舌上皮組織における細胞増殖に関する日周変化

日 野 晃 伸 陣 内 研 一
横 田 昌 彦 森 脇 一 成

*日本大学歯学部総合歯学研究所

大 西 正 明 西 連 寺 永 康

**日本大学歯学部放射線学教室

大 原 弘

***放射線医学総合研究所生理病理研究部

〔受付：昭和58年9月8日〕

Study on diurnal variation in basal cell proliferation of the tongue epithelium of the mouse

Akinobu Hino, Kenichi Jinnouchi, Masahiko Yokota,
Kazunari Moriwaki

*Institute of Dental Research, Nihon University, School of Dentistry
Kandasurugadai, 1-8-13, Chiyoda-Ku, Tokyo 101*

Masaaki Onishi, Eiko Sairenji

*Department of Radiology, Nihon University, School of Dentistry
Kandasurugadai, 1-8-13, Chiyoda-ku, Tokyo 101*

Hiroshi Ohara

*National Institute of Radiological Science, Division of Physiology & Pathology
Anagawa, 4-9-1, Chiba-shi, Chiba 280*

〔Accepted for publication : September 8, 1983〕

Key words: diurnal variation / tongue / cell kinetics / cell cycle / turnover time

Abstract: Diurnal changes in the labelling index (L. I.) and the mitotic index (M. I.) as well as the generation time of cells in the basal layer of the tongue epithelium of C₃Hf/He mice were observed by using the pulse labelling method with ³H-thymidine injection. Most of the labelling experiments were done at night when high labelling indices were available. The results were as follows: 1) The diurnal changes in L. I. and M. I. were clearly shown with the peak time at 17:00 for L. I. and at 3:00 for M. I. of cells in the basal layer. In the basal layer there was a local difference in the rate of L. I., namely, a high L. I. was obtained in close proximity to the posterior region of the papillae, and a low L. I. in the anterior region. The possibility of the existence of EPU (Potten; 1974) was suggested.

In general, it was assumed that the proliferation activity of basal cells was higher at night than in daytime. 2) The cellular generation time of basal cells was estimated by two different methods. The generation time obtained by PLM analysis, a method developed by Mendelsohn & Takahashi (1972), was estimated to be 33.6 hrs, including 6.1 hr for S, 3.6 hr for G₂+M and 23.9 hr for G₁. This was about 5 hr shorter than that obtained by daytime labelling experiments. However, it was found that the method of Brown & Oliver (1968) was not applicable for the present experimental results, because the NB/NT values did not break down at 0.5 as they did in the case of hamster cheek pouch cells. The reduction of NB/NT kept its linearity to a point less than 0.37. 3) From the results obtained

*, ** 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13 (〒 101)

*** 千葉県市川 4 丁目 9 番 1 号 (〒 280)

in the present study, the cellular event that is most closely related to diurnal changes in cell proliferation is the time when cells leave the basal layer, which was about 8 hrs at night and 14.5 hrs in daytime after labelling. It seems reasonable to assume that most parts of S-cells in the basal layer do not enter the phase of differentiation (upper layer of the epithelium) immediately and directly after cell division. Some regulatory mechanisms may be intervening to control the transition of basal cells to the differentiation phase.

緒 言

再生系の上皮組織では基底細胞層における ^3H -チミジンの標識率と細胞分裂活性に日周変化があると言われている。すなわち、Brown ら¹⁾はハムスターの頬嚢で、Potten ら²⁾はマウスの舌、皮膚、腸で、Clausen ら^{3,4)}はマウスの皮膚で、Pilgrim ら⁵⁾はマウスの食道、皮膚、舌で、また、Irons ら⁶⁾や Trott ら⁷⁾は歯周粘膜上皮で標識率や細胞分裂活性に日周変化があるとそれぞれ報告している。そして、最近では、細胞増殖活動の日周変化の要因もこまかく検討されてきている²⁻⁴⁾。

