

フタコブラクダ (*Camelus bactrianus*) の 十二指腸腺に関する研究

竹 花 一 成*・小 林 中*・曹 貴 方**
額 爾 敦 朝 魯**・烏 雲**・張 本 蓉**
岩 佐 憲 二*・阿 部 光 雄*

A Study of the Duodenal Glands in Camel (*Camelus bactrianus*)

Kazushige TAKEHANA, Ataru KOBAYASHI, Kihou SOU, ORUDONCHOURU,
U Un, Honei TYOU, Kenji IWASA, Mitsuo ABE
(Sep. 1996)

緒 論

十二指腸腺は哺乳動物特有の主に小腸上部の粘膜下組織に存在する外分泌腺である。この腺の分布範囲と腺細胞の形態に関してはすでに各種動物で明らかにされ、動物種により異なっていると報告されている[1, 3, 7]。十二指腸腺の分泌物の作用に関しても単に十二指腸粘膜を強酸性の胃液より保護する粘液を分泌していると考えられているにすぎなかったが、組織化学的技術の進歩によりウマ属ではリパーゼ産生細胞が存在し消化にも関与していることが報告され[9, 10], ウシでは二種類の粘液細胞が小葉の中心部と辺縁部に存在する事も報告され反芻動物の特徴とされている[11]。

本論文では比較形態学的な立場よりウシ、シカと同じ団蹄亜目(Tylopoda)に属し大型の草食動物で過去に詳細な報告が全く認められないフタコブラクダ(*Camelus bactrianus*)の十二指腸腺について、その腺細胞の形態と

分泌物の性質に関し顕微鏡および電顕組織化学的に明らかにした。

材料および方法

材料として中国内モンゴル産の3例(3, 4および6歳雄, 約300 Kg)のフタコブラクダ(*Camelus bactrianus*)を用いた。麻酔後直ちに放血殺を施し開腹の後、小腸全体を肉眼的に観察した。その後顕微鏡材料として幽門直後の十二指腸を採取し直ちに2%酢酸カルシウム-10%ホルマリンに48時間固定し、常法に従い脱水後、パラプラストに包埋、5 μm厚の切片を作製した。脱パラフィン後、ヘマトキシリン-エオジン染色(H-E)と組織化学的染色[6](Periodic acid-Schiff reaction (PAS), High iron diamin (HID), Low iron diamin (LID), Alcian blue (AB) (pH1.0), AB (pH2.5), AB (pH2.5)-PAS, AB-PAS, HID-AB (pH2.5))および5種類のビオチン化レクチン-ジアミノベンチジン法[4]を施し観察した。

獣医学部, * 獣医解剖学教室

Department of Veterinary Medicine (*Veterinary Anatomy), Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069, Japan.

中国, 内モンゴル農牧学院, 獣医学部, ** 解剖学教室

Department of Veterinary Medicine (**Anatomy), Inner Mongolia Institute of Agriculture and Animal Husbandry, Xingjian Dongjie, Huhhot, IM, PRC.

電子顕微鏡観察のためには採取した材料から十二指腸の粘膜下組織のみを更に細切し十二指腸腺を得た。細切した組織は3%グルタルアルデヒドと1%オスミウムの2重固定を施し常法に従いアルコール系列にて脱水後、Quetol 812に包埋した。超薄切片はJUM-7型ウルトラミクロトームにて作製し、銅グリッドに搭載の後、酢酸ウランと硝酸鉛の二重染色を施しJEM-100 SもしくはJEM-1220にて加速電圧80 KVにて観察した。

電顕組織化学的には細切組織を4%パラホルムアルデヒドでの単固定を施しN,N-dimethylformamideにて脱水しGlycol methacrylate (GMA)に低温で紫外線重合し包埋した[13]。超薄切片はJUM-7型ウルトラミクロトームにて作製し、金もしくはニッケルグリッドに搭載の後、Periodic acid thiocarbohydrazide silver proteinate (PA-TCH-SP) [2]もしくはPA-TCH-SP physical development (-PD) [13], HID-TCH-SP-PD [14], LID-TCH-SP-PD [14]および五種類の金コロイド標識レクチン反応[5]を施した後、酢酸ウランの単染色を施しJEM-100 SもしくはJEM-1220にて加速電圧80 KVにて観察した。使用したレクチンの特異性および阻害糖は表1に示した。

