日本小児循環器学会雑誌　5巻2号　291～294頁（1989年）

マウス房室結節細胞の生後のDNA合成について

（平成1年2月20日受付）
（平成1年7月4日受理）

[1]京都府立医科大学小児科
[2]京都府立医科大学付属小児疾患研究施設
中川　雅生[1)]　浜岡　建城[2)]　林　鐘声[2)]
尾内善四郎[2)]　沢田　淳[1)]

key words：房室結節細胞，DNA合成，^{3}H-thymidineオートラジオグラフィー

要　旨

マウスの刺激伝導系のうち房室結節細胞の生後のDNA合成について検討した．日齢1，2，3，5，7，10，15，20，30，50，100のICR系雄マウスに^{3}H-thymidineを一度だけ投与（flash labeling）し，各日齢の房室結節細胞の標識率を算出した．標識率は1日齢，2日齢で各々1.9%，2.2%で5日齢に最高値4.3%となったが以後減少し，15日齢で0.3%，20日齢以後は'0%'であった．

著者らは以前に一般心筋細胞の生後のDNA合成について検討し，生直後だけでなく成熟期にもDNA合成がみられる[1)~3)]ことを報告したが，房室結節細胞では20日以後のDNA合成はみられず両者に明らかな差異があった．

現在のところ，一般心筋細胞と房室結節細胞2つの細胞群の起源の異同については明らかにされていないが，これら2つの心臓の筋細胞は形態も機能も異なっており，これが生後のDNA合成パターンの差を生じることと深い関係があると考えられた．

緒　言

著者らはこれまでマウスを用い，心臓の生後の成長をDNA合成の観点から検討してきた．その結果，一般心筋細胞は生直後だけでなく成熟期にいたるまでDNA合成を行っていることを明かにした[1)~4)]．

今回は，一般心筋細胞とは形態的にも機能的にも異なる刺激伝導系の細胞，特に房室結節細胞の生後のDNA合成について検討したので報告する．

対象と方法

日齢1，2，3，5，7，10，15，20，30，50，100日のICR系雄マウス各々3匹，計33匹を対象とした．

各々のマウスに体重g当り1μCiの^{3}H-thymidineを腹腔内に一回投与するオートラジオグラフィーの単回標識法を行った．^{3}H-thymidine投与1時間後に屠殺し心臓を摘出した．摘出した心臓は10%ホルマリン固定後パラフィン包埋した．心室中隔に対して直角になるように心臓の後方より切り出し，厚さ4μmの連続切片を作製した．実体顕微鏡下に房室結節を確認しそれを試料とした．dippingにはKodakオートラジオグラフィー用乳剤NTB2を用い，4℃で2週間露光後FD-111の現像液で18℃，3分間現像した．染色にはヘマトキシリン―エオジン染色法を用いた．組織標本上，房室結節細胞（穿通枝にいたるまでの刺激伝導系の細胞）を連続切片によりすべて数え，^{3}H-thymidineにより標識された細胞数の比を百分率で表し標識率とした．

今回の検討にはcompact nodeの細胞のみを数え，transitional cell zoneの細胞は除外した．

結　果

各日齢のマウス房室結節細胞の標識率の平均値を図1に示した．1日齢，2日齢では各々1.9%，2.2%で，5日齢で最高値4.3%となった．以後，標識率は減少していき，15日齢で0.3%，20日齢以後には標識率は'0%'

別刷請求先：（〒602）京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465
京都府立医科小児科　　中川　雅生

