群馬大学医学部解剖学教室（主任：伊東教授）
Anat. Inst., Gunma Univ., Maebashi (Vorstand : Prof. T. ITO).

インシュリンの家兎肝「脂肪攝取細胞」に 及ぼす影響に就いて.

Über den Einfluß des Insulins auf die Fettspeicherungszellen
der Kaninchenleber.

須 永 吉 郎 Yoshiro SUNAGA.

〔昭和 29 年 8 月 26 日原稿受付.〕

インシュリンの作用は、糖の酸化又は燃焼、肝臓と筋に於ける糖からのグリコゲン形成、糖からの脂肪合成等を促進するにあると考えられている。Chernick と Chaikoff (1950) によれば糖の酸化よりも脂肪転化作用の方が常に強く現われると云う。さきに狩野 (1952) はモルモットに長期 (82 日) に亘ってインシュリンを毎日連続して注射し、肝臓の脂肪摂取細胞の脂肪が顕著に増加するのを認め、本細胞に糖から脂肪を合成する機能があるとの想定に達した。最近伊東、田平、角田 (1953) は正常家兎の脂肪摂取細胞が、脂肪と同時にグリコゲンを持つことを発見し、Fawcett (1952) 等の脂肪細胞に於けるグリコゲンの所見と参照して、脂肪摂取細胞に現われるグリコゲンは、この細胞に於ける糖よりの脂肪合成に際して現われる中間物質であろうと想像し、この方面からも狩野の想定を支持した。狩野が実験に使用したモルモットは Woerner (1949) の報告の如く肝臓に組織学的に証明される脂肪が少ない動物であって、伊東、札木、狩野、塚越 (1952) によれば、脂肪摂取細胞の持つ脂肪が極めて少ない。これに反し家兎は本細胞に脂肪を多量に持つ動物に属する。かゝる動物に於てインシュリン投与が脂肪摂取細胞に如何なる変化をもたらすかを知ることが、本研究の目的である。脂肪摂取細胞は肝毛細血管 (Sinusoid) の壁にあつて、格子線維に包まれて存在し、毛細管腔と肝細胞とからは格子線維によつて隔てられる (伊東、札木、田平、1953)。併し本細胞相互間の関係は不明である。家兎に於ては原形質内の脂肪滴分布の状態から見ると、屢々毛細血管壁に沿って長い突起を出していることが判る。若しインシュリン投与によって脂肪が増加するならば、脂肪滴は突起の末端まで及び、この細胞が突起によって結合して Synzytium (合胞体) を形成しているならば、それが脂肪滴の分布によって示される筈である。かゝる問題を解明することが本研究の第 2 の目的である。

I. 研究材料と方法.

5頭の成熟家兎(体重1740—2060 g)を豆腐からと野菜を充分に与えて飼育し, 1群3頭には毎日1回インシュリン0.5単位を5%葡萄糖溶液20 cc に混じて約4ヶ月に亘って皮下に注射し, 他群2頭は対照として毎日1回葡萄糖溶液のみを皮下に注射した(表1). 時々体重を測定してそ

表 1.

Kaninchen	Injektionsmittel	Körpergewicht		Glyk. in Leberzelle	Fettspeicherszelle		Sternzelle		Glyk. in Leukozyt
		vor d. Versuch 22/IV	nach d. Versuch 14/IX		Fett	Glyk.	Fett	Glyk.	
Nr. 1	Insulin + Traubenzucker	2.060 g	3.100 g	++	+++	+	—	—	±
Nr. 2	"	1.940	3.060	++	+++	+	—	—	+
Nr. 3	"	1.740	3.200	++	+++	++	—	—	±
Nr. 4	Traubenzucker	1.860	2.980	++	+++	+	—	—	±
Nr. 5	"	1.740	3.140	++	+++	±	—	—	±

の増加に注意した. インシュリンの量は狩野(1952)と同様人に施す肥胖療法又は食欲増進法に用いる量から体重を標準として算出した. 全例同時に(食後2時間)肝臓を採取し, Levi氏オスミウム酸混液とZenker-Formolで固定した. いずれも脱水後キシロールを経てパラフィンに包埋し, 4 μ 厚の連続切片とした. Levi氏液固定標本では脂肪滴はオスミウム酸で黒染して保存されるので, Kull染色又はAzan染色を施し, 脂肪摂取細胞の概観及び細密観察に用いた. Zenker-Formol固定標本では脂肪滴は保存されないで空胞(脂肪空胞)として認められる.

これに過沃素酸-Schiff反応(PAS)を施してグリコゲンを検出し, 後Hansen氏ヘマトキシリンで核染色を行った. 唾液試験を行って反応陽性物質がグリコゲンなることを確めた.

