和歌山県立医科大学, 外科教室 (主任: 浜光治教授) と
第 2 解剖学教室 (主任: 高木耕三教授).
Dept. of Surgery (Director: Prof. M. HAMA) a.
II. Dept. of Anatomy, (Director: Prof. K. TAKAGI),
Wakayama Med. College.

無蛋白食飼育ラッテに於ける 十二指腸上皮細胞に就て.

On the Duodenal Epithelial Cells of Rats after
Feeding with Non-protein Food.

高橋 末廣 Suehiro TAKAHASHI.

[昭和 28 年 2 月 15 日原稿受附.]

蛋白質, 脂肪及び含水炭素の所謂三栄養素は細胞の機能營為上絶対不可缺の要素であることは今更多言を要しない。然らば之等栄養素の中一ツが缺除した場合に各種臓器は如何なる影響を受けるであらうかと云う問題は非常に興味がある。恩師浜教授は第50回日本外科学会総会に於いて実験的蛋白質缺乏状態, 所謂低蛋白症に於ける肝機能に就て論及し, 組織細胞学的検索より肝細胞機能が著明に低下する事実を報告した。又著者は曩に家兎を無蛋白食にて飼育すると 30 日にして十二指腸上皮に於ける Phosphatase の反応が極度に減弱することを組織化学的に証明したが, その生理学的意義を明らかにするためには十二指腸上皮の微細構造の動きを合せて研究する要のあることを痛感した(日組録, 巻 3, 号 3, 昭 27)。爾来著者は各栄養素の内一ツを缺除せる食餌によって飼育せるラッテに就て十二指腸上皮細胞の細胞学的竝に組織化学的検索を続行した。今回はそれ等検索の内, 蛋白質缺除食飼育によって所謂低蛋白症に陥れた場合を細胞機能に積極的に関与する Plastosome と, 糖質その他の吸収に密接な関係を有するとされている Phosphatase の両面より追究した結果に就て報告する。

I. 実験材料と方法.

動物は 100—120g の健康成熟雄ラッテで, 一匹宛金網製の籠に入れ, 予め実験前 5 日間人工基礎食で飼育し, 一定の環境及び生活状態に馴らせた後, 無蛋白食 (局方馬鈴薯澱粉 83.5 %, バター 10 %, ビタミン B 複合体 0.5 %, Mc Collum 氏塩混合 2.0 %, 寒天 2.0 %, 乳糖 2.0 % の割合に混じ, その乾燥量 10g を一匹の一日量とした) にて 10, 20, 30 及び 40 日間飼育した。而して最終給食後 1 昼夜絶食せしめて開腹し, 十二指腸より所

要小片を取材した。固定は Plastosome の検索には Levi 氏液を用い、Phosphatase の検出には冷アセトンを用いた。染色は前者には Heidenhain 氏鉄ヘマトキシリン染色を施し、後者には清水・有菌氏法を用いた。

II. 自家所見.

A. Plastosome (以下 Pl. と略す).

1. 正常十二指腸(Fig. 1)

上皮細胞の小皮縁は比較的濃染し、核は長楕円形で細胞底に近く位置する。細胞上半部に於ては Pl. は糸状乃至長桿状が主で、捻珠状が少数混じっている。核下部、即ち細胞基底部は一般に暗調で、Pl. は太い短桿状が大部分を占め、顆粒状は極く僅か認められる。

2. 無蛋白食 10 日飼育(Fig. 2).

正常例と大差を認めないが、細胞上半部の Pl. が多少増数すること、及び細胞基底部に形状不規則な明視部の認められることが少々特異と思われる。

3. 無蛋白食 30 日飼育(Fig. 3)

上皮細胞の境界は不鮮明で、ここには空胞の融合したと思われる明視部が細胞間隙の如くに認められる。細胞自体は正常例と比すると丈低く、又核は細胞の中央部に近く位置するが、萎縮して歪形を示すものが多い。Pl. は細胞上半部にあっては少々太い短桿状、捻珠状及び顆粒状で、その染色は濃淡不同が著しい。又その配列は必ずしも細胞の長軸に平行せず、可成り乱れている。他方細胞基底部では少々粗大な顆粒状或は太い短桿状であるが、正常例に比すると可成り減少している。又此所には液状内容を有すると思われる明調な空胞が多数認められ、細胞基底部は殆んど空胞によって占められていると言うも過言ではない。

4. 無蛋白食 40 日飼育(Fig. 4).

