原 著

ラット唾液腺のケラチンフィラメント

永井泰子 鈴木裕子 小原伸子 武田正子

北海道医療大学歯学部口腔解剖学第二講座（主任：武田正子教授）

〔受付：平成7年9月30日，受理：平成7年12月11日〕

Keratin filaments in rat salivary glands

Yasuko Nagai, Yuko Suzuki, Nobuko Obara and Masako Takeda

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
(Chief : Prof. Masako Takeda)

Tobetsu, Ishikari, Hokkaido 061-02, Japan

[Received on September 30, 1995 ; Accepted on December 11, 1995]

Key words : salivary gland/keratin filament/rat/immunocytochemistry/electron microscopy

Abstract : Keratin filaments in rat salivary glands were studied by immunocytochemistry using several kinds of antikeratin antibodies and by electron microscopy, to examine the relationship between the keratin subtype and distribution pattern of keratin filaments.

In the parotid, submandibular, sublingual and von Ebner glands, acinar secretory cells, intercalated ducts, striated ducts, and luminal cells of the excretory ducts were stained by PKK1 antibody, which reacts with 40, 45, 52.5KD keratin subunits, but not by PKK2, which reacts with 40, 46, 48, 54KD subunits.

These cells contained loosely aggregated bundles of keratin filaments or complicated reticulated filaments. On the other hand, basal cells of the excretory ducts and myoepithelial cells reacted with the PKK2 antibody, but not with PKK1, and contained densely aggregated bundles of keratin filaments. These findings suggest that the aggregation and distribution pattern of keratin filaments reflect differences in the keratin subtypes that comprise these filaments.

抄録：ラット唾液腺（耳下腺，顎下腺，舌下腺および舌エブネル腺）の中間径フィラメントについて，抗ケラチン抗体を用いた免疫組織化学反応と，透過電子顕微鏡観察を行い，ケラチン蛋白のサブタイプと中間径フィラメントの分布状態を比較，検討した。各唾液腺とも，終末部分泌細胞，介在部，線条部および導管管腔側細胞は，PKK1 抗体（40, 45, 52.5KD のケラチンサブタイプに反応）に陽性を示し，PKK2 抗体（40, 46, 48, 54KD に反応）に陰性を示した。電顕像では，これらの部位のケラチン（中間径）フィラメントは，網状，あるいはまばらな細い束を作って分布していた。一方，PKK2 抗体に陽性，PKK1 抗体に陰性を示した筋上皮細胞と導管の基底細胞のケラチンフィラメントの大部分は，稠密な太い束を形成していた。

以上より，唾液腺のケラチンフィラメントの分布状態は，ケラチン蛋白のサブタイプの違いを反映するものと考えられる。

緒 言

上皮細胞は、直径約 10 nm の中間径フィラメントを持っている¹⁻⁴⁾。このフィラメントは、デスモゾームやヘミデスモゾームから続くものも含めて胞体全体に分布しており、細胞の一定の形を保持する細胞骨格の役目をはたしている。このようなフィラメントは、分子量 4 万から 7 万 (以下 10^3 を K とする) のケラチン蛋白からできていることがわかっている。ケラチン蛋白には約 20 種類のサブタイプがあり、1 個の上皮細胞は、2~10 種類のサブタイプを含んでいる⁴⁾。各細胞に含まれるサブタイプの種類は、組織や細胞により、また、同じ細胞でも動物種や発達段階などにより異なっている。

唾液腺の終末部と導管部の細胞は上皮性で、ケラチン (中間径) フィラメントを含んでいる。これらの細胞のケラチンについては、ヒト⁵⁻¹⁰⁾、モルモット¹¹⁾、ラット¹²⁾などで種々の抗ケラチン抗体を用いて免疫組織化学的研究がなされている。その結果は、腺房分泌細胞、筋上皮細胞、介在部、線条部、導管の細胞が含むケラチン蛋白のサブタイプは様々であることを示した。またフィラメントの電顕的観察は、ヒト⁶⁾、ラット¹³⁾などでなされているが、各部位のケラチンフィラメントの分布状態と、免疫組織化学的方法で得られたケラチン蛋白のサブタイプに関する情報との相互の関連については、ほとんどわかっていない。

