

## ブタ胎子食道粘膜上皮の発達と複合糖質の組織化学的研究

平下俊治\*・竹花一成\*\*・岩佐憲二\*\*  
平賀武夫\*・阿部光雄\*\*

### Development and Histochemistry of Complex Carbohydrates in the Esophageal Epithelium of the Fetal Pig

Toshiharu HIRASHITA\*, Kazushige TAKEHANA\*\*, Kenji IWASA\*\*,  
Takeo HIRAGA\*\* and Mitsuo ABE\*\*

(May, 1989)

#### 結 論

食道は、頸部、胸部、腹部の3部からなる。発生学的に食道の原基は前腸尾方部の背側部が気管食道中隔によって腹側の気管から分離されて生じ、始めは咽頭気管溝から胃の原基までの短い管であるが心臓や肺の下降によって伸長してくる<sup>2)</sup>。

胎生期の食道の形態形成について、ヒトで多くの報告<sup>5,7,11,12,14,20,21,30,31)</sup>があるが、家畜での報告<sup>17,25,32)</sup>は少ない。初期の食道上皮は線毛を有する多列円柱上皮であるが、胎生期半ばをすぎると徐々にその線毛は消失してゆき重層扁平上皮に変化すると報告されている<sup>2,8,25)</sup>。また食道上皮の細胞膜や細胞内の膜系に存在する複合糖質の糖鎖構造が細胞の分化および加齢などにより変化することもよく知られている<sup>4,6,16)</sup>。特に胚芽層より表層にむかう上皮細胞の分化に伴って複合糖質の糖鎖構造が変化する。このような複合糖質の差異は食道粘膜上皮細胞の分化の程度を反映している。一方細胞質内の複合糖質の分布は動物種により差異がある<sup>26,28,29)</sup>。しかし、胎生期における食道粘膜上皮の形態形成に伴う複合糖質の変化についての報告はない。

そこで本研究では、ブタ胎子と成ブタ(6カ月齢)の食道の形態、特に粘膜上皮の形成に伴って生じる複合糖質

の変化を組織学的および組織化学的に観察した。

#### 材料及び方法

材料は全てと畜場より入手した21例(成ブタ5例とブタ胎子16例)の食道で肉眼的に異常の無かったものを使用した。品質・性別・CRL・胎齢は表-1の通りである。胎齢はEvansとSack<sup>3)</sup>に準じて求めた。

食道は食道長を計測した後、材料は咽頭直後(頸部)、気管分岐部付近(胸部)、食道胃接合部直前(腹部)の3カ所から採取した。

1. 光学顕微鏡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、パラフィンに包埋し4μm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。

##### a. 組織学的方法

ヘマトキシリン—エオジン(H・E)

##### b. 組織化学的方法

過ヨウ素酸—SCHIFF(PAS)<sup>27)</sup>、アルシアン青(AB)(pH1.0)(I. C. I., England)<sup>27)</sup>、AB(pH2.5)(I. C. I., England)<sup>27)</sup>、AB(pH2.5)—PAS<sup>27)</sup>、ペルオキシダーゼ標識(PO)—レクチン(LT)—ジアミノベンチジン(DAB)<sup>9)</sup>

本研究に使用したレクチンは表-2に示したような性

\* 北光愛犬病院

Hokkoku Aiken Animal Hospital, N14 E2 Higashiku Sapporo, Hokkaido 065, Japan

\*\* 獣医学科、家畜解剖学教室

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

表—1 材 料 表

番 号	品 種	性 別	CRL (mm)	年 齢	番 号	品 種	性 別	CRL (mm)	年 齢
1	F <sub>1</sub> 種	不明	21	約胎齡 30 日齡	12	F <sub>1</sub> 種	雌	270	約胎齡 100 日齡
2	F <sub>1</sub> 種	不明	20	約胎齡 30 日齡	13	F <sub>1</sub> 種	雄	290	約胎齡 100 日齡
3	F <sub>1</sub> 種	雄	80	約胎齡 45 日齡	14	F <sub>1</sub> 種	雌	305	約胎齡 114 日齡
4	F <sub>1</sub> 種	雌	71	約胎齡 45 日齡	15	F <sub>1</sub> 種	雌	297	約胎齡 114 日齡
5	F <sub>1</sub> 種	雌	77	約胎齡 45 日齡	16	F <sub>1</sub> 種	雄	300	約胎齡 114 日齡
6	F <sub>1</sub> 種	雌	123	約胎齡 65 日齡	17	F <sub>1</sub> 種	雌	—	約 6 カ月齡
7	F <sub>1</sub> 種	雌	145	約胎齡 65 日齡	18	F <sub>1</sub> 種	雌	—	約 6 カ月齡
8	F <sub>1</sub> 種	雄	155	約胎齡 65 日齡	19	F <sub>1</sub> 種	雌	—	約 6 カ月齡
9	F <sub>1</sub> 種	雄	190	約胎齡 75 日齡	20	F <sub>1</sub> 種	雌	—	約 6 カ月齡
10	F <sub>1</sub> 種	雌	195	約胎齡 75 日齡	21	F <sub>1</sub> 種	雌	—	約 6 カ月齡
11	F <sub>1</sub> 種	雌	202	約胎齡 75 日齡					