細胞上半部には空胞が 2-3 散見せられ、Pl. は淡染するものが多く、その形態は太い短桿状乃至顆粒状を呈し、分布は不規則である。細胞基底部では Pl. は顆粒形で粗に分布し、30 日例よりも更に少数となる。又 30 日例に於て此部に認められた如き空胞は本例では少くなっている。核は萎縮を思はせる不規則な形状を示し、細胞の略々中央に位置している。

B. Phosphatase (以下 Ph. と略す).

a) アルカリ性 Ph.

1) 正常十二指腸(Fig. 5 と 6).

細胞の小皮縁が最も反応強く、細胞上部及び Golgi 氏帯が之に次ぐ。核

にあっては核膜が強い反応を示す。然るに細胞基底部分は一様に中等度に反応するのみ。これら上皮細胞に於ける Ph. 反応を模型的に示したのが Fig. 6 である。而して絨毛各部位（例えば絨毛先端部、中間部、根部等）における反応の差異はない様に思われる。

2. 無蛋白食 10 日飼育.

小皮縁が最も強く反応し、Golgi 氏帯が之に次ぐ。細胞上部の反応は著しく減弱している。細胞基底部分の一部反応陰性の箇所もあるが、総じて細胞上部と略々同程度に弱い。従って模型図 Fig. 7 に示す如く、小皮縁と Golgi 氏帯に一致して反応強き部分が、反応の著しく減弱せる細胞上部を挟んで 2 條の帶狀部を形成している。但し絨毛先端部に於ては細胞上部の可成り強く反応する細胞が多いことは注目される。

3. 無蛋白食 20 日飼育.

小皮縁、細胞上部及び核は 10 日例と略々同程度の反応を示すが、Golgi 氏帯及び細胞基底部分では明らかに減弱している。而て絨毛先端部では細胞の全部が可成り強く反応しているが、絨毛根部では細胞上部、Golgi 氏帯が著明に減弱している。

4. 無蛋白食 30 日飼育(Fig. 8).

20 日例に比すると一段と反応の減弱が顯著で、殊に小皮縁及び核に於ては著しい。Golgi 氏帯の反応は絨毛の部位により多少異なり、殆んど認められないものもある反面尚可成り強く反応し、帶狀を呈しているものもある。

5. 無蛋白食 40 日飼育.

30 日例の所見と殆んど変らない。

b) 酸性 Ph.

1. 正常十二指腸(Fig. 9 と 10).

小皮縁、細胞上部及び Golgi 氏帯共に強く反応し、ために互に融合して細胞上半部は黒褐色帶を形成している(Fig. 10). 核は軽度、而て細胞基底部分には中等度に反応するが、絨毛の部位により多少の差異が認められる。

2. 無蛋白食 10 日飼育.

小皮縁及び Golgi 氏帯は正常例と同様強く反応するが、細胞上部は可成り弱い。故に細胞上部を挟んで小皮縁と Golgi 氏帯が平行した 2 條の帶狀を呈している(Fig. 7. 参照)。

核は僅かに反応し、細胞基底部分は殆んど反応を示さない。

3. 無蛋白食 20 日飼育(Fig. 11 と 12).

小皮縁は正常例と略々同程度に強く反応し、濃い黒褐色を呈するが、

Golgi 氏帯は 10 日例に比して可成りの減弱を示す。殊に絨毛先端部に於ては Golgi 氏帯の反応は極度に減弱し、細胞上部と略々同程度である。又細胞基底部は 10 日例同様陰性である。斯くの如く Ph. 反応の減弱した上皮細胞は Fig. 12 に示す模型図の如き様子を呈している。

4. 無蛋白食 30 日飼育.

20 日例と殆んど変らない。即ち酸性 Ph. 反応の減弱は飼育 20 日にして概ね出揃ったと解せられる。

5. 無蛋白食 40 日飼育.

