カエル舌尖部の再生について

九州歯科大学大学院歯学研究科生理学専攻 (指導: 中原 敏教授)

山 田 研 治

昭和62年12月24日受付

Regeneration of the Tip of Frog's Tongue

Kenji Yamada

Department of Physiology (Director: Prof. Satoshi Nakahara)

Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

The frogs with the right tip of the tongue amputated were kept alive by force-feeding for periods from 3 months to about 1 year. Regeneration of the tip of the tongue was recognized after 3 months in summer and about 1 year including a period of hibernation. The regenerated tip of the tongue was observed under the detecting and scanning electron microscopes and the senses of tactility and taste were examined physiologically and compared with those of the left tip of the tongue kept intact.

In the regenerated tip of the tongue, its area, the number of fungiform papillae and that per 1 mm² were calculated on a scanning electron photomicrograph and compared with those values of the left intact side. Responses of the bilateral glossopharyngeal nerves innervated the tips of the tongue in regenerated and intact sides to tactile and chemical stimuli were recorded and compared with each other.

Results were summarized as follows.

1. In the four groups of 3 summer-months and 11, 12, and 13 months including a period of hibernation each, regeneration of the tip of the tongue was observed. An average area of the regenerated tips in 20 experimental cases was 0.9 mm² and about one-third of that of the intact side.

2. Fungiform papillae were observed in the regenerated tip, and an average number of those in 20 cases was 25, that of the intact side 39.

3. An average number of fungiform papillae per 1 mm² in the regenerated tip and that of the intact side in 20 cases were 28.2 and 15.5 respectively. In the regenerated tip, many fungiform papillae were observed near the amputated line.

4. An average diameter of fungiform papillae in the regenerated and intact sides were 9.5 μm and 12.2 μm respectively. Diameters of fungiform papillae in the regenerated tip were smaller than those in the intact side. A few fungiform papillae in the regenerated tip were not round in shape.

5. The regenerated tip responded to tactile stimuli in the same as the tip of the intact side.

6. The stimuli, water, 0.5M NaCl, 0.01M HCl and 0.01M quinine-HCl solutions,

applied to the tip of the tongue regenerated elicited nerve impulses in the glossopharyngeal nerve; however, 0.5M sucrose solution did not elicit any obvious nerve impulse.

7. Nerve impulses to water and 0.5M NaCl were generated at the start of stimulation and lasted until after cease of stimulation. Nerve impulses to 0.5M NaCl were the highest in frequency of all solutions. The stimulation of 0.01M HCl elicited burst impulses but they disappeared in an early stage of stimulation.

Key words : *Regeneration / Frog / Tongue / Taste*

結 言

カエルの口腔、特に舌は食物摂取のために特異の進化を遂げたものと考えられる。その第一は、多くの動物の舌が口吻に近い部分で遊離し、口腔の奥の部分で口腔底に付着しているのに対し、カエルの舌は口吻部で口腔底に付着し、舌尖は口腔の奥の咽頭に近い部に収まっている。このような口腔内への舌の収納は、食物摂取に際して非常に有効であると考えられる。カエルは生きた食物を舌で捕食するので、できるだけ遠方へ速やかに舌を伸ばす必要がある。このような目的のために、カエルの舌は非常に柔らかく良く伸びるようにできており、また、舌が口吻部に付着していることから、舌の長さを最大限に利用できるようになっている。

舌が口腔外に飛び出す仕組みは、舌骨、胸骨舌骨筋、オトガイ舌骨筋、舌骨舌筋、オトガイ舌筋の共同作用によって言われている (Emerson, 1977¹⁾)。また、舌の感覚神経である舌咽神経と舌筋との間に強力な反射があるのは (中原ら, 1969²⁾, 香西, 1974³⁾, 井上, 1978⁴⁾, Kumai, 1981⁵⁾)、捕食した食物を口腔内に速やかに引き込むためにも役立っていると考えられる。

口腔に引き込んだ生きた食物が逃れようとする時には、口裂の周辺に並んだ鋭い歯によって捕らえ、強力な閉顎筋によって押さえ込み、飲み込んでしまう。

カエルの舌はその形態にも特徴がある。それは舌尖の部分に2つに分岐していることである。何故2つに分岐しているのかは正確にはわからないが、食物を摂取するとき、投網のように投げ出された舌が食物に命中するためには、舌尖が2つに分岐している方が都合が良いのではないかと考えられる。

本実験は、この2つに分岐した舌尖部の再生を調べたものである。分岐部から切断した舌尖部が比較的短い日数で再生するので、この再生部の走査型電子顕微鏡による観察と触覚、化学感覚について生理学的に調査した。

舌の再生に関する実験には、味神経切断後の味蕾の変

性についての研究がある。哺乳動物では、味神経を切断すると味蕾は速やかに消失してしまうが、味神経が再生すると味蕾も再生し、味神経が栄養神経としての役割をもっていると考えられている (Guth, 1957⁶⁾, Farbman, 1969⁷⁾, Iwayama, 1970⁸⁾, Fujimoto ら, 1970⁹⁾)。一方、カエルでは味神経を切断しても味覚器官は消失しないことが Robbins (1967)¹⁰⁾, Toyoshima ら (1984)¹¹⁾によって報告されている。

舌尖部の再生についての報告は過去には無いようである。

実 験 方 法

I. 実験動物並びに飼育方法

実験には、トノサマガエル (*Rana nigromaculata*) を使用した。カエルはエーテル麻酔で動かなくなった後、板上に背位に固定し、口腔内より舌を引き出し、実体顕微鏡下で、Fig. 1 のように、右側舌尖部を分岐部よりメスで切断した。舌尖部切断後のカエルは、バットに入れて3か月から13か月間飼育した。

Fig. 1 Illustration showing amputated part of the tip of the tongue
R₁, R₂: recording electrode.

