

肝細胞の無糸核分裂に関する研究

Ⅳ 給食直後のラット肝細胞におけ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

Ⅳ. Variation of Cell Divisions in the Hepatic Cells of Rat Immediately after the Feeding

By

Sadao Momozé

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

緒言

肝細胞における細胞分裂は胎生期を除いては、あらゆる動物で無糸核分裂が有糸核分裂よりも圧倒的に多いこと、また無糸核分裂の結果生じた所の二核細胞が動物の綱により異なり高等動物ほど二核細胞の多いことはすでに著者が第一篇^①で発表した所であるが、その際観察されたニワトリにおける二核細胞出現率が偶然飢餓に陥っていた群と、実験的に自由に給食せしめた後標本を採取した群との間に有意な差のあること、すなわち同種動物においては飢餓時よりも給食時の方が肝臓の二核細胞が有意に多いことを見出して、肝臓細胞における無糸核分裂は肝臓が食餌摂取後の消化腺としての細胞機能亢進時に起る反応性無糸核分裂ではなからうかという考えを持ち、実験的に給食直後のラット肝臓における細胞分裂数の時間的変動を追求し興味ある成績を得たのでここに報告する。

研究材料および方法

実験に使用した動物は体重100~180gmのラット65匹で5匹ずつ13群に分けそれぞれA, B, C, ……とし実験前の2日間は人工基礎食を午前10時より30分間給食した後撤去して給食時間内に食餌を摂取するよう飼いなした。たゞし給水は常に充分に行つた。

実験前日は給食を止め夕刻まで給水した後、実験日の午前8時にA群を除きB~M群には各動物毎に人工基礎食10gmずつを投与した。30分後には大部分の動物は全量を摂取したが数例では残したのでこれを撤去した。動物の屠殺はA群(午前8時)、B群(午前9時)、……M群(午後8時)の順に1時間毎に1群ずつether麻酔により行い、直ちに1例毎に肝臓右葉を型のごとく一部を10%

formol固定、一部をRanvier $1/8$ alcoholに投入し、前者をparaffin包埋、 3μ の連続切片とし、後者を尾持等の方法^②で細胞分離永久標本に作製した。従つて得られた標本はA群が約22時間絶食後の、B群は人工基礎食投与1時間後の、C群は給食後2時間、以下同様にM群が給食後12時間のものである。これらの標本のうち、切片標本は対照として参考にするにとどめ、前報^①と同様主として細胞分離永久標本において1例毎に肝細胞1000個ずつを数え、細胞分裂を無糸核分裂(くびれ期、中隔期、離断期)、二核細胞(接触期、分離期)、有糸分裂に分類してその出現率を求めた。なお本実験に使用した動物は教室の島村^③が胃に関して行つた研究と同一動物である。

研究成績

各例毎の肝細胞1000個中の細胞分裂出現頻度を実数で表1に示す。同時に屠殺時の消化管内における胆汁の位置も表示した。これらの数値は同一群における同一核型の間でとび離れた値があればСМДРНОВの棄却検定法を適用したがすべて1%の危険率では棄却できなかった。そこで同一核型毎に相隣る群間で出現率の差の有意性の検定をF分布を用いて行つた。なお表から明らかなごとく有糸分裂および無糸分裂胞体分割期は全然見出されなかつた。

1 無糸核分裂

くびれ期、中隔期、離断期の出現率は極めて小であるから無糸核分裂の総和についての時間的経過曲線を図1に示す。変動の激しく見えるB-C, C-D, E-F, K-L間の差の有意性を検定すると $F'_{(BC)}=1.28$, $F'_{(CD)}=6.54^*$, $F'_{(EF)}=4.50$, $F'_{(KL)}=4.50$ となつてC-D間が5%の危険率で有意な他は有意でない。

表1. 給食後12時間の細胞分裂数の変動
(肝細胞 1000 個中)

