

Stereological Measurements of the Fine Structures in Hepatocytes from Patients with Drug-induced Liver Injury, in Comparison with Those of Acute Viral Hepatitis

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/2297/7880

薬剤性肝障害における肝細胞内微細構造の定量的観察

—急性ウイルス性肝炎との比較検討—

金沢大学医学部内科学第一講座 (主任：服部 信教授)

森 本 日 出 雄

(昭和61年5月26日受付)

薬剤性肝障害肝について stereometry を用いて肝細胞内微細構造の定量的観察を行ない、急性ウイルス性肝炎と比較検討した。薬剤性肝障害 40 例 (肝炎型 27 例, 胆汁うっ滞型 11 例, 混合型 2 例), 急性ウイルス性肝炎 11 例を対象として, 光顕レベルで肝細胞の核の直径を計測し, 電顕レベルで肝細胞内のミトコンドリア, 粗面小胞体, 滑面小胞体, マイクロボディ, ライソゾームの定量的観察を行ない両群を比較した。核の直径は両群で差はなかった。ミトコンドリアは薬剤性肝障害では急性ウイルス性肝炎に比して体積, 長径および短径は大きく, 数は少なかった。粗面小胞体の面積は両群で差はなかった。滑面小胞体の面積は急性ウイルス性肝炎より薬剤性肝障害で大きかった。マイクロボディ, ライソゾームは両群で差はなかった。以上の結果より, 薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎の診断が光顕レベルで困難な場合には電顕による肝細胞内微細構造の定量的観察が有用であると示唆された。

Key words fine structures in hepatocytes, stereometry, drug-induced liver injury, acute viral hepatitis

薬剤性肝障害の診断は薬剤感受性試験 (リンパ球培養試験, 皮膚試験), challenge test を用いることにより可能となってきたが, 肝組織における光学顕微鏡 (光顕) 的なレベルでの薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎の鑑別は困難な場合もあるとされている¹⁾。また電子顕微鏡 (電顕) による報告は, 肝細胞内微細構造の形や数の変化について主観的に述べられたものが多く, stereometry による定量的観察はほとんどみられない。

今回, 著者は金沢大学第1内科における薬剤性肝障害肝について, stereometry を用いて肝細胞内微細構造の定量的観察を行ない, 急性ウイルス性肝炎との比較検討を行なったのでその成績について報告する。

対象および方法

I. 対 象

当科における昭和50年から昭和57年の7年間の薬剤性肝障害 71 例中, 肝組織の電顕の観察が可能であった 40 例 (肝炎型 27 例, 胆汁うっ滞型 11 例, 混合型 2 例), 急性ウイルス性肝炎 11 例を対象とした。なお,

薬剤性肝障害の診断・分類は「薬物と肝」研究会の基準案²⁾に基づいて行なった。

薬剤性肝障害患者の年齢は 21~72 歳 (平均 43 歳) であり, 発症後 1~3 週の時期で, 肝機能検査成績のかなり軽快した時期に, 肝右葉より針生検にて肝組織を得た。起因薬剤は, 肝炎型では抗生物質 13 例, 抗結核剤 4 例, 精神科用剤 2 例, 循環器用剤 1 例, その他 7 例, 胆汁うっ滞型では循環器用剤 6 例, 抗生物質 2 例, その他 3 例であり, 混合型では抗生物質, 循環器用剤が各 1 例であった。急性ウイルス性肝炎例については, 年齢は 16~67 歳 (平均 40 歳) であり, 発症時までに飲酒歴, 薬剤服用の既往がなく, ウイルス性肝炎と診断されたものを対象とし, 黄疸消失後 2~3 週の時期で, 薬剤性肝障害と同様に肝機能検査成績のかなり軽快した時期に肝右葉より針生検にて肝組織を得た。また組織所見では薬剤性肝障害例, 急性ウイルス性肝炎例ともに, zonal necrosis より強い肝細胞障害を示すものは対象より除外した。

II. 試料作製法ならびに光顕・電顕検査法

肝組織を 3% グルタルアルデヒド, 1% オスミウ

Abbreviations: RER, rough endoplasmic reticulum; SER, smooth endoplasmic reticulum.

