

牙髓毛细淋巴管的超微结构观察

亓庆国 汪竹平 王 铎 王文霞

摘要 目的:观察人正常牙髓毛细淋巴管的超微结构特点。方法:牙髓包埋块不经半薄定位,直接制作超薄切片,经电镜观察。结果:内皮细胞间有3种基本连接方式,重叠连接(51%),端端连接(36.1%),插入连接(10.6%),内皮细胞中可见到Weibel-Palade小体、脂褐素和大量大小不等的囊泡。结论:人正常牙髓毛细淋巴管的超微结构有其自身特点。

关键词 牙髓 毛细淋巴管 超微结构

Ultrastructure of the Lymph Capillaries in Human Dental Pulp

Qi Qingguo, Wang Zhuping, Wang Duo, et al

Department of Stomatology, Shandong Medical University

Abstract

Objective: The purpose of this article is to observe the ultrastructures of the lymph capillaries in the human dental pulps. **Methods:** Investigations have been performed on dental pulps from 8 human permanent teeth, including 4 mandibular first premolars and 4 maxillary first premolars, which were extracted for orthodontic reason. As soon as possible, we cleaved the teeth longitudinally and immersed in the fixative solution at 4°C for 1 hour, then kindly removed the pulps and immersed in the same fixative solution for 3 hours, then routinely postfixed, dehydrated, embedded, and prepared the ultrathin sections (50~70 nm) without semithin section localization. The lymph vessels were distinguished from blood vessels on ultrathin sections by their morphological features. **Results:** We have observed three fundamental kinds of intercellular junctions, overlapping(51%), end to end(36.1%), and interdigitating (10.6%). A few complex junctions also could be seen, but we failed to find the open junction. The Weibel-Palade bodies were occasionally present in the lymphatic vessels endothelial cells of young dental pulps. And we even found the lipofuscins in the cytoplasm of the endothelium. Some inclusion bodies, such as paracrystalline inclusions and myeloid bodies, also could be seen. There were many micropinocytotic vesicles in the cytoplasm of the lymphatic endothelium, the diameter of the most vesicles was about 50~80 nm, some was about 100~500 nm. Some vesicles appeared to lie free within the cytoplasm, and some were seen to touch or open onto the luminal or abluminal surfaces of the endothelia, which suggested that many vesicles were not simple discrete units but rather from parts of chains that reached either luminal or abluminal surfaces. It was reported that micropinocytotic vesicles, open junctions and intraparietal channels provided fluid transport. **Conclusion:** Dental pulp is a special organ, and the lymph capillaries in it have their own ultrastructural features.

Key words: dental pulp lymph capillary ultrastructure

国内外对牙髓淋巴管的研究比较少,而且由于采用的研究方法大多都难以准确区分毛细淋巴管和毛细血管,因此人们对牙髓中究竟有无毛细淋巴管存在曾有过争论^{1~3}。电镜下,毛细淋巴管和毛细血管有明显区别⁴,人们对牙髓的超微结构进行研究以后,才逐渐肯定了毛细淋巴管在牙髓中的存在⁵。但国内尚未见对牙髓毛细淋巴管进行超微

结构研究的报道,国外这方面研究的争论较多,鉴于毛细淋巴管在炎症的形成和消退过程中有重要的意义,本文观察了人正常牙髓毛细淋巴管内皮细胞的超微结构特点,并对内皮细胞间的连接情况、囊泡系统、Weibel-Palade小体等情况进行初步分析研究。

1 材料和方法

取健康成人因正畸而拔除的正常牙齿8颗,上颌第一

双尖牙4颗,下颌第一双尖牙4颗,患者平均年龄18.5岁,男女各4人,牙根皆发育完成。牙齿拔除以后,尽快沿近远中方向劈开,放入2.5%戊二醛固定液中4固定1h,小心完整地取出牙髓,并将其切成长约1mm的小块,再放入同一固定液中4固定2h,再经1%锇酸后固定1h,丙酮逐级脱水,Epon 812包埋,共获得40个包埋块,随机抽取20个,制备超薄切片,厚度为50~70nm,经醋酸铀、枸橼酸铅双重染色,JEOL200EX透射电镜下先找到毛细淋巴管结构,随机拍照,共得照片60张。

