

# Structure and Innervation of Mouse Parotid Gland

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/7738">http://hdl.handle.net/2297/7738</a>

## マウス耳下腺の構造と神経支配

金沢大学医学部解剖学第一講座 (主任: 本陣良平教授)

井 上 正 雄

(昭和59年6月7日受付)

マウス耳下腺の構造と神経支配を、組織化学的検索法および電顕観察によって検索した。マウス耳下腺細胞の分泌顆粒は、中心部と周辺部で電子密度の異なる2層性を示す。写真銀法によると、耳下腺には多数の無髄神経線維が分布し、腺房間の組織腔、動脈壁および腺房において3種類の微細な神経網を形成しており、その所々で瘤状の腫大を示す。組織化学的検索によると、カテコールアミンに由来する蛍光およびアセチルコリンエステラーゼ活性が、上記3種の神経網に陽性である。上頸神経節切除後、上記のカテコールアミンの蛍光が消失し、耳介側頭神経切断後、アセチルコリンエステラーゼ活性が消失する。電顕検索によると、上記瘤状腫大部は軸索の腫大部として示され、その内部に多数のシナプス小胞とミトコンドリアを含んでいる。腺房間の組織腔と動脈壁の軸索腫大部はいわゆる遠距離シナプスと考えられる。一方、腺房の軸索腫大部はいわゆる密接シナプスと考えられる。これら軸索腫大部は、その内部に含まれているシナプス小胞の種類によって、小顆粒性シナプス小胞を含むI型終末と、多数の無顆粒性シナプス小胞を含むII型終末とに区分することができる。上頸神経節切除後、I型終末が変性に陥り、耳介側頭神経切断後、II型終末が変性する。組織化学所見および電顕所見より、I型終末は上頸神経節由来のアドレナリン作動性神経のシナプス終末と考えられ、II型終末は耳神経節由来のコリン作動性神経のシナプス終末と考えられる。I型終末とII型終末の数比は、腺房間の神経網では2:1、動脈壁の神経網では7:1、腺房の神経網では3:1である。耳下腺には耳介側頭神経由来の少数の小径有髄知覚線維も分布している。

**Key words** parotid gland, adrenergic nerve fibers, cholinergic nerve fibers, mouse

味覚その他の各種感覚刺激が、神経系を介して反射的に耳下腺に作用し、その唾液分泌を引き起こすことは、古く Pavlov<sup>1)</sup>以下の多くの研究者によって明らかにされた<sup>2)</sup>。また、Arnstein<sup>3)</sup>、Kuntz ら<sup>4)</sup>および Genis-Galvez ら<sup>5)</sup>は、メチレンブルー染色法や鍍銀法によって、イヌ、ネコ、ウサギ、サルで腺内に多数の神経線維が分布していることを示した。その後、組織化学的方法によって、Fujiwara ら<sup>6)</sup>と Norberg ら<sup>7)</sup>は、ラット耳下腺にカテコールアミン蛍光陽性の神経線維が分布していることを初めて報告し、Freitag ら<sup>8)</sup>はウサギ耳下腺で、カテコールアミン蛍光陽性線維のほか、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維も分布していることを見いだし、この所見は Garrett ら<sup>9)</sup>によって

イヌ耳下腺においても確認された。このような知見は、アドレナリン作動薬あるいはコリン作動薬を用いた薬理学的分泌刺激実験<sup>10-13)</sup>によって確認されている。

一方、電子顕微鏡(電顕)観察により、Scott ら<sup>2)</sup>はラット耳下腺で、終末軸索が、腺房間のみならず腺房にも存在することを観察した。Hand<sup>14)</sup>は過マンガン酸カリ固定法により、耳下腺内に分布するアドレナリン作動性神経の終末とコリン作動性神経の終末の差異を論じ、いずれの終末も、腺房間ならびに腺房に存在することを見いだした。この知見は、Bogart<sup>15)</sup>により、トリチウムノルアドレナリンを用いたオートラジオグラフィで、また Garrett<sup>16)</sup>により、5-ハイドロオキシドーパミンの取り込み実験で確認された。

Structure and Innervation of Mouse Parotid Gland. Masao Inoue, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University.

耳下腺に分布する上記のアドレナリン作動性神経とコリン作動性神経との2種の神経の由来に関しては、ヒトの末梢神経系の肉眼解剖所見に基づき、前者が上頸神経節に、後者が耳神経節に、それぞれ由来することが古くから示唆されてきており<sup>17)</sup>、近年、神経の電気刺激実験<sup>18-22)</sup>や支配神経切断後の耳下腺内神経要素の組織化学的検索<sup>8)9)</sup>によってそのことが支持されてきている。

しかし、上記両種の神経線維の末梢終末の形態や存在部位の詳細、とくにアドレナリン作動性神経終末とコリン作動性神経終末の分布様式や分布比に関してはいまだ明確でない、加えて、上頸神経節あるいは耳神経節から耳下腺に達するまでの神経走路についても、諸説があり意見の一致をみていない<sup>23)24)</sup>。

以上の耳下腺神経支配に関するいくつかの問題のほか、耳下腺の微構造に関しても、腺細胞内の分泌顆粒が示す2層の内部構造と生化学的組成や組織化学的所見との相関がなお明確でない<sup>25)</sup>。

今回、著者は、マウス耳下腺について、その微構造を明らかにするために、可視光顕微鏡(光顕)と電顕観察により検索した。また、耳下腺に分布する神経の走路を調べるため連続切片の再構築法を行なった。ついで、腺内神経終末の微構造を明らかにするため、神経染色、組織化学的検索法、および電顕観察によって検索した。なお、耳下腺支配神経の由来、走路および終末を確認するため、各種の侵襲による神経変性実験を行なった。

## 材料と方法

### 1. 実験動物

純系成熟雌 KH-1 種マウス (*Mus wagneri* var. *albula*) を実験動物として用いた。

### 2. 光顕再構築法

耳下腺の形態を検索するため、切断したマウス頭部を75%エタノール75 ml・ホルマリン20 ml・氷酢酸5 mlの混液に2日間浸漬固定し、Plank-Rychlo液で脱灰、セロイジンに包埋し、前頭断、矢状断、あるいは水平断の30  $\mu$ m連続切片を作製した。切片には、ヘマトキシリン・エオジン染色(hematoxylin-eosin stain, 以下HEと略)を施した。また、耳下腺に分布する外来神経の走行を検索するため、諸神経を含む次の3箇所の組織を試料とした。耳介側頭神経を含む側頭下窩の組織、顔面神経と耳下腺管を含む頬部および耳下腺咬筋部の組織および耳下腺とそれに分布する神経とを含む下顎後部の組織。上記の3箇所の組織を連続した一塊の組織として取り出し、本陣写真銀法<sup>26)</sup>(写真銀法)による連続切片を作製した。この方法によると、

神経細胞体および神経線維軸索が褐色ないし黒色に特異的に染色される。

### 3. 組織化学的検索法

耳下腺の神経要素の組織化学的特性の検索は、次の方法によった。

#### 1) カテコールアミン検出法

カテコールアミン蛍光検出のためのフォルムアルデヒド・グルタルアルデヒド・ショ糖固定法(formaldehyde-glutaraldehyde-sucrose fixation method, FGS法)<sup>27)</sup>を用いた。FGS法によると組織中のカテコールアミンは緑色の蛍光を発する。

#### 2) アセチルコリンエステラーゼ活性検出法

アセチルコリンエステラーゼ活性検出のためのルベアン酸増強法<sup>28)</sup>を用いた。この方法によるとアセチルコリンエステラーゼ活性陽性部が黒色に特異的に検出される。

### 4. 電子顕微鏡検索法

耳下腺の電顕検索には、耳下腺をその導管と共に取り出し、25%グルタルアルデヒド0.1 ml・0.2 M 磷酸緩衝液(pH 7.4) 5 ml・ショ糖0.4 g・2%オスミウム酸5 mlからなる固定液に浸し、固定液中で細切し、同固定液に4°Cで2時間おき、5%酢酸ウラニル・1%酢酸にて30分室温で塊染色を施した後、エタノール系列で脱水、エポック812に包埋、LKB 4800 A ウルトロームによって薄切片を作製した。同時に厚さ約1  $\mu$ mの切片を作り、トルイジンブルー染色<sup>29)</sup>を施し、光顕検索による組織部位の同定の試料とした。薄切片には酢酸ウラニルと鉛の二重染色<sup>30)</sup>を施し、HU-12型あるいはH-500型の電顕によって観察した。また、耳下腺腺細胞の分泌顆粒の微細構造検索のため、2.5%グルタルアルデヒド・0.1 M 磷酸緩衝液あるいは4%パラフォルムアルデヒド・0.1 M 磷酸緩衝液で耳下腺組織の細片を4°Cで30分、前もって固定した後、上記の電顕固定を行なった。これらのアルデヒド固定法のほか、腺内神経終末部の検索には、Tranzerら<sup>31)</sup>の重クロム酸固定法(dichromate fixation method)を用いた。この方法によると、神経組織中のカテコールアミン含有物が極めて電子密度大な物質として検出される。

### 5. 神経切断および神経節切除実験法

耳下腺支配神経の起源検索を目的とする二次変性実験のため、実体顕微鏡を用いて、下記3種の神経・神経節の切断あるいは切除実験を行なった。手術に際しては、チオペンタールの腹腔内注射(0.1 mg/g)による麻酔が施された。手術後、16, 24時間, 2, 4, 7日間経ったマウスから、耳下腺を採り、以下正常な場合と同様に試料を処置し、術後の変化を検索した。

