

海馬領域の発生学的・組織化学的・ 電子顕微鏡的研究

岡山大学医学部第一解剖学教室（指導：大塚長康教授）

藤 井 龍 平

（昭和59年2月27日受稿）

Key words : 海馬領域, 発生,
組織化学, 電子顕微鏡

緒 言

海馬領域（海馬と歯状回）は大脳辺縁系の中において、形態学的にも特異な細胞構築を呈すとともに、機能面からも重要な部位とされている。ジチゾンの生体内投与によりこの海馬領域の特定部位が組織化学的に紅色の反応をし、しかも、この反応が亜鉛の存在により発現することが Maske, 1955⁷⁾ により報告されて以来、この方面の研究が盛んに行なわれて来た。(Fleischhauer ほか 1957²⁾, Timm, 1956¹⁴⁾, McLardy, 1962⁸⁾, Otsuka, 1962¹⁰⁾ ほか, Haug, 1972⁴⁾, その他), その結果、これらの亜鉛は海馬領域に存在する苔状神経線維終末部に局在することをみた。さらに電子顕微鏡学的、組織化学的研究 (Haug, 1967³⁾, Ibata と Otsuka 1968⁵⁾, 1969⁶⁾) や電子顕微鏡学的オートラジオグラフィの研究 (Otsuka ほか 1975¹¹⁾) から亜鉛は、苔状神経線維終末部内のシナプス小胞内に含まれていることが明らかにされた。しかし、このような海馬領域に存在する亜鉛が、どのような機能をもっているかということに関してはまだ不明ことが多い。

そこで、これまでほとんど行なわれていない海馬領域の亜鉛に関する発生学的研究をすることにより海馬領域における亜鉛の機能の一端を明らかにしたいと思い本研究を行なった。

材 料 と 方 法

発生学的研究のために、ラットは胎生15, 18日目, 出生1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 20,

30, 60日目のものを用いた。

I. 光学顕微鏡による検索

これらのラットはエーテル、またはネンプタールで麻酔したのち、ただちに開頭、海馬領域を摘出し、組織の一般像を明らかにするためにホルマリンで固定した。パラフィン包埋し、8～12 μ の切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色, Nissl 染色, および神経線維渡銀法 Otsuka¹⁰⁾ を行なった。また、亜鉛の検索のためには硫化銀法 (Timm¹⁴⁾) を用いた。

硫化銀法

- 1) 硫化水素飽和純アルコール溶液に固定24～30時間（室温）
 - 2) 純アルコールを3～5回交換し過剰の硫化水素アルコールの洗滌と脱水を行う。
 - 3) 組織片をパラフィン包埋し、切片にする
 - 4) 脱パラフィン後の切片を蒸留水でよく洗う。
 - 5) 下記の液に30分～60分入れる。

A 液	{	15～20%アラビアゴム水溶液	10cc
		10%硝酸銀水溶液	0.2cc
B 液	{	ハイドロキノ	2 g
		クエン酸	5 g
		蒸留水	100cc
- A 液全量に B 液 2 cc を加えて混合したのちただちに使用する。
- 6) 蒸留水で充分水洗。
 - 7) ヘマトキシリンで核を染色
 - 8) 脱水, 透徹, 封入

II. 電子顕微鏡による検索

電子顕微鏡的組織化学の方法として次の方法

Ibata と Otsuka^{5),6)} を用いた。

- 1) 3% グルタルアルデヒド・Millonig 緩衝液 (pH7.3) を硫化水素ガスで飽和した液で灌流固定し、組織片を取り出し 2~3 mm の厚さに細切した。
- 2) 試料を上記の固定液で 12~24 時間再固定
- 3) Millonig 緩衝液で数回液をとりかえ 12~24 時間洗う。
- 4) 試料をビブラトームにて 100~150 μ に薄切する。
- 5) 薄切片を次の液に 30~60 分入れる。

A 液	{	20% アラビアゴム水溶液	100cc
		1 M の硝酸銀水溶液	1cc
B 液	{	ハイドロキノン	2g
		クエン酸	5g
		蒸留水	100cc
- A 液の全量に B 液 20cc を加える (使用直前)
- 6) 緩衝液で切片を洗滌したのち、1% 四酸化オスミウム溶液 (pH7.3) で 1 時間固定する。
- 7) 試料を脱水、エポン包埋、2 重染色を行なって鏡検する。

結 果

I. 成熟ラットの海馬領域

Rose らによって海馬領域は細胞ならびに線維構築学的に次のように分類している。すなわち、海馬領域の中で海馬に属する部位は、脳室面から

- 1) Alveus
- 2) Stratum multiforme
- 3) Stratum pyramidale
- 4) Stratum radiatum
- 5) Stratum lacunosum
- 6) Stratum moleculare

の各層が分けられている (図 1)。

また海馬では、stratum pyramidale を構成する錐体細胞の形態、大きさおよび配列状態から h_1 , h_2 , h_3 , h_4 , および h_5 の 5 分野に分類されている。

A) 海馬

1) h_1 野

h_1 野は中等大の錐体細胞が次第に集合して配

列し stratum pyramidale も作っていた。この分野で、硫化銀法でやや弱い陽性反応を呈する層は stratum multiforme と stratum pyramidale のみであった。

2) h_2 野

h_2 野の stratum pyramidale を形成する錐体細胞は、 h_1 野のものと比べてやや小型であった。また、その配列もかなり密であった。この野においても各層を分けることができた。そのうちで stratum multiforme と stratum radiatum が硫化銀法で弱陽性反応を呈していた。

3) h_3 野

h_3 野を構成する錐体細胞は h_1 ~ h_2 の錐体細胞に比べやや大型で、その配列もやや疎であった。また、この野においては各層が明らかに区別できた。また、硫化銀法では、stratum multiforme は弱陽性反応を呈していた。Stratum radiatum では h_2 と h_3 野の境界部に一致して、 h_3 野の stratum radiatum の stratum pyramidale に接する領域が黒褐色の強陽性反応を呈した。この陽性反応物質は stratum radiatum を構成する錐体細胞の樹状突起の表面に分布しているようにみえた。Stratum radiatum の強陽性反応部以外の全層は弱陽性反応を呈していた。Stratum lacunosum は薄い層であるが、硫化銀法では陽性であった。また、stratum moleculare は全く反応しなかった。

4) h_4 野

h_4 野の錐体細胞は h_3 野同様やや大型となり、これらの細胞が集って、 h_1 ~ h_2 野より幅の広い細胞層を作っているが、その細胞の配列状態は h_3 野におけるよりは疎であった。しかし層的構造は観察された。錐体細胞は硫化銀法で陰性であった。一方、stratum radiatum の stratum pyramidale に接する帯状の領域で h_3 野と同様強陽性反応が認められた。この強陽性反応を呈する部位以外の stratum radiatum は弱陽性反応であった。また、stratum multiforme も弱陽性反応が認められたが、stratum moleculare では反応は陰性であった。