そこで、ラットの顎下腺、耳下腺、舌下腺、舌エブネル腺について、抗ケラチン抗体を用いた免疫組織化学的方法と、透過電子顕微鏡による観察から、ケラチン蛋白のサブタイプと、ケラチンフィラメントの分布状態との関連を検討した。

材料と方法

温度と湿度が一定の環境下で、水と飼料を充分に与えられて飼育された 4 週から 8 週の雄の Wistar 系ラットを用いた。

1. 免疫組織化学

ラットをクロロホルムで吸入麻酔し、顎下腺、舌下腺、耳下腺、舌エブネル腺を切り出した。純エタノールで 2 時間固定し、キシレンで透徹後、パラフィン包埋を行った。5 μ m の厚さの切片を作製し、脱パラフィン後、0.05 M トリス塩酸緩衝液に 0.01~0.1% のトリプシンと 0.1% の CaCl_2 を加えた液を 37°C、3 分間作用させた。

酵素抗体法間接法を行い、光学顕微鏡で観察した。用いた抗ケラチン抗体は 4 種類のモノクローナル抗体である。

1) プタ腎臓上皮細胞由来の PKK1 抗体 (Labsystems 社製): 40, 45, 52.5KD のケラチンサブユニットに反応。2) プタ腎臓上皮細胞由来の PKK2 抗体 (Labsystems 社製): 40, 46, 48, 54KD のケラチンサブユニットに反応。3) サイトケラチン 18 (CK18) 抗体 (DAKO 社製): 45KD のケラチンサブユニットに反応。4) サイトケラチン 19 (CK19) 抗体 (DAKO 社製): 40KD のケラチンサブユニットに反応。二次抗体として HRP 標識ウサギ抗マウス IgG を用い、アミノエチルカルバゾール (AEC) 染色を行った。対照標本は、抗ケラチン抗体の代わりにトリス塩酸緩衝液を用いた。

2. 電子顕微鏡

ラットをクロロホルムで吸入麻酔し、左心室から冷 2% グルタルアルデヒド・2% パラホルムアルデヒド混液 (0.1M リン酸緩衝液, pH7.4) を還流し、固定した。顎下腺、舌下腺、耳下腺、舌エブネル腺を摘出し、上述の固定液でさらに 4°C で一晩固定した後、1% OsO_4 (0.1M リン酸緩衝液, pH7.4) で 4°C、2 時間、後固定を行った。エタノール脱水後、エボン包埋を行い、超薄切片を作製し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛の二重染色を施し、透過型電子顕微鏡 (日立 H-7100 型) で観察した。

結 果

1. 免疫組織化学

顎下腺を PKK1 抗体で反応させると、終末部の分泌細胞、介在部、顆粒管、線条部および導管の細胞が陽性を示した。終末部の分泌細胞は、腺腔および細胞間分泌管に面する細胞膜に沿って強い反応を示した。介在部の細胞も管腔側の細胞膜に沿って強い反応が見られた。一方、終末部と介在部に見られる筋上皮細胞は陰性であった。顆粒管の細胞は、全体が弱く染まり、線条部は、基底側よりも管腔側胞体が強く染まった。結合組織に囲まれた導管の細胞は 2 層からできていた。そのうちの管腔側の円柱形細胞の細胞膜全周に沿って強い反応が見られた。一方、基底側の背の低い細胞は陰性であった (Figs. 1, 2)。

PKK2 抗体で反応させた顎下腺は、PKK1 抗体で陽性を示した終末部分泌細胞、介在部、顆粒管および線条部がすべて陰性であった。そして PKK1 抗体陰性の終末部と介在部の筋上皮細胞は、PKK2 抗体に強い陽性を示し

た。結合組織に囲まれた導管は、基底側の背の低い細胞が PKK2 抗体に強い陽性を示し、管腔側の円柱形細胞は、管腔に面する胞体の部分だけが弱陽性であった (Figs. 3, 4)。

