

ラット顎下腺の成長発育機構

永 木 正 実

愛媛大学医学部歯科口腔外科学

The growth mechanism of the rat submandibular gland

Masami Nagaki

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Medicine, Ehime University

Summary

To elucidate the growth mechanism of the salivary gland, submandibular glands of the rat, between 2 and 8 months of age, were examined by light and electron microscopy, as well as by three-dimensional image analysis.

The gland weight increased until 6 months of age. Some acini contained a new type of secretory cell herein we called the third type of secretory cell showing morphological features of serous cells. The incidence of this cell decreased with aging, suggesting that the third type of secretory cell is concerned with the growth of the gland. In the mixed acini of the gland containing both the third type of secretory cells and proper seromucous cells, the morphological features of the secretory granules and the location of these cells showed that the third type of secretory cells differentiated into seromucous cells.

These findings suggest that the growth of the rat submandibular gland begins with the formation of new acini, which consist of primarily the third type of secretory cell. Then, this third type of secretory cell differentiates into a proper seromucous cell.

Key Words

growth, three-dimensional image analysis, acinus, submandibular gland, rat

抄 録

唾液腺の成長発育機構を解明することを目的として、生後2か月から8か月に至るラット顎下腺を光顕、電顕、ならびに三次元画像解析装置を用いて形態学的に検索した。

腺重量は生後6か月まで増加し、この間の腺の成長発育を示した。また漿液性細胞の形態的特徴を有する新し

い型の分泌細胞を含む終末部の存在を明らかにし、この分泌細胞をⅢ型細胞として報告した。Ⅲ型細胞の出現頻度は、加齢に伴って明らかに低下し、この細胞が腺の成長発育に関与することを示した。Ⅲ型細胞と固有の漿液性細胞の両方を含む混合性終末部におけるこれらの細胞の分泌顆粒の形態的特徴および局在部位は、Ⅲ型細胞が漿液性細胞に分化することを示した。

以上の所見より、ラット顎下腺の成長発育は、一群のⅢ型細胞含有終末部の形成に始まり、その後Ⅲ型細胞が固有の漿液性細胞に分化することによると考えられた。

1992年4月27日受理

愛媛大学医学部歯科口腔外科学

緒言

唾液腺の発生分化に関しては、ヒト^{29),38),40)}、ブタ^{22),23)}、マウス^{13),16),32),44)}、ゴールデンハムスター⁹⁾等多くの動物の様々な唾液腺で報告がなされている。腫瘍をはじめとする各種唾液腺疾患の研究にしばしば用いられているラット顎下腺^{2),7)}についても、その特色ある出生前後の複雑な分化過程が多く研究者の興味をひき、数多くの報告がなされてきた^{1),4),5),10)-12),15),18),20),30),34),36),41)-43)}。ラット顎下腺は、生後8週に分化を完了してほぼ成熟した組織構築を示すに至り、終末部は、ごくまれに認められる粘液性細胞^{14),24)}を除いて、ただ一種の分泌細胞である漿粘液性細胞のみから構成されると信じられてきた^{9),12),15),33)}。一方 Zajicek ら⁴⁰⁾は、介在部導管細胞が腺房細胞と顆粒管細胞に分化することにより急速な細胞の更新がおこなわれる renewing cell populations であるとした。また Denny ら⁸⁾は、成熟雌性マウス顎下腺の立体再構築像から、先端部分に終末部を持たない blind intercalated duct の存在を指摘し、終末部の新生あるいは退化消失の過程にあるものであろうと考察した。そして終末部の新生は、blind intercalated duct の先端に顆粒性介在部導管細胞が腺房様構造を形成し、これが漿粘液性細胞に分化することにより行われるとした。しかし、彼らの説には基本的に重要ないくつかの疑問点が残されている。Zajicek らの主張には、ヒト顎下腺やラット舌下腺にみられる半月をもつ終末部の2種類の分泌細胞の更新についての確な説明がなされていない。一方 Denny らの説では、顆粒性介在部導管を持たない雄性マウス顎下腺^{3),13)}での終末部新生の説明が不可能である。本研究は、唾液腺の成長発育ならびに終末部分泌細胞更新のメカニズムを解明することを目的として、成長発育の過程にあるラット顎下腺の終末部を、光顕、電顕ならびに三次元画像解析装置を用いて形態学的に検索した。

実験材料ならびに方法

本研究には、日本クレアより購入し、愛媛大学医学部附属動物実験施設にて継代した、生後2か月、4か月、6か月、8か月の雌雄の Sprague-Dawley 系ラットを用いた。

体重および腺重量の測定は、生後2か月、4か月、6か月、8か月の雌雄各5匹のラットをネプタールの腹腔内投与 (50mg/kg) による全身麻酔下に体重測定の後、直ちに顎下腺を摘出し腺重量の測定を行なった。なお体重ならびに腺重量の測定に用いたラットは、同腹のものが各群に同数になるように配分され、飼育は1ケージに3匹で行なった。

組織学的検索には、ホルマリン固定パラフィン包埋試料、ならびにエポキシ樹脂に包埋した試料を用いた。ホルマリン固定パラフィン包埋試料は、生後2、6、8か月の雌雄各3匹のラットから、全身麻酔下に摘出し、固定包埋の後厚さ約4 μ mのほぼ完全な連続切片を作成し、H-E染色、PAS染色の後光顕にて観察した。エポキシ樹脂包埋試料は、生後2、4、6、8か月の雌雄各10匹のラットから摘出し、 $\frac{1}{2}$ の濃度に希釈した Karnovsky¹⁷⁾の固定液中で、腺門側、中央部、末端側の3部に等分した後、各々を同固定液中にて約1mm³の小片に細切し(腺門側、中央部、末端側のそれぞれを100個の小片に分割)、同液で2時間の浸漬固定を施した後、燐酸緩衝液での洗浄を経て、2% 燐酸緩衝オスミウム酸溶液²¹⁾にて2時間の後固定を行ない、脱水、置換を経て、エポキシ樹脂に包埋することにより作成した。エポキシ樹脂包埋準超薄切片は、各群より無作為に選んだ10個のブロックより、各々1枚ずつ作製し、トルイジンブルー染色の後光顕観察を行い、新しい型の分泌細胞を含む終末部の出現頻度を、性別、月齢別、部位別に算定した。また得られた結果のカイの二乗検定あるいは比率の差の検定を行い、有意差の有無を確認した。

またエポキシ樹脂包埋ブロックのいくつかについては、厚さ約0.5 μ mの準超薄連続切片を作製し、4枚ごとに写真撮影の後、これを終末部、介在部導管、顆粒管

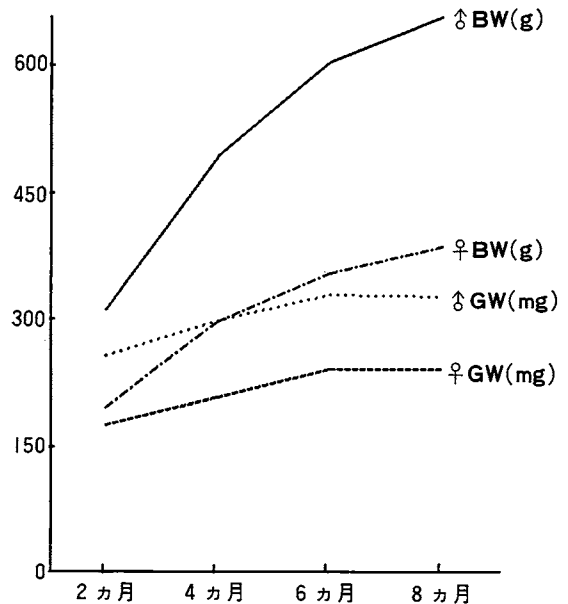


図1 生後2か月から8か月に至る雌雄のラットの体重 (BW) ならびに腺重量 (GW) の変化。

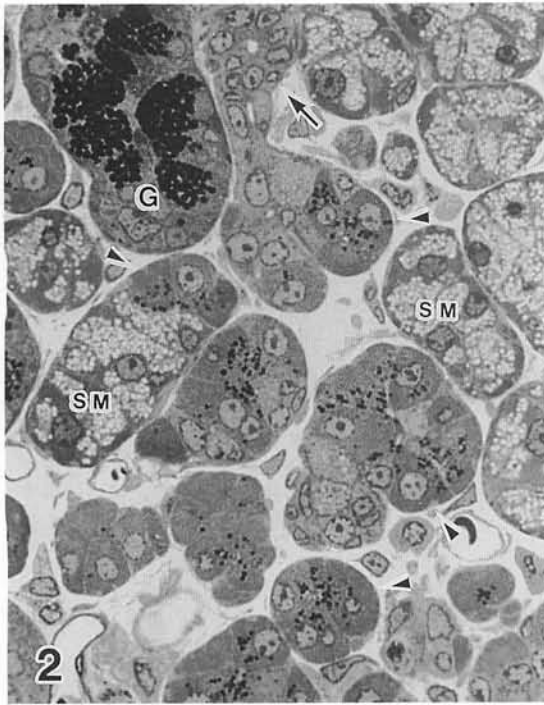


図2 ラット顎下腺 (生後4か月, 雌)。
 小型の濃染する顆粒をもったⅢ型細胞はいくつかが集合して、純性の終末部あるいは漿粘液性細胞とともに混合性の終末部を形成している。
 G: 顆粒管。↑大: 介在部導管。
 ▲: Ⅲ型細胞。SM: 漿粘液性細胞。
 トルイジンブルー染色。×570

