鼓索・舌神経切除によるウサギ茸状乳頭の 形態的变化に関する電子顕微鏡的研究

村 木 祐 孝

九州歯科大学大学院歯学研究科口腔外科学第1専攻(指導: 福田仁一教授)

九州歯科大学口腔解剖学第2講座(指導: 嶋村昭辰教授)

平成5年12月24日受理

Ultrastructural Study on Morphological Changes of Rabbit Fungiform Papillae Following Neurectomy of Chorda-Lingual Nerves

Yukoh Muraki

First Department of Oral Surgery (Director: Prof. Jinichi Fukuda)

Second Department of Oral Anatomy (Director: Prof. Akitatsu Shimamura)

Kyusyu Dental College, Kitakyushu, Japan

The epithelia of rabbit fungiform papillae and filiform papillae were studied by electron microscopy. Further, filiform changes observed in the dorsal epithelium of fungiform papillae after chorda-lingual neurectomy were studied by scanning electron microscopy; the state of keratinization of the epithelium was observed by transmission electron microscopy; and the findings were compared with those in the epithelium of normal filiform papillae.

The surface of fungiform papillae was relatively smooth, and the dorsal epithelium was covered by a thin keratin layer with no keratohyalin granules.

In filiform papillae, the nature of keratinization was quite different between the epithelial cell layers on the anterior and posterior aspects of the papillae. On the anterior aspect, epithelial cells contained many keratohyalin granules, were nucleated to the topmost layer, and formed a soft keratin layer, showing a strong tendency toward parakeratosis. On the posterior aspect, in contrast, the cytoplasm of epithelial cells was rich in ribosomes and tonofibrils, but few keratohyalin granules were noted. The superficial cells had no nuclei or cell organelles and showed true keratinization, forming a hard keratin layer.

After chorda-lingual neurectomy, taste buds in fungiform papillae degenerated, and marked progression of keratinization was observed in the dorsal epithelium of many fungiform papillae 1 week after denervation. The keratin layer on the dorsal aspect of these papillae was thickened, and the papillae were characteristically pointed as in filiform papillae and curved toward the pharynx. These changes became more notable with time, and the fungiform papillae were difficult to distinguish from surrounding filiform papillae by scanning electron microscopy 6 months after denervation.

In the dorsal epithelium of fungiform papillae showing marked changes, transmission

electron microscopy showed a pseudokeratotic layer occasionally containing condensed nuclei in the anterior aspect of the papillae but a keratin layer without nuclei or cell organelles in the posterior aspect. The ultrastructural examination of markedly degenerated fungiform papillae revealed a dual keratinization pattern similar to that in the epithelium of filiform papillae. Keratohyalin granules were observed in fungiform papillae showing marked keratinization. The appearance of keratohyalin granules not observed in normal fungiform papillae showing only mild keratinization suggests that they play a role in keratinization of fungiform papillary epithelium.

Key words : Fungiform papilla / Denervation / Filiform-like fungiform papilla / Rabbit / Electron microscopy

緒 言

von Vintschgau ら (1877)¹⁾ がウサギを用いて、舌咽神経切断後の葉状乳頭味蕾の変化を観察して以来、哺乳動物の葉状乳頭ならびに有郭乳頭の味蕾の形態および機能の維持には、味神経（舌咽神経）の存在が不可欠であり、味神経を切除すると味蕾は変性・消失し、神経の再生にともなって味蕾も再生することが報告されてきた (Olmsted, 1921²⁾, 1922³⁾; Guth, 1957⁴⁾, 1958⁵⁾, 1963⁶⁾, 1971⁷⁾; Farbman, 1969⁸⁾; Fujimoto ら, 1970⁹⁾; Kennedy, 1972¹⁰⁾; Oakley, 1974¹¹⁾; 近藤ら, 1983¹²⁾).

このことは、神経がインパルスの伝導以外に、支配領域の細胞や組織の形態を維持させるための、神経栄養的因子を有することを示唆するものと考えられる。

一方、茸状乳頭は顔面神経に由来する鼓索神経と、三叉神経に由来する舌神経により、二重に支配されていることが知られている (Farbman ら, 1978¹³⁾; Zahm ら, 1985¹⁴⁾; Whitehead ら, 1985¹⁵⁾). この茸状乳頭においては、鼓索・舌神経切除後も味蕾は消失しないとの報告 (Whitehead, 1987¹⁶⁾; Riddle ら, 1988¹⁷⁾; Hård af Segerstad ら, 1989¹⁸⁾; Kinnman ら, 1991¹⁹⁾; Oliver ら, 1992²⁰⁾; Barry ら, 1993²¹⁾) もあり、しばしば議論の対象となってきた。

近年、Ganchrow ら (1989)²²⁾ はラットで、中島 (1988)²³⁾、Nakashima ら (1990)²⁴⁾ は成熟したウサギで、鼓索・舌神経を長期にわたって切除した状態にしておくと、茸状乳頭の味蕾が消失するとともに、味蕾の消失した茸状乳頭自体にも顕著な形態的变化が起こり、糸状乳頭様構造を示すようになることを報告した。その後、この様な現象に関して、いくつかの報告 (Oakley

ら, 1990²⁵⁾; 長門ら, 1992²⁶⁾; 長門, 1993²⁷⁾) がなされてきた。この中で長門ら (1992)²⁶⁾ は、ラットを用いた出生後間もない時期での鼓索・舌神経切除が、茸状乳頭の完全な糸状乳頭化を引き起こすことを報告し、茸状乳頭が鼓索・舌神経の神経栄養因子により誘導・維持される、特殊に形態変化した糸状乳頭である可能性を示唆した。しかしながら、糸状乳頭様に変化した茸状乳頭背面上皮の角化の様相を、微細構造的に検索したものはない。

本研究では、この様な鼓索・舌神経を切除した後に、茸状乳頭背面上皮に現れる現象を詳細に観察すると同時に、この現象を正常な糸状乳頭上皮にみられる角化の様相と、微細構造的に比較検討した。

