

岩手医科大学歯学会第 46 回例会抄録

日時：平成10年7月4日（土）午後1時

会場：岩手医科大学歯学部講堂（A棟 4 F）

演題 1. コロイド金標識抗体の走査電子顕微鏡的観察 —二次電子像と反射電子像の比較と応用例—

○大澤 得二, 野坂洋一郎

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座

金コロイド標識抗体を用いた免疫透過電顕法は物質の局在を検出するのに有効な方法である。走査電顕像の上で金コロイド抗体を検出できれば物質の三次元的分布を観察できると思われるが、二次電子像上では金コロイド粒子の検出は困難である。一方、反射電子像では金コロイド粒子は検出できるが通常の形態の観察ができない。そこで二次電子像と反射電子像を同一視野で撮影し、それらを比較することにより物質の局在を明らかにすることができると思われる。しかし厚すぎるコーティングは二次電子像の解像度を下げ、反射電子像のコントラストも低下させる。そこで必要十分な導電性を得られるだけの薄いコーティングの条件を見つける事が必要となる。本研究ではオスミウム・プラズマ・コーター（Nippon Laser & Electron Lab MW-PC 30）を用い、0.07 Torr, 1.2 kV, 2 mAの条件で放電時間を5, 7, 10秒と変化させ、15 nm金コロイド標識抗体にコーティングを施し、日立S-800走査型電顕で観察した。又、対照として無コーティングの試料も同様に観察した。無コーティング試料では、二次電子像においても反射電子像においても15 nmの金粒子が観察された。5~7秒のコーティングにより、二次電子像では金粒子は約40 nmに拡大したが、反射電子像は変化しなかった。10秒のコーティングの後、二次電子像での金粒子は50 nmにまで拡大し、隣接する粒子が融合する傾向を示した。又、反射電子像においてはコントラストが得られなくなり、実用的なコーティング時間は7秒までである事が明らかとなった。

このコーティング条件を生物試料に用いた例として、基底膜のVII型コラーゲンを検出した二次電子像と反射電子像の一組を示した。二次電子像では基底膜の微細構造が、又反射電子像では、二次電子像のアンカリング・ファイブリルに一致して金粒子が分布してい

る事が観察された。

演題 2. ハムスター歯根膜におけるリンパ管の分布と構築

○奈良 栄介, 藤村 朗, 塚本 暁子*
野坂洋一郎

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座, 小児歯科学講座*

【目的】リンパ管は組織間液や細菌、腫瘍細胞などを吸収してリンパ節や静脈へ輸送する排液路として重要な脈管である。しかしリンパ管の同定が困難であったため、歯根膜のリンパ管分布に関し報告は極めて少ない。近年5'-ヌクレオチダーゼ（5'-Nase）染色法は毛細リンパ管までの観察を可能とした。今回我々は同法を用いリンパ管を検索し、報告した。

【方法】材料として4週齢の雄性ゴールデンハムスター22匹を用いた。麻酔後、5%フォルムアルデヒド液を用いて灌流固定し、摘出した下顎を10% EDTA-4 Na液に10日間浸漬脱灰、薄切した厚さ30 μmの凍結切片（水平断、矢状断）に5'-Nase染色（鉛法）を施して光顕観察した。標本を電顕の試料とするために、脱水・乾燥後、カーボン蒸着した。観察には分析電顕（JXA-8900）を用い、反射電子像と二次電子像の観察をした。

【結果と考察】光顕ではリンパ管が硫化鉛の沈着により茶褐色に染色された。また電顕の反射電子像では、リンパ管内皮細胞の外側は鉛の沈着によりハイライト像を呈し、血管との鑑別は容易だった。リンパ管は像脈管神経隙内の歯槽骨寄りを走行し、血管によって圧平され、短径が約5~10 μmを呈した。部位別には、歯頸部歯根膜にはほとんど観察されず、根1/2では2~5本のリンパ管が歯軸に沿って根尖側へ向かっていた。一部のリンパ管はL字形に屈曲してフォルクマン管内へ入っていた。根尖側1/3ではリンパ管が10本前後と数を増すが、遠心もしくは近心側に片寄って見られた。根尖部では10本前後のリンパ管