

## 前立腺のDNA代謝

## 第1編 正常ラット前立腺のDNA代謝

広島大学医学部泌尿器科教室（主任：加藤篤二教授）

数 田 稔

## DNA METABOLISM OF PROSTATE

## I DNA METABOLISM OF PROSTATE IN NORMAL RAT

Minoru KAZUTA

*From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine**(Director : Prof. T. Kato, M. D.)*

Using male rats of Wistar strain, synthesis of DNA and cell division, mode of adenoepithelial cells and cells of interstitial tissue and prostatic base in the ventral lobes of the prostatic gland were studied by means of autoradiography using  $^3\text{H}$ -Thymidine.

1) With injection of  $^3\text{H}$ -Thymidine into the ventral lobe of the rat prostatic gland, labelling of nuclei in the interstitial tissue begun to be observed in 15 minutes.

2) Labelling of epithelial cells and cells of the base begun to be recognized in 30 minutes.

3) Incorporation into epithelial cells showed irregular distribution without any specific trend of pattern nor specific localization. No distinct relationship was also found between morphological appearance of epithelial nuclei and labelling.

4) The duration between DNA synthesis and mitosis in epithelial cells of ventral lobes in rats was supposed to be 6 hours, since labeled mitotic cells became to be found in 6 hours after injection in the epithelial cells.

5) Based on the result of 1 hour  $^3\text{H}$ -index as 0.6, tg of epithelial cells was estimated to be about 42 days.

6) Labelling of epithelial nuclei after 6 hours of injection frequently showed coupled arrangement. Occasionally, incorporation was demonstrated in nuclei of cells which appeared to be isolated above the cell layer. These ones seemed to represent cells, of which secreting function is not developed yet.

7) In the cells of interstitial tissue, number of labeled cells did not correlate to time lapsed, probably due to presence of many different kind of cells and/or migrated cells from the surrounding tissues.

8) In the cells of prostatic base, proliferation of the cells and mean grain counts were not correlated.

9) There seems to be no reutilization of labeled  $^3\text{H}$  by prostatic epithelial cells.

## 緒 言

凡そ一つの細胞は核分裂によってその数を増す一方、分化してその細胞特有の機能を営む

が、この細胞の分裂及び分化に関連して細胞内に起る種々の生化学的な変化については色々と研究されて来ている。しかしどの様にすぐれた

固定や染色がなされたとしても、小さいリンパ球や cartilage cell にとってはその分裂を認知することが困難なことが多く、骨髓の様に色々の種類の細胞を有する部位では分裂の間に特有の細胞学的な姿を失い、どの様な細胞が分裂しているのかを見分けることが困難な場合が生じて来る。有糸分裂をなす細胞にとっては分裂に先立って核内に DNA が合成されることが知られるに及んで、放射能を有する DNA の前駆物質を利用することによってその様な問題を解決することが試みられ、過去に於いて Phosphate- $^{32}\text{P}$ <sup>40)</sup> や Adenine<sup>55)</sup>  $^{56)$   $^{70)}$  が使用され細胞分裂の様々な研究がなされたが、Autoradiography に利用するには色々の難点を持っていた。すなわち  $^{32}\text{P}$  は Autoradiography に使用する様な量で放射線障害をひきおこすし、又分解能が悪く、 $^{14}\text{C}$  も  $\beta$  線のエネルギーが大きき、細胞レベルの Autoradiogram を得ることが困難であり、時に標識化が困難であり、取扱にも放射線安全面から特別の注意が必要であり、勿論人体への投与は制限され、その広汎な利用は抑制されていた。

1955年に DNA の前駆物質として  $^3\text{H}$  で標識された Thymidine が Brookhaven National Laboratory の Dr. W. L. Hughes 等<sup>30)</sup> によって合成されるに及んで  $^3\text{H}$  の低エネルギーの  $\beta$  線と特殊な stripping type film との組合せによって、細胞レベル或はそれ以下の細胞内部構造の Autoradiography を可能とした。<sup>30)</sup> 特に  $^3\text{H}$ -Thymidine は DNA にのみ選択的に合成されるものでこれを用いて DNA の代謝過程を追跡することが出来る。

この論文はウイスター系ラット前立腺腹葉に於ける DNA の生成と核分裂、腺上皮細胞の動きを、又間質の細胞及び基底部の細胞の動きを  $^3\text{H}$ -Thymidine を使用し、Autoradiography の方法で研究したものでその詳細を以下報告する。

### 実験方法

実験動物としては、金属ゲージに分離し、室温20±2°C に保ち、実験動物中央研究所製ラット用固型飼料 CE-2 にて、自由飲水下に飼育された体重約200gm.

のウイスター系の雄ラットを用いた。

$^3\text{H}$ -Thymidine は specific activity 2.66 curies/mM で The Radiochemical Centre 製のものを日本放射性同位元素協会を通じて購入したものを使用した。

0.5 $\mu\text{C}$ /gm. の  $^3\text{H}$ -Thymidine をラットの腹腔内に注入し、15分、30分、1、2、6、12、24、72時間に失血致死させ、固定は10%のホルマリン液で固定し型の如くパラフィンブロックを作成。パラフィン包埋組織は約 5 $\mu$  に薄切し、富士フィルム ET-2E stripping film で被覆乾燥後、4°C、2～3週間冷暗所で露光した。露光後富士フィックス及びレンドールを用い現像、定着を行なった。現像、定着の時間はそれぞれ3～5分、10～15分とし、次いで30分水洗後へマトキシリンにて染色し1時間水洗、バルサムで封入した。

### 実験結果

ラット前立腺は凝固腺、背部前立腺及び腹部前立腺よりなる。腹部前立腺の各葉はさらにいくつかの小葉に分れる小さい管の集り、それは一層の骰子型又は円柱上皮で囲まれた腺上皮と、比較的粗鬆な血管、結合組織などを含む間質組織から成立っている(写真1, 2) 腺腔の形はかなり多形で小型で管状のものから囊胞状に腔の拡大するものまで種々であり(写真1)、又腺腔の壁に種々の折込み又は乳頭状の突出を生ずる為に腺腔の形が不規則となる(写真1) 一般に腺が小型の場合は腺上皮は円柱状で、腔が拡張し分泌物を満す様になると腺上皮細胞はやや扁平化する。腺組織の上皮を観察すると、すでに述べた様にその形は円柱状から扁平まで腺腔の状態によって様々であるが、いずれの場合でも上皮の配列は原則としては一層で、核は円形又は橢円形を示し、上皮細胞の基底部に配列する。上皮細胞核の大きさは、注意して観察すると、やや大小不同性があり、小型でクロマチンの多いものから、比較的大型で染色性が明かるく、又核小体の明瞭なものが区別される(写真2) 核と遊離縁との間には色素に染らない明域が明らかに認められ(写真2)、この明域は雄性ホルモンに対して敏感な反応を示す部分である。核の大型の細胞は、細胞質も比較的大型で、核の小型のものは、大型のものに比して細胞質が緻密であり、管腔内への細胞質突起が豊富で一見、離断性の分泌が強い様に見える。核のやや小型のものでは細胞質はやや明かるく、小顆粒状に見える。勿論この様な上皮細胞でも種々の分泌所見を示している。上皮は上記の様に原則として一層で、光頭的には基底膜