飼育方法は、バットに水を敷く程度に入れ、大小区別をつく大きさのカエル2匹または1匹ずつを入れて飼育した。冬期 (12月～3月) は、バットの中に水で湿らし

た腐葉土またはオガクズをカエルが十分に潜ることができくらの深さに入れて冬眠させた。飼育期間中、冬期以外は、餌としてニワトリのレバーを1週間に2～3回強制的に与えた。またバット内の水は1週間に3～6回入れかえ、水が汚れないようにした。冬期は、腐葉土や、オガクズが乾燥しないように1週間に1回程度、ジョウロで水をかけた。舌尖部を7月に切断し夏期3か月飼育したもの4例、前年10月に切断し翌年9月まで11か月飼育したもの2例、前年9月に切断し翌年9月まで12か月飼育したもの12例、前年8月に切断し翌年9月まで13か月飼育したもの2例を、3か月群、11か月群、12か月群、13か月群として組織標本を作成した。生理学的実験には、別に3か月、11か月、12か月経過したものを数例ずつ用いた。

Ⅱ. 形態学的観察

舌尖部切断後3か月～13か月間飼育した後、カエルの脊髄および脳を破壊し、できるだけ速かに舌尖分岐部より2～3mm中央寄りの舌体をメスで切断した。切り取った舌尖部はリンガー液で洗浄後、2.5%グルタルアルデヒド(0.1Mリン酸緩衝液, pH 7.0～7.3)で固定した。固定した舌標本は、リン酸緩衝液で数回洗浄した後、1%四酸化オスミウムで1時間の後固定を2回繰り返して行った。その後、上昇アルコール系列、50, 70, 80, 90, 100%で脱水、酢酸イソアミルによる置換、臨界点乾燥、白金パラジウムによるコーティングを経て、走査型電子顕微鏡(日本電子, JSM-T 300, JSM-T 25)で観察した。

走査型電子顕微鏡写真を用いて、再生した舌尖部の面積を求め、その部位にある茸状乳頭を数え、単位面積(mm^2)当たりの茸状乳頭数を求めた。切断していない左側の舌尖部も右側の切断線に相当する部より先端の面積を求め、その部にある茸状乳頭を数え、単位面積(mm^2)当たりの茸状乳頭数を求め対照側とした。また、再生部および対照側の茸状乳頭の直径を測定し、最大値、最小値および平均値を求めた。不正円の乳頭は長径と短径の平均値を直径とした。

Ⅲ. 生理学的実験

カエルの舌尖部を切断後、3か月～13か月間飼育した後、除脳した。口腔内より舌を引き出し、実体顕微鏡下で、舌体部から舌尖部の最初の切断部まで、粘膜を内部の筋や神経などの組織から袋状に分離し、舌尖部の再生部以外の粘膜からの神経をすべて切断した。また、舌の感覚を伝える舌咽神経は舌中央部で切断した。非切断側である左側も、同様に舌尖部近くまで粘膜を剝離し、舌

尖部以外の粘膜の感覚神経を切断した。また、舌咽神経は舌中央部で切断し、対照側とした。このような処置が終了した後、下顎を体部より切り離し、下顎に付着した舌と舌咽神経からなる舌・神経標本とした。標本は舌の化学的刺激のためにワックスで作成した実験台にのせた。

記録は舌咽神経の切断末梢側を周囲の組織から分離し、銀線電極を当て単極誘導した。舌咽神経の応答は、ブラウン管オシロスコープによって記録観察した。

舌には触刺激と化学的刺激を行なった。触刺激は、小筆の先を軽く舌粘膜に触れた。化学的刺激は、 H_2O , 0.5M NaCl, 0.01M HCl, 0.5M sucrose, 0.01M quinine-HCl を舌上にそそいだ。刺激を行っていない時は、舌尖部標本に常に小さなノズルからリンガー液を流し続けた。刺激を行なう時には、リンガー液をとめ、同じノズルから刺激液を流出させた。sucrose 以外の刺激液は5mlを0.04ml/secの速度で与えた。sucrose は濃度が高いので、流速がこれより遅くなった。化学的刺激は、5～10分の間隔を置いて行なったが、この間、洗浄の目的でリンガー液を流し続けた。

実験結果

I. 形態学的観察

A. 実体顕微鏡の所見

舌尖部切断後3, 11, 12, および13か月の各実験群は、いずれも明らかな舌尖部の再生が認められた。しかし、その再生部分是对照側の舌尖部より小さかった。

Fig. 2 は舌尖部の切断状況と代表的な各実験群の再生舌尖部を示したものである。Bの3か月例では、再生部の大きさは、対照側の約半分ぐらいの大きさである。また、Cの11か月例では、再生部は、小さくわずかに突出しているのが認められる。Dの12か月例では、再生部は対照側の舌尖部の約半分ぐらいの大きさである。Eの13か月例では、再生部は対照側とはほぼ同じぐらいの大きさである。

一般に11, 12, および13か月の各実験群では、再生部の大きさは、11か月群がわずかに小さく、12, 13か月群では、あまり大きな差はなかった。しかし、3か月群では、切断後の期間が短いにもかかわらず再生部が大きかった。

B. 走査型電子顕微鏡の所見

3, 11, 12, および13か月の各実験群について、走査型電子顕微鏡で切断側と対照側の舌尖部を比較観察した。どの実験例においても、明らかな再生が認められた。

Fig. 2 Amputation and regeneration of the tip of the tongue

A : amputation of the tip of the tongue, arrow : amputated part, B : the tip of the tongue of 3 months after amputation, C : 11 months, D : 12 months, E : 13 months.

