形成期の膜性骨の走査電顕的超微形態

新 村 明 達 山 合 友 一 朗 滝 口 励 司

昭和大学歯学部第一口腔解剖学教室*（主任：滝口励司教授）

〔受付：昭和57年3月20日〕

Scanning electron microscopy of forming membrane bone

Akisato Niimura, Tomoichiro Yamaai and Reiji Takiguchi

The First Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Showa University,

1-5, Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo, 142

(Chief: Prof. Reiji Takiguchi)

[Accepted for publication: March 20, 1982]

Key words: intramembraneous ossification / membrane bone / forming surface / resorbing surface / collagen fibril

Abstract: For the purpose of observing the ultrastructure of the membrane bone during embryonal development, scanning electron microscopic investigation of the ultrastructures of the internal and external surfaces of the parietal bone in the fetus was carried out in the latter part of the embryonic period, with the following results:

Trabeculae had formed on the internal and external surfaces of the fetal parietal bone. Numerous cavities of blood vessels were opened among the trabeculae showing the vascular walls. On the external surface of the parietal bone a matrix of compact collagen fibrils running parallel in roughly uniform direction had been formed. The outermost layer, however, was composed of irregularly oriented reticular collagen fibrils. The internal surface of the parietal bone was under resorption. The resorbing surface consisted of numerous large and small resorption lacunae of varying shapes, the collagen fibrils exposed at the bottom of these lacunae showed different orientations, and osteocyte lacunae were observable in the lacunae exposed by the resorption.

Along the vascular walls of the blood vessels opened on the internal and external surfaces of the parietal bone a matrix had already been formed. Whereas the matrix was composed of compact collagen fibrils running parallel in almost uniform direction, its outermost layer was made up of irregularly oriented reticular collagen fibrils.

緒 言

胎生期における骨の発生様式は、膜内骨化 (intramembraneous ossification) と軟骨内骨化 (endochondral ossification) とに区別される。大部分の骨は将来、骨が形成される部分に、いったん軟骨性の原基が形成され、ついで骨組織に置換さ

れる、いわゆる軟骨内骨化の様式によって形成される。一方、膜内骨化によって形成される骨は、頭頂骨などの頭蓋冠の骨と鎖骨とである。膜内骨化は骨芽細胞によって、皮膚の結合組織層に骨組織が形成されることをいい、この発生様式によって形成された骨を膜性骨 (membrane bone) と称している。

著者らはこれまでに走査電子顕微鏡によって、

* 東京都品川区旗の台 1-5-8 (〒142)

成長期の下顎頭を用いて、軟骨基質の石灰化過程について検索してきた¹⁻⁴⁾。さらに、軟骨内骨化についても成長期の下顎頭によって検索した⁵⁾。ついで、骨基質形成面^{6,7)}と骨小腔壁の基質形成面⁸⁻¹¹⁾との超微形態についても走査電子顕微鏡によって検索してきた。しかしながら、膜内骨化によって形成される膜性骨の超微形態についてはいまだ報告を見ない。

典型的な膜性骨である頭蓋冠の骨は、最初に骨化点が形成され、骨化点からは海綿状の骨質が周囲に放射状に形成されていく。ついで骨の中心部からしだいに緻密な骨質へと変化していく。頭蓋冠をつくっている膜性骨は、一応の形態が形成されたのちに、脳の成長に伴って外方へ形成されつづけるので、頭頂骨などの頭蓋冠の骨は、骨の彎曲度が変化する。すなわち、骨の外面には基質が形成され、逆に内面は吸収されるといわれている。そこで膜性骨の表面の動向を検索する目的で、胎生期後半の胎児の頭頂骨を用いて、骨の外表面および内面の超微形態を走査電子顕微鏡で検索し、若干の新知見を得たので、ここにその結果を報告する。