耳下腺と舌下腺では、終末部、介在部、線条部、導管の PKK1 抗体、PKK2 抗体に対する反応は、顎下腺のそれぞれに相当する部位と同様であった。エブネル腺では、終末部と介在部の PKK1 抗体と PKK2 抗体に対する反応は、顎下腺のそれぞれの部位と同様であった。エブネル腺の導管は、有郭乳頭と葉状乳頭の溝に開口するが、導管の管腔側の細胞は、PKK1 抗体陽性、PKK2 抗体陰性で、基底側の一層の細胞は、反対に PKK2 抗体陽性、PKK1 抗体陰性であり、顎下腺の導管とほぼ同様の反応を示した (Figs. 5, 6)。

CK18 抗体による顎下腺の反応は、終末部の分泌細胞は弱陽性、介在部、顆粒管および線条部は陰性を示した。導管は、管腔側の円柱形細胞のうちの一部だけが陽性を示し、管腔側の大部分の細胞と基底側のすべての細胞は陰性であった (Fig. 7)。CK19 抗体による反応でも顎下腺は CK18 抗体と全く同様の反応を示した。

抗ケラチン抗体を除いた対照標本では、終末部、介在部、顆粒管、線条部および導管のすべての細胞は陰性であった。

2. 電子顕微鏡

顎下腺の終末部の分泌細胞には、電子密度の低い顆粒が充満していた。直径 10 nm のケラチンフィラメントは、デスモゾームやヘミデスモゾームから続いて胞体内に分散していた。フィラメントの大多数は、細胞膜周辺の胞体に分布しており、数は少なく、ごく細い束を作ったり、あるいは疎らに網状に分布していた。分泌顆粒が多数ある胞体中央部や核周囲部には、めったにみられなかった (Fig. 8)。腺腔周囲の胞体には、直径 4~7 nm のアクチンフィラメントと思われる細いフィラメントが、腺腔を輪状にとりまいていた。

顎下腺の介在部の細胞のケラチンフィラメントは、大多数が細い束状となって、核周囲の狭い胞体全体に分布していた。束の中のフィラメントは高倍率で 1 本 1 本が区別可能であった (Fig. 9)。顆粒管の細胞のケラチンフィラメントも、介在部のフィラメントと同様に、細い束を作って胞体全体に分布していた (Fig. 10)。線条部でもやはり細い束を作って分布していたが、その数は、管腔側胞体に比較的多く (Fig. 11)、基底側胞体では少数であった。これらの束のフィラメントは、介在部と同様、顆粒管、線条部でも高倍率で 1 本 1 本区別可能であった

(Fig. 12)。

筋上皮細胞は、終末部と介在部の基底側に存在していたが、その胞体には多数のフィラメントが見られた。この細胞のフィラメントの大部分は他の細胞と異なり、網状に錯走せず、互いにはほぼ平行に走っていた。この中には、直径 4~7 nm のアクチンフィラメントと思われるもの、直径約 15 nm のミオシンフィラメントと思われるもの、そしてその中間の直径約 10 nm のケラチンフィラメントが混在していた。このケラチンフィラメントは、接着班及び半接着班に付着していた。さらにこのフィラメントの一部は胞体の所々に存在する高電子密度の暗小体 (dense patches) に収束し、付着して稠密な束を形成していた。またこの他に核周囲部には、ケラチンフィラメントが高電子密度の稠密な束を形成して分布していた。このフィラメント束は高倍率でも 1 本 1 本見分けることは困難であった (Figs. 13~16)。

結合組織に囲まれた導管は 2 層の細胞からできていた。管腔側の細胞は円柱形で、2 種類が区別された。一つは、全体に明調で胞体の幅が広く、管腔側に小胞、滑面小胞体が豊富であり、ケラチンフィラメントは核の周辺に比較的多く、1 本 1 本疎らに、あるいはごく細い束を作って分布していた。もう一つの種類の細胞は胞体がやや暗調で、小胞が少なく、管腔側には短い微絨毛が密集していた。この細胞のケラチンフィラメントは、前者の細胞よりもやや太い束を作って胞体全体に分布していた。しかし、両者の細胞とも束の中のフィラメントはまばらで、1 本 1 本を見分けるのは可能であった (Figs. 17, 18)。導管の基底側の細胞は、立方形または底辺を基底膜の方向に向けた三角錐状で、核が大部分を占め、周囲の狭い胞体の中には太いケラチンフィラメントの束が多数走行していた。束は稠密で電子密度がきわめて高く、フィラメントの 1 本 1 本を見分けるのは困難であった (Figs. 19, 20)。