#### 1) 上頸神経節の切除法

上頸神経節切除は、内頸動脈と頭長筋の間を広げて、上頸神経節を確認して切除した。

### 2) 耳介側頭神経の切断法

耳介側頭神経切断は、顎下部より内側翼突筋と顎二腹筋後腹との間で耳介側頭神経を確認して切断した。

### 3) 顔面神経の切断法

顔面神経切断は、顔面神経が茎乳突孔より出てまもない部分で行なった。

## 成 績

### I. マウス耳下腺の解剖学的構造と腺に至る神経の走路

#### 1. マウス耳下腺の解剖学的構造

実体顕微鏡下にマウス耳下腺とその周囲を観察すると図1に示すようにマウス耳下腺 (parotid gland, p) は外耳道と下顎角との間に位置し、その導管は頰部で口腔に開口する。耳下腺の腺体は、外耳道軟骨部の腹側壁に沿って吻側ならびに尾側の方へ広がるとともに、皮膚におおわれて腹側の方へも広がっている。そのため、腺体の外形はほぼ扁平な三角形を呈し、その吻側部は外涙腺 (exorbital lacrimal gland, el) に隣接し、尾側部はヒトの広頭筋に相当する帯状の筋におおわれ、腹側部は顎下腺 (submandibular gland, sm) ならびに舌下腺 (sublingual gland, sl) に接している。

腺体は重量約 50 mg で、表面は凹凸不整で、淡紅色を呈する。腺体の吻側端から尾側端まで約 7 mm、外側縁から腹側端まで約 12 mm で、その厚さは約 2~3 mm である。腺体の吻側部と腹側部との中間の領域が腺門で、ここから 3~5 本の小導管が発し、それらは合して外径約 0.2 mm の 1 本の耳下腺管となる。耳下腺管は、咬筋筋膜中を頰骨弓と平行して吻側方向へ走り、頰筋および頰粘膜を貫いて、上顎の第 2 臼歯の対岸で口腔前庭に開口する。導管の長さは、耳下腺の腺門から小導管の合流部まで約 2~4 mm、合流部から開口部まで約 12 mm である。

#### 2. 耳下腺に至る各種神経の走路

新鮮標本の実体顕微鏡の所見と写真銀法連続切片の描画再構築法に基づいて耳下腺周辺の神経の走路を示したのが図2である。

耳下腺には、図2に示したようにその導管および動脈と共に 4~7 本の小神経束が腺門部に進入する。これらの神経束は、上頸神経節 (superior cervical ganglion, sc) の尾側部に発し外頸動脈に伴行する外頸動脈神経叢 (external carotid nerve plexus, e) から分枝した神経束と、顔面神経 (facial nerve, f) の頰筋枝 (buccal branch of facial nerve, bb) と頰骨枝 (zygomatic branch of facial nerve, z) から分枝した神経束からなる。写真1は耳下腺咬筋部の水平断の

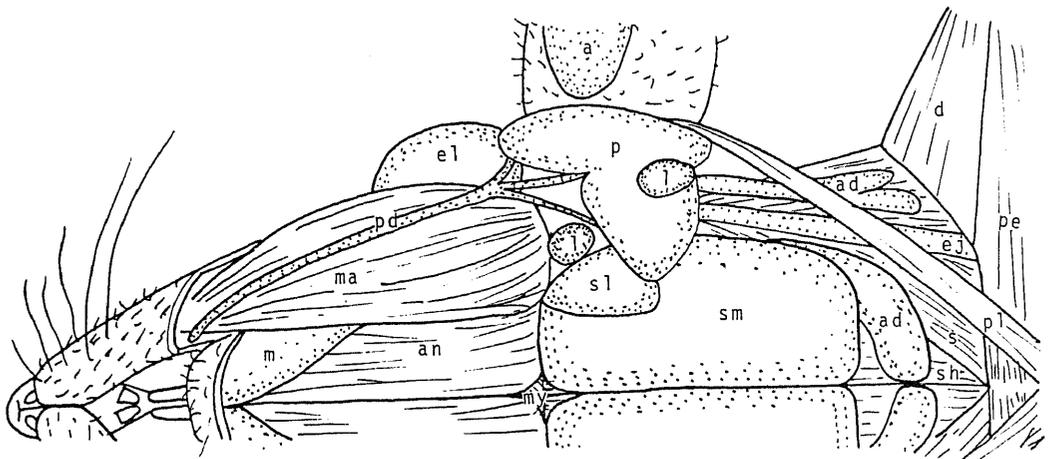


Fig. 1. Schematic drawing (ventral view) of the cervical region of mouse. Symbols: a, auricula; ad, adipose tissue; an, anterior belly of the digastric; d, deltoid; el, exorbital lacrimal gland; ej, external jugular vein; l, lymph node; m, mandible; ma, masseter; my, mylohyoid; p, parotid gland; pd, parotid duct; pe, pectoralis major; pl, platysma; s, sternocleidomastoid; sh, sternohyoid; sl, sublingual gland; sm, submandibular gland.

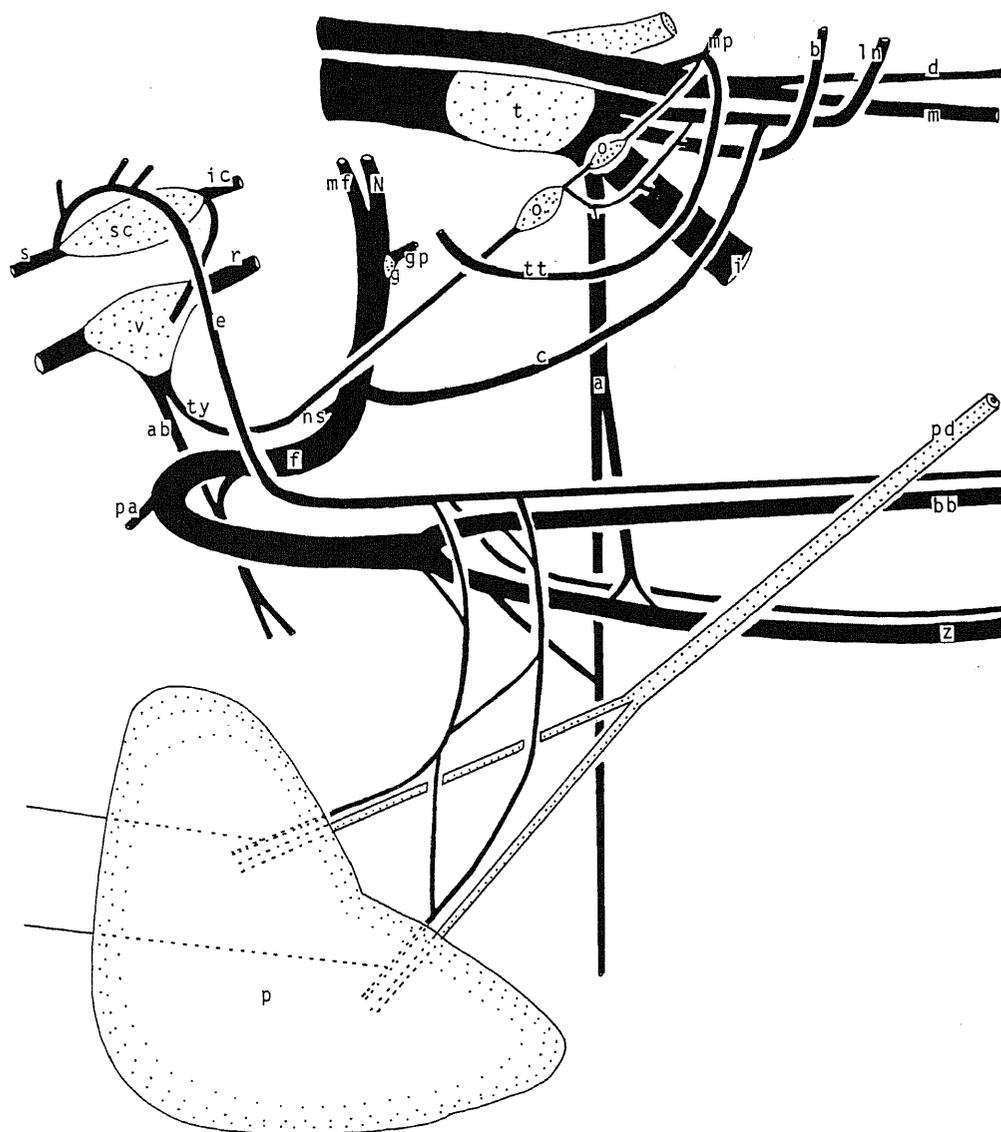


Fig. 2. Schematic drawing (ventro-lateral view) of the nerve branches supplied to the parotid gland of the left side. Symbols: a, auriculo-temporal nerve; ab, auricular branch of vagus nerve; b, buccal nerve; bb, buccal branch of facial nerve; c, chorda tympani; d, deep temporal nerve; e, external carotid nerve plexus; f, facial nerve; g, genicular ganglion; gp, greater petrosal nerve; i, inferior alveolar nerve; ic, internal carotid nerve; ln, lingual nerve; m, masseteric nerve; mf, motor root of facial nerve; mp, nerve to medial pterygoid; N, Nervus intermedius; ns, nerve to stapedius; o, otic ganglion; p, parotid gland; pa, posterior auricular nerve; pd, parotid duct; r, root of vagus nerve; s, sympathetic trunk; sc, superior cervical ganglion; t, trigeminal ganglion; tt, nerve to tensor tympani; ty, tympanic nerve; v, vagal ganglion; z, zygomatic branch of facial nerve.

