

原 著

肝細胞の無糸核分裂に関する実験的研究

第 I 報：正常マウス肝臓の葉および小葉内における無糸核分裂の出現

沢 柳 精 倅

信州大学医学部第 1 解剖学教室 (主任：尾持昌次教授)

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE AMITOSIS IN THE HEPATIC CELLS.

I. FREQUENCIES OF CELL DIVISIONS IN THE LOBES AND LOBULES OF MOUSE LIVER.

Kiyotaka SAWAYANAGI

Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director: Prof. Sh. Omochi)

Key words: 肝細胞 (hepatic cells), 無糸核分裂 (amitosis)

I 緒 言

Münzer(1) (1923) 以来, 各種動物の無糸核分裂に関する研究は多数発表され, 最近では, 百瀬(2), 永田(3)(4)(5), Grundmann (6), 平野(7), Carriere (8) 等の論文があるが, いずれも環境, 薬物, 肝部分切除等による肝細胞の無糸核分裂数, または二核細胞数の変動を, 肝臓の特定または不特定の葉の一部分より採取した資料により観察したものであって, 二核細胞の出現について, 肝臓の葉の別ならびに小葉内の部位の別による相違に着目して研究されたものは未だ発表されていない。著者は今回この点について留意した実験を試みたので, 得た知見を報告する。

II 材料および研究方法

普通の食餌すなわち固型餌料クレア C E - 2 により飼育された d d 系正常マウス雄 5 匹, 体重 13g ~ 17g を使用した。これを断頭によって殺し, 肝臓を Cook (9) 従い 5 葉に分け, RL, RM, LM, LL, および C の各葉 (図 1 参照) より各々材料を採取して, これらより尾持等(10)の細胞分離標本作製法により永久標本を作製する一方, これら各葉の一部分より 10%ホルマリン固定, パラフィン包埋連続切片標本作製した。染色法はいずれもヘマトキリン・エオジン染色である。

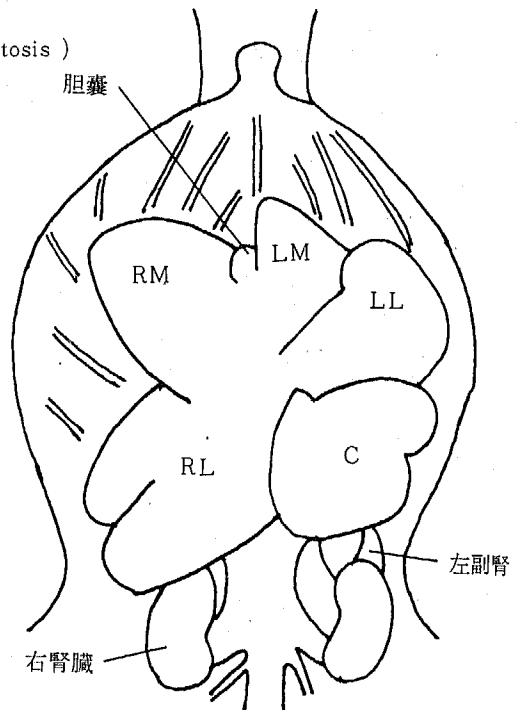


図 1 マウス肝臓の葉の命名 (Cook による)

- RL : Right Lobe
- RM : Right Median Lobe
- LM : Left Median Lobe
- LL : Left Lobe
- C : Caudate Lobe

