無脂肪食と肝細胞.

Non-fat Diet and the Liver-cell.

龍門幹子 Mikiko Ryumon.

〔昭和29年9月25日原稿受付.〕

目次.

篇 1. 短期投与.	… 467
篇 2. 長期投与.	… 475
篇 3. 人工食投与.	… 483

篇 1.

短期投与.*

従来脂肪は栄養素の1つとして且また各種脂溶性ビタミンの溶媒として重要視されて来た. 而して脂肪は炭水化物より容易に動物体内に於て合成され得るもので, 従って脂肪を摂取しなくとも動物の發育並に栄養保持に一見した所さしたる支障を来たさぬ故, 脂肪は必要不可欠の養素ではないと考えられた. 併し乍ら近時の生化学の発達と共に脂肪が完全欠除の際は, 色々の脂肪欠除症候を来たし, 發育に重大なる影響を与える事が報告されて居る. 一方にはこれを裏付ける多数の研究が発表されているが, 此等は主に生物学的栄養学的のもので, 組織学的乃至細胞学的に之を研究したのは僅に数例を見るに過ぎない. 而も何れも或一定期間後の変化の研究のみで, その変化が如何様にして, また如何なる過程を経ておこるかが未だ明かにされていない. 私はこの点が興味ある問題と考え, 肝細胞を中心にしてこの研究を開始した. 本篇に於ては, 3週までの短期間飼育例について詳述する.

I. 研究材料と実験方法.

実験動物. 総て離乳後間もない体重 35 g 内外の幼若ラッテを使用した.

飼料. 飼料の配合及び投与量並に投与形態は, 脱脂カゼイン 1.47 g, 澱粉 7.08 g, 砂糖 1.0 g, McCallum 塩 0.2 g, 寒天 0.2 g, oryzanin 末 0.05 g,

* 本研究は昭和28年5月, 奈良医大に於ける第58回日本解剖学会総会にて発表せられた.

水 10.0 cc により、ビタミン以外の配合食は充分煮て、その上にオリザニン末をふりかけた。以上の飼料にて喰糞防止の装置を施した飼育箱にて、室温 20°—25°C に保ちつゝ、1, 2, 3 週間飼育し、最終給食後 1, 3, 6, 12, 24 時間後に取材した。因に飼料中の乳製カゼインはソックスレにより脱脂した（大阪薬科大学山内教授の御好意による）。

研究材料の処理. 1. Zenker 液固定，ヘマトキシリン，エオジン染色及びアザン染色. 2. Levi 液固定，Heidenhain 鉄ヘマトキシリン染色. 3. Carnoy 液固定，Best のカルミン染色及びピロニン，メチルグリーン染色（両色素は総て精製したものを使用した）。4. 10% formalin 液固定，Michaelis 氏の scarlet red 染色. 5. Ciaccio 法による lipid 染色。

II. 所 見.

3 週迄の無脂肪食飼育では体重に若干の変動を来す。即ち 1 例をあげれば、

図 1. 体重曲線

—— 対照例,
----- } 実験例.

ば、図 1 の如く 1 週間にて対照 60 g に比し実験例 47 g で 13 g の差を、また 2 週では 10g, 3 週では 14 g の差を認め、明かに正常を下回っている、これに反し体毛及び皮膚には稍著明の変化が起る。即ち飼育開始後第 6 日目頃より背部に脱毛が認められ、日を追い顕著となり、14 日目頃を頂点とする。また尾部の鱗皮化を認める。かくして 19 日目頃より新に無脂肪食に特有な粗な発毛状態を見る。尚ラッテは飼育 3 週頃までは食欲も極めて旺盛、且つ元気で特に水を多量に欲する。併し 1 週頃より僅か乍ら皮下脂肪組織の減退を認めた。

A. 空腹 24 時間の肝所見.

a) 組織学的所見.

無脂肪食飼育 3 週までの肝細胞索は、小葉の中心部より末梢部に至る迄整然たる配列を示し、正常のものとの差を認めがたいが、3 週になると初めて肝細胞は丸味の少い軽い稜角を現す。一方血管腔は週を追うて広がる。

次に小葉周辺部の間質は飼育 3 週に至ると増殖の傾向が認められる。なお星細胞もこの時已に対照例に比し増加の傾向を示す。表 1 は Carnoy 液固定、厚さ 6 μ の切片に於いて、肝細胞約 300 個当りの星細胞を集計した

もので、明かに週を追って増加して居るのを認める.

表 1. 星細胞数.

		飼育時 体 重	取材時 体 重	肝細胞数	星細胞数
飼 育 期 間	対照	43	86	303	73
	1 週	34	62	313	107
	2 週	34	52	315	125
	3 週	40	70	316	125

b) 細胞学的所見.

1. 脂肪及び糖原.

無脂肪食にて 1 週間

飼育すると、24時間空腹にても肝細胞に脂肪を認める. 此は小葉末梢から中心部近くにまで達して居り、且つ一般に小顆粒状を呈する. また全層の星細胞内にも脂肪を認める. 後者の脂肪粒は肝細胞内のそれよりも大なるを常とする. 併し飼育 2 週になると脂肪は寧ろ減少し、中間部から末梢部にかけて認められるが、この時の脂肪は 1 週に比し更に微粒で、細胞内に点在する. また小葉の末梢部にある星細胞にも脂肪を認める. またこの頃より所々に濃染した脂肪粒を充滿した少数の細胞を認める. 3 週飼育では脂肪は更に増量し、小葉末梢部より中間部に出現する. この時の脂肪は同じく微粒であるが、胞体の一方に扁在する傾向がある. 次に Levi 液固定標本にて脂肪を観るに、初めはオスミアム酸を還元して黒褐色を呈しているが、2 週でその還元度が稍減じて暗褐色となり、3 週に至ると大半は還元性を失い明視性の空胞として現れる (附図 (1) の 1). また此等の脂肪は Ciaccio 法に依る lipid 染色では全週を通じて陰性である.

次に糖原は飼育 2 週迄は認められないが、3 週になると空腹時に拘らず、小葉中心部より中間部にかけて少量に現れる.

2. マイトコンドリア (以下ミトと略す). 飼育 1 週では一般に太い糸状及び桿状が主体をなし、小葉の末梢部及び中心部では桿状或は小顆粒状を混ずる. 2 週になると顆粒或は短桿状が減じて糸状が多くなり、而もそれが稍細くなる (附図 (1) の 2), また屢々一端がふくれている. 3 週では顆粒は愈々減じ殆ど之を認めない. 而して長糸状ミトが増加する (附図 (1) の 1).

3. リボ核酸 (R. N. A.). Carnoy 液固定 pyronin-methyl green 染色に於て、1 週飼育では網状を呈し、2 週になると瀰漫状に近くなる. なおこの時核の周囲が稍濃染する傾向を示す. 3 週に入ると塊状となり、細胞内に均等に分布する.

4. 肝細胞核. 最も注目すべきは核に脂肪の出現することである. 此は飼育 1 週で既に見られ、初めは小顆粒状で而も小数の核に認められるに過ぎないが、3 週に至ると脂肪が増加して不定形の巨大な脂肪滴となつて核

の大半を占め、且つ脂肪を有する核の数も増加する(附図(1)の3)。併し核の変性等は見られなかつた。また肝細胞核直径も次第に増大を示した。図2は formalin 固定、 6μ 切片の標本に於て、肝細胞核300個を計測した

図 2. 核直径. — 対照例, ——— 1週例,
----- 2週例, - · - · - 3週例.

ものであり、常食飼育では 6μ を最高とする。然るに飼育1週で最高は 7μ となり、2週では 7μ を越すものが増数し、3週になると 8μ を頂点とし核の増大が愈々顕著となる。斯の如く核は飼育と並行して増大する。

小括. 以上飼育3週までを概観するに、一般組織上の変化は少く、たゞ sinusoid が僅かながら広くなり、また肝細胞が丸味の少ない稜角を現わして来る程度である。このほか3週に至ると初めて小葉周辺に間質細胞の増殖を認め、星細胞も稍増数して来る。之に反し肝細胞内部にては可なり著明の変化が起る。即ち空腹時に拘らず脂肪が飼育1週で小葉中心部近くまで現れ、2週に至ると稍少くなるが、3週には再び増量する。此等の脂肪は概ね微粒であり、Ciaccio 法にて陰性、且つ週を追つてオスミウム酸還元性が弱くなる。また糖原が僅かながら3週で認められた。一方ミトは1週では桿状、糸状を主とするが、漸次糸状が増加し、3週にては殆ど糸状を主とする。そのほか R. N. A. は1週で網状、2週では瀰漫状で、何れも核周に濃染し、3週に至ると塊状をなすものが多い。また核直径は週を追うて増大する傾向を示す。

B. 給食時の肝所見.

無脂肪食飼育により空腹時に現れた肝細胞脂肪、また対照に比し長い糸状を呈するミト及び出現状況の変っている R. N. A. が、給食により如何なる動きを示すかを見んとして、飼育時と同様の無脂肪食を与え、1, 3, 6, 12時間後に取材した。

1. 脂肪及び糖原、空腹時に現われている筈の肝脂肪は、給食に依り動きを示す。而もこの食後の動きは飼育期間に依って異なる。即ち1週飼育では給食後減少の傾向を示し、6時間では小葉中間部に極く僅か認めるに過ぎないが、12時間では再び周辺部に増加し、やがて空腹時所見に近づく。2週では食後6時間が、やゝ多く認められる丈で、他は食前との差は著明でない。而して1、2週を通じ此等の脂肪は何れも微少で、且つ細胞周辺部、特に血管側に多い。然るに3週に至ると稍趣を異にし、食後3時間乃至6時間で最も多く、また脂肪滴は小さいが胞体に充満して居り、12時間にて初めて減少して来る(表2)。

表 2. 肝 脂 肪.