写真銀法標本光顕像で、顔面神経の頬筋枝から耳下腺へ行く神経束が分枝することを示している。また、耳神経節 (otic ganglion, o) から分枝した小神経束が耳介側頭神経 (auriculo-temporal nerve, a) に入る。写真2はマウス頭蓋底を卵円孔のやや尾側部を通る面で前額断した HE 染色標本の光顕像で、耳神経節から分枝した神経束が蝶形骨を貫いて耳介側頭神経に合流することを示している。耳介側頭神経の末梢枝の一部は顔面神経の頬筋枝に合流する。この合流枝を構成する神経線維は頬筋枝内を走り、耳下腺門に入る上記の

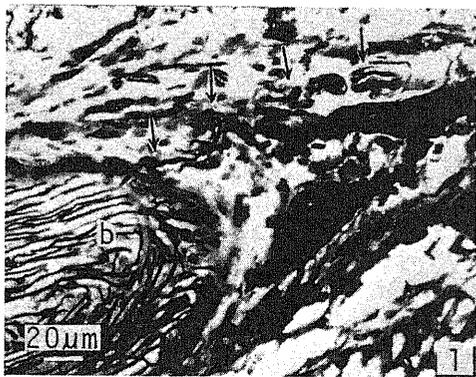


Photo.1. Horizontal section of the parotid-masseter region of the mouse. Small nerve bundles (arrows) are seen arising from the buccal branch (b) of the facial nerve and running to the parotid gland. Many unmyelinated and some myelinated fibers are contained in the bundles. Photographic silver stain;  $\times 240$ .

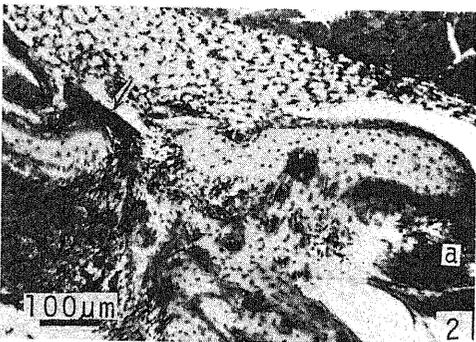


Photo.2. Frontal section of the base of the mouse skull. A nerve bundle (arrow) is seen originating from the otic ganglion and penetrating through the sphenoidal bone to join the auriculo-temporal nerve (a). Hematoxylin-eosin stain;  $\times 80$ .

神経束の構成に関与すると考えられる。マウスの耳神経節は、2個の神経節に分かれており、内頸動脈が蝶錐体裂を通る直前の部分と通過直後の部分にそれぞれ1個ずつ動脈壁に沿って存在する。この2個の神経節は、蝶錐体裂を通る細い神経束によって互いにつながれている。

耳下腺に進入した神経束中の一部の有髓神経線維は腺内を通過し、腺体の尾側部で再び腺外に出て、ただちに広頸筋に進入する。

## II. マウス耳下腺ならびに腺内神経線維の微構造

### 1. 光顕所見

#### 1) マウス耳下腺の構造

HE 標本の観察によると、耳下腺は複合管状胞状腺で、その終末部は、介在部から線条部を経て、小葉間導管へと連なる。

終末部は、外径約  $25\sim 35\mu\text{m}$  で、腺腔内径は極めて狭く、1層の腺細胞とその外面に位置する筋上皮細胞とからなる。腺細胞は、細胞質がエオジンによく染まり、球形の核がやや基底部よりにある。HE 標本では個々の分泌顆粒を識別しがたいが、写真3に示すように電顕用に固定包埋し、トルイジンブルー染色を施した標本では、腺細胞の腺腔側に径約  $1\mu\text{m}$  の多数の分泌顆粒が見いだされる。

介在部は外径約  $12\sim 25\mu\text{m}$  で、1層の小型の細胞からなる。この介在部の細胞は、細胞質に乏しく、その細胞質は HE 染色ではほとんど染まらない。介在部の管腔は内径約  $2.5\sim 3\mu\text{m}$  でエオジンに濃染する分泌物を含んでいる。

線条部は外径約  $30\sim 100\mu\text{m}$  で、1層の大型の細胞からなる。この細胞は細胞質に富み、細胞質はエオジ

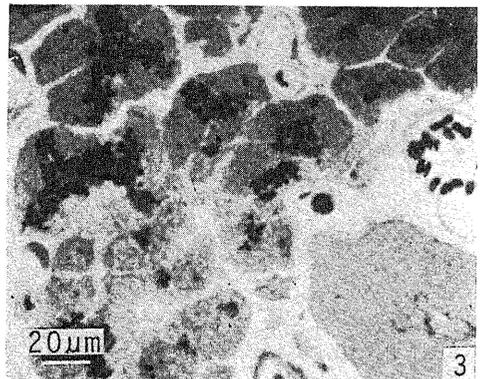


Photo.3. Acini of parotid gland. Secretory granules in the apical portion of the glandular cells are seen. Toluidine blue stain;  $\times 320$ .

ンで淡染し、著明な基底線条を示す。管腔は内径約9~60  $\mu\text{m}$ で、エオジンに濃染する分泌物で満たされている。

小葉間導管は外径約100~120  $\mu\text{m}$ で、1~2層の細胞からなる。これらの細胞は、細胞質のエオジン染色性が小で、基底線条が認めがたい。管腔は広く内径約60~80  $\mu\text{m}$ であるが、その内部に分泌物は見られない。

耳下腺管は外径約0.2 mm、管腔内径約0.1 mmで、2層の細胞からなる。それらの細胞は、細胞質に乏しく、その細胞質は、染色ではほとんど染まらない。

腺房間には、毛細血管を含む小量の疎な結合組織が存在するにすぎない。これに対して、小葉間結合組織は比較的豊富で、その中を小葉間導管のほか、動脈、静脈、および神経束が走る。

## 2) 腺内神経線維の構造ならびに組織化学的特性

写真銀法標本とオスミウム酸固定・トリイジンブルー染色標本の検索結果によると、耳下腺の導管ならびに動脈に伴行して腺内に進入する神経束は、写真4の耳下腺腺門部のトリイジンブルー染色標本の光顕像に示したように、それぞれ多数の無髄線維のほか、しばしば3~5本の小径有髄線維を含んでいる。これらの有髄線維のうち、約半数はその軸索が髓鞘を脱し、分枝してしだいに細くなり、導管周囲に尖鋭状の遊離終末を形成する。一方、残りの有髄線維は、腺体を貫通して、広頸筋に分布する。腺内に進入した細い無髄線維は写真5の耳下腺写真銀法標本の光顕像が示すように腺房間の間質結合組織内に繊細な腺房間神経網を、また動脈壁の周囲に動脈壁神経網を形成している。

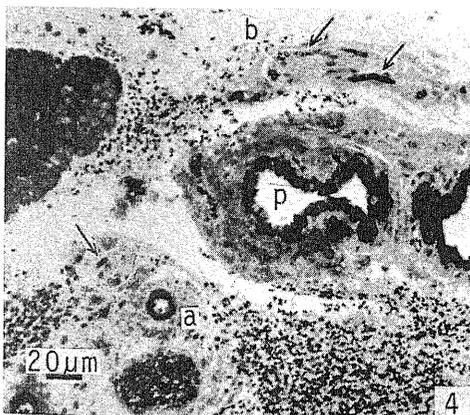


Photo 4. Nerve bundles running to the parotid gland. Myelinated nerve fibers (arrows) are seen in the nerve bundles (b) located near the parotid duct (p) and arteries (a). Toluidine blue stain;  $\times 240$ .

無髄線維軸索は、これらの神経網の中を走る際、所々で瘤状の腫大を示す。腺房間神経網から細い軸索が腺房の壁の外側および腺細胞間に伸びて腺房間神経網を形成している。腺房間神経網の無髄線維軸索も、その走行の所々で瘤状の腫大を示す。

カテコールアミン蛍光検出法により写真銀法標本で検索したと同じ部位を調べた。腺房間神経網・動脈壁神経網・腺房神経網の3神経網の軸索に写真6に示すようにカテコールアミン蛍光が認められた。カテコールアミン蛍光陽性線維は、所々で瘤状の腫大を示し、蛍光はその腫大部において特に著明であった。これらのカテコールアミン蛍光陽性線維の瘤状腫大は、その構造特徴から、写真銀法で見いだされた無髄線維の瘤状腫大に相当すると考えられる。なお、Schwann細胞にはカテコールアミン蛍光が認められない。

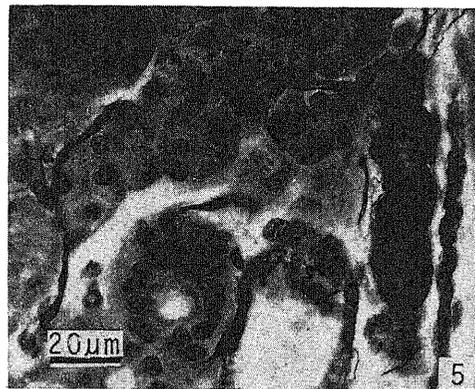


Photo 5. Fine nerve plexuses around and within the acini and around the artery. Photographic silver stain;  $\times 480$ .

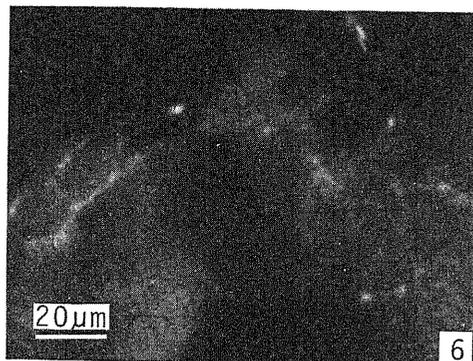


Photo 6. Catecholamine fluorescence in normally innervated parotid gland. Dense plexuses of thin nerve bundles with many varicosities are seen around and within the acini and around the artery. FGS method;  $\times 480$ .