5) h_5 野

h_5 野では h_1 ~ h_4 野にみられたような細胞の層的配列は認められなかった。 h_4 野から移行し

て来た stratum pyramidale の錐体細胞は歯状回の門内にやや大型の細胞として散在性に存在していた。従ってこの分野では stratum radiatum に相当する層は認められなかった。この部位においても錐体細胞は硫化銀法において陰性であった。しかし散在性に分布している神経細胞の突起と思われる部位に強陽性反応物質がみられた。

B) 歯状回

歯状回でははっきりと分野を区別することはできなかったが、層の構造は認められた。すなわち、その門に対する側から

7) Stratum moleculare

8) Stratum granulosum

9) Stratum multiforme

の三層に区分されている(図1)。

Stratum granulosum は顆粒細胞が密集し、数列ならんでいた。硫化銀法では stratum multiforme の stratum granulosum に接する領域のみに帯状の強陽性反応がみられた。その他の層では陽性反応は認められなかった。

II. ラット海馬領域の発生学的研究

この研究には方法のところで記載した発生各時期のラットを用いた。

胎生15日目のラットでは、まだ海馬領域は形成されず、硫化銀法で染めたものでも反応は陰性であった。

胎生18日目のラットでは、海馬領域を構成する海馬と歯状回とが区別することができるようになってきたが、まだ分野と層は完成していなかった。硫化銀法ではいずれの部位も反応しなかった。

生後1～3日目のラットでは、海馬の錐体細胞の配列がやや整ってくるが、まだはっきりとした分野と層の構造は観察できなかった。硫化銀法ではどの部位も反応は陰性であった。

生後4～6日目のラットでは、海馬と歯状回をはっきりと分けられたが、まだ、分野とか、層を認めることはできなかった。硫化銀法ではどの部位も全て反応は陰性であった。

生後7日目のラットでは、海馬も歯状回もその分野と層に形態的な特徴が現われてくるが、硫化銀法では、まだどの部位も反応は陰性であった。

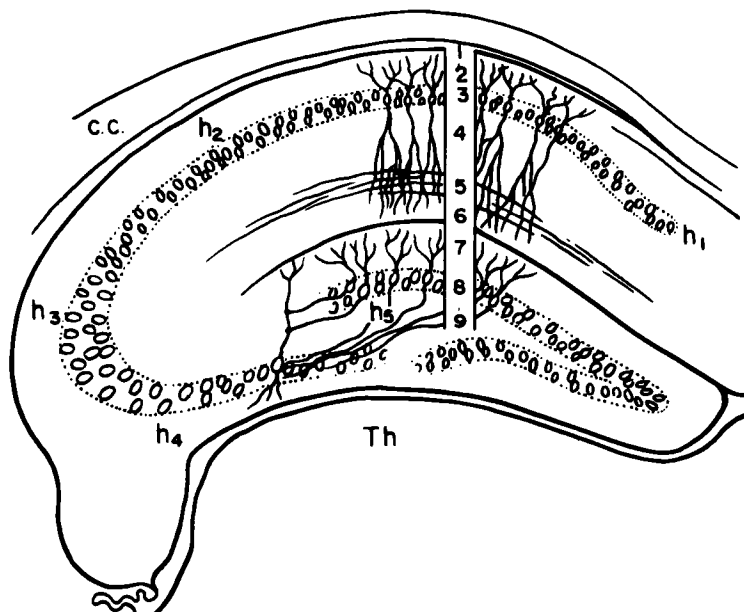


図1. 海馬領域、歯状回の顆粒細胞の神経突起が、海馬 $h_3 \sim h_4$ 野の錐体細胞の樹状突起に苔状線維終末を作っている。

$h_1 \sim h_5$; 海馬の分野

1～9; 海馬と歯状回の層

生後14日目のラットでは、海馬の全ての分野と層が成熟ラットとかわらない状態を呈した。硫化銀法では $h_1 \sim h_4$ 野までの stratum radiatum が全て弱陽性反応を呈し、 h_5 と歯状回の stratum multiforme も弱陽性反応を呈してきた。

生後20日目のラットでは海馬領域の全ての構造が全く成熟ラットとかわらない状態が認められた。硫化銀法では生後14日目のラットではみられなかった海馬の $h_3 \sim h_4$ 野の stratum radiatum が stratum pyramidale に接する部位と h_5 野に相当する歯状回門および歯状回の stratum multiforme が強陽性反応を呈していた。この強陽性反応がみられたところは苔状線維終末に一致していた。その他の stratum radiatum は $h_1 \sim h_4$ 野まで弱陽性反応が認められた。

生後30～60日目のラットでは、海馬は全く成熟ラットと同様な構造が観察された。また硫化銀法においても成熟ラットと同様な強い陽性の反応を呈していた。

Ⅲ. 電子顕微鏡の研究

電子顕微鏡用に改良された硫化銀法で苔状線

維終末を発生学的に研究した。

成熟ラットの苔状線維終末を電子顕微鏡で観察すると $h_3 \sim h_4$ 野の錐体細胞の樹状突起、ことにその棘を取り囲み、大きな膨らみとなって終末していた。樹状突起から突出した一つの棘は二、三の分岐をくりかえし、この分岐した一つの棘に1～2個の苔状線維終末がこれを取り囲んで終っていた。この大きな終末部の中には多数の密集したシナプス小胞 (30～70 nm) が含まれ、ほぼその全体を満していた。また、このシナプス小胞にまざって、小量ではあるが電子密度の高い小顆粒を含んだ小胞もみられた。またこの終末内にはミトコンドリアが混在していた。シナプス膜の状態は、棘に終る場合には、シナプス前膜はやや電子密度が高く、シナプス後膜側ではさらに濃い太い線として認められた。

胎生期のラットでは、組織が柔軟なため、電子顕微鏡用硫化銀法では、組織が破壊され観察することができなかった。また、この時期の脳では、まだ、先にも述べたように海馬領域も形成されていなかったの、いわゆる苔状型の終末はみることができなかった。