動物番号	核型	無糸核分裂				二核細胞			胆汁の位置
		くびれ期	中隔期	離断期	総和	接触期	分離期	総和	
A1	0	0	2	2	113	169	282		
2	1	0	0	1	117	147	264		
3	0	1	0	1	121	131	252		
4	1	0	0	1	120	150	270		
5	0	0	1	1	155	137	292		
B1	0	0	1	1	119	148	267	S	
2	0	0	1	1	135	123	258	S	
3	0	1	0	1	119	125	244	S	
4	0	0	1	1	143	120	263	S	
5	0	0	0	0	126	131	257	S	
C1	0	1	1	2	153	162	315	S	
2	0	1	0	1	146	158	304	S	
3	1	1	1	3	144	85	229	S	
4	0	0	1	1	159	173	332	SD	
5	0	0	1	1	185	216	301	SD	
D1	0	0	0	0	178	267	445	SDJI	
2	1	0	0	1	157	170	327	SDJI	
3	0	0	0	0	115	207	322	SDJI	
4	0	0	0	0	168	135	303	SDJI	
5	0	1	0	1	211	196	407	SDJI	
E1	0	0	0	0	149	81	230	SDJI	
2	0	0	0	0	170	107	277	JI	
3	0	0	1	1	158	171	329	JI	
4	0	1	0	1	113	142	255	JI	
5	2	0	0	2	190	100	290	JI	
F1	0	0	0	0	108	151	259	JI	
2	0	0	0	0	204	196	400	SDJI	
3	0	0	0	0	115	84	199	SDJI	
4	0	0	0	0	97	212	409	JI	
5	0	0	0	0	104	174	278	JIC	
G1	1	0	1	2	112	113	225	C	
2	0	0	0	0	64	105	169	C	
3	0	0	1	1	111	118	229	C	
4	0	0	0	0	91	71	162	C	
5	0	0	0	0	71	155	226	SDJIC	
H1	1	0	0	1	128	125	253	C	
2	0	0	0	0	163	106	269	C	
3	1	0	0	1	94	203	297	SDJIC	
4	0	0	1	1	109	144	253	C	
5	0	0	0	0	187	161	348	SDJIC	

I 1	0	0	0	0	109	99	208	C
2	0	0	0	0	119	123	242	C
3	0	0	0	0	140	214	354	C
4	0	0	0	0	51	74	125	C
5	0	0	0	0	81	98	179	C
J1	0	0	0	0	83	194	277	C
2	0	0	0	0	130	162	292	C
3	0	0	0	0	105	179	284	C
4	0	0	0	0	63	99	162	C
5	0	0	0	0	43	108	151	C

S 胃, D 十二指腸, J 空腸, I 回腸, C 結腸

2. 二核細胞

接触期, 分離期および両期の総和の群間平均の経過曲線を図2に示す。三者ともに給食後増加しD群(3時間後)で最高となり以後波状に減少している。また接触期と分離期はほぼ平行関係にある。

両期および両期の総和の群間平均について相隣る群毎および各群と対照群Aの間, ならびに極大値と極小値の間で差の有意性を検定した結果は, 接触期では $F'_{(AB)}=1.29$, $F'_{(BC)}=10.98^*$, $F'_{(CD)}=0.24$, $F'_{(DE)}=0.24$, $F'_{(EF)}=15.10^{**}$, $F'_{(FG)}=0.99$, $F'_{(GH)}=5.48$, $F'_{(HI)}=4.03$, $F'_{(IJ)}=0.49$, $F'_{(JK)}=2.20$, $F'_{(KL)}=2.85$, $F'_{(LM)}=0.74$, $F'_{(AC)}=9.25^*$, $F'_{(AD)}=5.49^*$, $F'_{(AF)}=4.61$, $F'_{(AG)}=8.05^*$, $F'_{(AH)}=0.34$, $F'_{(AK)}=37.26^{**}$, $F'_{(AL)}=0.58$, $F'_{(AM)}=24.82^{**}$, $F'_{(DH)}=1.63$, $F'_{(DL)}=4.01$, となり $F'_{(BC)}$, $F'_{(EF)}$, $F'_{(AC)}$, $F'_{(AD)}$, $F'_{(AG)}$, $F'_{(AK)}$, $F'_{(AM)}$ がそれぞれ $F_{\frac{1}{8}}(0.05)=5.32$ または $F_{\frac{1}{2}}(0.01)=11.26$ より大となり有意である。

次に分離期では $F'_{(AB)}=4.28$, $F'_{(BC)}=1.82$, $F'_{(CD)}=1.42$, $F'_{(DE)}=7.60^*$, $F'_{(EF)}=2.46$, $F'_{(FG)}=3.82$, $F'_{(GH)}=2.76$, $F'_{(HI)}=0.79$, $F'_{(IJ)}=0.75$, $F'_{(JK)}=2.18$, $F'_{(KL)}=0.69$, $F'_{(LM)}=5.71^*$, $F'_{(AD)}=4.47$, $F'_{(AE)}=2.35$, $F'_{(AF)}=0.51$, $F'_{(AG)}=5.03$, $F'_{(AH)}=0.00$, $F'_{(AI)}=0.10$, $F'_{(AJ)}=0.61$, $F'_{(AK)}=3.67$, $F'_{(AM)}=33.46^{**}$, $F'_{(DF)}=1.02$, $F'_{(DH)}=2.56$, $F'_{(DJ)}=2.58$, $F'_{(DM)}=68.91^{**}$, $F'_{(JM)}=8.92^*$ となり D-E, A-M, D-M, J-M 間で有意である。