試料および方法

研究試料としては、胎生6か月の3体の胎児の頭頂骨を使用した。胎児に臍動脈から2.5%グルタルアルデヒド溶液(リン酸緩衝液, pH 7.4)の灌流固定を行い、胎児からすみやかに頭頂骨を摘出し、頭頂骨の各部分を5mm前後の大きさの試料とした。各試料は2.5%グルタルアルデヒド溶液(リン酸緩衝液, pH 7.4)によって、4°Cで3時間固定した。水洗後、試料の表面の骨膜の線維層を、実体顕微鏡下でピンセットによって剝離した。ついで、試料を1%トリプシン溶液(リン酸緩衝液, pH 7.4)中に、48時間、37°Cの恒温器中に放置し、骨基質の表面の細胞を消化させ、形成面または吸収面を露出させた。水洗後、試料はアルコール上昇系列によって脱水し、酢酸イソアミールで置換して、液体炭酸ガスで臨界点乾燥を施した。乾燥後、観察面に白金のイオンスパッタコーティングを施し、走査電子顕微鏡によって観察した。

結 果

膜性骨である胎児の頭頂骨の結節部には、内外面ともにきわめて多数の不正円形の血管孔が開いている(Fig. 1)。結節の周囲の部分には骨梁が形成されており、骨梁間には多数の血管腔壁が開いている(Fig. 2)。頭頂骨の周縁部には疎な骨梁が形成されており、骨梁はいまだ骨化していない結合組織上に延びている(Fig. 3)。頭頂骨の外表面には基質が形成されており(Fig. 4-9)、内表面は吸収されている(Fig. 10, 11)が、血管腔壁には基質形成が認められる(Fig. 12-14)。

頭頂骨の外表面は一定方向に平行に走向している密な膠原原線維で形成されている。外表面には不完全に形成されている骨小腔が認められる。外表面の最表層は不規則な走向の膠原原線維によって、膠原原線維網が形成されている(Fig. 4)。骨基質の最表層は密な膠原原線維網によって形成されている部分(Fig. 5)と、疎な膠原原線維網によって形成されており、下層の一定方向に走向している密な膠原原線維が明瞭に認められる部分(Fig. 6)とがある。

頭頂骨の外表面では、骨基質の表面は一定方向に平行に走向している密な膠原原線維で形成されており、骨基質の最表層は密な膠原原線維網で形成されているが、弱拡大像ではFig. 4の最表層に形成されている膠原原線維網のように明瞭でない部分がある(Fig. 7)。骨基質の最表層を形成している膠原原線維網の大部分が、下層の密な膠原原線維上に癒合している部分(Fig. 8)と、下層の密な膠原原線維上に完全に癒合している部分(Fig. 9)とが認められる。骨基質の表面にはきわめて多数の骨細管が開いており、篩状を呈している部分も認められる(Fig. 9)。

頭頂骨の内表面は吸収が進行しており、吸収面は大小様々の多数の不定形の吸収窩からなっている。各吸収窩は深さが異なっており、それぞれの吸収窩底の膠原原線維の走向が異なっている。吸収窩底には吸収によって露出された多数の骨小腔が認められる(Fig. 10)。吸収窩底には吸収によって露出された膠原原線維が認められる。吸収窩底の膠原原線維の走向は同一の吸収窩でも部分的

Fig. 1 Tubercle region of the internal surface of the fetal parietal bone showing numerous openings of blood vessel holes

Fig. 2 Circumference of the external tubercle of the parietal bone showing inner walls of blood vessels exposed between trabeculae

に異なっているが、大部分は網状構造を呈している。吸収窩底に露出されている骨小腔壁は、きわめて密な一定方向に走向している膠原原線維で形成されているが、壁の最表層を形成している膠原原線維の走向は不規則であり網状構造を呈している。骨小腔壁には同大の骨細管が開口している

Fig. 3 Marginal region of the internal surface of the parietal bone showing sparse formation of trabeculae

