

ビタミンA及びプレドニソロン投与によるラット大食細胞の超微構造的変化

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/4621 |

ビタミンA及びプレドニソロン投与による ラット大食細胞の超微構造的変化

金沢大学医学部病理学第一講座 (主任：梶川欽一郎教授)

三 輪 淳 夫

(昭和50年8月18日受付)

ビタミンA (以下 VA と略記) は生理的に上皮細胞、神経細胞及び骨の発育に必要な物質であるが、過剰の VA は生体膜を不安定にすることが多くの実験によって示され、これに関するいくつかの綜説が発表されている^{1)~4)}。in vitro において過剰の VA の存在下で、赤血球の溶血⁵⁾⁶⁾、肝細胞の糸粒体の膨化⁷⁾、ライソゾーム酵素の遊離がおこり、血清のライソゾーム酵素が上昇する⁸⁾⁹⁾ことが報告されている。また、過剰の VA を加えたメジウムで培養された軟骨では基質のコンドロイチン硫酸の分解がおこり、これは軟骨細胞のライソゾーム酵素が細胞外へ分泌されやすくなったためであると説明されている^{10)~12)}。しかし、VA 過剰症における in vivo の実験は少なく、VA による生体膜の不安定化が細胞にどのような形態学的変化を与えるかについてはほとんど知られていない。

一方、コルチコステロイドは生体膜を安定化し、VA 過剰に対して拮抗的作用をもっていることが知られている^{13)~17)}。コルチコステロイドの作用は複雑で¹³⁾、その使用量や標的細胞によって差異があるが、結合組織細胞に関しては、線維形成の阻害¹⁸⁾¹⁹⁾や食食能の低下^{20)~22)}を招来することが報告されている。しかし、ここでもコルチコステロイドの生体膜に及ぼす作用がどのような形態学的変化として反映されるかについては、まだ十分明らかにされていない。

そこで、著者は VA 過剰とプレドニソロンが生体膜に及ぼす影響を明らかにする目的で、これらの薬物を投与されたラットのカラギニン肉芽腫を材料とし、増殖する結合組織細胞、特に大食細胞の超微構造的変化を観察した。本論文では、VA とプレドニソロンの投与によってみとめられる細胞の構造的変化を比較し、これらの薬物の生体膜に対する作用という観点から考察を加える。

実験材料及び実験方法

実験動物としてウイスター系雄ラット (150~200 g) を用いた。1%カラギニン ("Viscavin 402", Marine Colloid Inc.) 生食液 1 ml を背部皮下に注射し、カラギニン肉芽腫をつくり、次の実験群について観察した。

1. 対照群。カラギニン注射後1, 2, 3週後に動物をエーテル麻酔で殺し、皮下の肉芽腫を採取した。

2. VA 投与群。VA palmitate (「チョコラA」, エイザイ) 12,500IU をカラギニン注射と同時に腹腔内に注射し、以後連日注射を行い、1, 2, 3, 4週後に動物を殺し肉芽腫を取り出した。

3. プレドニソロン投与群。Prednisolone (「プレドニン」, シオノギ) 2.8mg の大腿筋内注射をカラギニン注射の前日から開始し、以後連日同注射をつけ、1, 2, 3週後に肉芽腫を取り出した。

組織の一部はパラフィン切片とし、HE 染色のほか、カラギニンの細胞内の取りこみをみるため、トルイジン青によるメタクロマジーを検査した。

電顕的観察には、組織を2.5% glutaraldehyde (0.1M cacodylate buffer pH7.4) 中で細切し、引きつづき 4°C で1時間固定し、さらに2%オスミウム酸 (0.1M cacodylate buffer pH7.4) で1時間半固定した。試料はエチルアルコール系列で脱水し、エボン812で包埋した。

試料は LKB 型 Ultratome でガラスナイフを用いて超薄切片を作成し、酢酸ウラニール、硝酸鉛の二重染色を行った。切片は JEM-7型、日立 HU-11型、HU-12型及び HU-11DS型で観察し、直接倍率2,700~30,000倍で撮影した。

Ultrastructural changes of rat macrophages induced by vitamin A and prednisolone. Atsuo Miwa, Department of Pathology (I), (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

実験成績

1. 対照群

カラギニン肉芽腫における大食細胞の所見はこれまでの成績^{(23)~(25)}とほぼ同一である。

1~3週目のカラギニン肉芽腫には様々な発育段階の大食細胞がみられる。未熟な大食細胞は細管状の粗面小胞体とリボゾームが比較的豊富であるが、成熟した大食細胞では広い原形質に多数の食胞がみとめられる。食胞の形と大きさは様々である(写真1)。小さい食胞は円形で、大きいものには処々不規則な突出がみられ、小型食胞との癒合が示唆される。食胞内部は低電子密度の無構造物またはフィラメント状物質で満たされる。光顕的に食胞内はトルイジン青でメタクロマジーを呈するので注射されたカラギニンの貪食を表明していることは明らかである。本研究では食胞内のフィラメント状物質は仮にカラギニンフィラメントと呼ぶことにする。食胞の内容には消化の進行に伴って様々な形態学的変化が現われ、等質性の濃縮物質、小胞、膜様ないしミエリン様構造が混在する(写真2)。同時に、濃縮物質やミエリン様物質を満たした小型の residual body が出現する。このような食胞の数と内容の変化は時間の経過と共に増加し、原形質の大部分が食胞で占められるものがまれではない。

2週目以後の材料において、膨化したコラーゲン線維の断片を容れた空胞がかなりしばしばみとめられる。また、食胞の限界膜が細管状に延長し、原形質の一部を包みこんでいる像に遭遇する(写真3)。細管の中央に縦走する線状物や、細管を橋渡しするように微小な隔壁がみとめられることがある。原形質周辺またはゴルジ装置の近傍に時々多房体が存在する。

ゴルジ装置の発育は良好で層板、空胞及び小胞から成る。ゴルジ装置の周辺には、円形または桿状の断面を示す dense body がみとめられる(写真1)。食胞の増加と共に dense body は減少する傾向がある。ゴルジ装置には、そのほか、中心小胞がみとめられる。

滑面小胞体の発育は良好で、特に原形質周辺に集在する。しばしば coated vesicle がみとめられる。粗面小胞体は全般に少なく、細管状または多少とも拡大した小胞腔を示し、リボゾームを附着する。

遊離状に存在する細胞は細胞表面には多数の細長い原形質突起を延ばしている。また、細胞が平滑な形質膜をもって互に接触し、接触面の形質膜に限局性に電子密度の増加が伴われることがある。

線維芽細胞は定型的な粗面小胞体の発育と広いゴル

ジ装置を有する。2週以後では粗面小胞体は拡大し、少数の自家食胞及び脂肪滴の出現がみられることがある。

毛細血管の内皮細胞は多少とも腫大し、リボゾーム、粗面小胞体及び滑面小胞体の増加がみとめられる。

細胞間には高電子密度の顆粒を混じた無定形物質とコラーゲン線維がみとめられる。コラーゲン線維のあるものは膨化し、時々 FLS 線維様の異常横紋を示す線維がみとめられる^{(23)~(25)}。

2. VA 投与群

1 週目

カラギニン肉芽腫は多数の増殖した大食細胞から成り、まれに核分裂像に遭遇する。大食細胞の間には処々線維芽細胞がみとめられる。

この時期には大食細胞は様々な程度の発育と貪食を示すが、対照群と比べてその超微構造的差異はまだ顕著ではない。しかし、後に述べる食胞相互の癒合の増加や、細胞相互の密接な接触はすでにみとめることができる。これらの特徴は2週以後に著明となるので、後に詳しく述べる。

線維芽細胞は延長した原形質内に良く発育した粗面小胞体の存在によって特徴づけられる(写真4)。粗面小胞体は互に吻合するが、対照群のそれとは異なって、小胞腔は著しく拡張し、小胞腔に向って小胞膜の複雑な突出がみられる。小胞腔は空虚にみえる。ゴルジ装置は空胞に富み、時々中心小体やそれに連なる繊毛様構造がみられる。拡大した粗面小胞体はほとんど原形質の全域に広がっているため、他の小器官は少ない。処々ライソゾーム様の封入体、自家食胞、脂肪滴がみられる。

毛細血管は拡張する。内皮細胞は腫大し、原形質には遊離リボゾームと粗面小胞体の増加が目立つ。周細胞もリボゾームと粗面小胞体に富む。内皮細胞や周細胞の粗面小胞体は線維芽細胞のそれと同じくしばしば拡張を示す。

細胞間には低電子密度の絮状物質とコラーゲン線維で占められ、時々 FLS 様の異常線維がみとめられる。

2 週目

1週目と同様に様々な程度の発育と貪食を示す多数の大食細胞の増殖がみとめられるが、食胞は1週目の細胞に比べて数と大きさを増加する。粗面小胞体とリボゾームの豊富な未熟の大食細胞にもしばしば大きな食胞が含まれる。少数の自家食胞がみとめられることがある。

成熟した大食細胞には多数の食胞がみとめられ、食

胞はしばしば著しく容積を増す。このため食胞は密集してみえる。注目すべき所見は食胞の辺縁が不整で処々食胞相互の癒合を示す像に遭遇することである(写真5)。食胞内容は比較的単純で、カラギニンフィラメントを満たし、その中に小胞と無定型濃縮物質がみとめられる。膜様物質やミエリン様物質は比較的少ない。また、対照群でみられたように食胞の限界膜が迂曲した細管を形成しながら原形質を包みこんでいることがある(写真6)。ここでも、細管を形成する相面した膜の中間に断続的に走る点状物または線状物がみとめられる。切線状の断面では細管の表面に互に平行に並ぶ線条がみとめられる。

ゴルジ装置は層板、空胞及び小胞から成る。時々 coated vesicle や多房体がみとめられる。対照群に比べて一般に空胞が多く、小胞は少ない。dense body も著しく減少している(写真7)。

滑面小胞体は対照群に比べて全体に減少の傾向があり、特に後述の細胞相互の接触部分では原形質周辺の小胞の減少は明瞭である。粗面小胞体は軽度の拡張を示すほかは著変はみられない。糸粒体の形態にも異常はみられない。