考 察

ラットの唾液腺の抗ケラチン抗体に対する反応は、耳下腺、顎下腺、舌下腺、舌エブネル腺の間で基本的な差異はなかった。ヒトでも、種々の大小の唾液腺についての反応が行われているが、ラットと同様、各腺の間の反応に差異は認められていない^{5,6)}。しかし、各唾液腺の終末部分泌細胞、筋上皮細胞、介在部、線条部、導管などの各部位の細胞の間には、種々の抗ケラチン抗体に対する反応の差異が認められている^{5~12)}。すなわち、介在部、線条部をふくむ導管部細胞は、PKK2、CK19 あるいは

Figs. 1~7 Immunocytochemical staining of submandibular and von Ebner glands with monoclonal antikeratin antibodies.

Fig. 1 Submandibular gland. PKK1 antibody. Acinar secretory cells (A), intercalated ducts (I), granular ducts (G), striated ducts (S), and luminal cells of the excretory ducts (D) are stained. $\times 125$ **Fig. 2** Submandibular gland. PKK1 antibody. Luminal cells (arrows) of an excretory duct are intensely stained. A ; acinus. $\times 300$ **Fig. 3** Submandibular gland. PKK2 antibody. Myoepithelial cells (arrows) are stained. $\times 300$ **Fig. 4** Submandibular gland. PKK2 antibody. Basal cells (B) of an excretory ducts and myoepithelial cells (M) are stained. $\times 250$ **Fig. 5** Von Ebner gland. PKK1 antibody. Intercalated ducts (I) are intensely stained. The reaction of acinar cells (A) is weak. $\times 300$ **Fig. 6** Von Ebner gland. PKK2 antibody. Basal cells (B) of excretory ducts and myoepithelial cells (M) are stained. G ; groove of a circumvallate papilla, T ; taste bud. $\times 75$ **Fig. 7** Submandibular gland. CK18 antibody. Some luminal cells (arrows) of an excretory duct are stained. $\times 150$

Figs. 8~12 Electron micrographs of submandibular glands.

Fig. 8 Acinar cell. A few keratin filaments (arrows) are scattered. L ; lumen. $\times 47,000$ **Fig. 9** Intercalated duct. Loosely aggregated bundles of keratin filaments (arrows) are seen. L ; lumen. $\times 30,000$ **Fig. 10** Granular duct. Loosely aggregated bundles of keratin filaments (arrow) are seen. L ; lumen, D ; desmosome. $\times 15,000$ **Fig. 11** Striated duct. Loosely aggregated bundles of keratin filaments (arrows) are seen. L ; lumen. $\times 15,000$ **Fig. 12** Enlargement of a striated duct cell. Each keratin filament (arrow) of the bundle is distinguishable. $\times 45,000$

Figs. 13~16 Electron micrographs of myoepithelial cells in the submandibular glands.

Fig. 13 A myoepithelial cell (M) contains many filaments (arrows). P ; dense patch, B ; basement membrane. $\times 14,000$ **Fig. 14** Densely aggregated bundles of keratin filaments (arrow) are associated with the desmosome (D). B ; basement membrane. $\times 46,000$ **Fig. 15** Densely aggregated bundles of keratin filaments (arrow), which are similar to those of basal cells in the excretory ducts, are seen near the nucleus. $\times 31,000$ **Fig. 16** Densely aggregated bundles (arrow) are seen. B ; basement membrane. $\times 46,000$

Figs. 17~20 Electron micrographs of excretory ducts in the submandibular glands.