材料ならびに方法

実験動物には体重 3 kg 前後の雄の成熟ウサギ (日本白色種) を用いた。麻酔は塩酸キシラジン (セラクター[®], Bayer) 5 mg/kg, 塩酸ケタミン (ケタラル[®], 三共) 0.7 ml/kg を大腿部に筋注併用することによって行った。麻酔後、ウサギを実験台に仰臥位に固定し、オトガイ部から咽頭部にかけて剃毛、ヨード及び 70% エタノールで消毒したのち、エピネフリン含有 2% リドカイン 1.8 ml を用いて局所麻酔を行った。咽頭部の正中にオトガイ下部から舌骨部に至る約 7 cm の皮膚切開を加え、顎二腹筋及び顎舌骨筋を露出、顎舌骨筋正中より右側方を正中と平行に切離し、鼓索・舌神経を露出した。同様にして左側の鼓索・舌神経を露出し、これらの神経を微小外科用器具及び手術用顕微鏡を用いて周囲組織より剥離した。続いて右側の鼓索・舌神経のみを約 5 mm 切除し、軸索の再生を防止することを目的に両断端をそれぞれ前後に折り返し結紮した (図 1)。創部は抗生

図1 ウサギ舌前方部の感覚神経支配と神経切除部位を示す
 V: 三叉神経 VII: 顔面神経 L: 舌神経
 CT: 鼓索神経 Sm. G: 顎下腺 Fu. P: 茸状乳頭

剤で洗浄後、筋層・皮膚縫合を行った。実験期間は神経切除後2, 4日, 1, 2, 4, 8週, 6カ月間とし、各経日4頭、計28頭を用いた。

各実験期間飼育したウサギは、鼓索・舌神経切除時と同様の方法により麻酔後、両側外頸静脈を切断し、両側総頸動脈より血液抗凝固剤添加生理食塩液にて脱血を行った後、0.1 M リン酸 (pH 7.3) で緩衝した2% パラホルムアルデヒドと2.5% グルタルアルデヒドとの混合液にて灌流固定を行った。固定後直ちに舌を全摘し、各経日2頭、計14頭の舌を、神経切除側の茸状乳頭を含む $2 \times 2 \times 2$ mmのブロックに細切した。細切したブロックは同固定液で6時間浸漬固定を行った後、1% オスミウム酸 (Millonig, 1961²⁸⁾) で2時間後固定を行い、上昇エタノール系列にて脱水、プロピレンオキシドで置換した後、エポキシ樹脂 (Luft, 1961²⁹⁾) に包埋した。組織はガラスナイフを装着したPorter-Blum MT2B ウルトラミクロトームにて $1 \mu\text{m}$ の切片とし、1% トルイジンブルー (Björkman, 1962³⁰⁾) で染色した後、光学顕微鏡の観察に供した。さらにダイヤモンドナイフを用いて90 nmの超薄切片を作製後、コロジオン膜を張った75メッシュの銅製グリッドに取り、酢酸ウラン (Tandler, 1990³¹⁾) ならびに鉛 (Sato, 1968³²⁾) による電子染色を施し、カーボン蒸着を行った後、JEM-1200 EX II 透過型電子顕微鏡にて観察した。

一方、残りの各経日2頭、計14頭の舌は、走査電顕

的観察に供した。舌をアルデヒドで固定した後、タンニン酸及びオスミウム酸にて導電染色を行い (Murakami, 1973³³⁾)、エタノール脱水、T-ブチルアルコールに置換後、凍結乾燥を施し (Inoue ら, 1988³⁴⁾)、白金パラジウム蒸着を行った後、日立S-530 走査型電子顕微鏡にて観察した。

結 果

I. 正常茸状乳頭ならびに糸状乳頭の組織構造

ウサギの舌は舌背の中央部に存在する臼歯間隆起によって舌背前部と舌背後部に区別することができるが、茸状乳頭は舌背前部にのみ観察され、舌背後部には認められない。また、茸状乳頭は前方に向かうに従ってその数を増し、舌尖部で特に密集する。舌背前部を走査電顕で観察すると、舌前方部には、ほぼ同様の円錐形を呈した糸状乳頭が分布している。糸状乳頭の先端は、すべて咽頭方向に向けて傾斜している。このような糸状乳頭に介在して茸状乳頭が観察される。茸状乳頭の表面は比較的平滑で、その中央部付近には数カ所味孔が開くのが認められる (図2)。

茸状乳頭を矢状断切片にて観察すると、乳頭固有層にはよく発達した二次乳頭の形成がみられる。乳頭上皮は乳頭側面においては表層まで核が認められる錯角化を示すが、乳頭背面では菲薄な角質層へと移行する (図3)。透過電顕で観察すると、乳頭側面では、基底層および有

図2 舌背前部の走査電顕写真

糸状乳頭の先端はすべて咽頭方向（矢印）に向けて傾斜しており、茸状乳頭はこれら糸状乳頭に介在して存在する

× 350

図3 舌背前部糸状乳頭（Fi）および茸状乳頭（Fu）の矢状断光顕写真

茸状乳頭側面の上皮は表層まで核が認められる錯角化傾向を示すが、茸状乳頭背面では菲薄な角質層へと移行する

× 200

図4-6 茸状乳頭側面の透過電顕写真

図4 遊離リボゾーム (矢じり) や多数の張フィラメント (矢印) が観察される × 50000

図5 張フィラメントは集束して張原線維 (Tb) を形成する × 89000

図6 各細胞はよく発達した嵌合やデスモゾーム (Ds) によって互いに強く結合する × 80000

図7-9 茸状乳頭背面の透過電顕写真

図7 デスモゾーム(Ds)と連続するよく発達した張原線維(Tb)が観察される × 30000

図8 乳頭背面上皮内には味蕾(TB)が認められる × 1000

図9 味孔(Tp)周囲上皮の透過電顕写真

乳頭背面は電子密度の高い扁平化した角質細胞(Kt)によって被われる

矢印：味毛 × 7000

棘層上皮の細胞質内には、遊離リボゾームや多数の張フィラメントが認められる（図4）。これら張フィラメントは中間層にいくに従って、次第に集束し、張原線維を形成する（図5）。さらに中間層から表層になると、細胞は著しく扁平化するが、各細胞はよく発達した嵌合やデスモゾームによって、互いに結合するのが観察される（図6）。一方、乳頭背面の基底層および有棘層の上皮細胞内には、デスモゾームと連続するよく発達した張原線維が観察される（図7）。角質層になると、細胞は著しく扁平化し、核は認められない（図9）。茸状乳頭背面の上皮内には、2～4個の味蕾が認められ（図8）、味孔を通して口腔環境と接触する（図9）。

