研 究

ラット顎下腺の排泄管結紮による組織学的変化

河 野 嘉 彦

Effect of Duct Ligation on Rat Submandibular Salivary Gland

Yoshihiko Kohno

(Hiroshima University)

The effect of duct ligation on the submandibular salivary gland was studied in rats. Submandibular gland ducts were ligated, and the location of peroxidase activity was examined 2, 4 and 8 weeks later.

After 2 weeks secretory granules in the acinar cells were markedly decreased and the substructure was visible in the granules of some acinar cells.

After 4 weeks the acini consisted of two types of cells. One type contained granules which were occasionally seen in normal intercalated duct cells, and the other contained no secretory granules. Both types showed no peroxidase activity. Microscopically the first type corresponds to terminal tubule cells and the second type corresponds to cells which are less differentiated than proacinar cells.

After 8 weeks there was some evidence of regeneration. Reduction of the pressure in the acinar lumen may be involved in this regeneration.

Key words: submandibular gland, duct ligation, peroxidase

緒 言

ヒト唾石症は主として顎下腺にみられ、唾石が唾液の口腔への排出を障害することにより摂食時に顎下腺の疼痛および腫脹を引き起こす疾患である。病理組織学的変化としては、腺房細胞の萎縮と導管様構造の増加および結合組織の増生と、リンパ球を中心とした炎症細胞の間質への浸潤が見られ、また電顕的には腺房細胞の分泌顆粒の減少などの変化、導管様構造の微細変化などが報告されている¹⁾。しかし、唾石症における唾液腺組織の経時的な形態学的変化をヒトでとらえることは困難であり、これに関す

る報告は実験動物を用いたものに限られている。実験的唾液腺排泄管閉塞はマウス^{2)~4)}、ラット⁵⁾、モルモット⁶⁾、イヌ⁷⁾、ネコ⁸⁾、ウサギ⁹⁾などで光顕的、生化学的に、また電顕的にはTamarin¹⁰⁾によりラット顎下腺排泄管結紮による微細形態の経時的変化が詳細に報告されている。しかし、これらの報告の中でも、腺房細胞の変性像および再生像の有無に関しては意見が分かれている。また、正常および発生過程におけるラット顎下腺内因性ペルオキシダーゼの局在に関する報告はあるが、排泄管結紮後に内因性ペルオキシダーゼの局在を検討した報告は見

当たらない

本研究では顎下腺排泄管を結紮した唾石症モデルラットを用いて、顎下腺排泄管結紮による腺房細胞の経時的变化を、主として内因性ペルオキシダーゼの局在を指標として組織学的に検討した。

材料と方法

実験には6週齢のウィスター系雄ラット9匹を使用し、各々3匹の三群に分けた。

ネンブタール麻酔下に頸部を剃毛し、1%塩酸リドカインにより局所麻酔した後、頸部皮膚を正中で切開した。鈍的あるいは鋭的に右顎下腺排泄管を露出し、腺体付近で4-0絹糸により結紮した。左顎下腺は無処置対照とした。

顎下腺排泄管結紮後2週(第一群)、4週(第二群)および8週(第三群)に以下の方法で試料を作製し、観察を行なった。

ネンブタール麻酔下に1/2強度のKarnovsky液¹¹⁾で左心室より灌流固定し、両側顎下腺を摘出し重量を測定した。結紮側の対照側に対する重量の比を百分率で求め、平均値をその群の値とした。摘出した顎下腺の一部を通常のパラフィン包埋、薄切の後、ヘマトキシリン-エオジン(以下H.E.と略す)染色および過ヨウ素酸シッフ(以下PASと略す)染色を行ない、光学顕微鏡にて観察した。内因性ペルオキシダーゼ(以下P.O.と略す)検出のためには、GrahamとKarnovskyの方法¹²⁾に準じて試料を作製した。すなわち、残りの組織を5mm角の大きさに細切し再度1/2強度のKarnovsky液で1時間浸漬固定を行なったのち、7%スクロースを含む0.1Mカコジル酸緩衝液で30分間洗浄し、マイクロスライサー(堂阪EM社DTK-3000)で40 μ 厚切片を作製した。切片は0.05M Tris-HCl緩衝液(pH 7.6)で調整した0.05%3,3'-diaminobenzidine溶液にて室温で遮光中30分間前処理した。次いで前出の反応液に0.002%のH₂O₂を含む溶液にて室温で遮光中1時間反応させた。反応終了後0.1Mカコジル酸緩衝液で30分間洗浄した後、1%オスミウ

