

# 象牙質の体液流動に関する形態学的考察

仙 波 輝 彦

鹿児島大学歯学部 口腔解剖学講座

生物学的石灰化過程について、Leblond and 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 secretory theory) : 象牙(骨)芽細胞が無機質を細胞内に汲みこみ、濃縮し、石灰化の起る場所へ放出する。“micropakets”の概念 (Lehninger, 1970) とか、“calcium binding protein”の存在(Wasserman and Taylor, 1966) Jande et al. 1981) により説明される。
- 2) 基質小胞説(The matrix vesicle theory) : 基質小胞(Anderson, 1969; Bonucci, 1970)が石灰化現象発現の部位と考える。無機塩類が vesicles 内に濃縮され、非結晶性磷酸カルシウムを経て結晶化する。
- 3) 直接石灰化説 (The direct deposition theory) : 硬組織の基質中でカルシウムと磷酸塩が直接結合し、非結晶性磷酸カルシウム或は hidroキシ・アパタイトを形成する。この際には、結晶核形成の場として膠原線維、ムコ多糖たんぱく、リピッドといったものが役だつかもされない。

これら三説のうち、2)と3)は石灰化の場へそれに必要な無機物質が直接体液により運ばれることを意味している。では、そのような事実の根拠がみられるであろうか。また石灰化部の基質や象牙芽細胞層の毛細血管は形態学的にどのような特徴をもつのであろうか。このような点を研究することは、石灰化に関して諸説ある今日、その推論をより正確ならしめるために有益だろうと確信している。本文では過去に行ってきた研究(仙波, 1978)を基として多少の新知見と解説をまじえながら考察してみたいと思う。

## 1. 歯の体液流動に関するトレーサー実験

本稿の研究に用いた材料は、以下全てラット(殆んどが生後20日令)の下顎切歯である。トレーサーとしては過酸化酵素を主として用いた。過酸化酵素は分子量の異なる種々なものがあり、またこれらは組織化学的反応が極めて鋭敏、検出が容易であるといった理由からトレーサーとしてよく利用される。いくつかの酵素の分子量は次の通りである。

cytochrome c	12,000
horse-radish peroxidase	45,000
catalase	240,000

各酵素は体重0.5mg/gを0.4mlの生理食塩水に溶し、エーテル麻酔下に総頸静脈より1分間で注入を終る程度の速さで投与した。対照例において、動物は0.5mlの生理食塩水を同様の方法で注入された。注入完了後4分で断頭し、切歯摘出後グルタルアルデヒド固定、EDTA脱灰(Warshowsky and Moor, 1967), 80 $\mu$ m厚の凍結切片をGraham and Karnovsky (1966)の方法で反応、オスミック酸後固定、エポン樹脂包埋した。

トレーサーとしてcytochrome c と horseradish peroxidase を使用した場合は、ほぼ同じ結果であった。図1に後者の結果を示す。この光顕標本はエポン樹脂包埋により2 $\mu$ m厚に切った無染色標本である。トレーサーは注入後5分以内に歯髓毛細血管周囲腔、歯髓固有細胞の細胞間隙はもちろんのこと、象牙芽細胞層の細胞間隙、象牙前質さらに象牙細管を経てエナメル象牙境にまで及んでいる。象牙前質基質における強い陽性反応にかこまれて、それとは対照的に無反応な象

牙芽細胞原形質突起の存在を見ることが出来る。このことは、トレーサーが注入後比較的短時間に象牙芽細胞内を通過することはないということを示している（長い時間トレーサーを使うと細胞内へ蓄積が徐々に起る）。次に catalase 注入の例を図2に示す。この場合、陽性反応は血管腔内のトレーサー物質および赤血球上にみられる。対照例（図3）の所見も当然のことながら同様で、この場合は赤血球上のみ強い陽性反応がある。本稿では写真を示さないが、フェリチン（分子量約46万）を注入した場合、電顕で観察すると投与後30分経つとその粒子が毛細血管周囲腔に存在する。このことは、catalase についても、注入後長時間経過すると徐々に血管外に放出される可能性を示している。トレーサーの血管透過性に関してみられるような相異が、ただ単に分子量だけによるのか、電荷とかその他の原因によるのかは明らかでない。

次に horse-radish peroxidase の注入例について電顕的観察所見を述べる。図4は象牙芽細胞層内にみられる毛細血管の断面である。管腔は赤血球とトレーサー物質による強い陽性反応で占められ、写真の左下部では血管内外に特に強い反応が示されている。ここは内皮細胞の接合部で、Wissig and Williams(1978)の主張するように、血漿の血管外への流出は細胞接合部において最も顕著であるという所見の裏付になるかも知れない。内皮細胞の空胞や小胞内にも陽性反応がみられる。血管周囲腔も陽性反応により占められ、さらにトレーサーは象牙芽細胞間の複雑な嵌合部も充している。象牙芽細胞側壁の形質膜には飲小胞があり、その中にも陽性反応物が見られる。さらに、胞体内部の細管状あるいは垂鈴状小構造物の内容が陽性反応を呈しているが量的には多いといえないだろう。図5は象牙芽細胞の terminal web レベルでの像である。細胞質内には陽性反応を示す構造は見当らない。象牙前質の基質は殆んど反応物で占められ、その中に膠原線維の横断或は縦断面が白く見えている。左側の細胞間隙から象牙前質にかけて、横紋の僅かにみえる太い径の膠原線維束（コルフ線維）が走る。

