

## 5. コリン作動性刺激によるラット耳下腺腺房・細胞骨格の変化

佐々木泰裕, 奥村一彦, 金澤正昭  
(口腔外科 I)

今回私たちは、コリン作動性刺激による耳下腺腺房細胞の形態的变化と細胞骨格の動態について検討した。

**材料と方法** 酵素処理より得られたラット耳下腺腺房に、100 $\mu$ M 濃度の carbachol を作用させて経時的に観察した。

試料は、0.2%のタンニン酸を添加した、2%GA Na-cacodylate buffer (pH7.4)により固定し、光顕および電顕的に観察した。なお特に微細線維の観察には、rhodamin-phalloidin 蛍光染色, heavy meromyosin 修飾法を応用し、また微細管の観察には、anti- $\beta$ -tubulin による蛍光抗体法および細胞を Saponin 処理後、2%タンニン酸を添加した 2%GA Na-cacodylate buffer (pH6.9)固定法を応用した。

**結果** 無刺激状態の腺房では、腺腔は針の穴ほどの狭小な空間を示し、腺房細胞の核は基底側に圧平されていた。

また腺腔側の細胞質内には電子密度の高い分泌顆粒が多数観察された。微細線維をみると腺腔膜直下に多く存在していた。なお、微細管は腺腔側細胞質内に、腺腔側にむかって放射状に配列していた。carbachol 刺激 1 分後では、腺腔面の開口分泌像が観察された。すなわち、分泌顆粒は腺腔膜と癒合した後、内容物が腺腔中へ排出されるが、この際、残存した分泌顆粒膜直下には微細線維の集積を認めた。同時に微細管は、蛍光抗体法で染色性に減弱がみられ、電顕観察で、微細管の断裂が認められた。しかし、刺激後 3 分以降の時点では、微細管は、長い中空構造を示し、静止時の状態に回復していた。

**結論** 以上の結果から、コリン作動性刺激による、開口分泌に際しては、微細線維が腺腔膜の動きを制御し、微細管は分泌顆粒を腺腔にむけて放出するように、方向性を規定していることが推測された。

## 6. マウス口腔粘膜上皮の細胞骨格について

三浦成実, 武田正子  
(口腔解剖 II)

上皮細胞には、分子量40-70KD の約20種類のサブタイプを持つケラチン蛋白から成る直径10nm のフィラメントが分布して、細胞骨格を形成する。今回は、大部分が角化しているマウス口腔粘膜上皮の各部位におけるケラチンフィラメントの集合・分布の状態を透過電顕により観察し、前回のケラチンに対するモノクローナル抗体 (PKK1抗体・PKK2抗体・KL1抗体) を用いた免疫組織化学による反応結果と比較、検討した。PKK1抗体で陰性、PKK2抗体で陽性となった全ての上皮の基底層は、電子密度の高いフィラメントの束が細胞長軸方向に走っていた。PKK1抗体 (40, 45, 52.5KD ケラチンに反応) で陽性となった軟口蓋・糸状乳頭間上皮などの角化の弱い上皮群の中間層では、フィラメントの束がほどけて緩い束となり、表層に近づくにつれ、短く、細い束が細胞全体を網目状に錯綜していた。PKK2抗体 (40, 46, 48, 54

KD ケラチンに反応) で陽性を示した軟口蓋などの角化の強い上皮群の中間層は、基底層より更に電子密度の高い、フィラメントの稠密な太い束が発達した接着斑に付着しており、PKK2抗体で陽性となった角化していない付着上皮も同様のフィラメント像を示した。角化の強い上皮群の浅部中間層では、高電子密度の均質な物質でフィラメント間が充たされた束が多数分布していた。糸状乳頭上皮は、PKK2抗体・KL1抗体 (56KD ケラチンに反応) により、乳頭を構成する各部位で反応が異なっていた。いずれの抗体にも陰性となった乳頭後面部の浅部中間層には高電子密度の均質な物質の中にフィラメントの束が多数埋め込まれて、柱状をなして細胞長軸に平行に走る像が見られた。以上より、ケラチンフィラメントの集合・分布の状態は、フィラメントを構成するケラチン蛋白の違いを反映していると考えられる。