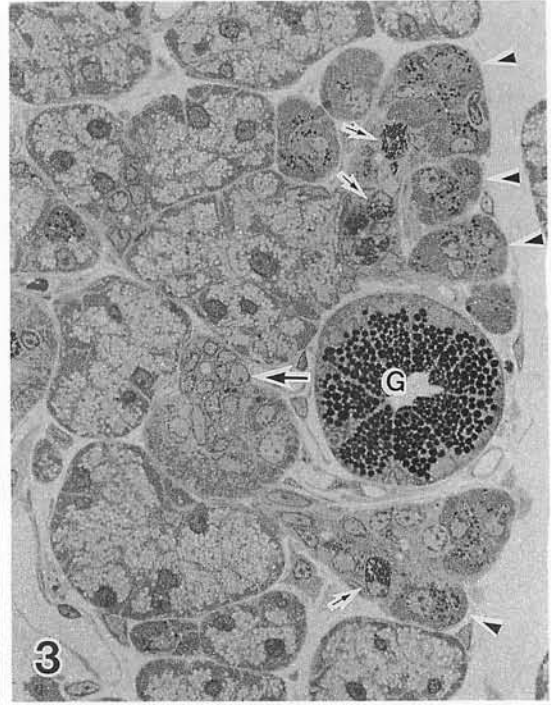


図3 ラット顎下腺 (生後6か月, 雌)。
 顆粒性介在部導管細胞はⅢ型細胞と比較してより多数の顆粒を含有し、核はより基底側に偏在する。
 G: 顆粒管。↑大: 介在部導管。
 ↑小: 顆粒性介在部導管。
 ▲: Ⅲ型細胞。トルイジンブルー染色。×490

に分類し、各成分ごとに色分けして三次元画像解析装置 (Tri system. Ratoc) に入力し、立体像の観察ならびにデータの解析を行った。

電顕観察は、光顕観察を行ったエポキシ樹脂包埋ブロックのいくつかにつき超薄切片を作成し、酢酸ウラン³⁵⁾およびクエン酸鉛³⁹⁾による二重染色を施した後、日立 H-800 型透過電顕にて観察を行った。

結 果

1. 体重および腺重量の変化

体重は生後2か月から生後8か月まで明らかな増加を示したが、その増加の割合は加齢とともに低下した。一方腺重量は、生後2か月から生後6か月まで増加を続けたが、生後6か月以降は明らかな増加を示さず、生後6か月までとそれ以降で腺の成長発育に差異があることを示した (図1)。

2. 形態学的所見

今回観察した生後2か月から8か月に至るいずれのラットにおいても、大多数の終末部は漿粘液性細胞のみにより構成されていたが (図2, 3), 今回観察した試料の一部に、漿粘液性細胞や粘液性細胞とは明らかに異なる、第3の型の分泌細胞を含有する終末部の存在が示された。この新たに発見された第3の型の分泌細胞 (Ⅲ型細胞) を含む終末部の形態学的所見ならびに成長発育過程について観察した。

1) 光学顕微鏡所見

Ⅲ型細胞は、トルイジンブルー染色準超薄切片では濃染する中等量の分泌顆粒を持つ細胞として認められた。これらはいくつかが集合してⅢ型細胞のみよりなる純性の終末部、あるいは漿粘液性細胞とともに混合性の終末部を形成していた (図2, 3)。分泌顆粒の大きさは、直径約1 μmで、顆粒管の分泌顆粒の1/2以下と明らかに小さかった。個々の細胞の大きさは、漿粘液性細胞よりやや小さく、核は、大きさはほぼ同等であったが、染色

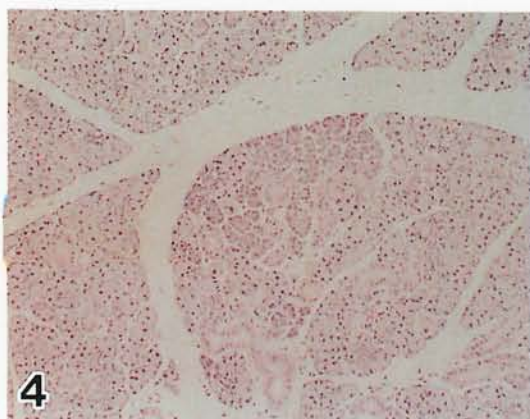


図4 ラット顎下腺（生後2か月，雌）の光顕像。Ⅲ型細胞は特定の小葉にのみ認められ，小葉内では辺縁部に限局し集団として存在している。H-E 染色。×80

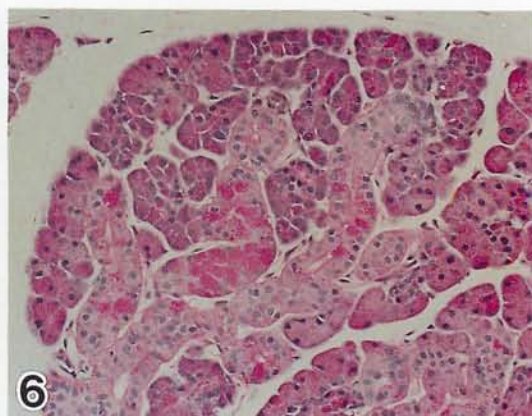


図6 ラット顎下腺（生後2か月，雌）の光顕像。Ⅲ型細胞は漿粘液性細胞と比較して細胞質がヘマトキシリンに強く染色され，核は明調である。PAS 染色像。×160

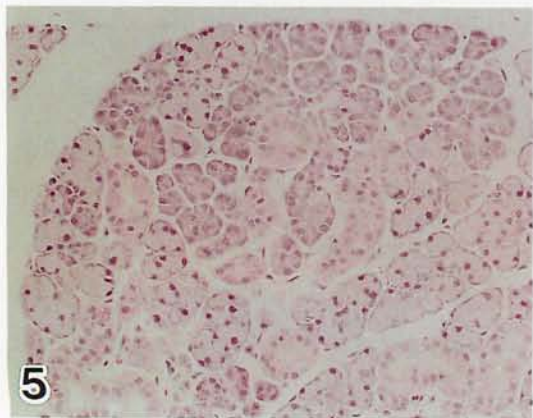


図5 ラット顎下腺（生後2か月，雌）の光顕像。Ⅲ型細胞は漿粘液性細胞と比較して細胞質が赤紫色に強く染色され，核は明調である。H-E 染色。×160

性は漿粘液性細胞より明調であった。介在部導管細胞との比較では，細胞質が明らかに大きく（図2，3），また顆粒性介在部導管細胞との比較では，細胞質が大きいこと，含有する分泌顆粒が少ないこと，核がより中央部に存在することにより，鑑別は容易であった（図3）。

H-E 染色標本では，漿粘液性細胞の泡立ったように見える細胞質に比較して，Ⅲ型細胞は赤紫色に強く染まっており，核の染色性でもトルイジンブルー染色標本におけると同様，明調であり，漿粘液性細胞と容易に鑑別できた（図4，5）。また連続切片による腺全体の観察から，Ⅲ型細胞は腺全体に分散することはなく，一定の小葉にのみ認められた。小葉内では，Ⅲ型細胞含有終