同様に二核細胞の総和については $F'_{(AB)}=3.04$, $F'_{(BC)}=5.38^*$, $F'_{(CD)}=1.43$, $F'_{(DE)}=7.85^*$, $F'_{(EF)}=0.12$, $F'_{(FG)}=5.81^*$, $F'_{(GH)}=12.7^{**}$, $F'_{(HI)}=2.19$, $F'_{(IJ)}=0.10$, $F'_{(JK)}=3.13$, $F'_{(KL)}=0.64$, $F'_{(LM)}=2.77$, $F'_{(AD)}=11.57^{**}$, $F'_{(AG)}=$

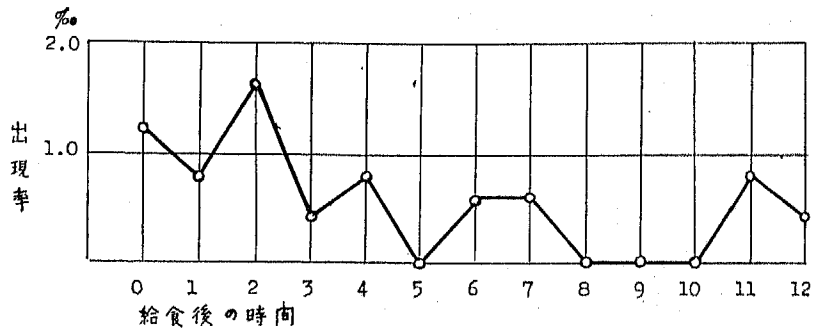


図1. 無糸核分裂時間經過曲線

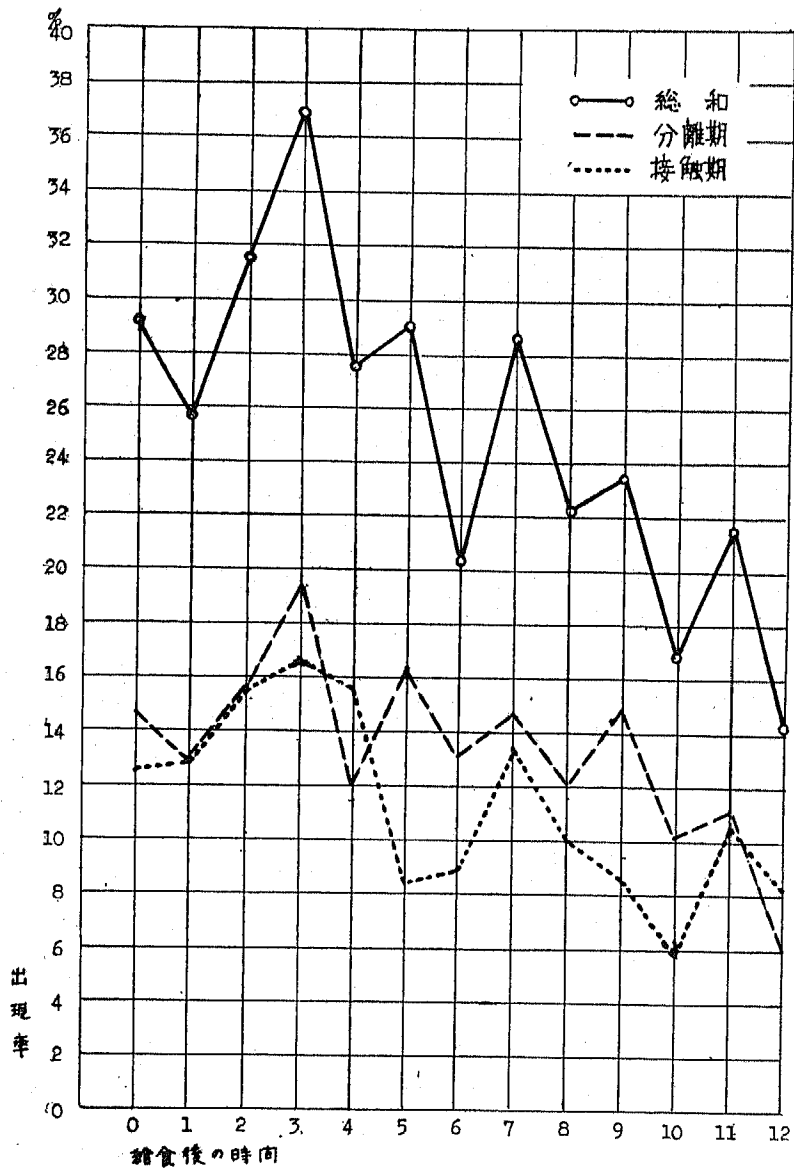


図2. 二核細胞時間經過曲線

19.28**, $F'_{(AH)}=0.39$, $F'_{(AK)}=26.69**$, $F'_{(AL)}=1.58$, $F'_{(AM)}=37.60**$, $F'_{(DH)}=6.18*$, $F'_{(DL)}=8.22*$, $F'_{(GJ)}=0.81$, $F'_{(GL)}=0.10$ となり B-C, D-E, F-G, G-H, A-D, A-G, A-K, A-M, D-H, D-L 間有意である。

従つて接触期は B-C で有意に増加し E-F で有意に減少し、その後の増減は有意でないが10ないし12時間後には給食前より有意に減少する。分離期は D-E, L-M の減少が有意であるが B-C-D の増加は有意でない。すなわち給食 1~2 時間後には接触期の二核細胞は有意に増加するが分離期の増加は有意でなく、両期とも 3 時間後を極大値として 4~5 時間後には有意に減少し、10~12 時間後には給食前より少なくなるといえる。二核細胞の総和については B-C の増加は有意であるが、C-D の増加は有意でない。D-E, F-G と有意に減少し、G で A より有意に小となるが G-H と再び有意に増加し再び減少して K, M で A より小となる。