

ブタ十二指腸腺の複合糖質の 組織化学的研究

竹花一成*・阿部光雄*

Histochemistry of Complex Carbohydrates in the Duodenal Glands in the Pig

Kazushige TAKEHANA and Mitsuo ABE

(May 1986)

緒 論

十二指腸腺は小腸上部の粘膜下組織に存在する外分泌腺で、1679年 Wepfer により発見され 1688年 Brunner により Brunner 腺と命名された。1846年 Middeldorf はこの腺が哺乳類にのみ存在することを初めて記載した。この十二指腸腺の分泌物は消化機能上重要な働きをしていることはよく知られている。この腺の分布範囲、分布密度、腺細胞の形態、分泌物の複合糖質について組織化学および生化学的検索により動物種によりかなり異なる^{3,4,11,12,20~25,27,30} これらの差異は食性による腺の生理機能によると考えられている。この腺の分泌物である複合糖質をさらに組織化学的に糖残基のレベルまで研究した論文は少ない^{19,25,26,28}。

本研究は、ブタ十二指腸腺に含まれる複合糖質を、近年著しく発達した組織化学的手技を用いて組織化学的に解明した。

材料および方法

本研究では17頭のランドレースとハンプシャー F₁ 種のブタ (6カ月) を用いた。

光顕用材料は採取後直ちに2% 酢酸カルシウム-10% ホルマリン溶液に48時間固定後、常法に従い、アルコール系列にて脱水後パラフィンに包埋、5 μ m 厚の切片を作製し、脱パラフィン後以下の染色法を施し観察した。

* 獣医学科, 家畜解剖学教室

Department of Veterinary Medicine (Veterinary Anatomy), Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069, Japan

1. 組織学的方法

ヘマトキシリン—エオジン (H・E)

2. 組織化学的反應

過ヨウ素酸-SCHIFF (PAS)¹⁸⁾アルシアン青 (AB) (pH 1.0) (I.C.I., England)¹⁸⁾" (pH 2.5) " ¹⁸⁾AB (pH 2.5)-PAS¹⁸⁾テトラゾニウム塩 (TZ)³⁴⁾ペルオキシダーゼ標識 (PO)-レクチン (LT)-ジアミノペンチデン (DAB)⁹⁾

本研究に使用したレクチンは Table 1 に示したような性状を有する。

Table 1. Lectins used in histochemical studies

Lectin (Agglutinin)	Carbohydrate specificity	Inhibitory sugar
Concanavalin A (Con A)	α -D-Mannose, α -D-Glucose	Glucose
Peanut agglutinin (PNA)	β -D-Gal(1 \rightarrow 3)-D-GalNAc	Lactose
<i>Ricinus communis</i> agglutinin-I (RCA-I)	β -D-Galactose	Gal
<i>Ulex europaeus</i> agglutinin-I (UEA-I)	α -L-Fucose	α -Fucose
<i>Dolichos biflorus</i> agglutinin (DBA)	N-Acetyl- α -D-Galactosamine	GalNAc
Wheat germ agglutinin (WGA)	N-Acetyl- β (1 \rightarrow 4)-D-Glucosamine, Sialic acid	GlcNAc
<i>Limulus polyhemus</i> agglutinin (LPA)	Sialic acid	Sialic acid
Soy bean agglutinin (SBA)	N-Acetyl-D-Galactosamine, D-Galactose	Gal
<i>Maclura pomifera</i> agglutinin (MPA)	Galactose	Gal
<i>Griffonia simplicifolia</i> -I (GS-I)	α -Galactose	Gal
<i>Griffonia simplicifolia</i> -II (GS-II)	α -N-Acetyl Glucosamine	GlcNAc

Lectins were obtained from E. Y. Laboratories, U.S.A.

