析波長組み合わせにより、約 2 % の平均偏差で分析可能といえる。

4. 結 言

一般に紫外分析においては、スペクトル純度がきわめてよいため、実測の吸光係数とスペクトル、データーからの計算による吸光係数との一致度がよいことを経験的に知った。したがって筆者はこれを利用すれば、分析法の実験に先立ち、あらかじめその精度および最適分析波長の組み合わせの理論的推定が可能となるはずであると思い、これをエチルトルエン異性体の分析法の検討にあたり検討してみたところ、推測どおりの好結果が得られ

た。なお本法はランベルト、ベアーの法則および加成性の法則の上になりたつ、すべての分子スペクトルを利用した混合物の定量分析に対しても適用可能である。したがって、本法により、あらかじめ分析精度を理論的に推定し、良好なときは実験が有意義であるからこれを行ない、不良なときは他の分析法の検討を行なうというようにすれば、紫外分析法の研究の上にかなり役立つといえう。なお本研究にあたり種々御指導と御鞭撻をいただいた京大、理学部内田洋一教授に対して深く感謝する。また本研究に対して協力を受けた丸善石油中研石川忠雄、鳥井俊典両君に対して感謝する。

分 光 研 究 第 9 卷 第 3 号

肝の成長および肝部分切除後の再生 に伴う肝細胞当り DNA 量の推移

——組織化学的研究——

田 村 和 也*

(昭和 36 年 1 月 6 日受理)

Changes of DNA Content per Cell of the Liver during Postnatal Growth and Regeneration after Partial Hepatectomy

——Histochemical Study——

Kazuya TAMURA

(Department of Pathology, Faculty of Medicine, Osaka University; Cancer Research
Institute, Osaka University)

Changes of ploidy pattern of the rat liver during postnatal growth and the regeneration after partial hepatectomy are studied. During postnatal growth a rapid development of Tetraploid Class was noted in peripheral and intermediate zones of the hepatic lobules, but the concurrent decrease of binucleate cells (after 5 weeks postnatally) was small.

Ploidy pattern of the regenerating rat liver showed bimodal, transient increase of Higher Ploidy cells (containing more DNA per cell than Tetraploid cells) and the rate of increase was much higher in the two zones mentioned above. There was poor inverse relations between the shifts of mononucleate and binucleate cells. Polyploidization of the hepatic cells may signify the maturity and the activity of the tissue, and there may be some mechanisms of polyploid formation other than the fusion of binucleate cells.

* 大阪大学医学部病理学第一教室、大阪大学癌研究所
本研究の要旨は昭和 35 年 12 月 1 日、第 9 回日本分光
学会生物部会総会において同じ演題の下に発表した。

1. 緒 言

1936 年 Caspersson¹⁾ により顕微分光測光法が始めら

れて以来、本法による組織化学的定量は医学、生物学の分野における有力な研究手段として用いられて来た。殊に Feulgen 反応の定量性が明らかにされるにつれ²⁾⁻⁵⁾、本反応による核当り DNA 量の研究は顕微分光測法の領域の大半を占め、その数は枚挙にいとまがない。しかしこれ等の研究を顧みるにその対象とする組織内の核の選択に関してはほとんどが標本内に含まれる核全体についての無作為抽出によっており、特に肝細胞核の研究ではその肝小葉内における局在性を考慮して行なわれたものは認められず、この様な方法をもってしては顕微分光測法の特長、すなわち組織像の多様性に依じて組織化学的定量をなし得る本法の特長が十二分に生かされているとは思えない。このような観点より肝の組織化学的定量を行なう基礎段階として、本研究では鼠肝の成長および肝部分切除後の再生に伴う ploidy pattern の変動を、肝小葉内局在性を考慮しながら検討した。

2. 肝の成長に伴う Ploidy Pattern の推移

2.1. 材料および方法

生後 1, 2, 3, 5, 12 週の健康な Sprague-Dawley 系白鼠(雄)を用いた。

各白鼠はエーテル吸入により屠殺し直ちに肝臓を剔出、両内側葉および両外側葉より組織片を切り取り、10%ホルマリン水溶液に24時間固定した。なお屠殺は午後1時より午後3時の間⁶⁾⁷⁾に行なわれた。固定組織は通常の方法でパラフィン包埋し、厚さ15 μ の切片を作製、これに当教室那須の方法⁸⁾で Feulgen 染色を施した。

測定に先立って上記 Feulgen 染色切片につき各匹10個所前後の肝小葉(小葉構造の明瞭なもの)を顕微鏡写真撮影し(80倍)これをキャピネ版印画紙上に引き伸ばした。

ついで印画紙上に中心静脈よりグリソン氏鞘にかけ幅1cmの帯状部分を画き、この帯状部分に含まれる核のうち測定可能なもの(核が円形に近く染色状態が均質なもの)全部を測定対象とした。二核細胞の場合は二核

の中心が上記の範囲内にある肝細胞の核すべてのうち測定可能なものを選んだ。この結果1匹当りの帯状部分数は4~7個、1匹当りの測定細胞数は120~200個となった。以上のごとく対象を設定したのち、オリンパス光学製の顕微分光光度計を用い肝細胞核内のDNA量(相対量)を測定し、これを肝細胞当りのDNA量に換算して記載した(すなわち二核細胞の場合は2つの核内DNA量を合した値がその細胞当りのDNA量とされている)。

