原 著

マウス切歯縫合の組織学的基本構造について

祐 川 励 起 伊 藤 一 三

奥羽大学歯学部口腔解剖学第1講座（主任：伊藤一三教授）

〔受付：平成11年5月6日，受理：平成11年9月25日〕

On the Basic Histological Structure of the Mouse Incisive Suture

Reiki Sukekawa and Ichizoh Itoh

1st Department of Oral Anatomy, Ohu University School of Dentistry

(Chief : Prof. Ichizoh Itoh)

31-1 Misumido, Tomitamachi, Koriyama, Fukushima 963-8611, Japan

[Received on May 6, 1999 ; Accepted on September 25, 1999]

Key words : incisive suture/collagen fiber bundle/mouse/histology

Abstract : The process during which the murine incisive suture was formed was examined under light and scanning electron microscopes (SEM) to clarify the basic histological structure of this suture.

The premaxilla and maxilla comprising the incisive suture developed during bone formation. In the interosseous region, cells aggregated. Thereafter, trabeculae were formed on the sutural surface of these bones, inducing interdigitation. In the interosseous region, collagen fiber bundles were formed. Along with formation of interdigitation, one end of the fiber bundle was impacted into the trabecular surface (sutural surface), and the course was corrected. The completely formed suture showed marked interdigitation, and the course of the fiber bundles was regular. During this period, one end of the fiber bundle was impacted into the sutural surface in the form of a bundle, while the other end was divided into branches toward the center of the suture. Therefore, at the sutural center, fiber bundle branches from both sides were interlaced (plexus layer). In the plexus layer, fibroblasts were mainly scattered between branches. At both sides of the plexus layer, the fiber bundle before branching and cells involved in remodeling of the sutural surface were detected (adaptive layer).

Examination with an SEM showed round-shaped residues of the fiber bundles impacting into the sutural surface and morphological remodeling by bone formation and bone resorption.

These results suggest that the basic histological structure of the incisive suture consists of 3 layers, the plexus layer at the sutural center and 2 adaptive layers on both sides, and that a connection between bones is associated with interlacement of fiber bundle branches starting from the opposite sutural surfaces.

抄録：マウス切歯縫合の形成過程を光顕と SEM で観察し，この縫合の組織学的基本構造について考察した。

切歯縫合を構成する切歯骨と上顎骨は骨形成に伴って近接し，その骨間部に細胞が密集した。その後，両骨縫合面に骨梁が形成されて嵌合が生じ，骨間部では膠原線維束が形成された。嵌合形成に伴って線維束の一端は骨梁表面（縫合面）に埋め込まれ，その走向が修正された。形成の完了した縫合は強い嵌合を示し，線維束の走向は規則的であった。この時期の線維束は一端が束となって縫合面に埋入し，他端が縫合中央に向かうにつれて分

枝していた。そのため、縫合中央部は両側からの線維束の分枝が交錯し、分枝と分枝の間に線維芽細胞が散在していた (plexus layer)。また、plexus layer の両側には分枝前の線維束と縫合面の改造に関する細胞が存在していた (adaptive layer)。

縫合面の SEM 観察では、縫合面に埋入する類円形の線維束残余物と骨形成と骨吸収による改造形態が認められた。

以上の結果から、切歯縫合の組織学的基本構造は縫合中央部の plexus layer とその両側の adaptive layer の 3 層構造であり、骨と骨の連結は相対する縫合面からの線維束分枝の交錯によると思われる。

