エタノール長期摂取のラット耳下腺に及ぼす影響に 関する実験的研究

松尾雅敦

Experimental study on the effect of long-term ethanol intake on the rat parotid glands

Masaatsu MATSUO

Abstract: To elucidate the effect of long-term intake of ethanol on the parotid gland, observations of parotid glands from male Wistar Strain rats given 20% ethanol ad lib. instead of water were performed, using light and electron microscopy.

Results were as follows: (1) Under the light microscope, 3 rats (11%) demonstrated several lesions involving complete lobular units, and (2) under the electron microscope, the earliest and most consistent changes after ethanol intake were the irregular formation of microvilli and interdigitation between parenchymal cells. These were accompanied by widening of the intercellular spaces and disappearance of the basal infolding structure with severe mitochondrial alteration in striated duct cells. Tortuous proliferation of intercalated duct cells was observed after 4 months of ethanol intake.

These results suggest that the intake of ethanol leads to injury of the inter-parenchymal cell membranes and to the basal membranes of striated duct cells. Repeated degeneration and regeneration of duct cells during the repair process results in deformation of ductal structure at the level of the intercalated ducts, followed by the degeneration and subsequent atrophy of the acini.

Key words: ethanol (エタノール), parotid gland (耳下腺), rat (ラット)

緒 言

アルコールによる耳下腺の変化としては、アルコール常習者における無症候性腫大がよく知られている¹⁻⁷⁾。Borsanyi ら¹⁾はアルコール性肝硬変患者の30%に、Abelson ら²⁾は60~80%に両側性の耳下腺の腫大を認めている。耳下腺腫大の原因は腺房細胞の肥大や間質における脂肪蓄積などで、導管には変化がみられないとする報告や^{3,4)}、造影によって枯れ木状の所見を得たとする

報告などがある⁵⁾。

耳下腺の無症候性腫大は、アルコール常習のほかにも栄養障害⁸⁻¹⁰⁾、糖尿病¹¹⁻¹³⁾などによっても起こることが多数報告されている。このような局所的疾患によらない無症候性、両側性に腫大をきたす唾液腺の状態をSeifert¹⁴⁾はSialadenose(唾液腺症)と総称し、その発症は耳下腺に多く、腫大の原因は腺房細胞の肥大、増殖および間質における脂肪蓄積であると述べている。

アルコールが各臓器に及ぼす影響に関する実験は、肝、脾を中心に数多く行われている¹⁵⁻¹⁸⁾。しかし、アルコールが耳下腺組織に与える影響に着目して行われた実験的報告は数少ない。近年、Maier ら¹⁹⁾はWistar系ラットに3か月間エタノールを経口投与し光顕的検索を行い、腺房細胞における著明な脂肪蓄積があること、ヒトにおける報告に比べると耳下腺が萎縮する傾向にあることを報告し、電顕的検索の必要性を述べている。そこ

東北大学歯学部口腔外科学第2講座

(主任: 手島貞一教授)

Second Department of Oral Surgery, Tohoku University School of Dentistry (Chief: Prof. Teiichi Teshima)

受付日: 昭和63年10月11日

表 1 食餌組成

成 分	%
澱 粉	48.0
カゼイン	25.0
セルローズ	8.0
穀粒油	6.0
無機物	6.0
ブドウ糖	5.0
ビタミン	2.0
計	100.0
カロリー/100 g	332.8

で、著者は、エタノール長期投与時における耳下腺の病変を解明する目的で、Wistar 系ラットに 20% エタノールを経口投与し、耳下腺の光顕的ならびに電顕的検索を行ったので報告する。

実験材料および方法

体重 100 g 前後の同腹、雄の Wistar 系ラット 80 匹を用い、表 1 に示すような標準食にて 4 か月間飼育した。その後、20% エタノールを投与したエタノール群と、飲料水を投与した対照群にわけて飼育した。そして、表 2 に示すような時期にエーテル深麻酔下に屠殺し、耳下腺を摘出して光顕的ならびに電顕的検索を施行した。

上記方法で摘出した耳下腺の一部を、コジル酸緩衝液で PH 7.4 に調製した 5 % グルタルアルデヒドおよび 4 % パラホルムアルデヒド混合液を用い、4℃にて 3 時間前固定の後、コジル酸緩衝液で一昼夜洗浄した。その後、コジル酸緩衝液で PH 7.4 に調製した 1 % 四酸化オスミウムを用い、2 時間の後固定を行った。

固定した材料はエタノールで脱水、酸化プロピレンで処理し、Luft²⁰⁾の方法にしたがって Epon 812 に包埋した。これより超薄切片を作製し、酢酸ウランとクエン酸鉛による重染色を行い、JEM 100 CX 型電子顕微鏡にて検索を行った。

さらに、摘出した耳下腺の他の一部を 10% ホルマリン緩衝液にて固定し、Hematoxylin and Eosin stain (H & E)、Periodic Acid Schiff stain (PAS)、Gomori's aldehyde fuchsin stain、PAS-alcian blue-Masson's trichrome stain などを行い、これを光顕的検索に使用した。

実験成績

1. 体重の変動と死亡数

飼育開始時の全ラットの体重平均値は 101 g で、4 か

表 2 各飼育期間におけるラット数

対 照 群			エタノール群		
飼育期間 (月数)	ラ ッ ト 数	死 亡 ラ ッ ト 数	投 与 期 間 (月数)	ラ ッ ト 数	死 亡 ラ ッ ト 数
5	3	1	1	3	1
6	3		2	3	1
7	3	2	3	3	
8	3	3	4	3	
10	5		6	3	
12	3		8	3	
14	3		10	3	
16	3	2	12	3	2
22		2	18		2
26			22	3	3
28			24		4
計	26	10		27	13

飼育期間 4 か月内に 4 匹死亡

月後には 464 g となった。各実験時における対照群とエタノール群のラット体重の平均を図 1 に示した。対照群ではしだいに体重が増加し、飼育期間 16 か月では平均値は 665 g であった。これに対してエタノール群ではエタノール投与 1 か月から体重は減少し、エタノール投与 6 か月後から増加の傾向を示し、エタノール投与 12 か月で平均値は 557 g となった。