\* F<sub>1</sub> 種： ランドレースとヨークシャーの F<sub>1</sub> 種

表—2 使用レクチンの性状

レ ク チ ン	糖 結 合 特 異 性	阻 害 糖
Concanavalin A (ConA)	$\alpha$ -D-Man, $\alpha$ -D-Glc	$\alpha$ -Methyl-Man
Peanut agglutinin (PNA)	$\beta$ -D-Gal-GalNAc, D-Gal	Gal
<i>Ricinus communis</i> agglutinin-I (RCA-I)	$\alpha/\beta$ -D-Gal	Gal
<i>Ulex europaeus</i> agglutinin-I (UEA-I)	$\alpha$ -L-Fuc	Fuc
<i>Dolichos biflorus</i> agglutinin (DBA)	$\alpha$ -D-GalNAc	GalNAc
Wheat germ agglutinin (WGA)	$\alpha/\beta$ -D-GlcNAc, NeuNAc	GlcNAc
<i>Limulus polyphemus</i> agglutinin (LPA)	NeuNAc, D-GlcNAc	NeuNAc
Soybean agglutinin (SBA)	$\alpha/\beta$ -D-GalNAc, $\alpha$ -D-Gal	GalNAc
<i>Maclura pomifera</i> agglutinin (MPA)	Gal	Gal
<i>Geifforia simplicifonia</i> -I (GS-I)	$\alpha$ -Gal	Gal
<i>Geifforia simplicifonia</i> -II (GS-II)	$\alpha$ -GlcNAc	GlcNAc

\* Man=mannose, Glc=glucose, Gal=galactose, GalNAc=N-acetyl-galactosamine, Fuc=fucose, GlcNAc=N-acetyl-gulcosamine, NeuNAc=N-acetyl-neuraminic acid (sialic acid).  
E. Y. Laboratories 製 (U. S. A.)

状を有する。

TCH-SP<sup>22)</sup>

c. レクチン反応の対照

各レクチンの活性を確認するためにレクチン反応液を 60°C, 10 分間加熱し対照とした。

2. 電子顕微鏡用材料には、約 6 カ月齡の成ブタのみを用いた。2.5% グルタルアルデヒド単固定後、脱水、Lowicryl-K 4 M に包埋し以下の反応を施し、JEM-100 S にて観察した。

- a. 過ヨウ素酸 (PA)-チオカルボヒドラジド (TCH)-タンパク銀 (SP)<sup>9)</sup>
- b.  $\alpha$ -アミラーゼ (AMYL) (SIGMA, U.S.A.)-PA-

結 果

1. 光学顕微鏡的所見

a. 組織学的所見

ブタ胎子の胎齡と食道壁の厚さとの関係を図-1に、胎齡に伴う食道の粘膜上皮の構成の変化を表-3に示した。胎齡が進むにつれて生じる食道壁の厚さの發育度は、胸部、腹部ではほぼ同様であるが、頸部の發育は胸部、腹部にくらべやや先行する傾向を認めた。粘膜上皮は、胎齡 30 日では 2~3 層の多列円柱上皮で線毛はみられなか

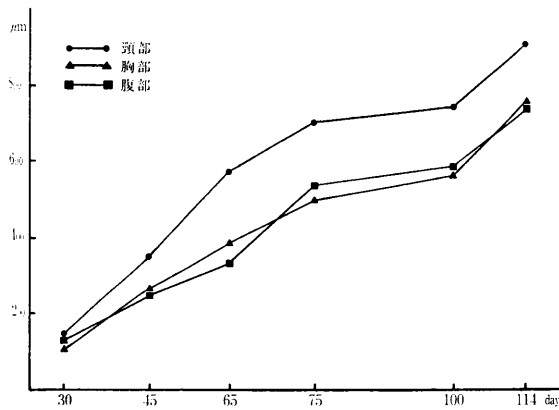


図-1 胎齢と食道壁の厚さとの関係

表-3 ブタ胎子食道粘膜上皮の変化

	胎 齢 30 日			胎 齢 45 日			胎 齢 65 日		
	頸 部	胸 部	腹 部	頸 部	胸 部	腹 部	頸 部	胸 部	腹 部
食 道 長 (cm)	—			2.6			5.0		
上 皮 (層数)	—			—			—		
顆 粒 層	—	—	—	—	—	—	—	—	—
有 棘 層	—	—	—	1-2	1-2	1-2	4-5	3	3-4
胚 芽 層	2-3	2-3	2-3	1	1	1	1	1	1
厚 さ (μm)	29	27	29	30	30	35	55	42	56

	胎 齢 75 日			胎 齢 100 日			胎 齢 114 日		
	頸 部	胸 部	腹 部	頸 部	胸 部	腹 部	頸 部	胸 部	腹 部
食 道 長 (cm)	6.2			9.5			9.8		
上 皮 (層数)	1-2			2-3			4-5		
顆 粒 層	1-2	1	1	2-3	2	2-3	4-5	4-5	4
有 棘 層	6-7	6-7	6-7	8-9	8-9	9	9-10	9	9-10
胚 芽 層	1	1	1	1	1	1	1	1	1
厚 さ (μm)	68	64	85	78	72	98	100	112	132

った(図-2)。胎齢45日以降では基底に沿って並ぶ1層の低円柱細胞の胚芽層と1~2層の立方形の有棘層を認めた(図-3)。胎齢65日では有棘層は4~5層の扁平な細胞となり(図-4)、胎齢75日では最外層に濃縮した核をもつ扁平あるいは紡錘形の細胞よりなる単層の顆粒層を認めた(図-5)。その後顆粒層は胎齢100日では2~3層、114日では成ブタと同様の4~5層となった(図-6)。

#### b. 組織化学的所見

組織化学的反応の違いにより胎齢65日から胎齢100日

までの有棘層を上層および下層の2層に、それ以降では上層、中層および下層の3層に区別することが出来た。頸部、胸部および腹部の食道上皮の複合糖質の一般組織化学的反応性に差異は認められなかった。

PAS では胚芽層に胎齢30日の細胞膜に中程度の反応が認められ、胎齢45日以降では反応は減弱した。有棘層では、細胞質で胎齢100日以前に弱い反応が認められ、細胞膜では胎齢75日以前で中程度から強い反応、胎齢100日以降で上層と中層に中程度から強い反応、下層で