の有無は確認出来ない(写真2, 3) しかし電子顕微鏡的には基底膜は筋上皮細胞で被われている場合は上皮基底部細胞膜の走行に、又被われている時にはその筋上皮の外側表面細胞膜のそれにそって走る中等度の電子密度をもった均質の帯状構造として認められる。光顕的に基底膜状に上皮下に附着するのは比較的細い滑平筋線維であり、それは腔を取りまいて、扁平な滑平筋の膜が腺上皮細胞の長軸と直角の方向に一直列、所によっては2〜3列認められる(写真3) この細胞核は一般に極めて細長く、クロマチンに富み、ヘマトキシリンで濃染する。この様な上皮細胞及びそれを取りまく滑平筋の核の他に細胞核が腺腔の壁に重なって一見上皮が多列化して見える部分がある。その多くは立体的に腺腔が、標本として切断された場合管壁が斜に切れ、その為腺上皮が多列化して見えることによるものであると考えられる。しかしこの様な標本作成上の人工産物をさけて正しく作成された腺腔壁に於いても、所々に上皮細胞と上皮細胞の間に基底部に偏してはさみ込まれ、上皮細胞を二層性ならしめている部分を見ることがある。この部に挿入された細胞核は上皮細胞の核と同一のもので、上皮細胞がある条件で二列化しているものと考えられる。又よく注意してみると上皮基底部の所々に散在性に小さい三角形の濃染する核を有する細胞が見られる(写真3)。これは多分发育の悪い筋上皮或は basket cell と考えられる。間質は先に述べた様に粗鬆な線維組織で所々に小動脈が分布し、それ等に連なる毛細血管が分布し、間質はゆるやかな膠原線維、その中に線維細胞及び神経線維、部分的には滑平筋が見られる(写真2) 特に排出管と思われる所では滑平筋の発達がよい。間質には以上の様な固定成分の他に、少量の種々の遊走細胞が見られる。それ等は線維細胞の長く小型の細胞に比べると、大型の円型或は類円形の核をそなえ、遊離した細胞質をもっている(写真2) その多くは組織球と考えられるが、塩基性の細胞顆粒に富む組織肥肝細胞、リンパ球、小数の白血球がみられる(写真2)

次に各細胞の銀粒子を取込んだ核の数及び取込まれた銀粒子の時間的変動について、腺細胞、間質の細胞及び基底部の細胞の三つの群に分けて観察した。銀粒子数は各細胞について3個以上の取込のあったものを標識されたものと判定した。

### 15分

本質的取込は見られないが小型の遊走細胞に比較的少ない取込が見られる様になって来る(写真4)

### 30分

腺上皮細胞に取込が見られる様になって来る。取込

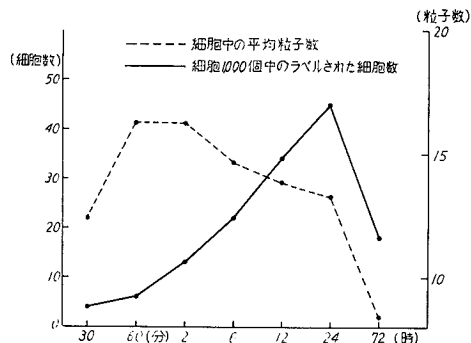


図 1 腺細胞

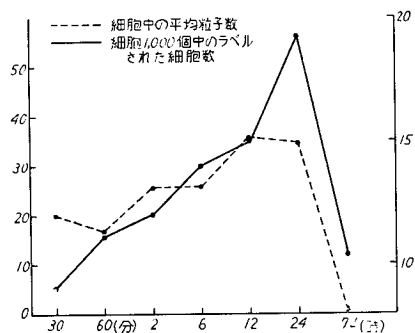


図 2 基底部の細胞

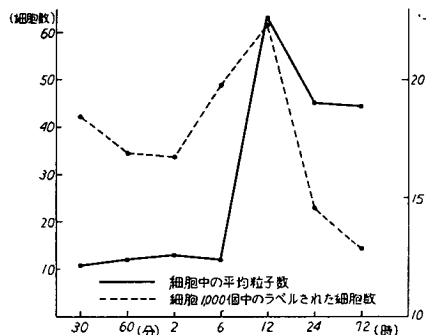


図 3 間質の細胞

まれた銀粒子の数は20個内外で、腺上皮の部位的关系からいうと形態学的に特に一定の傾向がなく、散発的の取込が見られる(写真5) 取込の核はやや大型の核質の明るい細胞核が多い様に見えるが(写真6)、一方ではかなり扁平化した小型の細胞核にも取込が認められる(写真7) 粒子数についてみると5—9個の部位を peak として正規分布に近い分布を示す(図4) 基底部分の細胞にも取込が見られる様になって来る(写真8) 又間質の遊走性の細胞への取込が増加して来る(写真9)

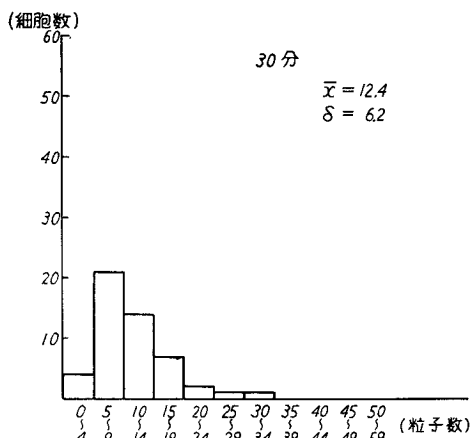


図 4

## 60分

腺上皮細胞の取込が増加して来て30分値が1,000個中4個の取込であったに比して6個となり(図1), 核中の銀粒子数も急激に増加して来る(写真10) その粒子数の分布は10—14を peak とし30分に比して peak がやや粒子数の多い部分に見られる。正規分布に近い分布を示す(図5) 基底部の滑平筋線維様の細胞, 及び未熟な筋上皮様の細胞の取込及び間質の細胞の取込も徐々にではあるが増加して来る。

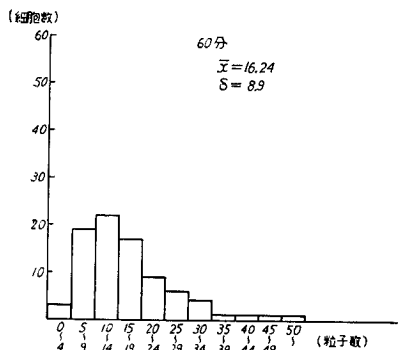


図 5

## 2時間

腺上皮細胞の取込はさらに増加し1,000中13個となる(写真11) しかし細胞分裂をしている細胞への取込はまだ認められない(写真12). 取込の部位も30分, 60分の場合と同様どの部位に急に増加したという特定の部位を認めることが出来ない(写真11) 平均の銀粒子数は60分値と比してほとんど変化がない(図1). その分布をみると60分同様10—14個の部位に peak がある(図6) 基底部に於ける細胞の取込も徐々に増加する(図2) 間質の細胞では小型の遊走細胞への

取込, 及び線維芽細胞の細胞核への取込は徐々に増加しているが, 組織肥胖細胞様の大型の細胞核への取込はまだ見られない(写真13) 取込の増加は徐々に60分値とあまり変わらず, 粒子数に於ても変化が少ない(図3)