ム酸で二重固定した後、エタノール上昇系列で脱水、エポン 812 で包埋した。

核の直径の測定においては、この試料より厚さ約 $1 \mu\text{m}$ のトルイジンブルー染色切片を作製し、光顕にて観察した。

電顕による肝細胞内微細構造の定量的観察では、8800 ウルトラトーム (LKB, スウェーデン) で超薄切片としたのち、酢酸ウラニルと酢酸鉛にて二重染色をほどこし、JEM100B 型電子顕微鏡 (日本電子) で 3000 倍および 6000 倍で観察、撮影を行なった。これをさらに 3 倍に拡大した写真を作製し計測をおこなった。なお 1 検体につき 20~40 枚の写真を撮り、それより無作為に 4~5 枚をとり計測した。

Loud⁹⁾ はラット肝について肝細胞内微細構造の定量的観察をおこない、門脈域周辺のミトコンドリアは大きく数は少なく、滑面小胞体 (SER) の面積は小さく、マイクロボディの数は少ないと述べている。このような部位による差を除くため著者は測定を肝小葉の中間帯の細胞で行なった。

III. 核の直径の測定

核の直径は Bach⁴⁾ の方法でマイクロメーターを用い 1 症例につき 100 個の核の長径と短径を計測し、その平均値を直径としてあらわした。

IV. 肝細胞内微細構造の測定

電顕写真を用いてミトコンドリア、粗面小胞体 (RER), SER, マイクロボディ, ライソゾームの測定を行った。

1. ミトコンドリア

Ma⁸⁾ はミトコンドリアの形は卵形、長円形のものが多いと報告していることより、著者はミトコンドリアの形を回転楕円体と仮定して計測した Sugioka⁸⁾ の方法を用いて、ミトコンドリアの体積、長径、短径、細胞質 $100 \mu\text{m}^3$ 中の数を求め、またミトコンドリアの細胞質との体積比 (ρ_1) を Chalkley⁷⁾ の point-counting method を用いて測定した。

すなわち、ミトコンドリアの細胞質 $1 \mu\text{m}^3$ 中の数 (N_1) は Weibel⁸⁾ の公式より

$$N_1 = \frac{n_1^3}{\beta \sqrt{\rho_1}}$$

で求められる。ここで n_1 は電顕写真での細胞質 $1 \mu\text{m}^2$ あたりのミトコンドリアの数であり、 β は De Hoff⁸⁾ の方法で求められる長径と短径の比 (ϵ) によって決定される単位のない係数である。

ミトコンドリアの体積 (V_1) は

$$V_1 = \frac{\rho_1}{N_1}$$

より求められる。

ミトコンドリアの短径 (2b) は、回転楕円体と仮定したミトコンドリアの体積が

$$V_1 = \frac{4\pi b^3}{3\epsilon}$$

で表わされることより算出され、ミトコンドリアの長径 (2a) は

$$\epsilon = \frac{b}{a}$$

の関係式より算出される。

2. 小胞体

RER, SER の表面積は Tomkeieff¹⁰⁾ と Hennig¹¹⁾ の方法を用いて、電顕写真上 5 mm の直線が細胞質 225cm^2 中で小胞体を横切る数より算出し、細胞質単位体積あたりの表面積 ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$ 細胞質) として表わした。

3. マイクロボディ

マイクロボディは円形、楕円形のものが多いが⁸⁾、著者は Loud⁹⁾ のごとくマイクロボディを球形と仮定し、その体積、直径、細胞質 $100 \mu\text{m}^3$ 中の数を求め、Chalkley⁷⁾ の point-counting method により細胞質との体積比 (ρ_2) を求めた。

