京都府立医科大学, 第二解剖学教室 (主任: 山田博教授).
Dept. of Anat., Kyoto Prefectural Med. College, Kawara-machi, Kamikyo-ku, Kyoto
(Head: Prof. Dr. H. YAMADA).

鶏肝臓の発生および成長の組織学的, 組織化学的 および電子顕微鏡的研究.

Histological, Histochemical and Electron Microscopic Studies on the
Development of the Liver of the Domestic Fowl.

安 田 勝 Masaru YASUDA.

(Received October 3, 1962.)

今迄にニワトリの肝臓の組織発生を取扱った論文はかなり多く, 最近でも藤井 (1952), Kingsbury, Alexanderson, Kornstein (1956), 岡本 (1959), 伊東, 田中, 根本 (1960) などがあげられる. このうち Kingsbury らは主として孵卵初期の組織発生を取扱い, 岡本は孵卵後半期の変化を光顕と電顕を用いて観察しているが, 電顕で取扱っているのは主として肝細胞の糸粒体と小胞体の変化である. また伊東らは光顕によって孵卵期より孵化後 120 日まで長期にわたって, 主として脂肪摂取細胞と肝細胞の糸粒体の変化を追求している. しかしこれら先人の業績は必ずしも一致しておらず, 孵卵期から孵化後長期間にわたって光顕と電顕によって組織化学的变化と微細構造の変化を追求した研究は殆んどない.

私は, 我々の教室で行なっている鳥類の諸臓器の組織発生及び成長の問題の研究の一環として, 肝臓について組織学的, 組織化学的及び電子顕微鏡の諸方法によってその発生と成長の状態を検索した. ここにその知見を記述することにした.

I. 材 料 と 方 法.

材料としては白色レグホン種の鶏を用いた. 光学顕微鏡による検査には孵卵では満 3 日から破殻に至るまで逐日的にそれぞれ 10 個以上を, 雛は破殻後満 2 日, 3 日, 5 日, 10 日, 20 日, 30 日のものについてそれぞれ 4 羽以上, 成鶏は 1.5 年と 2.5 年のものを 3 羽ずつ用いた. また電子顕微鏡による検査には孵卵 7 日, 9 日, 10 日, 14 日, 18 日, 20 日および 1.5 年の成鶏を用いた. また雛および成鶏では季節的および性による変化を考慮し, 秋期に雄を用いて研究を行なった.

これらの材料は torsion balance または上皿天秤により体重測定を行ない, 断頭開腹後直ちに肝臓を剔出し, torsion balance でその重量を測定した. ただし孵卵 7 日以前のものでは正確に肝臓の剔出が困難なため肝臓の重量は測定しなかった. 次いで何れも右葉より肝臓の小片を取り夫々次のように処理した.

組織学および組織化学的検査: 1. 10 % 中性ホルマリンまたは Bouin 固定切

片について hematoxylin-eosin 重染色と Mallory-Heidenhain 法による azan 染色. 2. 無水アルコールおよび Carnoy 液固定切片について過沃度酸 Schiff 反応 (PAS) を施して糖原を染色し, 対照として唾液消化反応を併せ行なった. 3. 2°C の氷室内で無水アセトン固定した切片について Gomori 変法によりアルカリおよび酸フォスファターゼとリパーゼを染めた, なおリパーゼには tween 60 を使用した. 4. アルコール-ホルマリン-醋酸 (90% アルコール 85, ホルマリン 10, 醋酸 5) 固定切片について Brachet の変法による Feulgen 反応と pyronin-methylgreen 染色を行ない DNA および RNA を検した. RNA の場合は ribonuclease による対照試験を併せ行なった.

電子顕微鏡の検査: 組織細片を Palade 氏液にて 1—2 時間固定, 次いでアルコール脱水後, n-butyl-methacrylate と methylmethacrylate の 7:3 または 8:2 混合液にて包埋, JUM 4 型 Ultramicrotome によって薄切し, JEM 4 A 型電子顕微鏡にて観察した.

II. 所 見 と 考 察.

A. 計 測 的 所 見.

a) 体長, 体重および肝重量.

Table 1. Body weights and liver weights of chick embryos.

Days of incubation	Number	Body length (cm)	Body weight (g)	Liver weight (mg)	Liver-body ratio (mg/g)
4	11	1.0	0.13	—	—
5	10	1.5	0.22	—	—
6	8	1.9	0.48	—	—
7	6	2.1	0.81	—	—
8	7	2.4	1.42	15.0	10.6
9	7	2.4	1.98	22.7	11.5
10	7	3.3	2.65	36.3	13.7
11	7	3.7	3.60	46.5	12.8
12	5	4.2	5.06	64.2	12.7
13	6	4.4	7.48	126.1	17.0
14	6	5.2	10.80	198.0	18.3
15	7	5.6	13.90	271.6	19.5
16	6	5.8	16.70	351.6	21.1
17	6	6.1	23.50	468.0	19.9
18	6	6.4	24.10	638.3	26.5
19	6	7.3	29.87	683.2	22.8
20	5	7.9	33.40	700.0	20.9

体長は孵卵 4 日から破殻まで, 体重は孵卵 4 日から成鶏に至るまで, 肝重量は孵卵 8 日から成鶏に至るまで測定した. なお破殻の時期は 21 日のものもあるが, 大部分が 20 日であるので, 21 日のものは 20 日の中に含めた. また孵卵では卵黄嚢を除いて測定したが, 雛では卵黄嚢が小さくなって腹部の中に入ってしまうので, 体重には卵黄嚢が含まれている. その成績は表 1 および表 2 に示すように体長は孵卵 4 日で約 1 cm, 孵化前には 8 cm 前後になる. また体重は孵卵 4 日で 0.13 g のものが孵化前には 33 g 前後になり, 孵卵 12 日頃からその増加

が著明になる. 一方孵化後に体重は一時減少し, 雛 2 日では孵化前の値より 8 %前後の減少を示すが, 4 日頃には孵化前の体重を超え, その後は急速に上昇する. また成鶏では 1.5 年も 2.5 年のものも差はない.

肝臓の重量は孵卵 8 日で約 15 mg, 13 日になると約 126.1 mg になりこの頃から体重と同様に著明な増加を続け, 孵化前には 700 mg になる. 孵化後体重が一時減少するのに反して, 肝重量は増加を続け, 雛 30 日で約 6.7 g

になる. 成鶏では 1.5 年も 2.5 年も大きな差を示さず, 36 g 前後の値である.

次に肝体重比 (mg/g) を見ると, 孵卵 8 日から 12 日までは 13 前後であるが, 孵卵 15 日から 20 日まででは 22 前後となる. 孵化後は急に増加し 30 日までの間では 41 前後の値を示す. 一方成鶏では 1.5 年も 2.5 年も 20 程度の値を示す. これから雛の成長期に肝臓の果す役割の大きいことが推察される.

b) 核の体積.

肝細胞の体積はその境界が明瞭を欠き, 正確な値が期待出来ないので, 行なわなかった. 肝細胞核の体積の測定は hematoxylin 染色したものについて, Abbe 氏描画装置で 1700 倍に拡大描写し, 肝細胞核の長径と短径を測定し, 核を回転楕円体と見做して体積を算出した. その成績を表 3 に示す. 尚これらの値は各例夫々 200 個の平均値を示したものである.

これによると, 肝細胞核の体積は孵卵 6 日頃までは大きい値を示し, その後 14 日頃までは次第に減少するが, その後はもはや明瞭な減少を示さず, 雛においても 2.5 年の成鶏においても殆んど同じ体積を示す. 孵卵 5 日頃は未だ肝実質が完

成されていないときで, この時期に肝細胞核が最も大きいことは注目される. このことは発生初期には肝細胞の機能が旺盛なことで, 細胞分裂が盛んなことのため分裂前の核の増大したものが多いいことを意味する. しかしながら核の体積の振幅は 2 相性を示さない

Table 2. Body weights and liver weights of chicks and cocks.

Days after hatching	Number	Body weight (g)	Liver weight (g)	Liver-body ratio (mg/g)
2	5	28.5	1.16	40.7
3	5	32.5	1.25	38.4
5	4	37.9	1.80	47.5
10	4	54.9	2.35	42.8
20	4	120.0	4.77	39.8
30	4	190.0	6.70	35.3
540	3	1803.3	34.20	19.0
900	3	1925.0	37.60	19.6

Table 3. Nuclear volumes of liver cells of chick embryos and chicks.

Days of incubation	Number	Nuclear volume (μ^3)	Days after hatching	Number	Nuclear volume (μ^3)
4	5	45.6 $\pm$ 2.41	2	5	29.2 $\pm$ 0.57
6	5	45.1 $\pm$ 1.93	3	5	34.9 $\pm$ 4.29
10	5	38.4 $\pm$ 0.98	10	4	30.9 $\pm$ 1.55
14	5	36.1 $\pm$ 2.38	30	5	34.3 $\pm$ 0.74
18	5	31.8 $\pm$ 1.25	540	3	28.1 $\pm$ 1.39
20	5	32.4 $\pm$ 1.68	900	3	30.2 $\pm$ 1.64

Fig. 1. Distribution of nuclear volumes.

Table 4. Ratio of short diameter to large one of nucleus.

