絶食後のマウス胃旁細胞と十二指腸上皮細胞のRNA合成に関するラジオ・オートグラフ的研究，ことに2核細胞について

昭和43年5月7日受付

信州大学医学部第一解剖学教室
（主任：尾持昌次教授）
名和橙黄雄

A Radioautographic Study on the RNA Synthesis in the Parietal Cells of the Stomach and the Epithelial Cells of the Duodenum of the Mouse after Starvation, with Special Reference to Binucleate Cells

Tokio Nawa
The First Department of Anatomy, Shinshu University
(Director : Prof. S. Omochi)

前報で著者はマウス胃旁細胞と，十二指腸上皮細胞について給食後の2核細胞と1核細胞のRNA合成の変動を報告したが，今回はさらに絶食後のRNA合成変動について同様にマウス胃旁細胞と十二指腸上皮細胞を用いて検討を試みた。

材料および方法

体重15gの雄マウス15匹を5匹ずつ3群に分け各群にⅠ，Ⅱ，Ⅲの番号をつけた。食餌は毎朝9時30分から10時までの30分間CLEA CE-2の4gを投与し一週間基礎食で馴らした後に，^{3}H-Uridine 20$\mu c/g$・体重を各群一斉に朝9時に腹腔内に注射し，Ⅰ群は9時30分から10時までの30分間食餌を投与し，Ⅱ群，Ⅲ群は食事を与えなかった。

第Ⅰ群は午前10時30分に殺した。これは注射後1時間半，給食後1時間にあたる。第Ⅱ群も同様に午前10時30分に殺した。これは給食していないので前日の給食からみると給食後24時間，注射後1時間にあたる。第Ⅲ群は翌日の午前9時に殺した。これは給食後48時間，注射後24時間にあたる。胃と十二指腸をNagata et al.[1)2)]の方法で分離標本としSakura NR-M1乳剤を用いてDipping法でラジオ・オートグラフィーを行なった。露出は4°Cで195日間，現像はSDX-1で20°C 5分間，定着，水洗後，ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。

各群とも1核細胞10個，2核細胞10個をat randomに選びその銀粒子数を算えた。一方，同一組織の一部を取り10% Formalinで固定し，脱水後パラフイン包埋し5μの切片をつくり，Sakura NR-M1乳剤でDipping法を行ない，同じように4°Cで露出した。露出期間は73日間であった。SDX-1で20°C 5分間現像し，定着，水洗後，ヘマトキシリン染色を施した。

結　果

Fig. 5－8は分離標本，Fig. 9－10は切片標本であるが分離標本ではRNAによる銀粒子は1核，2核細胞ともに取り込みがみられ，切片標本でも銀粒子は同様に各細胞に一様に取り込まれている。

Table 1は胃旁細胞における各実験群の各個体の銀粒子数であって，Fig. 1はこれを実験群にまとめて図示したものである。これによると核，細胞質ともにⅡ群すなわち注射後1時間ではあるが，給食後24時間を経過しているもので銀粒子数が減少していることがわかる。Table 2はTable 1の要因分析であるがこれによるとA（処置，すなわち注射の有無と動物間の二重因子），B（核の状態，すなわち1核か2核かの相違），C（部位，すなわち核か細胞質かの別）ともに1%の危険率で有意となっている。すなわち各時期とも1核細胞より2核細胞の取り込みが多いといえる。

十二指腸上皮細胞を絨毛細胞（Villus cell）と陰窩細胞（Crypt cell）とに分けて観察すると，2核細胞は絨毛細胞にのみ存在する。そこで1核の絨毛細胞と2核の絨毛細胞，そして陰窩の細胞との三種の細胞に分類し，その各々について10個の細胞における銀粒子

Table 1. Mean Grain Counts of 10 Mononucleate and 10 Binucleate Cells in the Parietal Cells of the Stomachs of Mice after Giving ^{3}H-Uridine

