ヒメネズミ顎下腺の組織・細胞化学と微細構造

小田島 美紀代

北海道大学歯学部 口腔解剖学第一講座*

〔受付：昭和54年10月25日〕

抄録：齧歯類の顎下腺の機能比較上の手がかりの一つとして、ヒメネズミ *Apodemus argenteus* Temminck の顎下腺の微細構造、顆粒の性質について組織化学的および電顕細胞化学的に観察し、更に顆粒管直径の性差について計数的検索を行った。ヒメネズミの顎下腺は、終末部、介在部、顆粒管部およびいわゆる線条部により構成され、終末部は、雌で細胞に2型を持ち、漿粘液性の細胞は腺房の大部分を占め、まれに漿液性の細胞を観る程度であった。

漿粘液性の顆粒は、酸性および中性多糖類を持ち、電顕的にはこの顆粒は glycoprotein 陽性であった。介在部には OsO_4 親和性の強い顆粒がみられた。顆粒管顆粒は、蛋白質、中性多糖類を持ち、amylase 活性陽性、protease 活性陰性で、glycoprotein 陰性であった。更に顆粒管直径の計測では、雌雄間に有意差は認められなかった。

結 言

種々の齧歯類の顎下腺の線条部には、顆粒を多数含む部位があり、そこは、特に顆粒管（線条部の顆粒性膨大部）と呼ばれている。顆粒管は、ホルモン依存性の顆粒を持つという特徴とその機能的意義とから長い間興味を持たれてきた。顎下腺の顆粒管は、齧歯類において存在するものとしなないものがあり、存在するものではその形態的な性差は、マウスにおけるように著明なもの¹⁾とラッテにおけるように軽度なもの²⁾と、ハムスターにおけるように全く認められず組織化学的な差のみがみられるものがある^{3,4)}。

Flon ら⁵⁾によれば、Desert Rodent, Heteromyidae を用いて顆粒管の形態と組織化学的性質を調べ、結局、唾液腺の多様性は環境によるのではなく種の差によるのかも知れないとしている。Materazzi と Vitaoli⁶⁾は、ラッテの顆粒管の産生物は pheromone として働くのではないかと考えた。Rogers と Brown-Grant⁷⁾は、マウスの顆

粒管は、血清から沃素を濃縮することを報告した。更に顆粒管は、ホルモン感受性臓器の一つとして注目され、最近では糖尿病との関連^{8,9)}なども推測されている。

この研究の目的は、齧歯類の顎下腺の機能の比較研究の手がかりの一助として、ヒメネズミ *Apodemus argenteus* Temminck の顎下腺の終末部および顆粒管の顆粒の性質、各構成部位の微細構造、雌雄における形態的な差の存否を検索することにより、更に顆粒管が野生動物でどの範囲まで分布するのかを検索する研究の一部として行った。

材料と方法

ヒメネズミ（札幌市藻岩山に生息し、1978年6月初旬に捕獲された）の成熟・雌雄各12例づつ、合計24例を用い、顎下腺の微細構造および分泌顆粒の性状を電顕的および光顕的に観察するため、20例のヒメネズミは撲殺され、採取された顎下腺の一側は、電顕材料として次のように3種の固定

Ultrastructure, ultracytochemistry and histochemistry of the submandibular gland of the field mouse, *Apodemus argenteus* Temminck.

Mikiyo ODAJIMA (Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Hokkaido University, Sapporo)

* 札幌市北区北13条西7丁目（〒060）

Jap. J. oral Biol., 22 : 30-40, 1980.

