

ウシ脾臓の走査および透過電子顕微鏡による観察

阿部光雄*・岸基史**・竹花一成*
岩佐憲二*・平賀武夫*

The Red Pulp of The Cattle Spleen Studied under Scanning and Transmission Electron Microscopes

Mitsuo ABE*, Motoshi KISHI**, Kazushige TAKEHANA,*
Kenji IWASA* and Takeo HIRAGA*

(May, 1987)

緒 論

脾臓は血管系の途上に位置するリンパ性器官として特異な存在である。その複雑な構造ゆえに、古くから多くの研究がなされて来た。特に、動脈系と静脈系の連絡様式については長年の課題でこの方面の研究も多数ある^{1,2,7,9,14,16,19,22}が、未だその解決をみていない。さらに、近年は各種動物における神経分布の状態や免疫機構の点からこの臓器の研究が多くなっている^{1,6,10,12,15,21}。

ウシの脾臓は、Snook²⁸により無脾洞型に分類された。しかし、その電顕的報告は僅かに Seki と Abe²⁷ の報告があるのみであり、詳細については不明な点が多い。今回、脾動脈と脾静脈の両方に圧を加えながら脾臓を灌流、固定し、赤脾髄の構築を走査電子顕微鏡 (SEM) と透過電子顕微鏡 (TEM) を用いて観察し若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

ホルスタイン種 8 頭のウシが用いられた。ウシは放血殺後、脾臓を可及的速やかに摘出し、脾動脈と脾静脈にカニューレを挿入し、これをローラーポンプ (Tokyo Rikakikai, RR-60 型) に接続し、後述の灌流液を用い脾動脈には 160 mmHg, 脾静脈には 12 mmHg の圧を

* 獣医学科, 家畜解剖学教室

Department of Veterinary Medicine (Veterinary Anatomy), Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069, Japan

** 現在: 留萌地区農業共済組合, 雄信内支所

Present address: Onobunai Branch of Rumoi District Agricultural Mutual Aid Association, Onobunai, Teshio, Hokkaido 098-31, Japan

負荷し、続いて同じ条件で固定液を灌流し、最終的に脾静脈を結紮したまま十数分間静置した。今回使用した灌流液と固定液は以下の通りである。灌流液はリンゲル液 1,000 ml に対しヘパリン 1,000 IU と塩酸プロカイン 1 g を加え、重炭酸ナトリウムとシヨ糖により pH 7.4、浸透圧約 320 m OsM に調製したものを使用した。固定液は 1.5% グルタルアルデヒド・パラホルムアルデヒド混合液 (pH 7.4, 約 320 m OsM) である。

以上により得た材料を TEM のためには、常法に従い脱水し QY-1 にて置換, Quetol 812 に包埋し超薄切片を作製し、酢酸ウラン、クエン酸鉛の二重染色を施し JEM-100 S (日本電子) にて観察した。また、SEM のためには、常法に従い脱水、酢酸イソアミルにて置換後、TF-1 型凍結割断器 (エイコーエンジニアリング) にて凍結割断を行い臨界点乾燥後、真空蒸着装置内でカーボンおよび白金パラジウムを蒸着し、HHS-2 R 型走査電子顕微鏡 (日立製作所) で観察した。

結 果

ウシの正常な赤脾髄は、ブタやマウスのような比較的広い細網組織の立体的網工からなる脾索域と時々分岐または吻合する脾索間の血管系である脾洞から構成されていた (Fig. 1)。脾索細網細胞の結合の仕方は細網線維を介させた重複の形態で、細胞間には、gap 結合のようなものはなかった。細網細胞は細胞体をさると四方に細い突起を分岐伸長していた。細胞体には少数の粗面小胞体、ミトコンドリアがみられた。また中間径フィラメントやマイクロフィラメントも少数みられた。ウシの赤脾髄には成書に記載されているように多数の平滑筋線維がみられた。この平滑筋線維は細網細胞によって包まれ、細網細胞の突起によって保持されていた (Fig. 2)。また脾索には時々無髄神経線維束や時には自律神経終末がみられた。神経束および神経終末は、シュワン細胞の陥凹部に入っていて、さらに細網細胞の突起によって包まれていた。神経終末には芯あり小胞と芯なし小胞の両者がみられた (Fig. 3)。