Presented by Medical*Online

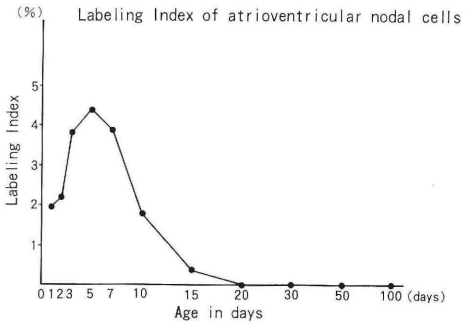

図1　マウス房室結節細胞の標識率の変化：20日齢以後の標識率は0％でDNA合成はみられないことを示している．

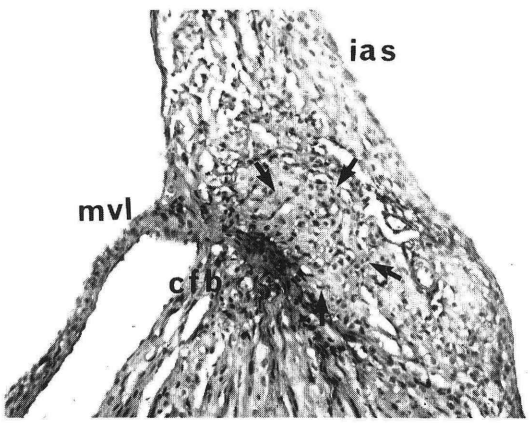

図2a　2日齢マウスの房室結節（矢印の所）．ias：心房中隔，mvl：僧帽弁輪部，cfb：中心線維体

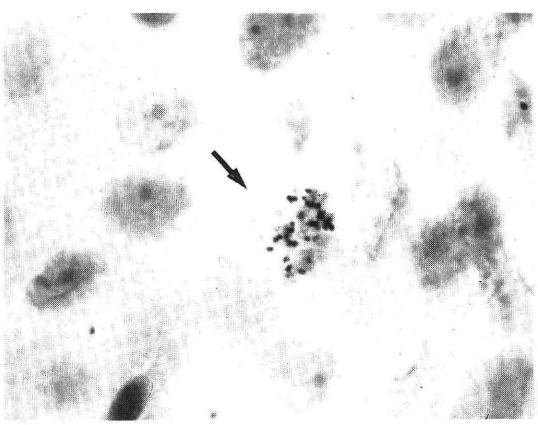

図2b　2日齢マウスの^{3}H-チミジンにより標識された房室結節細胞（矢印）

となりDNA合成を行っている房室結節細胞はなかった．

図2aは2日齢マウスの房室結節近辺の組織写真であるが，矢印がcompact nodeでそこから心房中隔に移行する粗なところがtransitional cell zoneである．房室結節の刺激伝導系の細胞は円形ないし楕円形で，胞体は淡く，大きく丸い核が特徴的である．

図2bは^{3}H-thymidineにより標識された房室結節細胞で2日齢のものである．

考　察

近年，ヒトの肥大心や心筋症を組織細胞学の立場からみた研究が進むにつれ，個々の心筋細胞の肥大だけでなく，核の多倍体化や多核化が生じることが知られるようになってきた[5)~7)]．これらの現象にはDNA合成が不可欠であるが，このDNA合成が生理的な状況でもみられるかどうかについては十分に明らかにされていなかった．

そこで著者らはマウスを用い，正常な成長過程における心筋細胞のDNA合成について検討してきた．その結果，一般心筋細胞は生直後は胎生期の延長で活発にDNA合成を行い，成長につれその比率は減少するものの成熟期においてもDNA合成を行っていることを明らかにした[1)~4)]．

一方，今回の実験の結果，同じ心筋細胞でありながら房室結節細胞のDNA合成は生後20日にはみられなくなることが明かとなった．一般心筋細胞は，伸縮，つまり労作をその目的としている系であり，心臓に過剰な負荷が生じたときにはそれを代償すべく肥大という形態的変化をきたすことがラットを用いた実験で明らかにされている[8)9)]．これに対して刺激伝導系の細胞の機能は電気刺激を発生もしくは伝えることであり物理的に過剰な負荷を代償する必要のない系である．