末部は集団として認められ，これらの集団の多くは小葉の辺縁部に限局していた（図4）。

PAS 染色標本ではⅢ型細胞の細胞質は，漿粘液性細胞と比較して，よりヘマトキシリンに濃染し，核の染色性では漿粘液性のもより明調であった（図6）。

2) 透過電顕所見

Ⅲ型細胞は，細胞の中央部あるいはやや基底側に局在するほぼ円形の核を有し，基底側細胞質中には粗面小胞体の発達が顕著で，それらの間にミトコンドリアが散在していた（図7）。腺腔側細胞質中には，よく発達したゴルジ装置と直径約1 μm の分泌顆粒が認められたが，これらは基底側細胞質中にも珍しくはなかった（図7）。分泌顆粒の微細構造は，細胞によりあるいは同一細胞でも顆粒により異なり，電子密度の高い均質なものから微細な亜構造を有するものまで，多彩な像を呈していた（図7，8，9）。最も頻繁に認められたのは，電子密度の高い基質中に明るい斑点状あるいは細糸状の亜構造を持つものであった（図8，9）。隣接腺細胞間には，著明な細胞間嵌合（図10）および細胞間分泌細管（図7）が存在し，desmosome も多数認められた。腺腔ならびに分泌細管付近にはよく発達した細胞間接着複合体が存在しており，腺腔および分泌細管の microvilli もよく発達していた（図11）。これらの結果はいずれも，Ⅲ型細胞が漿液性の分泌細胞であることを示すものである。また漿粘液性細胞では殆ど認められない2核を有するⅢ型細胞も時折認められた（図12）。Ⅲ型細胞を含む終末部に，Ⅲ型細胞とは明らかに異なる第4の型の新しい分泌細胞（Ⅳ型細胞）が認められた。この細胞は，Ⅲ型細胞

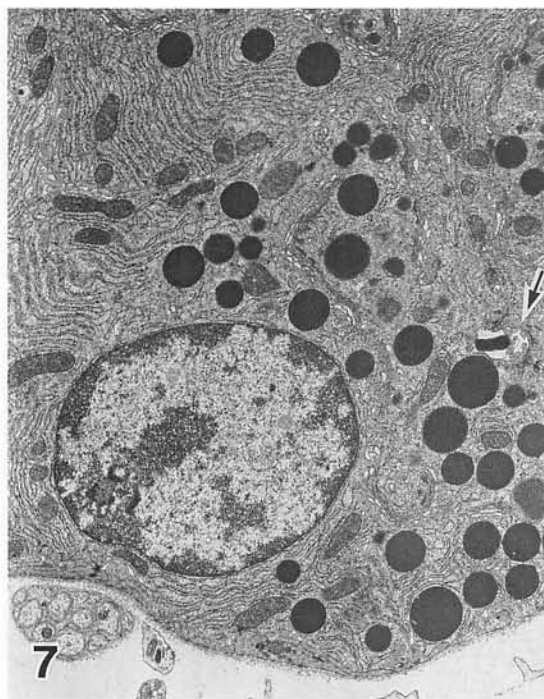


図7 III型細胞を含む終末部(生後4か月, 雌)の電顕像。核は丸く, 粗面小胞体, ゴルジ装置の発達が良い。分泌顆粒は高電子密度でほぼ均質にみえる。
↑: 細胞間分泌細管。×6540



図8 III型細胞の分泌顆粒(生後4か月, 雌)の電顕像。分泌顆粒は斑点状あるいは細糸状の垂構造を有する。
M: 筋上皮細胞。×8540

胞と混在することを特徴としており, 細胞質中には明らかな限界膜を有する円形の電子密度の低い分泌顆粒をもち, III型細胞のそれと明瞭に区別された。また漿粘液性細胞の分泌顆粒にみられる癒合像を示すことはなかった(図13)。また時折, 辺縁部の電子密度が高く中心部の電子密度がやや低い分泌顆粒を持つ, III型細胞とIV型細胞の中間的な細胞も認められた(図14)。

3) III型細胞の出現頻度

表1は, 生後2, 4, 6, 8か月の雌雄各群10匹のラットについて, 腺門側, 中央部, 末端側に等分した顎下腺から無作為に選んだ各々10個のブロックのうち, その切片にIII型細胞がみられたブロックの各群の総数および匹数を示したものである。生後2か月で, 総数600個のブロックのうち54個に認められていたものが, 生後4か月には22個, 生後6か月には8個と減少しており, 匹数でも同様の傾向が示された。一方, 生後8か月では, 600個のブロックのうち7個, 匹数では, 20匹中7匹と, 生後6か月のものとほとんど差がなかった。また, いずれ

の時期にも明らかな性差は認められなかった。表2は, III型細胞の見られたブロック数を部位別に示したものである。III型細胞はいずれの時期においても腺門側で最も多く認められた。

4) 準超薄連続切片所見

準超薄連続切片を作成することより, III型細胞を有する407個の終末部について全体像を観察した。漿粘液性細胞を含まない純性の終末部が347個, 85%, 漿粘液性細胞との混合性終末部が60個, 15%で, 純性のものが多く見られた。なお月齢別での検索でも同様の結果が見られた(表3)。混合性の終末部におけるIII型細胞, IV型細胞, 漿粘液性細胞の構成比はさまざまであった。これらのうち, 純性の終末部はほぼ球形をしており, 直径が30 μm ~60 μm で, その構成細胞数は終末部の大きさにより異なり, 10個~30個であった。一方, 混合性終末部のうち, 漿粘液性細胞の占める割合の低いものは, 直径約60 μm でほぼ球形を呈するものから管状のものまでさまざまであり, 漿粘液性細胞の占める割合が高くなるにつれ管状のものが増加する傾向を示した。これらの終

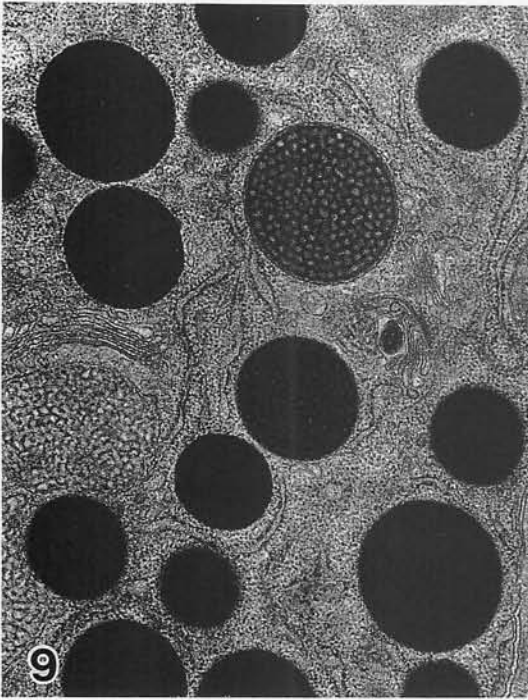


図9 III型細胞の分泌顆粒(生後4か月, 雄)の電顕像。分泌顆粒は、多様な形態を示す。×20430

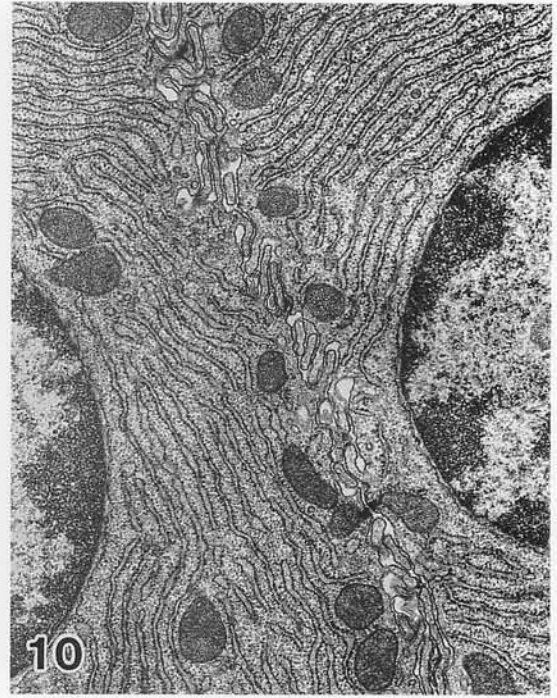


図10 III型細胞の隣接細胞間の細胞間嵌合。いずれの細胞にもよく発達した粗面小胞体が認められる。(生後4か月, 雌) ×15260

末部の構成細胞数は30~40個程度であった。一方、漿粘液性細胞のみで構成される終末部は明らかな管状を呈し、構成細胞数は、混合性の大きなものと同程度であった。これらの終末部は、それぞれの介在部導管が合流することにより最終的に一本の顆粒管へと集合していた。本報告では、この終末部、介在部導管、顆粒管からなる単位を、“終末部一導管系複合体”あるいは単に“複合体”と呼称する。

なお、介在部導管の終末部側に存在する顆粒性介在部導管細胞は、その末端に通常の漿粘液性細胞のみからなる終末部を持つものにおいても、またIII型細胞を含有する終末部を持つものにおいても、生後2か月では数が少なく、生後6か月では頻繁に認められた(図3)。

5) 終末部一導管系複合体の立体再構築ならびに画像解析所見

表4は、III型細胞が最も頻繁に観察された生後2か月雌の準超薄連続切片の一部から、終末部がIII型細胞およびIV型細胞のみからなり、通常認められる漿粘液性細胞をまったく含まない終末部一導管系複合体(複合体A)、III型細胞、IV型細胞、漿粘液性細胞が様々な比率で混じっ