図中の略号

- AM: エナメル芽細胞層  
 E: エナメル質  
 D: 象牙質  
 PD: 象牙前質  
 OD: 象牙芽細胞(層)

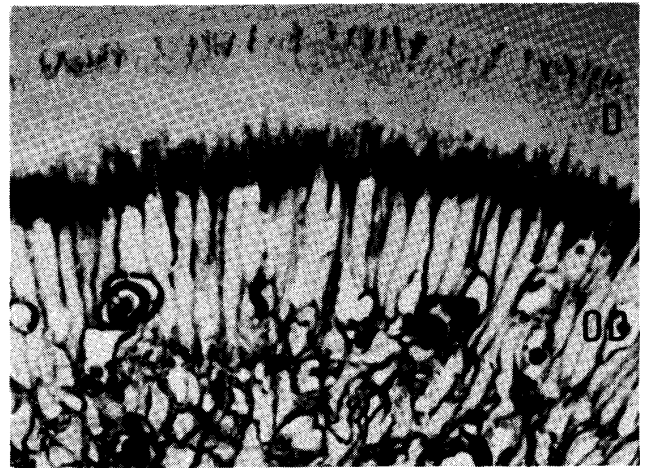


図1 ホースラディッシュ パーオキシダーゼ注入  
5分後

黒い部分がトレーサー。象牙前質で反応著し。エナメル-象牙境にトレーサー達す。400×

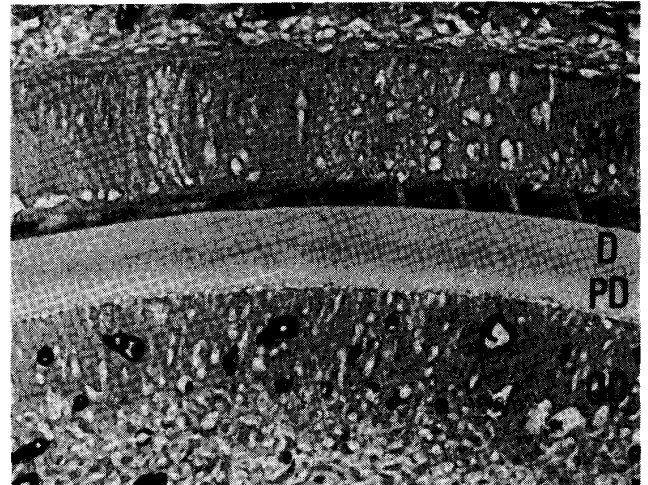


図2 カタラーゼ注入5分後  
血管内腔以外に反応なし。290×

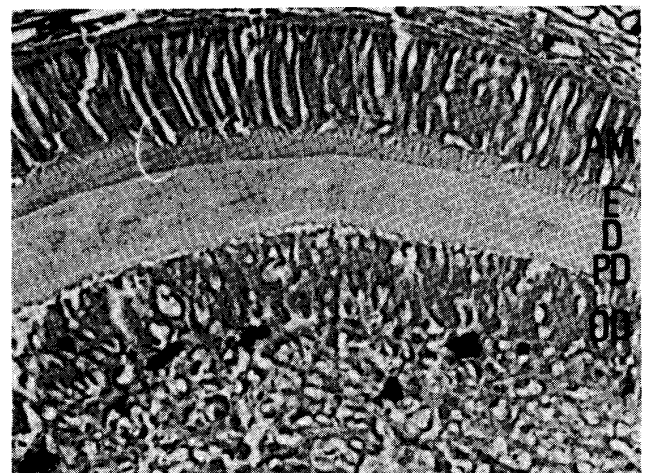


図3 対照例

血管内の赤血球上のみ反応。270×

ここで実験手技の当否について少し検討してみる。象牙芽細胞の terminal web には, preterminal-border apparatus (Watson and Avery, 1954) と呼ばれる細胞間接着装置が存在する。Garant et al. (1968) の報告にはこの装置に関する記載が詳しく, zonula adherens と tight junction よりなる junctional complex があり, tight j. は象牙芽細胞を螺旋状にとりかこむと考えた。上皮細胞間の接合部にみられる tight j. は環状をなしており, 体液流通の障壁をなしている (Farquhar and Palade, 1963) といわれているから, この考えを象牙芽細胞にあてはめると, 象牙(前)質と歯髄の間には体液による流通はみられないことになる。すなわち, 象牙(前)質は区画されていて, 歯髄との間の物質移動は象牙芽細胞を介してのみ可能となる。これは本文冒頭に示した石灰化過程に関する諸説のうち, 分泌説に有力な論拠を与えるものである。しかし, 本研究においては, 分子量の小さいトレーサーは極めて短時間に象牙芽細胞間を経て象牙前質及び象牙細管内に到達することを示した。この実験に用いた電顕資料を象牙芽細胞の terminal web の高さで横断して観察すると, tight j. は保存されており, 人工的な開裂はみられなかった。それではどこを通過して物質は流入したのだろうか。図5にも示しているように, コルフ線維の通路が物質流通路として考えられるとよいだろう。象牙芽細胞における tight j. の構造及びその広がりについては, 今後さらに詳細な調査を必要としている。