著者らは、すでに C_3H 系マウスの舌上皮⁸⁾、口唇粘膜⁹⁾に関して ^3H -チミジン細胞標識法を利用した口腔上皮組織の増殖と分化層における移行の解析を行ってきた。しかし、これらの昼間標識実験の結果^{8,9)}からは、基底細胞の標識率および細胞分裂頻度の極端な低さが認識され、舌上皮の細胞増殖活動に関する日周変化を追跡することの必要性が考えられた。そこで、今回は同系マウスの舌上皮基底細胞層で、細胞増殖活性の高まることが予想される夜間に標識実験を行ない、前回までの昼間標識実験の結果と比較し、 C_3H 系マウス舌上皮細胞増殖の日周変化について考察した。

材料と方法

1) 実験動物と飼育方法

実験には、生後8週齢に達した体重38~42gの $\text{C}_3\text{Hf/He}$ 系雄性マウス105匹を用いた。実験用飼育室は室温20~22°C、湿度40~50%に調整し、照明時間は午前6時から午後6時に設定した。また、実験動物は標識実験開始前2週間より実験用飼育室に1ケージあたり6~7匹に分けて置き、環境に馴化させた後、市販の固型飼料と水を自由に与え実験に用いた。

2) 細胞標識法および標本作製法

細胞の標識法は、 ^3H -チミジン (^3H -thymidine deoxyribonucleoside, ^3H -TdR, Specific Act. 5.0 Ci/mM, RCC, Amersham England) を生理食塩水で濃度3.7MBq/ml (100 $\mu\text{Ci/ml}$) に希釈し、1.85 MBq/マウス (50 μCi /マウス) をマウス腹腔に一回投与するパルス・ラベル法を用いた。標識率および分裂細胞頻度の計測には、105匹中のマウスから12匹を用い、24時間にわたって2時間間隔で標識を行なった。また、基底細胞の分化・移行および細胞周期の計測には、残りの93匹のマウスを用い夜間10~11時の間に標識を行なった。舌試料の採取は、標識率および分裂細胞頻度の日周変化の計測の場合、標識後15分に、また基底細胞の分化・移行および細胞周期時間を求めるために行なった実験の場合、標識後最初の取り出しを30分後に行ない、その後標識後24時間まで、2時間間隔で、また、それ以後は12時間間隔で、標識後240時間(10日)まで行なった。舌試料採取の際、マウスを無作為に取り出し、屠殺して直ちに、その舌を舌根部後縁より摘出し、10%ホルマリン溶液にて固定した。その後、舌の中央部を前額断に厚さ3 μm のパラフィン包埋組織切片を得た。この切片標本に感光乳剤(NR-M2: 小西写真工業製)をdipping法によって処理した。これを乾燥剤入りの暗箱内に密封して、4°Cで3週間露出した後、現像処理を行なった。さらにヘマトキシリン・エオジンによる重染色を行ない、マイクロオートラジオグラフ標本を得て、その舌背部を観察した。

3) 標識細胞および分裂細胞の計測

^3H -チミジン標識細胞は高倍率(10×100倍)で細胞核を鏡検し、細胞核内に銀粒子5個以上含むものを標識細胞(Labelled Cells)と定めた。また、標識分裂細胞(Labelled Mitoses)は、銀粒子5個以上を含む分裂細胞とした。標識率(Labeling Index: L.I.)および分裂細胞頻度(Mitotic Index: M.I.)の計測にあたっては、一試料につき総数1000

個以上の細胞を数え、また、標識分裂細胞頻度 (Percent of Labelled Mitoses: P.L.M.) の計測にあたっては一試料あたり100個以上の分裂細胞を観察した。

実験結果

1) 標識率および分裂細胞頻度の日周変化

24時間にわたり、2時間間隔で細胞標識を行い、標識後15分における細胞標識率および分裂細胞頻度を求めたものが Fig. 1 である。このグラフから明らかなように、標識率は、午前7時で最も低く、午後5時にピークに達した。分裂細胞頻度のピークは、標識率のピーク時間から約10時間後、つまり、午前3時に訪れる。分裂細胞頻度のグラフは、標識率のグラフに比べ小さな波がいくつか観察される。