Fig. 17 Luminal cells consist of clear (C) and dark (D) cells. L : lumen. $\times 9,000$ **Fig. 18** A clear cell (C) has broad cytoplasm and contains vesicles (V), smooth endoplasmic reticulum (R) and reticulated keratin filaments or thin bundles of filaments (arrow heads). Dark cells (D) has narrow cytoplasm, short microvilli (M), and loosely aggregated bundles of keratin filaments (arrows) which are thicker than those in the clear cell. $\times 26,000$ **Fig. 19** A basal cell (B) contains densely aggregated bundles of keratin filaments (arrows). Each filament of the bundle is indistinguishable. $\times 31,000$ **Fig. 20** A basal cell (B) is coniform and contains densely aggregated bundles of keratin filaments (arrows). M : basement membrane. $\times 14,000$

KM4.62 抗体に対して陽性を示すが、終末部分泌細胞は陰性である^{5,6,8,10}。また筋上皮細胞と導管の基底細胞は、KA-1 抗体に陽性を示し⁶、KS8.58 抗体には、導管基底細胞のみが陽性である^{6,8}。

今回の結果では、終末部分泌細胞、介在部、線条部、導管腔側細胞は、PKK1 抗体陽性、PKK2 抗体陰性を示し、反対に、終末部と介在部にある筋上皮細胞と導管基底細胞は、PKK1 抗体陰性、PKK2 抗体陽性を示した。電顕観察によるケラチンフィラメントの分布状態は、終末部分泌細胞、介在部、線条部、導管腔側細胞では網状に錯走したり、細い束を作って分布しており、束の中の1本1本のフィラメントは容易に見分けられた。一方、導管基底細胞のケラチンフィラメントは、高電子密度の稠密な太い束を作って分布し、1本1本のフィラメントを見分けることは困難であった。筋上皮細胞のケラチンフィラメントについて見ると、核周囲部のフィラメントは稠密な束を作っており、さらに暗小体から伸びるフィラメントは、暗小体の周りで稠密な束となっていた。すなわち、PKK1 抗体陽性、PKK2 抗体陰性のケラチンフィラメントは、網状に錯走、あるいは、細い束を作って分布し、PKK1 抗体陰性、PKK2 抗体陽性のフィラメントは、高電子密度の稠密な束を作っていた。このことから、ケラチンフィラメントの集合、分布の状態は、フィラメントを構成するケラチン蛋白のサブタイプと関係があるのではないと思われる。同様のことは、マウスの口腔粘膜上皮でも観察されており¹⁴、軟口蓋、歯槽粘膜、口唇粘膜、舌下面などの角化の弱い上皮群の中間層は、フィラメントがばらばらに錯走し、PKK1 抗体陽性、PKK2 抗体陰性であり、角化の弱い上皮群の基底層や、硬口蓋、歯肉外縁などの角化の強い上皮群の基底層と中間層、さらに非角化上皮の付着上皮の全層は、フィラメントが太い稠密な束を作り、PKK1 抗体陰性、PKK2 抗体陽性を示した。また舌有郭乳頭の上皮でも、背面の有棘層と顆粒層、さらに味蕾の細胞は、ばらばらに分布するフィラメントを持ち、PKK3 抗体 (45KD のケラチンサブタイプに反応) 陽性、PKK2 抗体陰性を示し、背面の基底層と溝に面した上皮の全層は稠密な束を持つフィラメントが分布し、PKK2 抗体陽性、PKK3 抗体陰性であった¹⁵。

今回の研究で、導管基底細胞と筋上皮細胞は、両者とも抗ケラチン抗体の反応と、稠密なフィラメント束を持つと言う点で共通の性質を示した。ヒト^{5,6,10}や、モルモットでも両者の細胞は、抗ケラチン抗体や、抗ビメンチン抗体の反応で共通の結果が得られている。これは、導管基底細胞も筋上皮細胞も、導管あるいは終末部を外側か

ら囲んで支持するという共通の役目を持っているためと思われる。

Marshak ら¹¹は、モルモットの顎下腺で KS8.58 抗体 (50KD のケラチンサブタイプに反応) が、胎生 4 週ではすべての細胞に陽性を示すが、発達が進むと次第に消失して、導管基底細胞と筋上皮細胞に陽性反応が限局するようになることから、導管基底細胞を他の唾液腺上皮細胞の幹細胞と考えた。粘膜や皮膚の重層扁平上皮では、基底細胞が幹細胞であり、これが分裂し、成熟しながら次第に表層へと移行する。口腔粘膜では基底細胞とそれより表層の細胞の間に、ケラチン蛋白のサブタイプやフィラメントの分布状態に違いが見られる^{14,15}。2 層あるいはそれ以上の層の細胞からなる唾液腺の導管でも、未熟な基底細胞と成熟した管腔側細胞との間に同様の違いがあることが今回示された。また管腔側細胞には、ケラチンフィラメントの大部分がばらばらに錯走して分布する細胞と、やや太いまばらな束を作る細胞との 2 種類が存在した。CK18 抗体と CK19 抗体による反応でも、管腔側細胞にはこれらの抗体に陽性の細胞と陰性の細胞が見られた。これらが、フィラメントの分布状態が違う 2 種類の細胞のどの細胞に対応するかは今後に残された問題である。