		飼 育 期 間								
		1 週			2 週			3 週		
		末梢	中心		末梢	中心		末梢	中心	
給 食 後	前	+	±	±	±	±	—	+	+	±
	1時間				—	±	—	++	+	±
	3時間	±	±	—	±	—	—	++	+	+
	6時間	—	+	—	++	+	—	++	+	+
	12時間	+	±	±	±	±	—	+	±	±

以上は scarlet red 染色の所見であるが、Ciaccio 法に依る lipoid 染色では、1週飼育の場合、食後6時間で末梢部に僅に陽性に現れるのみで、他は全く陰性である。また Levi 標本における給食後の脂肪は、食後6時間迄は各週共にオスミウム酸を還元するものは少くて、空胞が大半であり、食後12時間で初めて黒褐色を呈してくる。

次に給食後の糖原は常食飼育に比し高度に現れる。即ち飼育1週例の食後3時間では、微小顆粒であるが可なり多量に現れ、6時間で愈々大量となり胞体を埋める。併しこの時に一部の細胞は糖原を殆ど有しない。この頃を最高とし12時間では明かに減少を示している。2週飼育でも略々同様の消長を示し、3時間では微小顆粒、6時間では凝塊状をなしているが、何れにも高度に現れて居り、12時間でも大差を認めない。3週でも食後増量した減少するが、6時間でも尚相当量を見る。但し1、2週に比すれば一般に少い(表3)。

2. ミト。給食後のミトの動きは、飼育期間の短い程著明である。即ち1週飼育では3時間後のミトは全層を通じて殆ど粗い顆粒状であり、6時間では此に糸状を混じている。12時間では糸状桿状が増加し、顆粒状が減じて給食前の様相に近づくが、尚大小の糖原空胞及び脂肪滴のため配例は

表 3. 糖 原.

		飼 育 期 間					
		1 週			2 週		
		末梢	中心		末梢	中心	
給 食 後	前	—	—	—	—	—	—
	1時間				+	+	+
	3時間	+	+	++	+	+	++
	6時間	++	++	++	++	++	++
	12時間	+	+	++	—	++	++

乱れて居る。次に2週飼育では給食後1時間で顆粒状が増加し、3時間には全層に互り桿状、顆粒状、糸状が混じて居る。これより糸状が減少して6時間では全層を通じて桿状、顆粒状よりなり、後再び糸状が現われ、12時間後では小葉の中心部は糸状体が大半を占め、中間部に行くに従い顆粒状、桿状が増加し、末梢部では粗い顆粒が大半である(附図4, a—e)。3週になると給食後の動きは更に少く、食後3時間乃至6時間では中心部、中間部に粗い顆粒が増加して居るが、12時間では糸状を呈し、空腹時所見に近い。

3. リボ核酸(R. N. A.). 1週飼育では給食後も食前と大差なく網状であるが、唯6時間乃至12時間で稍塊状化する傾向を示す。2週になると空腹時は瀰漫状で核周に濃染して居るが、給食後1時間で網状となり、次で3時間乃至6時間では非常に大きい網状を呈し、核周のほか胞体の周辺部に濃染しているが、12時間後は稍塊状となる。3週では空腹時塊状であつたものが、給食後1～3時間で粗い網状、6時間では核周に稍濃染し、12時間にて食前に近づく。

小括. 空腹時に見られた脂肪は、給食後動きを示す。即ち1週飼育にては食後稍減少を示し、2週では余り増減なく、3週では食後稍増加する。而して脂肪は飼育1週の食後6時間に於てのみ僅に Ciaccio 陽性である。また給食後の脂肪はオスミアム酸還元性弱いが、12時間後はいずれの週を問わず強くこれを還元する。次に糖原は各週とも食後高度に現れるが、飼育の短かい程著しい。またミトは各週を通じ食後先ず顆粒化し、のち糸状に帰える等の動きを示すが、この動きも飼育の短い程著しい。また R. N. A. は各週とも食後は網状化し、且つ核周に濃染する傾向を示す。

III. 考 察.

常食飼育の24時間空腹時には、肝細胞に殆ど脂肪を認めないが、無脂肪食では1週間で肝小葉の大半に脂肪が現れる。而してこの時の飼料は脂肪

を殆ど含まぬ点を除けば、他の栄養素は充分与えられて居り、他に持記すべき原因も考えられない。それでこの時の脂肪出現の原因は、無脂肪食飼育に求めねばならない。いまこの脂肪の由来については、次の2つの経路が考えられる。即ち1は飼育中の他の栄養素、特に炭水化物よりの合成、他は貯蔵脂肪の動員である。これ等の直接的な証明はこの実験では出来ないが、体重の増加が対照に比し若干弱いこと、また皮下脂肪の減少が見られることから、少なくとも貯蔵脂肪の動員が起って居ると思われる。この事は各週を通じて肝細胞と共に星細胞にも相当量の脂肪を見る事、また肝細胞の脂肪は往々血管側に多い事からも想像される。併し一方には肝細胞内の脂肪滴が微小である事は、他の栄養素からの合成も考えられない事はない。恐らくは貯蔵脂肪の動員と、他の物質からの合成が共に起って居るであろう。

然しこれら肝細胞内の脂肪は、空腹時には総て Ciaccio 陰性であるから、殆ど中性脂肪より成立って居る事がわかるが、常食時の肝細胞脂肪は大半は磷脂質である事を、つとに Bloor と Smider (1930) Klenk と Schoenebeck (1932) Theis (1934) 等は証明して居り、また Monaghan (1932) は饑餓により中性脂肪が増加して来る事を述べて居るが、この時の肝脂肪は大半は貯蔵脂肪が動員されたものである事を考えると、本実験に於ける脂肪が大部分中性脂肪である事は、饑餓時と同じく体脂肪の動員が大半を占めるものではなからうか。而してまたこれらの脂肪は1週では大半はオスミウム酸を強く還元するのに、2週では稍弱くなり、3週では殆ど還元せず、空胞となって居る事を考えると、不飽和の脂肪酸は速に利用されて飼和の脂肪酸が次第に蓄積されて来たのではないと思われる。以上は主に空腹時の脂肪に関しての考察であるが、給食後の動きを見るに、1, 2週迄は食後稍減少し、且つ1週飼育では食後6時間で Ciaccio 陽性の lipoid も見られ、3週では逆に食後脂肪の増加を示して居るが、これらの増減の意味は判然しない。只興味ある事は食後最初は何れの週もオスミウム酸を還元せず空胞として存在しているが、12時間では大半オスミウム酸を還元している。即ち不飽和度が高くなっている事が想像され、この前後に於て不飽和度の高い貯蔵脂肪が動員されるものか、或は今迄あった飽和脂肪酸が不飽和化されるものかの何れかであろう。

最後に無脂肪飼育の際に、空腹時に拘らず脂肪が肝細胞に現れてくることは、肝細胞に障害が起っているか否かが問題となって来る。そこで先ずミトを見るに、空腹時に於ては太い糸状及び桿状が出ており、末梢部及中心部では、これに顆粒も多いが、次第に糸状が増加し、3週では全層殆ど

糸状のみとなって居る。これらのミトは稍太いと云う点と、3週では全層殆ど同じ形態を示す事のみが正常と異なる点で、他には差異を認めない。而して給食後は飼育の短かい程著明な動きを示すが、次第に動きは少くなつて居る。また糖原は正常に比し非常に高度に出現し、而も期間の短かい程多い。この様に糖原が多く出現する事は、飼料に脂肪が無い事により相対的に炭水化物が増量している積で、その影響と考えられなくもないが、一つは貯蔵脂肪の喪失に対するエネルギー蓄積の補足的な作用の現れかも知れない。なお R. N. A. は、1, 2 週がむしろ正常に速い網状及び瀰漫状であり、3週で正常に近い塊状を示して居るが、いずれも染色性は良好であり、未だ著しい変化を受けていないと思われる。然し核の周囲に濃染する事は蛋白代謝に関して R. N. A. と核との相関関係を思ふものがある。一方核に於いても飼育早期より脂肪が現われるが、核内脂肪に関して Bandts, Lehner, 浜崎, また最近では田村, Stanley 等の記載もあり、特に田村は正常な核に脂肪が見られ、変性核には見られず、寧ろ能動的に核内に取入れられたとして居るが、本実験に於いても正常な核に多数見られ、この見解は私の場合にも当てはまると思われる。また核の変性は3週迄は、殆ど認めるべきものがないが、核直径は次第に増大して居る事は、何等かの影響を受けて居るとも考えられる。