糸状乳頭を矢状断にて観察すると、その先端はすべて咽頭方向に傾斜している。糸状乳頭内部では、よく発達した固有層が乳頭先端近くまで入り込み、二次乳頭を形成している。糸状乳頭の上皮は、これら二次乳頭の前方面部にみられる細胞層と、後方面部にみられる細胞層とでは、角化の様相が著しく異なっている。すなわち糸状乳頭前方面部上皮は、最表層まで核が認められる錯角化を示すが、乳頭後面部は、表層が角質層によって被われる真性角化上皮からなる（図10）。

糸状乳頭前面の上皮を透過電顕で観察すると、ほとんどの上皮細胞内にケラトヒアリン顆粒の分布が認められる。ケラトヒアリン顆粒は上皮表層に向かうに従って、それぞれの顆粒が融合し徐々に大きさを増すが（図11）、最表層近くになると突然消失する。上皮深層の細胞は、隣接する細胞と複雑な嵌合やよく発達したデスモゾームによって、密接して結合する（図12）。しかし表層にいくに従って、細胞間隙は著しく拡大する。このようなところでは、デスモゾームの発達は悪い（図13）。ケラトヒアリン顆粒の周囲では遊離リボゾーム、張フィラメントあるいはミトコンドリアが豊富に観察される（図12）。

一方、糸状乳頭後面の上皮は、トルイジンブルーに著しく濃染する厚い角質層を有することを特徴とする（図10）。透過電顕で観察すると、後面上皮の細胞質内は遊離リボゾームや張原線維が多数観察されるが、ケラトヒアリン顆粒はほとんど認められない（図14）。上皮表層は、核ならびに細胞内小器官を欠く電子密度の高い角質層によって被われている（図15）。

II. 鼓索・舌神経切除後の茸状乳頭の形態的变化

鼓索・舌神経を切除することによって、ほとんどの茸状乳頭内味蕾は早期より変性し始め、神経切除4日後では一部の茸状乳頭で、連続切片においても味蕾を確認す

ることができない（図16）。

神経切除1週間後になると、走査電顕的にも多くの茸状乳頭で味孔の消失および乳頭表面の角化亢進が認められ、表面形態は粗造となる（図17）。光顕的には、味蕾の完全に消失した乳頭では上皮表層の角質層が肥厚し、乳頭の表面は平滑さを失う。このような変化は、乳頭中央部付近で特に著しい（図18）。

神経切除2週間後で最も変化の著しい茸状乳頭表面を走査電顕で観察すると、乳頭背面の平滑さは失われ、細胞が剥離脱落しつつある所見も観察される（図19）。矢状断切片では、乳頭背面の上皮は、厚い角質層を伴って円錐状に尖鋭化し、その先端は僅かに咽頭側へ傾斜する傾向がみられる。特に乳頭の咽頭側すなわち後面では、糸状乳頭の後面上皮と同様に、トルイジンブルーに濃染する角質層が著明に観察される（図20）。

神経切除4週間後になると、糸状乳頭様に変化した茸状乳頭では、乳頭背面中央部が著しく突出し、咽頭側に向かって先端が尖鋭化するのが観察される（図21）。また希にはあるが、先端が咽頭側ではなく、舌縁方向へ向かって尖鋭化しているものも観察される（図22）。矢状断切片で観察すると、茸状乳頭背面の角質層の肥厚は、乳頭の尖鋭化した部分より乳頭後面にかけて著しく発達しているが、乳頭前面では、次第に錯角化層へと移行する（図23）。このような茸状乳頭を透過電顕的に観察すると、乳頭の前面においては、最表層付近でも一部の細胞で濃縮した核の残存する錯角化傾向を示す（図24）。一方、乳頭の後面は核や細胞内小器官をほとんど失った、電子密度の高い角質細胞によって被われている（図25）。

神経切除8週間後になると、変化の著しい茸状乳頭においては、乳頭背面はさらに突出し、咽頭側に傾斜した乳頭先端部はさらに尖鋭化する。このように一部の茸状乳頭は周囲糸状乳頭と非常に類似した形態的特徴を示し、しばしば走査電顕的にも糸状乳頭との識別が困難である（図26）。矢状断切片で観察すると、トルイジンブルーに濃染する角質層はさらに厚みを増し、乳頭後面部では、ほぼ全域にわたって角質層により被われるが、乳頭前面部では錯角化層も認められる（図27）。

神経切除6カ月後の舌表面を走査電顕で観察すると、糸状乳頭は正常舌とほぼ同様の組織構造を示すが、舌側縁部および舌尖付近を除いて、糸状乳頭の間に茸状乳頭を確認することはできない（図28）。しかしながら、矢状断切片にて観察すると、固有層の形態学的特徴によって、さらに糸状乳頭様に変化の進んだ茸状乳頭を識別す