法により固定された。a) 冷 Karnovsky 固定液 (pH 7.4 燐酸緩衝液) 中又は b) 冷 1% OsO₄ 液 (同緩衝液) 中で、実体顕微鏡下で結合組織、リンパ節、脂肪等を除去し、1 mm³ の細片にしてから 4°C でそれぞれの固定液中で 2 時間震盪浸漬後、燐酸緩衝液 (pH 7.4) で 6~12 時間震盪洗浄した。c) Karnovsky 液固定を施した細片を二分した、一方を後固定として冷 1% OsO₄ 固定液による二重固定を施し、燐酸緩衝液 (pH 7.4) で震盪洗浄した。これらの 3 種類の固定法で固定した組織を通常により増強エチルアルコールシリーズで脱水し、Epon に包埋した。更に他の雌雄各 2 例は、2% pilocarpine 溶液 (1 cc/15g b.w.) を材料採取する 1 時間前に皮下注射し、上記同様 3 種の固定を行い、Epon 包埋した。超ミクロトーム (LKB 8800) で超薄切片を作製し、酢酸ウラニウム-クエン酸鉛の二重染色を施して電子顕微鏡 (日立 HU-11DS) で観察した。glycoprotein の検出には Karnovsky 液単独固定の切片を用いて、Thiery¹⁰ による PA-TCH-SP 染色法を用い電子染色を施さずに鏡検した。control として、連続する両隣の切片は過沃素酸化を除いたものと、反応を行わずに二重染色したものとを用いた。

二重固定の block から 1 μ 厚の Epon 切片を 5 μ の間隔を置いて取り、toluidine blue 染色を施し、50 個の顆粒管の直径を micrometer を用いて顕微鏡的測定法により計数的検索を行い、これを比較検討した。光顕的には他側の一部を用い、10% 中性ホルマリン固定後の paraffin block を 5~6 μ に薄切後、DMAB 亜硝酸法および Millon 反応による蛋白質の検出、0.05% McIlvaine 緩衝液添加 toluidine blue 染色 (pH 2.5, 4.1 と 7.0) による酸性粘液多糖類の検出と、PAS 反応による中性多糖類の検出を行った。

酵素活性検出のためには残りの顎下腺を用い、材料採取後直ちに starch¹¹⁻¹³⁾ と gelatin^{14,15)} による substrate film technique を用い、amylase と protease 活性の検出を行った。

結 果

光顕的所見

ヒメネズミの顎下腺の存在部位および一般構造

Table I Staining reactions of submandibular gland acinar cells and convoluted granular tubule cells in the field mouse.

	Acinar cells	Convoluted granular tubule cells
PAS	+	+
Tryptophan	±	+
Tyrosine	±	+
L.M. Toluidine blue metachromasia		
pH 2.5	±	-
pH 4.1	+	-
pH 7.0	+	+
Amylase	-	+
Protease	-	-
E.M. Glycoprotein	+	-

L.M. ; Light microscopy

E.M. ; Electron microscopy

については、多くの齧歯類の顎下腺と類似であった。終末部は、形態的には立方形又は円錐形で、顆粒は組織化学的には Table I の如くであった。

即ち、PAS 反応陽性、0.05% toluidine blue (pH 2.5, 4.1 と 7.0) 染色陽性で中性および酸性多糖類を含み、Millon 反応と DMAB 亜硝酸法による tryptophan 呈色反応は弱陽性で、微量の蛋白質を持ち、漿粘液性の性質を持つ。介在部はまれに顆粒を持つことがあり、toluidine blue 染色では緑色に染った。介在部に続く顆粒管部は顆粒を多数持ち、その性質は Table I の如くで、amylase 活性は、37°C、1 時間の incubation で陽性 (Fig. 1), protease 活性は陰性、PAS 反応は陽性、Millon 反応、tryptophan 呈色反応は共に陽性で、toluidine blue による染色では pH 7.0 でのみ metachromasia を示した。

更に 1 μ 厚の Epon 切片により、toluidine blue 染色を施した切片では、管腔を取り囲む細胞の核のほぼ中央が切れたもの 50 個についてその直径を計測し、その平均値および標準偏差について計算した結果、Table II の如く雌雄間に性差を認めることができなかった。

電顕的所見

終末部の顆粒は、二重固定によるものと、1%

Table II Measurement of the convoluted granular tubules of submandibular gland in the field mouse.