唾液腺の筋上皮細胞は、ケラチンフィラメントの他に、平滑筋と同様、アクチンフィラメント、ミオシンフィラメント、さらにフィラメントが付着する暗小体を持っている。Cooke¹⁶は、平滑筋で、中間径フィラメントだけが暗小体に付着し、統合されたネットワーク構造を作ると考えた。一方、Tsukita ら¹⁷は、暗小体の中にアクチンフィラメントが突き刺さり、放散すると述べている。筋上皮細胞については Franke ら¹⁸が乳腺で、中間径フィラメントは暗小体に収束、付着する他に、ばらばらに分布するものと、角化上皮で見られるような稠密な束を作るものがあることを報告している。今回の研究では、稠密な束を作るものと、暗小体に収束、付着するケラチンフィラメントが観察されたが、アクチンフィラメントと暗小体の関係はよくわからず、今後解明されるべき問題であろう。

ケラチン蛋白のサブタイプには、酸性の分子量の比較的小さいグループ (40~56.5KD) と、塩基性の分子量の比較的大きいグループ (52~67KD) があり、各グループから一つずつ参加したサブタイプが対になり、さらにそれがいくつか集まって 10 nm のフィラメントを作る^{19~23}。このようなサブタイプを含む多種類のケラチン抗体による反応が、唾液腺で試みられているが、その結果は唾液腺の部位、細胞により様々である^{5~12}。しかし、

多数のケラチンサブタイプのうちでも、PKK1 抗体や PKK2 抗体に反応するサブタイプのいくつかは、フィラメントの分布状態を決定する要因の一つになるのではないかと考えられる。フィラメントの芯は蛋白分子の α 螺旋部分で、その両端のランダム部分がフィラメントの表面に突き出しており、これが細胞や組織の種類、分化により差がある^{19,21,24}。このランダム部分が、細胞や組織により異なるフィラメントの束の形成、分布状態に関係するのではないかと考えられる。すなわち、唾液腺細胞におけるケラチンフィラメントの集合、離散などの分布状態は、フィラメントを構成するケラチン蛋白のサブタイプの違いを反映するものと推測される。

