

## ミンク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 of the Mink

Kazushige TAKEHANA and Mitsuo ABE

#### 緒 論

十二指腸腺は、小腸の粘膜下組織に存在する哺乳類特有の外分泌腺で、1679年 Wepfer<sup>26)</sup>により発見され、その後、1688年 Brunner<sup>1)</sup>により「Grandulae duodeni (Brunner's glands)」と命名され、1846年 Middeldorf<sup>9)</sup>により、この十二指腸腺は哺乳類にのみ存在する腺であることが初めて報告、記載されたものである。十二指腸腺に関して種々の方面より研究<sup>4~6,8,11,12,14,18,19,24)</sup>が行なわれているが、その分布範囲、分布密度、腺細胞の形態、腺細胞より分泌される複合糖質などに関する十二指腸腺の総合的な研究報告は、これまで著者ら<sup>20~23)</sup>によるもののみである。そこで今回著者らは、一連の十二指腸腺の比較形態学的研究の一環として、これまで報告がまったくなく、また実験動物としても重要な肉食獣であるミンクについて、十二指腸腺の分布密度、腺細胞の形態、腺細胞より分泌される粘液、特に複合糖質に関し、光線顕微鏡(以下光顕と略)的、電子顕微鏡(以下電顕と略)的および組織化学的観察を行なったので、その成績の概要を報告する。

#### 材料および方法

材料として、ミンク5例を使用した。これは、エーテル麻酔下で放血、開腹し、腸全体を摘出してその長さを計測した。計測後ただちに、幽門から十二指腸への移行部を採取し、2%酢酸カルシウム-10%ホルマリン溶液で24~48時間固定後、常法にしたがってアルコール列にて脱水、キシロールにて透徹、パラフィンに包埋し、5 $\mu$ m厚の切片を作製し、Hematoxylin-Eosin(以下H・Eと略)重染色にて染色し、十二指腸腺の分布範囲および分布密度の観察を行なった。また、同様の部位を電顕観察のために、2.5% Glutaraldehyde および1% Osmic acid との二重固定を施し、常法にしたがってアルコール列にて

\* 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, Japan

脱水, QY-1にて置換 Quetol 812 に包埋し, JUM-7 Ultramicrotomeにて超薄切片を作製し, 酢酸ウランおよびクエン酸鉛による染色を施し, JEM-100 S 電顕にて腺細胞の形態を観察した。腺細胞より分泌される複合糖質の組織化学的検出法は, Periodic acid Schiff (PAS) reaction<sup>16)</sup>, Alcian Blue (AB) pH 1.0<sup>16)</sup>, AB pH 2.5<sup>16)</sup>, High iron diamin<sup>15)</sup> (HID), Low iron diamin<sup>15)</sup> (LID), 過ヨウ素酸酸化 HII<sup>15)</sup> (酸化 HII), 過ヨウ素酸酸化 LID<sup>15)</sup> (酸化 LID), AB pH 2.5-PAS<sup>15)</sup>, HII-AB pH 2.5<sup>15)</sup> と糖特異性の判明している 11 種の Peroxidase (Po) 標識レクチン (E·Y Laboratories, U.S.A.), Concanavalin A (Con A), Peanut agglutinin (PNA), *Ricinus communis* agglutinin (RCA-I), *Ulex europaeus* agglutinin (UEA-I), *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA), Wheat germ agglutinin (WGA), *Linulus polyphemus* agglutinin (LPA) Soy bean agglutinin (SBA), *Maclurra pomifera* agglutinin (MPA), *Griffonia simplicifonia* (GS)-I および GS-II を用いた。光顕レクチン染色は Diaminobenzidine 法を用いた。5  $\mu\text{m}$  厚の切片を作製し, 脱パラフィン後, 0.3%-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を含む 100% メタノールにて処理し, PBS にて洗浄後, DBA, PNA, RCA-I, SBA, MPA, GS-I および GS-II (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), UEA-I および WGA (40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), Con A および LPA (200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) とそれぞれ 4°C で 40 分間反応させた。次いで, PBS で十分洗浄後, diaminobenzidine (DBA)<sup>17)</sup> の反応を行ない, 蒸留水による洗浄を経て, 脱水, 封入し光顕にて観察した。