	♀	♂
Number	10	10
Body weight (gr)	14.6±1.4	13.8±1.2
Average in diameter (μ)	36.7±0.1	37.0±0.1

OsO₄液固定によるもの (Fig. 2) では、顆粒の見え方が異なり、前者では細胞内顆粒を4種類に分類することができ、1.5μ前後の density の低い雲絮状物質のみを容れたもの (I型)、ほぼ2μ大で中等度の density を持ち、時折扁心性に高い density の構造物および膜様物質を容れたもの (II型)、2~3μ大で微細顆粒状物質を容れ、内部に膜様の構造を持つもの (III型) と、1.5~2μ大の高い density を持つ微細顆粒状物質を容れるもの (IV型) などがみられ (Fig. 3, 4)、OsO₄液単独固定のものでは density の低い雲絮状物質で占められるにすぎなかった。雌では2種類の細胞が観察され、雄と同様の顆粒を持つ細胞の外に、時折いわゆる zymogen 顆粒様の density の高い均質無構造の顆粒を持っていた (Fig. 5)。

冷 Karnovsky 液単独固定による PA-TCH-SP 染色法による顆粒の染色状態は、I型では雲絮状物質に一致して還元銀が沈着し、II型、III型およびIV型では、微細顆粒状物質に一致して還元銀が均質に沈着し、内部に膜様構造を持つものではその膜に一致して強い銀の沈着がみられた (Fig. 6)。

一般構造では、細胞間分泌細管が良く発達し (Fig. 7)、顆粒は細胞間分泌細管や管腔に開口分泌され、核は顆粒により基底側へ圧排され、粗面小胞体および Golgi 装置は良く発達し、腺房細胞の基底側には筋上皮細胞が良く発達していた。介在部では、時折 density の高い均質無構造の顆粒を持ち (Fig. 8)、その顆粒は OsO₄液単独固定では二重固定よりもやや高い density を持ち (Fig. 9)、顆粒は開口分泌されていた (Fig. 10)。この顆粒は PA-TCH-SP 染色法では染色されなかった。

顆粒管では、density の比較的高い0.3~2μ大の均質無構造の顆粒を持ち、これは光顕所見における amylase 活性を示す顆粒であるが、この顆

粒は二重染色 (Fig. 11) におけるよりも OsO₄ 液単独固定 (Fig. 12) における方が density がやや高い。PA-TCH-SP 染色法では、顆粒膜のみが染色されるだけで、顆粒内容は反応陰性であるが、頂部にみられる小胞様構造や小顆粒は、反応陽性にみえる (Fig. 13)。

顆粒管顆粒の分泌については、正常時は apocrine 様の分泌を行うが、pilocarpine 注射1時間後のものでは顆粒膜同志の融合がみられ、更に開口分泌を行っていた。

線条部は一般にみられる構造を示したが、その頂部で microvilli の良く発達する時期では大きさ約1000~2000Åの小胞が多数みられ、その内容は明るい空胞様のものから中等度の density を持つものまで種々みられ、膜の一部がくぼんだり、膜表面と微小な管で連続しているのではないかとと思われる像が時折みられた (Fig. 14)。

考 察

本実験に使用した北海道札幌市藻岩山に生息するヒメネズミは、藤巻¹⁶⁻¹⁹⁾によれば、それらの体重と捕獲された時期および上顎第3臼歯 (M₃) の生え方およびその咀嚼面の磨滅状態により越冬成熟個体と判断された雌雄であるにもかかわらず、Epon 切片による顆粒管直径の計測ではその平均値に有意差はみられなかった。このことは、顎下腺における雌雄差についての多くの報告、即ち、三沢ら²⁾、Mudd と White²⁰⁾ がラットで顆粒管直径の計測により、福田¹⁾、Smith、と Frommer²¹⁾ がマウスで計量組織学的に両性間の差異を明らかにしたにもかかわらず、ヒメネズミにおいては顆粒管の直径に性差がみられなかった。このことは、形態的な性差の発現には種の差が本質的であるのかも知れないことを暗示している。

マウス、ラットおよび大多数の齧歯類の顎下腺終末部は、1種類の細胞により構成されているが、雌ヒメネズミの終末部では2種類の細胞がみられ、これは大陸の雌ヒメネズミ *Apodemus slavicus* L.^{22,23)} の終末部細胞にも共通しているので、このことがヒメネズミの基本種や亜種の本来の雌雄差なのかも知れない。当然のことながら雄のヒメネズミの顎下腺は漿粘液性でマウス型に属