Fig. 3, 4 に示したように, カエルの舌背には多数の糸状乳頭と, その間に介在する茸状乳頭が存在する. 糸状乳頭は, 表面に短い微絨毛を有する粘液細胞によって被われている. 一方, 茸状乳頭は糸状乳頭に比べて大きく, その背部中央には直径約 $100\mu\text{m}$ — $200\mu\text{m}$ の類円形をした味覚器が感覚円盤として見られる. 味覚器周縁には1~3列の線毛細胞が存在し, 茸状乳頭側面を被う粘液細胞との境界をなしている. 味覚器には, 走査電顕的に2種類の細胞の存在するのが認められる. その一つは, 表面に短い微絨毛をもつ支持細胞であり, もう一つは支持細胞に介在して存在する比較的長い微絨毛冠を有する味細胞である.

Fig. 3 は12か月例の再生部と対照側の舌尖の走査電顕写真である. この例では, 対照側に比べて幾分小さい再生した舌尖が認められた. また, 再生部と対照側とは茸状乳頭の数, 形態に大きな差が認められた. すなわち, 対照側舌尖部の茸状乳頭は, 舌尖部全体にわたり比較的広い間隔を置いて分布しているのに対し, 再生部の茸状乳頭は, 切断部付近に多数のものが密集していた.

Fig. 4 は同じ12か月例の再生部の切断部に近い部分と対照側の同じ部位の走査電顕写真である. Bの対照側に比べてAの再生部は茸状乳頭が多く, 密集している. また, 再生部の茸状乳頭には不正円形をしたものが認められた. また, 再生部の先端には, 茸状乳頭が少ないものが多かった. 一方, C, Dに示したように再生部の茸状乳頭の微細構造は対照側と似ており, 感覚細胞や周囲の線毛も認められる. また, 再生部と対照側の舌縁の形態にもあまり差異は認められなかった.

Table 1 は走査電顕写真を用いて計測した再生部の面積, 茸状乳頭数および単位面積当たりの茸状乳頭数を対照側と比較したものである.

3か月群4例の平均値でみると, 再生部の面積は対照側の52%であった. また, 4例の再生部と対照側の平均乳頭数はそれぞれ38個と46個で, 再生部の茸状乳頭数は, 4例中3例は対照側より少なく, 他の1例では多かった. 再生部および対照側の単位面積当たりの茸状乳頭数は4例いずれも再生部の方が多く, その平均値は, それぞれ $32.1/\text{mm}^2$, $20.9/\text{mm}^2$ で, 再生部が約1.5倍多かった.

11か月群では, 2例とも, 再生部の面積が対照側より小さく, その平均では22%であった. また, 2例とも再生部の茸状乳頭数は, 対照側より少なく, 平均で34%であった. 再生部および対照側の単位面積当たりの茸状乳頭数は, 再生部 $19.0/\text{mm}^2$ に対し, 対照側は $12.7/\text{mm}^2$ で約1.5倍再生部が多かった.

12か月群では, 切断側の再生部の面積は, 対照側に比較して小さく, また, 個体差が大きかったが, その平均値は再生部 0.9mm^2 に対し対照側 2.7mm^2 で対照側の33%であった. 再生部の茸状乳頭数は, 対照側に比べ12例中10例が少なく, 2例では逆に多かった. 全例の再生部の乳頭数の平均は23個, 対照側は38個で, 再生部は対照側の61%であった. 再生部および対照側の単位面積当たりの茸状乳頭数は, 12例中11例で再生部の方が多く, 1例では逆に少なかった. 12例の平均値は再生部が $26.9/\text{mm}^2$ であるのに対し, 対照側は $14.3/\text{mm}^2$ で, 再生部が約1.9倍多かった.

13か月群の再生部の面積は, 対照側の33%であった.

Fig. 3 Scanning electron photomicrograph shows the tip of the tongue of 12 months after amputation
Left : regenerated side, right : intact side, bar = 1 mm, $\times 35$.

Fig. 4 Scanning electron photomicrographs showing fungiform and filiform papillae in the tip of the tongue of 12 months after amputation
A.C: regenerated portion, B.D: intact side, A.B: $\times 200$,
C.D: $\times 350$, bar = $10\mu\text{m}$.

Table 1 Regenerated area and number of fungiform papillae

Group of 3 months (amputation on July)						
case No.	regenerated tip			intact side		
	regenerated area (mm ²)	No. of papillae	No. of papillae/mm ²	intact* area (mm ²)	No. of papillae	No. of papillae/mm ²
1	0.8	24	30.0	2.4	55	22.9
2	1.2	59	49.2	1.7	45	26.5
3	1.5	39	26.0	3.1	41	13.2
4	1.3	30	23.1	2.1	44	21.0
av.	1.2	38	32.1	2.3	46	20.9
Group of 11 months (amputation on October last year)						
5	0.5	10	20.0	1.8	21	11.7
6	0.5	9	18.0	2.7	37	13.7
av.	0.5	10	19.0	2.3	29	12.7
Group of 12 months (amputation on September last year)						
7	0.7	8	11.4	2.2	31	14.1
8	1.0	51	51.0	2.8	44	15.7
9	0.5	11	22.0	2.6	38	14.6
10	0.8	13	16.3	2.9	39	13.4
11	1.0	32	32.0	2.1	34	16.2
12	0.5	11	22.0	3.6	37	10.3
13	1.2	31	25.8	3.2	44	13.8
14	1.5	41	27.3	2.0	30	15.0
15	0.5	8	16.0	2.9	31	10.7
16	0.6	31	51.7	2.8	42	15.0
17	1.1	23	20.9	3.0	42	14.0
18	0.8	21	26.3	2.3	43	18.7
av.	0.9	23	26.9	2.7	38	14.3
Group of 13 months (amputation on August last year)						
19	1.1	16	14.5	3.1	32	10.3
20	0.6	36	60.0	2.2	41	18.6
av.	0.9	26	37.3	2.7	37	14.5
total av.	0.9	25	28.2	2.6	39	15.5

* Area of intact side is area of the tip in the tongue.