Fig. 2 は、舌乳頭を一単位とし、その基部、先端部およびその中間部を3分割した合計5部位のそれぞれについて、標識率の日周変化を調べた結果である。図中のAは基部を、Bは中間部基部側 $\frac{1}{3}$ を、Cは中間部中央 $\frac{1}{3}$ を、Dは中間部先端側 $\frac{1}{3}$ を、また、Eは先端部を表わす。Fig. 2 で示されているように、5部位とも午前7時前後に標識率は最低を示し、午後7時にピークに達するAを除いて、午後5時にピークに達する。また、このピーク値は、Bで最も高く(54.1%)、以下、A(37.7%)、C(20.0%)、D(13.0%)、E(3.1%)の順に低い値を示す。標識率の最低値もピーク値と同じ順番を示す。(B: 3.8%, A: 2.8%, C: 1.2%, D: 0.7%, E: 0%)。また、各部位の最低値と最高値の比は、Aで13.5、Bで14.2、Cで16.7、Dで18.6であった。

2) 基底細胞の細胞周期

Fig. 3 は舌上皮基底細胞における標識分裂細胞頻度 (%) の ^3H -チミジン投与後の PLM 曲線を示した。標識細胞は、標識後30分までは全く観察されないが、2時間から6時間まで増加し、ピーク(99.1%)に達する。しかし、その後、急激に減少し、14時間目には5%以下となる。その後、標識分裂細胞は36時間目(38.1%)および96時間目(28.3%)にそれぞれピークを示し、110時間後に10%前後の値になる。Fig. 3 で示された曲線が

Fig. 1 The labelling index and the mitotic index in the basal cells of tongue epithelium throughout a 24hr. period

Fig. 2 The labelling index for cell positions A-E of the papilla throughout a 24hr. period

ら Mendelsohn & Takahashi の方法¹⁰⁾で解析した細胞周期の各パラメーターを Table 1 に示した。細胞周期時間は夜間で5.0時間長くなった。

3) 標識基底細胞の分化層への移行

基底細胞は、時間の経過にしたがって、上皮の有棘細胞層から顆粒層へ移行し、最後に上皮表面から脱落する。このような細胞の分化層への移行ならびに上皮層における細胞交替時間を知るために標識基底細胞の分化層における移行を調べた。そのために上皮層の横方向に対する一定区域内

Fig. 3 Percent of Labelled Mitosis (PLM) curve of the basal cells in the tongue epithelium of C3H/He mice. Frequencies of labelled mitosis in percent were plotted as a function of time after ^3H -thymidine injection (0 hr.)

Table 1 Parameters (the present data and the previous data) of cell generation times obtained of the tongue epithelium basal cells. The parameters were determined by the method of Medelsohn & Takahashi (1972).

Labelling time	Cell cycle time	$T_{g2}+0.7m$	T_s	$T_{g1}+0.3m$
10:00-11:00PM	33.6	3.6	6.1	23.9
10:00-11:00AM (Previous data)	38.6	3.5	8.7	26.4

(hours)

(基底細胞1000個相当)で観察できる標識基底細胞数 (Number of Labelled Basal Cells: NB) と基

Fig. 4 The reduction of the labelled basal cells after the injection of ^3H -thymidine in tongue epithelium according to method of Brown and Oliver (1968)

底細胞層, 有棘細胞層および顆粒層を含めた上皮層縦方向全域に存在する標識細胞数 (Number of Total Labelled Cells: NT) との比 (NB/NT) を標識後の経時的变化として求めた (Fig. 4)。この方法は Brown & Oliver の方法¹¹⁾に準じたものである。標識は最初基底細胞層にのみ観察されるため, 3~4時間は NB/NT 値は100%を保持するが, やがて, 標識細胞が基底細胞から離脱するにつれて, 徐々に減少する。この減少は, 標識後8.0時間頃から始まる。標識細胞が基底細胞層から離脱する率を, この回帰直線から求めると1.34%/hours であった。Brown & Oliver の方法にしたがって求めた各パラメーターを Table 2 に示した。

