

## 犬の十二指腸腺に関する研究

竹花一成\*・阿部光雄\*

### A Study of the Duodenal Glands in the Dog

Kazushige TAKEHANA\* and Mitsuo ABE\*

(June, 1981)

#### 緒論

十二指腸腺は、小腸の粘膜下組織に存在する腺で、「粘膜下組織腺」とか「ブルンネル氏腺」とも呼ばれている。この腺は、1679年に Wepfer<sup>33)</sup>が、打ち首になり死後8日間水中に浮遊させていた婦人の十二指腸からなお充分な粘液を水中に放出する腺として見い出し、1846年 Middeldorf<sup>10)</sup>により、哺乳類にのみ存在する腺であることが、初めて記載された。その後、十二指腸腺の分布範囲と胆管開口部との関係<sup>15)</sup>、十二指腸腺の分布範囲と脾管開口部との関係<sup>32)</sup>などに関する研究が行なわれてきた。しかし、十二指腸腺の分布範囲は胆管及び脾管開口部と無関係であることが、Grossman<sup>5)</sup>により明らかにされた。また Cook<sup>2)</sup>によると、十二指腸腺は、肉食獣よりも草食獣で厚く、しかも広く分布すると述べている。

犬の十二指腸腺の分布範囲については全くなく、Titkemeyer and Calhoun<sup>31)</sup>および Evans<sup>6)</sup>により幽門と十二指腸との移行部に存在すると記載されているのみである。他の動物（馬・牛・豚）のように明確な数値は記載されていない。一般に十二指腸腺の分布密度に関する報告は、1944年に Landboe-Christensen<sup>8)</sup>の人に関するものがあるのみで、家畜に関しては、竹花<sup>29)</sup>が、馬・牛・豚で報告したのみである。

犬の十二指腸腺腺房を構成する細胞の形態については、Deimler<sup>3)</sup>、Titkemeyer and Calhoun<sup>31)</sup>、Elias<sup>4)</sup>、Moe<sup>11)</sup>の論文や、Krölling and Grau<sup>7)</sup>、Stinson and Calhoun<sup>24)</sup>の記載があるがこれらの古典形態学的な腺細胞の分類に代り現在では腺細胞の分泌物の染色性による組織化学的な分類が口腔腺の細胞で行なわれている（25～28）。この様式による犬の十二指腸腺の分類は、未だ行なわれていない。

\* 獣医学科、家畜解剖学教室

Laboratory of Veterinary Anatomy, Department of Veterinary Medicine, The College of Dairying, Ebetsu, Hokkaido, 069-01, Japan.

また、十二指腸腺の分泌物質である粘液の主体、すなわちムコ糖質の組織化学的研究法が近年急速に進歩し、この方法<sup>34)</sup>を応用した十二指腸腺の分泌物の研究は、馬<sup>14), 30)</sup>・牛<sup>30)</sup>・豚<sup>30)</sup>・猫<sup>14)</sup>・フェレット<sup>16)</sup>・犬<sup>18)</sup>で報告されている。組織化学的に、フェレットの十二指腸腺で存在が認められているシアル酸<sup>16)</sup>についても、馬・牛・豚<sup>30)</sup>などすでに認められているが、犬については報告がない。

以上に述べた問題点を明らかにする目的で本研究を行い若干の興味ある知見を得たので報告する。

### 材料及び方法

材料には、雑種犬 7 例を使用し、ネンプタールで麻酔後、放血殺、開腹、直ちに小腸全体を摘出し、2 例は分布範囲及び分布密度を観察する目的で、小腸腸間膜縁に沿って腸を切開し 60% 酢酸水溶液に約 5 時間浸漬した後、筋層及び粘膜固有層を剥ぎ取って、粘膜下組織のみとし、これを Harris の Hematoxylin で染色し十二指腸腺の分布状態及び分布範囲を観察した。他の 5 例は、幽門より後位約 1 cm の部位の十二指腸を採取し、直ちに 2% 酢酸カルシウム—10% ホルマリン溶液<sup>1)</sup>で 24~28 時間固定、アルコール脱水後、パラフィンに包埋、6 μ 厚の切片を作製し、Hematoxylin-Eosin の他、以下のような組織化学的反応を実施して観察した。