死亡数は表 2 に示すように 80 匹中 27 匹であった。対照群では 36 匹中 10 匹 (28%)、エタノール群では 40 匹中 13 匹 (33%) で、両群の死亡率の間には有意の差は認められなかった (P<0.05)。

2. 光顕的所見

1) 腺房細胞

腺房細胞の光顕的所見の概要を表 3 に示した。

エタノール投与期間が長くなるにしたがって腺房部は萎縮し、腺房細胞数も減少する傾向を示し、エタノール投与 4 か月から線維化と分泌顆粒の減少がみられた。

分泌顆粒には PAS-alcian blue-Masson's trichrome stain で赤沈する顆粒と青染する顆粒とがあり、一つの腺房細胞に 2 種類の顆粒が混在することはなかった。対照群においてはほとんどが赤染する顆粒で、青染する顆粒は実験後期に一部にみられた程度であった。しかし、エタノール群ではエタノール投与 3 か月から後者が含まれるようになり、エタノール投与 10 か月以後のラットでその占める割合が多くなった。

腺房細胞の配列の不整、空胞形成、脂肪変性は、対照

図 1 対照群とエタノール群の体重変動の比較

群においても軽度ながら初期から観察され、エタノール投与によってこれらが著明に増加する傾向はとくに認められなかった。

エタノール投与10か月のラットは3匹とも線維化を伴った小葉単位の高度の変性像を示し、この変性した小葉では腺房細胞における分泌顆粒の減少、腺房細胞の減少、萎縮、腺腔の拡大、配列の不整が著明に認められた(写真1)。さらに、介在部導管は狭窄あるいは拡張しながら延長し、腺房部に比べて相対的な増加を示し、線維化を伴う導管増生の像を呈していた。これと類似した変性像は、エタノール投与4か月の3匹、投与6か月の1匹、投与12か月の2匹、投与22か月の2匹の計8匹のラットにおいて小葉内に散在性に認められた。

2) 介在部導管

介在部導管の光顕的所見の概要を表4に示した。

導管細胞の管腔側にはPAS染色で赤染する顆粒が多数みられたが、エタノール投与による変化はほとんど認められなかった。

対照群ではほとんどみられなかった導管の増生、拡張が、エタノール群ではエタノール投与4か月からみられる頻度が高くなった。エタノール投与4か月以後のラット18匹のうち15匹(83%)に拡張が、14匹(78%)に増生が認められた。

写真1 耳下腺の光顕像

(ラット No. 45 エタノール投与10か月) 介在部導管の増生、腺房細胞の萎縮、分泌顆粒の減少、腺房腔の拡張、線維化が小葉単位で観察される。H-E染色、×50

管腔内の貯溜物は両群においてほとんどみられなかった。

3) 線条部導管

線条部導管の光顕的所見の概要を表5に示した。

表 3 腺房部の光顕的所見

対 照 群							エタノール群						
飼育期間 a	ラ ット No	腺腔の 拡張	配列の 不整	空胞形 成 b	脂肪変 性 c	線 維 化	投与期 間 d	ラ ット No	腺腔の 拡張	配列の 不整	空胞形 成	脂肪変 性	線 維 化
5	1	— ^e	—	—	—	—	1	27	—	±	±	—	—
	2	—	—	±	±	—		28	—	±	±	±	—
	3	—	—	—	—	—		29	—	+	—	—	—
6	4	—	±	±	±	—	2	30	—	±	—	±	—
	5	—	±	—	±	—		31	—	±	—	—	—
	6	—	±	—	±	—		32	—	±	—	—	—
7	7	±	±	+	±	—	3	33	—	±	±	±	—
	8	—	±	+	±	—		34	—	±	+	±	—
	9	—	±	+	±	—		35	—	±	±	—	—
8	10	—	±	±	—	—	4	36	—	+	±	—	+
	11	—	±	±	—	—		37	—	+	+	±	+
	12	—	±	±	—	—		38	—	+	+	±	±
10	13	—	+	±	±	—	6	39	—	+	±	±	±
	14	—	±	—	±	—		40	—	±	±	±	—
	15	—	±	—	—	—		41	—	±	±	±	—
	16	—	+	—	—	±							
	17	—	+	—	±	+							
12	18	±	±	±	±	±	8	42	—	±	±	±	—
	19	—	±	±	±	±		43	—	+	±	±	—
	20	—	±	—	—	—		44	—	+	—	±	—
14	21	—	±	—	+	±	10	45	±	⊕	—	+	⊕
	22	—	±	—	+	—		46	—	+	±	±	⊕
	23	—	±	—	±	±		47	±	⊕	—	±	⊕
16	24	±	±	—	+	—	12	48	—	±	±	±	±
	25	±	+	—	⊕	⊕		49	—	±	±	—	+
	26	—	±	±	±	—		50	—	±	±	—	—
							22	51	—	+	+	±	+
								52	—	+	±	±	+
								53	—	+	±	—	+

a 4 か月間飲料水で飼育後，継続して飲料水で飼育
b 空胞形成：脂肪滴を含む腺細胞実質の空胞構造
c 脂肪変性：脂肪組織による腺実質の置換
d 4 か月間飲料水で飼育後エタノールで飼育
e ⊕高度変化，+中等度変化，±軽度変化，—無変化