し、雌のそれは漿粘液性と漿液性であることからヒト型の混合腺とも異なると結論される。

異なった固定液による所見の差異については、Tandler と MacCallum²⁴⁾ が野生動物の食虫類ハリネズミで、Karnovsky 液の固定と OsO_4 液の固定とでその所見に差異を認めているが、ヒメネズミにおいても両固定液に対して顆粒の示す態度に差異が認められた。

一般に多くの動物で、介在部はその頂部に顆粒を持つことがあり、ある種では中性や酸性の多糖類を、またあるものは中性の多糖類を、また多糖類に全く反応しない顆粒を持つものもある²⁵⁾。ヒメネズミでは、介在部の顆粒は時折みられる程度であるが、 OsO_4 液固定によりよく保存され、toluidine blue で緑色に染まる顆粒を持つことから、脂質に富むと考えられる。この顆粒は開口分泌される。顆粒管では、従来種々の酵素の検出が試みられ、Bloom ら²⁶⁾ は、ハムスターの顎下腺で、終末部や小葉内導管には peroxidase 反応を認めないが顆粒管には peroxidase 反応を認めることから、沃素代謝とこの peroxidase 活性との間に何らかの相関関係があるのではないかとしている。即ち、peroxidase は沃化物を酸化して沃素にして、沃素の細胞膜透過性を促進し、結果として沃素濃縮過程の一要因になっているのではないかと考察している。

一方、Brown-Grant と Tayler²⁷⁾ は、マウスの顎下腺顆粒管での沃素の蓄積能は組織学的な所見とは無関係であると述べている。このことについてはハムスターにおいても同様の報告がなされ、Kumlien ら²⁸⁾ によれば、雄ハムスターを castration しても形態学的には何ら変化がなく、peroxidase の含有量や沃素の蓄積には著変がないと報告している。

ラッテでは終末部のみに endogenous な peroxidase 活性を認め、将来の導管系を作る基になる胎生期および出生時の terminal tubule cell は peroxidase 活性を持たないと報告されている^{29,30)}。

starch substrate film technique を用いて、Smith と Frommer³¹⁾、Shear と Pearse¹¹⁾、Shear¹²⁾ は、マウス顆粒管で amylase 活性を検出し、Smith と Frommer³²⁾ はハムスター顆粒管で

amylase 活性を、更に Smith と Frommer³³⁾ は、Chilean Rodent のテグー (*Octodon degas*) ではその終末部に amylase 活性を認めるが、顆粒管には認めることができなかったと報告している。

Sreebny と Meyer³⁴⁾ は、ラッテ顎下腺に trypsin 様の protease を検出している。Ekfors と Hopsu-Harvi³⁵⁾ は、マウスの顎下腺で6種類の trypsin 様 esteroprotease を検出している。更に Junqueira ら³⁶⁾ は、多数の哺乳動物の耳下腺および顎下腺で amylase および protease 活性を生化学的に検出している。

今回、ヒメネズミでは、amylase 活性を検出することができたが、認められる protease 活性は検出されなかった。protease 活性の検出については、他種の field mouse でも生化学的に微量の存在しか認められておらず³⁶⁾、食性との関連も考えられ、組織化学的には検出され得ないのかも知れない。更にこれらの酵素は単に消化酵素や殺菌効果を発現する酵素として働くのか、又他の機能を発揮するための触媒として働くのか不明な点が多い。

顆粒管顆粒の分泌については、apocrine 様の分泌を行うが、pilocarpine 注射後1時間のものでは、終末部と同様の開口分泌を行っているものがみられる。正常時の分泌では、その顆粒を頂部に輸送するメカニズムについては不明であるが、zonula adherens の手前で頂部に存在する顆粒が崩壊または融解し、離出途中の apocrine 突起が density を上げている像をしばしば観察することがあり、まだ分泌前の細胞内顆粒に PA-TCH-SP 染色法で反応はみられないのに反し、離出中の頂部に反応がみられることがある。このことは顆粒内容が確実に管腔内へ放出されていることを示唆し、興味深い知見である。

小葉内導管は、その細胞の機能相により、明調細胞、暗調細胞と基底細胞の区別をみるが、明調細胞ではその分泌期に apocrine 突起を持ち、顆粒管と同様の apocrine 分泌を行う。暗調細胞ではその頂部に1000~2000Å の小胞を多数持ち、その内容は空のものと中等度の density を持つものがあり、空のものでは Rutburg³⁷⁾ の報告にも記載されている vesicle に類似している。ヒメネズミ

で見られた空の内容の vesicle では、微小な管 (100~200Å) で microvilli の基部や管腔面の形質膜に連続しているように見受けられ、これは導

管内よりの物質吸収の形態学的な証拠であるかも知れない。

Summary: This study of the field mouse was undertaken in order to determine the functional characteristics of convoluted granular tubules in rodent salivary gland.