Table 2 The cell generation time and the turnover time (the present data and the previous data) of basal cells in the tongue epithelium. The values were determined according to the principle proposed by Brown and Oliver (1968)

Labelling time	Cell cycle time (hours)	Slope (%/hours)	Shoulder (hours)
10:00-11:00PM	37.3	-1.34	8.0
10:00-11:00AM (Previous data)	37.2	-1.36	14.5

4) 舌上皮各層における標識細胞の移行

基底細胞層で標識された細胞が、細胞分裂をへて有棘細胞層へ移行し、さらにその上皮の顆粒層へと移行する様子を調べた結果を Fig. 5 に示した。また、Fig. 5 から上皮各層において標識率がピークに達する時間および標識率がピーク値の50%に減少する時間を求め Table 3 に示した。

^3H -チミジン投与後30分間で基底細胞層における標識率は31.4%となり、投与後0.5日目(12時間目)で43.2%に達し、ピークとなる。基底細胞層でこのピーク値の50%に標識率が減少する時間は2.0日目(48時間目)であった。そして、9日後216時間後)には、9.1%となり、ピーク時の値から見た減少率は79%であった。

有棘細胞層には、 ^3H -チミジン投与後0.5日目(12時間目)に標識細胞があらわれ、その後増加し、2.5日目(60時間目)に標識率は49.0%に達しピークとなる。それ以後、基底細胞層と同様な減少傾

向を示し、3.8日目(91時間目)にピーク値の50%に減少した。しかし、その後ゆるやかな波を示しながら9日目(216時間目)には13.5%に減少する。顆粒層には ^3H -チミジン投与後1.5日目(36時間目)に標識細胞が表われ、標識率のピークは3.0日目(72時間目)に47.7%に達した。 ^3H -チミジン投与後5.5日目(132時間目)にピーク値の50%に減少し、9日目(216時間目)には、17.1%となった。

考 察

この実験の目的は、 C_3H 系マウスで夜間標識実験を行ない、基底細胞の増殖、分化および分化層への移行等に関して、前回の昼間実験の結果⁸⁾と比較検討することであり、さらに、これらの結果をもとに、日周変化による上皮細胞供給の調節機構を考えることにある。

マウスの舌上皮組織では、一層からなる基底細胞層で細胞増殖が起こり、増殖した基底細胞の一部がランダムに Transitional Cell Layer をへて有棘細胞層へ移行・分化し、さらに顆粒層をへて最終的に上皮表面から脱落する過程がよく知られている^{12,13)}。この過程の追跡には、一般に ^3H -チミジンによるパルス・ラベル法が使われているが、この放射性同位元素によって標識される細胞は基底細胞層でDNA合成をしているS期細胞のみであることから、標識直後の基底細胞層の標識率は細胞分裂の前提条件となるDNA合成をしているS期細胞の割合、すなわち、基底細胞層の増殖能の活性度を示す。また、上皮層における細胞分裂も基底細胞層に限って認められるものであり、その意味で標識率と分裂細胞頻度の2つは基底細胞層の細胞増殖活性を示す重要な指標である。そして、この2つの指標は日周変化を示すことが知られている¹⁻⁸⁾。一方、Potten ら²⁾は舌乳頭

Fig. 5 Movements of the labelled cells from the basal layer to the surface of the superficial cell layer

Table 3 The time of the maximum labelling index and the time of the reduction by half from ^3H -thymidine injection

	Basal layer	Spinous layer	Granular layer
Peak time	0.5	2.5	3.0
Half height	2.0	3.8	5.5

(days)

基部と先端部で細胞標識率の日周変化に差があることを示し、皮膚における Epidermal Proliferative Unit (EPU)¹⁴⁾のようなものが舌においても存在する可能性があること²⁾を示唆している。