表 4 介在部導管の光顯的所見

対 照 群						エタノール群					
飼育期間 a	ラ ット No	拡 張	狭 窄	増 生	貯 溜 物	投 与 期 間 b	ラ ット No	拡 張	狭 窄	増 生	貯 溜 物
5	1	— ^c	—	—	+	1	27	—	±	—	—
	2	—	—	—	—		28	—	±	±	—
	3	—	—	—	—		29	—	—	—	—
6	4	—	—	—	—	2	30	—	—	—	—
	5	—	—	—	—		31	±	—	—	—
	6	—	—	—	—		32	—	—	—	—
7	7	—	±	—	—	3	33	—	—	—	—
	8	—	—	—	—		34	—	—	±	—
	9	—	—	—	—		35	—	—	—	—
8	10	—	—	—	—	4	36	±	—	+	—
	11	—	—	—	—		37	±	—	±	—
	12	—	—	—	—		38	±	—	+	—
10	13	—	—	—	—	6	39	±	—	—	—
	14	—	—	—	—		40	±	—	±	—
	15	—	—	—	—		41	±	—	±	—
	16	—	—	—	—						
	17	—	—	—	±						
12	18	±	—	±	—	8	42	±	—	±	—
	19	—	—	—	—		43	±	—	±	—
	20	—	—	—	—		44	±	—	±	±
14	21	—	—	—	—	10	45	⊕	—	⊕	—
	22	±	—	—	—		46	⊕	+	+	—
	23	—	—	—	—		47	±	—	+	—
16	24	±	—	—	—	12	48	±	—	±	—
	25	+	—	±	—		49	—	—	—	—
	26	—	—	—	—		50	—	—	—	—
						22	51	+	—	—	—
							52	+	—	±	—
							53	—	—	±	+

a, b, c 表 3 を参照

腺房部や介在部に比べて線条部においては、導管の拡張や増生といった光顯上の変化は少なかった。

管腔には対照群においてもエタノール群においても初期から貯溜物が認められるが、ともに経時的変化はなかった。

3. 電顯的所見

1) 腺房細胞

腺房細胞の電顯的所見の概要を表 6 に示した。

耳下腺組織全体に対する腺房部の占める割合がエタノール投与 6 か月以後に減少し、一細胞あたりの分泌顆粒も減少する傾向を示した。分泌顆粒には、高電子密度で

表 5 線条部導管の光顯的所見

対 照 群						エタノール群					
飼育期間 a	ラ ット No	拡 張	狭 窄	増 生	貯 溜 物	投 与 期 間 b	ラ ット No	拡 張	狭 窄	増 生	貯 溜 物
5	1	— ^c	—	—	+	1	27	—	±	—	—
	2	—	—	—	+		28	—	—	—	±
	3	—	—	—	±		29	—	—	—	±
6	4	—	—	—	—	2	30	—	±	—	±
	5	—	—	—	+		31	—	±	—	±
	6	—	—	—	+		32	—	—	—	—
7	7	—	—	—	—	3	33	—	—	—	+
	8	—	—	—	—		34	—	—	—	—
	9	—	—	—	—		35	—	—	—	±
8	10	—	—	—	—	4	36	—	—	±	±
	11	—	—	—	±		37	—	—	—	±
	12	—	—	—	±		38	—	—	—	±
10	13	—	±	—	+	6	39	—	—	—	—
	14	—	—	—	±		40	—	—	—	—
	15	—	—	—	±		41	—	—	—	—
	16	—	—	—	+						
	17	—	—	—	—						
12	18	—	—	—	±	8	42	—	—	—	—
	19	—	—	—	—		43	—	—	—	±
	20	—	—	—	—		44	—	—	—	+
14	21	—	—	—	±	10	45	—	—	—	±
	22	—	—	—	±		46	—	+	—	±
	23	—	—	—	±		47	—	±	—	—
16	24	—	—	—	—	12	48	—	—	—	—
	25	—	—	±	+		49	—	—	—	+
	26	—	—	—	—		50	—	—	—	—
						22	51	—	—	—	±
							52	—	—	—	—
							53	+	—	±	+

a, b, c 表 3 を参照

不均質な顆粒と低電子密度で均質な顆粒がみられ（写真 2），後者は対照群では飼育 12 か月以後に一部にみられただけであるが，エタノール群ではエタノール投与 3 か月以後に頻繁にみられた。

ミトコンドリアではエタノール群に 2 種類の変化が観察された。ひとつは淡明な基質を伴うクリスタの減少

で，エタノール投与 6 か月以後に高い頻度で出現した。他は暗い基質を伴うクリスタの減少で，これはエタノール投与 6 か月のラット 1 匹のみに認められた。ミトコンドリアの数の増減はほとんどなかったが，大小不動の傾向がエタノール投与 6 か月頃から認められた。

小胞体の内腔拡張はエタノール群において初期から軽

表 6 腺房細胞の電顕的所見

対 照 群								エタノール群							
飼 育 期 間 a	ラ ット No	ミ ト コ ン ド リ ア	ク リ ヘ タ の 減 少	暗 い 基 質	粗 面 小 胞 体 の 拡 張	ライ ソ ゾ ー ム の 増 加	腺 房 細 胞 間 の 嵌 合	投 与 期 間 b	ラ ット No	ミ ト コ ン ド リ ア	ク リ ス タ の 減 少	暗 い 基 質	粗 面 小 胞 体 の 拡 張	ライ ソ ゾ ー ム の 増 加	腺 房 細 胞 間 の 嵌 合
5	1		— ^c	—	—	±	±	1	27		—	—	—	±	+
	2		—	—	—	±	—		28		—	—	±	±	±
	3		—	—	—	±	—		29		—	—	±	+	±
6	4		—	—	±	±	±	2	30		—	—	±	±	±
	5		—	—	—	±	—		31		±	—	+	±	±
	6		—	—	—	±	—								
								3	33		—	—	—	±	+
									34		—	—	+	±	+
									35		—	—	±	±	+
8	10		—	—	—	±	—	4	36		—	—	±	+	+
	11		—	—	—	±	—		37		—	—	±	+	±
	12		—	—	—	±	—		38		—	—	±	+	±
10	14		—	—	—	±	—	6	39		±	—	—	±	±
	15		—	—	—	—	±		40		±	±	±	+	+
									41		±	—	±	+	±
								8	42		±	—	—	—	±
									43		±	—	+	±	+
									44		±	—	±	±	±
								10	45		—	—	±	±	+
									46		—	—	+	+	+
									47		—	—	—	±	+
								12	48		+	—	±	+	+
									49		+	—	±	+	+
								22	51		+	—	+	±	+
									52		+	—	+	±	+

a, b, c 表 3 を参照

度に増加したが経時的変動は著明にはみられなかった。またライソゾームと脂肪滴を含む空胞構造もエタノール群において初期からみられたが、これは対照群においてもみられ、両群の間に大差はなかった。