以上を要約すると, 象牙質側と歯髄との間の体液流通は極めて容易であり, 短時間に行なわれるといえる。従って, 石灰化に必要な無機イオンは象牙芽細胞内を経由することなしに石灰化前線に到達する。Munhoz and Leblond (1974) によると  $^{45}\text{Ca}$  の投与に先だって, ラット切歯から象牙芽細胞層を除去しておくこと石灰化帯における放射能活性がラジオオートグラフィーにより検出されなかったというから, 物質の流動に象牙芽細胞の胞体ならびにその原形質突起が何らかの関与をしていると考えてよいだろう。

## 2. 象牙芽細胞層にみられる毛細血管の特徴

前節において, 血中無機イオンは細胞間質を経て比較的容易に象牙前質へ侵入し, さらに象牙細管を通じてエナメル-象牙境に直接達することの可能性を示した。そのためには, 体液の進向に従って何らかの圧力差が存在するかも知れないが, ここでは形態学的立場から物質透過に関係ありと考えられる毛細血管の形態



図4 図1の電顕像

血管周囲腔(▲)にトレーサーの流出著明。OD間の嵌合部にも反応。9750×



図5 図1の電顕像

ODの terminal web の高さを示す。象牙前質での反応著明。コルフ線維↑。13,000×

学的特徴を述べる。

ラット切歯々髓において毛細血管は象牙芽細胞層直下と象牙芽細胞層内においてそれぞれ網目状分布を呈している (James, 1955; Adams, 1959)。この状態を立体的に把握するため走査電顕でみたのが図6～8である。標本は血管にメルコックス樹脂を注入し、硬化後カセイソーダ水溶液で組織を除去したものである。図6は唇側を外側から見た。象牙質をとり去ったその直下、すなわち象牙芽細胞層内終末毛細血管網の弱拡大写真である。歯髓中央部から分枝に乏しい比較的直な細動(静)脈が前外方に走り、象牙芽細胞下層に至るのが判る。図7は象牙芽細胞層及びその下層にみられる毛細血管網の側面観を示す。ブドー棚を想起させる立体構築をなし、上方が細胞層内毛細血管網、表面に垂直な走行をもつものが細胞間毛細血管でブドーの幹にたとえられる。根にあたるところに細胞下層の血管網があり、前述の歯髓中央部より斜走してきた細動(静)脈はここで突然分岐する。象牙芽細胞の胞体部はこの内外毛細血管網の間に円柱状上皮様に配列し、terminal webより原形質突起部にかけて表面の血管網から外側に突出している。図8は再び象牙芽細胞層内毛細血管網の外側観である。細胞間を垂直に立ち上った毛細血管は表層近くで数本の放射状分枝を出し、網目部に移行している。血管への樹脂注入の際に生じる圧力のため血管の径は大きくなり、網目の形は必ずしも生体時を示しているとはいえないが、大体において長楕円で、一つの網目には僅か10～15個の象牙芽細胞を一括し栄養している計算になる。ここに用いた材料はラット切歯という特殊な成長を示す歯であるが、造歯細胞が旺盛な象牙質形成能を維持できる理由も理解できるといえよう。

次に光顕による切片観察で気づいた所見を述べる。象牙芽細胞層の毛細血管断面には内皮細胞の核が明らかに見える(図9)。この核が血管腔のどの位置に出現するか調べてみた。無作意にスライドグラスを抽出し毛細血管の断面を総数226個観察した。例えば図9をみると、象牙芽細胞層内に横長の断面をもつ毛細血管が2個ある。ここに見える内皮細胞の核は歯髓側に2個、(左)側方に1個位置しているのが明瞭である。このように核の位置が血管断面の象牙質側か、歯髓側か、あるいは(左・右)側方かにつき、それぞれの数を調べた。それによると、歯髓側46個、象牙質側4個、側方19個、核が断面に見当たらないもの120個、内皮細胞の核なのか周細胞の核か判断できないもの37個であった。この結果から、象牙質側に核の出現する確率は0.1%以