3. 各組織化学的反應の確認および対照

1) 化学的修飾法

硫酸化 (SUL)-AB (pH 1.0)⁹⁾

2) 酵素消化法

 α -アミラーゼ (AMYL) (SIGMA, U.S.A.)-PAS⁹⁾シアリダーゼ (SIAL) (半井化学, 日本)-AB pH 2.5)⁹⁾

3) レクチン反応の対照

Table 1 に示したような各レクチンに対する阻害糖を 1.0 mM の濃度でレクチン反応液に加えて対照とした。また組織内の内因性ペルオキシダーゼの局在を知るために DAB のみで処理した対照染色も同時に実施した。

電顕用材料は、2.5% グルタルアルデヒドにより固定後、脱水、Lowicryl K4M¹⁵⁾ に包埋し、過ヨウ素酸 (PA)-チオカルボヒドラジド (TCH)-蛋白銀 (SP)⁹⁾ 反応を行なった。

また、一方 2.5% グルタルアルデヒドと 2% 四酸化オスミウムによる固定後、常法に従い Quetol-812 に包埋し、ウランと鉛による二重染色を施し、JEM-100S にて観察した。

結 果

ブタ十二指腸腺は、幽門部後位約 60~80 cm 付近まで存在した。本研究に使用した幽門より後方 5 cm の部分では十二指腸腺は粘膜下組織全体に脂肪組織と混じり合うように発達していた (Fig. 1)。また、導管は腸腺の基部に開口するものも認められた (Fig. 2)。腺上皮は単層円柱上皮より成り、卵円形の核は基底に圧迫され位置し、細胞質は全体にエオジン好性の分泌物で満されていた (Fig. 3)。電顕的に腺上皮には細胞質全体に径 0.5~1 μ m 程度の電子密度の低い分泌物が認められた (Fig. 4)。この分泌物は径 280 nm 程度の電子密度の高い部分を有していた (Fig. 5)。

ブタの十二指腸腺の複合糖質の組織化学的反応の結果は Table 2 のようであった。

十二指腸腺の細胞質全体に認められる分泌物は PAS で種々の程度の反応を示した (Fig. 6)。AMYL-PAS においてもその反応性の低下は認められなかった。また、PA-TCH-SP 反応ですべての分泌物、微絨毛およびゴルジ装置に反応を認めた (Figs. 7~9)。しかし、分泌物の中に認められた径 280 nm 程度の電子密度の高い部分の反応性は他の分泌物の部分に比べ著しく低かった (Fig. 10)。

AB (pH 1.0) においては腺細胞全体に認められる分泌物は一様に弱い反応を示し (Fig. 11)、硫酸化によりその染色性は明らかに増強した。AB (pH 2.5) においては分泌物は種々の程度の反応を示し (Fig. 12)、SIAL-AB (pH 2.5) によりすべての分泌物の反応性は減弱した。AB (pH 2.5)-PAS においては PAS により強く反応したものは赤紫色に反応し、逆に弱く反応したものは青紫色に反応した (Fig. 13)。TZ に対する分泌物の反応も認められた。

十二指腸腺腺細胞の PO-LT-DAB に対する反応は用いたレクチンの種類により、その染色性に差異が認められた。すなわち、PO-DBA-DAB, PO-RCA-1-DAB, PO-GS-1-DAB 以外の 8 種のレクチンにその反応性が認められた。PO-Con A-DAB, PO-LPA-

Table 2. Histochemical carbohydrate reaction of duodenal glands in the pig

Reactions	Epithelial cells	
	Granules in the cytoplasm	Free surface
PAS	1-3	1-3
AB (pH 1.0)	1	1
AB (pH 2.5)	1-3	1-3
AB (pH 2.5)-PAS	1-3	1-3
SUL-AB (pH 1.0)	2-3	2-3
AMYL-PAS	1-3	1-3
TZ	2	2
Con A	2	2
PNA	1-3	1-3
RCA-I	0	0
UEA-I	1-3	1-3
DBA	0	0
WGA	1	2
LPA	2	2
SBA	1-3	1-3
MPA	1-3	1-3
GS-I	0	0
GS-II	1	2

