ヒト胎児声門下腔粘膜上皮の電顕的研究

酒井 昇, 末永 通
田中 克彦, 寺山 吉彦

Electron Microscopic Study on the Subglottic Mucosa in Human Fetuses

Noboru Sakai, M.D., Tohru Suenaga, M.D.,

Katsuhiko Tanaka, M.D., and Yoshihiko Terayama, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo

The differentiation of the subglottic mucosa in human fetuses has been studied only by light microscopy. We observed for the first time the development of human subglottic mucosa from the 8th to the 21st week of gestation by scanning as well as transmission electron microscopies, and could obtain the following conclusions:

1. Ciliated cells and goblet cells appeared at the 12th week of gestation that was similar to the previous reports, and the detailed cytodifferentiation of both cells could be observed.
2. We could demonstrate for the first time that primary cilia appeared in the subglottic mucosa at the 10th week of gestation. Among these primary cilia, very long ones were observed and were supposed to be the grown forms of short primary cilia.
3. Glycogen granules in non-ciliated cells were observed in parallel with the cell differentiation, so they were seemed to be the source of energy necessary for the cell differentiation.

Key words : human fetuses, subglottic mucosa, electron microscopy,
cytodifferentiation

I. 緒 言

声門下腔粘膜上皮は成人の場合、多列線毛円柱上皮とされている。ところでヒト胎児の声門下腔粘膜上皮の分化過程に関してはこれまで勝谷¹⁾, 横手²⁾, 井上³⁾らにより光顕的観察が行われているが、超微形態学的研究は行われていない。今回われわれは胎齢8週より21週までのヒト胎児の声門下腔粘膜上皮を走査型および透過型電顕で観察し、若干の知見を得たので報告する。

II. 研究材料および方法

観察材料は、死後4時間以内の人工流産によって得られたヒト胎児7例である。それらの胎齢は、8, 10, 12, 14, 16, 18, 21週で、胎齢の決定は頂尾長を基にした(表1)。頸部より喉頭を摘出し、3%パラフォルムアルデヒド-0.5%グルタルアルデヒド混合液に2~3時間固定した後、等張磷酸緩衝液で約10分間洗浄した。

表1 対象例の胎齢と頂尾長

胎 齢 (週)	8	10	12	14	16	18	21
頂 尾 長 (mm)	30	55	82	114	136	158	200

北海道大学医学部耳鼻咽喉科学教室
別刷請求: 〒060 北海道札幌市北区北15条西7丁目
北海道大学医学部耳鼻咽喉科学教室
酒井 昇
投稿受付: 1988年11月24日

図1 胎齢10週声門下腔粘膜上皮
PC: primary cilia, G: グリコーゲン顆粒(3200倍)

次いで喉頭より声門下部を採取して正中で半切し、それぞれを走査型と透過型電顕用の試料とした。後固定は1%オスミウム酸1時間とし、系列アセトンで脱水後、透過型電顕試料はケトール651に包埋した。LKB ultratomeにより薄切し、トルイジンブルー染色後光顕的に観察し、さらにダイヤモンドナイフによる超薄切片を硝酸鉛と酢酸ウラニールの二重染色を施して、日立電子顕微鏡 HU12A で観察した。走査型電顕試料は前述の操作で固定・脱水後、酢酸イソアミールで置換し臨界点乾燥後金蒸着し走査電顕(日立製 S-450)で観察した。なお観察部位は甲状軟骨下端の高さで側面中央部附近の粘膜上皮とした。

III. 成 績

1. 胎齢8週および10週

上皮は約2層の立方状細胞からなり、上皮基底層には明瞭な基底膜の形成がみられる。各細胞は細胞内小器官の発達はわずかで、細胞質内に多量のグリコーゲン顆粒を含む未熟な形態を示す。胎齢10週の上皮の一部には primary cilium を有する細胞が認められる(図1)。Primary cilia を走査電顕でみると、非常に長いもの(約6 μ)から短いもの(約1.5 μ)まで混在していた。細胞表面は平坦で多数の短い mi-