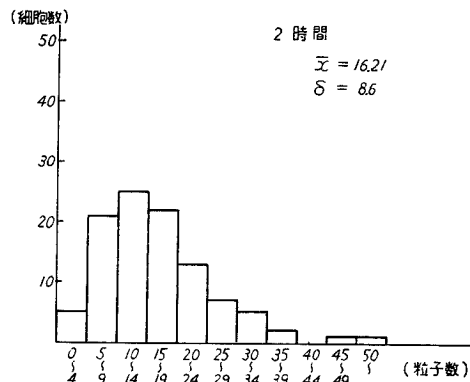


図 6

## 6時間

上皮細胞への取込は1,000個中22とさらに増加, ここにいたって初めて細胞分裂を起している細胞への取込が認められる様になって来る(写真14) ここでも又特定の部位での細胞の増加はみられない. この頃より平均銀粒子数が減少し初める(図1) この場合も銀粒子の分布は10—14に peak が見られるが分布にやや乱れが生じて来る(図7) 基底部分の細胞の取込も増加して来る(図2) 間質の細胞では, 小型の細胞, 線維芽細胞様の細胞の取込の増加がみられるが, 大型の組織肥胖細胞様の細胞核への取込はまだ認められない。

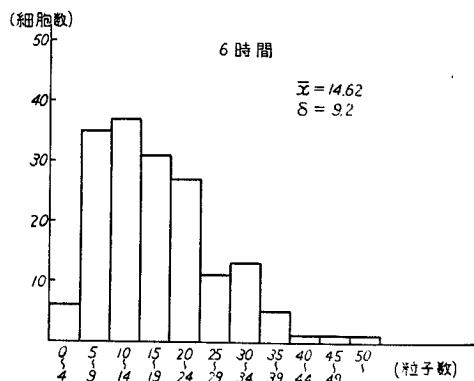


図 7

## 12時間

上皮細胞核への取込が急激に増加, 特に横に二個一

対に並んだ細胞核への取込が目立って来る(写真15). 時に一列に並んだ核よりはみ出て、内腔に浮き出した様に見える核への取込が見られる様になって来る(写真16) 上におしあげられた様に見える核は、その細胞が分泌機能のない核の位置を示しているのかも知れない. 平均の銀粒子数は少しずつ減少して来る(図1) 平均銀粒子数は10—14を peak とし標準偏差が6時間値に比して小さくなっている(図8) 基底部の細胞核にあってはその取込が増加して来る(図2). 間質に於ては急激に取込の増加が認められる(写真17) しかし平均の銀粒子数も増加するという一見矛盾した様な結果が生じる(図3) ここで初めて組織肥細胞様の細胞核の取込が認められる様になって来る(写真18)

#### 24時間

上皮細胞核への取込はさらに増加. 特に横に並んで

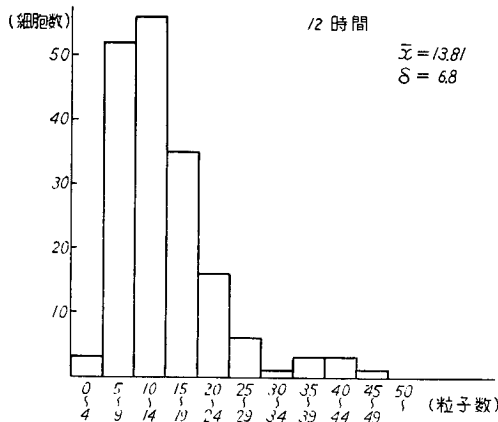


図 8

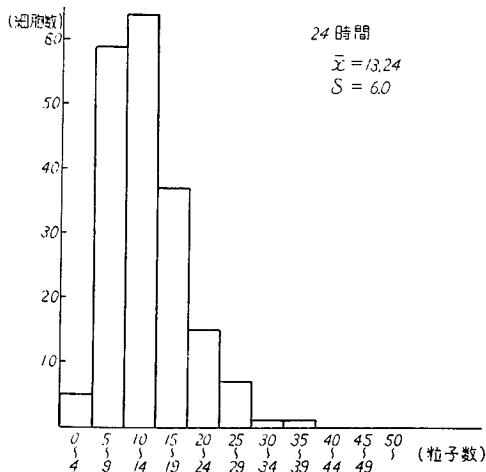


図 9

対になっている核が増加して来る(写真19, 20) 又細胞が腺腔内へ折込を作っている様な部分の取込の多いが目立っている(写真19) 銀粒子数は徐々に減少し初め(写真20), 分布状態は図9の様で標準偏差6.0と分布の範囲が狭くなって来る. 核分裂像への取込がほとんど認められなくなってくる(写真21) 基底部分の細胞核の取込が急激に増加(写真22) 間質では細長い細胞への取込がやや少なくなって小円形細胞への取込は増加, 組織肥細胞様の大型の細胞核への取込が増加して来る.

#### 72時間

上皮細胞への取込は極度に減少(図1) 銀粒子数も同様に減少して来る(図1, 写真23). 標準偏差も5.6となり, 取込の銀粒子の数の幅が狭くなって来る. 又階段状に粒子の多いほど少なくなっている(図10)

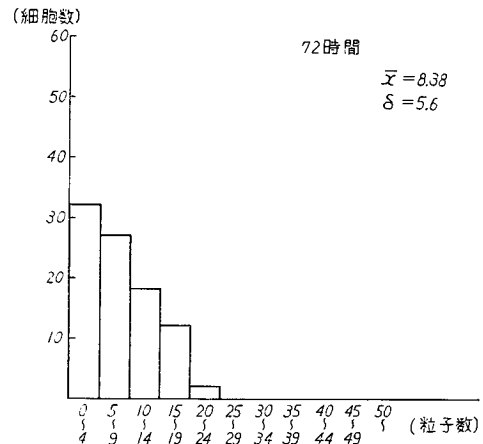


図 10

基底部の細胞の取込も極度に少なくなってくる(図2) 間質の細胞にあっては, やや大型の細長い細胞への取込は減少するが, 小さい細胞への取込の減少は比較的少ない(写真24) 組織肥細胞核の取込はほとんど見られなくなる.

#### 考 按

細胞の増殖を知る手段として Autoradiography は有用な方法である. Autoradiography とは種々の物質をアイソトープでラベルし, これを動物又は細胞に投与し, 切片を作り暗室にて乾板をかぶせたり, 密着して露光し, 一定時間後現像して乾板に認められる黒点を指標にして, 物質の行方を組織或は細胞単位で観察する

手段である<sup>8) 14) 19) 20) 36) 37) 38)</sup>。本法は Bequerel が1896年ウラニウムの写真感光能を発見したのに端を発している。次いで Lacassagne<sup>39)</sup> がポロニウムの放射性を利用して、その組織学的局在部位をつきとめることに初めて成功し、これに Autohistoradiography の名をつけたのが生物学的応用の初めてで、1940年 London が蛙の Macroautoradiography に利用したのを契機に生物学的領域にとり入れられる様になった。しかしこれらはいずれも天然のアイソトープを用いたもので、人工のラジオアイソトープを用いたのは1938年 Bulliard, Grunland and Moussa<sup>13)</sup> が副腎のフォスファチッド中への<sup>32</sup>Pの取込を知る目的で実験を行なったのが初めて、次いで1940年 Hamilton等<sup>28)</sup> によって<sup>131</sup>Iを用いて甲状腺 Autoradiography が得られるに及んで著しい発展を示す様になって来た。核酸代謝方面の研究に於ても Bélanger and Leblond等<sup>4)</sup> は<sup>32</sup>Pを用いて、Pelc等<sup>54)</sup> は<sup>14</sup>Cを用いての研究が見られるがそれ等は解像力等に於いて色々の難点を有していた。しかし Fitzgerald等<sup>19)</sup> により<sup>3</sup>H化合物が紹介され、Hughes等によって<sup>3</sup>H-Thymidine が合成されるに及んで Autoradiography の精度が一步前進しそれ以後多くの研究がなされた<sup>30) 42) 48) 49) 50) 66) 69)</sup> すなわち<sup>3</sup>Hの $\beta$ 線エネルギーは極めて低く最大エネルギー 17.9KeV、平均エネルギーは 5.69KeV で単位密度中の飛程は最大 8.2 $\mu$ であり、1 $\mu$ 以上の飛程を有するものは全エレクトロンの約30%で2 $\mu$ 以上の飛程を有するものは10%にすぎない。又<sup>3</sup>Hの $\beta$ 線の感光乳剤中での飛程は最大2 $\mu$ 程度で、約90%は0.2 $\mu$ で吸収される。stripping film用の感光粒子の直径は0.2~0.3 $\mu$ であるから<sup>3</sup>Hの $\beta$ 線の約90%は唯1個の感光粒子に作用するのみで、2個以上の粒子に作用する $\beta$ 線は極めて少いことになる<sup>48)</sup>。これは<sup>3</sup>Hを用いることにより細胞単位の又はその内部構造単位の Autoradiography が得られる様になったことを意味する。これで細胞レベルの核酸合成能並びに組織、細胞の新生交代の機序が動的に観察出来る様になり多数の発表がなされた<sup>2) 3) 11)</sup>