すなわち、マイクロボディの細胞質 $1 \mu\text{m}^3$ 中の数 (N_2) は Weibel⁸⁾ の公式より

$$N_2 = \frac{n_2^3}{1.38 \sqrt{\rho_2}}$$

で求められる。ここで n_2 は電顕写真での細胞質 $1 \mu\text{m}^2$ あたりのミトコンドリアの数である。

マイクロボディの体積 (V_2) は

$$V_2 = \frac{\rho_2}{N_2}$$

より求められる。

マイクロボディの直径 (2r) は、球形と仮定したマイクロボディの体積が

$$V_2 = \frac{4\pi r^3}{3}$$

で表わされることより算出される。

4. ライソゾーム

ライソゾームは一次ライソゾーム、二次ライソゾーム、残余小体に分けられ、その形は多種多形で一定の形態を示さないため¹²⁾、著者は Chalkley⁷⁾ の point-counting method により細胞質との体積比のみを測

定した。

V. 統計学的検討

統計学的処理は、分散分析後 t 検定にて行ない、 $p < 0.05$ の場合を有意差ありと判定した。なお、成績は $\text{mean} \pm \text{standard deviation}$ (n) で表わした。また薬剤性肝障害混合型は症例が少ないため、平均値のみを記載し、結果においては薬剤性肝障害肝炎型(肝炎型)、薬剤性肝障害胆汁うっ滞型(胆汁うっ滞型)、急性ウイルス性肝炎の 3 者について比較検討を行なった。

成 績

I. 核

肝炎型、胆汁うっ滞型、急性ウイルス性肝炎の核の直径はそれぞれ 6.5 ± 0.4 (n=27), 6.4 ± 0.4 (n=11), $6.2 \pm 0.1 \mu\text{m}$ (n=11) であり、相互に有意の差は認められなかった。

II. ミトコンドリア (表 1)

1. 体積

肝炎型、胆汁うっ滞型ではともに急性ウイルス性肝炎に比して体積は有意に大きかった ($p < 0.05$)。また肝炎型と胆汁うっ滞型の比較では、肝炎型に比し胆汁うっ滞型の体積は有意に大きかった ($p < 0.05$)。

2. 数

肝炎型、胆汁うっ滞型ではともに急性ウイルス性肝炎に比して数は有意に少なかった ($p < 0.05$)。しかし肝炎型と胆汁うっ滞型の間では有意の差は認められなかった。

3. 長径

肝炎型、胆汁うっ滞型ではともに急性ウイルス性肝炎に比して長径は有意に長かった ($p < 0.05$)。しかし肝炎型と胆汁うっ滞型の間では有意の差は認められな

かった。

4. 短径

肝炎型、胆汁うっ滞型ではともに急性ウイルス性肝炎に比して短径は有意に長かった ($p < 0.05$)。しかし肝炎型と胆汁うっ滞型の間では有意の差は認められなかった。

5. 長径と短径の比

肝炎型、胆汁うっ滞型、急性ウイルス性肝炎の間には有意の差は認められなかった。

6. 細胞質に対するミトコンドリアの体積比

肝炎型と急性ウイルス性肝炎の間には有意の差を認めなかったが、胆汁うっ滞型では急性ウイルス性肝炎に比して細胞質との体積比は有意に大きかった ($p < 0.05$)。また胆汁うっ滞型では肝炎型に比して細胞質との体積比は有意に大きかった ($p < 0.01$)。

III. 小胞体 (表 2)

1. RER

肝炎型、胆汁うっ滞型、急性ウイルス性肝炎の間には、RER の細胞質単位体積あたりの表面積には有意の差は認められなかった。

2. SER

肝炎型、胆汁うっ滞型ではともに急性ウイルス性肝炎に比して、SER の細胞質単位体積あたりの表面積は有意に大きかった ($p < 0.01$)。しかし肝炎型と胆汁うっ滞型では有意の差は認められなかった。