2) 介在部導管

介在部導管の電顕的所見の概要を表 7 に示した。

介在部導管における著明な変化は、核数の増加を伴う増生であった。この所見はエタノール投与 4 か月以後に

高頻度にもみられた(写真 3)。

介在部導管細胞の PAS 陽性顆粒は、電子密度が高く腺房細胞の分泌顆粒よりやや小型で均質であった。その数は腺房細胞の分泌顆粒より少なく管腔側に偏在していた(写真 4)。この顆粒はエタノール投与による変化はとくに示さなかった。

ミトコンドリアはエタノール投与 3 か月目からわずかに膨化する傾向や、淡明な基質を伴うクリスタの減少が

表 7 介在部導管の電顕的所見

対 照 群								エタノール群							
飼 育 期 間 a	ラ ッ ト No	ミ ト コン ドリ ア	ク リ ス タ の 減 少	暗 い 基 質	粗 面 小 胞 体 の 拡 張	ライ ソ ゾ ーム の 増 加	核 の 増 加	投 与 期 間 b	ラ ッ ト No	ミ ト コン ドリ ア	ク リ ス タ の 減 少	暗 い 基 質	粗 面 小 胞 体 の 拡 張	ライ ソ ゾ ーム の 増 加	核 の 増 加
5	1		—	c —	—	±	—	1	27		—	—	—	±	—
	2		—	—	—	±	—		28		—	—	—	±	—
	3		—	—	—	—	—		29		—	—	—	±	±
6	4		—	—	±	—	—	2	30		—	—	—	±	—
	5		—	—	—	—	—		31		—	—	±	±	—
	6		—	—	—	—	—								
								3	33		—	—	+	—	—
									34		±	—	±	±	±
									35		—	—	±	—	—
8	10		—	—	—	—	—	4	36		±	—	±	±	+
	11		—	—	—	—	—		37		±	±	+	±	±
	12		—	—	—	±	—		38		±	—	±	+	+
10	14		—	—	—	—	—	6	39		±	—	±	±	—
	15		—	—	—	—	—		40		±	—	±	±	±
									41		±	—	±	±	±
								8	42		—	—	—	±	—
									43		±	—	+	±	±
									44		—	—	±	±	±
								10	45		—	—	±	±	+
									46		—	—	—	±	+
									47		—	—	—	±	+
								12	48		—	—	—	+	±
									49		—	—	—	—	—
								22	51		—	—	—	±	—
									52		—	—	—	±	—

a, b, c 表 3 を参照

みられた。また暗い基質を伴うミトコンドリアの変化は、エタノール投与 4 か月のラット 1 匹においてのみ認められた。

小胞体の内腔拡張や空胞形成は対照群ではほとんどみられなかったが、エタノール群では初期から高頻度に見られた。

3) 線条部導管

線条部導管の電顕的所見の概要を表 8 に示した。

線条部導管細胞には直径 0.1~0.2 μ 大の低電子密度の顆粒状構造物が管腔側に認められた (写真 5)。その数は個々の細胞によりばらつきがあったが、エタノール投与による変化は認められなかった。

対照群においては線条部導管細胞の基底側では、基底層の細胞質中への深い陥入構造が無数にみられ、それに並行してミトコンドリアが存在していた。つまりミトコンドリアは基底側に偏在して観察されたが (写真 6)。

写真 2 エタノール群の電顕像・腺房細胞

(ラット No. 37 エタノール投与4か月) 腺房部細胞には高電子密度の顆粒と低電子密度の顆粒とが認められる。
× 5,000

写真 3 エタノール群の電顕像

(ラット No. 37 エタノール投与4か月) 核の増加を伴う介在部導管細胞の増加が認められる。
× 1,000

写真 4 対照群の電顕像・介在部導管

(ラット No. 12 飼育期間8か月) 介在部導管細胞の管腔側に、電子密度の高い均質で小型の顆粒が認められる。
× 5,000

写真 5 対照群の電顕像・線条部導管

(ラット No. 5 飼育期間6か月) 線条部導管細胞管腔側の電子密度の低い微小な顆粒状構造物
× 20,000

エタノール群ではエタノール投与初期から管腔側への変位が著明で基底側陥入構造の減少とあいまって線条構造に乱れを生じていた。

また、腺房細胞や介在部導管細胞ではほとんどみられなかった暗い基質とクリスタの減少を示すミトコンドリアも高頻度にみられた(写真7)。クリスタの減少は24匹中21匹(88%)に、暗い基質は24匹中20匹(83%)にみられた。

淡明な基質を伴うミトコンドリアの変化はエタノール投与期間や病巣の重篤度とは無関係にしばしば出現したが、暗い基質を伴うミトコンドリアの変化はエタノール群に特有のものと考えられた。

エタノール投与10か月以後になると、線条部導管細胞の崩壊が起こり、基底膜が不規則に重層して残存してい

るのが認められた(写真8)。

4) 末梢神経・毛細血管

末梢神経と毛細血管の電顕的所見の概要を表9に示した。

神経組織の変化としては軸索突起の膨化およびその内部における autolysosome と考えられるミエリン像がエタノール投与期間とは無関係に一部にみられた(写真9)。これらの傷害された軸索突起内のミトコンドリアの変化やミエリン鞘を含むシュワン細胞の変化はほとんどなかった。このような神経組織の変化は27匹中8匹(30%)において観察された。

毛細血管では micropinocytotic vesicle の減少がエタノール投与22か月のラットで観察されたにすぎなかった。

表 8 線条部導管の電顕的所見

対 照 群								エタノール群							
飼育 期 間 a	ラ ッ ト No	ミ ト コ ン ド リ ア	変			粗 面 小 胞 体 の 拡 張	ライ ソ ゾ ー ム の 増 加	投 与 期 間 c	ラ ッ ト No	ミ ト コ ン ド リ ア	変			粗 面 小 胞 体 の 拡 張	ライ ソ ゾ ー ム の 増 加
			ク リ ス タ の 減 少	暗 い 基 質	位 b						ク リ ス タ の 減 少	暗 い 基 質	位		
5	1		—	d	—	—	—	1	27		—	—	±	±	±
	2		—	—	—	—	—		28		±	±	+	—	—
	3		—	—	—	—	—		29		±	±	±	—	±
6	4		—	—	—	—	—	2	30		+	+	+	±	±
	5		—	—	—	—	—		31		+	—	±	±	±
	6		—	—	—	—	—								
								3	33		+	+	+	±	±
									34		+	+	+	+	+
									35		+	+	±	±	±
8	10		—	—	—	—	—	4	36		+	+	+	+	±
	11		—	—	—	—	—		37		+	+	+	+	±
	12		—	—	—	—	±		38		+	+	+	+	+
10	14		—	—	—	—	—	6	39		+	+	+	+	+
	15		—	—	—	—	—		40		+	+	+	+	+
									41		+	+	+	+	+
								8	42		+	+	+	+	±
									43		+	±	+	±	±
									44		+	—	+	±	±
								10	45		+	±	+	+	±
									46		+	—	+	+	±
									47		+	±	+	+	±
								12	48		—	±	±	—	—
									49		—	±	+	—	—
								22	51		±	±	±	±	+
									52		±	±	±	±	±