#### 1) 多糖類の検出法

過沃素酸—シッフ反応<sup>12)</sup> (Periodic acid-Schiff reaction; PAS と略)

#### 2) グリコーゲンの同定法

ジアスター消化試験<sup>22)</sup> (Diastase digestion test; D-D と略)

#### 3) 酸性ムコ糖の検出法

アルシアンブルー・PAS 法<sup>12)</sup> (Alcian blue-PAS; AB-PAS と略)

#### 4) 強酸性ムコ糖の検出法

a) アルシアンブルー, pH 1.0 法<sup>9)</sup> (Alcian blue at pH 1.0; AB, pH 1.0 と略)

b) 高鉄ジアミン法<sup>22)</sup> (High iron diamine; HID と略)

#### 5) 弱酸性ムコ糖の検出法

a) アルシアンブルー, pH 2.5 法<sup>23)</sup> (Alcian blue at pH 2.5; AB, pH 2.5 と略)

b) 低鉄ジアミン法<sup>22)</sup> (Low iron diamine; LTD 法と略)

#### 6) 中性糖の検出法

a) 過沃素酸酸化 HID 法<sup>22)</sup> (酸化 HID と略)

b) 過沃素酸酸化 LID 法<sup>22)</sup> (酸化 LID と略)

## 7) シアル酸の同定法

シアリダーゼ消化法<sup>23)</sup> (Sialidase digestion test)

## 成 績

犬の十二指腸は、7例の計測では、平均40cmであった。組織学的に、犬の十二指腸腺の分布範囲は、幽門より後方1.5~2.0cmの範囲に存在した。また、分布密度は、幽門より後方に行くに従って急激に減少していた [Fig. 1]。また、十二指腸腺は、組織学的にも幽門部では、すでに出現し、幽門腺と形態学的に同一で区別が出来ず、幽門腺の連続と見なされるものであった [Fig. 2]。ただ、絨毛の有無及び粘膜下組織に腺が存在するというだけで、幽門腺と区別された。十二指腸腺は、周囲をうすい結合組織に囲まれた小葉を形成し、幽門と十二指腸の移行部で最もよく発達していた。この部位では、十二指腸腺は粘膜筋板を貫き、粘膜固有層にまで侵入していた。導管は、腸腺又は絨毛の基部に開口していた [Fig. 3]。小葉は、幽門より遠ざかるにつれて小型になり、小葉と小葉の間も広くなり粘膜固有層に侵入するものはみられなかった。

腺細胞は、細胞質の明るい境界明瞭な一種類の単層円柱上皮で、核は扁平で暗く基底に圧迫されるものや、やや丸いものも存在した [Fig. 4]。

十二指腸腺房の細胞の分泌物、特に糖質の組織化学的反応は Table 1 のようである。この細胞の分泌物は、PAS 陽性物質を有していた [Fig. 5]。この物質は、D-D 後の PAS においても反応性は低下しなかった [Fig. 6]。AB-PAS で赤紫色に染色され、酸性ムコ

Table 1. Histochemical reactions of the duodenal glands

Specie	Dog seromucous cell
Staining methods	
PAS	+
PAS after D-D	+
AB, pH 1.0	+
AB, pH 2.5	+
AB-PAS	purple
HID	+
Oxidized HID	+
LID	+
Oxidized LID	+
Sial-AB*	+

\* Sial-AB: AB, pH 2.5 after sialidase digestion.

+ ~ #: Being proportional to the intensity of reaction.

