ラット顎下腺主導管の基底細胞 における孤立線毛の微細構造

東 一 善 佐 々 昭 三

神奈川歯科大学組織学教室（主任：佐々昭三教授）

〔受付：昭和60年6月5日〕

Fine structure of primary cilia in the basal cells of main excretory duct of rat submandibular gland

Kazuyoshi Higashi and Shozo Sasa

Department of Histology, Kanagawa Dental College, Inaoka-cho 82, Yokosuka 238

[Accepted for publication : June 5, 1985]

Key words: primary cilium / basal cell / main excretory duct / submandibular gland / rat

Abstract: Primary cilia in the basal cells of main excretory ducts of rat submandibular glands were observed by transmission electron microscope.

About 58 % of basal cells had primary cilia which projected in random directions. The longest of all cilia in the basal cells was about 5 μ m in length. The basal body, which was composed of nine sets triplet microtubules and was accompanied by another centriole, showed a "two centriole type".

In the most proximal portion of a cilium, doublet microtubules showed a 9+0, while in more distal portion, doublet ones decreased in number and their pattern changed. It seemed that cilia could not move in the absence of central microtubules. Those structures were similar to those of sensory or chemoreceptive cilia. Therefore, it was suggested that the primary cilia in basal cells might be sensory or chemoreceptive.

A primary cilium originated from the depression of basal cell. In more distal portion of cilium, a half desmosome was present between the ciliary membrane and a surrounding basal cell surface.

A few rootlet fibers were present around the basal body of a cilium. Therefore, the basal body may be moved by intracellular movement.

From above observations, it appeared that the tip of primary cilia might be moved passively by basal body movement on the half desmosome as the fulcrum. So, it was suggested that cilia might be engaged in mixing-up of flowing substance in the intercellular space, and might be sensory or chemoreceptive.

緒 言

唾液腺の形態学的研究は数多く報告されている¹⁻⁴⁾。しかし、それらは主として腺房細胞あるいは小葉内の導管系の形態学的研究に限られており、導管、特に主導管の形態学的研究は少ない⁵⁻⁷⁾。従来より主導管の機能については重視されておらず、ただ単に唾液を腺房から口腔内へ導くための管であって、他に何等の機能は有していな

いものと考えられて来た。従って唾液腺の主導管について検索したものは少ない。しかし近年になってその導管上皮細胞の分泌像や刷子細胞の存在が報告されたり^{5,7)}、またこれら唾液腺の主導管の機能として無機イオンの吸収等があると推察され、唾液の成分の調節に関与しているものと考えられている⁶⁾。しかしながらそれらの報告は上皮細胞の検索が主であり、基底細胞の形態学的研究は少ない⁵⁾。しかもその基底細胞は上皮細胞の未熟型であって何ら機能を有しないものと考えられ

てきた。しかるに他の組織、特に胆嚢上皮中の刷子細胞下に基底細胞が存在し、かつその基底細胞が上皮細胞の補充細胞としての役割以外に、間接的に何らかの機能を有している可能性が示唆されている⁸⁾。またこの唾液腺主導管の基底細胞中に孤立線毛が存在するという中村らの報告が近年認められる⁹⁾。彼らの検索はイヌの耳下腺主導管であり、ラット顎下腺主導管での検索はない。この孤立線毛は種々の器官、組織で見出されており^{10-12,22)}、その機能についても種々の説がある。しかしこの孤立線毛の基底構造や微細管の配列等から、その機能は感覚あるいは化学受容器であるという説が有力である^{10,13,22)}。唾液腺主導管上皮中の基底細胞に見出された孤立線毛も同様に何らかの機能を有している可能性がある。しかし基底細胞中の孤立線毛の微細構造には不明瞭な部分があり、著者らは連続切片法を用いて透過型電子顕微鏡で孤立線毛を観察し、この点を明らかにした。

