

# 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

昭和42年8月5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 澄 黄 雄

## A Radioautographic Study on the RNA Synthesis in the Parietal Cells of the Stomachs and the Duodenal Epithelial Cells of Mice after Feeding, with Special Reference to Binucleate cells

Tokio Nawa

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

核酸合成についてのラジオ・オートグラフ的研究は種々の組織について数多く発表されている。しかしながら消化器組織にしばしばみられる2核細胞と1核細胞との差についての研究発表は数少ない<sup>⑧⑨</sup>。

そこで今回は胃旁細胞と十二指腸についてRNA前駆物質の<sup>3</sup>H-uridineを用い、食餌とRNA合成との関連について検討を試みた。

### 材料および方法

体重15gのマウス(雄)を5群に分け、1週間基礎食を与えて飼育した。食餌は毎朝10時から10時30分までの30分間与えた。1週間基礎食で馴らした後に<sup>3</sup>H-uridine 20 $\mu$ c/g 体重を各群一斉に朝9時に皮下注射し、10時から10時30分までの30分間基礎食を与えた。

第1群は午前11時に殺した。これは食後1時間、注射後2時間にあたる。第2群は午後1時(食後3時間、注射後4時間)、第3群は午後5時(食後7時間、注射後8時間)、第4群は翌日午前9時(食後23時間、注射後24時間)、第5群は同日の午前10時から10時30分までの30分間食餌を与え、再給食後3時間、注射後28時間にあたる午後1時に各々を殺した。しかしながら第5群は実験中に3匹が死亡し、結局第5群だけは2匹となった。

胃と十二指腸を Nagata et al.<sup>⑩</sup>の方法で分離標本としFuji ET-2E 乾板を用いて Stripping-Film 法でラジオ・オートグラフィを行なった。

露出は4°Cで55日間、現像はFD-111で20°C 5分間、定着後、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。一方同組織の一部を10% Formalin で固定し、パラフィン包埋した後切片をつくり、Sakura NR-M1 乳剤で Dipping 法を行ない同じように4°Cで露出した。露出時間は36日であつた。SDX-1で20°C 5分間現像、定着、通常のごとくヘマトキシリン・エオジン染色を施した。標本はそれぞれ1枚ずつ Amano<sup>⑪</sup>の方法で DNase, RNase 処理を行なった。

### 結 果

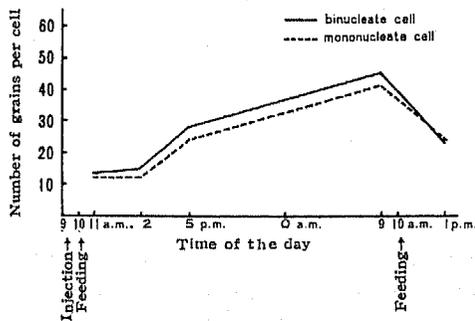
Table 1 は各々の動物の時間における銀粒子数で、Fig. 1はこの経過を示したもので、この図からはつきりすることは、食後4時間から銀粒子数の取り込みが増加し、食後23時間で最高に達し以後減少している。

Table 2 は Table 1 の要因分析表でこの結果によると T (経過時間)、N (核形)ともに1%の危険率で有意となつている。すなわち1核細胞と2核細胞での銀粒子の取り込みを見ると各時期とも2核細胞の方が多いといえる。

十二指腸上皮細胞は絨毛細胞 (Villus cell) と陰窩細胞 (Crypt cell) に分けると、2核細胞は絨毛細胞にのみ存在した。銀粒子は絨毛1核細胞10個、2核細胞10個、陰窩細胞10個について算えこれを Table 3, Fig. 2 に示した。Fig. 2 によると陰窩細胞における銀粒子の数は注射後8時間で最高になり、時間の経過とともに漸減する。絨毛における1核細胞と2核細胞

