

マウス嗅粘膜における嗅腺の発達 —計量組織学的観察—

増田 勝巳

胎生14日から生後60日までのICRマウスの嗅粘膜で、特に嗅腺に注目し、胎子ならびに新生子における嗅腺の発達を計量組織学的に観察した。胎生14日の鼻腔においては、嗅粘膜と呼吸粘膜の区別は可能だが、嗅腺を観察することはできない。胎生17日では鼻腔下部の呼吸粘膜には良く発達した鼻腺が観察できる。しかし嗅粘膜に嗅腺はごくわずかししか観察されず、その形態は少数の短く管状を呈する腺構造として固有層内に認められる。嗅腺は出生後急速にその数が増加するとともに、分泌部が固有層内で長く伸展する。分泌部は基本的に管状構造を呈するが、生後日数とともに長くなり固有層内の血管や神経線維束に圧迫されるようになる。計量組織学的に観察すると嗅腺細胞数は胎生19日と生後0日の間で急速に増加する ($P < 0.01$)。嗅腺は胎生17日では天蓋・鼻中隔域および甲介域にのみ出現し、外側域には見られない。生後においても外側域に少なく、その分布に明らかな部位差が認められ ($P < 0.01$)、その発達には呼吸の開始が密接に関連する可能性がある。

(平成16年5月25日受理)

Development of the Olfactory Glands in Fetal and Early Postnatal Mice —A Histometrical Study—

Katsumi MASUDA

The olfactory glands of ICR-mice from 14 days of gestation to 60 days of age were histometrically examined. At 14 days of gestation, the nasal cavity could be divided into two regions; the olfactory and respiratory regions, but no olfactory glands could be observed. At 17 days of gestation, the respiratory mucosa contained numerous nasal glands, but very few olfactory glands could be seen in the olfactory mucosa, and the secretory portion in the olfactory lamina propria was very short. Between 19 days of gestation and the 0 day after birth, the olfactory glands significantly increased in number, and the secretory portions were seen to be markedly extending and were being twisted in the lamina propria. The secretory cells became characterized by an elliptic nucleus and abundant cytoplasm. At 17 days of gestation, the secretory cells could be observed in both the roof and septum areas and the turbinate area, but the lateral area did not yet contain any olfactory glands. At three days after birth, a few glands appeared in the lateral area. In conclusion, there are regional differences not only in the development but also in the distribution of the olfactory glands, and the onset of respiration is thought to play an essential role in olfactory gland development. (Accepted on May 25, 2004) *Kawasaki Igakkaishi* 30(1):11-19, 2004

Key Words ① Olfactory gland ② Olfactory epithelium

川崎医科大学 解剖学
〒701-0192 倉敷市松島577

e-mail address: kmasuda@med.kawasaki-m.ac.jp

Department of Anatomy, Kawasaki Medical School:
577 Matsushima, Kurashiki, Okayama, 701-0192 Japan