材料および方法

Wistar 系ラット（8週齢，170～180gm body-wt）の雄5匹の顎下腺主導管を材料として用いた。まずラットをペントバルビタール麻酔し、顎下腺主導管を腺房部から開口部付近まで露出させ、次いでそのうちの腺房側1/2の主導管を摘出し、その後に直ちに磷酸緩衝液（0.1 M, pH 7.2）¹⁴⁾を用いて2.5%にしたグルタルアルデヒド液中に投入した。投入後20～30分後に実体顕微鏡下で約2～3 mm³の大きさに細切し、同液中で1時間固定した。後固定として同緩衝液で1%にしたオスミウム酸液を用いて1時間固定した。その後に暫時エタノール系列で脱水を行ない、酸化プロピレンを介してエポン812に包埋した¹⁵⁾。なお95%エタノールまでは氷室にて4℃に保った。包埋する際に試料の方向付けを行ない、薄切方向は腺房側より遠位部に向かって行なった。薄切はPorter-Blum MT-1型ミクロトームを用いて行ない、超薄切片は酢酸ウラニル液¹⁶⁾と鉛液¹⁷⁾の二重染色を施して、その後にJEM 100B型透過型電子顕微鏡にて観察した。なおラット5匹のうち1匹の主導管を120枚の連続切片とし、残りは通常の切片とした。

観 察

顎下腺の主導管上皮中に見出された基底細胞は大小様々の形状を示すものが認められた。この基底細胞から上皮細胞の細胞間隙に突出する孤立線毛の存在を認めた（Fig. 1-6）。連続切片を用いて基底細胞の数を調べると、ほぼ基底細胞の全形を検索出来たのは81例で、このうち47例の基底細胞に孤立線毛の存在を認めた。すなわち孤立線毛の出現率は約58%であった。この孤立線毛は大小様々の基底細胞のいずれにも認められたが、その出現率は基底細胞の形状によって差異がみられた。しかしその詳細は不明であった。この孤立線毛は基底細胞から種々の方向の細胞間隙へ向かって突出していた（Fig. 1-6）。すなわち管腔方向へ向かって突出しているもの（Fig. 2, 4-6）、管腔とは平行に突出しているもの（Fig. 3）や逆に基底部に向かって突出しているもの（Fig. 1）等があり、その突出方向は不定であった。しかしそのいずれについても基底細胞の細胞質中に存在している基底小体から線毛基質中に多くの微細管が伸びていて、その構造に差異は認めなかった。この孤立線毛の長さは様々であったが、多くの孤立線毛はその先端部の細胞膜が不明瞭であり、明らかに途中で切断されたと考えられる像であった（Fig. 1-3）。しかし時には先端部の細胞膜が明瞭なものも認めた（Fig. 6）。このような孤立線毛の長さは起始部から先端部までは、最長のもので約5 μm にも達した。この孤立線毛を有する基底細胞は割合に大型のものであった（Fig. 6）。また短いものでは約0.5 μm 程で、細胞外に突出していないものと考えられた。またこの様な短い孤立線毛を有する細胞は割合に小型の細胞であった（Fig. 4, 5）。これらの孤立線毛の突出する部位は定まっておらず、基底細胞の管腔側細胞質から突出するもの（Fig. 1, 2, 6）や細胞側面部の細胞質から突出するもの（Fig. 3～5）等を認めた。またその突出部付近の細胞膜は内側に向かって陥凹していた。明らかに孤立線毛が細胞外へ突出していないものでは基底小体の先端部を空胞が覆っていて、その中に細胞質が隆起し、その細胞質中に微細管が基底小体から伸びていた（Fig. 4, 5）。

Fig. 1 Fig. 1 shows epithelial cells (Ep) of main excretory duct of submandibular gland. Some basal cells (Bc) are present between epithelial cells. One has a primary cilium (arrow) which projects toward the basal side. $\times 6,000$

この孤立線毛の基底小体を横断像で観察してみると、周知の中心子の構造と同様で3本が1組となった微小管が同心円状に9組配列して認められ、その周りには基底小体から伸びる電子密度の高い構造を認めた (Fig. 7)。この構造物は微細な線維から構成されており、すでに報告のある rootlet fiber の構造と一致した (Fig. 7, 12)。この基

