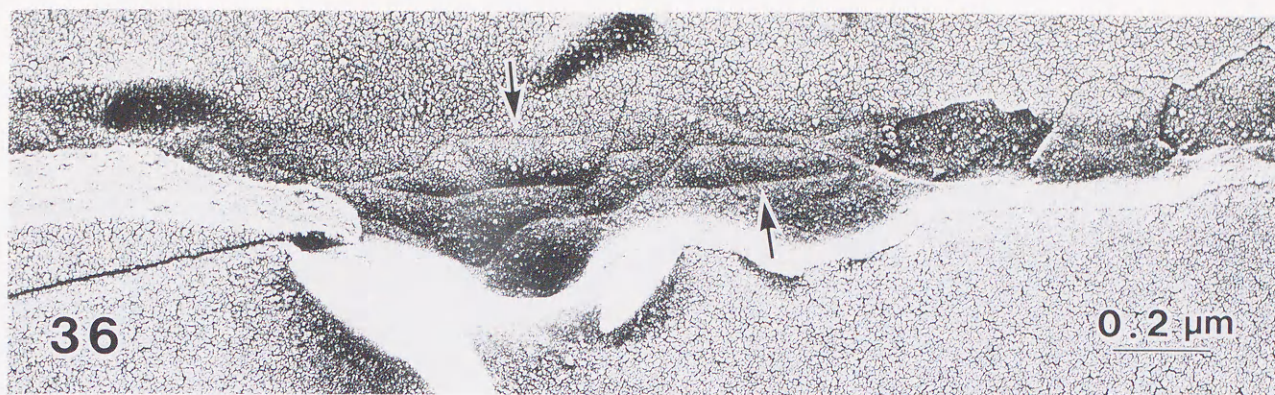
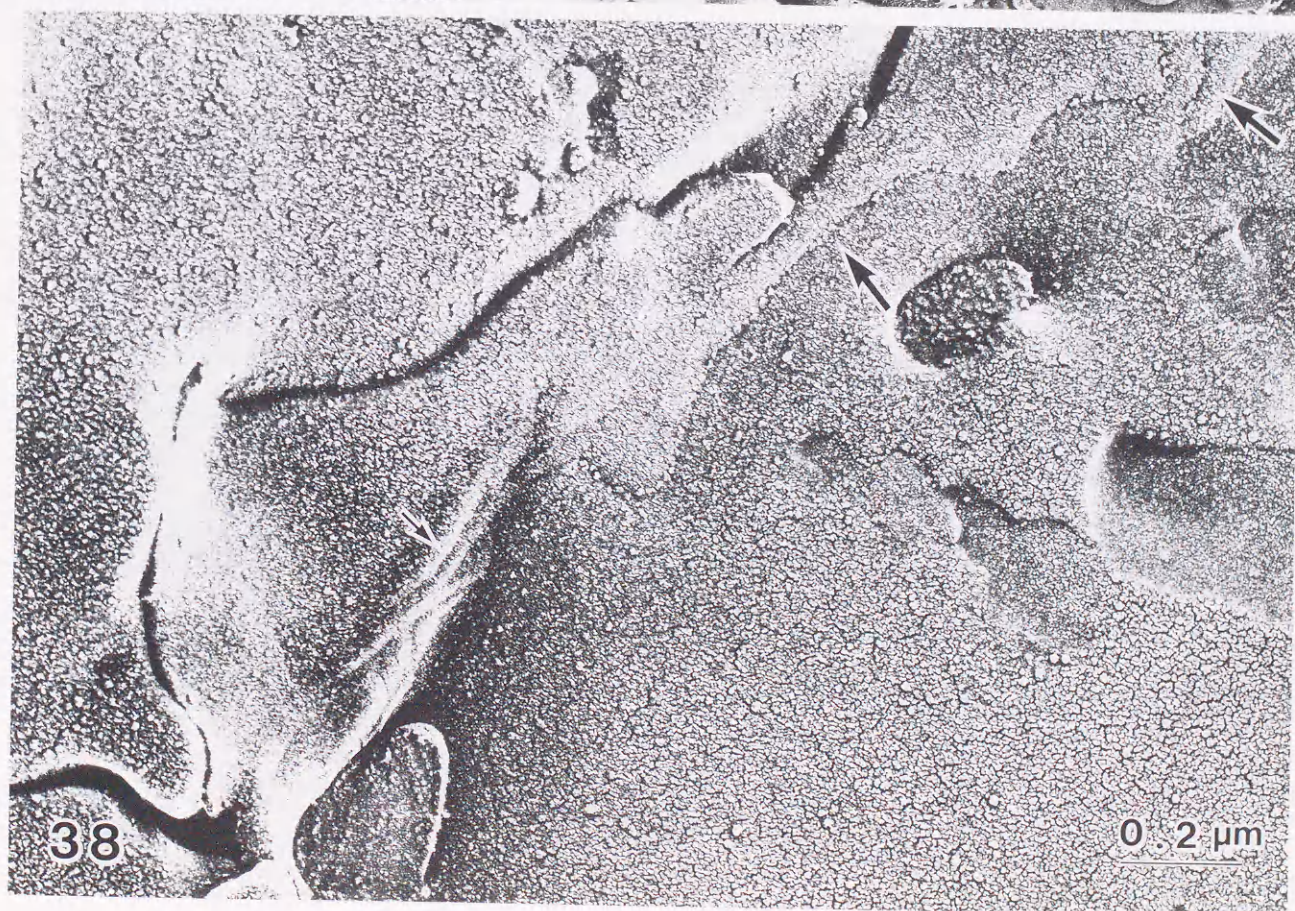
