

マウス嗅粘膜における出生前後の嗅腺の発達

—透過電顕による観察—

増田 勝巳

胎生後期から生後早期における嗅腺の発達を超微形態レベルで明らかにするため、胎生17日、生後0日および6日マウス嗅粘膜を、透過電子顕微鏡で観察した。嗅腺分泌細胞における分泌顆粒の形成は胎子には見られず、生後0日に形成され、生後6日までの生後早期において著しい。顆粒内容の電子密度が暗調から明調に変化するとともに、顆粒は大型化し、融合して腺腔に向けて開口分泌される。この嗅腺分泌活動の変化に対応して、導管構造にも生後早期に変化が著しい。導管内腔には微絨毛が密在し、生後0日では上皮は立方状で内腔はせまいが、生後6日で著しく拡張し、導管上皮細胞も扁平となる。嗅腺分泌活動は胎生期ではなく、出生直後から生後早期に急速に発達することが超微形態レベルで明らかになった。

(平成17年9月13日受理)

Development of the Olfactory Glands in Fetal and Neonatal Mice — An Electron Microscopic Observation.

Katsumi MASUDA

To clarify the development of the olfactory glands at the ultrastructural level, the olfactory mucosae of ICR-mice were examined at 17 days of gestation, at birth and at six days after birth by transmission electron microscopy. The formation of secretory granules in the secretory cells could not be identified until birth. At birth, a small number of secretory granules, appeared and then a marked increase in their number occurred between 0 and six days. Secretory cells at birth contained small granules of high electron density, but, at six days, their electron density had become low. Enlarged granules became fused with neighboring granules, and the contents of apically situated granules were extruded from the cells by exocytosis. The acinus lumen became enlarged at six days after birth. The ducts of the olfactory glands in fetuses had numerous microvilli, and the lumen was very narrow, although, it expanded markedly after birth. In addition, duct epithelial cells, cuboidal during the fetal period, became flattened in neonates. Ultrastructurally, the secretion activity of the olfactory glands showed a marked increase, especially during the neonatal period. (Accepted on September 13, 2005) *Kawasaki Igakkaishi* 31(3): 127-135, 2005

Key Words ① Olfactory gland ② Electron microscopic observation
③ Development ④ Mouse

はじめに

周知のように、ヒトを含む哺乳類の鼻腔は呼吸粘膜と嗅粘膜から構成され、嗅粘膜は特殊感覚の受容組織として、厚い嗅上皮と嗅粘膜固有層からなる^{1), 2)}。空気加湿・加温に関与する呼吸部粘膜の鼻腺とは異なり、嗅部固有層に存在する嗅腺は嗅覚の受容に関与するとされる^{1), 3), 4)}。マウスにおいて嗅粘膜上皮は、胎生の早期より形成が始まり、嗅小胞や嗅毛など特異な形態を有する組織構造は胎生後期までに急速に発達する^{5), 6)}。しかしながら、嗅粘膜固有層に存在する嗅腺は前報⁷⁾で明らかにしたように、胎子においては未発達の状態であり、出生後において急速にその数が増加するという特徴がある。今日まで、出生前後の嗅腺数の急激な増加に対応する腺構造の超微形態レベルの変化に関して、報告はない。今回我々は、出生前、出生直後ならびに新生子期のマウスを用い、嗅腺の変化を電子顕微鏡レベルで比較検討した。

材料と方法

動物は恒常条件下 ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) で飼育した ICR マウスで、胎生17日 (5例)、生後0日 (9例)、および生後6日 (8例) で、総計22例を使用した。固形飼料 (NMF, オリエンタル酵母社製) と自由飲水で飼育した成熟雌性マウスを一晚雄性マウスと交配し、腔栓を確認し翌朝を妊娠0日とした。所定の妊娠日数でエーテルにて深麻酔後開腹し、子宮より胎子を摘出、頭部を切断した。切断した頭部から鼻腔上部を含む部位を切り出し、カルノフスキー液 (4%パラフォルムアルデヒド・5%グルタルアルデヒド混合液, 0.1M カコジル酸ナトリウム緩衝液, pH 7.4) に投入して3時間、 4°C にて前固定した。次に1%四酸化オスミウムにて2時間、 4°C にて後固定を行い、アルコール系列にて脱水後、エボン812に包埋した。新生子マ

ウスはエーテルによる深麻酔後断頭し、同じ方法でエボンに包埋した。包埋後、 $1\mu\text{m}$ の準超薄切片を作成、toluidine blue 液で染色し、嗅粘膜の存在を光学顕微鏡下で確認した。ついで嗅粘膜部ならびに呼吸部粘膜の約90 nm厚の超薄切片をウルトラカット S (Leica, AG, Wein, Austria) を用いて作成し、フォルムバル膜でコートした単孔メッシュに載せ、酢酸ウランとクエン酸鉛による二重電子染色を行った後に、日立 H-7100型電子顕微鏡で加速電圧 75 kv にて観察した。