## 結 果

ミンクには盲腸がない。したがって, 小腸と大腸の区別が判然としない。腸の全長は平均 1.3 m であった。胆管開口部である大十二指腸乳頭は幽門より後方約 15 cm の部位に位置していた。組織標本では, 十二指腸腺の分布範囲は, 幽門から始まり後方約 0.5 cm 付近まで存在し (Fig. 1), 腸全体の長さの約 0.4% に相当していた。十二指腸腺の分布密度は一様であった (Fig. 2)。

十二指腸腺は明瞭な小葉構造を形成せず, 終末部は約 8×12  $\mu\text{m}$  の立方もしくはピラミッド形の種類の細胞で, 細胞質は明るく細網状を呈し, 核はほぼ楕円形でやや基底側に位置していた (Fig. 3)。導管は一般に腸腺の基底部に開口していた。

電顕的には, 腺細胞の細胞質は一般に電子密度が高く, 細胞質内には電子密度の低い径 0.7~1.0  $\mu\text{m}$  のほぼ円形の分泌顆粒やミトコンドリア, ゴルジ装置および多数の遊離リボゾームなどが認められた。また細胞間にはよく発達した interdigitation が認められた。腺腔側には長さ 0.4  $\mu\text{m}$  幅 0.1  $\mu\text{m}$  の微絨毛が明らかに認められた (Fig. 4)。細胞基底部分はほぼ平坦で筋上皮細胞は認められなかった。

**Table 1.** Carbohydrate histochemical reactions in the duodenal glands of the mink

Reactions	Secretory epithelial cell	Duct
PAS	2-3 M	2-3 M
AB (pH 1.0)	2 B	2 B
AB (pH 2.5)	1 B	1 B
AB (pH 2.5)-PAS	2-3 MB	2-3 MB
HID	2 BL	2 BL
LID	1 BL	1 BL
HID-AB (pH 2.5)	2 BL	2 BL
Ox-HID	2 BL	2 BL
Ox-LID	1 BL	1 BL
DIAS-PAS	2-3 M	2-3 M

Reaction intensities: 1-3=the number being proportional to the intensity of the reaction. Abbreviations: PAS=periodic acid-Schiff, AB=alcian blue, HID=high iron diamine, LID=low iron diamine, Ox=oxidized, DIAS=diastase-digested, M=magenta, B=blue, BL=Black.

一般組織化学的検出法における終末部腺細胞および導管の染色性は Table 1 に示したとおりである。すなわち、分泌物は PAS 陽性 (Fig. 5), AB pH 1.0, AB pH 2.5 (Fig. 6), HID および LID にすべて陽性を呈した。酸化 HID (Fig. 7) および酸化 LID においても分泌物は陽性を示し, AB pH 2.5-PAS に赤紫色に反応し (Fig. 8), HID-AB pH 2.5 では黒色に反応した。

終末部腺細胞および導管の Po 標識レクチンに対する反応は Table 2 に示したとおりで

**Table 2.** Po-lectin-DAB reactions of carbohydrate in the duodenal glands of the mink

Reactions	Secretory epithelial cell	Duct
Po-ConA-DAB	2 Br	2 Br
Po-SBA-DAB	2 Br	2 Br
Po-UEA-I-DAB	1 Br	1 Br
Po-DBA-DAB	2 Br	2 Br
Po-LPA-DAB	1 Br	1 Br
Po-GS-II-DAB	2 Br	2 Br
Po-WGA-DAB	2 Br	2 Br
Po-MPA-DAB	2 Br	2 Br
Po-PNA-DAB	0	0
Po-GS-I-DAB	0	0
Po-RCA-I-DAB	0	0

Reaction intensities: 0=negative reaction, 1-2=the number being proportional to the intensity of the reaction.

Abbreviations: Po=peroxidase, DAB=diaminobenzidine, Br=brown.

ある。すなわち、Con A においては細胞質全体が顆粒状に一樣に反応し (Fig. 9)、UEA-I では腺腔側のみ反応を示した (Fig. 10)。DBA では核上部の細胞質、特に腺腔側に強い反応を示し (Fig. 11)、WGA では細胞質全体、特に核周囲および腺腔側に強い反応を示し (Fig. 12)、LPA では細胞質全体に反応を示した。MPA では核周囲部にのみ強い反応を示し、SBA では細胞質全体がびまん性に反応し、特に腺腔側に強い反応を示した (Fig. 13)。GS-II では細胞質全体がびまん性に反応し、特に核上部および腺腔側に強い反応を示した (Fig. 14)。しかし、終末部腺細胞は、PNA、GS-I および RCA-I に対しては陰性であった。また、導管上皮も終末部腺細胞と同様の反応性を示した。