た混合性の終末部をもつ終末部一導管系複合体(複合体B, C, D)、通常の漿粘液性細胞のみからなる終末部だけを有する終末部一導管系複合体(複合体E)の立体再構築を行い、画像解析により各複合体における各種細胞の占める体積をあらわしたものである。なお複合体Fは生後6か月雌から得た通常の終末部のみからなる終末部一導管系複合体である。

終末部がIII型細胞、IV型細胞のみからなる複合体A、および終末部に漿粘液性細胞を少量含む複合体Bの介在部導管の体積は、それぞれ $76.1 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ 、 $78.0 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ と他の複合体のものより発達がよかった。一方、漿粘液性細胞の体積がIII型細胞の2倍以上である複合体C、複合体Dではそれぞれ $15.2 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ 、 $14.1 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ と介在部導管の占める体積は小さかった。終末部が通常の漿粘液性細胞のみからなる生後6か月の複合体Fの介在部導管の体積は、 $28.4 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ で、生後2か月の複合体Eの介在部導管の体積 $42.0 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ より少ないが、顆粒性介在部導管の体積 $13.6 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ を合計するとほぼ同等であった。終末部の大半をIII型細胞が占め、漿粘液性細胞が少量存在する複合体Bの分泌細

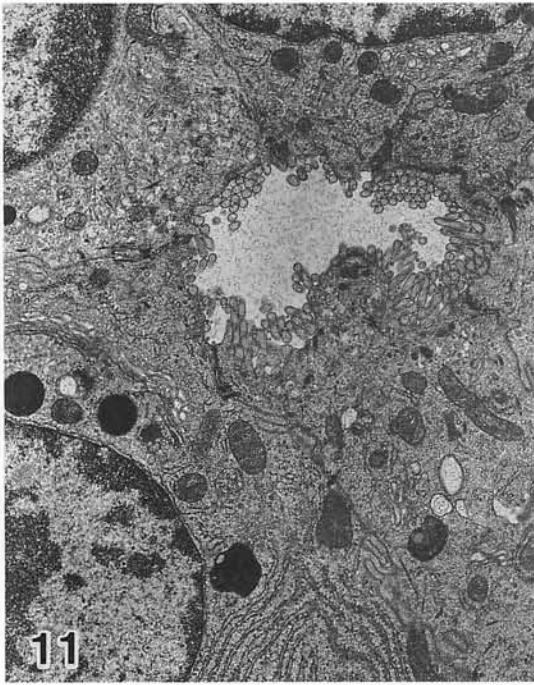


図11 Ⅲ型細胞の腺腔の電顕像（生後4か月，雌）。多数の microvilli が認められ，隣接細胞間にはよく発達した接着複合体が存在する。×9150

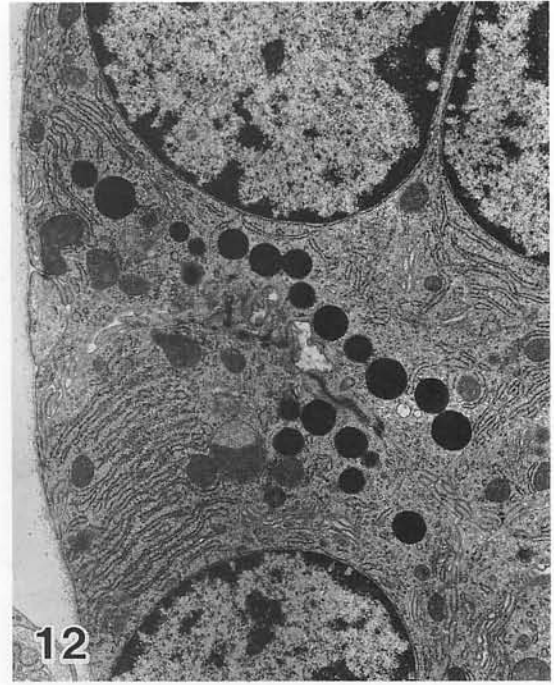


図12 Ⅲ型細胞を含む終末部（生後2か月，雌）の電顕像。2核を有するⅢ型細胞が存在する。×6790

胞の体積の合計は、 $563.3 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ で、他のⅢ型細胞を含む複合体（複合体 A, C, D）の分泌細胞の合計が、 $420 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ 前後であるのに比較して大きかった。Ⅳ型細胞の体積も複合体 B は、 $32.2 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ で、複合体 A, 複合体 C, 複合体 D が、それぞれ $8.4 \times 10^3 \mu\text{m}^3$, $9.3 \times 10^3 \mu\text{m}^3$, $4.8 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ であるのに比較して大きかった。

表5は各複合体の終末部数を算定したものであるが、Ⅲ型細胞の占める割合の高い複合体 A ならびに複合体 B は、それぞれ24個、25個と終末部数が多く、漿粘液性細胞とⅢ型細胞がともに大量に存在する複合体 C, 複合体 D, 終末部が漿粘液性細胞のみで構成される複合体 E, 複合体 F では、8個、10個、8個、9個と終末部数は少数であった。

図15は、立体再構築を行った各複合体の表画像で、青はⅢ型細胞、緑はⅣ型細胞、黄は漿粘液性細胞、紫は介在部導管、赤紫は顆粒管を示す。これらの図は各複合体の終末部を構成する細胞の割合が様々であることを明らかに示した。図15cは複合体 C のものであるが、この複合体は、Ⅲ型細胞と漿粘液性細胞を共に大量に含有していた。混合性終末部では、Ⅲ型細胞と漿粘液性細胞の中

間に、緑で示すⅣ型細胞が認められた。図16aは図15cからⅢ型細胞を消去したもので、図16bは図15cから漿粘液性細胞を消去し、半透過像で示したものであるが、青で示すⅢ型細胞が紫の介在部導管から離れた遠位端に、黄で示す漿粘液性細胞が介在部導管側に、そして、緑で示すⅣ型細胞が両者の中間に存在することを明瞭に示した。図16cはⅢ型細胞および漿粘液性細胞を消去したものであるが、介在部導管の発達がよくないことが示された。なお今回観察した、混合性の終末部を含まないこれらの複合体においても、Ⅲ型細胞が終末部の遠位端に、漿粘液性細胞が介在部導管側に、そしてⅣ型細胞が、これら両者の中間に位置していた。

考 察

ラット顎下腺は、他の唾液腺と同様終末部および導管系よりなる。この腺の終末部は、従来漿粘液性の分泌細胞のみからなるものとされてきたが^{25),31),45)}、近年少数ながら粘液性細胞も存在することが明らかにされ^{14),24)}、ヒト、イヌ、サルなどの顎下腺と同様混合性であることが示された。一方導管系は介在部導管、線条部導管、排泄