12) 18) 33) 41) 59) 65) 66)

1894年 Bizzozzero<sup>6)</sup> によって粘膜及び表皮に於いては、細胞はたえず崩壊してゆき、一定の細胞の分裂によって、それが絶えず補われていることが確認された。この様な生理的再生の源となる様な細胞層は未分化層という名でよばれている<sup>62) 63)</sup>。以前に於いてはこの未分化層は細胞分裂を数えることによって証明されていた。しかしながら有糸分裂に先立って核内に DNA が生成されることが Feulgen 反応、紫外線吸収法及びラベルされた DNA 前駆物質の転入状態によつて証明される様になった<sup>10)</sup>。DNA は Watson, Click によると2本の長い分子の鎖で DNA 生成にあたっては2本の長い鎖がとけて一本宛となりそれぞれに適応した新しい desoxyribonucleotide が結合して2つの DNA 分子を作るのではないかという。その場合<sup>3</sup>H-Thymidine が存在すると、新しい染色体形成にあたってはこれを取込む為、その染色体が放射能を有する様になる。そして DNA の合成が細胞分裂の前提として必須条件であるとすれば labeling はその細胞が少くとも1回は分裂する能力があることを示すことになる。それ故 in vivo で labeling した場合は細胞増殖の動的関係を追求することが出来る<sup>29) 64) 71) 73)</sup>。細胞内での DNA の合成は非常に短時間で行なわれ Rubin<sup>61)</sup> によると細網内皮系の未熟細胞のあるものでは注射後1分ですでに Autoradiogram によって<sup>3</sup>H-Thymidine が DNA に合成されていることが証明されている。それ故標本採取より固定までの時間は40秒後で十分であり in vivo では20分を effective labeling period という名で呼ぶ人もいる<sup>61)</sup>

Autoradiography には多数の変法があるが、その主なものは、Contact 法<sup>15)</sup>、Mounted 法<sup>17)</sup>、Coated 法<sup>4) 7) 16) 52) 53) 60)</sup> があり現在では主として Coated 法が用いられている。Coated 法は液状の乳剤を用いる Dipping 法<sup>4)</sup> と Stripping film を用いる Stripping 法<sup>7) 16) 52) 53) 60)</sup> とがある。

組織をラベルする方法にも種々の方法がある<sup>26)</sup>が、現在広く用いられているラベルされた Thymidine を中心に述べると、

1) cumulative labeling method<sup>22) 23) 24)</sup>

5~6時間の間隔において  $^3\text{H}$  及び  $^{14}\text{C}$ -Thymidine でラベルする方法で最初のラベル後 DNA 合成相に流入した細胞の百分率が2回目に行なったラベルのみをもっている細胞の百分率として測定出来、全ての細胞がひとあたり DNA 合成相に流入する時間を測定するものである。

2) single pulse labeling<sup>5) 32)</sup>

## a) dilution chase method

$^3\text{H}$ -Thymidine が時と共にラベルを半減してゆく状態を実測し generation time (以下 tg) を求める方法。

## b) migration chase method

$^3\text{H}$ -Thymidine を注射し  $^3\text{H}$ -DNA を合成した細胞の移動状態より turn over をよみとる方法。

## c) mitosis chase method

mitosis を起している細胞のラベルされたものの百分率より tg や DNA synthetic time (以下 ts) を読みとる方法。

## d) flash labeling method

$^3\text{H}$ -Thymidine を短時間作用することによって次式より tg を算出するもの。

$$\text{tg} = 100 \times \frac{\text{ts}}{\text{LI}} \quad \text{LI : } ^3\text{H-Index}$$

ts は哺乳動物組織については著るしい一致をみ5~7時間であり、この期に於いてのみ  $^3\text{H}$ -Thymidine は DNA に組込まれる<sup>31) 51)</sup>。

私は主として flash labeling method を用いて標識核の算定、銀粒子の算定を行った。 $^3\text{H}$ -Thymidine の標識は静止核に於いては核の上に選択的に取込がみられる。その取込の有無を判定するには back ground の有無、多少が問題となる。これは化学的、物理的な影響も大きい感光乳剤固有のものもある。マイクロオートラジオグラムに利用される感光膜には Kodak NTB, NTB<sub>2</sub> 乾板, AR10, AR50 ストリッピング乾板, Ilford G5, K5, L4 等の外国製品があり国産では Fuji ET2E があり。Kodak AR10 は ET2E の厚さ  $15\mu$  に比して  $5\mu$  と薄く最も広く利用されている。ET2E は AR10 に比して back ground がやや多く、やや厚い

という難点はあるが、実用的にほとんど差がないことが証明されている<sup>68)</sup>。したがって乾板に新しいものを使用し、細心の注意をはらうことによってそのかぶりを少くすることが可能である<sup>20)</sup>。私もその意味で Fuji ET2E の乾板を使用した。標識の判定の場合は back ground が1細胞あたり1個の場合は感光銀粒子が4個以上の場合標識されたと判定して良いことが知られている<sup>43)</sup>。私は1個以下に back ground をおさえ得たので3個以上の取込を標識されたものとした。津屋<sup>68)</sup>は back ground が1細胞あたり2個以上の場合信用あるデータを得ることが不可能であり標本作成には十分注意が必要であると云っている。銀粒子の黒化濃度の少ない場合には、還元された銀粒子と活性のある粒子との間には直線的な関係がある。 $^3\text{H}$  の  $\beta$  線の場合エネルギーが極めて低い為、現在使用されている様な感光粒子の直径  $0.2 \sim 0.3\mu$ <sup>9)</sup> のものでは、 $^3\text{H}$  の  $\beta$  線の90%が唯1個の感光乳剤に作用するのみで2個以上の粒子に作用する  $\beta$  線は極めて少い<sup>57)</sup>。したがって銀粒子数を数えることによって、比較的に於ける定量的測定だけでなく、絶対値をも得ることが出来る。銀粒子の数を算定することは Autoradiography に於いて、特にその結果に適当な統計的处理を行なった場合には、おそらく最も信頼に値する定量法になる<sup>11) 19) 53)</sup>。粒子算定を行い得る条件としては次の事がある。

a) 現像が適正であること。現像が不足であると銀粒子が小粒となり、観察が著るしく困難となる。

b) 銀粒子数は20~30個以下が適当で、そうでないと細胞の識別が不可能となるし、分布差が出にくいという欠点もある。(事実 Koburg は腸上皮に於いて銀粒子の数の平均を30位にすると幅の狭い分布図が得られたと云っている。これは  $^3\text{H}$ -Thymidine の投与量が問題となる。投与量が多すぎると  $\beta$  線の為に、核分裂が障害され正常の細胞分裂を伺い得ないという欠点も生じて来る。今までのところ  $1.0 \sim 0.5\mu\text{C/gm}$ 。以下の使用量では辜丸の精粗細胞に対しても、 $^3\text{H}$  の  $\beta$  線による悪影響はないことが確められ