胎生末期から生後1～2日目のラットでは海

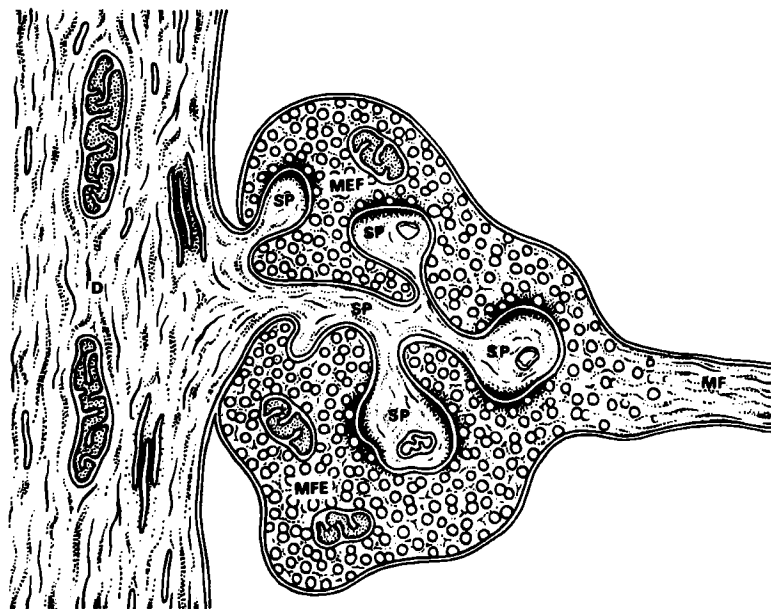


図2. 苔状線維終末

MFE; 苔状線維終末, MF; 顆粒細胞神経突起, D; 錐体細胞樹状突起, SP; 錐体細胞樹状突起棘

馬領域は、すでに形成されつつあったが、まだ、シナプス構造を呈する部位を明確に検索することができなかった。

生後3～8日目になると光学顕微鏡による観察で、海馬と歯状回をはっきりと分けることができたが、まだ、分野と層を明瞭に区別することができなかった。電子顕微鏡でみると生後3～5日目のものでは組織の各所に、小さなシナプス構造を呈する部位は認められたが、苔状線維終末のような大型のシナプスは観察できなかった。しかも、このシナプスのシナプス前領域内には硫化銀法においても銀粒子の分布は認められなかった。生後8日目のラットでは大型のシナプスがところどころに認められた。その形態は成熟ラットの苔状線維終末と非常によく似ており、シナプス前領域には多数の芯なし小胞が存在していた。しかし樹状突起棘は認められなかったが、硫化銀法では数は少ないが銀粒子の沈着が認められた。

生後14～20日目のラットでは苔状線維終末の形態は成熟ラットのものとほとんど変わらず、大型のシナプスを形成し、このシナプス前領域には多数のシナプス小胞が認められ、2～3の樹状突起棘もみられた。ただ、硫化銀法ではシナプス前領域にみられる銀粒子の分布状態が成熟ラットと比較すると少なかった。

生後30日目のラットでは、苔状線維終末の形態、シナプス小胞の分布状態、硫化銀法による銀粒子の分布状態などが全く成熟ラットの状態と変わらなかった。

考 察

Maske⁷⁾ はイヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ラット、およびマウスのいずれの動物においても、アルカリ性にしたジチゾンのアルコール溶液を注射すると海馬の特定の部位が紅染されることを認めた。また Fleischhauer²⁾ らは、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ハムスター、ハリネズミ、ラットで同様な所見を得た。しかし、これらの観察では組織学的な局在性を知ることができなかった。その点、Timm¹⁴⁾ によって開発された硫化銀法は組織学的に光学顕微鏡で観察できる利点がある。

この方法を使用して行なった研究で強陽性反応を呈する部位は h_3 ～ h_4 野の stratum radiatum が stratum pyramidale に接する領域と歯状回の stratum multiforme であった。すなわち、この部位は歯状回の顆粒細胞の神経突起が海馬の h_3 , h_4 および h_5 野に達してこの領域の錐体細胞の樹状突起に終る苔状線維の終末部に一致すると考えられている。Von Euler, 1962¹⁾, Otsuka⁹⁾ ら、また Haug³⁾ や Ibata と Otsuka^{5), 6)} は硫化銀法を電子顕微鏡用に改良した方法でウサギやラットを観察し、 h_3 , h_4 , h_5 野および歯状回の光学顕微鏡で、強陽性反応を呈した部位において、電子顕微鏡で陽性反応物質の認められるのは苔状線維終末部のみであった。さらに神経終末部の中では、シナプス小胞に一致して陽性物質が存在することが認められた。

ジチゾン法も硫化銀法とともに重金属に対する組織化学的反応であるので、これらの方法のみでは、その反応する物質がいかなる重金属であるかということは確認できない。すでに Maske⁷⁾ は分光計測による所見から、ジチゾン反応が海馬領域に存在する亜鉛と結合することによって発現することを予測した。Von Euler¹⁾, Otsuka⁹⁾ らは光学顕微鏡による Zn^{65} のオートラジオグラフィによる研究から海馬の h_3 ～ h_5 野および歯状回の一部に多量の亜鉛が証明された。さらに、Otsuka¹¹⁾ らの電子顕微鏡によるオートラジオグラフィの研究から Zn^{65} は苔状線維終末内のシナプス小胞に一致して存在することが認められた。したがって苔状線維終末内における硫化銀法による陽性反応物質は多量の亜鉛を含んだ物質から構成されているものと考えられた。

Fleischhauer²⁾ らはラット、ネコ、イヌでは出産直後から年令の増加にともなって、ジチゾン反応が強く発現することを認めている。しかし、この研究はいずれも個体発生中の一時期のみの報告にすぎない。発生各時期の苔状線維終末を硫化銀法で観察した研究としては高橋, 1968¹²⁾ と田村, 1977¹³⁾ の報告があるのみである。しかもこれらの研究はいずれも詳細な研究ではない。本研究では光学顕微鏡による観察では生

後14日目のラットで、 h_3 , h_4 野の stratum radiatum の stratum pyramidale に接する領域と歯状回の stratum multiforme の領域が硫化銀法で弱陽性反応を呈していた。しかし、成熟ラットとまったく同じように、14日目において弱陽性反応であった部位が強陽性反応を呈してくるのは、生後20日目以後であった。これらの所見から、ラットの成長過程で海馬領域が、成熟期のような構造に完成する時期と、苔状線維終末内の亜鉛が増量して来る期時が生後20日目頃に一致することがわかった。

電子顕微鏡用に改良された硫化銀法で観察すると、すでに生後3～8日目のラットで硫化銀法陽性を示す銀粒子の沈着が認められた。ただ成熟ラットとまったく同じような陽性反応を呈するのは、生後14～20日目であった。

上記のように、光学顕微鏡で観察した硫化銀法による弱陽性反応を呈する時期と電子顕微鏡用の硫化銀法で苔状線維終末に銀粒子が出現する時期とが多少異なり、電子顕微鏡で見る方がやや早く、光学顕微鏡ではまだ弱陽性反応しか呈していなかった生後3～8日目において、苔

状線維終末は成熟期に近い機能を行なっているのではないかと思われた。

結 語

海馬領域の発生学的研究をラットを用いて次の結果を得た。

ラットは、胎生15, 18日目、生後1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 20, 30, 60日目のものを用いた。

光学顕微鏡用の硫化銀法で観察したものでは生後20日目になって成熟ラットとまったく同様に h_3 ～ h_4 野の stratum radiatum の stratum pyramidale に接する部位、歯状回門(h_5 野)、および歯状回の stratum multiforme が強陽性反応を呈した。これらの強陽性反応を呈する部位は苔状線維終末の存在する部位であった。

電子顕微鏡用に改良された硫化銀法で検索したものでは、すでに生後8日目頃に苔状線維終末部内に銀粒子の沈着が認められた。生後14日目になると苔状線維終末の形態も成熟ラットのものとはほとんど変わらないようになっていた。