Days of incubation	ratio of short diameter to large one of nucleus	Days after hatching	ratio of short diameter to large one of nucleus
4	0.85	2	0.85
6	0.81	3	0.87
10	0.88	10	0.85
14	0.85	30	0.88
18	0.84	540	0.89
20	0.86	900	0.85

が、図1に示されたように孵卵の初期ほど体積にその変動差の大きいことが判る。このことは孵卵初期に細胞分裂を示す細胞の多い為と考えられる。

一方核の長径と短径との比をみると、表4に示すように孵卵期および孵化後を通じてほとんど差異を認めない。また肝細胞核はその全期を通じて球形に近い回転楕円体であるこ

とが判る。

c) 細胞分裂数.

Bouin固定による hematoxylin-eosin 染色および Feulgen 反応を行なった切片を用いて，細胞の有糸分裂数を算定すると表 5 に示すような値を示す。何れも肝細胞核 1,000 個

に対する分裂
数を示したも
のである。

Table 5. Mitotic index of liver cells (per 1000).

Days of incubation	3	4	5	6	8	10	12	14	16	18	20
Mitotic index	66	51	32	34	29	24	18	16	17	15	12

Mitotic index は孵卵初期程著明で日数が進むに従って減少を示す。孵卵 3 日と 4 日には分裂細胞が特に多いが孵卵末期になると著しく減少する。なお分裂相をみると全体に metaphase と prometaphase のものが多く，anaphase, prophase, telophase を示すものは全般に少ない傾向にある。

B. 組織学的所見.

孵卵の肝臓の一般組織学的所見についてはすでに藤井 (1952), Kingsbury ら (1956), 岡本 (1959), 伊東ら (1960) などの詳細な報告があるが，私も私の得た所見の詳細を記述することにした。

a) 孵卵 3 日.

孵卵 3 日の肝臓は 1 条の細い彎曲走行する索状の形態をなし，その中心には ductus venosus の大きい腔があり，この腔は 1 層の内皮細胞におおわれ，処々に扁平な内皮細胞の核が見られる。また coelom に面する側，即ち外側は結合組織線維に取り巻かれている。

この結合組織線維は処々で索内，即ち肝細胞間に入り込んで網を形成している。これらの線維はすでに azan 染色で薄く青染し，また PAS 反応で弱く赤染する。索状の肝臓の内部は全体として幼弱な肝細胞が不規則な集塊をなして連なっているものが多いが，すでにその一部には肝細胞索の形成が認められる。即ち幼弱な肝細胞の集塊の一部が不規則ながら増殖と配列をはじめ，その中心に 1 つの腔を持ち，Kingsbury ら (1956) に hepatic cylinder と云われたものの形成が

Fig. 2. The liver of a 3 day-old chick embryo. L liver, I intestinal-canal. Azan-staining. $\times 90$

に幼弱な肝細胞の集塊の一部が不規則ながら増殖と配列をはじめ，その中心に 1 つの腔を持ち，Kingsbury ら (1956) に hepatic cylinder と云われたものの形成が

見られる。その腔は将来毛細胆管に発達するものである。孵卵3日ですでにこの腔を中心とした肝細胞索の形成が始まっている。この腔は直径 20μ 前後の不規則な形のものからすでに小さくなりつつあるものまで見られる。またこの腔を囲む hepatic cylinder の肝細胞数は、腔の大きいものでは20個内外で、その配列は不規則であるが、腔の小さいものでは10個内外で配列も幾分整っている。しかし

大部分の肝細胞は未分化で細胞の集団を形成しているにすぎず、細胞個々のつながりもなく、また形成途上の細胞索の間にも互いにその連絡がみられず、細胞索の形成は不統制に進行されつつある状態である。

また孵卵3日の肝臓の内部にはすでに内皮細胞に囲まれた血管の進出がみられ、血管壁には azan 染色で薄く青染する結合

Fig. 3. The capillary lumen (C) in the liver of a 3 day-old chick embryo. B bile canaliculus. Azan-staining. $\times 480$

組織線維も見られる。血管腔と肝実質との面積比をみると、血管の進出が未だ少ないので、肝実質の方が遙かに多く約70—80%を占める。

血管壁を詳細に観察すると、内皮細胞の他に2種類の細胞が認められる。その1つは内皮細胞より血管腔に向かって突出する少数の細胞である。この細胞は内皮細胞よりも血管腔側に

在存し、血管腔に向かって膨出するもので、その細胞質も核も内皮細胞より大きく核小体も多い。又しばしば有糸分裂像を認める。この細胞はその形態から明らかに造血細胞である。藤井(1948)、伊東ら(1960)の報告では造血巣は鶏胚肝に於いては殆んど発現しないと云われているが、私の観察でも鶏胚肝にて大きい

Fig. 4. The capillary lumen in the liver of a 3 day-old chick embryo. A hemocytoblast (H) is seen. Azan-staining. $\times 980$

造血巣は見られない。しかし幼弱血球細胞はかなり存在する。血球母細胞は内皮から血管腔にむかってふくれ出ていることが多い。

第2の細胞は Kupffer 氏星細胞である。内皮細胞よりも細胞質及び核が大きく類洞に突出している細胞をしばしば認めるが、恐らく内皮細胞からの Kupffer 氏星細胞への移行像と思われる。

また血管腔にはすでに細胞質が豊かで、核も大きく、核小体を持ち、細胞質にしばしば顆粒をもった幼弱な血球が少数認められる。これはその形態から赤芽球と考えられるが、成熟血球との区別は一般に困難である。なお Kingsbury ら (1956) は孵卵4日に類洞内に赤芽球を見ている。

肝細胞は孵化後のものに比して一般に大きく形も不整形のものが多い。また細胞質は全体的に暗調で、細胞索を形成するものでは核は中心の腔に面する側より類洞側（細胞基底部）に偏在し、その形は孵卵4日以降のものに比して大きく、形も不整形のものが多い。核小体は1—2個である。また細胞索を形成する細胞には分裂像を示すものが多数認められる。一般にこれら分裂を示す細胞は大きくその輪郭が不鮮明で、細胞質はazan や hematoxylin 染色でその染色度が低い。核には DNA が極めて豊富に存するため、Feulgen 反応に強陽性を示す。

Fig. 5. Light cells (L) in the liver of the 3 day-old chick embryo. Azan-staining. $\times 1,100$

なお孵卵3日ではすでに腸管から肝原基が膨出する肝臓の caudal の部分に細胞の分化が起り将来胆嚢等に移行する円柱上皮に囲まれた ductus choledochus が認められ

るが、然しその上皮細胞の配列は不規則である。

b) 孵卵4日.

孵卵4日になれば、肝臓はその形態を漸次整えてくる。3日には索状の形態のものが4日には略々楕円形の形にまでその大きさを増加させる。その内部には細胞の単純な集塊は少なくなり、不規則ながら肝細胞索が索状に連なり、蛇行し、疎な網状の構造を形成する。その網眼は類洞に相当し、血管の進出が3日に比して多くなり、細胞索との量的比はほぼ等しくなる。なお血管には少数の赤芽球をみる。

肝細胞索はその縦断面では極めて不規則ながら2列に並ぶ肝細胞により形成さ

Fig. 6. The liver of a 4 day-old chick embryo. Azan-staining. $\times 100$

形成を続ける一方、細胞索を構成する不規則な肝細胞の配列を再び規則正しくする細胞の新しい配列が同時に始まってくる。この様にして肝細胞は孵卵4日頃から2段階の増殖と再生を行いながら肝臓全体の発育を続ける。

肝細胞の有糸分裂は3日に比してやや少なく、細胞も核も不正形のものも殆んど見当たらなくなり、また細胞の一部には

空胞をもったものも出現する。なお孵卵3日の終り頃から4日には核や核小体が周囲の肝細胞よりやや大きく、azanやhematoxylin染色で染色度の低い明るい明細胞が少数出現しはじめる。

一方 ductus choledochus はその上皮細胞の増殖と共に腔に拡大とくびれが起こり、胆嚢、胆嚢管、胆管の分化が夫々始まり、不完全ながら独立した形態を示しはじめる。

c) 孵卵5日.

孵卵5日になると、肝細胞の増殖と浸潤がすすみ、肝細胞索の走行が複雑にな

れ、その中心には毛細胆管をもつ。また横断面では10個内外の肝細胞が中心に毛細胆管腔を囲んで放線状に配列している。孵卵3日に比べるとその腔もやや小さくなり、また形も円く整ってくる。伊藤ら(1960)の云うように管状腺終末部の構造を示す。

また孵卵4日では3日に引続いて肝細胞の増殖と配列を続け、細胞索の

Fig. 7. Sinusoid (S) and bile canaliculi (B) in the liver of a 4 day-old chick embryo. UNNA-PAPPENHEIM's pyronin staining. $\times 400$

ってくる。細胞索の網眼にあたる類洞はまだ拡大したものが多いが、その中には多数の血球を有している。類洞壁をよく観察すると、内皮細胞に連なって内皮細胞からその一端が類洞に向かって突出し分離しようとする造血細胞が孵卵3日や4日より多く見られる。これは前述の様に内皮細胞から血球が作られる過程を示すもので、後述の電子顕微鏡の所見とよく一致する。これは類洞における肝臓の造血の1つの形態を示すものであり、この血管内造血形態は孵卵15日頃まで続き、孵卵末期になると見られなくなる場合が多い。岡本(1959)も孵卵6日に於いて血球母細胞の存在にふれている。Haff(1914)は赤血球形成は孵卵7—9日に内皮細胞より起こると述べ、またDantschakoff(1907)は鶏胚で赤血球は結合組織や卵黄囊の血管内に、白血球は血管外に向かって形成されるとし、Van der Stricht(1891)も鶏胚肝にて赤血球母細胞の存在を述べている。

d) 孵卵6—7日.