ム酸で1時間後固定した。続いてエタノール系列による脱水の後、常法によりエポン包埋した。これより超薄切片を作製し、一部は無染色で、他は酢酸ウランとクエン酸鉛による二重染色の後、透過型電子顕微鏡JEOL 100CX IIで観察した。また、光学顕微鏡的にP.O.の局在を観察するために1 μ 厚のエポン厚切片を作製し無染色で観察した。

これとは別に細胞間の結合状態を検索するため、とくに結紮後8週のラット2匹を用い、Luftによるルテニウムレッド染色を行なった¹³⁾。すなわち、灌流固定を行わずに顎下腺を摘出し、未固定のまま氷冷下でマイクロスライサーにより50~100 μ の厚切片を作製した。これをただちに0.05%ルテニウムレッドを含む1.2%グルタルアルデヒド(0.03Mカコジル酸緩衝液pH 7.3)で1時間固定し、次いで同緩衝液による0.05%ルテニウムレッド加1.7%オスミウム酸にて3時間固定後、エタノール系列による脱水、エポン包埋し、超薄切片を作製した。切片は無染色のまま透過型電子顕微鏡で観察した。

結 果

1. 正常(対照側)顎下腺

H.E.染色によりラット顎下腺は終末部である腺房と導管系より成り、導管系は介在部、エオジンに好染する顆粒を有する顆粒管と、基底線条を有する線条部などより成ることが観察された。PAS染色では腺房細胞および顆粒管細胞の顆粒は共に赤色に染色された(図1)。P.O.反応標本では腺房細胞の核周囲部および細胞基底部がP.O.活性強陽性を示し、一方、顆粒管細胞の顆粒を含め導管系の細胞はいずれもP.O.活性陰性であった(図2)。電顕による観察では、腺房細胞には核周囲および細胞基底部に層板状に密に発達した粗面小胞体、ポリゾームおよび多数のミトコンドリアが観察された。分泌顆粒は細胞質の腺腔側に多数見られ、その直径は1 μ 前後で低電子密度のマトリックス中に細顆粒状ないし細線維状物質を含んでいた。また明瞭な限界膜を持つ分泌顆粒は少なく、一部

図 1 正常顎下腺の PAS 染色切片の光学顕微鏡像

PAS 染色により腺房細胞と顆粒管細胞の顆粒が染色されている。
線条部には基底線条が見られる。×300

CGT : 顆粒管 SD : 線条部 A : 腺房

図 2 正常顎下腺の P.O. 反応標本の光学顕微鏡像

腺房細胞の核周囲部および細胞基底部分で P.O. 活性強陽性を示しているが、顆粒管細胞の顆粒を含め導管系の細胞はいずれも P.O. 活性陰性である。×300

CGT : 顆粒管 SD : 線条部 A : 腺房

図 3 正常顎下腺腺房細胞の P.O. 反応標本の電子顕微鏡像

腺房細胞は多数の低電子密度顆粒を有し、核周囲および細胞基底部分に層板状に密に発達した粗面小胞体、ポリゾームおよび多数のミトコンドリアが観察される。核周囲囊(→)と小胞体腔は P.O. 活性強陽性を示しているが、分泌顆粒は弱陽性ないし陰性である。

SG : 分泌顆粒 GA : ゴルジ装置 ER : 粗面小胞体 L : 腺腔
(スケール : 1 μ m)

では融合傾向も見られた。P.O. 活性は核周囲囊(核膜囊)と粗面小胞体の内腔(小胞体腔)では強陽性であったが、分泌顆粒のP.O. 活性は弱陽性ないし陰性であった(図3)。

2. 顎下腺排泄管結紮後2週(第一群)

結紮側の顎下腺は対照側に比べ肉眼的に明ら

かに萎縮し、対照側に対する重量比は48%であった。PAS 染色切片およびH.E. 染色標本では典型的な腺房はまばらとなり、一視野中に見られる腺房細胞の数は対照側に比べて減少していた。腺房細胞の多くではその細胞質が乏しく細胞質/核比は低下し、核は対照側のものに比

- 図4 顎下腺排泄管結紮後2週のPAS染色切片の光学顕微鏡像
一視野中に見られる腺房細胞の数は対照側に比べ減少している。また、PAS染色陽性の顆粒管細胞も対照側に比べ減少している。×300
CGT: 顆粒管
- 図5 顎下腺排泄管結紮後2週のP.O. 反応標本の光学顕微鏡像
P.O. 活性陽性の腺房細胞(➤)の数は対照側に比べ減少している。
➡は血球によるP.O. 活性を示す。×300
- 図6 顎下腺排泄管結紮後2週の腺房細胞のP.O. 反応標本の電子顕微鏡像
減少した細胞質内にわずかに粗面小胞体が見られる。明瞭な層板状を成す部分はごく一部であるが、そのP.O. 活性は対照側同様、なお陽性を示している。ER: 粗面小胞体 (スケール: 1 μm)