糖が確認できた [Fig. 7]。強酸性ムコ糖検出のための, AB, pH 1.0 [Fig. 8], HID 及び弱酸性ムコ糖検出のための, AB, pH 2.5 [Fig. 9], LID で陽性を呈した。また, 中性糖検出のための, 酸化 HID [Fig. 10], 酸化 LID で陽性を呈した。シアリダーゼ消化試験では, 対照に比して, AB, pH 2.5 の染色性は低下したが, なお染色性は残存した [Fig. 11]。

### 考 察

犬の十二指腸腺に関する研究において, 十二指腸腺の分布範囲は, Titkemeyer and Calhoun<sup>31)</sup>, Evans<sup>6)</sup> が, 幽門と十二指腸の移行部と述べている部分が, 幽門より後方約 1.5~2.0 cm までであることがわかった。これは, 竹花<sup>29)</sup>がこれまで行った馬・牛・豚の十二指腸腺の分布範囲よりもはるかに短い。Cooke<sup>2)</sup>は, 食性による十二指腸腺の分布範囲の分類を行い, 雑食獣は草食獣より十二指腸腺の分布範囲が短く, 肉食獣では, 更に, 短いと報告している。これについては, さきに竹花<sup>29)</sup>が行った馬・牛・豚の十二指腸腺の分布範囲よりも, 犬ではさらにその範囲が短かった点からも, Cooke<sup>2)</sup>の説を裏付ける成績を得た。

また家畜の十二指腸腺の分布密度に関する研究は, 竹花<sup>29)</sup>の馬・牛・豚に関する研究のみであるが, 今回の研究において, 十二指腸腺の分布密度は, 牛・豚と同様, 幽門部より十二指腸腺消失部にかけて, さらに急激に減少していく傾向がみられた。

また, 組織学的に腺細胞の特徴は, Titkemeyer and Calhoun<sup>31)</sup>により明らかにされたように, 一種類の粘液細胞より成っていた。しかし, 近年, 組織化学的染色法が, Spicer<sup>19,20)</sup>により開発され, 各種染色法による粘液多糖類の分類がなされた<sup>21)</sup>。このような, 組織化学的な反応を加えた分泌物の化学組成による腺細胞の分類には, 現在二つの考え方がある。一つは, Shacklefold and Klapper<sup>17)</sup>が主張する, 分泌顆粒の内容がタンパク質のほか, 中性糖を含むものを漿液腺, 酸性多糖類を主体とする場合を粘液腺, この両者と共に持っている場合を漿粘液腺とする考え方である。他の一つは, Munger<sup>13)</sup>が主張する, 酸性多糖類に富んだ分泌顆粒を含むものを粘液腺, タンパク質が主体で多糖類を一切含まないものを漿液腺, そして, 中性糖を含むものは全て漿粘液腺とする考え方である。本研究においては, 口腔腺の分類で最も多く使用されている Shackleford and Klapper<sup>17)</sup>の分類に従った。それによると, 犬の十二指腸腺は PAS 陽性, AB, pH 2.5 弱陽性であるので, 漿粘液細胞と同定される。(Table 2)。また, 犬の十二指腸腺細胞の分泌物の糖質の組織化学的性質については, 1976 年に Sheahan and Jervis<sup>18)</sup>らが中性糖のみから成ると報告しているが, 著者らも, Sheahan and Jervis<sup>18)</sup>らと同様に中性糖を認めた。その他に少量の強酸性・弱酸性ムコ糖及びシアル酸を含んでいることを明らかにした。従って, 犬の十二指腸腺の分泌物は, これまで, 竹花・阿部<sup>30)</sup>が行った馬・牛・豚と同様シアロムチンであると考えられる。

**Table 2.** Classification of glandular cells based on histochemical observation

	PAS	AB (pH 2.5)
Mucous units	Positive	Positive
Serous units	Moderately Positive	Negative
Seromucous units	Positive	Moderately Positive