2 结 果

除一个包埋块所得的超薄切片在电镜下未找到毛细淋巴管结构外,其余包埋块均顺利地找到毛细淋巴管。牙髓毛细淋巴管内皮细胞的形态特征与身体其它部位毛细淋巴管内皮细胞相似。毛细淋巴管壁薄而不均,有核区较厚而无核区较薄,细胞核大小不等,形态不一,呈肾形或椭圆形,大部分突向腔内。内皮细胞向管腔内外伸出突起,管外细胞突长短不一,长的穿经周围结缔组织,进入组织间隙内,短的仅达管外胶原纤维;管内细胞突则游离于管腔内。

牙髓毛细淋巴管内皮细胞间的连接情况也较为复杂。作者拍摄的60张毛细淋巴管结构的照片中,有47个细胞连接结构,共有3种基本连接形式:重叠连接24个(51%) (图1),即两个内皮细胞间呈叠瓦状,相互重叠一部分;端端连接17个(36.1%) (图2),两个内皮细胞的末端相互接触;插入连接5个(10.6%) (图3),一个内皮细胞末端分叉,另一个内皮细胞的末端插入分叉中,另外还有复合连接1个(2.3%) (图4)。有的连接可见到有开放的趋势,但未见到有完全开放的连接。

牙髓毛细淋巴管内皮细胞的胞浆中有大量囊泡,呈圆形或椭圆形,大小不等,大的在100~500nm之间,数目较少;而小的在50~80nm左右,数目较多,有的聚集成群,有的则分散存在。在靠近管腔内外表面的胞浆中分布较多,并可以看到有的囊泡开口于管腔内表面(图5)。在牙髓淋巴管内皮细胞的胞浆中还可见到如下一些结构:脂褐素,外形不规则,内含有低密度的脂滴和性质不明的高密度颗粒;Weibel-Palade小体,数目较少,常三五成群分布,高密度的单层膜结构,内含规则分布的小管样结构;另外还可见到髓样小体、结晶小体等一些常规结构(图2)。



图1 牙髓毛细淋巴管内皮细胞间重叠连接 TEM ×4000

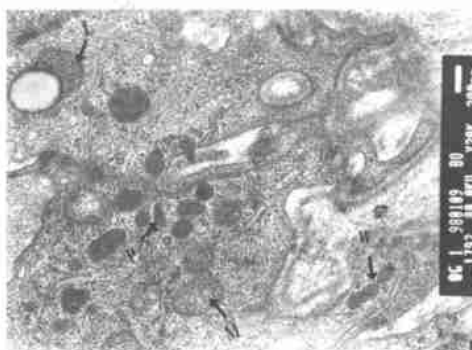


图2 牙髓毛细淋巴管内皮细胞间端端连接,可见 Weibel-Palade 小体(w)、脂褐素(L)、髓样小体(M)和结晶小体(P) TEM ×20000

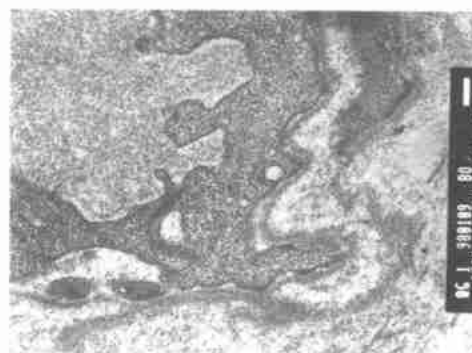


图3 牙髓毛细淋巴管内皮细胞间插入连接 TEM ×20000



图4 牙髓毛细淋巴管内皮细胞间复合连接 TEM ×12000



图5 牙髓毛细淋巴管内皮细胞中囊泡开口于管腔内表面 TEM $\times 5000$

3 讨 论

Marchetti 等⁵ 在研究牙髓毛细淋巴管超微结构时,先做了半薄切片定位,再做超薄切片,这是研究器官内毛细淋巴管超微结构的常规方法。考虑到牙髓本身体积很小,而且毛细淋巴管在牙髓中分布广泛,作者省去了复杂的定位步骤,结果决大多数包埋块均顺利地找到了淋巴管结构。