緒 言

頭蓋骨を連結している縫合は膠原線維束を主体とする軟組織であり、その組織学的基本構造については、これまで多数の報告がされている。

Scott (1954)¹⁾は縫合の軟組織は頭蓋骨の内、外面の骨膜の連続したものと理解し、縫合をそれぞれの骨膜の細胞層と線維層による 4 層構造とした。Weinmann and Sicher (1955)²⁾と Linge (1972)³⁾は幼若な縫合を観察し、主に線維束の密度から 3 層構造とした。Pritchard, Scott and Girgis (1956)⁴⁾は、縫合面は頭蓋骨の内、外面の骨膜から続くそれぞれ 2 層の cambial layer と capsular layer に包まれ、さらに両側の capsular layer の間に脈管の豊富な middle layer を確認し、縫合を 5 層構造とした。なお、骨と骨の連結は頭蓋骨の内、外面の骨膜から続く uniting layer によるとしている。Koski (1968)⁵⁾は、縫合を 3 層構造または 5 層構造とする理解の仕方は、単に縫合部を層に区別する範囲の違いによるとしている。

このような縫合の基本構造を層として理解する考え方に対して、Moss (1954)⁶⁾、Enlow (1968)⁷⁾、Latham (1971)⁸⁾らは、縫合に特別な構造を認めず、単なる線維膜としている。

以上のように、縫合の組織学的基本構造の理解の仕方はいろいろであるが、現在は縫合を 5 層構造とする Pritchard ら⁴⁾の考え方が比較的一般的である。しかしながら、この考え方は縫合の形成初期の形態所見が主体となっているため、形成の完了した縫合形態に必ずしも適応するものではない。また、他の考え方においても Pritchard らと同様、縫合の形成時期に加えて膠原線維束形態についての観察が十分とはいえない。そこで、マウス頭蓋縫合の 1 つである切歯縫合を形成前から形成完了まで組織学的に観察した。次に、形成完了時の線維束形態を詳細に観察し、その結果に基づいて切歯縫合の基本構造を考察した。

材料と方法

材料は胎生 15 日目と生後 1, 7, 14, 60 日目の近交系マウス (C 57 BL/6 CrSlc) で、各時期 8—10 匹ずつ雌雄の別なく計 48 匹を用いた (各時期で外見上正常と思われるものを使用し、発育差の大きい個体は除去した)。

動物は、奥羽大学動物実験研究施設で、温度 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 50—70%、12hr/12hr の明暗周期の環境条件下で、固形飼料 (オリエンタル酵母社製、MF) と水道水を自由に与えて飼育した。

観察方法は、各時期のマウスをクロロフォルムで麻酔後、口蓋部を切り取りブアン液で 48—60 時間固定した。固定後、迅速脱灰が可能な電気脱灰 (ギ酸、塩酸、蒸留水が 10:8:82 の比率の混合液を使用) を 8—10 時間行い、通法に従ってアルコールによる脱水とパラプラスト包埋を行った。その後、矢状断もしくは水平断方向で、7—8 μm の連続パラプラスト切片を作製し、H・E 染色、アザン染色、渡銀染色を施して縫合形態を光顕観察した。

なお、生後 60 日目の試料の一部は 2.5% グルタルアルデヒドと 2% パラホルムアルデヒドの混合固定液 (pH 7.4 の 0.1 M カコジレイト緩衝液) で 24 時間前固定後、同緩衝液で 24 時間洗浄した。次に、0.5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸して有機成分を溶解除去し、アルコール脱水して CO_2 で臨界点乾燥を行い、観察面に白金蒸着を施して日立 S-450 SEM で観察した。

結 果

切歯縫合は切歯骨後縁と上顎骨前縁で構成され、骨口蓋前方約 1/3 のところを嵌合しながら斜走していた (Fig. 1)。

縫合の形成過程を、主に縫合の水平断切片を用いて光顕観察した結果、縫合形成の基本形態に関して、個体差、雌雄差さらに縫合の部位差はみられなかった。

縫合の形成過程は以下のようであった。

縫合形成前 (胎生 15 日目)：形成初期の切歯骨と上顎

Fig. 1 Basal aspect of the murine osseous palate.