Animal	Mononucleate		Binucleate	
No.	Nucleus	Cytoplasm	Nucleus	Cytoplasm
11	30.2±10.0	27.0± 7.7	35.2±14.1	34.7±10.7
12	8.8± 2.2	18.6± 2.8	34.4±10.2	24.0± 8.1
13	21.5± 5.2	33.8±12.2	47.3±15.5	50.2±10.6
14	28.5±13.4	38.7±12.1	41.6±20.3	43.7±17.6
15	18.1± 4.8	36.7±13.4	32.6±17.7	38.1±10.7
21	21.4±10.3	42.3±14.7	38.0±17.8	36.1±17.6
22	7.6± 6.1	9.0± 2.6	14.5± 4.8	11.5± 5.1
23	7.8± 4.4	10.3± 3.4	21.5± 8.9	14.1± 6.5
24	12.1± 3.5	27.9± 7.9	34.8±12.2	33.9±13.3
25	8.9± 3.0	16.4± 7.3	23.9±11.8	26.9±14.1
31	11.4± 4.4	46.1±20.5	35.2±17.1	63.1±29.9
32	17.5±11.8	34.3±17.1	29.7±10.9	39.6±15.5
33	17.1± 6.5	42.6± 8.4	31.3±14.4	45.1±13.8
34	12.3± 3.2	33.9± 8.9	32.2± 8.9	42.8±15.4
35	11.2± 3.2	29.2±14.7	25.9±11.9	37.5±14.0

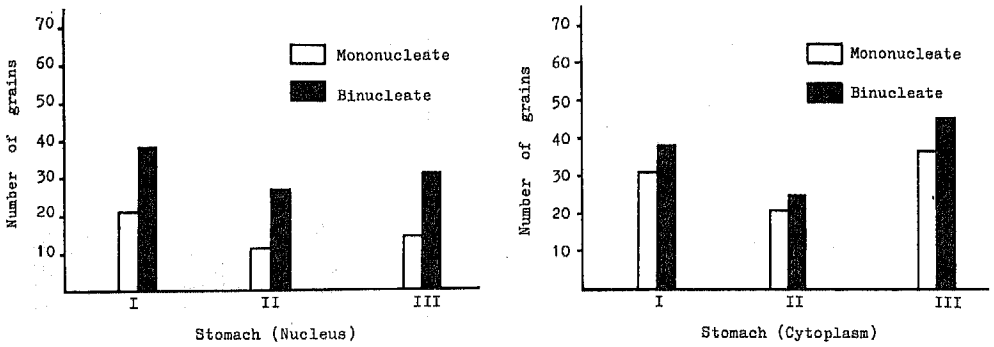


Fig. 1. Histogram showing the number of grains in the nucleus and the cytoplasm of the parietal cells after giving ^{3}H-uridine

Table 2. Factorial Design of the Data Listed in Tabel 1.

Factor	S S	D F	M S
A	16288.18	2	8144.09**
B	19187.42	1	19187.42**
C	12558.08	1	12558.08**
A × B	330.51	2	165.26
A × C	7348.41	2	3674.21**
B × C	3765.31	1	3765.31**
E	113041.61	590	191.60
ABCR	172519.52	599	

Abbreviation to the table
A : Treatment, Animals
B : Mononucleate, Binucleate
C : Nucleus, Cytoplasm
** : Significant in 1% Level of Significance

を算え，これを Table 3, Fig. 2 に示した。

Fig. 2によると一般に核，細胞質ともに胃旁細胞のようなはっきりとした傾向は示されないが Table 4 の要因分析表によるとA（処置と動物），B（核形）は1% の危険率で，C（部位）は5% の危険率で有意となり，2核細胞は1核細胞よりも銀粒子の取り込みが多いといえる。

考　察

胃旁細胞の RNA 銀粒子の取り込みは核，細胞質ともに1核細胞よりも2核細胞の方が多くなっている。Ⅰ群とⅡ群とを比較してみると注射時間と殺す時間は同じであるがⅠ群は給食，Ⅱ群は絶食であり，あきら

Table 3. Mean Grain Counts of 10 Mononucleate and 10 Binucleate cells in the Duodenal Epithelial Cells of Mice after Giving ^{3}H-Uridine