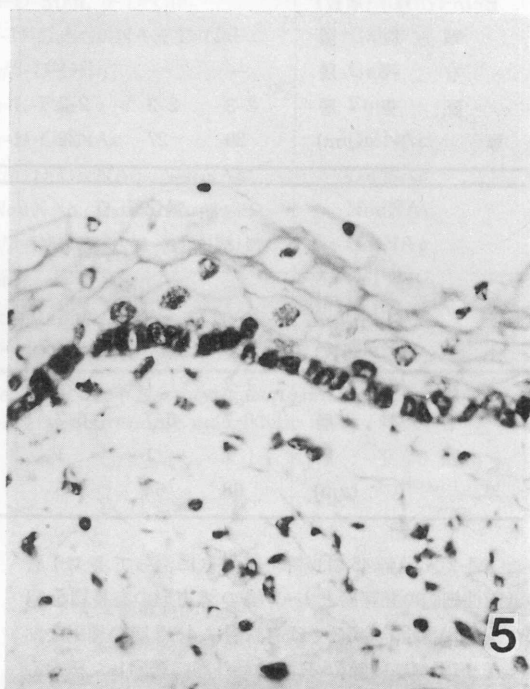
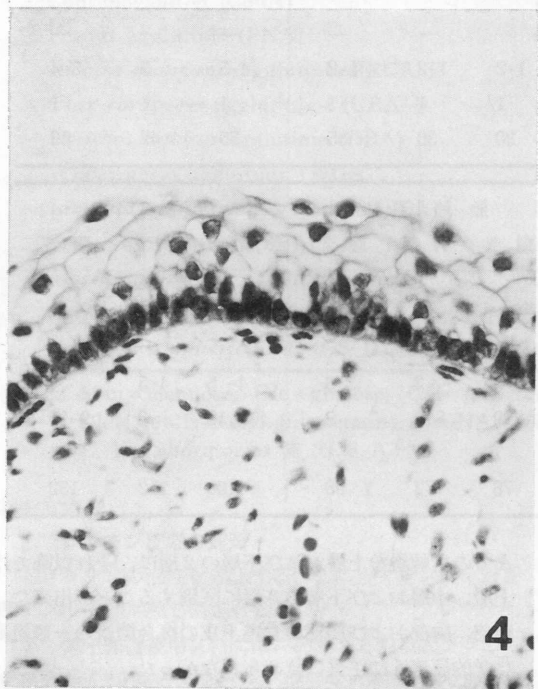
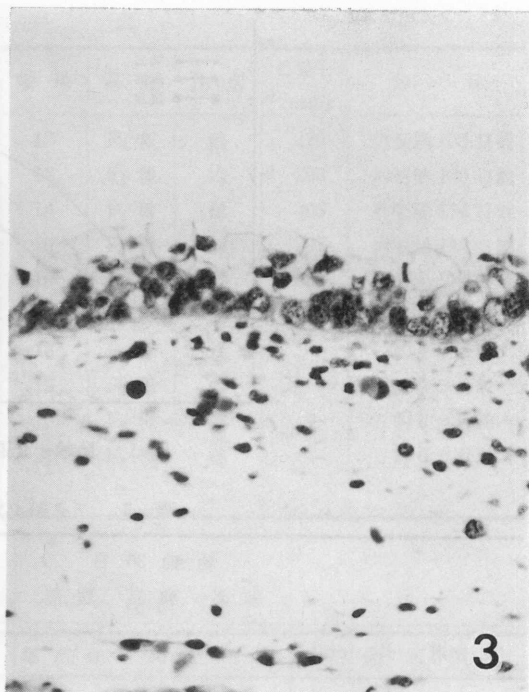
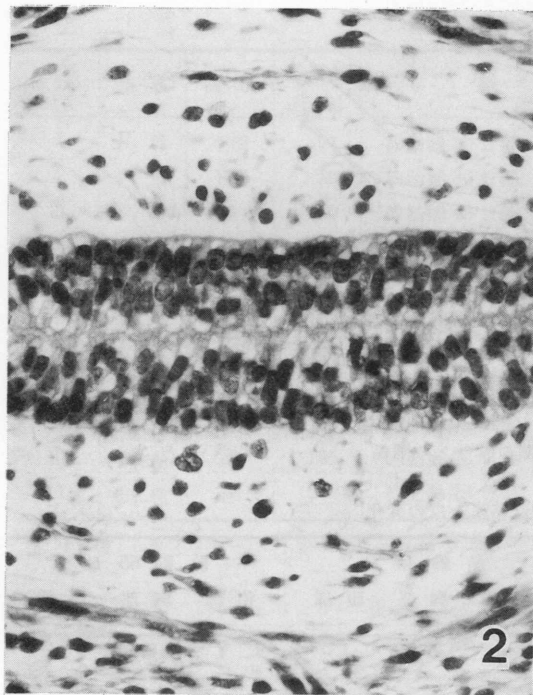


図-2 胎齢 30 日の頸部食道，粘膜上皮に多列円柱の細胞を認める。H-E， $\times 340$ 。

図-3 胎齢 45 日の頸部食道，粘膜上皮は単層円柱の細胞でなる胚芽層と管腔側に立方形の細胞からなる有棘層を認める。H-E， $\times 340$ 。

図-4 胎齢 65 日の頸部食道，扁平化した有棘層の細胞を認める。H-E， $\times 340$ 。

図-5 胎齢 75 日の頸部食道，管腔側に濃縮した核を有する顆粒層を認め，形態的に完成した重層扁平上皮を認める。H-E， $\times 340$ 。

表一4    ブタ胎子食道上皮の組織化学的反応

\*PAS

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	---	—	—	2 M/2 M	2 M/2 M	3 M/3 M	3 M/3 M
有棘層 A	—	—	1 M/3 M	1 M/3 M	1 M/2 M	1 M/3 M	1 M/3 M
有棘層 B	—	—	—	—	—	0/2 M	0/2 M
有棘層 C	—	1 M/2 M	1 M/3 M	1 M/2 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M
胚芽層	0/2 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M