結 果

フタコブラクダ小腸全長はおおよそ14 m程度で肉眼解剖学的な十二指腸は幽門以下約2 mの範囲までであった。十二指腸腺は幽門以下約1 mまでの粘膜下組織に小葉を形成して存在し、終末部は一種類の単層立方上皮よ

り構成されていた(図1)。この終末部腺細胞は9×18 μm程度の大きさを呈しており、細胞質の基底部には楕円形の核が位置し、腺腔側には0.6~2.3 μm程度の電子密度の低い分泌顆粒が多数癒合した状態で認められた。また核周囲部にはよく発達したゴルジ野も認められた(図2)。

細胞質内の分泌顆粒の複合糖質の組織化学的反応の結果は表2のようであった。

PASでは腺細胞が一樣に反応し(図3)、PA-TCH-SP-PDでは細胞内の全ての分泌顆粒、ゴルジ装置および細胞膜に反応物の沈着を認めた(図4)。HIDおよびAB(pH 1.0)では腺細胞が一樣の強い反応を示し(図5)、HID-TCH-SP-PDでは細胞内の分泌顆粒にのみ反応物の沈着を認めた(図6)。LIDおよびAB(pH 2.5)では腺細胞が一樣に強い反応を示した(図7)。LID-TCH-SP-PDでは細胞内の分泌顆粒にのみ反応物の沈着を認めた(図8)。AB(pH 2.5)-PASでは腺細胞が一樣に青紫色に反応しHID-AB(pH 2.5)でも一樣に紫黒色に反応した。

終末部腺細胞のレクチンに対する染色性には差異があった。すなわちCon Aでは腺細胞の細胞質が一樣に反応を示した(図9)。GS-Iでは腺細胞の細胞質全体が反応を示したが特に基底側に強い反応を示した。GS-IIでは個々の腺細胞が様々な状態に一樣に反応した(図10)。

電顕的にはCon AおよびGS IIでは分泌顆粒に一樣に強い反応があった(図11)。SBAではゴルジ層板には強く分泌顆粒には弱い反応があった(図12)。

表 1 レクチンの特異性と阻害糖

レクチン	特異性	阻害糖
Concanavalin A (Con A)	Mannose, Glucose	Glucose
Grifforia simplicifolia I (GS-I)	Galactose	Galactose
Griffonia simplicifolia II (GS-II)	N-Acetylc Glucosamine	N-Acetylc Glucosamine
Soy bean agglutinin (SBA)	N-Acetylc Galactosamine, Galactose	Galactose
Limulus polyhemus agglutinin (LPA)	Sialic acid	Sialic acid



図1 十二指腸腺は粘膜下組織に小葉を形成して存在している。
H-E染色 ×40

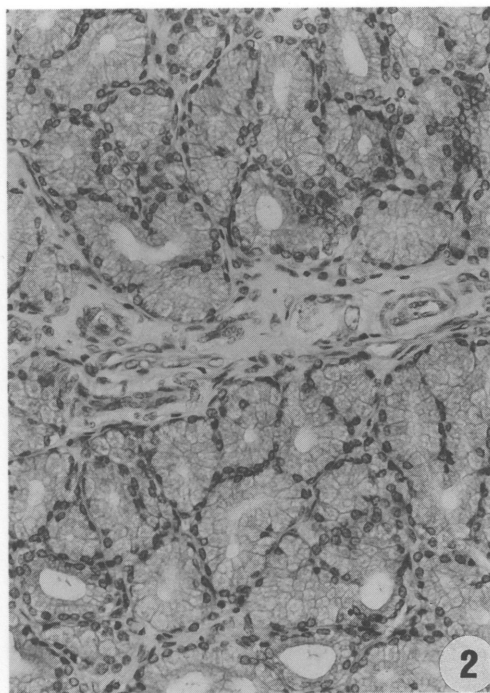


図2 腺細胞は一種類の粘液細胞により構成されている。
H-E染色 ×250

表2 十二指腸腺の組織化学的染色結果

PAS	+++/R
HID	+/Br
LID	+/Br
AB(pH1.0)	+/Br
AB(pH2.5)	+/B
AB(pH2.5)-PAS	+++ /PB
Con A	++/Br
GS- I	++/Br
GS- II	± ~ +/Br
SBA	+/Br
PNA	-