Golgi 氏帯の反応が少々減弱するかに思われるが、他は 20 日及び 30 日例と大差がない。唯僅少ではあるが、一部の細胞にあっては Golgi 氏帯が中等度の反応を示し、10 日例と同様 2 條の帯状を呈しているものもある。

III. 總括と考察.

正常時に於ける十二指腸上皮の PL は細胞上半部に於ては糸状乃至長桿状で細胞の長軸に平行して配列し、核下部即ち細胞基底部に於ては大部分短桿状乃至顆粒状である。而して斯る形態は細胞の機能休止の標準になることは従来研究者の一致した見解である。例えば北村氏 (1928) は家兎の十二指腸絨毛上皮細胞に就て論じ、胃内容が全く空虚か或は少量の時、即ち腸の消化吸收機転が平静と思はれる時期には PL は糸状が多く、而も之等は細胞の長軸に平行して配列し、小皮縁に近い部分には特に蛸集することを認め、この状態を以て機能休止の像と解し得ると記載しており、又著者 (1951) はラッテの十二指腸上皮細胞は給食後 2—6 時間、即ち十二指腸に於ける消化吸收機能が最も旺盛と考えられる時期に於て細胞上部の PL が太い桿状となり、更に捻珠状を経て顆粒形に移行することを確認し、給食後 24 時間になると PL は再び大部分糸状となり、大体給食前、即ち機能休止の状態にかえることを確めた。今回の実験に於てはラッテを 1 昼夜絶食状態に保った上で材料を採取している故に、胃内容は殆んど存しないか、或は稀に少量を認めるのみで、十二指腸機能が殆んど休止していることは論を俟たない。従って正常例 (空腹時) に於て細胞上部の PL が糸状乃至長桿状で細胞の長軸に略々平行して配列しており、又細胞基底部では太い短桿状乃至顆粒状を呈していた (Fig. 1) ことは北村氏始め諸家の成績とも略々一致している。然るに無蛋白食飼育例に於ては之と異なり、同じ空腹時でありながら飼育日数の増加するにつれて十二指腸上皮の PL は細胞上半部にあっては糸状乃至長桿状は減じ、少々太い桿状及び捻珠状 (30 日, Fig. 3) を経て太い短桿状乃至大顆粒状 (40 日, Fig. 4) と変り、その配列

も乱れ、且つ濃淡不同が著しく、淡染性のものはやがては非染化し空胞と化する(Fig. 4). 又細胞基底部の Pl. は太い短棒状であつたものが少々粗大な顆粒状(30 日, Fig. 3) となり、その数も次第に減少する(40 日, Fig. 4). 他面細胞は丈低く且つ幅広くなり、核は萎縮して歪形となると共に胞体の中央に位置する様になる(Fig. 3 と 4) 事も見逃せない。斯くの如く無蛋白食飼育の日数が増加するに従い、十二指腸上皮細胞には外形、核の形及び位置並びに恒常組成成分たる Pl. の形態に漸進的な異変が現われる。而も之等変化の経過は先に渡辺氏 (1920) 及び笠松氏 (1952) が報告した臓器摘出後刻々と変る細胞の構造変化と全く一致している。従って著者の認めた上記の所見は無蛋白食飼育により十二指腸上皮細胞が次第に機能低下し、更に退行変性へと進んでゆく過程であると考えて差支えない。斯る推論を裏付ける一助として著者は更に細胞の物質代謝に關与する Ph. の消長に就て検索した。

今日 Ph. は細胞内に於ける各種の物質代謝に關与するものであると信ぜられ、又その組織化学的検出法も考案せられて各種の臓器細胞に於ける分布状況も漸次明らかにせられている。而して正常十二指腸上皮にあってはアルカリ性 Ph. は小皮縁が最も強く反応し、細胞上部及び Golgi 氏帯も可成り強く反応する。之に反し酸性 Ph. は小皮縁、細胞上部及び Golgi 氏帯が一樣に強く反応し、次に核膜の順位とされている。之は著者今回の正常例所見(Fig. 5, 6, 9, 10)と大体に於て一致する。然るに無蛋白食飼育例にあっては Ph. 反応は飼育日数の増加に従って減弱する。即ちアルカリ性 Ph. では先づ腸上皮の細胞上部が減弱し、次に Golgi 氏帯が減弱する(Fig. 8). 小皮縁の反応は飼育 20 日迄は正常例と變りないが、飼育 30 日に至って急激に減弱し、又此の時期には胞体各部共極度に減弱する。之は無蛋白食飼育 30 日頃よりラッテの食慾が減退し、一般状態の悪化するのと時期を同じくしている点に於て特に興味がある。酸性 Ph. では先づ細胞上部が反応減弱し、次に Golgi 氏帯、核及び細胞基底部が減弱するが、小皮縁はアルカリ性 Ph. と異り全く反応の減弱を示さない(Fig. 11). これによって酸性 Ph. はアルカリ性 Ph. に一歩先行して反応が減弱するものと考えられる。又 Ph. の反応は絨毛上皮細胞に於てのみでなく、腸腺部或は粘膜固有層に於ても同様顯著に減弱することが明瞭に認められる。

