



Title	YAGレーザー照射によるラット顎下腺の損傷と修復に関する形態学的研究
Author(s)	高橋, 茂
Description	歯科基礎医学会, 高橋茂 = Shigeru Takahashi, YAGレーザー照射によるラット顎下腺の損傷と修復に関する形態学的研究 = Morphological studies on the regeneration of rat submandibular gland following YAG laser irradiation, 歯科基礎医学会雑誌, APR 1993, 35(2), pp.115-146
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第3025号
Issue Date	1992-03-25
DOI	https://doi.org/10.11501/3088398
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/30207
Type	doctoral thesis
File Information	stakahashi.pdf



原 著

YAG レーザー照射によるラット顎下腺の損傷と修復 に関する形態学的研究

高 橋 茂

北海道大学歯学部口腔病理学講座（主任：雨宮 璋教授）

〔受付：平成4年8月14日〕

Morphological studies on the regeneration of rat submandibular gland following YAG laser irradiation

Shigeru Takahashi

Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Hokkaido University

(Chief: Prof. Akira Amemiya)

Kita 13, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060, Japan.

[Accepted for publication: August 14, 1992]

Key words: YAG laser/submandibular gland/regeneration/ultrastructural study/bromodeoxyuridine (BrdU)

Abstract: The purpose of the present study was to investigate the regenerative process of salivary gland. 163 male Wistar rats of 7 to 8 week-old were used. After YAG laser irradiation to injury to the submandibular gland, regenerative changes that occurred were then observed morphologically.

The irradiated region showed an area of necrotic tissue which soon acquired a gradually increasing amount of granulation tissue along its periphery. Duct-like structures remaining in the granulation tissue were noted and observed to form epidermoid cell nests with high proliferative activity. Electron microscopically, the epithelial cells of epidermoid cell nest and duct-like structure were observed to consist of two cell types; an inner clear cell and an outer dark cell. Inner clear cells showed tendencies to differentiate into duct epithelial cells. In addition, differentiation into striated duct cell, intercalated duct cell, immature acinar cell, and myoepithelial cell were observed when the lobular structure was newly formed.

These findings suggest that locally damaged salivary gland possesses active capacity for regeneration and that the regeneration process of salivary gland originates from the remaining duct-like structures around the necrotic tissue which proliferate and differentiate into the various components of the salivary gland.

緒 言

唾液腺は、口腔内に開口部を有する外分泌腺であり、口腔領域において果たす役割は大きい。この唾液腺が、唾液腺炎や唾石症などの腺自身の疾患、外傷、放射線治療などによって障害を受け、変性、萎縮、壊死に陥る¹⁾こともまれではない。障害を受けた唾液腺には損傷の程度に応じて機能の低下がみられ、臨床的に様々な問題が生じることが知られている。

このような臨床的な問題点から、これまで唾液腺の損傷と修復に関しては、比較的古くから種々の実験的研究が行われてきている。唾液腺に損傷を与える手段としては、その実験の目的によって異なるが、導管結紮²⁻¹⁶⁾、外科的切除¹⁷⁻²¹⁾、凍結外科^{22,23)}、CO₂レーザーによる切除²⁴⁾、放射線照射²⁵⁻²⁷⁾などの方法が用いられている。田村¹¹⁾は、導管結紮後の家兎顎下腺を組織学的に検索し、結紮後に腺実質の破壊的变化がみられるが、間もなく導管上皮の再生、増殖が開始され、結紮後70日目にわずかながら腺房細胞の再生が認められたと報告している。守谷¹³⁾は家兎耳下腺の導管を結紮し、経時的变化を光顕的、電顕的に観察しているが、導管を結紮された腺組織は退行性変化を示すのみで再生を示す所見は認められないと述べている。凍結外科をラット顎下腺に行った実験では、早雲²²⁾が組織学的に、井上²³⁾が電顕的に検索している。彼らは、凍結によって壊死した組織の周囲には、線維性組織が増生し、嚢胞様構造物が出現すると述べているが、腺実質の積極的な再生については認めていない。Chomette ら²⁷⁾は、ラットの頸部にX線局所照射を行い、顎下腺を組織学的、組織化学的、電顕的に観察している。彼らによると、障害を受けた腺組織は再生する傾向を示すが、照射後45日目においても、組織化学的、微細構造的に正常な状態まで回復することはなかったと述べている。以上のように、導管結紮、凍結外科、放射線照射などの障害が唾液腺全体あるいは広範囲に及ぶような手段を用いた場合では、唾液腺はほとんど再生しなかったり^{2,5-7,12,13,15,22-25)}、再生がみられた場合でも、腺組織として不完全で

あったり^{10,14,16,26,27)}、再生過程が長期にわたったりしている^{4,11)}。

これに対して、唾液腺の局所に限局した損傷を与え、再生過程を詳細に検索した報告は、著者が渉猟した限りではこれまで非常に少なく、ラット顎下腺の外科的部分切除を行った Hanks ら¹⁸⁾、森村²⁰⁾やラット耳下腺の外科的部分切除を行った山根²¹⁾などの報告がみられるにすぎない。このうち、電顕的検索を行っているのは Hanks ら¹⁸⁾と山根²¹⁾の報告のみであり、また、autoradiography などを用いて、唾液腺局所損傷後の再生過程における細胞動態を検索している報告は未だにない。Hanks ら¹⁸⁾、山根²¹⁾、森村²⁰⁾の報告によれば、唾液腺にも再生力が認められるという点では一致しているようであるが、その再生過程の詳細については、意見の相違や不明な点がみられ、なお解明しなければならない点が多いと思われる。

一方、レーザーは、1960年 Maiman²⁸⁾ が初めて発振に成功して以来、種々の改良が施され、医学領域でも間もなく導入されるようになった。高出力レーザーの1つである YAG レーザーは、発振波長が 1.06 μm と組織深達性に優れたレーザーで²⁹⁾、その導光には可視ファイバーを用いることが可能である³⁰⁾。また、高出力から低出力まで可変できる利点を有しており、照射条件を自由に選択することができる²⁹⁾。以上のような YAG レーザーの特徴より、著者は顎下腺の局所に限局し、一定で適度な障害を比較的容易に与えることのできる手段として YAG レーザーを応用できると考えた。

そこで、著者は、損傷を受けた唾液腺の再生過程を明らかにする目的で、YAG レーザーをラット顎下腺に照射して、その損傷と修復過程を形態学的に観察した。

材料と方法

1. 実験方法

実験動物には、生後7～8週齢の Wistar 系雄性ラット163匹を用いた。このうち、148匹を実験群として、15匹を対照群として使用し、実験期間中は、オリエンタル固形飼料と十分な水道水を与

えて飼育した。ラット顎下腺に損傷を生じさせるために、Nd-YAG レーザー（長田電機工業社製、発振波長 $1.06\ \mu\text{m}$ 、持続発振）照射を行った。

実験群では照射に際し、エーテル吸引による全身麻酔下にてラットを背位に固定し、頸部に皮切を行い皮下結合組織を鈍的に剝離して左右の顎下腺を露出させた。右側顎下腺の中央部に、スポット径 $2\ \text{mm}$ 、先端出力 $30\ \text{W}$ 、照射時間 $1\ \text{秒}$ の条件にて YAG レーザーを照射したのち、皮膚縫合を行った。対照群は無処置とした。

2. 組織学的検索

組織学的検索には、実験群として72匹を、対照群として5匹を用いた。実験群については、YAG レーザー照射直後、照射後1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 21, 28日目にエーテルの吸引により各3～6匹ずつ屠殺した。屠殺後、ただちに顎下腺を摘出し、10%中性ホルマリンで24時間浸漬固定した後、通法に従ってパラフィン包埋し、照射部を含む長軸方向で $4\ \mu\text{m}$ の連続切片を作製した。標本は、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE)、過ヨウ素酸シッフ染色 (PAS)、鍍銀染色等を施し、損傷を受けた顎下腺の経時的变化を組織学的に検索した。また、対照群についても前述と同様の方法にて標本作製した。

3. 5-bromo-2'-deoxyuridine による検索

5-bromo-2'-deoxyuridine (以下 BrdU) による検索には、実験群として45匹を、対照群として5匹を用いた。

実験群については、YAG レーザー照射後、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 21, 28日目に、各3匹ずつエーテルの吸引により屠殺した。屠殺に先立ち、thymidine の類似体であり、S期細胞に取り込まれる BrdU (Sigma 社) $25\ \text{mg/kg}$ を腹腔内投与し、1時間後に屠殺した。屠殺後ただちに顎下腺を摘出し、10%中性ホルマリンで24時間浸漬固定後、組織学的検索と同様の方法にてパラフィン包埋し、照射部を含む長軸方向で $4\ \mu\text{m}$ の連続切片を作製した。BrdUを取り込んだS期細胞を同定するために、抗 BrdU モノクローナル抗体を用い、Avidin-biotin peroxidase complex method (ABC 法) にて免疫組織化学的染色を行った。BrdU の免疫組織化学的染色の概略を記す

と、組織切片の脱パラフィン・脱キシレンを行った後、DNAの単鎖化をはかるため0.1%トリプシン処理を 37°C 、20分、3N-HCl 処理を 37°C 、10分を行った。1次抗体として抗 BrdU モノクローナル抗体 (1:100, Becton-Dickinson 社) を室温にて90分反応させ、2次抗体として Biotin 化抗マウス免疫グロブリンウサギ血清 (1:50, 当講座にて作製) を室温にて60分反応させた。次に、Avidin-Biotin peroxidase complex (Vector 社) と室温にて30分反応させ、3, 3'-diaminobenzidine (DAB, Sigma 社) $30\ \text{mg}/100\ \text{ml}$ の0.05% Tris-HCl buffer (pH 7.6) で茶褐色に呈色させ、ヘマトキシリンにて核染色を行った。染色後、各個体につき切片5枚を任意に選び、照射部を含む $3\ \text{mm} \times 3\ \text{mm}$ の範囲で BrdU 陽性細胞数を計測し、修復過程に出現する細胞の動態について検索した。また、対照群についても、前述と同様の方法にて標本作製した。

4. 電顕的検索

電顕的検索には、実験群として41匹を、対照群として5匹を用いた。

実験群については、YAG レーザー照射直後、照射後1, 3, 5, 7, 10日目にエーテルの吸引により屠殺した。屠殺後、ただちに顎下腺を摘出し、照射部を含む部分を細切した。0.1M カコジル酸緩衝液 (pH 7.3) で調整した4%パラホルムアルデヒド-2.5%グルタルアルデヒド混合液 (pH 7.3, 7%蔗糖を含む) で 4°C 、2時間前固定、同様のカコジル酸緩衝液で調整した1% OsO_4 で 4°C 、2時間後固定し、アルコール系列で脱水し、QY-1で置換しEpon 812に包埋した。超薄切片作製に先立ち、厚さ約 $1\ \mu\text{m}$ の半超薄切片を作製しトルイジンブルー染色を施し、光顕的に観察した。超薄切片はDupont社製ダイヤモンドナイフとDupont社製MT 5000 ultramicrotomeを使用して作製した。その後、酢酸ウラニル・クエン酸鉛 (UA・LC) の電子染色を施し、日立H800型電子顕微鏡にて修復過程に出現する細胞の詳細について検索した。また、対照群についても、前述と同様の方法にて標本作製した。

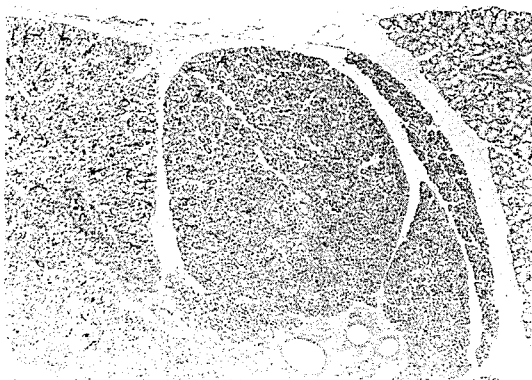


Fig. 1 Irradiated whole area, 0 day after irradiation. Irradiated area is slightly edematous, and margins are not clear. H.E. $\times 20$



Fig. 2 Irradiated whole area, 1 day after irradiation.

Irradiated area exhibits necrosis and margins are clear. H.E. $\times 20$

結 果

1. 組織学的所見

1) 正常顎下腺について

基本的には腺房と導管よりなっていた。

腺房は、数個の漿粘液性腺房細胞とその外側にみられる紡錘形を呈した筋上皮細胞より構成されていた。漿粘液性腺房細胞は、基底側に偏在した類円形ないし楕円形の核と分泌顆粒を容れた細胞質を有していた。

導管は、介在部導管と線条部導管および顆粒管より成っていた。介在部導管は、狭い管腔を有しており、類円形の核と好酸性の細胞質を有し、小型で立方形あるいは扁平な上皮細胞数個によって構成されていた。線条部導管は、比較的広い管腔を有しており、円形の核と好酸性の細胞質を有する立方形ないし円柱形の細胞より構成されていた。細胞質の基底側には多数の基底線条が認められた。顆粒管は、基本的には線条部導管に類似していたが、その細胞質内には好酸性の分泌顆粒が多く認められた。

2) YAG レーザー照射後の顎下腺の変化について

(1) 照射直後

照射部は軽度水腫状を呈していたが、境界は不明瞭であった (Fig. 1)。腺房細胞や導管細胞の多くは変性、崩壊していたが、核は消失せずに残存していた。細胞の変性、崩壊の傾向は、特に腺



Fig. 3 Irradiated whole area, 3 days after irradiation.

Necrotic area surrounded by granulation tissue is seen. H.E. $\times 20$

房細胞において強く認められた。

(2) 照射後 1～2 日目

照射部は半円状の壊死巣となり、軽度ながら水腫状を呈していた。壊死巣と周囲の境界は明瞭で、腺房や導管の崩壊傾向はさらに著明となった (Fig. 2)。腺房細胞や導管細胞は、ほとんどが破壊され、その形態は不明瞭になった。壊死巣全体にわたって炎症性細胞浸潤がみられ、壊死巣周囲においてやや強く認められた。壊死巣内には、鬱血した血管がみられ、小葉間結合組織は変性し、絮状を呈していた。境界部の一部には残存している導管様構造が認められた。導管様構造は、線条

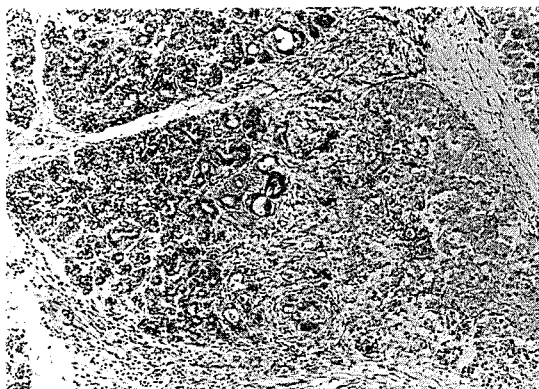


Fig. 4 Periphery of necrotic tissue, 3 days after irradiation.

Remaining duct-like structures in granulation tissue is seen. H.E. $\times 50$

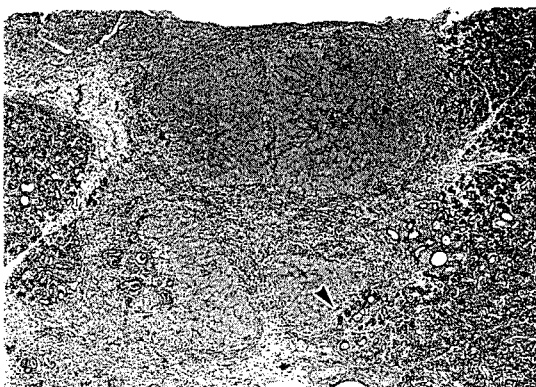


Fig. 5 Irradiated whole area, 5 days after irradiation.

Increased amount of granulation tissue with many epidermoid cell nests (arrow head) are seen at the periphery of necrotic tissue. H.E. $\times 20$

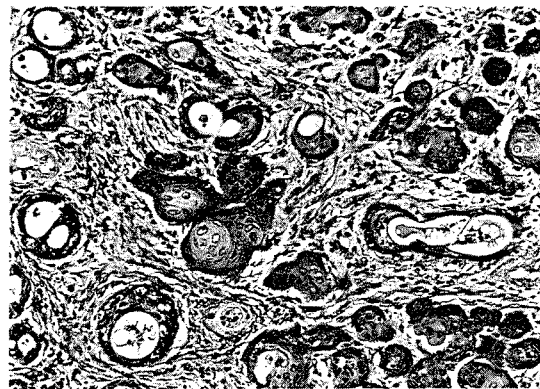


Fig. 6 Epidermoid cell nests, 5 days after irradiation.