脾洞のうち比較的大きなものは、多角扁平な内皮細胞からなっていた (Fig. 4)。また、他の脾洞は杆状形の内皮細胞からなるもの (Fig. 5)、また両者の移行形の内皮細胞も観察された。脾洞壁には小孔があるが、杆状形の内皮細胞から成る脾洞では壁の小孔の配列は規則的であった (Fig. 5)。その他のものでは小孔の配列は不規則であった (Figs. 4, 6)。小孔の径は 1~8 μm の円形又は楕円形で、大きなものでは血球が変形することなく通過できる孔であった。時々脾索の大食細胞の突起がこの孔を通して脾洞腔に伸びているのもみられた。また隣接する内皮細胞間を架橋する沢山の細糸状の突起が時にはみられた。小孔は外側から細網細胞の突起によって一部又は全部がふさがっているのもみられた (Fig. 6)。細い脾

洞では内皮細胞はすべて多角扁平でその先端は脾索細胞の網の目からなっていて、脾洞の始まりを形成していた (Fig. 7)。

脾洞壁は TEM では、内皮細胞、不連続な基底膜、脾索細網細胞の三層から構成されていた。内皮細胞の核周囲には中間径フィラメント、基底側には少量のマイクロフィラメントがみられた (Fig. 8)。脾洞の始まりでは扁平な内皮細胞の他に細網細胞に似た突起を持った細胞も内皮を構成していた (Fig. 9)。脾洞外壁に、小孔を除いて、基底膜を介し、脾索細網細胞の突起がそのまま又は先端が分岐して終るものや、細網細胞の核領域が直接接しているものなどがみられた。小孔には基底膜も細網細胞もみられず脾洞腔と脾索腔と直接交通していた。脾洞の内皮細胞が重複し、その間に赤血球を入れた間隙があり、外側の内皮細胞の遊離端には細網細胞の突起がほぼ直角に付着している所見がしばしばみられた (Figs. 10, 11)。脾洞壁には基底膜の外側に脾索細網細胞によって包まれた有鞘無髓神経線維が観察された (Fig. 1)。

脾索の網眼やサヤ組織には大きな球形の大食細胞が、その突起を細網細胞の突起にからめ又は遊離の状態で存在した。核は不整形で核小体は明瞭、細胞質には円いミトコンドリアや、滑面小胞体、粗面小胞体、ゴルジ装置が認められた。大食細胞の形態特に細胞表面を被う突起には二型があった。一つは細長い突起を持つもの (Figs. 12, 13)、次は泡状の突起を持ったものである (Fig. 14)。それらの移行形と思われるものもみられた。細長い突起を持つものは細胞質に円形のミトコンドリア、遊離リボソーム、多数の一次と二次ライソソームをもち、赤血球の貪食像もみられた (Figs. 12, 13)。サヤ組織内に存在するものは大部分がこの型のものであった。泡状の突起を有するものでは貪食像はまれであった。

サヤ動脈はワンでも他の動物と同様、脾索細網細胞よりはずっと密な集団として、SEM および TEM の弱拡大で確認できた。サヤ動脈は、中心を走行するサヤ毛細血管とそのまわりの 3~4 層のサヤ組織から成っていた。サヤ組織は細網細胞の立体的網工で網眼には、赤血球、血小板を入れていた (Figs. 15, 16)。また大食細胞も認められた。これら大食細胞はしばしば赤血球や血小板を貪食しているのが観察された (Fig. 16)。サヤ組織は起始部では 1~2 層、真中では 3~4 層、終末部では再び 1~2 層となる。従ってサヤ組織は全体として、紡錘形であった。中心を走るサヤ毛細血管は 1 本でサヤ組織に侵入するがサヤの中で 2 分岐や多分岐するものもみられた。このような場合は毛細血管の出口のサヤ組織にも分岐に応じた浅い溝がみられた。

サヤ毛細血管を縦走する杆状形の内皮細胞は内腔に強く突出し、内皮細胞間に小孔がみられた。この小孔を通過しようとしている赤血球がときどき観察された (Fig. 17)。サヤ毛細血管の内皮細胞の数はサヤの起始部では約 10 個、末梢に向かって徐々に減少し、サ