孵卵6日から7日には、肝外膜を構成する結合組織は厚くなり、その線維の一部が、肝細胞索に進入するものが多くなる。

肝細胞索の増殖は著明になり、迂曲走行し互いに吻合して粗網を形成し、孵卵3日にみられたような細胞の不規則な集塊は殆んどなくなる。網眼にあたる類洞は漸次小さくなり、類洞と実質との面積比では、次第に実質の方が再び多くなってくる。また孵卵7日頃には細胞索を形成する細胞自体の配列が規則正しくなり、肝細胞索の縦断面では細胞は2列に配列し、横断面では毛細胆管を囲んで10個内外の肝細胞が放線状に規則正しく配列している。核は円形で比較的大きく、類洞側に偏在し、従って細胞質は毛細胆管側に豊富であり一般に明るい。また核小体は1—2個で、孵卵4—5日のものに比して小さい。肝細胞には糖原も孵卵6日にPAS反応ではじめて検出されるようになる。なお孵卵3日の終り頃より認められた明細胞が漸次増加してくる。

e) 孵卵8—9日.

孵卵8日から9日に進むと、肝細胞索の増殖により類洞が全体に狭小となり、類洞と実質の面積比では類洞の方がはるかに小さくなる。然し血管腔が処々大きく拡大して周囲に結合組織が明瞭には見られないものと、周囲に少量のazan染色で青く染まる結合組織を認めるものがあるが、前者は中心静脈に相当し、後者は門脈枝に相当するものと思われる。孵卵9日になるとこの門脈枝が2—3個相集まる処では、その周囲に結合組織の増殖が起こりGlisson氏鞘の形成が認められるようになる。小葉間胆管の形成は未だ認められず、肝小葉の想定も困難である。これらの所見はKingsburyら(1956)、また伊東ら(1960)の所見と略一致する。

f) 孵卵10—11日.

孵卵10日になれば、細胞索の発達が著明で不規則な網状の走行を示し、類洞はさらに狭小になり、これまでのものに比して全体の組織が緻密な構造を示す。細胞索の横断面では毛細胆管を囲む細胞は6—8個前後で、規則正しく放線状に配

Fig. 8. A central vein in the liver of a 9 day-old chick embryo.
Azan-staining. $\times 400$

と共に、Glisson 氏鞘の中に肝動脈の枝、即ち小葉間動脈が出現し始める。また結合組織の門脈枝附近に孵卵10日に見られたリンパ球の浸潤に伴なって少数の酸好性白血球が始めて出現する。顆粒白血球の出現については、Haff (1914) は孵卵11日に血管周囲の結合組織内に出現し、14—15日頃最も多く、破滅前に消失すると述べている。Kingsbury ら (1956) は孵卵14日にはじめて酸好性白血球が血管内外に進出し、また伊東ら (1960) は孵卵10日にはじめて結合組織内に偽酸好性骨髓球が出現すると述べている。

g) 孵卵 12—13 日.

孵卵12日から13日には、肝臓はその中心部も周辺部も一様に緻密な構造を示すが、成鶏に比べるとなお一部で腔の広い血管が認められる。この頃 Glisson 氏鞘と肝細胞索の間に胆管の形成が始まる。胆管の発生ははじめ Glisson 氏鞘の結合組織と細胞索との間に円形の小さい腔が出現する。この腔は片方を Glisson 氏鞘の結合組織に、他方は肝細胞により囲まれているが、その肝細胞が漸次胆管上皮細胞に分化すると共に、次第に周囲に結合組織が加わり、胆管上皮細胞に移行する。それと共に結合組織が胆管を取り囲むようになり、胆管全体としては結合組

列し、核は円形で類洞側に偏在している。Glisson 氏鞘の結合組織が発達し門脈枝が大きくなり、また多く出現してくる。然し小葉間静脈と断定するには至っていない。

この頃始めて Glisson 氏鞘の結合組織内に少数のリンパ球が出現する。リンパ球の出現については Kingsbury 等 (1956) は孵卵末期に、伊東ら (1960) は雛5日に始めて Glisson 氏鞘に出現すると述べている。また孵卵10日頃には類洞壁の血球母細胞の出現が多くなる。なお血管腔以外には赤芽球は見られない。

孵卵11日に進めば、中心静脈の形が整ってくる

織により肝細胞索から分離される。以上の所見は伊東等 (1960) の所見とよく一致する。この様な胆管の発生は孵卵11日頃より小数認められ、孵卵13日になると完成した胆管と発生途上のものとが混在する。胆管上皮細胞は肝細胞に比べると小さく、核は円形で結合組織側に偏在し、従って細胞質は腔に面する側に豊富である。又この頃の肝細胞では分裂像を示すものはさらに少なくなる。

Fig. 9. Interlobular bile ducts in the liver of a 15 day-old chick embryo. V interlobular vein. UNNA-PAPPENHEIM's pyronin staining. $\times 400$

h) 孵卵15日.

孵卵15日になれば、肝臓は成鶏のそれとほとんど変りなく、組織学的にほぼ完成する。即ち類洞は肝臓全体に亘って狭小になり、中心静脈も成鶏と同じように形を整え、Glisson 氏鞘はよく発達しその中に固有の単層円柱上皮の配列が整った胆管も多数出現し、小葉間動脈、小葉間静脈も多く肝臓は緻密な構造を示す。そして血管には種々の血球を含む様になり、Kupffer 氏星細胞の貪喰能も盛んになる。一方類洞壁より血管腔に膨出する血球母細胞はこの頃殆んど認められなくなってくる。肝細胞索の横断面では毛細胆管を囲む肝細胞は6—7個内外と減少を示し、細胞は規則正しく放射状に配列する。核は孵卵初期のものに比してやや小さく、類洞側に偏在する。然し肝細胞索の走行は依然不規則に迂曲し、哺乳動物に見られるような中心静脈を中心とした整った肝小葉は出現しない。なお肝細胞には漸次空胞が出現してくる。

i) 孵卵 16—17 日.

孵卵16日から17日頃にかけてかなりの個体差を認めるが、全般に肝細胞に空胞が出現してくる。空胞をもった細胞は一般に中心静脈や小葉間静脈等の血管周囲の細胞に特に多く、空胞は細胞質の大部分を占め、その為細胞は大きくなり、核は強く類洞側に圧迫されている。時には空胞をもった細胞が多数集まって細胞質が蜂巢状に見えるものがある。これらの空胞について Dalton (1934) は cholesterol によるものとしており、Needham (1931) によると、この cholesterol は鶏胚の肝臓で合成されるものではなく、卵黄に由来して肝臓に蓄積されたものとしている。また伊東ら (1960) も同様の所見を述べている。

Glisson 氏鞘の結合組織中にはリンパ球と酸好性白血球の滲出がやや多くなり、

時には小さな集団を作るようになる。

j) 孵卵 18 日以降孵化まで。

孵卵 18 日以降には、組織全体が全く緻密になり、類洞は狭小で、その壁には結

Fig. 10. Infiltration of lymphocytes (L) and eosinophilic-granulocytes (E) in the interlobular connective tissue in the liver of a 18 day-old chick embryo. Hematoxylin-eosin. $\times 400$

合組織が著明に発達して、その間隙は殆んど見られなくなる。核は孵卵初期に比して小さく、分裂像を示すものは殆んど見られなくなり、何れも類洞側に偏在する。極めて狭小な毛細胆管を形成する肝細胞索の横断面には 6—7 個の肝細胞が規則正しく配列するが、肝小葉は孵卵末期に至るもその判定は困難である。

k) 孵化 2—5 日の雛。

孵化後の肝臓は組織学的

に孵卵末期のものと大きな差異を認めない。

雛 2 日から 3 日では肝細胞索は孵卵末期と同様迂曲走行し互いに吻合して疎な網を形成する。その横断面では毛細胆管を中心に 5—6 個の肝細胞が放線状に配列し、核は一般に小さく類洞側に偏在する。

Glisson 氏鞘の結合組織でのリンパ球と酸好性白血球の滲出は孵卵末期の状態と同じ程度で、その数は多くない。

雛 5 日になれば、肝細胞索の横断面での毛細胆管を形成する細胞数は 4—5 個とさらに少なくなり、成鶏のそれと全く同数になる。そして肝細胞に多くの空胞の出現したものもあり、これらの細胞は大きく、核は類洞側に偏在する。