II. 所見と考察.

全例を通じて50%乃至84%の体重増加があったが(表1), インシュリン投与例と対照例との間に認むべき差はない. これは全例が健常で充分栄養されていた為と思われる. 組織学的に肝臓に何等の変化は認められなかった. 肝細胞の糸粒体も正常である. 狩野(1952)はモルモットに於ける同じ実験的研究に於て, 肝小葉の周辺帯の肝細胞に特に著明な脂肪沈着が起ることを報告しているが, 家兎に於ては全く認められない. Levi氏液固定標本で肝細胞の特に毛細胆管に近接して出現する黒染顆粒はリポフス

チン顆粒で (図 1, 2, 3), PAS 陽性, 唾液消化耐性である. 私は家兎の豆腐がらと草による飼育実験 (1954) に於て肝毛細管腔は Zenker-Formol 固定の場合に Levi 固定の場合より著しく広いと報告したが本研究に於ても全く同様であつた. 肝細胞のグリコゲン量は全例を通じて略等しく (表 1), 大なる差はない. 中等量で一般に小葉の中心帯に多い. これによつて見るに肝細胞のグリコゲン量にもインシュリンの影響は現われていない. 狩野は前掲の研究に於てインシュリンを82日連続投与したモルモットの肝細胞のグリコゲンが予想に反して非常に少なくなっているのを認めたが, 本研究では正常以下に減少していなかった.

脂肪摂取細胞の脂肪量は対照例に於ても多い (表 1, 図 1). 私の前研究 (須永 1954) に於ける豆腐がら飼育家兎の場合と略等しい. 脂肪摂取細胞は多数の小脂肪滴で密に充たされ, 毛細血管壁に沿って長い突起を出すものがある. 核は窓の如く明るくぬけて見える. インシュリン投与例に於ても対照例と大差はないが (表 1), それよりもやゝ多く, 特に Nr. 3 の家兎に於ては多く, 明

らかにインシュリンの影響が現われているように思われる (図 2). 脂肪摂取細胞は多数の小脂肪滴で密に充たされ非常に肥満したものがある (図 3). 図の脂肪摂取細胞の核は細胞の下縁中央部に半円形に明るくぬけて見える. 又中には毛細血管壁に沿って脂肪滴を容れた長い突起を出すものがある (図 2) が, 併し突起によつて相隣接する細胞が互に連絡する

図 1. 肝小葉に分布する脂肪摂取細胞 (↑) の概観. 対照家兎 (Nr. 5), 葡萄糖注射 4 ヶ月. Levi 氏液固定, Kull 氏染色.

Abb. 1. Übersicht der Fettspeicherungszellen (↑) in einem Leberläppchen. Kontrollkaninchen (Nr. 5), 4monatige Traubenzuckerinjektion. LEVISches Gemisch, KULLSche Färbung.

ことはない. このことから見て脂肪摂取細胞は Synzytium を作ることはないものと思われる. 以上の如く脂肪量のみから見るとインシュリン注射

図 2. 肝小葉に分布する脂肪摂取細胞 (↑) の概観。
実験家兎 (Nr. 1), インシュリン葡萄糖注射 4 ヶ月。
Levi 氏液固定, Kull 氏染色。

Abb. 2. Übersicht der Fettspeicherungszellen (↑) in einem Leberläppchen. Versuchskaninchen (Nr. 1), 4monatige Insulin-Traubenzuckerinjektion. LE-Visches Gemisch, KULLsche Färbung.

に於ても、脂肪摂取細胞にして脂肪滴を多く貯えるのは肝小葉の周辺帯から中間帯に亘って分布するものであって、中心帯にも脂肪摂取細胞は分布するが、脂肪滴を持たない空虚なものが大部分であって、脂肪滴を持つものもあるが、その量は少ない、即ち正常時に於て機能をいつゝあるのは周辺帯から中間帯の脂肪摂取細胞であって、中心帯のものは機能を行わず、恐らく予備の細胞として存在するものと考えられる。本研究に於ても葡萄糖液のみを注射した対照例に於てはそうであったが、インシュリン注射家兎に於ては 3 例を通じて、明らかに中心帯にある脂肪摂取細胞にも脂肪の増加が見られ、多くの脂肪摂取細胞が、周辺帯と中間帯のものよりは少ないがかなりの量の脂肪を貯えていた。脂肪滴の数は少ないが、一般に粗大である。この事は中心静脈に近接する脂肪摂取細胞にも見られる。この所見から見るとインシュリン作用によって中心帯の脂肪摂取細胞も動員され、糖から脂肪を合成してこれを貯える機能を発現すると考えられる。狩野 (1952) はモルモットに於ける同様な実験的研究に於て、矢張り中心帯の脂肪摂取細胞にも脂肪滴が出現する所見を得た。