測定に使用した光の波長は546 m μ 、10倍の接眼レンズ、40倍の対物レンズを用い、肝細胞核中央での光束の径は約2 μ とした。

核内DNA量の算出に用いた式は次のごとくである。

$$\text{核内 DNA 量} = rr'E \quad (E = \log T)$$

r , r' はそれぞれ核の長径および短径、 T は読み取った透過率を表わしている。

測定後顕微鏡写真に基づき各帯状部分の中心静脈よりグリソン氏鞘中心迄の全長と計尺により三等分し、中心静脈側より順に中心帯、中間帯、周辺帯として各帯毎に測定結果を集計、検討を加えた。

Fig. 1 (a). Development of ploidy patterns of the liver cells as measured in a lobule as a whole with growth after postnatal period.

- 1) T. Caspersson: *Skand. Arch. Physiol.*, **73**, Suppl., 1 (1936).
- 2) R.E. Stowell: *Stain Technol.*, **20**, 45 (1945).
- 3) R.E. Stowell: *Stain Technol.*, **21**, 137 (1946).
- 4) M.A. Lessler: *Arch. Biochem. Biophys.*, **32**, 42 (1951).
- 5) F.H. Kasten: *Histochemie*, **1**, 2 (1958).
- 6) B. Jackson: *Anat. Rec.*, **134**, 365 (1959).
- 7) J.J. Jaffe: *Anat. Rec.*, **120**, 935 (1954).
- 8) 那須健治: 阪大医誌, **12**, 1123 (1960).

2.2. 成 績

Alfert⁹⁾, 直良¹⁰⁾ら¹¹⁾¹²⁾によれば幼若な鼠の肝細胞はほとんど2倍体より成るとされている。したがってFig. 1の11~13にピークをもつ肝細胞群は2倍体群 (Diploid Class) と考えられ, 次の20~25にピークを有する肝細胞群は4倍体群 (Tetraploid Class) と考えられる。

Fig. 1 (b). Ploidy patterns in the three zones of hepatic lobules after 7 and 12 weeks of birth.

この2群には高および低2倍体 (hyper-, hypo-diploid), 高および低4倍体 (hyper-, hypo-tetraploid) の含まれる可能性はあるが, ヒストグラムよりそれらを解析することは困難であり, また本法による誤差の範囲 (10%以下)¹³⁾¹⁴⁾をも考えて上述の各群に分けた。

- 9) M.E. Alfert, I.I. Geschwind: *Exp. Cell Rec.*, **15**, 230 (1958).
- 10) H. Naora: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, 949 (1957).
- 11) H.H. Swift: *Physiol. Zool.*, **23**, 169 (1950).
- 12) H.S. DiStefano, H.F. Diermeier and J. Tepperman: *Endocrinol.*, **51**, 386 (1952).
- 13) H. Ris, A.E. Mirsky: *J. Gen. Physiol.*, **33**, 125 (1949).
- 14) K. Patau: *Chromosoma*, **5**, 341 (1952).

さらに4倍体群の範囲をこえた arbitrary unit 35以上のDNA量をもつ肝細胞はHigher Ploidy Classと名付けて一括した。これら倍体群の推移はTable 1, Fig. 2のごとくである。

肝小葉全体としての推移は従来の報告^{9)–12)}にほぼ一致している。

すなわち生後2, 3週のPloidy Patternはほとんど2倍体群のみより成るが, 3週以後は4倍体群が週を追って激増し, 7週以後はほぼ安定する。

5週以後ではHigher Ploidy Classも出現するが, 12週後にもなお7.4%と低率を占めるに過ぎない。

また測定された肝細胞中での2核細胞の出現頻度は5週を頂点として以後やや減少する。

ところがこのPloidy Patternを各帯別に分けて見ると (Table 1, Fig. 1 (b)), 5週以後のPatternは中心帯とそれ以外とはかなり相違しており, 4倍体群の発達は中心帯において著しく遅れている。

Higher Ploidy Classについても著明ではないが同様の傾向が見られる。

Fig. 2 (a). Percentages of ploidy classes of the liver cells with growth after postnatal period.

Table 1. Percentages of ploidy classes of the liver cells with growth after postnatal period.