Epidermoid cell nests composed of squamous cells and some cell nests with ductal spaces are seen. H.E. $\times 100$

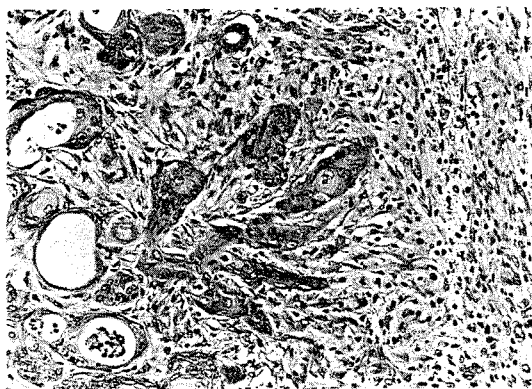


Fig. 7 Epidermoid cell nests, 5 days after irradiation.

Epidermoid cell nests, some showing mitotic figures, extend branches toward the necrotic area. PAS $\times 125$

部導管あるいは介在部導管に類似した大きさで、類円形ないし扁平な管腔を有しており、立方形あるいは扁平な単層の上皮より構成されていた。

(3) 照射後3日目

照射部にはほぼ同様の半円状の壊死巣が認められたが、水腫性変化はほとんど消失していた (Fig. 3)。壊死巣の周囲には肉芽組織が増生しており、炎症性細胞の浸潤や紡錘形をした多くの線維芽細胞様細胞がみられた。肉芽組織中には、残存している導管様構造が認められた (Fig. 4)。導管様構造は扁平な上皮細胞によって構成されてい

るものが多く、一部は多層化していた。

(4) 照射後4～6日目

壊死巣は3日目に比べやや縮小していた。壊死巣間には、線維性結合組織が増生しており、壊死巣はこれによって数個に区切られていた。壊死巣周囲の肉芽組織は、3日目に比べややその量を増しており、リンパ球を主体とした細胞浸潤がみられた (Fig. 5)。肉芽組織中には扁平上皮様細胞より成っている上皮細胞巣が多くみられ、中央部に比較的明るい細胞質を有する扁平上皮様細胞がみられる胞巣もあった (Fig. 6)。胞巣は大小不同で

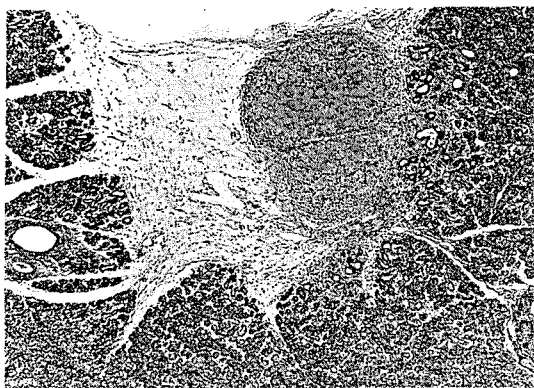


Fig. 8 Irradiated whole area, 7 days after irradiation.

Reduction of necrotic tissue and granulation tissue is seen. H.E. $\times 25$

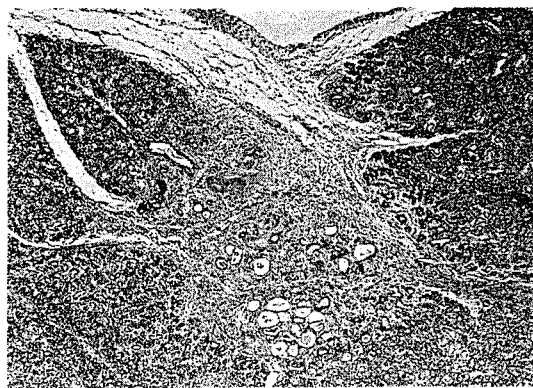


Fig. 10 Irradiated whole area, 10 days after irradiation.

A small area of necrotic tissue is hardly seen with further reduction in granulation tissue. H.E. $\times 25$

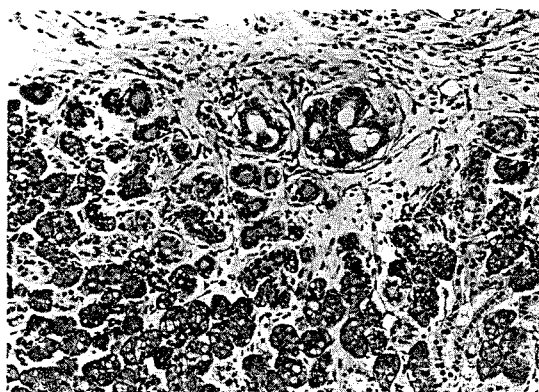


Fig. 9 Periphery of regenerating lobule, 7 days after irradiation.

In addition to duct-like structures, immature acini and transitional structures from duct to acinus are seen. PAS $\times 100$

形態も円形から樹枝状と不規則で、壊死巣へ向かって伸長しているものもあり、上皮細胞には分裂像も認められた (Fig. 7)。上皮細胞巢には明瞭な管腔を有する導管様構造を示すものもあり、連続切片によると管腔の有無に関係なく上皮細胞巢は周囲の既存の導管に連続していた。

(5) 照射後7～9日目

壊死巣や肉芽組織は縮小傾向を示していた (Fig. 8)。肉芽組織中の扁平上皮様細胞巢は減少し、ほとんどみられなくなった。一方、導管様構造は、これまでみられた扁平上皮様細胞よりなる

ものに加えて、類円形の核を有する立方形的上皮細胞よりなる導管様構造も認められるようになった。また、これらとともに幼弱な腺房細胞および幼弱な腺房細胞への移行像が認められた (Fig. 9)。幼弱な腺房細胞は全般に小型であったが、細胞質に比べ核はやや大きく、類円形あるいは卵円形を呈しており、細胞質の中央部ないしやや基底側より位置していた。細胞質内には PAS 染色に陽性を示す顆粒状の物質を含むものも認められた。

(6) 照射後10～12日目

壊死巣はさらに縮小し、ほとんど認められなくなった。肉芽組織も減少し、炎症性細胞浸潤は軽度になった (Fig. 10)。腺組織の修復が進展し、腺葉の形態を回復する傾向を示していた。このような部分は、主として幼弱な腺房細胞や導管様構造によって構成されていたが、一部には、比較的成熟した腺房細胞も認められた。扁平上皮様細胞よりなる導管様構造は減少し、導管様構造の多くは、単層の立方形的上皮細胞あるいは扁平上皮様細胞によって構成されていた。このうち扁平上皮様細胞よりなる導管様構造の多くは、肉芽組織中にみられ、管腔の拡張しているものが認められた。一方、立方形的上皮細胞よりなる導管様構造は、形態の回復傾向のみられる腺葉辺縁部に多く認められた。

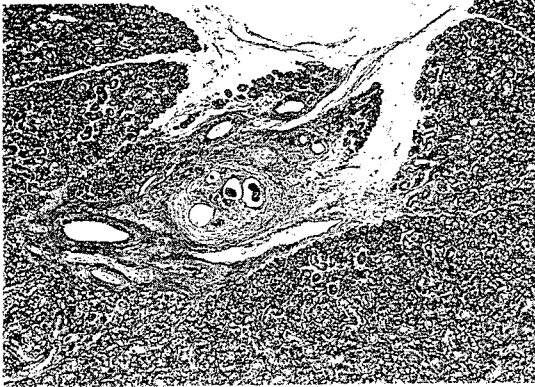


Fig. 11 Irradiated whole area, 21 days after irradiation.

Granulation tissue is hardly seen and margins of irradiated area is indistinct. H.E. $\times 25$

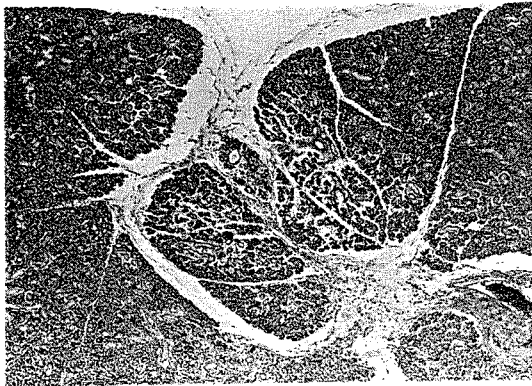


Fig. 12 Irradiated whole area, 28 days after irradiation.

Granulation tissue is absent and lobules of irradiated region are loose. H.E. $\times 20$

(7) 照射後14日目

壊死巣は消失した。肉芽組織はさらに縮小し、炎症性細胞浸潤も軽度になった。腺葉の形態回復はさらに進展し、照射部の顎下腺表層にも再生した腺葉が認められるようになり、肉芽組織は再生した腺葉によって囲まれ、やや深部に残存する傾向を示した。再生した腺葉は、基本的には導管様構造、幼弱な腺房細胞、成熟した腺房細胞からなっていたが、導管様構造はやや減少し、幼弱な腺房細胞や成熟した腺房細胞が増加していた。

(8) 照射後21日目

肉芽組織は、やや深部に認められるのみとな

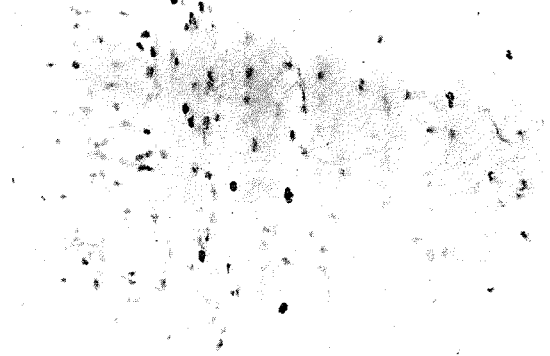


Fig. 13 Connective tissue between lobules near the necrotic tissue, 1 day after irradiation.

Some spindle cells are BrdU-positive. BrdU $\times 200$

り、照射部の境界は不明瞭となった。全般に肉芽組織に浸潤する炎症性細胞は少数となり、線維化の傾向を示していた (Fig. 11)。再生した腺葉辺縁部には、小型で幼弱な腺房細胞がみられたが、成熟した腺房細胞も多く認められるようになった。導管様構造を構成する単層の立方上皮細胞の一部には、基底側に基底線条が認められた。全般に導管様構造は減少し、正常腺組織よりもやや多くみられる程度であった。

(9) 照射後28日目

修復が進み、肉芽組織は認められなくなった (Fig. 12)。照射相当部の腺葉は正常の腺葉と類似していたが、全般的に腺房が少なく鬆疎で、腺房の間には線維性結合組織が介在している部分も認められた。腺房には、成熟した腺房細胞に混じて小型の腺房細胞も認められる部分もあった。また、正常の腺葉に比して導管様構造がやや多く認められたが、顆粒管はほとんど認められなかった。

2. 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) に関する所見

1) 正常顎下腺について

正常顎下腺には、少数ながら BrdU 陽性細胞が認められた。腺房細胞や導管系細胞に BrdU の取り込みが認められたが、特定の種類の細胞に集中する傾向は認められなかった。

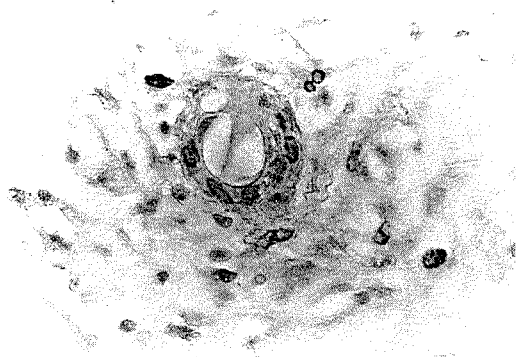


Fig. 14 Remaining duct-like structure, 3 days after irradiation.

In addition to spindle cells, BrdU-positive cells are seen in the remaining duct-like structure. BrdU $\times 375$

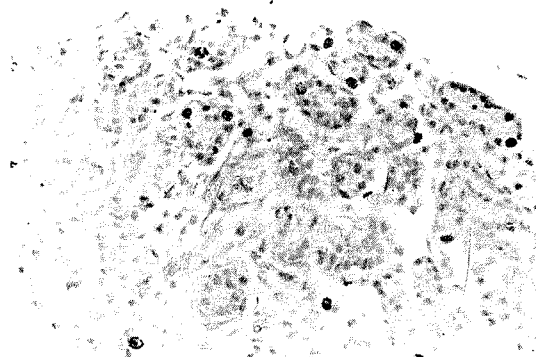


Fig. 16 Immature acini, 7 days after irradiation. BrdU incorporation is identified in immature acini. Many of BrdU-positive cells are seen at the periphery of lobule. BrdU $\times 200$

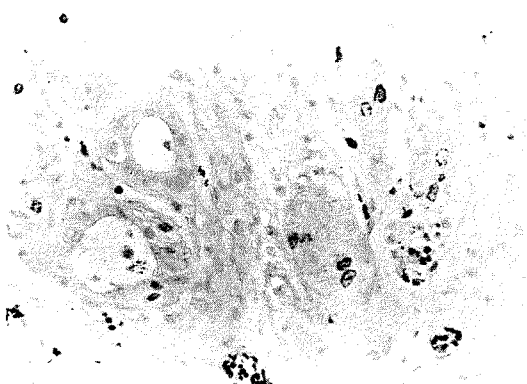


Fig. 15 Epidermoid cell nest, 5 days after irradiation.

BrdU-positive cells are identified in the epidermoid cell nest. BrdU $\times 200$

2) YAG レーザー照射後の顎下腺について

(1) 照射後1日目

壊死巣周囲や壊死巣に隣接する腺葉間の結合組織中にみられる紡錘形を呈する線維芽細胞様の細胞に、BrdU を取り込む細胞が認められた (Fig. 13)。

(2) 照射後2～3日目

同様の線維芽細胞様の細胞に加えて、肉芽組織中にみられる導管様構造にも、BrdU 陽性細胞がみられるようになり、標識率は、経時的に増加する傾向を示していた (Fig. 14)。

(3) 照射後4～6日目

線維芽細胞様の細胞には BrdU を取り込むものが減少する傾向がみられた。一方、扁平上皮様胞巣や、大小の管腔を有する導管様構造に BrdU 陽性細胞が認められるようになった (Fig. 15)。扁平上皮様細胞の標識率は、照射後4日目にピークとなり、9.7%を示していた。標識率は、以後、やや減少する傾向を示したものの、扁平上皮様胞巣が多数認められたこの期間においては、高い標識率を保っていた。全般に、BrdU 陽性細胞は扁平上皮様胞巣のなかのやや外側に位置する細胞にみられる傾向を示していた。導管様構造を構成する細胞の標識率は、照射後5日目にピークとなり、6.7%を示していた。以後、徐々に標識率は減少する傾向を示していた。

(4) 照射後7～14日目

扁平上皮様胞巣の数が急激に減少するのに伴って、扁平上皮様胞巣には BrdU 陽性細胞は認められなくなった。導管様構造を構成する細胞の標識率は、照射後4～6日目に比べて低く、3%前後であった。また、この時期に出現し始める幼弱な腺房細胞にも BrdU 陽性細胞が比較的多く認められた (Fig. 16)。幼弱な腺房細胞の標識率のピークは照射後7日目に認められ、9.3%を示していた。以後、徐々に標識率は減少する傾向を示した。BrdU 陽性を示す幼弱な腺房細胞は、再生した腺葉の辺縁部にやや多く認められる傾向を示してい

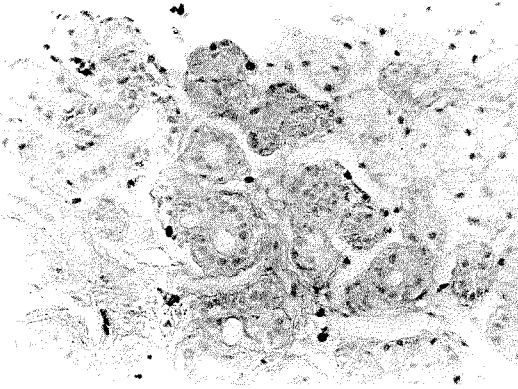


Fig. 17 Regenerated lobule, 28 days after irradiation.