また、再生部の茸状乳頭数は、2例とも対照側より少なく平均で70%であった。単位面積当たりの茸状乳頭数の平均は、再生部37.3/mm²に対し対照側は14.5/mm²で再生部が約2.6倍多かった。

20例全例の再生部の面積、乳頭数、単位面積当たりの

乳頭数の平均値を対照側と比較してみると、それぞれ0.9mm²、25個、28.2個/mm²で対照側は2.6mm²、39個、15.5個/mm²であった。再生部は対照側より面積、乳頭数は小さいが、単位面積当たりの茸状乳頭数は再生部がはるかに多いことがわかった。再生部の面積は全例

で対照側より小さく、乳頭数は20例中17例で再生部が少なく3例では逆に対照側が少なかった。しかし、単位面積当たりの乳頭数は1例を除く19例で再生部が多かった。

次に、各実験群の所見を経時的に比較してみると、対照側に比べ再生部の面積は、11か月群、12か月群、13か月群の順に大きかった。また、茸状乳頭数も同様に11か月群がもっとも少なく、13か月群がもっとも多かった。また、単位面積当たりの茸状乳頭数も同様に11か月群がもっとも少なく、13か月群がもっとも多かった。この結果から、再生部の面積と乳頭数は切断後の時間の経過と共に増加することがわかる。一方、3か月群では、4例中3例が他の実験群に比べ、再生部も対照側も茸状乳頭数と単位面積当たりの茸状乳頭数が多い。これは、最初の舌尖部の切断時に切断線が舌体側にずれたものと思われる。切断部付近に茸状乳頭が多いことから、このような結果になったと考えられる。しかしながら、夏期3か月群は再生部の面積が大きく対照側に対する単位面積当たりの茸状乳頭数は冬眠群と変わらないことから、再生速度が早いと考えられる。

Table 2 は再生部と対照側の茸状乳頭の直径の最大値、最小値、および平均値を示したものである。

3か月群では再生部の茸状乳頭の直径の最大値は、4例中3例で対照側よりわずかに大きかった。しかし、他の1例は再生部がかなり小さかった。また、直径の最小値は、4例とも再生部の方が小さく、その平均は対照側の74%であった。直径の平均値は、4例とも再生部が小さく、その平均値は再生部 $9.7\mu\text{m}$ に対し、対照側は $10.8\mu\text{m}$ で再生部は対照側の90%の大きさであった。

11か月群2例の平均では、直径の最大値、最小値は、再生部が小さく、それぞれ対照側の58%と50%であった。直径の平均値は再生部 $8.0\mu\text{m}$ に対し、対照側は $12.9\mu\text{m}$ で再生部は対照側の62%の大きさであった。

12か月群では、茸状乳頭の直径の最大値は、12例中11例で再生部の方が小さく、1例のみはわずかに対照側が小さかった。12例の最大値の平均では再生部は対照側の80%であった。また、最小値は、12例中10例で、再生部の方が小さく、他の2例では逆に再生部の方が大きかった。12例の再生部の最小値の平均は対照側の69%であった。直径の平均値は再生部 $9.7\mu\text{m}$ 、対照側は $12.5\mu\text{m}$ で、12例の茸状乳頭の直径はいずれも再生部の方が小さく、対照側の78%であった。

13か月群2例の平均では、直径の最大値、最小値は、再生部が小さく、それぞれ対照側の82%と74%であった。また、直径の平均値は再生部 $9.6\mu\text{m}$ に対し、対照側は

$12.4\mu\text{m}$ で、再生部の茸状乳頭の直径は対照側の77%であった。

再生部の直径を全実験例について検討してみると、その最大値は20例中16例、最小値は18例、平均値は20例いずれも再生部が小さく、再生した茸状乳頭は小さいことがわかった。

再生部の乳頭の直径を各群別にみると、直径の最大値および最小値は、12か月群と13か月群では、ほとんど同じであったが、11か月群よりかなり大きかった。また、直径の平均値も、12か月群と13か月群は、ほぼ同じ大きさであったが、11か月群よりは、かなり大きかった。このことから、再生部の茸状乳頭の直径は経時的に大きくなるのではないかと考えられる。しかし、3か月群では、茸状乳頭の直径の最大値、最小値および平均を各実験群の平均値で比較してみると、いずれの値も、12か月群、13か月群に近く、11か月群よりは大きかった。3か月群は飼育期間が短いにもかかわらず、再生乳頭が大きかった。

II. 生理学的所見

Fig. 5 は11か月例の舌咽神経の応答を示したものである。1の記録は再生側、2の記録は対照側のものである。1の記録のbに示したように、再生部以外の刺激が無効であることを確認した後、実験を開始した。対照側についても、舌尖部以外の刺激が無効であることを確認した後、実験を行なった。