反応の強さ：+++，強陽性；++，中陽性；+，弱陽性；-，反応せず

反応色：R，赤；B，青；PB，赤紫；Br，褐色

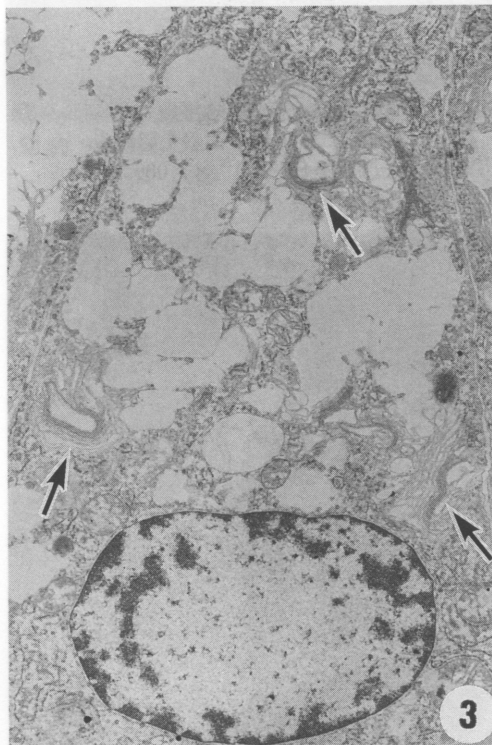


図3 細胞質の基底部には楕円形の核が位置し、腺腔側には電子密度の低い分泌顆粒が多数癒合した状態で認められる。核上部，分泌顆粒間にはよく発達したゴルジ野(矢印)が認められる。