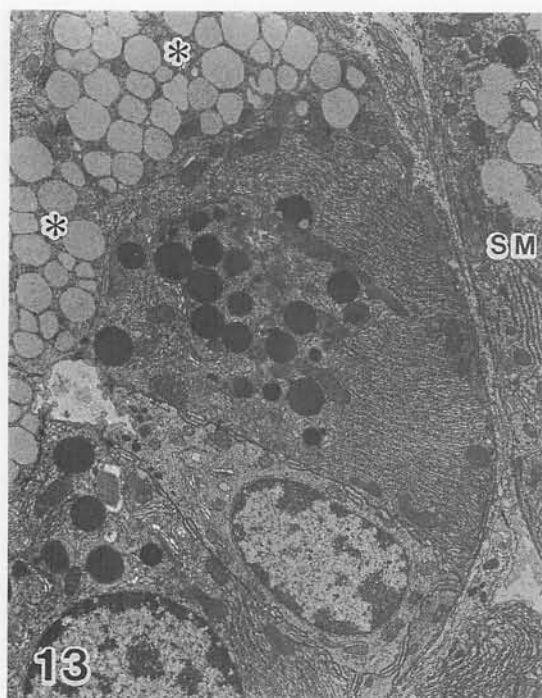


図13 ラット顎下腺（生後4か月，雌）の電顕像。IV型細胞（*）の分泌顆粒は電子密度が低く，癒合像は認められない。SM：漿粘液性細胞。×5260

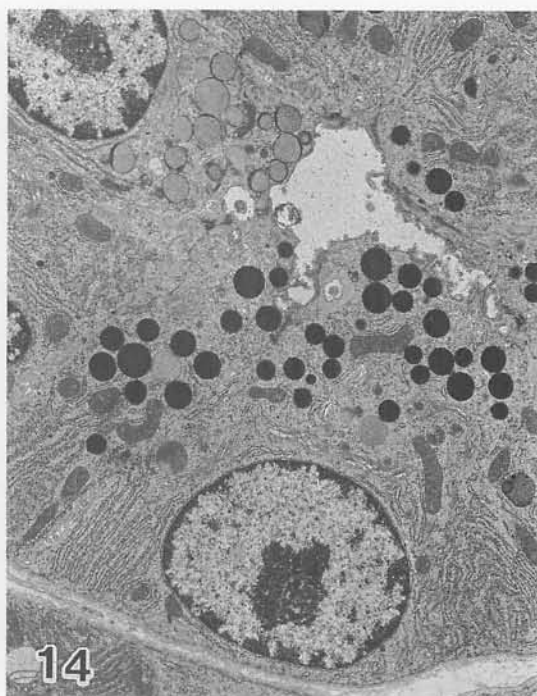


図14 III型細胞を含む終末部（生後2か月，雌）の電顕像。左上方の細胞は辺縁部の電子密度が高く中心部の電子密度がやや低い分泌顆粒をもつ。×4810

表1 生後月齢によるIII型細胞の見られたブロック数および匹数

	ブロック数		匹数	
	♂	♀	♂	♀
生後2か月	$\frac{23}{300}$	54 600	$\frac{10}{10}$	20 20
	$\frac{31}{300}$		$\frac{10}{10}$	
生後4か月	$\frac{12}{300}$	22 600	$\frac{7}{10}$	13 20
	$\frac{10}{300}$		$\frac{6}{10}$	
生後6か月	$\frac{3}{300}$	8 600	$\frac{3}{10}$	6 20
	$\frac{5}{300}$		$\frac{3}{10}$	
生後8か月	$\frac{3}{300}$	7 600	$\frac{3}{10}$	7 20
	$\frac{4}{300}$		$\frac{4}{10}$	

(* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, NS : not significant)

導管よりなるが、ラット顎下腺にはこれらに加えて、線条部導管の介在部導管側および介在部導管の終末部側に分泌顆粒を持つ導管が存在し、それぞれ顆粒管および顆粒性介在部導管^{3),13),26),28)}と呼ばれており、これらの存在が嚙歯類顎下腺の特徴とされている^{25),31),45)}。一方、本研究において、ラット顎下腺の終末部に、上記のいずれにも属さない新しい型の分泌細胞が存在することが明らかとなった。なおこの細胞は分泌顆粒の電子密度が高いこと、粗面小胞体の発達が顕著であること、隣接腺細胞間に細胞間分泌細管を持つことなどから、形態学的には漿液性の細胞であることが強く示唆されたが、分泌物の化学的性状が明らかでない現段階では断定をさけ、漿粘液性細胞および粘液性細胞^{14),24)}に続く第3の型の分泌細胞“III型細胞”として報告した。

発育分化の過程にある出生前後のラット顎下腺は、終末小管と呼ばれる未熟な終末部をもつ^{15),20)}。この終末小管には固有の漿粘液性細胞の他に電子密度の高い均質な分泌顆粒をもつ終末小管細胞と、多様な亜構造を示す分泌顆粒を持つ proacinar cell と呼ばれる細胞が存在する^{4),10),41)}、この様な終末小管では、漿粘液性細胞が終末

表2 部位別でのⅢ型細胞の見られたブロック数

	生後2か月	生後4か月	生後6か月	生後8か月	計
腺門側	43/200	15/200	6/200	4/200	68/800
中央部	6/200	5/200	2/200	2/200	15/800
末端側	5/200	2/200	0/200	1/200	8/800

表3 各月齢におけるⅢ型細胞含有終末部の構成細胞による分類

	生後2か月	生後4か月	生後6か月	生後8か月	計
純性	124 (83%)	94 (86%)	70 (84%)	59 (89%)	347 (85%)
混合性	25 (17%)	15 (14%)	13 (16%)	7 (11%)	60 (15%)
計	149	109	83	66	407

$\chi^2 = 1.51$ 。()内は各月齢での純性、混合性終末部の割合を示す。

純性：漿粘液性細胞の存在しない終末部。

混合性：漿粘液性細胞の存在する終末部。

表4 各複合体におけるⅢ型細胞、Ⅳ型細胞、漿粘液性細胞、介在部導管細胞、顆粒性介在部導管細胞の占める体積(単位： $\times 10^3 \mu m^3$)

	複合体A	複合体B	複合体C	複合体D	複合体E	複合体F
Ⅲ型細胞	412.8	507.2	126.9	120.5	—	—
Ⅳ型細胞	8.4	32.2	9.3	4.8	—	—
漿粘液性分泌細胞	—	23.9	284.3	295.9	590.9	523.3
計	421.2	563.3	420.5	421.2	590.9	523.3
介在部導管細胞	76.1	78.0	15.2	14.1	42.0	28.4
顆粒性介在部導管細胞	—	—	—	—	—	13.6
計	76.1	78.0	15.2	14.1	42.0	42.0

表5 各複合体に存在する終末部の数

	複合体A	複合体B	複合体C	複合体D	複合体E	複合体F
純性	24	19	4	7		
混合性		6	4	3		
漿粘液性					8	9
計	24	25	8	10	8	9