この時期における顕著な所見の一つは大食細胞の相互の接触である。細胞表面には対照群と同様に指状の原形質突起がみとめられるが、細胞が接近した処では、指状突起が細胞間に折りたたまれたように重積する。細胞の接触が緊密になると、両方の細胞の形質膜は互に平行に密接し、入り組んだ嵌合を示す(写真8)。形質膜は原形質内に細管状の深い陥入を形成することがある。平行に並んだ形質膜の間は電子密度が増加する。処々相面する形質膜の外側に高電子密度の物質が付着し、形質膜の間隙の中央に線条が出現し、中間結合(intermediate junction)様の接合装置が形成される(写真9)。これら細胞接触面では coated vesicle は比較的残存するが、滑面小胞体は速やかに減少する。

線維芽細胞、毛細血管内皮細胞、周細胞の形態は1週目のそれらと大差はない。細胞間物質の状態も同様である。

3-4 週目

この時期においても細胞の様々な発育段階がみとめられ、まれに核分裂像に遭遇する。細胞の構造にも変動があり、対照群のそれとほとんど差異のないものから2週目でみられた特徴的な変化がさらに進行した細胞まで様々な程度の変化がみとめられる。

大食細胞の大部分は遊離状に存在し、細胞相互の接触は一般に減少する。しかし、4週後にもなお、接合

装置の形成を伴った細胞の接触がみとめられる(写真10)。また写真11に示すように形質膜の内側に高電子密度の物質が付着しているところがある。

大食細胞の食胞の数と大きさは増加する。拡大した食胞内に小胞が増加し、多房体の形成が示唆される所見がある(写真12)。また、膜様またはミエリン様物質を含む食胞や residual body がみとめられるが(写真13)、対照群に比べるとこの様な物質の出現の頻度ははるかに少ない。興味あることは写真14に示すように、食胞相互の癒合によって原形質のほとんど全域を占める迷路状の構造が形成されることである。ここでも迷路状の食胞内はカラギニンフィラメントで満たされ、消化の進行を示唆する濃縮物質やミエリン様物質が少ないことが注目される。この時期の大食細胞には時々、脂肪滴や同心円状に並ぶ細管で包まれた自家食胞がみられる(写真15)。

ゴルジ装置、滑面小胞体、粗面小胞体の形態は2週目のそれらとほとんど同様である。

線維芽細胞は粗面小胞体の発育が良好であるが、大部分は管状の断面を示し、1~2週目におけるような著明な拡大はみられない。原形質にはカラギニン食胞、膨化したコラーゲン線維を含む空胞、及び脂肪滴がみとめられる。

毛細血管の内皮細胞は、なお腫大を示すが、リポゾームや粗面小胞体は減少し、滑面小胞体の発育が優勢になる。

細胞間には架状物質の減少とコラーゲン線維の増加がみられ、しばしば異常横紋を示す線維が混在している。

3. プレドニソロン投与群

1 週目

多数の大食細胞と線維芽細胞の増殖がみとめられ、これらの細胞はしばしば互に接触して存在するが、V A 投与群にみられたような形質膜の深い陥入、細胞相互の嵌合または接合装置の形成はみとめられない。

大食細胞は多数のカラギニン食胞を有し、細胞の形態は対照群と大差はみられない。

線維芽細胞も対照群とほぼ同様な構造を示し、多数の管状粗面小胞体とよく発育したゴルジ装置がみとめられる。時々 dense body や自家食胞がみられることがある。

2 週目

この時期でも肉芽腫を構成する大食細胞と線維芽細胞には対照群と同一の構造を示す細胞がかなり多数存在する。まれに大食細胞の核分裂がみとめられる。しかし一方では、プレドニソロン投与群に特徴的な変化を

示す細胞が観察される。比較的未熟な大食細胞ではリボゾームと粗面小胞体が豊富で、カラギニン食胞は少ない。粗面小胞体はしばしば細管状を呈し、標本の断面によって、同心円状または網状の配列を示す。小胞膜に付着するリボゾーム及び遊離リボゾームはロゼット状に凝集し、ポリゾームの形態が明瞭である。原形質内には脂肪滴、大空胞及び自家食胞がみられる。大空胞の内容はほとんど空虚かまたは少量の低電子密度の絮状物質を容れ、空胞周囲または空胞内に小胞の集ながみとめられる。

自家食胞の形成は甚だ特徴的で、滑面の細管が様々な小器管を含む原形質の一部を取りかこんでいる。小さな自家食胞では分画される原形質の構造は単純であるが、大きな自家食胞では細管が同心円状に配列し分画された原形質には小胞体、糸粒体、リボゾーム、dense body、大空胞などが密集し、原形質基質の電子密度は低下する(写真16, 17)。

これらの細胞では少数の dense body は散在するがカラギニン食胞はほとんどみられない。核周辺にしばしば原形質フィラメントの集積がみとめられる(写真17)。

成熟した大食細胞には多数のカラギニン食胞が含まれる。食胞の大部分は円形の断面を示し、一般に小型のものが多く、嚢状に拡大したものはまれである。食胞内はカラギニンフィラメントで満たされ、濃縮物質やミエリン様物質は甚だ乏しい。ここでも細管で分画された自家食胞がみとめられる(写真18)。時々、対照群やVA投与群でみられたと同様に、カラギニン食胞から細管が延長し原形質を含みこんでいる像に遭遇する。

食胞が原形質の大部分を占めるほど増加した場合には、食胞の変化は一層明瞭となる。食胞は一般に小さく、円形または延長した楕円形を呈し、内腔は依然としてカラギニンフィラメントで満たされ、濃縮物質やミエリン様物質はほとんどみとめられない(写真19)。食胞の間には少数の residual body や dense body が存在する。

プレドニソロン投与群の大食細胞においてはゴルジ装置、滑面小胞体、粗面小胞体、糸粒体の形態に著しい変化はみられない。dense body は円形または桿状の小体としてゴルジ装置の周辺から食胞の間に散在性のみとめられる(写真18)。

線維芽細胞の大部分は対照群と同様な構造を示す。しかし、一部の細胞では、粗面小胞体は相互の吻合が減少し、嚢状に拡大する。リボゾームはポリゾームのパターンを呈する。このような細胞には自家食胞と脂

肪滴が増加する(写真20)。

3 週目

2週目の所見とほぼ同様で、多数のカラギニン食胞を含む大食細胞がみとめられる。食胞の大きさは2週目のそれに比較して一般に大きく、時々嚢状に拡大した食胞もみられる。しかし、ここでも内容の消化産物が少なく、少量のミエリン様物質や小胞を容れているにすぎないことが注目される。ゴルジ装置の発育は良好で多数のゴルジ小胞がみとめられる。また dense body もみとめられる。

自家食胞にはしばしば遭遇するが、2週目のそれより一般に小さく、分画された原形質の変性が著しい。

考 察

本実験を通じて一般に注目されたことは肉芽腫を構成する大食細胞や線維芽細胞の構造的変化が動物により、また同一標本でも個々の細胞によりかなりの差異がみられたことである。すなわち、ある細胞では対照群のそれとほとんど同一の構造を示し、ある細胞ではVAやプレドニソロンに特徴的な変化が観察され、その間には様々な中間型がみられるのである。これはプレドニソロン投与群で特に顕著である。このような現象は核分裂の存在によって示されるように、大食細胞は局所で分裂増殖するため、その成熟の時期と投与されたVAやプレドニソロンの作用時間との関係が一定でないことに起因するものと思われる。特にコルチコステロイドの効果はその作用量によって左右され、またコルチコステロイドに対して抵抗性が生ずる¹⁹⁾ので、個々の細胞の変化に大きな変動が現われるのであろう。

これらの点を考慮にいれて得られた所見を整理すると、VA投与群においては、大食細胞のカラギニン食胞相互の癒合の亢進、プレドニソロン投与群ではその癒合の抑制が最も特徴的な変化であると考えられる。次にこれらの変化を中心に考察を加える。

1. VA投与群

VA投与群にみられた大食細胞における主な変化は、①食胞の容積の増加、②食胞内容の消化過程の遅延、③ dense body の減少、④ゴルジ装置、粗面小胞体の空胞化、⑤細胞相互の癒合による接合である。

対照群では大食細胞の食胞は相互の癒合によってある程度大きくなるが、内容の消化が進行すると共に、容積の増加は止み、遂に濃縮した residual body になる。これに対して、VA投与群では食胞は全般に大きく、食胞内の消化を示唆する構造物、例えば膜様

ないミエリン様物質が乏しいことが注目される。同様な所見は Kobayashi ら²⁶⁾ によって VA を過剰投与されたラットの肝 Kupffer 細胞においても報告されている。

VA は生体膜、特に形質膜とライソゾーム膜を構成する脂質-蛋白質の相互作用に影響を与え、生体膜の安定性を阻害することは多くの実験によって確立されている⁴⁾⁵⁾⁸⁾¹⁰⁾¹²⁾¹⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾。また膜の不安定化は膜の癒合を促進することも知られている²³⁾。VA 投与群で大きな食胞が増加するばかりでなく、その形が著しく不整形でしばしば食胞相互の癒合を示唆する像がみとめられたことは食胞膜の癒合が活潑に行われていることの形態学的表現であると考えられる。一方、後述のように食胞内の消化の進行が遅延するため、内容の濃縮が行われぬことも、大型の食胞が形成される一つの原因となっているものであろう。

食胞内に消化産物が乏しいことは食胞内に消化に必要なライソゾーム酵素が不足していることを意味する。一般に食胞がライソゾーム酵素を獲得する機序については Novikoff²⁹⁾ の GERL 説が信じられている。この説によると粗面小胞体で合成されたライソゾーム酵素はゴルジ装置または滑面小胞体へ転送された後、ゴルジ小胞または滑面小胞体で濃縮され、dense body (一次ライソゾーム) が形成され、この dense body との癒合によって食胞はライソゾーム酵素を獲得すると説明される。リンパ節の大食細胞³⁰⁾ または腹腔大食細胞³¹⁾³²⁾ についても同様な機序が報告されている。

VA 投与によって、粗面小胞体は軽度の拡大を示すほか著変はみられないので、ライソゾーム酵素の合成が障害される可能性は少ないものと考えられる。また VA が生体膜の癒合を亢進させることから判断すると、上述のライソゾーム酵素の転送経路そのものがブロックされるとは考え難い。しかし、ゴルジ装置の空胞が目立ち、ゴルジ小胞や dense body が減少することは注意を要する所見である。VA はゴルジ装置に貯溜するといわれる³³⁾ ので、ゴルジ膜が VA の作用を強くうけることはありうることであろう。ゴルジ膜の不安定化は一方では空胞の形成を促し、他方では小胞を減少させ、このような小胞の減少は dense body の形成を低下させる可能性がある。一方、対照群においても食胞の増大と消化の進行に伴って dense body が減少するので、VA 投与群における dense body の減少はその形成の障害ではなく、食胞の癒合が急速に行われる結果である可能性も否定できない。VA が生体膜の癒合を促進させることを考慮す