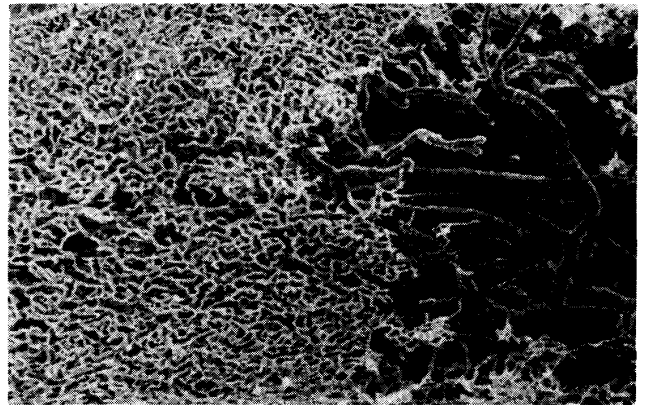


図6 樹脂注入血管の走査電顕像

象牙芽細胞内毛細血管網の外側観を示す。歯髓中央部の静脈幹と連絡が見える。700×

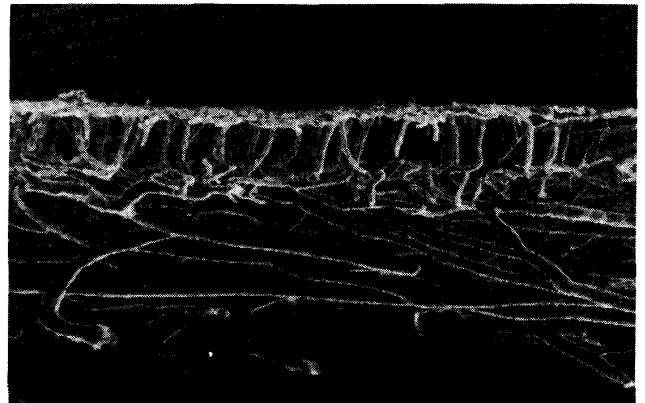


図7 同上・側面観

象牙芽細胞層内と同下層の毛細血管を示す。歯髓中央部の動静脈幹との連絡も見える。1,600×

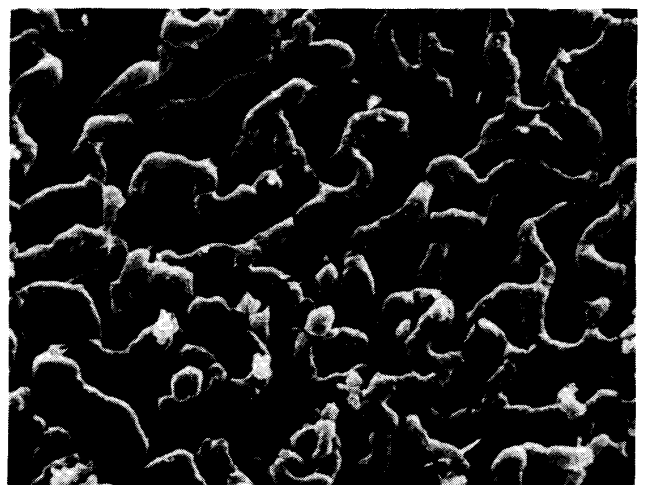


図8 同上・象牙芽細胞層内終末毛細血管網の外側観

一つの網目内に10～15個の細胞が納まる。4,600×

下の危険率で有意差のあることが判った。すなわち、毛細血管は歯の表面に平行して網目状に配列するが、その毛細血管内皮細胞において象牙質側に核の位置する頻度は極めて少ないことを示している。核の位置にこだわるのは何故かという、毛細血管内皮において核のあるところでは原形質が多量にあり、体液の通過は容易でないと考えられるし、一方、核から隔たる位置での細胞質は極めて厚味が薄く、また飲小窩も多いから物質透過が旺んだろうと推測できる。それで体液は毛細血管から象牙質側に向かって透過される可能性が高いと考えてよさそうである。従って、核が毛細血管の象牙質側に極めて少ないということは、前節において示したようにトレーサー物質が極めて短時間に象牙質側に向かって移送されるという理由の一端をなすと考える。

次に本節第3番目の課題として透過電顕による内皮細胞の特徴について述べる。この内皮細胞について、Riedel et al. (1966) はヒトの歯で、Corpron et al. (1974) はマウス臼歯、Semba and Ishida (1975) はラット切歯で、それぞれ“窓あき”型を報告し、また Han and Avery (1963) はモルモットで“窓あき”型を認めていない。このような形態学的報告における相違は観察した材料や年齢、さらに観察部位の相異、標本作製手技の問題等によるのかも知れない。ここに報告するラット切歯はグルタルアルデヒドによる灌流固定後、EDTA脱灰を冷蔵庫内で2週間行ない、四酸化オスミウムで後固定した。

ラット切歯における歯髓表層の毛細血管網分布は象牙芽細胞の機能と密接な関連をもつようである。象牙質形成の初期には終末毛細血管は象牙芽細胞層直下に位置しているが、その進行に伴って象牙芽細胞下層と同層内の血管網に分れる。さらに進行して old odontoblast 期 (Takuma and Nagai, 1971) になると細胞層内血管は terminal web の高さまで達す。このような血管分布レベルの移動に加えて、終末毛細血管内皮細胞そのものにも変化が生じる。図10は象牙芽細胞が分化を終り、象牙前質の基質産生を始めた時期にみられる終末毛細血管内皮で、それは連続型を示している。飲小窩は極めて少なく、体液の透過性に関しては不活潑なようである。毛細血管は象牙質形成の進行に伴い、前述のように象牙芽細胞下層と細胞層内の二段の網目に分れてくる。この分離の初期は連続型内皮細胞が殆んどであるが、細胞層内毛細血管が terminal web に近いレベルに移動するにつれて、“窓あき”型内皮が出現するようになる(図11)。“窓あき”型の生理的意義につい