純性：漿粘液性細胞を含まない終末部。

混合性：漿粘液性細胞を含む終末部。

漿粘液性：漿粘液性細胞のみで構成される終末部。

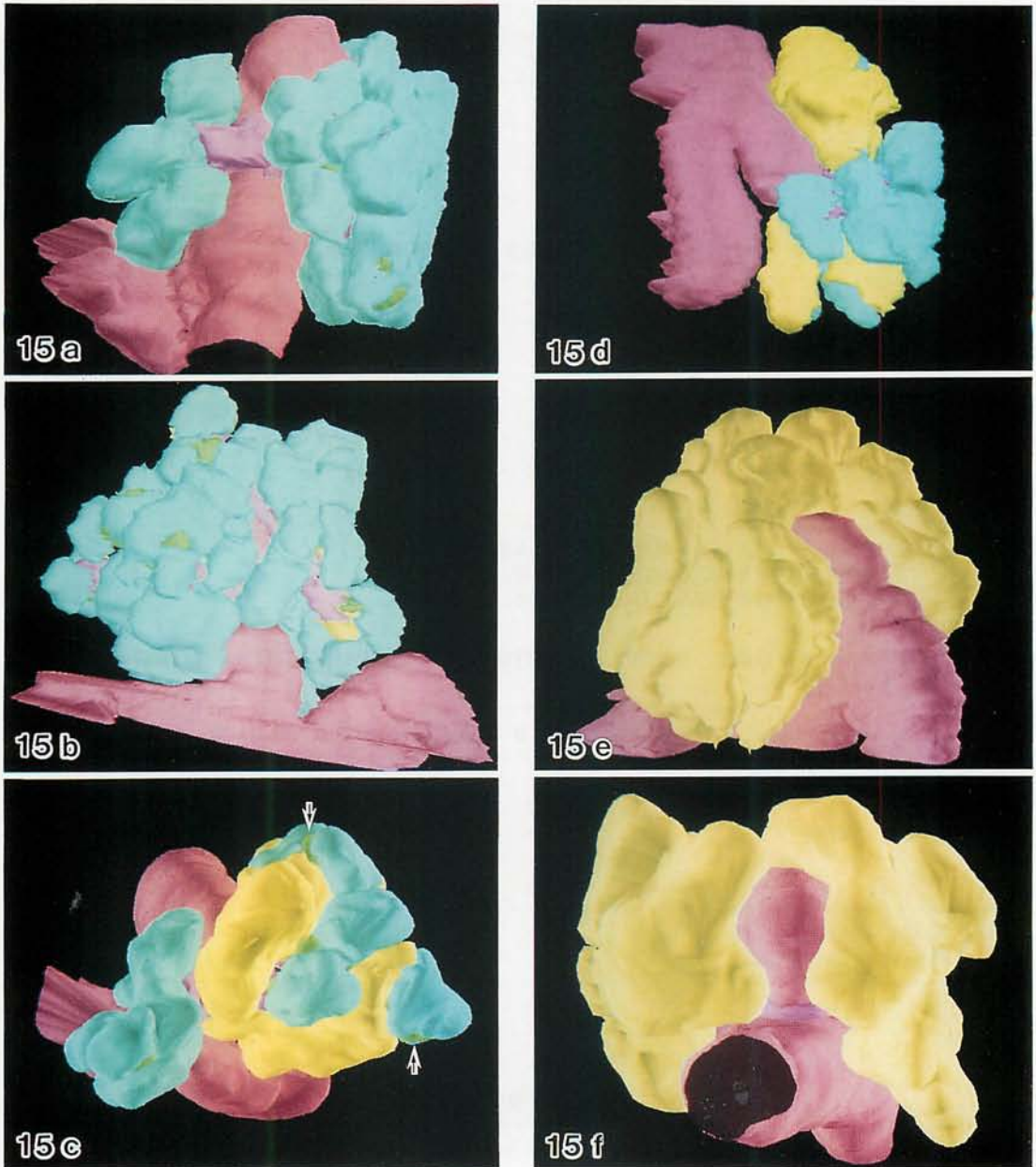


図15 各複合体の表面像。

青：Ⅲ型細胞，緑：Ⅳ型細胞，黄：漿液性細胞，紫：介在部導管，赤紫：顆粒管，白：腺腔および管腔。

- a：複合体 A（生後 2 か月，雌）。Ⅲ型細胞よりなる終末部の小さい集団と大きい集団が介在部導管を介してつながる。終末部の一部にⅣ型細胞が認められる。
- b：複合体 B（生後 2 か月，雌）。Ⅲ型細胞からなる終末部が多数認められる。終末部の一部の介在部導管側に漿液性細胞，Ⅳ型細胞が認められる。
- c：複合体 C（生後 2 か月，雌）。↑は漿液性細胞とⅢ型細胞の中間に存在するⅣ型細胞を示す。
- d：複合体 D（生後 2 か月，雌）。Ⅲ型細胞，漿液性細胞ともに大量に存在する。
- e：複合体 E（生後 2 か月，雌）。漿液性細胞からなる終末部の集団が顆粒管を包む様に存在する。
- f：複合体 F（生後 6 か月，雌）。漿液性細胞からなる終末部の集団が二組認められる。

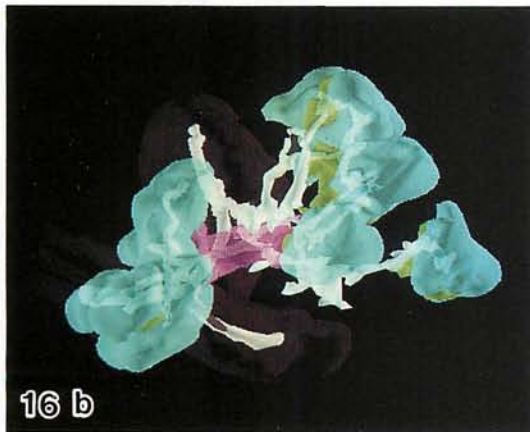
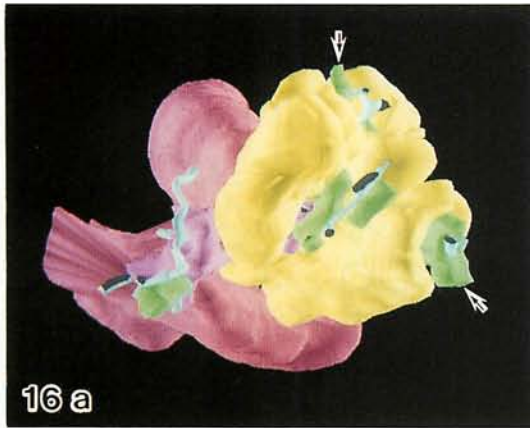


図16 複合体C (生後2か月, 雌)。
 青: III型細胞, 緑: IV型細胞, 黄: 漿粘性細胞, 紫: 介在部導管, 赤紫: 顆粒管, 白: 腺腔および管腔。
 a: 15c から III型細胞を消去。漿粘性細胞はIV型細胞(↑)の介在部導管側に存在する。
 b: 15c から漿粘性細胞を消去したものの半透過像。III型細胞はIV型細胞の遠位端に存在する。
 c: 16b から III型細胞を消去。介在部導管の発達は不良である。図16a, 16b との比較によりIV型細胞が漿粘性細胞とIII型細胞の中間に位置することが明らかである。

小管細胞の周辺に出芽の形で出現し^{4),11),12),15),20)}, 漿粘性細胞が増加すると, 終末小管細胞は, 終末小管の中心部でしかも介在部導管寄りに限局されることが知られている^{1),4),20),41)}。これらの未熟な終末部中にみられる細胞とIII型細胞との間には, 粗面小胞体などの細胞内小器官の発達の程度や顆粒の微細構造などにいくつかの形態的共通点がみられるが, III型細胞および漿粘性細胞を含む混合性の終末部では, III型細胞が介在部導管から離れた遠位端に, 漿粘性細胞が介在部導管側に存在することが示された。この事実は, III型細胞を含む終末部が終末小管とは明らかに異なるものであることを示している。

腺重量測定の結果は, ラット顎下腺が生後2か月以降も成長発育を続け, 生後6か月頃ほぼこれを完了することを示した。一方III型細胞含有終末部は, 顎下腺が成長発育を続ける生後2か月から生後6か月にかけて, 出現頻度は徐々に低下するものの, 腺成長のほぼ完了する生後6か月以降に比べると高い値を示した。これは, III型細胞含有終末部がこの腺の成長発育に関与するものであ

ることを強く示唆する。

本研究では, 漿粘性細胞, III型細胞, IV型細胞がそれぞれ異なった形態的特徴を示す分泌顆粒を有することを明らかにした。分泌顆粒の形態は分泌物の性状を反映したものであることが知られており^{25),31),45)}, これらの細胞がそれぞれ異なった分泌物を産生するものであることを示している。また本研究でみられたIII型細胞の分泌顆粒の形態的多様性についても同様なことがいえるが, 分泌顆粒の形態の差異の間には一定の連続性をみることができ, これらの細胞のそれぞれが, 分化のある一時期の像を示すものであることが推測される。さらに形態の異なる様々な分泌顆粒を同時に含有する細胞の存在は, これを強く支持する。すなわちIII型細胞は, 分泌顆粒の形態物特徴から推測して, 電子密度の高い均質な分泌顆粒をもつものが, 微細な亜構造をもつ分泌顆粒を有する細胞, 次いで辺縁部のみが高電子密度の顆粒をもつ細胞を経て, 電子密度の低い均質な顆粒をもつIV型細胞へと変化し, ついにはその顆粒が癒合像を示す漿粘性細胞になることが示唆される。終末部一導管系複合体の立体再構築像は, III型細胞が介在部導管から離れた遠位端に, 漿

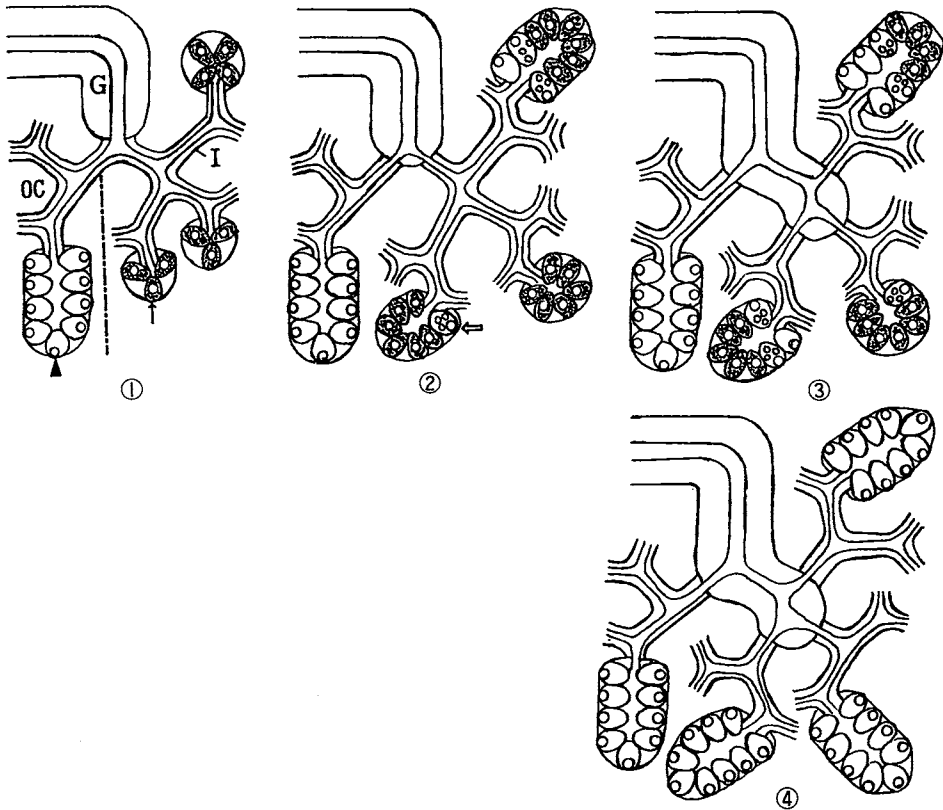


図17 複合体の新生を示す模式図

① 介在部導管の出芽、分岐。

Ⅲ型細胞よりなる終末部の形成。

② 介在部導管の発達。Ⅲ型細胞の増殖。

Ⅲ型細胞→Ⅳ型細胞→漿粘液性細胞への分化開始（介在部導管側より）。

③ 介在部導管から顆粒管への分化による複合体の分割。

④ すべてのⅢ型細胞が漿粘液性細胞になり新しい複合体の形成完了。

G：顆粒管，I：介在部導管，↑：Ⅲ型細胞，介：Ⅳ型細胞，▲：漿粘液性細胞，OC：終末部が漿粘液性細胞のみからなる既存の複合体。

粘液性細胞が介在部導管側に、そしてⅣ型細胞が両者の中間に存在することを示した。この事実もまたⅢ型細胞がⅣ型細胞を経て漿粘液性細胞に分化することを示唆している。

各複合体における終末部数、介在部導管の発達程度、終末部の体積、終末部の構成細胞比などの差異から、今回観察した複合体A、B、C、D、E、F相互の興味深い関係が導かれる。すなわち、終末部がⅢ型細胞、Ⅳ型細胞のみからなる複合体A、および終末部に漿粘液性細胞を少量含む複合体Bは、介在部導管の発達がよいこと、また複合体Bは、漿粘液性細胞の体積がⅢ型細胞の2倍以上である複合体C、複合体Dに比較して、分