Apf : anterior palatine, foramen, I : incisor, InF : incisive foramen, InS : incisive suture, M : molar, Mx : maxilla, Pr : premaxilla

Note : Figs. 2 to 6, Fig. 9 and Fig. 10 show horizontal sections of the incisive suture. The left is the caudal side, while the right is the rostral side. The superior direction is lateral, while the inferior direction is medial. However, Fig. 8 shows a sagittal section. The superior direction is dorsal, while the inferior direction is ventral.

Fig. 2 a to 5 a, Fig. 6 and Fig. 9 represent findings on azan stain. Figs. 2 b to 5 b and Fig. 8 represent findings on silver impregnation stain. Fig. 10 represents a finding on H・E stain.

骨が観察されるが、その骨縁では盛んな骨形成がなされていた。そこでは骨に隣接する活性化した骨芽細胞からなる細胞層とその細胞層を取り囲む線維層が明瞭であった。また、相対する線維層の間の部位は間葉系細胞と網状に分布する線維で構成されていた (Fig. 2 a, b)。

第1段階 (生後1日目) : 骨成長によって骨間距離が減少すると、間葉系細胞の層と線維層は不明瞭になった。そのため、縫合部は細胞層の細胞が密集した状態になった。この時期の縫合部の線維は網状のままであった (Fig. 3 a, b)。

第2段階 (生後7日目) : 縫合面に骨梁が形成され、縫合に嵌合が生じた。縫合部では細胞周囲に膠原線維束が形成されていたが、それらは全体的に網状分布であった。なお、骨梁形成の盛んなところでは、線維束の一端が骨梁表面 (縫合面) に埋入していた (Fig. 4 a, b)。

第3段階 (生後14日目) : 骨梁形成が進行して嵌合が強くなった。縫合部の線維束は前の時期よりも増加していたが、大部分の線維束はその一端が束となって縫合面に埋入していた。この時期は、縫合部に形成された線維

Fig. 2 Fifteen days after viviparity. The margins of the premaxilla (Pr) and maxilla (Mx) showed marked bone formation. At the interosseous region mesenchymal cells were observed (a).

The interosseous region consisted of a net-like fibrous structure. The fibrous layer of the periosteum was clear (b).

束が骨梁形成に伴って骨梁表面、すなわち縫合面に埋め込まれながらその走向が特定の方向に修正される時期であった (Fig. 5 a, b)。

第4段階 (生後60日目) : 相対する縫合面からの指状の骨梁が強い嵌合を形成するため、水平断切片では縫合組織と骨梁が層状に観察された。縫合の線維束は規則的に斜走しており、縫合形成の完了形態を示した (Fig. 6)。縫合の線維束は一端が束となって縫合面に埋入するが、それらは縫合面の SEM 観察において、種々の太さの類円形の残余物として確認された (Fig. 7)。また、線維束の他端は縫合中央に向かうにつれて分枝するため (Fig. 8 a), 縫合中央部では相対する縫合面からの線維束の分枝と交錯していた (Fig. 8 b)。

縫合の細胞成分は、中央部に線維芽細胞が散在し、縫合面に隣接する骨芽細胞は扁平で縫合面の大部分は休止面であった (Fig. 9) が、部位によっては骨芽細胞と破骨

Fig. 3 One day after birth. Formation of the premaxilla (Pr) and maxilla (Mx) made the two bones adjacent. In the sutural region, cells had aggregated (a).

The sutural region showed a net-like fibrous structure. The fibrous layer of the periosteum had disappeared (b).

細胞が観察された (Fig. 10)。そのような部位では、SEM 観察において骨形成と骨吸収による縫合面の改造が確認された (Fig. 11)。

考 察

頭蓋には多数の縫合があり、それぞれ特有な組織学的形態を有している⁸⁻¹⁵⁾。この縫合を構成する主要素は膠原線維束であり、縫合の基本構造とはこの線維束の形態をどのように理解するかということでもある。

これまで、マウス頭蓋のいろいろな縫合の形成過程を観察してきた¹⁰⁻¹⁴⁾が、そのうちで切歯縫合¹²⁾の線維束が規則的走向を示し、形成完了後の形態変化も少なかった。そこで、この縫合の形成過程と形成完了後の膠原線維束の形態を光顕と SEM で観察した。

胎生期において、膜性骨化をする切歯骨と上顎骨の骨

Fig. 4 Seven days after birth. Interdigitation was formed by trabeculae (arrows) on the sutural surface (a). The collagen fiber bundle in the sutural region showed a net-like distribution (b).