脂肪摂取細胞のグリコゲンを Zenker-Formol 固定, PAS 染色標本で観察すると、全例に於てグリコゲンが証明されたが、その量には対照例とイ

の影響は著明には現われていないように思われる。これは個々の脂肪摂取細胞の脂肪貯蔵量には限界があって兎の如くこの細胞に常に脂肪を多く貯えている動物では十分栄養されている場合には限界に近く脂肪が貯蔵され、インシュリンの影響が現われる余地は少ないためと想像される。併し次の点に於てインシュリン投与の影響を明らかに認めることが出来た。一般に正常家兎に於ても又他の哺乳類

ンシュリン投与例との間に顕著な差は認められない。唯後者に於て前者よりやゝ多い傾向があるが(表1)、これを正常家兎に於て伊東、田平、角田(1953)が得た成績と比較すれば、全般的に見て少ないと言わざるを得ない。特に伊東等の観察した如き(表1参照)、グリコゲンを多量に持つ例は本研究では認められなかった。これによって見るに脂肪摂取細胞のグリコゲン量に対してはインシュリンの影響は現われていないように思われる。Fawcett (1952)、伊東、田平、角田(1953)等の

見解によると脂肪細胞と脂肪摂取細胞のグリコゲン量は飼料摂取後の時間経過と関係があると考えられるが、脂肪摂取細胞のグリコゲン量を支配する何にか他の因子があるように思われる。Zenker-Formol 固定標本に於ては脂肪摂取細胞の持つ脂肪滴は溶出して脂肪空胞となる。従つて脂肪滴を持つ脂肪摂取細胞は小空胞で充たされた明調な細胞として見られ、核の表面には脂肪滴による圧痕がある(図4—7)。毛細血管との間には格子線維で隔てられるが、PAS 反応を施して Hansen 氏ヘマトキシリンで核染色した標本ではこれが明瞭な線として認められ、星細胞とは位置的に明らかに異なる細胞なることを示す(図4—7)。グリコゲンは脂肪空胞を包む薄い原形質層の中に含まれ、顆粒状、輪状、半月状等の形をとつて PAS 反応で紅紫色に染まる。脂肪空胞を多く持つ細胞の中にもグリコゲンを欠くものがある(図4)。図5は対照例(Nr. 4)の肝臓で、脂肪摂取細胞の核は細胞の1隅に偏在し暗調で、脂肪空胞の間に少量にグリコゲン(黒色)が認められる。図6はインシュリン投与例の中で脂肪摂取細胞の脂肪量が最も増加した例(Nr. 3)の肝臓で、脂肪摂取細胞が2個認められる。中央の

図3. 多数の脂肪滴(黒色)で充たされた大きな脂肪摂取細胞(↑)、核は細胞の下縁中央に見られる。肝細胞の中にある黒色顆粒はリポフスチン顆粒。実験家兎(Nr. 3)、インシュリン葡萄糖注射4ヶ月。Levi氏液固定、Azan染色。

Abb. 3. Eine mit vielen Fettröpfchen ausgefüllte, große Fettspeicherungszelle (↑), ihr Kern ist in der Mitte des Unterrands zu finden. Die geschwärzten Granula in den Leberzellen sind Lipofuszingranula. Versuchskaninchen (Nr. 3), 4monatige Insulin-Traubenzuckerinjektion. LEVISches Gemisch, Azanfärbung.

図 4. 脂肪空胞で充たされた脂肪摂取細胞 (↑), グリコゲンを含まない. 毛細管腔には星細胞がある. 肝細胞にはグリコゲン (黒色) が証明される. 実験家兎 (Nr. 1), インシュリン葡萄糖注射 4 ケ月. Zenker-Formol 固定, PAS, Hansen 氏ヘマトキシリン染色.

Abb. 4. Eine mit Fettvakuolen ausgefüllte Fettspeicherungszelle (↑), in der keine Glykogengranula nachgewiesen sind. Im Kapillarenlumen ist eine Sternzelle vorhanden. Leberzellen enthalten Glykogen (dunkel). Versuchskaninchen (Nr. 1), 4monatige Insulin-Traubenzuckerinjektion. ZENKER-Formol, PAS, Hämatoxylin (HANSEN).