この頃になると Kupffer 氏星細胞が azan 染色で青染するようになる。またこの頃孵卵初期から通して最も著明な貪喰機能を示しており、後述の様に Kupffer 氏星細胞は酸性フォスファターゼの活性も強くなり、これは Kupffer 氏星細胞の機能が盛んになってきたことを示すものである。Glisson 氏鞘の中には胆管が豊富に出現する。胆管は 1 層の立方円柱上皮でおおわれ、細胞、核共に肝細胞のものに比してやや小さい。Glisson 氏鞘の結合組織には小葉間静脈に近接してリンパ球の滲出がやや多くなってくると共に、この頃はじめて肝実質内に甚だ少数の酸好性白血球の点在的な出現がみられる。

l) 孵化 10—30 日の雛。

雛 10 日から 30 日までの間では組織学的に差異を認めない、肝細胞索は迂曲し、

不規則に吻合して複雑な粗網を形成しているが、中心静脈を中心とする規則正しい小葉の形成は見られない。網眼に当たる類洞は極めて狭小になるが、結合組織の発達 は 著明になる。哺乳類のような肝細胞索の規則正しい配列は見られない。細胞索を構成する肝細胞数は横断面で 4—5 個で、核は類洞側に偏在している。また細胞には空胞をもったものが多く、特に中心静脈等の血管周囲の細胞に著明である。

肝実質中には少数の酸好性白血球が認められるが、雛 5 日に比して増加を示さず、集団を作って出現する所見もみられない。一方結合組織へのリンパ球の集団的滲出は雛 5 日で少数のものにみられるが、雛 20 日になると多くなり、雛 30 日には一部にリンパ小節の形成がみられる。かつ雛 10 日にははじめてリンパ球が肝実質の中に集団を作って出現し、雛 30 日には一部で肝実質の中にもリンパ小節の形成がはじまる。肝実質へのリンパ球の出現については兼重 (1956) は雛 10 日より、また伊東ら (1960) は雛 22 日にはじめて認めている。

m) 成 鶏

成鶏においても概観像は孵卵末期の肝臓との間に組織学的に著明な相異を認めない。

肝細胞索の発達は甚だ著しく、複雑に迂曲走行し、かつ不規則に吻合し、類洞も中心静脈も狭小になっているが、哺乳動物に見られるような中心静脈を中心とした肝細胞索の配列は鶏では 2.5 年の成鶏に至るまで見られず、ひいては明確な肝小葉の判定は出来ない。肝細胞索の横断面での毛細胆管を形成する細胞数は 4—5 個で、一般に明るく、核は円形で類洞側に偏在し、孵卵に比して小さく、核小体は 1—2 個である。そして空胞をもった細胞は孵卵末期や雛にくらべると少なくなる。

Fig. 11. Infiltration of lymphocytes (L) in the intralobular tissue in the liver of a 1.5 year-old cock. Hematoxylin-eosin $\times 400$

Glisson 氏鞘の発達は著明で、多数の胆管を認める。胆管は固有の円柱上皮に囲まれ、肝細胞に比して細胞、核共に小さく、細胞内に空胞をもつものが所々に出現する。また雛に比して全体的に胆管腔が大きくなり、腔内に胆汁の残渣をみるものも多い。Kupffer 氏星細胞の中には azan 染色で青染するものもあるが全

般的には赤染するものが多くなる。

肝実質内には酸好性白血球の出現がみられるが、その数はやはり少ない。リンパ球の実質内への集団的滲出は多くなり、所々リンパ小節の形成がみられ、また Glisson 氏鞘の結合組織内や結合組織と肝実質の接する附近にも時々大きなリンパ小節が認められる。この様に成鶏では常に肝実質や結合組織の中にリンパ組織が認められる。

C. 組織化学的所見.

a) 糖 原.

PAS 反応による糖原顆粒は孵卵 6 日にはじめて明瞭に出現する。孵卵 4 日と 5 日には細胞質の中で核に近接して唾液反応で消失する赤い染色物を認めることがあるが、これが糖原であるかどうかは疑わしい。

孵卵 6 日になると、細胞質内に不規則に極めて少数の糖原の小顆粒を検出する。強拡大の顕微鏡一視野中数個の細胞質内に 1—2 個の顆粒が存在するにすぎないが、私の実験では 8 例中 6 例にこれを認めた。なお今迄に安藤 (1917) は 7 日、Potvin と Aren (1927) は 11 日、Dalton (1937) は 6 日、藤井 (1952) は 7 日、岡

Fig. 12. Glycogen in the liver of a 7 day-old chick embryo. Alcohol-fixation, PAS method. $\times 450$

本 (1959) は 6 日に少量出現すると述べている。

孵卵 8 日になるとやや増量が認められ、そして前述のようにこの頃中心静脈と門脈枝が出現し始めるが、一部の例ではこれら血管周囲の細胞に比較的多く検出される。孵卵 9 日になれば、8 日よりもかなり増量し、弱拡大の観察で細胞質内に点状や桿状の顆粒として明瞭に認められ、やはり血管

周囲の細胞に豊富に検出され、細胞内では核にやや近接してみられる。この傾向は孵卵 12—13 日頃まで続きその間次第に増量を示すようになる。

孵卵 13 日から 14 日頃大体半数前後の肝細胞の細胞質に 1—2 個の糖原顆粒を検出する。やはり中心静脈等の血管周囲の細胞に多く認められる。Glisson 氏鞘や星細胞、内皮細胞、胆管上皮等には何れも PAS 反応が強く出現するが、唾液反応で消失しないので糖原ではない。組織全体としては陽性の部分と陰性の部分との差が著明になる。

孵卵 15 日になると著明な増量を示す。即ちほぼ総ての細胞に陽性に検出され、処々糖原の顆粒は塊状をなすか、または瓦状に重なって認められる。それ以後次第に増加を示し、孵卵 17 日頃になると肝臓全体に充満し、糖原は点状、塊状、時には層状をして検出され、この傾向は大きな増減を示すことなく破殻迄続く。

破殻後は雛 2 日では糖原が急に減少し、中にはほとんど消失してしまうものから、孵卵 10 日前後の状態と同程度のもので認められ、孵化による大きな生活環境の変化が肝臓の糖原の消長に強い影響を与えるものとして興味深いものがある。なお岡本 (1959) も破殻後の糖原の急速な減少を認めている。

雛 3 日になると糖原は再び急速な増加を示し、破殻前の状態にまで戻る。その後は全体的に大きな増減の差を示すことなく、肝臓には全細胞に広く豊富に検出される。

b) アルカリ性フォスファターゼ。

孵卵 3 日から成鶏に至るまでの肝臓には、特に血管壁にその活性は著明である。

孵卵 3 日では肝臓は腸管から 2 条の原基が伸びて互いに吻合して索状の構造を示すが、この腸管の肝原基が分岐する部分の細胞にとくに強い反応を示す。次にこの細長い肝臓の内面、即ち ductus venosus に面する側の内皮細胞とその核に、また肝臓内部に進出した血管の内皮細胞と核にも夫々強い反応が出る。肝臓内部をうずめる肝細胞は核、細胞質ともにその活性が比較的弱いが、然し細胞索の形成過程にある肝細胞質とその核には比較的強い活性が認められる。

孵卵 4 日になると、肝細胞とその核に活性が見られる。核は特に核小体に反応を示し、その反応は血管に面した細胞に比較的強く出現する。血管はその内皮細胞に強い反応を示すが、孵卵の初期には血管の進出がまだ少ないので、その反応は以後のものに比べて全体に弱い。

孵卵 5 日になれば、4 日に陽性であった肝細胞の活性が漸次弱くなってくる。そして血管壁の反応は 4 日に比して強くなる。血管壁ではやはり内皮細胞の核に反応は強い。

孵卵 6 日頃になると、肝細胞の反応は陰性に近

Fig. 13. Alkali-phosphatase reaction in the liver of a 5 day-old chick embryo. Nuclei of the hepatic cells and endothelial cells are positive. GOMORI's method. $\times 400$

くなるが、細胞索の横断面で毛細胆管を囲む肝細胞ではその毛細胆管に面する細胞質に比較的弱い反応の現われる部分を持つ。血管の発達が漸次進んでくるので、血管壁の反応は孵化がすすむに従い強くなってくる。孵卵8日頃には、門脈枝の内壁に強い反応を示し、また中心静脈とそれに続く類洞壁の反応も次第に強くなってくる。

Fig. 14. Alkali-phosphatase reaction in the liver of a 17 day-old chick embryo. GOMORI's method. $\times 110$

孵卵14日には、類洞の発進が進んでくるので、それに従ってその壁に活性が強くなり、星細胞も強い活性を示す。以後孵化がすすむと共に、類洞の発進に略々比例してその壁に活性は強くなるが、肝細胞の反応は変化なく、陰性に近い。又 Glisson 氏鞘には反応が出現しない。然し Glisson 氏鞘に出現する小葉間動脈の内膜は非常に強い反応を呈し、全体として血管では大きいもの程、また静脈よりも動脈壁に反応は強く出現する傾向にある。なお小葉間胆管の固有上皮は活性は弱く、陰性に近い状態である。なお類洞に存在する血球はその種類によって反応の状態が異なり、活性の強いものと陰性に近いものとが共存する。

孵化後のものをみると、孵卵末期と殆んど変わらない。即ち肝細胞の細胞質および核、Glisson 氏鞘の結合組織、胆管等は陰性であり、小葉間動脈や小葉間静脈、類洞壁には強い反応が示される。孵化後日数が進むに従って類洞は段々狭小になり、発進が進んでくると共に略々それに平行して活性も強くなる。この

孵卵14日には、類洞の発進が進んでくるので、それに従ってその壁に活性が強くなり、星細胞も強い活性を示す。以後孵化がすすむと共に、類洞の発進に略々比例してその壁に活性は強くなるが、肝細胞の反応は変化なく、陰性に近い。又 Glisson 氏鞘には反応が出現しない。然し Glisson 氏鞘に出現する小葉間動脈の内膜は非常に強い

Fig. 15. Alkali-phosphatase reaction in the liver of a 30 day-old chick, especially the endothelial cells of the interlobular vein (V) and of sinusoids are strongly positive. Bile ducts (B) and liver cells are negative. GOMORI's method. $\times 400$

血管系の発達はひいては肝臓自体の発達と平行するものである。ただ全体を通じて孵卵3日では腸管より肝原基の発生するその基部に、また孵卵4日と5日では肝細胞特にその核に反応が出現する事は、発生初期にアルカリ性フォスファターゼが細胞の分化に大きな役割をもつことを示すものである。

c) 酸性フォスファターゼ.