### 考 察

十二指腸腺の分布範囲については、すでに馬<sup>4,18,23,24</sup>、牛<sup>4,18,24</sup>、豚<sup>4,18,24</sup>、犬<sup>4,18,20</sup>、シカ<sup>21</sup> および猫<sup>4,22</sup> について報告されているが、ミンクについての報告はない。今回の結果より、ミンク十二指腸腺の分布範囲は幽門より始まり後方約 0.5 cm まで存在する短いものであることが明らかになった。これまでに報告されている他の動物における十二指腸腺の分布範囲をみると、馬では幽門より始まりその後方 2.8~6.8 m まで、牛で 0.6~1.2 m、豚で 0.6~0.8 m、犬で 1.5~2.0 cm、シカで 0.4 m、猫で 3.0 cm までとなっている。これらと比べるとミンクのそれはどれよりも短いものであった。この十二指腸腺の分布範囲については、肉食獣は草食獣より短かく、雑食獣は肉食獣と草食獣の中間を示すという食性説が Cooke<sup>3</sup> により報告されているが、草食獣である馬、牛、雑食獣である豚、肉食獣である犬、猫および今回のミンクについても、この食性説を裏づける所見が得られた。

十二指腸腺の分布密度については、すでに人<sup>8</sup>、馬<sup>18,23</sup>、牛<sup>18</sup>、豚<sup>18</sup>、犬<sup>20</sup>、シカ<sup>21</sup> および猫<sup>22</sup> について報告されているが、分布範囲同様ミンクについての報告はない。今回の結果よりミンク十二指腸腺は幽門より後方 0.5 cm までの範囲で粘膜下組織内に一樣な密度で存在していた。分布密度は幽門付近で最も高く、その後徐々に減少していく馬、牛のような草食獣<sup>18,23</sup>、豚のような雑食獣<sup>8,18</sup> および人、また一樣な分布を示す犬、猫のような肉食獣<sup>20,21</sup> のようなものがあるがすでに知られているが、今回のミンクでは犬、猫同様一樣な分布密度を示した。

ミンクの十二指腸腺の腺細胞は、牛<sup>18</sup>、犬<sup>20</sup>、猫<sup>22</sup> 同様一種類の粘液細胞より構成されていた。電顕的には、腺細胞は腺腔側に豊富な分泌顆粒を有し、ゴルジ装置およびミトコンドリアの発達はよいが細胞間分泌細管を欠くことなど、猫<sup>22</sup> のそれと類似の形態を示していた。しかし、腺腔側の微絨毛は猫では高さ 0.3  $\mu\text{m}$  で、まばらに認められるのに対し、ミンクでは 0.4  $\mu\text{m}$  程度でやや太いが、猫よりも粗であった。したがって、十二指腸腺の

腺細胞の微絨毛の発達は、あまりよいとはいえないように思われる。

十二指腸腺の構成細胞およびその分泌物、すなわち糖タンパク質の主体をなす糖質に関して多くの動物についての報告はあるが、ミンクについての報告はない。これまでの報告における十二指腸の構成細胞とそれより分泌される糖タンパク質の性質から以下の3つに大別することが出来る。I型は馬<sup>18,23)</sup>でみられるような酵素すなわちリパーゼを産生する純漿液細胞と中性糖タンパク質と硫酸基およびカルボキシル基を有する酸性糖タンパク質を分泌する粘液細胞の2種類の細胞より構成されるもの、次に、II型は豚<sup>18)</sup>でみられるような中性糖タンパク質とカルボキシル基を有する酸性糖タンパク質を分泌する漿粘液細胞から構成されるもの、III型は牛<sup>18)</sup>、犬<sup>20)</sup>、シカ<sup>21)</sup>、猫<sup>22)</sup>、フェレット<sup>12)</sup>およびこぶ牛<sup>10)</sup>などでみられるような中性糖タンパク質と硫酸基およびカルボキシル基を有する酸性糖タンパク質を産生する粘液細胞よりなるものである。

今回の観察においてミンク十二指腸腺はIII型に属する。すなわち中性糖タンパク質と硫酸基およびカルボキシル基を有する酸性糖タンパク質を分泌する粘液細胞より構成されるものである。