肝細胞の無糸核分裂

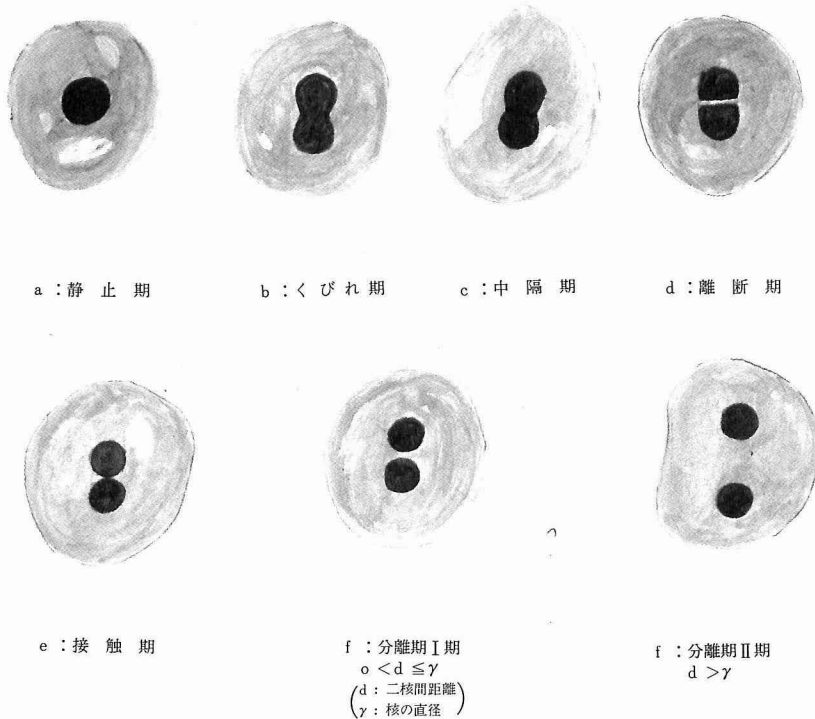


図2 マウス肝細胞の無糸核分裂の各期のスケッチ

III 成績

無糸核分裂の過程について、矢頃(11)は次のごとく分類している。(図2参照)

1. 静止期, 一つの細胞に1個の核を具えたいわゆる一般の細胞。(図2 a)
2. くびれ期, 核が若干長くなり, その中央部

が亜鈴様にくびれた時期。(図2 b)

3. 中隔期, くびれの部分を横切るように濃染した条の見える時期。(図2 c)

4. 離断期, 中隔の部分が鋭利な刃物で切ったように離断されて核が二分された時期。(図2 d)

5. 接触期, 離断期の引続きで, 二分されてできた二核が相接している時期。(図2 e)

表1 無糸核分裂の出現率(%)

動物番号		1					2					3					4					5					
		RL	RM	LM	LL	C	RL	RM	LM	LL	C	RL	RM	M	LL	C	RL	RM	LM	LL	C	RL	RM	LM	LL	C	
二核細胞	接触期	26	35	29	45	29	32	35	53	28	89	8	23	11	12	21	17	20	30	25	20	33	53	56	71	31	
	分離期	I期	260	214	216	194	194	251	285	240	293	180	110	113	138	96	97	184	191	138	209	141	254	181	258	252	257
		II期	4	5	7	5	1	1	0	0	1	5	6	2	6	0	2	6	1	1	1	0	7	1	3	3	6
無糸核分裂		6	3	2	8	5	7	4	2	4	5	1	4	4	1	2	4	4	5	4	4	0	8	7	4	3	