\* AB pH 1.0

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	0/0	0/0	0/0	0/0
有棘層 A	—	—	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
有棘層 B	—	—	—	—	—	0/0	0/0
有棘層 C	—	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
胚芽層	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

\* AB pH 2.5

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	0/0	0/0	0/0	0/0
有棘層 A	—	—	2 B/0	2 B/0	2 B/1 B	1 B/1 B	1 B/1 B
有棘層 B	—	—	—	—	—	1 B/0	1 B/0
有棘層 C	—	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
胚芽層	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

\* AB-PAS

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	2 M/2 M	2 M/2 M	3 M/3 M	3 M/3 M
有棘層 A	—	—	2 BM/3 M	2 BM/3 M	2 BM/2 M	1 BM/3 M	1 BM/3 M
有棘層 B	—	—	—	—	—	0/2 M	0/2 M
有棘層 C	—	1 M/2 M	1 M/2 M	1 M/2 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M
胚芽層	0/2 M	0/2 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M	0/1 M

\* 細胞質/細胞膜

\* M: Magenta B: Blue BM: Blue-Magenta

\* 0: 反応なし 1: 弱い反応 2: 中程度の反応 3: 強い反応

\* 有棘層 A: 上層 B: 中層 C: 下層

\* 30 d: 胎齡 30 日 45 d: 胎齡 45 日 65 d: 胎齡 65 日 75 d: 胎齡 75 日 100 d: 胎齡 100 日  
114 d: 胎齡 114 日 AD: 成ブタ

表—5    ブタ胎子食道上皮の組織化学的反応

\* ConA

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	+/+	+/+	+/+	+/+
有棘層 A	—	—	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
有棘層 B	—	—	—	—	—	+/+	+/+
有棘層 C	—	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
胚芽層	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+

\* RCA-I

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	-/-	-/-	-/-	-/-
有棘層 A	—	—	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
有棘層 B	—	—	—	—	—	-/-	-/-
有棘層 C	—	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
胚芽層	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

\* PNA

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	+/+	+/+	+/+	+/+
有棘層 A	—	—	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
有棘層 B	—	—	—	—	—	-/2+	-/2+
有棘層 C	—	-/+	-/+	-/2+	-/2+	-/2+	-/2+
胚芽層	-/+	-/+	-/+	-/+	-/2+	-/2+	-/2+

\* UEA-I

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	3+/3+	3+/3+	3+/3+	3+/3+
有棘層 A	—	—	-/2+	-/3+	-/3+	-/+	-/+
有棘層 B	—	—	—	—	—	-/3+	-/3+
有棘層 C	—	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+
胚芽層	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

\* 細胞質/細胞膜

\* —：反応なし    +：軽度の反応    2+：中程度の反応    3+：高度の反応

\* 有棘層 A：上層    B：中層    C：下層

\* 30 d：胎齡 30 日    45 d：胎齡 45 日    65 d：胎齡 65 日    75 d：胎齡 75 日    100 d：胎齡 100 日  
114 d：胎齡 114 日    AD：成ブタ

表—6 ブタ胎子食道上皮の組織化学的反応

\* DBA

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	A D
顆粒層	—	—	—	3+/3+	3+/3+	3+/3+	3+/3+
有棘層 A	—	—	+/+	2+/2+	+ /3+	- /-	- /-
有棘層 B	—	—	—	—	—	- /3+	- /3+
有棘層 C	—	- /+	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-
胚芽層	- /+	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-

\* WGA

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	A D
顆粒層	—	—	—	2+/2+	2+/2+	2+/2+	2+/2+
有棘層 A	—	—	+ /2+	+ /2+	- /2+	- /-	- /-
有棘層 B	—	—	—	—	—	- /3+	- /3+
有棘層 C	—	+ /+	- /+	- /+	- /2+	- /3+	- /3+
胚芽層	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-

\* LPA

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	A D
顆粒層	—	—	—	- /-	- /-	- /-	- /-
有棘層 A	—	—	+ /-	2+ /-	3+ /-	2+ /3+	2+ /3+
有棘層 B	—	—	—	—	—	2+ /3+	2+ /3+
有棘層 C	—	+ /-	+ /-	2+ /-	3+ /-	2+ /3+	2+ /3+
胚芽層	+ /-	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-

\* SBA

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	A D
顆粒層	—	—	—	3+/3+	3+/3+	3+/3+	3+/3+
有棘層 A	—	—	- /+	- /2+	- /2+	- /+	- /+
有棘層 B	—	—	—	—	—	- /2+	- /2+
有棘層 C	—	- /+	- /+	- /2+	- /2+	- /2+	- /2+
胚芽層	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-	- /-

\* 細胞質/細胞膜

\* —: 反応なし +: 軽度の反応 2+: 中程度の反応 3+: 高度の反応

\* 有棘層 A: 上層 B: 中層 C: 下層

\* 30 d: 胎齡 30 日 45 d: 胎齡 45 日 65 d: 胎齡 65 日 75 d: 胎齡 75 日 100 d: 胎齡 100 日

114 d: 胎齡 114 日 A D: 成ブタ

表一7    ブタ胎子食道上皮の組織化学的反応

\* MPA

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	2+/2+	2+/2+	2+/2+	2+/2+
有棘層 A	—	—	-/-	-/2+	+ /2+	-/-	-/-
有棘層 B	—	—	—	—	—	-/2+	-/2+
有棘層 C	—	-/-	-/-	-/2+	-/2+	-/2+	-/2+
胚芽層	-/-	-/-	-/-	-/+	-/+	-/+	-/+

\* GS-I

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	-/-	-/-	-/-	-/-
有棘層 A	—	—	-/+	-/+	-/+	-/-	-/-
有棘層 B	—	—	—	—	—	-/+	-/+
有棘層 C	—	-/+	-/+	-/+	-/+	-/3+	-/3+
胚芽層	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/-	-/-