以上の如く肝細胞に関しては、3週頃から変化を受けて居るものと思われる。所でこの時星細胞は肝細胞に比し増加の傾向を示して居るが、生活条件の変化に対する問質系の細胞の抵抗力の強さを示すものであろうか。

IV. 結 語.

本実験で得た所見を要約すると、

1. 無脂肪食で幼若ラッテを飼育すると、3週間迄には体重の増加には著明の影響を与えないが、貯蔵脂肪の減少、体毛の変化等が見られる。
2. 肝細胞には飼育1週より、既に空腹時脂肪の出現を見るが、この脂肪は微小顆粒であり、且つ血管側に多く、而も概ね Ciaccio 陰性で、中性脂肪と思われる。
3. 空腹時脂肪は3週迄は余り増加しないが、オスミウム酸還元性は次第に減弱し、3週では空胞となつて現われる。
4. 空腹時脂肪は無脂肪食を与えると、食後一度減ずるが、のち再び現われて食前に戻る。その動きは2週では弱い。又1週の食後6時間のみ Ciaccio 陽性であり、一方各週とも食後12時間ではオスミウム酸好性の脂肪が増加する。

5. 糖原は食後著明に出現し、正常時を遙かに凌駕するが、それは飼育の短かい程著しい。

6. リボ核酸は1, 2週は網状及び瀰漫状で、正常より遠く、3週では塊状となり、正常に近づくが、食後は何れも網状化する。併し染色性の低下は見られない。

7. マイトコンドリアは次第に桿状顆粒状が減じ、稍太い糸状のみとなり、且つ小葉の部位的な差異も少くなる。また食後の動きも3週では稍少くなる。

8. 核に於いては各週を通じて脂肪の出現を見る。また核直径は次第に増大するが、核の変性は見られない。

篇 2. 長 期 投 与*

肝細胞に於ける物質代謝のうちで、顕微鏡的にある程度追及出来るのは脂肪の代謝である。特に脂肪出現に際してミトの有する役割の甚だ大であることは、我が教室の数氏によっても報告されている。私もまたその一部を分担し、広瀬の高脂肪食実験に対応し、脱脂 casein 等を用いて調製した無脂肪の飼料にて幼若ラッテを3週に亘り飼育した処、全身的影響の比較的軽度なるに拘らず、1週から空腹時の肝細胞に、脂肪の出現を観たことは前篇記載の通りである。然しこの様な脂肪も3週迄の飼育では無脂肪食を与えると、一時減少し後再び現われて旧態に帰える。この異常なる脂肪出現のほかに、脂肪そのもののオスミウム酸の還元性が次第に減弱し、3週では空胞となって出現することは、肝細胞における脂肪代謝に異常の起っている一証左と考えられる。その他食後現われる糖原、R. N. A、ミト、核等にも変化を見た。

以上は3週迄の飼育にて現われる変化の大要であるが、相互の間に関連性を見出し難く、解釈に苦しむ点が少なくない。これが長期飼育実験を企てた所以である。因に飼料と取材後の処理はすべて篇1に述べたから、こゝは省略する。

* 本研究要旨の一部は高木教授により昭和27年4月徳島医大にての第57回日本解剖学会総会及び昭和28年10月大阪女子医大にての第14回解剖学会近畿地方会に於て発表せられた。

I. 所 見.

離乳後間の無い体重 35 g 内外の健康幼若ラッテを、篇 1 記載と同じ組成よりなる無脂肪食にて飼育すると、3 週までは僅に体重増加の減少を認

図 3. 体重曲線。—— 対照例, - - - - 実験例.

める程度であるが、凡そ 1 ヶ月を境として体重増加が目立って少なくなり、一例をあげれば、図 3 の示す如く対照との差は約 39 g である。而して飼育を更に続けて、2 ヶ月目に入ると体重の増加は益々少なく、従って対照との差は愈々大となり、2 ヶ月終りには 59 g の差を生ずる。この頃から後は 2 例とも体重の増加が殆ど無く寧ろ下降曲線を示し、3 ヶ月終りに至れば 80 g の差異を認める。

次に体毛及び皮膚の状態を観るに、飼育開始後 20 日頃から生えて来た無脂肪食持の粗毛が、1 ヶ月半、即ち体重増加の急激に弱くなる頃から耳、頸部、鼻尖部、眼瞼部に於いて脱毛し、赤い皮膚が露出してくる。これと同時に耳翼の充血及び腫張が起り、2 ヶ月頃より背部、四肢、特に後肢に脱毛が強くなり、尾部が鱗皮化し、腫張し、耳翼もまた充血肥厚且つペラグラ様変化を呈する。併し此の変化には個体的の差異があり、従ってその程度は一樣でない事は勿論である。一方ラッテは飼育日数を重ねるに従い、元気が衰えて食餌以外は静止し、飼育箱の一隅にうづくまる。この様な状態になって来ると少しの刺激にても死の転機を取りやすくなる。解剖処見

は対照に比し皮下脂肪組織が著明に減少し、僅かに頸部、鼠蹊部に少量認められた。そのほか筋肉の發育は不良、体毛並に皮膚の光沢は衰えて、毛はぬけ易い。

A. 空腹24時間の肝所見.

a) 組織学的所見

飼育1ヶ月の肝細胞索は割合に整然たる配列を示すが、肝細胞は稍膨大し、これを囲む血管腔は短期の場合より稍狭くなる。2ヶ月に入ると細胞の大きに変りはないが、血管腔は幾分広くなり、3ヶ月にては更に広くなる。この場合中心部の血管腔は特に広い。また末梢部の肝細胞索は稍乱調を帯びる。次に星細胞数は非実験例に比し非常に増加する。

表4は Carnoy 液固定、厚さ 6μ の切片に pylonine methyl green 染色を施した標本に於て、肝細胞約300個当りの星細胞を計数したものであるが、1ヶ月では対照

例の73に対し、その2倍強の183で、3週飼育に対しても相当の増数を認める。次で2ヶ月頃には稍減少するが、3ヶ月にて再び増数して対

表 4. 星 細 胞 数.

		飼 育 時 重	取 材 時 重	肝細胞数	星細胞数
飼 育 期 間	対照	43	86	303	73
	3 週	40	70	316	125
	1 月	35	83	314	183
	2 月	34	110	310	127
	3 月	34	107	315	211

照の約3倍211を数える(附図(2)の1)。また1ヶ月前後より主に小葉末梢部に間質細胞の増殖(附図(2)の2)及びその核分裂像を相当数認めた。

b) 細胞学的所見.

1. 脂肪及び糖原. 前篇短期飼育の時と同じく空腹時肝細胞に脂肪を認めるが、1ヶ月では短期の場合と殆ど同様で余り著明でなく、主として小葉末梢部の細胞に微粒として現われる。この時脂肪粒にて充滿した細胞が末梢部に散見するのが注目される。また星細胞に中等大或は粗大な脂肪粒を認めた。2ヶ月になると脂肪は更に増加するが、依然微粒として小葉末梢部細胞、特に Glisson 氏鞘の周囲に多く、1ヶ月に認めた星細胞にては殆ど脂肪を見ない。3ヶ月になると脂肪は中心部近くまでひろがり、従って小葉全域の細胞に微粒として充滿するが、核を圧迫するが如きには接しない(附図(2)の3)。また星細胞には2ヶ月同様脂肪を認めない。次に Levi 標本に於いて脂肪を見るに、1ヶ月頃ではその大部分はオスマム

酸を還元して暗褐色を呈するが、その後は更に還元性を戻し3ヶ月頃になればオスミアム酸による脂肪所見は、scarlet red 染色に殆ど一致する(附図(2)の5)。また此等の脂肪は Ciaccio 法によると総て陰性であった。糖原は3週に於いて小葉中心部細胞に小量認めたに過ぎないが、1ヶ月では小葉全域に高度に出現する。然しこの空腹時糖原は2, 3ヶ月飼育では、全く現われて来ない。

2. マイトコンドリア。1ヶ月飼育では小顆粒や稍太い桿状をして糖原空胞の周囲に集合している。この時小葉の末梢部では時々これ等のない細胞(附図(2)の4)或は大小不同の顆粒状のミトを有する細胞も認められる。2ヶ月に入るとミトは1ヶ月より更に微細となり、且その数を増し、中心部では細く、末梢及び中間部では稍太い糸状を呈する。3ヶ月になるとミトは2ヶ月より更に細い糸状体となり(附図(2)の5)、脂肪の多い細胞では特に細く、且つ数も少い。一方脂肪の少ない細胞では前者よりは稍太い糸状でその数も多い。

3. リボ核酸(R. N. A) 1ヶ月飼育にては塊状をして核周辺に集まる傾向を示すが、2ヶ月では大半は瀰漫状で、塊状のものが之に混じている。但し核の周辺に多いことには変りないが、染色性は幾分弱くなっている。3ヶ月では細網状を呈し且つ、染色性は一層弱い。

4. 肝細胞核。短期飼育に於いて認めた核内の脂肪は、長期飼育の時にも見られた。但し3週よりも減少し、1ヶ月では小顆粒として少数の細胞に認めたに過ぎない。かくて3ヶ月では殆ど認めない。一方核の変性は3ヶ月に至るも殆ど認められなかった。然し肝細胞核の直径は飼育と共に増大を示した。図4は formalin 固定、6 μ 切片の標本に於いて肝細胞核300個を計測したもので、常食飼育は6 μ を最高とするも、本実験では前篇の3

図4. 核直径. — 対照例, ——— 3週例, - - - - 1ヶ月例, 2ヶ月例, 3ヶ月例.