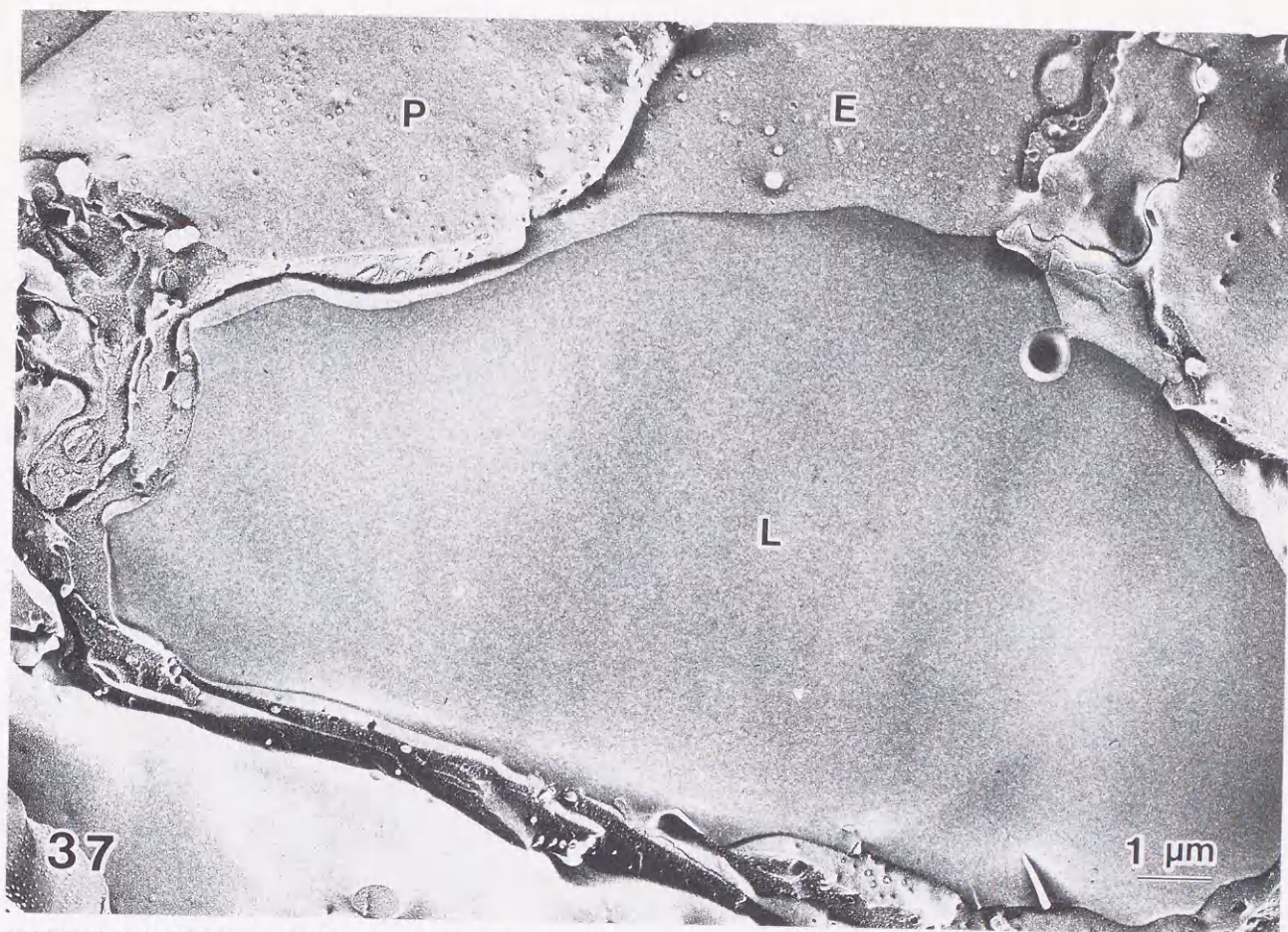