Only a few BrdU-positive cells are noted in duct-like structure and immature acinus. BrdU $\times 200$

た。

(5) 照射後21日目

導管様構造を構成する細胞および幼弱な腺房細胞の標識率はさらに減少した。再生した腺葉の辺縁部の比較的成熟した腺房細胞の一部に、BrdU陽性細胞が認められたが、その数は少なく、周囲の正常腺組織の腺房細胞とほぼ同程度の染色傾向を示していた。

(6) 照射後28日目

全般に BrdU 陽性細胞はさらに減少しており、照射相当部の腺葉は周囲の正常腺組織とほぼ同様の染色傾向を示していた。BrdU 陽性細胞は、再生した腺葉にみられる幼弱な腺房細胞や導管様構造などのごく一部に認められるに過ぎなかった (Fig. 17)。

なお、扁平上皮様胞巣、導管様構造、幼弱な腺房における BrdU 陽性細胞の標識率の経時的変化を Fig. 18 に示す。

3. 電顕的所見

1) 正常顎下腺について

(1) 腺房細胞

漿粘液腺房細胞は、主としてピラミッド型を呈していた。核は小型で楕円形を呈しており、基底側に偏在していた。腺腔側の細胞質内には、電子密度の低い大小の分泌顆粒が充満していた。細胞基底面および核周囲の細胞質内には、多数の粗面

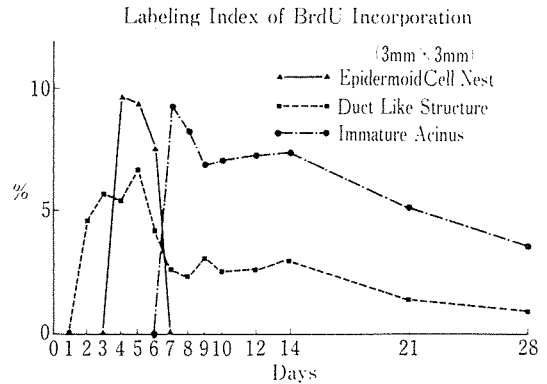


Fig. 18 Labeling index of BrdU incorporation.

小胞体が認められ、集積して層板状に配列していた。腺房細胞は、隣接面に微絨毛様の突起を伸長させ、隣接する細胞と疎に嵌合し結合していた。

(2) 筋上皮細胞

筋上皮細胞は腺房細胞と基底膜の間に位置しており、長い突起状の胞体を有し、紡錘形を呈していた。突起部の細胞質内には微細な筋細線維 (myofilament) がみられた。

(3) 介在部導管細胞

介在部導管細胞は、扁平で比較的暗調な細胞で、核小体が明瞭な楕円形の核を有していた。細胞小器官は乏しく、分泌顆粒を有するものは非常に少なかったが、一部には電子密度の高い小型の分泌顆粒を有するものも認められた。管腔面には少数の微絨毛を突出させていた。隣接する細胞とは主としてデスモゾームによって密に結合していたが、中央部から基底膜側にかけては細胞嵌合による結合もみられた。

(4) 線条部導管細胞

線条部導管細胞は、単層の立方上皮あるいは円柱上皮で、細胞体の中央からやや基底側寄りに、ほぼ円形で、明るい核を有していた。細胞の基底面には、細胞膜の基底陥入が発達しており、桿状のミトコンドリアが基底陥入に平行に配列していた。管腔面には発達した微絨毛を突出させていた。隣接する細胞とは主としてデスモゾームによって結合していたが、中央部付近では細胞突起を伸長し、隣接する細胞と密に嵌合させている部分も認められた。

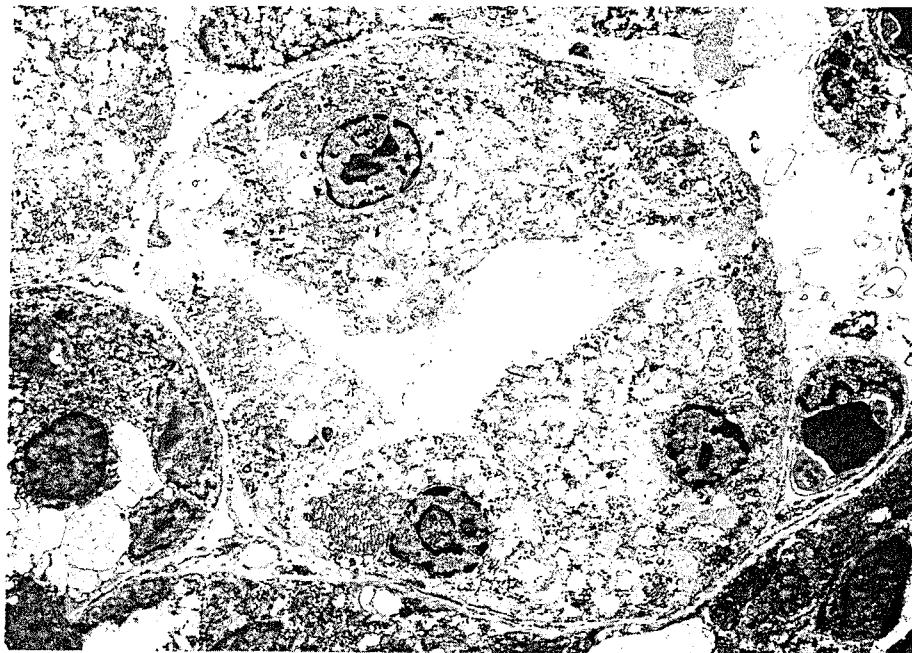


Fig. 19 Irradiated acinus, 0 day after irradiation.
Irradiated acinar cells are degenerating, but basement membrane is relatively held.
UA & LC $\times 2,000$

(5) 顆粒管細胞

顆粒管細胞は、基本的に線条部導管細胞に類似していたが、管腔側の細胞質には電子密度の高い大小多数の顆粒が充満しており、粗面小胞体や、ゴルジ装置が比較的発達していた。

2) YAG レーザー照射後の修復過程における超微細構造について

(1) 照射直後の腺房について

照射相当部の腺房は破壊され、腺房細胞は変性していた。核は、その概形をとどめていたが、核膜孔が拡張し、クロマチンは無構造化していた (Fig. 19)。細胞小器官も変性し、分泌顆粒のほとんどは限界膜が破壊されていた。また、筋上皮細胞は、すでに区別することが困難であったが、基底膜は比較的残存していた。

(2) 照射直後の導管について

照射相当部の導管も破壊されていたが、基底膜は比較的残存しており、導管としての概形は保たれているものも認められた。導管細胞の核は、腺房細胞のそれとほぼ同様の变化を示しており、また、細胞小器官のほとんどが変性していた。腺房

と導管の判別は可能なものもみられたが、導管の種類について区別することはすでに困難となった。

(3) 照射後1日目の壊死巣について

照射後1日目の腺房と導管は、変性あるいは壊死していた。核は消失し、痕跡を残すのみとなった。細胞小器官は変性し、そのほとんどが絮状の壊死様物質となったが、分泌顆粒でごく一部には、その痕跡をとどめている部分も認められた。基底膜は比較的良く保たれていたが、腺房と導管を区別することは困難となった。

壊死巣内には遊走し、侵入したマクロファージが散見された。マクロファージは変性あるいは壊死した腺房や導管に接してみられ、不規則な偽足を有しており、細胞質内には電子密度の高いライソゾームが認められた。

(4) 照射後1日目の壊死巣辺縁部の線維芽細胞様細胞について

壊死巣の辺縁部には、卵円形ないし紡錘形の細胞が多く認められた。卵円形を呈する細胞は、卵円形の核を有しており、細胞に占める核の比率が



Fig. 20 Fibroblast-like cell, 1 day after irradiation.

Fibroblast-like cell is spindle-shape, showing well-developed RER. Collagen fibrils are seen around its periphery. UA & LC $\times 3,000$

大きかった。細胞小器官は、乏しいものから豊富なものまで様々であった。細胞小器官が豊富な細胞では、粗面小胞体やミトコンドリアが発達しており、一部には、短い偽足様の突起を伸長させているものもみられた。特に偽足様の突起が発達している細胞は大型で、粗面小胞体、ゴルジ装置、ミトコンドリアなどの細胞小器官が発達していた。紡錘形を呈する細胞は、その外形に類似した核を有しており、細胞小器官が発達していた (Fig. 20)。これらの細胞の周囲には絮状の壊死様物質に加え、規則的な縞状の帯を有するコラーゲン小線維が認められ、小血管も散在していた。

(5) 照射後1日目の壊死巣周囲に残存する導管様構造について

壊死巣周囲に残存している導管様構造の外形および管腔は不規則で、導管の種類を区別することは困難であったが、大きさは介在部導管ないし線条部導管に類似していた。残存している導管様構造を構成する細胞は全般に暗調で、核は円形から楕円形で、細胞に占める割合が高かった。隣接する細胞とは、管腔に近い部分ではデスモゾームに

よって密に結合していたが、中央部付近から基底膜側ではやや疎な細胞嵌合によって結合していた。

残存している導管様構造の外側には比較的多くのマクロファージが接して認められた。細胞質内には、貪食された絮状の壊死性物質が多く認められた。

(6) 照射後3日目の壊死巣について

照射相当部において腺房や導管の構造は全く認められず、絮状の壊死性物質が主体となっていた。壊死巣内には、遊走してきたマクロファージが多く認められた。マクロファージは、発達したゴルジ装置やミトコンドリア、粗面小胞体を有しており、貪食した壊死様物質を含むものもみられた。また、偽足を不規則に伸長させ、絮状の壊死様物質をとり囲んでいるものも認められた。

(7) 照射後3日目の肉芽様組織について

肉芽組織には炎症性細胞に加え、紡錘形の線維芽細胞様細胞が多く認められた。細胞小器官は照射後1日目の紡錘形細胞に比べ豊富で、不規則な形状を示す粗面小胞体や遊離リボゾームが発達し

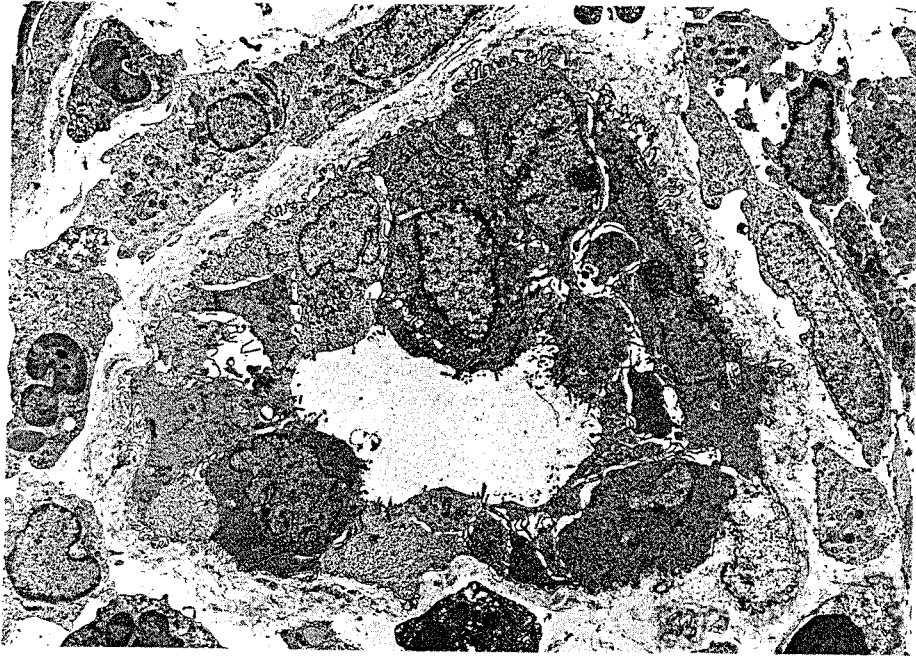


Fig. 21 Remaining duct-like structure, 3 days after irradiation.
Duct-like structure is composed of various types of cells. UA & LC $\times 2,300$

ており、ミトコンドリアも比較的豊富であった。線維芽細胞様細胞の周囲には、規則的な縞状の帯を有するコラーゲン小線維が認められ、照射後1日目に比べその量を増していた。コラーゲン小線維は平行して規則的に配列する傾向を示していた。

(8) 照射後3日目の壊死巣周囲に残存する導管様構造について

壊死巣周囲に残存している導管様構造は全般に単層上皮よりなっていたが、重層化している部分もみられ、このような部分の細胞はほとんどが扁平な形態を示していた。残存している導管様構造を構成する細胞は、暗調なものが多かったが、明調な細胞も混在しており、その形態は不規則な形状を呈していた。核は扁平や多角形を呈しており、楔状の切れ込みを有しているものが多く認められた (Fig. 21)。細胞質内には遊離リボソームやミトコンドリアが比較的多くみられ、粗面小胞体も少数ながら認められた。また、微細なトノフィラメントもみられ、管腔に面している細胞の一部には束状をなしているトノフィラメントが認められた (Fig. 22)。管腔面には微絨毛を伸長して

いた。細胞間結合は、照射後1日目の残存導管に比べて疎であった。

(9) 照射後5日目の壊死巣について

壊死巣は、照射後3日目とほぼ同様の絮状の壊死様物質よりなっていた。この壊死巣内には、紡錘形ないし星状を呈する線維芽細胞が認められた。線維芽細胞の核は、細胞のほぼ中央部に位置しており、細胞の外形に類似した形態を呈していた。核の周囲には粗面小胞体が発達していた。このような線維芽細胞は、非常に細い細胞突起を伸長させており、隣在する同様の線維芽細胞の突起と連絡し、ネットワークを形成していた。線維芽細胞に隣接して、小血管がみられる部分も認められた。壊死巣内および壊死巣の辺縁部には、マクロファージがみられたが、特に壊死巣の辺縁部に多く認められた。

(10) 照射後5日目の扁平上皮様胞巣について

扁平上皮様胞巣は、類円形ないし楕円形を呈しており、数個の上皮細胞によって構成されていた。胞巣の内側には、やや豊富な細胞質を有する明調な細胞がみられ、外側には内側の細胞を取り囲む

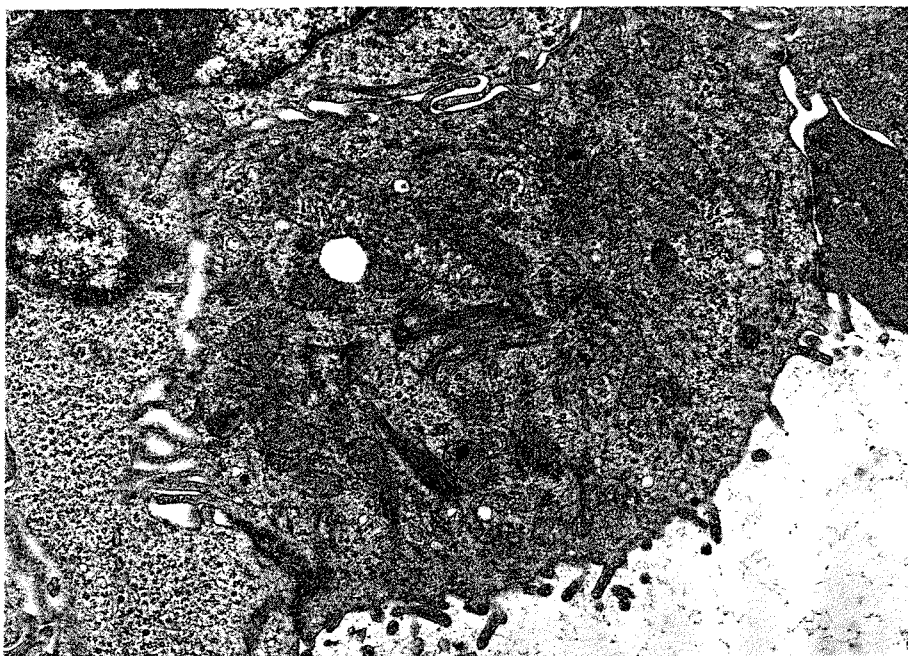


Fig. 22 Epithelial cell of duct-like structure, 3 days after irradiation. Well-developed tonofilaments with some aggregating into bundles can be seen. UA & LC $\times 13,500$



Fig. 23 Epidermoid cell nest, 5 days after irradiation. Two types of cell are seen: clear cells & dark cells. Dark cells are seen to occupy the outer aspect of the cell nest while clear cells occupy the inner aspect of the cell nest. UA & LC $\times 3,000$