ると、この可能性は十分ありうることと思われる。もしそうとすれば、食胞相互の癒合が亢進し大型の食胞が形成されるため、食胞内のライソゾーム酵素が相対的に不足する結果、食胞内容の消化が遅延するものと考えられる。

本研究において時間の経過と共に大食細胞に自家食胞が増加することが観察された。同様な所見は VA 過剰の環境における培養線維芽細胞³⁴⁾、Kupffer 細胞²⁸⁾ においても報告されている。Lucy²⁷⁾ は VA はライソゾーム膜を不安定にし、形質膜との癒合を促進することはあっても、ライソゾーム酵素が原形質内へ遊離することはないと述べている。しかし、VA によって赤血球膜が不安定化し、溶血がおこる実験成績³⁵⁾ から推測すると、ライソゾーム膜も VA によって透過性の亢進や破綻がおこりうるものと考えられる。自家食胞の増加はライソゾーム酵素の細胞内遊離によって原形質が変性をおこした結果である可能性は否定できないであろう。

VA 投与群において、大食細胞が相互に密接に接触し、しばしば接合装置の形成が伴われることは注目すべき所見の一つである。対照群においても、細胞相互の接触はみられ、まれに接触面の形質膜に限局性の電子密度の増加がみられるが、VA 投与群のように明らかな接合装置の形成はみられない。このような細胞の接触や接合装置の発生機序や意義については明らかではない。一般に幼若な大食細胞は細胞相互の接触は多いのであるが、VA 投与群はそれが増強されているように思われる。Laufer ら³⁶⁾ は VA はライソゾーム膜より先に形質膜の性状を変化させると述べている。VA による形質膜の不安定化が細胞の接触を容易にし、接合装置の形成は形質膜の不安定性を機械的に補助する役割を果しているのかも知れない。このような細胞相互の接触の結果、細胞表面からの物質の自由なとりこみは制限されるものと推定される。互に接触した細胞の形質膜直下には吞飲小胞が急速に減少する所見はこの推定を裏付ける。

VA によって糸粒体が腫大し、呼吸活性が低下することが他の研究者³⁴⁾³⁷⁾ によって報告されているが、本研究においては糸粒体には明らかな変化はみられなかった。このような差異は細胞の種類や VA の投与量によるものかも知れない。

大食細胞の粗面小胞体には一般に小胞腔の軽度の拡大がみとめられた。しかし、小胞膜に付着するリボゾームには変化はみられない。このような小胞腔の拡大も VA による小胞膜の伸展に基くものと解釈される。

粗面小胞体の拡大は毛細血管内皮細胞や線維芽細胞においても観察された。とくに線維芽細胞における粗面小胞体の拡大は顕著である。渡ら³⁸⁾はVAを長期間投与されたマウスの脾外分泌細胞の粗面小胞体の拡大と分泌物の貯溜をみとめ、この変化は粗面小胞体からゴルジ装置へ分泌物の転送が妨げられた結果であると説明している。本研究では線維芽細胞の拡大した粗面小胞体の内腔は空虚で、物質貯溜を示唆する所見はみとめられなかったため、粗面小胞体の拡大も他の生体膜と同じくVAによる小胞膜の不安定化によるものと解釈したい。

Danielら³⁴⁾は過剰のVAを含むメジウムで線維芽細胞を培養すると、粗面小胞体は萎縮し、小胞膜に付着するリボソームが減少することを観察し、この所見は細胞外物質の合成能の低下を表わすものと解釈している。著者の成績と不一致の理由は明らかではないが、*in vitro*と*in vivo*の実験条件の差異によるものかも知れない。彼らの実験では糸粒体の膨化、呼吸の低下、自家食胞の増加などが同時に観察されているので、培養細胞の機能は一般に低下した状態にあるものと推定されるからである。

大食細胞や線維芽細胞に時々脂肪滴の出現が観察された。Hirosawaら³⁹⁾はVAは生理的に肝の脂肪蓄積細胞 (fat-storing cell) の脂肪滴内に存在することを電顕的ラジオオートグラフィによって証明した。さらにKobayashiら²⁶⁾はVAの過剰によって、この脂肪蓄積細胞の脂肪滴が著しく増加することを報告している。しかし本研究でみとめられた大食細胞や線維芽細胞の脂肪滴の数は脂肪蓄積細胞における程著明ではなく、Kobayashiら²⁶⁾の報告においても脂肪蓄積細胞以外の間葉細胞には脂肪滴はみとめられていない。したがって本研究における脂肪滴の出現はVAの貯蔵と関係のない現象で、細胞の変性を表わしているものと考えられる。

2. プレドニソロン投与群.

プレドニソロン投与群において注目される変化は大食細胞におけるカラギニン食胞の容積が小さく、内容の消化を示唆する所見がほとんどみとめられないこと、及び多数の自家食胞が出現することである。

コルチコステロイドが大食細胞の貪食を低下させることは多くの研究者によって報告されている¹⁸⁾²¹⁾²²⁾⁴⁰⁾。しかしカラギニン肉芽腫の大食細胞では食胞の数の減少はみられないので、食胞の縮小はカラギニンの細胞内への取りこみの障害によるものとは考え難い。一方、コルチコステロイドはVAによる生体膜の不安定化に拮抗的に作用することが知られている¹⁾¹³⁾⁻¹⁵⁾⁴¹⁾。

その機序については一般にステロイドが生体膜を構成する脂質と直接結合することに起因すると考えられている¹⁶⁾⁴²⁾⁴³⁾が、Gershfeldら⁴⁴⁾はコレステリンとステアリン酸の単一膜のモデル実験の成績から、ステロイドは膜の内部に侵入するのではなく、膜に非特異的に吸着されるものと推測している。いずれにせよ、コルチコステロイドは生体膜を安定化し、膜の癒合を抑制することは明らかな事実である。したがって、プレドニソロン投与による食胞の縮小は食胞膜の安定化のため、その癒合が阻止された結果であると考えられる。

プレドニソロン投与群ではゴルジ装置の構造やdense bodyの数において対照群との間に著しい差異がみとめられない。しかし、食胞内の消化産物は甚だ少ない。この所見はライソゾーム酵素を含むdense bodyと食胞との癒合もまた障害されていることを示唆する。Merkowら⁴⁰⁾はコーチゾンで処置されたマウスの肺胞大食細胞において食胞とライソゾームの癒合が減少することを報告している。

プレドニソロン投与群で注目される他の変化は自家食胞の形成である。自家食胞にはカラギニン食胞からの細管状の延長が原形質の一部を包みこむ型と、食胞とは外見上、直接連続のない細管で包まれた型とが区別される。前者は対照群及びVA投与群においても同程度にみとめられ、プレドニソロンによる特有の変化とは見なされない。これに対して、後者はプレドニソロン投与群において明らかにその数と大きさが増加し、プレドニソロンの作用と関係する変化であると考えられる。

この型の自家食胞の形成機序は明らかではない。Novikoff及びその協同研究者⁴⁵⁾⁴⁶⁾は肝細胞と神経細胞の自家食胞はゴルジ装置近傍の滑面小胞体から誘導されると述べている。この問題に関してFedorkoら⁴⁷⁾⁴⁸⁾の実験は興味がある。彼らは生体膜を安定化させる作用があるといわれる⁴⁹⁾クロロキンをマウスの腹腔大食細胞の培養メジウムに加えると、大食細胞に多数の自家食胞が形成されることを観察した。この形成機序として、彼らはクロロキンが*in vivo*でゴルジ小胞の膜に変化を与え、膜相互の癒合を促進するためであろうと推論している。

本研究においては自家食胞とゴルジ装置との位置関係は必ずしも明瞭でなく、自家食胞の限界膜の由来については不明である。自家食胞はカラギニン食胞がまだ少ない未熟な大食細胞にすでに出現し、同時に脂肪滴や大空胞がみられることから、プレドニソロンによる細胞の代謝障害が自家食胞の一次的原因であろうと

思われる。プレドニソロンはその作用量によって、結合組織細胞に細胞毒として働くことが知られており¹⁰⁾¹⁹⁾。比較的初期の発育段階にある細胞が特にその感受性が高いものと推定される。

結 論

ラットのカラギニン肉芽腫における大食細胞に及ぼす VA 及びプレドニソロンの作用を明らかにする目的で電顕的観察を行い、次の結果を得た。

1. VA の過剰投与によって大食細胞にみられた最も顕著な所見はカラギニン食胞の増大である。その他、食胞内容の消化の遅延、dense body の減少、ゴルジ装置の空胞化、粗面小胞体の拡大及び接合装置の形成を伴う細胞相互の密接な接触が観察された。末期には、自家食胞の出現がみとめられた。これらの構造的変化は VA による生体膜の癒合の亢進の形態学的表現であると解釈される。

2. プレドニソロン投与による大食細胞の特徴的変化は、カラギニン食胞の縮小、細胞内消化の抑制及び自家食胞の増加であった。食胞の縮小と消化過程の抑制は、プレドニソロンによって食胞相互の癒合及び食胞と dense body との癒合が阻止された結果であると考えられる。自家食胞の形成はプレドニソロンによる代謝障害に基くものと推定された。