成長は骨縁で起こるが、そこには骨に隣接して活性を示す骨芽細胞からなる細胞層とその細胞層を包む線維層が確認され典型的骨膜構造であった。また、相対する線維層と線維層の間は間葉系細胞と網状の膠原線維で構成されていた。縫合の基本形態として比較的一般的となっている Pritchard ら⁴⁾の 5 層構造の考え方に従うならば、この線維層と線維層の間が中間層ということになり、この中間層とそれぞれ 2 層の細胞層と線維層から縫合を 5 層構造として理解できる。しかし、これは縫合形成前の形態である。また、骨形成が進行して骨間距離が減少すると前述の中間層と線維層が不明瞭となった。この時期の中間層と線維層の不明瞭さの程度によって、縫合の基本形態を Scott¹⁾の 4 層または Weinmann and Sicher²⁾と Linge³⁾の 3 層とする理解の仕方も可能である。しかし、この形態もやはり縫合形成前のものである。Pritchard ら、Scott, Weinmann and Sicher, Linge が形成完了前後の縫合観察から、縫合をそれぞれ 5 層、4 層、3 層構造と理解したのは、縫合の形成過程と形成完了形態を確認

Fig. 5 Fourteen days after birth. Elongation of trabeculae made interdigitation stronger (a).

In the sutural region, the fiber bundle was increased, and one end of the fiber bundle was impacted into the sutural surface (arrows). The course was corrected (b).

していないこと、観察した縫合の線維束走向の不明瞭さ、切片の切断方向などによって線維束が典型的形態を示さなかったためと思われる。

一方、同様の縫合観察からは Moss⁶⁾, Enlow⁷⁾, Latham⁸⁾らのように縫合を単なる線維膜とする理解の仕方ともなりうる。

骨形成がさらに進行すると、線維層と中間層は消失して前述のような層構造は消失した。代わって骨間は相対する細胞層が混在した細胞の密集形態を示し、その線維構成は網状であった。頭蓋縫合の形成過程においては、このような頭蓋骨の形成に伴って生ずる細胞の密集は縫合形成の初期段階になっていることから、縫合形成の芽体 (blastema) に相当する形態と見なす考察がなされている¹⁶⁻¹⁸⁾。この後、細胞周囲に膠原線維束が形成され、これらの線維束は縫合面での骨梁形成に伴って骨梁表面、すなわち縫合面に埋め込まれていった。切歯縫合では、骨梁による嵌合形成に伴って線維束の走向が修正さ

Fig. 6 Sixty days after birth. The incisive suture showed strong interdigitation. The fiber bundle in the sutural region showed a regular course.

Fig. 7 Sixty days after birth. Examination of the sutural surface under SEM. On the sutural surface, the round shape residues of the fiber bundles were observed.

れ、特有の嵌合形態と線維束の規則的走向を示すようになった。

形成の完了した切歯縫合は指状の骨梁が強い嵌合を形成していたが、Oudhof^{19,20)}は縫合の1つの嵌合形態を歯根膜構造に類似するものと考え、縫合全体の嵌合形態を multigomphosis と命名している。歯根膜の線維束はセメント質と歯槽骨に束となって侵入し、その中央では線維束が交錯して中間叢を形成している^{21,22)}が、縫合の線

Fig. 8 Sixty days after birth. One end of the fiber in the suture were impacted into the sutural surface as a bundle. The other end was divided into branches toward the center of the suture (a). Therefore, at the sutural center, fiber bundle branches from both sutural surfaces were interlaced (b).