×7,800

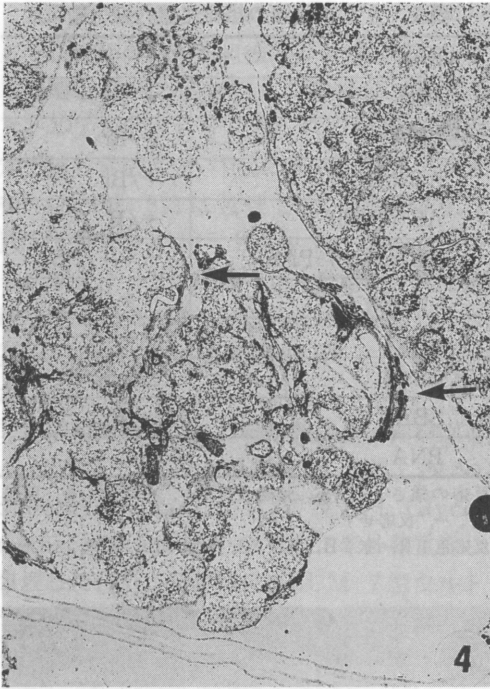


図4 細胞質内の全ての分泌顆粒とゴルジ野(矢印)に反応物の沈着を認める。
PA-TCH-SP-PD $\times 7,000$

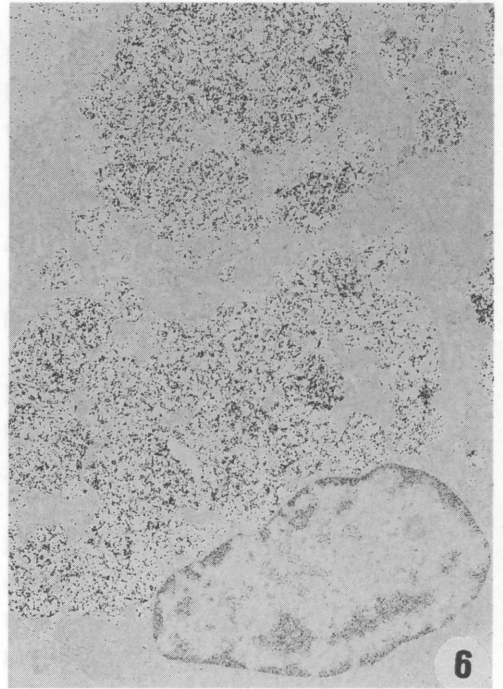


図6 細胞質内の全ての分泌顆粒にのみ反応物が沈着している。
HID-TCH-SP-PD $\times 7,800$



図5 腺細胞は一様に強い反応を示している。
AB(pH 1.0) $\times 40$

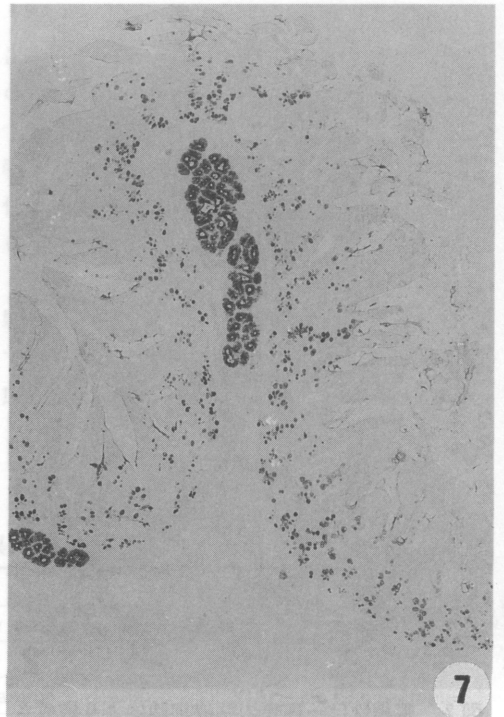


図7 腺細胞は一様に強い反応を示している。
AB(pH 2.5) $\times 40$

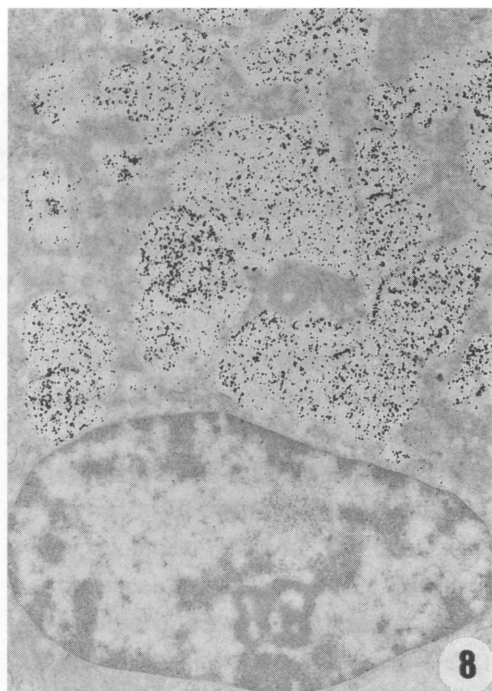


図8 細胞質内の全ての分泌顆粒にのみ反応物が沈着している。

LID-TCH-SP-PD $\times 13,000$

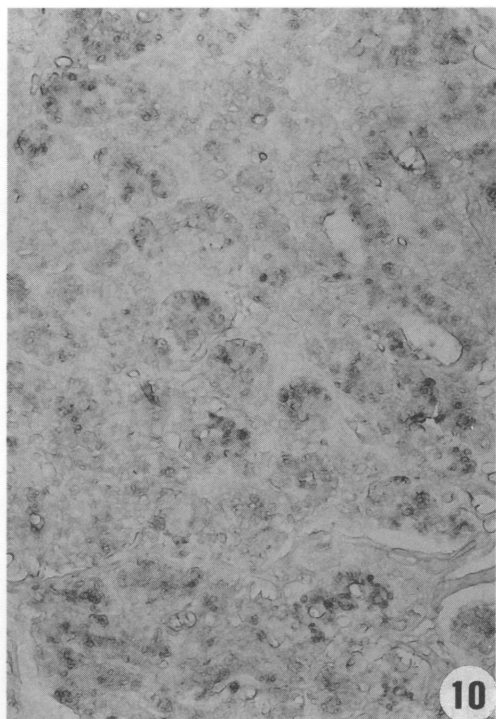


図10 腺細胞は様々な状態の反応を示している。

GS-II $\times 40$

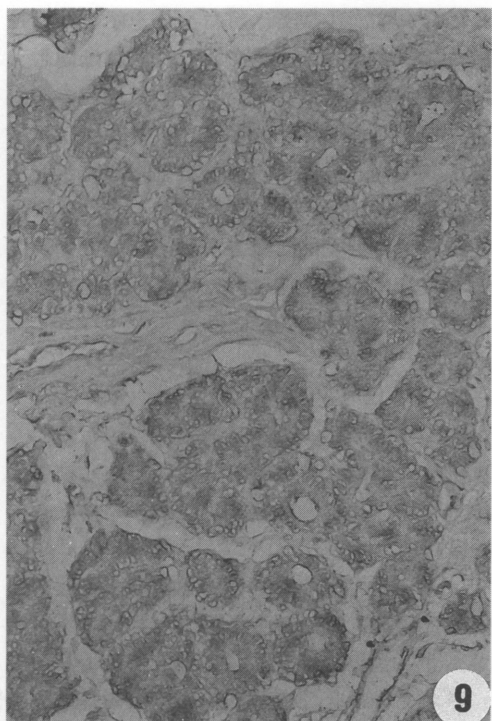


図9 腺細胞は一様に強い反応を示している。

Con A $\times 40$

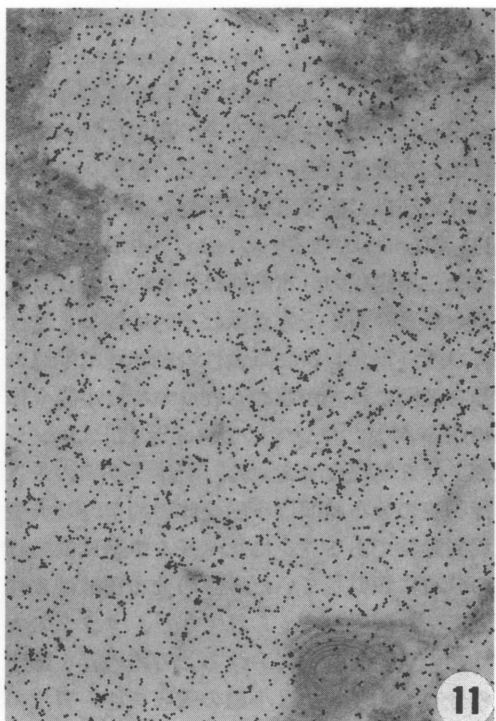


図11 分泌物に一様に反応を認める。

Con A $\times 20,000$