図10 正常糸状乳頭の矢状断光顕写真

糸状乳頭前面部上皮(矢印)は錯角化を示すが、乳頭後面部(矢じり)は真性角化上皮からなる × 310

図11-13 糸状乳頭前面上皮の透過電顕写真

図11 中間層の細胞内にはケラトヒアリン顆粒(K)が認められる × 4000

図12 深層では、隣接する上皮細胞間には複雑な嵌合とよく発達したデスモゾーム(矢印)が観察される × 20000

図13 表層付近では、細胞間隙(Is)は拡大し、わずかに細胞間橋(矢じり)によって互いに結合する × 6000

図14-15 糸状乳頭後面上皮の透過電顕写真

図14 細胞質内には多数の遊離リボソーム (Rs) や張原線維 (Tb) が観察される × 20000

図15 上皮表層は核ならびに細胞内小器官を欠く電子密度の高い角質層 (Kt) によって被われる × 4000

ることができる。このように変化した茸状乳頭は乳頭の幅径が著しく縮小しており、光顕的にも周囲糸状乳頭と非常に類似した組織像を示す。すなわち、乳頭前面部の上皮は糸状乳頭前面におけるのと類似した錯角化を示すのに対し、乳頭後面部では上皮表層が角質層からなる真性角化の所見を呈している (図 29)。

変化した茸状乳頭の前面を透過電顕的に観察すると、前面上皮の細胞層は、先端付近を除いて錯角化傾向を示し、所々に濃縮した核の残存する細胞を認める (図 30)。張フィラメントは細胞質内で集束せず、散在している (図 31)。細胞間隙は、表層の広い範囲において著しく開大し、デスモゾームの発達も悪い (図 30)。一方、後面上皮細胞の細胞質内は、多数の張原線維とリボソームによって満たされている。張原線維は扁平化した細胞の長軸に沿って並行な走行を示す (図 33)。細胞間隙は表層に向かうに従って嵌合を失い、徐々に開大する。表層の角質細胞は電子密度が非常に高く、核をはじめとした細胞内小器官は消失している (図 34)。また乳

頭の前面および後面上皮の細胞質内には、しばしばケラトヒアリン顆粒が出現するのが認められる (図 32, 35)。

考 察

哺乳動物の茸状乳頭は、顔面神経由来の鼓索神経と、三叉神経由来の舌神経によって二重支配を受けていることが知られている。その中で、鼓索神経は味蕾内に終末する味神経として、また舌神経は味蕾周囲の上皮内に終末するとともに、固有層に存在する機械受容神経終末装置を形成し、体性感覚をつかさどる神経として、その機能が推測されてきた。最近になってラットの口蓋に分布する味蕾 (corpuseular bodies) は、三叉神経によって支配されているとの報告 (Liem ら, 1990³⁵⁾) もあるが、三叉神経が直接味覚情報の伝達に関与するという見解は、一般に否定されている (山本ら, 1993³⁶⁾)。

有郭乳頭や葉状乳頭において、味神経 (舌咽神経) を切除すると味蕾は変性し、ついには完全に消失するが、

図16 神経切除 4 日後の茸状乳頭の矢状断光顕写真 × 200

図17 神経切除 1 週間後の茸状乳頭の走査電顕写真
味孔は消失し乳頭表面の角化が亢進するのが観察される × 350

図18 神経切除 1 週間後の茸状乳頭の矢状断光顕写真
上皮表層の角質層は肥厚し、乳頭の表面は平滑さを失う × 250

図19 神経切除2週間後の茸状乳頭の走査電顕写真 × 350

図20 神経切除2週間後の茸状乳頭の矢状断光顕写真

乳頭の先端は僅かに咽頭側（矢印）へ傾斜する傾向を示す × 320

図21-22 神経切除4週間後の茸状乳頭の走査電顕写真

図21 乳頭背面中央部は咽頭側（矢印）に向けて著しく突出する × 350

図22 希にはあるが、咽頭側（矢印）とは異なった方向に先端を傾斜する茸状乳頭も観察される × 350

図23 神経切除 4 週間後の茸状乳頭の矢状断光顕写真 × 180

図24 乳頭前面の透過電顕写真
最表層付近でも核 (N) の残存する錯角化傾向を示す × 4500

図25 乳頭後面の透過電顕写真
電子密度の高い角質層 (Kt) によって被われる × 7500

図26 神経切除8週間後の茸状乳頭の走査電顕写真
咽頭側（矢印）に傾斜した乳頭先端部はさらに尖鋭化する × 280

図27 神経切除8週間後の茸状乳頭の矢状断光顕写真
角質層はさらに厚みを増し、乳頭後面部ではほぼ全域にわたって角質層により被われる × 250

図28 神経切除6ヵ月後の舌背前部走査電顕写真
舌背の広範囲にわたって茸状乳頭を確認することは出来ない × 170
図29 神経切除6ヵ月後の茸状乳頭の矢状断光顕写真
周囲糸状乳頭と非常に類似した組織像を呈する × 170

図30-32 神経切除6カ月後の茸状乳頭前面の透過電顕写真

図30 表層付近まで核(N)の残存する錯角化傾向を示す × 3500

図31 張原線維(矢じり)は細胞質内で集束せず散在している × 2500

図32 ケラトヒアリン顆粒(K)の出現を認める × 25000

図33-35 神経切除6カ月後の茸状乳頭後面の透過電顕写真

図33 細胞質内は多数の張原線維 (Tb) とリボゾーム (矢印) によって満たされている × 25000

図34 張原線維 (Tb) は扁平化した細胞の長軸に沿って並行な走行を示す

表層の角質細胞 (Kt) は電子密度が高く、核 (N) をはじめとした細胞内小器官は消失している × 5000

図35 ケラトヒアリン顆粒 (K) の出現を認める × 25000

神経の再生にともなって味蕾も上皮内に再生することが報告されてきた (Guth, 1957⁴⁾, 1958⁵⁾, 1963⁶⁾, 1971⁹⁾; Fujimoto ら, 1970⁸⁾; Kennedy, 1972¹⁰⁾; Oakley, 1974¹¹⁾; 近藤ら, 1983¹²⁾). しかしながら茸状乳頭においては, 鼓索・舌神経を切除後も味蕾は消失しないとの報告もあり (Whitehead ら, 1987¹⁶⁾; Riddle ら, 1988¹⁷⁾; Hård af Segerstad ら, 1989¹⁸⁾; Kinnman ら, 1991¹⁹⁾; Oliver ら, 1992²⁰⁾; Barry ら, 1993²¹⁾), その詳細については議論の多いところである。