Staining intensities 0=negative, 1=weak, 2=moderate, 3=strong

DAB では、腺細胞は一様に反応し (Fig. 14), PO-GS-II-DAB, PO-WGA-DAB では細胞の遊離端近くが特に強く反応した (Figs. 15, 16)。これらの PO-LT-DAB では PAS において認められた腺細胞間における反応性の差は認められなかった。しかし、PO-PNA-DAB, PO-SBA-DAB, PO-UEA-1-DAB, PO-MPA-DAB では細胞間における反応性の差が認められた。PO-PNA-DAB, PO-SBA-DAB では、PAS に強く反応するものを有する腺細胞は、PAS に弱く反応するものを有する腺細胞に比べ弱く反応した (Figs. 17, 18)。また、PO-UEA-1-DAB, PO-MPA-DAB では、PAS に強く反応するものを有する腺細胞は、PAS に弱く反応するものを有する腺細胞に比べ強く反応した (Figs. 19, 20)。

考 察

十二指腸腺の解剖学的研究は Wepfer の発見以来、その分布範囲^{1,11,12,22~25)}、分布密度^{1,11,12,22~25)}、光顕的な腺の構成細胞の種類^{4,20,22~28)}、電顕的な腺の構成細胞の形態^{2,6,13,14)}など各種動物について数多く行なわれている。しかし、消化生理学的に重要な働きを行なっていると考えられている十二指腸腺より分泌される分泌物の組成についての組織化学的

な報告は少ない^{5,7,17,19,21~28})。特に、近年 Hotchiss による過ヨウ素酸-shiff 反応の導入に端を発する上皮性粘液の組織化学は、1950年代におけるコロイド鉄、アルシアン青、アルデヒドフクシン法などの実用化、さらには1960年代の Scott による臨界電解質濃度理論の応用、そして Spicer の高鉄ジアミン法の開発に至ってその頂点に達した感があり⁸)、この新しい組織化学的手技を用いた研究が数多く行なわれている。

十二指腸腺の分泌物の複合糖質の組織化学的研究により、マウス^{17,28})、ラット¹⁷)、ウサギ¹⁷)、ネコ^{17,24})、イヌ^{17,22})、ハムスター¹⁷) では中性糖、ブタ^{17,21})、ヒツジ¹⁷)、ウシ^{17,26})、モルモット¹⁷) では酸性糖、ウマ^{17,21,27}) ではカルボキシル基を含有する酸性糖を含むことが明らかになっている。本研究におけるブタの幽門部後位約5cmの十二指腸腺においては、細胞質全体に含まれる分泌物はPASにより種々の程度に反応し、この反応は α -アミラーゼ消化により反応性は低下せず、この分泌物にはグリコーゲンが認められなかった。これは、ウマ^{21,27})、ウシ²⁶)、イヌ²²)、シカ²³)、ネコ²⁴) およびミンク²⁵) の結果と一致する。また、この分泌物はPASのほか、AB (pH 1.0)、AB (pH 2.5)にも反応し、硫酸化によりその反応性が增強され、SIAL-AB (pH 2.5)においてその反応性が低下したことにより、この分泌物中には中性糖およびシアル酸を含む酸性糖質が存在した。これらは、TZにおいても反応することから腺細胞における分泌物は糖タンパク質として存在することが明らかである。