週飼育よりも更に大形の核が増数する。而してその最高は1ヶ月では 8.5μ 、2ヶ月では 8.0μ 、3ヶ月では $8.5-9.5\mu$ を示している。また仁も増数して来る傾向が見られた。

以上の如く飼育が長くなると肝細胞索は次第に乱調となり、且つ血管腔は拡張して来る。また肝細胞は月を追うて大きくなり、星細胞数は増数する。一方1ヶ月頃から小葉末梢及び中心部に、間質細胞の増数また核分裂を相当数認める。次に肝細胞に現われる空腹時脂肪は短期実験の時よりも更に増量するが、依然微粒な顆粒として現われる。此等の脂肪は短期にてはオスミアム酸還元性が次第に無くなったが、長期になると再び還元性を現し3ヶ月に至ると scarlet red 染色の場合と一致して来る。然し Ciaccio 法にて陰性である事には変りがない。また糖原はたゞ1ヶ月にて著明に認められた。ミトは1ヶ月では空腹時に於いても小さな顆粒、太い桿状を認めるが、次第に細い糸状が主となり、3ヶ月にては更に細くなる。また月を追って大小不同の顆粒状ミトを有する細胞、粗大顆粒をもつ細胞、更に無構造の細胞、脂肪が多くしてミトの少い細胞等も認められる様になる。リボ核酸は1ヶ月で塊状を示すが、次第に瀰漫性となり、3ヶ月では細網状となる。なお核酸はこれと並行して染色性が悪くなる。また核直径は更に増大する。

B. 給食時の肝所見.

前述の如く無脂肪食飼育が1ヶ月に達すると、肝細胞内の空腹時脂肪は再びオスミアム酸好性をとり戻し、3ヶ月では scarlet red 染色の所見と殆ど一致するようになる。一方空腹時の R. N. A. は次第に染色性が悪くなり減少する。またミトも細い糸状となる。斯の如き肝細胞組成成分が、給食によって如何なる動きを示すかを観るため、各月例に対しその最終給食後 1, 3, 6, 12時間を経て取材したところ、次の様な成績を得た。

1. 脂肪及び糖原 給食によって肝細胞脂肪は動くが、飼育期間の長くなるにつれて変動が少なくなる。即ち1ヶ月飼育では、3週飼育と同様に食後脂肪は増加し、3時間では最も多く小葉の中心部に迄達するが、其後は漸次減少し、空腹時所見に述べた脂肪量に帰える。尚脂肪の多い時には脂肪滴は空腹時に比し一般に粗大である。またしばしば脂肪滴にて充満した細胞も現われる。この時の星細胞にはいずれも脂肪を認めた。飼育が2ヶ月になると、食後の脂肪の動きは前記よりも少なく、3時間で幾分の増加を示すに過ぎない。また脂肪滴も6時間で稍々大なるもの、或は多数に有する細胞を見るのみである。かくて3ヶ月になると脂肪は殆ど増減を示

表 5. 肝 脂 肪.

		飼 育 期 間								
		1 月			2 月			3 月		
		末梢	中心		末梢	中心		末梢	中心	
給 食 後	前	+	+	±	++	+	±	+++	++	+
	1時間	+	+	+	++	++	+	+++	++	+
	3時間	++	+	+	+++	++	+	+++	++	++
	6時間	+	+	±	++	++	+	+++	++	++
	12時間	+	±	±	++	++	+	+++	++	++

さなくなる (表 5). また 2, 3ヶ月とも星細胞内の脂肪は認められない. 次にオスミアム酸還元性から観れば脂肪の性状は不変でない. 即ち飼育 1ヶ月の食後 1時間では, オスミアム酸好性の脂肪を僅かに見るに過ぎないが, 2, 3ヶ月になると増数し, scarlet red 染色による所見と一致する.

糖原は飼育 1ヶ月では空腹時にも認められ, 食後 3時間を山として出現するが, 飼育が進むにつれて少くなり, 2ヶ月では 3時間で低い山を作る

表 6. 糖 原.

		飼 育 期 間								
		1 月			2 月			3 月		
		末梢	中心		末梢	中心		末梢	中心	
給 食 後	前	++	+	+	—	—	—	—	—	—
	1時間	++	+	±	+	±	±	±	±	±
	3時間	++	++	++	+	+	+	+	+	±
	6時間	+	+	+	+	±	±	±	±	±
	12時間	+	±	±	+	±	±	±	±	±

に過ぎず, 全体を通じて, 小葉中心部は特に少ない. 3ヶ月では更に少なく, 食後 3時間でやゝ著明の増量を見るのみで, この時には糖原顆粒にて充滿した細胞が所々に点在する程度である (表 6). これらの糖原は往々脂肪と共存しているが, その場合には脂肪滴を囲んでいる事が多い.

2. ミト. 食後のミトの動きは, 飼育日数と共に漸次弱くなる. 即ち 1ヶ月飼育では未だ動きを示し, 食後 3時間では全層殆ど一律に稍々粗大なる顆粒状となり, 唯中心部で幾分小さく, 6時間後では太いが糸状桿状が現われて来る. 2ヶ月となれば動きは少なく, 食後 6時間のみ末梢部に太い糸状を示し, 顆粒状も僅かに混ざるが, 大半は変化なく, 3ヶ月になるとミトは殆ど動きを示さず (附図 (2) の 7. a, b, c). 空腹時と同様細い糸状が主で, 6時間で幾分排列が乱れる程度である.

3. リボ核酸 (R. N. A.). R. N. A. の食後の動きは、飼育につれて寧ろ著しい。即ち1ヶ月では空腹時に於て塊状で核周に濃染して居るが、食後も殆ど変化を示さない。2ヶ月では空腹時に瀰漫状が大半であるが、食後3時間以降塊状も現われる。3ヶ月になると空腹時には細網状で均等性に分布するが、食後3時間で粗網状を呈し、6時間では小葉中心部に於て塊状となり、12時間では全層塊状となり核周に集まる。

小括. 無脂肪食にて長期間飼育すると、食後の脂肪の動きは次第に少なくなり、3ヶ月では殆ど動きを示さない。また星細胞にはこの時脂肪を認めない。糖原も1ヶ月では、食後に増量し、3時間で山を作つて減少するが、飼育が長くなるにつれ次第に食後の動きが不著明となり、3ヶ月では食後でも極く僅かに現われるのみである。同様にミトの食後の動きも、1ヶ月にては明かであるが次第に弱くなり、3ヶ月では殆ど見られない。然るに R. N. A. は逆に飼育1ヶ月では食前食後とも塊状で変化は少いが、次第に食後の動きは著明となり、3ヶ月では食前細網状であるのに、食後は著明に塊状化する。

II. 考 察.

無脂肪食で飼育する時、24時間空腹時に於いて肝細胞に脂肪の現われる事、及びその原因に関する考察は已に篇1に於いて述べて来たが、長期飼育の場合も空腹時に於いて脂肪は肝細胞に見られ、短期飼育の時よりも更に増加して来る他、若干特異な所見も見られた。即ち飼育1, 2ヶ月では scarlet red 染色の場合に、短期飼育との間に著変を認めないが、Levi 標本にては短期とは逆にオスミアム酸還元性が強くなり、性質を変じて来たことがうかがわれる。以上の事から長期飼育に見る脂肪は不飽和の中性脂肪乃至、脂肪酸である事が、想像されるが、Nunn 及び Maclean に依ると、長期間無脂肪食にて飼育すると、肝脂肪中に融点 $202-204^{\circ}\text{C}$ 、炭素数20の不飽和脂肪酸を見出すとして居る事を考え合す時、私の長期実験に見出された脂肪は、そのオスミアム酸好性より、Nunn 等の云う脂肪と一致するものではなからうか。而して脂肪の給食後の動きが次第に弱くなり、且つまた3ヶ月では、脂肪の形態及び染色に対する反応が、殆ど食前と変りない事は最早これからの脂肪は肝細胞内に固定したのではないと思われるが、この事は空腹時及び食後に於ても2ヶ月以降の星細胞に脂肪が殆ど見られない事からも想像される。一方糖原も食後に於いてすら余り現われて来なくなり、ミトも次第に繊細化し、粗大顆粒を持った細胞、或は無構造の細胞が出現し、或はミトの食後の形態変化が次第に少くなり、3ヶ月では殆