一般に肝臓では肝細胞の核、特に核膜と核小体に強い活性を認める。また星細胞にも活性は強く特にその活性は孵卵末期から孵化後その日数がすすむに従って強くなり、星細胞の機能と相関を考えさせる。然し一般にはアルカリ性フォスファターゼと違って肝細胞質に反応が弱い反面、血管壁には陰性に近い。又 Glisson 氏鞘や胆管上皮細胞等も陰性に近い状態にある。

孵卵3日では、肝細胞全体が活性を示すが、特にその中で細胞索を形成しつつある肝細胞の原形質と核が強い活性を示す。この肝細胞の反応はそれ以後の何れのものより強い。また内皮細胞にも弱い反応が認められるが、その中でとくに核に反応が出現する。

孵卵4日から5日では肝細胞全体が反応を示し、特に核に著明である。核では核膜と核小体

Fig. 16. Acid-phosphatase reaction in the liver of a 20 day-old chick embryo. Nuclei of the liver cells and of endothelial cells are positive. GOMORI's method. $\times 430$

に反応が強い。血管壁ではやはり内皮細胞の核に反応を認めるが、細胞質の反応は弱く、アルカリ性フォスファターゼと対照的である。この傾向は以後殆んど変わらない。

孵卵7日頃には、肝細胞の活性がやや低下してくる。以後血管が段々発達してくるが、血管壁の活性は弱い。又 Glisson 氏鞘や胆管上皮、小葉間動静脈等の活性も弱い。全体的に肝細胞では中心静脈等の血管周囲の細胞に比較的活性が強く出現するようになる。

孵卵15日頃から Kupffer 氏星細胞に特に活性が強く現われるようになり、この傾向は孵化後段々と著明になってくる。星細胞では細胞質にも活性は強く、その貪食能と強い相関を示す。孵卵15日頃から星細胞が多数出現し、その機能が徐々に旺盛になってくるものと考えられる。一方孵化後の日数がすすむに従って、一般的に肝細胞核の反応が弱くなってくる反面、それと平行して一部では細胞質に

Fig. 17. Acid-phosphatase reaction in the liver of a 1.5 year-old cock. From about 20 day-old chick embryo, KUPFFER's cells become positive selectively. GOMORI's method. $\times 430$

ら成鶏に至るまで肝細胞原形質に豊富に認められる。孵卵3日にはほとんど認められない。

孵卵4日から成鶏に至るまでそれぞれかなりの個体差をみるが、細胞質内に小さい顆粒状の形で全部の細胞に存在し、小葉内にあふれる。そして糖原のように孵化後一時減少することなく、孵卵、孵化後を通じて大きな差が認められない。

e) RNA

RNAは肝細胞原形質に強い反応を示す。特に孵卵3日、4日、5日の初期にその反応が孵卵末期や成鶏にくらべて強い。

孵卵3日では索状の肝臓の内部で集塊を形成する幼弱な肝細胞には反応が弱く、肝細胞索の形成に関与する細胞の原形質に強い。肝細胞索の横断面で毛細胆管を中心とした放線状に配列する細胞では、核が類洞側に偏在しているが、RNAはその対側、即ち毛細胆管に近接して反応を示す。その他内皮細胞も反応が出るが、肝細胞にくらべれば弱い。

孵卵10日頃には、中心静脈等の血管周囲の肝細胞に反応が強く出現するように

反応が徐々に強くなる傾向が見られるが、孵卵初期のものに比べると全体に弱い。尚 Glisson 氏鞘の結合組織等は成鶏になってもその活性が陰性に近く、Kupffer 氏星細胞の活性が成鶏では特に強く出る。血管内に存在する血球も陽性のものと陰性のものとが混在している。

d) リパーゼ

リパーゼは孵卵4日か

Fig. 18. Lipase reaction in the liver of a 12 day-old chick embryo. From 4 day-old chick embryo, the hepatic cells become positive. GOMORI's method. $\times 430$

なり、また血管内膜にも反応は強くなる。

孵卵 15 日頃になれば、胆管を形成する固有細胞にも RNA は強く陽性になり、また星細胞も反応を示す。Glisson 氏鞘の結合組織は陰性に近い状態であり、全体的に孵卵、孵化後を通じて成鶏に至るまでその反応に大きな差異は認められない。

f) DNA.

DNA は核に著明な、活性を認める。核では核小体とクロマチンが特に反応を示す。内皮細胞や血管中に見られる各種血球の核である。結合組織細胞では核の反応が肝細胞のものよりも弱い、胆管上皮の核には反応が強い。

孵卵 3 日では核の DNA 反応が全体に非常に強く、特に核質全体にその反応が出現する。また不規則な集塊をしている幼弱肝細胞よりも細胞索の形成に関与する肝細胞の核に反応は強く出現する。特に分裂相を示す核にその反応は著明で、孵卵 3 日には分裂核が非常に多い。かつこの頃血管に存在する血球の核にも強い反応が認められる。内皮細胞の核の反応は肝細胞のものよりも低く、結合組織細胞の核の反応は内皮細胞のものよりもなお弱い。

孵卵 5 日頃になると、ductus choledochus が出現し、分化し、胆嚢等の形成が始まるが、この ductus choledochus の上皮細胞の核に非常に強い反応が示される。以後肝細胞核や内皮細胞核等の反応は成鶏に至るまで大きな変化を示さないが、全体的に孵卵初期のものほど反応は強い。このことは初期に細胞分裂が盛んに行なわれるために DNA の合成が旺盛なことを示すものである。

Fig. 19. Ribonucleic acid reaction in the liver of a 13 day-old chick embryo. From 3 day-old chick embryo, the cytoplasm of the liver cell becomes positive. UNNA-PAPPENHEIM's pyronin staining. $\times 430$

D. 電子顕微鏡的所見.

鶏の肝小葉を電顕で観察すると、光顕で見られるように肝細胞とそれに囲まれた毛細胆管が存在する一方、肝細胞の他の面は Disse の腔に面している。血管壁は内皮細胞と Kupffer 氏星細胞から成り、これと肝細胞との間には Disse の腔が認められる。以下それぞれについて記述する。

a) 肝細胞.

肝細胞は孵卵初期より明細胞と暗細胞に分けられる。同時にその中間型の細胞

もあり、夫々その移行が考えさせる。明細胞と暗細胞の色調の差は孵卵では少なく、成鶏では強くなる傾向にある。暗細胞には明細胞に比して一般に細胞内小器官が豊富である。

鶏肝細胞の細胞内小器官としては、小胞体、糸粒体、Golgi 体等があり、また毛細胆管、類洞と共に数種類の inclusion, すなわち脂肪滴, lysosome, microbody と呼ばれるもの等が認められ、なお孵卵ではその他に造血細胞をはじめ、特殊な顆粒が存在する。

1. 核.

核は通常 1 個で、細胞のほぼ中心に存在し、円形で核膜は density の高い内外 2 枚よりなり、その間に明るい層をもつ所謂 3 層構造をなしている。中に電子密度の高い核小体をもつ。

孵卵初期においては、外側核膜が細胞質の方に膨出して小胞膜の形成が多く認められる。これは孵卵 14 日以後になると少なくなる。また孵卵初期ほど核が大きく、成鶏では孵卵に比してその形がやや小さい。

2. 糸粒体.

糸粒体は全体を通じて孵卵初期のものほど形が大きく、成鶏では孵卵に比してやや小さい。その形状は多くは円形と楕円形であるが、時にひょうたん形を呈するものもある。桿状を示すものは少ない。

糸粒体には層板状の crista をもつものが多く、円形や楕円形の糸粒体では crista が屢々糸粒体限界膜に対し直角の角度をもって並列し、また桿状のものはその直軸に対して垂直に並列するものが多い。

孵卵初期のものでは一部に crista の配列が乱れているものもあり、また同一の細胞内では crista の配列の整ったものと、全く不規則で時には villous のものも見られる。細胞内での糸粒体の特異的な存在場所は見られないが、孵卵では核を囲んで 10 数個ほどのものが不規則に配列しているものがしばしば認められる。

3. 小胞体.

