

肝細胞の無糸核分裂に関する研究

V 食餌の相違による細胞分裂数の変動

昭和34年2月18日 受付

信州大学医学部第一解剖学教室(指導:尾持昌次教授)

百 瀬 節 生

Studies on the Amitosis in the Hepatic Cells

V. Variations of Cell Divisions in the Hepatic Cells of Rat
According to the Differences of Food Components

By

Sadao Momozé

Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. Sh. Omochi)

緒 言

動物の摂取する食餌の組成の相違により動物の肝臓における二核細胞数に変動の起ることについては Arapow^①以来 Noéi^②, Münzer^③等の研究がある。しかしこれらの研究はすべて切片標本を使用して行われたものであり、得られた二核細胞の数は正確を期し難い。またいずれの研究も二核細胞のみに限られ、その原因である無糸核分裂の過程については無視されている。しかも Noéi^②は肝臓の二核細胞は脂質のみを投与した場合に最大となり、次いで蛋白質、糖質の順に小になると報告し、Arapow^① および Münzer^③は蛋白質食で二核細胞数最大、次いで脂質、糖質であると述べているごとく、実験成績にも一致をみない。

そこで著者は無糸核分裂および二核細胞の数を正確に計数できる細胞分離永久標本作製法^④を応用し、ラッテに三大栄養素を主とした食餌を一時的ならびに連続投与する実験を試み、肝臓における細胞分裂数の変動を観察したのでここに報告する次第である。

研究材料および方法

体重150gmのWistar系ラッテ85匹を5匹ずつ17群に分け、対照群5群(C₀, C₁, C₂, C₃, C₄)、蛋白質群4群(P₁, P₂, P₃, P₄)、脂質群4群(F₁, F₂, F₃, F₄)、糖質群4群(S₁……S₄)とし、同一群に属する個体を更に1より5までの添字を付しC₀₁, C₀₂, C₀₃, C₀₄, C₀₅のごとく名づける。全群実験開始前の8日間は毎朝午前9時に澱粉3.04, 蔗糖0.50, casein 0.735, 肝油0.50, MC塩0.10, 寒天0.10, Orizantin 0.025, 水5.0から成る人工基礎食10gmを与え、午前9時半に残りを取り去り30分の間に食事をすませよう飼いならした。たゞしC₀群は人工基礎食投与8日目の午前9時に給食前に全例約15分間に電気シヨ

ックで屠殺し、肝臓右葉を摘出した。残り16群の9日目からの給食はC群には今まで通りの人工基礎食を投与したが、他の実験群には、P群に人工基礎食5gm, casein 3gmの多蛋白質食を、F群には人工基礎食5gmとmargarine 3gmの多脂質食を、S群には人工基礎食5gmと澱粉3gm, 水2ccの多糖質食を午前9時に与え、9時半に残りを取り去つた。そして午前11時10分から12時20分までの1時間10分の間にC₁₁, P₁₁, S₁₁, F₁₁の4群を各群から1例ずつ交互にC₁₁, P₁₁, S₁₁, F₁₁; C₁₂, P₁₂, S₁₂, F₁₂; C₁₃, …… C₁₅, P₁₅, S₁₅, F₁₅の順に屠殺し、材料を採取した。この順序は1群ずつ屠殺すると時間的変動が群間の差として現われることが想像されるのでその誤まりを防ぐためである。また給食後1時間半から2時間半後には食物は胃から十二指腸へ移行している時期に相当する。

次いで残りの12群はC群には基礎食を、実験群には上述の各実験食を更に9日間すなわち合計10日間給食した。その途中実験食投与5日目の給食後午前11時10分から12時20分までの間にC₂, P₂, S₂, F₂の4群を、また最終日の10日目にはC₃, P₃, S₃, F₃の4群を給食せずに午前9時より9時42分までの間に、そして最後にC₄, P₄, S₄, F₄の4群を最後の給食後午前11時より11時32分までの間に、いずれもC₁, P₁, S₁, F₁群において試みたと同様の順序で屠殺し肝臓右葉を採取した。