## 要 約

犬の十二指腸腺の分布範囲、分布密度、腺細胞の形態、腺細胞の分泌物の組織化学的性質について観察し、以下の結果を得た。

1. 十二指腸腺の分布範囲は、幽門より後方約1.5~2.0 cmであった。
2. 十二指腸腺の分布密度は、幽門部で最も高く、その後で急激に減少した。
3. 犬の十二指腸腺腺細胞は、単層円柱の細胞質は明るく、核は暗く基底に位置し、扁平ないしは丸みを帯び、組織化学的には一種類の漿粘液細胞より成っていた。
4. 犬の十二指腸腺腺細胞より分泌される分泌物には、中性糖、少量の強酸性、弱酸性ムコ糖及びシアル酸を含んでいた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御助言、御協力いただいた、酪農学園大学獣医学科、岩佐憲二、平賀武夫両講師に感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨は第90回日本獣医学会（1980年10月）で報告した。

## 文 献

- 1) Conklin, J. L. 1963. Staining reaction of mucopolysaccharides after formalin-containing fixative. *Stain Technol.* **38**: 56-59.
- 2) Cooke, A. R. 1967. The glands of Brunner. In *Handbook of physiology*, American physiological Society, Washington, 1087-1095.
- 3) Deimler, K. M. 1904. Vergleichende Untersuchungen über die Pylorusdrüsenzona des Magens und die Duodenaldrüsenzona des Darmkanals der Haussäugetiere. Dissertation, Zürich.
- 4) Elias, H. 1947. Comparison of duodenal glands in domestic animals. *Am. J. Vet. Res.* **8**: 311-313.
- 5) Grossman, M. I. 1958. The glands of Brunner. *Physiol. Rev.* **38**: 675-690.
- 6) Evans, H. E. and Christensen, G. C. 1979. *Miller's Anatomy of the dog*, 2nd ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia·London·Toronto, 479-484.
- 7) Krölling, O. and Grau, H. 1960. *Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikro-*

- skopischen Anatomie der Haustiere, 10th ed., Paul Parey, Berlin and Hamburg, 253.
- 8) Landboe-Christensen, E. 1944. Staining of the duodenal glands of Brunner in gross specimens of the duodenum in man. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **21**, 374-379.
  - 9) Lev, R. and Spicer, S. S. 1964. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. *J. Histochem. Cytochem.* **12**: 309-311.
  - 10) Middeldorf, A. T. 1846. Disquisitio de glandulis Brunniannis. *Vrastislavia*. (Cited from 5)).
  - 11) Moe, H. 1960. The ultrastructure of Brunner's glands of the cat. *J. Ultrastruct. Res.* **4**: 58-72.
  - 12) Mowry, R. W. and Morand, J. C. 1957. Distribution of acid mucopolysaccharides in normal kidney, as shown by the alcian blue-Feulgen (AB-F) and alcian blue periodic acid Schiff (AB-PAS) stain. *Am. J. Pathol.* **33**: 620-621.