RL : Right Lobe
LL : Left Lobe

RM : Right Median Lobe
C : Caudate Lobe

LM : Left Median Lobe

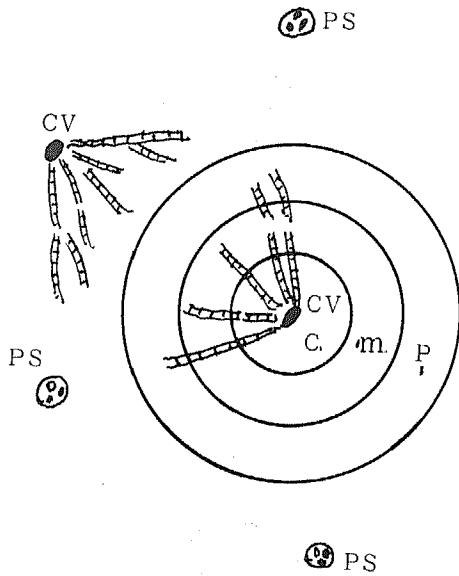


図3 中心静脈を中心とした小葉内区分
CV: 中心静脈
PS: グリソン鞘

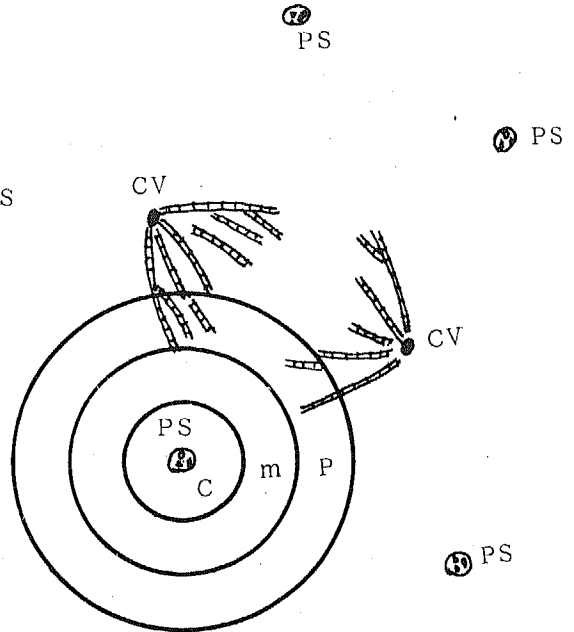


図4 グリソン鞘を中心とした小葉内区分
CV: 中心静脈
PS: グリソン鞘

6. 分離期, 相接していた二つの核の間隔がやや広くなって分離した状態の時期。(図2f)

著者は平野(7)に従いこの分離期をさらに二期に分けた。すなわち核の直径を γ , 二核相互間の距離を d とすると、 $0 < d \leq \gamma$ を第1期, $d > \gamma$ を第2期とした。

各々のマウスの分離標本について、1000個ずつの細胞を数え、上記の分類にもとづき、分類各期における二核細胞の出現率を算定した。その結果は表

1に示すごとくである。

切斷標本については、肝小葉内の二核細胞の分布を調べるため、小葉を3つの部分すなわちグリソン鞘周囲、中心静脈周囲、および前二者の中間帯に区分し、分離標本と同様に1000個の細胞中の二核細胞の出現率を算定した。

すなわち切片標本において図3のごとく、中心静脈を中心として肝小葉の横断面を同心円状に3つの区画に分けて、各区画について二核細胞の出現率

表2 中心静脈を中心として同心円状に小葉を区画したときの二核細胞数
(細胞 1,000個につき)

葉 小葉内区画 動物番号	RL			RM			LM			LL			C		
	c	m	p	c	m	p	c	m	p	c	m	p	c	m	p
1	89	103	141	70	110	145	95	137	213	101	95	160	94	134	187
2	120	138	203	126	174	211	152	196	304	101	167	219	91	143	203

c: 中心静脈の近傍, m: 中間部, p: 周辺部,

表3 グリソン鞘を中心とし中心静脈を通るように描いた円の中における二核細胞数 (細胞1000個につき)

葉 小葉内区 動物番号	RL		RM		LM		LL		C	
	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P
3	144	71	144	69	180	72	148	69	177	64
4	232	72	244	85	231	70	255	79	252	89
5	256	88	263	81	246	97	271	79	262	77

C: グリソン鞘の近傍部 P: 前者より周辺にある部分

を算定したところによると(表2), 中心静脈に近接する区画では他の区画に比して二核細胞の数がやや少なく, 中心静脈より最も隔った周囲において最も数が多い傾向があることが認められた。肝臓の各葉における計測値を比較してもこの傾向はほぼ一致する。しかしこのように中心静脈を測定の出発点とする計測法では, 周辺部とされた区画の中にグリソン鞘すなわち門脈の枝の小葉間静脈ないしは小葉間動脈枝に甚だ近いところと, これとは逆にこれらの脈管より相当に隔った部位とが混在することとなる。これが結果の不一致を来す原因の一つとなるのではないかと考えて, 別に図4に示すように, グリソン鞘を中心とする区域とその周囲の区域との2つの区画に分けて, 各区画についての二核細胞の出現率についての算定も行なった。その結果を表3に示す。

この表3で明らかなようにグリソン鞘を中心としての区分によると, グリソン鞘に近い中心部は周囲部に比して顕著に二核細胞の数が多い。しかもこの傾向は肝臓のいずれの葉においてもほとんど正確に一致する。すなわち肝臓の各葉による部位的差異はないと言える。

IV 考 察

表1によれば, 二核細胞は細胞総数の20~30%認められ, その中でも分離期第1期が圧倒的多数を占め, 接触期, 分離期第II期がこれに次ぐ。

この結果は Carriere (8)の肝細胞核についての総説による哺乳類の肝臓における二核細胞の出現率10~25%とほぼ一致している。なお無糸核分裂は非常に少なく, わずかに平均0.4%, 最高0.8%を示す

表4 表1より作製した要因分析表

要 因	S S	D F	M S
A	252.07	5-1=4	** 63.02
B	3.20	5-1=4	0.80
C	8884.40	4-1=3	** 2961.47
A×B	42.79	(5-1)(5-1)=16	2.67
B×C	48.93	(5-1)(4-1)=12	4.08
A×C	261.59	(5-1)(4-1)=12	** 21.80
A×B×C	160.80	(5-1)(5-1)(4-1)=48	3.35
T	9653.78	5×5×4-1=99	