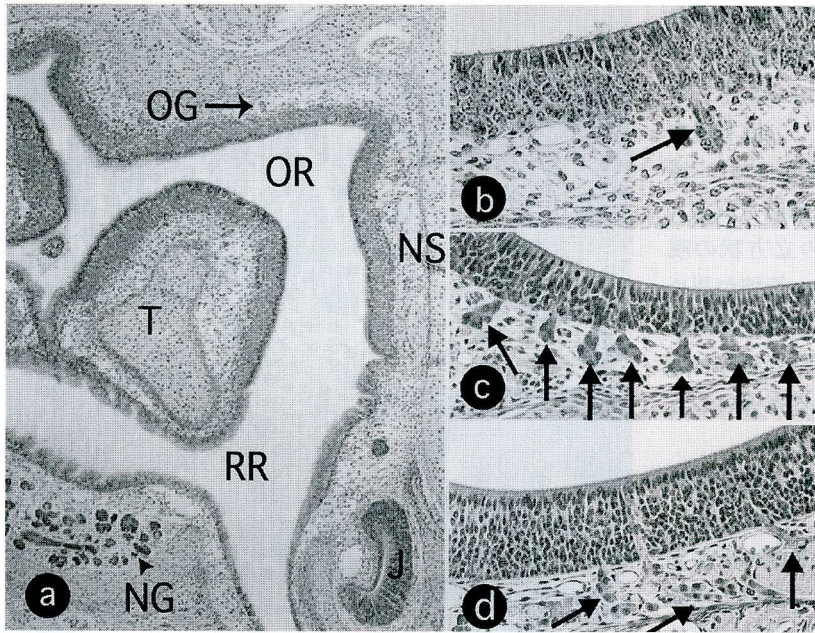


Fig. 2. Olfactory glands of fetuses and neonates. H-E staining.

- a) A low power micrograph of a frontal section of the nasal cavity of a 17-day-embryo
The nasal cavity consists of an olfactory region (OR) and a respiratory region (RR), and few glands can be observed in the olfactory mucosa, whereas the respiratory mucosa has numerous nasal glands.
OG : olfactory gland, T : turbinate, NS : nasal septum, J : Jacobson's gland ×50
- b) Olfactory mucosa of a 17-day-embryo
A few olfactory glands (arrows) are observed. ×210
- c) Olfactory mucosa of a 0-day-neonate
The lamina propria contains more olfactory glands (arrows) than the fetal olfactory mucosa b). ×180
- d) Olfactory mucosa of a six-day-neonate
Secretory portions of olfactory glands (arrows) become longer and twisted in the lamina propria. ×140

た。前頭断切片は外鼻孔近傍より鼻腔深部まで連続して作成した。嗅球前縁レベルの標本を選択して顕微鏡写真撮影し、写真をプラスチック透明シートに約60倍に拡大投影して鼻腔の内部輪郭をトレースした。嗅腺分泌部と鼻腺分泌部を顕微鏡下にて観察し、夫々の腺の部位を鼻腔の拡大図に重ねて描き、嗅腺と鼻腺の分布を比較した。

嗅腺分泌細胞の計量的観察

胎生17および19日の胎子と、生後0, 3, および6日の新生子マウスについて、各齢期5例を用いて嗅粘膜固有層内の単位面積あたりの嗅

腺分泌細胞を求めた。嗅球前縁の前頭断切片で右側鼻腔を観察し、計量は3カ所すなわち1) 天蓋・鼻中隔域, 2) 総鼻道に面した甲介域および3) 鼻腔外側域で行った。夫々の領域全体を対物レンズ40倍で観察し、固有層内に含まれる有核の嗅腺細胞数を計測した。観察した領域の面積を顕微鏡撮影した写真より算出、これから10000 μm^2 あたりの細胞数を求めた。各齢期でそれぞれの領域について5例の平均値と標準偏差をもとめ、Studentのt検定にて有意差を検討した。

本研究は、川崎医科大学動物実験委員会承認のもと (NO.02-002, 2002)、川崎医科大学動物実験指針に基づいて実施された。

結 果

1. マウス鼻腔における嗅腺と鼻腺

マウス鼻腔粘膜は、上部の厚い嗅上皮を有する嗅粘膜と、下部の多列線毛上皮が特徴の呼吸粘膜とに大別される。Figure 1に生後12日の嗅粘膜と呼吸粘膜とを比較した。

嗅粘膜は嗅細胞、支持細胞および基底細胞から構成される厚さ70から80 μm の嗅上皮と粘膜固有層から構成される。固有層は上皮と骨壁または軟骨壁との間の部分で狭く、ここには嗅

腺分泌部の他に神経線維束や血管が豊富に存在する。嗅腺は単管状腺で嗅上皮表面に開口する直径 $10\ \mu\text{m}$ 以下の細い導管が嗅上皮を貫通し、固有層内の分泌部とつながる (Fig. 1-a)。導管は単層の扁平細胞から構成される。分泌部は $10 \times 10\ \mu\text{m}$ 大の立方状の嗅腺細胞から構成され、狭い管腔が認められる。嗅腺細胞は固有層内で神経線維束などに圧迫され不正な形態をとることもあり、管腔を確認できないことも少なくない。