図36 幹静脈内皮細胞間接着装置. カミソリで切込みを入れた様な線條ひだが見られる (矢印). 64,000×

図37 歯髄周辺部にみられる細静脈. L:管腔, P:P面, E:E面. 9,300×

図38 細静脈内皮細胞間接合部のE面像. 接着装置は1~2条のタイト結合 (大きい矢印) と線條ひだ (小さい矢印) から成る. 84,000×







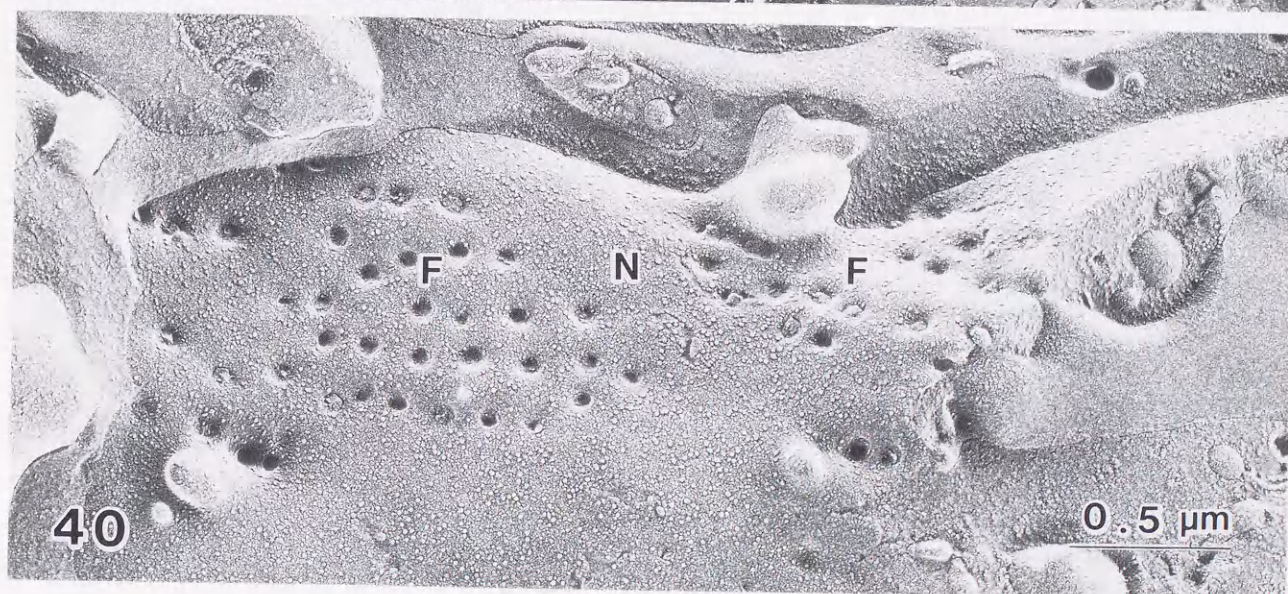
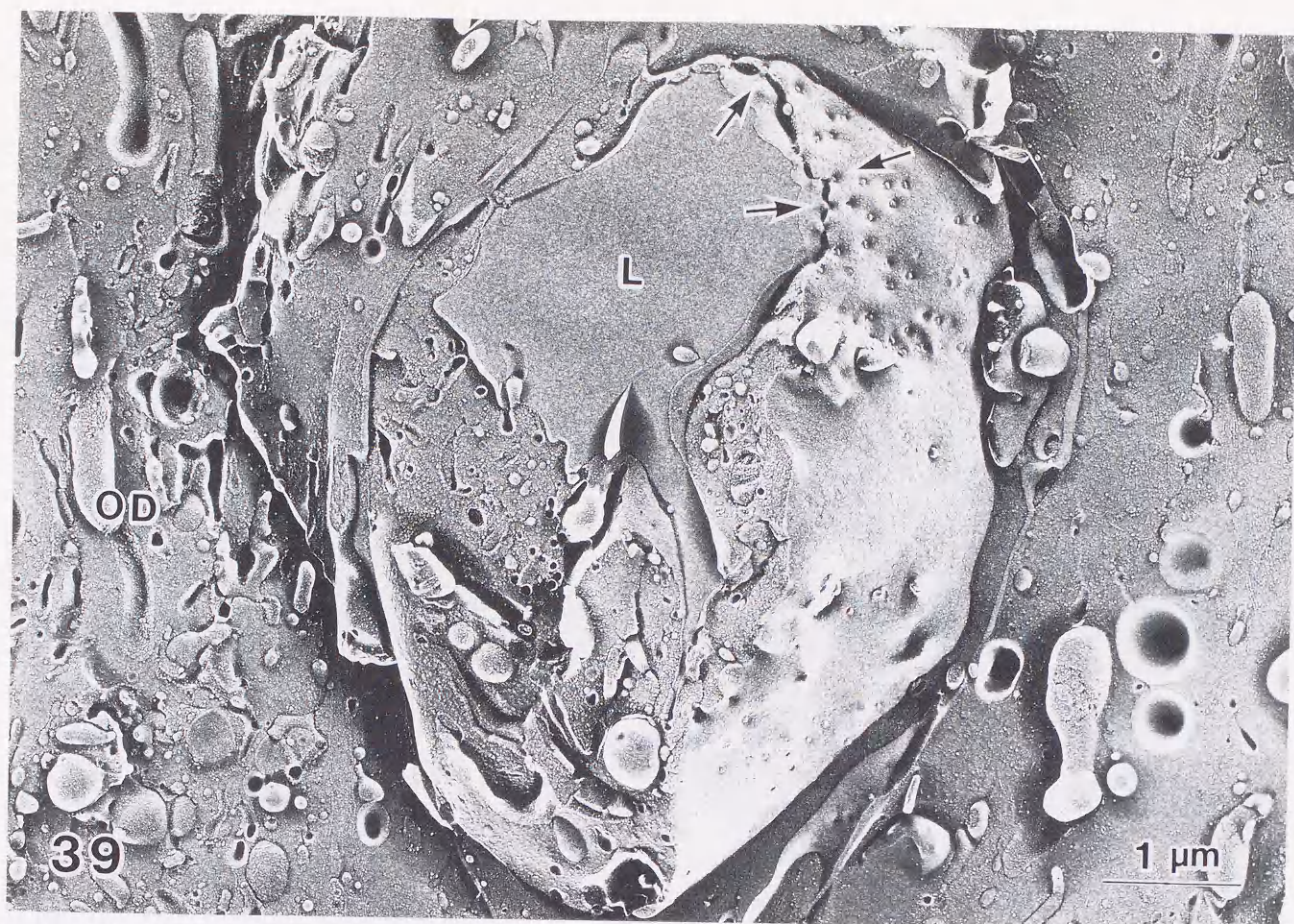