Animal No.	Mononucleate				Binucleate	
	Crypt cells		Villus cells			
	Nucleus	Cytoplasm	Nucleus	Cytoplasm	Nucleus	Cytoplasm
11	12.9± 5.3	25.3±16.0	12.5± 3.7	16.1± 4.0	31.3±17.7	21.4± 7.8
12	11.5± 7.1	6.3± 2.6	7.3± 2.0	10.6± 4.0	31.0±11.7	22.3± 7.3
13	28.4± 9.6	24.5± 6.5	19.0±11.3	25.2±15.2	32.3±10.1	25.0±24.9
14	23.4±12.5	11.8± 4.0	10.5± 3.0	14.6± 5.0	25.9± 8.8	28.2±10.9
15	30.1±12.2	21.2± 8.7	16.1± 8.4	19.3± 9.5	50.9±26.1	39.3±14.9
21	39.5±15.5	33.7±16.1	22.6±13.8	33.1±13.2	47.1±29.3	36.8±18.6
22	13.1± 8.3	5.3± 3.0	5.5± 1.0	7.2± 2.0	46.0±15.1	9.7± 3.0
23	16.1±12.7	7.5± 4.4	3.4± 3.0	5.6± 1.7	20.5±20.9	13.0± 5.5
24	18.8± 5.2	14.6± 5.7	9.5± 5.1	14.6± 4.5	25.1±10.1	21.6± 7.0
25	26.6±14.2	15.7± 5.9	19.7±15.3	16.9± 6.9	33.3±22.3	23.2± 8.9
31	24.2±13.3	22.6± 6.2	16.2± 7.3	32.1±18.1	25.7±16.0	25.1± 7.6
32	40.3± 7.1	23.8± 7.8	13.8± 4.8	31.2± 6.0	44.8±18.3	37.5±11.7
33	26.7±12.6	21.4± 6.8	28.4±13.4	43.2±14.5	39.9±21.3	38.7±26.1
34	28.6±16.4	26.6±10.4	25.7±13.4	38.6±16.1	28.2± 9.1	22.9± 7.3
35	24.3± 7.6	18.4± 7.1	17.7±10.2	24.4±11.7	28.4±10.8	23.3± 8.5

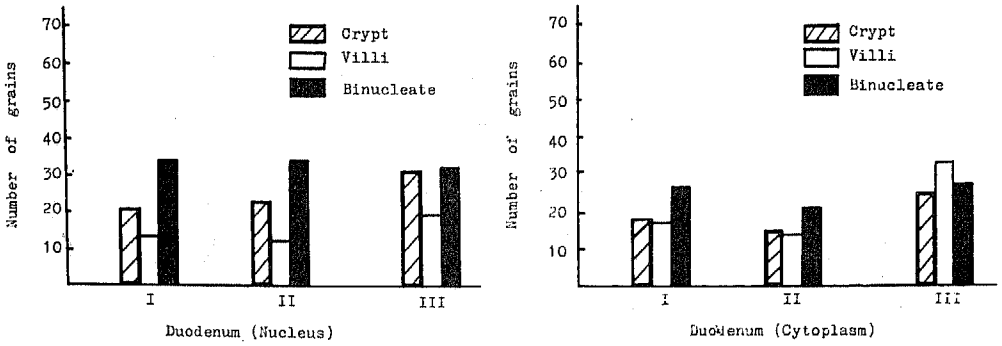


Fig. 2. Histogram showing the number of grains in the nucleus and the cytoplasm of the duodenal epithelial cells after giving ^{3}H-uridine

Table 4. Factorial Design of the Deta Listed in Table 3.

Factor	S S	D F	M S
A	14333.09	2	7166.55**
B	16426.10	2	8213.05**
C	576.00	1	576.00*
A × B	34818.74	4	8704.69**
A × C	15848.83	2	7924.41**
B × C	24135.15	2	12067.58**
E	103166.13	886	116.44
ABCR	209304.04	899	

Abbreviation are the same as in Table 2.
*: Significant in 5% Level of Significance

かにⅡ群の絶食群で取り込みが減少している。

Table 2 の因子Aを95%の信頼係数で図示したのがFig. 3で，これによると有意の差は給食と絶食によるものであり，Ⅰ群とⅢ群の差は，はっきりしないが，Ⅱ群とⅢ群をみるとⅢ群の取り込み増加は経時的な結果とみなされる。すなわち RNA 合成は給食により昂進されることを示し，絶食群では急激な増加はないが時間とともに取り込みが増加する。