3. 以上の成績は、VA は生体膜の不安定剤として、またコルチコステロイドは安定剤として作用するという見解を支持する。

稿を終るにあたり、御指導を賜りました恩師梶川欽一郎教授に心から深謝の意を捧げます。また、研究遂行に際して、御助言御協力を頂きました北川正信助教授はじめ教室員各位と電子顕微鏡室技術員の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Weissmann, G.: Fed. Proc., **23**, 1038 (1964).
- 2) Lucy, J. A.: Lysosomes in Biology and Pathology (ed. J. Dingle & H. B. Fell), **2**, p. 313. Amsterdam, North-Holland, 1969.
- 3) Dingle, J. T.: Brit. Med. Bull., **24**, 141 (1968).
- 4) Roels, O. A.: Lysosomes in Biology and Pathology (ed. J. T. Dingle & H. B. Fell), **1**, p. 254, Amsterdam, North-Holland, 1969.
- 5) Murphy, M. J.: Blood, **41**, 893 (1973).
- 6) Lucy, J. A. & Dingle, J. T.: Nature, **204**, 156 (1964).
- 7) Kimberg, D. V., Loud, A. V. & Wiener, J.: J. Cell Biol., **37**, 63 (1968).
- 8) Dingle, J. T.: Biochem. J., **79**, 509 (1961).
- 9) Sudhakaran, P. R. & Kurup, P. A.: J. Nutr., **104**, 1466 (1974).
- 10) Fell, H. B. & Thomas, L.: J. Exp. Med., **111**, 719 (1960).
- 11) Lucy, J. A., Dingle, J. T. & Fell, H. B.: Biochem. J., **79**, 500 (1961).
- 12) Fell, H. B. & Dingle, J. T.: Biochem. J., **87**, 403 (1963).
- 13) Weissmann, G. & Thomas, L.: Recent Progress Hormone Res., **20**, 215 (1964).
- 14) Thomas, L., McCluskey, R. T., Li, J. & Weissmann, G.: Am. J. Path., **42**, 271 (1963).
- 15) Fell, H. B. & Thomas, L.: J. Exp. Med., **114**, 343 (1961).
- 16) Glauert, A., Dingle, J. T. and Lucy, J. A.: Nature, **196**, 953 (1962).
- 17) Weissmann, G., Bell, E. & Thomas, L.: Am. J. Path., **42**, 571 (1963).
- 18) 谷井淑夫: 十全医会誌, **73**, 471 (1966).
- 19) Dougherty, T. F. & Berliner, D. L.: Treatise on Collagen (ed. B. S. Gould), **2**. Part A, p. 367, London & New York, Academic Press, 1968.
- 20) Vernon-Roberts, B.: Intern. Rev. Cytology (ed. G. H. Bourne & J. F. Danielli), **25**, p. 131, New York & London, Academic Press, 1969.
- 21) Nicol, T., Quantock, D. C. & Vernon-Roberts, B.: The Reticuloendothelial System and Atherosclerosis (ed. N. R. Diluzio & R. Paolletti), p. 221, New York, Prentice-Hall, 1967.
- 22) Schnebeli, G. L. & Dougherty, T. F.: Anat. Rec., **145**, 372 (1963).
- 23) Kajikawa, K., Nakanishi, I. & Kondo, K.: Recent Adv. RES Res., **9**, 83 (1969).
- 24) Chapmen, J. A.: J. Biophys. Biochem. Cytol., **9**, 639 (1961).
- 25) Pérez-Tamayo, R.: Lab. Invest., **22**, 142 (1970).
- 26) Kobayashi, K. & Takahashi, Y.: Arch. Histol. Jap., **33**, 421 (1971).
- 27) Mack, J. P., Lui, N. S. T., Roels, O. S. & Anderson, O. R.: Biochem Biophys. Acta, **288**, 203 (1972).

- 28) Lucy, J. A. & Dingle, J. T. : *Biochem. J.*, **84**, 76p. (1962).
- 29) Novikoff, A. B., Essmer, E. & Quintana, N. : *Fed. Proc.*, **23**, 1010 (1964).
- 30) 中西功夫 : 十全医会誌, **76**, 472 (1968).
- 31) Cohn, Z. A., Fedorko, M. E. & Hirsch, J. G. : *J. Exp. Med.*, **123**, 757 (1966).
- 32) Nichols, B. A., Bainton, D. F. & Farquhar, M. G. : *J. Cell Biol.*, **50**, 498 (1971).
- 33) Nyquist, S. E., Crane, F. J. & Morr , J. D. : *Science*, **173**, 939 (1971).
- 34) Daniel, M. R., Dingle, J. T., Glauert, A. M. & Lucy, J. A. : *J. Cell Biol.*, **30**, 465 (1966).
- 35) Glauert, A. M., Daniel, M. R., Lucy, J. A. & Dingle, J. T. : *J. Cell Biol.*, **17**, 111 (1963).
- 36) Laufer, I. F. A. & Davies, A. M. : *Brit. J. Exp. Path.*, **50**, 213 (1969).
- 37) Lucy, J. A., Luscombe, M. & Dingle, J. T. : *Biochem. J.*, **89**, 419 (1963).
- 38) 渡 仲三, 鳥沢和義, 佐伯 暁, 高田一也 : *J. Electron Microsc.*, **21**, 40 (1972).
- 39) Hirosawa, K. & Yamada, E. : *J. Electron Microsc.*, **22**, 337 (1973).
- 40) Merkow, L., Pardo, M., Epstein, S. M., Verney, E. & Sidransky, H. : *Science*, **160**, 79 (1968).
- 41) Weissmann, G. & Thomas, L. : *J. Clin. Invest.*, **42**, 661 (1963).
- 42) Willmer, E. N. : *Biol. Rev.*, **36**, 368 (1961).
- 43) Bangham, A. D., Standish, M. M. & Weissman, G. : *J. Mol. Biol.*, **13**, 253 (1965).
- 44) Gershfeld, N. L. & Heftmann, E. : *Experientia*, **19**, 2 (1963).
- 45) Novikoff, A. B. & Shin, W. : *J. Microsc.*, **3**, 187 (1964).
- 46) Holtzman, E., Novikoff, A. B. & Villaverde, H. : *J. Cell Biol.*, **33**, 419 (1967).
- 47) Fedorko, M. E., Hirsch, J. G. & Cohn, Z. A. : *J. Cell Biol.*, **38**, 377 (1968).
- 48) Fedorko, M. E., Hirsch, J. G. & Cohn, Z. A. : *J. Cell Biol.*, **38**, 392 (1968).
- 49) Weissmann, G. : *Blood*, **24**, 594 (1964).

写 真 説 明

写真1. 対照群. 1週目のカラギニン肉芽腫の大食細胞. ゴルジ装置(G)の近傍における dense body

(D)とカラギニン食胞(P). ×15,000

写真2. 対照群. 3週目の大食細胞. カラギニン食胞内に多数の膜様ないしミエリン様物質がみられる. ×15,000

写真3. 対照群. 2週目の大食細胞. カラギニン食胞(P)の限界膜が細管状に延長し原形質を包みこむ. ×16,000

写真4. VA投与1週目. 毛細血管(Cp)の周囲の線維芽細胞(F). 粗面小胞体の著しい拡張. 自家食胞(A). 脂肪滴(L)がみられる. Cに繊毛様構造を示す. 毛細血管内皮細胞(E)はリボゾームに富み, 粗面小胞体は拡張する. ×7,500

写真5. VA投与2週目の大食細胞. カラギニン食胞(P)は容積を増し, 処々相互の癒合が示唆される(矢印). ×15,000

写真6. VA投与2週目の大食細胞. カラギニン食胞(P)から延長した細管が原形質を包みこむ. 細管の切線状の断面では細管の表面に線条が識別される(矢印). ×30,000 挿入図: 細管の中央に断続的に走る点状物または線条がみられる. ×60,000

写真7. VA投与2週目の大食細胞. ゴルジ装置(G)には空胞が目立ち, dense bodyは少ない. 巨大食胞(P)に注意. M: ミエリン様構造を示す residual body. ×28,000

写真8. VA投与2週目の大食細胞. 細胞相互の密接な接触と形質膜の深い陥入(矢印). 周辺の原形質には小胞が減少. ×14,000

写真9. 同上. 接触する大食細胞の形質膜の間にみられた接合装置. ×50,000

写真10. VA投与4週目の大食細胞. 細胞は密に接触し, 処々前図で示すような接合装置がみられる(矢印). 原形質には大型の食胞(P)が密集. ×16,000

写真11. VA投与3週目の大食細胞. 形質膜の内側に高電子密度の物質が付着(矢印). ×25,000

写真12. VA投与3週目の大食細胞. 拡大した食胞(P)内に多数の小胞がみられ, 多房体(Mv)との間に移行が示唆される. ×22,100

写真13. VA投与4週目の大食細胞. 食胞内の膜様ないしミエリン様物質, 空胞及び濃厚な小体の出現. ×30,000

写真14. VA投与3週目の大食細胞. 食胞の相互癒合によって迷路状の構造が形成. R: residual body. L: 脂肪滴. ×22,400

写真15. VA投与3週目の大食細胞における自家食胞(A)の形成. ×35,000

写真16. プレドニソロン投与2週目の比較的未熟な大

食細胞。同心円状に並ぶ細管によって包まれた自家食胞 (A)。原形質にはリゾソームが豊富で、細管状の粗面小胞体 (Er) が散在。 ×27,500

写真17. 同上。変性した原形質の一部を包む自家食胞 (A)。Mf: 原形質フィラメント。 ×17,000

写真18. プレドニソロン投与2週目。成熟大食細胞。細管で分画された自家食胞 (A)。カラギニン食胞 (P), dense body (D) が散在。G: ゴルジ装置。