図2 胎齢10週声門下腔粘膜上皮
LPC: 長い primary cilia, SPC: 短い primary cilia, MV: microvilli, MP: microplicae

crovilli と少数の microplicae がみられる(図2)。

2. 胎齢12週および14週

上皮層は多列円柱上皮よりなり、primary cilia は完全に消失し代りにこの時期に初めて少数の線毛細胞の出現がみられる。線毛細胞は線毛の密度が少なく、表面に比較的長い microvilli を有している。またミトコンドリアなどの細胞内小器官は未発達であるが、グリコーゲン顆粒が認められないのが特徴的であった。無線毛細胞はやや成熟しグリコーゲン顆粒は減少している(図3)。上皮表層の細胞の中には、細胞表面に長い microvilli を有し、細胞質内に数個の中心子を含むものがみられる。この細胞にはグリコーゲン顆粒は認められない(図4)。上皮の一部には核上部に典型的な分泌顆粒を有する杯細胞の出現が初めて認められる。杯細胞の表面には microvilli, 細胞質内には粗面小胞体が多数みられる(図5)。

3. 胎齢16週, 18週および21週

上皮層は背の高い多列円柱上皮となり、線毛細胞や杯細胞は漸次増加する。線毛細胞は線毛が密生し、その表層には mucous blanket が存在する。杯細胞の中には分泌顆粒がなく、細胞質が暗調を呈するものが認められる。無線毛細胞にはグリコーゲン顆粒は認められない(図6)。

図3 胎齡12週声門下腔粘膜上皮
CC: 線毛細胞, G: グリコーゲン顆粒 (1200倍)

図5 胎齡12週声門下腔粘膜上皮
MV: microvilli, SG: 分泌顆粒 (9000倍)

図4 胎齡12週声門下腔粘膜上皮
MV: microvilli, C: 中心子 (9000倍)

図6 胎齡16週声門下腔粘膜上皮
MB: mucous blanket, GC: 杯細胞, SG: 分泌顆粒 (1500倍)

IV. 総括

ヒト胎児声門下腔粘膜上皮について経時的に走査型と透過型電顕で観察した結果, 以下に要約する所見を得た。

1. 線毛細胞は胎齡12週で初めて認められ, 以後胎齡とともに漸次増加した。
2. Primary cilia は胎齡10週においてのみみられた。
3. 杯細胞は胎齡12週より出現し, それ以降漸次増加した。
4. 無線毛細胞のグリコーゲン顆粒は胎齡とともに漸減し, 胎齡16週以後は認められなくなった。

表2 各所見の経時的推移

	胎 齡 (週)						
	8	10	12	14	16	18	21
線 毛 細 胞							
primary cilia							
杯 細 胞							
グリコーゲン顆粒							

5. 以上の経時的变化についてまとめたのが表2である。

V. 考 按

1. 線毛細胞について

ヒト胎児声門下腔粘膜上皮における線毛細胞の出現時期については、光顕的に勝谷¹⁾が胎齢11週、横手²⁾が12週、井土³⁾が14週であると述べている。今回の観察からもほぼ同様の胎齢12週において、幼若ながらも線毛細胞の出現がみられた。線毛の形成過程に関しては、中心子の分化に始まり次第にそれらが細胞表面に集まって、基底小体に移行して線毛の出芽となることが明らかにされている。われわれの観察でも線毛発生に先行して、数個の中心子が細胞自由表面下に集積し、基底小体に移行する像が認められ、従来の報告と同様の線毛発生過程を示す所見が得られた。胎齢16週においては線毛の先端に mucous blanket が認められ、すでにこの時期から線毛運動が開始されていることが推測される。この点に関して大橋⁶⁾は、胎生期家兎の気管および鼻中隔粘膜上皮で胎齢26日以後線毛運動がみられると述べており、ヒト胎児声門下腔粘膜上皮でも線毛運動が行われていることが示唆される。

2. Primary cilia について

胎生期気道粘膜における primary cilia は、従来線毛細胞に先行して一時的にみられるとされている。この現象はヒト胎児で、村上⁸⁾が下甲介粘膜、酒井⁹⁾は気管粘膜においてそれぞれみられたと報告している。ところで、ヒト胎児声門下腔粘膜に primary cilia が出現するか否かについては、これまでのところ報告されていない。今回の観察から胎齢10週において、声門下腔粘膜にも primary cilia が線毛細胞の出現に先行してみられることが初めて確認できた。Primary cilia の長さは従来 2μ 以下とされているが^{7,8,10)}、今回観察した primary cilia は非常に長いもの(約 6μ) から短いもの(約 1.5μ) まで混在していた。これらの長い primary cilia については、酒井⁹⁾がヒト胎児気管粘膜において認めたとする報告があるのみである。この長い primary cilia は短い primary cilia が発達した段階のものであると推測され、またヒト以外の

動物で報告されていないのでヒトに特有のものと考えることができる。Primary cilia を有する細胞は、細胞質内に多量のグリコーゲン顆粒を含む未熟な細胞で、線毛細胞への移行現象が認められないことから、胎齢が進むにつれ消失する運命にあると考えられる。

