



ニワトリの胚子の十二指腸上皮の発達に及ぼす甲状腺ホルモンの影響

河南, 保幸
前田, 勝
豊澤, 敬一郎

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 20(2):259-264

(Issue Date)

1993-01-30

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00200538>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00200538>



ニワトリの胚子の十二指腸上皮の発達に及ぼす 甲状腺ホルモンの影響

河南保幸*・前田 勝**・豊澤敬一郎*

(平成4年8月10日受理)

Effect of Thyroid Hormone on the Development of the Duodenal Epithelium of Chick Embryo

Yasuyuki KANNAN, Masaru MAEDA and Keiichiro TOYOSAWA

Abstract

Histological features of the duodena of chick embryos treated with thiourea or thiourea-thyroxine were investigated to elucidate the role of thyroid hormone in development of the epithelium of the chicken small intestine. The administration of thiourea at 11 days to chick embryos caused severe retardation of villar elongation, of increase in epithelial cell height, and of intensification of brush border staining with periodic acid-Schiff (PAS) technique. Additionally, considerable quantities of glycogen granules were found in the epithelial cells and the cytoplasm was vacuolated. A few small goblet cells were confined to the bases of villi, and were poor in mucosubstance accumulation. The administration of equal small amount of thyroxine at 13 and 15 days to chick embryos previously treated with thiourea, however, corrected the thiourea-induced retardation of duodenum development. Increase in villar length and in epithelial cell height, and attainment of uniform PAS staining of brush border were apparently accelerated by thyroxine treatment. Glycogen granules and vacuoles could hardly be observed in the epithelial cells. Moreover, fully formed goblet cells were present throughout the epithelium and contained abundantly acid mucosubstance. These findings indicate that thyroid hormone is necessary for the morphogenesis of duodenal villi and for the development of duodenal epithelium.

緒 言

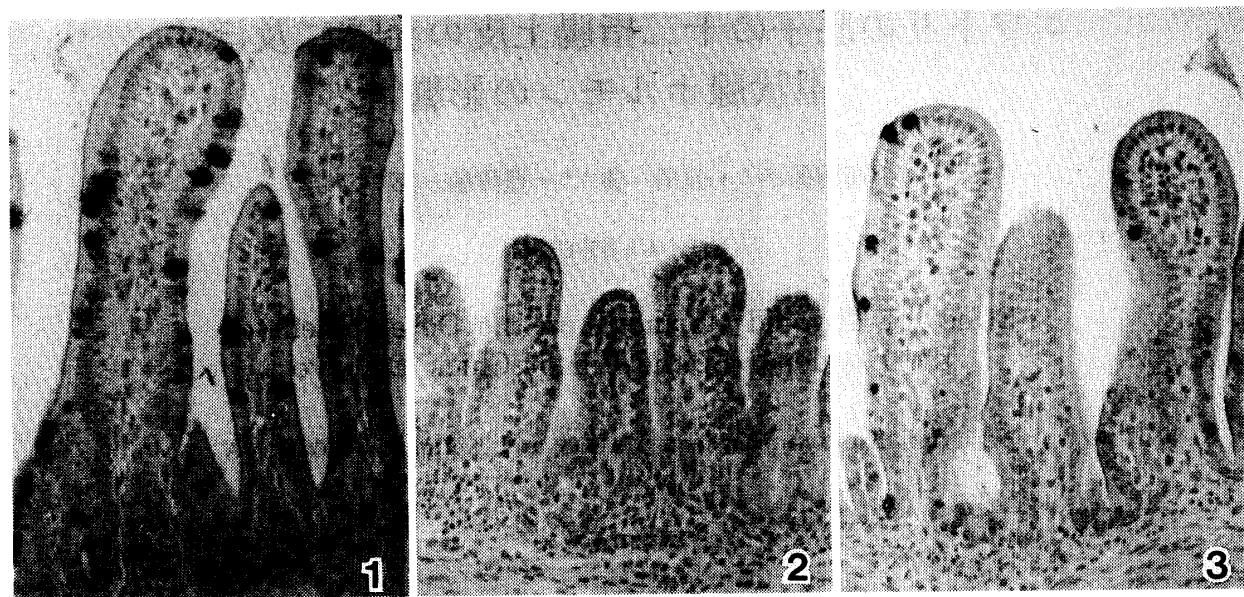
ニワトリの小腸の粘膜上皮は、胚子期において機能的に分化した状態に達し、孵化直後には多様な食物を消化・吸収する能力を獲得するといわれている¹⁴⁾が、その組織形成に対するホルモンの作用についてはいまだ不明確な点が多い。HINNIとWATTERSON⁸⁾およびSTOCUM¹⁷⁾は、下垂体の除去や抗甲状腺剤の投与を行った胚子の小腸において、腸管径の拡大や腸絨毛の形成が遅延することから、甲状腺ホルモンが小腸粘膜の細胞増殖を調節す