Whitehead ら (1987)¹⁶⁾ は, ハムスターを用いて鼓索・舌神経切除後の茸状乳頭を透過電顕的に観察したところ, 神経切除によって, 実験側における電気生理学的反応が全く認められないにも関わらず, ほとんどの乳頭内に味蕾が存在することを報告した。また Barry ら (1993)²¹⁾ は, 同じくハムスターの鼓索・舌神経切除を行い, 味蕾細胞の標識酵素である Ca-ATPase を用いて味蕾の変化を観察した。その結果, ほとんどの茸状乳頭内の味蕾に萎縮が認められるが, 少なくとも3週間までは, Ca-ATPase 活性を示す味蕾細胞が残存することを報告した。

一方, Ganchrow ら (1989)²²⁾ は幼若なラットで, また中島 (1988)²³⁾, Nakashima ら (1990)²⁴⁾ は成熟したウサギで, 鼓索・舌神経を長期間にわたって切除した状態にしておくと, 茸状乳頭の味蕾の多くは完全に消失するのを観察した。さらに味蕾の消失した茸状乳頭背面の上皮に角化の異常な亢進が起こるとともに, 糸状乳頭様に先端が尖鋭化した乳頭に変化するのを報告した。このような茸状乳頭にみられる同様の变化は, 成熟したラットやスナネズミにも出現することが報告されている (Oakley ら, 1990²⁵⁾).

今回の研究においても, 鼓索・舌神経を切除すると, 早期よりほとんどの味蕾は変性し, その一部は完全に消失するとともに, 茸状乳頭が糸状乳頭様に変化するのを観察することができた。また, 術後6カ月を経過した舌上皮では, 走査電顕的にも糸状乳頭と変化した茸状乳頭を区別するのは困難で, 切片による観察によってのみ区別することが可能であった。このように変化した茸状乳頭を正常な糸状乳頭と微細構造的に比較検討したところ, いくつかの興味ある知見を得ることができた。

糸状乳頭上皮の角化の様相に関しては, Farbman (1970)³⁷⁾ がラットを用いて詳細に観察し報告している。その報告によると, 糸状乳頭は乳頭内に深く入り込んだ固有層の前面にみられる上皮細胞層と, 後面にみられる上皮細胞層とでは, 角化の様相が著しく異なること

が示されている。すなわち, 乳頭前面の上皮の角化様式は, 軟ケラチンと称される表皮などの角質層を形成する角化様式に類似しており, ケラトヒアリン顆粒が多数分布するが, 乳頭後面の上皮の角化様式は, 硬ケラチンと称される角質層の形成を特徴とする角化様式に類似していると述べている。

今回の観察では, ウサギの糸状乳頭においてもラットにおけるのと同様に, 乳頭の前面と後面とでは, 上皮細胞層の角化様式が異なることを明らかにすることができた。すなわち, 乳頭の前面の上皮細胞層は, 表層付近まで核の残存する錯角化傾向を示し, ケラトヒアリン顆粒が多数分布するのに対し, 乳頭後面の上皮細胞層は, 核をはじめ細胞内小器官のほとんどを消失した, 厚い角質層をとまなう真性角化を示すことを特徴としていた。

正常な糸状乳頭の観察結果をもとに, 糸状乳頭様に変化した茸状乳頭背面の上皮を観察したところ, 糸状乳頭上皮の角化の様相と類似したいくつかの組織学的特徴を示す所見を観察することができた。

神経切除によって変化した茸状乳頭の背面上皮は, 糸状乳頭様に尖鋭化し, その先端を糸状乳頭と同様に咽頭方向へと傾斜させていた。さらにこのような極性は, 神経切除後経日的に著明となった。また先端部付近では非常に発達した角質層が認められた。これら角質層は, 乳頭の後面では連続的に上皮表層を被うのに対し, 前面では広範囲におよぶ錯角化層へと移行していた。このような茸状乳頭後面上皮に出現した角質層は, 糸状乳頭後面にみられる角質層に非常によく類似していた。糸状乳頭後面の角質層は, 形態学的に毛皮質や爪の角質層に相当する構造であるといわれている (Roth, 1967³⁸⁾)。また藤田ら (1981)³⁹⁾ は, 糸状乳頭後面部の角質層は, 極めて強靱で剛性に富み, 糸状乳頭に作用する外力に対して, 後方から乳頭前面部を支える強力な支柱の役割を果たしているのではないかと述べている。さらに Oakley ら (1990)²⁵⁾ は, ラットやスナネズミで, 同様に茸状乳頭の角化の亢進と糸状乳頭様変化を認めている。彼らは, 茸状乳頭が神経切除によって感覚感受を失う事により, 防御反応が起こり, その結果乳頭背面の上皮に角化の亢進が出現したのではないかと推測した。今回の研究においても, 鼓索・舌神経を切除すると多くの茸状乳頭は厚い角質層で被われた。このことは, 味蕾ならびに体性感覚を失った茸状乳頭が様々な口腔環境に対して乳頭を防御するための抵抗形態の表われであろうと考えられた。

