

# 甲状腺濾胞上皮細胞の増殖動態と機能に関する研究

## 第1編 ラットの甲状腺濾胞上皮細胞の増殖動態と機能について

宮 川 信  
信州大学医学部 九田外科教室

### Studies on Proliferation and Function of Follicular Epithelium of the Thyroid

#### 1. On proliferation and Function of Follicular Epithelium of Normal Rat Thyroid using $^3\text{H}$ -Thymidine and $^{125}\text{I}$ Autoradiography

Makoto MIYAKAWA  
Prof. MARUTA's Surgical Clinic  
Shinshu University

#### 緒 言

近年核酸代謝研究の長足の進歩と、autoradiography の生物学的研究への応用により、生体内の各種細胞の増殖動態の研究が盛んになった。とくに thymidine は DNA 前駆物質として DNA 合成期の核にとりこまれ、しかも核破壊後に再利用されることがないのでこれを放射能で標識した  $^3\text{H}$ -thymidine は細胞の増殖動態の研究にまことに好都合である。 $^3\text{H}$ -thymidine autoradiography は本邦においては藤田<sup>1)</sup>津屋<sup>2)</sup>、松沢<sup>3)</sup>等により技術的改善ならびに理論的開発が重ねられ、とくに重層扁平上皮細胞、消化管上皮細胞などの細胞回転についてかなり解明されて来た。しかしながら甲状腺濾胞上皮細胞に関するこの方面の研究は少なく、その増殖動態は全く不明であると云ってよい。

著者は基礎的研究として正常ラットの甲状腺濾胞上皮細胞の増殖動態及び各濾胞の機能状態を究明する目的で  $^3\text{H}$ -thymidine 及び  $^{125}\text{I}$  による autoradiography を行ない検討した。

#### I. 研究材料及び研究方法

##### A. 研究材料

実験動物としては体重 150g 前後のウィスター系成熟雄ラットを使用した。

$^3\text{H}$ -thymidine は The Radiochemical Centre (英) の  $^3\text{H}$ -thymidine -6-T(n) (specific activity 5.0 Ci/mM) を使用した。 $^{125}\text{I}$  は Teh Radiochemical Centre (英) の  $^{125}\text{I}$ Na 250  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$  を使用した。

感光乳剤はサクラ NR-M2 を使用した。

##### B. 研究方法

##### 1. $^3\text{H}$ -thymidine autoradiography

生理的食塩水 1ml 中 200  $\mu\text{Ci}$  の割合に希釈した  $^3\text{H}$ -thymidine をラットの腹腔内に体重 1g 当たり 2  $\mu\text{Ci}$  を注射し、注射後、30分、1時間、12時間、48時間、72時間、96時間、120時間にそれぞれ2匹ずつ屠殺し、甲状腺組織を気管とともに別出した。

別出した甲状腺組織を10%ホルマリンで固定後、パラフィンに包埋し、厚さ4~6  $\mu$  の薄切々片を作製した。

autoradiography は dipping 法により、前記感光乳剤を純水にて1.5倍に希釈して使用した。露出は4°Cで4週間行ない、コニドールXにて20°C 4分間現像し、定着、水洗後ヘマトキシリン・エオジンにて染色した。

##### 2. $^{125}\text{I}$ autoradiography

生理的食塩水 1ml 中 100  $\mu\text{Ci}$  の割合に希釈した  $^{125}\text{I}$ Na 70  $\mu\text{Ci}$  をラット腹腔内に注射し、注射後5分、15分、30分、1時間、2時間、4時間、6時間にそれぞれ2匹ずつ屠殺し、甲状腺を気管とともに別出した。

別出した甲状腺組織は Carnoy 液で固定し、パラフィン包埋後、厚さ4~6  $\mu$  の薄切々片を作製した。

autoradiography は前述と同様の方法にて行ない、露出は2週間行なった。

#### II. 研究成績

##### A. 濾胞上皮細胞における $^3\text{H}$ -thymidine のと

りこみについて。

甲状腺組織では濾胞上皮細胞における<sup>3</sup>H-thymidine 標識細胞の出現はきわめて少なく、また標識細胞は最初から甲状腺組織全体に散在して認められ、標識細胞自身及び標識細胞が出現する濾胞に関して特異な形態学的所見は認められなかった。したがって autoradiogram における標識細胞の局在を参考にしても、甲状腺濾胞上皮細胞における増殖細胞と成熟細胞とを形態学的に分離して観察することは不可能である。このように甲状腺では形態学的に均一な細胞集団を分離、観察することが出来ないで真の意味の標識率を算出することは不可能であり、したがって標識率から濾胞上皮細胞の世代時間 (generation time,  $t_G$ ) を算出することは出来ない。また甲状腺濾胞上皮細胞では前述のごとく標識細胞の出現はきわめて少なく、核分裂像もきわめてまれにしか観察出来ないで labeled mitosis から世代時間を算出することは出来ない。