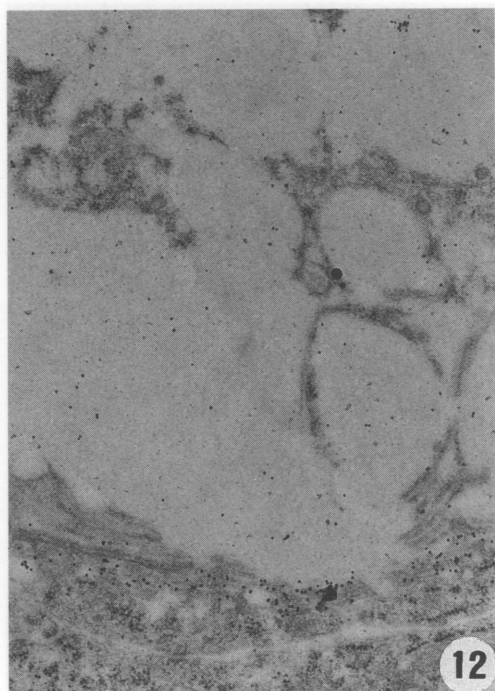


図 12 ゴルジ野の Trans 側に反応を認め、分泌物にも弱い反応を認める。
SBA $\times 20,000$

考 察

十二指腸腺は Wefer により発見されて以来、腺細胞の分布範囲とその形態、腺細胞に含まれる分泌顆粒の複合糖質の組織化学的な組成について数多く報告されている [3, 7-11]。

十二指腸腺の分布範囲は一般的に肉食獣は草食獣より短く、雑食獣はその中間型とされている [7]。しかし草食性の動物種でも腺の分布範囲には差が認められウマでは小腸全体の 15~37%，ウシでは 1~3% [7]，エゾシカでは 6% 程度であった [8]。ラクダの十二指腸腺の分布範囲は小腸全体の約 7% で大型反芻動物であるウシに比べ長く中型反芻動物の分布に類似していた。腺の分布領域は食性と密接な関係が考えられてきた。ラクダのような大型反芻動物におけるこの差の存在はその分布域の差異には小腸の吸収機能、胃液の酸性状態などにも影響されるものと示唆している。

終末部を構成する細胞の種類については粘液細胞のみ、漿粘液細胞のみおよび粘液細胞と漿液細胞の二種類から構成される三種類がすでに分類されている。粘液細胞より終末部が構成されるものにはモルモット、ヒト、ウシ、ブタ、シカ、漿粘液細胞で構成されるものとしてはネコ、マウス、有袋類、粘液細胞と漿液細胞より構成されるものとしてはウマとウサギが既に明らかにされている [3, 7]。ラクダの十二指腸腺の終末部の構成細胞の形態学的特徴はウシなどの大型反芻動物同様の粘液細胞であった。