今回の観察で, 糸状乳頭上皮の細胞質内には, 多数の

ケラトヒアリン顆粒が出現するのが認められた。一方、茸状乳頭背面の上皮細胞には、透過電顕による観察においてもケラトヒアリン顆粒は認められなかった。しかしながら神経切除後角化が亢進し、糸状乳頭様に変化した茸状乳頭背面上皮細胞内に、しばしばケラトヒアリン顆粒が出現するのが観察された。ケラトヒアリン顆粒には、多数のリボゾームが周囲に付着している事が多く、リボゾームがその産生にあずかるのではないかとされている（Suzuki ら, 1972⁴⁰⁾）。しかし角化を示す表皮にもケラトヒアリン顆粒の出現しないこともあり、ケラトヒアリン顆粒がケラチンの前駆物質であるのか否か、さらには角化にとってその存在が必要であるのかさえも、まだよく理解されていない（藤田ら, 1984⁴¹⁾）。Horstmann ら（1958）⁴²⁾ はケラトヒアリン顆粒は急速に角化を促進させ、その結果、核の萎縮・消失を招来するのではないかと推測した。また Brody（1959⁴³⁾, 1960⁴⁴⁾）は、表皮ではケラトヒアリン顆粒がしばしば張原線維に広範囲に沈着する、いわゆる“transitional cell”の段階を経て角質層が形成される事を示唆し、角化機構に重要な役割を果たすのではないかと述べた。さらに Matoltsy ら（1970）⁴⁵⁾ は生化学的分析により、ケラトヒアリン顆粒は硫黄を多く含む蛋白で、角質の前段階物質ではないかと推測している。今回、角化の程度の低い正常茸状乳頭上皮には認められなかったケラトヒアリン顆粒が、神経切除後の角化の亢進した茸状乳頭上皮内で認められたことは、ケラトヒアリン顆粒が角質形成において、なんらかの役割を担っている可能性を示唆するものと考えられる。

茸状乳頭の神経支配を切除すると、味蕾が消失するとともに、乳頭背面の上皮の角化が亢進し、糸状乳頭様に尖鋭化した乳頭に変化するという結果については、現在までにいくつかの考察がなされてきたが、まだよく理解されていない。

有郭乳頭や葉状乳頭において、味神経（舌咽神経）を切除すると、味蕾が変性するとともに、乳頭の萎縮や味蕾が存在していた溝側壁上皮も菲薄になることが知られている（Guth, 1957⁴⁾; State ら, 1974⁴⁶⁾）。さらに、味神経が再生するにつれて、乳頭ならびに上皮はもとの形態に回復し、味蕾も再生する。このようなことから、味神経には味蕾で感受した情報を中枢に伝達する知覚神経としての役割とともに、その支配領域の組織に対して神経栄養的な役割を持つことが示唆されてきた（Guth, 1969⁴⁷⁾, 1971⁴⁸⁾; 長門, 1992²⁶⁾）。下等脊椎動物においても、Torrey（1934）⁴⁹⁾ はナマズの味神経を切断すると

味蕾は変性するが、神経の再生にともなって味蕾も再生することから、神経体液学説（neurohumoral theory）を提唱し、神経に栄養的役割があることを述べた。しかしながら、そのような役割を持つ物質について、多くの研究・推測がなされてきたが、今だに解明されていないのが現状である。

Allara（1952）⁴⁹⁾ は去勢したラットにテストステロンを長期間投与すると、有郭乳頭の背面上皮など本来味蕾が出現しないような上皮に味蕾が出現するのを観察した。ところが Zalewski（1969）⁵⁰⁾ は、この結果を確認する一方で、舌咽神経を切除したラットにテストステロンを投与しても、味蕾の変性消失が起こることや、新たに味蕾が形成されることがないのを観察し、テストステロンが味蕾の形態維持に対して、栄養効果を持つホルモンであることを否定した。

長門ら（1992）²⁶⁾ は、鼓索・舌神経切除を舌乳頭の様々な発生分化過程の時期に行ったところ、出生直後における神経切除が、茸状乳頭の完全な糸状乳頭化を引き起こすのに対し、生後3週以降の神経切除では、糸状乳頭様の外観を呈するには至るが、完全な糸状乳頭へは移行しないという観察結果を報告している。このようなことから彼らは、茸状乳頭が鼓索・舌神経の神経栄養因子により、特殊に形態変化した糸状乳頭である可能性を示唆した。

今回の観察で、糸状乳頭様に変化した茸状乳頭の中に、しばしば尖鋭化した乳頭の先端が、様々な方向性を示すものが認められた。同様の所見は、長門ら（1992）²⁶⁾ も生後3週以降のラットで、鼓索・舌神経切除を行った研究において観察し、このように鼓索・舌神経による支配が断たれた後に、茸状乳頭が示す方向性の多様さは、mechanoreceptor としての茸状乳頭に方向性があることを示唆するものと述べている。

Mackenzie ら（1984）⁵¹⁾ は、頬粘膜上皮や口蓋粘膜上皮を舌背の結合組織に移植した場合、移植された上皮に糸状乳頭と類似した形態学的特徴を示す乳頭が形成されるのを観察した。彼らはこのような観察結果について、胎生期ではよく知られている上皮と結合組織間の機能的な相互関係が、成体でも存在する可能性のあることを報告している。このように舌乳頭の発生・分化や上皮組織の形態を維持する要因として、神経栄養的な因子だけでなく、結合組織そのものからの直接的な因子のある事も示唆されているが（Mackenzie ら, 1984⁵¹⁾; Mackenzie, 1984⁵²⁾）、その機構については現在までほとんど理解されておらず、将来解明しなければならない重要

な課題であると考えられた。

結 論

ウサギの茸状乳頭ならびに糸状乳頭の上皮について微細構造的に観察を行った。さらに鼓索・舌神経を切除した後、茸状乳頭背面上皮に出現する糸状乳頭様変化を走査電顕的に観察するとともに、変化した角化の様相を透過電顕的に観察し、糸状乳頭上皮と比較検討した。

茸状乳頭の表面形態は比較的平滑で、背面上皮の表層はケラトヒアリン顆粒をともなわない菲薄な角質層で被われていた。上皮細胞内にはデスモゾームと連続するよく発達した張原線維が観察され、各細胞はよく発達した嵌合やデスモゾームによって、互いに結合するのが観察された。