毛细淋巴管内皮细胞之间的连接,是淋巴管道系统中最重要结构,因为它在淋巴液的形成中起重要作用。许多研究其它器官毛细淋巴管的文献曾报道⁶,毛细淋巴管内皮细胞之间的连接,以重叠连接最多见,其次是插入连接,再次才是端端连接。而作者的观察发现,端端连接多于插入连接,由于端端连接比插入连接更易于开放,这可能表明牙髓中的毛细淋巴管内皮细胞间的连接更易于开放。以前一些研究牙髓毛细淋巴管的文献曾认为⁷,牙髓毛细淋巴管内皮细胞之间有大量的,而且开口很大的裂隙,后来人们逐渐发现⁵,只有在炎症状态下,牙髓淋巴管内皮细胞间才有较多裂隙,正常状态下,内皮细胞间的开放很少见。作者的观察结果也证实了这一点,目前认为⁸,内皮细胞之间连接是否开放,取决于淋巴管的自身结构特点及所处的功能状态,当组织出现轻度水肿时,开放连接的数目明显增多,引流组织间的多余液体,减轻局部组织压,这对局部炎症的消退有重要的作用,而这一过程对牙髓这一四周均被坚硬牙体组织包被的特殊组织更有特殊意义,因此毛细淋巴管在牙髓中的广泛分布,对牙髓炎症的消退有重要的意义。

淋巴液形成的另一条途径是淋巴管内皮细胞

中的囊泡系统。目前认为⁹,在一个切面上,囊泡大部分是独立存在的,但经过连续切片,三维重建,则成为进入淋巴管腔的囊泡链的一部分。牙髓毛细淋巴管内皮细胞中同样有大小囊泡存在,只是数目要少一些,据以往的研究¹⁰,淋巴管内皮细胞中每立方微米大约有 20 个左右的小囊泡,而根据作者的初步观察,牙髓毛细淋巴管内皮细胞中的囊泡数目要少一些。根据 Leak 的研究⁶,淋巴管内皮细胞间的连接形式和胞浆中的囊泡系统,在淋巴液形成过程中同时发挥作用,而不同器官,不同功能状态下,两者转运物质的比例不同。根据以上理论推测,牙髓中淋巴液形成可能连接形式起的作用更大一些。Marchetti 等¹¹ 就曾发现,在炎症状态下,牙髓毛细淋巴管内皮细胞中的囊泡反而减少。可以推测,牙髓淋巴液的形成,在正常及炎症状态下,均以淋巴管内皮细胞间的连接为主。

作者在牙髓淋巴管内皮细胞中发现了脂褐素,这在以前研究文献中尚未见报道。另外,作者在胞浆中也发现了 Weibel-Palade 小体,但却不象 Marchetti 等^{5,11} 描述的那样常见,只是偶尔见到。目前认为,此小体是 von Willebrand Factor (vWF) 产生地,而 vWF 则是凝血因子的组成成份,其具体作用,尚不明确。有人曾推测¹²,此小体的出现可能与组织退行性变有关。由于本研究取的牙髓比较年青,这可能是此小体少见的原因。

参考文献

- Bernick S. Lymphatic vessels of the human dental pulp. *J Dent Res*, 1977, 56(1):70~77
- Ruben MP, Prieto-Hernandez JR, Gøtt FK, et al. Visualization of lymphatic microcirculation of oral tissue. *J Periodontol*, 1981, 42(12):774~784
- Heyeraas KI. Pulpal hemodynamics and interstitial fluid pressure: balance of transmicrovascular fluid transport. *J Endodon*, 1989, 15(10):468~472
- 王云祥. 实用淋巴系统解剖学. 北京:人民卫生出版社, 1984:125~129
- Marchetti C, Poggi P, Calligaris A, et al. Lymphatic vessels in the human dental pulp. *Acta Anat*, 1991, 140(4):325~334
- Leak LV. Fine structure of the lymphatic mesothelium the adjoining connective tissue area. *Am J Anat*, 1966, 118(3):785~810
- Dahl E, Mjor I. The fine structure of the vessels in the human dental pulp. *Acta Odontol Scand*, 1973, 31(5):223~230