  - 13) Munger, B. L. 1964. Histochemical studies on seromucous- and mucoussecreting cells of human salivary glands. *Am. J. Anat.* **115**: 411-430.
  - 14) Oduor-Okelo, D. 1976. Histochemistry of the duodenal glands of the cat and horse. *Acta Anat.* **94**: 449-456.
  - 15) Oppel, A. 1897. Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere, Vol. 2, Jena, Fischer.
  - 16) Podder, S. and Jacob, S. 1979. Mucosubstance histochemistry of Brunner's glands, pyloric glands and duodenal goblet cells in the ferret. *Histochemistry* **65**: 67-81.
  - 17) Shackleford, J. M. and Klapper, C. E. 1962. Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands. *Am. J. Anat.* **111**: 25-47.
  - 18) Sheahan, D. G. and Jervis, H. R. 1976. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucusubstance. *Am. J. Anat.* **146**: 103-132.
  - 19) Spicer, S. S. 1960. A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.* **8**: 18-33.
  - 20) Spicer, S. S. 1961. The use of various cationic reagents in histochemical differentiation of mucopolysaccharides. *Am. J. Clin. Pathol.* **5**: 393-407.
  - 21) Spicer, S. S. 1961. Histochemical differentiation of mammalian mucopolysaccharides. *Ann. New York Acad. Sci.* **106**: 379-460.
  - 22) Spicer, S. S. 1965. Diamine methods for differentiating mucusubstances histochemically. *J. Histochem. Cytochem.* **13**: 211-234. (Cited from 14)).
  - 23) Spicer, S. S. Horn, R. G. and Leppi, T. J. 1967. In the connective tissue, Wagner, B. M. and Smith, D. E. editors, the Williams & Febiger, Philadelphia, 246-248.
  - 24) Stinson, A. W. and Calhoun, M. L. 1976. In Textbook of veterinary histology, Dellmann, H. D. and Brown, E. M., editors, Lea & Febiger, Philadelphia, 246-248.
  - 25) 鈴木秀作・大塚閏一, 1976. 馬の口腔腺の微細構造について I, 耳下腺. 鹿児島大農報, **27**: 95-104.
  - 26) 鈴木秀作・大塚閏一, 1976. 家兔の口腔腺の微細構造について I, 耳下腺. 鹿児島大農報, **27**: 105-114.
  - 27) 鈴木秀作・大塚閏一, 1977. 馬の口腔腺の微細構造について II, 下顎腺. 鹿児島大農報, **28**: 25-35.
  - 28) 鈴木秀作・亀井克宣・大塚閏一, 1974. 山羊, 犬の口腔腺の微細構造について I, 耳下腺. 鹿児島大農報, **25**: 25-41.
  - 29) 竹花一成, 1980. 馬・牛・豚十二指腸腺の比較形態学的研究. 酪農学園大学紀要, **8**: 385.
  - 30) 竹花一成・阿部光雄, 1980. 馬・牛・豚の十二指腸腺のムコ糖の組織化学. 酪農学園大学紀要, **8**: 321-326.
  - 31) Titkemeyer, C. W. and Calhoun, M. L. 1955. A comparative study of the structure of the small intestines of domestic animals. *Am. J. Vet. Res.* **16**: 152-157.