べて濃染していた。導管の内腔は拡張し、線条部では基底線条は不明瞭となった。また間質結合組織の軽度の増生が認められた。顆粒管ではPAS染色陽性の顆粒管細胞は対照側に比べ減少した(図4)。P.O. 活性陽性の腺房細胞の数も減少傾向にあった(図5)。

電顕による観察では、腺房細胞は細胞質が著明に減少し分泌顆粒のほとんど見られないものが多かった。これらの細胞では粗面小胞体の発達が悪く、典型的な層板構造を呈していなかったが、そのP.O. 活性は対照側と同様、なお陽性を示すものが多かった(図6)。一方少数の腺房細胞では比較的細胞質が保たれ、P.O. 活性陽性の粗面小胞体は層板状を呈し、分泌顆粒も多く見られたが、その顆粒は対照側に見られた顆粒とは異なり雲絮状、斑紋状などの亜構造を含むものが増加し、対照側に比べより強いP.O. 活性を示す顆粒も見られた。明瞭な限界膜を持

つ顆粒は少なく一部では融合しているものも見られた。これらの顆粒を多く含む細胞は同一腺房に属することが多かった(図7)。

3. 顎下腺排泄管結紮後4週(第二群)

結紮側の対照側に対する重量比は35%とさらに減少していた。

導管は内腔が非常に拡張し、上皮細胞の丈は対照側に比べ低くなっていた。腺房も腺腔が拡張し、PAS染色陽性の腺房細胞は少数見られたが、P.O. 活性陽性を示す腺房細胞はほとんど認められなかった(図8, 9)。電顕による観察では、腺房を構成する細胞は顆粒を持つ細胞と顆粒を持たない細胞が大部分を占め、いずれもP.O. 活性陰性であった。顆粒を持つ細胞は顆粒を持たない細胞の近位側に位置していることが多かった。一部の腺房では核が濃縮し、細胞質が淡明化し、細胞内小器官の消失したいわゆる変性細胞が認められた(図10)。分泌顆粒を

図7 顎下腺排泄管結紮後2週の腺房細胞のP.O. 反応標本の電子顕微鏡像
雲絮状、斑紋状などの亜構造を含む分泌顆粒が見られる(←)。対照側に比べより強いP.O. 活性を示す顆粒も見られる(★)。明瞭な限界膜を持つ顆粒は少なく一部では融合しているものも見られる(★)。
L: 腺腔 (スケール: 1 μ m)

持たない細胞は腺房の遠位側に位置することが多く、比較的多くのポリゾームとフィラメントを有していたがミトコンドリアは少なく、粗面小胞体も細胞質内に断片状に見られるのみであった(図11). 分泌顆粒を含む細胞の分泌顆粒は対照側腺房細胞の分泌顆粒よりも小型で、その

直径は 0.5μ 以下のものが大部分であった. それらの電子密度は均一な高電子密度を呈するものと高電子密度と低電子密度の二相性を呈するものが見られ、亜構造や融合傾向はなく、P.O. 活性も陰性であり対照側の介在部細胞の顆粒に類似していた. この細胞の粗面小胞体の発達は

- 図8 顎下腺排泄管結紮後4週のPAS染色切片の光学顕微鏡像
PAS染色陽性の腺房細胞(⇒)が少数認められる. 導管の内腔も腺腔も拡張している(➤). ×300
- 図9 顎下腺排泄管結紮後4週のP.O. 反応標本の光学顕微鏡像
腺房細胞のほとんどはP.O. 活性陰性である. ×300
- 図10 顎下腺排泄管結紮後4週の腺房のP.O. 反応標本の電子顕微鏡像
腺房は分泌顆粒を持つ細胞(★)と持たない細胞(☆)で構成されており、いずれもP.O. 活性陰性である. 核濃縮と淡明な細胞質を持つ変性細胞が見られる(⇒). (スケール: $1\mu\text{m}$)

図11 顎下腺排泄管結紮後4週の分泌顆粒を持たない腺房細胞のP.O. 反応標本の電子顕微鏡像

比較的多くのポリゾームとフィラメント(⇒)が見られるが、ミトコンドリアは少なく、まばらな粗面小胞体が断片状に見られる。(スケール:1 μ m)

図12 顎下腺排泄管結紮後4週の分泌顆粒を持つ腺房細胞のP.O. 反応標本の電子顕微鏡像

核上部にP.O. 活性陰性で、電子密度の高い均質構造を示す対照側介在部細胞の顆粒に類似した分泌顆粒(⇒)が見られる。粗面小胞体は散在し、そのP.O. 活性は陰性である(➤)。(スケール:1 μ m)

悪く、その P.O. 活性は陰性であった(図12). 一部の導管細胞では核上部に限界膜に囲まれた数個の大空胞が見られた. その内部は空虚であり、ごくわずかの膜様物の破片が認められるのみであった(図13).