文 献

1. Euler, C. von.: On the significance of the high zinc content in the hippocampal formation. In *Physiologie de l'hippocampe*. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1962.
2. Fleischhauer, K. und Horstmann, E.: Intravitale Dithizonfärbung homologer Felder der Ammonsformation von Säugern. *Z. Zellforsch.* 46, 598—609, 1957.
3. Haug, F.M.S.: Electron microscopical localization of the zinc in hippocampal mossy fiber synapses by a modified sulfide silver procedure. *Histochemie*, 8, 355—368, 1967.
4. Haug, F.M.S.: Heavy metals in the brain. A light microscope study of the rat with Timm's sulphide silver method. Methodological considerations and cytological and regional staining patterns. In *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, Springer Verlag, New York, p.71, 1973.
5. Ibata, Y. and Otsuka, N.: Fine structure of synapses in hippocampus of the rabbit with special reference to dark presynaptic endings. *Z. Zellforsch.* 91, 547—553, 1968.
6. Ibata, Y. and Otsuka, N.: Electron microscopic demonstration of zinc in the hippocampal formation using Timm's sulfide-silver technique. *J. Histochem. Cytochem.* 17, 171—175, 1969.
7. Maske, H.: Über den topochemischen Nachweis von Zink in Ammonshorn verschiedener Säugetiere. *Naturwissenschaften* 42, 424, 1955.
8. McLardy, T.: Zinc enzymes and the hippocampal mossy fiber system. *Nature* 194, 300—302, 1962.
9. Otsuka, N. and Kawamoto, M.: Histochemische und autoradiographische Untersuchungen der Hippo-

- campusformation der Maus. *Histochemie* 6, 267—273, 1967.
10. Otsuka, N. and Umetani, M.: Chemocytoarchitectonics of amon's formation. *Proc. Jpn. Histochem. Assoc.* 3, 231—234, 1962.
11. Otsuka, N., Okano, H. and Yokoyama, K.: A study on the mossy fiber endings in the hippocampal formation by electron microscopic autoradiography. *Acta Histochem. cytochem.* 8, 175—176, 1975.
12. 高橋親彦：大脳辺縁系亜鉛に関する実験的研究. II. 各種条件下にみられる海馬型亜鉛の消長について. 岐阜医紀, 15, 161—176, 1968.
13. 田村仁：海馬領域における亜鉛の組織化学的研究. 岡山医誌, 89, 551—564, 1977.
14. Timm, F.: Zur Histochemie des Ammonshorngenbietes. *Z. Zellforsch.* 48, 548—555, 1956.