Weeks after birth	Zones of hepatic lobule	Diploid Class %		Tetraploid Class %		Higher Ploidy Class %		Binucleate cell %	
			Lobule as a whole		Lobule as a whole		Lobule as a whole		Lobule as a whole
1 weeks	central	96 (92~100)	93.35 (93.2~93.5)	4.0 (0~8)	6.65 (6.5~6.8)			4 (0~8)	5.2 (4.5~5.8)
	intermed	93.4 (92~94.7)		6.6 (5.3~8)				5.3 (5.3~5.3)	
	peripheral	92.1 (91.7~92.5)		7.9 (7.5~8.3)				4.9 (3.6~6.2)	
2 weeks	central	95.0 (94.8~95.1)	90.6 (88.6~92.5)	5.0 (4.9~5.2)	9.4 (7.5~11.4)			6.5 (3.3~9.7)	6.0 (4.6~7.4)
	intermed	81.8 (80.2~83.3)		18.2 (16.7~19.8)				9.2 (7.7~10.6)	
	peripheral	93.7 (89.5~97.8)		6.3 (2.2~10.5)				2.1 (2.0~2.1)	
3 weeks	central	82.7 (82.6~82.7)	82.5 (80.3~84.6)	17.3 (17.3~17.4)	17.5 (15.4~19.7)			6.6 (5.7~7.5)	11.3 (10.1~12.4)
	intermed	82.7 (78.6~86.7)		17.3 (13.3~21.4)				16.5 (16.3~16.6)	
	peripheral	82.9 (80~85.7)		17.1 (14.3~20)				13.1 (9.5~16.6)	
5 weeks	central	67.9 (65.3~70.7)	58.4 (53.2~61.1)	31.3 (26.8~34.7)	39.6 (36.9~43.3)	0.8 (0~2.5)	2.0 (0.8~3.4)	17.1 (13.6~20.5)	17.1 (14.1~20.8)
	intermed	55.0 (49.0~63.6)		43.3 (33.4~48.9)		1.7 (0~3.0)		17.4 (12.5~25)	
	peripheral	59.0 (50.0~68.0)		39.5 (29.5~47.9)		1.5 (0~2.3)		14.9 (12.7~17.2)	
7 weeks	central	38.2 (28.9~45.6)	24.0 (22.5~25.6)	59.6 (49.2~73.1)	72.8 (70.3~74.3)	2.2 (0~5.2)	3.2 (1.8~4.1)	15.2 (7~26.2)	14.3 (8.4~22.2)
	intermed	14.6 (8.8~21.1)		82.8 (78.9~88.3)		2.7 (0~5.2)		10.7 (9.1~14.6)	
	peripheral	18.7 (15.9~22.1)		76.6 (70.7~80.2)		4.7 (1.8~7.2)		15.6 (4.9~21.4)	
12 weeks	central	33.7 (27~40.8)	25.4 (23.9~26.8)	61.7 (53.1~70.3)	67.2 (63.9~71.5)	4.6 (2.7~6.1)	7.4 (4.6~9.3)	9.6 (3.9~12.8)	13.0 (9.3~16.9)
	intermed	18.7 (14.7~25.5)		73.7 (68.1~77.0)		7.6 (6.4~8.3)		14.5 (12.8~18)	
	peripheral	19.7 (19.6~19.7)		73.9 (71.6~76.2)		6.4 (4.3~8.7)		10.3 (8.1~12.5)	

Numbers in parentheses indicate the percentages of maximum and minimum in each group.

Fig. 2 (b), Percentages of ploidy classes in the three zones of hepatic lobules with growth after postnatal period.

3. 肝部分切除後の再生に伴う Ploidy Pattern の推移

3.1. 材料および方法

生後7～8週の Sprague-Dawley 系白鼠 (雄) (体重150～175 g) を使用した。

肝切除は Stowell ら¹⁵⁾ の方法により、エーテル麻酔下で肝の内側右葉、内側左葉および外側左葉を切除した。食餌 (麦に少量の魚粉を混じったもの) および水は術後より屠殺までの間、自由に摂取させた。

肝切除1, 2, 3, 5, 7, 14日後に各3匹、28日後に2匹の被術鼠を屠殺し (午後1時より午後3時の間⁶⁾⁷⁾、肝の外側右葉および尾状葉より組織片を取り10%ホルマリン水溶液に24時間固定した。固定後前節同様の方法で厚さ15 μ の Feulgen 染色切片を作製、顕微分測光法により肝細胞当りの DNA 量を測定した。測定対象の設定方法および測定法も前節同様である。

さらに測定に用いた Feulgen 染色切片より鼠1匹当たり肝細胞2000個中に含まれる核分裂数 (核分裂中期のもの) を算え千分率として示した。

また組織所見検討のため、通常の方法でヘマトマキシリン・エオジン染色切片を作製した。

3.2. 成 績

部分切除後再生肝の ploidy pattern において著明なことは2倍体群の減少と多数のアニュープロイドを含む Higher Ploidy Class の激増である。

このように ploidy pattern の変動が著しい場合には

ヒストグラム上で各倍体群を判別することが困難なものも出現するが、本研究のごとく成長に伴う推移を同時に観察した場合には、前節で定めた各群の範囲は再生肝のヒストグラムにも共通したものと考えられ、容易に ploidy pattern の変動を捉えることが出来る。

その変動状態は肝小葉全体としては Table 2 (a), (b) および Fig. 4 (a) のごとくである。

すなわち2倍体群は肝部分切除1日後より14日後迄は多少の起伏を示しながらも対照値 (生後7週の正常鼠肝) よりははるかに低い。

Fig. 3 (a). Changes of ploidy patterns of the regenerating liver cells as measured in a lobule as a whole.

15) H.O. Yokoyama, M.E. Wilson, K.K. Tsuboi and R.E. Stowell: *Can. Res.*, **13**, 80 (1953).

