

蛙小腸円柱上皮の増殖に関する研究

Study on the proliferation of columnar epithelia
in the small intestine of a frog.

小 島 徹*

(信州大学助手 医学部)

緒 言

一般に上皮は常に盛んに脱落して新しい細胞と更新されつゝある事は、衆知の事実である。しかし我々が日常顕微鏡標本をみて不思議に思うことは相当に多数の上皮細胞が脱落すると思われる部位でも切片標本に於ては有糸核分裂像を観察することが甚だ稀であることである。そこで私は上皮の脱落更新の最も顕著であると思われる部位の一つである所の腸管に於て上皮の更新即ち増殖について研究しようと試み、先ず手初めとして蛙を材料として検索しやゝ興味ある成績を得たので茲に報告する。

材料及び研究方法

材料は成熟したトノサマガエル *Rana temporaria* であつて昭和26年7月より9月迄に採取したものである。通常この種の研究にはパラフィン包埋の後に切片として観察するのが例であつた。私もこの方法によつて腸管の切片標本作製して観察したが、5 μ 位に切つても円柱上皮の核が重なり合うので所期の目的を達することが出来なかつた。即ち楕円形をした核が重なり合つて見難いことゝ細胞の境界が全く判然とは決められぬ場合があつたのである。勿論この様な切片標本でも有糸核分裂は後に述べる様な理由により相当に判然と認めることはできたけれども、本篇に於て主に述べようとする無糸核分裂の観察には著しく不便であつた。その理由の一つは勿論核が多数重なり合うことにもあるのであつて、この為無糸核分裂が行われつゝあつても、又無糸核分裂の結果、一つの細胞に二核又はそれ以上の多核を有する状態が存在しても、確然とそれと認めることは甚だ困難であつた。殊に更に他の理由である所の一個の細胞の境界が不分明であること、或は語を換えて言えば切片で観察される細胞は必ずしも細胞の全形を示すものでないことは無糸核分裂の様に核の内部構造の顕著な変化を起すことなしに行われる現象の追求には甚だ不適であつた。この故に私は嘗て尾持、井上と共に考案した分離細胞永久標本作製法を利用して腸管上皮を分離してこれを染色、バルサム封鎖して観察し甚だ興味ある成績を得ることができたのである。この方法の詳細については既に公表してあるので再述することは省略するが、便宜の為に次にその要点を摘録する。蓋しこの標本作製法こそは本篇の所見を得るのに密接不可分の関係があるからである。

先ず型の如く蛙の腹を開いて小腸を露出し、これを鉗で切り出してから、予て用意して置いた0.65%の生理的食塩水に投じる。そして腸管を縦に鉗で切り開き、ピンセットで挟んで食塩水中に振り動かしてよく内容を洗う。勿論この際粘膜面を損傷しない様に

*信州大学医学部第一解剖学教室 (指導 尾持教授)

十分に注意する必要がある。よく洗つたらもう一度新しい食塩水ですゝいだから Ranvier氏の $\frac{1}{3}$ アルコールに浸す。 $\frac{1}{3}$ アルコールの液温は 20°C 位が適当である。余りに液温が低いと細胞の分離に長時間を必要とするのみでなく、分離された細胞の核が膨化してう。 $\frac{1}{3}$ アルコールに浸す時間は 20°C ならば大体30分位で十分で、この位時間が経つたならばピンセットを用いて腸片をアルコール中で振り動かしてみる。するとバラバラと腸粘膜上皮が集団をなして落ちるのがわかる。暫くピンセットで振り動かしていると上皮はすつかり腸管から落ちて了つて後には半透明になつた腸の筋層、漿膜等が膜片として残る。この様になればこの膜片だけをつまみ上げて捨て、上皮塊の浮游しているアルコールをスピッツグラスに入れかえて力強く振盪する。何回も根気よく振つている中に始めは肉眼的にも不均質に見えた液が、肉眼的には殆ど均質に濁濁したものとなる。この状態になれば上皮細胞が完全に一個づつ分離したのである。この操作を完全に行わないと上皮分離の真の目的を達することができないから特に注意を要する。斯様に均質になつた液を遠心分離して上皮を沈澱させる。この際にも遠心分離の速度は余り速くない方がよく、余り速いと細胞がこわれて了う。私は手働式の遠心分離器を用いてよい結果を得た。上皮が沈澱したならば、上澄液($\frac{1}{3}$ アルコール)は沈渣の3倍量だけを残して捨てゝ了う。