図39 有窓型毛細血管. 内皮細胞の窓はP面のくぼみあるいはE面の突出として認められる (矢印). OD:象牙芽細胞, L:管腔. 18,000×

図40 有窓型毛細血管のP面像. 窓は30~40個がひとつの有窓野(F)を形成し, 有窓野相互間には幅広い無窓野(N)が存在する. 42,000×



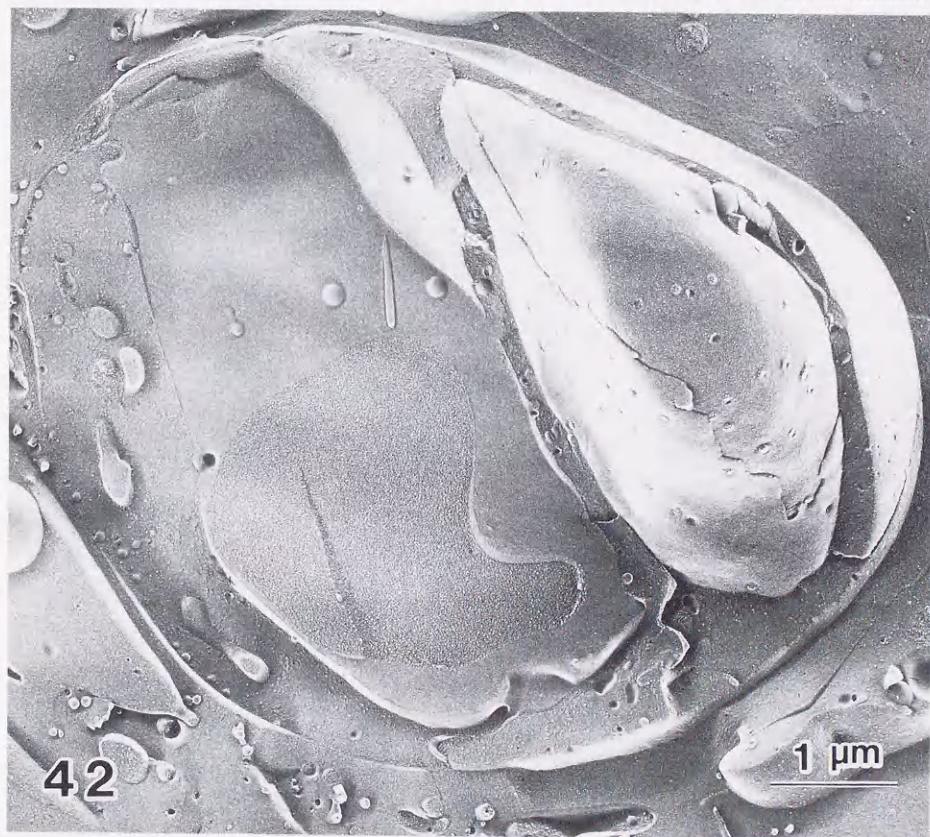
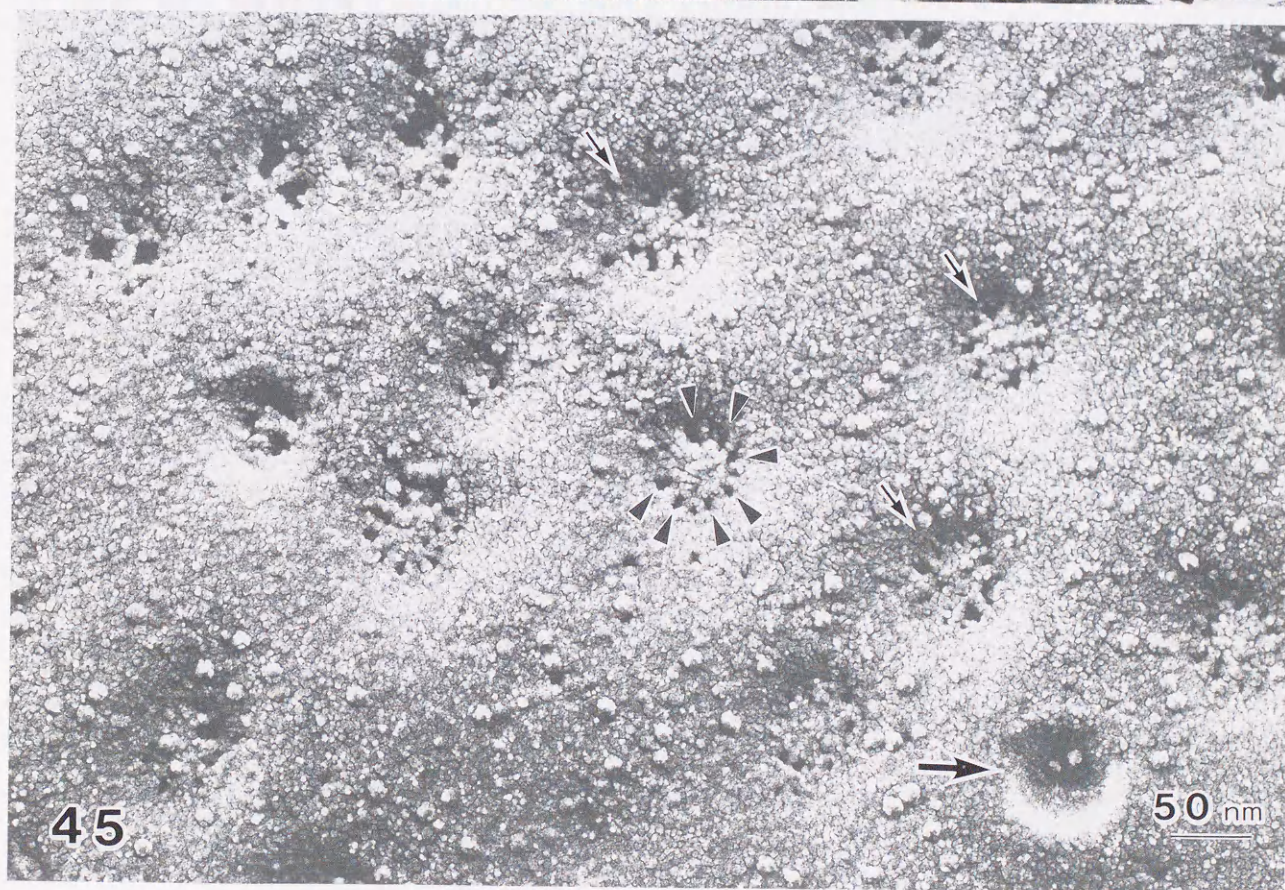
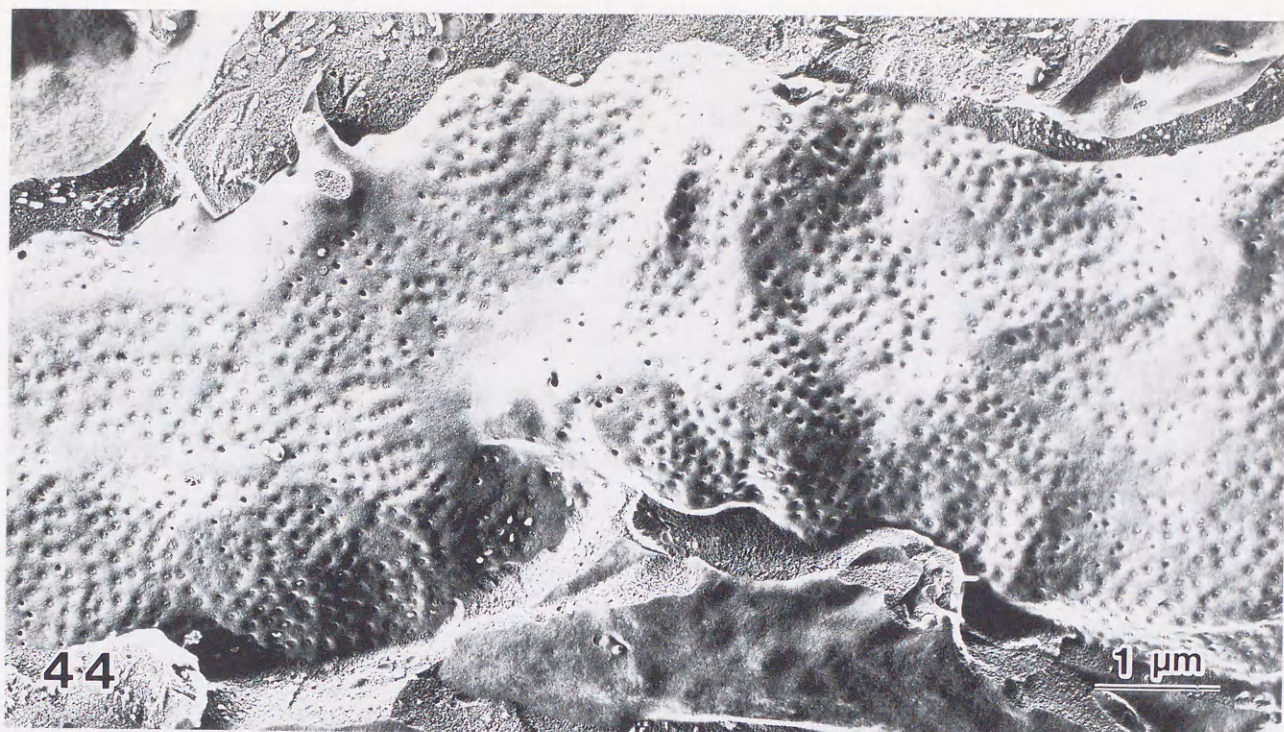