レクチンを用いた胃、小腸、大腸の粘膜上皮および腸腺の糖残基に関する報告<sup>13,17,25)</sup>はすでになされているが、十二指腸腺に関する詳細な報告はまだない。ミンクの十二指腸の腺細胞はCon A, UEA-I, DBA, WGA, MPA, SBA, LPA およびGS-IIの8種のレクチンに反応し、 $\alpha$ -D-Glucose,  $\alpha$ -D-Mannose,  $\alpha$ -Fucose, N-Acetyl- $\alpha$ -D-Galactosamine, N-Acetyl-D-Glucosamine, Sialic acid, Galactose および D-Galactose の糖残基の存在が明らかになった。しかし、各種レクチンにおける腺細胞内の反応部位に相違がみられたことから、分泌物形成における糖転化の細胞質内における違いが示唆される。このことについては今後さらに検討を加える必要があると考える。

## 要 約

ミンクの十二指腸腺の分布範囲および分布密度、腺細胞の形態、腺細胞の分泌物、特に糖質について光顕的、電顕的および組織化学的に観察し、次の結果を得た。

1. 十二指腸腺の分布範囲は幽門より始まり、その分布密度が一定のまま0.5 cmの後方まで存在した。
2. 十二指腸腺腺細胞は一種類の粘液細胞で、腺細胞より分泌される粘液、特に糖タンパク質は、中性糖タンパク質と硫酸基およびカルボキシル基を有する酸性糖タンパク質を含んでいた。
3. レクチンによる反応では、中性糖タンパク質は $\alpha$ -D-Glucose,  $\alpha$ -D-Mannose,  $\alpha$ -

Fucose, *N*-Acetyl- $\alpha$ -D-Galactosamine, *N*-Acetyl-D-Gulucosamine, Galactose, D-Galactose と酸性糖タンパク質には Sialic acid の糖残基が認められた。

## 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、松本 寛、岩佐憲二助教授、平賀武夫講師に感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨は第 99 回日本獣医学会 (1985 年 4 月) で報告した。

## 文 献

- 1) Brunner, J. C., 1688. De glandulis in intestino duodeni hominis dectis. Dissertation, Heidelberg. (Cited from 5).
- 2) Conklin, J. L., 1963. Staining reaction of mucopolysaccharides after folmalin-containing fixative. Stain Technol. 38: 56-59.
- 3) Cooke, A. R., 1967. The glands of Brunner. In Handbook of Physiology, American Physiological Society, Washington, 1087-1095.
- 4) Deimler, K. M., 1904. Vergleichende Untersuchungen über die Pylorusdrüsenzzone des Magens und die Duodenaldrüsenzzone des Darmkanals der Haussäugetiere. Dissertation, Zürich.
- 5) Grossman, M. I., 1958. The glands of Brunner. Physiol. Rev. 38: 675-690.
- 6) Hosoda, K., 1956. Über die vergleichende Anatomie der Duodenaldrüsen bei den Rodentien, insbesondere die feinere Struktur der dunklen Entstücke derselben Drüsen. Yokohama Med. Bull. 7: 170-181.
- 7) 勝山 努, 1978. 複合糖質の組織化学. 組織細胞化学の基礎技術の応用. 日本組織細胞化学会編. 日本メデイカルセンター, 東京, 219-239.
- 8) Landboe-Christensen, E., 1944. Staining of the duodenal glands of the Brunner in gross specimens of the duodenum in man. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 21: 374-379.
- 9) Middeldorf, A. T., 1846. Disquisitio de glandulis Brunnianis. Vrastrislavia. (Cited from 5).
- 10) Nogueira, J. C. and H. D. Godinho, 1981. Histology and mucosubstances histochemistry of the duodenum in sackling, prepuberal and puberal zebus (*Bos indicus*). Anat. Anz. 149: 437-445.
- 11) Oduor-Okelo, D., 1976. Histochemistry of the duodenal glands of the cat and horse. Acta. Anat. 94: 449-456.
- 12) Podder, S. and S. Jacob, 1979. Mucosubstance histochemistry of Brunner's glands, pyloric glands and duodenal goblet cells in the ferret. Histochemistry 65: 67-81.
- 13) Sato, A. and S. S. Spicer, 1982. Ultrastructural visualization of galactosyl residues in various alimentary epithelial cells. Histochemistry 73: 607-624.
- 14) Schwalbe, G., 1872. Beiträge zur Kentniss der Drüsen in den Darmwandungen, in's Besondere der Brunner'sche Drüsen Arch. Mikroskop. Anat. (Bonn) 8: 92-140.
- 15) Spicer, S. S., 1965. Diamine methods for differentiating mucosubstances histochemically. J. Histochem. Cytochem. 13: 211-234.
- 16) Spicer, S. S., R. G. Horn and T. J. Leppi, 1967. The Connective Tissue. Wagner, D. M. and Smith, D. E. eds., p. 251-303, Williams & Wilkins Co. Ltd., Baltimore.