なお、本研究は川崎医科大学動物実験委員会承認 (NO.04-074, 2004) のもと、川崎医科大学動物実験指針に基づいて実施した。

結 果

鼻腔後上部に広く存在する嗅粘膜は、鼻腔と接する約 $80\mu\text{m}$ の厚い嗅上皮とその下部の粘膜固有層に大きく分けられ、嗅腺導管は嗅上皮内、分泌部は固有層内に分布する。嗅腺分泌部は単管状腺で、粘膜固有層内で血管や神経線維束間に観察できる。胎子の嗅腺は数が少なく、未発達であるが、生後6日では、嗅腺分泌部は固有層深部に向かって深く伸展し、隣接する神経線維束の間で迂曲する (Fig. 1a)。分泌細胞の多くは約 $10\mu\text{m}$ の長方形あるいは立方状を呈し、大型の核を有し、腺腔を取り囲む細胞質には分泌顆粒が観察できる (Fig. 1b)。一方、嗅粘膜以外の鼻腔粘膜の固有層には、胎生期より混合腺である鼻腺が多数観察される (Fig. 1c)。

分泌部は嗅上皮内の導管に連続する。嗅腺分泌細胞は胎生期と生後早期、特に出生を境にして、分泌顆粒の数が著しく増加し、分泌細胞超微形態にも著しい変化が認められる。

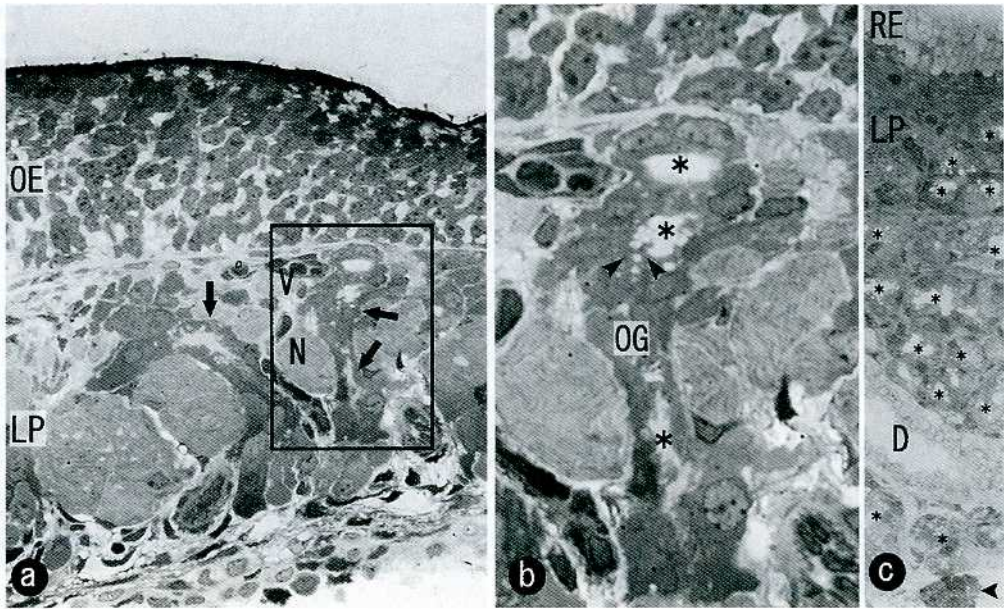


Fig. 1. マウス鼻腔粘膜の光顕写真。トルイジンブルー染色。

- a) 嗅上皮。上皮 (OE) 下の粘膜固有層 (LP) に伸展した嗅腺分泌部 (矢印) が血管 (V) や神経束 (N) の間に存在する。生後 6 日。280 倍。
- b) 嗅腺分泌部 (OG) の拡大写真 (a の□部)。拡張した管腔 (*) を取り囲んで、分泌顆粒 (矢頭) を含む嗅腺細胞が観察できる。生後 6 日。1300 倍。
- c) 呼吸粘膜。多列円柱上皮の呼吸上皮 (RE) 下の粘膜固有層 (LP) には鼻腺が発達する。D: 鼻腺導管。矢頭: 粘液腺。*: 漿液腺。生後 0 日。110 倍。