小胞体はその基本構造として小胞膜とそれに囲まれた小胞腔よりなり、小胞体を大別して小胞膜の表面に Palade の顆粒をもつ粗面小胞体と、顆粒をもたない滑面小胞体、及び Golgi 体に分けられている。

肝細胞には粗面小胞体がよく発達している。一般に哺乳動物の肝臓では粗面小胞体は扁平な嚢状をして配列することが多く、時にはその数列が平行に配列し集合しているのが普通であるが、鶏の肝臓ではこの様な形の胞体は殆んど見当らず、大部分が円形や楕円形を呈し、その膜の表面に Palade の顆粒をもつものと顆粒がないものとがある。その大きさは種々で糸粒体よりも大きいものから非常に小さいものまであり、形の不正の差よりもその大きさの変化の方が著しい。なお小胞体は互いに接しているものや、しばしば連なってくびれた形を呈しているものもある。外側核膜に連なっている像も孵卵初期にはよく見られる。核膜に接

するところでは特に変形が著しい。この様に鶏では孵卵初期から成鶏に至るまで小胞体は大部分が円形で極めて豊富に存在し、互いに連なり、また核膜や細胞膜とも連なって細胞全体の代謝に密接な関係をもつものと想像される。

また細胞質には小胞体よりもさらに小さく、その膜に顆粒を持たない小空胞が多数認められる。これは全体的に孵卵初期のものに多い傾向にある。

4. Golgi 体.

Golgi 体は現在では滑面小胞体の一種と考えられており、Golgi vesicle と Golgi membrane 及び Golgi vacuole よりなり、これらの複合体と考えられている。

鶏の肝臓の Golgi 体は孵卵では、まだ不完全なものが多いが、孵卵末期から成鶏にかけては完成した Golgi 体が認められる。また Rouiller (1956), 荒川 (1961), 大北 (1959) は胆汁の形成に関係の深いことを推測しているが、それを実証する様な写真は得られなかった。

5. 細胞内顆粒.

細胞内には大きく分けて 5 種類の inclusion が存在する。その 1 つは脂肪滴と云われている黒色の不正形の物質であり、1 つは内部の電子的密度が中等度でやや不均質な円形ないし楕円形を示すもので、もう 1 つは内部の均質な比較的電子密度の高いもので microbody などと呼ばれているものである。これら 3 種類の顆粒はいずれも孵卵から成鶏に至るまで存在する。便宜上これらの顆粒をそれぞれ A 顆粒、B 顆粒および C 顆粒と称して次に説明する。

i. A 顆粒.

これは一般に脂肪顆粒と云われており、孵卵 7 日ですでに存在し、成鶏に比して特に大きな増減はみられない。この顆粒は他の動物のそれと同様に電子密度が極めて高く、形が常に不規則で一般に多数の小突起をもつ。また全般に大型のものが多く、中にはその直径が 3μ を超えるものもみられる。そして脂肪顆粒には一般にその周囲に糸粒体が近接しているものが多く、時にはその小突起が糸粒体に接しているものもあり、なお小胞体にも接しているものもみられる。このような糸粒体や小胞体には特別な内部変化はみられ

Fig. 20. Electronmicrograph of A granules (fat droplet) in the liver cell of a 14 day-old chick embryo. N nucleus, M mitochondria. $\times 11,500$

ないが、脂肪の代謝に何らかの役割をもっていることが考えられる。なお孵卵初期から成鶏に至るまでその数や形状には特に変化は認められない。

ii. B 顆粒.

これは糸粒体にくらべてやや小さく電子密度の高い直径 0.2μ から 1μ ほどの楕円形に近い顆粒である。外側は 1 層の電子密度の高い限界膜に包まれ、その内部には電子密度の高い部分や電子密度の低い部分があり、時には空胞状の構造を認めるものもある。これらは Novikoff ら (1960) により lysosome と云われている

ものである。然しその断定には電顕的切片について組織化学的な染色を必要とする。

Emmetot と Beneditti (1960), Essner と Novikoff (1960), 高木ら (1960) によると, lysosome は一般に胆汁分泌に関与し、毛細胆管の周囲に多く認められると云われているが、私の今回の観察では特に毛細胆管周囲に多く存在する所見は得られなかった。

Fig. 21. Electronmicrograph of A and B granules (probably lysosomes) in the liver cell of 8 day-old chick embryo. N nucleus. $\times 6,600$

iii. C 顆粒.

これは B 顆粒に比べると小さく、ほぼ円形を示し、その内部は電子的密度が高く、heterogeneous で B 顆粒と同様に一層の限界膜に包まれている。これは一般に microbody と云われているものであるが、時に B 顆粒との区別は困難である。この顆粒も孵卵から成鶏に至るまで糸粒体に混在してみられ、B 顆粒よりその数ははるかに少ない。すでに Rouiller と Bernhard (1956) や高木ら (1959) は microbody を糸粒体の前駆体と主張し、Novikoff と Essner (1960) はこれに反対しているが、私の観察では microbody が糸粒体になるような像は得られなかった。

iv. その他の顆粒.

先に述べた 3 種の顆粒の他に孵卵においては 2 種類の顆粒がみられる。

その 1 つは全体に均一な osmiophilic な droplet をもった顆粒状の構造物である。これは円形ないし楕円形で、直径 0.6μ から 1.3μ 前後の大きさであるが、中には 2μ 前後の大きいものもあり、1 層の限界膜で囲まれ、中にやや電子密度の高い黒色の均一な内容物を含んでいる。この内容物は腔全体に充ちているものもあるが、多くは腔の一部および半ばを占め偏側に片寄っているものが多い。腔

の中で内容物を含まない部分は半月状に空白になっており、その場合でも限界膜はよく保たれている。この顆粒は細胞の中では細胞膜に近い処に多く認められ、その周囲に多くの糸粒体をみる。この顆粒は孵卵末期になると孵卵初期に比してやや少なくなり、成鶏ではみられない。また哺乳動物の肝臓についてこれまで報告がみられないところから、恐らく卵黄の或る種の成分が肝細胞に吸収されて行く1つの過程を示すものと考えられる。

もう1つの顆粒は孵卵において非常に小さくその直径が $8\text{ m}\mu$ 前後の電子密度の比較的高い顆粒で、しばしば核に近接してみられるものである。これは10数個から数10個の数に亘って点状の形で集団を作り、核の偏側に存在する。成鶏では認め

ることが出来なかった。なお岡本(1959)も孵卵12日において同様の顆粒について述べている。またKarrer(1961)は孵卵においてその中心に dense masse と density の低い顆粒状の物質及び peripheral lamellae をもつ inclusion を報告しているが、私はこのような顆粒に出会わなかった。

6. Glycogen 領域.

普通正常の肝臓では糸粒体や小胞体の間にしばしば明るい無構造のように見える領域があり、これは組織学的に glycogen の消長とよく一致するところから glycogen 領域と云われている。

孵卵初期においては glycogen 領域は殆んど見当らない。孵卵14日頃からそれ

Fig. 22. Electronmicrograph in the liver of 14 day-old chick embryo. Large inclusion bodies are seen. These inclusion bodies consist of a homogeneous osmiophilic droplet and sometimes small vacuole. This granule is only seen in the liver of the embryonic days. The right part of the figure is endothelial cell (E). N nucleus of endothelial cell, M mitochondria, D DISSE's space. $\times 10,000$

Fig. 23. An electronmicrograph in the liver of 14 day-old chick embryo. The right part of the figure is endothelial-cell (*E*). Very small granules (*G*) are apparent in the cytoplasm. This granule is only seen in the liver of embryonic days, *N* nucleus, *M* mitochondria, *Er* endoplasmic reticulum. $\times 12,000$

が漸次出現し、成鶏ではかなり広範囲に介在する。組織化学的には glycogen は孵卵 6 日で出現するが、電顕で glycogen 領域が 15 日頃までみられないのはその量が少ないためと考えられる。Kar-rer (1961) は孵卵 6 日に於いて glycogen の顆粒を電顕で明瞭に認めている。私も PAS 染色では孵卵 6 日に glycogen を明瞭に認めたが電顕では glycogen のための染色 (例えば醋酸鉛) を行っていないので、glycogen 顆粒を確かめることが出来なかった。

b) 毛細胆管.

毛細胆管は数個の肝細胞が互いに接合する部分にみられる。毛細胆管の長軸の方向に直角に切れた切片の写真ではほぼ円形を示し、長軸の方向に

対し平行に切れるに従って楕円形から管状の形態を示す。毛細胆管は固有の上皮をもたず、肝細胞自身により形成されている。毛細胆管を形成する肝細胞はその腔内に多数の小突起を出している。この microvilli は長さが $0.5-2\mu$ 、幅は $0.1-0.3\mu$ 前後で、毛細胆管腔内で種々に分岐しているものが多く、その断端が腔内に分岐して落込んでいるものも見られる。また孵卵では時に microvilli よりも太い肝細胞質の小部分が膨出した形を示すものもあり、一方毛細胆管腔の一部が細胞質中に罅入している像もみられる。

毛細胆管腔の大きさは肝細胞の機能と密接な関係をもつと云われているが、然し全般的に孵卵初期のものほど腔が大きい傾向にあり、孵卵ではその平均直径は $2-2.5\mu$ 前後である、特に孵卵 7 日のものでは直径 4μ 前後の大きい腔や $2-3$

個の毛細胆管が相接しているものをみるが，孵卵末期から成鶏になると，その様な大きい腔はみられなくなる．毛細胆管を形成する細胞数は孵卵7日頃では5—6個，孵卵末期から成鶏では4個前後になってくる．肝細胞が毛細胆管腔を囲んで互いに接する部分には desmosome がみられ，この部分では細胞間隙がせまくなって電子密度の高い物質により充たされ，これに接する細胞質はやや肥厚し，同時にその周囲の細胞質の電子密度もやや高くなっている．この desmosome は肝細胞が毛細胆管腔に接する部分のみに限られている．なお毛細胆管に典型的な分泌像は認められなかった．

c) 類洞.