ものは著明に肥大し核も大きい. 毛細管腔との間の格子線維による境界線は明瞭で, 腔内にある星細胞と一見して区別される. グリコゲン量は多くない. その右上方にある細胞のグリコゲン量も余り多くない. 図 7 に見られる脂肪摂取細胞も同じ例の肝臓のもので, これは可なりの量のグリコゲンを持つて居る.

以上附図に示した脂肪摂取細胞を見ると判るように, その核の位置は不定である. 略中央に存すること (図 6), 核が毛細管腔側に偏在し, 脂肪 (空胞) が肝細胞側に集ること (図 5, 7), その反対に脂肪 (空胞) が毛細管腔側に集り, 核が肝細胞側に偏在する (図 4) こと等がある.

脂肪摂取細胞のグリコゲン量とその脂肪量との関係及び肝細胞のグリコゲン量との関係等については伊東, 田平, 角田 (1953) によって論ぜられた.

Kupffer 氏星細胞は全例を通じて認むべき変化を示さない. 図 4, 5, 6 に見る如く血管腔に露出し, 細胞質に富む細胞で, 脂肪摂取細胞とは明確に異なる性状を示す. 全例を通じてグリコゲンは証明されない. 星細胞に屢々出現する PAS 陽性, 唾液消化耐性の顆粒はリボフスチン顆粒である.

図 5. グリコゲンを持つ脂肪摂取細胞 (↑), 脂肪空胞の間にグリコゲン顆粒 (黒色) が認められる。毛細管腔には星細胞がある。肝細胞のグリコゲン量 (黒色) は細胞によって異なる。対照家兎 (Nr. 4). 葡萄糖注射 4 ケ月. Zenker-Formol 固定, PAS, Hansen 氏ヘマトキシリン。

Abb. 5. Eine Glykogen enthaltende Fettspeicherungszelle (↑). Glykogengranula (schwarz) sind zwischen den Fettvakuolen wahrgenommen. Im Kapillarenlumen befindet sich eine länglich gestreckte Sternzelle. Glykogengehalt (schwarz) der einzelnen Leberzellen ist schwankend. Kontrollkaninchen (Nr. 4), 4monatige Traubenzuckerinjektion. ZENKER-Formol, PAS, Hämatoxylin (HANSEN).

図 6. グリコゲン (黒色) を持つ、脂肪空胞で充たされた 2 個の大きい脂肪摂取細胞 (↑)。毛細管腔には星細胞がある。肝細胞はグリコゲンを持って暗調。実験家兎 (Nr. 3). インシュリン-葡萄糖注射 4 ケ月. Zenker-Formol 固定, PAS, Hansen 氏ヘマトキシリン。

Abb. 6. Zwei Glykogen (schwarz) enthaltende, mit zahlreichen Fettvakuolen gefüllte Fettspeicherungszellen (↑). Eine Sternzelle ist im Kapillarenlumen gefunden. Die Leberzellen sehen wegen dem Glykogengehalt dunkel aus. Versuchskaninchen (Nr. 3), 4monatige Insulin-Traubenzuckerinjektion. ZENKER-Formol, PAS, Hämatoxylin (HANSEN).

図 7. 比較的多くグリコゲン顆粒 (黒色) を持つ脂肪摂取細胞 (↑). 肝細胞もグリコゲンを持つ. 動物, 処置, 固定, 染色等は図6と全じ.

Abb. 7. Eine verhältnismäßig viele Glykogengranula (schwarz) führende Fettspeicherungszelle (↑). Leberzellen enthalten Glykogen (dunkel). Versuchstier, Behandlung, Fixierung und Färbung wie bei Abb. 6.

星細胞には脂肪滴も見られなかった (表 1). これ等は狩野 (1952) の所見と一致する.

顆粒性白血球は生理的にグリコゲンを持つ細胞であって, 本研究に於ても肝臓の血管の中に存在する顆粒性白血球にグリコゲンが証明されたが, 全例を通じて極めて少なく, インシュリン投与例に於ても増加は認められなかった (表 1).

III. 総 括.

生理的に肝臓の脂肪摂取細胞に脂肪を多く貯える性質を持つ家兎に長期間 (約 4 ケ月) インシュリンを連続注射し肝臓に於ける脂肪とグリコゲンを顕微鏡的に観察した.

1. 脂肪摂取細胞の脂肪量の増加は顕著ではないが, 肝小葉の中心帯にある脂肪摂取細胞にも脂肪滴が出現する.
2. 肝細胞にも星細胞にも脂肪化はおこらない.
3. 肝細胞, 脂肪摂取細胞及び顆粒性白血球のグリコゲン量は増加しない. 星細胞にはグリコゲンは証明されない.
4. 脂肪滴の分布によって見るに脂肪摂取細胞は肝毛細血管壁に沿って長い突起を出すことがあるが, 突起によって互に結合し Synzytium を形成することはない.