1) 標識率と分裂細胞頻度の日周変化

本実験においては、Fig. 1 に示すように、標識率および分裂細胞頻度の日周変化が観察された。標識率では17時(午後5時)にピークに達し、午前7時に最も低い値となり、Potten ら²⁾や Pilgrim ら⁵⁾の報告にあるように夜間高い値を示し、昼間で低い値を示す。また、分裂細胞頻度のピークは、標識率がピークに達する時間(午後5時)から10時間後の午前3時であった。分裂細胞頻度の曲線は、その後、標識率の日周変化曲線のようにゆるやかな下降を示さず、いくつかの小さな波を示しながら下降する。これは、細胞分裂が何らかの調整を受けていると予想できる。しかし、標識率のピーク時間から、最も大きな分裂細胞頻度のピーク時間までの間隔(10時間)が Table 1 に示された T_s (6.1時間)と $T_{G_2+0.7T_M}$ (3.6時間)の和にほぼ一致することから、標識細胞の大部分は直ちに分裂に入ると考えてよい。一方、舌乳頭の部位別の標識率の日周変化の曲線は部位別に一過性のピークを形成し、しかも、その標識率が異なることを示している(Fig. 2)。その中で舌乳頭中間部の基部側 $1/3$ の細胞の標識率のピーク値は54.1%と最も高い値を示すが、乳頭先端に向かうにしたがって低くなり、最も低いピーク値を示す先端部では、3.1%しか標識細胞が存在しない。この結果は、Potten ら²⁾の舌上皮基底細胞の EPU に関する知見とほぼ一致する。つまり、舌乳頭基部付近で細胞分裂活性の高い細胞が存在して、それが舌乳頭基部および先端部に細胞を供給しており、先端部はほとんど分裂能を持たない基底細胞で占められていると考えてよい。このことは舌上皮の場合の Potten ら²⁾の仮説を支持するものと考えられる。

2) 細胞周期

細胞周期の計測には、 ^3H -チミジン注入によるパルス・ラベル法、 ^{14}C -チミジンと ^3H -チミジンの両方を利用する二重標識法およびコルヒチンやコルセミドを投与して分裂細胞の貯溜をみるコル

ヒチン法などによる方法があるが、その中で ^3H -チミジンを利用したパルス・ラベル法が最も一般的である。ここでは、得られた実験データによる細胞周期の各パラメーターの決定には、PLM 曲線の解析法の一つである Menndelsohn & Takahashi の方法¹⁰⁾と Brown & Oliver の方法¹¹⁾で細胞周期時間を求め両者の比較を試みた。今まで PLM 法によって調べられた舌上皮基底細胞の細胞周期時間については、Toto ら¹⁵⁾が C57BL 系マウスの舌上皮基底細胞の細胞周期時間を100時間と算定し、Dhawan ら¹⁶⁾は同系のマウスを用い同様に PLM 法で96時間と報告しているが、著者らの実験結果と一致しない。しかし、Blenkinsopp ら¹⁷⁾は $\text{C}_3\text{Hf/He}$ 系マウスの舌上皮基底細胞の細胞周期時間を34時間と報告しており、この値は著者らの今回の実験結果(Table 1)とほぼ一致している。また、著者ら⁸⁾が先に報告した $\text{C}_3\text{Hf/He}$ 系マウスの舌上皮基底細胞の細胞周期時間は昼間標識実験(午前10~11時)で28.0時間で約5.6時間の差がある。これらの実験は、日周変化を考慮に入れたものではないが、この細胞周期時間の違いが日周変化によるものとは考えられない。むしろ、これらの違いは動物種や実験方法の相異にあると思われる。実際、同系のマウスについても著者らの昼間標識実験による細胞周期時間(28.0時間)と今回の実験での細胞周期時間(33.6時間)とは、ほぼ20%の差がある。ここで著者らの今回の夜間標識実験および前報⁸⁾の昼間標識実験の結果から Mendelsohn & Takahashi の方法で算出した細胞周期時間(Table 1)は夜間標識を行なった細胞集団が、昼間標識の場合⁸⁾よりも5.0時間ほど短く、その他、S期および G_1 期に2.5時間程度の差がみられた。したがって、この比較から基底細胞層では細胞周期時間は夜間で短く、DNA 合成期も短くなっていると考えられる。このように、夜間に標識率が高く分裂指数も高いことは、少なくとも細胞増殖率が昼間に比べてそれだけ高いことを示しているものであり、Table 1 における細胞周期時間の差は、夜間に高い細胞増殖活性と関連があると思われる。すなわち夜間に基底細胞は短い細胞周期で多くの細胞をつくる。この細胞の増殖活性は日周変化をもたらす大きな原