(Fig. 11)。

頭頂骨の内外面に開口している血管腔壁は、頭頂骨外面と同様な超微形態を呈している。血管腔壁は一定方向にほぼ平行に走向している密な膠原原線維で形成されているが、最表層は不規則な走向の膠原原線維によって、網状構造が形成されている (Fig. 12)。血管腔壁の最表層は密な膠原原線維網によって形成されており、下層を一定方向に走向している膠原原線維が不明瞭な部分 (Fig. 13)と、疎な膠原原線維網によって形成されている部分 (Fig. 14)とが認められる。

考 察

骨は胎生期において軟骨内骨化か膜内骨化によって形成される。軟骨内骨化では軟骨性の原基が形成され、さらに軟骨基質が石灰化し、ついで、石灰化軟骨基質が吸収され、索状になった石灰化軟骨基質の表層に骨基質が付加される。胎生期に形成される大部分の骨は軟骨内骨化の様式によって発生する。骨の軟骨性原基を構成している硝子軟骨の石灰化過程¹⁻⁴⁾と、軟骨内骨化⁵⁾とは、これまでに走査電子顕微鏡によって詳細に検索してきた。しかしながら、膜内骨化による膜性骨の形成過程については、これまでに報告を見ない。典型的な膜生骨である頭蓋冠を形づくっている骨は、

Fig. 4 Outermost layer of the external surface of the parietal bone formed of reticular collagen fibrils

Fig. 6 Outermost layer of the external surface of the parietal bone formed of sparse networks of collagen fibrils

Fig. 5 Outermost layer of the external surface of the parietal bone formed of dense networks of collagen fibrils

胎生期には脳の成長に伴って外方へ形成されつづけているので、骨の外面には骨基質が形成され、逆に内面は吸収が進行しているといわれている。そこで今回は典型的な膜性骨である胎性期後半の胎児の頭頂骨を用いて、形成期の膜性骨の超微形態について検索したので、これまでに報告してきた骨基質の形成面と対比して考察する。

胎生期後半の胎児の頭頂骨の内外面には、きわ

めて多数の血管腔が開口している。このことは、頭頂骨の外面に基質が形成されており、内面は吸収されているので、このような時期には骨表面に多量の血液供給の必要があるために、きわめて多数の血管が分布していることと考えられる。骨基質の形成を検索する目的で、著者らがこれまでに観察した成長期のラットの骨口蓋の上下面にも、胎児の頭頂骨の内外面と同様にきわめて多数の血管腔が開口していた¹²⁻¹⁴⁾。成長過程においては、鼻腔が拡大されるために、口蓋は下降する。そこで骨口蓋の下面にはきわめて著しく基質が形成され、上面は吸収されているので、成長期の骨口蓋も、今回試料として用いた形成期の頭頂骨も同様であるためと考えられる。また、きわめて著しく骨基質が形成されている時期には、骨表面に開口している血管孔が著明に増加してくるが、骨基質形成が緩やかになると、血管孔は小型化するとともに、数も著しく減少することを確認している¹⁵⁾。

頭頂骨の外表面は一定方向に平行に走向している密な膠原原線維で形成されている。膠原原線維は石灰化骨の表面に、末石灰化層を形成しているが、この末石灰化層は徐々に石灰化するものと考えられる。著者らがこれまでに観察した骨基質形成面^{6,7)}にも同様に密な膠原原線維層が形成されていた。

Fig. 7 External surface of the parietal bone formed by compact collagen fibrils running parallel in a uniform direction

Fig. 9 External surface of the parietal bone showing extremely large amount of canaliculi opened in the matrix surface

Fig. 8 External surface of the parietal bone showing fusion of the majority of the reticular collagen fibrils of the superficial layer of matrix with the matrix beneath them

Fig. 10 Internal surface of the parietal bone showing many resorption lacunae irregular in size and shape

頭頂骨の外表面の膠原原線維層には、不完全に形成されている骨小腔が認められる。形成期の骨基質の最表層には、活発な骨形成能を有している骨芽細胞が単層に配列されており、骨組織の主成分である膠原原線維を産生しているが、骨芽細胞はそれ自体が形成した未石灰化の膠原原線維層に