泌細胞ならびに介在部導管の体積の合計が共に大きいこと、さらには、複合体A、複合体Bは、終末部数が、他の複合体の2～3倍であることから考えて、複合体Aが成長して複合体Bになること、複合体Bの介在部導管が順次顆粒管に分化し、これに伴って介在部導管が短くなり、ついには複合体が2～3個の新たな複合体に分割され、その結果複合体C、Dが形成されること、またこの間にⅢ型細胞が漿粘液性細胞に分化し、最終的に通常のラット顎下腺にみられる複合体Eが形成されることが強く示唆される（図17）。つまりラット顎下腺における新しい終末部の形成は、Dennyら⁹⁾の指摘したその先端に終末部を持たないblind intercalated ductの

存在などから考えて、未熟な細胞からなる介在部導管の出芽に始まり、これがいくつかに分岐した後それぞれの末端にⅢ型細胞からなる終末部が形成され、その後最初に出芽した介在部導管が顆粒管へと分化するとともに、Ⅲ型細胞が介在部導管側からⅣ型細胞を経て順次漿液性細胞へと分化し、その結果通常認められる一般的な複合体が形成されるものと考えられる(図17)。またH-E染色、あるいはPAS染色連続切片より、Ⅲ型細胞はある一定の小葉に限局して存在することから、上記の過程が繰り返されることにより新しい小葉が形成され、腺の成長発育が続けられるものと推測される。しかも、Ⅲ型細胞の大半が腺門部に近い部位に存在していることからして、主な成長発育部位は腺門部付近にあることが推測される。

Ⅲ型細胞を含有する終末部は、ほぼ成長の終わった生後6か月以降も一定して存在することが明らかとなったが、これは成長の完了した腺においても新しい複合体の形成がなされ、それとともに古い複合体が退化消失することにより、複合体の更新がなされることを示している。

本研究で観察した合計407個のⅢ型細胞含有終末部のうち、347個、85%が漿液性細胞を含まない純性の終末部であり、その構成細胞数は10~30個で終末部の大きさにより異なっていた。一方約40個の細胞からなる混合性の終末部は、60個、15%に過ぎなかった。この所見は、第一にⅢ型細胞含有終末部が通常の漿液性終末部に分化するための、各過程に要する期間を示している。すなわち、純性の終末部の成長発育にはかなりの期間を要するが、成長を完了した純性の終末部が混合性の終末部を経て漿液性の終末部に分化する過程は速やかに進行すると考えられる。第二に、Ⅲ型細胞の漿液性細胞への分化は、純性の終末部の成長がほぼ完了した後開始されることを示している。

Dennyら⁹⁾は、介在部導管細胞が顆粒性介在部導管細胞を経て腺房細胞に分化することを報告した。この分化過程は、顆粒性介在部導管細胞よりなる腺房様構造が作られ、これが通常の腺房へと分化することによらし、マウス顎下腺終末部の細胞の更新は、既存の終末部における介在部導管から終末部に向かう細胞の流れに伴う細胞の入れ替えとならんで、終末部自体の入れ替えもあることを指摘した。しかしながら、今回の観察は、介在部導管の出芽により形成される新たな終末部が、顆粒性介在部導管細胞とは別のⅢ型細胞により構成されることを明らかに示した。また顆粒性介在部導管細胞はⅢ型細胞を含む複合体、終末部が漿液性細胞のみで構成される複合体とともに、Sashimaら²⁰⁾の指摘のごとく、生後2か月から生後6か月にかけて増加し、Ⅲ型細胞の出現頻度

の加齢に伴う変化とは逆の傾向を示した。また顆粒性介在部導管細胞の出現頻度には明らかな性差があり、雌に多く認められることも指摘されている²⁶⁾。これらのことから、顆粒性介在部導管細胞は、ラット顎下腺の成長に直接かわからないことが示唆される。Dennyら⁹⁾はマウス顎下腺を観察しており、動物の違いによることも考えられなくはないが、彼らは観察した細胞の形態的特徴を詳細に示しておらず、彼らが報告した顆粒性介在部導管細胞の一部は、我々の提唱したⅢ型細胞であるかも知れない。

ヒト顎下腺³⁷⁾やラット舌下腺^{19),27)}のような2種類の分泌細胞をもつ混合腺は、その末端に漿液性半月を有する終末部を持つ。ラット顎下腺がrenewing cell populationsであり、介在部導管細胞の分裂により増殖した細胞が順次終末部側に移動し、その過程で腺房細胞への分化を行い、ついには終末部末端で脱落消失することにより終末部分泌細胞の更新が行われるとするZajicekら⁴⁰⁾の説に従うなら、漿液性半月細胞は粘液性細胞を経て形成されなければならないが、これを示す形態学的根拠はない。一方、本研究で得た結果に基づけば、漿液性半月をもつ混合性終末部の形成を容易に説明することができる。すなわち、新たに出芽した介在部導管の末端に、ラット顎下腺のⅢ型細胞に相当する漿液性細胞のみからなる終末部が形成され、その後新生された終末部の介在部導管側の細胞が粘液性細胞に分化し、漿液性半月を持つ混合性の終末部が形成されると推測される。ヒト顎下腺は、漿液性半月および粘液性細胞からなる混合性の終末部の他に、純漿液性の終末部をもつ混合腺であることが知られている³⁷⁾が、混合性の終末部は純漿液性の終末部を経て作られるのであろう。

結 論

唾液腺の成長発育機構を解明することを目的として、生後2か月から8か月に至るラット顎下腺を光顕、電顕、ならびに三次元画像解析装置を用いて形態学的に検索し、以下の結果を得た。

- 1) 腺重量は生後6か月まで増加し、この間の腺の成長発育を示した。また漿液性細胞の形態的特徴を有する分泌細胞を含む終末部の存在を明らかにし、この分泌細胞をⅢ型細胞として報告した。
- 2) Ⅲ型細胞の出現頻度は、腺門部付近で高く、性差を示さず、また加齢に伴って明らかな低下を示した。
- 3) Ⅲ型細胞を含む終末部は、腺全体に散在することなく一定の小葉にのみ存在し、集団を形成する傾向を強く示した。
- 4) Ⅲ型細胞を含む終末部は、Ⅲ型細胞のみからなる小

型のものから、通常の漿粘液性細胞と種々の割合で混合された大型のものまで様々であり、一部に漿粘液性細胞とⅢ型細胞の中間的な形態的特徴をもつⅣ型細胞を含有するものも認められた。

5) Ⅲ型細胞、Ⅳ型細胞および漿粘液性細胞を含む終末部—導管系複合体の立体再構築像は、Ⅲ型細胞が終末部の末端に、通常の漿粘液性細胞が介在部導管側に、Ⅳ型細胞が両者の中間に位置することを示すとともに、Ⅲ型細胞のみからなる純性の終末部が混合性の終末部を経て、通常の漿粘液性終末部に分化することを示した。

以上の所見より、ラット顎下腺ではほぼ成熟した組織構築を示す生後2か月以降も終末部の新生がなされており、この新生は新たな介在部導管の出芽に始まり、その末端にⅢ型細胞からなる終末部が形成され、その後Ⅲ型細胞が介在部導管側から順にⅣ型細胞を経て通常認められる漿粘液性細胞に分化することによると考えられた。さらには上記の過程が繰り返されることにより、新しい小葉が形成され腺の成長が行われるが、この成長の中心は腺門部付近にあることが示唆された。また生後6か月以降も一定の割合で終末部の更新がなされていることが示された。