採取した組織片はおのおの一部は10% formol 固定, paraffin 包埋による連続切片としたが、一部は尾持等^④の方法により細胞分離永久標本作製した。前者は対照として参考にするにとどめ、主として後者を使用し1例毎に肝細胞1000個ずつを数え、観察された細胞分裂を前篇^{⑤⑥⑦⑧}と同様有糸分裂, 無糸核分裂

(くびれ期, 中隔期, 離断期), 二核細胞に分類し出現率を求めた。

研究成績

各標本上における肝細胞1000個中の細胞分裂出現頻度を実数として表1, 2, 3, 4に示す。有糸分裂および無糸分裂胞体分割期の見出されなかつた点は前報と同様である。

無糸核分裂および二核細胞出現率の群間平均の経過曲線を図1および図2に示す。

これらの表および図からは無糸核分裂および二核細胞の出現率には食餌の種類によつてもまた標本採取時間によつても一定の傾向を見出せないように思われる。無糸核分裂出現頻度は少数であるから省略し, 二核細胞のみ表1~4より食餌の種類(F)ならびに標本採取時間(T)の二要因による二元配置法の要因分析を試みると, 表5のごとき要因分析表を得る。その

表1. 基礎食群

動物番号	核型	無糸核分裂			二核細胞
		くびれ期	中隔期	離断期	
C ₀₁	0	0	0	0	196
C ₀₂	0	0	1	1	268
C ₀₃	0	0	1	1	326
C ₀₄	0	0	1	1	226
C ₀₅	1	0	2	3	277
C ₁₁	2	0	0	2	320
C ₁₂	0	0	1	1	248
C ₁₃	0	0	0	0	211
C ₁₄	0	0	0	0	218
C ₁₅	0	0	1	1	252
C ₂₁	0	0	0	0	288
C ₂₂	1	0	0	1	187
C ₂₃	0	0	0	0	337
C ₂₄	0	0	0	0	184
C ₂₅	0	0	1	1	232
C ₃₁	0	0	0	0	204
C ₃₂	0	0	0	0	305
C ₃₃	0	0	0	0	208
C ₃₄	0	0	1	1	372
C ₃₅	0	0	0	0	196
C ₄₁	0	0	0	0	402
C ₄₂	0	0	0	0	271
C ₄₃	0	0	2	2	239
C ₄₄	0	0	0	0	271
C ₄₅	1	1	0	2	260

結果は明らかに食餌の要因(S_F)ならびに時間の要因(S_T)による両変動の, 誤差変動に対する分散比はそれぞれ F_S=0.08 および F_S=0.10 となり, F_{0.05}^{4, 18}(0.05)=2.80よりも小であるから, 共に5%の危険率でも有意でない。すなわち食餌の種類によつてはもちろん, 標本採取時間によつても二核細胞出現率に有意な変動はなかつたこととなる。

考 察

著者⑤⑥⑦⑧はさきに肝細胞における無糸核分裂と, その結果生じた二核細胞が細胞機能亢進時に増加し, 機能低下時には減少することを観察し, その最後の実験⑧においては各種栄養素を含む人工基礎食投与直後の細胞分裂数の変動をみた。その際人工基礎食投与後3時間で二核細胞の有意な増加が起ることから, 食餌の消化に必要な胆汁分泌作用のため肝細胞機能が亢進し, 反応性無糸核分裂の結果二核細胞の増加が起つたものと考えた。それならば胆汁を特に多量に必要とする脂質とそれ以外の食餌とを動物に一回あるいは長期投与した場合, 肝細胞にみられる無糸核分裂ならびに二核細胞の出現率は異なるのではなからうか, すなわち脂質投与後は糖質あるいは蛋白質投与後より,