A. 嗅腺の超微形態観察

1. 分泌部

a) 胎生 17 日

嗅腺分泌部はほぼ楕円形を呈し、その中央には狭い腺腔が認められる。腺腔に面する腺細胞表面より長さ約 $1\mu\text{m}$ の微絨毛が認められ、腺腔内は微絨毛によってほぼ満たされている (Fig. 2a)。嗅腺細胞は約 $10\mu\text{m}$ 大の立方状を呈する。直径約 $7\mu\text{m}$ の大型の球形核には核膜に接し数個の核小体が観察できる。細胞質にはミトコンドリアや粗面小胞体が散在し、その間に自由リボソームが分布する。リボソームはポリソームを形成することが多い。分泌顆粒はほとんど観察されない。また、隣接する嗅腺分泌細胞間にはデスモソームなど細胞間連結装置が存在するが、主として腺腔近傍にのみ限局し、細胞基底側にはほとんど観察されない (Fig. 2b)。

b) 生後 0 日

腺分泌部の多くは胎生期同様に、楕円形の断面を呈するが、一部に固有層内を迂曲蛇行して伸展する分泌部も観察される (Fig. 3a)。分泌部の内腔は生後 0 日において著しく拡大し、腺腔内には、分泌細胞腺腔面から突出する長さ $1\mu\text{m}$ ほどの微絨毛が多数存在する。細胞質にはミトコンドリアに加えて、ゴルジ装置が胎生期に比べて発達するほか、リボソームがポリソームを形成し、あるいは粗面小胞体としても発達する。直径 $0.5\sim 1\mu\text{m}$ 大の球形あるいは楕円形の分泌顆粒が、腺腔近傍の細胞質に少数観察されるようになる。顆粒はその全体が均一に暗調を呈する。隣接する分泌細胞間には、連結装置が腺房近傍に限局し、多数存在する (Fig. 3b)。

c) 生後 6 日

固有層内の分泌部は、固有層深部に向かって

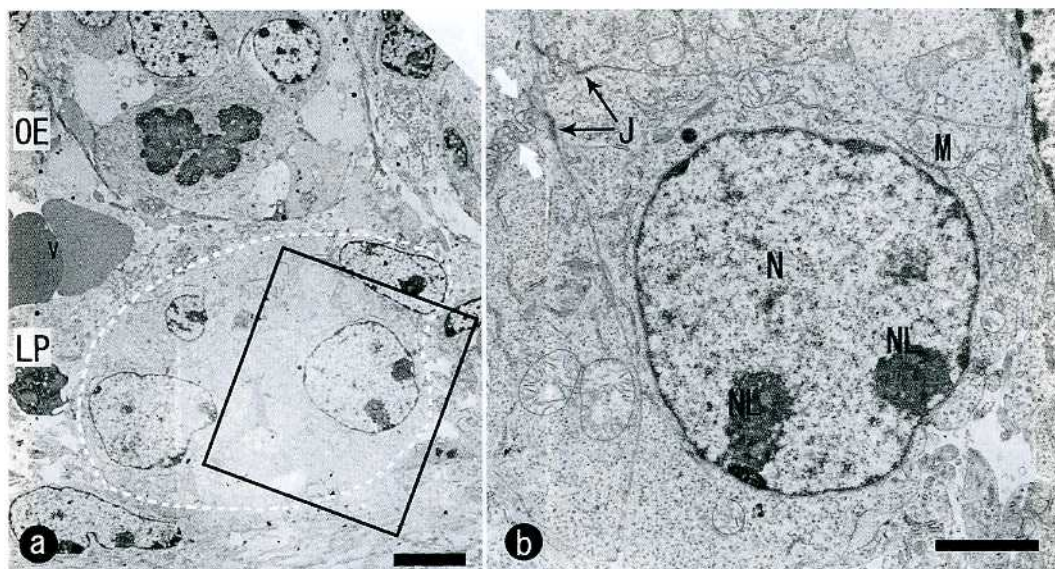


Fig. 2. 胎子の嗅腺の透過電顕写真. 胎生17日.

- a) 嗅腺分泌部. 嗅上皮 (OE) 下の固有層 (LP) に楕円形 (点線) を呈する嗅腺分泌部が観察される. V: 血管. Bar = 5 μ m.
- b) 嗅腺分泌細胞 (a の□部) の拡大写真. 核 (N) は明調で, よく発達した核小体 (NL) を含む, 分泌顆粒は細胞質内に殆ど観察されない. 腺腔 (白矢印) には多数の微絨毛が見られる. J: 細胞間連結装置. M: ミトコンドリア. Bar = 2 μ m.