呼吸粘膜は多列線毛円柱上皮の呼吸上皮と固有層からなり (Fig. 1-b)、固有層には複合腺である鼻腺の分泌部が多数存在する。鼻腺分泌部は、呼吸粘膜の固有層のみならず一部は、嗅粘膜との境界を超えて嗅粘膜固有層内に存在することがあるが、嗅腺分泌部が呼吸粘膜固有層内に観察されることはない。鼻腔内に存在するこれら2種類の腺は胎子から新生子にかけて発達するが、鼻腺が出生以前より鼻腔内に多数形成されるのに対し、嗅腺は胎子では少なく、その発達過程には明瞭な差違が認められる。

2. 嗅腺の発達

胎生14日から生後6日で、胎生期から新生子期の嗅粘膜における嗅腺の発達を観察した。

a) 胎生期

胎生14日の鼻腔で上部の嗅上皮と下部の呼吸上皮は上皮の厚さの差違から明瞭に区別することができる。しかし上皮下の間葉組織中に分泌腺細胞は嗅部、呼吸部ともに認められない。

胎生17日の嗅粘膜では天蓋域、鼻中隔域および甲介域の固有層に嗅腺細胞がわずかに観察されるようになる (Fig. 2-a, b)。この時期の嗅腺細胞は鼻腔内に開口する導管に続き、分泌部は固有層内で短く管状を呈するものが多く、分泌部は長さ40から $50\ \mu\text{m}$ である (Fig. 3-a)。

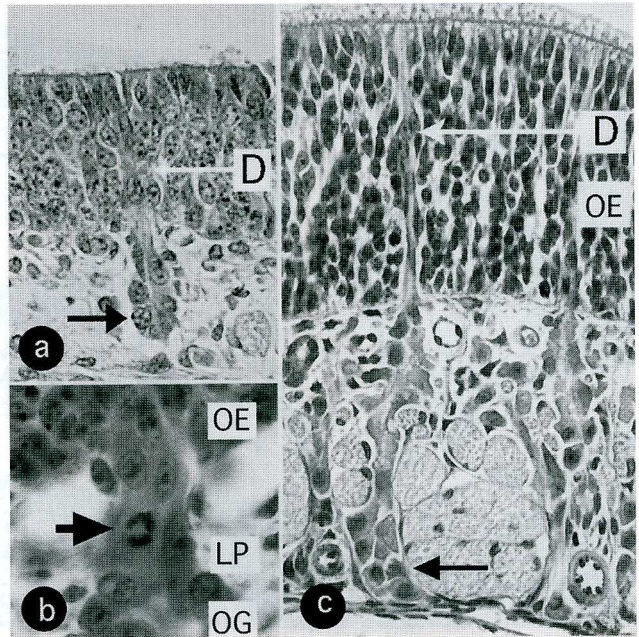


Fig. 3. Development of the olfactory gland. H-E staining.

a) Immature gland. 17-day-embryo

The epithelium contains a duct of the olfactory gland (D). The secretory portion of the olfactory gland (arrow) in the lamina propria is short. $\times 400$

b) Gland neck region. 18-day-embryo

Mitotic cells (arrow) are frequently seen at the border between the epithelium (OE) and lamina propria (LP). OG : secretory portion of the olfactory gland. $\times 680$

c) Mature olfactory gland. 12-day-neonate

Olfactory glands extend their secretory portions in the lamina propria (arrow).

D : duct of the olfactory gland, OE : olfactory epithelium. $\times 370$

分泌部が間葉組織でなく嗅上皮に存在するものもある。導管部から分泌部への移行部の腺頸部に細胞分裂像が認められる (Fig. 3-b)。嗅腺は天蓋域や鼻中隔域に見られるが、鼻腔の外側域では極めて少ない (Fig. 4-a)。一方、鼻腺は複合管状腺として分泌部は良く発達して、呼吸粘膜固有層に多数認められる (Fig. 4-a)。出生直前の胎生18, 19日で嗅腺分泌部の数は天蓋・鼻中隔域と甲介域でわずかに増加するが、鼻腔外側域には胎生17日と同様に極めて少ない。