表2. 多蛋白質食群

動物番号	核型	無糸核分裂			二核細胞
		くびれ期	中隔期	離断期	
P ₁₁	0	2	0	2	196
P ₁₂	0	0	0	0	183
P ₁₃	0	0	0	0	265
P ₁₄	0	0	1	1	239
P ₁₅	1	0	0	1	220
P ₂₁	0	0	1	1	223
P ₂₂	0	0	0	0	312
P ₂₃	0	0	0	0	245
P ₂₄	0	0	0	0	212
P ₂₅	0	0	0	0	293
P ₃₁	0	0	0	0	196
P ₃₂	0	0	2	2	289
P ₃₃	0	0	0	0	143
P ₃₄	0	0	0	0	196
P ₃₅	0	0	0	0	281
P ₄₁	0	0	1	1	397
P ₄₂	0	0	0	0	263
P ₄₃	0	0	0	0	272
P ₄₄	0	0	0	0	232
P ₄₅	0	0	0	0	268

表 3. 多脂質食群

動物番号	核型	無糸核分裂			二核細胞	
		くびれ期	中隔期	離断期		
F ₁₁		0	0	1	1	240
F ₁₂		0	0	0	0	187
F ₁₃		0	0	0	0	239
F ₁₄		0	0	0	0	300
F ₁₅		0	0	0	0	264
F ₂₁		0	0	0	0	192
F ₂₂		0	0	0	0	196
F ₂₃		0	0	0	0	233
F ₂₄		0	1	0	1	281
F ₂₅		0	0	1	1	152
F ₃₁		1	0	0	1	216
F ₃₂		0	1	0	1	176
F ₃₃		0	0	0	0	281
F ₃₄		0	0	0	0	256
F ₃₅		0	0	0	0	284
F ₄₁		0	0	1	1	208
F ₄₂		0	0	1	1	275
F ₄₃		0	0	0	0	241
F ₄₄		0	0	1	1	285
F ₄₅		0	0	2	2	256

表 4. 多糖質食群

動物番号	核型	無糸核分裂			二核細胞	
		くびれ期	中隔期	離断期		
S ₁₁		0	0	2	2	280
S ₁₂		2	0	0	2	215
S ₁₃		0	0	0	0	268
S ₁₄		1	0	1	2	259
S ₁₅		0	0	1	1	236
S ₂₁		0	0	0	0	264
S ₂₂		0	0	2	2	298
S ₂₃		0	0	0	0	295
S ₂₄		0	0	2	2	283
S ₂₅		1	0	0	1	252
S ₃₁		0	0	1	1	238
S ₃₂		0	0	0	0	147
S ₃₃		0	0	0	0	145
S ₃₄		0	0	0	0	144
S ₃₅		0	0	0	0	293
S ₄₁		0	1	2	3	289
S ₄₂		0	0	2	2	199
S ₄₃		0	0	0	0	260
S ₄₄		0	1	0	1	287
S ₄₅		0	0	0	0	292

これらの細胞が有意に多いのが合目的ではなからうかと考えて本実験を試みたものである。

文献では Arapow^①および Münzer^③は脂質、蛋白質、糖質を単独に投与してその順に二核細胞が少なくなるを見、また Noë^②は同様の実験で蛋白質、脂質、糖質の順になる結果を得ている。著者は今回の

表 5. 二核細胞出現率の要因分析表

要因	SS	DF	MS
F	7553.1	4-1=3	2517.68
F(T)	38749.0	4(5-1)=16	2421.81
T	10138.0	4-1=3	3379.33
T × F	28715.1	(4-1)(4-1)=9	3190.56
E	128816.4	79-31=48	2683.68