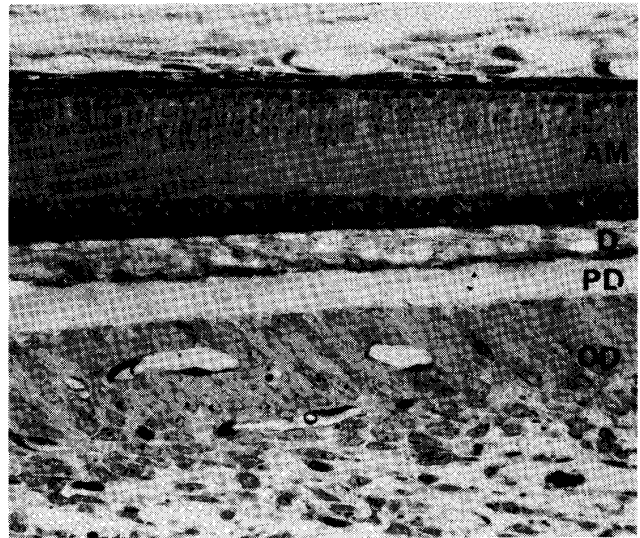


図9 ラット切歯光顕像 エポソ包埋, トルイジブルー染色。OD層内の毛細血管内皮の核の位置に注意。240×

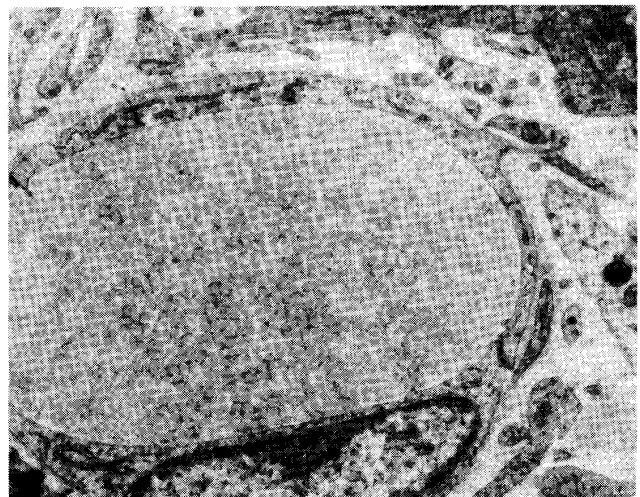


図10 幼若象牙芽細胞層直下の連続型毛細血管の透過電顕像。3,500×

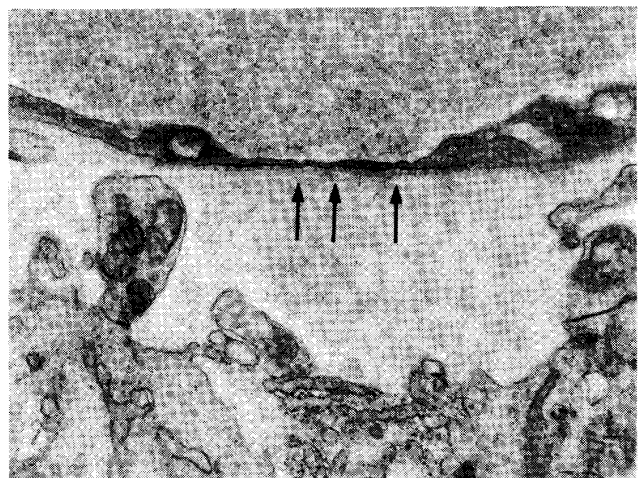


図11 老象牙芽細胞層内の“窓あき”型毛細血管の透過電顕像。孔↑の径は300~400nm。15,000×



では、体液を血管の内・外へ速く移送する必要があると考えられる組織に通常みられることから想像できる (Bloom and Fawcett, 1975)。

以上本節でみてきたように、象牙芽細胞層の終末毛細血管は象牙質形成の進行に伴い、細胞層内に占める網目のレベルが変化し、また内皮細胞は連続型から“窓あき”型へと移行する。この変化は Josephsen et al. (1974)も指摘しているように、象牙質形成に必要な材料の供給や象牙質形成に関する基質環境の調整を効率よく行うために極めて有意だと推測される。第1節で示したようにトレーサーが極めて短時間内にエナメル-象牙境にまで到達する実験結果の形態学的証拠を本節で示したことになる。

### 3. 象牙前質の酸性ムコ多糖-たんぱく複合体

象牙質や象牙前質の基質構成物質は、膠原線維、リンたんぱく、糖たんぱく、酸性ムコ多糖-たんぱくとといったものがあげられる。Leblond and Weinstock (1976)の綜説を一読されることを願って、ここでは酸性ムコ多糖-たんぱく複合体についてのみ考察する。