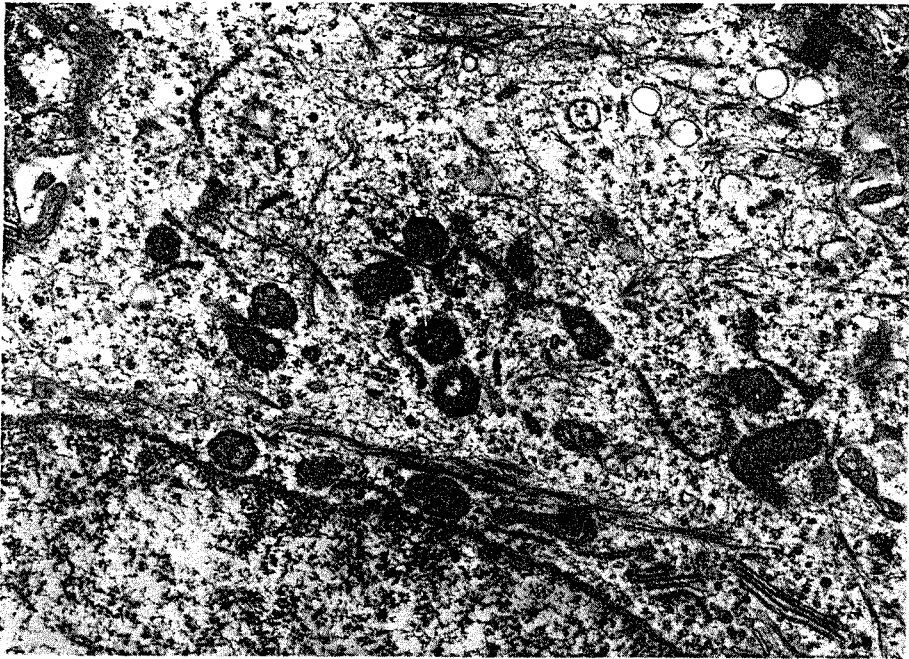


Fig. 24 Inner clear cell, 5 days after irradiation.
Fine tonofilaments running irregularly and Golgi apparatus near the nucleus are seen.
UA & LC $\times 18,000$



Fig. 25 Outer dark cell, 5 days after irradiation.
Tonofilaments are well-developed and most of them are seen in aggregates. UA & LC
 $\times 18,000$

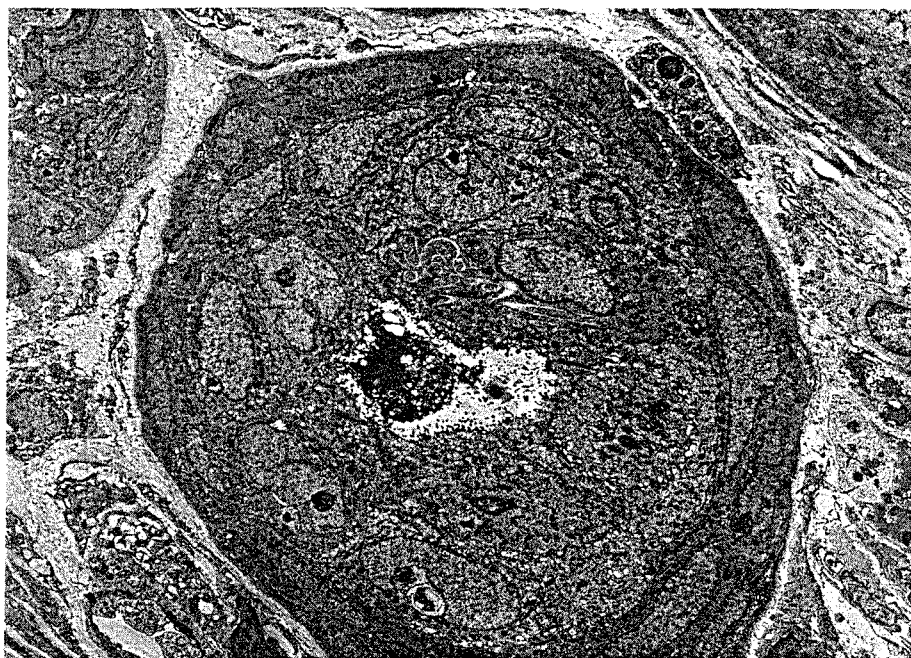


Fig. 26 Epidermoid cell nest, 5 days after irradiation.
Narrow luminal space is noted. UA & LC $\times 2,300$

ように暗調で扁平な細胞がみられた (Fig. 23)。

内側の細胞は、細胞のほぼ中央に位置している楕円形の核を有していた。細胞質内には小型のミトコンドリアが多くみられ、核に隣接してゴルジ装置が認められた。また、微細なトノフィラメントが不規則に走行しており、一部では束状をなしていた。隣接する細胞とは主にデスモゾームによって結合していた (Fig. 24)。

外側の細胞は扁平な核を有しており、細胞質内にはやや大型のミトコンドリアや遊離リボゾームが豊富に認められた。トノフィラメントは細胞質内に広範にみられ、その多くは束状に発達していた。隣接する外側の細胞とはデスモゾームと細胞嵌合によって結合していたが、内側の細胞に比べ、結合は疎であった (Fig. 25)。

また、扁平上皮様細胞巢には小管腔を有するものもみられた。小管腔を構成する上皮細胞も基本的にほぼ同様の内外の2種類の細胞よりなっていた (Fig. 26)。内側の細胞は外側の細胞に比べ、細胞質が豊富で立方状を呈しており、管腔内へ発達した微絨毛を伸長させていた (Fig. 27)。

(11) 照射後5日目の導管様構造について

導管様構造は類円形を呈しており、腔内に絮状で不定型の内容物を容れた比較的大きい管腔を有していた。管腔壁は、基本的にほぼ同様の明調な内側の細胞と暗調な外側の細胞より構成されていた。

(12) 照射後7日目の導管様構造について

照射後7日目にみられる導管様構造は、円柱状の上皮細胞よりなっているもの、立方状の上皮細胞よりなっているもの、扁平な上皮細胞よりなっているものなどがみられた。

円柱状の上皮細胞よりなっている導管様構造の管腔は比較的大きく、類円形を呈していた。導管上皮はほとんどが単層であったが、外側に扁平な上皮細胞が認められる部分もあった。円柱状の上皮細胞はやや基底側に位置する楕円形の核を有していた。細胞質内には遊離リボゾームやミトコンドリアが豊富にみられ、微細なトノフィラメントも認められた。筋腔内には微絨毛を伸長させていた。隣接する細胞とは主としてデスモゾームによって結合していた。外側にみられる扁平な上皮細胞

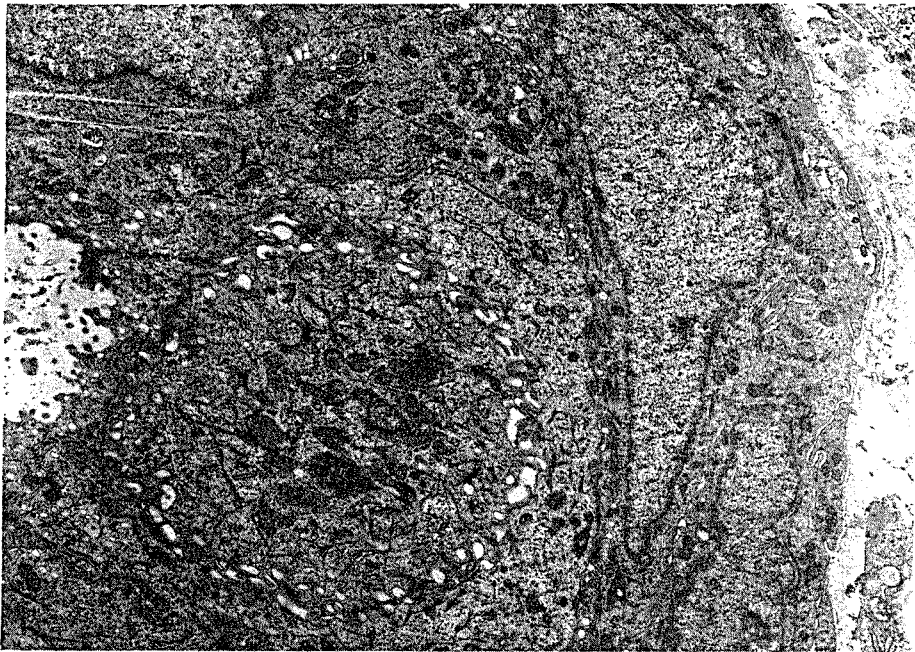


Fig. 27 Higher magnification of Fig. 26.

Inner clear cell and outer dark cell are seen. The inner clear cell stretches out microvilli into the luminal space. UA & LC $\times 10,000$

胞は小型で、細胞質内にはミトコンドリアがやや多くみられたが、他の細胞小器官は乏しかった。

立方状の上皮細胞よりなっている導管様構造は、円柱状の上皮細胞よりなっている導管様構造よりも小型であった。立方状の上皮細胞の核は類円形で、細胞のほぼ中央部に位置しており、細胞に占める割合が大きかった。細胞小器官や細胞間の結合様式は、円柱状の上皮細胞とほぼ同様であった。立方状の上皮細胞の外側には、ほぼ同様な形状を示す扁平な上皮細胞がみられる部分もあった。また、円柱状の上皮細胞と立方状の上皮細胞が、混在して導管様構造を構成しているものもみられた。

扁平な上皮細胞よりなっている導管様構造は、立方状の上皮細胞よりなっている導管様構造と同様あるいは小型であった。管腔は狭く、その外形と類似した形態を示していた。扁平な上皮細胞の核は扁平状を呈しており、中央部からやや基底側寄りに位置していた。細胞質内には、遊離リボゾームが比較的多く、管腔には微絨毛を伸長させていた。細胞間は、管腔に近い部分ではデスモゾー

ムによって、他の部分では細胞嵌合によって疎に結合していた。このような扁平な上皮細胞の外側には細胞小器官に乏しい扁平な上皮細胞がみられた。

(13) 照射後7日目の幼弱な腺房について

扁平な上皮細胞よりなる導管様構造に連続して、数個の上皮細胞よりなっている終末部が認められた。終末部を構成する細胞は、多角形を呈しており、細胞のほとんどを核によって占められていた (Fig. 28)。核は、核膜にそってクロマチンが濃縮していた。細胞小器官は全般に発達していなかった。一部には、核膜にそって濃縮したクロマチンに加えて、核小体が明瞭になっている核を有する細胞も認められた。このような細胞では、細胞質がやや豊富で、ミトコンドリアや粗面小胞体が多く認められた。いずれの細胞も、疎な細胞嵌合によって結合していた。

また、幼弱な腺房細胞が認められ、腺房へ分化する傾向を示す終末部もみられた。このような部分では、多角形の上皮細胞と幼弱な腺房細胞が混在していた。終末部のほぼ中央部には、非常に狭

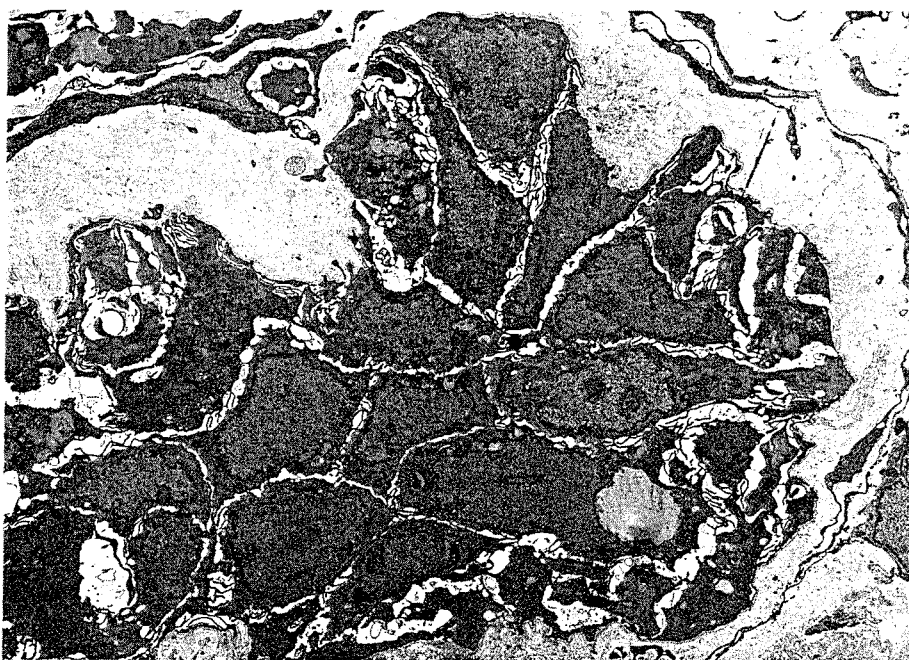


Fig. 28 Terminal portion, 7 days after irradiation.

Polygonal cells constitute the terminal portion. Their nuclei occupies most of their cell body. UA & LC $\times 3,000$

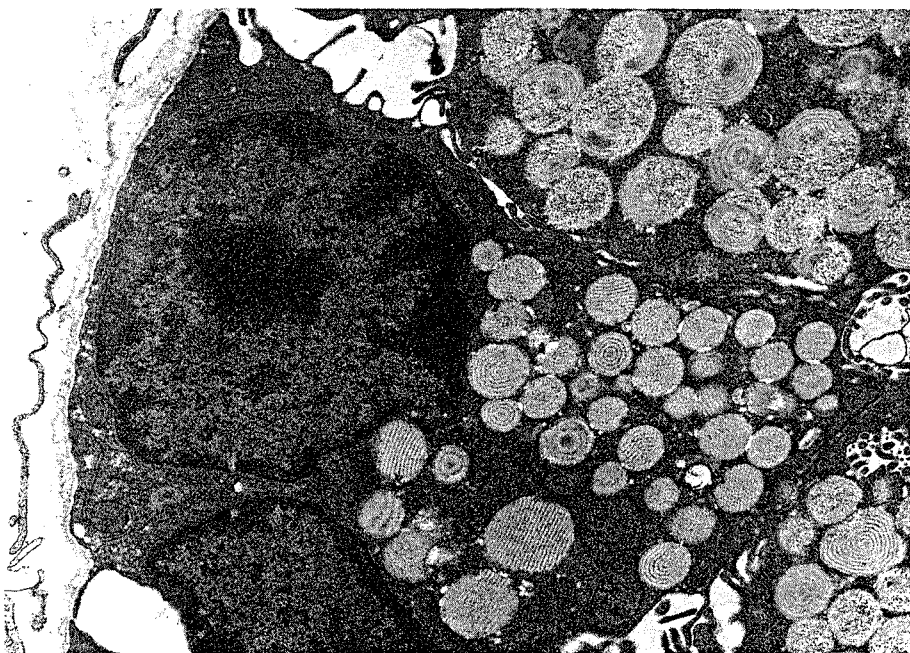


Fig. 29 Immature acinar cell, 7 days after irradiation.