- 32) Villemain, F. 1922. *Le duodenum de l'homme et des mammifères.* Arch. Morphol. Gen. Exp. 3: 1-142.
- 33) Wepfer, J. J. 1679. *Cicutae aquatica historica et noxae.* Basileae. (Cited from 5)).
- 34) 山田和順, 1972. ムコ糖の組織細胞化学的研究法. 蛋白質・核酸・酵素, 17: 775-790.

### Summary

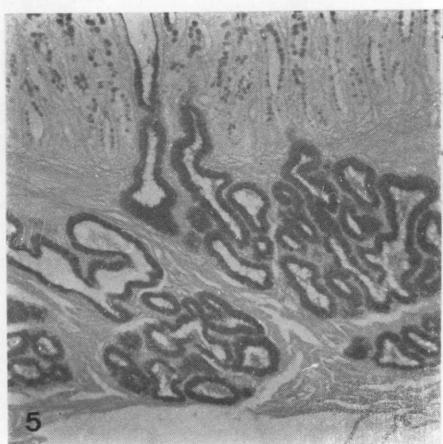
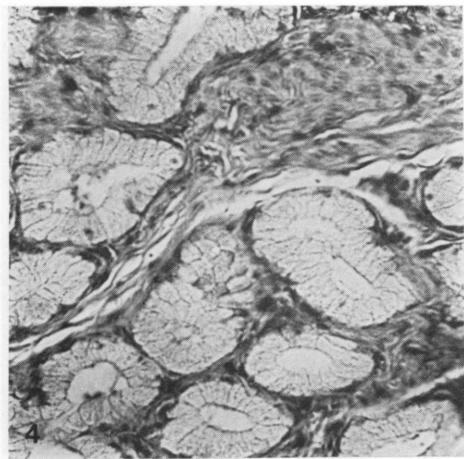
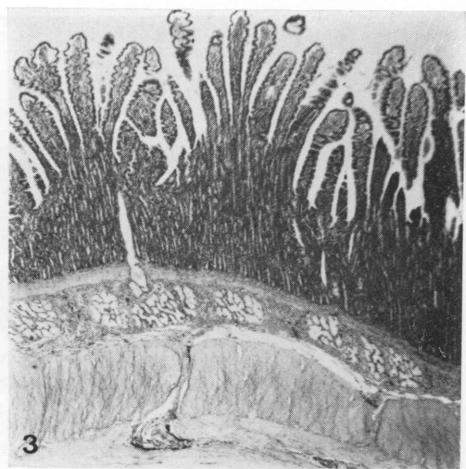
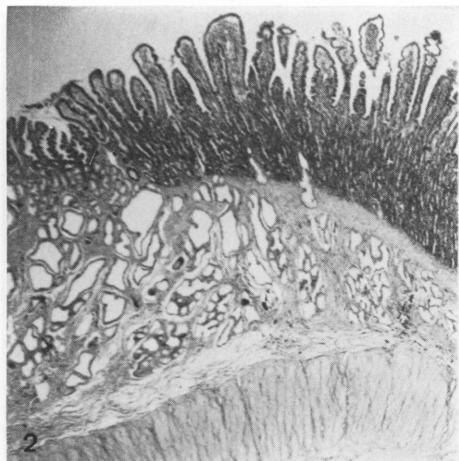
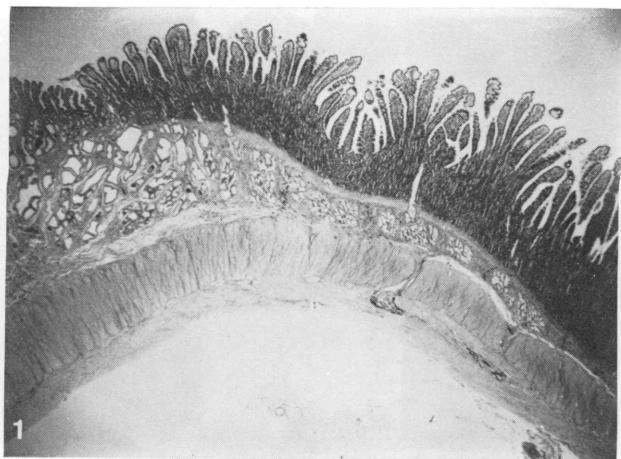
In a study of the duodenal glands in the dog, the location, the distribution, the cell formation and the mucosaccharides of the duodenal glands were observed.

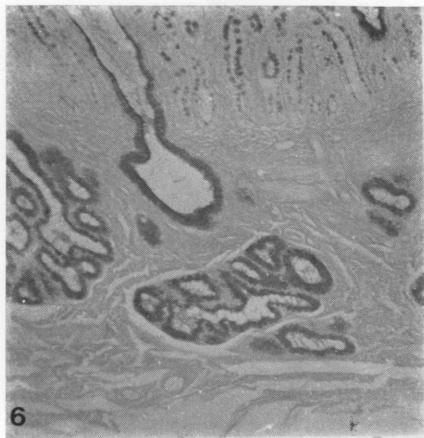
The results are summarized as follows:

- 1) The location of the duodenal glands were about 1.5 to 2.0 cm caudally to the pyrolic region.
- 2) The duodenal glands were mostly found distributed in the pyrolic region, after which they continuously disappeared.
- 3) The acinous cells of the duodenal glands in the dog consisted of a kind of seromucous cells. The actinous cells were of a simple columnar epithelium. The cytoplasm was pale. The nucleus was dark and compressed or round in the basal region of the cell.
- 4) The acinous cells in the duodenal glands contained neutral mucosaccharides, a few sulphated and carboxylated scidic mucosaccharides and sialic acids.