電顕による形態学の立場から酸性ムコ多糖たんぱくを検出するには、種々の方法が紹介されている (山元, 1973; 大倉, 1973; 矢島・相原, 1973)。細胞間質中のものを検出するには Luft 法 (1966)がよく用いられる。この方法により象牙前質中の酸性ムコ多糖-たんぱくに関する形態学的知見を述べる。

ラット切歯を Luft 法に従いルテニウム・レッド (以下 RR と記す) で染色した。図12は象牙前質の弱拡大写真で、散在性に多数みられる小黑点は RR 陽性物質 (酸性ムコ多糖-たんぱく) を示している。これが酸性ムコ多糖-たんぱくを表現するものであるかどうかについての検討は、仙波 (1978) に詳しく述べてあるから参照されたい。これら多数の RR 陽性物質をよくみると、図13でみられるように星芒状構造をしているのが判る。切片標本では中心部に直径約20~25nmの(楕)円形の芯をもち、そこから平面上で4~6本の細い放射状構造物が突出している。一個の星芒状構造のもつ全輪郭の直径は150nm以上にもなる。場所によっては、この星芒状 RR 陽性物質が膠原線維の横縞周期構造と一致して附着しているのがみられるが、普遍性をもった事象であるかどうか明らかでない。

生体の細胞間質に存在するムコ多糖-たんぱくの機能に関しては、(1)体液、電解質等の移動、(2)石灰沈着、(3)線維化、(4)関節の滑剤、(5)血液凝固阻止等が考えら

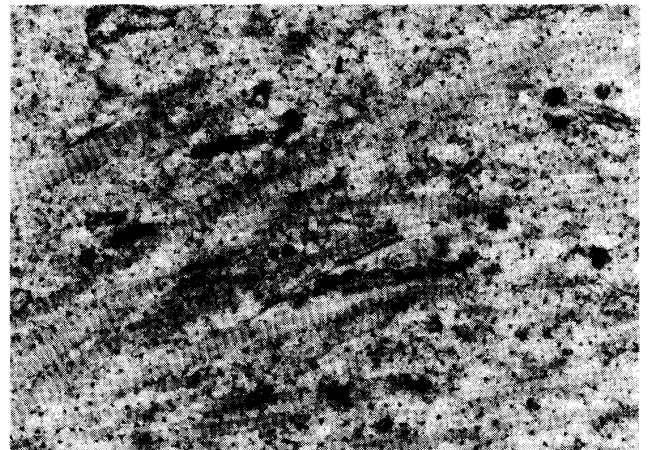


図12 象牙前質基質内の RR 陽性顆粒物質の分布を示す透過電顕像。16,000×

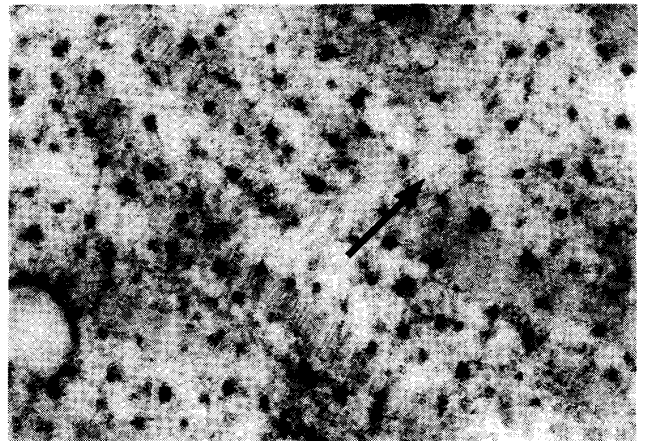


図13 RR 陽性顆粒が星芒状を呈する↑ことを示す。60,000×

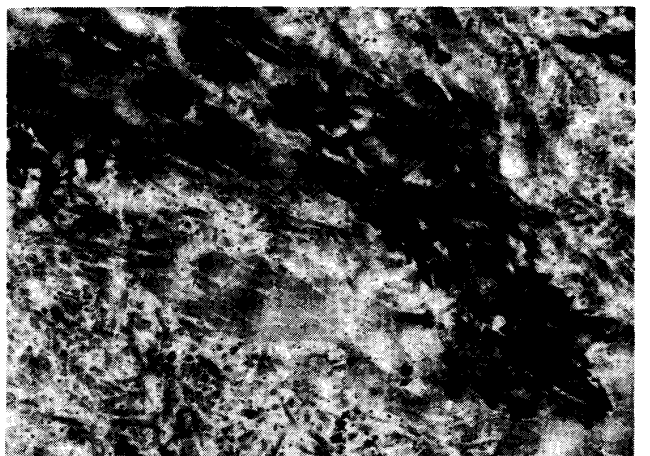


図14 象牙前質の石灰化前線における RR 染色像。石灰化帯 (黒色部) 附近には RR 陽性顆粒が消失している。15,000×

れている。例えば、軟骨質は血管が極めて乏しいにもかかわらず、軟骨細胞は正常に機能できる。それは体液循環の円滑な証拠である。また組織学研究者が軟骨を固定するとき、固定液が他組織に比し容易に浸透する事実を経験している。このような事例は、軟骨基質内に豊富に存在するムコ多糖-たんぱくが体液や電解質の移動に関係しているという事実の一部であるといえよう。