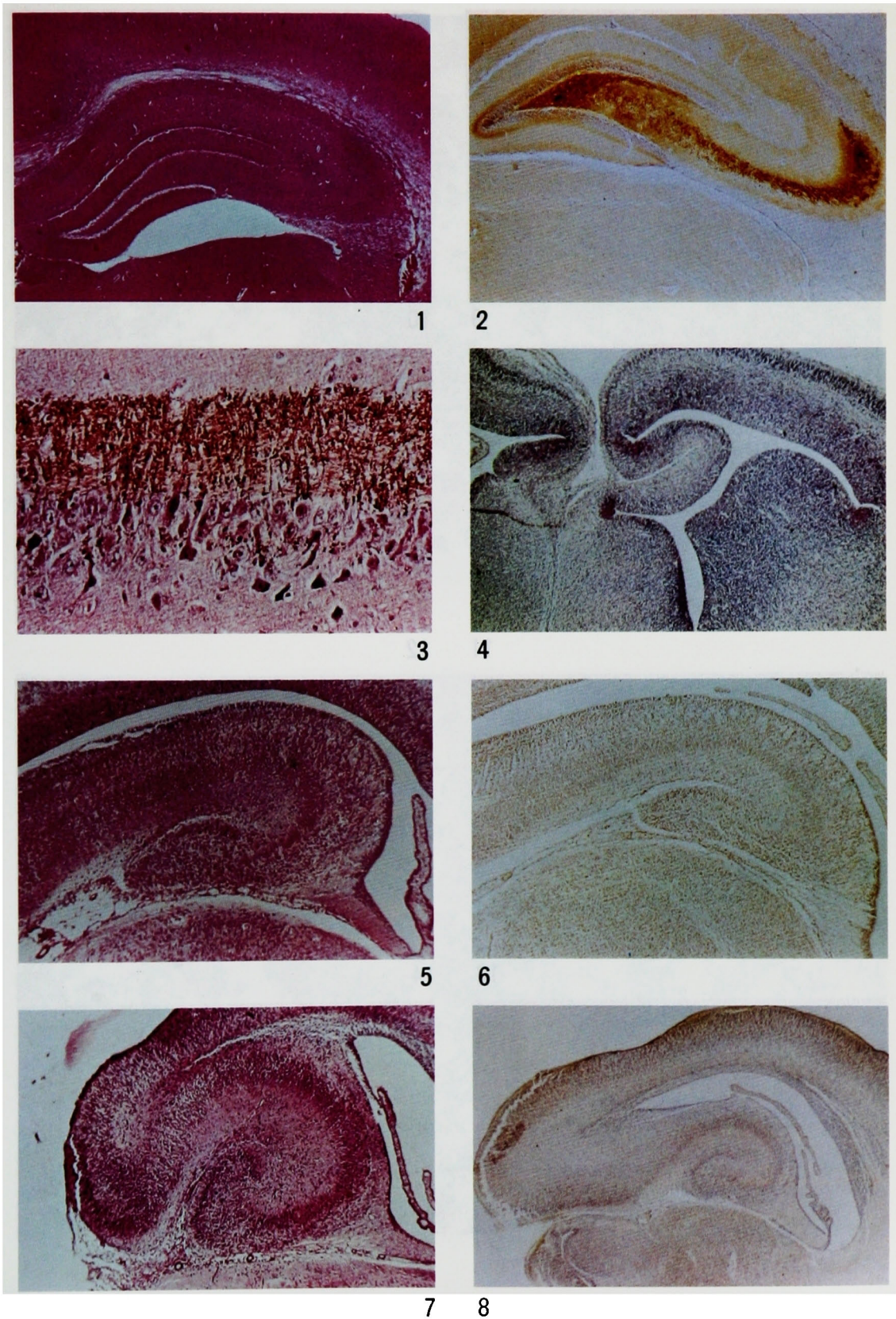
写真説明

- 写真1 成熟ラットの海馬領域. H・E 染色. (×30)
- 写真2 同上, 硫化銀法. h_3 — h_5 野. 歯状回にかけて stratum radiatum が強陽性反応する. (×40)
- 写真3 同上, 硫化銀法. h_3 野の拡大像. 錐体細胞の樹状突起の部位 (stratum radiatum) が強い陽性に反応する. (×200)
- 写真4 ラット胎生15日目. H・E 染色. 脳室面に成長しつつある海馬領域 (×45)
- 写真5 同上, 胎生18日目の海馬領域. H・E 染色. 海馬, 歯状回の細胞構築が明瞭に判別できない. (×45)
- 写真6 同上, 硫化銀法. 反応は陰性 (×45)
- 写真7 ラット生直後の海馬領域. H・E 染色. h_1 — h_4 野にかけて錐体細胞層が配列されつつある. (×55)
- 写真8 同上, 硫化銀法. 全ての部位が反応 陰性. (×30)
- 写真9 ラット生後4日目の海馬領域. H・E 染色. 海馬と歯状回の細胞構築が進みつつある. (×42)
- 写真10 同上, 硫化銀法. 全ての分野で反応 陰性. (×45)
- 写真11 ラット生後7日目の海馬領域. H・E 染色. 海馬と歯状回に層と分野の特徴が現れる. (×60)
- 写真12 同上, 硫化銀法. 全ての分野で反応 陰性. (×55)
- 写真13 ラット生後14日目の海馬領域. H・E 染色. 海馬と歯状回の分野と層の区別が明瞭となる. (×55)
- 写真14 同上, 硫化銀法. 海馬の h_3 — h_5 野. 歯状回が反応陽性となる. (×65)
- 写真15 ラット生後20日目の海馬領域. H・E 染色. 各分野, 各層において成熟ラットと同様の細胞構造を示した. (×45)
- 写真16 同上, 硫化銀法. 各分野と各層において成熟ラットと同様の強い陽性反応を起した. (×45)
- 写真17 ラット海馬 h_3 野の電子顕微鏡像, 硫化銀法. 胎生期. 神経終末と思われるところの反応陽性物質 (終末内のシナプス小胞は明瞭に確認できない). (×36,000)
- 写真18 同上, 生直後. 小型ながらシナプス小胞が見られ. これに一致して反応陽性物質が観察できる. (シナプス膜の肥厚がみられる). (×17,000)
- 写真19 生後3日目, 海馬 h_3 野の発達しつつある神経終末. 膜の肥厚. シナプス小胞が観察できる. (×25,000)
- 写真20 海馬 h_3 野の電子顕微鏡像. 硫化銀法. 生後8日目の苔状線維終末. シナプス小胞の上に反応陽性物質が観察できる. (×32,000)
- 写真21 同上, 生後14日目. 苔状線維終末は大きさを増す. 錐体細胞の樹状突起棘の構造がみられる. 反応物質は少ない. (×30,000)
- 写真22 同上, 生後21日目. 苔状線維終末. 大きさと数を増し, シナプス小胞の集積するところに強陽性反応がみられる. (×17,000)

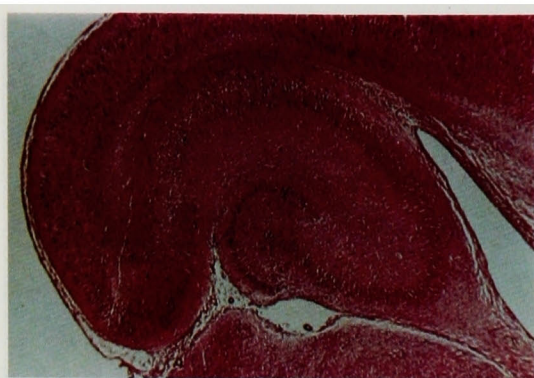
写真23 同上，生後30日目，苔状線維終末，多数のシナプス小胞と強陽性の銀粒子がみられる，錐体細胞の樹状突起棘も観察できる。（×27,000）

