顎下腺粘液細胞の分泌顆粒の研究

高 野 一 雄 新 沼 若 江 磯 貝 浩

東日本学園大学歯学部第一口腔解剖学教室

〔受付：昭和57年2月19日〕

Studies on the secretory granules in the mucous cell of the submandibular gland

Kazuo Takano, Wakae Niinuma and Hiroshi Isogai

*Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Higashi-Nippon Gakuen University
Tobetsu-Kanazawa 1757, Ishikari, Hokkaido, 061-02*

〔Accepted for publication : February 19, 1982〕

Key words: fuse / secretory granule / limiting membrane / mucous cell

Abstract: The secretory granules which emerge within the mucous cells of the submandibular gland are extremely small in size, but gradually grow in diameter and those situated right under the cell surface are large. It is understood that the granules are released ultimately from the cell through its surface.

It is known, however, that in almost all cases, small granules fuse with each other to grow in volume. A few reports are available concerning the fusion of granules and its assorted phenomena observed so far. The author made his observations by focusing on the secretory granules and obtained the following results. Small granules have a characteristic of fusing with each other, but they can neither penetrate nor fuse with plasma membrane. However, larger granules have the ability of fusing with plasma membrane, but they seem to have less capability of fusing with other granules.

緒 言

顎下腺終末部の粘液細胞には、多数の分泌果粒が分布しており、これらの果粒は最終的に細胞外に放出される。

果粒は細胞内に出現した直後のものは小型であるが、細胞外へ放出直前と思われるものは極めて大型になっている。

果粒は小型のものから大型のものに変化する必要性があるらしく思われる。

規模を増す方法は2つ考えられた。果粒自身が細胞質中を細胞自由面に向かって移動する間に物質を取り込むことであり、他の方法は果粒が他の果

粒と癒合を行って合体することにより規模を増す場合とである。果粒が内部に物質を取り入れていることは本報告では明らかにすることはできない。

果粒が他の果粒と癒合しつつある所見は豊富に得ることができるので、前者の方法が存在する可能性を無視することはできないが、大部分の場合は果粒間癒合によって大型化して行くものと考えられる。

癒合の現象は、いわゆる細胞深部に出現した果粒が細胞自由面に移動する間に行なわれている。また、癒合現象は果粒と果粒とが互いに接近することから始まり、第二段階として、果粒と果粒との接触が見られ、第三段階では果粒を包む分泌果

粒限界膜に形状変化が生じ、癒着面に小孔が生じる。最終段階で、癒合がほぼ完成すると、互いの果粒の内容物が共通し、限界膜も次第に球状のものになって終る。

材料と方法

材料にはウイスター系ラットの雌成体を実験に用いた。入手時の体重は200~235gであり、人工飼料と水は自由に摂取できるようにした。

方法として、エーテルとペントバルビタールナトリウムを用いて麻酔を行い、直ちに顎下腺を摘出した。顎下腺は冷グルタルアルデヒド液にて固定し、固定開始後15~20分で同上液中で細折し、2時間固定を行った。

次いで、1%オスミック酸を用いて後固定を3時間行った。

その後、エタノール系列で脱水、酸化プロピレンを介してエポン包埋した。薄切した切片は2%ウラニール液とReynold法によって染色し観察に用いた。

所 見

ラット顎下腺終末部の粘液細胞は分泌果粒（以下、果粒）を豊富に保有しているが、これらの果粒は電子密度の高い分泌果粒限界膜（以下、限界膜）によって周囲を包まれている。果粒の内部にはほぼ均一で明るい内容物が容れている。

これらの果粒のうち、細胞自由面直下の細胞質に見られるものは直径 $1.0\mu\sim 1.5\mu$ 前後の大型のものが多いが、比較的細胞深部に分布するものは $0.1\sim 0.3\mu$ 前後の小型なものとして認められる。

また、大型の果粒は多角形を示し、隣接する果粒と押しあって境界は凹凸を呈する。一方、小型の果粒は細胞質中に浮遊しているかのように点在し、球形を保っている。

果粒は小型のものから大型のものに変化して行くらしく、先に記したように細胞自由面に近い位置にあるものがより大きい規模を保っている（Fig. 1）。

細胞内で果粒が他の果粒と癒合しつつある所見像を豊富に得ることができる。果粒が出現した直後から他の果粒と癒合して大きくなっていくこと

が判る。

癒合の現象の過程は、果粒間における接近に始まり、接触、癒合面の変化と進み最終的に単独の大きい果粒が生ずるものとして理解できるが、これらの過程の大部分は連続した変化なので無数の段階が観察できる。