終末部の粘液細胞に含まれる分泌顆粒の複合糖質の組織化学的組成についてはマウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、ハムスターでは中性糖、ブタ、ヒツジ、ウシ、ウマ、モルモットでは酸性糖が主体であることが明らかになっている。ラクダの粘液細胞の分泌顆粒の複合糖質の組成は大型反芻動物であるウシと同様酸性糖質が主体であった [9-10]。しかし、ウシで報告 [11] されている小葉中心部と小葉辺縁部での分泌顆粒の組成の変化は認められず、小葉で一様に反応を示した。この事はフタコブラクダの十二指腸腺は同じ大型草食性動物であるウシと極めて類似の形態を示すが、ウシで認められたような十二指腸腺小葉の内、外側での分泌物の組織化学的反応性の違いは認められず、このことはフタコブラクダが典型的な複胃の形態を示さないことから上部消化管における消化の違いを示唆する所見であった。

要 約

フタコブラクダの十二指腸腺の分布範囲、腺細胞の形態、腺細胞の分泌物、特に糖質について組織化学的に観察し、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 m 付近までであった。
2. 十二指腸腺は一種類の粘液細胞より構成されていた。この細胞の細胞質の基底部には楕円形の核が位置し、腺腔側には 0.6~2.3 μm 程度の電子密度の低い分泌

顆粒が多数癒合した状態で認められた。

3. 腺細胞より分泌される分泌物には中性糖および酸性複合糖質が認められた。

謝 辞

本研究は1995年度酪農学園大学共同研究の助成を受けたものである。

文 献

1. Elias, H., 1947. Comparision of duodenal glands in domestic animals. *Am. J. Vet. Res.*, 8: 311-313.
2. Kitamura H., 1990 Diamine-thiocarbohydrazide-silver-protein-physical development method for the histochemical detection of acidic glycoconjugates in electronmicroscopy. *Acta Histochem. Cytochem.*, 23: 281-294.
3. Krause, W. J., 1972. The distribution of Brunner's glands in 55 marsupial species native to the Australian region. *Acta Anat.*, 82: 17-33.
4. Pearse, A. G. E., 1985. Affinity cytochemistry. pp 754-758. In: *Histochemistry, Theoretical and Applied*, 4th ed., vol. 2, Analytical Technology (Pearse, A. G. E., ed.), Livingstone, Edinburgh.
5. Roth J., 1983 Application of lectin-gold complexes for electron microscopic localization of glycoconjugates on thin sections. *J. Histochem. Cytochem* 31: 987-999.
6. Spicer, S. S., Horn, R. G. and Leppi, T. J. 1967. Histochemistry of connective tissue mucopolysaccharides. pp. 251-303. In: *The connective tissue* (Wanger, D. M. and Smith, D. E. eds.), Williams & Wilins, Baltimore.
7. 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.
8. 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.
9. Takehana K., Abe M., Iwasa K. and Hiraga T., 1989. Histochemistry of complex carbohydrates in the horse duodenal gland. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51: 909-915.
10. Takehana K., Mastly J., Abe M. and Yamaguchi M., 1991. Duodenal gland of the pony (*Equus Caballus*). *Anat Histol. Embryol.*, 20: 1-9.
11. Takehana K., Abe M., Iwasa K., Hiraga T., and Miyata H. 1991. Carbohydrate histochemistry of bovine duodenal glands. *J. Vet. Med. Sci.*, 53: 699-706.
12. Uchida T. 1985 Serotonin-like immunoreactivity in the taste bud of the mouse circumvallate papilla (in japanese with English abstract). *Jpn. J. Oral. Biol.*, 27: 132-139.
13. Yamada K., Kitamura H. and Fujimori O., 1988. Application of physical development procedures to electron microscopic histochemical techniques for carbohydrates. In: "Histo- and cytochemistry 1988", ed. by THE JAPAN SOCIETY OF HISTO AND CYTOCHEMISTRY, Gakusai-Kikaku, Tokyo, 1988, pp.95-106 (in Japanese).
14. Yamada, K., Ueda, H. and Kitamura, H., 1992. A postembedding method for histochemical demonstration of acidic glycoconjugates by electron microscopy. *Histochem. J.*, 24: 528, 1992.

summary

In this study of the duodenal glands in camel (*Camelus bactrianus*) in the distribution, cell formation and carbohydrates of the duodenal glands were observed.

The results are summarized as follows:

- 1) The duodenal glands extended to about 1m caudally from the pyloric region.
- 2) The acinar cells of the duodenal glands consisted of some kind of typical mucous cell, which was simple columnar epithelium and a portion of the apical cytoplasm were eosinophilic containing a 0.6-2.5 μ m diameter of secretory granules.
- 3) The aciner cell in the duodenal glands contained both neutral and acidic carbohydrates.