徐々に埋入される。そのために、不完全に膠原原線維層に埋入されている骨小腔が認められる。著者らがこれまでに観察した形成期の骨表面にも、不完全に形成されたきわめて多数の骨小腔が観察された^{6,7,16)}。

頭頂骨の外表面の最表層は、不規則な走向の膠原原線維によって、膠原原線維網が形成されてい

Fig. 11 Osteocyte lacuna exposed at the bottom of the resorption lacuna

Fig. 13 Superficial layer of the inner wall of blood vessel formed of dense reticular collagen fibrils

Fig. 12 Superficial layer of the inner wall of blood vessel formed of reticular collagen fibrils

Fig. 14 Superficial layer of the inner wall of blood vessel formed of sparse network of collagen fibrils

る。著者らがこれまでに観察した骨基質形成面でも、最表層は膠原原線維網によって形成されていた^{6,7)}。すなわち、骨基質の最表層に単層に配列されている骨芽細胞から分泌された膠原原線維は、不規則な配列になっているが、その後、膠原原線維は徐々に規則的に配列されるようになることと考えられる。基質形成が行われている骨小腔壁も同様に、密な膠原原線維網で形成されている⁸⁻¹¹⁾。

頭頂骨の外表面の最表層を形成している膠原原

線維網には、密な部分と疎な部分とが認められる。密な膠原原線維網で形成されている部分は、疎な部分よりも著しく基質が新生されている部分と考えられる。著者らがこれまでに観察した骨基質形成面の最表層も同様な超微形態を呈していたが、急速に基質が形成されていると考えられる骨基質形成面の最表層には、きわめて密な膠原原線維網によって形成されている半球形または不定形の5

μ 前後の微小構造物が形成されていた。今回観察した頭頂骨の外表面には、このような微小構造物は形成されていなかった。このことは、胎児の頭頂骨は、脳の成長に伴って、基質が徐々に外方へ形成されているものと思われる。頭頂骨の外表面の最表層を構成している密な膠原原線維網が、下層の膠原原線維層に癒合している部分も認められた。この部分は休止面であると考えられる。

頭頂骨の内表面は吸収されており、吸収面は大小様々の多数の不定形の吸収窩からなっている。各吸収窩は深さが異なり、吸収窩底には吸収によって露出された膠原原線維が認められる。各吸収窩底に認められる膠原原線維の走向は異なっている。このことは、それぞれの吸収窩底の深さが異なっているため、異なった深さの層板を構成していた膠原原線維が露出されているためと考えられる。

胎児の頭蓋冠を構成している頭頂骨は、内部の脳の成長に伴って、内面の基質は吸収され、外面には基質が形成されることによって、外方へ成長するとともに彎曲度が緩やかになる。

結 論

胎生期後半の胎児の膜内骨化による形成途上の

頭頂骨の内外面の超微形態を、走査電子顕微鏡によって観察した結果、次のような結論を得た。

1. 頭頂骨の内外面には骨梁が形成されており、骨梁間にはきわめて多数の血管腔壁が開口している。

2. 頭頂骨の外表面は基質が形成されており、一定方向に平行に走向している密な膠原原線維で形成されているが、最表層には不規則な走向の膠原原線維によって、膠原原線維網が形成されている。

3. 頭頂骨の内表面は吸収されており、吸収面は大小様々の多数の不定形の吸収窩からなっている。各吸収窩底には走向の異なっている膠原原線維が露出されている。

4. 吸収窩底には吸収によって露出された骨小腔が認められる。骨小腔壁はきわめて密な一定方向に走向している膠原原線維で形成されているが、壁の最表層は網状構造を呈している膠原原線維で形成されている。

5. 頭頂骨の内外面に開口している血管腔壁には基質が形成されており、一定方向にほぼ平行に走向している密な膠原原線維で形成されているが、最表層には不規則な走向の膠原原線維によって、膠原原線維網が形成されている。