因であろうと考える。

一方、Brown & Oliver の方法による細胞周期の解析は、細胞周期時間が基底細胞の分化層への移行開始から NB/NT $\times$ 100値が50%にいたるまでの時間に一致すること、すなわち標識細胞の基底細胞層での再増殖を前提としている。これによって求めた細胞周期時間は前回の昼間標識実験では37.2時間⁸⁾、今回の夜間標識実験では37.3時間と両者間に大差はなく、この値は Mendelsohn & Takahashi の方法により求めた値と大きな差異はない。しかし、Fig. 4 に示された実験結果は Brown & Oliver の理論に一致しない。つまり、NB/NT $\times$ 100=50%のとき直線的減衰のくずれはなく、この直線的減衰は60時間まで続く。このことは Brown & Oliver 説の前提に従えば、基底細胞層で標識細胞に60時間経過後まで再増殖がないと考えなくてはならない。したがって、PLM 曲線の解析による細胞周期時間と Brown & Oliver の方法による細胞周期時間は一致しない。しかし、Fig. 4 の結果が上皮層における細胞の移行時間 (Transit time) を表わしているとすれば、両者の差は一応理解できるものとなるだろう。この解釈は、Fig. 5 の結果から顆粒層における標識細胞の脱落開始時間をピーク時点とすれば、Fig. 4 と Fig. 5 の結果は、ほぼ合致することからも肯定できる。

3) 基底細胞の分化と移行

Fig. 5 に示された結果は、標識細胞が上皮各層へ移行する経時的变化を示している。これを前回の昼間標識実験の結果⁸⁾と比較すると、基底細胞の標識率のピーク値は、夜間標識が昼間標識の5.8倍であった。また、9日後の基底細胞層における標識細胞の減少率も昼間標識実験の結果では99%であるのに対し、今回の夜間標識実験の結果では79%である。このことは、夜間標識細胞は、9日後においても基底細胞層に多く残存していることを示している。

Fig. 4 の結果は、標識細胞の基底細胞層からの離脱を示している。³H-チミジン注射により標識された細胞は少なくとも約8.0時間以降に基底細胞層から離脱し始めることを示している。同様の観察結果は、ラットおよびマウスの食道粘膜上皮

について Marques-Pereria ら¹⁸⁾および安藤ら¹⁹⁾により得られており、食道粘膜では基底細胞が有棘細胞層へ移行するのは G₁ 期に入ってからだと結論されている。しかし、舌上皮においては、この標識細胞が基底細胞層を離脱し始める時間は、前回の昼間標識実験の結果⁸⁾では、標識後14.5時間であり、夜間実験の結果 (8.0時間, Fig. 4) の約1.8倍となっている。Fig. 4 の回帰直線から得られる移行率は、昼夜共約1.35%/hours と変わらない。