底小体付近には明らかに他の中心子と考えられる構造が存在していた (Fig. 2)。また基底小体付近に他の中心子が認められない場合にも連続切片で基底小体付近を観察すると中心子の存在を認めることが出来た。さらに基底小体付近には Golgi 装置を認めた (Fig. 2, 6) ほか、多くの微細線維が存在し、ときにはそれらが束となっているのが認

Fig. 2 A basal cell has a primary cilium accompanied with another centriole (Pc). G; Golgi apparatus. $\times 9,000$

Fig. 3 The basal cell (Bc) has a primary cilium (arrow) which is oriented parallel to the luminal surface. $\times 11,000$

められた (Fig. 3-5, 12)。この微細線維は明らかに付近の desmosome から細胞質中に伸びていた (Fig. 4, 12)。この基底小体から孤立線毛基質に伸びた微小管を連続切片で観察すると、基底小体から孤立線毛への移行途中と考えられる像の微小管の数は2本が1組となった、いわゆる二重管構造を示し、それらが周辺に9組同心円状に配列していて、その基底は細胞質と連なり、その電子密度は細胞質と差異を認めなかった (Fig. 8)。しかし孤立線毛の起始部ではその横断像は周囲を細胞間隙と同じ電子密度を有する空胞状構造物に囲まれていて、直接細胞質との連絡は認めなかった。またその中の微小管の数は二重管が9組、周辺部に認められたが、基質中央には中心小管を認めず、いわゆる9 + 0型の微小管配列として認められた (Fig. 9)。また他の細胞の孤立線毛の同様な

部位の横断像を観察してみると、線毛基質中に見出される微小管の数およびその配列は9 + 0型を示したが、中央部には中等度の電子密度を有する小胞様構造物を認めた (Fig. 10)。この孤立線毛の遠位部では微小管の数が減少し、さらに単一管状となり、その配列も乱れて中央部にも微小管が存在していた (Fig. 11)。

この孤立線毛の形状は起始部から先端部に向かってやや先細りの形状として認められ、その先端はやや丸くなって終わっていた (Fig. 5, 6)。この間の線毛膜は平滑ではなく緩慢に起伏していた (Fig. 2-4, 6) が、ときには起始部からやや遠位部側にいった部位、すなわち孤立線毛が細胞間隙に突出する直前の部位では線毛膜及び基底細胞の細胞膜が突出して互いに接近して half desmosome を形成しているものを認めた (Fig. 12)。この

Fig. 4 Fig. 4 shows a primary cilium of an immature type (arrow). Numerous filaments extend from desmosome (Ds) into the cytoplasm. Ep; epithelial cell. $\times 17,000$

Fig. 5 A part of ciliary membrane swells up to the cell membrane of basal cell. $\times 30,000$

half desmosome から細胞質中に多数の微細線維が伸びていた。また孤立線毛と基底細胞の細胞膜が接しているか、あるいは接近している部位では、そこから細胞質中に多数の微細線維が伸びていて (Fig. 2, 3, 5, 6), half desmosome の存在が示唆された。

考 察

唾液腺の導管は従来より腺房部で生成された唾液を口腔内へ導くための管であり、他に何ら機能を有さないと考えられて来た。しかし近年になって顎下腺導管、特に齧歯類の腺体内の導管系については性差の問題や顆粒管の分泌に関して多くの報告が見られる^{18,19)}。さらに腺体外の導管、すなわち主導管についてもその形態学的研究がなされてきた⁵⁻⁷⁾。それらの研究で主導管において唾液中

から水分や無機イオン等の吸収、あるいは主導管上皮細胞の分泌等が明らかになって来た^{5,6)}。それにもかかわらず、主導管上皮中に存在する基底細胞の形態学的研究は少なく、わずかに佐藤⁵⁾によって簡単に報告されているにすぎない。この基底細胞に孤立線毛が存在するという報告はわずかに中村ら⁹⁾によってイヌの耳下腺の導管で報告されているが、ラット顎下腺での報告はない。