Autoreferat.

In letzter Zeit hat KANO (1952) bei den mit Insulininjektion maximal 82 Tage lang behandelten Meerschweinchen die bemerkenswerte Zunahme des Fettgehaltes der Fettspeicherungszellen der Leber mikroskopisch festgestellt und den Schluß gezogen, daß diese Zellen die Tätigkeit der Fettbildung aus der Glukose bewirken. In der vorliegenden Untersuchung hat der Verfasser den gleichen Versuch bei den Kaninchen angestellt, um die Einflüsse des Insulins auf die Fettspeicherungszellen bei den Kaninchen zu studieren. Bei diesen Tieren enthalten die Fettspeicherungszellen im Gegensatz zu den Meerschweinchen sogar im physiologischen Zustand reichlich Fett. Die Versuchstiere wurden in 2 Gruppen eingeteilt, jede Gruppe aus 3 Kaninchen bestehend. Der einen Gruppe wurde 0.5 Einheit Insulin täglich zusammen mit 20 cc 5%iger Traubenzuckerlösung etwa 4 Monate lang subcutan dargereicht, während der anderen, den Kontrolltieren, nur 20 cc 5%iger Traubenzuckerlösung subcutan injiziert wurde (Tabelle 1). Folgende Ergebnisse wurden gewonnen:

1. Die Zunahme des Fettgehalts der Fettspeicherungszellen ist bei den Kaninchen nicht so deutlich wie bei den Meerschweinchen, doch ist es ein beachtenswerter Befund, daß bei Insulindarreicherung die Fettröpfchen sogar in den Fettspeicherungszellen der Zentralzone des Leberläppchens auftreten, welche bei den normalen und Kontrollkaninchen gewöhnlich frei von Fettröpfchen (leere Fettspeicherungszellen) sind. Dies läßt darauf schließen, daß die Fettspeicherungszellen der Zentralzone, die in normaler Zeit nicht funktionieren, durch die Insulinwirkung lipogenetisch aktiviert werden und das Fett aufbewahren.

2. Die Verfettung der Leberzellen, welche bei den Meerschweinchen durch lang andauernde Insulindarreicherung stattfindet, tritt bei den Kaninchen nicht auf. In den Sternzellen werden auch keine Fettröpfchen nachgewiesen.

3. Der Glykogengehalt der Leberzellen, Fettspeicherungszellen und der Leukozyten zeigt keine merklichen Veränderungen. Die Sternzellen enthalten kein Glykogen.

4. Aus der Verteilung der Fettröpfchen im Zytoplasma erkennt man, daß die Fettspeicherungszellen des Kaninchens öfters der Kapillarenwand entlang lange Fortsätze absenden. Bei der Insulingabe treten diese Fortsätze infolge der Zunahme der Fettröpfchen im Zytoplasma deutlicher hervor. Dagegen konnte das Verhältnis, daß die Fettspeicherungszellen durch diese Fortsätze miteinander in Verbindung kommen und das Synzytium bilden, nicht wahrgenommen werden.

文 献.

- Chernick, S. S. a. I. L. Chaikoff:** Insulin and hepatic utilization of glucose for lipogenesis. *J. Biol. Chem.* 186 (1950). p. 535. — **Fawcett, D. W.:** A comparison of the histological organization and cytochemical reaction of brown and white adipose tissues. *J. Morph.* 90 (1952). P. 363. — **伊東俊夫, 札木照一郎, 狩野好一郎, 塚越昇:** 諸種脊椎動物の肝臓に於ける所謂「脂肪摂取細胞」の研究. *日組録.* 3 (1952). 頁 289. — **伊東俊夫, 札木照一郎, 田平禮三:** 肝「脂肪摂取細胞」と格子線維との関係に就て. *日組録.* 5 (1953). 頁 477. — **伊東俊夫, 田平禮三, 角田公男:** 正常家兔の肝「脂肪摂取細胞」に於けるグリコゲンの出現に就いて. *日組録.* 5 (1953). 頁 541. — **狩野好一郎:** インシュリン-葡萄糖注射の肝「脂肪摂取細胞」に及ぼす影響に就て. *日組録.* 4 (1952). 頁 13. — **須永吉郎:** 飼料が肝「脂肪摂取細胞」に及ぼす影響に就いて. *日組録.* 7 (1954). 頁 241. — **Woerner, C. A.:** Cytological distribution of fat injected intravenously into guinea pigs. *Anat. Rec.* 104 (1949). P. 61.
-