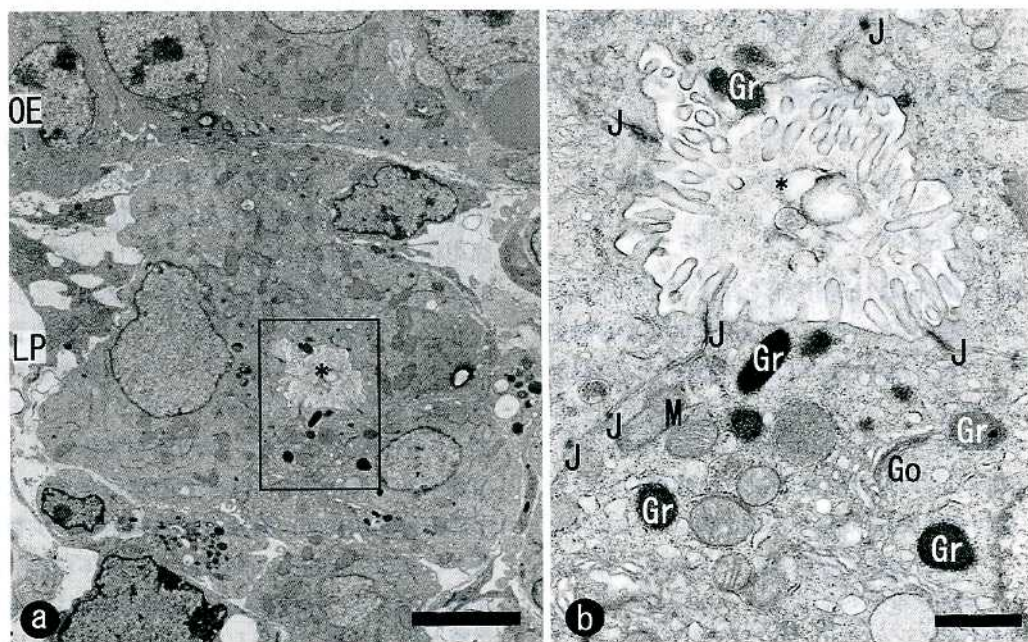


Fig. 3. 生後0日の嗅腺の透過電顕写真.

- a) 嗅腺分泌部. 嗅上皮 (OE) 下固有層 (LP) 内に腺腔 (*) のやや拡大した分泌部が見られる. Bar = 5 μ m.
- b) 腺腔近傍 (a の□部) の拡大写真. 細胞質内には暗調な分泌顆粒が観察される (Gr), ミトコンドリア (M) が増加し, ゴルジ装置 (Go) が発達する. 腺腔 (*) へと腺細胞の微絨毛が伸びる. J: 細胞間連結装置. Bar = 1 μ m.

迂曲伸展する。分泌部は固有層内の神経線維束間にあって、楕円状の分泌部は少数となり、不整形を呈するものが多数を占めるようになる。分泌部の迂曲伸展に伴って、内腔も著しく拡大する (Fig. 4a)。分泌顆粒は細胞内の腺腔側に観察されるが、その数は出生早期のものに比較して著しく増加し (Fig. 4b)、その内容は暗調ならびに明調とその電子密度には変化が見られる。なかには有芯状を呈する顆粒も存在する。直径は $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ で、多くは $0.6 \sim 0.8 \mu\text{m}$ 大である。これらの分泌顆粒は互いに融合・増大し、分泌部腺腔内に開口分泌される (Fig. 4c)。細胞質には分泌顆粒の他にリボゾームがポリゾームや粗面小胞体形成して発達し、ミトコンドリアも多数存在する。隣接する分泌細胞間

には胎生期、出生早期と同様に連結装置が主に腺腔近傍側に観察される。

腺分泌細胞の超微形態レベルの特徴の変化を Fig. 5 に模式的に示す。

2. 導管部

胎生17日、生後0日の嗅上皮では、固有層の分泌部から連続して上皮内に導管が観察される。導管上皮細胞は大型の楕円形の核を有し、上皮細胞は背の低い長方形を呈する (Fig. 6a)。細胞の導管管腔側には、分泌部細胞と同様に、長さ約 $1 \mu\text{m}$ の微絨毛が多数見られ、管腔内を満たしている (Fig. 6b, c)。細胞表面の微絨毛間には微飲小胞も認められる (Fig. 6c)

生後6日の導管管腔は出生早期の管腔に比べて著しく拡張する (Fig. 7a)。個々の導管上皮細胞は、出生早期の上皮細胞と同様に大型楕円状の核を有するが、細胞質は扁平化する (Fig. 7b)。また、管腔内に微絨毛を出す、その密度は出生後早期の細胞と比較して減少する。