b) 新生子期

嗅腺の数は出生を境として以後急速に増加する (Fig. 2-c)。天蓋・鼻中隔域と甲介域で急速に分泌部の数が増加するのに加え、胎生期で

は嗅腺が極めて少ない鼻腔外側域にも生後3から6日で多数観察されるようになる (Fig. 4-b, c, d). 生後6日では嗅腺分泌部が拡大するようになる。嗅粘膜の固有層内には神経線維束や血管の断面が多数観察されるようになり、嗅腺終末部は血管や神経に圧迫され変形する場合も多く、腺細胞の形態も不整形をとることが少なくない (Fig. 2-d). 分泌部では長さ100 μm を超える場合もあり、固有層の最深处で骨膜と隣接するようになる (Fig. 3-c).

嗅腺の発生を模式図として Figure 5-a に示す。嗅腺ははじめ嗅上皮内の導管とそれに連続する短い分泌部から構成される (stage I). 導管の上皮は Figure 5-b に示すように扁平上皮であるが、固有層内の分泌細胞は球形核を有し、細胞は楕円状ないし方形を呈する (Fig. 5-c). 導管と分泌部との連結部である腺頸部に細胞分裂が多く見られ、分泌部が固有層内に次第に伸展する (stage II). Stage I, II の嗅腺は胎生期から生後0日で多く観察される。Stage III では分裂期の細胞を含む腺頸部と拡張した腺腔を含む分泌部が明瞭に区別できるようになる。ついで stage IV では分泌部は粘膜固有層の最深处

にまで伸展し、固有層内の脈管・神経によって圧迫され、分泌細胞は不整形を呈することが多い (Fig. 5-d). Stage IV は生後6日以降の嗅上皮固有層に多く、腺頸部での細胞分裂像は減少する。

3. 嗅腺細胞の計量的観察

嗅腺の発達は、嗅粘膜の部位によって差違が認められる。部位差を明らかにするために、嗅粘膜を三区域すなわち1) 天蓋・鼻中隔域、2) 甲介域および外側域に分け、夫々の区域で胎生期から新生子期の単位面積あたりの嗅腺細胞数を求めた。

嗅腺は胎生14日では上記三区域いずれにも出現しない。天蓋・鼻中隔域では胎生17日で単位面積あたり 4.19 ± 3.02 個が出現し、胎生19日では 6.85 ± 1.58 個とわずかに増加する。出生後0日で 13.57 ± 3.03 個と胎生19日と生後0日の間で約2倍に増加する。その後も急速に増え、生後6日で 20.25 ± 3.07 個と胎生19日に比べ約3倍の高値をとる (Fig. 6-a). 甲介域でも同様に胎生17日で 4.89 ± 2.92 個、胎生19日で 6.77 ± 2.04 個とわずかに増加し、生後3日で $12.61 \pm$

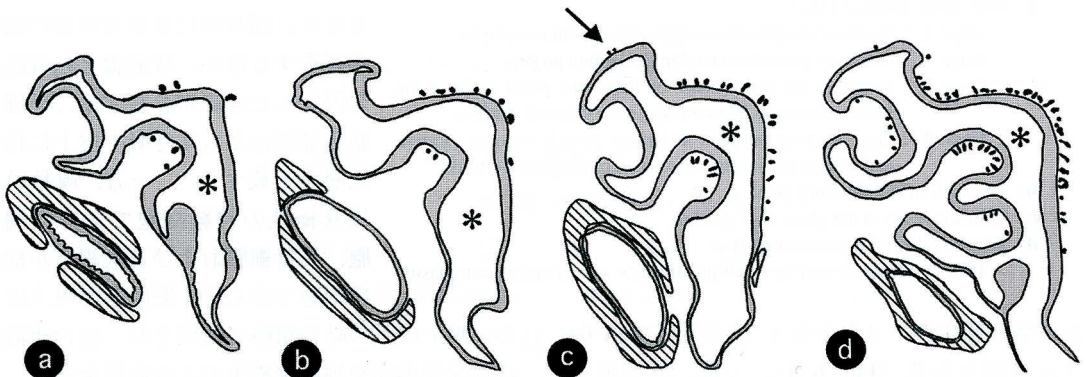


Fig. 4. Distribution of olfactory glands (●) and the nasal glands (shaded area) in the right nasal cavity (*).