抄録：膜性骨の形成過程の超微形態を検索する目的で、走査電子顕微鏡によって、胎生期後半の胎児の頭頂骨の内外表面の超微形態を観察した。頭頂骨の内外面には骨梁が形成されており、骨梁間にはきわめて多数の血管腔壁が開口している。頭頂骨の外表面は基質が形成されており、ほぼ一定方向に平行に走向している密な膠原原線維で形成されているが、最表層には不規則な走向の膠原原線維によって、膠原原線維網が形成されている。頭頂骨の内表面は吸収されており、吸収面は大小様々の多数の不定形の吸収窩からなっている。各吸収窩底には走向の異なっている膠原原線維が露出されている。吸収窩底には吸収の進行によって露出された骨小腔が認められる。頭頂骨の内外面に開口している血管腔壁は基質が形成されており、ほぼ一定方向に平行に走向している密な膠原原線維で形成されているが、最表層は不規則な走向の膠原原線維によって、膠原原線維網が形成されている。

文 献

- 1) Fujimoto, M., Egawa, K., Ide, Y. and Takiguchi, R.: Scanning electron microscopy of calcifying cartilage matrix in the mandibular condyle. Bull. Tokyo Dent. Coll., 21: 41-47, 1980.
- 2) 藤本 誠, 谷内良弘, 滝口励司: 下顎頭軟骨のエネルギー分散X線分析. 歯基礎誌, 22: 412-417, 1980.
- 3) 藤本 誠, 後藤 清, 滝口励司: 下顎頭軟骨のエネルギー分散X線分析と走査電子顕微鏡的観察. 解剖誌, 56: 72-78, 1981.
- 4) 藤本 誠: 下顎頭軟骨基質の石灰化についての走査電子顕微鏡的観察. 歯基礎誌, 24: 62-71, 1982.
- 5) 江川 薫, 新村明達, 滝口励司: 下顎頭の軟骨内骨化についての走査電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌, 22: 661-665, 1980.
- 6) 江川 薫, 小口幸司, 山合友一朗: 骨基質形成

- 面の走査電子顕微鏡的研究. 昭歯誌, 1 : 23-27, 1981.
- 7) 申 富雄, 杉山 裕, 鈴木いくよ, 滝口励司 : 胎児骨の基質形成についての走査電顕所見. 歯基礎誌, 22 : 470-474, 1980.
- 8) 後藤 清 : 骨小腔壁の基質形成に伴う微細構造上の変化について. 歯科医学, 42 : 459-471, 1979.
- 9) 鈴木いくよ, 後藤 清, 後藤周二, 滝口励司 : 骨小腔壁の走査電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌, 21 : 622-628, 1979.
- 10) 鈴木いくよ, 後藤 清, 滝口励司 : 骨小腔壁の微細構造についての走査電子顕微鏡的研究. 口科誌, 28 : 394-397, 1979.
- 11) Egawa, K., Suzuki, I. and Takiguchi, R. : Fine structure of the osteocyte lacunar wall. Bull. Tokyo Dent. Coll., 21 : 127-136, 1980.
- 12) Takiguchi, R. : Scanning electron microscopy of the bony palate of the rat. Bull. Tokyo Dent. Coll., 20 : 83-92, 1979.
- 13) 滝口励司, 江川 薫, 申 富雄 : ラットの骨口蓋の走査電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌, 21 : 285-291, 1979.
- 14) 江川 薫 : 増齢に伴う骨基質形成の変化について. 歯基礎誌, 23 : 147-153, 1981.
- 15) 江川 薫, 中村輝夫, 谷内良弘 : 増齢に伴う顎骨表面の血管孔の密度の変化について. 歯基礎誌, 22 : 418-421, 1980.
- 16) 谷内良弘 : 形成期の骨表面の超微形態学的研究. 歯科医学, 44 : 125-137, 1981.