Table 2 (a). Percentages of ploidy classes of the regenerating liver cells.

days after hepat- ectomy	Zones of hepatic lobule	Diploid Class %		Tetraploid Class %				Higher Ploidy Class %			
				Mononucleate cell		Binucleate cell		Mononucleate cell		Binucleate cell	
			Lobule as a whole		Lobule as a whole		Lobule as a whole		Lobule as a whole		Lobule as a whole
Control	central	38.2 (28.9-45.6)		44.6 (36.9-49.7)		15.0 (8.8-23.8)		2.2 (0-5.2)		0	
	intermed	14.6 (8.8-21.1)	24.0 (22.5-25.6)	73.2 (65.8-77.5)	60.3 (56.3-63.5)	9.6 (3.8-13.1)	12.5 (6.8-12.6)	1.6 (0-2.9)	1.6 (0-2.9)	1.1 (0-3.3)	1.6 (1.2-1.8)
	peripheral	18.7 (15.9-22.1)		63.9 (56.1-75.2)		12.7 (5.0-18.4)		0.6 (0-1.8)		4.1 (0-7.2)	
1 days	central	9.5 (3.6-14.0)		60.7 (59.5-61.9)		9.3 (2.5-12.8)		9.6 (2.1-12.2)		10.7 (8.9-12.7)	
	intermed	4.9 (2.5-6.9)	8.3 (7.6-9.6)	72.1 (70.2-73.5)	66.7 (63.1-75.9)	3.0 (1.4-5.0)	5.1 (1.5-7.6)	9.8 (1.5-13.5)	9.7 (8.3-12.2)	10.1 (8.1-12.5)	10.1 (7.8-13.2)
	peripheral	9.5 (5.6-16.3)		70.1 (57.1-75.9)		1.4 (0-4.1)		10.1 (8.2-12.9)		8.9 (3.2-14.2)	
2 days	central	9.9 (5.7-15.7)		46.7 (39.2-51.0)		0.7 (0-2.1)		21.4 (12.5-28.3)		21.3 (15.1-27.1)	
	intermed	4.9 (1.8-9.4)	6.6 (4.9-9.9)	45.0 (35.7-56.1)	44.5 (37.7-51.2)	1.2 (0-1.9)	0.8 (0-1.9)	29.5 (14.0-48.1)	27.8 (14.6-43.8)	19.2 (12.5-26.3)	20.2 (13.6-28.5)
	peripheral	5.8 (5.7-5.9)		41.2 (26.4-50.0)		0.6 (0-1.9)		32.3 (17.0-54.8)		20.3 (28.3-13.2)	
3 days	central	10.1 (9.1-13.0)		47.9 (51.9-57.3)		10.9 (9.1-14.3)		18.6 (13.0-25.7)		5.4 (3.0-7.4)	
	intermed	5.9 (4.3-8.3)	8.6 (6.3-11.3)	42.9 (41.3-62.6)	52.8 (45.3-60.0)	0	4.1 (3.7-4.6)	36.7 (16.4-47.7)	28.5 (15.4-39.8)	9.4 (6.5-13.4)	5.9 (4.1-8.7)
	peripheral	7.8 (4.1-13.5)		52.4 (38.8-59.5)		1.8 (0-5.4)		34.2 (16.2-51.0)		3.8 (9-6.5)	
5 days	central	19.1 (12.2-30.2)		52.1 (46.5-61.0)		7.9 (4.9-12.8)		13.8 (12.2-16.3)		6.8 (0-9.7)	
	intermed	5.2 (0-8.0)	11.6 (6.6-16.9)	70.8 (66.0-74.0)	63.0 (52.1-70.8)	3.8 (0-7.5)	4.5 (2.6-6.2)	13.4 (11.3-15.0)	14.9 (11.2-17.7)	6.8 (4.0-11.3)	6.0 (2.3-9.2)
	peripheral	11.6 (1.7-22.0)		65.0 (53.1-70.3)		2.0 (0-4.2)		17.3 (10.4-20.4)		4.9 (2.3-9.2)	
7 days	central	10.8 (4.1-17.6)		67.4 (64.8-71.3)		0.7 (0-2.1)		7.8 (6.4-8.8)		13.4 (8.8-16.4)	
	intermed	6.0 (4.4-7.5)	5.9 (3.9-7.4)	63.4 (53.0-71.1)	67.5 (62.5-73.8)	0.7 (0-2.2)	1.2 (0-1.9)	17.6 (11.1-26.5)	13.6 (9.0-18.4)	12.2 (11.1-14.3)	11.8 (8.2-15.2)
	peripheral	2.0 (1.8-2.3)		70.9 (63.0-83.7)		2.0 (0-3.6)		15.1 (7.0-20.4)		10.0 (4.6-14.8)	
14 days	central	5.4 (4.2-7.3)		80.9 (77.2-87.5)		1.5 (0-2.5)		1.6 (0-4.9)		9.9 (6.3-16.2)	
	intermed	12.3 (4.2-24.4)	10.3 (5.7-16.2)	67.4 (58.5-75.0)	75.2 (69.0-78.8)	4.5 (2.1-7.3)	2.9 (2.0-4.1)	5.0 (2.4-8.4)	2.7 (2.0-3.3)	10.8 (7.3-14.6)	8.8 (7.3-9.2)
	peripheral	13.0 (8.0-17.0)		76.3 (70.8-82.0)		1.7 (0-6.0)		1.4 (0-2.4)		6.1 (4.0-7.3)	
28 days	central	36.9 (33.3-40.4)		51.2 (47.6-54.8)		6.0 (4.8-7.1)		0		6.0 (4.8-7.1)	
	intermed	30.4 (29.1-31.7)	37.7 (37.5-37.9)	51.3 (46.3-56.3)	48.9 (46.0-51.9)	5.5 (3.6-7.3)	5.4 (5.1-5.6)	8.2 (7.3-9.1)	3.0 (2.9-3.1)	4.6 (1.8-7.3)	5.0 (1.9-8.0)
	peripheral	44.1 (40.7-47.5)		45.2 (44.4-46.0)		5.1 (3.7-6.4)		1.0 (0-1.9)		4.7 (0-9.3)	

Numbers in parentheses indicate the percentages of maximum and minimum in each group.