4. 顎下腺排泄管結紮後 8 週(第三群)

結紮側の対照側に対する重量比は34%であった.

光顕による観察では著明に増加した間質と多くの導管様構造を認めた. 一部の腺房には PAS 染色陽性の腺房構造とともに P.O. 活性陽性の細胞が少数ながら認められた(図14, 15).

電顕による観察では、腺房の大部分は結紮後 4 週で見られた対照側介在部細胞顆粒類似の顆粒を持つ細胞と顆粒を持たない細胞より成っていた. しかし、一部の腺房には少数ながら P.O. 活性陽性の分泌顆粒を持つ細胞が見られた. この細胞の粗面小胞体は未発達ながら一部層板状を呈し、P.O. 活性も陽性を示していた(図16).

また核膜囊にも P.O. 活性が見られた. 一方、細胞間結合の変化の有無を検索するためルテニウムレッド染色を施した試料では導管の一部で閉鎖帯内にルテニウムレッドの存在が確認されその開離が示唆された(図17). 第一群, 第二群, 第三群と結紮期間が長くなるに比例して小葉間, 小葉内結合組織が増殖していたが、結合組織内に炎症細胞の浸潤はほとんど認められなかった.

考 察

ラット顎下腺は漿粘液細胞で腺房(終末部)と導管系より構成されている. 導管系は腺房に接続する介在部に始まり、顆粒管, 線条部, 小葉間導管, 排泄管へと続く. 顎下腺排泄管結紮動物での顎下腺の変化についてはこれまでに、光顕的には細胞質の減少²⁾⁴⁾⁵⁾, クロマチンの豊富な核の出現⁵⁾, 分泌顆粒の減少²⁾⁵⁾, 導管様構造の増加⁴⁾⁵⁾, 間質結合組織の増加⁵⁾ および間質への好中球をはじめとする炎症細胞浸潤⁴⁾ が、また電顕的には腺房細胞の粗面小胞体の減少とそ

図13 顎下腺排泄管結紮後 4 週の導管細胞の P.O. 反応標本の電子顕微鏡像
核上部に限界膜に囲まれた大空胞(★)が見られる. その内部は空虚であり、ごくわずかの膜様物の破片が見られる.

L : 管腔 (スケール : 1 μ m)

の変形, リボゾームの減少, ゴルジ装置の縮小, ミトコンドリアの減少と変形および高電子密度顆粒の出現などが報告されている¹⁰⁾. 今回は主としてP.O. の局在を指標とした組織化学的観察を行なったことにより, 排泄管結紮顎下腺腺房細胞の経時的变化がより明らかとなった. P.O. は種々の臓器に存在し, 特に唾液腺P.O.

は抗菌作用を有していることが知られている^{14)~21)}. また, ラットの顎下腺ではP.O. は腺房細胞の分泌顆粒, 粗面小胞体腔, 核周囲囊, リボゾームに局在するとされている²²⁾²³⁾.

顎下腺排泄管結紮後2週(第一群)に生じた変化は導管の内腔拡張, 線条部の基底線条の不明瞭化, さらに線条部の一部である顆粒管での

図14 顎下腺排泄管結紮後8週のPAS染色切片の光学顕微鏡像

腺小葉内の間質は著明に増加している. 多くの導管様の構造が見られ, その末端の所々にPAS染色陽性の腺房構造(⇒)が認められる. ×300

図15 顎下腺排泄管結紮後8週のP.O. 反応標本の光学顕微鏡像

P.O. 活性陽性の腺房細胞が少数ながら認められる(⇒). ×300

図16 顎下腺排泄管結紮後8週のP.O. 活性陽性を示す細胞の電子顕微鏡像

少数のP.O. 活性陽性の分泌顆粒(⇒)を持つ細胞が見られる. 粗面小胞体は未発達ながら一部層板状を呈し, P.O. 活性も陽性である. また核膜囊にもP.O. 活性が見られた.