以上述べたごとく、甲状腺濾胞上皮細胞の世代時間は容易に算出することが出来ないで観点をかえて、<sup>3</sup>H-thymidine をとりこんだ上皮細胞が所属する濾胞の性状から濾胞上皮細胞の増殖動態を解明せんと試みた。すなわち濾胞の大きさを以下に述べる3群に分けて検討を行なった。写真1のごとく、胞体に比較してかなり大型で、円形の核を有する上皮細胞の集団からなり、濾胞の形成が全く認められない細胞群を原始濾胞とし、小型の濾胞から中等大までの濾胞で、円形ないし楕円形の核を有し、立方形の胞体を示す上皮細胞からなり、濾胞腔内には中等量のコロイドを入れているものを中濾胞とし、写真2のごとく大型の濾胞で扁平な核を有する上皮細胞からなり、濾胞腔内にはコロイドを充満している濾胞を大濾胞とした。一般に原始濾胞および中濾胞は甲状腺の中心部に、大濾胞は甲状腺の辺縁部に多く見られるが、写真3は原始濾胞における標識細胞、写真4及び写真5はそれぞれ中濾胞及び大濾胞における標識細胞である。標識細胞が出現する濾胞を以上の3群に分けて検討すると、表1及び図1のごとく<sup>3</sup>H-thymidine 投与後30分では、原始濾胞33%、中濾胞38%、大濾胞29%で、標識細胞は各群にほぼ均等に分布するが、1時間後には、原始濾胞23%、中濾胞46%、大濾胞31%となり標識細胞は原始濾胞にやや減少する傾向が認められる。12時間後には、原始濾胞は4%、中濾胞は60%、大濾胞は36%となり、標識細胞は中濾胞及び大濾胞に明らかに増加し、原始濾胞には減少する。この傾向は時間の経過とともにさらに著明となり、24時間後には、原始濾胞4%、

表1 濾胞上皮細胞における<sup>3</sup>H-Thymidine の取りこみ

濾胞	時間	0.5	1	12	24	48	72	96	120
原始濾胞%		33	23	4	4	6	10	8	8
中濾胞%		38	46	60	40	48	42	45	33
大濾胞%		29	31	36	56	46	48	47	59

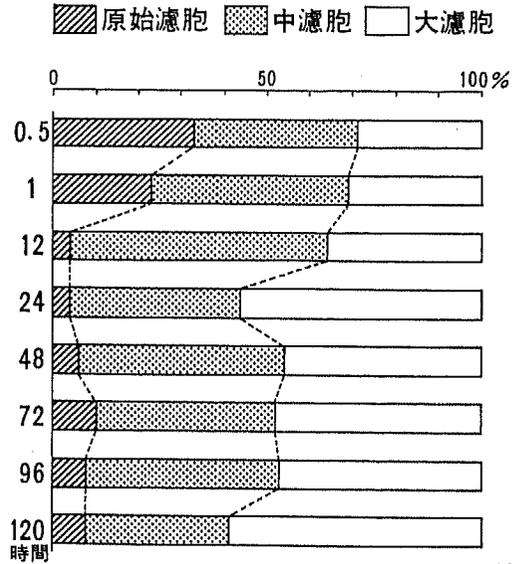


図1. 濾胞上皮細胞における<sup>3</sup>H-Thymidine の取りこみ

中濾胞40%、大濾胞56%、48時間後には原始濾胞6%、中濾胞48%、大濾胞46%、72時間後には、原始濾胞10%、中濾胞42%、大濾胞48%、96時間後には原始濾胞8%、中濾胞45%、大濾胞47%、120時間後には、原始濾胞8%、中濾胞33%、大濾胞59%となる。すなわち、<sup>3</sup>H-thymidine 投与後、時間の経過とともに標識細胞が原始濾胞に出現する頻度は減少し、逆に大濾胞に出現する頻度が高くなる。

以上の成績から甲状腺組織においては原始濾胞は増殖細胞の分裂により中濾胞から大濾胞へと发育するものと推測される。また前述のごとくこの増殖細胞には形態学的に特殊な所見が認められないので、<sup>3</sup>H-thymidine 標識法の力をかりることなく増殖細胞を認識することは困難である。

B. 多層上皮細胞における<sup>3</sup>H-thymidine の取りこみについて。

正常ラットの甲状腺においては濾胞上皮細胞は多くは一層であるが、ときとして多層のこともある(写真6)。この多層の部分の細胞増殖動態を解明するため

写真 1.