果粒は出現した後、細胞質中をおおむね細胞自由面に向かって移動して行き、その途中で他の果粒と接近するが、接近しつつある所見像は正確にできない。

果粒と果粒が接触している所見像は得ることができる（Fig. 1）。果粒の限界膜は3層構造なので、接触した直後では6層となっている。果粒の限界膜は暗、明、暗帯であるのでさらに、暗、明、暗帯が観察できる。

癒合の現象の過程が進むと癒合が開始され、6層の膜は5層に変化するが、膜は一方の果粒側から暗、明、暗、明、暗帯となっている（Fig. 2）。膜のうち、中央の暗帯はその両側の暗帯のものより肥厚している。

肥厚した中央部の暗帯を端の方にたどると再び2つの暗帯に分岐するが、それらはそれぞれの果粒の限界膜の外葉に相当する。外葉と外葉との間には細胞質が認められるので、癒合の行なわれていない部分となる（Fig. 3）。

癒着した5層の膜の中央部の暗帯は次第に厚さを減じて行き観察できなくなると、3層になる（Fig. 4）。

この時、暗、明、暗帯の膜の構成のうち、両側の暗帯の外側には果粒の内容物が接触し、癒着する前の果粒の限界膜の内葉が果粒の内容物を区切っている。さらに、時間が経過すると暗帯のところどころも観察できなくなる。所見像によっては癒着面において観察できる部分と消失して観察ができなくなる部分とが交互になっているように見える（Fig. 4）。

果粒間の癒着面の部分で膜が観察できなくなった時、内容物は交通する。膜の観察できなくなった部分が増して行き、また、隣りの消失した部分と連続し、さらに大きい消失面が出現する。まったく、膜が観察できなくなった時、癒合の現象の大部分が終了する。

Fig. 1 Cytoplasm is present between two limiting membranes. ($\times 60,000$)

Fig. 2 The fused five layers membrane by structured two limiting membrane is shown, ($\times 50,000$)

Fig. 3 The fused membrane made of three layers seen between two granules. ($\times 30,000$)

Fig. 4 The view of portion of portion of less a part on the membrane ($\blacktriangle$) and three fused membranes is shown. ($\times 26,000$)

癒合面の部分において、果粒と果粒との間にくびれが生じたように見え、そのくびれは最終的に消失してしまう。くびれが認められなくなった時、癒合の現象は完了したことになり、果粒は球形に近い形状を保つ。

考 察

粘液細胞の果粒のうち、細胞自由面直下の領域に分布するものは大型であるが、隣接する果粒と接触し合った状態で得られるために多角形を呈している。一方、ゴルジ装置などが分布するような、いわゆる細胞深部の領域に見られる果粒は小型で球状形を示し、細胞質中に点在している¹⁻⁴⁾。

果粒は細胞深部から細胞自由面に向かって移動を行うらしく、その移動する間に小型のものから大型のものに変化すると考える。

果粒の形状の変化は本報告の場合規模の増大を意味するが、増大をはかる方法として次の2つの場合があると考えられる。

果粒自身が細胞質から物質を取り込んで大きくなる場合が考えられ、また、果粒が他の果粒と癒合することによって規模の増大を行う場合の2つである。

果粒が自身で細胞内を移動する間に細胞質などから物質を取り入れて大きくなる場合も充分に考慮する必要があるが、本報告の実験方法では明らかにすることができない。

細胞内に果粒が出現した後、次第に大きさを増して行く例はいくつかの場合で知られている^{1,4,5)}。それらの果粒を包む分泌果粒限界膜はゴルジ装置由来であるとされている^{5,6)}。果粒が物質を取り込んで大きくなると果粒限界膜もそれに応じて増大することになるが、限界膜を補充できるような物質は細胞内に認めることができない⁷⁻⁹⁾。

このようなことから、果粒自身が物質を取り入れて増大することは僅かな量であろうと考える。また、果粒の規模の増大にこの方法は余り有効ではないと考える。

細胞内では果粒と果粒とが内容物を連続させている果粒の所見像が豊富に得られる。このことは果粒と果粒とが癒合していることを示している⁴⁾。

観察結果では細胞内のいたるところで癒合像が

豊富に見られるので、果粒は無差別に癒合を行う能力を備えているものと思われる。推測ではあるが、癒合の現象が始まって終了する時間は極めて短時間でなわれていると考える。

癒合の現象の最初は、果粒と果粒とが互いに細胞質内で接近し合うことであると考えられる。しかし、そのような形状を明らかにすることは本報告ではできない。

唾液腺の終末細胞の果粒が3段階の過程によって癒合現象が行なわれていると考えている Young らは、上に述べたように果粒が細胞内で接近しつつある段階を本報告と同様に触れておらず、第一段階として、果粒の限界膜と限界膜の接触が見られる時であるとしている⁹⁻¹²⁾。