謝 辞

御校閲御指導を賜りました谷岡博昭教授に対し深謝の意を表します。また本研究の遂行をはじめ、形態学の基本から日々御指導御鞭撻を賜りました長門俊一先生に対し心より感謝致します。

なお本研究の一部は、文部省科学研究費補助金(平成3年度奨励研究A, 課題番号03771537)の御援助をいただいた。

文 献

- Alvares, E.P. and Sesso, A.: Cell proliferation, differentiation and transformation in the rat submandibular gland during early postnatal growth. A quantitative and morphological study. *Arch. Histol. Jap.*, **38**: 177—208, 1975.
- Boshell, J.L. and Pennington, C.: Histological observations on the effects of isoproterenol on regenerating submandibular glands of the rat. *Cell Tissue Res.*, **213**: 411—416, 1980.
- Caramia, F.: Ultrastructure of mouse submaxillary gland. *Ultrastruct. Res.*, **16**: 505—523, 1966.
- Chang, W.W.L.: Cell population changes during acinus formation in the postnatal rat submandibular gland. *Anat. Rec.*, **178**: 187—202, 1973.
- Cutler, L.S. and Chaudhry, A.P.: Cyto-differentiation of the acinar cells of the rat submandibular gland. *Develop. Biol.*, **41**: 31—41, 1974.
- Cutler, L.S. and Chaudhry, A.P.: Cyto-differentiation of striated duct cells and secretory cells of convoluted granular tubules of the rat submandibular gland. *Am. J. Anat.*, **143**: 201—218, 1975.
- Dardick, I., Byard, R.W. and Carnegie, J.A.: A review of the proliferative capacity of major salivary glands and the relationship to current concepts of neoplasia in salivary glands. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, **69**: 53—67, 1990.
- Denny, P.C., Chai, Y., Pimprapaiporn, W., et al.: Three-dimensional reconstruction of adult female mouse submandibular gland secretory structures. *Anat. Rec.*, **226**: 489—500, 1990.
- Devi, N.S. and Jacoby, F.: The submaxillary gland of the golden hamster and its post-natal development. *J. Anat. (Lond.)*, **100**: 269—285, 1966.
- Dvorak, M.: The secretory cells of the submaxillary gland in the perinatal period of development in the rat. *Z. Zellforsch.*, **99**: 346—356, 1969.
- Fukuda, M.: Histochemical studies on the rat submaxillary gland during post-natal development. *Histochemie.*, **8**: 342—354, 1967.
- Gresik, E.W.: Postnatal developmental changes in submandibular glands of rats and mice. *J. Histochem. Cytochem.*, **28**: 860—870, 1980.
- Gresik, E.W. and MacRae, E.K.: The postnatal development of the sexually dimorphic duct system and of amylase activity in the submandibular glands of mice. *Cell Tissue Res.*, **157**: 411—422, 1975.
- Hatakeyama, S., Sashima, M., et al.: A sexual dimorphism of mucos cells in the submandibular salivary gland of rat. *Archs. oral. Biol.*, **32**: 689—693, 1987.
- Jacoby, F. and Leeson, C.R.: The post-natal development of the rat submaxillary gland. *J. Anat.*, **93**: 201—216, 1959.
- Jayasinghe, N.R., Cope, G.H. and Jacob, S.: Mor-

- phometric studies on the development and sexual dimorphism of the submandibular gland of the mouse. *J. Anat.*, **172**: 115-127, 1990.
17. Karnovsky, M.J.: A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, **27**: 137A, 1965.
 18. Kim, S.K., Han, S.S., Nasjlet, C.E., et al.: The fine structure of secretory granules in submandibular glands of the rat during early postnatal development. *Anat. Rec.*, **168**: 463 - 476, 1970.
 19. Leeson, C.R. and Booth, W.G.: Histological, histochemical, and electron-microscopic observations on the postnatal development of the major sublingual gland of the rat. *J. Dent. Res.*, **40**: 838-845, 1961.
 20. Leeson, C.R. and Jacoby, F.: An electron microscopic study of the rat submaxillary gland during its post-natal development and in the adult. *J. Anat.*, **93**: 287-295, 1959.
 21. Millonig, G.: Advantages of a phosphate buffer for OsO₄ solutions in fixation. *J. Appl. Physics.*, **32**: 1636, 1961.
 22. Moral, H.: Über die ersten Entwicklungsstadien der Glandula submaxillaris. *Z. Anat. Entwickl-Gesch (Anat Heft).*, **47**: 277 - 382, 1913a.
 23. Moral, H.: Über die ersten Entwicklungsstadien der Glandula parotis. *Z. Anat. Entwickl-Gesch (Anat Heft).*, **47**: 383-491, 1913b.
 24. 長門俊一, 永木正実, 松本悟一, 他: ラット顎下腺の分化に関する形態的研究—生後発生の過程にみられた2, 3の知見について—. *口科誌*, **37**: 527-539, 1988.
 25. Pinkstaff, C.A.: The cytology of salivary glands. *Int. Rev. Cyto.*, **63**: 141-261, 1980.
 26. Qwarnström, E.E. and Hand, A.R.: A granular cell at the acinar-intercalated duct junction of the rat submandibular gland. *Anat. Rec.*, **206**: 181-187, 1983.
 27. Redman, R.S. and Ball, W.D.: Cytodifferentiation of secretory cells in the sublingual gland of the prenatal rat. A histological, histochemical and ultrastructural study. *Am. J. Anat.*, **153**: 367-390, 1978.
 28. Sashima, M., Hatakeyama, S., Sato, M., et al.: Age-related changes of the granular intercalated duct cells of male rat submandibular gland. *Archs. oral Biol.*, **33**: 71-73, 1988.
 29. Satow, Y., Okamoto, N., Ikeda, T., et al.: Observations by electron microscope of the submaxillary glands of human fetuses and newborns. *Hiroshima J. Med. Sci.*, **18**: 233-246, 1969.
 30. 佐藤一芳: ラット顎下腺終末部の発達と交感神経支配の関係について, *歯基礎誌*, **24**: 496-515, 1982.
 31. Shackelford, J.M. and Wilborn, W.H.: Structural and histochemical diversity in mammalian salivary glands. *Ala. J. Med. Sci.*, **5**: 180-203, 1968.
 32. Srinivasan, R. and Chang, W.W.L.: The postnatal development of the submandibular gland of the mouse. *Cell tissue Res.*, **198**: 363-371, 1979.
 33. Srinivasan, R. and Chang, W.W.L.: The development of the granular convoluted duct in the rat submandibular gland. *Anat. Rec.*, **182**: 29-40, 1975.
 34. Srivastava, H.C.: Development of acinar cells in the rat submandibular gland. *J. Anat.*, **123**: 459-465, 1977.
 35. Stempac, J.A. and Ward, R.T.: An improved staining method for electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **22**: 697-701, 1964.
 36. Strum, J.M.: Unusual peroxidase-positive granules in the developing rat submaxillary gland. *J. Cell Biol.*, **51**: 575-579, 1971.
 37. Ten Cate, A.R.: Oral histology. Development, structure, and function. 3rd ed. 312-340, C.V. Mosby. Co., ST. Louis, Baltimore, Toronto, 1989.
 38. Thoma, K.H.: A contribution to the knowledge of the development of the submaxillary and sublingual salivary glands in human embryos. *J. Dent. Res.*, **1**: 118-143, 1919.
 39. Venable, J.H. and Coggeshall, R.: A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **28**(No. 2, Pt1): 407-408, 1965.
 40. Yaku, Y.: Ultrastructural studies on the development of human fetal salivary glands. *Arch. his-*

- tol. jap., 46: 677—690, 1983.
41. Yamashina, S. and Barka, T.: Localization of peroxidase activity in the developing submandibular gland of normal and isoproterenol-treated rats. *J. Histochem. Cytochem.*, 20: 855—872, 1972.
 42. Yamashina, S. and Barka, T.: Development of endogenous peroxidase in fetal rat submandibular gland. *J. Histochem. Cytochem.*, 21: 42—50, 1973.
 43. Yamashina, S. and Mizuhira, V.: Postnatal development of acinar cells in rat submandibular gland as revealed by electron microscopic staining for carbohydrates. *Am. J. Anat.*, 146: 211—236, 1976.
 44. Yohro, T.: Development of secretory units of mouse submandibular gland. *Z. Zellforsch.*, 110: 173—184, 1970.
 45. Young, J.A. and Van Lennep, E.W.: The morphology of salivary glands. 1st ed. Academic Press. London, New York, San Francisco, 1978. pp. 1—155.
 46. Zajicek, G., Yagil, C. and Michaeli, Y.: The streaming submandibular gland. *Anat. Rec.*, 213: 150—158, 1985.