3. 杯細胞について

胎生期の喉頭における杯細胞の出現は、従来光顕的に声門下腔が最も早く、胎齢13週でみられると報告されている²⁾。われわれの観察でもほぼ同様の胎齢12週より典型的な杯細胞を確認することができた。Kanda ら¹¹⁾はウサギの胎生期気管粘膜において、分泌顆粒を有せず細胞質が他の細胞より暗調を示す細胞を認め、これは将来の杯細胞になるもので、goblet cell precursor であると述べているが、今回の観察からも胎齢16週で同様の細胞を見出すことができた。

4. グリコーゲン顆粒について

胎生期の気道上皮細胞にグリコーゲン顆粒が多量に存在することはよく知られており、ヒト声門下腔粘膜上皮細胞に関しては、横手が、光顕的に胎齢11週より出現し胎齢15週以後はほとんど消失すると述べている。今回の観察からは線毛細胞にはグリコーゲン顆粒は認められず、それ以外の無線毛細胞の細胞質に多量のグリコーゲン顆粒が含まれているのがわかった。グリコーゲン顆粒の経時的推移をみると、胎齢8週より多量にみられ以後胎齢の増加とともに漸減し、胎齢16週以降は認められなくなった。Jordan¹²⁾は胎生期にみられるこれらのグリコーゲン顆粒の意義について、細胞の分化に必要なエネルギー源であると述べている。われわれの観察では、細胞の分化が比較的認められない時期にグリコーゲン顆粒が多く、細胞の分化が進むにつれ漸減する点を考え合わせると、Jordan の報告と同様にグリコーゲン顆粒は細胞の分化に重要な役割を果たしていることが推測される。

VI. 結 語

胎齢8週より21週までのヒト胎児声門下腔粘膜上皮の分化過程を走査型と透過型電顕で観察し、以下の結論を得た。

1. 線毛細胞の出現時期は, 従来の光顕での報告とほぼ同様の胎齢12週であることがわかった。また線毛の発育過程の詳細を電顕レベルで捉えることができた。

2. Primary cilia がヒト胎生期の声門下腔粘膜上皮においても, 胎齢10週で出現することを初めて証明することができた。Primary ciliaの中には他動物に比し非常に長いものが観察できた。

3. 杯細胞は従来の報告と同様の胎齢12週より出現することがわかった。

4. 無線毛細胞に含まれるグリコーゲン顆粒は細胞の分化に平行して減少することから, 細胞の分化に必要なエネルギー源と推測された。

文 献

- 1) 勝谷隆夫: 日本人胎児に於ける喉頭の発生学的補遺, 第1報, 正常発生. 広大医解剖第一講座業績集, 6: 53-82, 1959.
- 2) 横手貞護: 日本人喉頭及び気管の発生学的研究, 第2報, 喉頭及び気管構成組織の発達について. 長崎医誌, 17: 2588-2655, 1939.
- 3) 井土ふさ: 日本人胎児における喉頭粘膜上皮の発生について. 耳鼻臨床, 56: 341-366, 1963.
- 4) Leeson, T.S.: The development of the trachea in the rabbit, with particular reference to its fine structure. Anat. Anz., 110: 214-223, 1961.
- 5) Sorokin, S.P.: Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. J. Cell. Sci., 3: 207-230, 1968.
- 6) 大橋淑宏・他: 家兎胎生晚期気道線毛運動の特殊性に関する機能的ならびに形態学的研究. 日気食会報, 32: 422-432, 1981.
- 7) 川端五十鈴, 依田 勝: 気管粘膜上皮に見られる Primary cilia について. 耳鼻, 21: 66-67, 1975.
- 8) 村上忠也: ラットおよびヒトの胎生期における気道粘膜の分化に関する電顕的研究. 耳鼻, 25: 1022-1067, 1979.
- 9) 酒井 昇: ヒト胎児気管粘膜の電顕的研究. 日気食会報, 33: 254-271, 1982.
- 10) Kober, H.J.: Die lumenseitige Oberfläche der Rattentrachea während der Ontogenese. Z. Mikrosk. Anat. Forsch., 89: 399-409, 1975.
- 11) Kanda, T. and Hilding, D.: Development of respiratory tract cilia in fetal rabbits. Acta Otolaryngol., 65: 611-624, 1968.
- 12) Jordan, P.: Über die Bedeutung des embryonalen Glykogens insbesondere für das Wachstum. Z. Zellforsch., 6: 558-586, 1927.