三種に分類された十二指腸上皮細胞では RNA 銀粒子の取り込みは2核の絨毛細胞>陰窩細胞>1核の絨毛細胞の順に多く胃旁細胞同様にⅡ群の絶食群で低下がみられる。

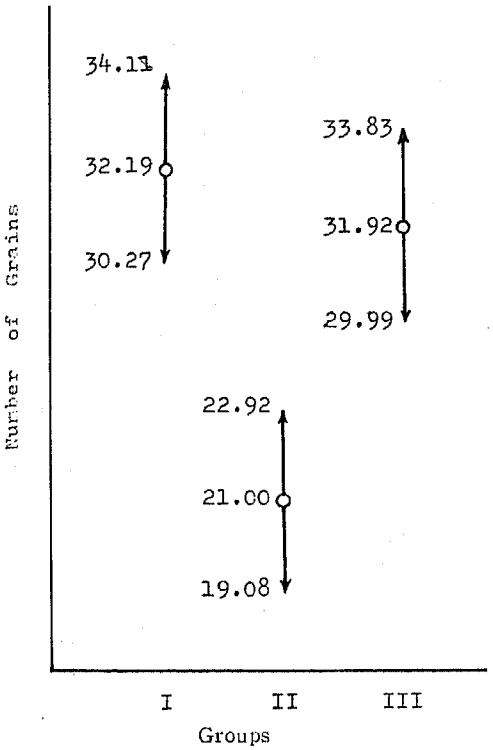


Fig. 3. Variation of the confidence limits of the facor A (Table 2) in 95% confidence coefficient

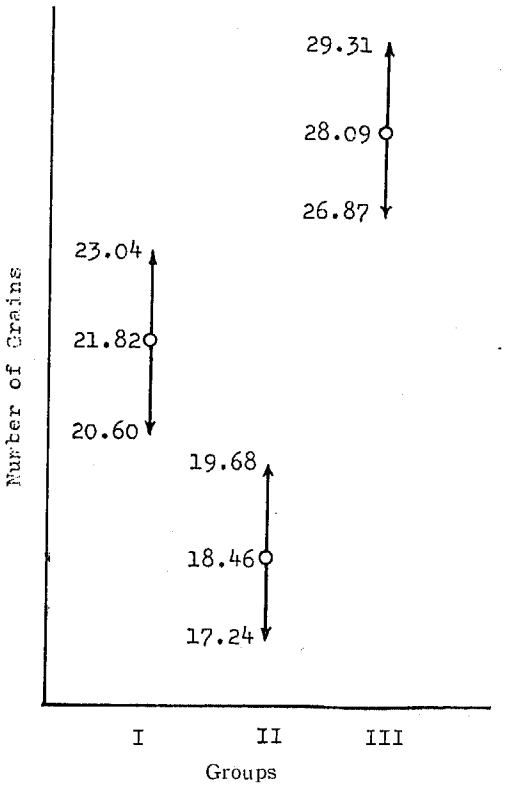


Fig. 4. Variation of the confidence limits of the factor A (Table 4) in 95% confidence coefficient

Table 4 の因子Aを95%の信頼係数で図示したのがFig. 4 でⅠ群の給食群とⅡ群の絶食群との間に有意の差がみられる。すなわち十二指腸上皮細胞の RNA 合成は給食により亢進され，絶食群でも RNA 銀粒子の取り込みは時間とともに増加することを示している。

島村[3)4)]のラッテ胃旁細胞，近藤[5)]の十二指腸上皮細胞における研究では食後2核細胞数が増加し，この増加は細胞機能と密接な関係にあると報告している。著者の今回の RNA 合成についての研究では上記の論文に述べられたような2核細胞数の増減は検索していないがおそらく RNA 合成と2核細胞数の増減との間には密接な関連があるものと考えられる。名和[6)]の胃旁細胞と十二指腸上皮細胞における給食後の RNA 合成の報告によると2核細胞の RNA 合成は1核細胞より盛んであり胃旁細胞では給食後 RNA 合成は漸増して再給食により蓄積された RNA が消費され，新らたに合成が行なわれる。また十二指腸上皮細胞では陰窩細胞の絨毛側への再生移動を報告している。Omochi et al.[7)]，Nagata[8)]，柴田[9)]も同様の報告をしている。著者の今回の実験は条件が異なり腸上皮の再生移動は，はっきりしなかったが絶食後の影響について比較検討を試みている。

放射性の RNA 前駆物質を用いた研究によると銀粒子は最初は核小体と核に現われ，次いでこれが細胞質中に出現するといわれる (Amano and Leblond[10)]，Harris et al.[11)]，Chèvremont[12)])。前駆物質の核小体への取り込みはしかしながら投与後きわめて短時間後に起こるものであるから，今回の実験のように注射後1時間における観察では放射性物質の細胞質への放出がすでにかなりおこっていて，核と細胞質における銀粒子数の間には明確な差異は認められなかったが，それでも両者の間には推計学的に有意の差が示された。