The submandibular glands of the adult female and male field mice *Apodemus argenteus* Temminck were studied histochemically using toluidine blue (pH 2.5, 4.1 and 7.0, McIlvaine), reaction of PAS, reaction of Million for tyrosine, P-dimethylaminobenzaldehyde for tryptophan, a starch substrate film method for amylase and geratin substrate film method for protease and ultrastructurally and ultracytochemically by the PA-TCH-SP-stain method for glycoprotein. The submandibular glands of the field mice are composed of striated ducts, convoluted granular tubules intercalated ducts and terminal portions.

There were two types of the acinar cells in female. The acinar cells in female were mostly seromucous but a few were serous. The granules of the seromucous cells in both sexes were acid mucopolysaccharide, neutral mucopolysaccharide and glycoprotein positive and granules of serous cell were glycoprotein positive.

Electron-dense and osmophilic granules were often observed in the intercalated duct cells. The granules of the convoluted granular cells were tryptophan positive, tyrosine positive, neutral mucopolysaccharide positive, protease negative, amylase positive and glycoprotein negative.

The diameter of convoluted granular tubule cells in both sexes were measured by a micrometer under light microscopy and the average value and standard deviation was calculated statistically. From the result we concluded that there was no significant difference between male and female.

文 献

- 1) 福田 博: マウス顎下腺の計量組織学的研究—とくに雌雄差を中心として—。日本口腔科学会雑誌, 22: 12-25, 1973.
- 2) 三沢捨雄, 須貝芳子, 長井好子, 藤旗伊都子: 顎下腺に対する去勢および性ホルモンの影響に関する病理学的研究。神奈川歯科大学学会機関誌, 7: 45-55, 1972.
- 3) KRONMAN, J. H.: Hamster salivary gland sexual dimorphism, 1. Protein histochemical study. *J. Dent. Res.*, 42: 123-127, 1963.
- 4) KRONMAN, J. H.: Hamster salivary gland sexual dimorphism, 2. A histochemical study of acid phosphatase. *J. Dent. Res.*, 42: 825-830, 1963.
- 5) FLON, H., GERSTNER, R., MITCHELL, O. G. and FELDMAN, A.: Salivary glands of Heteromyid Rodents, with a summary of the literature on Rodent submandibular gland morphology. *J. Morph.*, 131: 179-194, 1970.
- 6) MATERAZZI, G. and VITAIOLI, L.: Observations on the formation of secretion by the cells of the 'convoluted granular tubules' of the submandibular gland of the rat. *J. Anat.*, 105: 163-170, 1969.
- 7) ROGERS, A. W. and BROWN-GRANT, K.: The effects of castration on the ultrastructure and the iodide-concentrating ability of mouse submaxillary salivary glands. *J. Anat.*, 109: 51-62, 1971.
- 8) HOSHINO, K., DECKER, R. F., MOLNAR, F. and KIM, Y. T.: Hyperglycemic effects of salivary duct ligation upon diabetes mellitus in mice. *Arch. Oral Biol.*, 21: 105-111, 1976.
- 9) LAWRENCE, A. M., TAN, S., HOJVAT, S. and KIRSTEINS, L.: Salivary gland hyperglycemic factor: An extra pancreatic source of glucagon-like material. *Science*, 195: 70-72, 1977.
- 10) THIÉRY, J.-P.: Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines in Microscopie Électronique. *J. Microsc. (Paris)*, 6: 987-1018, 1967.
- 11) SHEAR, M. and PEARSE, A. G. E.: A