ど動きを示さない事は、肝細胞の機能が障害されて来た事を思わしめる。一方核に於いても変性核は認められなかったが、核直径の増大する事は肝細胞が大なる影響を受けて居ることを暗示している。然しこゝで一言すべきは R. N. A. の所見である。即ち空腹時 R. N. A. の pyronin 染性が次第に低下して来る事は細胞機能の障害を是認せしめるが、飼育 1 ヶ月にては、食後は塊状が主で正常に近いが、2 ヶ月では空腹時瀰漫状であるのに食後塊状化し、3 ヶ月では空腹時細網状で染色性も弱い、食後は塊状化し正常に近い染色性及び分布を示す事は、蛋白代謝が依然行われて居ることを物語っている。

次に飼育 1 ヶ月頃から肝小葉の末梢部に間質細胞の増殖を見、更に中心部に於ても結締組織繊維が増加してくる。これは無脂肪食飼育に依る直接の影響か、又は肝細胞の障害に依る二次的なものかは判然としないが、他の種々な肝障害時に比し、やゝ高度である事は興味がある。一方これと並行して星細胞数は著明に増加し、飼育 3 ヶ月では正常時の約 3 倍にも達するが、星細胞と間質細胞の増殖との間に關聯があるものと思われる。

また肝組織所見の著しい変化を示す 1 ヶ月前後で、体重の増加が目立って少くなり、肝組織の変化が更に大きくなって来る 3 ヶ月に於ては、体重増加は全く停止或は下降し始めて居るが、勿論他臓器との關聯も否定出来ないが、肝機能障害の推移と一致して体重の変動を示し、興味を抱かせる。

III. 結 語.

本実験で得た所見を要約すると、

1. 無脂肪食で幼若ラッテ長期飼育すると、凡そ 1 ヶ月を境として体重増加は低下し、3 ヶ月で体重は下降し始める。この体重増加の低下を来す 1 ヶ月頃より所謂脂肪欠除症候群が現われる。
2. 肝細胞には短期飼育と同様に、空腹時脂肪を見、次第に増加するが小顆粒である事には変りなく、而も概ね Ciaccio 陰性で中性脂肪と思われる。一方短期飼育の時とは逆に脂肪のオスミアム酸好性が高まり、3 ヶ月にて猩々赤染色標本と殆ど一致する。これによって不飽和の脂肪酸が増加して来た事が想像される。
3. 空腹時脂肪は無脂肪食を与えると、1 ヶ月飼育にては食後多少の増量を示すが、それより長くなると食後の動きは少なくなり、3 ヶ月にて殆ど動きを示さない。
4. 糖原は食後増量するが、短期実験に比し少なく且つ飼育が長くなれば食後の出現は少なくなる。

5. リボ核酸は飼育1ヶ月に於いて、食前食後とも塊状で変化は少いが、飼育の進むにつれ食後の動きは反って著明となり、3ヶ月では食後著明に塊状化する。

6. 空腹時のミトコンドリアは飼育の進むにつれ、次第に繊細な糸状となるが、一方粗大顆粒を有する細胞及び無構造の細胞も現われて来る。

7. ミトコンドリアは1ヶ月迄は食後の動き明らかであるが、次第に少なくなり、3ヶ月では殆ど動きを示さない。

8. 核内脂肪は長期飼育の際にも見られたが、核の変性像は認めなかった。また核分裂像を飼育1ヶ月に認めた。核直径は次第に増大し、大形核も見られる。一方仁も増数して来る。

9. 飼育1ヶ月頃より肝小葉内に間質細胞の増殖を見た。これと並行して星細胞も増加する。

篇 3.

人 工 食 投 与. *

前に篇1と2で述べた如く、無脂肪食で幼若ラッテを飼育すると、1ヶ月前後にて体重の増加は頓に減弱し、これと殆ど時を同じうして肝細胞が脂肪肝の状況を呈する。而もその脂肪は初めは磷脂質が主であるが、次第に中性脂肪を主とするに至る。また飼和度より見ても飼育3週頃を山として、飼和度が特に高いと思われる。この時ミトは漸次細い糸状となり、R. N. A. もその染色性が減弱して来る。以上は空腹時所見であるが、これに給食すると、ミトは勿論、糖原及び脂肪の出現が飼育日数に従って弱くなる。即ち脂肪は短期飼育の時は食後正常に近い動きを示すが、長期になると動きは少ない。また糖原は飼育期間の短い程著明に出現するが、長期に至ると出現は稍少ない。一方R. N. A. は長期飼育では食前染色性は弱いが、食後の動きは正常に近い様に思われる。次にミトは短期飼育の場合は食後の動きは著明であるが、次第に動きは少くなり、3ヶ月になると殆ど糸状体のまゝ動かない事が判った。然しこれらは総て飼育の際と同様に、脂肪を殆ど含まぬ飼料を与えた時の所見である。依って無脂肪食にて飼育し、最終給食として脂肪を充分に含んだ所謂人工完全食を与える時、肝細胞はその微細構造に於いて如何なる態度を示すかは、無脂肪食飼育日数と肝細胞

* 本研究の要旨は昭和28年10月大阪女子医大に於ける第14回解剖学会近畿地方会にて発表された。

機能の障害程度を測知する上に極めて意義があり、且つ興味を覚える点である。これが本実験を企てた所以で、此際は1回投与のみならず5回に亘る連続投与をも試み、無脂肪食飼育によって起った変化が、どの程度回復するかを見んとした

I. 研究材料と実験法.

離乳後間も無い体重 35 g 内外の健康幼若ラッテを篇1記載と同じ組成よりなる無脂肪食にて1, 2, 3週1, 2, 3ヶ月間飼育し、最終給食として、カゼイン 1.47 g, 澱粉 6.08 g, 肝油 1.0 g, McCallum 塩 0.2 g, 寒天 0.2 g, oryzanin 未 0.05 g, 水 10.0 cc (カゼイン約15%, 澱粉約6%, 肝油約10%) の組成より成る人工完全食を投与し1, 3, 6, 12, 24時間後に取材した。なお無脂肪食にて3ヶ月飼育した1群のラッテに人工完全食を5日間与え、前同様最終給食後1, 3, 6, 12, 24時間後に取材した。取材後の処理は総て篇1に述べたからこゝには省略する。只今回は糖原に就て更に正確を期する為め、Best 法以外に過沃度酸 Schiff 法を行った

II. 所 見.

1. 脂肪及び糖原. 無脂肪食で飼育すると、1週より、殆ど小葉の全層に空腹時脂肪を見る。然るに脂肪を充分に含む人工食を与えると、無脂肪食投与時と異った動きを示す。即ち短期飼育の場合は食後間もなく脂肪の増量を来すが、長期飼育の場合は食後、一旦減少し後、増量して来る。此れを逐日的に述ると、1週飼育では食後3時間で小葉全域にわたり著明に増加し、6時間でやゝ減少するのみで、24時間でも散在的ではあるが、小葉全層に脂肪を認める。而して脂肪滴は初めは空腹時と同じく小滴であるが、次第に増大し、12時間頃では、核の大きさに達するものも多い。この時の脂肪は Ciaccio 法に依ると初めは僅に陽性、3時間頃より著明に陽性となり、24時間では再び陰性となる。一方 Levi 標本では概ね scarlet red 染色所見と一致するが、24時間ではオスミアム酸に依り、脂肪滴の中心部が濃染し、その周囲に不染性の明量を有する二重輪状をなして現れる(附図(3)の1)

2週飼育では食後1時間で殆ど中心部近くまで出現し、3時間では更に増量し、特に中間層に多い。6時間後は稍減少するが、24時間にて小葉末梢部より中間部にかけて脂肪を認める。この時脂肪粒は12時間以後でやゝ増大するが、1週ほど著明にはない。また Ciaccio 法に依り12時間で著明に陽性となり、24時間では中心部にて僅に陽性である。なお Levi 標本

は殆ど scarlet red 染色と一致して居る.

3 週飼育では食後の脂肪量は更に多く、1 時間では末梢より中間部迄、その後は殆ど全層に出現するが、12 時間以降になると再び中心部では認められなくなる。次に脂肪滴は初めは大小を認めるが、3 乃至 6 時間では小さくて血管側に多く、24 時間で再び増大し大脂肪滴となる。また Ciaccio 法では、12 時間迄殆ど陰性であり、24 時間で初めて著明に陽性となる（附図 (3) の 2）。脂肪は 1 時間に於いてオスミウム酸好性を有するものが少いが、3 時間以降は増加し、scarlet red 染色とよく一致する。殊に 12 時間では多量に現れて、糖原空胞の中にオスミウム酸好性の脂肪が浮遊せるが如き観を呈する（附図 (3) の 3）。

飼育が 1 ケ月ともなれば、空腹時中間層にまで相当量認めた脂肪は、給食後は速かに消失し、1 時間では全く認めないが、3 時間を越すと再び散在性に現われ、12 時間で殆ど全層、特に末梢部に多量に出現し、脂肪を以て充満した細胞が散見する。然るに 24 時間頃になると脂肪はまたもや減少する（表 7）。而して脂肪滴は何れも空腹時と同様に小滴であり、Ciaccio 法では食後 12 時間で中間部に極めて僅か陽性を示すのみで、他は全く陰性であった。なお Levi 標本は scarlet red 染色とよく一致した。