組織培養細胞における2核細胞と RNA，DNA 合成に関する報告はほとんどみられないが，名和[13)]，Nagata and Nawa[14)]の報告によると RNA，DNA 合成ともに1核細胞よりも2核細胞の方が多く，細胞増殖の盛んな時に RNA，DNA 銀粒子の取り込みが増大する。また名和[15)]の顕微分光測光法で定量した肝細胞

DNA 量に関する報告によると，肝2核細胞は肝機能昂進の時に増加し，同時に2核細胞の DNA 量もまた1核細胞のそれにくらべて増加する。このように RNA および DNA 合成は1核細胞に比較して2核細胞の方が盛んであり，2核細胞数，核酸合成はそれぞれ細胞機能と密接な関係にあると考えられる。

結　論

胃旁細胞の ^{3}H-Uridine の取り込みは核，細胞質ともに1核細胞よりも2核細胞の方が多く，給食群(Ⅰ)と絶食群（Ⅱ）を比較すると絶食群では1核細胞，2核細胞ともに RNA 合成が低下しているが，この事は給食により RNA 合成が促進されることを示している。なお絶食群でも時間の経過とともに，^{3}H-Uridine の取り込みが増加する。

十二指腸上皮細胞の ^{3}H-Uridine の取り込みは2核絨毛細胞＞陰窩細胞＞1核絨毛細胞の順となり給食群にくらべて絶食群では三種の細胞ともに RNA 合成の低下をみる。絶食群では胃旁細胞と同様に経時的に銀粒子の取り込みは増加する。このように絶食，給食群ともに胃旁細胞，十二指腸上皮細胞では1核細胞よりも2核細胞の方が RNA 合成が盛んであり給食により1核細胞，2核細胞ともに RNA 合成が促進され，絶食により逆に低下を示す。

総　括

給食と絶食後の胃旁細胞と十二指腸上皮細胞の RNA 合成を比較検討するために体重15gのマウス（雄）に一週間基礎食を与え，^{3}H-Uridine 20$\mu c/g$ 体重を腹腔内に注射した。Ⅰ群（注射後1時間半，給食後1時間），Ⅱ群（注射後1時間半，給食後24時間），Ⅲ群（注射後24時間，給食後48時間）に分けそれぞれ分離標本を作製して，Sakura NR-M1 乳剤を用いて Dipping 法でラジオ・オートグラフイーを行ない，各々の細胞10個をとって，取り込まれた銀粒子数を算えた。

胃旁細胞の ^{3}H-Uridine の取り込みをみると銀粒子数は各群ともに1核細胞より2核細胞の方が多く，給食群と絶食群を比較すると1核細胞，2核細胞ともに絶食群の方が銀粒子数が少なかった。すなわち給食により RNA 合成が促進されたと考えられる。

十二指腸上皮細胞では細胞を2核の絨毛細胞，1核の絨毛細胞，陰窩細胞の三種類に分けると，^{3}H-Uridine の取り込みは各時期とも2核絨毛細胞＞陰窩細胞＞1核絨毛細胞の順であった。給食，絶食の影響をみると胃旁細胞と同様に三種の細胞ともに絶食群で RNA 合成の低下をみた。すなわち給食により RNA 合成が促進されたと考える。絶食群では胃旁細胞，十二指腸上皮細胞ともに，経時的に銀粒子数は増加した。

終りに臨み，本研究に指導と校閲を賜わった尾持昌次教授，永田哲士助教授に深甚な謝意を表します。
本文の要旨は昭和42年第72回日本解剖学会総会（名古屋）において発表した。