Fingerprint-like or striped structure are seen in secretory granule. UA & LC $\times 12,000$

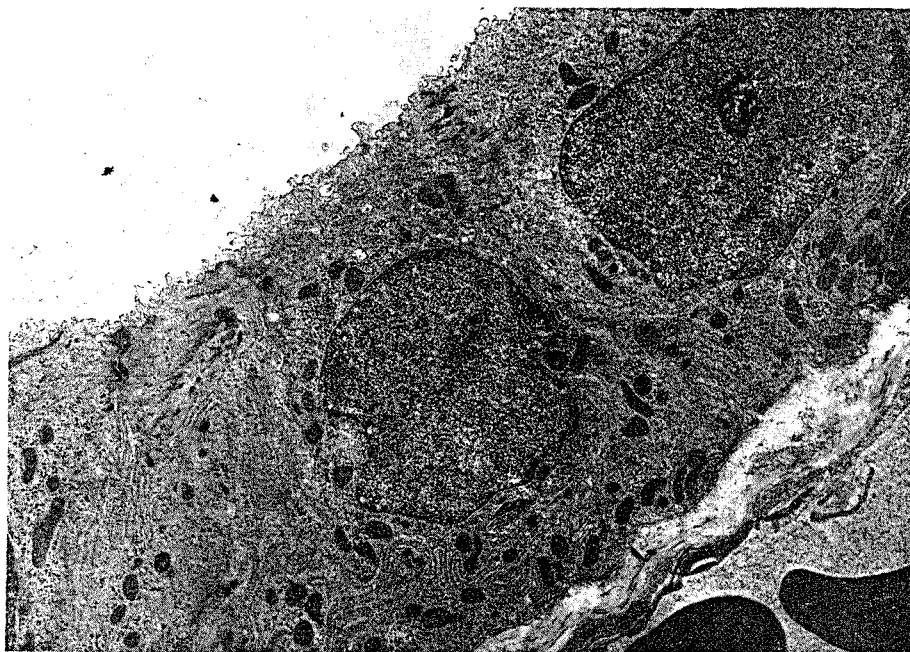


Fig. 30 Duct-like structure that has large ductal space, 10 days after irradiation. At the basal region of duct cells, developing basal infoldings are identified and mitochondrias are distributed between infoldings. UA & LC $\times 6,000$

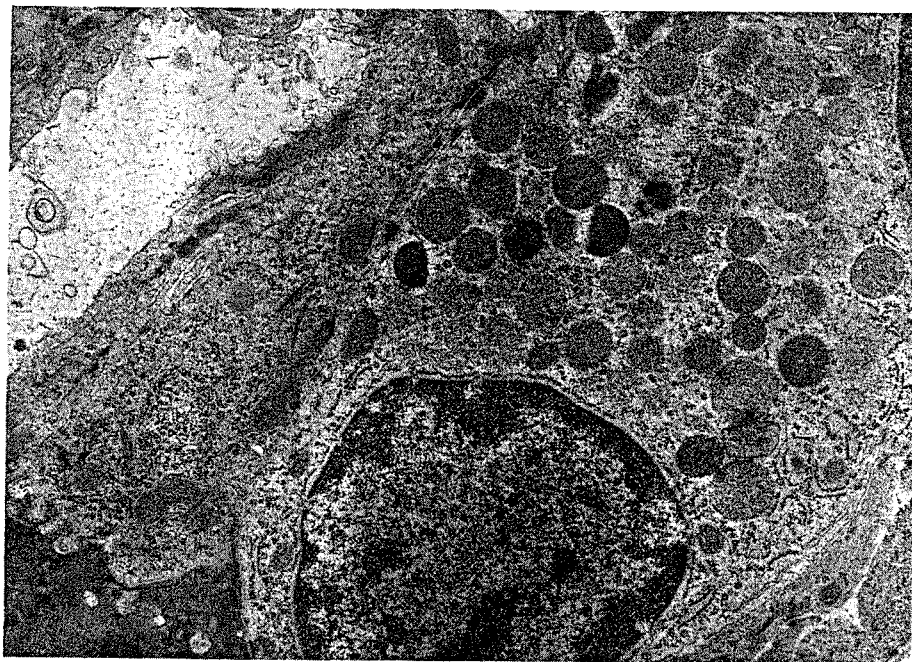


Fig. 31 Duct-like structure near acinus, 10 days after irradiation. Ductal space is narrow. Electron dense granules are seen within duct cells. UA & LC $\times 12,000$

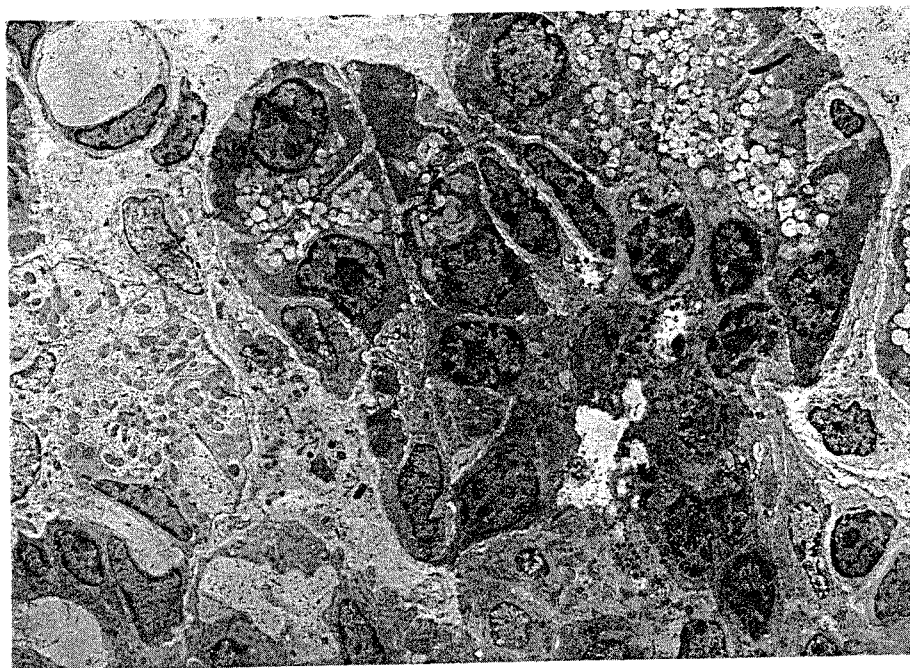


Fig. 32 Immature acini, 10 days after irradiation.
Immature acini are seen adjacent to duct-like structures. UA & LC $\times 2,300$

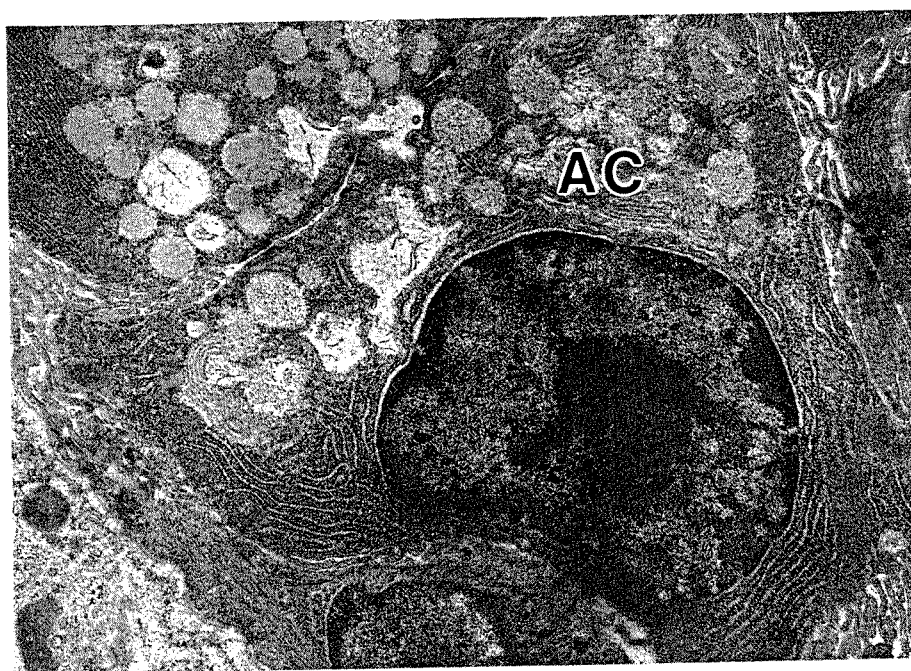


Fig. 33 Immature acinar cell (AC), 10 days after irradiation.
Lamellar arrangement of RER around chromatin-rich nucleus are seen. UA & LC $\times 11,000$

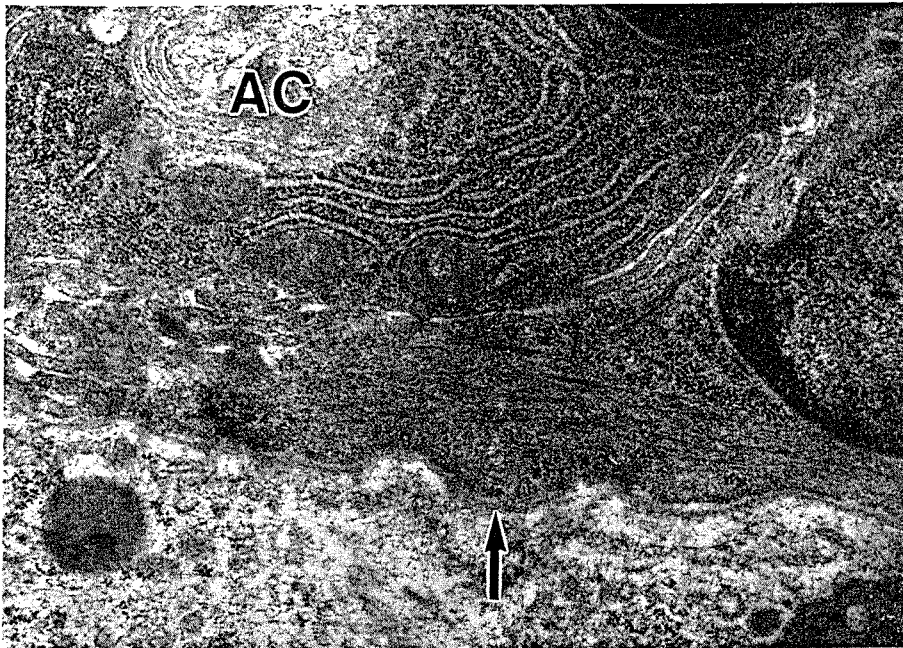


Fig. 34 Regenerated myoepithelial cell, 10 days after irradiation. Spindle cell (arrow) is seen between immature acinar cell (AC) and basement membrane. Very fine myofilaments can be seen within the cytoplasm. UA & LC $\times 23,000$

い腺腔が認められ、これを多角形の細胞と幼弱な腺房細胞がとり囲んでいた。多角形の細胞のほとんどは、核小体が明瞭で、類円形の核を有していた。細胞質は比較的豊富で、豊富な粗面小胞体が核の周囲で層板状に配列しているものも認められた。幼弱な腺房細胞は、このような多角形の細胞に類似していたが、細胞質内には分泌顆粒が認められた。分泌顆粒は大小不同で、電子密度は全体的に低いものが多かったが、濃淡は不規則であった。また、一部の分泌顆粒には層状構造や指紋様構造を有するものもみられた (Fig. 29)。幼弱な腺房細胞間には、疎な細胞嵌合によって結合していたが、デスモゾームによって密に結合している部分もみられた。多角形の細胞や幼弱な腺房細胞と基底膜との間には、細胞質の乏しい扁平ないし紡錘形を呈する細胞が認められた。この細胞の性状は、多角形の上皮細胞の性状に類似する傾向を示していた。

(14) 照射後10日目の導管様構造について

導管様構造は、比較的広い管腔を有するものと、腺房に隣接し狭く不規則な管腔を有するもの

が認められた。

広い管腔を有する導管様構造は、単層の立方状ないし円柱状の細胞よりなっていた。核は、類円形で、細胞のほぼ中央に位置していた。細胞質の基底側には不規則で未発達な基底陥入が認められ、その間にはミトコンドリアが配列していた。核の周囲および管腔側には遊離リボゾームや微細なフィラメントが認められ、管腔には微絨毛を伸長させていた。細胞間には数個のデスモゾームによって密に結合していた (Fig. 30)。

腺房に隣接し、狭く不規則な管腔を有する導管様構造は、単層ないし数層の扁平で小型な細胞よりなっていた。核はクロマチンに富み、扁平なものが多かったが、一部には類円形のものもみられた。このような核は、細胞に占める割合が高く、細胞のほぼ中央部に位置していた。細胞質内には、遊離リボゾームが比較的多く認められ、ミトコンドリアや粗面小胞体も散在し、微細なフィラメントもみられた。また、管腔面に近い細胞質中に電子密度の高い分泌顆粒を有する細胞も比較的多く認められた (Fig. 31)。

(15) 照射後10日目の幼弱な腺房について

腺房は、前述の狭い管腔を有する導管様構造に連続してみられ、幼弱な腺房細胞よりなっていた (Fig. 32)。幼弱な腺房細胞は、全般に小型で立方状ないし、ピラミッド状を呈しており、クロマチンに富みやや大型で類円形の核を有していた。照射後7日目にみられた幼弱な腺房細胞に比べ、粗面小胞体が発達しており、分泌顆粒が豊富に認められた。細胞間では細胞嵌合によって、結合している部分が多かったが、腺腔に近い部分ではデスモゾームによる結合がやや多く認められた (Fig. 33)。

幼弱な腺房細胞と基底膜の間には紡錘形の細胞が認められた。この細胞は紡錘形の核と、微細な筋細線維と少量の遊離リボゾームを有していたが、全般に他の細胞小器官は乏しかった。紡錘形の細胞と幼弱な腺房細胞とは主として少数の細胞嵌合によって結合していた (Fig. 34)。

考 察

1. 実験材料と方法について

これまで唾液腺の損傷と修復に関する実験としては、導管結紮²⁻¹⁶⁾、外科的切除¹⁷⁻²¹⁾、凍結外科^{22,23)}、CO₂ レーザーによる切除²⁴⁾、放射線照射²⁵⁻²⁷⁾など種々の方法が試みられているが、これらの多くは顎下腺を対象組織としている。この理由としてそれら実験の多くが外科的手術を必要とするものであり、解剖学的に実験が容易な顎下腺を対照組織として選択したものと考えられる。著者も同様な理由より顎下腺を選択した。

唾液腺に損傷を与える手段は、その実験の目的によって異なるが、導管結紮、放射線照射など障害が腺全体に及ぶものでは唾液腺の損傷が著しいために、ほとんど再生しなかったり^{2,5-7,12,13,15,25)}、再生した場合でも腺組織として不完全であったり^{10,14,16,26,27)}、再生過程が長期にわたったりしている^{4,11)}。また、一部に正常組織が残された場合でも、損傷が広範囲にわたるとき²²⁻²⁴⁾には程度の差があるにせよほぼ同様の結果に至っている。一方、唾液腺の局所に限局した損傷を与え、再生過程を詳細に検索した実験はこれまで少なく、著者

が渉猟した範囲では、ラット顎下腺の外科的部分切除を行った Hanks ら¹⁸⁾、森村²⁰⁾などの報告やラット耳下腺の外科的部分切除を行った山根²¹⁾の報告がみられるにすぎず、唾液腺の再生過程の詳細については、なお、解明しなければならない点が多い。

レーザーは、1960年 Maiman²⁸⁾によって開発され、医学領域にも間もなく用いられるようになった。レーザーを生体組織に照射したときに与える影響の作用機序については、熱効果、圧効果、光化学効果、電磁界効果の4点が考えられている³¹⁾が、現在の医用レーザーは主として熱効果を利用したものである。このうち、YAG レーザーは固体レーザーの1つで、発振源に Nd-YAG 結晶を用いており、近年、歯科医学領域でも種々の実験的研究や臨床的应用が行われるようになった。発振波長が 1.06 μm と組織深達性に優れたレーザーで²⁹⁾、発振波長が可視光線に近い近赤外線であるため、その導光に可視用ファイバーを用いることが可能となり操作性に優れている³⁰⁾。また、高出力から低出力まで自在に可変できる利点を有しており、照射条件を任意に選択することが可能である²⁹⁾。そこで、著者は局所に限局した損傷を与える手段として、これまでの実験方法よりも再現性に優れ、使用法が簡便な YAG レーザーを用いた。本実験では、予備実験から局所に限局した障害を与えられると考えられた照射条件としてスポット径 2 mm、出力 30W、照射時間 1 秒を選択した。

2. 組織学的所見について

1) 正常顎下腺について

唾液腺は三大唾液腺である耳下腺、顎下腺、舌下腺と他の小唾液腺に分けられ、それらの組織学的構成は異なっている。同じ顎下腺であっても、種属、性別、加齢などによって組織学的差異が認められ、著しい多様性を示すことが知られている³²⁾。

雄性ラット顎下腺は、基本的には終末部腺房と導管よりなっている。

終末部は、腺腔を構成する腺房細胞と外側にみられる筋上皮細胞よりなっているが、腺房細胞は従来、漿粘液性細胞のみよりなると考えられてき

た³³⁾が、近年ではごくわずかながら粘液性細胞も存在するという報告^{34,35)}や、さらには第3型、第4型の細胞もみられるという報告^{36,37)}もある。しかし、著者が本研究で検索した範囲では、終末部腺房は漿粘液性細胞のみよりなっていた。

導管は、介在部、顆粒管、線条部より構成されている。このうち介在部は終末部に連続する部分で、扁平あるいは立方形の上皮細胞よりなっている。これまで、ラット顎下腺の介在部は分泌顆粒をほとんど有していないと考えられてきた^{38,39)}が、近年、Sashima ら⁴⁰⁾、Qwarnström ら⁴¹⁾による分泌顆粒を有する細胞の存在が指摘されており、granular intercalated duct cell あるいは granular cell と呼ばれている。しかし、今回、著者が組織学的に検索した範囲では、介在部、あるいは介在部と終末部の移行部の細胞内に分泌顆粒は認められなかった。