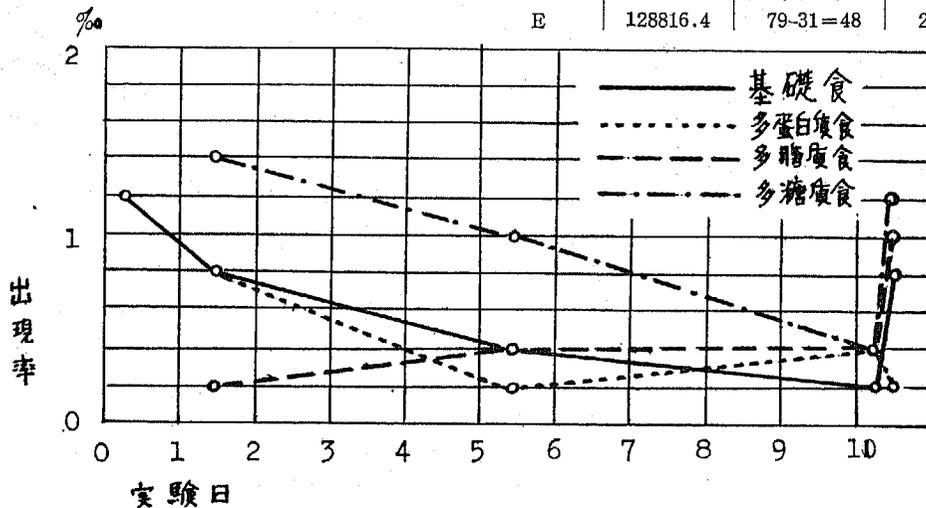


図 1. 無糸核分裂時間経過曲線

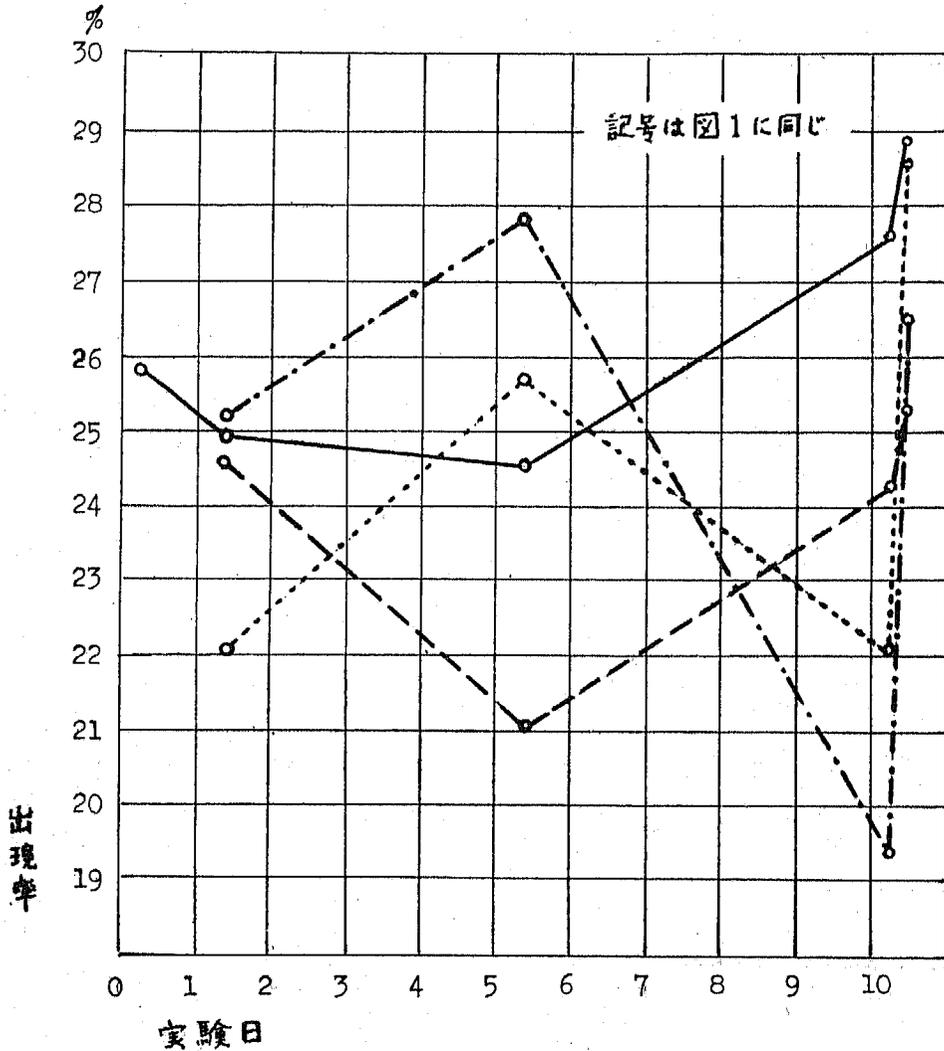


図2. 二核細胞時間経過曲線

実験では食餌を純粋な脂質あるいは蛋白質のみで長期間継続することは動物の生命保持に悪影響あることを恐れて、人工基礎食半量に各栄養素半量を混じた多脂質食、多蛋白質食、多糖質食を投与したため上記研究者が純粋な脂質、蛋白質、糖質の投与の結果得たごときいちじるしい差を見出せなかつたものとも思われる。すなわち純粋な三大栄養素単独投与を続ければ、三群の二核細胞ならびに無糸核分裂出現率に有意な差を見出せたかもしれないが、本実験において試みられたごとき脂質ないし蛋白質の比較的多くなっている程度の混合食では、肝細胞に形態学的変化を残すほどには影響を与えないと考えてよからう。

あるいは上述のごとく研究者によつて成績に一致を見ない事実と比較するとき、著者の実験で得られた成

績の通り、三大栄養素単独投与による食餌の相違は肝細胞無糸核分裂および二核細胞出現率に、そう大した影響を及ぼさないということが真理であるようにも思われる。

結論

肝細胞における無糸核分裂および二核細胞の出現率は、著者の採用した程度の食餌の組成の相違によつては、食餌を1回投与、5日間あるいは10日間連続投与しても、食餌の相違あるいは給食日数の相違による有意な差を示さない。

要約

ラット17群を人工基礎食で8日間飼ひならした後1群を屠殺、4群を人工基礎食、4群を多脂質食、4群を多蛋白質食、4群を多糖質食で飼育し、第1日、第

5日の給食後、第10日の給食前、給食後に各1群ずつ屠殺して肝臓を尾持等の方法による細胞分離永久標本に作製して、肝細胞の細胞分裂数を調べたところ、無糸核分裂および二核細胞の出現率の群間の差は食餌の種類によつても動物屠殺時間によつても有意でないことを見出した。従つて本実験において採用した程度の栄養素の違いによる食餌およびその投与期間では肝細胞の細胞分裂数には影響を与えないと結論される。