\* GS-II

	30 d	45 d	65 d	75 d	100 d	114 d	AD
顆粒層	—	—	—	+/+	+/+	+/+	+/+
有棘層 A	—	—	3+/-	2+/-	+/-	-/-	-/-
有棘層 B	—	—	—	—	—	-/-	-/-
有棘層 C	—	3+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
胚芽層	-/2+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

\* 細胞質/細胞膜

\* —：反応なし    +：軽度の反応    2+：中程度の反応    3+：高度の反応

\* 有棘層    A：上層    B：中層    C：下層

\* 30 d：胎齡 30 日    45 d：胎齡 45 日    65 d：胎齡 65 日    75 d：胎齡 75 日    100 d：胎齡 100 日  
114 d：胎齡 114 日    AD：成ブタ

弱い反応が認められた。顆粒層では胎齡 75 日以降に中程度から強い反応が認められた。

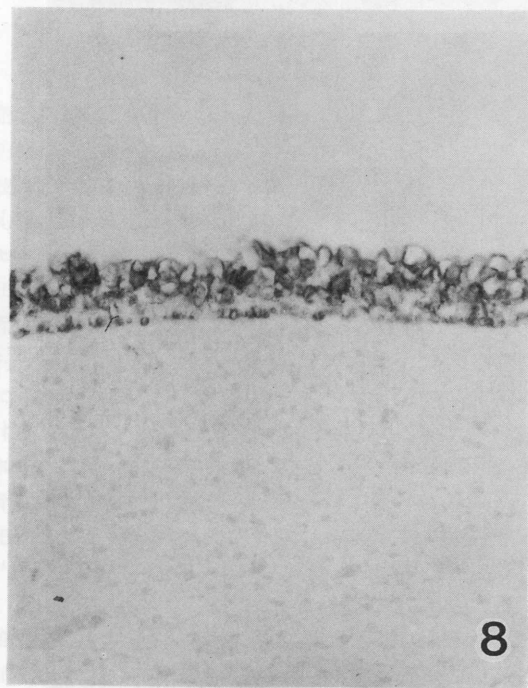
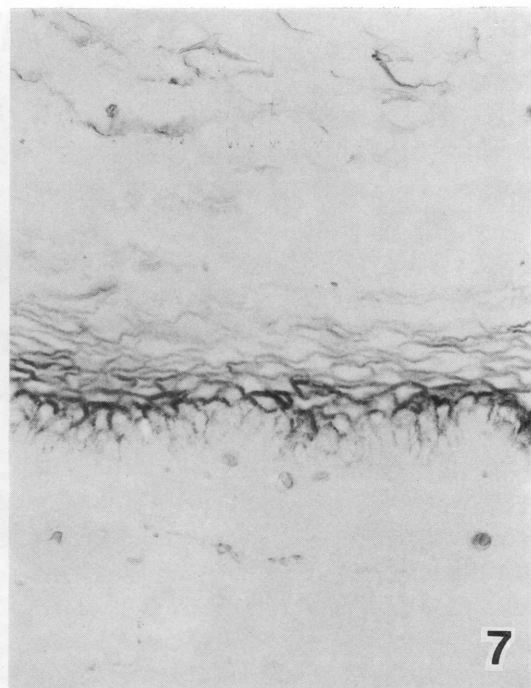
ABpH 1.0 では各胎子期および成ブタに反応は認められなかった。

AB pH 2.5 では有棘層にのみ反応を認めた。すなわち、細胞質では胎齡 65 日から胎齡 100 日の間で上層に中程度、胎齡 114 日では上層および中層に弱い反応が認められた。細胞膜は胎齡 100 日以降で上層に弱い反応が認められた。

AB-PAS では胚芽層の細胞膜に胎齡 45 日以前で中程

度の赤紫色、胎齡 65 日以降で弱い赤紫色の反応が認められた。有棘層では胎齡 45 日から胎齡 75 日の間で細胞膜に中程度から強い赤色の反応を認めた。下層の細胞質では弱い赤色の反応、上層の細胞質では中程度の青紫色の反応を認めた。胎齡 100 日以降では下層の細胞膜に弱い赤色、上層と中層の細胞膜に中程度から強い赤色の反応を認め、上層の細胞質に胎齡 100 日で中程度の青紫色、胎齡 114 日で弱い青紫色の反応を認めた。顆粒層では胎齡 75 日以降に中程度から強い赤色の反応が認められた。それぞれの結果は表-4 のようであった。