別にアラビヤゴム末0.7g、水10c.c.、卵白3c.c.よりなる固着液を予め用意して置いて、上述の上皮の沈渣(少量のアルコールを含む)にこの固着液の一滴を加えて再び徹底的によく振盪混和する。この操作も亦大切で、この振盪が不完全であると一旦分離していた上皮細胞が再び粘着して塊となつて了うおそれが十分にある。この様にして固着液の中に細胞が均等に浮游する様な状態になつたならば、これを載せガラスに薄く塗布する。塗布の方法は大体に於て血液塗沫の方法でもよいが、覆いガラスと載せガラスとのなす角を一定にしたまゝ塗沫しないで、鋭角より始めて鈍角に終る様に覆いガラスを廻転しながら進めると塗沫部の最後に細胞が密集しないからより好都合である。こうして塗つたものは直ぐ乾くから、乾燥後 Zenker 氏液で再固定して、これより後は型の如くヘマトキシリンで染色し、脱水しバルサムで封鎖する。

自家所見及び考察

蛙の小腸壁は、人のそれと同じく粘膜、粘膜下組織、筋層、外膜より成るが粘膜には粘膜筋板を欠いているので粘膜と粘膜下組織との境界は明かでない。又小腸には輪状及び縦走の皺襞が無数にあるが人間に於けるが如く絨毛及び腸陰窩(又は腸腺)の区別はない。しかし切片標本で観察すると皺襞の上 $\frac{2}{3}$ 位の細胞の丈は高く典型的の円柱上皮の形をとり、皺襞の下部殊にその底では細胞も丈が低く、時としては立方上皮に近いものさえもある。これら上皮の核は細胞の高さの約下 $\frac{1}{3}$ のところを楕円形をしている。核は相隣るものが密接し且重なり合つているので、 5μ に切つたものでも個々の細胞体とそれに所属する核とを明確に区別することが難しいものが多かつた。細胞はその上端即ち自由縁に小皮縁を有している。又散存性に杯細胞が認められた。

有糸核分裂像は明確に認めることができた。上述の如く上皮細胞の核は細胞の高さの

略々下 $\frac{1}{3}$ のところにあるので、細胞核の大部分は凡そ一列に並んでいるが、有糸核分裂を営んでいるものは染色体が濃染するのみならず胞体は反つて一般の細胞よりも淡染して明るく見え且胞体は形がやゝ円くなり且丈が低くなつて一般の細胞の丈の高さの上 $\frac{1}{3}$ 位に位置する様になるので、殊更にはつきりと他のものより区別されて認められるのである。有糸核分裂の各期のものが認められたが、殊に中期又は後期のものが多かつた。この様な後期又は終期のものでは核が細胞長軸とは直角に分れ、換言すれば細胞が縦に二分する像が見られた。又有糸核分裂像は腸管皺襞の主として下半分に多かつた。

無糸核分裂については切片標本では明確に核の分裂の途中にあるものは認める事が出来なかつた。何故に認められないかの理由は簡単である。元来無糸核分裂は有糸核分裂とは異り分裂に要する時間が短い上に、細胞核自体の染色上、形態上の変化が甚だ軽微である。然るに上述した如く小腸上皮の核は、非常に薄い切片標本で見ても隣接したものが互に重なり合っているのであるから、この様な標本では無糸核分裂の瞬間の像を捕えることが非常に困難であるからである。しかし無糸核分裂が終了し細胞体の分裂が未だ起らない時期、換言すれば一つの細胞に2個の核を有する状態のものは皺襞の上半部に於て散見することができた。この無糸核分裂後の二核状態は後に細胞分離標本の観察の際に判明したのであるが、実に多数存在するのである。しかもこの様に多数あるものさえも切片標本で漸く散見されるに過ぎないのは、専ら上述の如く無糸核分裂の際の核の染色上、形態上の変化の軽微なこと、切片では核が重なり合い且細胞の境界が全く判然としない為であると考えている。然るに細胞分離標本に於て無糸核分裂及びこれに次いで起る細胞体の分割の状態を観察したところ実に明瞭な像を得ることができたので以下これについて主として図に拠つて説明を加えることとする。