ヤ動脈の末端では3~4個となった。また、内皮細胞の核は不正形で、細胞質には少数のミトコンドリアや粗面小胞体のみられた。核のまわりや核を離れた部位に不規則に走行する中間径フィラメントが、また細胞膜直下および隣接細胞との接合部近くにマイクロフィラメントが豊富に存在した (Fig. 18)。内皮細胞の外側には不連続な基底膜がみられ、サヤ組織の外周はニワトリにみられるようなサヤ限界膜はなく、徐々に脾索の細網細胞に連続していた。

サヤ組織をはなれた動脈性毛細血管は、脾索細網細胞に支持されながら末梢に走行する。内皮細胞は次第に高さを減じるが中間径フィラメントはやはり豊富であった。また内皮細胞の表面には微絨毛も少数みられた。内皮細胞間に径1~2 μm の小孔を持って、動脈性毛細血管は、ついに開放性に脾索腔に終っていた (Figs. 19, 20)。開放性終末の形態は種々で、管状 (Fig. 19)、アンブーラ状 (Fig. 20) のものが観察された。脾洞に近接して開放性に終るものもあったが脾洞に直接連続するものはなかった。

考 察

1. 脾索細網細胞と平滑筋

脾索の細網細胞の結合は細網線維を介して結合しており、細網細胞の細胞膜どうしが接することはまれである。ウシの脾索はこのように形成された立体的網工から成り、まわりの脾洞に比してはるかに大きい領域を占めていて、細網脾というべきものと思われる。

Blue と Weiss¹⁾ はイヌの脾臓の脾索細網細胞は他の動物のものとは異なって、豊富なマイクロフィラメントの存在と細胞直下の緻密体の存在および細網細胞のように四方に突起を伸ばして網工を形成するなどにより平滑筋類似の細網細胞と考えている。これらの細網細胞の近くには無髓の神経線維の分布も豊富である。これら神経はアドレナリン作動性神経が主であるとのべており、これによってイヌの脾索細網細胞は収縮能を有すると考えている。今回のウシにおいては、そのような平滑筋類似の脾索細網細胞はみられなかったが脾索には豊富な平滑筋が脾索細網細胞の突起によって保持されて存在した。これらの平滑筋の収縮が脾索細網細胞全体の動きに関与しているのかも知れない。ヒト^{13,17)} やマウス²³⁾ ではその神経分布は脾臓の平滑筋である。ネコ⁴⁾ では被膜と脾柱の平滑筋に分布する。平滑筋以外の神経分布の報告は、マウス¹¹⁾ の白脾髄、ネコ⁴⁾ の辺縁帯へ分布するというもので、これらの神経は純粋なアドレナリン作動性神経であるという。また、イヌ¹⁾ とウマ³²⁾ ではシュワン細胞に代わって“axon-bearing reticular cells”が脾索腔、サヤ組織中、辺縁帯中、白脾髄中に存在する無髓神経の鞘となっているという。ウシの今回の研究で得られた結果では僅かの神経終末は芯なし小胞であった。従ってウシではコリン作動性の神経が

細網細胞に関係しているのかも知れない。また、“axon-bearing reticular cells”とシュワ
ン細胞との異同についての検討は今回は出来なかった。今後の研究に期待したい。

2. 大食細胞

サヤ組織中でも脾索中でも大食細胞は遊離状態で存在する^{3,4)}。ウシの脾臓でも同様であ
った。脾臓の大食細胞の形態について Miyoshi と Fujita²⁰⁾ は、イヌとラットで葉状の突
起と球状の突起をもつ2種類の大食細胞を、菊池ら¹⁶⁾ はイヌの脾臓で細長い突起と球状の
突起を有する2種類の大食細胞を報告している。また、Parakkal ら²²⁾ は、ヒトの培養大食
細胞で、ヒダ状の突起、糸状の突起および絨毛状の突起の3種類の大食細胞を報告してい
る。本研究での SEM, TEM で、脾索中とサヤ組織中で大食細胞の形態を明らかにすること
が出来た。即ち、一次ライソゾームをもつところの細長い突起で被われた大食細胞と、
円形の突起を表面にもつライソゾームの少ない細胞とである。このことは刺激を受けた腹
膜の大食細胞は細胞質突起を伸ばし、しかも細胞質内に封入体が増加するという Carr⁵⁾ の
実験を支持する所見であると考えられる。