文 献

- 1) Sun, T. T., Shih, C. and Green, H. : Keratin cytoskeletons in epithelial cells of internal organs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76** : 2813~2817, 1979.
- 2) Schlegel, R. Banks-Schlegel, S. and Pinkus, G. S. : Immunocytochemical localization of keratin in normal human tissues. *Lab. Invest.* **42** : 91~96, 1980.
- 3) Denk, H., Krepler, R., Lackinger, E., Artlieb, U. and Franke, W. W. : Biochemical and immunocytochemical analysis of the intermediate filament cytoskeleton in human hepatocellular carcinomas and in hepatic neoplastic nodules of mice. *Lab. Invest.* **46** : 584~596, 1982.
- 4) Moll, R., Franke, W. W., Schiller, D. L., Geiger, B. and Krepler, R. : The catalog of human cytokeratins : patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* **31** : 11~24, 1982.
- 5) Gustafsson, H., Kjorell, U., Eriksson, A., Virtanen, I. and Thornell, L. E. : Distribution of intermediate filament proteins in developing and adult salivary glands in man. *Anat. Embryol.* **178** : 243~251, 1988.
- 6) Geiger, S., Geiger, B., Leitner, O. and Marshak, G. : Cytokeratin polypeptides expression in different epithelial elements of human salivary glands. *Virchows Arch. A.* **410** : 403~414, 1987.
- 7) Takai, Y., Yamada, K., Shinohara, H., Orito, T., Tsukitani, K. and Mori, M. : Monoclonal antibodies against keratins bind to intercalated duct and ductal basal cells of normal salivary glands in paraffin sections. *Acta Histochem. Cytochem.* **21** : 575~584, 1988.
- 8) Born, I. A., Schwechheimer, K., Marier, H. and Otto, H. F. : Cytokeratin expression in normal salivary glands and in cystadenolymphomas demonstrated by monoclonal antibodies against selective cytokeratin polypeptides. *Virchows Arch. A.* **411** : 583~589, 1987.
- 9) Lee, S. K., Lim, C. Y., Chi, J. G., Yamada, K., Hashimura, K., Kunikata, M. and Mori, M. : Prenatal development of human major salivary glands and immunohistochemical detection of keratins using monoclonal antibodies. *Acta Histochem.* **89** : 213~235, 1990.
- 10) Draeger, A., Nathrath, W. B. J., Lane, E. B., Sundstrom, B. E. and Stigbrand, T. I. : Cytokeratins, smooth muscle actin and vimentin in human normal salivary gland and pleomorphic adenomas. *APMIS.* **99** : 405~415, 1991.
- 11) Marshak, G., Leitner, O. and Geiger, B. : Cytokeratin polypeptide expression during the histogenesis of guinea pig submandibular salivary gland. *Develop.* **100** : 699~711, 1987.
- 12) Takahashi, S. and Wakita, M. : Cytokeratin expression during regeneration of the intralobular duct in rat submandibular glands after YAG laser irradiation. *Arch. Histol. Cytol.* **57** : 167~173, 1994.
- 13) Taga, R. and Sesso, A. : Ultrastructural studies on developing parotid gland of the rat at early postnatal periods. *Arch. Histol. Jap.* **42** : 427~444, 1979.
- 14) 三浦成実, 武田正子 : マウス口腔粘膜上皮細胞のケラチンフィラメント. *歯基礎誌* **32** : 289~301, 1990.
- 15) Takeda, M., Obara, N. and Suzuki, Y. : Keratin filaments of epithelial and taste-bud cells in the circumvallate papillae of adult and developing mice. *Cell Tissue Res.* **260** : 41~48, 1990.
- 16) Cooke, P. : A filamentous cytoskeleton in vertebrate smooth muscle fibers. *J. Cell Biol.* **68** : 539~556, 1976.
- 17) Tsukita, S., Tsukita, S. and Ishikawa, H. : Association of actin and 10 nm filaments with the dense body in smooth muscle cells of the chicken gizzard. *Cell Tissue Res.* **229** : 233~242, 1983.
- 18) Franke, W. W., Schmid, E., Freudenstein, C., Appelhans, B., Osborn, M., Weber, K. and Keenan, T. W. : Intermediate-sized filaments of the prekeratin type in myoepithelial cells. *J. Cell Biol.* **84** : 633~654, 1980.
- 19) Eichner, R., Rew, P., Engel, A. and Aebi, U. : Human epidermal keratin filaments : studies on

- their structure and assembly. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **455** : 381~402, 1985.
- 20) Eichner, R., Sun, T. T. and Aebi, U. : The role of keratin subfamilies and keratin pairs in the formation of human epidermal intermediate filaments. *J. Cell Biol.* **102** : 1767~1777, 1986.
- 21) Fuchs, E., Hanukoglu, I., Marchuk, D., Grace, M. P. and Kim, K. H. : The nature and significance of differential keratin gene expression. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **455** : 436~450, 1985.
- 22) Quinlan, R. A., Schiller, D. L., Hatzfeld, M., Achtstatter, T., Moll, R., Jorcano, J. L., Magin, T. M. and Franke, W. W. : Patterns of expression and organization of cytokeratin intermediate filaments. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **455** : 282~306, 1985.
- 23) Sun, T. T., Tseng, S. C. G., Huang, A. J. W., Cooper, D. and Eichner, R. : Monoclonal antibody studies of mammalian epithelial keratins : a review. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **455** : 307~329, 1985.
- 24) Steinert, P. M., Idler, W. W., Zhou, X. M., Johnson, L. D., Parry, D. A. D., Steven, A. C. and Roop, D. R. : Structural and functional implications of amino acid sequences of keratin intermediate filament subunits. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **455** : 451~461, 1985.