

犬耳下腺の走査電子顕微鏡による観察

鈴木秀作・西中川 駿・大塚 閏一

(家畜解剖学研究室)

昭和54年8月9日 受理

Scanning Electron Microscopic Observations of the Dog Parotid Glands

Syūsaku SUZUKI, Hayao NISHINAKAGAWA and Junichi OTSUKA

(Laboratory of Veterinary Anatomy)

緒 言

犬耳下腺の微細構造については、光学顕微鏡（以下光顕と略す）的に宮崎³⁾、Quintarelli⁵⁾、Reifel ら⁶⁾、Shackleford and Klapper⁸⁾、透過電子顕微鏡（以下透過電顕と略す）的に小野江ら⁴⁾、坂元⁷⁾、Shackleford and Wilborn¹⁰⁾ の報告がみられる。また、著者ら¹¹⁾ は、先に犬耳下腺について光顕ならびに透過電顕的に検索し、腺胞、介在部および分泌管細胞の微細構造を明らかにした。しかしながら、犬耳下腺の切断面ならびに導管系の内腔の微細構造を走査電子顕微鏡（以下走査電顕と略す）的に観察した報告はみあたらない。口腔腺の微細構造を走査電顕的に観察したものは、わずかにラット唾液腺^{2,9)} の部分的な報告をみるにすぎず、他に口腔腺の切断面の走査電顕による報告は皆無である。

そこで、従来報告のない犬耳下腺の切断面を走査電顕で観察し、その微細構造をさらに立体的に明らかにするとともに、透過電顕像とも比較検討した。

材 料 と 方 法

材料には成熟した雌雄の雑種犬7例を用いた。材料採取にあたっては、ペントバルビタール・ナトリウムで麻酔後、頸動脈より放血解剖し、直ちに耳下腺体のほぼ中央部を採取した。走査電顕用試料として、耳下腺体は、5×5×20 mm に細片し、燐酸塩で pH 7.4 に緩衝された2%グルタルアルデハイドと5%パラホルムアルデハイドの等量混合液で浸漬固定した。さらに、これを3×3×8 mm に細片し、40% DMSO (dimethyl-sulfoxide) に浸漬した後、液体 Freon 22 で凍結後、液体窒素内で切断し、再び40% DMSO に浸漬した。次に、アルコール脱水後、酢酸イソアミルをへて

液体炭酸を用いた臨界点乾燥法により乾燥し、金パラジウムと炭素の真空蒸着およびイオンスパッタリングによる金蒸着を行ない、HSM-2A, JSM-15, JSM-25型走査電顕で観察した。加速電圧は10 kv ないし15 kv であった。また、透過電顕用として、耳下腺の一部は、1.25%グルタルアルデハイドと1%オスミウム酸の混合液で固定し、アルコール脱水後エポン812に包埋した。超薄切片は、酢酸ウラニールおよびクエン酸鉛で二重染色を施し、JEM-7型またはJEM-100C型透過電顕で観察した。

結 果

犬耳下腺の切断面の微細構造は、多量の結合組織により分けられた小葉が比較的明瞭で、小葉内には腺胞および分泌管が容易に認められた (Fig. 1)。一方、介在部は光顕および透過電顕による観察と同様に認めにくかった。その他、小葉間には小葉間導管および静脈が認められた (Fig. 2)。

腺胞：犬の耳下腺腺胞には、前報¹¹⁾ に記載したように漿粘液細胞からなる腺胞とごく少数の粘液細胞からなる腺胞が存在した。今回は、腺胞の大部分を占める漿粘液細胞からなる腺胞について観察した。漿粘液細胞からなる個々の腺胞は、周囲の結合組織が多く、比較的明瞭で、腺腔および細胞間分泌管は、一般に認めにくく (Fig. 3)、それらの腺腔面および管腔面には短かい微絨毛がわずかにみられた (Fig. 4)。腺胞細胞には、透過電顕的に電子密度の低いものから高い顆粒がみられたが (Fig. 5)、切断像では、細胞質の核上部から頂部にかけて、大小不同の球形顆粒、切断された顆粒および顆粒が脱落したあとの陥凹が存在した (Fig. 6)。顆粒の表面は滑沢で、また、顆粒の切断面は均質で特に二相性を示すような構造は示さなかった

Figs. 4, 6).