るものと考えている。またNUNNALLY¹⁶⁾は、胚子への抗甲状腺剤の投与が、孵化後ひなの小腸でみられる脱水素酵素活性の増加を阻止し、孵卵18日目と同程度の酵素活性値を持続させると報告している。さらにBREWERとBETZ⁵⁾は、胚子に甲状腺ホルモンを投与した場合、粘膜上皮が急速に発達するとともに上皮細胞のホスファターゼ活性が早い時期から増加し始めると述べている。

これらの報告から考えると、甲状腺ホルモンが発生のニワトリの小腸組織に作用して、その発達を促進することは確かであると思われるが、特にその場合の粘膜上皮の組織変化について詳細に説明した報告はあまりみられない。そこでこの研究では、ニワトリの小腸の組織発達に対する甲状腺ホルモンの影響を明らかにするため、

* 家畜管理学研究室

** 日商岩井株式会社



All figures show photomicrographs of duodenal sections stained with alcian blue and PAS technique. Photomicrographs of transverse sections were taken at $\times 100$.

Fig. 1. Villi of the duodenum from a control chick on 1 day after hatching. The finger- or paddle-like villi protrude into the intestinal lumen. Many goblet cells contain abundantly mucosubstance.

Fig. 2. Villi of the duodenum from a thiourea-treated chick embryo on the 22nd day of incubation. The majority of villi are short and irregularly shaped. Undifferentiated goblet cells are restricted to the bases of villi.

Fig. 3. Villi of the duodenum from a thiourea-thyroxine-treated chick embryo on the 22nd day of incubation. The villi are more elongated than those of the thiourea-treated chick embryo. Goblet cells are increased in number and in mucosubstance content.

チオ尿素やチロキシンを投与したニワトリの胚子の十二指腸の粘膜上皮について組織学的に検索し、併せて、対照例で正常に発生しているとみられる十二指腸粘膜の組織形態を観察してその変化についても再検討した。

材料および方法

実験材料として、白色レグホン種の受精卵70個を用いた。これらの受精卵を3群に分け、チオ尿素投与例25個、チオ尿素+チロキシソ投与例20個、対照例25個とした。これらのうち、チオ尿素投与例には、常法で孵卵しながら、孵卵開始11日目に受精卵1個当たりチオ尿素水溶液(15mg/ml) 0.25mlを卵殻内の気室に注射し、14日目より22日目まで隔日に5個体ずつの十二指腸をとって検索した。チオ尿素+チロキシソ投与例には、まず上記と同時期に同様の方法でチオ尿素水溶液を投与した。その後、孵卵開始13日目と15日目にL-チロキシソ水溶液(10 μ g/ml)を0.1mlずつ卵殻鋭端部の卵殻膜直下に注射し、16日目より22日目まで隔日に5個体ずつの十二指腸をとって検索した。なお、これらの投与例の胚子はいずれも発

育が遅延し、孵卵開始後22日間を経過しても孵化しなかった。また対照例には、孵卵開始11日目に受精卵1個当たり生理食塩水0.25mlを卵殻内の気室に注射し、各実験例の検索と同時に同日齢のもの5個体について観察した。