H・E 染色×400

明らかな濾胞構造を示さない原始濾胞と、その間に中等大の濾胞が認められる。

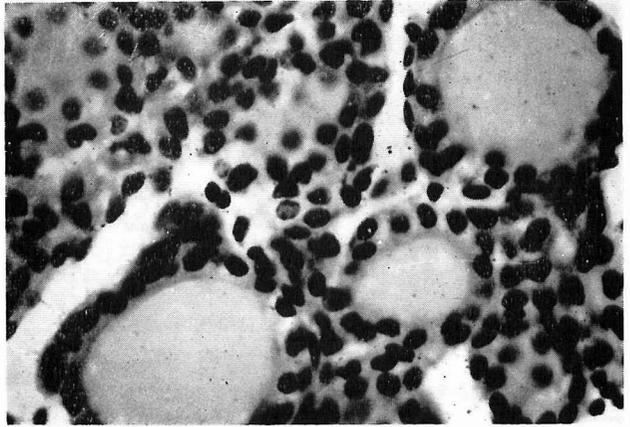


写真 2.

H・E 染色×400

大濾胞。濾胞腔内にはコロイドを充滿し、上皮細胞の核は扁平である。

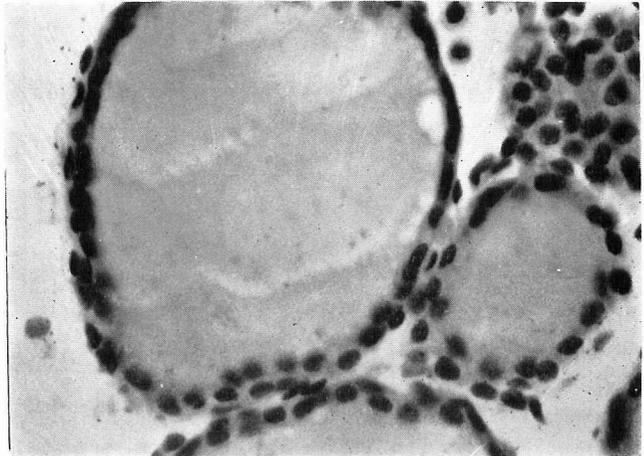
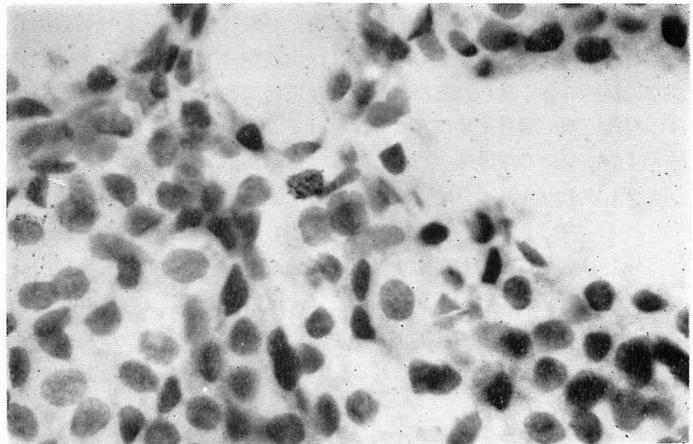


写真 3.