IV. マイクロボディ (表 3)

肝炎型、胆汁うっ滞型、急性ウイルス性肝炎の間には、マイクロボディの体積、数、直径、細胞質との体積比に有意の差は認められなかった。

V. ライソゾーム (表 3)

肝炎型、胆汁うっ滞型ではともに急性ウイルス性肝

Table 1. Stereological measurements of mitochondria of hepatocytes in hepatocytes in hepatic disease

Hepatic disease	No. of cases	Stereological measurements of mitochondria of hepatocytes					
		Volume (μm^3)	Nuber/ 100 μm^3 cytoplasm	Major axis (μm)	Minor axis (μm)	Axial ratio (minor axis/ major axis)	Volume fraction/ cytoplasm
Drug-induced liver injury							
Hepatitis type	27	$0.75 \pm 0.43^\#$	$32.1 \pm 14.0^\#$	$1.31 \pm 0.23^*$	$0.99 \pm 0.20^\#$	0.75 ± 0.06	$0.18 \pm 0.04^{**}$
Cholestatic type	11	$1.12 \pm 0.58^*$	$25.2 \pm 10.5^*$	$1.51 \pm 0.21^*$	$1.13 \pm 0.20^*$	0.74 ± 0.03	$0.23 \pm 0.05^*$
Mixed type	2	0.88	21.7	1.48	1.02	0.70	0.15
Acute viral hepatitis	11	0.45 ± 0.04	43.8 ± 5.1	1.18 ± 0.05	0.85 ± 0.02	0.72 ± 0.02	0.18 ± 0.01

Values are mean \pm standard deviation (SD)

* $p < 0.05$ versus cholestatic type

** $p < 0.01$ versus cholestatic type

^\# $p < 0.05$ versus acute viral hepatitis

^\^ $p < 0.05$ versus acute viral hepatitis

Table 2. Density of rough and smooth endoplasmic reticulum of hepatocytes in hepatic disease

Hepatic disease	No. of cases	Surface area ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$) cytoplasm	
		RER*	SER
Drug-induced liver injury			
Hepatic type	27	1.33 \pm 0.35	3.24 \pm 1.35*
Cholestatic type	11	1.41 \pm 0.35	3.17 \pm 1.70*
Mixed type	2	2.22	2.44
Acute viral hepatitis	11	1.45 \pm 0.15	1.25 \pm 0.17

Values are mean \pm standard deviation (SD)

p<0.01 versus acute viral hepatitis

* p<0.01 versus acute viral hepatitis

* RER, rough endoplasmic reticulum; SER, smooth endoplasmic reticulum.

Table 3. Stereological measurements of microbodies and lysosomes of hepatocytes in hepatic disease

Hepatic disease	No. of cases	Stereological measurements of hepatocytes in hepatic disease				
		Microbody			Lysosome	
		Volume (μm^3)	Number/100 μm^3 cytoplasm	Diameter (μm)	Volume fraction/cytoplasm	Volume fraction/cytoplasm
Drug-induced liver injury						
Hepatic type	27	0.20 \pm 0.08	4.40 \pm 2.77	0.81 \pm 0.10	0.009 \pm 0.006	0.018 \pm 0.011*
Cholestatic type	11	0.28 \pm 0.20	4.07 \pm 2.52	0.87 \pm 0.16	0.011 \pm 0.005	0.030 \pm 0.015
Mixed type	2	0.36	4.52	0.89	0.017	0.059
Acute viral hepatitis	11	0.27 \pm 0.05	6.33 \pm 1.72	0.80 \pm 0.05	0.012 \pm 0.005	0.023 \pm 0.009

Values are mean \pm standard deviation (SD)

* p<0.01 versus cholestatic type

炎に比して細胞質との体積比は有意の差は認められなかった。肝炎型と胆汁うっ滞型の比較では、肝炎型に比し胆汁うっ滞型のライソゾームの細胞質との体積比は有意に大きかった (p<0.01)。