2) YAG レーザー照射後の顎下腺の変化について

一般に、YAG レーザーを組織に照射すると、照射部の温度は急上昇し、蛋白の変性、凝固壊死、炭化がおこり、正常組織との間には移行層がみられる⁴²⁾。本実験においてもほぼ同様の変化がみられた。すなわち、照射部の組織は腺房や導管を問わず変性・壊死し、壊死巣と正常組織の間には、腺房細胞はほとんど消失し導管様構造のみが残存している移行部分が認められた。このような所見は、導管が腺房よりも障害に対して抵抗性を有していることを示唆していると考えられた。

照射後3日目には、移行部分に肉芽組織の増生がみられたが、肉芽組織中には残存している導管様構造が認められ、4日目以降には同部に導管様構造の増生とそれに連続している扁平上皮様の胞巣が多数出現した。扁平上皮様胞巣には、管腔を有するものと有さないものがみられたが、連続切片により管腔を有さないものも、正常組織に近い部分では管腔を有しており、周囲の既存の導管に連続していたことから、上皮胞巣は再生の一過程に出現するものであり、残存していた導管様構造から増生したものと思われた。このようなことより、腺実質の再生は、壊死巣周囲に残存する導管様構造から開始されると推察された。ラット顎下

腺に外科的部分切除を加え、再生過程を観察している森村²⁰⁾は、再生過程に出現する導管様構造の原基細胞は肉芽組織中に残存している導管であると述べている。これに対し、ラット耳下腺の外科的部分切除後の再生過程を観察している山根²¹⁾は、肉芽組織中にはほぼ同様の上皮島を認めているが、上皮島は必ずしも周囲導管と連続しているとは限らず、切除断端部から肉芽組織へ上皮が浸入、増殖したものではないと述べている。また、再生過程に著者が観察したような扁平上皮様胞巣が出現すると述べている報告はこれまでも少なからずある。Hanks ら¹⁸⁾は、扁平上皮化生した残存導管を少ないながら認めている。また、山根²¹⁾は扁平上皮化生を示す上皮島を、森村²⁰⁾は角化を伴う扁平上皮化生を少数ながら肉芽組織中に認めている。導管を結紮した顎下腺を観察している北島³⁾は扁平上皮化生した導管や充実性の上皮集団を認め、一部は高度に角化しており扁平上皮癌にみられる癌真珠様を呈していると報告している。著者の実験に出現する扁平上皮様胞巣は、組織学的にはこれらと類似しているようであるが、角化しているかどうかは、組織学的には明らかでなかった。

照射後7～9日目では、扁平上皮様胞巣は減少し、代わって、明瞭な管腔を有する導管様構造が多く認められるようになった。導管様構造は、5日目にみられた扁平上皮様細胞よりなるものに加えて、連続して立方形の上皮細胞によって構成されるものもみられたことから、扁平上皮様胞巣が導管様構造へと分化したものと推察された。また、導管様構造に隣接して、幼弱な腺房や幼弱な腺房への移行像が認められた。著者が幼弱な腺房細胞と考えたのは、正常顎下腺の腺房細胞に類似して分泌顆粒を有しており、これらが集まって腺腔を形成していながら、細胞自体は小型で、比較的大きい核を有していたからである。このような所見は導管様構造から腺房への分化を示すものであると思われた。Hanks ら¹⁸⁾、山根²¹⁾、森村²⁰⁾などは、腺房の再生を認めており、導管様構造から腺房が分化したものと述べている。一方、導管結紮を行った実験では、北島³⁾、Bhasker ら⁴⁾、Shiba ら¹⁰⁾、田村¹¹⁾などは腺房の再生の可能性を述べて

いるが、他の多くの報告は腺房の再生には否定的であり、海津⁷⁾は萎縮、壊死に陥った腺実質が、その原因が除去されずに存在しているなかで再生されるというのは困難であると述べている。ただし、一定期間内であれば、何らかの形で障害を除去あるいは緩和することによって、再生が開始されるという報告もみられる^{5,7,8,15)}。

照射後10～14日目では、腺組織の修復が進み、腺葉構造の形態の回復がみられた。これは、腺房細胞の増加と成熟がなされたためと考えられるが、特に腺房細胞の増加は著しく、腺房細胞が導管様構造からの分化のみによって増加したものか否かは、組織学的検索のみでは判別できず、さらに細胞動態を検索することが必要と考えられた。

照射後21～28日目では、照射部は不明瞭となり、正常腺組織にみられる腺葉に類似していた。これは、腺房細胞の増加、成熟に加え、導管様構造が、介在部、線条部へと明瞭に区別できるように分化したことによると考えられたが、再生した顆粒管は認められなかった。これまで顆粒管の再生に関しては、これを積極的に肯定するものはほとんどなく、Hanksら¹⁸⁾が線条部から顆粒管への移行像をわずかに認めている程度である。顆粒管は、多量の分泌顆粒を有しており、ラット顎下腺の導管のなかでは分化度の高い部分であると考えられている。森村²⁰⁾は顆粒管のような高度に分化した細胞が短期間に再生するとは考えにくいと述べている。本研究において、顆粒管の再生が認められなかった理由もこのような点にあると考えられた。また、筋上皮細胞の再生については、組織学的検索のみでは明瞭な結果は得られず、電顕的検索がさらに必要であると考えられた。

以上のような考察をまとめると、本実験のような照射条件を選択することによりYAGレーザーはラット顎下腺の局所に限局した一定の障害を与えることができ、かつ再現性に優れたものであると思われた。また、照射の簡便性を合わせると、YAGレーザー照射はこれまでの実験方法に比べて、ラット顎下腺の再生過程を観察するうえで有用な実験方法であると考えられた。

また、顎下腺に加えられた障害が局所に限局している場合には、顎下腺は比較的旺盛な修復能力

を持つことが示され、壊死巣周囲に残存している導管より再生が起これと考えられた。

3. BrdU に関する所見について

組織学的検索の結果より、ラット顎下腺の再生過程に出現する細胞の増殖動態を知ることが必要であると考え、BrdUを用いた免疫組織化学的検索を行った。

細胞増殖動態を検索する方法で最も簡単な方法は核分裂像を組織学的に検索することであるが、一般的に、M期すなわち細胞分裂期は、S期すなわちDNA合成期に比べて、時間的に短く、M期細胞を同定するよりもS期細胞を同定するほうが、細胞増殖動態を検索するうえでより多くの情報を得られると考えられている⁴³⁾。

BrdUは、thymidineのpyrimidine環の5位のmethyl基がBrに置換されたthymidine類似物質であり、S期すなわちDNA合成期の細胞の核内に取り込まれる。1982年Gratzner⁴⁴⁾によりBrdUに対するモノクローナル抗体が開発されて以来、免疫組織化学的にBrdUを取り込んだ細胞を同定することが可能となった。それまでS期細胞を同定する方法として用いられてきたautoradiographyに比べ、簡便かつ短時間で標本を作成できる点で優れており、最近では、BrdUを用いた研究が多くみられる。著者は、以上のような理由から細胞増殖動態を検索するためにBrdUを用いた免疫組織化学的検索を行った。

1) 正常顎下腺について

これまで、正常唾液腺組織に関する細胞増殖動態に関する報告は少ない。畠山ら⁴⁵⁾はラットの三大唾液腺の培養細胞について、小宮ら⁴⁶⁾はラット顎下腺についてBrdUを用いた検索を行っており、これらの報告によれば、成熟した腺組織の腺房細胞、導管系細胞、筋上皮細胞にS期細胞が認められ、小宮ら⁴⁶⁾は成熟期においても分化した構成細胞は互いに独立した細胞増殖系として存在すると述べている。これに対して、樽沼¹⁶⁾は導管結紮したラット顎下腺の対照群として正常成熟ラット顎下腺についてautoradiographyを用いて検索しているが、正常成熟腺では腺房細胞、導管系細胞にS期細胞は全く認められなかったと述べている。

今回の著者の検索では、畠山ら⁴⁵⁾、小宮ら⁴⁶⁾とほぼ同様の結果であり、正常成熟ラット顎下腺においても、分化した各種類の細胞は低いながらも増殖能力を有していると考えられた。

2) YAG レーザー照射後の顎下腺について

これまで、唾液腺再生過程における細胞増殖動態を検索した報告は、著者が渉猟した範囲では非常に少なく、導管結紮したラット顎下腺について autoradiography を用いて検索した樽沼¹⁶⁾の報告がみられるのみで、特に唾液腺の局所損傷後の再生過程に関する報告はみられなかった。

照射後1～3日目においては、壊死巣周囲にみられる線維芽細胞様の細胞に多くの BrdU 陽性細胞が認められた。組織学的に肉芽組織の量は3～6日目において豊富であり、これらを合わせて考えると、線維芽細胞様細胞の増加に伴って、肉芽組織の量が増加しているものと思われた。また、肉芽組織中に残存している導管様構造に照射後2日目より BrdU 陽性細胞が認められたことより、この残存している導管様構造は活性を有しており、損傷後の腺組織においては、このような残存している導管様構造より再生が開始されるということを示唆する所見であると考えられた。樽沼¹⁶⁾は、顎下腺の導管結紮後2～3日目に、autoradiography に標識される線維芽細胞と導管上皮細胞を多数認めており、導管上皮の増殖によって腺組織の修復がなされると述べている。本研究における初期変化は、このような樽沼の報告¹⁶⁾とほぼ同様であると思われた。

照射後4～6日目では、肉芽組織中にみられる扁平上皮様胞巣や導管様構造に BrdU 陽性細胞がみられた。扁平上皮様胞巣における標識率は、扁平上皮様胞巣が主として出現するこの期間において7%以上を保っており、その増殖活性の高さを示すものと考えられた。また、BrdU 陽性細胞は扁平上皮様胞巣中の外側に位置する細胞にやや多くみられたことより、同一胞巣内では外側に位置する細胞の方が増殖活性が高いものと考えられた。

照射後7～14日目では幼弱な腺房細胞がみられるようになり、これらに BrdU を取り込んだ細胞が比較的多く認められた。また、照射後14日目以

降にみられる比較的分化した腺房細胞にも BrdU 陽性細胞が認められた。このような所見は、腺房細胞の再生が、導管様構造から分化して生じるものに加えて、分化途上の幼弱な腺房細胞や、比較的分化した再生腺房細胞自身の増殖によっても生じているということを示唆していると思われた。再生過程におけるこのような再生腺房細胞の増殖動態は、正常唾液腺の発生過程にみられる腺房細胞の動態に類似しているように思われる。篠原⁴⁷⁾はラットの耳下腺と顎下腺の発生過程を観察し、耳下腺においては、生後1日目より未熟な腺房細胞が出現し、順次、成熟していくが、未熟腺房、成熟腺房ともに核分裂像が多数認められ、顎下腺においては、腺房細胞の前駆細胞である proacinar cell が胎生21日目より出現し、成熟腺房細胞へ置換されるが、この過程においても両者に多数の核分裂像がみられると報告している。佐藤⁴⁸⁾はラット顎下腺の発生過程を観察し、生後3～4日目において proacinar cell の核分裂像を多数認めている。また、ラット顎下腺の正常生後発生における細胞動態を autoradiography を用いて検索した Chang⁴⁹⁾ や Alvares ら⁵⁰⁾は、proacinar cell や分化間もない acinar cell は比較的高い標識率を示すことを報告している。著者が再生過程において認めた幼弱な腺房細胞と、発生過程における proacinar cell は、全く同一の細胞ではないが、組織学的には、ともに小型で卵円形の核を有し、PAS 陽性の顆粒を有するなどの共通点を有しており、再生過程と発生過程の関連性が示唆された。

照射後28日目には、導管様構造を構成する細胞や幼弱な腺房細胞の標識率は減少し、照射相当部の腺葉には正常顎下腺とほぼ同様の染色傾向が認められたことより、腺実質の増殖活性は安定し、再生過程がほぼ終了に近い状態になったと考えられた。

以上の考察をまとめると、顎下腺の修復過程においては、壊死巣周囲に残存している導管上皮細胞の増殖を中心として再生が始まり、腺葉構造の形態の回復時にみられる腺房細胞は、導管様構造から分化して生じるものに加えて、分化途上の幼弱な腺房細胞や比較的分化した再生腺房細胞自身

の増殖によっても生じており、このような変化は、唾液腺の発生過程に類似していると考えられた。

4. 電顕的所見について

1) 正常顎下腺について

組織学的所見に関する考察でも述べたように、唾液腺は極めて多様性に富んだ組織で、顎下腺においても、種属、性別、加齢などによってその形態学的特徴はかなり異なっている。

(1) 腺房細胞について

市川³³⁾によれば、ラット顎下腺は漿粘液性の分泌顆粒を有するただ1種類の細胞よりなっており、この細胞では、細胞基底側に粗面小胞体が発達し、これに近接して核がみられ、腺腔側にはゴルジ装置と充満した分泌顆粒が認められることが特徴であると述べている。著者の検索した範囲では、電顕的にも腺房細胞はただ1種類からなっており、市川³³⁾が述べているような特徴を有していた。しかし、長門^{36,37)}はラット顎下腺にもごく僅かながら存在する粘液細胞の他に、第3型、第4型の細胞もみられると報告している。彼らによると、電顕的には、第3型細胞の分泌顆粒は電子密度が高く、斑点状の亜構造を持つことを特徴としており、第4型細胞は、第3型細胞から漿粘液性細胞への移行像であるという。以上のようなことから考えると、ラット顎下腺にみられる腺房細胞のほとんど漿粘液性腺房よりなっているが、少数ながら別種の細胞も存在しているようであり、本研究において漿粘液性細胞のみが認められたということは、このような別種の細胞が極めて少数であることを示していると考えられた。

(2) 筋上皮細胞について

辻³⁸⁾は、筋上皮細胞の電顕的特徴として、腺房細胞または介在部導管細胞と基底膜の間に存在すること、扁平な胞体を有すること、microfilament束を細胞内に容れていることをあげている。辻³⁸⁾のいうmicrofilamentは、筋細線維とも呼ばれている微細な線維で、筋上皮細胞の最も特徴的な所見と考えられている。著者の検索でも、筋上皮細胞は辻³⁸⁾の述べている所見とほぼ同様の所見を示していた。

(3) 介在部導管細胞について

介在部導管細胞は、立方形あるいは扁平な上皮細胞で、全般に細胞小器官に乏しかった。また、組織学的には分泌顆粒はみられなかったが、電顕的には比較的小さく、電子密度の高い分泌顆粒を細胞質内に容れているものが認められた。Sashima⁴⁰⁾、Qvarnström⁴¹⁾によると終末部に近接する介在部導管細胞の一部には分泌顆粒を有する細胞が認められ、granular intercalated duct cellあるいはgranular cellと呼ばれている。電顕的に分泌顆粒は、中等度から高度の電子密度を示し、顆粒周囲には帯状の明帯がみられると述べている。また、高野³¹⁾も電顕的にラット顎下腺を観察し、介在部導管細胞に小型で電子密度の高い分泌顆粒を認めている。これらの報告と著者の観察結果は類似していると考えられ、介在部導管細胞にも分泌顆粒を有するものが存在すると思われた。

(4) 線条部導管細胞について

線条部導管細胞は、単層の立方ないし円柱上皮で、細胞の基底側には基底陥入がみられ、桿状のミトコンドリアが基底陥入に平行に配列していた。市川³³⁾によれば、線条部は唾液腺に特有の構造で、顎下腺において特に発達しており、電顕的には、著者が観察したものと同様に、細胞基底側の基底陥入とこれに平行して配列するミトコンドリアが特徴であると述べている。

(5) 顆粒管細胞について

顆粒管細胞は、電顕的に高円柱状の細胞で線条部導管細胞に類似していたが、管腔側の細胞質内に多数の分泌顆粒を容れており、基底陥入は線条部導管細胞ほど発達はしていなかった。市川³³⁾は、この基底陥入は発達が悪く、ときには欠けることもあると述べており、著者の検索した結果は、市川³³⁾の報告とほぼ同様と考えられた。