a) 17-day-embryo

A few olfactory glands appear not only in the olfactory mucosa of the roof but also in the septum. The respiratory mucosa already contains numerous nasal glands.

b) 0-day-neonate

The olfactory glands show an increase in number in the roof and septum areas.

c) Three-day-neonate

After birth, in addition to the roof and septum areas, a few olfactory glands appear in the lateral area (arrow).

d) Six-day-neonate

All regions of the olfactory mucosa contain olfactory glands.

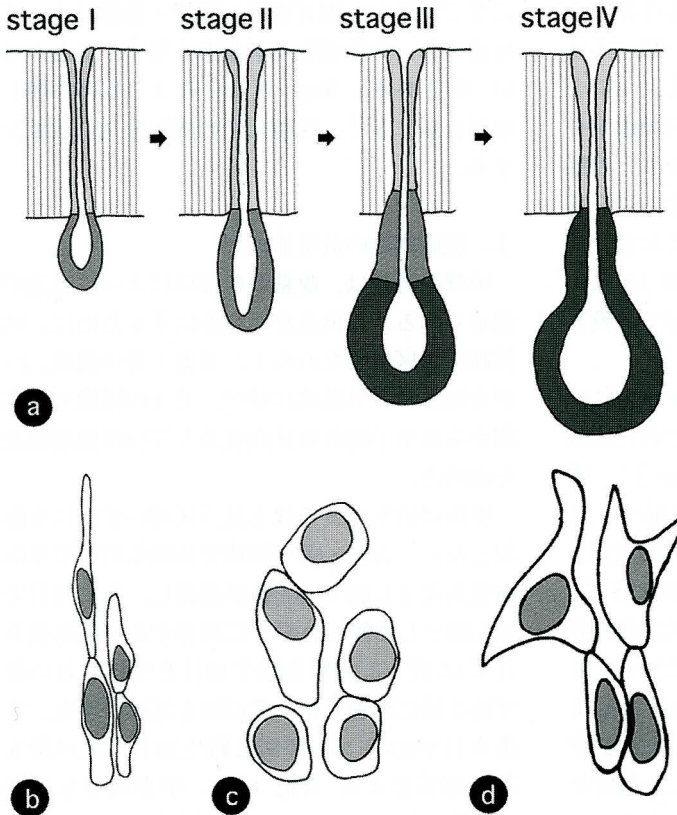


Fig. 5. Schematic diagrams showing development of the olfactory gland. Olfactory gland development in fetal and neonatal life could be divided into the following four stages.

a) Four developmental stages

- Stage I : Short secretory portions appear in the lamina propria.
- Stage II : Secretory portions extend in the lamina propria.
- Stage III : Secretory portion consist of immature gland cells in the neck portion and mature cells in the terminal portion.
- Stage IV : The secretory portions in lamina propria become twisted, and mature cells exhibit stretched or irregular portions.

b) Duct cell of the olfactory gland

c) Immature cells in the gland neck portion

d) Mature cells in the terminal portion

They are characterized by an elliptic nucleus with abundant cytoplasm.

2.77個と胎生期の2倍となり、生後6日で 16.64 ± 3.41 個となる (Fig. 6-b). 一方、外側域では胎生17日から生後0日まで極めて少ない。生後3日では単位面積あたり 2.76 ± 3.14 個で、生後6日になって 8.94 ± 5.27 個と他の2区域より遅れて増加する (Fig. 6-c).

各日齢で嗅粘膜各部の嗅腺細胞数を比較すると胎生17日では天蓋・鼻中隔域および甲介域にはほぼ同数の嗅腺細胞が出現するが、外側域に

は出現しない (Fig. 7-a). 生後0日でも天蓋・鼻中隔域および甲介域の嗅腺細胞数は増加するが、外側域には嗅腺は見られない (Fig. 7-b). 外側域では生後3日で嗅腺細胞は出現するが、他の2区域と比べて有意に低値をとる (Fig. 7-c).