- 17) 高田正高, 高田邦昭, 斎藤昌三, 青柳利雄, 平野 寛, 1983. 健常胃粘膜のレクチン結合部位の組織化学的検討. 日消誌, **80**: 119.
- 18) 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.
- 19) 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**, 2: 312-326.
- 20) 竹花一成, 阿部光雄, 1981. 犬の十二指腸腺に関する研究. 酪農学園大学紀要, **9**, 107-114.
- 21) 竹花一成, 阿部光雄, 1982. シカの十二指腸腺に関する研究. 酪農学園大学紀要, **9**, 487-492.
- 22) 竹花一成, 阿部光雄, 1983. ネコの十二指腸腺に関する研究. 酪農学園大学紀要, **10**, 205-212.
- 23) 竹花一成, 阿部光雄, 岩佐憲二, 平賀武夫, 1983. ウマの十二指腸腺に関する研究. 解剖学雑誌, **58**, 400.
- 24) Titkemeyer, C. W. and M. L. Calhoun, 1955. A comparative study of the structure of the small intestines of domestic animals. Am. J. Vet. Res. **16**: 152-157.
- 25) Watanabe, M., T. Muramatsu, H. Shirane and K. Ugai, 1981. Discrete distribution of binding site for *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA) and for peanut agglutinin (PNA) in mouse organ tissues. J. Histochem. Cytochem. **29**: 779-790.
- 26) Wepfer, J. J., 1679. Cicuta aquatica historia et noxae. Basileas. (Cited from 5).

### Summary

The site, distribution, cell formation and glycoproteins of the duodenal glands of the mink by means of light and electron-microscopic methods were observed.

The results are summarized as follows.

1. The duodenal glands were located from the pyloric region to about 0.5 cm in a caudal direction and were in constant distribution.
2. The acinous cells of the duodenal glands of the mink consisted of mucous cells. The acinous cells contained neutral and acidic glycoproteins.
3. By Po-lectin-DAB reactions, neutral glycoproteins contained  $\alpha$ -D-glucose,  $\alpha$ -D-mannose,  $\alpha$ -fucose, N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosamine, N-acetyl-D-glucosamine, galactose and D-galactose, and acidic ones contained sialic acid.

**Explanation of Figures**

- Fig. 1. Section of pyloric portion and duodenum in the mink. The location of the duodenal glands were placed about 0.5 cm caudal to the pyloric region (↑). H. E.  $\times 13$ .
- Fig. 2. The distribution of the duodenal glands showed a precipitous decrease at about 0.5 cm caudal to the pyloric region and completely disappeared afterward. H. E.  $\times 40$ .
- Fig. 3. The acinous cells of the duodenal glands consisted of  $8 \times 12 \mu\text{m}$  higher mucous cells. H. E.  $\times 64$ .
- Fig. 4. Transmission electron micrograph of acinous cell. Secretory granules of low densities are present in the apical portion.  $\times 6,400$ .
- Fig. 5. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. PAS  $\times 100$ .
- Fig. 6. The acinous cells of the duodenal glands showed weakly positive reaction. AB pH 2.5  $\times 100$ .
- Fig. 7. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. Oxidized HID  $\times 100$ .
- Fig. 8. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. AB pH 2.5-PAS  $\times 100$ .
- Fig. 9. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. Po-ConA-DAB  $\times 350$ .
- Fig. 10. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. Po-UEA-I-DAB  $\times 350$ .
- Fig. 11. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. Po-DBA-DAB  $\times 350$ .
- Fig. 12. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. Po-WGA-DAB  $\times 350$ .
- Fig. 13. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. Po-SBA-DAB  $\times 350$ .
- Fig. 14. The acinous cells of the duodenal glands showed positive reactions. Po-GS-II-DAB  $\times 350$ .