- 8 Collan Y, Kallan T. Lymphatic endothelial interstitial interface topographic relations of lymphatic endothelial cells in the initial lymphatic of the intestinal villus. *Lymphology*, 1974, 7(4):175 ~ 180
- 9 Warren R, Jones PJ, O Morchoe, et al. The organization of endocytotic vesicles in lymphatic endothelium. *Microvasc Res*, 1987, 25(5):286 ~ 299
- 10 刘执玉. 淋巴学. 北京:中国医药科技出版社, 1996:160 ~ 164
- 11 Marchetti C, Poggi P, Ligaro AC, et al. Lymphatic vessels of the human dental pulp in different conditions. *Anat Rec*, 1992, 234(1):27 ~ 33
- 12 Kagawa M, Fujimoto S. Electron-microscopic and immunocytochemical analyses of Weibel-Palade bodies in the human umbilical vein during pregnancy. *Cell Tissue Res*, 1987, 294(3):557 ~ 563

(1999-03-16 收稿, 2000-03-24 修回)

(上接第 221 页)

有较强的促进釉质再矿化的能力;在脱矿的釉质表面可检测到 Sn (图 2),根据其结合能可推测是一种分子式为 NaSnF_3 的化合物。这可能是由于氟在釉质中利用阳离子如 Sn 、 Al 、 Ti 形成复合物而实现的⁸。

一般认为,氟化物能促进早期龋釉质发生再矿化的机理是通过形成氟羟基磷灰石 (fluoride hydroxyapatite, FHAP) 及 CaF_2 而实现的。但本研究经再矿化的釉质表面主要是 CaF_2 、HAP、NSAF 等共同形成的沉积物。这些矿物质可来自表层下离子的释出和矿化液中矿物离子的沉积,含有 NSAF 釉质具有很高的抗酸性,抑制脱矿¹²。本研究扫描电镜结果显示,使用含氟、含氟及微量元素矿化液作用于脱矿的牙釉质后,釉质表面釉柱中心可见大量小球状矿物质沉积,这些区域可能首先是矿物质丧失的区域;同时 X 线能谱观察结果显示含氟及微量元素组 Ca 、 P 的相对含量明显高于含氟组;偏光显微镜观察到经过再矿化的牙釉质磨片,负性双折射率明显,说明脱矿区内有新的矿物质沉积,尤以含氟及微量元素矿化液组明显。

经再矿化所形成的沉积物既不是单纯的氟化钙的晶体结构,也不是 FHAP,而是微晶离子及大部份无定形型的球状物,是以含 CaF_2 及 NSAF 为主的化合物,具体的分子结构有待进一步研究。其机理

可能是氟化钙、非特异性氟吸附物等矿物质沉积使得脱矿釉质孔隙缩小,达到再矿化的作用。同时说明氟微量元素矿化液比单纯含氟矿化液的再矿化能力强,其机理可能是氟与微量元素协同作用,这为减少氟的用量或避免局部使用过大剂量的氟制剂,及进一步探讨再矿化机理提供了实验室依据。

参考文献

- 1 Clark DC, Hann HJ, Williamson MF, et al. Effects of lifelong consumption of fluoridated water or use of fluoride supplements on dental caries prevalence. *Community Dent Oral Epidemiol*, 1995, 18(1):20 ~ 23
- 2 Silverstone LM, Wefel JS, Zimmerman BF, et al. Remineralization of natural and artificial lesion in human dental enamel in vitro. *Caries Res*, 1981, 15(2):138 ~ 157
- 3 Haikel Y. Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesion. *Caries Res*, 1983, 17(1):1 ~ 13
- 4 Holmen L. A polarized light microscopic study of progressive stage of enamel caries in vivo. *Caries Res*, 1985, 19(4):348 ~ 352
- 5 Hals E. Effect of NaF , TiF_4 and APF solutions of on root surface in vitro with special reference to uptake of F. *Caries Res*, 1981, 15(6):468 ~ 476
- 6 Lambran D. The effect of fluoride in saliva on remineralization of dental enamel in human. *Caries Res*, 1981, 15(5):341 ~ 345

(1999-11-22 收稿, 2000-05-26 修回)