顎下腺主導管の基底細胞中に見出された孤立線毛の出現率は約58%であったが、しかし基底細胞の形状によって孤立線毛が存在したり、しなかったりしていることから基底細胞の形状及び機能状態と孤立線毛の存在は何らかの関係があることが考えられる。また基底細胞中に見出された孤立線毛の長さは最長のもので約 $5\mu\text{m}$ 、最短のもので約 $0.5\mu\text{m}$ であったが、最短のものが小型の基底細胞

Fig. 6 A cilium is about $5\mu\text{m}$ in length, which projects toward the lumen. G; Golgi apparatus. Bc; basal cell. $\times 13,000$

胞に見出されることが多いことや基底小体から伸びた微小管の先端に空胞がかぶさっている像がすでに報告された孤立線毛の発生過程¹²⁾に類似していることから、この孤立線毛が発生過程中的未熟型であるものと考えられる。また逆に最長の孤立線毛が大型の基底細胞に認められることから、この孤立線毛が基底細胞の生長に伴って伸びていく可能性がある。

孤立線毛の基底小体の微小管の数およびその配列は周知の中心子の構造と同じであった²⁵⁾。しかしその周辺部に存在している rootlet fiber の発達は他の孤立線毛のもの^{10,11,20)}や通常の線毛のもの²⁵⁾に較べてわるいようにみえた。このことは本観察の基底小体は細胞質内に固定されたものではなく移動しやすいものとする。またこのことは突出部位が様々であった本所見と一致する。

さらに基底小体から続く線毛起始部の微小管配列は基底小体のものよりも、その数が減少し、二重管で $9+0$ 型であったが、これはすでに他の器官、組織で報告されている孤立線毛のもの^{9-11,21)}と一致する。この起始部付近の孤立線毛基質中央部に小胞様構造物が認められるものも一部観察されたが、孤立線毛の発生には小胞ないしは空胞が関与していることはすでに報告されており¹²⁾、本観察の小胞様構造物はその残余物ではないかと考

Fig. 7 The basal body is composed of nine sets of triplet microtubules as same as the structure of centriole.

Fig. 8 Junctional region of basal body and ciliary shaft.

Fig. 9 Ciliary wall is composed of nine sets of doublet microtubules in the most proximal portion.

Fig. 7-9 Fig. 7-9 shows the serial cross sections of primary cilium. $\times 81,000$.

Fig. 10 The cross section of an immature cilium in the most proximal portion. Vesicle-like structure is present in the central portion of cilium. G ; Golgi apparatus. $\times 95,000$

Fig. 11 In more distal portion of cilium (arrow), doublet microtubules decrease in number and their pattern change. $\times 22,000$

える。すなわち小胞が起始部の線毛基質中央に存在している孤立線毛は未熟なものであって、その成熟度が高くなるに従って小胞は消失していくものとする。この所見は同様に未熟な孤立線毛の起始部の横断を観察している東ら²²⁾のものに一致する。孤立線毛の微小管が遠位部ではその数の減少やその配列に乱れが認められたのは微小管の再配列が生じた結果ではないかと考える。基底小体付近には他の近位中心子が認められたが、この所見は他の組織、器官で報告されている孤立線毛の基底構造^{9,10,21,22)}と一致する。この孤立線毛の起始部での微小管の配列、すなわち $9+0$ 型およびその基底構造が 2 中心子型である構造はすでに報告のある通常の線毛^{23,25)}とは明らかに差異が認められる。通常の線毛では中心小管が線毛運動の軸となっていること²³⁾から、中心小管が欠如する本

観察の孤立線毛は能動的な運動能は有しないものとする。またこの孤立線毛の微小管の配列及びその基底構造は網膜内の結合線毛²⁴⁾に類似していることから感覚ないしは化学受容器である可能性が考えられる。

さらにこの孤立線毛の突出部は細胞膜が陥凹した部位であり、突出後に基底細胞の細胞膜との間で half desmosome を形成していた。また今回見出された孤立線毛では、大部分のものがその部位で細胞膜と線毛膜が互いに突出して接近しており、さらにその部位から細胞質中に多数の微細線維が伸びていたことから、その部位にも half desmosome が存在している可能性があり、おそらくは孤立線毛を取り囲み、数か所で同心円状に half desmosome を形成しているものとする。孤立線毛が half desmosome を形成するという報告は