類洞壁は内皮細胞と

Kupffer 氏星細胞とにより形成されている．Kupffer 氏星細胞が存在する場所では内皮細胞は欠けており，Kupffer 氏星細胞も明確に類洞壁構成の一部にあずかる．又孵卵14日頃までのものでは処々に造血細胞が認められる．

1. 内皮細胞.

内皮細胞は一般に細長く扁平に並んで類洞壁構成の大部分を占めるが，細胞個々の区別は明瞭でなく，その側端ではところどころ隣接する内皮細胞が互いに重なって連なる．また類洞壁をおおっている内皮細胞にはところどころに小孔や間隙が認められ，この小孔や間隙を通して類洞と Disse の腔とは交流し，血液成分は直接に肝細胞と物質交換をしていることが推察される．この小孔は孵卵7日では明瞭に認められるが，それ以前については不明である．内皮細胞は類洞にも又 Disse 氏腔にも microvilli を出しているが，その数は多くない，この類洞側に

Fig. 24. Electronmicrograph of the liver in 20 day-old chick embryo. The bile canaliculi (B) are surrounded by four liver cells. The cytoplasm of the liver cell contains the numerous mitochondria and vesicular endoplasmic reticulum. $\times 10,000$

Fig. 25. Electronmicrograph of bile canaliculi (B) in the liver of 7 day-old chick embryo. $\times 16,000$

ている microvilli により血液成分との接触を豊かにしている。

内皮細胞は全般に細胞質に乏しく、核も扁平で、不正形のものが多い。内皮細胞の小胞体は肝細胞に比して少なく、その形はやはり円形のものが多い。Palade の顆粒をもつものは少ない。糸粒体も肝細胞に比して小形で、円形のものが多い。完成した Golgi 野は成鶏に至るまで殆んど見当たらない。細胞質には肝細胞と同様に種々の osmiophilic な顆粒を認め、また顆粒のない小さな vesicle も

Fig. 26. Electronmicrograph of the perisinusoidal region in the 7 day-old chick embryo. DISSE's space (D) is noticed. L liver cell, E endothelial cell, C capillary lumen. $\times 12,000$

多く見られる。

2. Kupffer 氏星細胞。

内皮細胞と Kupffer 氏星細胞との区別は必ずしも明瞭ではない。Kupffer 氏星細胞は内皮細胞と共に類洞壁構成の一部にあずかる。内皮細胞にくらべて大きく，形も不正形で，しばしば類洞に突出し，また逆に Disse の腔に深く嚙入しているものも多い，核も内皮細胞に比して大きく，内皮細胞にみられるように極端

に扁平なものはないが、一般に不正形のものが多い。小胞体は円形で Palade の顆粒をもつものが内皮細胞より多い。完成した Golgi 野は見られない。細胞質には肝細胞に見られるような色々な顆粒があり、糸粒体も円形のものが多いが、肝細胞にくらべると形も小さく数も少ない。全般に細胞表面に大きい凹凸をもつものが多く、Disse 氏腔や類洞に microvilli を出している。

Kupffer 氏星細胞の貪喰能は孵卵初期では殆んど見当たらず、孵卵14日頃から

Fig. 27. Electronmicrograph of perisinusoidal region in the 7 day-old chick embryo. The blood formation cell (H) is considered to be originated from the endothelium (E). L liver cell, N nucleus of endothelial cell, D DISSE's space. $\times 8,400$

以降になると osmiophilic な顆粒を時々細胞質やその空胞の中に見る。

3. Disse 氏腔.

Disse の腔はその類洞側では内皮細胞と Kupffer 氏細胞に、対側では肝細胞により囲まれて形成され、内分泌腺に見られるような基底膜は存在しない。

孵卵初期（孵卵 7—10 日）にはその腔はしばしば大きく開大し、孵卵末期から成鶏になるとその間隙は狭小になり、時にはあたかも Disse の腔は存在しないように見える。Disse の腔には肝細胞側からと内皮細胞および Kupffer 氏細胞側から夫々 microvilli が突出しており、microvilli は夫々分岐し、時にはからみ合って内皮細胞と肝細胞とが互いに Disse 氏腔をはさんで夫々位置づけられている。Disse の腔は内皮細胞の間隙や小孔を通して直接類洞と交流し、また肝細胞と肝細胞との間隙の間に深く彎入しているものもある。この肝細胞間隙への彎入は孵卵 7—10 日のものに著明で、孵卵 18 日から成鶏ではこのような所見はみられなくなる。Disse 氏腔は孵卵初期において広く開大しているものの、反面非常に狭小で肝細胞と内皮細胞が互いに相接しているような処も多い。また光学顕微鏡による銀好性線維に相当する小数の結合組織線維を認める。

4. 造血細胞.

孵卵初期には類洞壁にそってところどころ血球母細胞が認められる。血球母細胞は私の光顕による観察では孵卵 3 日からすでにみられるが、電顕による観察で

Fig. 28. Electronmicrograph of blood formation cell in the 18 day-old chick embryo. *R* red cell, *L* liver cell, *N* nucleus of liver cell, *C* capillary lumen, *H* probably blood formation cell. $\times 11,400$

は孵卵7日に多数認められ、孵卵10日には最も多く、孵卵18日頃より減少し20日になるともはや認められなくなる。成鶏では勿論見られない。

鶏胚における血管内造血は内皮より形成される。即ち類洞壁を構成している内皮細胞の細胞質が類洞の血管腔に向かって漸次膨出し、膨出した部分は次第に發育増大すると共に、核や新しい細胞内小器官の形成が認められる一方、元の内皮細胞との間に細胞膜を伴った境界が明確になる。この新しく出来た血液細胞はその發育と共に内皮細胞に接する部分が漸次せばまり、その完成と共に内皮細胞から分離して血中に遊出する。

Fig. 29. Electronmicrograph of blood formation cell (H) in the 10 day-old chick embryo. This cell is considered to be originated from endothelial region (E). L liver cell, C capillary lumen. $\times 9,000$

血球母細胞はその形が Kupffer 氏星細胞に類似しているが、Kupffer 氏星細胞は内皮細胞と共に直接類洞壁を構成しているに対し、血球母細胞は類洞壁を構成せず、内皮細胞に接して血管腔に突出している。また Kupffer 氏星細胞に比して核は大きく円形で、細胞質と核がともに電子密度の高いことが一つの特徴である。尚 Carsten (1961) は人の胎児肝臓において同様の造血細胞を Disse の腔内に認めているが、鶏胚においてはかかる血球母細胞は類洞内に存在するけれども、Disse 氏腔には存在しない。又 Karrer (1961) は孵卵8日の肝臓において内皮細胞より類洞に突出する私と同様の造血細胞を報告している。

III. 結 語.

鶏の肝臓について孵卵3日から2.5年の成鶏に至るまでを組織学的および組織化学的方法により、また孵卵7日から1.5年の成鶏に至るまでを電子顕微鏡により観察した。その所見は次のようであった。

1. 孵卵では体長、体重、肝重量とも12—13日頃から急速に増加をはじめ、体重は孵化後一時減少するが、肝臓は増加を続ける。体重と肝重量との増加の割合は常に肝臓の方が大きく、特に孵卵末期から雛にかけて著しい。

2. 肝細胞核の体積は孵卵初期ほど大きく、また細胞の有糸分裂数も孵卵初期ほど多い。

3. 孵卵3日にはすでに肝細胞索の形成がはじまっており、孵卵4日になると、細胞索の形成と共に細胞索を構成する肝細胞自体の配列が始まる。以後このような細胞の増殖と配列により細胞索の形成が進む。孵卵6—7日頃細胞索の縦断面では肝細胞は2列に、横断面は毛細胆管を囲んで放線状に配列し、その細胞数は孵卵4日では10個前後であるが、孵化がすすむに従って減少し、成鶏では4—5個になる。

4. 孵卵9日頃 Glisson 氏鞘の形成が始まり、小葉間静脈や中心静脈が出現し、孵卵11日には小葉間動脈もみられる。また孵卵11日には小葉間胆管の形成が始まる。孵卵15日になると、類洞は狭小になり、肝臓の組織学的な形態は一応完成する。

5. 成鶏になっても細胞索の走行は不規則に迂曲し、哺乳動物に見られるような中心静脈を中心とした細胞索の配列は、鶏では孵卵から成鶏(2.5年)に至るまで見られず、肝小葉の想定も困難である。

6. 孵卵3日にはすでに血管の進出がみられ、血管腔には少数の血球母細胞をみる。また内皮細胞が血管腔に膨出して血液細胞に移行すると思われる像も見られる。光顕および電顕の観察ではこの血管内造血は孵卵10日頃に最も旺盛で、18日頃より見られなくなる。

7. 孵卵10日には Glisson 氏鞘の結合組織内にリンパ球が出現し、孵卵16日頃更に多くなり、30日雛ではリンパ小節がみられる。また10日雛には肝実質にリンパ球が集団を作って出現し、成鶏になると結合組織や肝実質内にリンパ小節が常に認められる。

8. 孵卵11日には酸好性白血球が Glisson 氏鞘の結合組織にリンパ球と附随して出現し、孵卵16日頃小さな集団を作るが、孵化後増加を示さない。また5日雛より実質内に少数の酸好性白血球がみられるけれども、その後増加は認められない。

9. 糖原は孵卵6日にはじめて出現し、孵卵末期に増加し、孵化後一時著明に減少するが、雛3日頃より再び増加を続ける。

10. アルカリ性フォスファターゼは孵卵4日, 5日には肝細胞核に陽性の所見を示す. 一方常に小葉間動静脈の内皮, 類洞壁等の血管内皮細胞に強い活性を見, 一方酸性フォスファターゼは肝細胞の細胞質および核に活性をみる. 特に孵卵3日では細胞索形成過程の肝細胞にその活性は著明である. また孵卵末期から成鶏にかけて Kupffer 氏星細胞に活性が著明になってくる. このことは Kupffer 氏星細胞の貪食機能と関係が深いと考えられる.