2) YAG レーザー照射後の修復過程の超微細構造について

(1) 壊死巣・肉芽組織の変化について

照射直後では、腺房も導管もほぼ同様の変性傾向を示していた。すなわち、核や細胞小器官、分泌顆粒は変性傾向を示していたが、基底膜は比較的残存していた。井上²³⁾は、ラット顎下腺に凍結外科を行い、損傷後の経時的変化を電顕的に観察

している。凍結直後では、腺房細胞の細胞膜は消失し、ミトコンドリアのクリスタの配列や粗面小胞体の配列の乱れがみられ、分泌顆粒も消失しているという。井上²³⁾の所見は著者の所見に比べ、障害が強く現れていると考えられるが、この相違は障害を与える手段が異なることに加え、その条件が影響していると考えられた。

照射後1日目以降では腺房細胞と導管系細胞はともに核が消失し、細胞小器官も不明瞭となり、腺房細胞と導管細胞を区別することが困難となった。このような変化は、障害を受けた細胞がさらに不可逆性の変性、壊死の傾向を示したものと考えられた。ところどころに遊走しているマクロファージは不規則な偽足を伸ばしており、変性、壊死した組織の処理を行っていると思われた。

壊死巣辺縁部には、紡錘形あるいは楕円形の細胞が多く認められた。このような細胞のなかには、細胞小器官に乏しいものがみられ、未分化な間葉系細胞と考えられたが、細胞小器官が比較的発達した細胞もみられ、細胞周囲に規則的な縞状の帯を有するコラーゲン小線維がみられたことを合わせて考えると、線維芽細胞への分化傾向を示しているものと思われた。したがって、組織学的に線維芽細胞様細胞と思われた細胞は、未分化な間葉系細胞と線維芽細胞の両者からなっていると考えられた。

照射後5日目では、線維芽細胞やマクロファージは壊死巣辺縁部にみられるだけでなく、壊死巣内にも多く認められるようになり、特に線維芽細胞は、細胞突起を伸長させ、相互に連絡していた。このようなことは、壊死巣の吸収が辺縁部からだけでなく、壊死巣内からも活発に行われ始めたことを示しており、線維芽細胞や小血管の侵入を合わせて考えると、器質化が急速に進展していることがうかがわれた。

(2) 導管の再生について

照射後1～3日目にみられた壊死巣辺縁部に残存している導管様構造は、正常顎下腺にみられる導管細胞に類似した特徴を有しておらず、残存している導管様構造の起源を断定することは困難であったが、導管様構造が単層上皮よりなっていたことやその大きさから考えると、介在部導管細胞

あるいは線条部導管細胞である可能性が示唆された。唾液腺損傷後の再生上皮の起源については、報告者によって異なっており、未だに不明な点が多い部分である。Hanksら¹⁸⁾は、壊死している腺小葉に残存している線条部導管を認め、一部には細胞分裂像がみられることより、これを再生導管の起源と考察している。山根²¹⁾は、小葉間導管細胞、線条部導管細胞、介在部導管細胞、腺房細胞が萎縮し一様な導管細胞となり、この細胞が分裂し未分化上皮細胞となり、分化することによって再生すると述べている。森村²⁰⁾は、壊死巣辺縁部に残存している導管様構造は、免疫組織化学的検索結果より線条部あるいは排泄管といった上部導管の可能性が高いと述べている。また、井上²³⁾は凍結外科後に出現する嚢胞様構造物の起源として、介在部導管細胞をあげている。介在部導管細胞は分泌顆粒が少なく凍結外科に対して抵抗性を持っており、周辺部に残存しやすいこと、細胞の形態が似ていることなどを理由としている。この点に関しては、現在でも議論の分かれるところであるが、著者の検索では、壊死巣周囲に残存している導管様構造物は、介在部導管あるいは線条部導管である可能性が示唆された。

また、照射後3日目の導管様構造の一部には、導管上皮が重層化している部分がみられたり、正常の導管上皮細胞に比べて発達した束状のトノフィラメントを有している細胞がみられたりしていた。後に出現する多数の扁平上皮様胞巣が、電顕的には、発達したトノフィラメントを有する上皮細胞よりなっていたことを考え合わせると、壊死巣周囲に残存していた導管様構造を構成する細胞は、その後出現する扁平上皮様胞巣を構成する細胞の前駆細胞であり、壊死巣周囲に残存している導管様構造が、腺組織再生の起源となっていることが示唆された。

扁平上皮様胞巣は数個の細胞よりなっており、電顕的に内外2種類の細胞に区別された。また、小管腔を有する上皮細胞巣や比較的大きい管腔を有する導管様構造もほぼ同様の2種類の細胞よりなっていた。内外の上皮細胞はともに束状のトノフィラメントを有し、デスモゾームによる結合が発達しており、これらの細胞が扁平上皮に類似し

た性状を具備していることを示唆しているようにも考えられる。しかし、扁平上皮様胞巣は残存している導管様構造から増生して生じていること、内側の細胞には細胞の中央からやや基底側よりに位置する類円形の核を有したものがみられること、内側の細胞のうち、管腔に面している細胞は管腔へ微絨毛を伸長させていることなどから、扁平上皮様胞巣や導管様構造を構成する細胞は、基本的には導管上皮細胞であり、特に内側の細胞は導管上皮細胞への分化傾向を強く示す細胞であることが示唆された。

組織学的所見の考察で述べたように、北島³⁾、森村²⁰⁾などが組織学的に角化を伴う扁平上皮化生を示す導管様構造や上皮集団を認めているが、これらは、著者が電顕的に観察した明るい細胞質を有する内側の細胞に相当しているものと推察された。一方、山根²¹⁾は、扁平上皮様細胞を電顕的に観察し、これらの細胞質内に豊富な束状のトノフィラメントに加え、ケラトヒアリン顆粒様の電子密度の高い小顆粒を認めており、このような所見より扁平上皮様細胞と名づけている。しかし、著者の検索において、扁平上皮様胞巣や導管様構造にケラトヒアリン顆粒様の電子密度の高い顆粒を有する細胞は認められず、この差異がどのようなことに起因しているかは、明らかではなかった。

照射後7日目にみられる導管様構造には、種々の上皮細胞がみられた。円柱状の上皮細胞よりなっている導管様構造は、このうち最も大きく、導管上皮細胞の細胞小器官の発達や細胞間の結合が密であったことなどから考えて、上部に位置した比較的分化の進んだ導管様構造であり、今後、線条部導管へ分化するものと思われた。これに対し、扁平な上皮細胞よりなっている導管様構造は、大きさが小さく、導管上皮細胞の細胞小器官が乏しく、細胞間の結合が疎であったことなどから考えて、終末部に近い部分に位置した未発達な導管様構造であり、今後、介在部導管に分化するものと推察された。

さらに、導管様構造は大きく2種類に区別されるようになり、そのうち、比較的広い管腔を有する導管様構造は、立方状ないし円柱状の導管上皮細胞よりなっていた。この導管上皮細胞には、基

底部に不規則な基底陥入がみられ、その間にはミトコンドリアが配列しており、線条部導管細胞への分化傾向が進んだものと考えられた。また、このような導管上皮細胞に分泌顆粒を有するものはみられなかったことから、顆粒管の再生は、否定的であると思われた。一方、腺房に隣接し、狭く不規則な管腔を有する導管様構造は、比較的クロマチンに富む核を有する扁平で小型な導管上皮細胞よりなっていた。この導管上皮細胞の位置や形態から推察して、介在部導管細胞への分化傾向が進化したことを示すものと思われた。介在部導管細胞への分化傾向がみられた細胞の中には、電子密度の比較的高い分泌顆粒を有している細胞も認められた。正常顎下腺の電顕的所見に関する考察でも述べたように、介在部導管にも granular intercalated duct cell あるいは granular cell といった分泌顆粒を有する細胞が認められるが、これは Bogart⁵²⁾、Qvarnström ら⁴¹⁾によれば加齢的变化の際に認められるもので、Sashima ら⁴⁰⁾は、生後6カ月目にその出現ピークがみられると述べている。この分泌顆粒の周囲には帯状の明帯がみられることが特徴であると考えられており、著者が、再生過程において観察した分泌顆粒とは異なるものと考えられた。一方、ラット顎下腺の発生過程において、terminal tubule cell とよばれる分泌顆粒を有する細胞が出現することが知られている。Jacoby ら⁵³⁾、Leeson ら⁵⁴⁾によると、terminal tubule cell は電子密度の高い核を有しており、核の周囲には少数のミトコンドリアがみられ、管腔側の細胞質中には電子密度の高い分泌顆粒がみられるという。このような特徴は、著者が観察した分泌顆粒を有する導管上皮細胞に類似していると考えられた。

(3) 腺房の再生について

照射後7日目にみられた終末部は数個の多角形を呈する上皮細胞より構成されていた。この多角形の上皮細胞は、核の細胞に占める割合が大きく、細胞小器官に乏しいことより未分化な状態にある上皮細胞であると考えられた。また、核膜にそったクロマチンの濃縮や、明瞭な核小体のみられる核を有する多角形の細胞が、同一終末部にみられており、このような細胞の細胞質内にミトコ

ンドリアや粗面小胞体が認められることから、幼弱な腺房細胞へ分化する傾向を示しているものと思われた。

分泌顆粒を有する多角形の幼弱な腺房細胞が混在し、終末部から腺房への分化を示すものもみられた。この幼弱な腺房細胞は、核膜にそったクロマチンの濃縮や核小体の明瞭な核を有し、細胞質内には層状に配列した粗面小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ装置などの腺房細胞に特徴的な微細構造を具備していたが、成熟した腺房細胞に比べて未発達であると思われた。以上のような所見を考え合わせると、未分化な多角形の細胞は腺房細胞の前駆細胞であると推察された。Hanks ら¹⁸⁾は、ラット顎下腺部分切除後2～5週目に幼弱な腺房細胞を認め、これらは、層板状に配列した粗面小胞体、少数のミトコンドリアを有していると報告しており、著者の述べた分泌顆粒を有する多角形の細胞の性状に類似していると思われた。

また、著者が幼弱な腺房細胞と考えた細胞内にみられた分泌顆粒は、大小不同で、一部の分泌顆粒内に、層状構造や指紋様構造などの内部構造が認められた。このような内部構造を有する分泌顆粒は、正常顎下腺の分泌顆粒には認められないが、 β -アドレナリン作動薬である isoproterenol の長期投与によって肥大した顎下腺腺房細胞内の分泌顆粒にみられることが、これまで Kanda ら⁵⁵⁾、Radley⁵⁶⁾、Yamashina ら⁵⁷⁾、Inoue ら⁵⁸⁾、井上⁵⁹⁾などによって報告されている。市川ら⁶⁰⁾によるとラット、マウスなどの唾液腺腺房細胞の分泌顆粒のうち、層状構造を有する異質性の分泌顆粒の出現は、幼弱な細胞における分泌顆粒の新生期にみられる現象、あるいは成熟した細胞に強い刺激を加えて分泌顆粒の放出した後の分泌顆粒の再生期にみられる現象であり、比較的未熟な分泌顆粒にみられるもの³³⁾と述べている。また、正常唾液腺の発生過程においても成熟した腺房細胞にはみられない異質性の分泌顆粒が出現することが報告されている。ラット顎下腺の発生過程を観察した Alvares ら⁵⁰⁾、Strum⁶¹⁾、Dvorak⁶²⁾は proacinar cell の分泌顆粒内に層状、指紋様、filament 様などの内部構造を認めており、マウス顎下腺の発生過程を観察した Kumegawa ら⁶³⁾は出生時の未熟

な腺房細胞の、Yohro⁶⁴⁾は proacinar cell の分泌顆粒内に同様の内部構造を認めている。一方、唾液腺の再生過程においては、Hanks ら¹⁸⁾が、幼弱な腺房細胞の分泌顆粒内に rod 状あるいは filament 様の内部構造が認められると報告している。著者の観察した層状構造や指紋様構造を有する分泌顆粒は、isoproterenol の長期投与によって肥大した顎下腺の腺房細胞や、顎下腺の正常発生過程にみられる proacinar cell と形態的に非常に類似していると考えられ、未熟な分泌顆粒であることが示唆された。このような点からも内部構造を持つ分泌顆粒を有する細胞は、幼弱な腺房細胞であると考えられた。

終末部や腺房は、導管様構造と隣接していることから、導管様構造から分化して生じたものと考えられ、組織学的所見での考察をさらに裏付けるものであると思われた。照射後10日目では、幼弱な腺房細胞は、核の周囲に層状に配列し、発達した粗面小胞体を有していたり、電子密度の比較的一定した豊富な分泌顆粒を有していたりするものがみられ、腺房細胞としての成熟度が増したものと考えられた。

筋上皮細胞の再生は照射後10日目に認められた。幼弱な腺房細胞と基底膜の間には、微細な筋細胞を細胞質内に容れた紡錘形の細胞がみられ、この細胞は、その位置、細胞形態、細胞小器官などから再生した筋上皮細胞と推察された。これまで、筋上皮細胞の再生に肯定的見解を述べているのは、Hanks ら¹⁸⁾、山根²¹⁾などで、山根²¹⁾は筋上皮細胞の由来を介在部導管細胞に求めている。一方、森村²⁰⁾は筋上皮細胞の再生は認めておらず、再生の原則から考えて、高度に分化した細胞が短期間のうちに再生することはないと否定的な見解を述べている。

本研究においては、多角形の細胞よりなる未発達な終末部の基底膜側に、細胞小器官に乏しい扁平あるいは紡錘形の細胞がみられており、その位置や微細構造的特徴より、再生した筋上皮細胞と類似した特徴を有していると考えられた。したがって、終末部の基底膜側に位置する一部の細胞から筋上皮細胞が分化したものと推察されたが、この点に関しては、さらに検討が必要と思われた。

(4) ラット顎下腺再生過程と発生・分化過程の関連性について

ラット顎下腺の発生・分化過程は、非常に複雑であり、今なお不明な点が多い。これまでの報告で一致していると思われる点は、発生・分化過程にみられる終末部付近に、電子密度の高い均一な分泌顆粒を有する terminal tubule cell, 多様な形態を呈する分泌顆粒, すなわち polymorphic granule を有する proacinar cell, 成熟顎下腺にみられるものとはほぼ同様の形態を呈する acinar cell の3種類の細胞が区別されるということである。しかし、これらの細胞の関係を含めた発生・分化の過程に関しては、統一された見解が得られていないのが現状である。Strum⁶¹⁾, Yamashina⁵⁷⁾, 佐藤⁴⁸⁾, 森ら⁶⁵⁾などによれば次のように考えられている。胎生期には、上皮成分は主導管とこれから分枝した導管よりなっており、終末部は、end-bud と呼ばれる未熟な上皮細胞より構成されている。出生前後になると終末部は、電子密度の高い顆粒を有する terminal tubule cell と種々多様な顆粒を有する proacinar cell より構成される terminal tubule となる。その後間もなく、proacinar cell から acinar cell が分化するが、この間に proacinar cell や acinar cell は分裂・増殖する。一方、terminal tubule cell は顆粒を失い、介在部導管細胞へと分化する。また、小葉内の導管細胞が線条部導管細胞へと分化し、顎下腺の成熟が達成される。これに対して、Jacoby⁵³⁾ や Leeson⁵⁴⁾ は、出生時には terminal tubule は terminal tubule cell より構成されており、出生後、この一部から acinar cell が分化し、他の terminal tubule cell は、分泌顆粒を放出して介在部導管細胞へと分化すると述べている。Dvorak⁶²⁾ や Yohro⁶⁴⁾ は、terminal tubule cell は、acinar cell の前駆細胞であり、proacinar cell はこれらの移行型であるとしている。また、Chang⁴⁹⁾ や Alvares⁵⁰⁾ によると、出生時から生後2週目までは proacinar cell から acinar cell が分化し、生後3～6週目では terminal tubule cell から分化すると述べている。

これまで、ラット顎下腺の再生過程と発生・分化過程の関連性に言及している論文としては、

Hanks¹⁸⁾ の論文がみられるのみである。彼らは、ラット顎下腺部分切除後の再生過程と発生・分化過程を比較している。顎下腺部分切除後1～3日目に上皮様構造物がみられ、1～2週目にこれより線条部導管と、terminal tubule cell からなる terminal tubule が分化し、2～5週目には、terminal tubule cell から acinar cell と介在部導管細胞が分化すると述べており、このような再生過程は Jacoby⁵³⁾ や Leeson⁵⁴⁾ が述べているような発生・分化過程に類似していると考察している。