ところで、象牙前質にみられた星芒状酸性ムコ多糖-たんぱくはどのような機能的意義をもつのであろうか。この形状から想起する巨大分子のモデルは Fitton-Jackson のオクトパスモデルで、これはムコ多糖-たんぱく複合体の電顕像をもとにして考察した結果作られたものである。形態学の立場から、RR染色による各種組織基質内陽性物質の構造をみると、形・大きさいずれも一定せず、それら電顕像の相異の間に化学的構造がどう説明されるのか永らく不明であった。Rosenberg et al.(1970) はウシの鼻中隔軟骨から得た多糖たんぱくの種々なフラクションを透過電顕で観察し、巨大分子の構造を明らかにした。このモデルにより象牙前質にみられるRR陽性物質を考えてみると、PPL-5 $\alpha$ 分画に相当するといえるかもしれない。このような曖昧な表現しかできないのは、輪郭のうえでは極めて類似性が高いのだが、計測によるとその長さに著しい差のあることが判る。図13でみられるRR陽性星芒状構造を測ると、最大直径150nm程度であるのに、Rosenberg et al.により示された値は500~800nmである。この差は形態学と生化学との方法論的な相異に基づくものと思える。透過電顕標本の作製には完全脱水過程を経るが、生化学的物質抽出・分画の方法には分子の水和による膨潤が必要である。このように全く相反した手技により作られた標本の計測値は当然のことながら著しい差が生じるであろう (Anderson and Sajdera, 1971)。

ところで、ムコ多糖-たんぱく複合体の生体における機能の可能性については先に5項目を列挙した。硬組織の石灰化との関連はどうかというと、その促進説と抑制説といった相反する主張がある。ここで多少の推測を加えさせていただくなら、Salvo and Schubert (1976), Campo et al. (1969) はムコ多糖-たんぱく複合体の磷酸カルシウム沈澱に関する効果を研究し、そのなかでPPL-5分画(前述のRR陽性星芒状物質もこの範疇に属すと考えてよさそうだが)が沈澱を妨げるのを認めた。これはPPL-5分画のムコ多糖-たんぱく分子の“たこ足”状突起が磷酸カルシウムの微細結晶をつつみこみ、結晶の成長を抑制し、象牙前質、軟

骨においては石灰化を遅延させていると考えてもよさそうである(鈴木, 1969; 吉沢, 1972)。このように考えてくると、図14で未石灰部の膠原線維の周囲にはRR陽性顆粒がみえるのに、石灰化の進行している部位での膠原線維上、あるいはその周辺に殆んど顆粒が見当たらないのである。このようなことから、象牙前質にみられるRR陽性星芒状構造物は象牙前質において、膠原線維が量、大きさ共に充分成熟し、歯の丈夫な土台が完成するまで石灰化を抑制しているのかも知れない。

#### 4. 結 語

以上象牙前質基質のおかれている環境状態を知るために、トレーサーを用いた実験を中心として、それにかかわるとみられる毛細血管、ムコ多糖-たんぱく複合体の特徴について形態学の立場から述べ、多少の推論を試みた。硬組織石灰化機構の説明に関し、未だに定説がない。その原因の一つには、石灰化の場における生物学的環境の正しい理解が不足しているためと考え、本研究を行ってきた。しかし、体液流動方向の例一つとってみても、ここではトレーサー注入僅か5分以内の実験であり、エナメル-象牙境に達したトレーサーはその後どの方向へ流れてゆくのか不明である。また、象牙芽細胞 terminal web における tight j. についても不明な点を残している。このように、未だ理解不十分な点も多く抱えているが、ここに今日まで行ってきた研究の一端を紹介した。

#### 参 考 文 献

- ADAMS, D. (1959) : Peripheral capillaries in the rodent incisor pulp. *J. Dent. Res.*, 38 : 969~978.
- ANDERSON, H. C. (1969) : Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J. Cell Biol.*, 41 : 59~72.
- ANDERSON, H. C. and S. W. SAJDERA (1971) : The fine structure of bovine nasal cartilage. Extraction as a technique to study proteoglycans and collagen in cartilage matrix. *J. Cell Biol.*, 49 : 650~663.
- BLOOM, W. and D. W. FAWCETT (1975) : A textbook of histology. 10th ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia. pp. 386~426.
- BONUCCI, E. (1970) : Fine structure and histo-

chemistry of "Calcifying globules" in epiphyseal cartilage. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 103 : 192~217.

CAMPO, R. D., C. D. TOURTELLOTTE and R. J. BIELEN (1969) : The protein-polysaccharides of articular, epiphyseal plate and costal cartilages. *Biochim. Biophys. Acta.*, 177 : 501~511.