×16,000

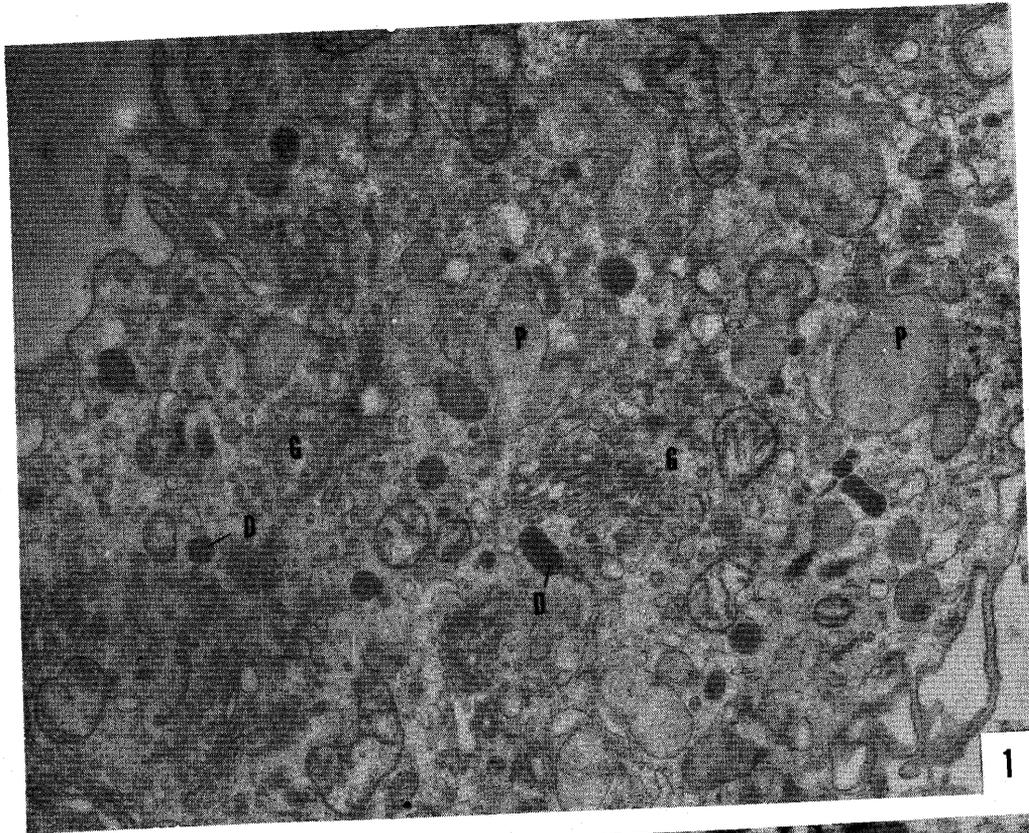
写真19. プレドニソロン投与2週目の大食細胞。食胞 (P) は小型、食胞内の消化産物はほとんどみとめられない。 ×15,000

写真20. プレドニソロン投与2週目の線維芽細胞。吻合の少ない拡大した粗面小胞体 (Er) の形成と脂肪滴 (L) や自家食胞 (A) の出現。G: ゴルジ装置。 ×10,000

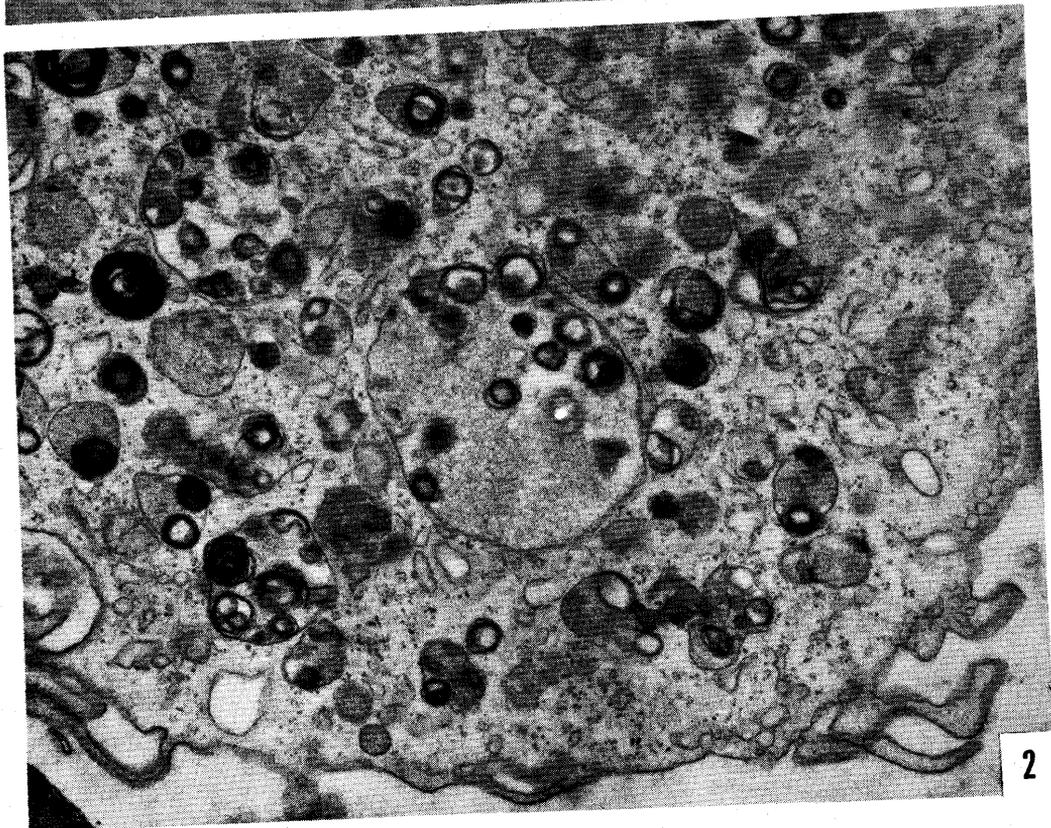
Abstract

The ultrastructural alterations of macrophages in carrageenin granuloma were studied in rats parenterally given excessive doses of vitamin A and prednisolone, respectively. In excess of vitamin A the most prominent feature was enlarged phagocytic vacuoles with scanty digestive products. In addition, there was a close contact of the cells in association with the formation of intercellular junctions; dense bodies and Golgi vesicles diminished in number; and the rough-surfaced endoplasmic reticulum was slightly dilated. On administration of prednisolone the phagocytic vacuoles reduced in size and failed to fuse with dense bodies. Autophagic vacuoles were frequently observed.

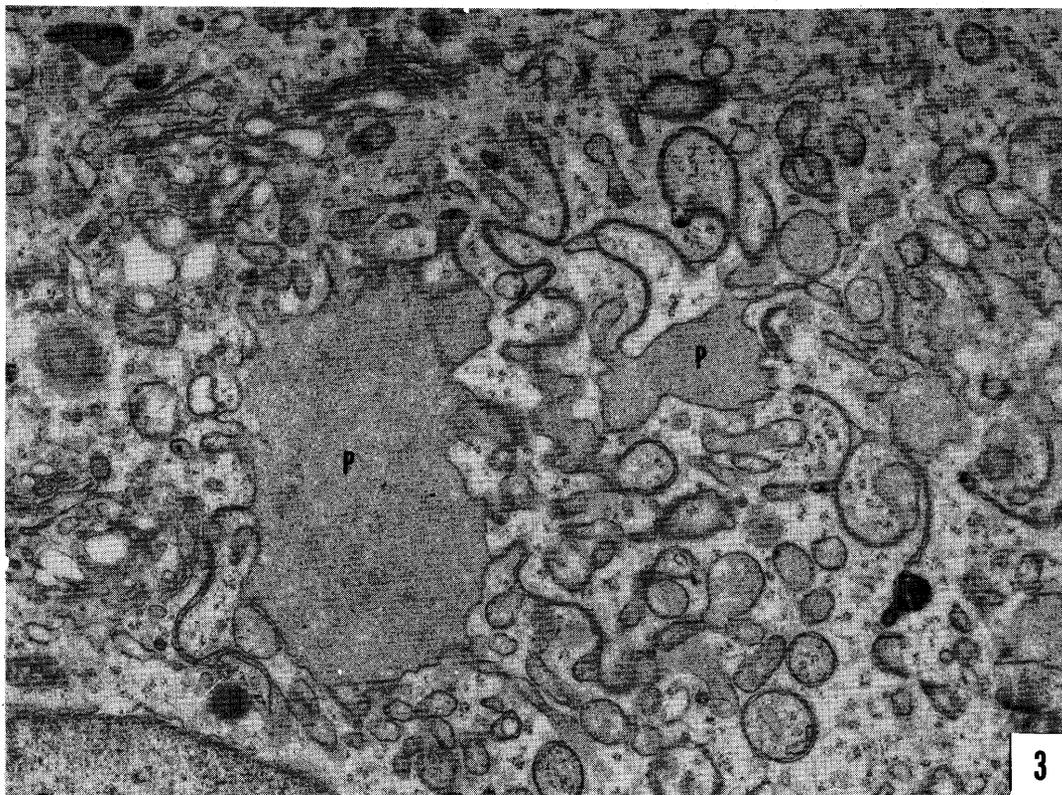
These observations appear to support the view that an excess of vitamin A regulates the stability of membranes of the cells and facilitates to fuse with one another, while prednisolone inhibits the membrane fusion.