**Table 1.** Mean Grain Counts of 10 Mononucleate and 10 Binucleate Cells in the Parietal Cells of the Stomach

| Animal No. | Nuclearity   |            |
|------------|--------------|------------|
|            | Mononucleate | Binucleate |
| 11         | 8.3± 3.3     | 8.1± 2.7   |
| 12         | 15.7± 8.5    | 19.0± 8.6  |
| 13         | 15.4± 2.2    | 13.5± 5.3  |
| 14         | 7.1± 2.1     | 8.2± 2.5   |
| 15         | 11.3± 3.1    | 16.2± 7.4  |
| 21         | 9.5± 2.5     | 7.6± 3.2   |
| 22         | 10.2± 2.8    | 17.9± 8.8  |
| 23         | 10.3± 2.7    | 12.7± 5.9  |
| 24         | 10.4± 2.1    | 15.7± 4.6  |
| 25         | 21.5± 6.3    | 21.0± 6.8  |
| 31         | 20.2± 5.8    | 20.6± 4.3  |
| 32         | 22.2± 4.6    | 18.6± 5.5  |
| 33         | 23.1± 8.2    | 39.3± 18.1 |
| 34         | 25.5± 7.5    | 34.7± 13.4 |
| 35         | 27.6± 7.5    | 30.2± 12.2 |
| 41         | 42.8± 8.8    | 37.5± 6.4  |
| 42         | 16.7± 6.3    | 18.5± 4.6  |
| 43         | 58.1± 5.1    | 52.4± 6.4  |
| 44         | 39.0± 9.6    | 52.5± 11.2 |
| 45         | 47.9± 13.0   | 64.3± 24.3 |
| 51         | 23.8± 4.9    | 23.5± 6.7  |
| 52         | 22.0± 5.3    | 22.2± 8.5  |



**Fig. 1** Variation of the mean grain counts in the parietal cells of mice stomachs after giving <sup>3</sup>H-uridine

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

| Factor | SS        | DF  | MS         |
|--------|-----------|-----|------------|
| T      | 60492.48  | 3   | 20164.16** |
| I (T)  | 24882.83  | 16  | 1555.18**  |
| N      | 1108.89   | 1   | 1108.89**  |
| R (N)  | 1710.17   | 18  | 95.01**    |
| T × N  | 193.55    | 3   | 64.52      |
| E      | 31317.04  | 358 | 87.48      |
| TINR   | 119704.96 | 399 |            |

Abbreviation to the table

T: Time

N: Nuclear type

I: Individuality

の銀粒子数は注射後4時間目にわずかに減少をみる  
が、以後漸増している。

Table 4 は Table 3 の要因分析表であるが、これ  
によると N は 1% の危険率で有意となり 2 核細胞は  
1 核細胞に比較して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 1 核細胞  
よりも 2 核細胞の方が多く、時間的経過をみると注射  
後 8 時間で銀粒子数が増加し、注射後 23 時間まで漸増  
を続けながら、再給食後 3 時間で、ほぼ銀粒子数は半  
減する。この説明としては、給食後 RNA 合成が盛ん  
となり、これが再給食まで漸増しながら蓄積され、再  
給食により、この全 RNA 量の半分が消費されて、さ  
らに新しく RNA が合成されるものと考えられる。

十二指腸上皮細胞は三種に分類したが、この RNA  
(銀粒子) の取り込みをみると、すべての時期で陰窩  
細胞の方が多く、絨毛 1 核細胞と 2 核細胞を比較する  
と、胃旁細胞と同様に 2 核細胞における取り込みが多  
くなっている。

時間的経過をみると陰窩細胞における銀粒子数は注  
射後 8 時間で急増し、再給食まで合成した RNA をそ  
れほど消費することなく維持して再給食により減少の  
傾向を示す。絨毛 1 核細胞と 2 核細胞は再給食まで漸  
増をつづけ、再給食により、さらに増加の傾向を示  
す。