アセチルコリンエステラーゼ活性検出法により同様に同じ部位を検索した。写真7に示すように腺房間神経網・動脈壁神経網・腺房神経網の軸索終末に活性が認められた。これらのアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維は所々で瘤状の腫大を示し、その腫大部に強い活性が見いだされた。これらのアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維の瘤状腫大も、写真銀法標本における無髄線維の瘤状腫大に相当すると考えられる。アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維の量はカテコールアミン蛍光陽性線維のそれに比して少なかった。Schwann細胞にはアセチルコリンエステラー

ゼ活性が認められなかった。

## 2. 電顕所見

### 1) マウス耳下腺の微構造

薄切片の電顕像を検索し終末部における分泌顆粒の2層構造を見いだしたが、それ以外は従来の知見に一致していた。すなわち、終末部の腺細胞は、限界膜に境された径0.5~1.5 $\mu\text{m}$ の球形の分泌顆粒を有する。分泌顆粒は腺腔側の細胞質中に集簇している。大多数の分泌顆粒の内容物は、固定法によって異なるが、電子密度に著しい相違を示す中心部と周辺部に区分され、通常同心性の2層構造を呈する。ただし一部の分泌顆

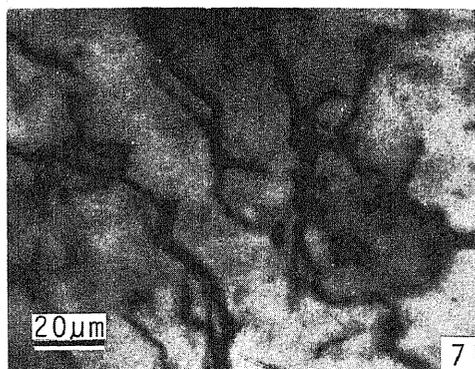


Photo. 7. Acetylcholinesterase activity in normally innervated parotid gland. Activity positive (black) dense plexuses of thin nerve bundles are observed around and within the acini and around the artery. Rubenic acid-enhancement method;  $\times 480$ .

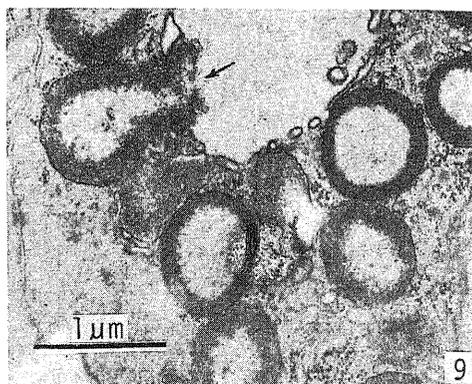


Photo. 9. Secretory granules of the parotid glandular cell. Electron density of the peripheral part is high, and that of central part is low, when fixed with dichromate. Arrow indicates exocytosis of a secretory granule.  $\times 17,500$ .

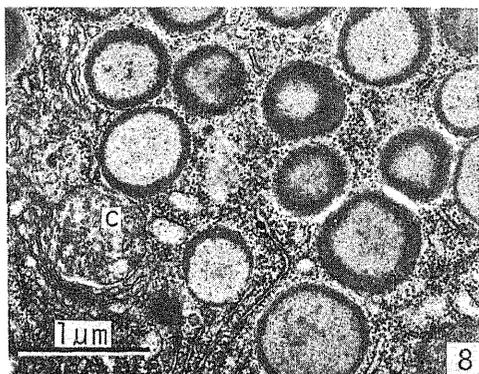


Photo. 8. Secretory granules of the parotid glandular cell. Electron density of the peripheral part is high, and that of central part is low, when fixed with 0.25% glutaraldehyde-1% osmic acid and stained in a block with 5% uranylacetate. A condensing vacuole (c) is seen beside the Golgi apparatus.  $\times 17,500$ .

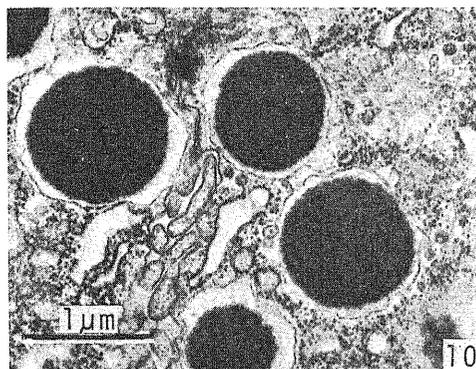


Photo. 10. Secretory granules of the parotid glandular cell. Electron density of the peripheral part is low, and that of central part is high when fixed with 4% paraformaldehyde and postfixed with 0.25% glutaraldehyde-1% osmic acid and stained in a block with 5% uranylacetate.  $\times 17,500$ .

粒においては、周辺部と同様の電子密度を示す部分が、中心部内にも認められ、同心性の3層構造や、不規則斑状の構造を呈する。グルタルアルデヒド-オスミウム酸あるいは重クロム酸を含む固定液のみで固定した場合には、写真8および9に示すように中心部は電子密度小で、周辺部は電子密度大となる。これに反し、上記固定に先立って4%パラフォルムアルデヒドや2.5%グルタルアルデヒドによる前固定を施した場合には、写真10および11に示されるように中心部は電子密度大に、周辺部は電子密度小となる。又、写真9では細胞の遊離面において、分泌顆粒の限界膜が遊離面の細胞膜と融合して、分泌顆粒の内容物が腺腔内へ放出される開口分泌の像が認められた。Golgi装置は核上部に位置し、層板と小胞のほか、径約 $0.3\mu\text{m}$ のGolgi胞を有する。しばしば写真8に示すようにGolgi装置に接して径約 $0.7\mu\text{m}$ のいわゆる濃縮胞(condensing vacuole)が見いだされる。濃縮胞は限界膜を有し、内部は電子密度中等度の物質で占められている。

終末部のその他の細胞内小器官や腺腔および筋上皮細胞、介在部ならびに導管などの著者の電顕所見は、過去の研究者の報告<sup>25)</sup>にほぼ一致していた。

## 2) 腺内神経線維の微構造

耳下腺の導管ならびに動脈に伴行して腺門より腺体に入線する神経束は、いずれも薄い神経周膜で囲まれている。神経束は4~7本存在し、それぞれ200~300本の無髄軸索を含むほか、軸索の直径約 $1.0\mu\text{m}$ 、髄鞘

の厚さ約 $0.3\mu\text{m}$ の小径有髄線維を3~5本含んでいる(写真12)。

腺房間神経網は、神経周膜を欠く細い無髄線維束からなり、1~10本の無髄軸索が、Schwann細胞によって包まれている。軸索は腺房間の組織腔を走る際、所々で腫大し、その腫大部でSchwann鞘を一部欠き、組織腔に面している。写真13に示すように軸索腫大部は、その内部に多数のシナプス小胞とミトコンドリアを含み、腺房腺細胞の基底面と $0.1\sim 1.0\mu\text{m}$ の隔たりをもって対面している。腫大部の表面は基底膜でおおわれている。この種の軸索腫大部は、消化管の平滑筋で観察されたいわゆる遠距離シナプス<sup>32)33)</sup>に相当する。

動脈壁神経網は、外膜中に分布する無髄線維束からなる。この無髄線維束は、腺房間神経網の場合と同様の微構造特徴を示す。この部の軸索腫大部は、写真14で示したように中膜の平滑筋細胞と $0.1\sim 1.0\mu\text{m}$ の

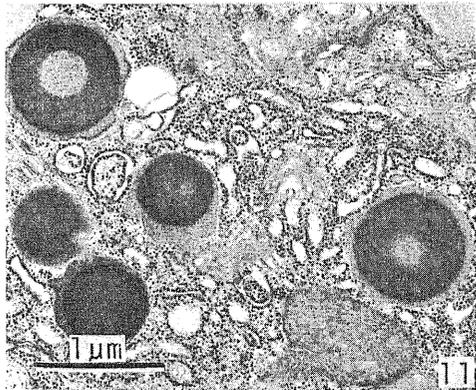


Photo 11. Secretory granules of the parotid glandular cell. Their peripheral part is moderately electron-dense and their central part is more electron-dense when fixed with 2.5% glutaraldehyde, postfixed with 0.25% glutaraldehyde-1% osmic acid and stained in a block with 5% uranylacetate. Some of the granules show moderately electron-dense core in the central part.  $\times 17,500$ .

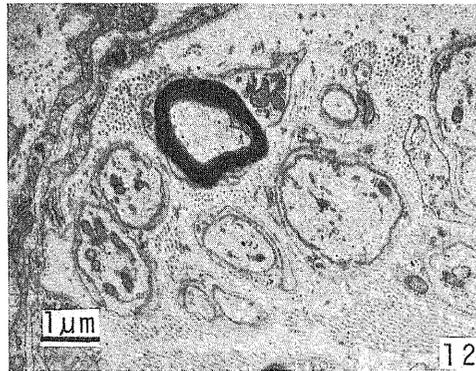


Photo 12. Cross section of a nerve bundle running to the parotid gland. A small myelinated fiber and many unmyelinated ones are seen.  $\times 8,000$ .

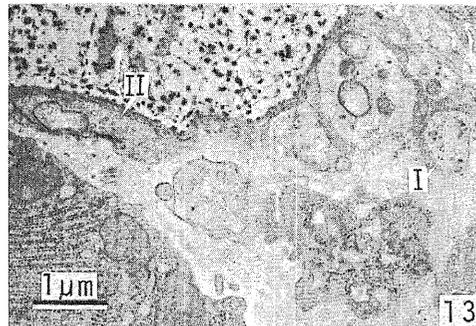


Photo 13. Axonal expansions in the nerve plexus around the acini of parotid gland. Small granular synaptic vesicles in type-I expansions (I) and agranular synaptic vesicles in type-II expansions (II) can be differentiated.  $\times 10,000$ .