3. 脾 洞

Snook²⁸⁾ は光顕で脾臓を研究し、静脈洞の形態から動物の脾臓を2グループに分けた。
1つは吻合性の静脈洞をもつもの、他は吻合のない静脈洞を持つものである。前者を脾洞
脾、後者を無脾洞脾とした。そして吻合性の静脈洞を脾洞とし吻合のない静脈洞を Robin-
son²⁵⁾ の命名に従って原始静脈と呼んだ。Snook の分類に従うとウシには脾洞がなく原始
静脈ということである。脾臓は灌流を十分にしないと血球が邪魔して構造が不明瞭になる
ことは我々もしばしば経験していることである。Snook がウシの静脈洞に吻合がないとし
たのは灌流を十分にできなかったことと SEM を使用して観察しなかったからであろう。
我々は今回十分に灌流した脾臓を SEM で観察したところ乏しいながらも吻合がみられた
のでウシでも脾洞が存在することを確認した。

Robinson²⁵⁾ は脾洞の始まりは脾索の網眼にあると報告し、Blue と Weiss⁴⁾ はネコで、
Tablin と Weiss³²⁾ はウマで、Robinson と同様の結果を報告している。ウシの脾臓の始ま
りも SEM と TEM でこれと同じ所見を得た。

ウシの脾臓の内皮細胞は杆状形であると Seki と Abe²⁷⁾ が報告している。今回我々が観
察したところ杆状形の内皮細胞をもつ脾洞と多角扁平形の内皮細胞から成る脾洞およびそ
の移行形の内皮細胞のものがみられた。従ってウシの脾洞は内皮細胞の形態からみるとヒ
ト⁹⁾、イヌ^{1,16)}、ラット²⁷⁾ のような杆状形の内皮細胞からなる脾洞と扁平多角形の内皮をも
つウマ^{27,32)}、ネコ^{4,27)} の中間形で、むしろブタ^{21,27)} のものと似ている。鈴木³⁰⁾ は脾洞壁にあ
る小孔は常に赤血球より小さいと報告しているが、ウシでは大きい孔は赤血球が変形する

ことなく通過可能であった。

ネコ³⁾とウマ³²⁾の脾洞での報告同様、内皮細胞の重複が間隙を形成し、外側の内皮細胞端には細網細胞が直角方向に付着している像がみられた。これによって形成される開口部を通して脾索腔より脾洞へ血球が移動するものと考えられ、脾洞壁の小孔と共に重要な所見と思われる。この開口部は、ウシでは開放循環を示唆する有力な所見の1つである。

4. サヤ動脈の機能

サヤ毛細血管の内皮細胞は、丈が高く、強く内腔に突出する杆状形であった。細胞質には全体に広がる中間径フィラメントと細胞膜直下と隣接細胞の接合部即ち側突起にマイクロフィラメントがみられた。マイクロフィラメントの構成タンパク質はアクチン¹⁵⁾であり中間径フィラメントのそれはビメンチンである⁸⁾。これらのフィラメントは細胞骨格を形成する。中間径フィラメントには収縮能はなく^{7,15)}マイクロフィラメントは細胞収縮と機械的支持の二重の機能を持っているといわれている¹⁵⁾。しかしBlueとWeiss²⁾はサヤ動脈の内皮細胞のマイクロフィラメントは収縮よりも内皮細胞の基底膜への固定と細胞間の接合形成にも関与しているものと考えている。血流の調節についてはサヤ毛細血管の内皮細胞の働きは受動的で^{2,32)}能動的調節はもっぱらその先の筆毛動脈の平滑筋によるとされている^{2,18,32)}。つまり、サヤ毛細血管へ流入する血液量が多くなると、サヤ毛細血管の内皮細胞は細胞間結合を維持したまま血管腔は拡張し、扁平となる。次いで血液量の減少によっては内腔は減圧され、その結果、内皮細胞はもとの高さにもどる。この内皮細胞の受動的変化によって内皮細胞の間隙が開放し、赤血球と血小板とが内皮細胞間からサヤ組織に押し出されると考えられる。これに加えて著者らはマイクロフィラメントの存在位置とその収縮性から考察して、血液が内皮細胞間の孔を通過する方向は、内皮細胞側突起の内反した状態が認められず、外反のみが認められるために、血球の通過は常に方向性であると考えている。