文　献

1) Nagata, T., Shibata, O. and Omochi, Sh.: A new method for radioautographic observation on isolated cells, Histochemie, 2: 255, 1961
2) 永田哲士・柴田　治・名和橙黄雄：ラジオオートグラフ多量作製のための簡便法，解剖誌，42: 162, 1967
3) 島村和夫：食餌によるラッテ胃旁細胞の細胞分裂数の変動，解剖誌，33: 358, 1958
4) 島村和夫：食餌の相違による旁細胞の無糸分裂数および二核細胞数の変動，信州医誌，10: 228, 1961
5) 近藤恒二郎：腸円柱上皮における細胞分裂に関する研究，Ⅲ 給食後におけるラッテの腸円柱上皮細胞，解剖誌，35: 487, 1960
6) 名和橙黄雄：給食後のマウス胃旁細胞と十二指腸上皮細胞の RNA 合成に関するラジオオートグラフ的研究，ことに2核細胞について，信州医誌，16: 654, 1967
7) Omochi, Sh., Nagata, T., Shibata, O. and Nawa, T.: Autoradiographische Studien über die RNS-Synthese in den Verdauungsorganen der Mäuse mit Besonderer Berücksichtigung auf Zweikernige Zellen, Arch. histol. jap., 27: 545, 1966
8) Nagata, T.: A radioautographic study on the RNA synthesis in hepatic and the intestinal epithelial cells of mice after feeding, with special reference binuclearity, Med. J. Shinshu Univ., 11: 49, 1967
9) 柴田　治：給食後のマウス膵臓細胞と回腸上皮細胞の RNA 合成のラジオオートグラフ的研究，特に2核細胞について，信州医誌，16: 843, 1967
10) Amano, M. and Leblond, C. P.: Comparison of the specific activity time curves of ribonucleic acid in chromatin, nucleolus and cytoplasm, Exp. Cell Res., 20: 250, 1960

11) Harris, H., Fisher, H. W., Rogers, A., Spencer, T. and Watts, J. W. : An examination of the ribonucleic acids in the HeLa cell with special refererce to current theory about the transfer of information from nucleus to cytoplasm, Proc. Roy. Soc. B., 157 : 177, 1962
12) Chèvremont, M. and Baeckland, E. : Étude histoautoradiographique de l'incorporation d'uridine tritée en culture de rissus dans des fibroblastes normaux ou soumis à l'action de substances antimitotiques, Arch. Biologie, 72 : 461, 1961
13) 名和橙黄雄：顕微分光測光法による肝細胞核 DNA 量の年令的変化，ことに2核細胞との関係について，信州医誌，16：441，1967
14) 名和橙黄雄：培養線維芽細胞における核酸合成に関するラジオ・オートグラフ的研究，ことに二核細胞について，信州医誌，15：31，1966
15) Nagata, T. and Nawa, T.: A radioautographic study on the nucleic acid syntheses of binucleate cells in cultivated fibroblasts of chick embryos, Med. J. Shinshu Univ., 11 : 1, 1966

ABSTRACT

An attempt is made in this paper to decide the difference of RNA synthesis between the binucleate and mononucleate cells of both the stomach and the duodenum of the mouse after starvation.

Fifteen mice were injected simultaneously at 9 a. m. with 20$\mu c/g$. body weight of ^{3}H-uridine intraperitoneally and divided into 3 groups. The animals of Ⅰ group were fed 1 hour later and sacrificed 1½ hours later. The animals of Ⅱ and Ⅲ groups were not fed on the day. The animals of Ⅱ group were sacrificed 1½ hours later, while the animals of Ⅲ group were sacrificed 24 hours later.

The tissues were processed by the method of Nagata et al. using NR-M1 (Sakura) autoradiographic emulsion for dipping and exposed for 195 days.

In the parietal cells of the stomach incorporation of ^{3}H-uridine was greater in the binucleate cells than in the mononucleate cells. As for the relation between the incorporation of ^{3}H-uridine and starvation, the incorporation in both the mononucleate and the binucleate cells decreased in the starved group (Ⅱ).

In the duodenal epithelial cells, the cells were classified into three types ; mononucleate villus cell, binucleate villus cell, mononucleate crypt cell. The incorporation of ^{3}H-uridine was high in the following ascending order : binucleate villus cell, mononucleate crypt cell, mononucleate villus cell. The incorporation in the three type cells decreased in the starved group (Ⅱ) similar to the parietal cells.

In the starved groups (Ⅱ and Ⅲ), the incorporation of ^{3}H-uridine increased together with the lapse of time after injection.

From these results, it should be concluded that the RNA synthesis were increased in binucleate cells comparing with mononucleate cells and decreased in the starved animals comparing with the fed.