このことは腸上皮の再生の結果、RNA 合成を盛ん  
に行なつた陰窩細胞が絨毛へ移動し、絨毛 1 核細胞と  
2 核細胞の銀粒子が漸増したようにみえるのではない  
かと考える。

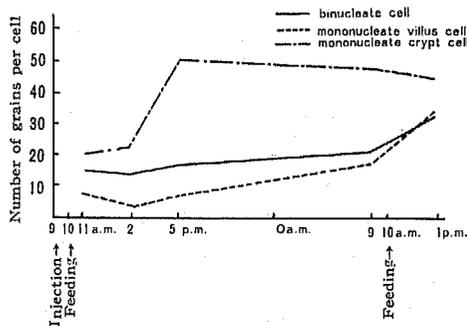
Seito et al.<sup>(4)</sup> の <sup>3</sup>H-Thymidine の報告によると  
十二指腸の再生時間は 72 時であるというから、注射後  
28 時の時は上皮細胞が陰窩から絨毛へ 1/2 移動したと考  
えれば、これらの変化が説明できる。

一般に標織 RNA 前駆物質を用いた研究によると最  
初は核小体と核に銀粒子が現われ、それから細胞質中  
に放出されるといわれる (Amano and Leblond<sup>(4)</sup>,  
H. Haris et al.<sup>(6)</sup>) 本実験においても同様に銀粒子  
は最初、核小体と核に取り込まれ、時間の経過とともに  
細胞質中に増加した。島村<sup>(7)</sup> のラット胃旁細胞の報  
告によると、2 核細胞は食後 1 時間で最高値に達する  
といわれる。すなわち胃旁細胞の機能が昂進している  
時に 2 核細胞数の増加がある。

また近藤<sup>(7)</sup> によると十二指腸上皮細胞の 2 核細胞も  
同様に食後増加を示し 10 時間で最高値になると報告し

**Table 3.** Mean Grain Counts of 10 Mononucleate and 10 Binucleate Cell in the Duodenal Epithelial Cells

| Animal No. | Nuclearity   |              | Binucleate  |
|------------|--------------|--------------|-------------|
|            | Mononucleate |              |             |
|            | Crypt cells  | Villus cells |             |
| 11         | 9.2 ± 3.9    | 5.9 ± 3.9    | 13.7 ± 5.2  |
| 12         | 30.2 ± 9.1   | 10.7 ± 4.8   | 16.3 ± 11.2 |
| 13         | 20.4 ± 5.7   | 7.9 ± 3.7    |             |
| 14         | 12.4 ± 3.4   | 5.7 ± 2.7    |             |
| 15         | 22.5 ± 12.1  | 6.5 ± 3.1    |             |
| 21         | 8.2 ± 2.8    | 4.1 ± 1.9    | 11.4 ± 4.4  |
| 22         | 38.2 ± 10.6  | 4.8 ± 2.2    | 16.3 ± 7.1  |
| 23         | 25.7 ± 7.6   | 5.3 ± 2.3    |             |
| 24         | 31.0 ± 11.8  | 10.2 ± 2.9   |             |
| 25         | 31.4 ± 11.6  | 10.1 ± 7.6   |             |
| 31         | 39.2 ± 10.3  | 6.2 ± 3.8    | 16.3 ± 8.5  |
| 32         | 62.7 ± 12.2  | 9.5 ± 3.7    | 17.1 ± 5.6  |
| 33         | 45.9 ± 19.4  | 8.4 ± 3.8    |             |
| 34         | 42.6 ± 12.7  | 16.1 ± 8.1   |             |
| 35         | 53.7 ± 15.0  | 11.4 ± 6.6   |             |
| 41         | 58.1 ± 15.5  | 18.0 ± 10.5  | 27.0 ± 12.2 |
| 42         | 25.0 ± 6.2   | 16.4 ± 5.1   | 15.4 ± 3.6  |
| 43         | 61.8 ± 12.8  | 22.1 ± 16.5  |             |
| 44         | 37.4 ± 7.6   | 21.7 ± 11.1  |             |
| 45         | 55.7 ± 9.7   | 45.3 ± 12.4  |             |
| 51         | 49.7 ± 9.5   | 54.9 ± 23.0  | 29.2 ± 16.0 |
| 52         | 39.3 ± 10.6  | 31.3 ± 9.5   | 35.9 ± 11.2 |