Fig. 9 Sixty days after birth. At the sutural center, fibroblasts were scattered between branches. Osteoblasts adjacent the sutural surface were flattened.

Fig. 10 Sixty days after birth. On the sutural surface, active osteoblasts (arrow) and osteoclasts (arrow head) were observed.

Fig. 11 Sixty days after birth. Examination of the sutural surface under SEM. On a portion of the surface, remodeling by bone formation (F) and bone resorption (R) was observed.

維束も一端が束となって縫合面に埋め込まれ、他端が縫合中央に向かうにつれて分枝していた。そして、相対する縫合面における線維束も同様の形態であるため、縫合中央ではそれぞれの線維束の分枝が交錯 (plexus layer) していた。また、分枝と分枝の間には線維芽細胞が散在していた。このような形態は歯根膜の中間叢に類似するものであった。

plexus layer 両側の縫合面との間には縫合面に埋入す

THE GENERAL CONSTRUCTION OF A SUTURE

12

Ad: adaptive layer B: bone
Pl: plexus layer Per: periosteum

Fig. 12 Schematic drawing of the basic histological structure of the sutural region.

る分枝前の線維束と縫合面の改造に関する細胞が存在 (adaptive layer) し、顕微鏡と SEM 観察で縫合面の改造が確認された。

ラット矢状縫合の偏光像では、plexus layer に相当する縫合中央部が弱い複屈折性を示すことから幼若な線維で構成され、adaptive layer に相当する縫合面隣接部が強い複屈折性を示すことから成熟した線維で構成されていることが示唆されている²³⁾。また、縫合は常に外的作用を受けているが、その作用によって縫合部の線維芽細胞、未分化間葉系細胞、骨芽細胞などに形態変化が生じ、それによってそれらの細胞活性が誘発されることが推察されている^{24,25)}。

すなわち外的作用に対して、plexus layer は線維芽細胞の活性化によって線維の代謝がなされる部位であり、adaptive layer は骨芽細胞と破骨細胞の活性化によって縫合面の改造がなされる部位であると思われる。

以上のことから、縫合の組織学的基本構造は縫合中央の plexus layer とその両側の adaptive layer からなる 3 層構造であり、骨と骨の連結は縫合面に埋込している線維束の分枝の縫合中央での交錯によると思われる (Fig. 12)。

結 論

マウス切歯縫合の形成過程を顕微鏡と SEM で観察し、その組織学的基本構造を考察して以下の結論を得た。

1. 発生、成長発育に伴う切歯縫合の形成過程は、切歯骨と上顎骨両骨間部の細胞密集、骨梁による嵌合形成と縫合部での膠原線維束形成、嵌合形成に伴う線維束走向の修正、強い嵌合と規則的に走向する線維束形成の 4 段階に分けられた。

2. 形成完了した縫合の線維束は、一端が類円形の束となって縫合面に埋入し、他端が縫合中央に向かうにつれて分枝していた。そのため、縫合中央部では相対する縫合面からの線維束の分枝が交錯 (plexus layer) していた。

3. plexus layer では分枝と分枝の間に主に線維芽細胞が散在していたが、その両側では分枝前の線維束と縫合面の改造に関する細胞が存在していた (adaptive layer)。

以上の結果から、縫合は縫合中央の plexus layer とその両側の adaptive layer の 3 層構造であり、骨と骨の連結は相対する縫合面からの線維束分枝の交錯によると思われる。