11. リパーゼは孵卵4日から成鶏に至るまで肝細胞原形質に多く出現する.

12. リボ核酸は肝細胞原形質, またデオキシリボ核酸は肝細胞や内皮細胞の核に強い反応を示し, 何れも孵卵初期ほど強い. 特にリボ核酸は孵卵3日では肝細胞索形成過程にある細胞に, その後は全体的に中心静脈等の血管周囲の肝細胞により強い反応を示す. デオキシリボ核酸の反応は細胞分裂像を示す核に特に強い.

13. 電顕で観察すると, 肝細胞の核と糸粒体は共に成鶏よりも孵卵に大きい. 小胞体は孵卵, 成鶏共に円形のものが多数である. また孵卵初期では, それが外側核膜に連絡している像を多くみる.

14. 細胞内には一般に脂肪滴, リゾゾーム, ミクロボディーと云われている3種類の含有体を孵卵7日より成鶏に至るまで認めるほか, 孵卵においてはこれらの顆粒とは全く異なった全体に均質なオスミウム好性の小滴と細胞核に近接して存する電子密度の高い微小な顆粒の集団を認める. なお後の2者は成鶏では認められない.

15. 毛細胆管は数個の肝細胞の相接する部分に認められ, 固有の上皮を持たず腔内に多数の微絨毛を出している. 腔は全般に孵卵初期程大きい.

16. 血管内皮細胞は類洞壁の大部を構成し, 類洞と Disse 氏腔にそれぞれ微絨毛を出し, また内皮の細胞質には処々間隙が認められ, その間隙を通して類洞と Disse 氏腔が直接交流している. 微絨毛の数は一般に少ない.

17. Disse 氏腔は類洞側は内皮細胞と Kupffer 氏星細胞により, 対側は肝細胞により囲まれ, 基底膜は存在しない. 孵卵初期ほど腔は広く, 内皮細胞の間隙により直接類洞とも交通し, また肝細胞の間にも深く彎入している. 腔には内皮細胞と肝細胞よりの微絨毛が時にかみ合って存在する.

18. Kupffer 氏星細胞も内皮細胞と一緒に類洞壁構成の一部をなし, 内皮細胞より大きく凹凸の多い不正形で類洞や Disse 氏腔内にしばしば突出する. この細胞の核と細胞質は内皮細胞のものよりも電子密度が高く, 細胞内小器官もよく発達し, 小胞体は円形で, 肝細胞と同様の顆粒も存在する. 孵卵初期には貪食能は殆んど見られず, 孵卵末期になるとオスミウム好性の貪食物を細胞質の空胞の中に持つ.

19. しばしば内皮細胞から類洞に隆出する造血細胞が見られ, これは Kupffer 氏星細胞に類似するが, 核が円形で大きく, 細胞質, 核ともに電子密度が高い. 孵

卵20日になるともはや認められない。成鶏にも認められない。

Author's Abstract.

Using the white leghorn, from 3 day-old chick embryo to 2.5 years cock, the liver tissue was examined histologically, histochemically and electron-microscopically.

At 3 days of incubation the liver cell-cords formation begins. At 6—7 days of incubation, the liver cells are arranged in two rows on the longitudinal section of the liver cell-cords and radially on the transverse section. The bile canaliculi are found also at 3 days of incubation, and are surrounded by about 10 liver cells at 4 days on the transverse section. The number of the cells forming the bile canaliculi is decreased with the days, and in adult domestic fowl it becomes about 4 or 5.

On the 9 days of incubation, the formation of the GLISSON's capsule with inter-lobular- and central-vein is noticed, and the inter-lobular artery and inter-lobular bile duct are seen at 11 days. The whole liver organization is completed histologically at 15 days of incubation, but even in the adult animal the lobular formation of the liver is not so complete as seen in that of the mammals.

At 3 days of incubation, it is found the infiltration of the blood capillary into the liver tissue, in which the blood formation cells are noticed. Sometimes the figure, which is considered that the blood cells are transformed from the endothelial region, are found. These blood cell formation in the blood capillary of the liver tissue is seen often in 10 day-old chick embryo, and it becomes rare from 20 days of incubation.

The lymphocytes appear in the connective tissue of GLISSON's capsule at 10 days of incubation, and in the liver parenchyme at 10 day-old chick. From 30 days after hatching, the author can find lymph node. In the domestic fowl the lymph node is always seen in the connective tissue and liver parenchyme. The small number of eosinophilic leucocytes were seen in the connective tissue at 11 days of incubation and in the liver parenchyme of 5 days chick, but their number is not increased with days.

The glycogen appears at 6 days of incubation and it is increased remarkably with embryonic days. After hatching it is decreased rapidly till 2 days, and then this substance is increased again.

The alkaline-phosphatase reaction is always strongly positive in the endothelium of the inter-lobular artery and vein and of the sinusoid, while the acid-phosphatase reaction is positive in the liver cells. From the end of the embryonic day, the KUPFFER's cells become clearly positive in acid-phosphatase reaction, which suggests that the phagocytic function of this cell is probably intimately related with this reaction.

The lipase is found in the liver cell cytoplasm from the 4 day-old embryo to the adult animal.

The ribonucleic acid reaction is stronger in the liver of the early embryonic animal than that of later on.

In the liver cell, three kinds of inclusions are noticed from the 7 days of incubation to the adult, and only in the embryo, we can find special inclusion body con-

sisting of homogeneous osmiophilic substance and find fine granules of high electron density near the nucleus of the cell (Figs. 20, 21, 22 and 23).

Bile canaliculi consisting of the cell membrane of several liver cells have no proper epithelium. The canalicular lumen is larger in the early embryo than that in later on.

Between the liver cell and the endothelium there is no basement membrane but a DISSE's space, where microvilli projecting from the cell membranes of both cells are seen. Through small pores of the endothelial cells, the blood plasma is considered to enter the DISSE's space.

In the KUPFFER's cell cytoplasm, phagocytic substances begin to be found at the end of the embryonic day.

The blood formation cells, the nucleus and cytoplasm of which are denser than those of KUPFFER's cell and of endothelial cell, are originated from the endothelium in the early embryo, and from 20 days of incubation on we can not find any cells as this.

文 献.

- 安藤画一：岡山医会誌. 325 (1917). 頁91. — 荒川健二郎：綜合医学. 18 (1961). 頁4. — **Carsten, P. M.**: Z. Zellforsch. 54 (1961). S. 252. — **Dalton, A. J.**: Anat. Rec. 68 (1937). P. 321. — **Dantschakoff, W.**: Karrer による. — 藤井 清：大阪大医誌. 5 (1952). 頁382. — 藤井 淳子：大阪女医誌. 1 (1948). 頁65. — **Haff, P.**: Arch. mikr. Anat. 84 (1914). P. 321. — 伊東 俊夫, 田中愛雄, 根本萬次：日組録. 19 (1960). 頁565. — **Karrer, H. E.**: J. Ultrastr. Res. 5 (1961). P. 116. — **Kingsbury, J. W.**; **M. Alexanderson** and **E. S. Kornstein.**: Anat. Rec. 124 (1956). P. 165. — 兼定 影：日組録 10 (1956). 頁525. — **Needham, J.**: Chemical embryology. Cambridge, 1931. — **Novikoff, A. B.** and **E. Essner**: Amer. J. Med. 29 (1960). P. 102. — 岡本圭史：日組録. 17 (1959). 頁129. — 大北速男：(演) 日本消化病会誌. 56 (1959). 頁1012. — **Potvin, R.** et **M. Aron**: C. r. Soc. Biol. 96 (1927). P. 267. — **Rouiller, C.** and **W. Bernhard**: J. biophys. biochem. Cytol. 2, Suppl. (1956). P. 355. — 高木文一：(演) 第15回日本医学総会記録. 1 (1959). 頁70. — 高木文一と銀木昭男：肝臓 2 (1960). 頁1. — **Van der Stricht, O.**: Arch. Biol. (Liège) 11 (1891). P. 19.