Fig. 3 (b). Ploidy patterns in the three zones of hepatic lobules after 2 and 7 days of hepatectomy.

Fig. 4 (a). Percentages of ploidy classes of the regenerating liver cells as measured in a lobule as a whole.

これに対し Higher Ploidy Class は 1 日後より激増し、2 日後には対照値の 15 倍の高値を示して以後やや減少、7 日後に再び小さいピークを持っている。

4 倍体群は Higher Ploidy Class と逆に 2 日後を谷とするかなりの減少を示す。

28 日後には 2 倍体群は対照値よりかえって多く、4 倍体群は少なく、生後 5～7 週の正常鼠肝に相当する ploidy pattern を示しているが Higher Ploidy Class の値はなお比較的高い。

一方核分裂頻度の最高値は 1 日後にあって (Table 3) 2 倍体の減少とほぼ期を一にして逆に増加し、他の群の変動には先立つ推移を示している。なお 7 日後にも小さいピークが見られる。

ところで肝の 2 核細胞は全肝細胞中かなりの率を占め^{16)–20)} (前節“肝の成長に伴う ploidy pattern の推移”では生後 7 週で 14.3%)、その生成機転も 1 核肝細胞とは異なるとされている。^{16)18)21)–23)} そこで前述した倍体群を 1 核肝細胞、2 核肝細胞に類別してその ploidy pattern の変動を図示すると Fig. 4 (b) のごとく、両者の推移には多少の差が見られる。

Fig. 4 (b). Percentages of ploidy classes of the regenerating liver.

- 16) J. Böhm: *Z. f. mikr.-anat. Forsch.*, **24**, 263 (1931).
- 17) J.W. Wilson, E.H. Leduc: *Am. J. Anat.* **82**, 353 (1948).
- 18) N.V. Van, H. David: *Z. f. ZellForsch.*, **48**, 653 (1958).
- 19) N.L.R. Bucher, A.D. Glinos: *Can. Res.*, **10**, 324 (1950).
- 20) P.M.G. Aubin, N.L.R. Bucher: *Anat. Rec.*, **112**, 797 (1952).
- 21) M. Clara: *Z.f. mikr.-anat. Forsch.*, **20**, 584 (1930).
- 22) M. Clara: *Z.f. mikr.-anat. Forsch.*, **26**, 45 (1931).
- 23) H.W. Beams, R.L. King: *Anat. Rec.*, **83**, 281 (1942).

Fig. 4 (c). Percentages of ploidy classes in the three zones of hepatic lobules in the regenerating liver.

すなわち 1 核肝細胞については 4 倍体群が 1 日後やや増加し Higher Ploidy Class の高値は 2 日後から 3 日後迄保たれるが、その後は日を追って減少する。

2 核肝細胞については 4 倍体群の変化は 1 核細胞 2 倍体群の変化に酷似している。Higher Ploidy Class に属する 2 核細胞は 2 日後にピークを持ったのち、5 日～7 日後にかけて再び増加する。

ここに Fig. 4 (a) で見られた 1 日後までの 4 倍体の安定状態は 4 倍体 1 核細胞 (Tetraploid-mononucleate cell) と 4 倍体 2 核細胞 (Tetraploid-binucleate cell) とが相殺し合った結果であり、2 日後および 7 日後の Higher Ploidy Class のピークは共にこの群の 2 核細胞 (Higher ploid-binucleate cell) の増加によることがわかる。

以上の推移を肝小葉の 3 つの帯 (中心帯, 中間帯, 周辺帯) に分けて検討すると (Table 2, Fig. 4 (c), Higher Ploidy Class に属する 1 核肝細胞は中心においては最高値は 2 日後にあり、他の 2 帯よりはるかに低い。またその減少もすみやかである。一方中間, 周辺帯でのこの群の最高値は 3 日後に示されている。

しかし 4 倍体 1 核細胞は中心帯でかなり増加している。

3.3. 核当り DNA 量平均値の推移

前述したように肝部分切除後再生肝の ploidy pattern が対照と最も異なる点は 2 倍体の減少と Higher Ploidy

Class の激増である。したがって Price and Laird²⁴⁾, Thomson²⁵⁾, Ultmann²⁶⁾, 河谷²⁷⁾ が述べている再生肝における核当り平均 DNA 量 (生化学的定量) の増加にはこの Higher Ploidy Class の増加が大きく関与していることが十分に推定される。これら諸家の生化学的定量結果と対応させるため、本実験成績より核当り DNA 量の平均値を算出すれば Table 3 のごとくなる。

肝再生過程の組織学的所見は Stowell¹⁵⁾ らの記載と同様である。

4. 考 察

4.1. 肝の成長に伴う推移

肝の成長に伴う ploidy pattern の推移は肝小葉全体としては Alfert⁹⁾ 直良¹⁰⁾, Di Stefano¹²⁾ の報告にほぼ一致しており、成熟した鼠の

Table 3.