Schweiger-Seidel²⁶⁾、BlueとWeiss²⁾は、サヤ組織は脾臓の最初のろ過装置であると報告している。サヤ組織を欠く動物では血管に投与した微細粒子は動脈性毛細血管の終末に分布するという¹⁹⁾、イヌの脾臓で、サヤ組織中の大食細胞は多数の貪食物を含んでおり³⁾、またネコではサヤ組織の大食細胞は赤血球を貪食しているが血小板は貪食していない²⁾、ヒトではサヤの大食細胞に血小板が集まってロゼット状になっている⁹⁾。今回のウシの観察ではTEMによりサヤ組織中の大食細胞が赤血球や血小板を貪食している像がみられた。特に血小板の貪食像が多かった。従ってサヤ組織の大食細胞は、ウシでは赤血球と血小板を選択的に除去する働きをしていることが示唆される。

サヤ組織中の大食細胞を常在性であるとして、サヤ組織を“periarterial macrophage

sheath (PAMS)”という名称で呼んでいるのは Blue と Weiss²⁾ である。また Tabulin と Weiss³²⁾ はサヤ組織に “interdigitating dendritic cell” を観察している。これらはサヤ動脈の免疫学的機能を考えるうえで興味あることであるが、今回のウシの観察では、“interdigitating dendritic cell” はみられなかった。

5. 動脈性毛細血管

脾臓の末梢循環に関しては、古くから開放循環^{1,3,4,6,9,10,14,19,28-33)} と閉鎖循環^{6,12,21,27)} が観察されてきた。近年は開放循環の報告が優勢となっている。ネコではアンブーラ状と漏斗状⁴⁾、イヌとブタでは管状と漏斗状^{21,31)}、ウマではアンブーラ状^{24,28)} などの開放終末の形態が報告されている。今回のウシでは、動脈性毛細血管が管状や漏斗状及びアンブーラ状の形態をとって脾索腔に開放していた。その他の閉鎖的所見はみられなかったので、ウシでは開放循環が示唆される。

要 約

ウシの脾臓の立体微細構造を知る目的で脾動脈からリンゲル液を灌流して、血液を十分に追い出し、続いて緩衝したグルタルアルデヒド・バラホルムで灌流固定した。この脾臓の赤脾髄の断面を走査電子顕微鏡 (SEM) で観察し、また同じ標本の樹脂包埋組織切片を透過電子顕微鏡 (TEM) で検索した。

脾索は細網細胞の突起で作られた迷路状の網目であった。TEM でみると細網細胞の突起にはさまれた細網細胞がみられた。細網細胞の gap 結合はなかった。脾索には多くの平滑筋線維が細網細胞の突起に保持されて存在し、またシュワン細胞に包まれた無髄神経線維や神経終末が細網細胞で包まれた状態でみられた。神経終末には芯なし小胞が認められた。

脾洞には杆状形の内皮細胞から成るものと多角扁平の内皮細胞からなるものの両型とさらに両方の細胞を混在させたものがみられ、脾洞壁には1~8 μm 径の小孔がみられた。このような脾洞はブタのものと似ていた。

サヤ動脈は杆状形の内皮細胞から成るサヤ毛細血管とそれを取り巻いて走る3~4層の細網細胞のサヤ組織から成っていた。毛細血管の内皮細胞は背が高く、豊富な中間径フィラメントが観察された。またマイクロフィラメントも細胞膜直下にみられた。

脾索とサヤ組織には多数の大食細胞がみられた。大食細胞の一型は細長い突起に被われた細胞で、他の一型は泡状の突起を持つものであった。TEM では前者は粗大顆粒状のライソゾームや二次ライソゾーム、食べ込んだ大きな細胞塊をもち、後者の型の細胞には貪食像がまれであった。