十二指腸の検索にあたっては、採取した組織を10%中性緩衝ホルマリン液で24時間固定ののち、Histosec(Merck社)に包埋して3 μ mの横断切片となし、まず、組織構造の観察のための過ヨウ素酸 Schiff (PAS) 反応・ヘマトキシリン染色¹⁰⁾を行った。杯細胞における粘液物質の観察のためには、アルシアンブルー・PAS反応¹⁵⁾による染色を行ったが、この染色標本では、PAS陽性反応を示す粘液物質を中性粘液物質、アルシアンブルーに染まるものを酸性粘液物質とした。

なお、粘膜上皮細胞のなかで杯細胞が占める割合を算出するにあたっては、アルシアンブルー・PAS染色標本について1個体当たり少なくとも20個の腸絨毛を無作為に選び、それらの粘膜上皮で観察される各細胞の数を計測した。

結 果

粘膜上皮細胞

PAS・ヘマトキシリン染色標本およびアルシアンブルー・PAS染色標本で観察した場合、対照例で孵卵14日の胚子の十二指腸では、腸絨毛が管腔に向かって多数突出し、粘膜上皮細胞にはグリコーゲン顆粒と空胞が散見された。孵卵16日では、腸絨毛が伸長するとともにそれらの先端部が拡大して棍棒状となり、上皮細胞ではグリコーゲン顆粒と空胞が増加の傾向を示した。孵卵18日以後、上皮細胞は大部分のものが高い柱状をなし、細胞内にはグリコーゲン顆粒を豊富に含み、刷子縁が微弱なPAS陽性反応を示していた。しかし、孵卵20日の上皮細胞では、グリコーゲン顆粒が明らかに減少し、空胞もわずかに残存するに過ぎなかった。孵化後1日のひなの十二指腸をみると、腸絨毛が著しく伸長して円柱状または葉状となり、それらの側壁の刷子縁でかなり強いPAS陽性反応が認められた (Fig. 1)。なお、この時期の上皮細胞では、グリコーゲン顆粒と空胞はまったく消失していた。一方、チオ尿素投与例の十二指腸についてみると、孵卵16日までの胚子では、対照例にくらべて上皮細胞のグリコーゲン顆粒が幾分少ない程度で、腸絨毛の形態に明瞭な差異が認められなかった。しかし、孵卵18日には腸絨毛の発達が遅延し、それらの長さは対照例よりも少し短く、形も不規則となった。腸絨毛は孵卵20日以後ほとんど伸長せず、孵卵22日における長さは対照例にくらべて非常に短く、それらの形態も未発達であった (Fig. 2)。このような腸絨毛の粘膜上皮では、細胞は立方状でグリコーゲン顆粒と空胞を多量に含み、刷子縁のPAS陽性反応は不均一で弱かった。次にチオ尿素+チロキシン投与例の十二指腸をみると、腸絨毛の形態や組織構造は、孵卵16日から18日までの期間においてチオ尿素投与例と類似の変化を示した。しかし、孵卵20日の上皮細胞では、グリコーゲン顆粒と空胞がかなり残存していたが、それらの含有量は同時期のチオ尿素投与例よりも明らかに少なかった。腸絨毛はその後伸長して、孵卵22日にはその長さがチオ尿素投与例にくらべて著しく増加していた (Fig. 3)。このころの上皮細胞は柱状で丈高く、刷子縁が強いPAS陽性反応を示すとともに、細胞内ではグリコーゲン顆粒と空胞がほとんど消失していた。