糸状乳頭では、乳頭の前面と後面の上皮細胞層において、角化の様相が著しく異なっていた。乳頭の前面では、上皮細胞内にケラトヒアリン顆粒が多数出現するとともに、最表層まで核を有する錯角化傾向の強い軟ケラチン層によって被われていた。また張フィラメントは張原線維を形成せず細胞質内に散在していた。一方、乳頭後面上皮の細胞質内は、リボゾームや張原線維に富むが、ケラトヒアリン顆粒はほとんど認められなかった。さらに表層になると核ならびに細胞内小器官は消失し、真性角化を示す硬ケラチン層によって被われていた。

鼓索・舌神経を切除すると、茸状乳頭の味蕾は変性し神経切除1週間後になると、多くの茸状乳頭の背面上皮に著しい角化の亢進が出現するのが認められた。これらは乳頭背面の角質層が肥厚し、糸状乳頭様に先端が尖鋭化するのを特徴としていた。この様な変化は経日とともに著明となった。神経切除4週間後では、著しく尖鋭化した乳頭背面中央部が、咽頭側に向かって糸状乳頭様に傾斜するのが観察された。神経切除後8週間経過すると、茸状乳頭はさらに著しく糸状乳頭様に変化し、6カ月後では、走査電顕的にも周囲の糸状乳頭と区別することが困難であった。

この様に変化の著しい6カ月後の茸状乳頭背面上皮を透過電顕的に観察すると、乳頭の前面では所々に濃縮した核の残存する錯角化層によって被われるが、乳頭後面上皮表層では核や細胞内小器官が消失し、角質層によって被われていた。また乳頭の前面および後面上皮の細胞質内には、しばしばケラトヒアリン顆粒が出現するのが観察され、糸状乳頭上皮にみられるのと類似した角化の二様性を示すことが、微細構造的に明らかにされた。

鼓索・舌神経を切除すると、茸状乳頭の多くが、経日

とともに糸状乳頭と非常に類似した形態を示すように変化したことは、茸状乳頭が鼓索・舌神経の支配によって調節された特殊な糸状乳頭である可能性を示唆するものと考えられた。

稿を終わるに臨み、本研究の機会を与えていただいた恩師山田長敬名誉教授、御校閲を賜った恩師福田仁一教授に深く感謝いたします。また、終始懇切なる御指導、御校閲を賜った本学口腔解剖学第2講座、嶋村昭辰教授ならびに豊島邦昭助教授に心から感謝の意を表します。あわせて種々の御協力、御指導をいただきました口腔外科学第1講座並びに口腔解剖学第2講座の諸先生方に感謝いたします。

本論文の要旨の一部は、第53回九州歯科学会総会（平成5年5月8日）において発表した。

引用文献

- 1) von Vintschgau, M. und Honigschmid, J.: Nervus glossopharyngeus und Schmeckbecher. Arch. ges. Physiol. 14: 443-450, 1877.
- 2) Olmsted, J. M. D.: Effects of cutting the lingual nerve of the dog. J. Comp. Neurol. 33: 149-154, 1921.
- 3) Olmsted, J. M. D.: Taste fibers and the chorda tympani nerve. J. Comp. Neurol. 34: 337-341, 1922.
- 4) Guth, L.: The effect of glossopharyngeal nerve transection on the circumvallate papilla of the rat. Anat. Rec. 128: 715-732, 1957.
- 5) Guth, L.: Taste buds on the cat's circumvallate papilla after reinnervation by glossopharyngeal, vagus and hypoglossal nerves. Anat. Rec. 130: 25-37, 1958.
- 6) Guth, L.: Histological changes following partial denervation of the circumvallate papilla of the rat. Exp. Neurol. 8: 336-349, 1963.
- 7) Guth, L.: Degeneration and regeneration of taste buds. In: Handbook of sensory physiology, Vol. 4 (Ed. by Beidler, L. M.) Springer-Verlag, Berlin, 1971, 63-74.
- 8) Farbman, A. I.: Fine structure of degenerating taste buds after denervation. J. Embryol. Exp. Morphol. 22: 55-68, 1969.
- 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) Kennedy, J. G.: The effects of transection of the glossopharyngeal nerve on the taste buds of the circumvallate papilla of the rat. Archs. Oral Biol. 17: 1197-1207, 1972.