N: 核 ER: 粗面小胞体 (スケール: 1 μm)

PAS 染色陽性顆粒の著しい減少などであった。線条部は唾液腺に特有の構造で、円柱上皮細胞の基底部に放射状に配列するミトコンドリアで構成される基底線条と、その間を埋める基底細胞膜の複雑な陥入によって特徴づけられ、顎下腺で最も発達している²⁴⁾。このような構造は、腎尿細管主部をはじめ、水分、塩類代謝の盛んな部位に特有のものと考えられている。すなわちこの群で見られた変化は線条部における無機イオンの再吸収や唾液の水分代謝に関する機能の低下および顆粒管における分泌機能の抑制が生じていることを示している。芝²⁵⁾はラット顎下腺と舌下腺の排泄管結紮実験で、導管のコハク酸脱水素酵素活性の低下、基底陥入の貧弱化とミトコンドリアの減少を認め、排泄管結紮の際に生じる導管細胞機能の変化としてミトコンドリアの酸化酵素の障害を推測している。また、Tamarin¹⁰⁾は顎下腺排泄管結紮後6日まで

に分泌顆粒を含む顆粒管細胞は1/500にまで減少したと報告しており、今回見られたPAS染色陽性顆粒管細胞の著明な減少という観察結果と同様であった。

多くの腺房細胞は分泌顆粒をほとんど含まず、分泌顆粒を多く含む腺房細胞は少数に過ぎなかった。顆粒を多く含む細胞では粗面小胞体のP.O.活性は陽性で、層板状に配列していたが、その分泌顆粒は対照側のものとは異なり雲絮状、斑紋状などの亜構造を含んでいるものが多く観察され、これらの顆粒の中には対照側顆粒に比べより強いP.O.活性を示すものも見られた。このような分泌顆粒の亜構造は粘液性マトリックス中に浮遊した蛋白の相対的増加によるものではないかと考えられ、結紮によりその分泌機能に何らかの変化を生じたことが推測される。一部の腺房細胞では粗面小胞体のP.O.活性は対照側と同様に陽性であるものの、層板状を成

図17 顎下腺排泄管結紮後8週の導管細胞のルテニウムレッド染色切片の電子顕微鏡像

導管の一部で閉鎖帯内にルテニウムレッドの存在(⇒)が認められ、その開離が示唆される。

L: 管腔 (スケール: 1 μ m)

すものは一部のみであった。この様な排泄管結紮後の腺房細胞の分泌機構の破壊について Harrison ら⁸⁾は、排泄管結紮によりライソゾームの増加を認め、ライソゾーム酵素活性の増加が関与しているのではないかと述べているが、今回の形態学的観察では特にライソゾームの増加といった所見は認められなかった。これらのことから結紮後2週では腺房細胞のタンパク合成能が低下し、分泌顆粒の形成も抑制されていることが推測される。顆粒の多い細胞は分泌機能低下が軽度で、顆粒をほとんど含まない細胞は分泌機能低下が著しいと考えられ、顆粒の多い細胞は同一腺房に属する傾向にあったので、排泄管結紮によって生じる分泌機能低下の程度が腺房によって異なるものと思われる。Bhaskar ら⁴⁾もマウスの顎下腺排泄管結紮により、異なった分泌機能低下の状態を表すと思われる三種類の異なる形態の腺房細胞が観察されたと報告している。また園部⁹⁾はウサギ耳下腺排泄管結紮後の組織化学的検索を行ない、いくつかの酵素の活性が経日的に低下することを示し、これらの現象は小葉中心部よりも小葉辺縁部で早く低下する傾向があったとして、小葉辺縁部の方が中心部よりもその解剖学的位置関係から排泄管結紮による組織内圧亢進の影響を受けやすいのではないかと述べている。いずれにしても排泄管結紮による影響はすべての腺房ないし腺房細胞に必ずしも同程度に現われるものではないと思われる。

顎下腺排泄管結紮後4週(第二群)になると導管の内腔は第一群よりさらに拡張し、上皮細胞の丈も減少していたが、これは導管細胞がさらに萎縮したためと考えられる。また、腺房の腺腔も拡張し、結果的に光顕での導管様構造の増加として観察された。電顕的に観察すると腺房を構成する細胞の大部分は対照側介在部細胞の顆粒に類似した高電子密度ないし二相性の顆粒を持つ介在部様細胞と、その遠位に位置する顆粒を持たない断片状の粗面小胞体を持つ細胞であり、いずれも P.O. 活性陰性であった。