a, b, c 表 3 を参照
b ミトコンドリアの基底側から管腔側への移動

5) 細胞膜

対照群においては、腺房細胞の側面細胞膜の基底側に近い部分で一部に軽度の嵌合がみられた。これに対しエタノール群では、腺房細胞の側面細胞膜における微絨毛や嵌合の異常形成とそれに伴う細胞間隙の拡大が著明で、エタノール投与初期から常に観察された(写真10)。これと同様の所見は腺房細胞と介在部導管細胞間、介在

部導管細胞間、介在部導管細胞と線条部導管細胞間、線条部導管細胞間においてもエタノール投与10か月以後のラットの一部分に軽度に観察され、さらに、基底層に向かっている各部細胞の軽度の微絨毛形成もエタノール投与10か月以後に一部に観察された。

写真 6 対照群の電顕像・線条部導管

(ラット No. 11 飼育期間 8 か月) 線条部導管細胞の基底側に無数の陥入構造がみられ、その間にミトコンドリアが位置している。
× 5,000

写真 7 エタノール群の電顕像・線条部導管

(ラット No. 41 エタノール投与 10 か月) 線条部導管細胞のミトコンドリアが暗い基質とクリスタの減少を伴う変性を示して管腔側に変位し、線状構造の乱れが著明である。
× 5,000

考 案

アルコール常習による耳下腺の無症候性腫大は多数報告されているが¹⁻⁷⁾、そこで得られた生検、剖検、造影による所見によれば、耳下腺の腫大の原因は主に腺房細胞の肥大と間質における脂肪蓄積であった。Borsanyi⁵⁾は腺房細胞の肥大は初期にみられ、脂肪蓄積や軽度の線維化が後期にみられる傾向にあると述べている。

また、Seifert¹⁴⁾は唾液腺症は、初期には分泌顆粒の増加と腺房細胞の肥大によって唾液分泌が亢進するが、次いで分泌顆粒の減少と腺房細胞の水胞化による唾液分泌

表 9 毛細血管・末梢神経の電顕的所見

対 照 群				エタノール群			
飼育期間 a	ラ ット No	毛 細 血 管 b	末 梢 神 経 c	投 与 期 間 d	ラ ット No	毛 細 血 管	末 梢 神 経
5	1	— ^c	—	1	27	—	—
	2	—	—		28	—	±
	3	—	—		29	—	—
6	4	—	—	2	30	—	—
	5	—	—		31	—	—
	6	—	—				
				3	33	—	+
					34	—	±
					35	—	—
8	10	—	—	4	36	—	±
	11	—	—		37	—	—
	12	—	—		38	—	±
10	14	—	—	6	39	—	—
	15	—	—		40	—	—
					41	—	—
				8	42	—	—
					43	—	—
					44	—	—
				10	45	—	—
					46	—	—
					47	—	—
				12	48	—	±
					49	—	—
				22	51	+	+
					52	+	+

a, d, c 表 3 を参照

b micropinocytotic
vesicle の減少

c 軸索突起の変性

の低下が起こり、さらには腺実質の減少、脂肪蓄積、線維化といった経過をたどり、実質の傷害の程度によっては再生を示すとしている。

栄養障害による耳下腺腫大の報告例も多いが⁸⁻¹⁰⁾、栄養障害とアルコール常習とは密接な関連性があるという考えもあり^{3,6)}、峯川²¹⁾はアルコール常習者を剖検した結果、軽度のアルコールは食欲促進剤として働く²²⁾、飲酒量が多くなれば食餌は減少し低栄養状態になると指摘し

写真 8 エタノール群の電顕像・線条部導管
(ラット No. 45 エタノール投与10か月) 線条部導管細胞において、不規則に重層した基底膜が認められる (矢印).
× 5,000

写真 10 エタノール群の電顕像・腺房細胞
(ラット No. 33 エタノール投与3か月) 腺房細胞間隙の拡大を伴った微絨毛と嵌合の異常形成が著明である (矢印).
× 5,000

写真 9 エタノール群の電顕像
(ラット No. 38 エタノール投与4か月) 膨化した神経軸索突起内にミエリン像の増加と神経線維の減少が認められる.
× 5,000

ている。

緒言で述べたように、アルコール常習者における耳下腺機能亢進の報告があり^{1,5,7)}、また、Alappatt ら²²⁾は糖尿病患者の腫大した耳下腺における機能亢進の報告を行っている。しかし、Minaire ら²³⁾は慢性膵炎とアルコール性肝硬変患者における唾液分泌量と重炭酸塩およびアミラーゼの分泌減少を認め、Grimmel ら²⁴⁾、McColl ら²⁵⁾も同様の所見を得ている。また、Maier ら¹⁹⁾はエタノールを投与したラットで、耳下腺からの唾液量、アミラーゼ活性、ナトリウム濃度の減少を認めている。

本実験で得た所見では、腺房部の主な変化は、エタノール投与3か月からの低電子密度で均質な粘性顆粒の増加、エタノール投与6か月以後の分泌顆粒の減少およ

び腺房部の萎縮などであった。しかし、脂肪蓄積や腺房細胞における脂肪浸潤は比較的軽度で、Hemenway ら³⁾による“a few small clumps of normal appearing acini”を形成するような脂肪蓄積はあまりみられなかった。また、腺房細胞の肥大もほとんどみられなかった。