介在部：介在部は一層の上皮細胞からなり、それらの管腔面には、丈の低い微絨毛が不規則に散在していた (Fig. 7). また、細胞質には腺胞細胞にみられたものより小さい球形顆粒が少数認められた (Fig. 8). 一方、透過電顕像では電子密度の高い円形顆粒を有する上皮細胞も存在した (Fig. 9).

分泌管：分泌管上皮細胞は、透過電顕像と同様円柱状で、丈が高く、核は細胞質のほぼ中央に位置し、基底面には、分泌管基底面に特有な基底線条、いわゆる基底嵌入がよく発達し、それらに介在するミトコンドリアは球形からだ円形を呈し著明であった (Fig. 10). 上皮細胞の管腔面の形状は5ないし6角形を呈し、その表面には短い微絨毛が比較的少ないものから多数存在するもの (Fig. 11), これとは形態的に全く異なり頂部がアポクリン突起様に膨隆したものがみられた (Fig. 12). 前者の表面は一般に平坦で、個々の上皮細胞の辺縁はいくぶん隆起し、細胞の頂部には短い微絨毛が少ないものから比較的多く存在するものまで種々みられた (Fig. 11). また、これらに比較的長い微絨毛が存在するもの (Fig. 13), 短い微絨毛が集積し塊状を呈しているもの (Fig. 14), さらに分泌物の一部と考えられるもの (Fig. 15) が認められた. 一方、後者はその表面が比較的なめらかなもの (Fig. 12) からヒダのみられるもの (Fig. 16) まで種々存在した. このような腔面構造を有する分泌管は、その多くが前者の構造を示し、なかには両者の混在しているものも認められた. なお、分泌管上皮細胞には、腺胞細胞および介在部上皮細胞にみられたような球形顆粒は認められなかった.

また、腺胞・介在部および分泌管上皮細胞の核には、割断されたもの (Figs. 7, 10), 表面がなめらかで球状のもの (Figs. 12, 16) がみられた.

考 察

犬耳下腺の腺胞を構成する細胞は、大部分の漿粘液細胞と少数の粘液細胞であることは先に報告¹¹⁾したごとくである. 今回は、腺胞の大部分を占める漿粘液細胞のみからなるものについて走査電顕的に検索した. 漿粘液細胞は透過電顕像では、明調細胞、暗調細胞および特殊細胞の3種類の細胞が認められ、また、細胞質には電子密度の高い円形顆粒と電子密度の中程度あるいは低い不整形顆粒を有していた. 今回の走査電顕による観察では、腺胞細胞に透過電顕的な差異はみられず、その細胞質には表面が滑沢な球形顆粒のみがみ

られ、他に分泌顆粒と考えられるような構造物はみられなかった. この球形顆粒が透過電顕像による電子密度の高い円形顆粒に相当するものと考えられる. このような球形顆粒は、ラット耳下腺²⁾の腺胞細胞の漿液性顆粒および腺外分泌細胞¹⁾の分泌顆粒でも認められていることから、漿液性顆粒のなかで、より酵素タンパクを多く含む顆粒は、一般に用いられるオスミウム酸およびアルデハイド系の固定液で固定すると電子密度の高い球形顆粒になるものであろう. 一方、透過電顕像でみられた他の電子密度の低いあるいは中程度の不整形顆粒は、酵素タンパクが少なく、ムコ糖を多く含んでいることが考えられ、今回の観察に用いた固定ならびに凍結割断などの方法では立体的に認めにくいものであろう.

介在部上皮細胞には、少数の球形顆粒がみられたが、これらは透過電顕による電子密度の高い円形顆粒であり、犬耳下腺の介在部上皮細胞は漿液性物質を分泌することが示唆される.

分泌管上皮細胞の管腔に面する細胞表面は、細胞全面に短い微絨毛を有するものから細胞頂部が膨隆したもので、その表面構造は種々であった. このような上皮細胞の頂部の形態の差異は、先に報告¹¹⁾したごとく分泌管上皮細胞の分泌能に基づくものと考えられ、頂部がアポクリン突起様に膨隆したものは分泌物の貯留期のものであり、表面がほぼ平坦で短い微絨毛をもつものは分泌物放出後のものと考えられ、犬耳下腺分泌管にみられた上皮細胞頂部の様々な形態は、分泌サイクルの種々の段階 (機能相) のものと推定したい. しかしながら、分泌管上皮細胞には、透過電顕ならびに今回の走査電顕的観察においても明らかに分泌顆粒と考えられるような構造物は見出し得なかったことから、犬耳下腺の分泌管上皮細胞は、主に水分の分泌を行ない、基底面にみられる著明な基底嵌入ならびにミトコンドリアは水分輸送に大きく関与しているものと考えたい.