ている。よって私は投与量を  $0.5\mu\text{c}/\text{gm.}$  とした。)

c) 染色は少し薄目の方が銀粒子と判別しやすい。

d) back ground は1細胞当たり1個以下であること。

があげられている<sup>57)</sup>

本実験に於ける取込の状態をみると15分で間質の細胞核に取込がみられ、次いで30分で上皮細胞核に取込がみられるが、予備細胞、上皮母細胞の存在は確認出来なかった。又上皮細胞の取込の初めに於いてラベルされた上皮細胞の分布をみるに、その分布は一見不規則で、未分化層を思わす特別な分布の傾向、或は特別の部位の関係はみられなかった。 $^3\text{H}$  の取込の初期に於いて取込細胞核は比較的大型に見えるものが多いが、小型の核にも取込がみられ組織標本上の上皮細胞核の形態と  $^3\text{H}$  取込の間には厳密な関係は確認されなかった。

上皮細胞核への標識は30分前後で初まり徐々に増加して来る。しかし平均粒子数をみると1時間値まで増加、1時間値と2時間値がほとんど変わらず、6時間値より減少しているのがわかる。2時間迄は DNA を合成する細胞に  $^3\text{H}$ -Thymidine が取込まれるが、6時間以後はその細胞が分裂を開始する為と思われる。6時間目の Autoradiogram で分裂を行なっている細胞に取込が開始したのとよく一致する。6時間目の標本で核分裂像に標識を認めたことから考えるとラット前立腺腹葉の上皮は DNA 合成の初期より核分裂までの時間が約6時間と考えられる。又1時間目の  $^3\text{H}$ -Index が0.6であり、哺乳動物では  $t_s$  は5~7時間であるのでこれを6時間と仮定するとラット前立腺腹葉上皮の  $t_g$  は前記の式より約42日となる。ラット前立腺では DNA 合成から核分裂迄約6時間であるので、それ以後の上皮細胞核のラベルの状態は核分裂の結果生じた二つの娘細胞に銀粒子が認められる可能性が大きくなると考えられる。事実以後24時間迄の所見では、ラベルされた細胞は一对で配列することが多く、その一对の細胞の配列は上皮細胞列に平行に基底層に並んで認

められるものと、娘細胞が腺腔の内腔に向かって、上皮細胞の核列から離れてやや浮きあがって位置するものとある。後者は分泌機能完成以前に、上皮細胞核は細胞の中央に位置し、分泌開始と共に再び核が基底部におしきげられる経過を示している。それは分裂期にある細胞が基底部より離れ浮き出た様な状態になっていることからもうかがえる。しかし場合によっては、中のあるものが細胞列からおしあげられ剥脱するものがあるのかも知れない。12時間以後のラベルの状態を見ると上皮の折込とラベルされた娘細胞との分布とは相関々係があり、したがって折込の場所はその部の細胞分裂の結果局所的に細胞が増加することと関係があると考えることが出来る。しかし折込の場所から  $^3\text{H}$  の取込が初まったという所見は前述の様に証明されないから折込は腺腔のある場所に常に固定しているものではなく、腺腔の色々な場所に局所的細胞増生に応じて形成されたり、消退したりしている dynamic な構造であると考えられる。前立腺組織のラベルされた  $^3\text{H}$  の再利用についてはないものとは思われるがなお検討を要する所である。

間質では最も目立つのは腺腔周囲の線維芽細胞の取込であって、その他に小型の遊走細胞、組織肥胖細胞を思わす大型の細胞の取込がみられる。上皮細胞の取込が時間の経過と共に増加、減少するに比して、間質細胞の取込はこの傾向と平行しないのは多分、取込を示す間質細胞の種類が多いこと、前立腺組織以外でラベルされ、ラベルされた細胞がそこから分裂してこの部に達した遊走細胞がある為と考えられる。基底部分の細胞も細胞数の増加と平均粒子数の増減とが合わないところをみると2~3種の細胞が含まれているのかも知れない。

## 結 語

1) ラット前立腺腹葉に  $^3\text{H}$ -Thymidine を投与すると15分で間質の細胞核への標識が認められる様になる。

2) 30分後に於て初めて上皮及び基底部の細胞への標識が開始する。

3) 上皮細胞への取込はその分布が不規則で特別の分布の傾向及び特別の部位的関係はみられず、上皮細胞核の形態と標識の間にも厳密な関係は認められない

4) 上皮細胞核で6時間で分裂核への標識が認められることより、ラット前立腺腹葉上皮のDNA合成より核分裂までの時間は約6時間と考えられる。

5) 1時間目の $^3\text{H}$ -Indexは0.6であるから上皮細胞のgeneration timeを約42日と推定した。

6) 6時間以後の上皮細胞核の標識は一對になったものが多く、時には細胞列より浮き出した様な核への取込が見られるが、これはまだ分泌機能のない細胞と思われる。

7) 間質の細胞にあっては種類の多い為か、他から遊走して来る細胞のある為か、時間と取込のある細胞数の増減が一致しない。

8) 基底部の細胞にあっては細胞の増加の状態と平均粒子数の増減とが合わない

9) 前立腺上皮のラベルされた $^3\text{H}$ の再利用はないものと思われる。

(本稿の要旨は第52回日本泌尿器科学会総会に於いて宿題報告の一部として、又第53回日本泌尿器科学会総会に於いて発表した。)

終りに御校閲を賜った恩師加藤篤二教授、病理学的御指導を賜った第一病理飯島宗一教授及び御助云をいただいた原爆放射能医学研究所病理部門横路謙次郎助教授に深甚なる謝意を表する。