動脈性毛細血管の終末は観察した限りでは開放性であった。従ってウシの脾索では開放循環が示唆された。

文 献

- 1) Blue, J. and L. Weiss, 1981. Electron microscopy of the red pulp of the dog spleen including vascular arrangement, periarterial macrophage sheaths (ellipsoids), and the contractile, innervated reticular meshwork. *Am. J. Anat.* **161**: 189-218.
- 2) Blue, J. and L. Weiss, 1981. Periarterial macrophage sheaths (ellipsoids) in cat spleen—An electron microscope study. *Am. J. Anat.* **161**: 115-134.
- 3) Blue, J. and L. Weiss, 1981. Species variation in the structure and function of the marginal zone —An electron microscope study of cat spleen. *Am. J. Anat.* **161**: 169-187.
- 4) Blue, J. and L. Weiss, 1981. Vascular pathways in nonsinusoidal red pulp—An electron microscope study. *Am. J. Anat.* **161**: 135-168.
- 5) Carr, I. 1968. Lysosome formation and surface changes in stimulated peritoneal cells. *Z. Zellforsch.* **89**: 328-354.
- 6) Chen, L. T. and L. Weiss, 1972. Electron microscopy of the red pulp of human spleen. *Am. J. Anat.* **134**: 425-485.
- 7) Ericksen, A. and L. E. Thornell, 1979. Intermediate (skeletin) filaments in heart Purkinje fibers. A correlative morphological and biochemical identification with evidence of a cytoskeletal function. *J. Cell Biol.* **80**: 231-247.
- 8) Franke, W. W., E. Schmid, M. Osborn and K. Weber, 1979. Intermediatesized filaments of human endothelial cells. *J. Cell. Biol.* **81**: 570-580.
- 9) Fujita, T. 1974. A scanning electron microscope study of the human spleen. *Arch. histol. jap.* **37**: 187-216.
- 10) Fujita, T., M. Kashimura and K. Adachi, 1985. Scanning electron microscopy and terminal circulation. *Experientia* **41**: 167-178.
- 11) Galindo, B. and T. Imaeda, 1962. Electron microscope study of the white pulp of the mouse spleen. *Anat. Rec.* **143**: 399-413.
- 12) Helly, K. 1902. Zum Nachweise des geschlossenen Gefässsystems der Milz. *Arch. Mikrosk. Anat. Entw.-gesch.* **59**: 93-105.
- 13) Heusermann, U. and H. J. Stutte, 1977. Electron microscopic studies of the innervation of the human spleen. *Cell Tissue Res.* **184**: 225-236.
- 14) Irino, S., T. Murakami, T. Fujita, T. Nagatani and T. Kaneshige, 1978. Microdissection of tannin-osmium impregnated specimens in the scanning electron microscope, demonstration of arterial terminals in human spleen. In: *Scanning Electron Microscopy/1978*, Johari, O. and Becker, R., eds. SEM Inc., AMF O'Hare, IL., part II, pp. 111-116.
- 15) 石川春律, 1985. 図説, 細胞骨格. 1-9. 講談社, 東京.
- 16) 菊池成幸・坂本光弘・三國紀朗, 1984. イヌの赤脾髓の形態学的観察, 酪農学園大学, 修士論文, 1-56.
- 17) Kudoh, G., K. Hoshi and T. Murakami, 1979. Fluorescence microscopic and enzyme histochemical studies of the innervation of the human spleen. *Arch. histol. jap.* **42**: 169-180.
- 18) MacKenzie, D. W., A. O. Whipple and M. P. Wintersteiner, 1941. Studies on the microscopic anatomy and physiology of living transiluminated mammalian spleens. *Am.*