電顕レベルでの糖の分布を観察する方法の一つとして、切片を過ヨウ素酸により酸化し、そして生じるアルデヒド基とチオカルボヒドラジを反応させ、それを蛋白銀を用いて可視化する方法 (PA-TCH-SP 反応) が1967年 Thiery²⁹) により開発された。しかし、この方法を用いた十二指腸腺の糖質の電顕的な研究は現在まで認められない。今回の観察により、分泌物、微絨毛およびゴルジ装置に反応が認められた。糖蛋白質の細胞内における形成に関する Meutra and Leblond¹⁶) のオートラジオグラフによる報告では、糖蛋白質における蛋白の部分は粗面小胞体で合成されゴルジ装置へと送られ、一方糖の部分はゴルジ装置で合成され、両者がゴルジ装置内で結合するとしている。今回ブタ十二指腸腺において、PA-TCH-SP 反応で分泌物およびゴルジ装置に反応を認めたことから本細胞における糖蛋白質の糖質の部分もゴルジ装置において形成されるものであると考えられる。また、分泌物内に認められた径280nm程度のPA-TCH-SP反応の反応性の低い部分は、糖蛋白質の蛋白の部分であると考えられる。北村と中村¹⁰) の報告では、ラット膵臓の内分泌部および外分泌部にPA-TCH-SP反応の改良法であるPA-TCH-SP-PD反応により、従来単純蛋白質と考えられていた酵素原顆粒および内分泌顆粒にも反応を認めている。このことは今回十二指腸腺の分泌物の蛋白質の部分と考えられる径280nm程度の部分にも反応を

認めたことにより、北村と中村¹⁰⁾の報告と同様、この部分に糖質近接水酸基を含有するものと考えられる。

近年、複合糖質に含まれる糖残基と特異的に結合するレクチンが発見され、糖の性質や構造を生化学的に解明するために有効な手段となり、腸粘膜^{31,33)}および副生殖腺³²⁾においてレクチンによる糖残基の解明が数多くなされている。

本研究においては、中性糖残基に結合するレクチンとして Con A, PNA, RCA-1, UEA-1, DBA, WGA, SBA, MPA, GS-I, GS-II および酸性糖残基、特にシアル酸と結合する LPA を用いて十二指腸腺の腺細胞の糖蛋白質における糖の局存を明らかにした。その結果、ブタ十二指腸腺には、Con A, PNA, UEA-1, WGA, SBA, MPA, GS-II および LPA の 8 種のレクチンに種々の程度の反応を認めた。このことにより、本細胞における糖蛋白質の糖鎖には、 α -D-マンノース、 α -D-グルコース、 β -D-ガラクトース (1 \rightarrow 3)-D-N-アセチル-ガラクトサミン、 α -L-フコース、N-アセチル- β (1 \rightarrow 4)-D-グルコサミン、N-アセチル-D-ガラクトサミン、ガラクトース、 α -N-アセチル-グルコサミンおよびシアル酸残基を含むことが明らかになった。ブタ十二指腸腺においては DBA, RCA-1, GS-I に対する反応が認められず、ミンク²⁵⁾における報告と同様の結果であった。しかし、ラットの十二指腸腺において Suzuki ら¹⁹⁾は RCA-1 に対する反応を認めている。このように、十二指腸腺の腺細胞における糖蛋白質内の β -D-ガラクトース残基の存在は動物種により異なっているものと考えられる。また、今回 PAS に強く反応した分泌物を有する腺細胞は PNA, SBA に対し弱く反応し、UEA-1, MPA には強く反応した。これは腺細胞における分泌物の完成とこれらの糖残基との間に何らかの関係があるものと考えられる。

要 約

ブタ十二指腸腺の腺細胞の複合糖蛋白質について、糖質の新しい組織化学的検出法を用いて観察した。

本腺細胞の細胞質には中性ならびに酸性糖蛋白質が存在していた。中性糖質の糖鎖には α -D-マンノース、 α -D-グルコース、 β -D-ガラクトース (1 \rightarrow 3)-D-N-アセチル-ガラクトサミン、 α -L-フコース、N-アセチル- β (1 \rightarrow 4)-D-グルコサミン、N-アセチル-D-ガラクトサミン、ガラクトース、 α -N-アセチル-グルコサミン残基を含み、酸性糖質の一部にシアル酸残基を含んでいた。またこの糖残基のなかで、 β -D-ガラクトース (1 \rightarrow 3)-D-N-アセチル-ガラクトサミン、N-アセチル-D-ガラクトサミン残基と α -L-フコース、ガラクトース残基の腺細胞における存在は対照的であった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御助言、御協力いただいた本学獣医学科、岩佐憲二助教授、平賀武夫講師に感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨は第91回日本解剖学会(1986年4月)で報告した。