考 察

成績に示したように、嗅粘膜の発生において、嗅上皮の形成に比較すると嗅腺は遅れて出現し、出生後急速な発達を呈すること、嗅腺は嗅粘膜全体に一樣に出現するのではなく、特に総鼻道に面する領域から形成され始めることが明らかになった。

鼻腔は空気を加温・加湿する呼吸部粘膜と、嗅覚に関連する嗅粘膜の二部に分けることができる⁷⁾. 呼吸部粘膜は杯細胞を含む多列線毛円柱上皮とその直下の固有層からなり、固有層には豊富な血管網が存在するほか、漿液腺と粘液腺の混在した鼻腺が存在する。杯細胞と鼻腺はともに呼吸上皮上に粘液層を形成する⁸⁾. 一方、嗅粘膜は双極性の神経細胞である嗅細胞、支持細胞および基底細胞が構成細胞である厚く肥厚した嗅上皮

と、嗅上皮下の結合組織で構成され、結合組織は嗅腺分泌部や神経線維束および血管を含む。嗅腺細胞は分泌顆粒を産生し、その分泌液は導管を通じて鼻腔上部に放出され、匂い物質の溶媒になると言われる¹⁾. 従って、嗅上皮と嗅腺は共同で嗅覚の受容に関与するが、成績に示したように個体発生においてそれぞれの器官は形成開始時期が著しく異なっている。マウスでは嗅上皮と呼吸上皮の区別は胎生13日では不明瞭

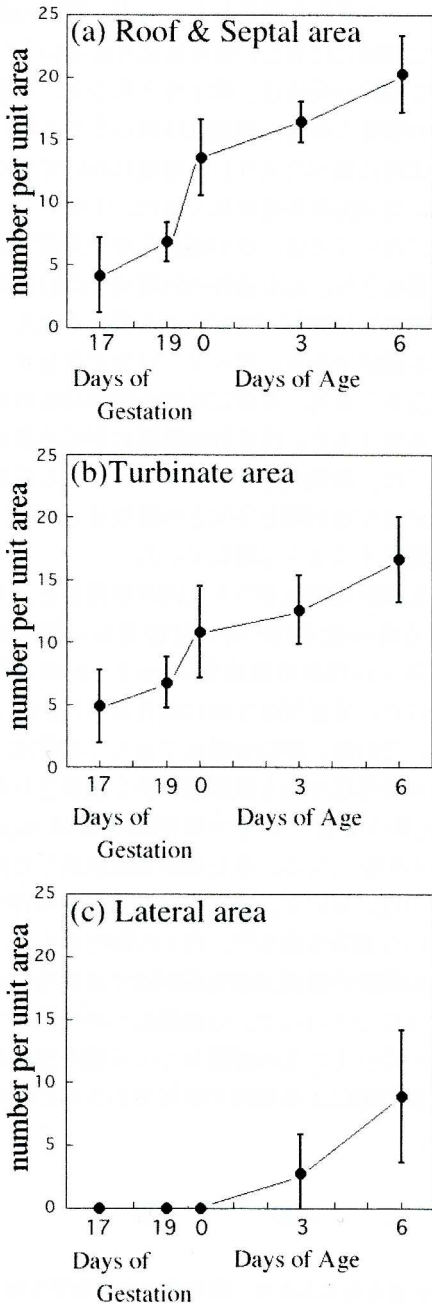


Fig. 6. Secretory cell numbers of the olfactory glands in fetuses and neonates.

- a) The roof and septum areas.
- b) The turbinate area.
- c) The lateral area.

As shown in a) and b), the olfactory cells show a significant increase in number between 19 days of gestation and 0 day after birth, but in the lateral area c), gland cells appear just after birth, and then the number shows a slight increase.