触刺激の場合、再生側も対照側も、ほとんど同じような群発するインパルスが認められた。水刺激の場合、再生側も対照側も、振幅の大きいインパルスが刺激の開始と共に発生し、刺激液を止めた後も短時間発生した後、急に消失した。0.5M NaCl の場合、再生側も対照側も刺激液の流出と同時にインパルスが発生した。刺激液の流出を止めた後も、かなり長時間インパルスが発生した後、徐々に頻度が減少した。0.01M HCl の場合も、対照側と同様にインパルスが発生した。0.01M HCl 刺激によるインパルスは、刺激直後に短時間、群発状に発生した。また、振幅の異なるインパルスが群発することがあったが、これらのインパルスの発生状況は再生側も対照側も同じであった。0.5M sucrose はほとんどインパルスが現われなかったが時にわずかの頻度で発生した。このような傾向は再生側も対照側も同じであった。0.01M quinine-HCl の場合は刺激後直ちにインパルスが発生したが、その後刺激液の流出中にも直ちに減少した。しかし、刺激液の流出を止めた後も、頻度の低いインパルスが持続した。このようなインパルス発生の傾向

Table 2 Diameter (μm) of fungiform papillae

Group of 3 months (amputation on July)						
case No.	regenerated tip			intact side		
	max.	min.	av.	max.	min.	av.
1	12.4	5.2	9.1	12.2	7.0	9.7
2	13.2	5.6	9.3	13.0	6.8	9.9
3	12.2	5.0	9.5	15.8	9.2	12.2
4	15.4	7.0	10.7	15.0	7.8	11.4
av.	13.3	5.7	9.7	14.0	7.7	10.8
Group of 11 months (amputation on October last year)						
5	9.2	4.8	7.3	18.8	9.2	12.0
6	11.8	4.6	8.7	17.4	9.6	13.7
av.	10.5	4.7	8.0	18.1	9.4	12.9
Group of 12 months (amputation on September last year)						
7	12.0	7.0	10.3	16.0	9.6	12.2
8	11.6	2.6	7.1	15.0	8.0	10.8
9	14.8	6.6	10.1	18.0	9.4	12.7
10	12.8	4.8	9.7	18.8	8.0	13.9
11	13.0	3.4	8.5	16.0	9.4	13.3
12	12.8	8.8	11.0	16.4	8.4	13.2
13	15.6	7.8	11.3	16.2	8.8	12.7
14	15.6	5.2	11.1	15.2	7.2	12.0
15	13.0	8.8	10.2	17.6	7.4	12.3
16	10.8	5.8	8.2	18.0	11.0	13.7
17	14.2	5.4	9.2	16.0	8.4	12.3
18	14.8	5.8	9.3	17.2	8.4	11.2
av.	13.4	6.0	9.7	16.7	8.7	12.5
Group of 13 months (amputation on August last year)						
19	14.9	6.9	11.1	16.9	7.1	13.2
20	11.6	4.6	8.1	15.6	8.4	11.5
av.	13.3	5.8	9.6	16.3	7.8	12.4
total av.	13.1	5.8	9.5	16.3	8.5	12.2

は再生側も対照側も同じであった。

Fig. 6 は、12か月例の舌咽神経の応答を示したものである。触刺激では再生側にも、対照側にも振幅の大きい群発するインパルスが発生した。水刺激では、再生側も対照側も刺激後直ちに振幅の大きいインパルスが発生し、刺激液の流出を止めると、短時間の内に消失した。0.5M NaCl 刺激では、再生側も対照側も、刺激の開始

と共にインパルスが発生し、刺激を中止した後、かなり長い間インパルスが持続的に発生した。これに対し、0.01M HCl と0.01M quinine-HCl は最初、高頻度のインパルスが発生し、刺激液の流出中にも、急激に頻度が減少した。しかし、quinine-HCl の場合は、その後もわずかにインパルスが持続した。0.5M sucrose は、応答がもっとも弱く、放電がほとんど生じない場合も多

Fig. 5 Nerve impulses of the regenerated and intact tip of the tongue recorded from glossopharyngeal nerve by stimuli in preparation of 11 months after the amputation of the tip of the tongue

Left record (1) : regenerated portion, right record (2) : intact side, a : tactile stimuli in the tip of the tongue, b : tactile stimuli in body of the tongue except the tip of the tongue, no response is recognized. In each record, the lower traces show stimulation. Calibration : 1 sec and 50 μ V.

く、発生してもごく頻度が低いものであった。これらの結果は3か月例でも全く同様で、再生側と対照側との差異は認められなかった。

考 察

カエルは舌によって、生きた虫を捕食するため、舌は特異な発達をしている。舌尖が2つに分かれているのは、捕食時に、口腔外に投げ出された舌が、食物に命中するためには舌尖部が広い方が有利だからではないだろうか。

本実験では、この2つに分岐した舌尖部の一方を切断すると、新しく舌尖部ができることを見つけたので、この再生した舌尖部の走査電顕による観察とこの部の感覚について調査を行なった。

実験は、7月に舌尖部を切断し、夏期に3か月飼育し

た群と、秋に切断して、翌年夏まで、11か月から13か月飼育した4つの群とに分けて行なった。

本実験では全ての実験例に舌尖部の再生が認められた。しかし、再生部の大きさは、全例が対照側の舌尖部より小さかった。その20例の平均は対照側の約35%であったが、個体差が大きかった。このような個体差は、舌が非常にやわらかく伸縮性に富んでいるので、最初に舌尖を切断する時、舌を伸展して切断すると、切断線がずれてしまうことが一つの原因と考えられる。すなわち、舌尖を切断するとき、舌を伸展すると、切断線が舌体側にずれるが、舌尖が再生した後の電顕標本では、舌は収縮しているため、切断線の移動は面積にはほとんど影響しない。しかし、茸状乳頭の分布は舌尖部でも舌体に近い側に多いので、再生部も対照側も茸状乳頭数が多くなったと考えられる。特に3か月群の3例では、再生部も

Fig. 6 Nerve impulses of the regenerated and intact tip of the tongue recorded from glossopharyngeal nerve by stimuli in preparation of 12 months after the amputation of the tip of the tongue

Left record (1) : regenerated portion, right record (2) : intact side, a : tactile stimuli in the tip of the tongue b : tactile stimuli in body of the tongue except the tip of the tongue, no response is recognized. In each record, the lower traces show stimulation. Calibration : 1 sec and $50\mu\text{V}$.