抑々小腸に於ける Ph. の意義は Grosser 及び Husler (1912), Dempsey 及び Deane (1945, 1946) によれば小腸の分泌に關係し吸収と無關係であり、腸内容の磷酸エステルの Desphosphorylation に対して重要であるとされているが、Bourne (1943), Emmel (1945) 及び井上 (1952) 等によればアル

カリ性 Ph. は小腸の吸収に際し上皮細胞中に顕著に証明せられるが故に吸収に深い関係を有するものであるとしている。何れにしても Ph. は小腸上皮細胞の機能と密接な関係にあり、而も糖質及び脂質の吸収に対して重要な役割を演ずるであろうと云う事は多くの研究者の一致した意見の様である。(Bourne, 1943; Emmel, 1945; Grosser と Husler, 1912). 故に腸上皮のアルカリ性 Ph. の反応が増強することは即ち吸収機能の亢進を示すもの、逆に反応の減弱することは即ちその機能低下を物語るものと考えて差支えないと思われる。従って著者の明らかにした無蛋白食飼育時の各所見は何れも十二指腸上皮の消化吸收機能が漸次低下してゆく過程を示すものと結論し得る。

IV. 結 論.

無蛋白食飼育(実験的低蛋白症)によりラットの十二指腸上皮細胞は飼育日数の増加するに従って次の如き著明な変化を示す。

1. 細胞は次第に短かく且つ幅広くなる。
2. 核は萎縮し変形し細胞の中央部に転移する。
3. Pl. は糸状乃至長桿状より次第に太い短桿状と変り、更に顆粒状へと変化すると共に染色性が減じ、やがては空胞化する傾向を示す。
4. Ph. 反応はアルカリ性及び酸性共に著明に減弱する。
5. Ph. 反応の減弱は先づ胞体上部に始まり、次に Golgi 氏帯、最後に小皮縁である。然し酸性 Ph. にあつては小皮縁の反応は終始減弱しない。

以上細胞及び核の変形、Pl. の形態変化及び Ph. 反応の減弱は十二指腸上皮細胞の機能低下乃至退行変性への過程を示すものと信じられる。

稿を終るに臨み、恩師浜教授の御指導に衷心より感謝すると共に、御指導と御校閲を賜つた解剖学教室高木教授並に藤江助教授に対し満腔の謝意を捧げる。

Author's Abstract.

It is well known that protein, fat and carbohydrate are the 3 necessary nutriment for the cells. Therefore it is very interesting to examine the influence of food lacking either one of these nutritions on the minute structure of organs. The author fed rats with non-protein food and examined the plastosomes and phosphatase of the epithelium of the duodenum histologically and histochemically, and obtained the following results.

The Cells gradually become shorter and wider.

The nuclei atrophy and change their shape, and wander into the center part of the cells.

The thread-like or long rod-shaped plastosomes change gradually into

thick short rod-shaped ones and furthermore into granules. At the same time they become hardly stainable and show a tendency to change into vacuoles.

The alkaline and acid phosphatase activity decrease remarkably.

The decrease of phosphatase activity begins from the apical portion of the cells to the GOIGI zone and finally to the cuticular border, although the acid phosphatase does not decrease at all in the cuticular border.

The deformation of the nucleus and plastosomes and the decrease of phosphatase activity as described above are considered as showing a hypofunction or an atrophic degeneration of the duodenal epithelium.