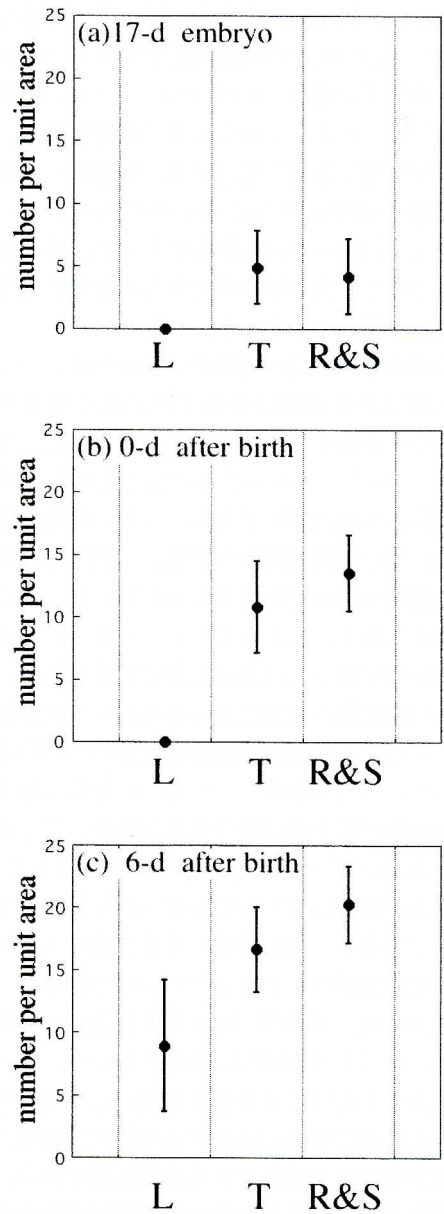


Fig. 7. Regional difference in the olfactory gland cell count.

L : lateral area, T : turbinate area, R & S : roof and septal area

- a) 17-day-embryo.
- b) 0-day-after birth.
- c) Six-day-after birth.

As shown in a) and b), the lateral regions in the fetal nasal cavity contain no glands, and even in neonates, the cell number is significantly low compared with those of the turbinate and the roof and septum areas.

であるが、胎生14日になると嗅上皮は発達し始め^{2),3)}、胎生16日で嗅細胞特有の構造である嗅小胞や嗅毛が豊富に出現する⁹⁾。一方、嗅腺は成績に述べたように胎生17日で出現し始め、特に生後早期に急速に発達する。嗅腺は生後顕著に発達する事はすでに古くから知られているが^{4),5)}、今回の計量的観察によって、特に出生直前と出生直後の短期間のうちに急速に発達することが明らかになった。

嗅腺は鼻腔上部の嗅粘膜に限局する。一方、混合腺である鼻腺は呼吸上皮に広く分布するし、胎生15日で鼻腔内にすでに観察することができ²⁾、胎生17日の鼻腔では良く発達した大型の鼻腺が多数に観察できる。一方、嗅腺は胎子においてその発達は極めて悪い。従って鼻腔内の二種類の腺はその発達する時期に著しい差違が認められる。周知のように、鼻腔と口腔は胎生の早期においては連続した口窩を形成し、両者は口蓋突起の発達によって後に上下に分離する。従って、鼻腺も唾液腺も共通の口窩に分泌するという点で類似している。口腔に付属する大唾液腺の顎下腺はマウスでは胎生14日で形成されるという¹⁰⁾。これらの知見を併せ考えると、鼻腺は口腔に付属する唾液腺と時期的にほぼ一致して発達し、両腺組織の発達を誘導する因子には強い関連性があることが示唆される。一方、嗅腺は鼻腺、唾液腺に比べると発達する時期は遅く、特に生後短時間に増加するから、その発達を誘導する因子は鼻腺や唾液腺とは異なり、呼吸の開始に密接に関連する可能性がある。

嗅上皮は再生能を有する神経組織であり、嗅球を除去すると嗅上皮特に嗅細胞は変性脱落した後に再生することが知られている^{11)~13)}。このことは、神経組織である嗅球が嗅上皮の発生と極めて強い関連性のあることを示している。森⁹⁾が明らかにしたように、嗅上皮はその発達において各部位が一様に発達するのではなく、最も早いのは天蓋域で、次いで鼻中隔域、最も遅く外側域が発達する。嗅上皮形成に見られるこの局所的な遅延に対し、森は神経成長因子を含む嗅球と嗅上皮各部位の距離的な違いを反映