 $^3\text{H}$ -thymidine autoradiogram

H・E 染色×400

原始濾胞の標識細胞



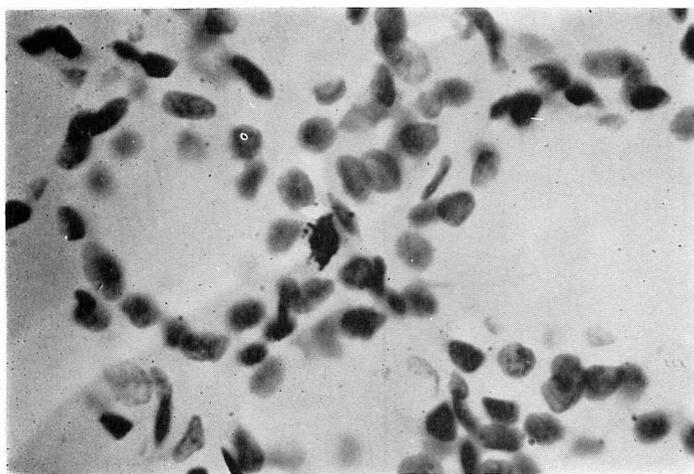


写真 4.  
 $^3\text{H}$ -thymidine autoradiogram  
H・E 染色×400  
中濾胞の標識細胞

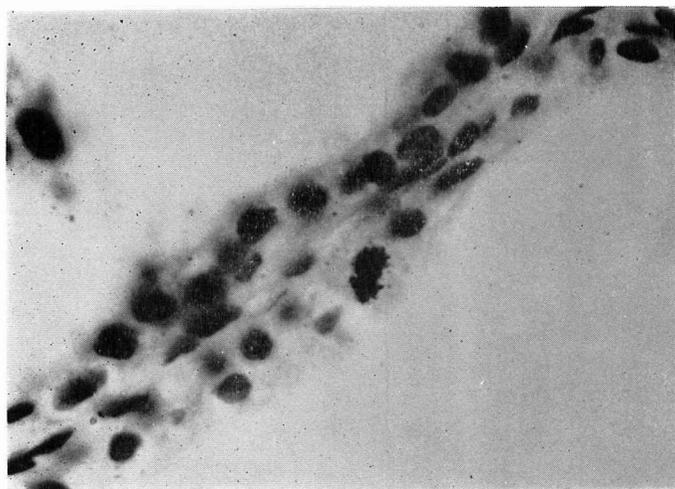


写真 5.  
 $^3\text{H}$ -thymidine autoradiogram  
H・E 染色×400  
大濾胞の標識細胞

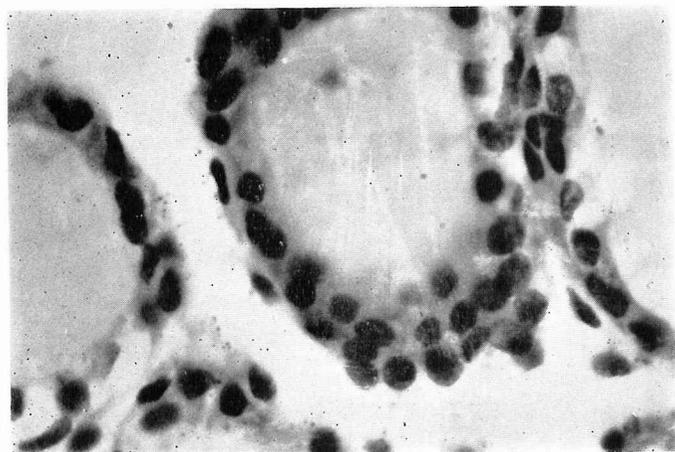


写真 6.  
H・E 染色×400  
正常ラット甲状腺に見られる多層上皮細胞

写真 7.

 $^3\text{H}$ -thymidine autoradiogram

H・E 染色×400

標識細胞は多層上皮細胞の基底部に認められる。

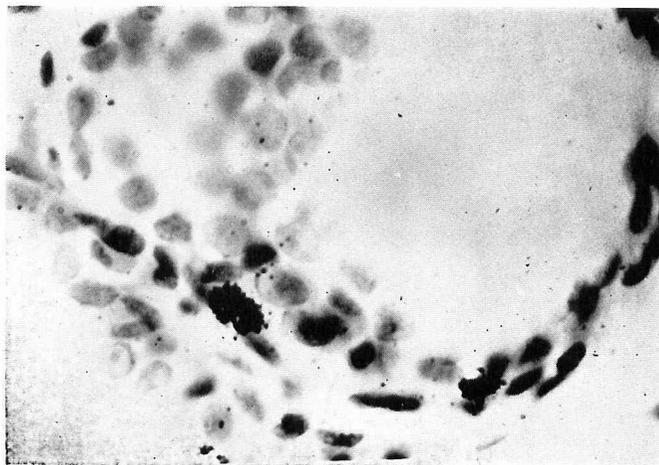


写真 8.