Fig 1 これは静止期にある円柱上皮である。核は楕円形で細胞の中央よりやゝ下にある。小皮縁も見える。静止期の細胞ではこの様なものが最も多く見られるので代表として挙げたがより大きいもの(丈の高いもの)も、より小さいものもある。

Fig 2 核にくびれの生じたものである。核のくびれがもつと弱いものもあるが、静止期の核でも多少の溢れを示すことがあるので、この程度よりも弱い溢れのものは果して無糸核分裂の過程にあるものか否かを断定するのに困難である。核は形がやゝ溢れているだけで、内部構造は静止期のものに比し大差はない。まさに分れようとする核相互は明らかに染色質を以て連つている。この様な状態にある核は非常に稀であつて私がこれ迄に観察したところでは1500—1600例にも及ぶ無糸核分裂像の中でわずかに9回しか遭遇しなかつた。この像がこの様に稀であることは、この状態を非常に短い時間に経過して去ることを意味すると考えられる。

Fig 3 分裂した核相互の間に微かに境界を生じた状態である。核は完全に分裂はしているが未だに互に接着している。この状態のものは前者に比しては多少多く見られるが、実数に於ては尙稀にしか見られぬものである。

Fig 4 更に進んで分裂した娘核の間に明瞭な間隙の生じた状態である。茲に興味あることは核の離断が所謂柔い餅を引きちぎる様に行われるのでなくて、餅を刃物で切つた様な外觀を呈する点である。娘核の相対する面はこの図では多少彎曲しているがどちら

かと云へばもっと直線的であるものゝ方が多い。この状態の像は相当に多く見られる。従つてこの状態は時間的にある程度ゆつくりと経過すると思われる。

Fig 5 これは前図のものと同じ時期のものであるが、唯異るところは娘核の相対する面が彎曲している点である。この様な形のものゝはそう多くは見られない。円乘氏が嘗て人間の腎上体髄質細胞の無糸核分裂に於て認めた核中隔形成とは趣を異にしている。

Fig 6 分裂した2核が少し離れて一つの細胞内に在る状態である。この形のものゝは甚だ多数観察されるので恐らく無糸分裂像の中の90%以上を占めている。換言すれば細胞はこの状態を相当に長い間保つているものと推測されるのである。上述の切片標本に於ける2核もこの状態を観察したものと考えられる。娘核相互の距離は図の如く核の長径の半ば以内のものが多い。

Fig 7 娘核の一つが移動して両核の間に1個の核の長径位の間隙のあるものである。この状態は前者に比しては非常に少い。

Fig 8 は細胞体の分割の始まつた像である。2核の細胞内に於ける位置は前図のそれと類似している。しかし本図の様に細胞体の分割の途中にあつて相互の胞体は尙明かに連続している像は甚しく稀にしか観察され得ないものである。このことは細胞体の分割が甚だ速かに短時間に行われる為であるとも考えられるが、又この状態にある細胞は分離標本作製の過程に於て容易に離断して了うことも考えられる。恐らくこの両方の原因が相俟つて甚だ稀な像を示すのではないかと考えている。

Fig 9 細胞体の分割が完了して、完全に2個の細胞に分れた像である。これと同様のものはFig 10で唯異るところは分割した両細胞がFig 10では離れているのにFig 9では相接しているだけである。この両図の像も共に甚だ稀にしか認められない。その理由は主として前項の説明で挙げた後の方のものによるのであらうと考えている。即ちこの状態にある細胞は分離標本作製の際に容易に別々に分離して了うからであらうと思う。この考えを裏付けるものとしてFig 9又はFig 10の様な大小二つに分れた各々の細胞が散見されるからである。又このことよりして細胞もこの状態に於てある程度安定しているものゝ如く思われる。Fig 9, 10に於ける大型の細胞はFig 1に於ける静止期のそれに似てはいるが細胞下半に大きな切痕を示すのが特徴である。又小型の細胞は所謂基底細胞又は補充細胞と呼ばれるものに酷似している。