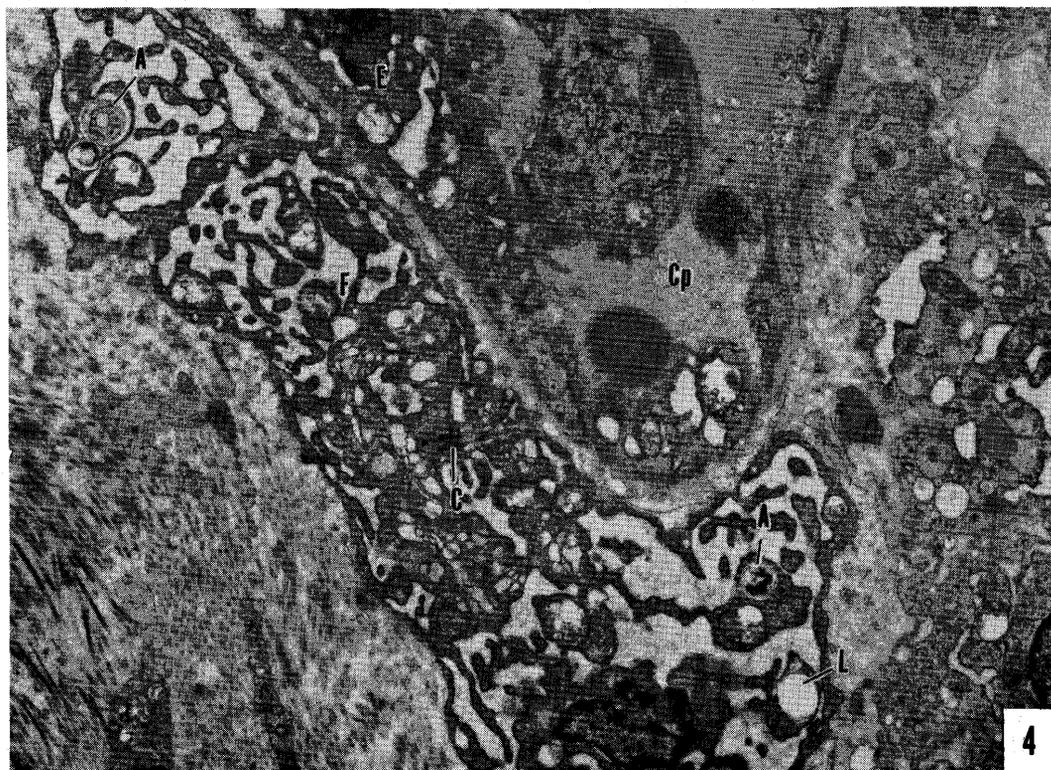
1



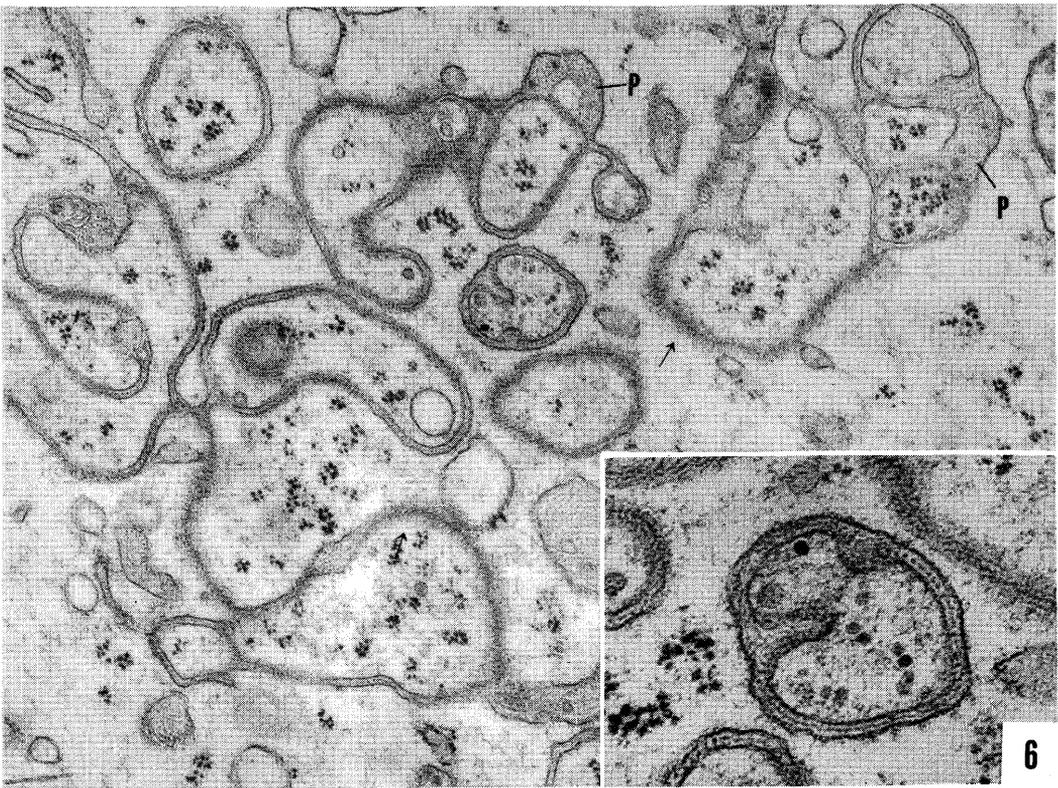
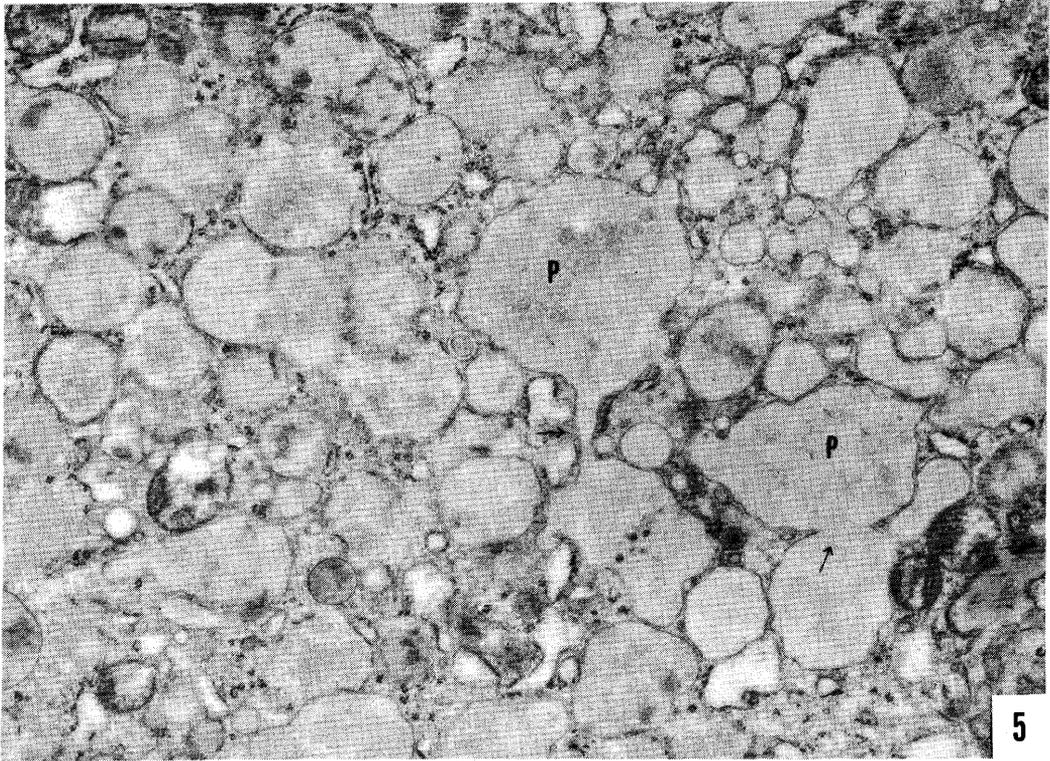
2

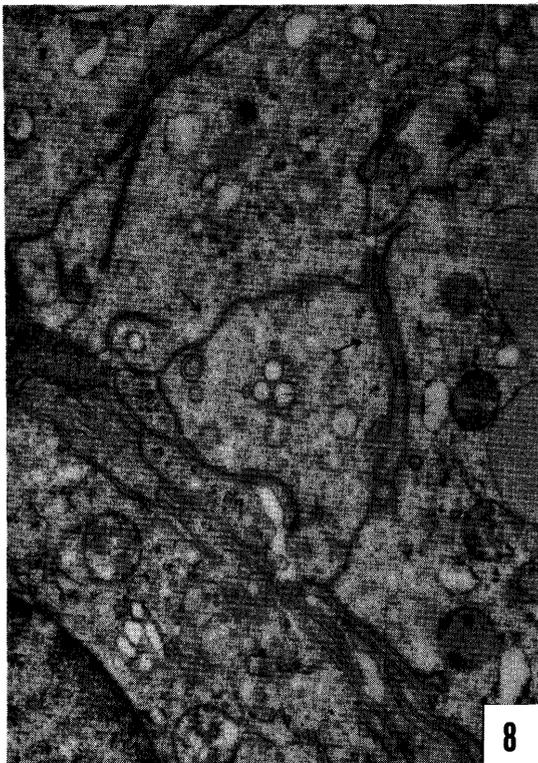
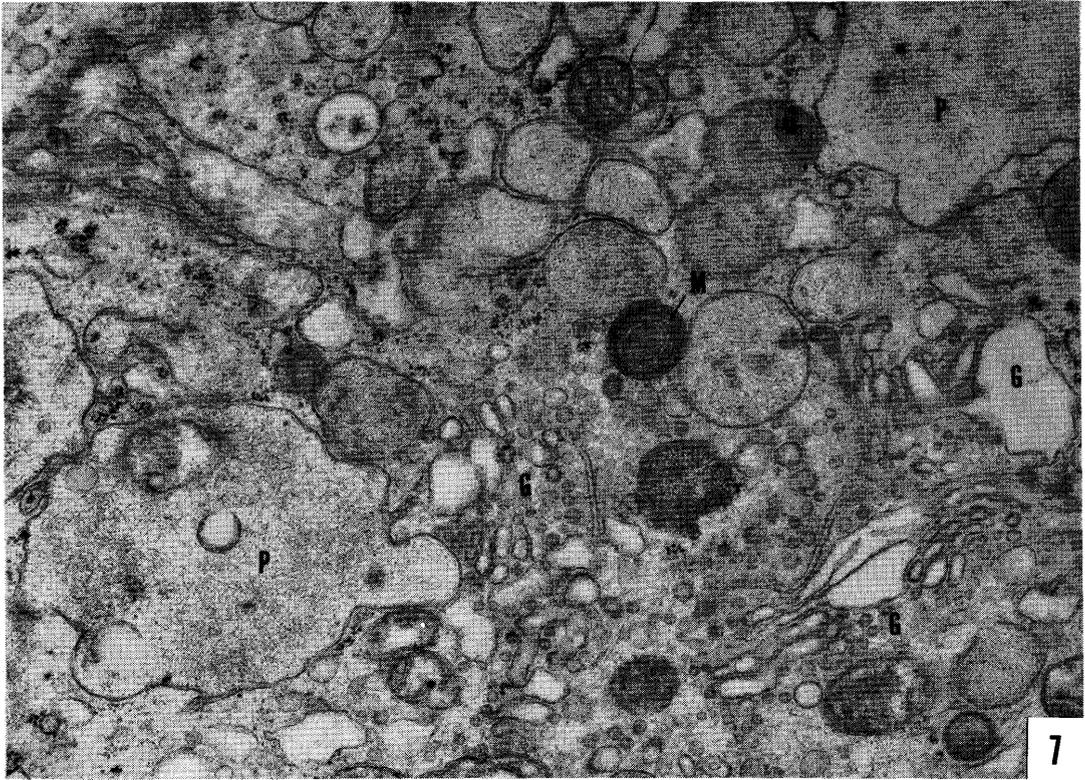