している可能性を指摘した。一方、嗅球の除去実験で嗅腺には著しい変化は見られない^{11)~14)}。従って嗅腺の発達は、嗅上皮と異なり、中枢神経系の影響と直接の関連性は薄いと考えられるが、成績に述べたように、嗅腺においてもその発達に局所的な差違が見られた。すなわち、総鼻道に面する天蓋、鼻中隔および甲介部では早くに形成され、総鼻道外の外側域では形成が遅い。総鼻道は呼気・吸気の最も激しく流入・流出する部位である。従って、出生を境とする嗅腺の急速な発達、並びに嗅腺分布の局所的な差違を考慮すると、出生後の嗅腺の形成を誘導する因子は、神経因子というよりはむしろ呼吸の開始および嗅粘膜と空気との接触量とに特に密接に関連する事を示唆している。

胎生期の嗅腺は初め上皮内の導管部と、上皮と固有層の境界部の短い分泌部から構成される。我々は嗅腺の発達を stage I~IV の4段階に分けた。分泌部は生後に固有層内に伸展していき、その際、細胞分裂は主として導管部と分泌部の境界部である腺頸部に多く観察される。Stage III の嗅腺で特有の腺頸部細胞は stage IV では不明瞭になる。嗅上皮が変性脱落した後の再生過程において、嗅上皮は導管部から再生するという報告もある¹⁵⁾。我々の観察からは、胎生期の嗅腺の腺頸部細胞が嗅腺分泌細胞の前駆細胞と見なされるが、分泌細胞への分化のプロセスや導管上皮との関連などの詳細な検討は、電子顕微鏡による超微形態観察がさらに必要である。

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、実験について御協力頂いた岩月宏彦助教授、園田祐治助手、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に深謝する。

本論文の要旨は、第108回日本解剖学会総会(2003)、第58回日本解剖学会中国・四国地方会(2003)、第105回日本耳鼻咽喉科学会総会(2004)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) Kaufman MH : The Atlas of Mouse Development. London, Academic Press. 1992
- 3) 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
- 4) Cuschieri A, Bannister LH : The development of the olfactory mucosa in the mouse : light microscopy. J Anat 119 : 277-286, 1975
- 5) Cuschieri A, Bannister LH : The development of the olfactory mucosa in the mouse : electron microscopy. J Anat 119 : 471-498, 1975
- 6) Iwema CL, Schwob JE : Odorant receptor expression as a function of neuronal maturity in the adult rodent olfactory system. J Comp Neurol 459 : 209-222, 2003
- 7) Fawcett DW : A Textbook of Histology. 12th ed, New York, Chapman & Hall. 1994, pp 704-707
- 8) Cormack DH : Ham's Histology. 9th ed, Philadelphia, J. B. Lippincott Company. 1987, pp 541-546
- 9) 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
- 10) Rugh R : The Mouse Its Reproduction and Development. New York, Oxford University Press. 1990, pp 197
- 11) 夜久有滋, 猿田敏行：嗅球除去後ラット嗅上皮の変性と再生に関する電顕的研究. 日耳鼻 89 : 1777-1786, 1986
- 12) Monti-Graziadei GA : Cell migration from the olfactory neuroepithelium of neonatal and adult rodents. Brain Res Dev Brain Res 70 : 65-74, 1992
- 13) Suzuki Y, Takeda M, Obara N, Suzuki N : Bulbectomy of neonatal mice induces migration of basal cells from the olfactory epithelium. Brain Res Dev Brain Res 108 : 295-298, 1998
- 14) Morrison EE, Costanzo MR : Scanning electron microscopic study of degeneration and regeneration in the olfactory epithelium after axotomy. J Neurocytol 18 : 393-405, 1989
- 15) 菊屋義則：マウス嗅上皮の変性と再生－走査電顕的観察－. 耳鼻臨床 77 : 1659-1680, 1984