Fig 11 本図も亦前2図と根本的には異なるものではない。唯注意すべきは所謂大型の細胞の下半に存在していた大なる切痕が殆んど消失し、Fig 1に於ける静止期のものと殆ど等しくなつたことゝ、同時に小型の細胞の核上部細胞質の量が増したことである。Fig 11に示した様な大小2個の細胞が相接している像は極度に稀である。理由は前項の説明によつても直ちに了解することができよう。両細胞は標本作製の過程に於てバラバラに分れて了うからである。

図には挙げてはないが、これより後は大型の細胞はFig 1に示した如き形に復帰するは明らかである。小型の細胞の運命に関してはFig 11の小型の細胞とよく似たものでしかも細胞の自由縁にわずかな小皮縁を有しているものが散見されることよりしてこの小型細胞の核上部が漸次發育してFig 1の様な形になるものと推察される。但しこの様な

小型細胞では小皮縁は未だ腸内腔には面していないのでないかと思つている。

以上述べた所見の外にやゝ特殊なものとして稀ではあつたが1個の比較的大なる細胞体に3個の核を有しているものを観察した。これにも種々の段階があつて、厳密に謂えば2核であつてその中の一核がFig 2に示した様に縊れているもの、1核がFig 4の様に完全に2分して合計3個となつているもの、更に進んで3個の核がFig 6の様に離れて存在しているものまでである。殊に3核ではあるが1核は離れ、2核は相接している型のものが最も多く見受けられたが、これが何を意味するかについては未だ不明である。

Fig 12 は有糸核分裂像である。図に明かな様に細胞の丈は甚だ短小であるにも拘らず、幅はやゝ広くなつている。有糸核分裂には素より種々の時期があり、こゝに示したのは代表的な像を現わす中期である。この有糸分裂の各期を合計してみてもその頻度はFig 4に於けるものと似ている。換言すれば無糸分裂に比して遙かに少数なのである。

総括的結語

この小論文に於ては上述したところを再び総括する必要もないと考える。唯結論を述べるについて必要な所見のみを挙げ併せて之についての考察を附記することゝしたい。

切片標本に於ては有糸核分裂の存存が明瞭であるので、小腸上皮の増殖は有糸核分裂によつてのみ、或は少なくとも大部分は有糸核分裂によつて増殖するものゝ如く見える。然しFig 12の説明に述べた如く細胞の分離標本に於て観察するときには無糸核分裂の数は有糸核分裂の数に比して圧倒的に多いことは明白であり、これは又非常に興味ある事と思う。

有糸核分裂が小腸壁に於ける皺襞の中部より以下に多いことは切片標本の観察によつて知られたが、無糸核分裂が果して小腸壁皺襞の何れの部分に於て多いかは全く明かではないが、少なくとも皺襞の中部よりも上方にも見られることは明かである。殊に分離標本に於て細胞の丈の高いもの即ち皺襞の中部より上方に多い形の細胞にFig 6の如き2核の状態が多く見られることは皺襞の上部に於ても旺盛な無糸核分裂の行われていることを示すものとする。では何故に無糸核分裂が起るのか或は有糸核分裂が一方に於て行われているにも拘らず無糸核分裂が起るのか。私はChildが提唱し且後にPattersonも亦これを認めたとのころの有糸核分裂と無糸核分裂は共存し得るものであり、且無糸核分裂は迅速なる成長を必要とするところに起るとの説を裏付するものと解釈してよいと思う。何となれば小腸の皺襞、殊にその上半部は常に機械的刺戟に曝され従つて上皮の損耗も甚だ大であろうと想像されるからである。勿論私の今回研究したのは蛙であるからこの考えが直ちにそのまゝ他の高等哺乳動物に当はまるとは考えない。

次に有糸核分裂と無糸核分裂とを比較して興味あることは両者の核分裂の軸が全く異なることである。有糸核分裂によれば円柱上皮は核と共に縦裂されるのに、無糸核分裂によれば胞体自身はその下半部が縦裂するのみで、核は上下に即ち横裂されるのである。