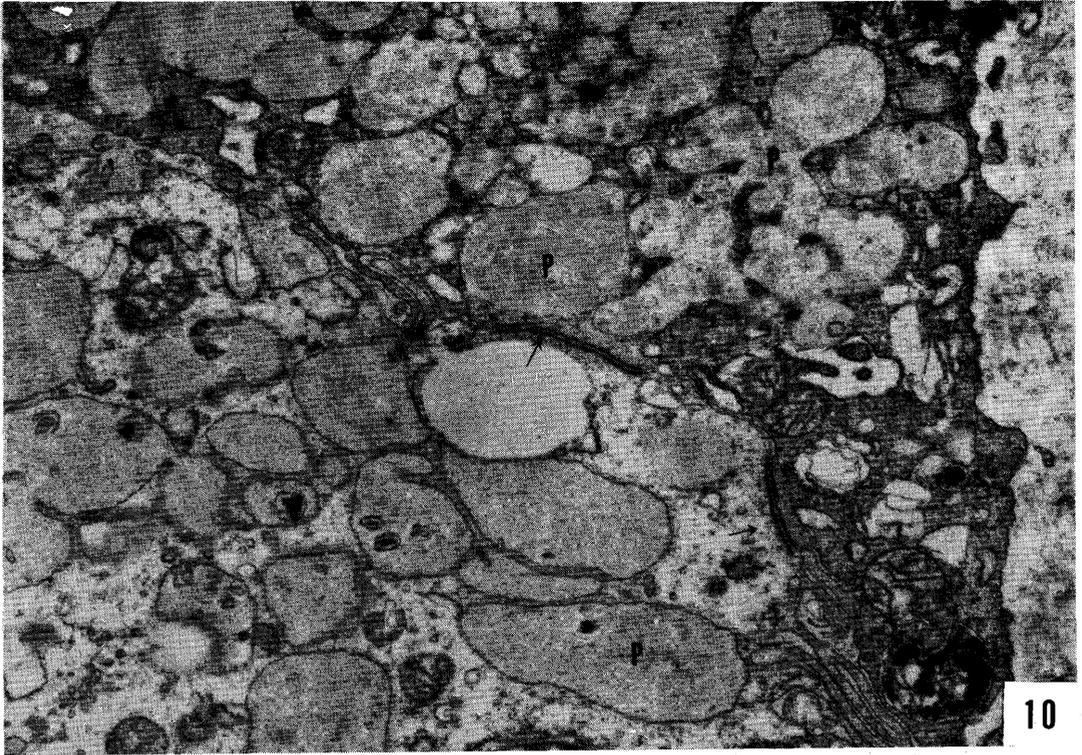
3

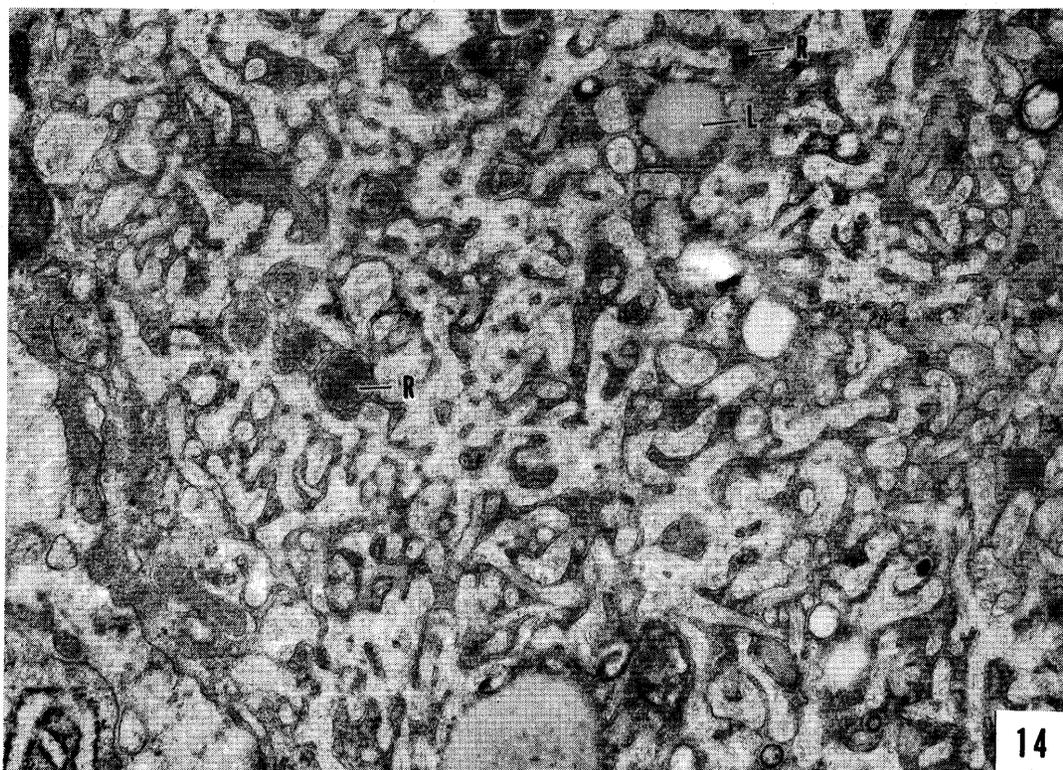
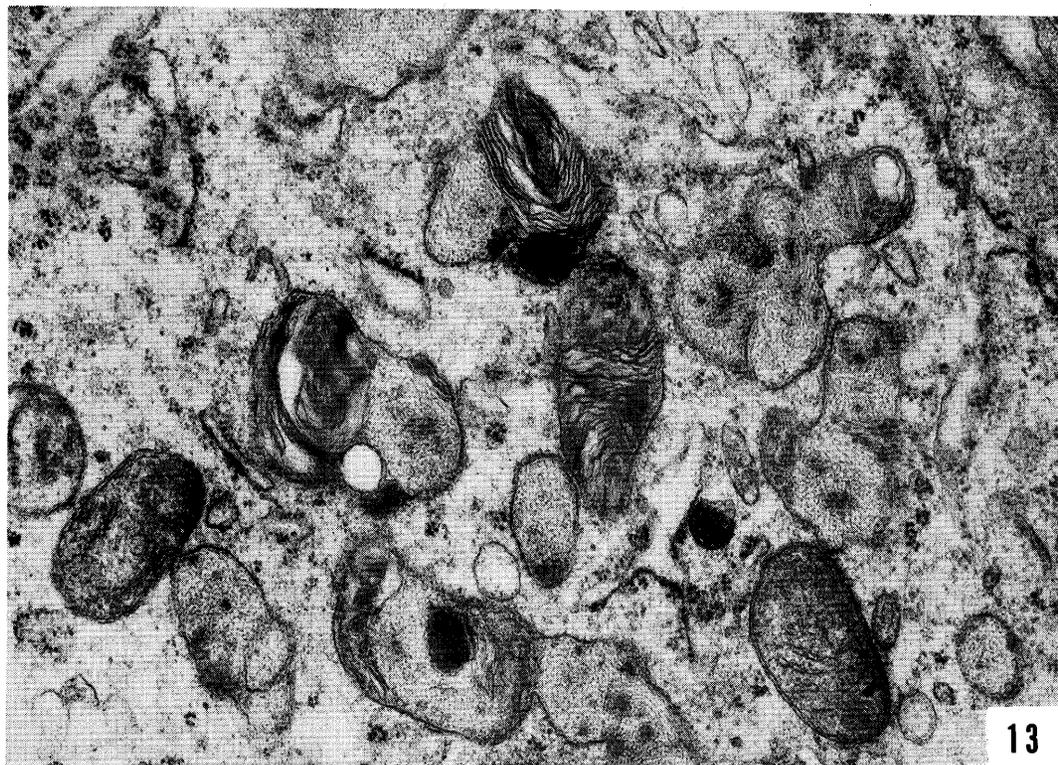