杯細胞

アルシアンブルー・PAS染色によって対照例の胚子の十二指腸を観察すると、孵卵14日では、少量の酸性粘液物質を含んだ杯細胞が腸絨毛の底部近くの粘膜上皮で

一般の上皮細胞に介在して認められた。孵卵16日以後、杯細胞は次第に増加して分布域が拡大し、孵卵20日には粘膜上皮の全般ではほぼ一様に分布していた。孵卵後1日では、粘液物質の蓄積が著明となり、中性粘液物質と酸性粘液物質の両者を含んだ杯細胞が多数観察された (Fig. 1)。なお、腸絨毛の側壁に存在する杯細胞は底部でみられるものにくらべて中性粘液物質を多量に含む傾向を示した。一方、チオ尿素投与例およびチオ尿素+チロキシン投与例の十二指腸をみると、孵卵18日ごろまでの期間においては、杯細胞の分布状態や粘液物質の含有量に対照例との間で明瞭な差異が認められなかった。しかし、チオ尿素投与例では、孵卵20日になると、酸性粘液物質を含んだ小型の杯細胞が散見される程度で、粘液物質の含有量は対照例にくらべて著しく少なかった。さらに孵卵22日においては、杯細胞は腸絨毛の底部付近でわずかに認められるのみとなった (Fig. 2)。またチオ尿素+チロキシン投与例で孵卵20日の十二指腸の場合、杯細胞は粘膜上皮のほぼ全般にわたって分布し、それらの細胞に酸性粘液物質の蓄積がみられた。孵卵22日では、粘液物質をかなり多量に含んだ杯細胞が認められたが、大部分の細胞で中性粘液物質の含有量が対照例にくらべて少なかった (Fig. 3)。

粘膜上皮細胞のなかで杯細胞が占める割合について計測した結果は Table 1 に示したとおりである。すなわち対照例では、その割合は孵卵18日までの期間において低い値を示し、孵卵20日以後急速に増加した。一方、チオ尿素投与例をみると、孵卵18日までは対照例との間に差が認められなかったが、その後は孵卵22日まで低い値が持続した。またチオ尿素+チロキシン投与例では、その割合は孵卵20日以後明らかに増加し、孵卵22日にはチオ尿素投与例の場合の約4倍となった。

考 察

この実験で用いた抗甲状腺剤と甲状腺ホルモンの効果を確認するため、各投与例の胚子の甲状腺について組織学的に検索した。その結果、チオ尿素投与例の胚子の甲状腺では、孵卵14日以後において腺細胞の肥大と小腔内コロイドの減少が認められた。これらの組織変化は先に報告した各種の抗甲状腺剤を長期間給与した場合のニワトリの甲状腺の変化とよく一致する¹¹⁾が、この実験の場合でもチオ尿素が胚子の甲状腺に直接作用して、ホルモン合成が持続的に阻害された状態にあることは間違いないと思われる。またチオ尿素投与後にチロキシンを投与した胚子の甲状腺では、ホルモンの合成阻害を示す組織変化が明らかに軽減され、対照例に類似の組織形態

Table 1. Percentage of goblet cells in the duodenal epithelia of control and experimental chick embryos

Days of incubation	No. of embryos	Percentage of goblet cells		
		Control	Thiourea	Thiourea + Thyroxine
14	5	0.09±0.08 (1,401)	0.10±0.10 (1,251)	—
16	5	1.08±0.22 (1,635)	0.99±0.23 (1,849)	1.06±0.27 (1,846)
18	5	1.64±0.36 (2,299)	1.15±0.30 (1,773)	1.33±0.49 (2,189)
20	5	6.32±0.73 (3,100)	1.70±0.36 ^a (2,329)	2.91±0.32 ^b (2,911)
22	5	13.09±0.76 [*] (7,688)	1.91±0.36 ^a (2,354)	8.17±0.27 ^c (3,670)

Values are means±standard errors.

^{*}The value in the chick on 1 day after hatching.

^ap<0.01(Thiourea vs. Control).

^bp<0.05(Thiourea+Thyroxine vs. Thiourea).

^cp<0.01(Thiourea+Thyroxine vs. Thiourea).

Numbers of epithelial cells counted are shown in parentheses.