 $^3\text{H}$ -thymidine autoradiogram

H・E 染色×400

標識細胞は多層上皮細胞の上層部に認められる。

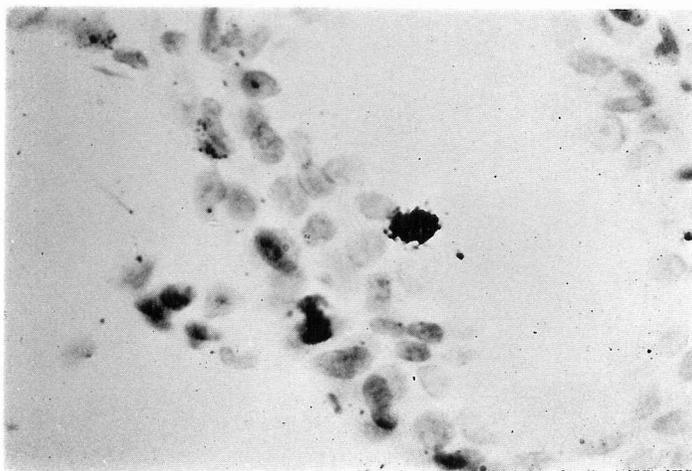


写真 9.

 $^{125}\text{I}$ -autoradiogram

H・E 染色×400

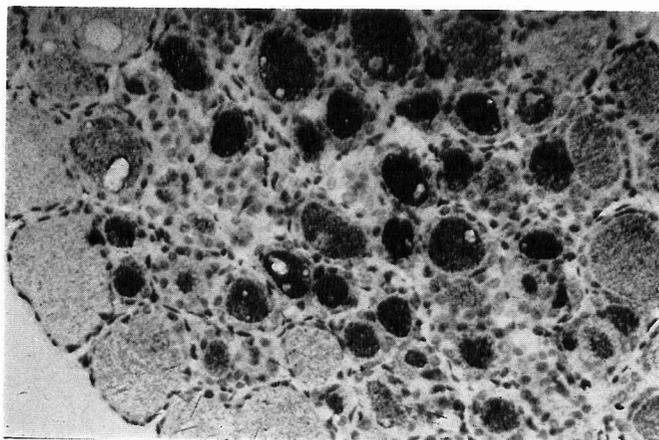
 $^{125}\text{I}$ の集積は原始濾胞にはほとんど認められず、中濾胞に最も強く認められ、大濾胞には比較的軽度である。

表2 多層上皮細胞における<sup>3</sup>H-Thymidineの取りこみ

時間	0.5	1	12	24	48	72	96	120
上層部%	25	24	40	40	62	42	38	50
基底部%	75	76	60	60	38	58	62	50

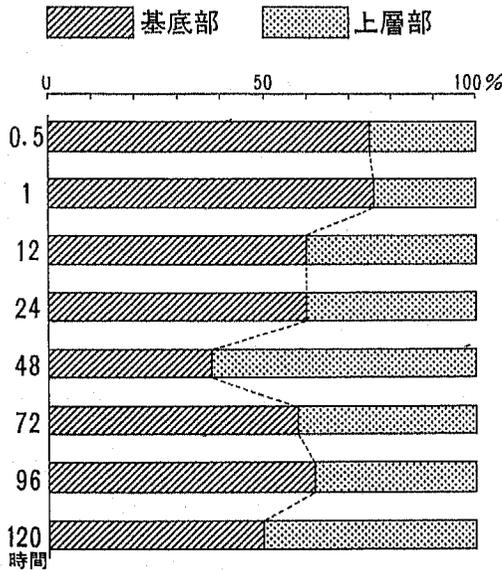


図2. 多層上皮細胞における<sup>3</sup>H-Thymidineの取りこみ

に多層上皮細胞を基底膜に近い基底部と、コロイド腔に近い上層部とに分けて標識細胞の検討を行なうと、標識細胞は写真7のごとく基底部に現われることもあり、また写真8の如く上層部に現われることもある。標識細胞が基底部と上層部に現われる頻度を経時的に観察すると、表2、図2のごとく<sup>3</sup>H-thymidine投与後30分では上層部25%、基底部75%と基底部に明らかに多く存在し、1時間後には上層部24%、基底部76%とほとんど変化なく、12時間後には上層部40%、基底部60%となり標識細胞は基底部にやや減少し、上層部に増加する傾向が認められる。24時間後には12時間後と全く同様の成績を示すが、48時間後には上層部62%、基底部38%と標識細胞は上層部に増加する。72時間後には上層部42%、基底部58%、96時間後には上層部38%、基底部62%、120時間後には上層部、基底部のいずれも50%である。

以上の成績を要約すると<sup>3</sup>H-thymidine標識細胞は<sup>3</sup>H-thymidine投与後30分では基底部に多く認められるが、時間の経過とともに基底部の標識細胞は減少し、上層部の標識細胞が増加する。したがって甲状

腺の多層上皮細胞においては増殖細胞は主として基底部に存在するが、一部上層部にも存在し、基底部の増殖細胞の分裂により新生した成熟細胞は上層部へ移行するものと考えられる。