考 察

薬剤性肝障害における電顕による肝細胞の微細構造の研究は predictable drug reaction による肝障害の研究ではみられるが、本研究の症例のような non-predictable drug reaction によるものでは少ない¹³⁾。さらに morphometric study による薬剤性肝障害における肝細胞内微細構造の定量的観察の報告は極めて少ない¹⁴⁾¹⁵⁾。肝障害をひきおこす薬剤の診断において電顕による検索は限定されており、個々の薬剤についての報告はあるものの薬剤以外の原因による肝障害と鑑別しうる一定のパターンは明らかにはされていない

い¹³⁾。一般に薬剤性肝障害における光顕レベルでの病理組織像は急性ウイルス性肝炎との鑑別が困難な場合があり、とくに肝炎型の薬剤性肝障害ではその傾向が強い¹⁾。そこで今回著者は薬剤性肝障害肝について Sugioka ら⁶⁾、Chalkley⁷⁾、Tomkeieff¹⁰⁾らの方法を用いて stereometry による肝細胞内微細構造の定量的観察を行ない、急性ウイルス性肝炎と比較しその違いについて検討した。

Renek¹⁶⁾は急性肝炎の核の大きさを計測し、急性期の核は回復期の核に比して大きいと報告し、それは核内浮腫ではなくタンパク合成の増加のためであろうと述べている。著者の検討では薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎との間に核の直径に差を認めなかった。これは両群の肝障害の組織像がほぼ同様であり、また肝生検時期が発症後ほぼ同時期であるためと考えられた。

ミトコンドリアの主要機能はエネルギー産生であ

り、それは内膜でおこなわれ、アミノ酸、脂質の代謝に関与する酵素群は基質に存在するといわれている⁵⁾¹³⁾¹⁷⁾。Millwardら¹⁷⁾、Johannessenら¹⁸⁾は薬剤性肝障害における肝細胞内微細構造の変化の一つとしてミトコンドリアの腫大を挙げている。鶴沼¹⁹⁾はミトコンドリアの数が減少し、大型化し、cristaeの数も減少している時はミトコンドリアの機能は低下し、逆に呼吸の盛んな細胞ではミトコンドリアの数やcristaeの数も多いと述べており、またPopper²⁰⁾はウイルス性肝炎において障害の強い肝細胞における最初の変化はミトコンドリアの膨化であると述べている。しかし薬剤性肝障害におけるミトコンドリアの腫大は肝細胞の変性のみを反映しているとは考えにくく、薬剤による適応反応、薬物の代謝産物による影響が関与する可能性も考えられる²¹⁾。

肝臓におけるRERはタンパク合成にあずかり、SERには多数の酵素が存在し、大部分の薬物代謝酵素はSERに存在することが知られている⁵⁾¹³⁾¹⁷⁾。今回著者の検討では小胞体を細胞質単位体積あたりの表面積として算出し、急性ウイルス性肝炎と比較して薬剤性肝障害ではRERには有意の差を認めなかったが、SERには著明な増加を認めた。Jézéquelら¹⁵⁾はdiazepam投与時のヒト肝細胞内小胞体の変化をmorphometryにより解析し、正常肝との比較検討にてRERは変化しないが、SERは増加したと述べている。さらに、これらの肝生検材料を用いて¹⁴C-acetateのdigitoxin-precipitable sterolへの取り込みが増加していることを認め、SERの機能亢進の可能性を述べている。また多くの薬剤を投与するとSERに存在する薬物代謝に関係するcytochrome P-450をはじめとする種々の酵素のinductionがみられることはよく知られており¹³⁾¹⁷⁾、薬剤性肝障害でのSERの増加は容易に理解しうる。しかしSERの増加はかならずしも機能亢進と一致するとは限らず、hypoactive hypertrophyの状態である場合もあるといわれている²²⁾。hyperactiveなSERの増加とhypoactiveなSERの増加は形態学的には鑑別が困難とされているが、谷川らは前者ではSERはび慢性に正常構造を保って増加しているのに対し、後者ではSERの増加した部位は一つの塊を形成し、他の原形質とはやや画別されており¹¹⁾、またHypoactiveな状態ではvesiculationとしてみられることが多く、膜面積は小さいと述べている²³⁾。