- starch substrate film method for the histochemical localization of amylase. *Exp. Cell Res.*, **32**: 174-177, 1963.
- 12) SHEAR, M.: Substrate film techniques for the histochemical demonstration of amylase and protease in salivary gland. *J. Dent., Res.*, **51**: 368-380, 1972.
 - 13) SMITH, R. J., FROMMER, J. and SCHIFF, R.: Localization and inset of amylase activity in mouse salivary glands determined by substrate film method. *J. Histochem. Cytochem.*, **19**: 310-319, 1971.
 - 14) CUNNINGHAM, L.: Histochemical observations of the enzymatic hydrolysis of gelatin films. *J. Histochem. Cytochem.*, **11**: 426-435, 1967.
 - 15) SHEAR, M.: The histochemical demonstration of protease activity in rat and guinea pig adipose tissues. *J. Histochem. Cytochem.*, **17**: 408-410, 1969.
 - 16) 藤巻裕蔵: ヒメネズミの齢査定と成長. 哺乳類科学, **34**: 26-29, 1977.
 - 17) 藤巻裕蔵: 日本の哺乳類(9) けっ歯目, アカネズミ属ヒメネズミ. 哺乳類科学, **19**: 1-11, 1970.
 - 18) 藤巻裕蔵: ヒメネズミの繁殖活動. 哺乳動物学雑誌, **4**: 74-80, 1969.
 - 19) 藤巻裕蔵: 北海道産ヒメネズミの外部形態の齢変異. 北海道大学農学部邦文紀要, **5**: 212-217, 1966.
 - 20) MUDD, B. D. and WHITE, S. C.: Sexual dimorphism in the rat submandibular gland. *J. Dent. Res.*, **54**: 193, 1975.
 - 21) SMITH, R. J. and FROMMER, J.: Quantitative morphology and carbohydrate histochemistry of the mouse submandibular gland following prepubertal castration. *Am. J. Anat.*, **144**: 137-148, 1975.
 - 22) RAYNAUD, J. and RAYNAUD, A.: Variations Pondérales De La Glande Sous-maxillaire Des Mulots (*Apodemus sylvaticus* L.) et Modifications Histologiques. *C. R. Soc. Biol.*, **138**: 243-244, 1944.
 - 23) RAYNAUD, J. and RAYNAUD, A.: Etat de Developpement Du Segment Tubuleux Des Glandes Sous-Maxillaires Du Mullot (*Apodemus sylvaticus* L.), *Bull. Soc. Zool.*, **69**: 69-76, 1944.
 - 24) TANDLER, B. and MACCULLUM, D. K.: Ultrastructure and Histochemistry of the Submandibular Gland of the European Heddyhog, *Erinaceus europaeus* L., I. Acinar Secretory Cells. *J. Ultrastr. Res.*, **39**: 186-204, 1972.
 - 25) MUNHOZ, C. O. G.: Histochemical classification of acini and ducts of parotid glands from Artiodactyles, Carnivores and Rodents. *Acta Histochemica.*, **39**: 302-317, 1971.
 - 26) BLOOM, G. D., CARLSÖÖ, B. and KUMLIEN, A.: Cytochemical localization of peroxidase activity in the submandibular salivary gland of the hamster. *Histochemie*, **22**: 294-301, 1970.
 - 27) BROWN-GRANT, K. and TAYLOR, W.: The relation between structure and concentration of iodide by the submandibular glands of mice and hamsters. *J. Physiol. (Lond.)*, **165**: 508-518, 1963.
 - 28) KUMLIEN, A., CARLSÖÖ, B. and BLOOM, G. D.: Iodide accumulation and peroxidase activity in the submandibular salivary gland of the normal and castrated male hamster. *Arch. Oral Biol.*, **19**: 577-582, 1975.
 - 29) YAMASHINA, S. and BARKA, T.: Localization of peroxidase activity in the developing submandibular gland of normal and iso-proterenol-treated rats. *J. Histochem. Cytochem.*, **20**: 855-872, 1972.
 - 30) YAMASHINA, S. and BARKA, T.: Development of endogenous peroxidase in fetal rat submandibular gland. *J. Histochem. Cytochem.*, **21**: 42-50, 1973.
 - 31) SMITH, R. J. and FROMMER, J.: Effects of prepubertal castration on development of granular tubules and amylase activity in the male mouse submandibular gland. *Arch. Oral Biol.*, **17**: 1561-1571, 1972.
 - 32) SMITH, R. J. and FROMMER, J.: Amylase localization in hamster submandibular glands. *J. Dent. Res.*, **52**: 395, 1973.
 - 33) SMITH, R. J. and FROMMER, J.: On the function of granular tubules in rodent submandibular glands; histochemical observations on *Octodon degas*. *Arch. Oral Biol.*, **17**: 1375-1380, 1972.
 - 34) SREEBNY, L. M. and MEYER, J.: Salivary glands and their secretions, Hormones, Inanition and Salivary glands, 83-102, *Pergamon Press*, New York, 1964.
 - 35) EKFORST, T. O., MALMIHARJU T., and HOPUSU-HAVU, V. K.: Isolation of six trypsin-like Esteroproteases from the mouse submandibular gland. *Enzymologia.*, **43**: 151-165, 1972.
 - 36) JUNQUEIRA, L. C. U., TOLEDO, A. M. S. and DOINE, A. I.: Digestive Enzymes in the Parotid and Submandibular Glands of Mammals. *An. Acad. Brazil Ciênc.*, **45**: 629-643, 1973.
 - 37) RUTBERG, U.: Ultrastructure and Secretory Mechanism of the Parotid Gland. *Acta Odont. Scand.*, **19**: suppl. 30, 1-115, 1961.