写真24 同上，成熟ラット，苔状線維終末。（×35,000）

藤井龍平論文附図



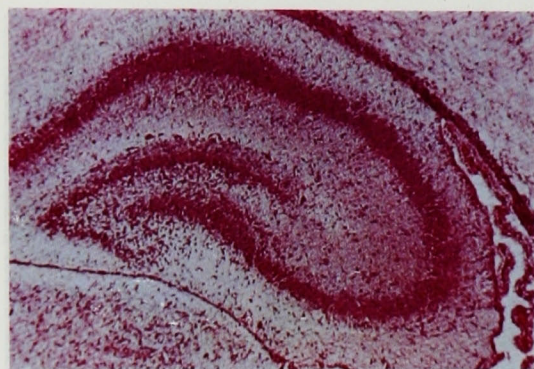
藤井龍平論文附図



9



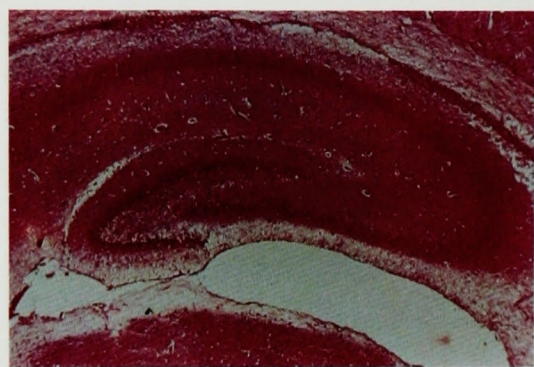
10



11



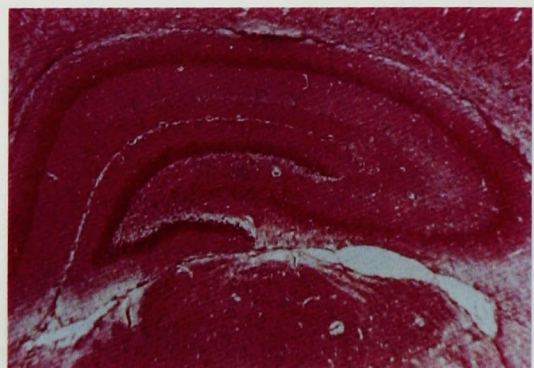
12



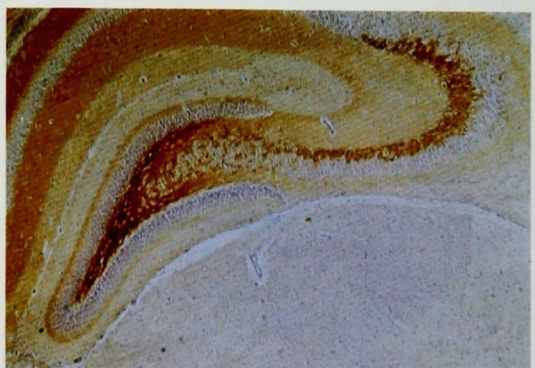
13



14

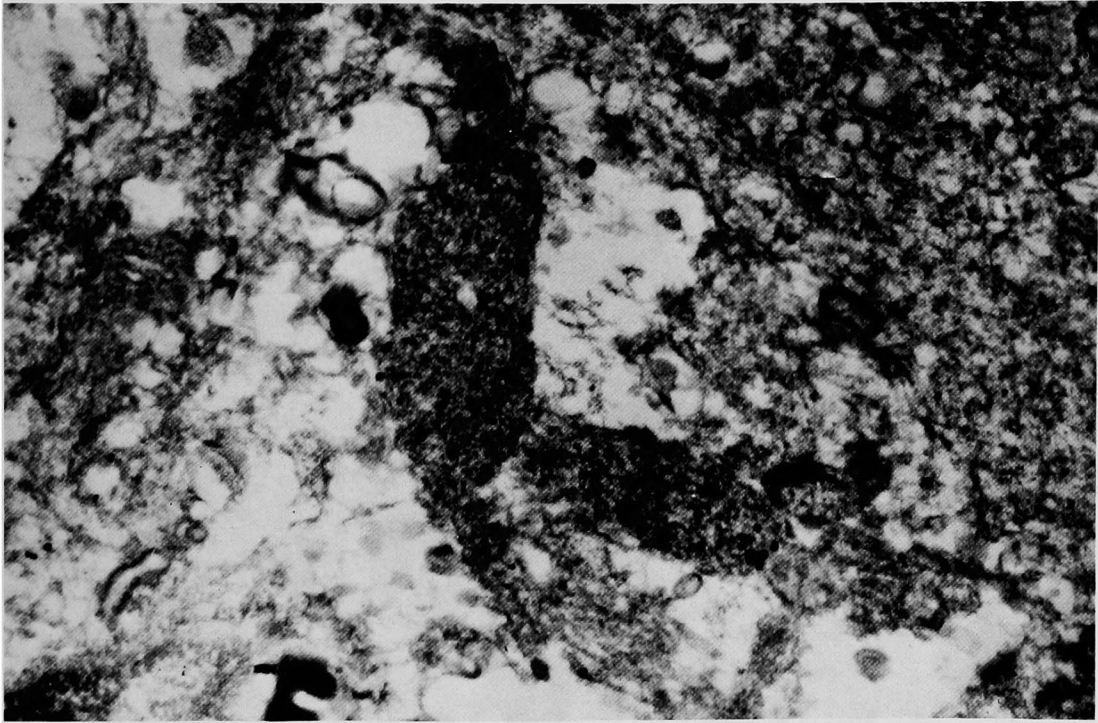


15

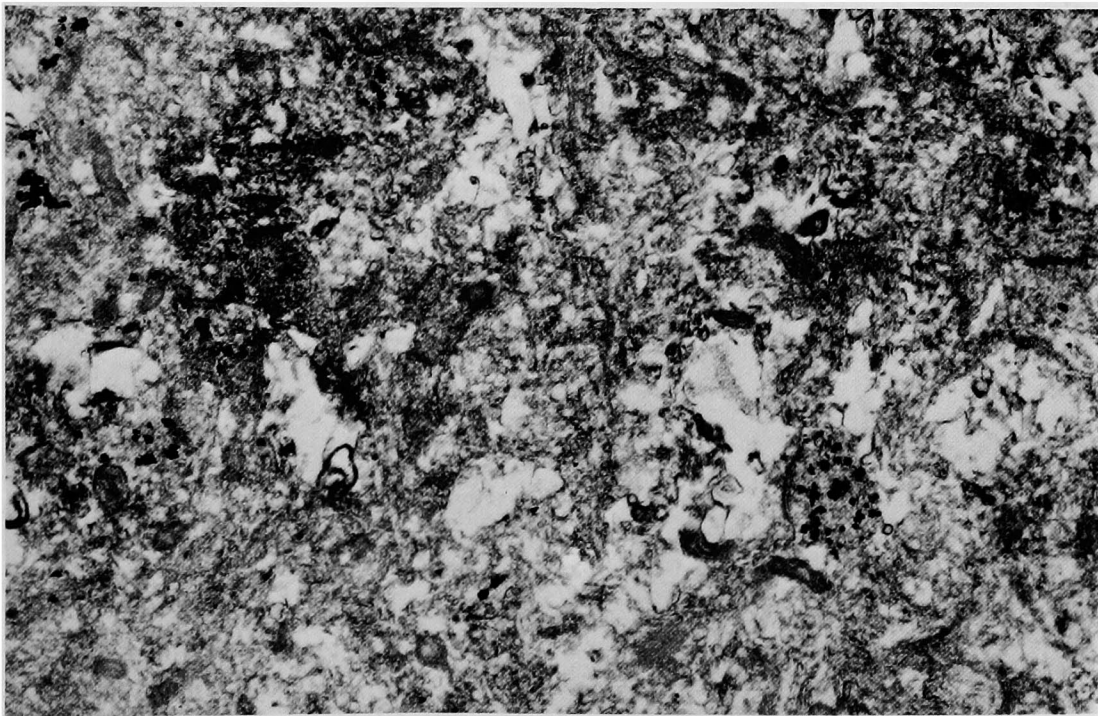


16

藤井龍平論文附图

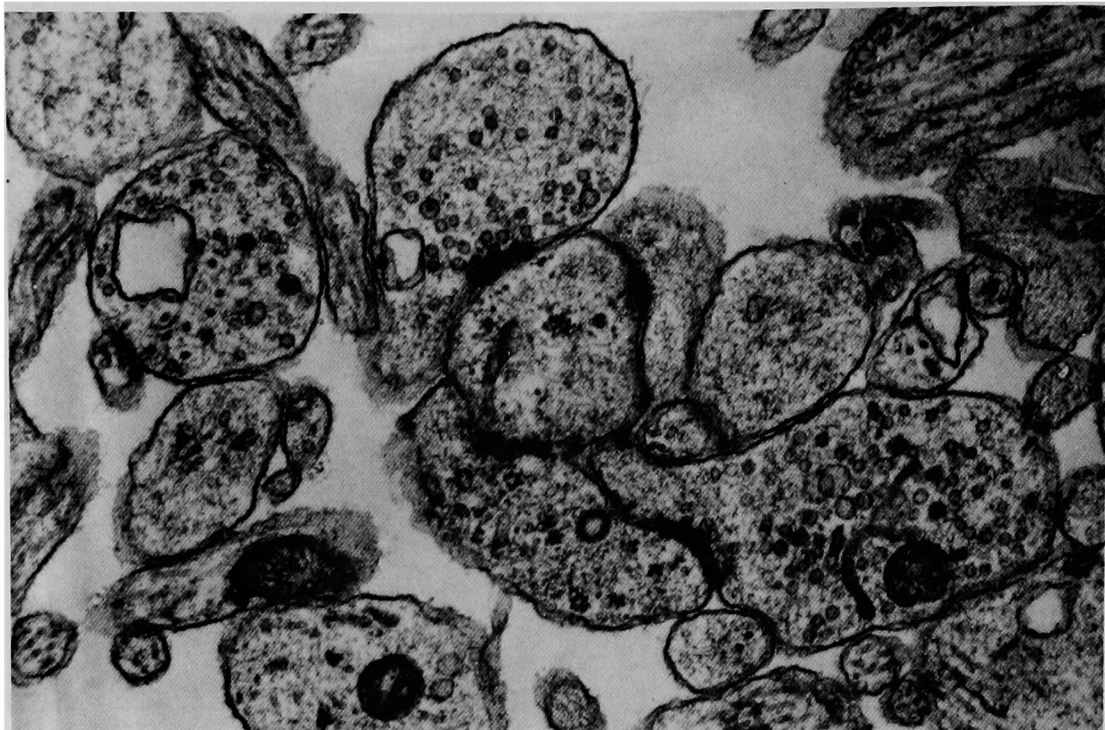


17

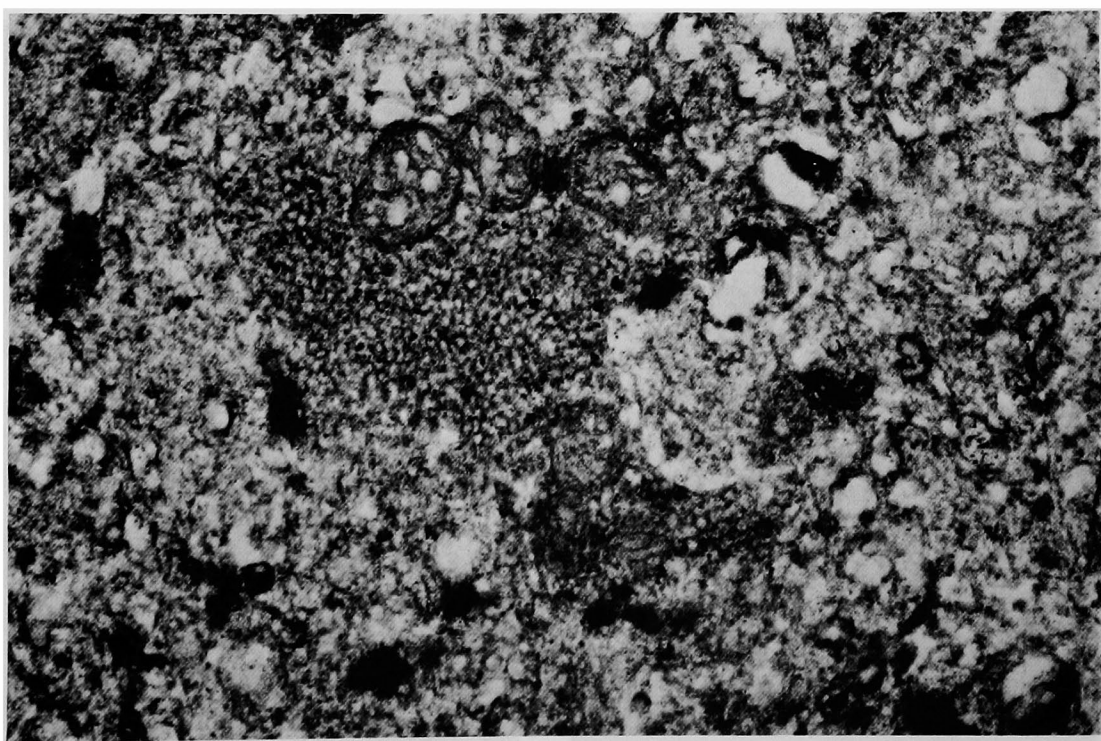


18

藤井龍平論文附図

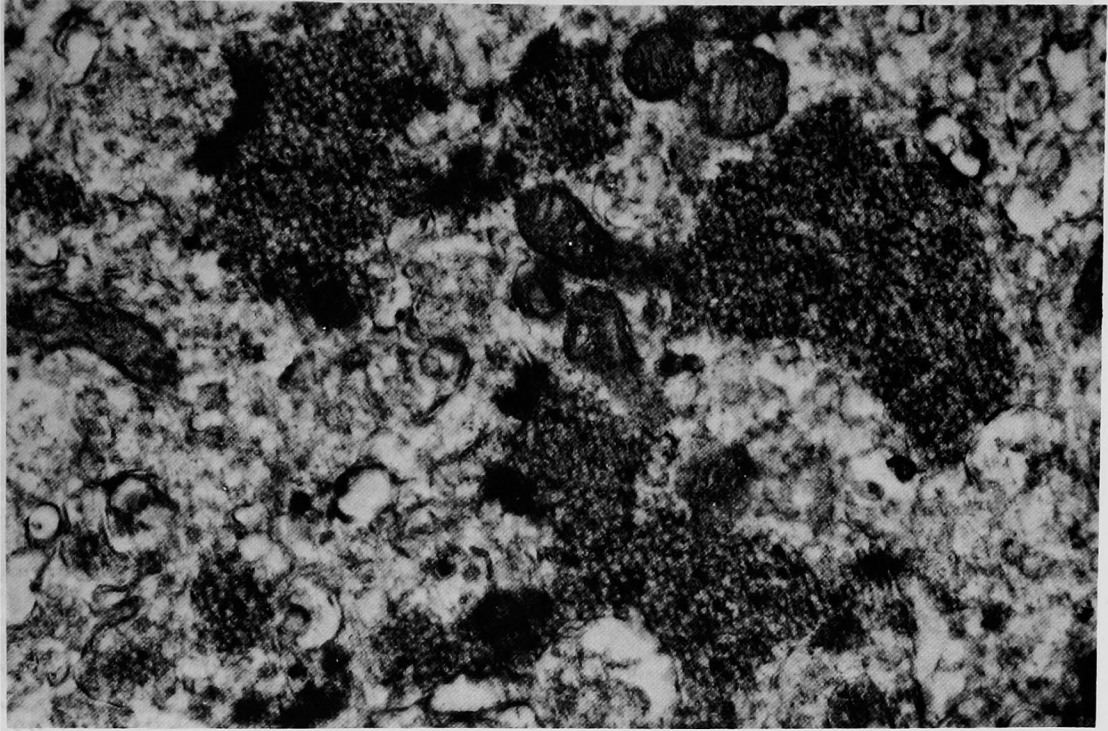


19

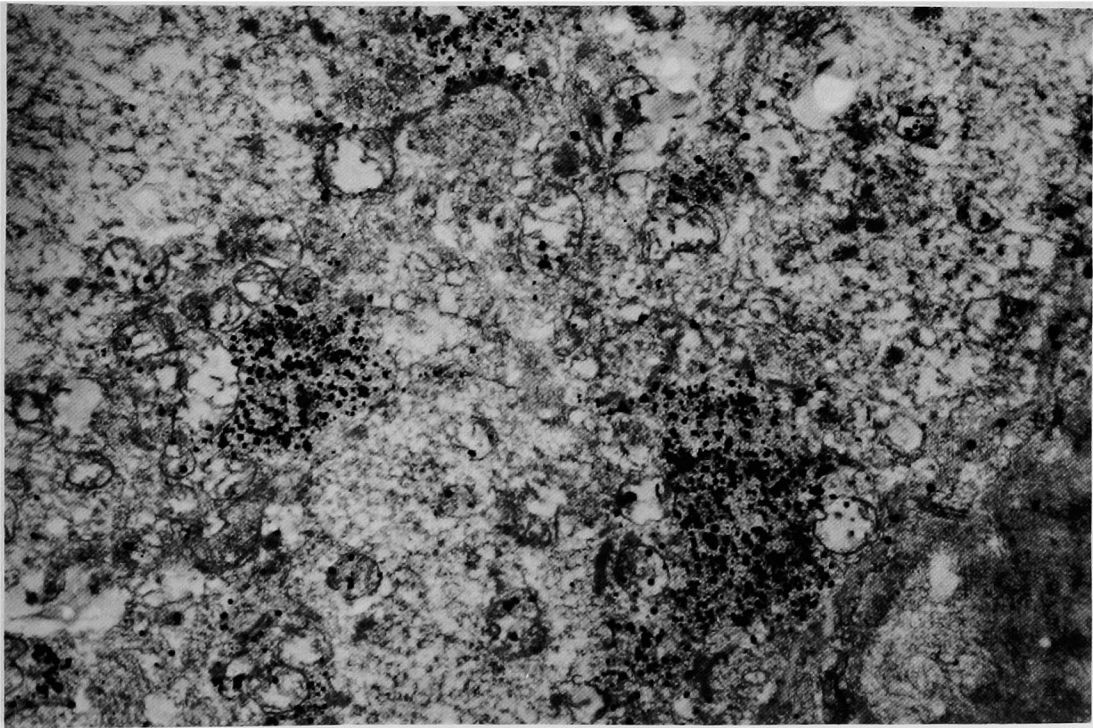