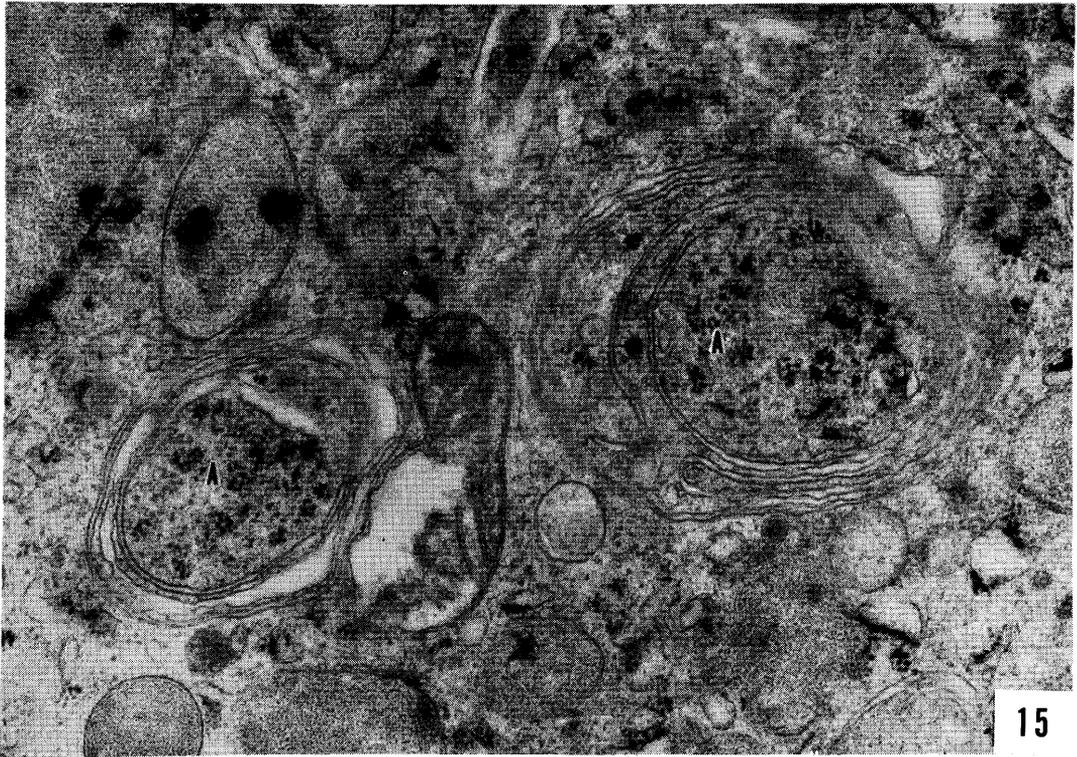
4

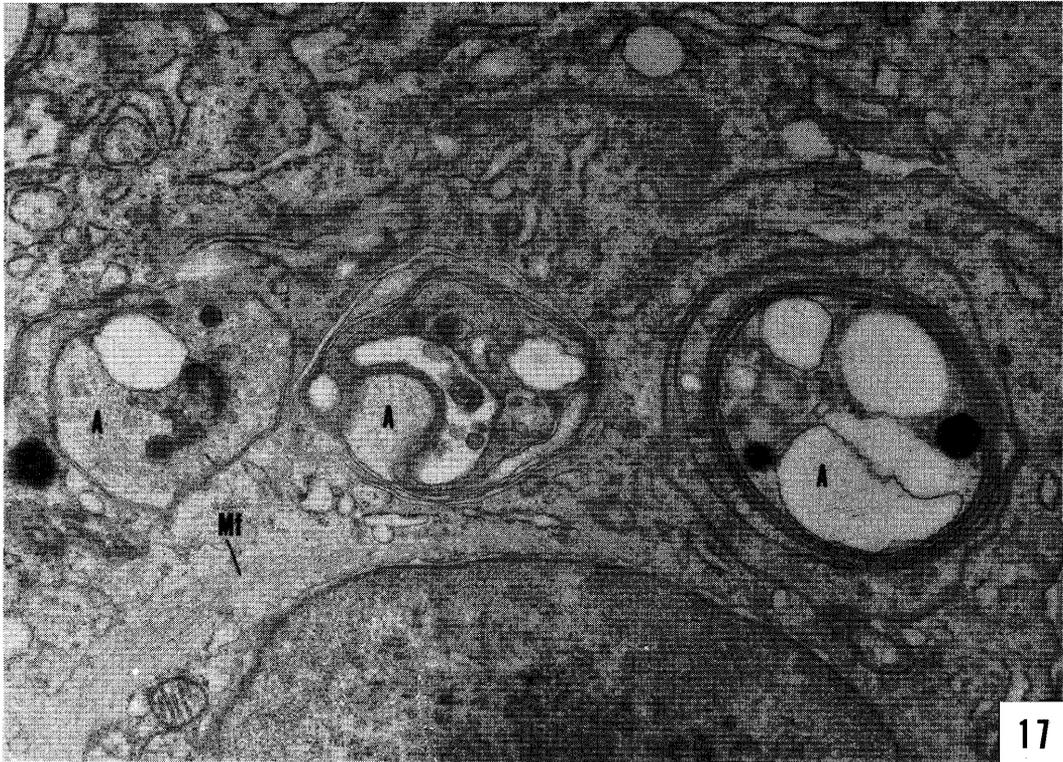




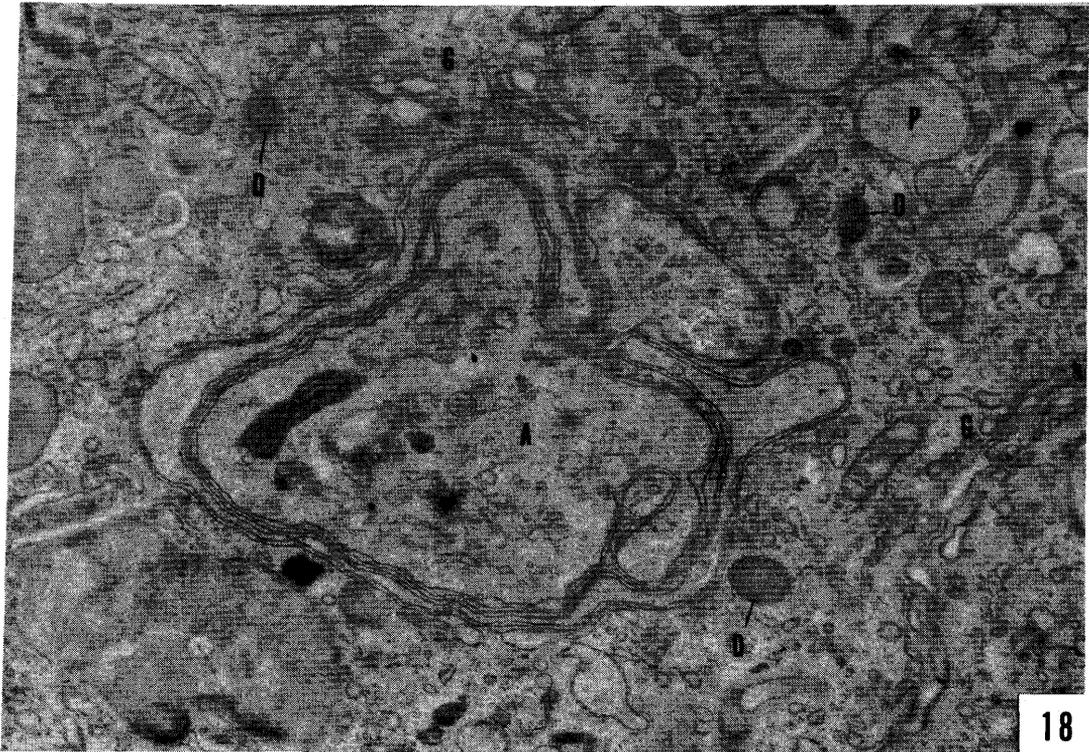




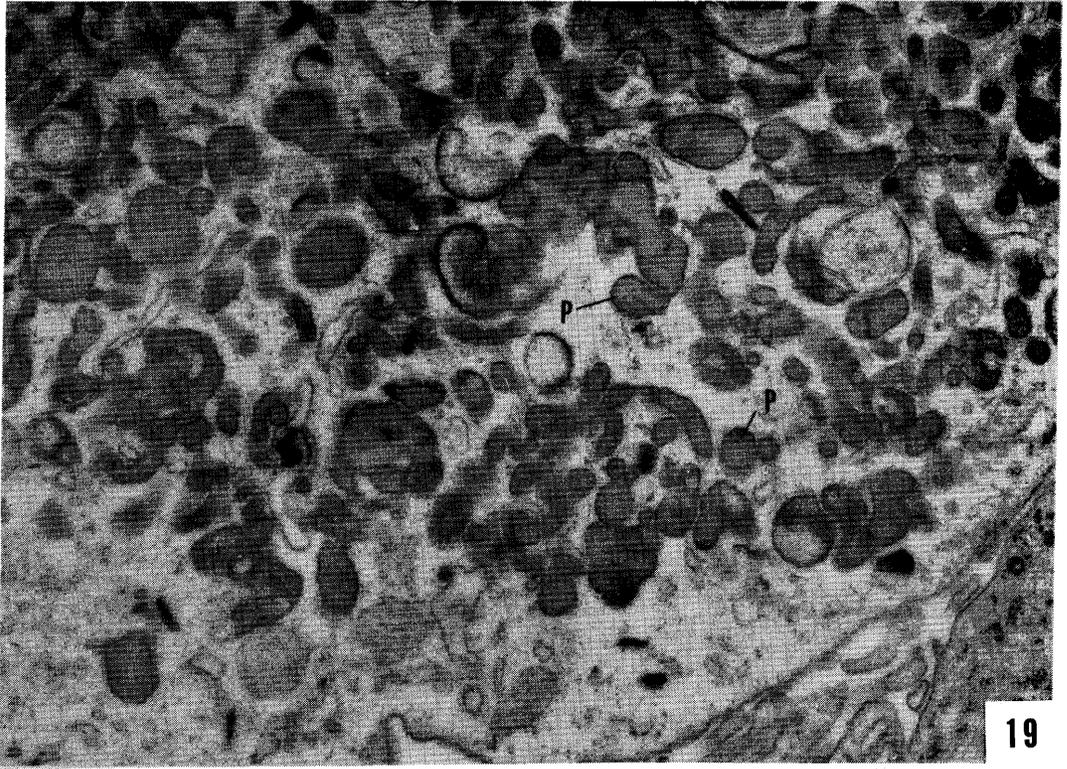




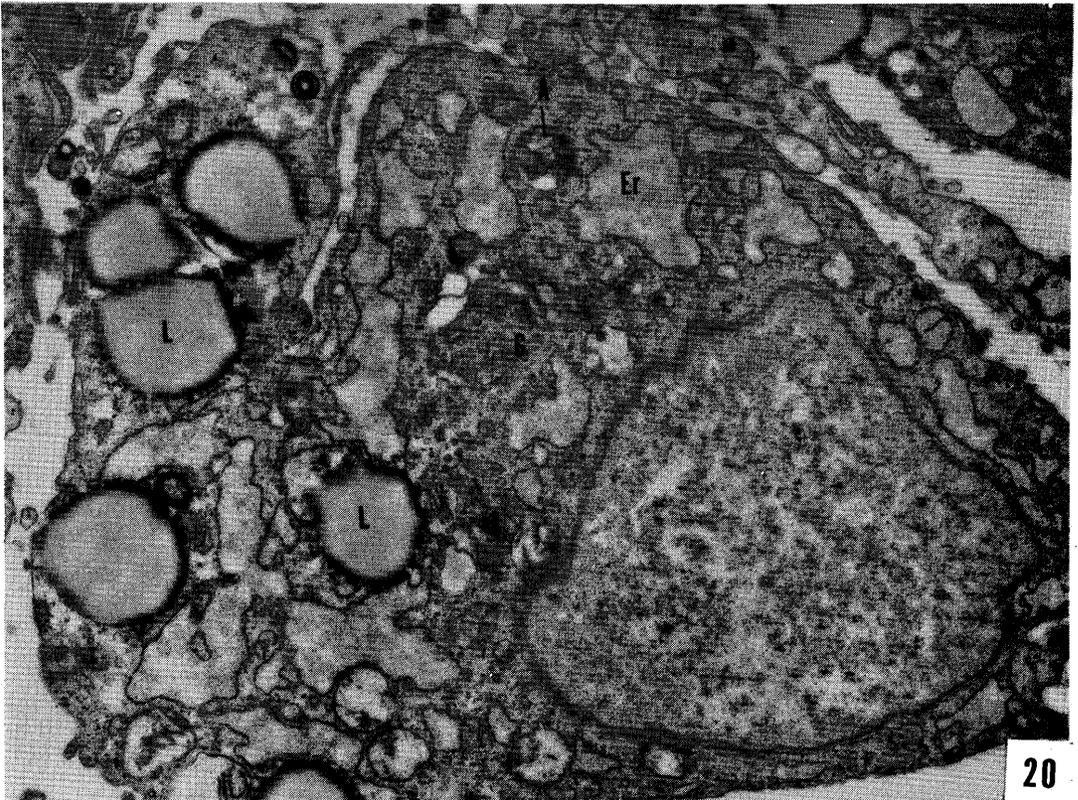
17



18



19



20