以上の 1)~4) の各事象についての比較から、標識率および細胞分裂活性の日周変化に関連して違いを示すことは、基底細胞が有棘細胞層へ移行するときの移行開始時間であると認められる。これを単純に考えると、標識細胞の分化層への移行は、細胞分裂活性の高い夜間に早く、逆に低い昼間に遅くなると結論される。しかし、Fig. 2 の結果と Potten らの仮説²⁾を考えると、基底細胞層で DNA 合成をした細胞の大部分が直ちに上皮分化層に移行するものとは考えにくい。舌上皮組織の細胞供給は標識細胞が分裂後 G₁ 期に入った時点で、その分化層への移行が調節されているものと予想されるが、その調節は Potten らのいう EPU 構造^{2,14)}を介して行なわれている可能性が強いと考えられる。

結 論

C₃H 系マウスの舌上皮細胞増殖の日周変化を明らかにする目的で、³H-チミジンによるパルス標識法を用いて夜間標識実験を行ない、先に行なった昼間標識実験の結果と比較して、以下のような結論を得た。

1) 標識率および分裂細胞頻度の日周変化

標識率および分裂細胞頻度の日周変化は、夜間 (午後5時および午前3時) で高く、昼間 (午前7時および午後1~5時) で低い値であった。また、標識率は、舌乳頭の部位別に差があり、舌乳頭先端部で低く、基部付近では高かった。

2) 細胞周期時間

PLM 曲線から Mendelsohn & Takahashi の方法によって求めた細胞周期の各パラメーターは、T_c=33.6時間、T_{G2}+0.7T_M=3.6時間、T_S=

6.1時間, $T_{G1} + 0.3T_M = 23.9$ 時間であった。この値を、昼間標識実験での値と比較すると、細胞周期時間で5.0時間、また、S期およびG₁期で2.5時間ほど短くなった。

3) 標識細胞の分化層への移行からみた細胞周期時間の算定は、C₃H系マウス舌上皮基底細胞ではBrown & Oliverの方法には適合せず、実験結果は細胞周期時間よりは細胞交替時間を示しているものといえる。舌上皮細胞交替時間は約60時

間であった。

4) 基底細胞が分化層へ移行開始する時間は、夜間で8.0時間（昼間では14.5時間）でありG₁期であった。ただし、舌上皮においても皮膚におけるようなEPU^{2,14)}の存在が想定されるので、基底細胞の日周変化にしたがう細胞増殖によってもたらされた増殖細胞のすべてが分化層に移行するのではないものと推察された。

抄録：C₃Hf/He マウスの舌上皮基底細胞の増殖に関する日周変化を明らかにするために、³H-チミジン標識によるオートラジオグラフを用いて、夜間標識実験を行ない、先に報告した昼間標識実験の結果と比較して次のような結論を得た。

1) 標識率および分裂細胞頻度の日周変化

標識率および分裂細胞頻度の日周変化は、夜間（17:00および3:00）で高く、昼間（7:00および13:00～17:00）で低い値であった。また、舌乳頭の部位別に標識率の差があり、先端部で低く基部付近で高く、それぞれ日周変化が観察された。

2) 細胞周期時間

PLM 曲線より Mendelsohn & Takahashi の方法により求めた夜間標識実験の細胞周期の各パラメータは、 $T_C = 33.6$ 時間, $T_{G2} + 0.7T_M = 3.6$ 時間, $T_S = 6.1$ 時間, $T_{G1} + 0.3T_M = 23.9$ 時間であった。この値を先回の昼間標識実験で得た値と比較すると、細胞周期時間で5.0時間、また、S期およびG₁期で2.5時間ほど短くなった。

3) 標識細胞の分化層への移行からみた細胞周期時間の算定は C₃H マウス舌上皮基底細胞では Brown & Oliver の方法に適合せず、実験結果は細胞周期時間より細胞交替時間を示しているといえる。舌上皮細胞交替時間は約60時間であった。

4) 基底細胞が分化層へ移行開始する時間は夜間で8.0時間、昼間で14.5時間であり、G₁ 期の間であった。ただし、舌上皮においても皮膚におけるような EPU (Epidermal Proliferative Unit) の存在が想定されるので、基底細胞の日周変化にしたがう細胞増殖によってもたらされた増殖細胞のすべてが分化層に移行するのではないものと推察される。