- J. Anat. **68**: 397-456.
- 19) Mills, E. S. 1926. The vascular arrangements of the mammalian spleen. *Q. J. Exp. Physiol.* **16**: 301-319. (Blue と Weiss (2) より引用).
 - 20) Miyoshi, M. and T. Fujita, 1971. Stereo-fine structure of the splenic red pulp. A combined scanning and transmission electron microscope study of dog and rat spleen. *Arch. histol. jap.* **33**: 225-246.
 - 21) 岡野篤志, 1985. ブタ赤脾臓の電顕的観察, 酪農学園大学, 修士論文, 1-56.
 - 22) Parakkal, P., I. Pinto and J. M. Hanifin, 1974. Surface morphology of human mononuclear phagocytes during maturation and phagocytosis. *J. Ultrastruct. Res.* **48**: 216-226.
 - 23) Reilly, F. O., R. S. McCuskey and H. A. Meineke, 1976. Studies of the hemopoietic microenvironment VIII. Adrenergic and cholinergic innervation of the murine spleen. *Anat. Rec.* **185**: 109-118.
 - 24) Robinson, W. L. 1926. The vascular mechanism of the spleen. *Am. J. Pathol.* **2**: 341-358.
 - 25) Robinson, W. L. 1930. The venous drainage of the cat spleen. *Am. J. Pathol.* **6**: 19-26.
 - 26) Schweigger-Seidel, Fr. 1863. Untersuchungen über die Milz. XXVII. *Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.* **27**: 460-504.
 - 27) Seki, A. and M. Abe, 1985. Scanning electron microscopic studies on the microvascular system of the spleen in the rat, cat, dog, pig, horse and cow. *Jpn. J. Vet. Sci.* **47**: 237-249.
 - 28) Snook, T. 1950. A comparative study of the vascular arrangements in mammalian spleens. *Am. J. Anat.* **87**: 31-77.
 - 29) 鈴木昭男, 1980. 血管灌流による臓器・組織固定法, 生体の科学, **31**: 256-263.
 - 30) 鈴木昭男, 1982. 脾臓の末梢循環と形態学, 慈恵医大誌, **97**: 1-22.
 - 31) Suzuki, T., M. Furusato, S. Takasaki, S. Shimizu and Y. Hataba, 1977. Stereoscopic scanning electron microscopy of the red pulp of dog spleen with special reference to terminal structure of the cordal capillaries. *Cell Tissue Res.* **182**: 441-453.
 - 32) Tablin, F. and L. Weiss, 1983. The equine spleen: An electron microscopic analysis. *Am. J. Anat.* **166**: 393-416.
 - 33) Weidenreich, F. 1901. Das Gefässsystem der menschlichen Milz. *Arch. Mikrosk. Anat.* **58**: 247-376.

Summary

In order to study three-dimensional fine structure of the red pulp, especially the relationship between the splenic sinus and the arterial capillaries, cattle spleen was perfusion-fixed, loading normal arterial and venous hydrostatic pressure via the splenic artery and vein. The fixed splenic tissues were processed routinely for scanning (SEM) and transmission (TEM) electron microscopes. The normal red pulp of the cattle spleen consisted of the splenic cords formed by a three-dimensional meshwork of reticular tissue and of the splenic sinuses. Reticular cells contained numerous microfilament were innervated by nerves containing lucent core vesicles. The inner surface of the splenic sinus was covered with a lining or regularly shaped rod and irregularly shaped flat cells. The outer surface of the sinus wall is covered with reticular cell processes supporting the sinus. The sinus wall is perforated with round or elliptical stomata 1 or 8 in diameter through

which the sinus lumen communicates with the cordal space. It is observed that a large number of macrophages are present fixed to the meshwork of the cordal and sheathed reticulum. Macrophages in the sheathed reticulum phagocytized platelets and red cells. In the cattle cordal reticulum, many smooth muscles were observed supporting by reticular cell processes. The endothelial cells of the sheathed capillaries were high and packed with numerous intermediate filaments and a few microfilaments. Everted lateral processes of endothelial cells of the sheathed capillary formed an open interendothelial slit. In the wall of the cordal capillary approaching the terminal are found a few openings through which the arterial capillary lumen communicates with the cordal space. It was observed in the terminal that these openings become larger suddenly and the wall transforms into the network of the cordal reticular tissue. No image which may lead us to the conclusion that the cordal arterial capillary connects directly with the splenic sinus is recognized. These findings strongly support the concept of "open blood circulation" in the red pulp of the cattle spleen.