Yamashina ら²⁶⁾²⁷⁾によれば、生下時のラット顎下腺は terminal tubular structure と小数の介在部、腺内導管より構成されており、terminal tubular structure は三種類の細胞で構成されている。すなわち分泌顆粒を持つ P.O. 活性陰性の terminal tubule cell と、P.O. 活性強陽性の顆粒、粗面小胞体、核膜を持つ proacinar cell および粗面小胞体と核膜 P.O. 活性陽性であるが顆粒の P.O. 活性は弱陽性ないし陰性の腺房細胞とである。そして terminal tubule cell は後に介在部細胞となり、proacinar cell は腺房細胞の前駆細胞であるとした。今回観察された介在部様細胞は P.O. 活性陰性であることと形態的類似性より terminal tubule cell と同一のものではないかと思われる。また腺房細胞の前駆細胞とされる proacinar cell は、胎生期では顆粒を持たず P.O. 活性も陰性であることが示されており²⁸⁾、今回観察された顆粒を持たず断片状の粗面小胞体を持つ P.O. 活性陰性の細胞は proacinar cell のさらに幼若な細胞ではないかと推測される。多くの種類の細胞は外傷により容易に胎生期の細胞に類似した形態をとり、脊椎動物の脱分化の所見として、分化状態での細胞外分泌物の一部あるいは完全な消失、細胞質の豊富なポリゾームの出現が挙げられている²⁹⁾。介在部様細胞と顆粒を持たず断片状の粗面小胞体を持つ P.O. 活性陰性の細胞のいずれにも成熟腺房細胞に見られるような分泌顆粒は認められず、後者では比較的豊富なポリゾームが認められており、どちらの細胞も脱分化した細胞の条件を備えている。一方、Tamarin³⁰⁾³¹⁾、佐藤³²⁾はこの介在部様細胞と同様の顆粒を持つ細胞を、排泄管結紮により腺房細胞が脱分化し、腺房細胞が幼若型としての介在部細胞へと変化したものではないかと推論しており、今回の推測とはやや異なったものとなっている。

顎下腺排泄管結紮後8週(第三群)では腺房を構成する細胞の多くは第二群と同様介在部様細胞と顆粒を持たない細胞であった。しかし、一部の腺房には P.O. 活性陽性ないし弱陽性の分

泌顆粒とP.O. 活性弱陽性の粗面小胞体を持つ細胞が見られ、幼若な細胞から成熟腺房細胞への再生過程の細胞と思われるが、今後さらに検討が必要と考える。

重量測定では第一群48%，第二群35%，第三群34%であった。排泄管結紮後4週までは対照側に対する処置側重量の比率は減少するが、それ以後は大きく変化しないものと思われる。Tamarin¹⁰⁾も結紮側と対照側の腺重量の比率を測定し、最初の18時間は増加するが、以後経時的に減少し、結紮後17日では37%となり以後は変化しないと述べている。

萎縮とは病理学的に組織ないし臓器の体積が減少した状態を示している。さらに、萎縮が構成細胞と細胞間物質の体積の減少によって生じた場合単純萎縮と呼び、構成細胞の数の減少によって生じた場合は数的萎縮と呼ぶ。また、萎縮と同時に変性を伴っている場合は変性萎縮と呼ばれる。顎下腺排泄管を結紮された顎下腺は、肉眼的に明らかにその体積を減じ萎縮に陥っていることは間違いないと思われるが、この萎縮が単純萎縮か、数的萎縮か、あるいは変性萎縮であるのかといった点については諸家の間でも意見が分かれている。Junqueira²⁾はマウスの顎下腺排泄管結紮による変化を光学顕微鏡で観察し、腺実質細胞は萎縮しているものの、変性過程は見られなかったこと、加えてテストステロンによる刺激に対する分泌機能が保たれていたことより、腺房細胞には変性は起こっていないとした。したがってJunqueiraは顎下腺排泄管による変化を単純萎縮と考えていると思われる。また芝²⁵⁾も腺房細胞の外分泌腺細胞としての基本的な細胞構成要素は保持されていることから、腺房細胞は変性ならびに壊死、消失しないのではないかと述べている。これに対し、海津³³⁾、Bhaskarら⁴⁾は腺房細胞に変性の兆候があったことを報告しており、彼らの報告からは排泄管結紮により変性萎縮が生じると考えられる。今回の研究では排泄管結紮により一視野中の腺房細胞数は明らかに減少し、腺房に変性