B. 鼻腺分泌細胞の超微形態

生後0日の鼻腔壁における鼻腺では、粘液分泌細胞が漿液分泌細胞に比べてよく発達する。粘液分泌細胞では核が基底側に偏在し、粘液顆粒を大量に含有する。粘液顆粒は直径 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ で、 $1.4 \sim 1.6 \mu\text{m}$ 径が多く、嗅腺細胞の顆粒の2～2.5倍の大きさであった。顆粒内容は明調～暗調が混在し、中には有芯状を呈するものも出生直後の時点で観察される。

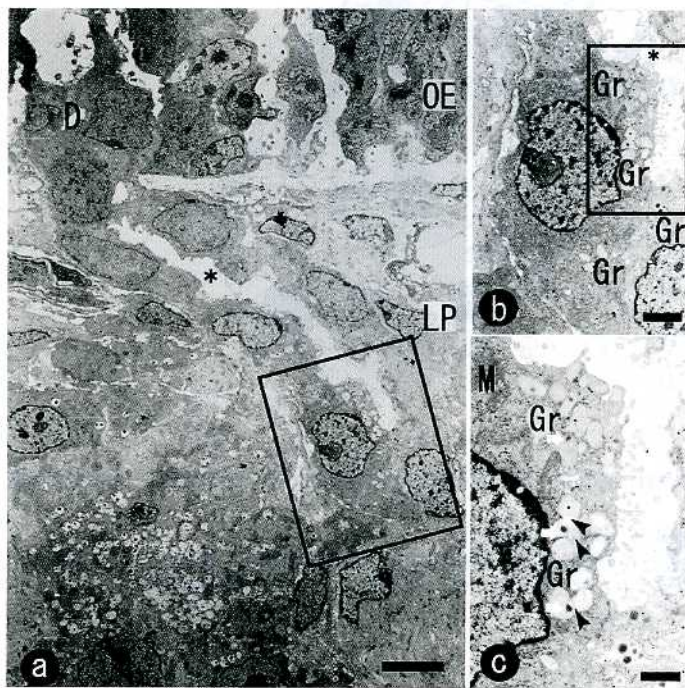


Fig. 4. 生後6日の嗅腺の透過電顕写真。

- 嗅腺分泌部。固有層 (LP) 内を迂曲伸展する。分泌部から連続して、導管 (D) が嗅上皮 (OE) 内を貫く。*: 腺腔。Bar = $5 \mu\text{m}$ 。
- 嗅腺分泌細胞 (a の□部) の拡大写真。腺腔 (*) 側の細胞頂部には多数の分泌顆粒 (Gr) や微絨毛が観察できる。腺腔は拡大する。Bar = $2 \mu\text{m}$ 。
- 分泌顆粒 (Gr) の拡大写真 (b の□部)。隣接顆粒が融合し (矢頭)、その内容は明調となり、一部に有芯状顆粒も観察される。M: ミトコンドリア。Bar = $1 \mu\text{m}$ 。