Explanation of Figures

- Fig. 1. A low-power scanning electron micrograph of the perfusion-fixed and freeze-fractured red pulp of a cattle spleen. S, sinus; C, splenic cord. $\times 450$.
- Fig. 2. A transmission electron micrograph showing the smooth muscle cell (SM) supported by the processes of reticular cells (arrows). $\times 2700$.
- Fig. 3. A transmission electron micrograph of unmyelinated axons (UA) and their terminals (T). Terminals surrounded by the cytoplasm of Schwann cells contain and lucent core vesicles. $\times 40000$.
- Fig. 4. A scanning electron micrograph of the inner aspect of a sinus showing rather marked irregularities in shape and arrangement of the endothelial cells (E). Note that distribution of the stomata (arrows) is also irregular. $\times 900$.
- Fig. 5. A scanning electron micrograph of inner surface of a sinus showing a lattice structure. Rods of endothelial cells (E) of similar size run parallel with each other. Stomata (St) are aligned along the extension of the lining cell. N, nuclear protuberance of the lining cell. $\times 2700$
- Fig. 6. A scanning electron micrograph of the inner aspect of a sinus irregularities of the endothelial cells (E). Stomata (St) are also irregular. Margin of some stomata is duplicated by occurrence of the reticular cell cytoplasm (R) from outside. Note many thread-like processes emerging the lateral side of the endothelial cells. $\times 2300$.
- Fig. 7. A scanning electron micrograph showing open end of a sinus (S) at its origin. $\times 1400$.
- Fig. 8. A transmission electron micrograph of a sinus. Sinus wall is composed of endothelial cells (E), basement membrane (BM) and reticular cells (R). Sinus endothelial cell has numerous intermediate filaments around the nucleus and a few microfilaments (Mf) along plasmalemma at the basal portion of the endothelial cells. SL, sinus lumen. $\times 14000$.
- Fig. 9. A transmission electron micrograph of a transverse section of a sinus near its origin. Sinus is composed of an endothelial cell (E_1) similar to reticular cells besides usual endothelial one (E_2). $\times 4000$.
- Fig. 10. A scanning electron micrograph of the sinus wall (SW) aperture (arrow) is of sufficient width to admit red cells (r) without deforming them. $\times 1800$.
- Fig. 11. A transmission electron micrograph of the sinus wall. Endothelial cells (E) overlap. There is aperture (arrow) between the overlapped endothelial cells (E_1 , E_2). Reticular cell (RC) attaches to the external endothelial cell (E_2). $\times 7700$.
- Fig. 12. A scanning electron micrograph showing the macrophage in the cordal reticular meshwork. Macrophage is covered by many slender processes. $\times 4500$.
- Fig. 13. A transmission electron micrograph of a macrophage covered with cyto-

plasmic processes. The cytoplasm contains many lysosomes (L), debris of phagocytized red cells (d), and secondary lysosomes (SL). The arrowheads indicate reticular fibers accompanied by a reticular cell. $\times 11000$

- Fig. 14. A transmission electron micrograph of a macrophage covered by numerous bubble-like cytoplasmic processes. The cytoplasm contains many free ribosomes and small round mitochondria (M). The arrows are reticular fibers attached to the cell surface. $\times 14000$
- Fig. 15. A scanning electron micrograph of a transverse section of a sheathed artery. Endothelial cells (E) of the sheathed capillary are rod in shape and tall, and always project into the lumen of the capillary. The capillary is surrounded by the sheath composed of the three-dimensional meshwork of reticular cells (R). Macrophage (M), red cells (r), platelets (arrowhead) lay within the narrow meshwork of the sheath. $\times 1800$.
- Fig. 16. A transmission electron micrograph of a transverse section of a sheath macrophage (M) contains phagocytized platelets (P). Note a platelet (P) appeared to pass through interendothelial stomata (arrowhead). $\times 11000$.
- Fig. 17. A transmission electron micrograph of the sheathed arterial termination. The sheathed artery is surrounded by two layers of reticular cells (R) at one side. A red cell (r) appears to be entering the sheath. St, stomata of the capillary wall. E, endothelial cell. $\times 6700$.
- Fig. 18. A transmission electron micrograph of the sheathed capillary. The endothelial cell (E) is high and packed with intermediate filaments (If). In endothelial cells, microfilaments (Mf) are concentrated near the intercellular junction and at the subplasmalemma. $\times 34000$
- Fig. 19. A scanning electron micrograph showing the bifurcated arterial terminal capillary (AC). Arterial capillaries end abruptly and are continuous with the meshwork of the red pulp. $\times 2300$.
- Fig. 20. A scanning electron micrograph of a longitudinally fractured arterial capillary. Arterial capillary opens into the cordal spaces with fenestrations (arrowheads). M, microvilli of endothelial cell; R, reticular cell processes attached to the outside of the capillary wall. $\times 3200$.



