文 献

- 1) Carleton, A., 1935. The distribution of Brunner's glands in the duodenum of mammals. *Proc. Zool. Soc.*, **1**: 385-390.
- 2) Cochrane, W., D. V. Davies, A. J. Palfrey and R. A. Stockwell, 1964. The histochemistry and electron microscopy of Brunner's glands in the guinea pig. *J. Anat.*, **98**: 1-10.
- 3) Cooke, A. R., 1967. The glands of Brunner, In *Handbook of Physiology*. Vol. 2, (C. F. Code, ed.), 1087-1095, American Physiological Society, Washington.
- 4) Elias, H., 1947. Comparison of duodenal glands in domestic animals. *Am. J. Vet. Res.*, **8**: 311-313.
- 5) Florey, H. W. and H. E. Harding, 1934. Further observations on the secretion of Brunner's glands. *J. Pathol. Bacteriol.*, **39**: 255-276.
- 6) Friend, D. S., 1965. The fine structure of Brunner's glands in the mouse. *J. Cell Biol.*, **25**: 563-576.
- 7) Grossman, M. I., 1958. The glands of Brunner. *Physiol. Rev.*, **38**: 675-690.
- 8) 勝山 努・那須 毅, 1977. コンカナバリン A パラドックス染色法について. *医学のあゆみ*, **101**: 126-127.
- 9) 勝山 努・小野謙三, 1985. 糖タンパク質, 組織細胞化学の技術, 核酸と糖. (小川和朗, 中根一穂, 小田琢三, 平野 寛, 藤田哲也, 山田和順 編集), 247-289, 朝食書店, 東京.
- 10) 北村裕和・中村三雄, 1986. ラット膵臓組織における糖質近接水酸基の PA-TCH-SP-PD 法による光顕および電顕的検出. 第101回日本獣医学会講演要旨集, 11.
- 11) Krause, W. J., 1972. The distribution of Brunner's glands in 55 marsupial species native to the Australian region. *Acta Anat.*, **82**: 17-33.
- 12) Landbøe-Christensen, E., 1944. Staining of the duodenal glands of Brunner in gross specimens of the duodenum in man. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **21**: 374-379.
- 13) Lesson, C. R. and T. S. Lesson, 1966. The fine structure of Brunner's glands in the rat. *Anat. Rec.*, **156**: 253-268.
- 14) Lesson, C. R. and T. S. Lesson, 1968. The fine structure of Brunner's glands in man. *J. Anat.*, **103**: 263-276.
- 15) 村田長芳・菅沼龍夫・津山新一郎・鈴木信太郎・榎園信正, 1984. Lowicryl K4M の簡便包埋法とレクチン・コロイド金染色. *医学のあゆみ*, **131**: 669-671.
- 16) Neutra, M. and C. P. Leblond, 1966. Synthesis of the carbohydrate of mucus in the Golgi complex as shown by electron microscope radioantography of goblet cells from rats injected with glucose-³H. *J. Cell Biol.*, **30**: 119-136.
- 17) Poddar, S. and S. Jacob, 1979. Mucosubstance histochemistry of Brunner's glands, pyloric glands and duodenal goblet cells in the ferret. *Histochemistry*, **65**: 67-81.
- 18) Spicer, S. S., R. G. Horn and T. J. Leppi, 1967. Histochemistry of connective tissue mucopolysaccharides, In *The Connective Tissue* (D. M. Wagner and D. E. Smith, eds.), 251-303, Williams & Wilkins, Baltimore.