隔たりをもって対面しており、すべて遠距離シナプスに属する。

一方、腺房神経網に進入した軸索は、Schwann細胞の被鞘を欠き、腺細胞の基底部の細胞膜とそれをおおう基底膜との間、腺細胞と筋上皮細胞との間、隣り合った腺細胞同士の間を3つの異なった部分を走る。これらはその走行の所々で瘤状腫大部を形成し、その内部には多数のシナプス小胞とミトコンドリアを含む。写真15に示すように軸索腫大部と、腺細胞あるいは筋上皮細胞とは通常双方の細胞膜が約20 nmの細隙をもって密接しているが、いずれの側の細胞膜にも、肥厚その他の特別な構造分化を認めなかった。この種の軸索腫大部は、精管の平滑筋で見いだされたいわゆる密接シナプス<sup>34)</sup>に相当する。

電顕下に見いだされる上記の遠距離シナプスあるいは密接シナプスを呈する軸索腫大部は、光顕下に、写真銀法、カテコールアミン蛍光法、あるいはアセチルコリンエステラーゼ活性検出法によって示された神経線維の瘤状腫大に相当する。

腺房間神経網・動脈壁神経網・腺房神経網の軸索腫大部は、すでに述べたように多数のシナプス小胞を含んでいるが、これらのシナプス小胞は、Richardson<sup>34)</sup>とHonjinら<sup>39)</sup>の分類に従って次の3種、小顆粒性小胞、大顆粒性小胞、無顆粒性小胞に区分される。

小顆粒性小胞は、径約50 nmで内部に電子密度大な1個の顆粒を有する。大顆粒性小胞は、径約100 nmで内部にやや大きな顆粒を1個含んでいる。無顆粒性小胞は、径約50 nmで顆粒を含んでいない。耳下腺の軸索腫大部は、その内部に含まれる上記シナプス小胞の種類により、I型とII型とに区分される。I型は、常

に小顆粒性小胞を含み、そのほか、ときとして少数の無顆粒性小胞や大顆粒性小胞も含んでいる。II型は、多数の無顆粒性小胞を含み、ときに少数の大顆粒性小胞をも含むが、小顆粒性小胞を含まない。

電顕つなぎ写真で、耳下腺の小葉約200  $\mu\text{m}^2$ を検したところ、腺房間神経網において、遠距離シナプスが88例見いだされ、そのうち54例がI型に属し、34例がII型に属した。また、動脈壁の神経網においては、検した軸索腫大部85例中の75例がI型に属し、10例がII型に属した。一方、腺房神経網において、密接シナプスが27例見いだされ、そのうち20例がI型に属し、7例がII型に属した。写真13~15に各神経網におけるI型とII型終末を示した。

### III. マウス耳下腺に分布する神経終末の各種神経切断後の変化

#### 1. 上頸神経節切除後の変化

上頸神経節切除後16時間~7日にわたって経時的に耳下腺を、写真銀法、カテコールアミン蛍光検出法、アセチルコリンエステラーゼ活性検出法、および電顕観察によって検した。

写真銀法によると、腺房間・動脈壁・腺房神経網内の軸索において、術後24時間ごろから、軸索の表面がやや粗雑となり、その染色性が赤褐色を呈するものが見られ、やがて多数の無髓軸索が、その染色性を減じて、小顆粒に断裂し、神経節切除4日以後には、正常な無髓軸索の数が著しく減少する。このとき神経網のSchwann細胞は、核、細胞質ともにやや肥大するが、この状態でも腺房間神経網や動脈壁神経網の変性神経束内に、なお正常な無髓線維軸索が残存していた。腺房神経網においては、なお正常な軸索が変性せずに残

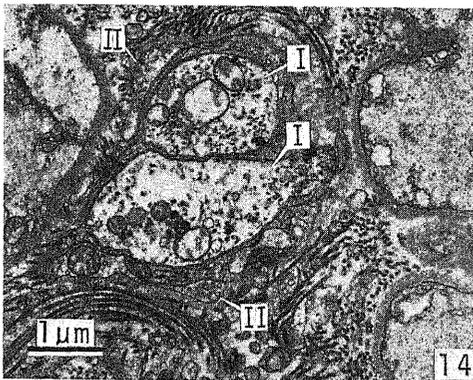


Photo. 14. Axonal expansions in the nerve plexus around the artery of parotid gland. Small granular synaptic vesicles in type-I expansions (I) and agranular synaptic vesicles in type-II expansions (II) are shown.  $\times 10,000$ .

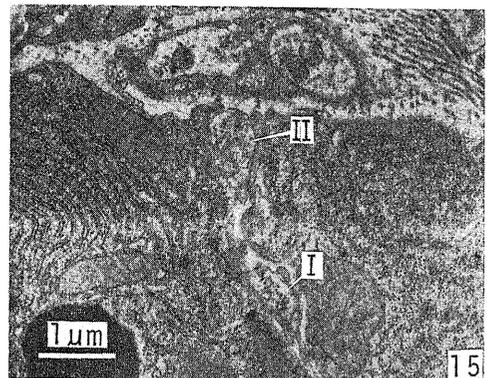


Photo. 15. Axonal expansions in the nerve plexus within the acini of the parotid gland. Small granular synaptic vesicles in a type-I expansion (I) and agranular synaptic vesicles in a type-II expansion (II) are seen.  $\times 10,000$ .

存しているのが観察された。これらの残存している軸索は、表面平滑で染色性も十分保たれていた。

カテコールアミン蛍光検出法によると、腺房間・動脈壁・腺房の諸神経網におけるカテコールアミン蛍光は、術後16時間で著しく減弱し、写真16に示すように24時間以後、完全に消失した。写真には腺細胞中に蛍光が示されているが、この蛍光はリソソームの示す黄色蛍光で、神経終末の示す緑色蛍光とは明らかに異なるものである。この所見は、上記諸神経網にカテコールアミンを含むいわゆるアドレナリン作動性線維が多数分布し、それらがすべて上頸神経節に由来することを示している。

上頸神経節切除後16時間～7日にわたってアセチルコリンエステラーゼ活性を検したが、腺内の諸神経

網が示す活性に、著明な変化を認めなかった。

電顕検索においては、導管ならびに動脈に伴行して腺体に進入する神経束において、多数の無髄軸索が、術後16時間ごろから、暗調化ならびに明調化変性<sup>2)</sup>に陥る。しかし、写真17に示すようなおかなりの正常な軸索が残存している。腺房間ならびに動脈壁の神経網内の多数の軸索および終末も術後16時間以後二次変性に陥った。しかしII型の終末は健全に残存していた(写真18, 19)。なお、術後24時間～2日の間に、神経網を構成する小神経束中において、腫大した同一のSchwann細胞内に、正常な神経終末と変性に陥った軸索ないし終末とが、同時に存在する所見にしばしば遭遇した(写真19)。腺房神経網における終末に関しては、検したいずれの時期においても、その明確な変性像をとらえることができなかったが、術後16時間～7日に、腺房神経網の終末の数の著しい減少がみら

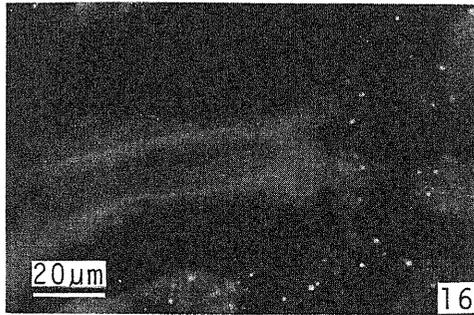


Photo. 16. Catecholamine fluorescence test in the denervated parotid gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy; complete disappearance of catecholamine fluorescence. Lysosomes in the glandular cells show yellow fluorescence but not bright green catecholamine fluorescence. FGS method;  $\times 480$ .

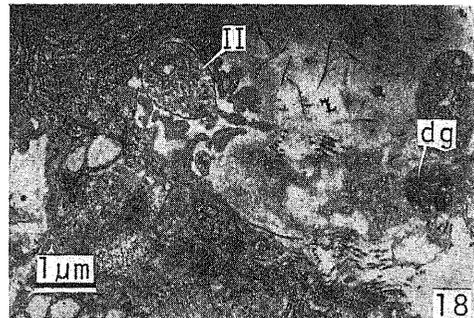


Photo. 18. A degenerating axon (dg) and a surviving type-II axonal expansion (II) in the nerve plexus around the acini in the denervated parotid gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy.  $\times 8,000$ .

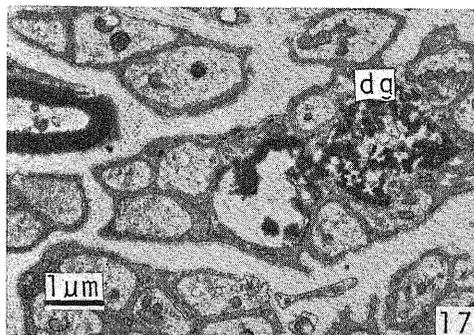


Photo. 17. Cross section of a nerve bundle running to the parotid gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy. Degenerating axons (dg), a surviving myelinated fiber and many unmyelinated axons are seen.  $\times 8,000$ .

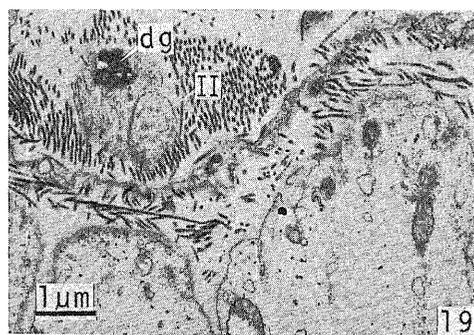


Photo. 19. A degenerating axon (dg) and a surviving type-II expansion (II) in the nerve plexus around the artery in the denervated parotid gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy.  $\times 8,000$ .