## 文 献

- 1) Abercrombie, M. and Crausey, G. : *Nature*, **166**: 229, 1950.
- 2) Amano, M., Messier, B. and Le blond, C. P. : *J. Hist. Chem.*, **7**: 153, 1959.
- 3) Atlas, M., Bond, V. P. and Cronkite, E. P. : *J. Hist. Chem.*, **8**: 171, 1960.
- 4) Bélanger, L. F. and Leblond, C. P. : *Endocrinology*, **39**: 8, 1946.
- 5) Beserga, R., Hegar, G. C., Kisielecki, W. E. and Lisco, H. : *Lab. Invest.*, **11**: 360, 1962.
- 6) Bizzozero, G. : *Wien Med. Wschr.*, **696**: 744, 1894.
- 7) Boyd, G. A. and William, A. I. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **69**: 225, 1948.
- 8) Boyd, G. A. : *Autoradiography in Biology and Medicine*, Academic Press Inc. Publishers, New York, 17, 1955.
- 9) Boby, G. A. : *Autoradiography in Biology and Medicine*, Academic Press Inc. Publishers, New York, 110, 1955.
- 10) Brachet, J. : *Academic Press Inc. Publishers*, New York, 25, 1957.
- 11) Büchner, F., Oehlert, W. and Cote, J. : *Beitr. Path. Anat.*, **125**: 280, 1961.
- 12) Büchner, F. and Oehlert, W. *Beitr. Path. Anat.*, **126**: 91, 1962.
- 13) Bulliard, H., Grundland, I. and Moussa, A. C. R. Acad. Sc., **207**: 745, 1938.
- 14) De Robertis, E. D. P., Nowinski, W. W. and Francisco, A. S. : *General Cytology*, W. B. Saunders Co., 92, 1960.
- 15) Dobyns, B. M. and Lennon, B. : *J. Clin. Endocrinol.*, **8**: 732, 1948.
- 16) Doniach, I. and Pelc, S. R. : *Brit. J. Radiol.*, **23**: 184, 1950.
- 17) Edicott, K. M. and Yagoda, H. : *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **64**: 170, 1947.
- 18) Firket, H. and Verly, W. G. *Nature*, **181**: 274, 1958.
- 19) Fitzgerald, P. J., Edinoff, M. L., Knoll, J. E. and Simmel, E. B. : *Science*, **114**: 494, 1951.
- 20) Fitzgerald, P. J., Simmel, E., Weinstein, J. and Martin, C. : *J. Lab. Invest.*, **2**: 181, 1953.
- 21) Fitzgerald, P. J. : *Mc Graw-Hill Book Co.*, New York, 534, 1959.
- 22) Fujita, S. : *Exp. Cell Res.*, **28**: 52, 1962.
- 23) Fujita, S. : *J. Com. Neur.*, **120**: 37, 1963.
- 24) 藤田哲也 : *神経研究の進歩*, **7**: 11, 1963.
- 25) 藤田哲也・小島 晃・加来博 : *Proc. Japan Conf. on Isotope (Tokyo)*, **4**: 178, 1963.
- 26) 藤田哲也・三宅清雄 : *細胞化学シンポジウム*, **14**: 275, 1964.
- 27) 服山公江 : *日皮会誌*, **73**: 287, 1963.
- 28) Hamilton, J. G., Soley, M. H. and Eichom, K. B. : *Univ. Calif. Publ. Pharmacol.*, **1**: 339, 1940.
- 29) Howard, A. and Pelc, S. R. : *Heredity*,

- Suppl., 6: 261, 1952.
- 30) Hughes, W. L., Bond, V. P., Brecher, G., Cronkite, E. P. and Painter, R. B.: Proc. Nat. Acad. Sc., 44: 476, 1958.
  - 31) Hughes, W. L.: The Kinetics of Cellular Proliferation, Edited by Stholman Grunne and Stvotton, New York 83, 1959.
  - 32) 加来 博・田中秋三・五十嵐清雄・岩下健三: 京府医大誌, 72: 361, 1963.
  - 33) King, R. C. and Burnett, R. G.: Science, 129: 1674, 1959.
  - 34) Koburg, E. and Maurer, W.: Biochem. Biophys. Acta, 61: 229, 1962.
  - 35) Kopriwa, B. M. and Leblond, C. P.: J. Histochem. Cytochem., 10: 269, 1962.
  - 36) 古関靖夫: 化学の領域, 増刊16: 154, 1954.
  - 37) 古関靖夫・納谷書店, 東京, 15, 1955.
  - 38) 古関靖夫・丸尾文治・佐々木行美・杉村隆・加藤正夫: 化学の領域, 増刊24: 105, 1956.
  - 39) Lacassagne, A.: C. R. Soc. Biol., 90: 487, 1924.
  - 40) Leblond, C. P. Stevens, C. E. and Bogoroch, R.: Science, 108: 513, 1948.
  - 41) Leblond, C. P.: J. Hist. Chem., 7: 153, 1959.
  - 42) Leblond, C. P., Messier, B. and Kopriwa, B.: Lab. Invest., 8: 296, 1959.
  - 43) Levi, H., Nielsen, A. and Actuary, V.: Lab. Invest., 8: 82, 1959.
  - 44) Lison, L.: Histochemie et Cytochemie, Gauthier-Villaris & Co. Paris, 134, 1960.
  - 45) Maurer, W. and Koburg, E.: Verh. Dtsch. Ges. Path., 45: 108, 1961.
  - 46) Messier, B.: Academic Press Inc. Publishers, New York, 23, 1959.
  - 47) Messier, B. and Leblond, C. P.: Am. J. Anat., 106: 247, 1960.
  - 48) 永井輝夫: 細胞化学 シンポジウム, 12: 9, 1962.
  - 49) Oehlert, W.: Beitr. Path. Anat., 124: 311, 1961.
  - 50) Oehlert, W. and Büchner, F.: Beitr. Path. Anat., 125: 374, 1961.
  - 51) Painter, R. B. and Drew, R. M.: Lab. Invest., 8: 336, 1955.
  - 52) Pelc, S. R.: Nature, 160: 749, 1947.
  - 53) Pelc, S. R. and Howard, A.: Brit. Med. Bull., 8: 132, 1952.
  - 54) Pelc, S. R. and Howard, A.: Exp. Cell Res., 8: 336, 1956.
  - 55) Pelc, S. R. and Howard, A.: Exp. Cell Res., 11: 128, 1956.
  - 56) Pelc, S. R.: Exp. Cell Res, 12: 320, 1957.
  - 57) Pelc, S. R.: Lab. Invest., 8: 127, 1959.
  - 58) Perry, R. P.: Academic Press Publishers, New York, 305, 1963.
  - 59) Plaut, W. and Mazia, D.: J. Biophys. Biochem. Cytol., 2: 573, 1956.
  - 60) Pressman, D., Eisen, H. N. and Fitzgerald, P. J.: J. Immunol., 64: 281, 1950.
  - 61) Rubini, J. R. Cronkite, E. P. Bona, V. P. and Keller, S.: J. Nucl. Med., 2: 223, 1961.
  - 62) Schaper, A.: Roux' Arch., 14: 307, 1902.
  - 63) Schaper, A. and Cohen, C.: Roux' Arch., 19: 348, 1905.
  - 64) Smellie, R. M. S., Humphrey, G. F., Kay, E. R. M. and Davidson, J. N.: Biochem. J., 60: 177, 1955.
  - 65) Smellie, R. M. S., Mcardle, A. H., Kier, H. M. and Davidson, J. N.: Biochem. J., 60: 37, 1958.
  - 66) Taylor, J. H., Woods, P. S. and Hughes, W. L.: Proc. Nat. Acad. Sc., 43: 122, 1957.
  - 67) 津屋旭・早野育男: 最新医学, 15: 902, 1960.
  - 68) 津屋旭・早野育男 岡野滋樹 日本臨床, 19: 1475, 1961.
  - 69) Very, W. G. and Hunnebelle, G.: Bull. Soc. Chim. Belge., 66: 640, 1957.
  - 70) Walker, B. E. and Leblond, C. P.: Exp. Cell Res., 14: 510, 1958.
  - 71) Walker, P. M. B.: Heredity, Suppl., 6: 275, 1952.
  - 72) Walker, P. M. B.: Proc. Roy. Soc. B., 140: 274, 1952.
  - 73) Walker, P. M. B.: Exp. Biol., 6: 265, 1952.

(1966年1月6日特別掲載受付)

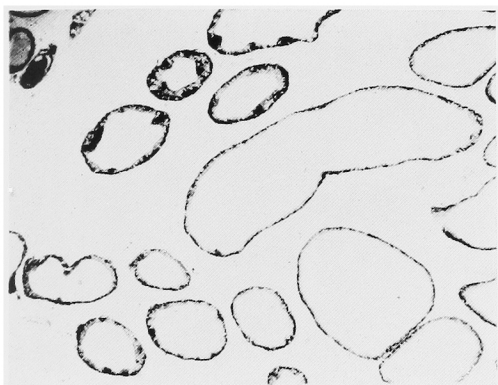


写真1 正常ラット前立腺.