C-D の増加が有意でないため、両群の標本において各個体で肝細胞 2000 個ずつを追加観察して表 1 の 1000 個に加えた肝細胞 3000 個中の細胞分裂の実数を表 2 に示す。この数値にもとづいて、C-D 間の二核細胞の差を更に再検定すると、接触期は $F'_{(CD)}=0.76$ 、分離期は $F'_{(CD)}=7.41*$ 、総和は $F'_{(CD)}=17.06**$ となり、分離期と二核細胞の増加は有意となる。

表 2. 給食後 2~3 時間後の細胞分裂数 (肝細胞 3000 個中)

動物番号	核型	無糸核分裂			総和	二核細胞		
		くびれ期	中隔期	離断期		接触期	分離期	総和
C1	1	2	7	10	510	620	1130	
2	2	3	4	9	557	685	1242	
3	3	4	5	12	429	370	799	
4	2	1	4	7	526	711	1237	
5	2	1	8	11	511	707	1218	
D1	1	1	2	4	756	1041	1797	
2	3	2	3	8	505	686	1193	
3	2	1	2	5	374	766	1140	
4	2	2	4	8	538	557	1095	
5	3	3	5	11	669	736	1405	

考 察

上述の研究成績から給食後の細胞分裂数の変動を総括すると、有糸分裂は全然出現しないが、無糸核分裂

とその結果生じた二核細胞は給食により一時増加する。その詳細はまず無糸核分裂(くびれ期, 中隔期, 離断期)が給食後 2 時間で最高となり、2~3 時間で急激に減少するが、その結果生じた二核細胞は接触期が給食 1~2 時間後に急激に増加し、3 時間で最高となる。分離期の増加は接触期より遅れ 2~3 時間後で急激に増加しやはり 3 時間で最高となる。二核細胞の総和も 1~2~3 時間後が急激に増加し 3 時間で最高となる。3 時間を頂点として接触期, 分離期ともに減少するが初めの 3~4 時間は分離期が減少し、次いで 4~5 時間に接触期が急激に減少する。以後両期は波状に漸次減少し、10~12 時間後には給食前よりも少なくなる。従つて 1 回の給食によつて、その直後肝細胞における無糸核分裂と二核細胞が一時増加し以後減少することが明らかとなつた。