図41 切歯中部毛細血管網の有窓型毛細血管のP面像。内皮の窓は正円形をしており、その径は60nm程である。またこの部位の毛細血管には底面のかなり浅い円形の構造（矢印）がみられる。おそらく窓形成過程の一段階を示すものだと考えられる。84,000×

図42 歯髄中の連続型毛細血管。16,000×

図43 連続型毛細血管内皮細胞間接合部。接着装置は2～3条のストランドのタイト結合から成る。このタイト結合は完全に内皮細胞を取り巻くのではなく所々に幅10nm程の不連続部より成る間隙を持つ（矢印）。96,000×







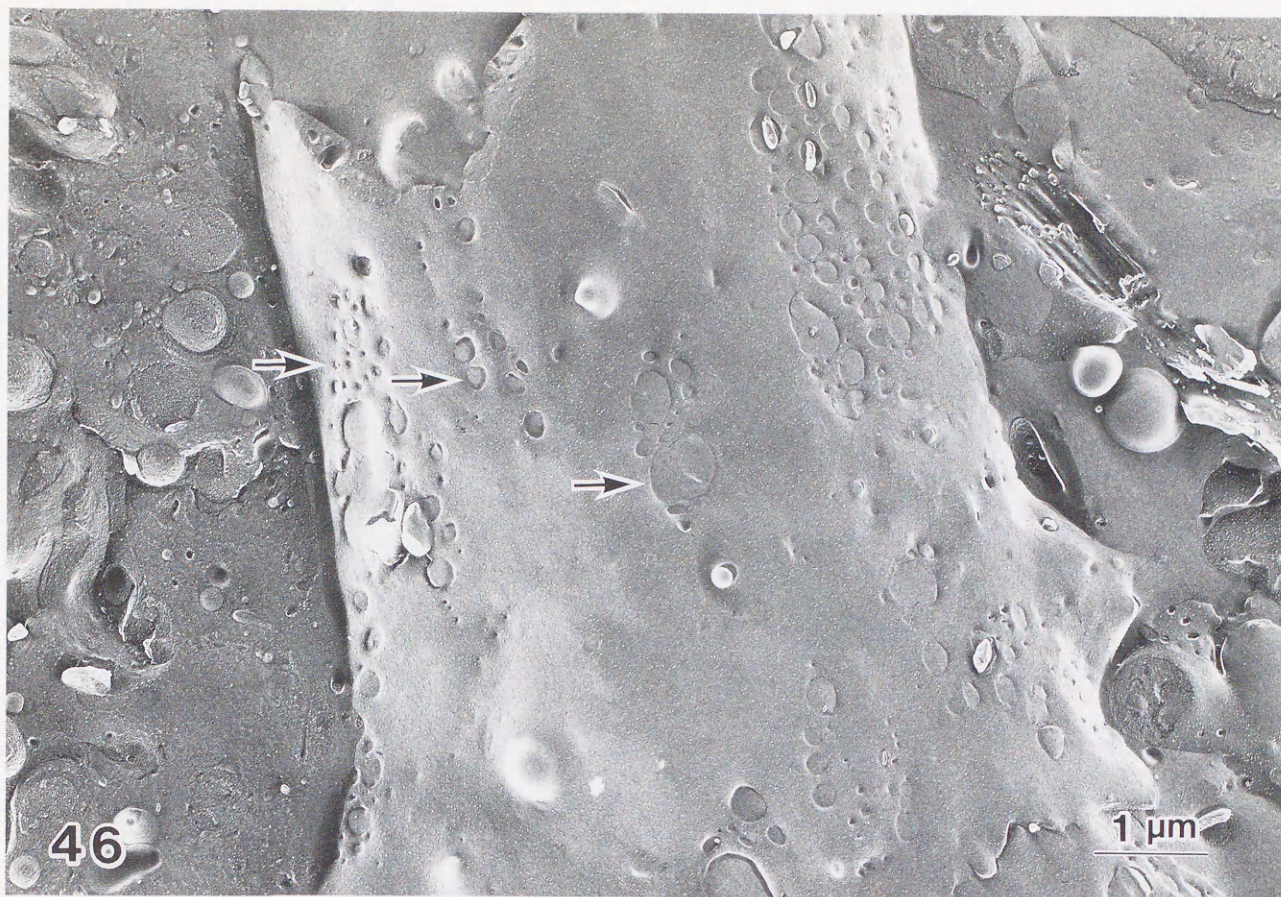


図44～46は歯髄以外に存在する毛細血管の凍結切断レプリカ像である。

図44 小腸上皮直下の有窓型毛細血管。内皮の窓は非常に密集し、さらに窓のない内皮部分である細胞質稜は狭いことがわかる。 16,000×

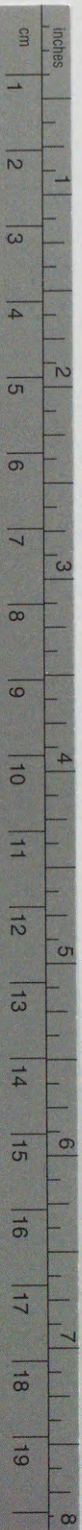
図45 図44の強拡大像。内皮細胞の窓（小さい矢印）の隔膜は単なる膜構造ではなく、規則的に広がるメッシュ構造であることがわかる。このメッシュによって形成されるスイットは幅約5nmである（矢頭）。大きい矢印は形質膜小胞の開口部をしめす。 210,000×

図46 ラット肝臓の不連続型毛細血管。内皮には種々の大きさの開口部が存在する（矢印）。 15,000×









# Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue	Cyan	Green	Yellow	Red	Magenta	White	3/Color	Black

## Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

**A** 1 2 3 4 5 6 **M** 8 9 10 11 12 13 14 15 **B** 17 18 19