果粒が互いに接近しつつある形態は示せないで、癒合の現象は Young らの説明を受け入れることになる。

また、分泌果粒を包む分泌果粒限界膜（以下、限界膜）は形態的に3層構造であることは Robertson や Singer らの説明をすべて取り入れても疑問を持たない^{13,14)}。限界膜が互いに接触する段階の時期の部分では、限界膜の外葉と外葉とが接触するということであり、外葉の部分に変化が生じる。すなわち、限界膜は一方の果粒側から、暗、明および暗帯であるので、暗帯と暗帯が接触することを示すことになる。この時、この間の部分に細胞質がまるで1層の膜厚までになったものを見ることができる。しかし、これは正確には接触ではないのであるが、このような時には7層であるかのように見える。

接触した2つの限界膜は6層である。そして、一方の果粒側からの暗、暗および暗帯のうち、最後の暗帯は外葉に相当する。この部分が癒合すると暗、明、暗、明および暗帯となる。この場合の中央の暗帯はその両側の暗帯より厚くなっている時期が存在するはずである。

外葉と外葉が癒合してしまうので6層あったものは5層として認められ、6層から5層になることは Tandler らがネコの顎下腺で、Kim らがラットの舌下腺の場合で報告されている^{15,16)}。

癒合の現象が進むと、5層の膜は3層構造として認められ、それぞれの限界膜の内葉が癒着した

ことによる。この時期では、先に癒合していた外葉の部分はすでに癒着面以外の方向に移動して行くことが考えられる。そして、その3層構造の膜のところどころで観察できない部分が生じたが、これは方向が異った場合では小孔が生じているものと考えられる。

観察できなくなった小孔の部分は次第に広がるものらしく、また、小孔の数も増して行く。

小孔が生ずる部位は膜の薄くなったところから順次起こるものであり、その部分の膜の極性が変化した部位であると考えられる。また、膜の組成が変化したと考えられる。

膜が極性を変えることは最近 Satir らが報告している¹⁷⁾。極性が変わることからは次のようなことが考えられた。

細胞内に見られる果粒のうち、細胞自由面直下に近い領域にみられる果粒は他の果粒と癒合しつつある所見はほとんど得られないので、膜の極性または組成の変化により果粒間癒合の能力が低下する可能性があると考えられる。しかし、一方では、形質膜と癒合する能力が新たに生ずると思われる。このことは、大型の分泌果粒の限界膜と細胞形質膜に共通した構造が見られることを意味する。

ゴルジ装置から離脱した直後の小型の果粒は、他の果粒と癒合する能力は当然持っているが、この頃の限界膜と細胞形質膜とは共通した性質が欠けているのではないかと考える。膜が恒常的でないことは Satir も分泌小滴が細胞膜を介して内容

物を放出する時に、小滴が接した細胞膜の部分が構造を変化させることを報告している¹⁷⁾。

一般的な膜において、外葉と内葉とは構造を異にしていることは、凍結乾燥法などによる観察で明らかにされつつある¹⁸⁻²⁰⁾。このことは、本報告の限界膜の外葉と内葉とに應用できるのであれば、外葉は外葉のみに、内葉は内葉のみに癒合することが考えられる。

細胞内の構造物や物質が移動する時には、微小管、微細線維などの存在により、それらが方向づけられるという説明が見られる²¹⁻²²⁾。本報告の果粒も細胞基底部から細胞自由面方向に向って移動を行うので、充分留意したが微小管に類した構造物は認められなかった。

果粒の移動方向は明らかなので、微小管や微細線維が存在するならば、その方向は細胞隣接面に平行に分布している必要がある。

それらを軸として果粒が移動すると考えられるならば、果粒は他の果粒と常に上下に連続しているべきであるが、果粒は種々な形状で互いに連なっている。また、上下に連続しているならば、果粒間癒合は細胞基底面に常に平行の状態で行なわれるべきである。しかし、実際には癒合面はあらゆる方向で行なわれている。このことは、果粒は他の構造物に影響されずに移動すること、他の果粒とどの方向からでも癒合することができることを意味するので、果粒の細胞内移動の力は他の力によっていることが考えられる。

抄録：顎下腺の終末部の粘液細胞に出現した顆粒は小型のものから大型のものに変化して行き、最終的には細胞外に放出されると理解されている。

顆粒がより大型になるためにはいくつかの方法があると考えられるが、大部分の場合には顆粒が他の顆粒と融合することによって行われるものと思われる。

顆粒の融合の現象についてはいくつかの細胞の場合で報告されているが、今回、顎下腺の場合で検索した。

その結果、小型の顆粒は他の顆粒と融合する性質をもっている反面、細胞形質膜を通過できず、また、形質膜と融合する能力を持っていないこと。また、大型の完成した顆粒は他の顆粒と融合する能力が低下し、細胞形質膜と融合する性質が次第に発現してくるものと考えた。

文 献

- 1) Castle, J. D., Jamieson and Palade, G. E.: Radio-autographic analysis of the secretory process in the parotid acinar cell of the rab-

bit. *J. Cell Biol.*, 53 : 290-311, 1972.