細胞を認めたので、腺房細胞の変性そして壊死、脱落が推測され、数的萎縮と変性萎縮の両方が生じたものと考えられる。

Junqueira³⁴⁾は光顕の観察で排泄管結紮後7日後も1年後も形態的に大きな差異はないとし、Tamarin¹⁰⁾は電顕による観察から腺房細胞の形態的变化は結紮後17日までは顕著であったが、17日以後は大きな変化を示さなかったと報告している。また、海津³³⁾も結紮後の腺の変化は腺実質の萎縮ならびに結合織の線維性増殖などいわゆる退行性変化のみで腺の再生は見られなかったと報告している。一方Bhaskarら⁴⁾はマウスの唾液腺排泄管結紮実験において約9ヵ月後に正常形態への復帰の兆しが見られたと報告している。今回の研究では排泄管結紮後2週から4週にかけて腺房細胞の分泌機能の低下、変性、壊死脱落が起こり、結紮後4週では腺房はterminal tubule cellなどの幼若と思われる細胞で占められ、結紮後8週では分泌抑制の緩和から分化再生が始まるのではないかと推測された。このことからTamarin¹⁰⁾らの報告のように排泄管結紮後の顎下腺は一定期間後に安定した恒常的な状態へ移行するのではなく、分泌抑制の緩和から非常に徐々にではあるが正常腺房へ復帰していくのではないと思われる。排泄管結紮後4週で内腔が著明に拡張した導管の上皮細胞の核上部に大型の空胞を有するものが見られたが、これは口腔へ排出できない唾液を処理する再吸収像と推測される。園部⁹⁾も耳下腺排泄管結紮後、導管の拡張とともにその部での酸性フォスファターゼ活性が増大していたことを報告しており、組織化学的にも導管細胞での貯留唾液の処理機構の活発化が推察される。また、結紮後8週でルテニウムレッド染色により示唆された導管上皮細胞の接着複合体における閉鎖帯の開離は、唾液が管腔より細胞間隙を経て間質へ漏出している可能性を推測させる。Garrettら³⁵⁾もウサギ顎下腺排泄管よりホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)を逆行性に注入し、ある圧力以上では導管細胞および腺

房細胞間への HRP の漏出を認めている。したがって排泄管結紮後 4 週以後では導管細胞からの唾液の再吸収および導管細胞間からの唾液漏出による腺腔圧の低下などが分泌抑制の緩和に関与している可能性があるものと思われる。

結 語

顎下腺排泄管結紮実験によって以下のような結果が得られた。

1) 対照側顎下腺に対する結紮側顎下腺の重量比率は排泄管結紮後 2 週(第一群)48%, 排泄管結紮後 4 週(第二群)35%, 排泄管結紮後 8 週(第三群)34%であり, 排泄管結紮後 4 週までは対照側に対する処置側重量の比率は減少するが, それ以後は大きく変化しないものと思われた。

2) 排泄管結紮顎下腺では数的萎縮と変性萎縮の両方が生じ, 腺房細胞は変性そして壊死, 脱落することが示唆された。

3) 顎下腺排泄管結紮後 2 週の腺房細胞では, 分泌顆粒の著明な減少と分泌顆粒の亜構造の存在から, 結紮により腺房細胞のタンパク合成能の低下と分泌顆粒の形成抑制を生じることが推測された。

4) 顎下腺排泄管結紮後 4 週に見られた高電子密度ないし二相性の顆粒を持つ P.O. 活性陰性の介在部様細胞と, 顆粒を持たず断片状の粗面小胞体を持つ P.O. 活性陰性の細胞は各々発生段階の terminal tubule cell と proacinar cell のさらに幼若な細胞であることが示唆された。

5) 顎下腺排泄管結紮後 8 週ではおおむね結紮後 4 週の所見と変わらなかったが, 一部に再生過程の細胞を思わせる細胞が認められた。導管細胞からの唾液の再吸収および導管細胞間からの唾液漏出などによる腺腔圧の低下が, 分泌抑制の緩和に働き分化再生が始まるのではないかと推測された。

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜りました恩師原田康夫教授に深甚なる謝意を表します。また, 絶えず御指導と御助言を頂きました田頭宣治助教授, 春日繁男研究員に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Tandler B : Ultrastructure of chronically inflamed human submandibular glands. Arch Pathol Lab Med 101 : 425~431, 1977.
- 2) Junqueira LCU : Cytological, cytochemical and biochemical observations on secreting and resting salivary glands. Exp Cell Res 2 : 327~338, 1951.
- 3) Rabinovitch M, Rothschild HA and Junqueira LCU : Nucleic phosphorus in submaxillary glands of mice after duct ligation. J Biol Chem 194 : 835~838, 1952.
- 4) Bhaskar SN, Bolden TE and Weinmann JP : Experimental obstructive adenitis in the mouse. J Dent Res 35 : 852~862, 1956.
- 5) Standish SM and Shafer WG : Serial histologic effects of rat submaxillary and sublingual salivary gland duct and blood vessel ligation. J Dent Res 36 : 866~879, 1957.
- 6) Scott GH : Studies on the submaxillary virus of guinea pigs. J Exp Med 49 : 229~236, 1929.
- 7) Zimmerman LM : Effect of ligation of the parotid ducts on the carbohydrate tolerance of normal dogs. Arch Intern Med 49 : 409~420, 1932.
- 8) Harrison JD and Garrett JR : The effects of ductal ligation on the parenchyma of salivary glands of cat studied by enzyme histochemical methods. Histochem J 8 : 35~44, 1976.
- 9) 園部英俊 : 家兎耳下腺排泄管結紮に関する実験的研究 一組織化学的検索一. 日口外誌 24 : 1091~1107, 1978.
- 10) Tamarin A : Secretory cell alterations associated with submaxillary gland duct ligation. Secretory Mechanisms of Salivary Glands (ed by Schneyer LH and Schneyer CA). pp 220~237, Academic Press, New York and London, 1967.
- 11) Karnovsky MJ : A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J Cell Biol 27 : 137, 1965.
- 12) Graham CG and Karnovsky MJ : The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney; ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14 :