文 献

Bourne, G.: The distribution of alkaline phosphatase in various tissues. *Quart. J. exp. Physiol.* 32 (1943). — **Deane, H. W. a. E. W. Dempsey**: The localization of phosphatases in the Golgi region of intestinal and other epithelial cells. *Anat. Rec.* 93 (1945). — **Dempsey, E. W. a. H. W. Deane**: The cytological localization, substrate specificity, and pH optima of phosphatases in the duodenum of the mouse. *J. cell. a. comp. Physiol.* 27 (1946). — **Emmel, V. M.**: Alkaline phosphatase in the Golgi zone of absorbing cells of the small intestine. *Anat. Rec.* 91 (1945). — The intracellular distribution of alkaline phosphatase activity following various methods of histologic fixation. *Anat. Rec.* 95 (1946). — **Grosser, P. a. J. Husler**: Über das Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierischen Organen. *Biochem. Z.* 39 (1912). — **井上驥三郎**: 実験的胆路閉塞に依る各臓器 Phosphatase の組織化学的研究. 大阪大学医誌. 4 (1952). — **笠松茂**: 臓器保存に関する研究. 臨牀外科. 7(1952). — **北村勇三**: 家兔絨毛上皮の吸収作用に伴ふ微細構造変化に就て. 解剖誌. 1 (1928). — **清水信夫と有園初夫**: フォスファターゼの組織化学的検査法に就て. 生体の科学. 1 (1949). — **高橋末広**: 給食後のラット十二指腸上皮細胞に就て. 第 10 回解剖学会近畿地方会. (昭26). — 食餌性低蛋白症家兔に於ける十二指腸フォスファターゼの消長に就て (組織化学的研究). 日組録. 3 (1952). — **渡邊保**: 人十二指腸腺上皮細胞ミトの時間的变化に就て. 東京医新誌. 2706 (1930).

附 圖 説 明

附圖 1—4 は Abbe 氏描写器を用い、同一拡大のもとに投影描写した。

図 1. 正常ラットの十二指腸上皮細胞。

図 2. 無蛋白食 10 日飼育の十二指腸上皮細胞。

図 3. 無蛋白食 30 日飼育の十二指腸上皮細胞。

図 4. 無蛋白食 40 日飼育の十二指腸上皮細胞。

図 5. 正常ラットの十二指腸。アルカリ性 Phosphatase.

図 6. 正常十二指腸上皮細胞のアルカリ性 Phosphatase (模型図)。

図 7. 無蛋白食 10 日飼育の十二指腸上皮細胞のアルカリ性 Phosphatase (模型図)。

図 8. 無蛋白食 30 日飼育のアルカリ性 Phosphatase.

図 9. 正常十二指腸の酸性 Phosphatase.

図 10. 正常十二指腸上皮細胞の酸性 Phosphatase (模型図)。

図11. 無蛋白食 20 日飼育の酸性 Phosphatase.

図12. 無蛋白食 20 日飼育の十二指腸上皮細胞の酸性 Phosphatase (模型図).

Explanation of Plate.

The figures 1—4 are the reproductions obtained with ABBE's apparatus, under the same magnification.

Fig. 1. The epithelial cells of the duodenum of a normal rat.

Fig. 2. The epithelial cells of the duodenum after 10 days feeding with non-protein food.

Fig. 3. The epithelial cells of the duodenum after 30 days feeding with non-protein food.

Fig. 4. The epithelial cells of the duodenum after 40 days feeding with non-protein food.

Fig. 5. Duodenal epithelium of the normal rats. Alkaline phosphatase.

Fig. 6. The distribution of alkaline phosphatase in the normal epithelial cells of the duodenum (schema).

Fig. 7. The distribution of alkaline phosphatase of the epithelial cells of the duodenum after 10 days feeding with non-protein food (schema).

Fig. 8. Alkaline phosphatase of the duodenum after 30 days feeding with non-protein food.

Fig. 9. Acid phosphatase of the normal duodenum.

Fig. 10. The distribution of the acid phosphatase in the normal duodenal epithelial cells (schema).

Fig. 11. Acid phosphatase after 20 days feeding with non-protein food.

Fig. 12. The distribution of acid phosphatase in the duodenal epithelial cells after 20 days feeding with non-protein food (schema).

高橋論文附圖

1

2

3

4

5

6

8

7

12

9

10

11