対照側も茸状乳頭数、および 1 mm^2 当たりの茸状乳頭数は、いずれも他の冬眠群より多くなっている。このように、3 か月群は他の冬眠群とは少し異なっているが、再生部と対照側との比較は再生部をもとに対照側を見ているので問題はないと思われる。

切断後の日数の短い3 か月群が、冬眠群に比べて、再生部が大きいことから舌尖部の再生には、長期間飼育し、人為的に冬眠させても、あまり良い結果は得られないものと考えられる。むしろ、夏期に十分な食物を与えて短期間飼育する方が好結果が得られるものと思われる。

カエルを対照とした再生実験は四肢に関するものが多い。Goode (1962)¹²⁾ は成熟したカエルの前肢と後肢を肘と膝の下で、また、指も切断し、その再生を調べている。前肢は9例中8例、後肢は7例中6例、指は10例中

8例で再生が認められたが、他の例では再生しなかったと報告している。Kurabuchi ら (1982)¹³⁾ は日本産の4種のカエルの脚を切断し、その再生を調べている。その報告では、アマガエル (*Hyla arborea japonica*) とダルマガエル (*Rana brevipoda porosa*) の変態後の若い小さいカエルでは、再生速度が早かったが、成体では再生しなかったという。ツチガエル (*Rana rugosa*) とニホンアカガエル (*Rana japonica*) では、成体でもよく再生した。また、どの種のカエルでも体長が大きいものほど再生が悪いと述べている。また、Kurabuchi ら (1985)¹⁴⁾ は、日本の3種のアオガエルの前肢の再生を調べ、シュレーゲルアオガエル (*Rhacophorus schlegelii*) とモリアオガエル (*Rhacophorus arboreus*) の場合、もっとも若く小さいカエルでは棒状またはパレット状に、良く再生したのに対し、成熟したものは再生しな

いか、再生しても円錐形の再生部が見られるだけだという。また、カジカガエル (*Rhacophorus buergeri*) の成体では円錐状または棒状の再生を示したという。この報告でも体長の大きいものが再生が悪いと述べている。これらの報告は四肢の再生速度が、動物種、年齢、体長の違いによって異なることを述べている。

本実験では、ダルマガエルに近いトノサマガエル (*Rana nigromaculata*) を使用した。また、本実験に使用したカエルは全て成体であったが、同じ成体でも年齢が異なる場合もあり、また、体の大きさについては考慮しなかったため、これらの影響も、個体差として表われたのかも知れない。

本実験では、再生部にも茸状乳頭が認められた。その数は20例の平均値で25個で、対照側の39個より少なかった。しかし、単位面積あたりに直すと、再生部は28.2個、対照側は15.5個となる。特に再生部の茸状乳頭は舌尖部でも、その先端部には少ないので、切断部付近に密集していた。また、再生部の茸状乳頭は小さいものが多く、形も時に円形でないものがあった。

Richards ら (1977)¹⁵⁾ は尾が吸収されたばかりの若いカエルの指を切断し、その再生を走査電顕で観察している。切断後の4週の終わりには、ほとんど正常の指の形にまで再生し、指の末端まで上皮細胞が認められたと述べている。また、Richards ら (1975)¹⁶⁾ は変態後、23～33日の若いカエルの前肢を手根部と肘の間で切断してその再生を調べている。7週から8週には、切断部から突出した再生部の先は一つの足趾となる。8週の終わりには、切断していない側では一番長い指先まで6.5mmであったのに対し、再生部の長さは2.5mmであった。腕を最初に切断した時には、カエルは生きた食物を捕らえることが十分にできないが、この時期には、速やかに動くことができ、生きた食物を捕らえることができると報告している。四肢の再生の場合には、腕よりも、末端の指の切断の方が完全に再生し、腕の場合には、再生が良い場合でも、再生部は小さく、また、一本の足趾はできるが完全ではない。

本実験の場合にも、再生部の大きさは、正常側に比べて小さかった。しかしながら、舌尖部であるから、さらに良い条件で飼育すれば、もっと完全な再生ができるかも知れない。しかし、Richards ら (1975)¹⁶⁾ は腕の再生の場合でも、本質的な再生は2か月で完成し、その後2か月の間には形態的变化はないと言っているため、本実験の夏期3か月群では再生は完了しているとも考えられる。本実験では多数の茸状乳頭が再生し、形態学的に

はほとんど完全であったのに対し、腕の切断では、一本の足趾しか再生せず、完全な再生がむづかしいようである。このような相違は茸状乳頭が構造的に単純であるからであろう。

味神経切断後の味蕾の変性を調べた実験がある。Vintschgau ら (1876)¹⁷⁾ はウサギ、Guth (1957)⁶⁾ はラットの舌咽神経を、また、Olmsted (1921, 1922)¹⁸⁾、¹⁹⁾ はイヌの舌神経、または鼓索神経を切断すると味蕾が消失してしまうことを報告している。また、ナマズでも除神経した味蕾には白血球が侵入し、味細胞を破壊してしまうと言われている (Olmsted, 1920²⁰⁾)。また、Guth (1958)²¹⁾ はネコの舌咽神経を切断し、その末端を舌咽神経、迷走神経、舌下神経に接合したものと、そのまま接合しなかったものについて、有郭乳頭中の味蕾の観察を行なっている。舌咽神経切断後、同側の有郭乳頭の少数の味蕾が消失するが、末端を舌咽神経と迷走神経に接合したものでは、神経の再生によって味蕾が出現し、舌下神経と接合したものでは、味蕾は形成されなかったと述べている。