無糸核分裂の過程を追求するに、先ず核が上下に、即ち横裂し、次で移動しこの両核の間の細胞体に裂け目ができて完全に細胞が二分する、この際にも興味あることは前述の様

な核の分裂の方向のみならず、核の分裂が臍細胞又は白血球の無糸分裂に於て見られた様に柔い餅を引きちぎる様な形をとらないで、急に刃物で切つた様に分れることである。勿論この様な無糸核分裂の形が他に見られないわけでもないがやゝ興味ある事実の一つと考える。又無糸分裂によつて核及び胞体が完全に二分する迄の時間的的過程を考えて見るのにFig 2の様な像が著しく稀でありFig 3の像が之に次いで少いのFig 4, Fig 5の像が割合に多くFig 6の像が著しく多いことは核の溢れが突如として、しかも急速に出現し忽の間に核の二分が完了することを示していると思う。そして2核の状態で細胞体が分割することもなく保たれていることがわかる。次に2つの核の間隔が広くなると共に細胞体の分割が直ちに始まると考えられる。何となれば2つの細胞核の間隔がやゝ広くしかも細胞体の分割の伴わないFig 7の様な像は非常に稀にしか認められないからである。これから後の状態の像は甚だ稀にしか見られないがこれは分離標本の作製に際して細胞が各々の娘細胞に分れ易いので果して時間的に短いかどうかは断定はできないが恐らくそんなに長い時間を費すことなしに細胞体の完全分離即ちFig 9乃至10の状態に至るものと考えられる。そしてこれより後は漸次娘細胞が大きいものも小さいものも共に静止期の円柱上皮の形に向つて変形し分化するものと考えられる。これに要する時間はそんなに短いものではないことは分離標本に於てFig 9又はFig 10の大小各々の細胞が散見されることから推察することができる。三核の状態は1個の核の無糸核分裂による2核状態の後に、一方の娘核の再分裂によつて生じたものであることは疑う余地はないが、果してこれが何を意味するか、又これより後は如何なる経過を辿るかについては不明である。

擧筆するに当り絶大なる御指導、御校閲を賜りました恩師尾持教授に深き感謝の意を表すものであります。

附 図 説 明

図はすべて千代田顕微鏡E型、載物机の高さ11.8cmのものに接眼15×、対物鏡40を使用し明確に焦点を合せた際に鏡筒の上面から机の面までが約31.5cmのものに、アツベ描画装置を附して机の面で描画したものである。従つて細胞は長さに於て1050倍に拡大されているが製版に際し8割大に縮写したからこの図版では840倍大で示されている筈である。

主 要 文 献

- 1) C. M. Child: Amitosis as a factor in normal and regulatory growth. *Anat. Anz.* 30. 1907 (zit. nach Möllendorff).
- 2) 円乗幸: 人副腎の細胞学的研究。髓質細胞の核 特にその無糸分裂、核小体胞及び有形物質の核外脱出に就て。解剖学雑誌, 第23巻, 2号。
- 3) E. Gaupp: *Anatomie des Frosches*
- 4) Rudolf Krause: *Mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere in Einzeldarstellungen, Amphibien.* 1923.

- 5) 森於菟, 吉岡俊亮: 綜合動物学, 蛙
- 6) Wilhelm v. Möllendorff: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Die lebendige Masse, Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse.
- 7) J. Th. Patterson: Amitosis in the Pigeon egg. Anat. Anz. 32, 1908 (zit. nach Möllendorff)

小島論文附圖



Fig 1

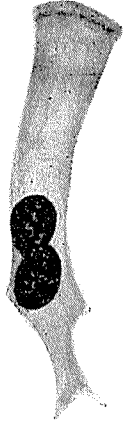


Fig 2



Fig 3

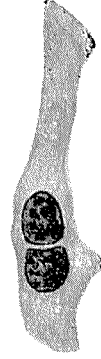


Fig 4

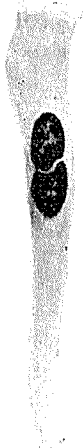


Fig 5

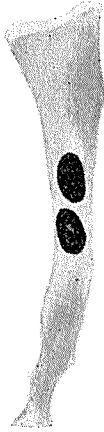


Fig 6

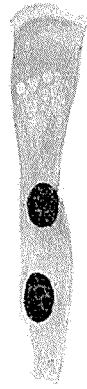


Fig 7



Fig 8



Fig 9



Fig 10

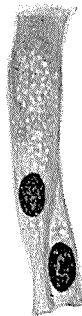


Fig 11



Fig 12