CORPRON, R. E., J. K. AVERY and S. D. LEE (1974) : Ultrastructure of terminal pulpal blood vessels in mouse molars. *Anat. Rec.*, 179 : 527~542.

FARQUHAR, M. G. and G. E. PALADE (1963) : Junctional complexes in various epithelia. *J. Cell Biol.*, 17 : 375~412.

GARANT, P. R., G. SZABO and J. NALBANDIAN (1968) : The fine structure of the mouse odontoblasts. *Archs. oral Biol.*, 13 : 857~876.

GRAHAM, R. C. and M. J. KARNOVSKY (1966) : The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney. Ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.*, 14 : 291~302.

HAN, S. S. and J. K. AVERY (1963) : The ultrastructure of capillaries and arterioles of hamster dental pulp. *Anat. Rec.*, 145 : 549~572.

JAMES, W. W. (1955) : The blood capillary system of the odontoblast layer of the dental pulp. *J. Anat.*, 89 : 547~549.

JANDE, S. S., T. TOLNAI and D. E. M. LAWSON (1981) : Immunohistochemical localization of vitamin D-dependent calcium-binding protein in duodenum, kidney, uterus and cerebellum of chickens. *Histochemistry*, 71 : 99~16.

JOSEPHSEN, K., O. FEJERSKOV and J. THEILADE (1974) : Age changes in juxtaodontoblastic capillaries of rat molars. *Scand. J. Dent. Res.*, 82 : 574~578.

KARNOVSKY, M. J. (1967) : The ultrastructural basis of capillary permeability. studied with peroxidase as a tracer. *J. Cell Biol.*, 35 : 213~236.

LEBLOND, C. P. and M. WEINSTOCK (1976) : A comparative study of dentin and bone formation. In "The Biochemistry and Physiology of Bone" (G. H. BOURNE, ed) pp. 517~562. Academic Press, New York.

LEHNINGER, A. L. (1970) : Mitochondria and calcium ion transport. *Biochem. J.*, 119 : 129~138.

LUFT, J. H. (1966) : Ruthenium red staining of the striated muscle cell membrane and the myotendinal

junction. *Electron Microscopy*. ed. by R. Ueda, Maruzen Co., Tokyo, 2 : 65~66.

MUNHOZ, C. O. and C. P. LEBLOND (1974) : Deposition of calcium phosphate into dentin and enamel as shown by radioautography of sections of incisor teeth following injection of <sup>45</sup>Ca into rats. *Calcif. Tissue Res.*, 15 : 221~235.

大倉卓治(1973) : アルシアン青などによるムコ多糖の電子鏡検。山田英智他編 医学・生物学のための応用電子顕微鏡総論, 301~315頁 医歯薬出版

RIEDEL, H., H. G. FROMME and B. TALLEN (1966) : Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Frage der Kapillarmorphologie in der menschlichen Zahnpulpa. *Arch. Oral Biol.*, 11 : 1049~1055.

ROSENBERG, L., W. HELLMANN and A. K. KLEINSCHMIDT (1970) : Macromolecular models of proteinpolysaccharides from bovine nasal cartilage based on electron microscopic studies. *J. Biol. Chem.*, 245 : 4123~4130.

SALVO, J. D., and M. SCHUBERT (1967) : Specific interaction of some cartilage proteinpolysaccharides with freshly precipitating calcium phosphate. *J. Biol. Chem.*, 242 : 705~710.

SEMBA, T., and M. ISHIDA (1975) : On the fluid flow in the pulp of young rat incisors. *proc. 10th Int. Cong. Anat.*, ed. by E. Yamada, Science Council of Japan, 409.

鈴木旺(1969) : ムコ多糖の化学, 機能, 代謝, 6 : 74~84.

矢島権八, 相原薫(1973) : Periodic acid methanamine silver 染色によるムコ多糖の電子鏡検, 山田英智他編 医学・生物学のための応用電子顕微鏡総論, 301~315頁 医歯薬出版.

山元寅男(1973) : Ruthenium red によるムコ多糖の電子鏡検。同上286~291頁 医歯薬出版

吉沢善作(1972) : 実験に必要な基礎知識, 化学の領域, 増刊76 : 1~30.

TAKUMA, S. and N. NAGAI (1971) : Ultrastructure of rat odontoblasts in various stages of their development and maturation. *Archs. oral Biol.*, 16 : 993~1011.

WARSHAWSKY, H. and G. MOORE (1967) : A technique for the fixation and decalcification of rat incisors for electron microscopy. *J. Histochem. Cytochem.*, 15 : 542~549.

WASSERMA, R. H. and A. N. TAYLOR (1966) :



Vitamin D<sub>3</sub>-induced calcium-binding protein in chick intestinal mucosa. *Science*, 152 : 791~793.

WATSON, M. L. and J. K. AVERY (1954) : The development of the hamster lower incisor as observed by electron microscopy. *Am. J. Anat.*, 95 :

109~161.

WISSIG, S. L. and M. C. WILLIAMS (1978) : Permeability of muscle capillaries to microperoxidase. *J. Cell Biol.*, 76 : 341~359.