上野 (1953)²²⁾ はラットの鼓索神経を切断すると味蕾は変性して消失し、神経が再生すると味蕾ももとの位置に再生することや、味蕾が再生するのは術後32日頃で、今まで、味液を無差別に飲んでいたものが、味液によって区別して飲むようになると報告している。

井ノ上 (1978)²³⁾ もラットの舌咽神経切断後の味蕾の再生が23日目に観察されたと報告されている。これらの動物では味神経は味蕾の栄養神経としての働きをもっているものと考えられる。

一方、Robbins (1967)¹⁰⁾ は、カエルの味神経を切断した後、長期間にわたって味覚器官を観察し、味覚器官は徐々に小さくなるけれども、決して消失しないと報告している。Toyoshima ら (1984)¹¹⁾ も、カエルの味覚器官を舌咽神経切断後、3時間から120日にわたって組織学的に、また、生理学的に検査し、カエルの味覚器官の形態的保持には味神経は必要ではないと結論している。

倉淵ら (1981)²⁴⁾ はアフリカツメガエルの前肢の再生実験で、坐骨神経を前肢に転移し、神経量を増やした場合や前肢の全ての神経を切断した場合など、神経の供給量の増減が再生におよぼす影響を調べている。その結果によると、正常な前肢の再生より、神経の供給量を増やしたときの方が、再生肢が長く、すべての神経を切断した場合には、再生の転起は見られなかったと報告している。

本実験の場合には、再生側の感覚細胞は対照側と同様に規則正しく配列しており、また、その感覚神経も対照側と同様な応答を示したことから、神経の再生は完全に行なわれていると考えられる。

Kusano ら (1957)²⁵⁾, Kusano (1960)²⁶⁾, Yamashita (1963)²⁷⁾らはトノサマガエル, Akaike ら (1976)²⁸⁾は食用ガエルについて研究し、カエルの舌は、水および4基本味質に応答することを報告している。また、本田 (1982)²⁹⁾はアフリカツメガエルの口腔底は、水には応答しないが、4基本味質には応答すると報告している。

本実験は舌尖の再生側と対照側の種々の刺激に対する応答の差異を調べることが一つの目的である。この目的のために再生側と対照側に触刺激と化学的刺激を与え、両部の応答を調べた。しかし、再生側の応答は全く対照側と同じで、両部に差異は認められなかった。再生側と対照側はいずれも、水および食塩に良く応答し、塩酸キニーネと塩酸に対する応答がこれに次いだ。しかし、0.5Mの蔗糖に対する応答は、明らかではなかった。Kusano ら²⁵⁾はカエルの舌は水または Ringer 液に溶かした $\frac{1}{8}$ M以上の蔗糖に対して応答することを報告しているが、本実験ではこれより濃度の高い $\frac{1}{2}$ Mの蔗糖でも明らかな応答が認められなかった。Kusano ら²⁵⁾は単一の茸状乳頭を化学的に刺激しているのに対し、本実験では舌尖部のごく狭い範囲の刺激ではあるが、かなりの数の茸状乳頭を含んでいる。しかしながら、本実験では蔗糖に対する応答がほとんどなかったのは、カエルの舌も部位によって感受性が異なっていることが考えられる。

要 約

トノサマガエル (*Rana nigromaculata*) の右側舌尖部を分岐部より切断した後、3か月から約1年間飼育した。夏期は3か月、冬眠期間を含む場合は約1年間経過後、切断側舌尖部に再生が認められたので、左側の舌尖部を対照側として、実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡によって形態学的に、また、再生部の感覚については生理学的に検討した。

走査電顕写真をもとに、再生部の面積、茸状乳頭数、単位面積当たりの茸状乳頭数を調べ対照側と比較した。再生部と対照側の感覚は再生部と対照側の舌尖部を支配

する舌咽神経を残し、他の舌体部の感覚神経を全て切断した標本を作成し、再生側と対照側の舌尖部に触刺激と化学的刺激を加え、舌咽神経の応答を比較した。

その結果を要約すると以下のようなものである。

1. 夏期3か月、冬眠期を含む11か月、12か月および13か月の各群は、いずれにも舌尖部の再生が認められた。20実験例の再生部の面積の平均値は 0.9mm^2 で、対照側の舌尖部の大きさの約 $\frac{1}{3}$ であった。

2. 再生部にも茸状乳頭が認められた。再生部の茸状乳頭数は20例の平均で25個、対照側は39個であった。

3. 20例の再生部および対照側の 1mm^2 当たりの茸状乳頭数は、それぞれ28.2個と15.5個で、再生部では、特に切断部付近に茸状乳頭が密集していた。

4. 再生部と対照側の茸状乳頭の平均直径は、それぞれ $9.5\mu\text{m}$ と $12.2\mu\text{m}$ で、再生部の乳頭は小さかった。また、その形が円形でないものが認められた。

5. 各実験例はいずれも触刺激によく応答した。その結果は対照側と同様であった。

6. 再生側は化学的刺激によく応答した。再生側の化学的刺激に対する応答は対照側舌尖部の場合と全く同じ傾向であった。

7. 水刺激の場合、刺激液の流出と同時に応答し、刺激を止めた後にもわずかにインパルスが発生し、消失した。0.5M NaCl の場合も水と同様に刺激の開始と共にインパルスが発生し、刺激を中止した後にも、かなり長くインパルスが発生した。また、インパルスの頻度はもっとも大であった。0.01M HCl の場合、刺激開始直後、短期間インパルスが群発したが、刺激中にも消失した。0.5M sucrose はインパルスが発生しない例や、発生してもごく少数であった。0.01M quinine-HCl の場合には、頻度の低いインパルスが発生した。この場合にも刺激を中止した後にも少数のインパルスが持続した。