マイクロボディの生理的機能については未だ不明な点も多いが、過酸化水素の産生と分解や脂質・コレステロール代謝に関連することが推定されており⁵⁾¹³⁾¹⁷⁾、脱コレステロール剤であるクロフィブレート

や、それとは構造の全く異なる脱コレステロール剤の投与によりマイクロボディの著しい増加がみられることが示されている²⁴⁾²⁵⁾。著者の薬剤性肝障害例には脱コレステロール剤は含まれておらず、また急性ウイルス性肝炎との比較においても差はみられなかった。マイクロボディの数の増加は生検時期の差によるものあるいはある種の薬剤にのみ特有の変化である可能性も考えられる。

ライゾゾームはprotease, nuclease, lipase, phosphataseなど約30種の加水分解酵素を含み、細胞内のほとんどの高分子物を分解することが可能であり、細胞内における消化小器官としてはたらき⁵⁾¹²⁾¹⁷⁾、細胞内の壊死を反映するとされている¹⁹⁾。その増加は多くの薬剤投与例やウイルス性肝炎の際にみられる¹²⁾¹⁸⁾²⁶⁾。著者は薬剤性肝障害例および急性ウイルス性肝炎例についてライゾゾームの細胞質に対する体積比を比較したが差はみられなかった。一方、薬剤性肝障害における肝炎型と胆汁うっ滞型の比較では、肝炎型に比して胆汁うっ滞型で細胞質との体積比は大きかった。これは胆汁うっ滞型では黄疸が強いことの反映と考えられる。

「薬物と肝」研究会によって示されている薬剤性肝障害の診断基準案²⁾によれば、その確診には薬剤感受性試験（リンパ球培養試験、皮膚試験）が陽性であること、または偶然の再投与により肝障害の発現を認めることが必要とされている。リンパ球培養試験はリンパ球刺激試験、マクロファージ遊走阻止試験、白血球遊走阻止試験などが行なわれているが、その陽性率は各方法間で差を認め²⁷⁾、またchallenge試験においても肝障害が100%出現しうるとは限らず²⁸⁾²⁹⁾、危険を伴うこともある。今回、著者はstereometryにより薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎について肝細胞内微細構造の定量的観察を行ない比較検討したところ、ミトコンドリアとSERに差を認めた。しかしミトコンドリアについては両群でその計測値にoverlapするものが多く、本法により薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎は鑑別可能であると言い切れることは出来ない。しかしSERは両群で明らかな差を認めたことより、光顕レベルで薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎の鑑別診断が困難な場合には電顕による肝細胞内微細構造の定量的観察が有用であると考えられる。

結 論

薬剤性肝障害について核の直径を計測し、stereometryによる肝細胞内微細構造の定量的観察を行ない、急性ウイルス性肝炎と比較検討し、次の結果を得た。

1. 核の直径は薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎では差はなかった。
2. ミトコンドリアは薬剤性肝障害では急性ウイルス性肝炎に比し、その体積、長径および短径は大きく、数は少なかった。
3. RER は薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎ではその面積に差はなかった。
4. SER は薬剤性肝障害では急性ウイルス性肝炎に比してその面積は大きかった。
5. マイクロボディは薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎ではその体積、数、直径、細胞質との体積比において差はなかった。
6. ライソゾームは薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎ではその細胞質との体積比において差はなかった。
7. 薬剤性肝障害と急性ウイルス性肝炎の鑑別診断が光顕レベルで困難な場合には、電顕レベルによる定量的観察が有用であると考えられた。

謝 辞

稿を終るにあたり、本研究に御指導いただきました恩師金沢大学第1内科服部信教授に深謝します。また御協力、御助言いただきました金沢大学第2病理太田五六教授、金沢大学第1内科小林健一助教授、加登康洋講師、第2研究室肝臓グループの諸先生方、国立金沢病院内科杉岡五郎博士、砺波厚生病院内科杉本立甫博士に感謝いたします。