Fig. 12 A half desmosome (Hds) is present between ciliary membrane and basal cell. Numerous filaments (f) extend from half desmosome into cytoplasm. $\times 25,000$

いままでのところ見当たらない。この half desmosome がその部位に存在する理由は不明であるが、しかし少なくともそれが孤立線毛の支持に役立っているものと考ええる。さらに孤立線毛の rootlet fiber の発達が他の線毛に較べてわるいことなどを考慮してみると、この孤立線毛が half desmosome を支点として動いている可能性がある。しかしこの支点が結合力が強くない half desmosome であること、中心小管が欠如して自らの運動能を有さないことや rootlet fiber の発達がわるく基底小体の細胞内移動が考えられることから、この孤立線毛は受動的な運動をしているものと考ええる。しかし突出部が細胞の陥凹部であることから、その移動範囲は限られているものと考えられる。また主導管上皮では細胞間隙が物質の移動に大きく関与していることはすでに知られている⁶⁾。従ってこの基底細胞の孤立線毛は細胞間隙

中に突出し、その中の流動物質を half desmosome を支点として緩慢に攪拌し、かつその流動物質の流動速動、性状を測る感覚もしくは化学受容器の機能を有しているものと考えられる。

孤立線毛の突出部が管腔側細胞質であったり、細胞側面部であったり、またその突出方向が管腔側へ向いていたり、逆に基底部側に向いていたりしていることは前述のことでは説明が十分でなく、おそらくは細胞生長に伴う変化である可能性があるものとするが、さらに今後の検索が必要である。

結 論

ラット顎下腺主導管の基底細胞を連続切片で透過型電子顕微鏡を用いて検索し、孤立線毛の存在を認め、下記の結果を得た。

(1) 観察出来た全基底細胞に対する孤立線毛の出現率は約58%であった。

(2) 孤立線毛は基底細胞が内側へ陥凹した部位より種々の方向の細胞間隙へ突出していた。また基底小体も基底細胞内の種々の部位に存在し、その位置は不定であった。

(3) 孤立線毛の微小管の数及びその配列は二重管構造で9+0型配列を示し、その基底構造は基底小体付近に近位中心子を伴う2中心子型であった。これらの構造はすでに報告のある感覚もしくは化学受容線毛の構造に類似しており、基底細胞中に見出された孤立線毛の機能も感覚もしくは化学受容器ではないかと推測した。

(4) 孤立線毛の基底小体を固定するための rootlet fiber の発達がわるく、この基底小体はある程度の細胞内での移動性を有するものと考えた。しかしその運動性を介助する様な構造物が細胞内に見当たらず、従って受動的な運動を行なっているものと推測した。

(5) 孤立線毛は基底細胞から突出後、その基底細胞との間で half desmosome を形成しており、この half desmosome は孤立線毛の支持に役立っているものと考えた。

上記のことから顎下腺主導管の基底細胞中の孤立線毛は細胞間隙中に突出し、その間隙中を移動する物質の攪拌を行ない、かつその物質の状態を

調べる感覚もしくは化学受容機能を有する可能性が示唆された。

謝辞：本研究を行なうにあたって種々の協力をしていただいた神奈川歯科大学組織学教室各位に厚くお礼を申しあげます。

抄録：ラット顎下腺主導管の基底細胞を連続切片を用いて電顕的に検索し、基底細胞の約58%に孤立線毛の存在を認めた。

この孤立線毛の微小管の数及びその配列は二重管構造で9+0型を示した。さらにその基底構造は2中心子型であった。この構造は感覚もしくは化学受容線毛の構造と同様であったので基底細胞中の孤立線毛も同様な機能を有するものと考えた。この孤立線毛の基底小体の rootlet fiber の発達が他の線毛のものに較べておろく、かつ孤立線毛が突出後、基底細胞との間で half desmosome を形成していることから、この孤立線毛は half desmosome を支点として受動的な運動を行ない、細胞間隙中の物質の攪拌をし、かつその流動物質の流動速度、性状を測る感覚もしくは化学受容機能を有している可能性があった。