一方、著者の検索した再生過程は、電顕的所見より考えると次のようにまとめることができる。照射後1～3日目の壊死巣周囲に残存している導管様構造から増殖が始まり、間もなくこれらは、増殖活性の高い導管様構造と扁平上皮様胞巣となる。7日目以降には、多角形の細胞や幼弱な腺房細胞によって腺房が構成されるようになり、未分化な多角形の細胞から幼弱な腺房細胞へ分化し、幼弱な腺房が成熟することによって腺房細胞が出現する。このような腺房に接して、一部に電子密度の高い分泌顆粒を有する細胞がみられる導管様構造が認められ、このうち分泌顆粒を有していない細胞は、介在部導管細胞への分化を示す。一方で、広い管腔を有する導管様構造には、未発達ながら基底陥入のみられる円柱状の細胞よりなる線条部導管が認められるようになる。このような再生過程のうち、幼弱な腺房細胞は、発生過程における proacinar cell に、電子密度の高い分泌顆粒を有する導管細胞は、terminal tubule cell に類似していると思われた。以上のように著者が考えた再生過程は、Hanks¹⁸⁾ の考えた再生過程と若干異なっており、彼らの類似していると推察した Jacoby⁵³⁾ や Leeson⁵⁴⁾ の述べている発生・分化過程よりも、Strum⁶¹⁾, Yamashina⁵⁷⁾, 佐藤⁴⁸⁾, 森ら⁶⁵⁾などの述べている発生・分化過程に類似していると推察された。

以上の考察をまとめると、顎下腺の再生は、壊死巣周囲に残存している導管上皮細胞より開始されることが電顕的にも示唆された。組織学的に扁平上皮様と思われた胞巣は、間もなく導管様構造へ分化すると考えられ、線条部導管、介在部導管

および腺房は、この導管様構造より再生されるものと思われた。顆粒管の再生はみられなかったが、筋上皮細胞の再生の可能性は示唆された。また、このようなラット顎下腺の再生過程は発生・分化過程と関連性を有していると考えられた。

結 語

唾液腺の再生過程を明らかにする目的で、ラット顎下腺に YAG レーザーを照射し、その損傷と修復過程について組織学的検索、BrdU を用いた免疫組織化学的検索および電顕的検索を行った。その結果を要約すると次のようである。

1. 唾液腺に加えられた障害が局所に局限している場合には、唾液腺は比較的旺盛な修復能力を有していると考えられた。
2. 修復過程においては、壊死巣周囲に残存している導管様構造の上皮細胞より再生が開始され、間もなく、増殖活性の高い扁平上皮様胞巣や導管様構造を形成した。これらの上皮細胞は、電顕的に内外2種類の細胞に区別され、内側の細胞は導管上皮への分化傾向を示していた。

抄録：損傷を受けた唾液腺の再生過程を明らかにする目的で、YAG レーザーをラット顎下腺に照射して、その損傷と修復過程を形態学的に検索した。

YAG レーザー照射後、照射部は壊死巣となり、その周囲には肉芽組織の増生がみられた。肉芽組織中には残存している導管様構造がみられ、間もなく、増殖活性の高い扁平上皮様胞巣や導管様構造を形成した。これらの上皮細胞は電顕的に内外2種類の細胞に区別され、内側の細胞は導管上皮への分化傾向を示していた。腺葉の形態回復時には、線条部導管細胞、介在部導管細胞、幼弱な腺房細胞、筋上皮細胞への分化傾向が電顕的に認められた。以上のような所見より、唾液腺に加えられた障害が局所に局限している場合には、唾液腺は比較的旺盛な修復能力を有しており、腺組織の修復は、壊死巣周囲に残存している導管様構造より起こり、これらの増殖と分化によって再生されることが示唆された。

文 献

- 1) 石川悟朗：口腔病理学Ⅱ，第2版，pp.415-451. 永末書店，京都，1984.
- 2) Standish, S. and Shafer, W.G.: Serial histologic effects of rat submaxillary and sublingual salivary gland. Duct and blood vessel ligation. J. Dent. Res. **36**: 866-879, 1957.
- 3) 北島光彦：排出管結紮唾液腺の組織学的ならびに組織化学的研究. 歯科医学 **23**: 507-527, 1960.

3. 腺葉の形態回復時には、導管様構造を構成する細胞から、線条部導管細胞、介在部導管細胞、幼弱な腺房細胞、筋上皮細胞などの腺組織を構成する各種細胞への分化傾向が電顕的に認められた。

4. 腺房細胞は、導管様構造から分化して生じるものに加えて、分化途上の幼弱な腺房細胞自身の増殖によっても生じていることが示唆された。

本稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えて下さり、終始ご指導、ご校閲を賜りました北海道大学歯学部口腔病理学講座、雨宮 璋教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究の遂行にあたりご教示を頂きました向後隆男助教授に深謝いたします。さらに、終始ご援助、ご協力頂きました口腔病理学講座、ならびに YAG レーザーの使用にあたり、多大なるご便宜を頂きました歯科保存学第一講座の皆様から感謝の意を表します。

本研究の一部は、第31回歯科基礎医学会総会（1989年9月）、第32回歯科基礎医学会総会（1990年10月）、第45回日本口腔科学会総会（1991年5月）において発表した。また、要旨は平成3年度北海道歯学会秋季学術大会（1991年11月）において発表した。

- 4) Bhaskar, S.N., Bolden, T.E. and Weinmann, J.P.: Experimental obstructive adenitis in the mouse. J. Dent. Res. **35**: 852-862, 1956.
- 5) Bhaskar, S.N., Lilly, G.E. and Bhussary, B.: Regeneration of the salivary glands in the rabbit. J. Dent. Res. **45**: 1966.
- 6) 芝 良祐：ラット顎下腺および舌下腺における排出管結紮の影響について. 阪大歯誌 **12**: 23-33, 1967.
- 7) 海津俊樹：家兎耳下腺排泄管結紮に関する実験的研究. 口科誌 **19**: 20-38, 1970.
- 8) Tamarin, A.: Submaxillary gland recovery

- form obstruction. I. Overall changes and electron microscopic alteration of granular duct cells. *J. Ultrastruct. Res.* **34**: 276-287. 1971.
- 9) Tamarin, A.: Submaxillary gland recovery from obstruction. II. Electron microscopic alterations of acinar cells. *J. Ultrastruct. Res.* **34**: 288-302, 1971.
- 10) Shiba, R., Hamada, T. and Kawakatsu, K.: Histochemical and electron microscopical studies on the effect of duct ligation of rat salivary glands. *Arch. Oral. Biol.* **17**: 299-309, 1972.
- 11) 田村知治：排出管結紮顎下腺の変化に関する実験的研究。九州歯会誌 **27**: 45-64, 1973.
- 12) 佐藤隆吉：家兎耳下腺排泄管結紮に関する実験的研究—回復過程の電顕的検索—。日口外誌 **27**: 1721-1735, 1981.
- 13) 守谷友一：家兎耳下腺排泄管結紮に関する実験的研究—電子顕微鏡的観察—。日口外誌 **28**: 604-619, 1982.
- 14) 浅野賢一：唾液腺導管結紮に関する実験的研究—病理学的、組織化学的研究—。口科誌 **35**: 216-238, 1985.
- 15) 小園 知, 佐藤一芳, 近藤 功, 久田太郎：導管結紮後のラット顎下腺の再生について。歯基礎誌 **30**(補冊): 209, 1988.
- 16) 樽沼修二：ラット顎下腺排泄管の結紮に伴う腺体内血流の変化に関する研究。日口外誌 **35**: 858-869, 1989.
- 17) Milstein, B.B.: Regeneration in the submaxillary gland of the rat. *Br. J. Exp. Pathol.* **31**: 663-669, 1950.
- 18) Hanks, C.T. and Chaudhry, A.P.: Regeneration of rat submandibular gland following partial extirpation. A light and electron microscopic study. *Am. J. Anat.* **130**: 195-208, 1971.
- 19) Boshell, J.L. and Pennigton, C.: Histological observations on the effects of isoproterenol on regenerating submandibular glands of rat. *Cell Tissue Res.* **213**: 411-416, 1980.
- 20) 森村 葵：ラット顎下腺再生実験における免疫組織化学的研究。歯科学報 **88**: 511-528, 1988.
- 21) 山根 隆：ラット耳下腺部分切除後の再生に関する研究。歯科学報 **74**: 46-82, 1974.
- 22) 早雲祥介：凍結外科がラット顎下腺に及ぼす影響。日口外誌 **28**: 1987-1996, 1982.
- 23) 井上雅裕：凍結外科がラット顎下腺に及ぼす影響—電子顕微鏡的観察—。口科誌 **31**: 17-45, 1982.
- 24) 百瀬深志, 古本啓一：CO₂ レーザーによる部分切除後のラット顎下腺に関する基礎的研究。歯学 **74**: 299-317, 1986.
- 25) Pratt, N.E. and Sodocoff, M.: Ultrastructural injury following X-irradiation of rat parotid gland acinar cells. *Arch. Oral. Biol.* **17**: 1177-1186, 1972.
- 26) 三好慶信：X線照射したラット顎下腺の機能および形態の変化に関する実験的研究。歯科医学 **36**: 606-630, 1973.
- 27) Chomette, G., Auriol, M., Vaillant, J.M., Bertrand, J. Ch. and Chenal, Ch.: Effect of irradiation on the submandibular gland of the rat. An enzyme histochemical and ultrastructural study. *Virchows Arch. A.* **391**: 291-299, 1981.
- 28) Maiman, T.H.: Stimulated optical radiation in ruby. *Nature.* **187**: 493-494, 1960.
- 29) 清水良一, 白川正順：低出力レーザーの基礎と臨床—レーザー歯学へ向けて—, 歯科ブックレットシリーズ3第1版, pp.50-51. デンタルフォーラム社, 東京, 1985.
- 30) 村川 勝, 代居 敬, 那須優則, 古本啓一：Nd-YAG レーザー照射による舌の変化に関する実験的研究, 歯学 **74**: 843-857, 1986.
- 31) 古本啓一, 代居 敬：レーザーの歯科利用の現状①, *Dental Diamond.* **12**(5): 78-81, 1987.
- 32) 市川 厚：電子顕微鏡による細胞組織図譜Ⅱ. 第1版, pp.166-168. 医学書院, 東京, 1972.
- 33) 市川 厚, 市川 操：唾液腺細胞の微細構造と機能. 細胞, **4**: 11-18, 1972.
- 34) 長門俊一, 永木正実, 松本悟一, 森 恵造, 浜川裕之, 村上通隆, 谷岡博昭：ラット顎下腺の分化に関する形態学的研究—一生後発生の過程にみられた2, 3の知見について—。口科誌 **37**: 527-539, 1988.
- 35) Hatakeyama, S., Sashima, M. and Suzuki, A.: A sexual dimorphism of mucous cells in the submandibular salivary gland of rat. *Arch. Oral. Biol.* **32**: 689-693, 1987.
- 36) 長門俊一, 永木正実, 谷岡博昭：ラット顎下腺の終末部にみられた第3型の分泌細胞について。口科誌 **38**: 604-608, 1989.
- 37) 永木正実, 長門俊一, 谷岡博昭：ラット顎下腺終末部の組織構築—特に第3型分泌細胞の分布, 出現頻度について—。口科誌 **39**: 890-897, 1990.
- 38) 辻 孝憲：ラット顎下腺発生過程における筋上皮細胞の微細構造に関する研究。歯科学報 **84**: 1921-1949, 1984.
- 39) 西原和行：唾液腺の発生過程における Inter-cellular Junctions に関する研究。歯科学報 **78**: 59-91, 1978.
- 40) Sashima, M., Hatakeyama, S., Satoh, M. and Suzuki, A.: Age-related changes of the granular intercalated duct cells of male rat submandibular gland. *Arch. Oral. Biol.* **33**: 71-73, 1988.
- 41) Qvarnström, E.E. and Hand, A.R.: A granular cell at the acinar-intercalated duct junction of the rat submandibular gland. *Anat.*

- Rec. 206 : 181-187, 1983.
- 42) 古本啓一, 代居 敬 : レーザーの歯科利用の現状②. *Dental Diamond*. **12**(6) : 74-77, 1987.
 - 43) 川辺良一, 伊藤 健, 石井多加代, 藤田浄秀, 井上 達, 蟹沢成好 : Bromodeoxyuridine in vitro 標識法を用いた DNA 合成期細胞同定法のヒト口腔病変への応用. *口科誌* **37** : 609-617, 1988.
 - 44) Gratzner, H.G. : Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine. A new reagent for detection of DNA replication. *Science*. **218** : 474-575, 1982.
 - 45) 畠山節子, 佐藤方信, 佐島三重子, 鈴木鐘美 : 抗 BrdU を用いたラット唾液腺の細胞動態の検討. *歯基礎誌* **30**(補冊) : 211, 1988.
 - 46) 小宮隆瑞, 福島祥紘 : 筋上皮細胞を含めたラット顎下腺上皮の増殖活性. *歯基礎誌* **32**(補冊) : 148, 1990.
 - 47) 篠原正徳 : ラット唾液腺筋上皮細胞の発生, 分化, 発育に関する電子顕微鏡的検索. *口科誌* **30** : 34-82, 1981.
 - 48) 佐藤一芳 : ラット顎下腺終末部の発達と交感神経支配の関係について. *歯基礎誌* **24** : 496-515, 1978.
 - 49) Chang, W.W.L. : Cell population changes during acinus formation in the postnatal rat submandibular gland. *Anat. Rec.* **178** : 187-202, 1974.
 - 50) Alvares, E.P. and Sesso, A. : Cell proliferation, differentiation and transformation in the rat submandibular gland during early postnatal growth. *Arch. Histo. Jap.* **38** : 177-208, 1975.
 - 51) 高野一雄 : ラット顎下腺腺房細胞の電子顕微鏡的研究. *歯基礎誌* **18** : 99-112, 1976.
 - 52) Bogart, B.I. : The effect of aging on the rat submandibular gland: An ultrastructural, cytochemical and biochemical study. *J. Morphol.* **130** : 337-352, 1970.
 - 53) Jacoby, F. and Leeson, C.R. : The post-natal development of the rat submaxillary gland. *J. Anat.* **93** : 201-220, 1959.
 - 54) Leeson, C.R. and Jacoby, F. : An electron microscopic study of the rat submaxillary gland during its post-natal development and in the adult. *J. Anat.* **93** : 287-295, 1959.
 - 55) Kanda, T., Mayfield, E.D. and Ghidoni, J.J. : Ultrastructural alterations in submaxillary acinar cells following isoproterenol administration. A new form of secretion granule. *Exp. Molecul. Pathol.* **9** : 189-196, 1968.
 - 56) Radley, J.M. : Ultrastructural changes in the rat submandibular gland following isoprenaline. *Z. Zellforsch.* **97** : 196-211, 1969.
 - 57) Yamashina, S. and Barka, T. : Localization of peroxidase activity in developing submandibular gland of normal and isoproterenol-treated rats. *J. Histochem. Cytochem.* **20** : 855-872, 1972.
 - 58) Inoue, T., Shimono, M. and Yamamura, T. : Unusual lamellar inclusions in secretory granules of the submandibular gland induced by longterm repeated administration of isoproterenol. *J. Electron. Microsc.* **29** : 261-265, 1980.
 - 59) 井上 孝 : Isoproterenol 長期投与ラット顎下腺の微細構造に関する研究. *歯科学報* **82** : 1267-1298, 1982.
 - 60) 市川 厚, 市川 操 : 唾液腺の分泌機能に関する電子顕微鏡的研究. *電子顕微鏡* **13** : 106-114, 1978.
 - 61) Strum, J.M. : Unusual peroxidase-positive granules in the developing rat submaxillary gland. *J. Cell. Biol.* **51** : 575-579, 1971.
 - 62) Dvorak, M. : The secretory cells of the submaxillary gland in the perinatal period of development in the rat. *Z. Zellforsch.* **99** : 346-356, 1969.
 - 63) Kumegawa, M., Cattoni, M. and Rose, G.G. : An usual droplet in submandibular gland of new born mice. *J. Cell. Biol.* **33** : 720-723, 1967.
 - 64) Yohro, T. : Development of secretory units of mouse submandibular gland. *Z. Zellforsch.* **110** : 173-184, 1970.
 - 65) 森 恵造, 長門俊一, 谷岡博昭 : ラット顎下腺の生後発達, 分化に関する電顕的, 形態学的研究. *口科誌* **37** : 953-964, 1988.