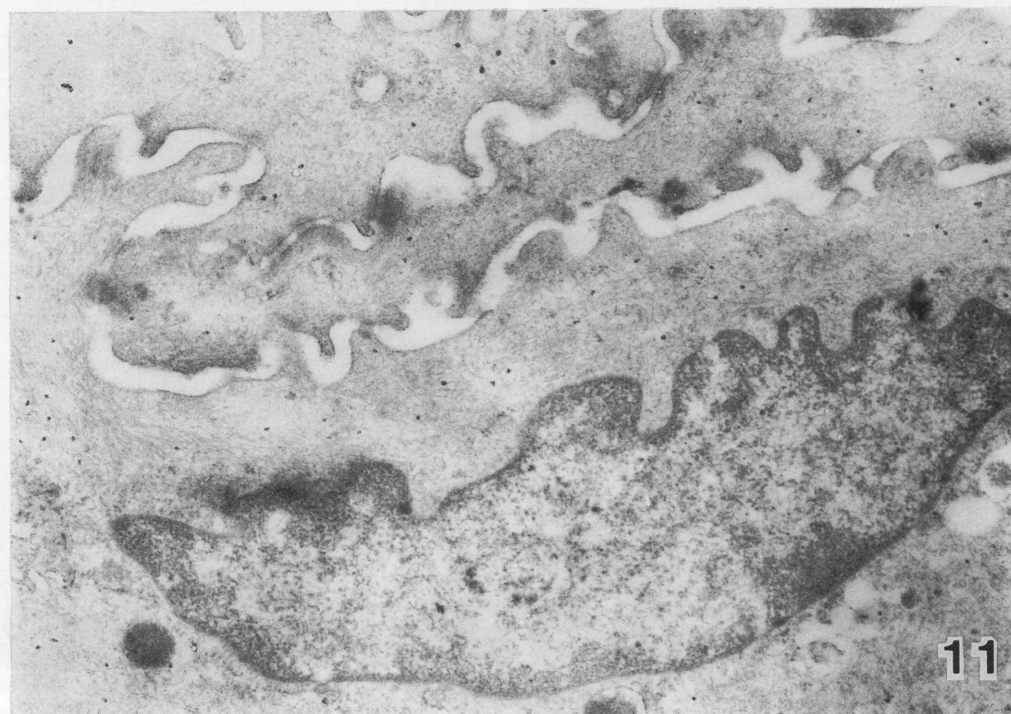
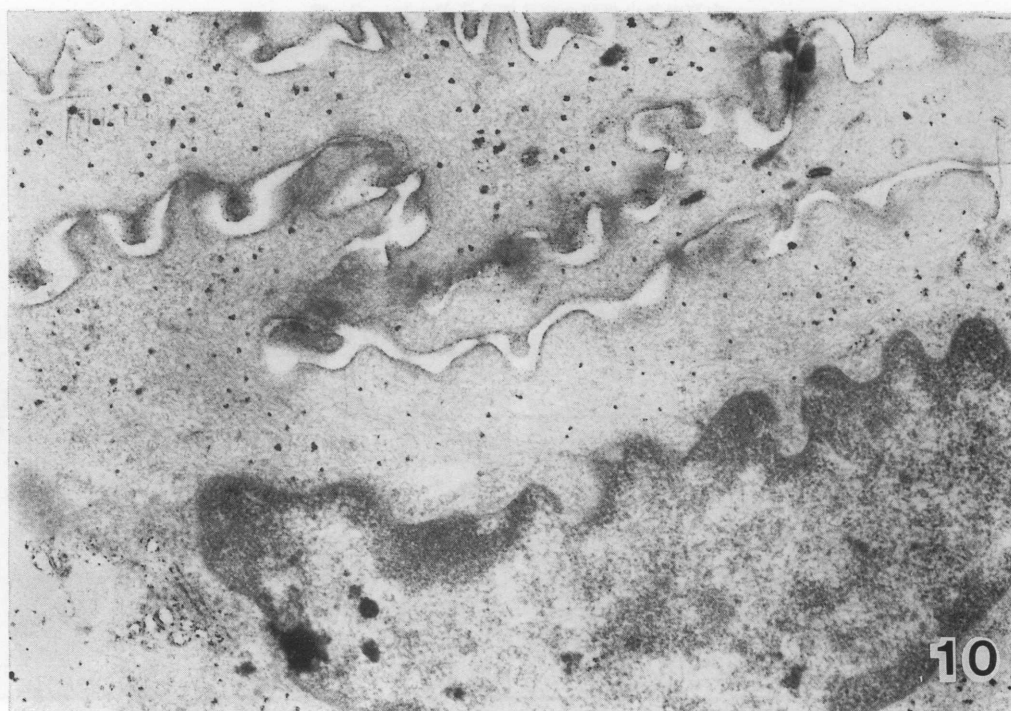


図—6 胎齢 30 日の頸部食道, 粘膜上皮細胞の細胞膜に弱い反応を認める。PNA,  $\times 340$ .

図—7 胎齢 114 日の頸部食道, 胚芽層, 中層の有棘層および顆粒層の細胞の細胞膜に中程度の反応を認める。PNA,  $\times 340$ .

図—8 胎齢 45 日の頸部食道, 有棘層の細胞の細胞膜に強い反応を認めた。GS-II,  $\times 340$ .

図—9 胎齢 114 日の頸部食道, 顆粒層の細胞の細胞質に弱い反応を認めた。GS-II,  $\times 340$ .



- 図—10 6 カ月齢の頸部食道，上層の有棘層の細胞質内に多数の反応物を認めた。PA-TCH-SP， $\times 20,000$ 。
- 図—11 6 カ月齢の頸部食道， $\alpha$ -AMYL の消化により 図-10 より上層の有棘層の細胞質内の反応物が減弱した。 $\alpha$ -AMYL-PA-TCH-SP， $\times 20,000$ 。

本研究では上皮細胞に含まれる複合糖質の性状をさらに詳しく追求するために特定の糖残基と特異的に結合する11種のレクチンを使用し、RAC-I以外の10種のレクチンに種々の反応性を認めた。結果は表5-7および図6-9のようであった。

### c. 対照試験

PO-LTを酵素分解したものを反応させた結果、全てのPO-LTで反応は認められなかった。成ブタの食道粘膜上皮の組織化学的反応はブタ胎齢114日の食道粘膜上皮の組織化学的反応と同様であった。

## 2. 電子顕微鏡的所見

PA-TCH-SPでは、胚芽層に反応は認められず、顆粒層および有棘層の上層の細胞膜および細胞質内に強い顆粒状の反応を認め、有棘層の下層では細胞質内にのみ反応物を認めた(図-10)。 $\alpha$ -AMYL-PA-TCH-SPでは、胚芽層では反応を認めず、顆粒層および有棘層の上層の細胞膜および細胞質内小器官では反応は認められなかった。有棘層の下層では細胞膜に少数の反応物が認められた。また、反応物の密度は全層においてPA-TCH-SPによる反応物の約1/6程度を認めた(図-11)。