れた。この際残存している終末はすべてII型に属し、正常なI型終末は全く見いだされなかった。このことは、上頸神経節切除により腺内のすべてのI型終末が二次変性に陥ることを意味し、耳下腺に分布する無髄神経線維のうち、I型終末を形成するものが上頸神経節に由来することを示している。

## 2. 耳介側頭神経切断後の変化

写真銀法標本においては、腺房間・動脈壁・腺房神経網内の無髄線維軸索のうち一部のものが、術後16時間～2日に染色性の低下や小顆粒への断裂などの二次変性像を示し、術後7日までに、変性消失する。また腺門部から腺に進入する神経束内の有髄神経線維とその導管周囲終末も二次変性に陥る。しかし、術後16時間～7日のいずれの時期においても、腺内には、変性に陥ることなく残存する無髄神経軸索がなお多数見いだされた。

カテコールアミン蛍光検出法では、腺内に分布する

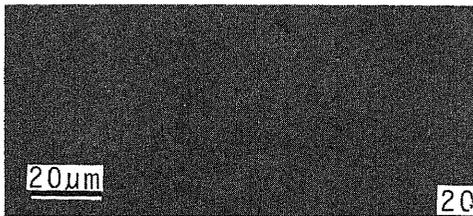


Photo. 20. Acetylcholinesterase activity test in the denervated parotid gland, 7 days after auriculo-temporal neurectomy; complete disappearance of acetylcholinesterase activity. Rubenic acid-enhancement method;  $\times 480$ .

蛍光陽性線維に、術後7日を経ても全く変化を認めなかった。

アセチルコリンエステラーゼ活性検出法によると、腺房間・動脈壁・腺房の諸神経網内のアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維が、術後16時間ごろより活性の減弱を示し始め、術後7日までにその活性は完全に消失した(写真20)。この実験結果は、耳下腺に分布するコリン作動性神経がすべて耳介側頭神経を經由して腺に至ることを示している。

耳介側頭神経切断後の電顕観察においては、写真21に示すように腺門部に進入する神経束内の一部の有髄および無髄線維軸索に変性を認めた。腺房間・動脈壁の神経網の一部の無髄線維軸索が、術後24時間に二次変性像を示し、術後7日までに変性消失する。一方、腺房神経網の軸索終末の一部のものは変性消失し、神経終末の数の減少を認めた。術後24時間～7日の試料において、二次変性に陥ることなく正常な微構造を保っている腺内無髄軸索とその終末はすべてI型に属し、正常なII型終末は全く見いだされなかった(写真22, 23)。このことは、耳介側頭神経切断によりII型神経終末が二次変性に陥ることを意味し、耳下腺に分布する無髄神経線維のうち、II型終末を形成するものが耳介側頭神経を經由して腺に至ることを示している。

## 3. 顔面神経切断後の変化

顔面神経切断後、写真銀法によると、腺門部の神経束内の約半数の有髄神経線維が、術後16時間～2日に二次変性像を示した。しかし、同神経束内の約半数の有髄線維と多くの無髄線維、および、腺内の各種神経

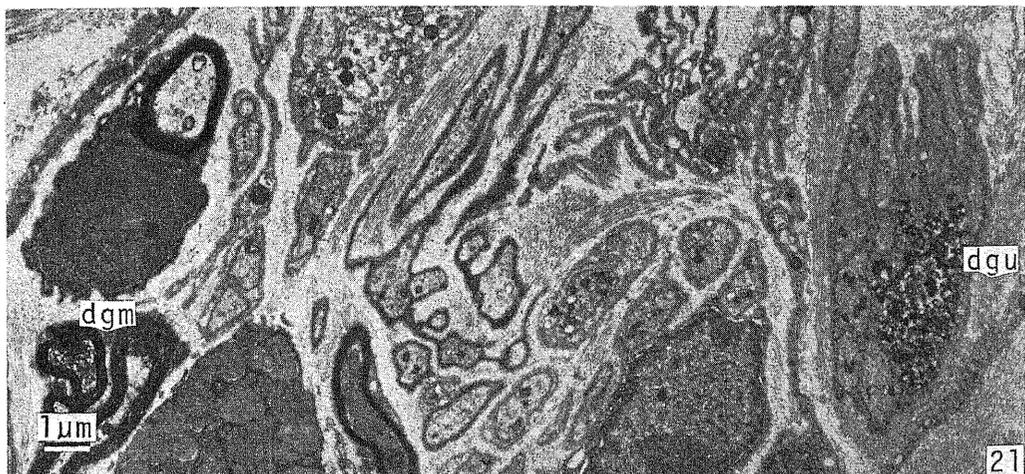


Photo. 21. Cross section of a nerve bundle running to the parotid gland, 24 hr after auriculo-temporal neurectomy. Degenerating myelinated fibers (dgm) and unmyelinated axons (dgu) are seen. A surviving myelinated fiber and unmyelinated axons are also seen.  $\times 5,800$ .

網内の無髄線維とその瘤状腫大終末は、術後16時間～7日にわたって全く変性を示さなかった。

組織化学的検索では、腺内のカテコールアミン蛍光ならびにアセチルコリンエステラーゼ活性には、術後変化が認められなかった。

電顕観察では、腺門部の神経束において、顔面神経切断後24時間に、写真24にみられるように一部の有髄線維が二次変性像を示した。これは耳下腺を貫き、広顎筋に分布する運動神経線維と考えられる。

### 考 察

I. マウス耳下腺細胞における分泌顆粒の微構造  
Parks<sup>36)</sup>はマウス耳下腺細胞の分泌顆粒が、オスミウム酸単独固定の場合、電子密度小な中心部と電子密度大な周辺部とからなる2層性を示すことを初めて報告した。彼はこの2層性が、組織固定などの標本作

製の過程で分泌顆粒が膨化したか、あるいは、分泌顆粒の成分の一部が失われたために生じた人工産物であると考えた。その後、Simson<sup>11)</sup>は、ラット耳下腺細胞の分泌顆粒が、種々の固定法を用いても常に2層性を示すが、イソプロテレノール投与による長期間分泌刺激を行なった後に形成される分泌顆粒では、その2層性が失われることを見いだした。この所見に基づいて彼は、正常な耳下腺分泌顆粒が示す2層性は化学組成の差によるものとした。また、Ichikawa<sup>ら<sup>37)38)</sup></sup>やIchikawa<sup>ら<sup>39)</sup></sup>は、スナネズミの耳下腺を用い、その分泌顆粒の周辺部が、PAS反応陽性で、電顕下でもメタナミン銀反応陽性であることから、耳下腺分泌顆粒の2層性は、分泌顆粒の中心部に蛋白質が集まり、周辺部に多量の多糖類が含まれていることによると報告した。

今回の検索により、新鮮組織を直ちにグルタルアルデヒド-オスミウム酸あるいは重クロム酸を含む固定液で固定した場合には、分泌顆粒の中心部が電子密度小に、周辺部が電子密度大になり、オスミウム酸固定の前にパラフォルムアルデヒドあるいはグルタルアルデヒドで十分に固定した場合には、中心部が電子密度大に、周辺部が電子密度小になることが分かった。この所見は、耳下腺分泌顆粒の中心部と周辺部における電子密度差が、組織固定法をかえることにより逆転するが、その2層構造は変わらず、これは中に含まれる物質の化学組成の相違によるものと考えられる。

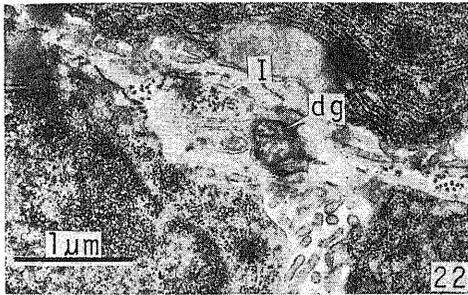


Photo. 22. A degenerating axon (dg) and a surviving type-I axonal expansion (I) in the nerve plexus around the acini in the denervated parotid gland, 24 hr after auriculo-temporal neurectomy.  $\times 16,000$ .

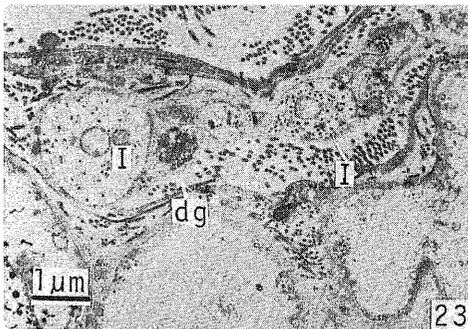


Photo. 23. A degenerating axon (dg) and surviving type-I axonal expansions (I) in the nerve plexus around the artery in the denervated parotid gland, 24 hr after auriculo-temporal neurectomy.  $\times 8,000$ .

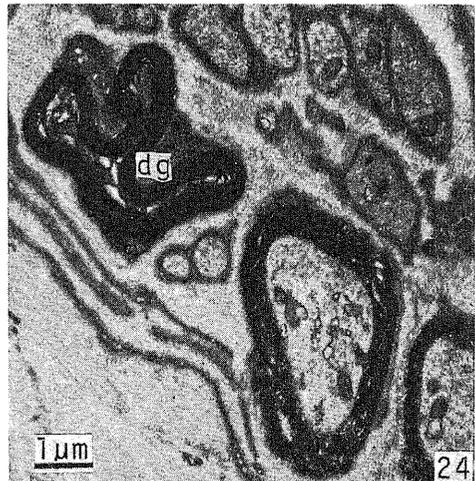


Photo. 24. Cross section of a nerve bundle running to the parotid gland, 24 hr after facial neurectomy. A degenerating myelinated fiber (dg) and surviving myelinated fibers and unmyelinated axons are seen.  $\times 8,000$ .