Takeuchi ら²⁶⁾は不均質な顆粒の高電子密度部にアミラーゼを中心とする消化酵素の存在を認めており、したがって著者の得た均質な低電子密度の顆粒の増加や分泌顆粒の減少という所見は、Duggan¹⁰⁾、Borsanyi⁵⁾、のアルコール常習者におけるアミラーゼ上昇という報告とは一致しない。

導管の変化に関する記述は少ないが、そのなかで池田ら²⁷⁾はアルコール常習者の耳下腺造影を行い、導管の狭窄、拡張、壁の不整像、走行の乱れを高率に認めている。本実験においても、エタノール投与4か月から、介在部導管が狭窄あるいは拡張しながら増生しているのが認められた。エタノール投与10か月のラット3匹にみられたこの介在部導管の増生と腺房細胞の減少、腺房部の萎縮、線維組織の増加などの所見を示す小葉単位の病変は、本実験に用いたラットの脾の検索で得られた所見²⁸⁾とまったく類似したものであり、同時に、ヒト慢性膵炎の特徴像とされているEdmondson ら²⁹⁾による“ductular hyperplasia”、Sarles³⁰⁾による“canalicular dedifferentiation”の所見と一致したものであった。

ところで、介在部導管細胞の管腔側に認められたPAS陽性の電顕的には高電子密度で均質な小型の顆粒は、おそらく糖蛋白を含んでおり、齧齒類の顎下腺に特有とされるPinkstaff³¹⁾によるいわゆる顆粒性導管に含まれている顆粒と同様に、なんらかの内分泌機能を有しているものと考えられる。近年、Smith ら³²⁾はラット耳下腺の介在部にインシュリン様物質を認めたと報告している。

また、線条部導管細胞の管腔側において観察された電子密度の低い小型の顆粒状構造物は、介在部導管細胞のPAS陽性顆粒とは異なり、いまだ記載がなくその意義も不明である。

線条部の変化は光顕的には乏しかったが、電顕的にはエタノール投与初期からミトコンドリアの変性、管腔側への変位、基底側細胞質の白質化（基底陥入の消失）による線状構造の変化が認められた。

Sharawy ら³³⁾はマウス顎下腺の腺房細胞におけるミトコンドリアと細胞膜の接近はATP産生部（ミトコンドリア）とATP利用部（細胞膜）との接近を意味し、唾液の形成や分泌に必要なエネルギー供給を容易にすると述べている。耳下腺線条部導管上皮細胞の基底側線条構造に類似した構造は、腎の遠位尿細管においてもみられ、そこでは水や電解質の再吸収が行われていることがよく知られている。また、Katsuyama らは³⁴⁾腺において腺房中心細胞を主とする導管上皮が電解質の輸送に関与するとしており、耳下腺では同様の機能を線条部導管が果たすと考えられている³⁵⁾。したがって、線条部導管における基底側細胞膜の傷害やミトコンドリアの異常は、重炭酸塩を中心とする電解質の分泌濃度にも変化をきたすものと考えられる。

耳下腺における内分泌機能の存在が報告され^{32,36)}、組織学的にも機能的にも耳下腺と膵との類似性は指摘されてきた。また、糖尿病患者の41%に耳下腺の腫大があり耳下腺の触診は糖尿病の存在を知るのに重要な意義を有するとする報告¹²⁾や、慢性膵炎患者における耳下腺の唾液分泌低下^{25,37)}や実験的急性膵炎において耳下腺の腺房細胞が萎縮を示し、それは膵の変化と並行した^{38,39)}という報告、さらには Sjögren 症候群患者の耳下腺管上皮細胞と膵管上皮細胞に共通の抗体を認めたという報告⁴⁰⁾などにより耳下腺と膵との間には密接な反応性の存在することが推察された。実際、Kakizaki ら⁴¹⁾は共生ラットを使って膵と耳下腺間の体液性機構による関連性を立証したとしている。

このような耳下腺と膵との反応性を背景に McColl ら²⁵⁾は、アルコール摂取時の耳下腺の変化はアルコールのみによるのではなく、膵との関連性も加わっているであろうと述べている。

これに対し、Minaire ら²³⁾はアルコール常習者の耳下腺の機能低下はパラフィルムを咬むことによる刺激で減少し、したがって耳下腺の機能低下は感受性低下によるものであると判断した。また、Perec ら⁴²⁾は3か月間エタノールを投与したラットの耳下腺で交換神経性および副交感神経性刺激に対する感受性の低下がみられたことを報告しており、Baratti ら⁴³⁾も同様の結果を得たとしている。

本実験におけるもっとも初期の耳下腺の変化は、腺房細胞間細胞膜の細胞間隙の拡大を伴った嵌合の異常形成

であった。これは本実験に使用したラットの膵の検索で得られた所見²⁹⁾と同一で、発生時期もほとんど同時であった。また、神経組織の変化も27匹中8匹（30%）にみられたが、散発的で耳下腺に対して高度の影響を与えているようには考えられなかった。

ところで、エタノールの血中濃度と耳下腺管内液の濃度はほとんど同程度で、エタノールは代謝されずにそのまま耳下腺管に分泌されることが知られている^{44,45)}。それはエタノールが細胞質や細胞間隙を通して導管へ分泌されることを意味すると考えられる。また、エタノールの肝に対する直接的傷害を認める報告^{15,16)}やエタノールの毒性は肝だけではなくエタノール代謝に関与しない器官においても作用するという報告もある⁴⁶⁾。

また、Nakamura ら^{47,48)}は、高い細胞密度での培養では肝細胞の分化が高度に進むが、しかし、細胞の増殖は抑制され、再生途上の肝細胞では細胞間の接触が粗になって増殖に移行し、それらの相反調整は細胞膜面に存在する調節器によって行われているようにみえたと報告している。