以上、犬耳下腺の微細構造について、従来の光顕および透過電顕では必ずしもその構造を十分に知ることができなかったが、走査電顕による割断面の観察で、分泌顆粒および導管内の内腔の観察など立体的に調べることができ、特に、分泌管上皮細胞の頂部の形態の多様性から分泌管上皮細胞の分泌能が強く示唆される.

要 約

成熟した犬耳下腺の腺胞、介在部および分泌管につ

いて、DMSOによる凍結割断試料を作製し、走査電顕的に観察した。

1. 腺胞の腺腔はきわめて不明瞭で狭く、腺腔表面には短かい微絨毛がわずかに認められた。腺胞細胞は核上部から頂部にかけて、表面がなめらかな大小不同の球形顆粒を有し、また、細胞間分泌細管や細胞間隙は認めにくかった。

2. 介在部はきわめて認めにくく、上皮細胞の管腔面には短かい微絨毛が不規則に散在し、細胞質には腺胞細胞のものより小さい球形顆粒が少数認められた。

3. 分泌管上皮細胞の管腔面は5ないし6角形を呈し、その表面構造は、細胞頂部全面に短かい微絨毛が比較的少ないものから多数存在するもの、さらに、これと形態的に全く異なり、細胞の頂部が膨隆したもので種々の形状を呈していた。なお、腺胞細胞および介在部上皮細胞にみられたような球形顆粒は、分泌管上皮細胞には認められなかった。

謝辞 稿を終えるにあたり、走査電顕用試料作製ならびに走査電顕の使用に御指導ならびに御協力を頂いた九州歯科大学校長正修博士ならびに吉富製薬研究所所長中西美智夫博士に深く感謝します。

なお、本論文の要旨は第80回の日本獣医学会において発表した。

文 献

- 1) 藤田尚男・藤田恒夫：標準組織学各論. p. 142, 医学書院, 東京 (1978)
- 2) 小酒 浩：走査電顕によるラット唾液腺の観察. 解剖誌, **51**, 123-124 (1976)
- 3) 宮崎和郎：イヌ大唾液腺の組織学的ならびに組織化学的研究. 愛知院大歯誌, **10**, 125-151 (1972)
- 4) 小野江為則・橋本正淑・梅谷恵子・大塚礼子：耳下腺上皮細胞の微細構造について. 電子顕微鏡, **5**, 111-115 (1957)
- 5) Quintarelli, G.: Histochemical identification of salivary mucins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **106**, 339-363 (1963)
- 6) Reifel, C.W. and Travill, A.A.: Structure and Carbohydrate histochemistry of postnatal canine salivary glands. *Amer. J. Anat.*, **134**, 377-394 (1973)
- 7) 坂本宏海：耳下腺管結紮とリンパ路遮断が耳下腺におよぼす影響について. 鹿大医誌, **24**, 295-334 (1972)
- 8) Shackleford, J. M. and Klapper, C. E.: Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands. *Amer. J. Anat.*, **111**, 25-33 (1962)
- 9) Shackleford, J. M. and Schneyer, L. H.: Ultrastructural aspects of the main excretory duct of rat submandibular gland. *Anat. Rec.*, **169**, 679-696 (1971)
- 10) Shackleford, J. M. and Wilborn, W. H.: Structural and histochemical diversity in mammalian salivary glands. *Alabama J. Med. Sci.*, **5**, 180-203 (1968)
- 11) 鈴木秀作・亀井克宜・大塚潤一：山羊・犬の口腔腺の微細構造について. I. 耳下腺. 鹿大農学術報告, **No. 25**, 15-41 (1975)

Summary

Three-dimensional architecture of the dog-parotid-gland was examined by scanning electron microscopy.

Four male and three female dogs were used in this investigation. They were anesthetized with sodium pentobarbital and were sacrificed.

For scanning electron microscopy, the tissues of the central part of the parotid glands were removed and were cut into blocks of about $5 \times 5 \times 20$ mm. These blocks were fixed by immersion in 2% glutaraldehyde-5% formaldehyde buffered with phosphate. After fixation the blocks were cut into about $3 \times 3 \times 8$ mm and were immersed in 40% dimethylsulfoxide (DMSO). The specimens were frozen in freon 22 and were fractured in liquid nitrogen. They were then dehydrated in graded series of ethanol and were transferred to isoamylacetate. Following the dehydration, the specimens were transferred to liquid CO_2 for critical point drying. The dried samples were coated with gold or dubly with carbon and gold palladium and were examined with HSM-2A, JSM-15 and JSM-25 scanning electron microscope operated at 10 and 15 kv.