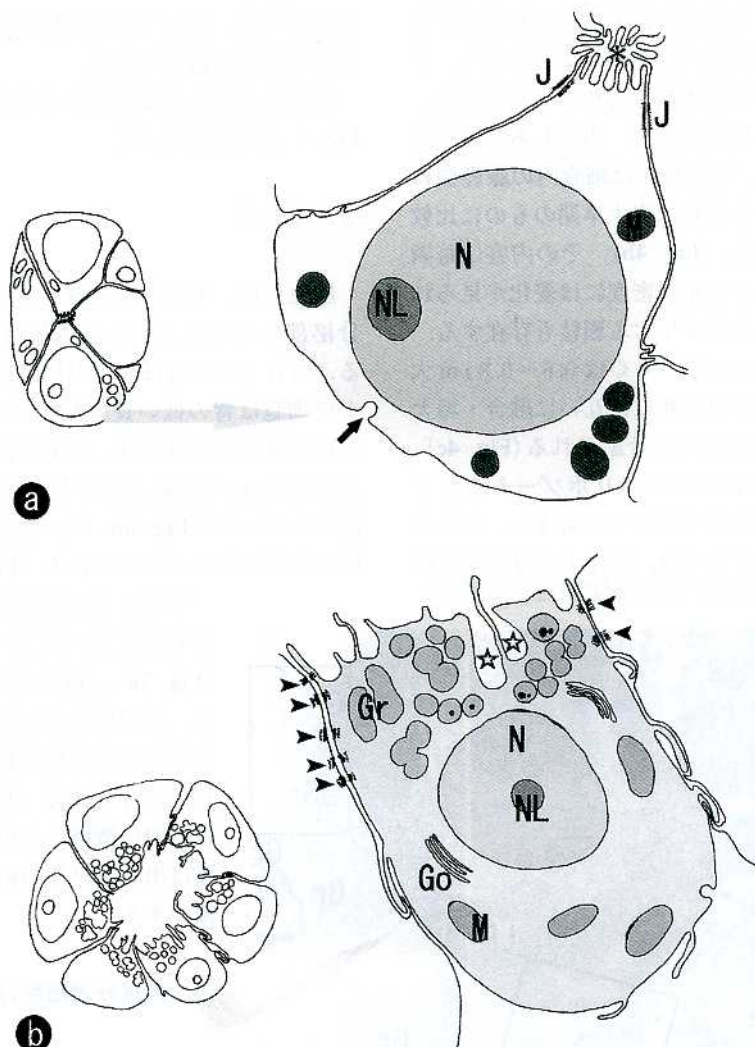


Fig. 5. 嗅腺細胞の超微形態模式図

a) 胎生期の嗅腺細胞。ミトコンドリア (M) を含み、分泌顆粒は殆ど観察されない。腺腔 (*) に微絨毛を出す。

J: 細胞間連結装置。N: 核。NL: 核小体。矢印: 微飲作用。

b) 新生子期の嗅腺細胞。出生後には腺腔近傍の細胞質に分泌顆粒 (Gr) が多数出現し、腺腔へと開口分泌 (☆) される。Go: ゴルジ装置。M: ミトコンドリア。N: 核。NL: 核小体。矢頭: 細胞間連結装置。

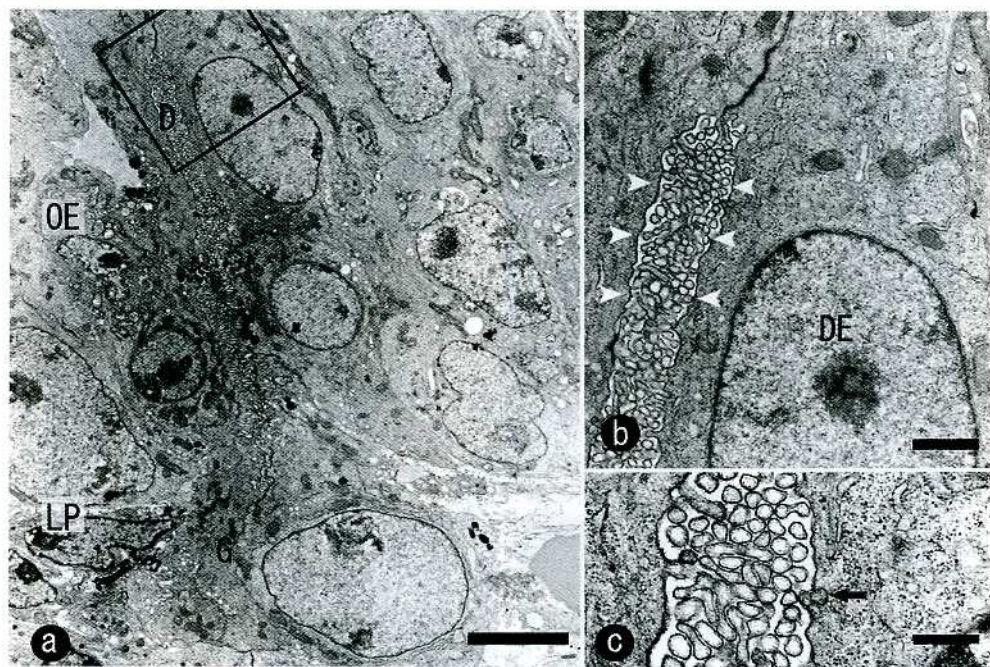


Fig. 6. 出生直後の嗅腺導管の透過電顕写真，生後0日。

- a) 嗅上皮の低倍写真。上皮内には固有層 (LP) の嗅腺 (G) から連続する導管 (D) の断面が観察される。Bar = 5 μ m.
- b) 導管上皮 (DE) の拡大写真 (a の□部)。上皮表面から管腔 (矢頭) へ微絨毛が伸び、上皮の核は楕円形を呈する。Bar = 1 μ m.
- c) 管腔内の微絨毛。管腔は狭く、導管上皮細胞の微絨毛で満たされる。微飲小胞 (矢印) も見られる。Bar = 0.5 μ m.