文 献

- 1) Brown, J. M. and Berry, R. J.: The Relationship between diurnal variation of the number of cells synthesizing DNA in the epithelium of the hamster cheek pouch. *Cell Tissue Kinet.* 1 : 23-33, 1968.
- 2) Potten, C. S., Ar-Barwari, S. H., Hume, W. J. and Searl, J.: Circadian rhythms of presumptive stem cells in three different epithelia of the mouse. *Cell Tissue Kinet.* 10 : 557-568, 1977.
- 3) Clausen, O. P. F., Thorud, E., Bjerknes, R. and Eigjo, K.: Circadian rhythms in mouse epidermal basal cell proliferation. *Cell Tissue Kinet.* 12 : 319-337, 1979.
- 4) Clausen, O. P. F., Thorud, E. and Aarnaes, E.: Evidence of rapid and slow progression of cells through G₂ phase in mouse epidermis: A comparison between phase durations measured by different methods. *Cell Tissue Kinet.* 14 : 227-240, 1981.
- 5) Pilgrim, C., Erb, W. and Maurer, W.: Diurnal fluctuations in the number of DNA synthesizing nuclei in various mouse tissue. *Nature* 4896 : 863, 1963.
- 6) Irons, W. B. and Schaffer, E. M.: Circadian rhythms in the oral and gingival epithelium of the rat. *Periodontics* 4 : 316-321, 1966.
- 7) Trott, J. R. and Gorenstein, S. L.: Mitotic rates in the oral and gingival epithelium of the rat. *Archs. Oral Biol.* 8 : 425-434, 1963.

- 8) 陣内研一, 西連寺永康, 大原 弘, 安藤興一, 日野晃伸, 森脇一成：マウス口腔組織における細胞の動態・解析. 歯基礎誌 **23** : 312-319, 1981.
- 9) 陣内研一, 西連寺永康, 大原 弘, 安藤興一, 日野晃伸, 森脇一成：マウス口唇組織における細胞の動態解析. 歯基礎誌 **23** : 482-488, 1981.
- 10) Mendelsohn, M. L. and Takahashi, M. : The Cell Cycle and Cancer, first edn., pp. 58-95, Marcel Dekker Inc., N. Y., 1972.
- 11) Brown, J. M. and Oliver, R. : A new method of estimating the cell cycle time in epithelial tissues of long generation time. Cell Tissue Kinet. **1** : 11-21, 1968.
- 12) Leblond, C. P., Greulich, R. C. and Pereire, J. P. M. : Relationship of cell formation and cell migration in the renewal of stratified squamous epithelia. Advanc. Biol. Skin **5** : 39-67, 1964.
- 13) Messier, B. and Leblond, C. P. : Cell proliferation and migration as revealed by radiotography after injection of thymidine-³H into male rats and mice. Amer. J. Anat. **106** : 247-265, 1960.
- 14) Potten, C. S. : The epidermal proliferative unit: the possible role of the central basal cell. Cell Tissue Kinet. **7** : 77-88, 1974.
- 15) Toto, P. D. and Ojha, G. : Generation cycle of oral epithelium in mice. J. Dent. Res. **41** : 388-391, 1962.
- 16) Dhawan, A. S. and Toto, P. D. : Renewal of cell population in palate and tongue epithelium of mice. J. Dent. Res. **44** : 989-995, 1965.
- 17) Blenkinsopp, W. K. : Cell proliferation in stratified squamous epithelium in mice. Exp. Cell Res. **50** : 265-276, 1968.
- 18) Marques-Pereria, J. P. and Leblond, C. P. : Mitosis and differentiation in the stratified squamous epithelium of the rat esophagus. Amer. J. Anat. **117** : 73-90, 1965.
- 19) 安藤興一, 恒元 博, 浦野宗保, 小池幸子：マウス食道粘膜の細胞動態におよぼす放射線照射の影響. 日医放誌 **37** : 487-493, 1977.