刺激伝導系の細胞の生後のDNA合成は，一般心筋細胞の生後のDNA合成と比べるといずれの日齢でもかなり低い傾向にあり，さらに20日齢以後にはみられなくなってしまうが，これは，両者が形態的にも機能的にも異なることと深い関係があると思われる．その可能性として

1. 全く異なった起源を有する．
2. 同じ起源でありながら異なった分化の過程をたどる．

のいずれかであると考えられる．

現在のところ房室結節の発生に関してはMall[10)]，Monckeberg[11)]，Retzeter[12)]，Tandler[13)]，Anderson[14)]，

Presented by Medical*Online

Viragh と Challice[15]らのいうように，哺乳動物の房室結節（Atrioventricular node あるいは Fasciculus atrioventricularis）は atrioventricular canal の inner wall に由来すると考えられている．この説によると，房室結節の細胞と一般心筋細胞とは同じ起源を有していることになり，単にその後の分化の過程で両者の形態的及び機能的な差異が生じたことになる．

吉岡[16]，浜岡[17]，越智ら[18]はマウスの種々の臓器における生後の DNA 合成を^{3}H-thymidine を用いたオートラジオグラフィーにより検討した．これらの結果では，房室結節と同じように生後しばらくの間だけ DNA 合成がみられた臓器は中枢神経系だけで，小脳神経細胞では生後20日までのみ DNA 合成がみられた．房室結節の細胞も神経系の細胞も共に電気刺激を発生もしくは伝達するという機能を有する系であることから，この両者の発生学的起源の異同についても検討しなければならない．

神経系細胞は発生学的に neural crest にその起源を有することは明らかとされている．一方，心臓にも neural crest 由来の部位があることが Kirby[19]や Nishibatake ら[20]の chick を用いた chimera 実験で明らかにされてきており aortic arch や aortopulmonary septum などは neural crest に由来するところと考えられている．しかし，neural crest が房室結節あたりにまで迷入しているかどうかはまだ明らかにされていない．ただ，牛の心臓では neural crest に由来すると思われる交感神経節細胞が房室結節周囲まで分布することが1986年に Forsgren[21]により報告されており，atrioventricular canal の inner wall の起源についてさらに検討すべきであると考えられる．

以上，マウス房室結節細胞の生後の DNA 合成のパターンが一般心筋細胞のそれと異なることから，両者の起源の異同について言及した．この問題は心臓の発生と成長を考えるうえで胎生期までさかのぼり明らかにされるべき課題の一つであろう．