- 2) Bloom, G. E., Carlsoo, B., Anielsson, A. and Wahlin, J.: Ultrastructural cytochemistry of the secretory granules of the hamster submandibular gland. *Histochem.*, 51 : 261-268,

- 1977.
- 3) Kim, S. K., Han, S. S. and Nasjleti, C. E. : The fine structure of secretory granules in submandibular glands of the rat during early postnatal development. *Anat. Rec.*, **163** : 463-476, 1970.
- 4) 高野一雄：ラット顎下腺腺房細胞の電子顕微鏡的研究, 歯基礎誌, **18** : 99-112, 1976.
- 5) 高野一雄：ラット顎下腺漿液細胞のゴルジ装置内にみられた単層膜様構造物, 神奈川歯学, **11** : 22-28, 1976.
- 6) Hand, A. R. : Morphology and cytochemistry of the golgi apparatus of the rat salivary gland acinar cells. *Am. J. Anat.*, **130** : 141-158, 1971.
- 7) Patzelt, C., Brown, D. and Jeanrenaud, B. : Inhibitory effect of colchicine of amylase secretion by rat parotid glands. *J. Cell Biol.*, **73** : 578-593, 1977.
- 8) Amsterdam, A., Ohad, I. and Schramm, M. : Dynamic changes in the ultrastructure of the acinar cell of the rat parotid during the secretory cycle. *J. Cell Biol.*, **41** : 753-773, 1969.
- 9) Tandler, B. and Poulsen, J. H. : Ultrastructure of the cat sublingual gland. *Anat. Rec.*, **87** : 153-172, 1976.
- 10) Young, J. A. and van Lennep, E. W. : The morphology of salivary glands. 1st ed., p. 133-137, Academic Press, London, 1978.
- 11) 高野一雄：ラット顎下腺終末細胞の分泌顆粒の放出様式について, 東邦医学会誌, **24** : 1-13, 1977.
- 12) Poste, G. and Allison, A. C. : Membrane fusion. *Biochim, Biophys. Acta.* **300** : 421-465 1973.
- 13) Robertoson, J. D. : The ultrastructure of cell membranes and their derivatives. *Biochem. Soc. Symposia.* **16** : 3, 1959.
- 14) Singer, S. G. and Nicolson, G. L. : The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* **175** : 720-731, 1972.
- 15) Tandler, B. and Poulsen, J. H. : Fusion of envelope mucous droplets with the luminal plasma of membrane in acinar cells of the cat submandibular gland. *J. Cell Biol.*, **68** : 775-781, 1976.
- 16) Kim, S. K., Nasjleti, C. E. and Han, S. S. : The secretion processes in mucous and serous secretory cells of the rat sublingual gland. *J. Ultrastruc. Res.*, **38** : 371-389, 1976.
- 17) Satir, B. L., Schooley, C. S. and Satir, P. : Membrane fusion in a model system. *J. Cell Biol.*, **56** : 153-176, 1973.
- 18) Orti, L., Perrelet, A. and Friend, D. S. : Freeze-fracture of membrane fusions during exocytosis in pancreac β -cells. *J. Cell Biol.*, **75** : 23-30, 1977.
- 19) Da Silva, P. P., de Menezes, P. A. and Mather, I. H. : Structure and dynamics of the bovine milk fat globule membrane viewed by freeze fracture. *Exp. Cell Res.*, **125** : 127-139 1980.
- 20) Shotton, D., Thompson, K., Wofsy, L. and Branton, D. : Appearance and distribution of surface proteins of the erythrocyte membrane. *J. Cell Biol.*, **76** : 512-531, 1978.
- 21) Seybold, J., Bieger, W. and Kern, H. F. : Studies on intracellular transport of secretory proteins in the rat exocrine pancreas. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histol.*, **368** : 309-327, 1975.
- 22) Reaven, E. P. and Reaven, G. M. : Evidence that microtubules play a permissive role hepatocyto very low density lipoprotein secretion. *J. Cell Biol.*, **84** : 28-39, 1980.