要因記号: A: 動物個体差 B: 葉間差
C: 無糸核分裂各期 ** : 危険率1%で有意

表5 表2より作製した要因分析表

要 因	S S	D F	M S
A	2.39	5-1=4	0.60
B	1019.09	2-1=1	** 1019.09
C	113.88	3-1=2	** 56.94
A×B	1.52	(5-1)(2-1)=4	0.38
B×C	44.48	(2-1)(3-1)=2	** 22.24
C×A	6.08	(3-1)(5-1)=8	0.76
A×B×C	7.30	(5-1)(2-1)(3-1)=8	0.91
A B C	1194.74	N-1=29	

要因記号: A: 葉間差 B: 小葉内の部位差
C: 個体差 ** : 危険率1%で有意

表6 表3より作製した要因分析表

要因	SS	DF	MS
A	55.77	5-1=4	13.94**
B	294.08	3-1=2	147.04**
C	97.41	2-1=1	97.41**
A×B	15.55	(5-1)(3-1)=8	1.94
B×C	3.76	(3-1)(2-1)=2	1.88
C×A	21.80	(2-1)(5-1)=4	5.45*
A×B×C	8.37	(5-1)(3-1)(2-1)=8	1.05
ABC	496.74	29	

要因記号： A：葉間差 B：小葉内の部位差
C：個体差 **：危険率1%で有意
*：危険率5%で有意

に過ぎない。

この成績について、各出現率の Arcsine 変換を行ない三元配置法による要因分析を試みた。(表4)

分析表によれば、個体の別による変動は推計学的に有意でないのに反し、肝臓の葉による変動および無糸核分裂各期の変動とこれら両者の交互作用による変動は有意である。換言すれば、二核細胞の出現率の個体差は認められないが、葉間差および無糸核分裂各期の差は認められるということが明らかになった。

同様にして表2および表3の成績を要因分析すれば表5および表6を得る。この分析表によれば、中心静脈を中心として小葉内を区画すれば、小葉内の部位差および個体差の変動は有意となり、(表5)グリソン鞘を中心として小葉内を区画すれば葉間差、小葉内の部位差、個体差がともに有意であること(表6)が明らかとなった。

二核細胞は細胞機能と深い関係にあり、機能が亢進すると二核細胞が増加するという事は、尾持⁽¹²⁾永田⁽¹³⁾をはじめ当教室の多くの研究者の指摘するところである。すなわち、平野⁽⁷⁾はデヒコール注射による胆汁分泌亢進と肝細胞における二核細胞増加との間に比例的関係を認め、その他百瀬⁽²⁾も Benzylimidazolin 注射および食餌の影響について同様の結果を得ている。

著者の今回の実験は機能亢進によって出現すると思われる二核細胞の肝小葉内における分布が果し

て一様であるか否か、また肝臓の各葉において差異を示すかどうかを検索するにあつた。

Carriere⁽⁸⁾によって紹介された各研究者の結果はしかしこれと趣を異にするものもある。すなわち Münzer⁽¹⁾によれば中心静脈の領域により多くの二核細胞を認め、Sulkin⁽⁴⁾もまた中心静脈より細胞4個ぐらいの区域では二核細胞が多いと報告している。しかし Jacobj⁽⁵⁾のごとく中心静脈のすぐ近傍に一核の小型の細胞をみるとするものもあれば、Swartz⁽¹⁰⁾のごとく小葉周辺部に大型の核を認めながらも、これは成長期に限るものとする報告もある。

さて著者はグリソン鞘の近傍の肝細胞に二核細胞の多いことについての意義を考えてみた。表3のごとくグリソン鞘を中心としてこれに近い部分と隔った部分との間に、二核細胞の数において顕著な差を生じたことは、肝臓における血液の流れが最も大きな原因となっていると考えられる。すなわち肝門より肝臓内に入った門脈血は肝小葉の周囲の、しかもその一部分に点在する小葉間静脈に運ばれ、それより肝細胞索の間にある毛細血管(類洞)を径て小葉中心部に位する中心静脈に至るものである。