Days after hepatectomy	Mean DNA/nucleol.	Mean DNA/nucleol. except for Higher Ploidy Class	Number of mitoses in 1000 hepatic cells
Control (7wks. after birth)	18.8 (100)*	18.2 (100)*	0
1 day	23.0 (122)*	20.5 (112)*	8.0 (12, 9, 3)*
2 days	32.2 (171)*	23.6 (130)*	4.0 (5, 5, 2)*
3 days	30.3 (161)*	20.5 (112)*	1.5 (3, 1.5, 0)*
5 days	25.0 (133)*	20.5 (112)*	0
7 days	25.4 (135)*	21.3 (117)*	1.17 (2, 1, 0.5)*
14 days	21.0 (118)*	20.5 (112)*	0
28 days	19.2 (102)*	17.2 (94.5)*	0

* rate of increase

* Number of mitoses in each rat

- 24) J.M. Price, A.K. Laird: *Can. Res.*, **10**, 650 (1950).
- 25) R.Y. Thomson, F.L. Heagy, W.C. Hutchison and J.N. Davidson: *Biochem. J.*, **53**, 460 (1953).
- 26) J. E. Ultmann, E. Hirschberg and A. Gellhorn: *Can. Res.*, **13**, 14 (1953).
- 27) 河谷高士: 阪大医誌, **11**, 3193 (1959).

肝細胞の大部分が4倍体群より成る事実は人の肝細胞のほとんどが2倍体より成るとする那須⁸¹⁾の成績と著しい対照を示している。

また Alfert⁹⁾ は “2核細胞の減少とともに4倍体の増加が見られることは2核細胞の核の融合により4倍体が形成されとの説を支持している” と述べているが、本研究成績では4倍体群の激増は2核細胞が、なお増加の途上にある生後3週においてすでに始まっており、5週以後の2核細胞の減少状態を見てもこの程度の減少をもって同時期の4倍体群の著しい増加を説明しつくすことは困難と思われる。次に肝小葉の各帯別の推移では、中心帯において4倍体群の発達が遅れていることは肝小葉が周辺より形成されとの Milne²⁸⁾, McKeller²⁹⁾ らの報告より考えてむしろ当然と思われる。そして中心帯では組織の抵抗力、修復力が他より弱いという病理学的知見、および肝細胞核の大小不同が年令とともに著しくなるという Andrew³⁰⁾, 田中³¹⁾, 田内³²⁾の成績を考え合わせて、中間帯、周辺帯における4倍体の発達は組織の成熟性を表現するものではないかと思われる。

4.2. 肝部分切除後の再生に伴う推移

数多く行なわれて来た部分切除後再生肝の研究の中、肝のポリプロイドについて論じたものとしては Sulkin³³⁾, Laquerriere³⁴⁾, Ganzeli³⁵⁾, Geschwind³⁶⁾ らのものが見られる。

およそ再生肝におけるポリプロイドの追求は必ずしも肝細胞増殖に直接的な因果関係をもたないように思われる。

しかしこのようなポリプロイド形成すなわち核内 DNA 量の倍加機転としては何等かの細胞分裂形式あるいは分裂状態を想定せざるを得ず、DNA 量の変動が他の多数の細胞内物質の変動を伴わずしては起こり得ないこと⁷⁾¹⁵⁾³⁷⁾³⁸⁾ より考えて、再生肝における核当たりあるいは

細胞当たり DNA 量の変化は他の生化学的、生理学的変化の一つの極限的指標とも考えられる。この核内 DNA 量の増加、すなわちポリプロイドの形成機転として今まで唱えられて来た説の主なものには 1) endomitosis あるいは endoreduplication^{39)–41)}, 2) C-mitosis⁴²⁾, 3) 2核細胞の融合⁹⁾⁴³⁾ らがあり、中でも2核細胞の融合説はかなり強い主張となって来た¹²⁾³²⁾⁴⁴⁾。

しかしながら肝のポリプロイドのもつ意義はなお未開拓の分野に属し、従来の報告においても語られている所は極めて少ない。したがって今、再生肝におけるポリプロイドの変化を研究することは、一方では肝の再生現象の一面を追求し、他方では従来の知見をも借りてポリプロイドの形成過程を検討しその意義を追求することではなければならない。

ここに本研究成績を考察するに当っては、第一にポリプロイドの形成、変動を従来の知見と対応しながら説明し、第二に生化学的に捉えられて来た DNA の変化を裏付け、第三にはポリプロイドの意義について多少の解明を試みることにした。

正常肝、再生肝を問わず、鼠肝における核分裂が大部分2倍体の細胞に見られることは直良¹⁹⁾, 牧野⁴⁵⁾の研究が示している。しかるに本成績を見ると、核分裂頻度が高値を示す1日後、7日後には2倍体群は減少し、一方4倍体群および Higher Ploidy Class は増加している。すなわちポリプロイドの形成傾向は mitotic rate の上昇とともに高まっており、この点より肝細胞の分裂とポリプロイドの形成とは同一の因子によって起こるものであり、ポリプロイドの増加は肝組織の反応に際して、2倍体の増殖に伴って生ずるものではないかと思われる。