文 献

- 1) Scott, J. H.: The growth of the human face. *Proc. R. Soc. Med.* **47**: 91-100, 1954.
- 2) Weinmann, J. P. and Sicher, H.: Fundamentals of bone biology. In: *Bone and bones.*, pp. 18-139, St. Louis, Mosby, 1955.
- 3) Linge, L.: Tissue reactions incident to widening of facial sutures. *Trans. Eur. Orth. Soc.* **48**: 487-497, 1972.
- 4) Pritchard, J. J., Scott, J. H. and Girgis, F. G.: The structure and development of cranial and facial sutures. *J. Anat.* **90**: 73-89, 1956.
- 5) Koski, K.: Cranial growth centers: Facts or fallacies? *Am. J. Orthod.* **54**: 566-583, 1968.
- 6) Moss, M. H.: Growth of the calvaria in the rat. *Amer. J. Anat.* **94**: 333-362, 1954.
- 7) Enlow, D. H.: An account of the growth and development of the craniofacial skeleton. In: *The human face.*, pp. 83-101, Hoeber, New York, 1968.
- 8) Latham, R. A.: The development, structure and growth pattern of the human mid-palatal suture. *J. Anat.* **108**: 31-41, 1971.
- 9) Koskinen, L., Isotupa, K. and Koski, K.: A note on craniofacial sutural growth. *Am. J. Physic. Anthropol.* **45**: 511-516, 1976.
- 10) 祐川励起: マウス頭蓋矢状縫合の組織学的研究. *歯基礎誌* **26**: 435-453, 1984.
- 11) 祐川励起, 新飯田俊平, 山本茂久: マウス頭蓋縫合部の組織学的観察—正中口蓋縫合の形成過程について—. *歯基礎誌* **28**: 533-540, 1986.
- 12) 祐川励起, 佐藤功二, 久米田 哲, 西山和彦, 伊藤一三: マウス口蓋の組織学的研究—切歯縫合の形成過程—. *歯基礎誌* **31**: 302-307, 1989.

- 13) 祐川励起, 伊藤一三：マウス切歯間縫合と下顎間軟骨結合の形成過程に関する組織学的研究. 歯基礎誌 **33** : 453—465, 1991.
- 14) Sukekawa, R., Su, M.-J. and Itoh, I. : Histological studies of the mouse palate. —Formation of the transverse palatine suture—. *Ohu Univ. Dent. J.* **21** : 239—246, 1994.
- 15) Zimmermann, B. and Moegelin, A. : Morphology of the development of the sagittal suture in mice. *Anat. Embryol.* **197** : 155—165, 1998.
- 16) Markens, I.S. : Transplantation of the future coronal suture on the dura mater of 3- to 4-month-old rats. *Acta Anat.* **93** : 29—44, 1975.
- 17) Markens, I. S. : Embryonic development of the coronal suture in man and rat. *Acta Anat.* **93** : 257—273, 1975.
- 18) Johansen, V. A. and Hall, S. H. : Morphogenesis of the mouse coronal suture. *Acta Anat.* **114** : 58—67, 1982.
- 19) Oudhof, H. A. J. : Sutural growth. *Acta Anat.* **112** : 58—68, 1982.
- 20) Oudhof, H. A. J. and Doorenmaalen, W.J. : Skull morphogenesis and growth : Hemodynamic influence. *Acta Anat.* **117** : 181—186, 1983.
- 21) Schroeder, H. E. : シュレイダー歯周組織(下野他訳), 第1版, pp. 171—232, 医歯薬出版, 東京, 1989.
- 22) Hindle, M. O. : The intermediate plexus of the periodontal membrane. In : The mechanism of tooth support. A symposium. (edited by Anderson, D. J., *et al.*), pp. 66—71, Wright, Bristol, 1967.
- 23) 斉藤 功：拡大力に対するラット頭蓋矢状縫合部組織の初期反応に関する実験的研究—2種類の初期荷重を与えて—, 日矯歯誌 **46** : 721—738, 1987.
- 24) Storey, E. : Growth and remodeling of bone and bones. *Amer. J. Orthodont.* **62** : 144—165, 1972.
- 25) 稲毛滋自：組織培養下の頭頂骨間縫合部の牽引に対する応答—光顕ならびに電顕的観察—. 口病誌 **52** : 143—161, 1985.