給食により肝細胞の無糸核分裂と二核細胞が増加するであろうことは著者が第 I 篇^①において各種脊椎動物の肝細胞を観察した際、ニワトリにおける結果から予想した所であるが、本実験によつてその事実が確実となり、しかも時間的経過も判明した。無糸核分裂が給食後 2 時間で、また二核細胞が同 3 時間で最高となるのは胆汁の位置から見れば、丁度胃から十二指腸に到達した時期であり、胆汁の消化に胆汁が必要となつて肝細胞における胆汁分泌作用の要求される時期に相当すると考えられる。すなわち肝細胞が胆汁分泌を要求されその要求に応ずるために分泌機能が亢進し、反応性無糸核分裂が増加した結果、二核細胞も増加したと考えられる。全く同様の研究は著者が第 II 篇^②においても薬物を使用して人為的に肝細胞の機能亢進を起さしめ、その後の肝細胞における二核細胞の増加からも、また第 III 篇^③においてヒキガエルの活動期および冬眠期における観察からも報告した所である。更に著者と同一動物を使用し、胃旁細胞の無糸核分裂と二核細胞の増減を観察した島村^④も給食後 1 時間で最大となる成績を得、胃旁細胞における反応性無糸核分裂を結論しているのは本実験と比較して興味深い。たゞし島村は無糸核分裂総数および二核細胞総数は共に胃に胆汁の存在する給食後 1 時間で一致して最高となり以後全く同様に減少すると報告しているのは、著者の成績にみられる無糸核分裂の増減が二核細胞の増減に先行することゝは一致しない点である。肝細胞におけるこのような無糸核分裂数と二核細胞数、更に二核細胞のうちでも接触期と分離期の変動の時間的ずれは、いかなる意義を有するものか判然としないが、二核細胞の出現が無糸核分裂→二核細胞接触期→二核細胞分離期の順に進行することを意味しているものとも考えら

れる。かつ二核細胞の最大値を示した4時間後のD群における二核細胞の群間平均が36.08%あるのに対し12時間後のM群においては14.24%と減少し肝細胞総数の約20%が減少しているにもかかわらず、それに相当する胞体分裂の全く見出されないことは尾持等^④の指摘した二核再融合を示唆するものであろう。従つて再融合過程の見られるべき4~12時間の間に無糸核分裂数の有意な増加の起らなかったことは二核再融合が無糸核分裂と全く逆の過程を通じては行われるものでないとする根拠とならう。いずれにしても数時間の間に一核細胞が無糸核分裂を経て二核細胞となり、更に二核細胞が何等かの過程を通じて一核細胞となることは事実であるが、その詳細な経過については固定標本による観察のみで臆測の域を出られないであろう。

結 論

- 1 給食後2時間で無糸核分裂は最高(0.16%)となり2時間以後は減少する。
- 2 二核細胞はまず接触期が1~2時間で、次いで分離期が2~3時間で急激に増加し、共に3時間で最高となり(36.08%)、以後波状に減少して10~12時間で給食前より減少する(14.24%)。
- 3 これらの無糸核分裂および二核細胞の増減は給食による胆汁分泌の要求に応じて起った反応性無糸核分裂の結果と考えられる。

要 約

ラット65匹を5匹ずつ13群に分け、対照1群を除き12群に午前8時より30分間給食し、午前8時に対照群を、午前9時以後午後8時まで給食群を1時間毎に

1群ずつ屠殺し、尾持等の細胞分離永久標本作製法を応用して肝細胞における細胞分裂数の給食後12時間の時間的変動を追求した結果、有糸分裂および無糸分裂胞体分割期は全然見出されなかつたにもかかわらず、給食後2~3時間後に無糸核分裂および二核細胞が増加して最高となり、以後再び減少して12時間後には給食前の対照群より少なくなるを見出し、肝細胞における無糸核分裂は反応性無糸核分裂であることを結論した。

拙筆するに当り、終始御懇篤な御指導御校閲を賜つた恩師尾持昌次教授に衷心より感謝の意を表すると共に、絶大なる御支援、御協力を戴いた永田哲士学士及び教室員各位に深甚なる感謝の意を捧げる。

引用文献

- ①百瀬節生：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 ②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 ③島村和夫：食餌によるラット胃旁細胞の細胞分裂数の変動，解剖誌，33(5)：358-366，1958 ④百瀬節生：肝細胞の無糸核分裂に関する研究，Ⅱ 薬物投与による細胞分裂数の変動，解剖誌，34(2)：印刷中，1959 ⑤百瀬節生：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 ⑥尾持昌次・永田哲士・百瀬節生：ラット肝臓細胞核分裂数の時間的変動および二核細胞の運命について，解剖誌，32(3,4)：416-422，1957