終りに臨み御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師尾持昌次教授に深謝すると共に、終始絶大な御支援御協力をいただいた永田哲士学士並びに教室の諸兄に厚く御礼を申し述べるものである。

引用文献

- ①Arapow, A. B.: Contribution à l'étude des cellules hépatiques binucléaires, Arch. des sciences biolog. publiées p. l. Inst. Imp. de Méd. Expér. a St. Pétersbourg. 8, Fasc. 2: 184, 1901 (zitiert nach Münzer) ②Noël, R.: Sur l'état binucléé des cellules hépatiques. Comp. Rend. Soc. Biol. 88: 212-214, 1923 ③Münzer, F. Th.: Experimentelle Studien über die Zweikernigkeit der Leberzellen. Arch. mikrosk. Anat. 104: 138-184, 1925 ④尾持昌次・永田哲士・島村和夫・小野沢実: 細胞分離永久標本作製法(第4報), 解剖誌, 33(1): 20-23, 1958 ⑤百瀬節生: 肝細胞の無糸核分裂に関する研究, I 各種脊椎動物肝細胞の細胞分裂出現頻度, 解剖誌, 34(2): 印刷中, 1959 ⑥百瀬節生: 同上 II 薬物投与による細胞分裂数の変動, 解剖誌, 32(2): 印刷中, 1959 ⑦百瀬節生: 同上 III 活動期および冬眠期におけるヒキガエルの肝細胞, 信州医誌, 8(3): 533-536, 1959 ⑧百瀬節生: 同上 IV 給食直後のラット肝細胞における細胞分裂数の変動, 信州医誌, 8(3): 537-441, 1959