## II. マウス耳下腺の神経支配

Freitag ら<sup>9)</sup>はウサギ耳下腺で上頸神経節切除後、カテコールアミン蛍光は消失したが、アセチルコリンエステラーゼ活性には変化がなかったと報じている。この所見は、Garrett ら<sup>9)</sup>によりイヌでも確認された。

Garrett ら<sup>9)</sup>は、また、耳介側頭神経切断後、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維が大部分消失することも報告している。

今回、マウス耳下腺においても、上頸神経節切除後、腺内の神経終末に見られたカテコールアミン蛍光が消失し、耳介側頭神経切断後、腺内の神経終末に見られたアセチルコリンエステラーゼ活性が消失することが確認された。さらに同時に行なった電顕検査は、上頸神経節切除により、腺内に分布していた小顆粒性シナプス小胞を含む I 型神経終末が変性に陥り消失するが、このとき腺内に存在する無顆粒性シナプス小胞のみを含む II 型神経終末は残存することを、明らかにした。一方、耳介側頭神経切断後には、腺内の II 型終末は変性消失するが、I 型終末には変化がなかった。以上の組織化学的所見ならびに電顕所見から、耳下腺に分布している I 型終末が、上頸神経節に由来するアドレナリン作動性神経線維のシナプス終末であり、II 型終末が、耳介側頭神経を経由するコリン作動性神経線維のシナプス終末であることを明らかにした。

Kuntz ら<sup>4)</sup>は、ネコ、イヌ、サル、の耳下腺で、鍍銀法により、上頸神経節切除後と耳介側頭神経切断後とにおける残存する神経線維の分布密度を比較し、腺房では副交感神経の方が交感神経よりはるかに密に分布しているが、血管では交感神経の方が副交感神経より密に分布していると報じている。また、Genis-Galvez ら<sup>9)</sup>もネコで同様の二次変性実験を行ない、鍍銀法とヨウ化亜鉛・オスミウム法により、腺房における副交感神経の分布密度が交感神経のそれをかなり上まわることがを示し、耳下腺腺細胞に対して副交感神経支配が交感神経支配より優位を占めると主張している。

これに対して、薬理学的実験においては、ラット耳下腺で、アドレナリン作動薬であるイソプロテレノール投与により多数の分泌顆粒の放出がみられ<sup>10-12)</sup>、コリン作動薬であるカルバコールは分泌顆粒の放出作用が弱いことが確認されている<sup>13)</sup>。また生理学的実験においても、ウサギ、ネコ、ラットの耳下腺で、交感神経刺激が著しい分泌物の放出を引き起こすことが知られている<sup>20-22)</sup>。

今回の検索によればマウス耳下腺の場合、アドレナリン作動性の交感神経終末と考えられる I 型終末と、コリン作動性の副交感神経終末と考えられる II 型終末との、腺房神経網における分布比は約 3 : 1 であり、

腺房間神経網でもその比は約 2 : 1 で、I 型終末の分布密度ははるかに II 型終末のそれを上まわっていた。この所見は、マウスでは交感神経がその終末の数で優位であることを意味し、上記の薬理学的実験や生理学的実験の結果とよく符号する。

耳下腺を支配する副交感神経の走路に関しては、ヒトおよび種々の哺乳類における神経走路の肉眼検査に基づき<sup>23)40)</sup>その節前線維は、延髄の下唾液核を発し、舌咽神経より鼓室神経、鼓室神経叢、小錐体神経を経て耳神経節に入り、そこで神経細胞に終わると考えられている。また耳神経節の神経細胞から発した節後線維は、交通枝を経て耳介側頭神経に入り、耳介側頭神経を経由して耳下腺に至るとされている。しかし、近年 Garrett<sup>9)</sup>はイヌで耳介側頭神経切断のみでは耳下腺内のアセチルコリンエステラーゼ活性が完全に消失しないと報じている。また、Porto ら<sup>24)</sup>もネコで、顔面神経を茎乳突孔の近くで切断し、その末梢を電気刺激することにより、耳下腺からの唾液流出を引き起こすことができたことと報じている。この報告は、耳神経節からの節後線維の一部が、鼓室神経叢から顔面神経に入り、その末梢枝を経由して耳下腺に達することを示唆している。しかし本研究における神経切断実験の結果は、マウスの場合、耳下腺に分布するコリン作動性神経が、すべて耳介側頭神経を経由することを示した。ただし、今回の連続切片の再構築法による神経走路の検索は、これらのコリン作動性線維が、耳介側頭神経と顔面神経とが交叉する部で、交通枝を経て顔面神経に入り、ついで顔面神経から発する耳下腺枝を通過して耳下腺に至ることを示唆している。

耳下腺を支配する交感神経の走路に関しては、ヒトの肉眼的解剖所見に基づき<sup>40)41)</sup>節前線維が胸髄上部の側柱の神経細胞から起こり脊髄神経の前根、白交通枝を経て、交感神経幹に入り、これを上行して上頸神経節に至り、この部の神経細胞に終わるとされている。また、上頸神経節の神経細胞から発した節後線維は、外頸動脈神経叢に入り、耳神経節への交感根を通過して耳神経節に入るが、これを通過し、以後、前述の副交感神経線維と同じ走路を通過して耳下腺に至ると考えられている。一方、内頸動脈神経叢からは上・下頸鼓神経が発し、鼓室神経叢と連絡していることが知られている。また大久保<sup>23)</sup>はネコやブタで内頸動脈神経叢と耳神経節との間に、交通枝の存在を確認している。これらの所見は、交感神経線維の一部が外頸動脈神経叢のほか、内頸動脈神経叢からも耳神経節に入り、副交感神経線維と共に耳介側頭神経を経由して、耳下腺に至る可能性を示唆している。しかし、Garrett<sup>9)</sup>はイヌで、耳介側頭神経を切断しても、耳下腺に分布するカテ

コールアミン蛍光陽性線維に変化が認められないことを示し、今回、マウスにおいてもそのことが確認された。この所見は、アドレナリン作動性の交感神経節後線維が耳介側頭神経を經由して耳下腺に至るとする従来の説を否定するものである。今回の神経走路の光顕再構築観察によれば、上頸神経節を発した節後線維は、外頸動脈神経叢を構成しつつ、外頸動脈と共に末梢へ走り、外頸動脈が顔面神経と交叉する部で一部のものが神経叢から分かれ、顔面神経から発する耳下腺枝に合流して腺に分布すると考えられる。

今回、マウス耳下腺において、腺門部より進入する神経束に、多数の無髄線維のほかにも少数の小径有髄線維が含まれていることが、光顕ならびに電顕下に見いだされた。耳下腺に分布する有髄線維に関する報告は、いまだこれを見ないが、中村<sup>(2)</sup>はマウス顎下腺と舌下腺で、腺門部に有髄線維を見だし、同時にこの有髄線維が、導管周囲で求心性終末を形成することを報じている。今回の光顕検索でも、有髄線維は、耳下腺の導管周囲で髓鞘を脱し、比較的単純な分岐性の遊離終末を形成することが確認された。今回見いだされた有髄線維は、上頸神経節を切除した後、二次変性に陥ることはなかった。しかし、耳介側頭神経切断後に、変性に陥る有髄線維が確認され、同時に導管周囲の求心性終末も変性に陥ることが見いだされた。このことは、マウス耳下腺には、三叉神経に属する求心性神経線維が、耳介側頭神経を経て腺に至り、導管近傍に分布していることを示している。

## 結 論

耳下腺の構造と神経支配を、正常ならびに諸神経切断後のマウス耳下腺について検し、次の結果を得た。

1. 耳下腺腺細胞の分泌顆粒は、中心部と周辺部で電子密度の異なる2層性を示す。中心部はパラフォルムアルデヒドやグルタルアルデヒドで良く固定され、周辺部はオスミウム酸や重クロム酸に親和性を示す。
2. 導管および血管に伴行して耳下腺に入った無髄神経線維は、微細神経束からなる腺房間神経網、動脈壁神経網および腺房神経網を形成する。無髄軸索はその走路に瘤状に腫大した神経終末を形成している。
3. 腺内の神経網はカテコールアミン活性陽性の線維とアセチルコリンエステラーゼ活性陽性の線維からなる。前者は後者よりも多い。
4. 上頸神経節切除後、カテコールアミン活性陽性の線維は変性消失する。耳介側頭神経切断後、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性の線維は変性消失する。
5. 電子顕微鏡的には、上記の軸索腫大部には多数

のシナプス小胞が見られ、この部でSchwann細胞が欠如し、腺房間神経網と動脈壁神経網のものは遠距離シナプスを呈し、腺房のものはSchwann細胞の鞘を欠き、腺細胞間、腺細胞と筋上皮細胞の間、あるいは腺細胞と基底膜の間に位置し密接シナプスを呈する。

6. いずれの神経網においても腫大した終末は、小顆粒性小胞を含むI型と無顆粒性小胞を含むII型に区分される。I型は上頸神経節切除後変性する。II型は耳介側頭神経切断後変性に陥る。I型は上頸神経節由来のアドレナリン作動性神経の終末であり、II型は耳神経節由来のコリン作動性神経の終末である。

7. I型とII型の数比は、腺房間神経網では2:1、動脈壁神経網では7:1、腺房神経網では3:1であった。

8. 有髄線維の一部は導管の周囲に遊離終末を形成する。その他の有髄線維は腺を貫通し広頸筋に分布する。

## 謝 辞

稿を終るにあたって、研究の御指導と御校閲を賜った恩師本陣良平教授に深甚なる感謝の意を表します。また本研究に際し、いろいろ御協力をいただきました解剖学教室の山下利夫助教授、宮下鎮憲技官に深謝いたします。また電子顕微鏡室の西村竹治郎氏、山口稔毅氏、山口浩明氏に厚く御礼を申し上げます。

## 文 献

- 1) Pavlov, I. P.: 条件反射学 (林訳), 37-43頁, 三省堂, 東京, 1937.
- 2) Scott, B. L. & Pease, D. C.: Electron microscopy of the salivary and lacrimal glands of the rat. *Am. J. Anat.*, **104**, 115-140 (1959).
- 3) Arnstein, C.: Zur Morphologie der sekretorischen Nervenendapparate. *Anat. Anz.*, **10**, 410-422 (1895).
- 4) Kuntz, A. & Richins, C. A.: Components and distribution of the nerves of the parotid and submandibular glands. *J. Comp. Neurol.*, **85**, 21-32 (1946).
- 5) Genis-Galvez, J. M., Gutierrez, L. S. & Lopez, M. M.: On the double innervation of the parotid gland. *Acta Anat.* **63**, 398-403 (1966).
- 6) Fujiwara, M., Tanaka, T., Honjo, T. & Okegawa, T.: Histochemical demonstration of noradrenaline in rat salivary glands. *Jpn. J. Pharmacol.*, **15**, 369-377 (1965).
- 7) Norberg, K. A. & Olson, L.: Adrenergic innervation of the salivary glands in the rat. *Z. Zellforsch.*, **68**, 183-189 (1965).