2 ケ月では食後の脂肪の消失は更に著明で、食後 6 時間迄は全く認められず、12 時間にて初めて全層に中等大顆粒として出現する。然し 24 時間後には著明に減少するが、依然小葉の全層に認められる。

3 ケ月でも同様に食後急激に減少するが、此時には 6 時間で再び現われ、12 時間で全層に及ぶ。かくて 24 時間では非常に微小な脂肪粒として、末梢部及び中間層に増量する。此等の脂肪は総て Ciaccio 陰性であり、Levi 標本ではよく scarlet red 染色と一致して居る。

一方食後の糖原は飼育期間の短い程著明に現われるが、無脂肪食投与の場合に比すれば、全体として出現の度は低い。即ち 1 週では食後 1 時間で已に全層に著明に出現し、6 時間で最高となり、後僅かに減少して 24 時間後も尚相当に認められる。

2 週ではやや少く、食後 1 時間は極く僅かに点在性で、3 時間で初めて著明となり、6 時間で全層に及ぶ。その後減少し 24 時間で点在性となる。

3 週に至ると、3 時間で初めて稍多量に現われるが、後減じ 12 時間では僅かに点在性に認むるのみとなる。

1 ケ月にては空腹時に糖原を見たが、1 時間後には全く認められず、3 時間にて僅かに小葉の中心部より中間部にかけて現われるが、6 時間後には再び減じ、12 時間後には全く糖原を認めない。

表 7. 肝 脂

		飼 養								
		1 週			2 週			3 週		
給 食 後	前	+	±	±	±	±	—	+	+	±
	1時間	+	±	—	+	±	±	++	++	±
	3時間	++	+	±	+	++	±	++	++	+
	6時間	+	+	±	±	+	±	++	++	+
	12時間	±	+	+	+	±	±	++	+	—
	24時間	±	±	±	±	±	±	++	+	—

表 8. 糖 原

		飼 養								
		1 週			2 週			3 週		
給 食 後	前	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	1時間	++	++	+	—	—	+	—	—	—
	3時間	++	++	++	+	±	+	++	+	+
	6時間	+++	+++	+++	++	+	++	±	+	+
	12時間	+	+	+	+	±	+	±	+	±
	24時間	+	+	+	+	±	±	—	—	—

2ヶ月に至れば1ヶ月に比し稍増量の傾向がある。即ち1時間後は全層に極く少量を認め、6時間では末梢部に少しく増加し、次で減少するが、24時間後にもなお少量認める。然るに3ヶ月に至れば6時間後に初めて中心部に限り極く僅かに認められ、12時間後にて全層に出現するも、量は極めて少く、24時間後には全く見られない(表8)。

以上は糖原の消長であるが、飼育期間の短かい程糖原は大塊状をなし、胞体の大半を占め、その中に脂肪滴を浮べる如き状況を示す事が多いが、糖原顆粒は次第に小となり、1ヶ月以降では微細な顆粒として現われ、carmin にては染出が出来ない。漸やく Schiff 法により初めて染め出す事が出来たのみである

2. マイトコンドリア。最終給食に人工完全食を与えると、飼育期間の短いもの程ミトの動きは著明で、1ヶ月を越してくるとミトは細くなり、且つ動きはにぶくなる。此を詳述すると、1週飼育では給食後1時間で短桿状を呈し、3時間後には、連珠形顆粒が混在し、これらは糖原空胞及脂肪滴を囲むが如き配列を示す。6時間でも同じく糸状、桿状、顆粒状であるが、細胞周辺に集り、糖原空胞愈々大きく脂肪はその中に浮遊しているが

肪.

期			間					
1 月			2 月			3 月		
+	+	±	++	+	+	+++	++	+
-	-	-	-	-	-	-	-	-
±	-	-	-	-	-	-	-	-
±	-	-	-	-	-	-	-	-
+	+	±	++	++	+	+	+	+
±	-	-	±	±	±	++	+	±

(過沃度酸 Schiff 法に依る).

期			間					
1 月			2 月			3 月		
++	+	+	-	-	-	-	-	-
-	-	-	±	±	±	-	-	-
-	±	+	±	±	±	-	-	-
±	-	-	+	±	-	-	-	±
-	-	-	±	±	±	±	±	±
-	-	-	±	±	±	-	-	-

如き状態を呈している。その後ミトの形態には大なる変化なく、たゞ僅に大きくなりて脂肪の周辺に位し(附図(3)の4)。かくて24時間後になると全層大顆粒となる(附図(3)の1)。2週に至ると1時間後では糸状を

主とし桿状、小顆粒を混じ、小葉の中間部及末梢部では幾分太くなるが、脂肪を多く有する細胞では細い糸状体である。その後糸状、桿状が減じ、顆粒が大半を占めるが、12時間後では末梢部より中間部にかけて糸状が増加し、24時間では中心部は粗大顆粒、中間部は太い桿状、末梢部は太い糸状体が主体となるに至る。3週になると食後1時間では、小葉中心、中間部ではやゝ大なる顆粒状を呈し、末梢部は細い糸状、桿状顆粒であり、3時間後は全層細い糸状を主とし小顆粒状のミトを混じて居る。6時間後になると全層殆ど一律に糸状、桿状、顆粒を混じ、末梢部のみに稍太い顆粒を主とする細胞を散見する。12時間後は糸状を主とし、24時間後は此に桿状、顆粒を混じているが、いずれも極めて繊細である。次で1ヶ月になると、初めは末梢部にて顆粒、短桿状、中間部にて桿状、中心部にて細い糸状を呈するが、6時間後では全層殆ど一様にやゝ太い桿状となる。然るに12時間以降は極めて細い糸状となる。2ヶ月にては細い糸状、顆粒状から糸状、短桿状となり、6時間で初めてやゝ太い糸状、桿状となり、24時間で再び細い糸状を主としこれに細い桿状を混じて居る(附図(3)の5)。3ヶ月に於いても初めは細い糸状が大半で、末梢部に僅に短桿状、顆粒を

認め、3時間後にてミトは顆粒化するも小顆粒で、短桿状のミトを混じて居る。6時間後は顆粒化が目立つも尚細い糸状を混じ、12時間で全層一樣にやゝ太い糸状、桿状、顆粒状を呈し、24時間では再び細い糸状となり僅に小顆粒を混じて居る。尚篇1と2で述べた粗大顆粒を持った細胞及び無構造の細胞は3週以降人工食投与後も同様に屢々見られた。

3. リボ核酸 (R. N. A.) 1週飼育では給食後も食前と同様に粗網状を呈するが、6時間以後では核周及び細胞周辺に濃染する。かくて24時間後になれば細網状となり細胞周辺に濃染する。2週では空腹時は瀰漫状であったのが、食後は塊状のものが混じ、後者は核の周囲に於いて濃染する。6時間以後も同じく核周に濃染するが、網状を呈する。かくて24時間後には瀰漫状となる。次で3週では空腹時に塊状であったが、食後も同様に塊状でこれに瀰漫状が僅に混じ、6時間を越すと始めて粗網状が現われ、24時間で再び塊状のみとなる。これら塊状型の場合にいずれも核周に濃染する。1ヶ月に至ると給食前塊状をなし核周辺に濃染の傾向を示しているが、食後間もなく瀰漫状となり、6時間で塊状、網状となり、そのときいずれも核小体の濃染して居るに比し、原形質 R. N. A. の染色性は弱い。その後は瀰漫状が増加し塊状と共に染色性も良くなる。2ヶ月では空腹時に大半は瀰漫状であるが、給食後は染色性の良い塊状として出現する。3ヶ月に至ると空腹時に細網状で、給食後は瀰漫状となり、3時間以降は塊状を少しく混じ、12時間後は網状を呈し、24時間にて再び瀰漫状となるが、いずれも核小体に比し、原形質 R. N. A. の染色性は弱い。

以上述べた如く、一定期間無脂肪食にて飼育し、人工食を1回与えると短期飼育では肝細胞の脂肪は先ず増量し、次第に増大して、24時間後で大脂肪滴となる。これに反し長期飼育では給食後先ず脂肪は減少し後、増量して来るが、大脂肪滴となることは無い。一方 Ciaccio 法では短期飼育では、給食後直に陽性化するが、飼育期間が長くなるにつれて陽性化は遅れ、2ヶ月を越したものでは総て陰性である。また糖原は飼育期間の短かい程著明に現われ、長くなるに従って出現しなくなる。ミトは飼育の短かい程著明に顆粒化するが、長くなれば食後の動きは弱くなり、R. N. A. も次第に染性が弱くなる。更に核内の脂肪も良く認められ、特に短期飼育に於いて著明であった。尚注目すべきは核内に Ciaccio 陽性のものを多数認めた事である (附図 (3) の 2)。また3ヶ月飼育のもので変性核を認めた。