- 291~302, 1966.
- 13) Luft JH : Ruthenium red and violet II ; fine structural localization in animal tissues. *Anat Rec* **171** : 369~416, 1971.
 - 14) Carlsoo B, Kumlien A and Bloom GD : A comparative histochemical study of peroxidase activity in the submandibular glands of five mammalian species including man. *Histochemie* **26** : 80~88, 1971.
 - 15) Morrison M and Steele WF : Lactoperoxidase, the peroxidase in the salivary gland. *Biology of the Mouth* (ed by Person P). pp 89~110, American Association for the Advancement of Science, Washington DC, 1968.
 - 16) Dogon IL, Kerr AC and Amdur BH : Characterization of an antibacterial factor in human parotid secretions, active against lactobacillus casei. *Arch Oral Biol* **7** : 81~99, 1962.
 - 17) Wright RC and Tramaer J : Factors influencing the activity of cheese starters ; the role of milk peroxidase. *J Dairy Res* **25** : 104~118, 1957.
 - 18) Jago GR and Morrison M : Anti-streptococcal activity of lactoperoxidase III. *Proc Soc Exp Biol Med* **111** : 585~588, 1962.
 - 19) Klebanoff SJ and Luebke RG : Antilactobacillus system of saliva ; role of salivary peroxidase. *Proc Soc Exp Biol Med* **118** : 483~486, 1965.
 - 20) Klebanoff SJ, Clem WH and Luebke RG : The peroxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide antimicrobial system. *Biochim Biophys Acta* **117** : 63~72, 1966.
 - 21) Zeldow BJ : Studies on the antibacterial action of human saliva. *J Immunol* **90** : 12~16, 1963.
 - 22) Strum JM and Karnovsky MJ : Ultrastructural localization of peroxidase in submaxillary acinar cells. *J Ultrastruct Res* **31** : 323~336, 1970.
 - 23) Novikoff AB, Beard ME, Albala A, et al : Localization of endogenous peroxidases in animal tissues. *J Microsc* **12** : 381~404, 1971.
 - 24) 市川 厚 : 電子顕微鏡による微細構造 [20] 唾液腺—II 導管系. *病態生理* **2** : 1148~1152, 1983.
 - 25) 芝 良祐 : ラット顎下腺および舌下腺における排出管結紮の影響について. *阪大歯誌* **12** : 23~33, 1967.
 - 26) 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.
 - 27) Yamashina S and Mizuhira V : Postnatal development of acinar cells in rat submandibular gland as revealed by electronmicroscopic staining for carbohydrates. *Am J Anat* **146** : 211~235, 1976.
 - 28) Yamashina S and Barka T : Development of endogenous peroxidase in fetal rat submandibular gland. *J Histochem Cytochem* **21** : 42~50, 1973.
 - 29) Hay ED : Dedifferentiation and metaplasia in vertebrate and invertebrate regeneration. *The Stability of the Differentiated State* (ed by Ursprung H). pp 85~108, Springer-Verlag, New York, 1968.
 - 30) Tamarin A : Submaxillary gland recovery from obstruction I. Overall changes and electron microscopic alterations of granular duct cells. *J Ultrastruct Res* **34** : 276~287, 1971.
 - 31) Tamarin A : Submaxillary gland recovery from obstruction II. Electron microscopic alterations of acinar cells. *J Ultrastruct Res* **34** : 288~302, 1971.
 - 32) 佐藤隆吉 : 家兎耳下腺排泄管結紮に関する実験的研究—回復過程の電顕的検索—. *日口外誌* **27** : 1721~1735, 1981.
 - 33) 海津俊樹 : 家兎耳下腺排泄管結紮に関する実験的研究. *口科誌* **19** : 20~38, 1970.
 - 34) Junqueira LCU and Rabinovitch M : Reversibility of the phenomena induced by excretory duct ligation in the rat submaxillary gland. *Tex Rep Biol Med* **12** : 94~97, 1954.
 - 35) Garrett JR and Parsons PA : Movement of horseradish peroxidase in rabbit submandibular glands after ductal injection. *Histochem J* **8** : 177~189, 1976.

(原稿受付: 平成4年8月19日
 原稿採択: 平成4年11月19日 急載
 別刷請求先: 河野嘉彦
 〒734 広島市南区宇品神田1-5-54
 県立広島病院耳鼻咽喉科)