しかも1日後、7日後に2倍体群が減少していることより、2倍体からポリプロイド（大部分は4倍体）への移行がかなり高率に起こっているものと推定される。

また2日後に4倍体群の最小値および Higher Ploidy Class の最大値が存在することは4倍体より Higher

- 28) L.S. Milne: *J. Path. Bact.*, **13**, 127 (1909).
- 29) M. McKeller: *Am. J. Anat.*, **85**, 263 (1949).
- 30) W. Andrew, H.M. Brown and J.B. Johnson: *Am. J. Anat.*, **72**, 199 (1943).
- 31) S. Tanaka: *Kurume Med. J.*, **5**, 245 (1958).
- 32) H. Tauchi, T. Morikawa: *Nagoya Med. J.*, **2**, 1 (1954).
- 33) N.M. Sulkin: *Am. J. Anat.*, **73**, 107 (1943).
- 34) R. Laquerriere: *Nature*, **180**, 1199 (1957).
- 35) G. Ganzeli: *Arch. Biol.*, **68**, 1 (1957).
- 36) I.I. Geschwind: *Exp. Cell Res.*, **15**, 252 (1958).
- 37) R.E. Stowell: *Arch. Path.*, **46**, 164 (1948).
- 38) A.B. Novikoff, V.R. Potter: *J. Biol. Chem.*, **173**, 223 (1948).

- 39) L. Geitler: *Naturwissenschaften*, **26**, 722(1938).
- 40) H.H. Swift: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **36**, 643 (1950).
- 41) A. Levan, T.S. Hauschka: *J. Natl. Can. Inst.*, **14**, 1 (1953).
- 42) E.M.H. Creech: *Can. Res.*, **18**, 78 (1958).
- 43) H.W. Beams, R.L. King: *Anat. Rec.*, **83**, 281 (1942).
- 44) H.O. Yokoyama, M.E. Wilson, K.K. Tsuboi and R.E. Stowell: *Can. Res.*, **13**, 86 (1953).
- 45) S. Makino, T. Tanaka: *Tex. Rep. Biol. Med.*, **11**, 588 (1953).

Ploid への移行を暗示している。

前述の融合説よりすれば 4 倍体群の 2 核細胞（それぞれの核が 2 倍体の DNA 量をもつもの）は 2 倍体の分裂に際する細胞質分裂の抑制によって生じ、ついでその 2 核細胞の細胞分裂では 2 核が集まって 1 個の metaphase plate を形成し、2 個の 4 倍体が生まれる筈である。

いま仮にこの径路をポリプロイド形成の主な機転と考えるならば、4 倍体群の 2 核細胞と 2 倍体群および 4 倍体群の 1 核細胞とは逆の増減状態を示すはずであり、Higher ploidy class の 1 核細胞と 2 核細胞との間にも同様の関係がなければならぬ。また 4 倍体および Higher Ploid の細胞分裂も高頻度に見られる筈である。しかるに本研究成績より見れば Higher Ploidy Class については 1 核肝細胞と 2 核肝細胞の増減はほぼ同期的であり、4 倍体群についてもその推移は必ずしも前述のごとき鏡像的關係を示してはいない。

もとより本研究ではポリプロイドの形成過程を形態学的に捉えてはならず、また 4 倍体群の 1 核細胞と 2 核細胞との間には互いに逆の推移が見られる部分も存在するので、融合説を否定し去ることはできないが、少なくともポリプロイドの形成をこれのみで説明することはできない。

さらに 2 核肝細胞のみについての各倍体群の変動を見ると Higher Ploidy Class の増減は 4 倍体群の増減と対照的であり (Fig. 4 (b)), 後者より直接前者に移行する可能性も考えられる。

以上を総合して図示すると次の様になる。

肝切除 4 日以後の Higher Ploidy Class の運命については Stowell^{15) 44)} らの報じている再生肝における小壊死巣の出現に対応するものではないかと思われるが明確な根拠はない。しかしその推移を見ても、この群に属する細胞の大部分は分裂、増殖を行なわないものと思われる。

肝部分切除後の再生が小葉周辺に始まることは多くの組織学的研究に記されている。また Sulkin³²⁾ は核の大きさの計測より再生肝の肝小葉中心にポリプロイドが多いことを推定しているが、本実験成績ではポリプロイドの出現はかえって中間帯周辺帯に著しい。この事実はポリプロイドの増加が反応性あるいは増殖性の強い組織に著しいこと、および再生肝においては核の大きさとその DNA 含量とは必ずしも比例しないことを暗示している。

またこの 2 帯が肝切除 7 日後に再び Higher Ploidy Class の増加を示していることは、その時期より見ても Stowell⁴⁴⁾ のいう “Secondary regenerating activity” を表わすものと考えられる。しかし中心帯ではこのような傾向は見られない。