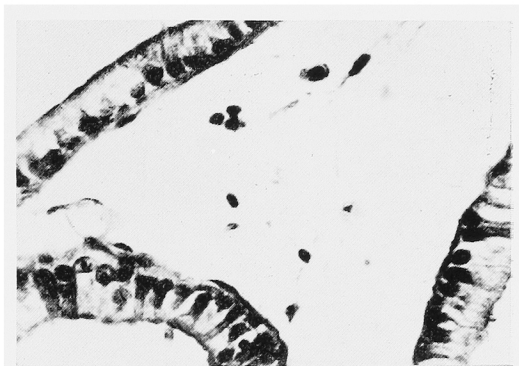


写真2 正常ラット前立腺.

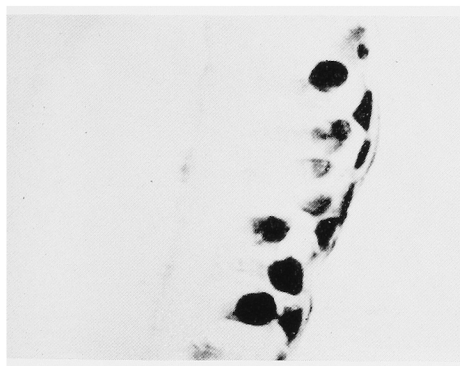


写真3 正常ラット前立腺.

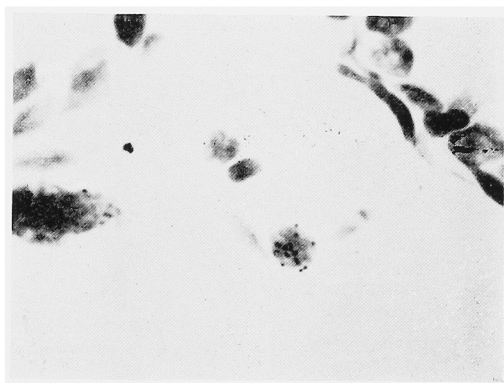


写真4  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
15分, 間質の細胞核の標識.

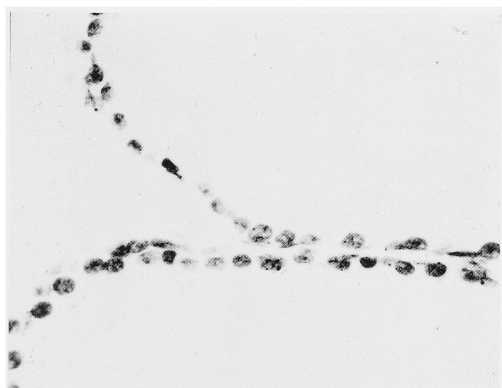


写真5  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
30分, 腺上皮の標識を認める.

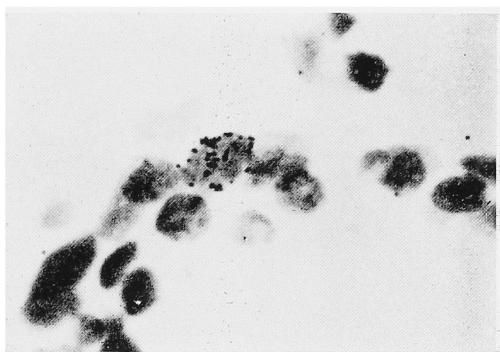


写真6  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
30分, 大型の核の標識.

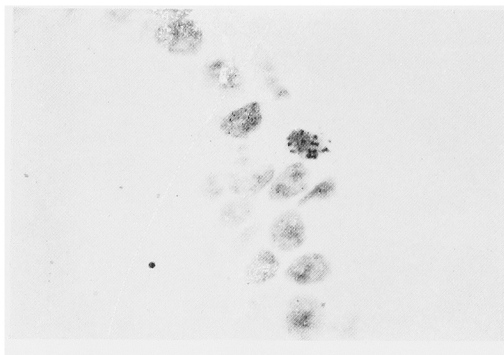


写真7  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
30分, 小型の核の標識.

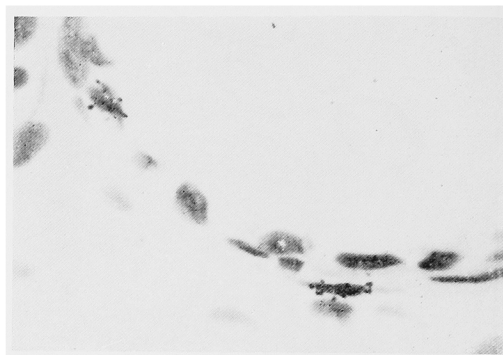


写真8  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
30分, 基底部の細胞核の標識.

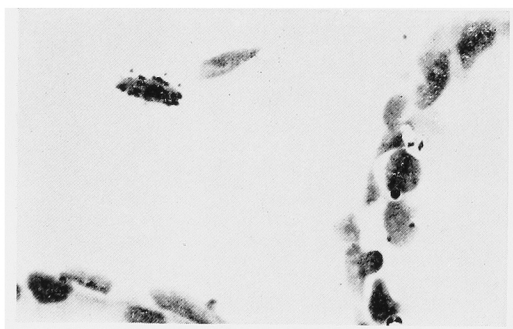


写真9  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
30分, 間質の遊走細胞の標識.

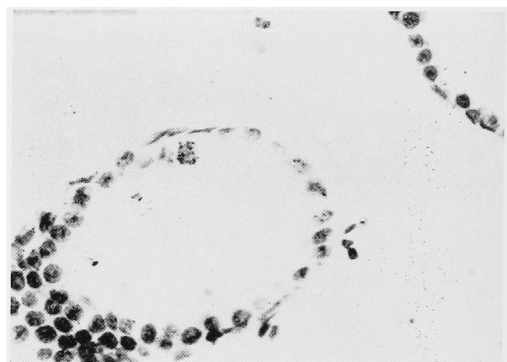


写真10  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
60分.

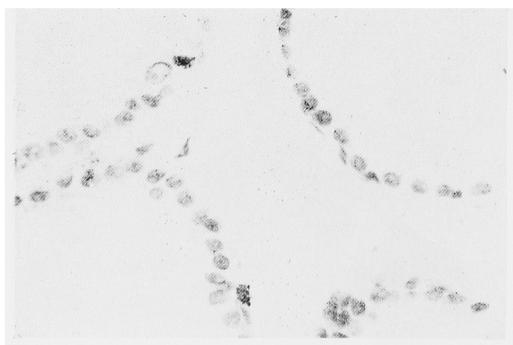


写真11  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
2時間, 標識細胞の増加.

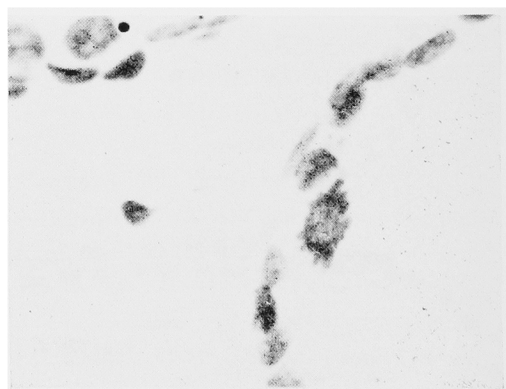


写真12  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
2時間, 細胞分裂を起している  
細胞への標識なし.