が観察されたが、このことは外因性の甲状腺ホルモンが発生中のニワトリで有効に作用したことを示唆している。

この実験で観察したニワトリの胚子の十二指腸について、まず対照例の場合をみると、管腔に向かって突出する腸絨毛が多数認められ、孵化期に近づくと、それらは急速に伸長した。そして、このような孵化期における腸絨毛の伸長にともなって、粘膜上皮の刷子縁が強いPAS陽性反応を示すようになった。この実験において検索した刷子縁のPAS陽性反応の変化は、すでに報告されているBELLWAREとBETZ¹⁾およびMOOGとTHOMAS¹²⁾などの記載とほぼ一致している。またこの実験の観察結果から、チオ尿素を投与して甲状腺機能を低下させた胚子では、刷子縁のPAS陽性反応が微弱となるが、その陽性反応はチロキシンの投与により増強することが明確となった。粘膜上皮の刷子縁でみられるPAS陽性反応の増加は、微絨毛の表面積の拡大やアルカリ性ホスファターゼ活性の高まりを意味するといわれている。BLACK³⁾は、ニワトリの胚子の十二指腸を組織培養して甲状腺ホルモンを添加した場合、微絨毛の著明な拡大を認め、このホルモンが粘膜上皮の機能分化に不可欠であることを指摘している。さらにBREWERとBETZ⁵⁾およびMOOG¹³⁾は、胚子の十二指腸の粘膜上皮に存在するアルカリ性ホスファターゼについて、抗甲状腺剤の投与によって低下した酵素活性が甲状腺ホルモンの投与で正常値にまで回復すると報告している。アルカリ性ホスファ

ターゼが膜結合酵素で細胞の分泌や吸収に関与することが知られているところから、粘膜上皮細胞における吸収機能の消長は甲状腺ホルモンの存在と密接に関係しているものと思われる。一方、粘膜上皮におけるグリコーゲン顆粒の増減について、対照例の場合をみると、その含有量は発生の進行につれて次第に増加し、孵卵18日ごろに最高となったが、その後は急速に減少して、孵化後1日にはまったく消失していた。しかし、チオ尿素を投与した胚子では、孵卵20日においてもグリコーゲン顆粒の異常な蓄積が観察された。このようなグリコーゲンの蓄積はチロキシンの投与によって明らかに減少し、やがてほとんど認められなくなった。正常に発生しているニワトリの小腸の粘膜上皮に出現するグリコーゲン顆粒については、多くの研究者^{1,8,12)}による報告があり、彼らの観察結果は筆者らのこの実験の対照例でみられた蓄積状態の変化と大体一致している。BLACK⁴⁾は、胚子の十二指腸の培養組織で、甲状腺ホルモンが上皮細胞におけるグリコーゲンの分解とグルコースの酸化を高めると述べている。また胚子の粘膜上皮には空胞が出現し、各実験例でグリコーゲン顆粒の場合とほぼ同様の量的変化を示した。上皮細胞における空胞の出現については、BELLWAREとBETZ¹⁾およびHARTとBETZ⁷⁾の報告にもその記載がある。BREWERとBETZ⁶⁾は、ニワトリの十二指腸上皮に存在する脂質滴が光学顕微鏡標本では空胞として認められると説明している。さらにこの脂質滴の

成因について、HOLMAN⁹⁾は、ニワトリの胚子では卵黄中の脂肪酸が発生の進行とともに胚体内へ多量に取り込まれて、球状の小滴が形成されるが、孵化直前には粘膜上皮からほとんど消失すると報告している。これらのことは、孵化直前に急速に発達する粘膜上皮のエネルギー源としてグリコーゲンや脂質が供給され、それらの分解や代謝は甲状腺ホルモンの作用により促進されることを意味している。

ニワトリの胚子の十二指腸粘膜における杯細胞の分化と甲状腺ホルモンとの関係について、組織学的に検討された例はあまりみられない。まず、この実験の対照例の胚子で杯細胞の分布状態を観察した結果、それらの細胞は当初、腸絨毛の底部付近にのみ存在していたが、その後は発生の進行にともなって次第に増加し、粘膜上皮の全般ではほぼ一様に認められるようになった。胚子の十二指腸の粘膜では、孵化直前まで上皮細胞の剥離像が観察されないことから、成体でみられるような腸絨毛の先端部方向への細胞の移動は起こらないといわれている²⁾。これらのことからみれば、胚子の腸絨毛でその側壁から先端部にかけて認められる杯細胞は、大部分がそれぞれの位置で未分化上皮細胞から分化したものと考えられる。またこの実験でチオ尿素を投与した胚子では、いずれの時期においても杯細胞はあまり増加せず、腸絨毛の底部でわずかに認められるに過ぎなかった。しかし、チオ尿素投与後にチロキシンを投与した胚子では、粘液物質を豊富に含んだ杯細胞が多数観察された。そして、粘膜上皮細胞のなかで杯細胞が占める割合についてみると、孵卵20日以後、チオ尿素投与例にくらべて統計的に有意に高い値が持続することが明らかとなった。発生中のニワトリで下垂体を切除した場合、十二指腸の粘膜上皮で杯細胞の増加が著しく緩慢となることが知られている^{1,8)}。またBLACKとMOOG²⁾は、胚子の十二指腸の培養組織において、甲状腺ホルモンの作用によって杯細胞が顕著に増加することを認め、甲状腺ホルモンが単独で杯細胞の分化を直接的に促進すると述べている。これらの実験に筆者らの観察結果を合わせて考えれば、血液中の甲状腺ホルモン濃度が低下した状態では杯細胞の分化は遅延するが、ホルモン濃度の上昇にともなってその遅延は回復し、粘液物質の生産も活発となることを示しているものと思われる。