さらに、Traub ら⁴⁹⁾は肝部分切除後の肝細胞において gap junction が消失し、細胞間の電気的結合も失われたことを報告している。

本実験における細胞膜の変化はアルコール特有のものではなく、傷害に対する基本的な反応と考えるべきであろう。しかし、細胞間隙の拡大が耳下腺においても再生あるいは増殖を引き起こす可能性は高い。これに加え、細胞膜における緩慢な長期にわたって持続する退行性変化は、細胞膜が腺房細胞に対して特異的に有する正常な機能を抑制する可能性がある。このようなエタノールで誘発された分化、成熟の抑制および緩慢に進行する再生が、ヒト慢性膵炎の特徴とされる“ductular hyperplasia”²⁹⁾の像に非常に類似した組織像を耳下腺にもたらしただものと考えられる。

したがって、唾液分泌の減少は、膵との関連^{25,41)}や耳下腺の感受性の低下^{23,42,43)}というより、エタノールの直接的あるいは間接的影響による耳下腺組織自体の変化によって起こると考えられた。

以上のような結果から、エタノール長期摂取による耳下腺の組織変化は次のような機序によって起こると考えられた。

まず、摂取されたエタノールは基底細胞膜を通して細胞内に取り込まれるが、腺房細胞間細胞膜では嵌合の異常形成、細胞間隙の開大が起こり、そこを直接エタノールが通過するようになる。また、線条部導管細胞では基底側細胞膜に変化が生じる。これらの細胞膜の障害により細胞の再生過程で異常な抑制作用が起こる。次いで、腺房細胞および線条部導管細胞の補充細胞としての役割を担うと考えられる介在部導管細胞が、前2者の変化に応じて不規則な増生を起こし、不規則な延長による介在

部導管の拡張あるいは狭窄を生じる。これらの結果、末梢の腺房細胞は退行変性をきたして萎縮し、しだいに線維組織に置換されるようになる。

結 語

エタノール長期投与時における耳下腺の組織変化を解明する目的で、Wistar 系ラットに20%エタノールを経口投与し、耳下腺の光顕的、電顕的検索を行った結果、次のような成績を得た。

1. 光顕的には、エタノール群の3匹(11%)のラットにおいて、小葉単位で高度の病的変化が観察され、さらに類似した軽度の変化が8匹(30%)において小葉内で散見された。これらのラットでは線維化を伴う導管増生の像が認められた。

2. 電顕的には、腺房細胞ならびに小導管上皮細胞に種々の変化が観察された。初期から共通してみられた変化は、腺房細胞間細胞膜と線条部導管細胞における変化であった。それは細胞間隙の拡大を伴った腺房細胞間の微絨毛と嵌合の異常形成と、ミトコンドリアの高度変性を伴った線条部導管細胞における基底側線条構造の消失であった。また、エタノール投与4か月以後には介在部導管の増生と不規則な延長が強く認められた。

以上の成績から、エタノールの直接的作用により、最初に腺房細胞間の細胞膜と線条部導管細胞の基底側細胞膜が傷害され、それらの修復過程で介在部導管の再生、増殖、不規則な延長が起こり、腺房細胞に退行変性、萎縮をきたし、耳下腺の唾液分泌機能が低下すると推測された。

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました東北大学歯学部第2口腔外科学教室、手島貞一教授に深甚なる謝意を捧げます。また本研究に多大なご教示、ご助言を頂きました仙台社会保険病院の中村克宏先生に感謝いたしますとともに、ご協力頂きました公立志津川総合病院院長柿崎五郎先生はじめ同病院職員各位に厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨は、第33回日本口腔外科学会総会(昭和63年9月、名古屋)において発表した。

引 用 文 献

- 1) Borsanyi, S.J. and Blanchard, C.: Asymptomatic enlargement of the parotid gland in alcoholic cirrhosis. *South Med J* 54: 678-682 1961.
- 2) Abelson, D.C., Mandel, J.D., et al.: Salivary studies in alcoholic cirrhosis. *Oral Surg* 41: 188-192 1976.
- 3) Hemenway, W.G. and Allen, G.W.: Chronic enlargement of the parotid gland: Hypertrophy and fatty infiltration. *Laryngoscope* 69: 1508-1522 1959.
- 4) Kaltreider, H.B. and Talal, N.: Bilateral parotid gland enlargement and hyperlipoproteinemia. *JAMA* 210: 2067-2070 1969.
- 5) Borsanyi, S.J.: Chronic asymptomatic enlargement of the parotid glands. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 71: 857-867 1962.
- 6) Wolfe, S.J., Summerskill, W.H.J., et al.: Parotid swelling, alcoholism and cirrhosis. *N Engl J Med* 256: 491-495 1957.
- 7) Mandel, L. and Baurmash, H.: Parotid enlargement due to alcoholism. *JADA* 82: 369-373 1971.
- 8) Du Plessis, D.J.: Parotid enlargement in malnutrition. *S Afr Med J* 28: 700-703 1956.
- 9) Katsilambros, L.: Asymptomatic enlargement of the parotid glands. *JAMA* 178: 513-514 1961.
- 10) Duggan, J.J. and Rothbell, E.N.: Asymptomatic enlargement of the parotid glands. *N Engl J Med* 257: 1262-1267 1957.
- 11) Davidson, D., Leibel, B.S., et al.: Asymptomatic parotid gland enlargement in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 70: 31-38 1969.
- 12) 平田幸正, 西村ひろみ, 他: 糖尿病における耳下腺腫大とDupuytren 拘縮. *Diabetes Journal* 1: 75-77 1973.
- 13) Russotto, S.B.: Asymptomatic parotid gland enlargement in diabetes mellitus. *Oral Surg* 52: 594-598 1981.
- 14) Seifert, G.: Zur Pathogenese der SpeicheldrüSENSCHWELLUNG (Sialadenose). *Verh Dtsch Ges Pathol* 46: 250-256 1962.
- 15) Lieber, C.S., Jones, D.P., et al.: Effects of prolonged ethanol intake: production of fatty liver despite adequate diets. *J Clin Invest* 44: 1009-1021 1965.
- 16) Rubin, E. and Lieber, C.S.: Fatty liver, alcoholic hepatitis and cirrhosis produced by alcohol in primates. *N Engl J Med* 290: 128-135 1974.
- 17) Dreiling, D.A., Richman, A., et al.: The role of alcohol in the etiology of acute pancreatitis. The effect of intravenous alcohol on the external secretion of the pancreas. *Gastroenterology* 20: 636-646 1952.
- 18) Sarles, H., Lebreuil, G., et al.: A comparison of alcoholic pancreatitis in rat and man. *Gut* 12: 377-388 1971.
- 19) Maier, H., Born, I.A., et al.: The effect of chronic ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat.