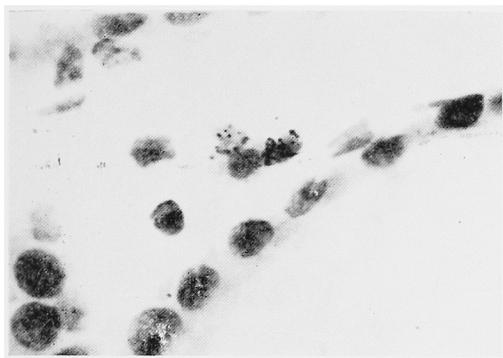


写真13  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
2時間, 間質の細胞の標識.

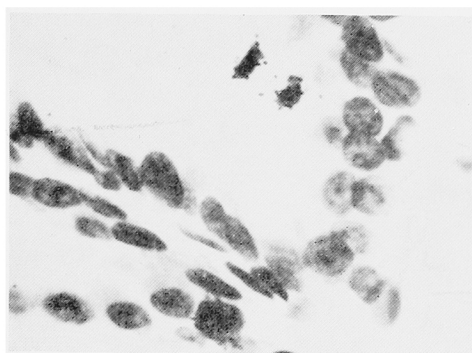


写真14  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
6時間, 分裂時の核の標識.

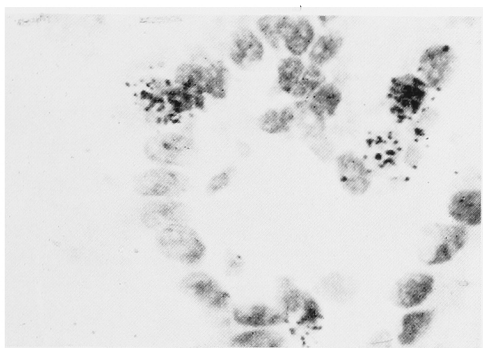


写真15  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
12時間, 標識の増加, 一對に並んだものが多い.

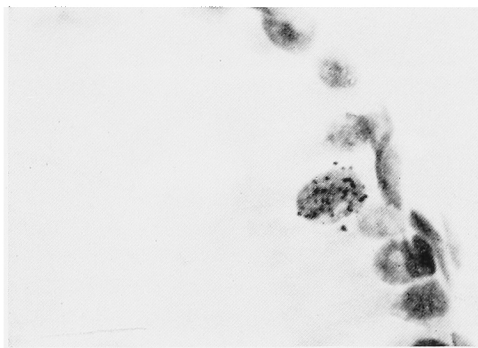


写真16  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
12時間, 細胞列より浮き上った核の標識.

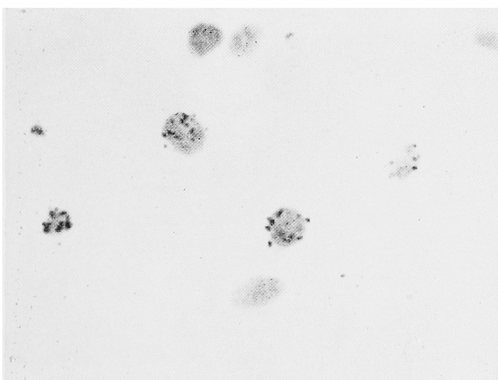


写真17  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
12時間, 間質の標識の増加.

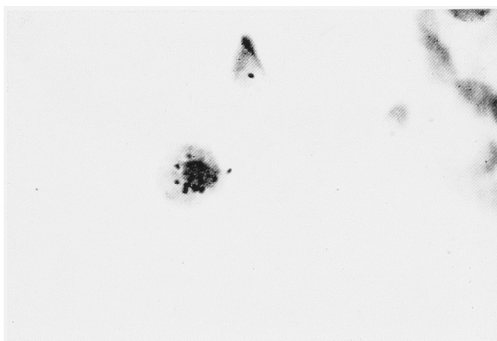


写真18  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
12時間, 組織肥胖細胞様の細胞の標識.

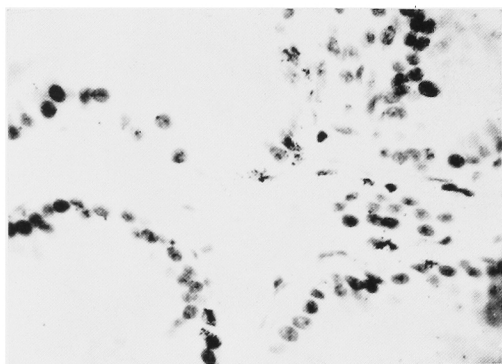


写真19  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
24時間, 標識の増加.

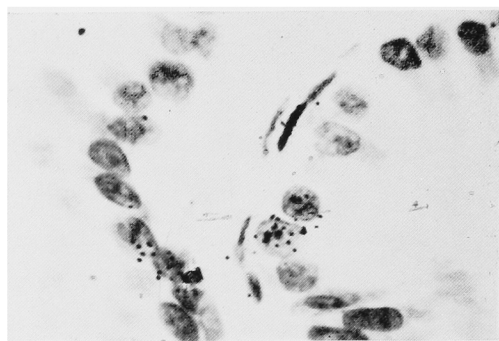


写真20  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
24時間, 対になった標識の増加.

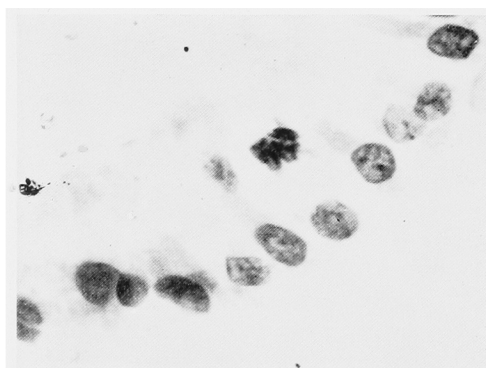


写真21  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
24時間, 細胞分裂像への標識の  
消失.

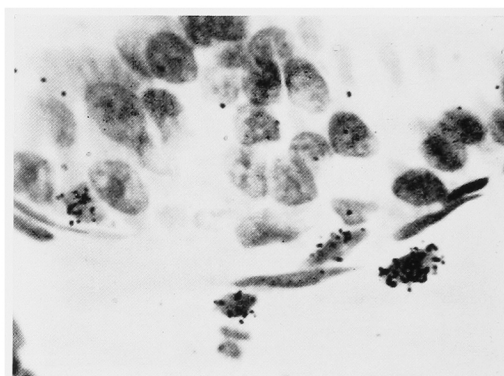


写真22  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
24時間, 基底部分の細胞核の標識  
の増加.

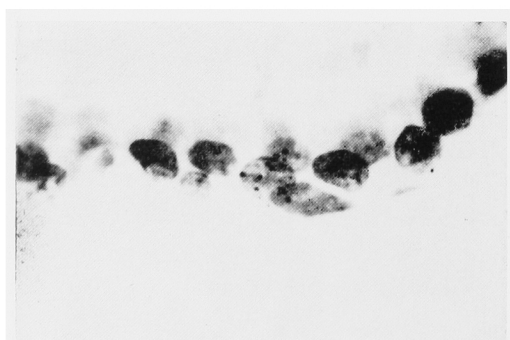


写真23  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
72時間, 標識及び銀粒子数の減少.

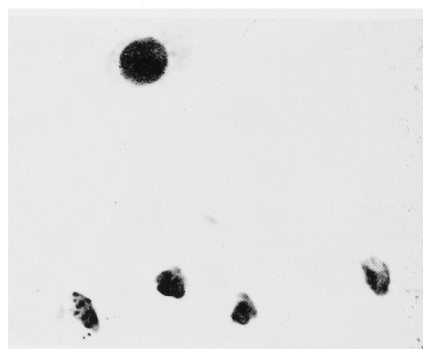


写真24  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後  
72時間, 間質の細胞核の標識.