- 19) Suzuki, S., S. Tsuyama, T. Sukanuma, N. Yamamoto and F. Murata, 1981. Postembedding staining of Brunner's gland with lectin-ferritin conjugates. *J. Histochem. Cytochem.*, **29**: 946-952.
- 20) 竹花一成, 1980. 馬, 牛, 豚十二指腸腺の比較形態学的研究. 酪農学園大学紀要, **8**: 385.
- 21) 竹花一成・阿部光雄, 1980. 馬, 牛, 豚の十二指腸腺のムコ糖の組織化学. 酪農学園大学紀要, **8**: 312-326.
- 22) 竹花一成・阿部光雄, 1981. 犬の十二指腸腺に関する研究. 酪農学園大学紀要, **9**: 107-114.
- 23) 竹花一成・阿部光雄, 1982. シカの十二指腸腺に関する研究. 酪農学園大学紀要, **9**: 487-492.
- 24) 竹花一成・阿部光雄, 1983. ネコの十二指腸腺に関する研究. 酪農学園大学紀要, **10**: 205-212.
- 25) 竹花一成・阿部光雄, 1985. ミノクの十二指腸腺に関する研究. 酪農学園大学紀要, **11**: 179-186.
- 26) 竹花一成・阿部光雄, 1985. 牛十二指腸腺の糖質組織化学. 解剖学雑誌, **60**: 440.
- 27) 竹花一成・阿部光雄・岩佐憲二・平賀武夫, 1983. ウマの十二指腸腺に関する研究. 解剖学雑誌, **58**: 400.
- 28) 竹花一成・阿部光雄・岩佐憲二・平賀武夫, 1986. マウス十二指腸腺の複合糖質の組織化学. 解剖学雑誌, **61**: 45.
- 29) Theiry, J. P., 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur corps fine en microscopie électronique. *J. Microsc. (Oxf.)*, **6**: 987-1018.
- 30) Titkemeyer, C. W. and M. L. Calhoun, 1955. A comparative study of the structure of the small intestines of domestic animals. *Am. J. Vet. Res.*, **16**: 152-157.
- 31) Tsuyama, S., S. Suzuki and F. Murata, 1983. The histochemical differences of intestinal gland epithelia in the rat colon with special reference to their glycoconjugates. *Acta Histochem. Cytochem.*, **16**: 5.
- 32) 月瀬 東・岡野真臣, 1984. ブタの前立腺伝播部 (*pars disseminata prostatae*) 上皮における複合糖質の組織化学的研究. 日本大学農獣医学部学術研究報告, **41**: 59-67.
- 33) 山本 昇・勝又 修, 1981. ラット消化管糖蛋白質と各種レクチンとの反応性. 北里医学, **11**: 83-91.
- 34) 山田和順, 1975. タンパク質, 新組織化学 (小川和朗, 武内忠男, 森富編集), 440-467, 朝倉書店, 東京.

Summary

The purpose of this study was to investigate the histochemical localization of complex carbohydrates in the duodenal glands of pig. Seventeen young adult pigs were examined in the present study. Tissue pieces of the duodenal glands were removed from the 5 cm caudal part of the pyloric region and immediately fixed in 10% formalin containing 2% calcium acetate for 48 h at room temperature. The tissue samples were dehydrated, paraffin embedded, cut 5 μ m thick, and stained by the following methods; hematoxylin-eosin (H-E), periodic acid-Schiff (PAS) without prior digestion with α -amylase, alcian blue AB (pH 1.0), AB (pH 2.5) with or without prior digestion with sialidase, sulfation, AB (pH 2.5)-PAS, coupled tetrazonium salt procedure (TZ), and the following lectins labeled with horseradish peroxidase (PO) were also used. They were concanavalin A (Con A), peanut agglutinin (PNA), *Ricinus communis* agglutinin-I (RCA-I), *Ulex europaeus* agglutinin-I (UEA-I), *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA), wheat germ agglutinin (WGA), *Limulus polyhemus* agglutinin (LPA), soybean agglutinin (SBA), *Maclura polyhemus* agglutinin (MPA), *Griffonia simplicifonia*-I (GS-I), and *Griffonia simplicifonia*-II (GS-II). The color

was developed by the peroxidase with diaminobenzidine (DAB) and hydrogen peroxidase.