附. 人工食5日間投与

以上は1回投与の結果であるが、無脂肪食飼育の特徴のよく現わる3ケ

月飼育の後に連続5回、即ち5日間投与の所見をここに附言する。

1. 脂肪及び糖原。給食前及び給食1時間後では脂肪は認められないが、3時間にて初めて全層に中等度に出現し、爾後増量して6時間にては大量に達する。この時小葉の末梢部より中間部にかけ特に多い。12時間でも尚依然小葉の全層に見られるが、中心部が最も多い。然るに24時間では末梢部に僅かに見うる程度で大半の脂肪は消失する。なおオスミアム酸好性の脂肪は食後3時間乃至6時間で小葉末梢部の僅かの細胞に認めた。Ciaccio陽性物質は食後6時間で僅かながら認められた。次に糖原は稍乏しく食後6時間にて小葉全域に現われるが、極めて少なく、早くも12時間で全く認められなくなる。

2. マイトコンドリア食後1時間では糸状が主体で、桿状、顆粒状が少しく混じて居り、中間末梢部では多少太い。3時間後にては同様に糸状が多く小顆粒を混ざる。6時間後では中心部細胞は殆ど小顆粒で満され中間、末梢では糸状桿状も見られる。12時間後では顆粒状のミトがやゝ増加し、24時間になると全層殆ど糸状で桿状、顆粒状を僅に混じて居る。以上の他全体を通じてミトは密であり、且つ人工食を与えないものに比すれば幾分太くなっている(附図(3)の6)。尚此の場合も無構造及び粗大顆粒を持つ細胞を認めた。

3. リボ核酸(R. N. A.)。食後1時間では塊状であり、3乃至12時間では塊状の他、僅に網状も見られるが、いずれも核周に濃染している。24時間では再び塊状を主とするに至る。

以上の如く無脂肪食で3ヶ月飼育し、5日間人工完全食で飼育した場合、食後1時間では殆ど脂肪を見ず、3時間で中等量に現われ、6時間で最高となり、再び減少する。而してこの脂肪は6時間で僅にCiaccio陽性を示すのみであり、オスミアム酸好性の脂肪も少い。また糖原は食後6時間で僅に見られた。ミトは食後1時間でやゝ太い桿状、糸状となり、のち顆粒状のものが増加し、24時間では再び糸状を主とするに至るが、ミトは密となり正常のものに近づく。但し全体としては繊細である。併し粗大顆粒を持った細胞及び無構造の細胞も尚存在する。R. N. A. は塊状より網状、次で再び塊状となり、正常に近い動きを示す。

III. 考 案

無脂肪食にて一定期間飼育し、最終給食に脂肪を含む完全食を与えると、肝細胞脂肪は無脂肪食投与の場合と異なる食後の動きを示す。而してこの際次の2点に注意して考えを進めねばならない。一つは今迄殆ど飼料中に

含まれて居なかった、脂肪、特にその中に含まれている不可欠脂肪酸を受け入れる事に依って、脂肪代謝障害が取り除かれるのではないかと云う点、他は無脂肪食飼育によって脂肪代謝障害が起って居ると思われる時、突如として脂肪を与える事に依り、更に代謝障害を悪化させるのではないかと思われる点である。さて飼育3週迄の場合、食後の肝脂肪は無脂肪食投与時に比し、著明に増加して居る。その増加は小葉内の分布の上からも、また細胞内の脂肪滴の増大からも云えるが、これは勿論飼料中の脂肪に依る所が大きいと考えねばならない。而してその半面、今迄障害されて居た脂肪の合成が、急に盛んになった為とも考えられる。いずれにしろ、飼育が短い程食後に於ける脂肪の動きは著しいが、一つは脂肪の小腸よりの吸収、或は肝細胞への移行に対し、飼育の短い程障害の度が少ない為かも知れない。而して短期飼育の場合、今殆ど Ciaccio 陰性であった脂肪が急激に陽性化するが、その陽性化は1週飼育では1—12時間、2週では12—24時間、3週では24時間と次第に遅れ、1ヶ月以降は殆ど見られない事から、飼育の短い程燐脂質化の度が高く、従って脂肪代謝障害が少なく、またその恢復の早い事が想像される。また1—2週飼育では食後6時間より脂肪が幾分減少し、其後肝細胞内の脂肪滴は漸次大滴となって来るが、これは今迄あった脂肪以外に新たに入って来た、脂肪に依るものと思われる。殊に1週の場合、24時間後では核の大いさに近い脂肪を多数認めるが、これは Levi 標本では中心部が濃染し、その周囲は不染性の明量となって現われて居り、少くとも外側は主として人工食中の肝油に由来する飽和脂肪酸に依るものであろう。因みに外山は肝油中の飽和脂肪酸量は約10—15%にして、その大半はパルミチン酸であるとして居る。以上の所見から1週飼育の場合でも24時間後かくの如く脂肪が停滞して居る事は、脂肪代謝障害が既に起って居る事を予想される。而して2週でも24時間後の脂肪滴は幾分増大するが、1週飼育程でなく、其後は脂肪滴の著明な増大は見られない。この事は脂肪吸収或は肝細胞への移行の障害に依って、脂肪滴が増大して来ないとも考えられるが、後に述べる糖原、ミト、R.N.A.等の所見から考えても疑問の残る点である。所で一方1ヶ月以上飼育の場合では給食後まず脂肪は著明に減少し、食後6時間迄は肝細胞に殆ど脂肪滴を見ないが、無脂肪食による給食の場合、脂肪は殆ど細胞内に固定された感あるのと比較する時、僅ながらも取入れられた不可欠脂肪酸に依り、脂肪代謝が促進されて、消失したものとすべきであらう。併し此の場合も時間が立つにつれて、再び給食前と同様な所見を示す事は、脂肪の代謝障害は完全には除去されて居ない事を示すものであろう。

次に糖原の消長であるが、短期飼育には著明に出現し、無脂肪食給食時とに差を認め難いが、長期に至ると極めて少なく、Schiff 法に依っても微細な顆粒として僅かに認めうるに過ぎない。然るに脂肪を含む完全食を与える事に依って、糖原代謝に著しい影響を与えた事が想像される。この事はミトに於ても同様で、短期では或る程度動きを示し、殊に屢々、脂肪顆粒を囲んでミトが現われる点よりしても脂肪代謝に関与して居る事が想像されるが、長期に至れば殆ど動きを示さず、殊に3ヶ月は勿論1—2ヶ月飼育の24時間後に於て、ミトが無脂肪食3ヶ月飼育の空腹時に似て繊細な「糸状」を呈する事は完全食を与える事に依って、反って障害が著しくなったと思われる。また R. N. A. も短期の場合は、無脂肪食給食時と大差を認めないが、長期、殊に3ヶ月に於いては、食後も空腹時と同じく染色性が弱く、且つ細胞内分布も著変を認めない事は、蛋白代謝に迄影響を与えた事が想像される。以上の如く最終給食に完全食を与えた時は、短期飼育では主として脂肪代謝障害のみ僅に残留して居ると思われ、長期では完全食を与えると、脂肪代謝障害のみならず、糖質代謝と蛋白代謝の障害も悪化する如く思われる。

而して、私の行った実験で最も長期に当る3ヶ月飼育のものに、5日間完全食を与えると、脂肪は3時間で現われ、6時間を山として再び減じ、24時間後は極めて僅か認めるに過ぎない。この様に脂肪は正常に近い動きを示したが、Ciaccio 陽性の脂肪は6時間で僅に認められたのみで、未だ完全には脂肪代謝は回復して居ないと思われる。また糖原も6時間で極めて僅か出現したに過ぎない、従って糖原代謝も未だ正常でない事が想像される。併しミトは正常に比して幾分遅れるも、食後6時間を山として顆粒化を示して居り、24時間後は無脂肪食のみの時に比し幾分太く、且つ密である点は正常に近い事を思わしめる。而して無脂肪食飼育時に認めた粗大顆粒を有する細胞或は無構造の細胞は依然多数に認められ、これらの細胞は最早機能を回復し得ないものと思われる。また R. N. A. も食後僅に網状のものも現われるが、概ね塊状であり且つ染色性もよく、正常に近いと思われる。

IV. 結 論.

本実験で得た所見を要約すると、

1. 無脂肪食でラッテを飼育し、脂肪を充分に含む完全食を与えると、短期飼育の場合、肝小葉の脂肪は先ず増加し、次でやゝ減少するが、細胞内の脂肪滴は増大する

2. 短期飼育の場合、脂肪は給食後燐脂質化するが、1週では1—12時間、2週では12—24時間、3週では24時間後と次第に遅れて来る。

3. 長期飼育の場合、脂肪は給食後先ず減少し、のち食前より増加するが、脂肪滴は微小である。また長期飼育では Ciaccio 法では殆ど陰性である。

4. 糖原は短期の場合、給食後著明に現われるが、長期に至ると殆ど現われない。

5. マイトコンドリアは短期飼育では食後の動きを示し、脂質代謝と関連あるを思わしめるが、長期に至ると動きは極めて弱い。

6. リボ核酸は短期の場合、著変が認められないが、長期では染色性弱く、食後の細胞内分布の異動も少ない。

7. 3ヶ月無脂肪食で飼育し、5日間完全食を与えると、脂肪は正常に近い動きを示すが、燐脂質化は少なく、糖原も6時間後僅に現われるのみである。

8. その場合マイトコンドリアの動きは正常に近いが、幾分遅れる。また R. N. A. の動きも正常に近い。

9. 5日間完全食を与えるも、粗大顆粒を持った細胞或は無構造の細胞は消失しない。

10. 以上を総合すると、無脂肪食にて一定期間飼育したのち完全食を与えると、短期飼育では脂肪代謝障害は軽くなるが尚残って居り、糖質代謝及び蛋白代謝の障害は認められぬ。長期飼育の場合は、脂肪のみならず、糖質、蛋白の代謝障害も増強されると思われる。併し5日間連続して完全食を与えると、蛋白代謝障害は著明に軽減され、糖質及び脂質代謝も幾分軽減される事が想像される。

拙筆するに臨み、恩師高木教授に終始懇篤な御指導と周到な御校閲を賜ったに對し満腔の謝意を捧げ、又本実験に多大の御助力を戴きました大野博士並びに広瀬助手に對し感謝の意を表します。

Author's Abstract.