- 11) Oakley, B. : On the specification of taste neurons in the rat tongue. *Brain Res.* 75 : 85-96, 1974.
- 12) 近藤 功, 久田太郎 : マウスの変性および再生味蕾の組織化学的研究—特にモノアミン前駆物質の取り込みについて—. *歯基礎誌* 25 : 745-762, 1983.
- 13) Farbman, A. I. and Hellekant, G. : Quantitative analyses of the fiber population in rat chorda tympani nerves and fungiform papillae. *Amer. J. Anat.* 153 : 509-522, 1978.
- 14) Zahm, D. S. and Munger, B. L. : The innervation of the primate fungiform papilla—Development, distribution and changes following selective ablation. *Brain Res. Rev.* 9 : 147-186, 1985.
- 15) Whitehead, M. C., Beeman, C. S. and Kinsella, B. A. : Distribution of taste and general sensory nerve endings in fungiform papillae of the hamster. *Am. J. Anat.* 173 : 185-201, 1985.
- 16) Whitehead, M. C., Frank, M. E., Hettinger, T. P., Hou, L.-T. and Nah, H.-D. : Persistence of buds in denervated fungiform papillae. *Brain Res.* 405 : 192-195, 1987.
- 17) Riddle, D. R. and Oakley, B. : Partial neurotrophic maintenance of fungiform taste buds. *Soc. Neurosci. Abstr.* 14 : 768, 1988.
- 18) Hård af Segerstad, C., Hellekant, G. and Farbman, A. I. : Changes in number and morphology of taste buds in rats after transection of the chorda tympani or chorda-lingual nerve. *Chem. Senses* 14 : 335-348, 1989.
- 19) Kinnman, E. and Aldskogius, H. : The role of substance P and calcitonin gene-related peptide containing after a chronic chorda tympani nerve injury. *Exp. Neurol.* 113 : 85-91, 1991.
- 20) Oliver, S. D. and Whitehead, M. C. : Morphometry and cellular dynamics of denervated fungiform taste buds in the hamster. *Chem. Senses* 17 : 529-542, 1992.
- 21) Barry, M. A. and Savoy, L. D. : Persistence and calcium-dependent ATPase staining of denervated fungiform taste buds in the hamster. *Archs oral Biol.* 38 : 5-15, 1993.
- 22) Ganchrow, J. R. and Ganchrow, D. : Long-term effects of gustatory neurectomy on fungiform papillae in the young rat. *Anat. Rec.* 225 : 224-231, 1989.
- 23) 中島 健 : 味神経切断, 吻合後の茸状乳頭ならびに味蕾の変化に関する電子顕微鏡的研究. *九州歯会誌* 42 : 991-1021, 1988.
- 24) Nakashima, T., Toyoshima, K., Shimamura, A. and Yamada, N. : Morphological changes of taste buds and fungiform papillae following long-term neurectomy. *Brain Res.* 553 : 321-323, 1990.
- 25) Oakley, B., Wu, L.-H., Lawton, A. and Desibour, C. : Neural control of ectopic filiform spines in adult tongue. *Neuroscience* 36 : 831-838, 1990.
- 26) 長門俊一, 谷岡博昭 : 鼓索・舌神経切除による茸状乳頭の形態的变化. *口科誌* 41 : 415-426, 1992.
- 27) 長門俊一 : 神経のもう一つの働き“栄養的機能”について. *日本歯内療法協会雑誌* 14 (1) 別冊, 1993.
- 28) Millonig, G. : Advantages of a phosphate buffer for OsO_4 solutions in fixation. *J. Appl. Physics.* 32 : 1637, 1961.
- 29) Luft, J. H. : Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9 : 409, 1961.
- 30) Björkman, N. : Low magnification electron microscopy in histological work. *Acta Morphol. Neerl. Scand.* 4 : 344-348, 1962.
- 31) Tandler, B. : Improved uranyl acetate staining for electron microscopy. *J. Electron Microsc. Tech.* 16 : 81-82, 1990.
- 32) Sato, T. : A modified method for lead staining of thin sections. *J. Electron Microsc.* 17 : 158-159, 1968.
- 33) Murakami, T. : A metal impregnation method of biological specimens for scanning electron microscopy. *Arch. Histol. Jap.* 35 : 323-326, 1973.
- 34) Inoue, T. and Osatake, H. : A new method of biological specimens for scanning electron microscopy : The t-butyl alcohol freeze-drying method. *Arch. Histol. Cytol.* 51 : No. 1 53-59, 1988.
- 35) Liem, R. S., van Willigen, J. D., Copray, J. C., Ter Hrost, G. J. : Corpuscular bodies in the palate of the rat. 2. Innervation and central projection. *Acta Anat.* 138 : 65-74, 1990.
- 36) 山本 隆, 志村 剛 : 味覚情報の中枢処理. *神経進歩* 138 : 788-797, 1993
- 37) Farbman, A. I. : The dual pattern of keratinization in filiform papillae on rat tongue. *J. Anat.* 106 : 233-242, 1970.
- 38) Roth, S. I. : Hair and nail. In : *Ultrastructure of Normal and Abnormal Skin* (ed. by Zelickson, A.) Lea and Febiger, Philadelphia, 1967, 105-131.
- 39) 藤田浄秀, 小田島哲世 : ハムスター口腔粘膜上皮におけるケラトヒアリン顆粒の分布と形態の多彩性について. *日口外誌* 27 : 1324-1328, 1981.
- 40) Suzuki, H. and Kurosumi, K. : Lamellar granules and keratohyalin granules in the epidermal keratinocytes, with special reference to their origin, fate and function. *J. Electron Microsc.* 21 : 285-292, 1972.
- 41) 藤田恒夫, 藤田尚男 : 標準組織学各論. 第二版. 医学書院, 東京, 1984, 350-360.
- 42) Horstmann, E. und Knoop, A. : Elektronenmikroskopische Studien an der Epidermis. I. Rattenpfote. *Z. Zellforsch.* 47 : 348-362, 1958.
- 43) Brody, I. : An ultrastructural study on the role of the keratohyalin granules in the keratinization process. *J. Ultrastruct. Res.* 3 : 84-104, 1959.
- 44) Brody, I. : The ultrastructure of the tonofibrils in the

- keratinization process of normal human epidermis. *J. Ultrastruct. Res.* 4 : 264–297, 1960.
- 45) Matoltsy, A. G. and Matoltsy, M. N. : The chemical nature of keratohyalin granules of the epidermis. *J. Cell Biol.* 47 : 593–603, 1970.
- 46) State, F. A. and Bowden, R. M. : The effect of transection of the glossopharyngeal nerve upon the structure, cholinesterase activity and innervation of taste buds in rabbits. *J. Anat.* 118 : 77–100, 1974.
- 47) Guth, L. : “Trophic” effects of vertebrate neurons. *Neurosci. Res. Bull.* 7 : 1–73, 1969.
- 48) Torrey, T. M. : The relation of taste buds to their nerve fibers. *J. Comp. Neurol.* 59 : 203–220, 1934.
- 49) Allara, E. : Sull'influenza esercitata dagli ormoni sessuali sulla struttura delle formazioni gustative di *mus rattus albinus*. *Riv. Biol.* 44 : 209–229, 1952.
- 50) Zalewski, A. A. : Neurotrophic-hormonal interaction in the regulation of taste buds in the rat's vallate papilla. *J. Neurobiol.* 1 : 123–132, 1969.
- 51) Mackenzie, I. C. and Hill, M. W. : Connective tissue influences on patterns of epithelial architecture and keratinization in skin and oral mucosa of the adult mouse. *Cell Tissue Res.* 235 : 551–559, 1984.
- 52) Mackenzie, I. C. : Epithelial-connective tissue relationships and the development and maintenance of structure. In : *The structure and function of oral mucosa* (Ed. by Meyer, J., Squier, C. A. and Gerson, S. J.). Pergamon, Oxford, 1984, 119–139.