- Alcoholism: Clinical and Experimental Research 10: 425-429 1986.
- 20) Luft, J.H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J Biophys Biochem Cytol* 9: 409-414 1961.
 - 21) 峯川宏一: アルコール性肝障害時における顎下腺の変化. *日大医誌* 43: 459-473 1984.
 - 22) Alappatt, J.L. and Ananthachari, M.D.: A preliminary study of the structure and function of enlarged parotid glands in chronic relapsing pancreatitis by sialography and biopsy methods. *Gut* 8: 42-45 1967.
 - 23) Minaire, Y., Descos, L., et al.: Chronic pancreatitis, alcoholic liver cirrhosis and salivary secretion. *Digestion* 12: 57-60 1975.
 - 24) Grimm, K., Rossbach, G., et al.: Amylase activity of parotid saliva in acute and chronic pancreatitis. *Acta Hepato-Gastroenterol* 23: 334-344 1976.
 - 25) McColl, K.E.L., Brodie, M.J., et al.: Parotid salivary gland function in patients with exocrine pancreatic insufficiency. *Acta Hepato-Gastroenterol* 26: 407-412 1979.
 - 26) Takeuchi, T., Kameya, T., et al.: Development of exocrine cells of the pancreas and parotid gland in rats. *Digestion* 18: 266-279 1978.
 - 27) 池田浩之, 今野陽三, 他: アルコール依存症における耳下腺病変. *内科* 56: 163-167 1985.
 - 28) Kakizaki, G., Sasahara, M., et al.: On the pathogenesis of chronic alcoholic pancreatitis from the viewpoint of experimental results in rats. *Int J Pancreatol* 2: 101-116 1987.
 - 29) Edmondson, H.A., Bullock, W.K., et al.: Chronic pancreatitis and lithiasis. A clinicopathologic study of 62 cases of chronic pancreatitis. *Am J Pathol* 25: 1227-1247 1949.
 - 30) Sarles, H., Muratore, R., et al.: Aetiology and pathology of chronic pancreatitis. *Bibl Gastroenterol* 7: 75-120 1965.
 - 31) Pinkstaff, C.A.: The cytology of salivary glands. *Int Rev Cytol* 63: 141-261 1980.
 - 32) Smith, P.H. and Petel, D.G.: Immunohistochemical studies of the insulin-like material in the parotid gland of rats. *Diabetes* 33: 661-666 1984.
 - 33) Sharawy, M., Schuster, G., et al.: Association of mitochondria with the plasma membrane of the acinar cells of the mouse submaxillary glands. *Acta anat* 102: 440-446 1978.
 - 34) Katsuyama, T. and Spicer, S.S.: The surface characteristics of the plasma membrane of the exocrine pancreas. *Am J Anat* 148: 535-554 1977.
 - 35) Schneyer, L., Young, I.A., et al.: Salivary secretion of electrolytes. *Physiol Rev* 52: 720-777 1972.
 - 36) Cantin, M., Gutkowska, J., et al.: Immunocytochemical localization of atrial natriuretic factor in the heart and salivary glands. *Histochemistry* 80: 113-127 1984.
 - 37) Noronha, M., Dreiling, D.A., et al.: The parotid and pancreas. IV Parotid secretion after secretin stimulation as a screening test of pancreatic dysfunction. *Am J Gastroenterol* 70: 282-285 1978.
 - 38) Kakizaki, G., Noto, N., et al.: Histologic findings of the parotid gland and bicarbonate content in parotid saliva of dogs with experimentally produced pancreatitis. *Tohoku J Exp Med* 108: 165-177 1972.
 - 39) Ishidate, T., Senoo, A., et al.: An electron microscopic study of the pancreas and parotid gland of rats with experimental acute pancreatitis. *Tohoku J Exp Med* 113: 213-223 1974.
 - 40) Ludwig, H., Scherthaner, G., et al.: Antibodies to pancreatic duct cells in Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Gut* 18: 311-315 1977.
 - 41) Kakizaki, G., Sasahara, M., et al.: Mechanism of the pancreas-parotid gland interaction. *Am J Gastroenterol* 70: 635-644 1978.
 - 42) Perek, C.J., Celener, D., et al.: Effects of chronic ethanol administration on the autonomic innervation of salivary glands, pancreas and heart. *Am J Gastroenterol* 72: 46-59 1979.
 - 43) Baratti, C.M., Rubio, M.C., et al.: Effect of chronic alcohol feeding on adrenergic and cholinergic neurotransmission mechanism. *Am J Gastroenterol* 73: 21-27 1980.
 - 44) Friedemann, T.E., Motel, W.G., et al.: The excretion of ingested ethyl alcohol in saliva. *J Lab Clin Med* 23: 1007-1013 1938.
 - 45) McColl, K.E.L., Whiting, B., et al.: Correlation of ethanol concentrations in blood and saliva. *Clin Sci* 56: 283-286 1979.
 - 46) Rubin, E. and Rottenberg, H.: Ethanol-induced injury and adaptation in biological membranes. *Federation Proceedings* 41: 2465-2471 1982.
 - 47) Nakamura, T., Yoshimoto, K., et al.: Reciprocal modulation of growth and differentiated functions of mature rat hepatocytes in primary culture by cell-cell contact and cell membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 7229-7233 1983.
 - 48) Nakamura, T., Nakayama, Y., et al.: Reciprocal modulation of growth and differentiated functions of mature rat hepatocytes in primary culture by cell-cell contact and cell membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 7229-7233 1983.

- procal modulation of growth and liver functions of mature rat hepatocytes in primary culture by an extract of hepatic plasma membranes. *J Biol Chem* 259: 8056-8058 1984.
- 49) Traub, O., Drüge, P.M., et al.: Degradation and resynthesis of gap junction protein in plasma membranes of regenerating liver after partial hepatectomy or cholestasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 755-759 1983.
-