Explanation of Figures

Abbreviations Used on the Figures

CGT: Convoluted granular tubule
Gr: Granule
MLS: Membrane-like structure
ZGr: Zymogen-like granule

Ic: Intercellular canaliculus
L: Lumen
V: Small vesicle
Mv: Microvilli

- Fig. 1 Fresh frozen cryostat section mounted on starch film and stained with iodine after incubation. There is amylase activity in the convoluted granular tubules in the field mouse, *Apodemus argenteus* Temminck submandibular gland. $\times 248$.
- Fig. 2 Fixation of 1% OsO_4 solution. There is only flocculent materials in the granules of the acinar cell. $\times 5,700$.
- Fig. 3 Fixation of Karnovsky's and 1% OsO_4 solutions. 4 types of granules in the acinar cell were observed. Male. $\times 13,440$.
- Fig. 4 Fixation of Karnovsky's and 1% OsO_4 solutions. Membrane-like structure in the granules of acinar cell (arrowhead) was observed. $\times 12,880$.
- Fig. 5 Fixation of Karnovsky's and 1% OsO_4 solution. Zymogen-like granules (arrowhead) observed were near the Golgi apparatus in the acinar cell of female submandibular gland. $\times 11,050$.
- Fig. 6 Fixation of Karnovsky's solution, PA-TCH-SP-stain. Flocculent materials of type I granules in the acinar cell showed weak reaction. Type III granules and membrane-like structures of type II granules showed relatively strong reaction. Type IV granules showed strong reaction for glycoprotein. $\times 14,840$.
- Fig. 7 Intercellular canaliculus in the acinar cell was well developed near to the cell base. $\times 9,800$.
- Fig. 8 Intercalated duct cell. Many dense granules were often observed in the apical region of cytoplasm. $\times 16,800$.
- Fig. 9 Fixation of 1% OsO_4 solution. Electron-dense granules in the intercalated duct cell were observed near the Golgi apparatus. $\times 11,400$.
- Fig. 10 Fixation of 1% OsO_4 solution. Intercalated duct cell. Secreting granules (arrowhead).
- Fig. 11 Fixation of Karnovsky's and 1% OsO_4 solution. Convoluted granular tubule cells filled with electron-dense granules. $\times 8,400$.
- Fig. 12 Fixation of 1% OsO_4 solution. The granules in the convoluted granular tubule cells were more electron-dense than those of Karnovsky's fixation. $\times 4,500$.
- Fig. 13 Fixation of Karnovsky's solution. Apical region of convoluted granular cells. Reaction of glycoprotein of granule membrane was positive and reaction of matrix of intragranule was negative. There were positive reactions in small granules (arrowhead). $\times 31,875$.
- Fig. 14 Double fixation. The vesicles (1000~2000Å in diameter) were observed at apical portion of striated duct cell. A vesicle continued with narrow tube (100~200Å, arrowhead). $\times 38,400$.