## 考 察

ブタ胎子食道の組織学的発育過程は、頸部が胸部、腹部より先行する傾向を認めた。これは、ヒト胎児食道の内径を比較した丸山<sup>11)</sup>の報告と同様であった。粘膜上皮における線毛上皮は板鰓類、ハ虫類、両生類では成体にも線毛上皮が存在することがすでに知られており<sup>19,23)</sup>、ヒトおよび家畜でもSchnorri<sup>19)</sup>、Smith<sup>20)</sup>、豊田<sup>21)</sup>、安田<sup>30)</sup>、ZietzschmannとKrölling<sup>32)</sup>は胎生期の前期に、葉山<sup>5)</sup>、石川<sup>7)</sup>は胎生期の中期から後期に、丸山<sup>11)</sup>、吉村<sup>31)</sup>は胎生期の中期に、Patten<sup>17)</sup>、和栗<sup>25)</sup>は胎生初期に一時的に線毛上皮細胞が現れるが間もなく重層上皮化すると報告している。今回観察したブタ胎子でも、胎齢30日ですでに線毛細胞は認められず、それ以前、即ち胎生初期にすでに重層上皮への移行が始まると考えられる。ブタ胎子食道の発育過程はヒト胎児の報告<sup>5,7,11,12,14,20,21,30,31)</sup>とはほぼ同様であった。

複合糖質は、生体内のあらゆる細胞や組織に存在し、組織形成や細胞レベルの認識過程に重要な役割を果たし、細胞の分化、加齢、変性、腫瘍化に際し変化することが知られており<sup>4,6,16)</sup>、それについての組織化学的な研究は数多く報告されている<sup>4,16,23,26,29)</sup>が、胎子食道上皮の発育過程における変化についての報告はいまだ認められない。

PASでは胎子期を通して有棘層および顆粒層に反応

を認め、同部位に中性の糖質が存在する。一方、AB(pH 1.0)では胎子期を通して反応を認めないことからブタ食道上皮には強酸性の糖質は存在しない。AB(pH 2.5)では胎齢65日以降の有棘層上層の細胞に反応を認め、この部位に弱酸性の糖質が存在することを示し、同様に弱酸性の糖質であるN-アセチルノイラミン酸と糖特異性のあるLPAでも同様の反応を認めた。

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の発見以来、糖の性質や構造を生化学的に解明するための有効な手段となり、各臓器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<sup>22,23)</sup>。

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ConA, PNA, RCA-I, UEA-I, DBA, WGA, SBA, MPA, GS-I, GS-IIおよび酸性糖残基、特にN-アセチルノイラミン酸と結合するLPAを用いて胎子食道粘膜上皮形成過程での上皮細胞の複合糖質の変化を明らかにした。その結果、ConA, PNA, UEA-I, DBA, WGA, SBA, MPA, GS-I, GS-IIおよびLPAの10種のレクチンに種々の程度の反応を認めた。このうち、DBA, WGA, GS-IIは胎子期全体を通して、MPA, SBA, PNA, LPAでは胎子期中期以降に特徴的な差異を認めた。このことにより、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミンを含む糖鎖は胎子期全体を通して、ガラクトース、N-アセチルガラクトサミン、N-アセチルノイラミン酸を含む糖鎖は胎子期中期以降に上皮形成の上で重要な役割を果たすものと考えられる。また、胎齢114日では、全てのレクチンの結合パターンは6カ月齢のものと同様であることより、複合糖質の上皮形成に対する関与は胎齢100日から胎齢114日の間に完了するものと考えられる。

成人食道上皮では、UEA-Iは有棘層および顆粒層に、ConA, RCA-Iは全層に、PNA, WGAは有棘層の上層および中層に、SBAでは有棘層の中層に反応を認め<sup>28,29)</sup>成マウス食道上皮ではPNAは有棘層の中層および下層に反応を認め、SBAでは全層で陰性と報告されている<sup>25)</sup>。本研究での成ブタ食道上皮の結果は、ヒト食道上皮の報告のUEA-I, ConAとは一致しており、RCA-I, PNA, WGA, SBAでは異なる反応を認めた。また、マウス食道上皮の報告のPNAとは一致しており、DBAでは全く異なる反応を認めた。このような相違は、動物種により食道上皮のレクチン結合パターンに差異があることを示し、上皮形成過程においても動物種差があるものと推測できる<sup>1,4,6,9,16)</sup>。

電顕レベルでの糖質の分布を観察する方法の一つとして、PA-TCH-SP反応と消化試験としてAMYL-PA-

TCH-SP 反応がある。しかし、この方法を用いた食道上皮の糖質の電顕的な研究はいまだになされない。今回の観察では、顆粒層および有棘層に認められた PA-TCH-SP による反応物が  $\alpha$ -AMYL-PA-TCH-SP により減少していた。これにより、粗面小胞体、細胞膜および細胞質内の反応物の多くはグリコーゲンであることが同定でき、ブタ食道上皮の有棘層の上層および顆粒層には多量のグリコーゲンが存在することが明らかとなった。

## 要 約

ブタ胎子食道を用いて食道粘膜上皮の発達と複合糖質の変化を組織学および組織化学的手法を用いて観察した。

ブタ胎子食道の発育速度は、胸部および腹部はほぼ同様であり、頸部はこれにやや先行して発育していた。食道上皮は、胎齢 30 日では多列円柱上皮、胎齢 45 日で有棘層が出現し、胎齢 75 日で顆粒層が出現し、胎齢 75 日から胎齢 100 日の間に重層扁平上皮となった。食道上皮の形態形成には、組織化学的に胎子期を通して N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミンを含む糖鎖が強く関与し、胎子期中期以降ではグルコース、N-アセチルガラクトサミン、N-アセチルノイラミン酸を含む糖鎖が関与した。ブタ食道上皮の顆粒層および有棘層上層には多量のグリコーゲンが存在していた。

すなわち、形態学的に上皮は 75 日から 100 日の間に重層扁平上皮となるが、組織化学的には複合糖質は胎齢 100 日から胎齢 114 日の間で成ブタと同様の所見を示した。