- 8) Freitag, P. & Engel, M. B.: Autonomic innervation in rabbit salivary glands. *Anat. Rec.*, **167**, 87-106 (1970).
- 9) Garrett, J. R. & Holmberg, J.: Effects of surgical denervations on the autonomic nerves in parotid glands of dogs. *Z. Zellforsch.*, **131**, 451-462 (1972).
- 10) Johnson, D. A. & Sreebny, L. M.: Effect of isoproterenol on synthesis and secretion in the rat parotid gland. *Lab. Invest.*, **28**, 263-269 (1973).
- 11) Simson, J. A. V., Spicer, S. S. & Hall, B. J.: Morphology and cytochemistry of rat salivary gland acinar secretory granules and their alteration by isoproterenol. *J. Ultrastruct. Res.*, **48**, 465-482 (1974).
- 12) Leslie, B. A., Putney, J. W. & Sherman, J. M.:  $\alpha$ -Adrenergic,  $\beta$ -adrenergic and cholinergic mechanisms for amylase secretion by rat parotid gland *in vitro*. *J. Physiol. (Lond.)*, **260**, 351-370 (1976).
- 13) Herman, G., Busson, S., Ovtracht, L., Maurus, C. & Rossignor, B.: Regulation of protein discharge in two exocrine glands: Rat parotid and exorbital lacrimal glands. *Biol. Cell.*, **31**, 255-264 (1978).
- 14) Hand, A. R.: Adrenergic and cholinergic nerve terminals in the rat parotid gland. Electron microscopic observations on permanganate-fixed glands. *Anat. Rec.*, **173**, 131-140 (1972).
- 15) Bogart, I. B.: Adrenergic innervation of the rat submandibular and parotid glands. An electron microscopic autoradiographic study of the uptake of tritiated norepinephrine. *Anat. Rec.*, **177**, 219-224 (1973).
- 16) Garrett, J. R.: The autonomic innervation of rabbit salivary glands studied electron microscopically after 5-hydroxydopamine administration. *Cell Tissue Res.*, **178**, 551-562 (1977).
- 17) Ekström, J. & Emmelin, N.: The secretory innervation of the parotid gland of the cat: An unexpected component. *Q. J. Exp. Physiol.*, **59**, 11-17 (1974).
- 18) Schneyer, C. A. & Hall, H. D.: Comparison of rat salivas evoked by auriculo-temporal and pilocarpine stimulation. *Am. J. Physiol.*, **209**, 484-488 (1965).
- 19) Emmelin, N., Garrett, J. R. & Ohlin, P.: Neural control of salivary myoepithelial cells. *J. Physiol. (Lond.)*, **196**, 381-396 (1968).
- 20) Fritz, M. E.: Functional innervation of rabbit salivary gland. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **137**, 776-779 (1971).
- 21) Thulin, A.: Influence of autonomic nerves and drugs on myoepithelial cells in parotid glands of cat. *Acta Physiol. Scand.*, **93**, 477-482 (1975).
- 22) Thulin, A.: Motor and secretory effects of nerves on the parotid gland of the rat. *Acta Physiol. Scand.*, **96**, 506-511 (1976).
- 23) 大久保真人: 家畜の耳神経節の肉眼的形態について. *解剖誌*, **54**, 322-333 (1979).
- 24) Porto, A. F., Proud, G. O. & Norris, C. W.: Secretory innervation of the parotid gland. *Otolaryngol. Head. Neck. Surg.*, **89**, 16-19 (1981).
- 25) Pinkstaff, C. A.: The cytology of salivary glands. *Int. Rev. Cytol.*, **63**, 141-261 (1980).
- 26) Honjin, R.: On the nerve supply of the lung of the mouse, with special reference to the structure of the peripheral vegetative nervous system. *J. Comp. Neurol.*, **105**, 587-626 (1956).
- 27) Nakamura, T.: Application of the Faglu method (Furness et al.) for the histochemical demonstration of catecholamine to the cryostat section method. *Acta Histochem. Cytochem.*, **12**, 182 (1979).
- 28) Nakamura, T. & Torigoe, K.: Simultaneous visualization of catecholamine fluorescence and cholinesterase activity in the peripheral autonomic nerve. *Acta Histochem. Cytochem.*, **12**, 569 (1979).
- 29) 大和一夫: Chromatolysis の電子顕微鏡的解析. *十全医会誌*, **60**, 510-528 (1958).
- 30) 佐藤泰山: 超薄切片用鉛染色法の一改良法. *J. Electron Microsc. (Tokyo)*, **17**, 158-159 (1968).
- 31) Tranzer, J.-P. & Richards, J. G.: Ultrastructural cytochemistry of biogenic amines in nervous tissue: Methodologic improvements. *J. Histochem. Cytochem.*, **24**, 1178-1193 (1976).
- 32) Jabonero, V.: Die plexiforme Synapse auf Distanz und die Bedeutung der sogenannten interkalären Zellen. *Acta neuroveg.*, **19**, 276-302 (1959).
- 33) Honjin, R., Takahashi, A. & Tasaki, Y.: Electron microscopic studies of nerve endings in the mucous membrane of the human intestine. *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, **40**, 409-427 (1965).
- 34) Richardson, K. C.: The fine structure of

autonomic nerve endings in smooth muscle of rat vas deferens. *J. Anat.*, **96**, 427-442 (1962).

35) 中泉裕子: マウス外涙腺の神経支配, 特に腺内神経終末の超微構造と導管伴行神経束切断後の神経終末および腺細胞の変化について. *十全医会誌*, **86**, 686-713 (1977).

36) Parks, H. F.: On the fine structure of the parotid gland of mouse and rat. *Am. J. Anat.*, **108**, 303-329 (1961).

37) Ichikawa, M. & Ichikawa, A.: The fine structure of the parotid gland of the mongolian gerbil, *Meriones meridianus*. *Arch. Histol. Jpn.*, **38**, 1-16 (1975).

38) Ichikawa, M. & Ichikawa, A.: Light and electron microscopic histochemistry of the serous secretory granules in salivary glandular cells of the

mongolian gerbil (*Meriones meridianus*) and rhesus monkey (*Macaca irus*). *Anat. Rec.*, **189**, 125-140 (1977).

39) Ichikawa, A., Ichikawa, M. & Hirokawa, N.: The ultrastructure of rapid-frozen substitution fixed parotid gland acinar cells of the mongolian gerbil (*Meriones meridianus*). *Am. J. Anat.*, **157**, 107-110 (1980).

40) Mitchell, G. A. G.: Anatomy of the autonomic nervous system, p 169-175, E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh & London, 1953.

41) Warwick, R. & Williams, P. L.: Gray's anatomy, 35th ed., p 1211, Longman, Norwich, 1973.

42) 中村俊雄: 顎下腺および舌下腺の神経支配について. *解剖誌*, **35**, 162-209 (1960).

**Structure and Innervation of Mouse Parotid Gland** Masao Inoue, Department of Anatomy, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - *J. Jusen Med. Soc.*, **93**, 534-549 (1984)

**Key words:** Parotid gland, Adrenergic nerve fibers, Cholinergic nerve fibers, Mouse

#### Abstract

The structure and the innervation of the mouse parotid gland were studied by histochemistry and electron microscopy. The secretory granules of the mouse parotid acinar cell were composed of two parts, central and peripheral which were different in electron density from each other. The photographic silver method showed that the parotid gland was supplied with many unmyelinated nerve fibers forming fine nerve plexuses around and within the acini and around the arteries. The nerve fibers exhibited many varicosities along their course in the plexuses. The histochemical techniques demonstrated catecholamine fluorescence and acetylcholinesterase activity in these nerve plexuses. After superior cervical ganglionectomy the catecholamine-positive fibers disappeared, while after auriculo-temporal neurectomy the acetylcholinesterase-positive fibers vanished. In electron micrographs, the varicosities were revealed as axonal expansions containing many synaptic vesicles and mitochondria. The axonal expansions around the acini and the arteries were so-called distant synapses, while the axonal expansions within the acini were so-called contact synapses. The expansions could be classified into two types; type-I always had small granular vesicles and type-II did many agranular vesicles. After superior cervical ganglionectomy, type-I expansions disappeared, while after auriculo-temporal neurectomy, type-II expansions degenerated. These histochemical and electron microscopical observations indicated that type-I expansions corresponded to the synaptic endings of adrenergic fibers originating from the superior cervical ganglion, and that type-II expansions corresponded to the synaptic endings of the cholinergic fibers probably derived from the otic ganglion. The ratio of type-I : type-II in number was 2:1 in the nerve plexus around the acini, 7:1 in the nerve plexus around the arteries and 3:1 in the nerve plexus within the acini. The parotid gland was also supplied with a few thin myelinated sensory fibers derived from the auriculo-temporal nerve.