**Fig. 2** Variation of the mean grain counts in the duodenal epithelial cells of mice after giving <sup>3</sup>H-uridine

**Table 4** Factorial Desing of the Data Listed in Table 3

| Factor | SS        | DF  | SM         |
|--------|-----------|-----|------------|
| T      | 27767.49  | 4   | 6941.87    |
| I (T)  | 9541.10   | 5   | 1908.22**  |
| N      | 22181.23  | 2   | 11090.61** |
| R (N)  | 385.96    | 2   | 14.29      |
| T × N  | 11901.37  | 27  | 1487.67**  |
| E      | 65668.33  | 259 | 259.56     |
| TINR   | 109677.99 | 299 |            |

Abbreviation are the same as in Table 2

ている。今回のRNA合成の増減は上述の論文による2核細胞の増減と一致しなかつたがRNAは細胞機能に応じて消費されるものではないからであろう。

組織培養細胞の2核細胞とRNA合成についての報告はほとんどみられないが、最近の名和<sup>10)</sup>、永田・名和<sup>11)</sup>の培養線維芽細胞の報告によると培養2核細胞のRNA、DNA合成はともに1核細胞より多い。また名和<sup>10)</sup>が肝細胞のDNA量を顕微分光測光法で定量した報告によると、肝2核細胞は肝機能昇進の時に増加し、同時に1核細胞にくらべて2核細胞DNA量も増加する。このようにDNAおよびRNA合成ともに1核細胞に比較して2核細胞の方が盛んであり、2核細胞数の増加および2核細胞における核酸合成の増加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RNA合成は1核細胞よりも2核細胞の方が盛んであり、<sup>3</sup>H-uridineの取り込みは1核細胞、2核細胞ともに注射後24時間まで漸増し、再給食により約半分に減少する。この事は、食後胃旁細胞のRNA合成は漸増しながら蓄積され、再給食によりこの半分が消費され、新しくRNAが再合成されることを示すものと考えられる。

他方十二指腸上皮細胞のRNA合成は胃旁細胞と同様に2核細胞の方が1核細胞よりも盛んであり、腸陰窩の細胞は注射後8時間でRNA合成が最高となり徐々に減少を示すが腸絨毛細胞は注射後24時間まで漸増し再給食によりさらに増加する。このRNA合成の盛んなことは腸陰窩の細胞が腸上皮再生のために絨毛側へ移動し、その結果、腸絨毛細胞の銀粒子取り込みが増加したようにみえるものと考えられる。

**総 括**

胃旁細胞、十二指腸上皮細胞のRNA合成を研究するために体重15g(雄)マウスに一週間基礎食を投与し<sup>3</sup>H-uridine 20μc/g体重を皮下注射し、第1群(注射後2時間、食後1時間)、第2群(注射後4時間、食後3時間)、第3群(注射後8時間、食後7時間)、第4群(注射後24時間、食後23時間)、第5群は再給食後3時間、注射後28時間に各々を殺し、分離標本作製し、Fuji ET-2E乾板を用い、Stripping法でラジオ・オートグラフを行なつた。各々の細胞10個をとり、取り込まれた銀粒子数を算えた。

胃旁細胞の<sup>3</sup>H-uridineのRNA(銀粒子)の取り込みは1核細胞より2核細胞の方が多く、また経時的

にみるとどちらの種類の細胞もともに漸増し、再給食により2核細胞の取り込みは半減する。このことは再給食により、2核細胞は蓄積したRNAの半量を消費し新たにRNAの再合成を起こすことを暗示している。