文 献

- 1) Kazuo Takano: Fine structure of apocrine release mechanism of rat submandibular gland. Bull. Kanagawa dent coll., 5: 41-51, 1977.
- 2) 東 一善, 佐々昭三: マウスエブネル腺の微細構造. 神奈川歯学 18(1): 70-78, 1983.
- 3) Kim, S. K., Nasjleli, 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, 1972.
- 4) Tandler, B.: Ultrastructure of human submaxillary gland., Z. Zellforsch. 68: 852-863, 1965.
- 5) 佐藤敦子: ラット三大唾液腺 (耳下腺, 顎下腺, 大舌下腺) 主導管の走査および透過電顕による形態学的研究. 九州歯会誌 36: 610-631, 1982.
- 6) Shackelford, J. M., Schneyer, L. H.: Ultrastructural aspects of the main excretory duct of rat submandibular gland., Anat Rec., 169: 679-696, 1970.
- 7) Qwarnstrom, E. E., Hand, A. R.: A light and electron microscopic study of the distribution and effects of water-soluble radiographic contrast medium after retrograde infusion into the rat submandibular gland., Arch Oral Biol. 27: 117-127, 1982.
- 8) 東 一善, 高野一雄, 佐々昭三: マウス胆嚢の刷子細胞の微細構造, 動物学雑誌 91: 158-164, 1982.
- 9) 中村 聡, 佐用安祥, 保住美音子, 岸 好彰, 高橋和人: イヌ耳下腺主導管上皮細胞間隙にみられた孤立線毛. 神奈川歯学 18: 86-92, 1983.
- 10) 東 一善: 孤立線毛の電子顕微鏡的観察 (1), 東邦医会誌 27: 408-414, 1980.
- 11) Lin, H. S. and Chen I. L.: Development of the ciliary complex and microtubules in the cells of rat subcommissural organ., Z. Zellforsch. 96: 186-205, 1969.
- 12) Sorokin, S.: Centrioles and the formation of rudimentary cilia by fibroblasts and smooth muscle cells., J Cell Biol. 15: 363-377, 1962.
- 13) Tanuma, Y., Ohata, M.: Transmission electron microscope observation of epithelial cells with single cilia in intrahepatic biliary ductules of bats., Arch Histol Jpn. 41: 367-376, 1978.
- 14) Millonig, G.: Advantages of a phosphate buffer for OsO4 solution in fixation., J Appl Physiol. 32: 1637, 1961.
- 15) Luft, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods., J Biophys Biochem Cytol. 9: 409-414, 1961.
- 16) Watson, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals., J Biophys Biochem Cytol. 4: 45, 1958.
- 17) Reynold, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron microscopy., J Cell Biol. 26: 208-212, 1963.
- 18) 林 弘之, 佐々昭三: マウス顎下腺介在部に対する卵巣摘出および testosterone 投与の影響. 神奈川歯学 17: 374-384, 1982.
- 19) 高野一雄: ラット顎下腺導管構成細胞の電子顕微鏡的研究, 歯基礎誌 19: 135-148, 1977.
- 20) Albrcht-buehler, G., Bushnell, A.: The ultrastructure of primary cilia in quiescent 3T3 cells., Exp. Cell Res. 126: 427-437, 1980.
- 21) Wilsman, N. J., Farnum, C. E. and Reed-aksamit, D. K.: Incidence and morphology of equine and murine chondrocytic cilia., Anat Rec. 197: 355-361, 1980.
- 22) 東 一善: 胆嚢頸部に見いだされた孤立線毛の微細構造, 動物学雑誌 91: 48-53, 1982.
- 23) Gibbons, I. R.: The relationship between the fine structure and direction of beating gill cilia a lamellibranch mollusc., J Biophys Biochem Cytol. 2: 179-205, 1961.
- 24) 藤田尚男, 藤田恒夫: 標準組織学, p 345-359, 医学書院, 東京, 1976.
- 25) 林 塊三: 線毛の微細構造とその形式. 細胞 4: 2-16, 1972.