C. 濾胞内における<sup>125</sup>Iの集積

<sup>125</sup>I Na投与後5分で原始濾胞を除く全濾胞に<sup>125</sup>Iの集積による黒化が認められるが、中でも写真9のごとく、中濾胞に最も強い黒化が認められ、大濾胞の黒化度は比較的軽度である。<sup>125</sup>I Na投与後15分、30分、1時間までは時間の経過とともに濾胞内への<sup>125</sup>Iの集積は増強し、黒化度は一般に増加するが、各濾胞間における黒化度の相違は5分後のそれと全く同様である。また<sup>125</sup>I Na投与後1時間以後は黒化度の増強は認められないが、各濾胞間における黒化度の相違は<sup>125</sup>I Na投与後1時間までの所見と同様に原始濾胞には<sup>125</sup>Iの集積による黒化はほとんど認められず、中濾胞に最も強く、大濾胞には比較的軽度である。

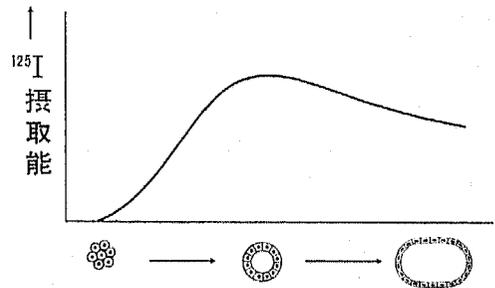


図3. 甲状腺濾胞の発育と機能

以上の所見から正常ラットの甲状腺におけるヨード摂取能は原始濾胞にはほとんど認められず、中濾胞に最も強く大濾胞には比較的軽度であることが判明した。

以上述べた甲状腺濾胞上皮細胞の増殖動態及び<sup>125</sup>I摂取能に関する成績は図3の様に要約されると考える。

考 按

各種細胞の細胞回転、増殖動態を明らかにすることは、種々の病態を理解する上にきわめて重要であり、古くから研究対象となっていた。従来用いられていた方法は、核分裂指数、あるいはstathmokinesisの解析などであり、方法論的にはきわめて不確実のものであった。近年核酸代謝の研究とともに、放射性同位元素を導入することにより各種細胞回転の研究は容易となった<sup>4)-16)</sup>。

小動物の小腸粘膜上皮細胞<sup>(7)(8)(17)(18)</sup>、胃粘膜上皮細胞

胞<sup>10)11)20)</sup>、表皮細胞<sup>1)21)</sup>などの細胞回転はすでにほぼ解明されているが、甲状腺濾胞上皮細胞に関する報告はほとんど見られない。吉村<sup>22)</sup>は濾胞上皮細胞の新生について述べているが濾胞の肥大、発育の過程については論及していない。著者は甲状腺濾胞上皮細胞の細胞回転、増殖動態を究明する目的で<sup>3</sup>H-thymidine autoradiographyにより追究し、あわせて濾胞の機能状態を検討するために<sup>125</sup>I autoradiographyを行なった。

甲状腺組織では、濾胞上皮細胞における<sup>3</sup>H-thymidine 標識細胞の出現はきわめて少ないが、このことは甲状腺濾胞上皮細胞の新生、死滅、脱落が緩徐に行なわれていることを示唆している。一方甲状腺においては核分裂がきわめて少ないことは著者も認めており、これは<sup>3</sup>H-thymidine 標識細胞の成績と一致する所見である。

すべて組織細胞は細胞分裂をつかさどる増殖細胞と各組織固有の機能をつかさどる成熟細胞との2つの細胞集団に分けられるが、甲状腺においては、両細胞が混在して認められ、<sup>3</sup>H-thymidine 標識法を参考にしても形態学的に増殖細胞を識別することはできない。すなわち甲状腺濾胞上皮の増殖細胞は成熟細胞とともに濾胞を構成しており、皮膚、胃腸などの消化管におけるごとく増殖細胞に特有な細胞分布が認められない。また甲状腺濾胞上皮細胞は前述のごとく核分裂がきわめて少ないので、他の臓器におけるごとく labeled mitosis<sup>1)3)4)10)23)</sup>による世代時間の追究は不可能である。したがって甲状腺濾胞上皮細胞の世代時間を算出するには藤田<sup>1)24)25)</sup>の cumulative labeling methodを用いるほかはないであろう。甲状腺濾胞の肥大、発育に関して吉村<sup>22)</sup>は濾胞の基底膜に接して存在する parafollicular cell の分裂によることを示唆しているが、著者の<sup>3</sup>H-thymidine 標識法によれば、濾胞上皮細胞の中に<sup>3</sup>H-thymidine で標識される増殖細胞が存在し、これの分裂により濾胞は原始濾胞から中濾胞、大濾胞へと肥大、発育するものと考えられる。ラット甲状腺においては原始濾胞あるいは中濾胞は甲状腺の中心部に存在し、大濾胞は甲状腺の辺縁部に存在するが、このことは吉村<sup>22)</sup>、Furihata<sup>26)</sup>も観察している。これを濾胞の発育という動的立場から考察すると、甲状腺の中心部において新生された原始濾胞は肥大、発育とともに甲状腺の辺縁部に移行し、ついには濾胞は崩壊して消失するものと推測される。しかしながら原始濾胞の新生の機構ならびに原始濾胞から大濾胞にいたる時間的推移に関しては本研究においては明らかにすることが出来なかったがこれは今後検討

