

B-30

抗癌剤で誘発される小腸陰窩上皮細胞のアポトーシス—電顕TUNEL染色による解析—

長谷川英章¹、渡辺慶一²

東海大・医・共利研機能形態¹、病態診断系病理学²

ラットの小腸絨毛上皮細胞は、絨毛先端で終末分化としての細胞死を迎える際、比較的正常な形態を保ちつつ、ヘテロクロマチンから、徐々に、DNAの断片化を起こすことを報告してきた。一方、陰窩にあって分裂増殖能を有する上皮細胞は、放射線、抗癌剤などの刺激によりアポトーシスを誘発することが知られている。今回、絨毛先端における細胞死と陰窩における細胞死との差異を明かにする目的で、塩酸ドキソルビシン投与（2 mg / 100 g 体重、腹腔内投与、5時間）ラットの陰窩上皮細胞を、電顕TUNEL染色を用いて検索した。

塩酸ドキソルビシンによって誘発された陰窩のアポトーシス像は、絨毛先端で観察された細胞死とは大きく異なっていた。すなわち、小円形の核を有するアポトーシス小体が隣接する上皮細胞中に取り込まれ、核内では、クロマチンの網様構造の消失と核周辺への半月状の凝縮が顕著だった。このような核内で、TUNELの反応産物は全域に均一に局在した。以上の結果から、陰窩上皮細胞のアポトーシスは典型的な形態変化を伴って、急激に、DNAが断片化するものと思われる。そして、絨毛先端で観察された細胞死（急激な形態変化を示すことなく、徐々に、ヘテロクロマチンからDNAの断片化を起こす）は、終末分化した細胞に特徴的な細胞死と推測される。

B-31

ラット小腸 APOPTOTIC NUCLEI における TUNEL 法と MG 染色陽性部位の同時観察—CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY (CLSM) の応用—
伊東丈夫¹⁾、長谷川英章¹⁾、梅村しのぶ²⁾、安田政実¹⁾、竹脇 進²⁾、長村義之²⁾、渡辺慶一²⁾
東海大学医学部共利研機能形態¹⁾、同・病態診断系病理学²⁾

免疫組織化学で核染色として汎用される methyl green (MG) は intact な double strand (dbs) - DNA と選択的に反応する。我々は、 MG の蛍光性に着目、 CLSM にて dbs - DNA の動態について報告してきた。

【目的】無処置および Adriamycin (ADR) により apoptosis を惹起された rat 小腸絨毛上皮細胞に於ける apoptotic cells の動態を、

TUNEL 法と MG の 2 重染色による CLSM 観察にて解析した。【材料と方法】Wistar

Imamichi Rat (雄、9週齢) ①無処置群と②

ADR 投与群を作製。Apoptotic cells の検出には TUNEL 法を用い 1% MG 核染色を施した。【結果・考察】①では、終末分化を示す小腸上皮細胞は、分裂後約 2 日で 絨毛の頂部に達し apoptotic cell death に陥るが、これらの細胞では核周辺部に TUNEL 陽性染色

が漸増するが、 MG は対照的に同一部位で 減弱した。②では、 Crypt の上皮細胞に典型的な apoptosis が認められたが、ここでも、 TUNEL 強陽性部位に MG の明瞭な染色減弱が認められた。これらの apoptotic cells に於ける TUNEL 染色 / MG 染色の相反性について考察を加える。