稿を終わるにあたり、本研究に際して終始、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました中原 敏教授に心から感謝致します。また、形態的観察に際して、適切なる御教示と御援助をいただきました本学第二口腔解剖学講座、島村昭辰教授ならびに豊島邦昭助教授に深く感謝致します。また、種々御協力いただきました生理学講座の皆様にも感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Emerson, S.B. : Movement of the hyoid in frogs during feeding. *Am. J. Anat.* 149 : 115—120, 1977.
- 2) 中原 敏・廖 伯毅・泉 栄子・大曲統司明・百瀬芳郎 : 舌下神経の遠心性インパルスに及ぼす舌の刺激効果. 九州歯会誌 22 : 345—352, 1969.
- 3) 香西博之 : 蛙舌下神経の反射性放電. 九州歯会誌 28 : 210—221, 1974.
- 4) 井上 功 : 蛙舌下神経の反射放電と舌の刺激部位との関連について. 九州歯会誌 32 : 119—131, 1978.
- 5) Kumai, T. : Reflex response of the hypoglossal nerve induced by chemical stimulation of the tongue and electrical stimulation of the glossopharyngeal nerve in the frog. *Jpn. J. Physiol.* 31 : 625—637, 1981.
- 6) Guth, L. : The effects of glossopharyngeal nerve transection on the circumvallate papilla of the rat. *Anat. Rec.* 128 : 715—731, 1957.
- 7) Farbman, A.I. : Fine structure of degenerating taste buds after denervation. *J. Embryol. exp. Morphol.* 22 : 55—68, 1969.
- 8) Iwayama, T. : Changes in the cell population of taste buds during degeneration and regeneration of their sensory innervation. *Z. Zellforsch.* 110 : 487—495, 1970.
- 9) Fujimoto, S. and Murray, R.G. : Fine structure of degeneration and regeneration in denervated rabbit vallate taste buds. *Anat. Rec.* 168 : 393—414, 1970.
- 10) Robbins, N. : The role of the nerve in maintenance of frog taste buds. *Exp. Neurol.* 17 : 364—380, 1967.
- 11) Toyoshima, K., Honda, E., Nakahara, S. and Shimamura, A. : Ultrastructural and histochemical changes in the frog taste organ following denervation. *Arch. Histol. Jap.* 47 : 31—42, 1984.
- 12) Goode, R.P. : Regeneration of limbs in adult *Hymenochirus boettgeri*. *Nature* 193 : 1098, 1962.
- 13) Kurabuchi, S. and Inoue, S. : Limb regenerative capacity of four species of Japanese frogs of the families *Hylidae* and *Ranidae*. *J. Morph.* 173 : 129—135, 1982.
- 14) Kurabuchi, S., Fujikura, K. and Inoue, S. : Limb regenerative capacity of Japanese frogs in the family *Rhacophoridae*. *Zoological Science* 2 : 713—721, 1985.
- 15) Richards, C.M., Carlson, B.M., Connelly, T.G., Rogers, S.L. and Ashcraft, E. : A scanning electron microscopic study of differentiation of the digital pad in regenerating digits of the Kenyan reed frog, *Hyperolius viridiflavus ferniquei*. *J. Morph.* 153 : 387—396, 1977.
- 16) Richards, C.M., Carlson, B.M. and Rogers, S.L. : Regeneration of digits and forelimbs in the Kenyan reed frog, *Hyperolius viridiflavus ferniquei*. *J. Morph.* 146 : 431—446, 1975.
- 17) Vintschgau, M.V. und Honigschmied, J. : Nerves glossopharyngeus und Schmeckbecher. *Arch. ges. Physiol.* 14 : 443—448, 1876.
- 18) Olmsted, J.M.D. : Effects of cutting the lingual nerve of the dog. *J. Comp. Neur.* 33 : 149—154, 1921.
- 19) Olmsted, J.M.D. : Taste fibers and the chorda tympani. *J. Comp. Neur.* 34 : 337—341, 1922.
- 20) Olmsted, J.M.D. : The results of cutting the seventh cranial nerve in *Ameiurus nebulosus*. *J. exp. Zool.* 31 : 369—401, 1920.
- 21) Guth, L. : Taste buds on the cat's circumvallate papilla after reinnervation by glossopharyngeal, vagus, and hypoglossal nerves. *Anat. Rec.* 130 : 25—38, 1958.
- 22) 上野正康 : 味蕾の変性ならびに再生に関する実験的研究. 九州歯会誌 7 : 19—43, 1953.
- 23) 井ノ上俊郎 : ラット舌神経の再生に関する実験的研究. 九州歯会誌 32 : 282—297, 1978.

- 24) 倉淵真吾・井上 栄：アフリカツメガエル *Xenopus laevis* における肢の再生と神経の関係. 〔会〕動物学雑誌 90:657, 1981.
- 25) Kusano, K. and Sato, M. : Properties of fungiform papillae in frog's tongue. *Jap. J. Physiol.* 7:324—338, 1957.
- 26) Kusano, K. : Analysis of the single unit activity of gustatory receptors in the frog tongue. *Jap. J. Physiol.* 10:620—633, 1960.
- 27) Yamashita, S. : Stimulating effectiveness of cations and anions on chemoreceptors in the frog tongue. *Jap. J. Physiol.* 13:54—63, 1963.
- 28) Akaike, N., Noma, A. and Sato, M. : Electrical responses of frog taste cells to chemical stimuli. *J. Physiol.* 254:87—107, 1976.
- 29) 本田栄子：アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 口腔底の感覚器について. 九州歯会誌 36:285—296, 1982.