PLATE

EXPLANATION OF FIGURES

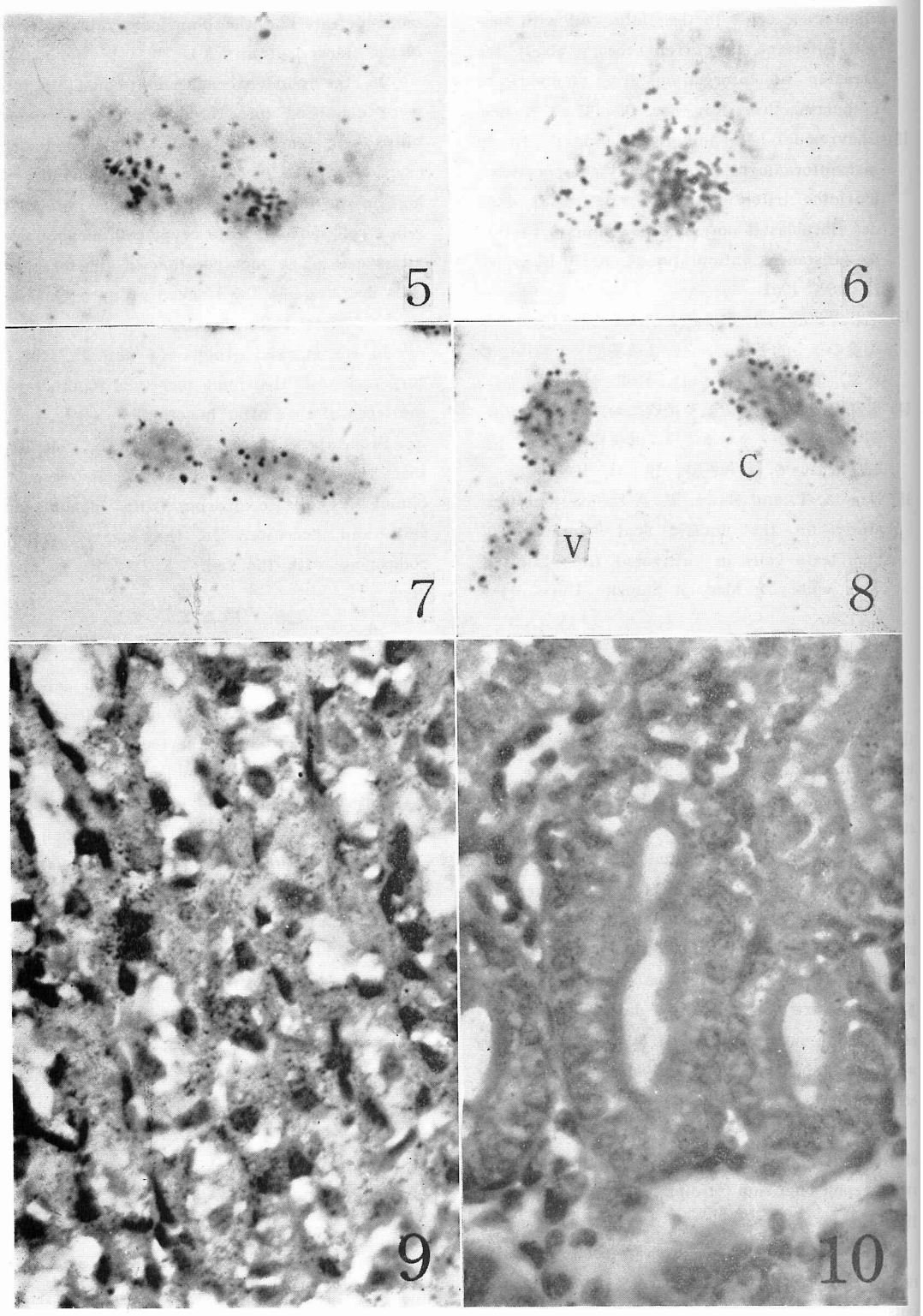
Fig. 5. A labelled binucleate parietal cell from an animal sacrificed 1½ hours after the injection, 1 hour after the feeding. ×1100

Fig. 6. A labelled mononucleate parietal cell of the same animal as in Fig. 5. ×1100

Fig. 7. A labelled binucleate duodenal cell from the same animal as in Fig. 5. ×1100

Fig. 8. A labelled mononucleate duodenal cell from the same animal as in Fig. 7 (V : Villus cell, C : Crypt cell) ×1100

Fig. 9. A section of the stomach from an animal sacrificed 1½ hours, 24 hours after the feeding. ×850

Fig. 10. A section of the duodenum from the same animal as in Fig. 9. ×1100

PLATE