を要する重要な課題である。

正常甲状腺の濾胞は原則として一層の上皮細胞からなるが、正常ラットの甲状腺においてはまれに濾胞の一部が数層の上皮細胞からなることがある。この多層上皮は一層の濾胞上皮細胞を斜めに切った結果とも考えられるが、著者は円形ないしは楕円形の濾胞を斜めに切ってもかかる多層上皮細胞層は認められないとの立場からこの多層上皮細胞は甲状腺濾胞の局所的増殖と考えている。この多層上皮細胞における標識細胞の出現状況は<sup>3</sup>H thymidine 投与後30分では標識細胞は基底部の細胞に多く認められ、上層部には少数認められるに過ぎないが、時間の経過とともに上層部にも多数認められるようになる。この成績は甲状腺濾胞の多層上皮細胞においては、増殖細胞は基底部に多数存在するが、上層部にも少数ながら存在することを示唆するものである。このような事実は他の重層上皮、たとえば皮膚では病的状態以外には観察できない所見である。すなわち正常皮膚においては基底部附近の基底細胞層と一部の深層の有棘細胞層に増殖細胞があつて<sup>15)</sup>、それより上層部には増殖細胞は認められないが、Psoriasis vulgaris, Eczema chronicum の様な病的状態においては広範囲に増殖細胞が認められるという。一方甲状腺においては、濾胞は原則として一層の上皮細胞であり、これが正常の甲状腺濾胞の基本的構造と考えられて来た。したがって多層上皮細胞の部分は、正常甲状腺の中に発生したやや異常な状態と解釈することが出来る。このような解釈にしたがえば前述の成績は多層上皮細胞の上層部にも増殖細胞が存在するという特異な事実は理解できる所見である。

甲状腺がヨウ素を選択的に摂取する機能を利用して従来<sup>13)I</sup>による autoradiography が行なわれ、教室においても牧内<sup>27)</sup>、佐野<sup>28)</sup>らの報告がある。しかしながら最近<sup>125</sup>I は低エネルギー性のγ線を主体とし、飛程距離が短いために<sup>131</sup>I によるよりも解像力の高い autoradiogram が得られることが明らかになった<sup>28)29)30)31)32)</sup>。著者はラット甲状腺に対して<sup>125</sup>I による autoradiography を行ない、<sup>125</sup>I の集積は原始濾胞にはほとんど認められず、中濾胞に最も強く、大濾胞には比較的軽度であることを知ったが、この成績はそれぞれの濾胞のヨウ素摂取能を反映しているものと考えられる。これと同様の事実は Fitzgerald<sup>33)</sup>、Nadler<sup>34)</sup>等も<sup>131</sup>I autoradiography を使用して観察している。

つぎに甲状腺濾胞の肥大、発育と機能との関係について考察すると、原始濾胞ではヨウ素摂取能はほとんど認められないが、これは原始濾胞は主として増殖細

胞よりなり、細胞分裂による濾胞の肥大、発育が旺盛であって、機能的には充分々化していない時期に相当するものと考えられる。中濾胞は濾胞としての形態は充分完成されたもので、ヨウ素摂取能は最も強く、したがって機能的には最も活動する時期である。形態学的に上皮細胞の立方化、中等量のコロイド貯留などの所見はこの成績を裏づけるものである。大濾胞は機能的に最盛期を過ぎた、いわば老化しつつある濾胞で、崩壊消滅の前段階にあるものと考えられる。形態学的にもこの濾胞は上皮細胞が扁平でコロイドを充満しており、この所見は機能的に退縮 (involution) しつつあることを示唆するものである。これらの濾胞をさらに動的に観察すると、濾胞の新生及び発育は甲状腺の中心部において行なわれ、一方老化した濾胞は中心部における濾胞の新生にともなって甲状腺辺縁部へ移行するものと考えられる。