20

藤井龍平論文附图

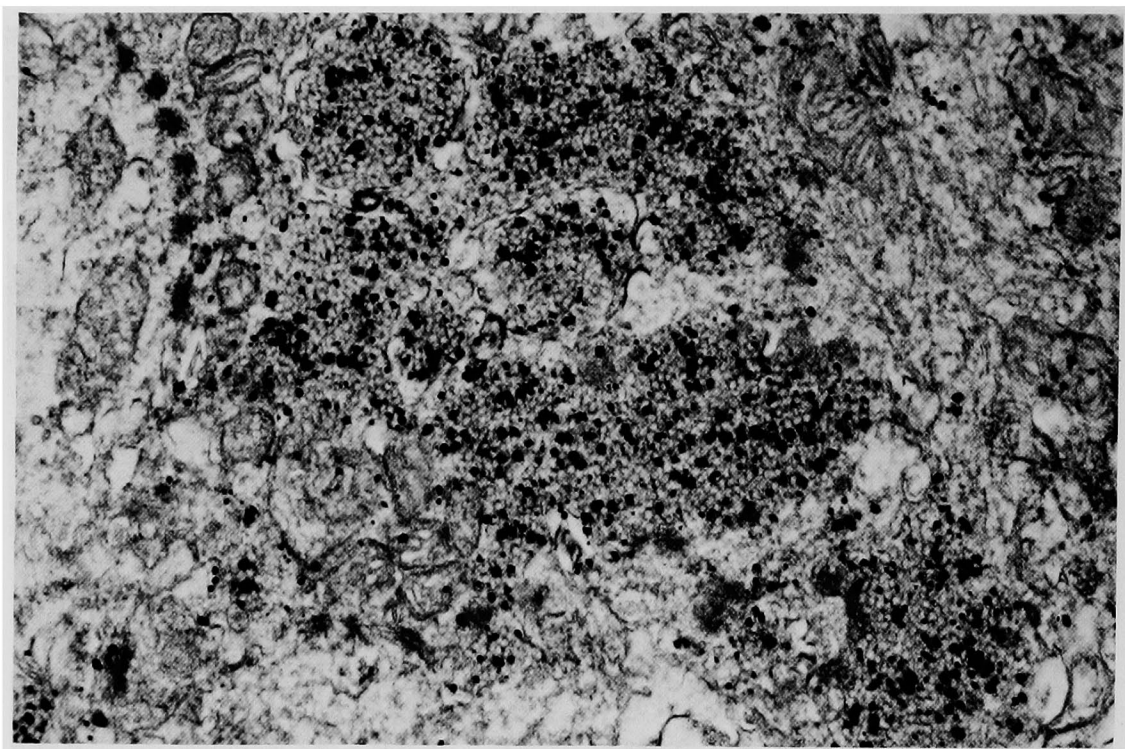


21

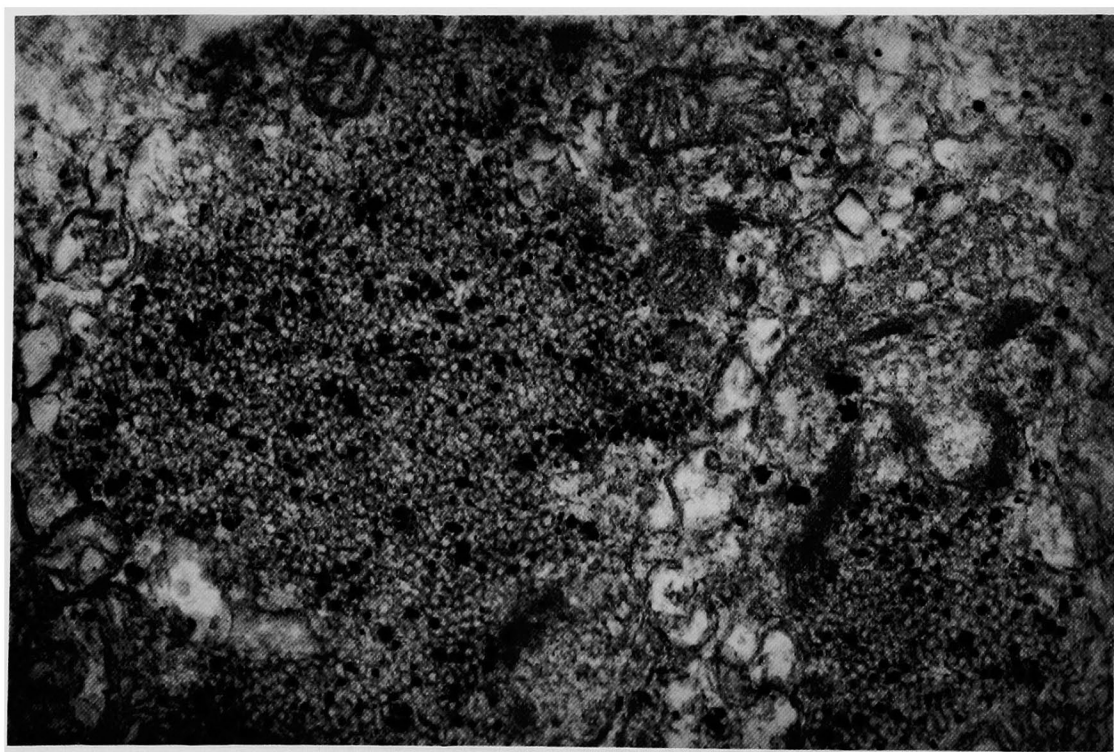


22

藤 井 龍 平 論 文 附 図



23



24

**Embryologic, histochemical and electron microscopic
study of rat hippocampal formation**

Ryuhei FUJII

Department of Anatomy, Okayama University Medical School

(Director: Prof. N. Otsuka)

An embryologic study of rat hippocampal formation was performed. By the silver sulfide method for light microscopy, the same positive reaction as in adult rats was observed in 20-day rats in the same regions: the border between stratum radiatum and stratum pyramidale of h₃ and h₄, hilus fascia dentata(h₅) and stratum multiforme of Gyrus dentatus.

These regions corresponded to the site of mossy fiber endings. In the silver sulfide method modified for electron microscopy, deposits of silver grains were observed in mossy fiber endings of 8-day rats, and the morphology of mossy fiber endings of 14-day rats was similar to that of adult rats. These results suggest that these areas begin to mature in 8 days and complete maturation in 20 days after birth.