要 約

発生中のニワトリの十二指腸における粘膜上皮の組織発達に及ぼす甲状腺ホルモンの影響を明確にするため、白色レグホン種のニワトリ胚を用い、チオ尿素やチロキ

シンを投与した場合の十二指腸の変化を組織学的に検索した。

まず、チオ尿素を投与して甲状腺機能を低下させた胚子の十二指腸では、腸絨毛の発達は遅延し、粘膜上皮において、グリコーゲン顆粒や空胞が異常に蓄積されるとともに、刷子縁が微弱なPAS陽性反応を示した。またこれらの一般上皮に介在して、少量の酸性粘液物質を含んだ杯細胞が腸絨毛の底部付近にわずかに認められた。一方、チオ尿素投与後にチロキシンを投与した胚子では、腸絨毛はチオ尿素のみを投与した場合にくらべて著しく伸長し、その発達の遅延が明らかに回復した。また粘膜上皮では、グリコーゲン顆粒や空胞がほとんど消失し、同時に刷子縁でPAS陽性反応の増強が認められた。杯細胞は粘膜上皮のほぼ全般で認められ、細胞内には酸性粘液物質がかなり多量に蓄積されていた。また粘膜上皮細胞のなかで杯細胞が占める割合について計測した結果、その割合はチロキシンの投与によって顕著に増加することが確認された。

文 献

- 1) BELLWARE, F. T. and T. W. BETZ : *J. Embryol. Exp. Morph.*, **24**, 335-355, 1970.
- 2) BLACK, B. L. and F. MOOG : *Science*, **197**, 368-370, 1977.
- 3) BLACK, B. L. : *Am. J. Anat.*, **153**, 573-600, 1978.
- 4) BLACK, B. L. : *Am. J. Physiol.*, **254**, 65-73, 1988.
- 5) BREWER, L. M. and T. W. BETZ : *Can. J. Zool.*, **57**, 416-423, 1979.
- 6) BREWER, L. M. and T. W. BETZ : *Can. J. Zool.*, **60**, 676-686, 1982.
- 7) HART, D. E. and T. W. BETZ : *Dev. Biol.*, **27**, 84-99, 1972.
- 8) HINNI, J. B. and R. L. WATTERSON : *J. Morph.*, **113**, 381-426, 1963.
- 9) HOLMAN, J. : *Acta Anat.*, **74**, 54-64, 1969.
- 10) 金子 仁 : 組織標本, 第二版, 59-61, 医学書院, 東京, 1978.
- 11) 河南保幸 : 神大農研報, **14**, 197-204, 1980.
- 12) MOOG, F. and E. R. THOMAS : *Physiol. Zool.*, **30**, 281-287, 1957.
- 13) MOOG, F. : *Gen. Comp. Endocrinol.*, **1**, 416-432, 1961.
- 14) MOOG, F. : *J. Anim. Sci.*, **49**, 239-249,

1979. 1961.
- 15) MOWRY, R. W. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 106, 402-423, 1963. 17) STOCUM, D. L. : *J. Morph.*, 118, 183-196, 1966.
- 16) NUNNALLY, D. A. : *Am. Zool.*, 1, 378,