平均核当り DNA 量の増加に関しては、成績の項に記したごとく、肝切除 2 日後には対照値の 1.7 倍に達し Price and Laird²⁴⁾ の生化学的定量結果にほぼ一致している。そしてこの増加に Higher Ploidy Class が大きく関与している事実より考えて、再生肝での核当り平均 DNA 量の増加が全て肝細胞の増殖に直接関係するものとは思えない³⁸⁾。

以上の成長肝、再生肝の所見を総括して考察すれば鼠肝組織におけるポリプロイドの増加は組織の成熟性および反応性を表現するものであり、肝部分切除後の再生肝における ploidy pattern は、より高次の倍体形成への傾向が一過性に出現することを特徴とするものである。

5. 総 括

1) 顕微分光測光法を用い鼠肝の成長および部分的肝切除後の再生肝における肝細胞当り Feulgen-DNA 量を測定、検討した。

2) 成長に伴う推移では 4 倍体群は生後 7 週迄は週を追って増加する。

3) 生後 5 週以後の 4 倍体群の増加は肝小葉の中間帯周辺帯には著しく、中間帯では ploidy pattern の発達は遅れている。

4) 2 核細胞も週と共に増加し 5 週後をピークとして以後やや減少する。

5) 肝部分切除後の再生に伴う ploidy pattern の推移で著しいことは、一過性の 2 倍体群の減少および Higher Ploidy Class の激増であり、この Higher Ploidy Class は中間帯、周辺帯に多く出現する。

6) 今迄の生化学的研究に記されている核当り平均 DNA 量の増加には Higher Ploidy Class が大きく関与

与している。

7) 4 倍体および Higher Ploid の形成機転は 2 核細胞の融合のみでは説明し得ず、2 倍体、4 倍体の 1 核細胞よりの直接の移行が考えられる。

8) 成長および再生に伴う推移を総括して肝のポリプロイドの増加は組織の成熟性、反応性の高さを表現するものであり、部分切除後再生肝における ploidy pattern

の特徴はより高次の倍体形成への傾向を一過性に示すことであると思われる。

稿を終えるにあたり、終始御指導御尽力を戴いた恩師、宮地教授、大阪大学癌研究所長、久留教授に深甚な謝意を献げます。また常に御協力御援助下さった那須、井、両学兄およびその他教室員の方々に感謝致します。

「分光研究」投稿規定

論 文

1. 総 則

「分光研究」に投稿できる者は本会正会員に限る。ただし共同研究者はその限りでない。投稿しようとする者は編集方針および投稿細則に従った論文 1 通を、400 字詰原稿用紙（なるべく本会制定のものをを用いる）に浄書した上、日本分光学会事務所（東京都新宿区百人町 4 の 400 東京教育大学光学研究所内）あてに送付する。郵送の場合には「分光研究」原稿であることを表記する。

2. 編集方針

a. 分光学の領域に属する独創的研究であり、他の雑誌書籍等に印刷公表したものでないことを要する。

b. 原稿の採否は編集委員会に一任されたものとする。

c. 編集委員会は採用すべき原稿について投稿者に対し、“Science of Light” に投稿するよう勧奨することができる。

d. 編集委員会は投稿者に対し論文内容の訂正を求めることができる。

e. 編集委員会は投稿規定に一部従わない原稿について、論文内容にわたらない範囲で字句の訂正、変更を行なうことができる。

3. 投稿細則

a. 論文は表題、著者名、本文の順に記載し、脚註として、所属および研究の行なわれた場所およびその住所を記入する。講演を行なったときは、その期日と名称を記載する。別にタイプライターで打った 200 語以内の欧文（英独仏の内 1 つ）および邦文の抄録をつけ、表題と研究の行なわれた場所の欧文を添える。

b. 文章は平易な口語体とし、当用漢字新かなづかいによる。

c. 用語は標準用語の制定されているものについて

は、それによる。その他の場合でも他の語句と混同しやすいもの、誤解を招きやすいものは避け、やむを得ない場合は、註、または外国語を（ ）に示すことによつて明瞭にする。

d. 本文中の活字の形その他組版上の指示は朱書する。

e. ゴシック体の活字によりたいときは文字の下に をほどこすものとする。

f. 数値を代表する文字はイタリック（斜体）とし、文字の下に ~~~~ をつける。また記号はローマン（立体）とし、文字の上に をつける。数式はなるべく組みやすいように a/c 等とする。

g. 図および表は、題目、説明とも欧文とする。

h. 図はトレーシングペーパーまたは青色（に限る）方眼紙に墨書し、図中の文字は鉛筆書きとする。寸法は幅 14 cm 以内を基準とする。

i. 図および表には通し番号をつける。

j. 図および表を入れる場所は本文中に指定し、その分だけ余白をつける。

k. 引用文献は各頁の脚註とし Chemical Abstracts 採用の略号に従つて、たとえば R. Coulon, J. Robin, B. Vadar: *Compt. rend.*, **240**, 956 (1955). と記し、通し番号をつける。

本文と別に註を入れたいときは * 印によつてこれを示す。

l. 論文は著者校正を 1 回行なう。

m. 別刷は 30 部に限り著者に無償進呈する。これ以上希望の場合は原稿提出の際に申込み、その部数について実費支払とする。

速 報、寄 書

本文の長さを 400 字詰原稿用紙 3 枚以内とする外、論文の投稿に関する規定に準ずる。