## 文 献

1. Cook, G. M. W. and R. W. Stoddart, 1973. Surface carbohydrates of eukaryotic cell. (訳書) 内海耕造 (1976). 細胞表面の糖質と機能, 東京大出版会, 東京.
2. 江口保暢 1979. 家畜発生学, 108-109. 文永堂, 東京.
3. Evans, H. E., and W. O. Sack, 1973. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: Growth curves, external features and selected references. *Anat. Histol. Embryol.* 2, 11-45.
4. 箱守仙一郎・福田 禪・福田道子 1982. 細胞標識と動物レクチン (大沢利昭編), 1-52. 講談社, 東京.
5. 葉山 侃 1954. 食道粘膜細胞上皮の発生途上に於ける変遷. *日大医誌* 13: 1577-1583.
6. 平野 寛・高田邦昭 1983. レクチンの組織化学的応用・組織細胞化学 (日本組織細胞化学会編), 113-132. 学際企画, 東京.
7. 石川正一 1971. 食道胃境界部に於ける粘膜上皮の発育学的研究. *日大医誌* 20: 501-507.
8. 加藤嘉太郎 1971. 家畜比較発生学, 89, 養賢堂, 東京.
9. 勝山 努・小野謙三 1985. 糖蛋白質, 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・藤田 也・山田和順編), 247-289. 朝倉書店, 東京.
10. Marualee, H. W., 1979. Hyman's Comparative Vertebrate Anatomy, 3rd ed., 409. The University of Chicago Press, Chicago.
11. 丸山久雄 1956. 日本人胎児に於ける食道の発生学的研究. *新潟大解剖輯報* 4: 13-58.
12. 溝口史郎 1975. 発生学提要, 130, 金原出版, 東京.
13. 水平敏知 1972. 電子顕微鏡による組織図譜, 第 2 巻, 消化器・呼吸器 (水平敏知・倉橋和啓・平井五郎・紫崎 普・山田英智・市川 厚・山元寅男 編), 68-101. 医学書院, 東京.
14. Moore, K. L., 1974. The Developing Human (訳書) 星野一正 (1975). MOORE 人体発生学, 207-208. 医歯薬出版, 東京.
15. 野沢利範 1983. 牛胎仔気管および気管支の年齢変化における形態学的観察. 酪農学園大学, 修士論文, 1-32.
16. 大沢利昭・長田嘉穂・船津軍善・松本勲武・山本一夫・村松 喬・辻 勉・阿部勇吉・石井信一・入江達朗 1985. レクチンと細胞生物学 (大沢利昭編), 1-139. 講談社, 東京.
17. Patten, B. M., 1948. Embryology of the Pig. 179-181. 419. McGRAW-HILL, New York.
18. Romer, A. S. and T. S. Parson, 1977. 12 Digestive system, The Vertebrate Body, 5th ed. p. 344-345. W. B. Saunders, Philadelphia.
19. Schnorr, B., 1985. Embryologie der Haustiere, 141. Ferdinand Enke, Stuttgart.
20. Smith, E. I. 1957. The early development of the trachea and esophagus in relation to atresia of esophagus and tracheoesophageal fistula, *Conts. Embryol. Carnegie Instn.* 35: 107-134.
21. 豊田長正 1958. 日本人胎児の食道の組織発生学的研究. *三重大医業集* 2: 43-74.
22. 月瀬 東・岡野真臣 1985. ウマの精囊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 42: 123-129.
23. Tsukise, A. and K. Yamada, 1982. Carbohydrates in the epithelium lining the seminal vesicle of the rat as studied by histochemical methods of light and electron microscopy.

- Acta Histochem. 70: 276-289.
24. Van Bogart, L. -J., M-P. Van Craynest and J. A. Quinonies, 1981. Diaminobenzidine histochemistry in light microscopy. Acta Histochem. 69, 61-69.
  25. 和栗秀一 1980. 家畜の器官組織学, 41-42. 学窓社, 東京.
  26. Watanabe, M., T. Muramatsu, H. Shirane and K. Ugai 1981. Discrete distribution of binding sites for Dolichos biflorus Agglutinin (DBA) and for Peanut Agglutinin (PNA) in mouse organ tissues. J. Histochem. Cytochem. 29. 779-790.
  27. 山田和順 1972. ムコ多糖の組織細胞化学的研究法. 蛋白質・核酸・酵素 17: 775-790.
  28. 山田嘉和・伊藤正高・平野 寛 1985. 食道粘膜上皮, 中外医薬 38: 46-49.
  29. 山田嘉和・伊藤正高・斉藤昌三・青柳利雄・高田邦昭・平野 寛 1985. ヒト健常食道粘膜におけるレクチン結合パターンの組織化学的検討. 解剖学雑誌 60: 104-108.
  30. 安田峯生 1985. 呼吸器・消化器系の発生とその異常, 臨床人体発生学 (岡本直正編) 264-288. 南江堂, 東京.
  31. 吉村不二雄 1971. 図説人体発生学, 112-113. 文永堂, 東京.
  32. Zietzschmann, O. and O. Krölling, 1955. Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der Haustiere, 438. Paul Parey, Berlin and Hamburg.

### Summary

The development and histochemistry of complex carbohydrates in pig esophageal epithelium were examined by using modified methods.

The degree of development of fetal pig esophageal epithelium was almost the same in the segments of the chest and abdomen, but the highest rate was found in the neck. The pseudostratified epithelium made its appearance on the esophagus on the 30th day of the fetuses. Germinal and prickle cell layers were formed on the 45th day and a granular layer was observed on the 75th day. The final stratified squamous epithelium was formed from the 75th to 100th day of the fetuses. In the case of the formation of the epithelium on the esophagus, N-acetyl-glucosamine and N-acetyl-galactosamine were contained in the sugar chains throughout the fetal period. Before the half-life of the fetuses time, sugar chains contained glucose, N-acetyl-galactosamine and sialic acid. The epithelium formation was completed with carbohydrate complexes at the age of 100th to 114th days of the fetus. Granular and prickle cell layers contained numerous glycogen granules.