### 結 論

著者は甲状腺濾胞上皮細胞の増殖動態及び各濾胞の機能状態を究明する目的で正常ラット甲状腺について  $^3\text{H}$ -thymidine 及び  $^{251}\text{I}$ Na による autoradiography を行ない次の結論を得た。

1. 甲状腺濾胞上皮においては増殖細胞と成熟細胞とが混在しており、両者を形態学的に識別することは出来ない。
2. 濾胞の発育は原始濾胞にはじまり、その中に含まれている増殖細胞の分裂により中濾胞から大濾胞へと発育する。また原始濾胞は甲状腺の中心部に存在するが、大濾胞へ発育するにしたがって甲状腺の辺縁部へ移行する。
3. 甲状腺濾胞上皮細胞にまれにみられる多層上皮細胞の増殖細胞は主として基底部に存在するが上層部にも一部認められる。
4. 各濾胞のヨウ素摂取能は原始濾胞には全く認められず、中濾胞に最も強く、大濾胞ではむしろやや低下する。したがって甲状腺のヨウ素摂取の主役をなすものは中濾胞である。

### 文 献

- 1) 藤田哲也：妹尾左知丸，新細胞学，p. 605, 1965, 朝倉書店，東京。
- 2) 津屋 旭：臨床病理，13：1，34，1965。
- 3) 松沢大樹：日放医学会誌，27：2，112，1967。
- 4) Quasler, H. and Sherman, F. G. : Exp. Cell Res., 17 : 420, 1959。
- 5) Lennartz, K. J. and Maurer, W. : Z. Zellforsch., 63 : 478, 1964。
- 6) Bond, V. P., Friedner, T. M., Cronkite, E. P. and Schork, P. K. : Science, 128 : 202, 1959。
- 7) Koburg, E., und Maurer, W. : Biochem. biophys. Acta, 61 : 220, 1962。
- 8) Leblond, C. P. : Physiol. Rev., 36 : 225, 1962。
- 9) Stevens, C. E. and Leblond, C. P. : anat. Rec., 115 : 231, 1953。
- 10) 笠原浩一郎：日消会誌，63：1，73，1966。
- 11) 榎 茂昭：京府医大誌，75：1，24，1967。
- 12) 加来博・藤田哲也：日組学記録，23：7，1962。
- 13) 加来博・藤田哲也：日組学記録，23：375，1963。
- 14) 加来博・藤田哲也：日病会誌，53：79，1964。
- 15) 加来博・藤田哲也：日組学記録，24：457，1964。
- 16) Leblond, C. P. : Lab. Invest., 8 : 296, 1959。
- 17) Bizzozero, G. : Anat. Anz., 3 : 781, 1888。
- 18) Patzelt, V. : Möllendorfsche Handbuch der Mikroskopischer Anatomie des Menschen, vol. 3, pp. 22-48, 1936, Berlin。
- 19) Hunt, T. H. : Anat. Rec., 118 : 392, 1954。
- 20) Wolfsberg, M. F. : Exp. Cell Res, 35 : 119, 1964。
- 21) Oehlert, W., J. Coté und F. Büchner : Beitr. Path. Anat., 125 : 280, 1961。
- 22) 吉村不二雄：三宅儀，内分泌学，1：p. 327, 1963. 朝倉書店，東京。
- 23) 前川正・土屋純：医学のあゆみ，67：7，297，1968。
- 24) 藤田哲也：細胞化学シンポジウム，14：275，1963。
- 25) Fajita, S. : Exp. Cell Res., 28 : 52, 1962。
- 26) Norio Furihata : Okajima's Folia Anat. (Jap.) 34 : 3, 211, 1960。
- 27) 牧内正夫：信州医誌，12：1，90，1963。
- 28) Nunez, E. A. : Acta endocr., 51 : 3, 369, 1966。
- 29) Keyes, J. : J. Ultrastruct. Res., 7 : 339, 1962。
- 30) Stien, O. : Endocrinology, 75 : 787, 1964。
- 31) 水平敏知：Radioisotope, 14 : 3, 240, 1965。
- 32) Loewenstein, J. E. : Endocrinology, 81 : 1074, 1967。
- 33) Fitzgerald, P. J. : J. clin. Endocr., 9 : 1153, 1949。
- 34) Nadler, N. J. : Endocrinology, 54 : 154, 1954。
- 35) 佐野悦司：信州医誌，8：7，112，1959。