The oval nucleus of the epithelial cells of the pig duodenal gland was situated basally in the cytoplasm. The secretory epithelial cells showed moderately to strongly positive reactions when tested for carbohydrate groupings. In the control which was subjected to enzymic digestion, the intensity of AB (pH 2.5) became weaker after sialidase. Sulfation increased the intensity of the AB (pH 1.0) reaction. The epithelial cells showed positive but their staining intensities varied following the application of lectins. In these cells, relatively strong reactions were found to be confined to PO-Con A-DAB, PO-PNA-DAB, PO-UEA-I-DAB, PO-WGA-DAB, PO-SBA-DAB, PO-MPA-DAB, PO-GS-II-DAB and PO-LPA-DAB.

The present results indicated that the epithelial cells contained neutral and acidic glycoproteins with different saccharide residues such as α -D-mannose, α -D-glucose, β -D-Gal (1 \rightarrow 3)-D-GalNAc, α -L-fucose, N-Acetyl-B (1 \rightarrow 4)-D-glucosamine, N-Acetyl-D-galactosamin, D-galactose, galactose, α -galactose, and sialic acid.

Explanation of Figures

- Fig. 1. Section of 5 cm caudal of the pyloric region. In this part, duodenal glands were fully located in the submucosa. H. E stained, $\times 14$.
- Fig. 2. Excretory duct opened into base of villi. H. E stained, $\times 50$.
- Fig. 3. The epithelium consists of a single layer of columnar cells containing a basally situated nucleus. H. E stained, $\times 320$.
- Fig. 4. The epithelium contains 0.5~1 μ m low density secretory granules in cytoplasm. A few microvilli projected into the lumen. Uranyl acetate and lead citrate stained, $\times 2500$.
- Fig. 5. Low density secretory granules contained about 280 nm high density granules (arrow). Uranyl acetate and lead citrate stained, $\times 12000$.
- Fig. 6. The secretory epithelial cells exhibit various moderately to strongly positive reactions. PAS stained, $\times 50$.
- Fig. 7. Secretory granules exhibit positive reactions of varying intensities. K4M embedded and PA-TCH-SP stained, $\times 5000$.
- Fig. 8. Microvilli exhibit positive reactions of varying intensities. K4M embedded and PA-TCH-SP stained, $\times 25200$.
- Fig. 9. Secretory granules and elements of the Golgi apparatus(G) exhibit positive reactions of intensities. K4M embedded and PA-TCH-SP stained, $\times 25200$.
- Fig. 10. PA-TCH-SP positive secretory granules consist of a low density area. K4M embedded and PA-TCH-SP stained, $\times 29400$.
- Fig. 11. The secretory epithelial cells exhibit weakly positive alcianophilia. ABpH 1.0 stained, $\times 50$.
- Fig. 12. The secretory epithelial cells exhibit various positive alcianophilia. ABpH 2.5 stained, $\times 50$.
- Fig. 13. The secretory epithelial cells exhibit various positive reactions. ABpH 2.5-PAS stained, $\times 50$.
- Fig. 14. The secretory epithelial cells exhibit weakly positive reactions. PO-LPA-DAB stained, $\times 50$.
- Fig. 15. The secretory epithelial cells exhibit positive reactions. PO-WGA-DAB stained, $\times 50$.
- Fig. 16. The free surface showed markedly positive reactions. PO-WGA-DAB stained, $\times 270$.
- Fig. 17 & 18. PAS positive cells (arrow) exhibit weakly positive reaction by PO-PNA-DAB. $\times 50$.
- Fig. 19 & 20. PAS weakly positive secretory cells (arrow) exhibit positive reaction by PO-UEA-I-DAB. $\times 50$.