For transmission electron microscopy, the tissues of the central part of the parotid glands were obtained. The methods of fixation, dehydration, embedding and staining were detailed in the previous report.

The results are summarized as follows.

In the fracture surface of the dog parotid gland obtained by freeze-cracking in DMSO, three-dimensional architecture was demonstrated.

1. The individual acini were separated by varying amounts of loose connective tissue and were obvious, being generally polygonal in the outline. The lumina of acini were narrow and usually inconspicuous. The luminal surfaces of acinar cells were lacked of specialized structures, except for a very few short microvilli. Acinar

cells contained numerous spherical secretory granules which were of smooth surface and various in size. Inter-cellular tissue-spaces and canaliculi were rarely seen between acinar cells.

2. The short, inconspicuous intercalated ducts were composed of simple cuboidal epithelial cells. In the supranuclear region these epithelial cells contained a few spherical granules which were smaller than those of acinar cells. A few short microvilli were seen in the luminal surface of the epithelial cells.

3. The secretory ducts were composed of tall columnar epithelial cells. The luminal surfaces of these cells were pentagonal or hexagonal in the outline and the shape of the respective cell margins exhibited ridgy forms.

The apical surfaces of the epithelial cell of the secretory ducts were characterized by two features. One was characterized by a number of microvilli which were usually relatively short. The other was by a variety of sizes of ovoidal or spherical protrusions. The surfaces of the protrusions were relatively smooth or rich in irregular folds. No epithelial cells contained such granules as shown in the epithelial cells of acini and intercalated ducts.

Explanation of figures

- Fig. 1. Low magnification SEM image of the fracture surface of the dog parotid gland. The gland is divided into lobules by loose connective tissue. The acini and secretory ducts are observable in the lobules.
- Fig. 2. Interlobular duct and veins of the dog parotid gland. Many loose connective tissues are seen around the interlobular duct and in the interlobules.
- Fig. 3. Acini surrounded by varying amounts of loose connective tissue in the dog parotid gland. Lumina of acini are rarely seen, intercellular tissue space and canaliculi are inconspicuous.
- Fig. 4. Acinar cells of the dog parotid gland. The luminal surface of acinar cells exhibits a very few short microvilli. Numerous smooth spherical granules and fractured granules are observable in apical portion.
- Fig. 5. Transmission electron micrograph of acinar cells in the dog parotid gland. Secretory granules of high, moderate and low densities are present in the apical portion.
- Fig. 6. Acinar cells of the dog parotid gland. In cytoplasm smooth spherical granules, fractured granules and concaves are observable.
- Fig. 7. Intercalated duct (right half of micrograph) and acinus of the dog parotid gland. A few short microvilli are present in the luminal surface of the intercalated duct. In cytoplasm a few granules are observable (arrow).
- Fig. 8. High magnification micrograph of the granules in the intercalated duct cell shown in Fig. 7. These granules are smooth spherical and are smaller than those of acinar cells (arrow).
- Fig. 9. Transmission electron micrograph of the intercalated duct cells in the dog parotid gland. Dense granules are present in the epithelial cell.
- Fig. 10. Secretory duct of the dog parotid gland. The basal plasma membrane shown basal infolding with rows of numerous mitochondria arranged between the folds.
- Fig. 11. Luminal surface of the secretory duct in the dog parotid gland. The apical surfaces of the secretory duct cells are pentagonal or hexagonal in the outline. The surfaces are flatter but the distribution of microvilli is various.
- Fig. 12. Luminal surface of the secretory duct in the dog parotid gland. The protrusions and short microvilli are observable. The protruding apical surfaces are relatively smooth.
- Fig. 13. Luminal surface of the secretory duct in the dog parotid gland. A few long microvilli and small concentrations of microvilli in central part are observable.
- Fig. 14. Luminal surface of the secretory duct in the dog parotid gland. A great concentration of microvilli is observable on apical surface.
- Fig. 15. Luminal surface of the secretory duct in the dog parotid gland. Some residual secretory materials are observable in the lumen.
- Fig. 16. Luminal surface of the secretory duct in the dog parotid gland. The protrusions with irregular folds are observable. These folds are highly various. Compare with Figs. 11, 12.