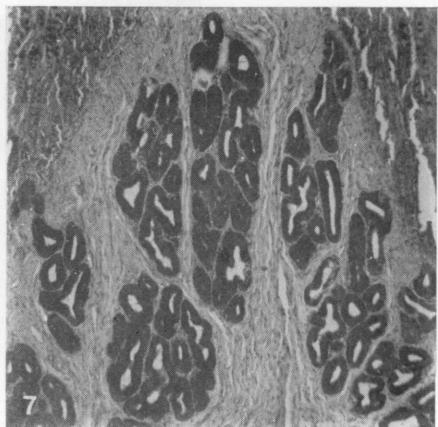
### Explanation of Figures

- Fig. 1. Section of pyloric portion and duodenum in the dog. The location of the duodenal glands were about 1.5 to 2.0 cm caudally to the pyloric region. HE  $\times 8$ .
- Fig. 2. Junction of pyloric and duodenal region. HE  $\times 30$ .
- Fig. 3. Located at about 1.5 cm caudally to the pyloric region. Excretory duct opened to the crypt. Lobules become small and are surrounded by connective tissue. HE  $\times 30$ .
- Fig. 4. Part of the wall of an acinus of duodenal glands in the dog. HE  $\times 250$ .
- Fig. 5. Duodenal glands in the dog showing PAS-positive mucosaccharides. HE  $\times 100$ .
- Fig. 6. Duodenal glands in the dog showing PAS-positive mucosaccharides after treatment with diastase. PAS after D-D  $\times 100$ .
- Fig. 7. Duodenal glands in the dog showing AB-PAS-positive acidic mucosaccharides. AB-PAS  $\times 100$ .
- Fig. 8. Duodenal glands in the dog showing AB, pH 1.0-salphated acidic mucosaccharides. AB, pH 1.0  $\times 150$ .
- Fig. 9. Duodenal glands in the dog showing AB, pH 2.5-positive carboxylated acidic mucosaccharides. AB, pH 2.5  $\times 150$ .
- Fig. 10. Duodenal glands in the dog showing oxidized HID-positive neutral mucosaccharides. Oxidized HID  $\times 150$ .
- Fig. 11. Duodenal glands in the dog showing AB, pH 2.5-positive mucosaccharides after treatment with neuraminidase (sialidase).  $\times 150$ .

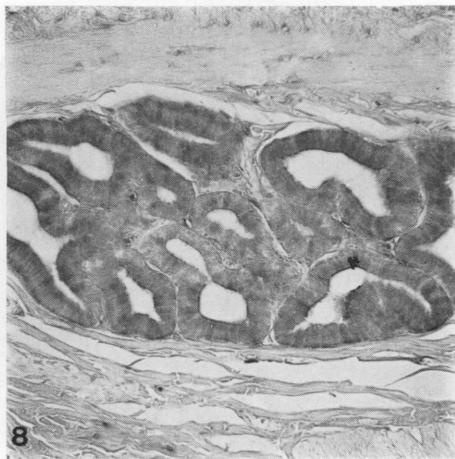




6



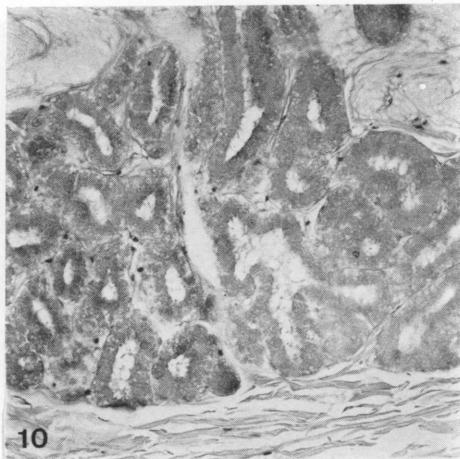
7



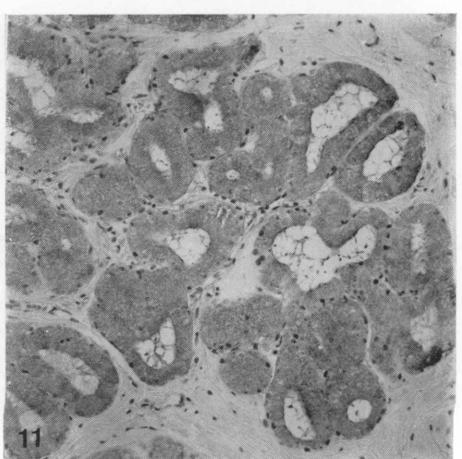
8



9



10



11