Rappaport⁽¹¹⁾は肝小葉をグリソン鞘の近くから中心静脈に向かって第1、第2、第3帯と分類し、栄養および酸素は第1帯で最も多く、第3帯で最も少なくなると推定した。しかし最近になり Warchol⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾の理論的考察および実験によりこの考えは否定され、むしろ逆に第3帯が第1帯より多量の栄養および酸素を受け取ることが証明された。従って今回の著者の研究成績を Warchol の小葉構造理論と結びつけて解釈するならば、グリソン鞘近くで栄養と酸素の少ない部分に無糸核分裂と二核細胞が多く、グリソン鞘より離れた栄養と酸素の多い部分に無糸核分裂と二核細胞が少ないという結果を得、この事実は永田⁽¹³⁾が論じたごとく、細胞の不良環境下で細胞機能を維持するために核の表面積を増大させる方法として二核細胞を形成するという仮説を支持することとなる。

V 結 論

- 1) 正常マウス肝臓における二核細胞出現率の葉間差および無糸核分裂各期の差は有意であった。
- 2) 小葉内における二核細胞の分布はグリソン鞘周辺に顕著に多く認められた。
- 3) 肝細胞の栄養供給と二核細胞との間に密接な関係のあることが推論された。

稿を終るに当り、御校閲載いた尾持昌次教授に
深甚なる謝意を表します。また終始御教導載いた永
田哲士助教授、教室員各位に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Münzer, Th. : Über die Zweikernigkeit
der Leberzellen, Arch. mikroskop. Anat. Ent-
wickl. mech., 98:249—289, 1923
- 2) 百瀬節生: 肝細胞の無糸核分裂に関する研究,
解剖学雑誌, 34:199—210, 1959
- 3) 永田哲士, 百瀬節生: イヌ肝細胞の無糸核分
裂および二核細胞の年令的変動, 解剖学雑誌, 34:
187—190, 1959
- 4) Nagata, T. : Effect of DAB administration
upon the cell divisions in the hepatic cells of rat
Med. J. Shinshu Univ., 4:457—468, 1959
- 5) Nagata, T. et al: Effects du Regime Ali-
mentaire sur l' Aspect des cellules Binucléées
dans le Pancreas et l'Estomac du Rat, Rev.
Frang. Etud. Cliniq. Biol., 7:714—718,
1960
- 6) Grundmann, E. und Bach, G. : Amito-
sen, Endomitosen und Mitosen nach partieller
Hepatektomie. Beitr. Path. Anat. 123:144-
172, 1960
- 7) 平野格: 利胆剤の肝細胞核分裂におよぼす影
響(Ⅱ),信州医誌, 14:174—180, 1965
- 8) Carriere, R. : The growth of liver pa-
renchymal nuclei and its endocrine regulation,
Intern. Rev. Cytol, 25:201—277, 1969
- 9) Cook, M. J. , : The Anatomy of the
Laboratory Mouse, 70, Academic Press, N.Y. 1965
- 10) 尾持昌次外: 細胞分離永久標本作製法, 解剖
学雑誌, 33:20—23, 1958
- 11) 矢頃恒三: 肝臓における無糸核分裂について,
信州医誌, 6:492—494, 1957
- 12) Omochi, Sh. , : Über das Verhältnis
Zwischen der Amitose und der Zellfunktion.
Med. J. Shinshu Univ. 6:163—170, 1961
- 13) 永田哲士: 無糸核分裂, 小川ほか編集, 細胞学
大系, 第5巻, 増殖と分化, 107—147, 1971
- 14) Sulkin, N. M. , : Amer. J. Anat.
73:107—1943 (cited by Carriere)
- 15) Jacoby, W. , : Über das rhythmische
Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres
Volumens. Wilhelm Rouxs Arch. Entwickl. me-
ch, 106:126—192, 1925
- 16) Swartz, F. , : Chromosoma, 8:53,
1956 (cited by Carriere)
- 17) Rappaport, A. M. , : Betrachtungen zur
Pathophysiologie der Leberstruktur, Klin.
Wschr, 38:561—577, 1960
- 18) Warchol, J. B. , : Theoretische Eröst-
erungen zur Frage der Ernährung und der Sau-
erstoffversorgung der Hepatocyten in Abhängig-
keit von ihrer Lage im Leberläppchen, Acta
histochem, 38:92—104, 1970
- 19) Warchol, J. B. , : Experimentelle Un-
tersuchungen zur Frage der Ernährung und der
Sauerstoffversorgung der Hepatocyten in Ab-
hängigkeit von ihrer Lage im Leberläppchen
Acta histochem, 39:81—88, 1971

(1971. 10. 22 受稿)