十二指腸上皮細胞は絨毛1核細胞、絨毛2核細胞、陰窩細胞に分類した。絨毛1核細胞と絨毛2核を比較すると、銀粒子の取り込みは2核細胞の方が大である。

経時的には陰窩細胞では注射後8時間で急増し以後漸減の傾向を示し、絨毛細胞では漸増の傾向を示す。これは陰窩細胞が腸上皮再生のために絨毛側へ移動した事を暗示するものと考える。

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40年4月5日第70回日本解剖学会総会(広島)において発表した。

#### 文 献

- ①Nagat, T., Shibata, O. and Omochi, Sh.: A new method for radioautographic observation on isolated cells, *Histochemie*, **2**: 255, 1961
- ②Amano, M.: Improved technique for the enzymatic extration of nucleic acids from tissue sections, *J. Histochem. Cytochem.*, **10**: 204, 1962
- ③Seito, T., Shimatani, N. and Kawashima, T.: DNA synthesis and cell renewal in small and large intestines of mouse, *Acta. Med. Okayama*, **20**: 167, 1966
- ④Amano, 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
- ⑤Harris, H., Fisher, H. W., Rogers, A., Spencer, T. and Watts, J. W.: An examination of the ribonucleic acids in the HeLa cell with special reference to current theory about the transfer of information from nucleus to cytoplasm, *Proc. Roy. Soc. B.*, **157**: 177, 1962
- ⑥鳥村和夫:食餌によるラツテ胃旁細胞の細胞分裂数の変動, *解剖誌*, **33**: 358, 1958
- ⑦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 給食後におけるラツテの腸円柱上皮細胞, *解剖誌*, **35**: 487, 1960
- ⑧Omochi, 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

⑨Nagata, T.: A radioautographic study on the RNA synthesis in the hepatic and the intestinal epithelial cells of mice after feeding, with special reference binuclearity, *Med. J. Shinshu Univ.*, **11**: 49, 1967

⑩名和澄黄雄: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2核細胞について, *信州医誌*, **15**: 31, 1966

⑪Nagata, T. and Nawa, T.: A radioautographic study on the nucleic acids syntheses of binucleate cells in cultivated fibroblasts of chick embryos, *Med. J. Shinshu Univ.*, **11**: 1, 1966

⑫名和澄黄雄:顕微分光測光法による肝細胞核DNA量の年令の変動, ことに2核細胞との関係について, *信州医誌*, **16**: 475, 1967

#### ABSTRACT

An investigation was carried out to study the difference of RNA synthesis between the binucleate and mononucleate cells of both the stomach and the duodenum after feeding.

Mice were injected with  $20\mu\text{c/g}$ . body weight of  $^3\text{H}$ -uridine subcutaneously, fed 1 hour later and sacrificed 2, 4, 8, 24 and 28 hours later.

The tissues were processed by the method of Nagata et al. in which ET-2E (Fuji) autoradiographic plate for stripping film method was used and exposed for 55 days.

In the parietal cells of the stomach, the incorporation of  $^3\text{H}$ -uridine was greater in the binucleate cells than in the mononucleate cells. In the lapse of time, the incorporation in both mononucleate and binucleate cells increased gradually up to 24 hours after injection, half of which decreased after the refeeding.

The result suggests that the synthesized RNA after the feeding had accumulated by the next feeding, then half of them seems to be consumed by the refeeding.

In the duodenal epithelial cells, the cells were classified into three types; mononucleate villus cell, binucleate villus cell, mononucleate crypt cell. The incorporation of  $^3\text{H}$ -uridine was

high in the following descending order: mononucleate crypt cell, binucleate villus cell and mononucleate villus cell.

The incorporation in the crypt cells reached the maximum 8 hours after injection

and decreased gradually, while the incorporation in the villus cells increased gradually to 28 hours. The result suggests that the duodenal epithelial cells migrated from the crypts to the villi.