この論文の要旨は，第24回日本小児循環器学会（昭和63年，東京）において口演した．

文　献

1) 中川雅生，清沢伸幸，楠　智一，浜岡建城，高松哲郎，服部隆則：心筋細胞の生後の DNA 合成能．医学のあゆみ，134：191—192, 1985.
2) 中川雅生，清沢伸幸，浜岡建城，楠　智一，服部隆則：心筋細胞の成長に関する研究—^{3}H-thymidine autoradiography による生後の DNA 合成能—．心筋の構造と代謝，7：133—134, 1985.
3) Nakagawa, M., Hamaoka, K., Hattori, T. and Sawada, T.: Postnatal DNA synthesis in hearts of mice: Autoradiographic and cytofluorometric investigations. Cardiovasc. Res., 22: 575—583, 1988.
4) 中川雅生，浜岡建城，服部隆則，沢田　淳：マウス心筋細胞の成長にともなう DNA 合成の部位差についての検討．日小循誌，4：410—413, 1989.
5) Adler, C.P. and Costabel, U.: Cell number in human heart in atrophy, hypertrophy, and under the influence of cytostasis. In: Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism, Vol 6, Baltimore: University Park Press, 1975, p. 343—345.
6) Linzbach, A.J.: Hypertrophy, hyperplasia and structural dilatation of the human heart. Adv. Cardiol., 18: 1—4, 1976.
7) Sandritter, W. and Adler, C.P.: Polyploidisation of heart muscle nuclei as a prerequesite for heart growth and numerical hyperplasia in heart hypertrophy, In: Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism, Vol 12, Baltimore: Uriversity Park Press 1978, 115—126.
8) Morkin, E. and Ashford, T.P.: Myocardial DNA synthesis in experimental cardiac hypertrophy. Am. J. Physiol., 215: 1409—1413, 1968.
9) Lin, H., Katele, K.U. and Grium, A.F.: Functional morphology of the pressure- and the volume-hypertrophied rat heart. Circ. Res., 41: 830—836, 1977.
10) Mall, F.P.: On the development of the human heart. Am. J. Anat., 13: 249—298, 1912.
11) Monckeberg, J.G.: Untersuchungen uber das Atrioventrikularbundel im menschlichen Herzen. Jena: Fischer, 1908.
12) Retzeter, R.: Some results of recent investigations on the mammalian heart. Anat. Rec., 2: 149—155, 1908.
13) Tandler, J.: The development of the heart. In Manual of Human Embryology, Keibel, F., and F.P. Mall eds., Vol, 2, Philadelphia and London, Lippincott, 1912, 534—570.
14) Anderson, R.H. and Taylor, I.M.: Development of atrioventricular specialized tissue in the human heart. Brit. Heart J., 34: 1205—1214, 1972.
15) Viragh, Sz. and Challice, C.E.: The development of the conduction system in the mouse embryo heart. Differentiation of the atrioventricular conduction system. Developmental Biology, 89: 25—40, 1982.

Presented by Medical*Online

16) 吉岡　博：新生仔低酸素症が脳組織発達に及ぼす影響．脳と発達，15：317—327, 1983.
17) 浜岡建城：Monosodium Glutamate投与肥満マウスにおける体内臓器の発育パターンについて．I．体内臓器の成長パターンの特異性に関する形態学的および細胞増殖動態的検討．京府医大誌，93：27—44, 1984.
18) Ochi, M., Sawada, T., Kusunoki, T. and Hattori, T.: Morphology and cell dynamics of adipose tissue in hypothalamic obese mice. Am. J. Physiol., 254: R740—R745, 1988.
19) Kirby, M.L., Turnage, K.L. and Hays, B.M.: Characterization of conotruncal malformations following ablation of "cardiac" neural crest. Anat. Rec., 213: 87—93, 1985.
20) Nishibatake, M., Kirby, M.L. and Van Mierop, L.H.S.: Pathogenesis of persistent truncus arteriosus and dextroposed aorta in the chick embryo after neural crest ablation. Circulation, 75: 255—264, 1987.
21) Forsgren, S.: The distribution of sympathetic nerve fibers in the AV node and AV bundle of the bovine heart. Histochem. J., 18: 625—638, 1986.

Postnatal DNA Synthesis in Atrioventricular Cells of Mice

Masao Nakagawa*, Kenji Hamaoka**, Shosei Hayashi**, Zenshiro Onouchi** and Tadashi Sawada*
*Department of Pediatrics, Kyoto Children's Research Hospital
**Department of Pediatrics, Kyoto Prefectural University of Medicine

Postnatal DNA synthesis in ICR mouse atrioventricular (A-V) nodal cells was studied by ^{3}H-thymidine autoradiography.

Flash labeling experiments done on various aged mice showed that DNA synthesis in A-V nodal cells was seen in the 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15th days ater birth. Labeling index was highest (4.4%) on the fifth postnatal day and decreased thereafter.

This postnatal DNA synthetic change in A-V nodal cells was rather different from the one in cardiomyocytes which we previously reported; the cardiomyocytes synthesized DNA most actively in the first 14 days after birth (maximal labeling index was 8.8% on the 10th day) and even on the 100th or 200th day, DNA synthesizing cardiomyocytes were seen.

These two types of heart muscle cells are different in shape and function, which may cause the difference of the postnatal DNA synthetic patters.

Presented by Medical*Online