考 察

結果に示したように、嗅腺においてマウスの胎子と新生子とでは、出生を挟んで、腺房を構成する分泌細胞ならびにその導管と上皮細胞に、超微形態レベルで著しい変化を確認する事ができた。嗅腺の分泌細胞における著明な変化は、細胞質内の分泌顆粒数と顆粒内容にみることができる。分泌顆粒の形成は胎子では不明瞭であるが、生後0日の嗅腺細胞ですでに観察できる。しかし、その数は胎生期から出生までの期間と生後0日と6日の期間で比較すると、生後早期で極めて著しい。細胞に含まれる顆粒数のみならず、顆粒内容においても、生後0日と生後6日の間の変化が著明である。すなわち、顆粒内容は暗調から明調へと電子密度が急速に変化すると同時に、隣接する顆粒が癒合したり、

腺腔の近傍において顆粒の開口像も明瞭となる。このような腺細胞の分泌活動の活発化に呼応して、鼻腔内腔へと連続する導管にも変化を生じる。すなわち胎生期や生後0日ではごく狭い内腔しか持たない導管が、生後6日ではその内腔が著しく拡張を示し、導管上皮細胞も立方状から一気に扁平化する。これらの所見は嗅腺の分泌物が腺腔内に貯留するのみならず、導管へ流出を始める形態学的な証左である。

前報⁷⁾で報告したように、胎生期から生後早期にかけて嗅腺分泌細胞数の著しい増加を光学顕微鏡レベルで観察できる。その変化は胎生19日と生後0日との間で著しく、この知見から、我々は呼吸の開始が嗅腺分泌細胞数の増加に密接に関連している可能性を考えた。今回の観察で、出生直後の腺細胞が分泌顆粒の産生を開始する事が明らかになったが、分泌顆粒の数や顆粒の性状の変化は出生直後に急速に起こるので

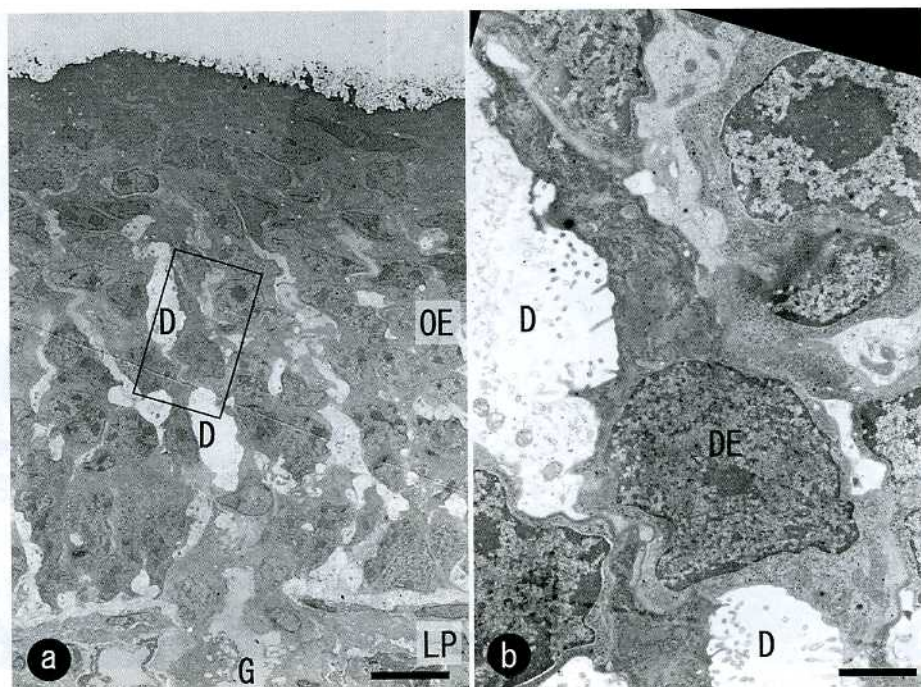


Fig. 7. 生後6日の嗅腺導管の透過電顕写真.

- a) 嗅粘膜の低倍写真. 固有層 (LP) 内の嗅腺 (G) から連続して, 拡張した管腔を有する導管 (D) が嗅上皮 (OE) 内に観察される. Bar = 10 μ m.
 b) 導管上皮細胞 (aの□部) の拡大. 上皮細胞 (DE) は大型核を有し, 細胞は生後0日に比べると著しく扁平となる. D: 管腔. Bar = 2 μ m.

はなく, それよりやや遅れて生後早期に分泌細胞内に顆粒が増加し, 同時に顆粒の性状も変化することが明らかになった. すなわち, 前報⁷⁾で示した細胞数の変化と今回の分泌顆粒の変化の間には, 時間的な差違が認められる. これが何に起因するかは今後の検討課題であるが, 嗅腺の分泌活動の開始は, 前報⁷⁾で推察した出生直後よりも時間的にやや遅れる可能性が考えられる. 成績に述べたように, 鼻腔呼吸粘膜の鼻腺において, とくに粘液腺は出生直後でさえも多数の粘液顆粒を含み, 出生直後から活発な分泌活動が認められる. 従って, 鼻腔内の二つの異なる腺, すなわち嗅腺と鼻腺では, その発達に影響する因子は今回の観察からも全く異なると考えられる.