To see what changes occurred in the liver cell with non-fat diet, young male rats were fed with a diet which contained nearly all the nutrients except fat for a period of one week to three months. And the result of its observation was as follows:

After a month's feeding the increase of body weight stopped and showed a gradual loss. From the first week fat granules appeared in the liver cells when hungry and showed a gradual increase. These fat

granules were usually small and were of neutral fat, at first they are highly unsaturated with its high during the first month. After that the saturated one gradually started to increase. Once the saturated one started to increase there was no time where the unsaturated starts to reincrease.

Mitochondria gradually became fine thread-like, and ribonucleic acid formed into a net-like state. Glycogen, also increased up to the first month, then started to decrease. Fat appeared in the nucleus during the early part of the raising and its diameter gradually enlarged. Also, during the first month there was an increase in the number of interstitial and stellate cells. After meal during the early part of the raising, there was only a slight decrease of fat, and a great increase of glycogen, and the shape of mitochondria showed some changes. But during the latter part of the raising, these changes hardly occurred.

As seen here, rats raised with non-fat diet showed fat liver from the early stage which gradually came to a higher degree and after a month dysfunction of the liver cell became quite strong. When fat was added to make a full diet in their last meal, phosphatide of the fat, appearance of glycogen and granulation of the mitochondria were seen in rats kept for a short period and showed a picture of activation in the cell function. When the raising was over a month no phosphide of fat occurred, the appearance of glycogen was very small, and on the other hand, mitochondria became very fine and the stainability of ribonucleic acid became very poor. The function of the cell was quite disturbed. When a full diet was given for five days to rats, raised for three months, they showed a tendency to become near normal.

文 献

- Burr, G. O.**: A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from diet. *J. biol. Chem.* 82 (1929). P. 345. — **Hoerr, N. L.**: Histological studies on lipins. *Anat. Rec.* 66 (1936). P. 149. — **Hume, E. M., L. C. A. Nunn, I. Smedley-Machean a. H. H. Smith**: Studies of the essential unsaturated fatty acids in their relation to the fat-deficiency disease of rats. *Biochem. J.* 32 (1938). — **森 香中**: 不飽和脂肪酸缺乏ラッテに於ける生殖器官脂質の消長に関する研究. *生化学.* 25 (1954). — **Nunn, L. C. A. a. I. Smedley-Maclean**: The nature of the fatty acids stored by the liver in the fat-deficiency disease of rats. *Biochem. J.* 32 (138). — **尾崎準一**: 食用油脂栄養論. 雄山閣, 昭23. — **佐橋佳一**: 生物化学. 産業図書, 昭27. — **島田浩**: 脂肪欠除に関する実験的研究. *日本内科会誌.* 40 (昭28). — **丹下梅子**: *Proc. imper. Acad. (Jap.)* 8 (1932). P. 190. — **山田正興**: 肝脂質と食餌の条件との関係. *大阪大学医誌.* 3 (昭26).

附圖 (I) の説明.

(短期投与実験.)

図 1. 3 週間飼育空腹時. Levi 氏液固定. 脂肪は大半オスミアム酸還元性を失い, 明視性の空腔として現れる. マイトコンドリアは長糸状. $\times 1000$.

図 2. 1 週間飼育空腹時. Levi 氏液固定. マイトコンドリアは太い糸状及び桿状が主体. $\times 1000$.

図 3. 3 週間飼育. Scarlet red 染色. 核内脂肪. $\times 1000$.

図 4. 2 週間飼育. 標本 Levi 氏液固定, Heidenhain 氏鉄へマトキシリン染色, 対物鏡 Zeiss Achr. $\times 100$, 接眼鏡 Zeiss $\times 10$, 筒長 160mm とし, Abbe の描写器にて作業, 机上で投影法により描写した. a. 空腹時. マイトコンドリアは糸状が多い. b. 給食後 1 時間. マイトコンドリアは顆粒状. c. 給食後 3 時間. マイトコンドリアは桿状, 顆粒状, 糸状を混ざる. d. 給食後 6 時間. マイトコンドリアは桿状, 顆粒状. e. 給食後 12 時間. マイトコンドリアは糸状が大半.

Explanation of plate (I).

(Experiments on short period diet ones.)

Fig. 1. 3 wks administration and taken during period of hunger. Fixed with LEVI's solution. Fat loses most of its reductive character by osmotic acid and appears as a clear vacuoles. Mitochondria appear long thready. $\times 1000$.

Fig. 2. 1 wk administration and taken during period of hunger. Fixed with LEVI's solution. Mitochondria are mainly thick thread-like or rod-like shape. $\times 1000$.

Fig. 3. 3 wks. administration. Stained with scarlet red. Intranuclear fat. $\times 1000$.

Fig. 4. 2 wks. administration. Fixed with LEVI's solution and stained with HEIDENHAIN's iron hematoxilin. Used $\times 100$ ZEISS Achr, objective lens, $\times 10$ ZEISS eye lens, and a 160 mm sleeve with ABBE's descriptor to project the figure on the work table. a During the hunger period there are many thready mitochondria. b An hour after feeding mitochondria become granular. c 3 hrs after feeding mitochondria are mixture of rod-like, granular, and thready ones. d 6 hrs after feeding mitochondria are rod like and granular. e 12 hrs after feeding mitochondria are mostly thready.

龍門幹子論文附圖 (I)

附図(Ⅱ)の説明

(長期投与実験.)

- 図 1. 3ヶ月空腹時. Pyronin-methyl green 染色. 星細胞の増数を示す. $\times 500$.
図 2. 1ヶ月空腹時. Levi 氏液固定. 間質細胞の増殖を示す. $\times 500$.
図 3. 3ヶ月空腹時. Scarlet red 染色. 脂肪粒は微粒として充満する. $\times 1000$.
図 4. 1ヶ月空腹時. Levi 氏液固定. 無極造の細胞. $\times 1000$.
図 5. 3ヶ月空腹時. Levi 氏液固定. 脂肪はオスミウム酸好性を示す. 糸状のミトコンドリアは正常に比し細い. $\times 1000$.
図 6. 正常時のミトコンドリア. Levi 氏液固定. 糸状を主とし桿状, 顆粒状を混ざる. $\times 1000$.

Explanation of plate (II).

(Experiments on long period diet ones.)

Fig. 1. 3 months administration and taken during period of hunger. Stained with pyronin-methyl green. Increased stellate cells. $\times 500$.

Fig. 2. 1 month administration and taken during period of hunger. Fixed with LEVI's solution. Increased interstitial cells. $\times 500$.

Fig. 3. 3 months administration and taken during period of hunger. Stained with scarlet red. Filled with fine granular fat droplets. $\times 1000$.

Fig. 4. 1 month administration and taken during period of hunger. Fixed with LEVI's solution. Cells without ordinary structure. $\times 1000$.

Fig. 5. 3 months administration and taken during period of hunger. Fixed with LEVI's solution. Fat shows affination to osmotic acid. The thready mitochondria are thinner than normal ones. $\times 1000$.

Fig. 6. Normal mitochondria. Fixed with LEVI's solution. Mainly of thready ones, but also consists rod shape and granular ones.

龍門幹子論文附圖（Ⅱ）

附図（Ⅲ）の説明.

（長期投与実験．）

図 7. 3ヶ月飼育. 標本は Levi 氏液固定, Heidenhain 氏鉄ヘマトキシリン染色, 対物鏡, Zeiss Achr $\times 100$, 接眼鏡 Zeiss $\times 10$, 筒長 160 mm とし, Abbe の描写器にて作業机上で投影法により描写した. a. 空腹時ミトコンドリア. b. 給食後6時間ミトコンドリア. c. 給食後12時間ミトコンドリア. 以上ミトコンドリアは給食により動きを示さない.

Explanation of plate (III).

(Experiments on long period diet ones.)

Fig. 7. 3 months administration. Specimen fixed with LEVI's solution. Stained with HEIDENHAIN's iron hematoxilin. Used $\times 100$ ZEISS Achr objective glass, $\times 10$ ZEISS eye lens and 160 mm sleeve with ABBE's descriptor to project figure on the work table. a. Mitochondria during the period of hunger. b. Mitochondria 6 hrs after feeding. c. Mitochondria 12 hrs after feeding. These mitochondria show no change by feeding.

龍門幹子論文附圖(Ⅲ)

7a

7b

7c

龍門幹子論文附圖(IV)