嗅腺分泌細胞や導管上皮細胞の管腔側には多数の微絨毛が存在することはすでに知られている^{8)~10)}. 今回の観察でも, 微絨毛が分泌顆粒

の形成前より認められることが明らかになった. 嗅腺分泌細胞や導管上皮細胞に関連する免疫組織学的に検討した報告^{11)~14)}は, 嗅腺分泌細胞や導管上皮細胞にはイオンポンプやイオン交換輸送体が存在し^{11), 12)}, 嗅腺分泌細胞や導管上皮細胞は分泌液の産生だけではなく, 分泌液中の電解質の維持・調節にも関与すると考えられている¹²⁾. 微絨毛は小腸上皮や腎尿細管上皮によく発達し, 一般に吸収に関連する微小構造である¹⁵⁾. 嗅腺の分泌部や導管部に微絨毛が多く見られることは, これらの部位で再吸収がさかんに行われている可能性を示唆し, 電解質の維持と関連して, 腺細胞や導管表面の微絨毛の機能的な意義を検討する必要がある.

謝 辞

稿を終えるにあたり, 終始懇切な御指導を頂いた

佐々木和信教授に深甚なる謝意を表すとともに、実験に御協力を頂いた岩月宏彦助教授、園田祐二講師、須田満寿美、板野ちか子研究補助員をはじめとする解剖学教室員、また電顕観察に多大なる技術助力を惜しまれなかった上平賢三副センター長、須田泰司主任をは

じめとする組織・電子顕微鏡センター員に深謝する。

本論文の要旨は第110回日本解剖学会総会（2005）および第106回日本耳鼻咽喉科学会総会（2005）にて発表した。

参 考 文 献

- 1) Sorokin SP: Histology. Cell and Tissue Biology. 5th ed, New York, Elsevier Science Publishing Co. 1983, pp 788-796
- 2) Tomoyuki Nomura, Sugata Takahashi, Tatsuo Ushiki: Cytoarchitecture of the normal rat olfactory epithelium: Light and scanning electron microscopic studies. Arch Histol Cytol 67: 159-170, 2004
- 3) Cormack DH: Ham's Histology. 9th ed, Philadelphia, J. B. Lippincott Company. 1987, pp 541-546
- 4) Fawcett DW: A Textbook of Histology. 12th ed, New York, Chapman & Hall. 1994, pp 704-707
- 5) 森 幸威: マウス嗅粘膜発生と嗅上皮における細胞死の組織学的観察, 川崎医学会誌 25: 211-221, 1999
- 6) 森 幸威: マウス胎子における嗅上皮の発達-走査電顕による観察, 川崎医学会誌 26: 211-221, 2000
- 7) 増田勝巳: マウス嗅粘膜における嗅腺の発達-計量組織学的観察-, 川崎医学会誌 30: 11-19, 2004
- 8) Cuschieri A, Bannister LH: The development of the olfactory mucosa in the mouse: light microscopy. J Anat 119: 277-286, 1975
- 9) Cuschieri A, Bannister LH: The development of the olfactory mucosa in the mouse: electron microscopy. J Anat 119: 471-498, 1975
- 10) Getchell ML, Getchell TV: Fine structural Aspects of Secretion and Extrinsic Innervation in the Olfactory Mucosa. Microsc Res Tech 23: 111-127, 1992
- 11) Fong KJ, Kern RC, Foster JD, et al.: Olfactory secretion and sodium, potassium-adenosine triphosphatase: regulation by corticosteroids. Laryngoscope 109: 383-388, 1999
- 12) 寺西重和: ラット嗅覚障害モデルでの嗅上皮における Na^+ , K^+ -ATPase, Na^+ - H^+ exchanger, グルココルチコイドレセプターの発現に関する研究. 十全医学会誌 109: 330-342, 2000
- 13) Suzuki Y, Takeda M: Expression of insulin-like growth Factor family in the rat olfactory epithelium. Anat Embryol 205: 401-405, 2002
- 14) Levasseur G, Baly C, Grebert D, et al.: Anatomical and functional evidence for a role of arginine-vasopressin (AVP) in the rat olfactory cells. Eur J Neurosci 20: 658-670, 2004
- 15) Krstic RV: Illustrated Encyclopedia of Human Histology. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag. 1984, pp 263-264