本研究の一部は、第18回日本肝臓学会総会(1982年7月、東京)において発表した。

文 献

- 1) **International Group**: Guidelines for diagnosis of therapeutic drug-induced liver injury in liver biopsies. *Lancet*, *i*, 854-857 (1974).
- 2) 薬物と肝研究会: 薬物と肝(第3回薬物と肝研究会記録), 96-98頁, 杜陵印刷, 東京, 1978.
- 3) **Loud, A. V.**: A quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells. *J. Cell Biol.*, **37**, 27-46 (1968).
- 4) **Bach, G.**: Bestimmung der Häufigkeitsverteilung der Radien kugelförmiger Partikel aus den Häufigkeiten ihrer Schnittkreise in zufälligen Schnitten der Dicke. *Z. Wiss. Mikrosk.*, **66**, 193-200 (1964).
- 5) **Ma, M. H. & Biempica, L.**: The normal human liver cell. *Cytochemical and ultrastructural studies*. *Amer. J. Path.*, **62**, 353-390 (1971).
- 6) **Sugioka, G., Porta, E. A. & Hartroft, W. S.**: Early changes in liver of rats fed choline deficient at four levels of protein. *Amer. J. Path.*, **57**, 431-455 (1969).
- 7) **Chalkley, H. W.**: Method for the quantitative morphological analysis of tissues. *J. Nat. Cancer Inst.*, **4**, 47-53 (1953).
- 8) **Weibel, E. R. & Gomez, D. M.**: A principle for counting tissues structures on random sections. *J. Appl. Physiol.*, **17**, 343-348 (1963).
- 9) **DeHoff, R. T. & Rhines, F. N.**: Determination of number of particles per unit volume from measurement made on random plane sections: The general cylinder and ellipsoid. *Trans. A. I. M. E.*, **221**, 975-982 (1961).
- 10) **Tomkeieff, S. I.**: Liver intercepts, area and volume. *Nature*, **155**, 24 (1945).
- 11) **Hennig, A.**: Bestimmung der Oberfläche beliebig geformter Körper mit besonderer Anwendung auf Körperhaufen in mikroskopischen Bereich. *Mikroskopie*, **11**, 1-20 (1956).
- 12) **de Duve, C. & Wattiaux, R.**: Functions of lysosomes. *A. Rev. Physiol.*, **28**, 435-449 (1966).
- 13) **Phillips, M. J. & Latham, P. S.**: Electron microscopy of human liver disease, p59-92. *In* L. Schiff & E. R. Schiff (ed.), *Disease of the liver*, 5th ed. Lippincott Co., Tronto, 1982.
- 14) 松田芳郎・池上文詔・高田 昭: 肝疾患と小胞体機能. *肝臓*, **15**, 721-722 (1974).
- 15) **Jézéquel, A. M., Koch, M. & Orlandi, F.**: A morphometric study of the endoplasmic reticulum in human hepatocytes. *Gut*, **15**, 737-747 (1974).
- 16) **Ranek, L.**: Quantitation of size and composition of liver cell nuclei in acute viral hepatitis, p62-68. *In* G. Paumgartner & R. S. Presig (ed.), *the Liver Quantitative Aspects of Structure and Function*, Karger, Basel, 1973.
- 17) **Millward-Sadler, G. H. & Jézéquel, A. M.**: Normal histology and ultrastructure, p13-43. *In* R. Wright, K. G. M. M. Alberti, S. Karran & G. H. Millward-Sadler (ed.), *Liver and biliary disease Pathophysiology Diagnosis Management*, Sanders Co. London, 1979.
- 18) **Johannessen, J. V.**: Drug-induced liver injury, p95-109. *In* *The Liver, The Gallbladder and Biliary ducts*, Vol 8. McGraw-Hill. International Book Co., London, Great Britain, 1979.
- 19) 鶴沼直雄: 肝の微細構造. *最新医学*, **28**, 432-440 (1973).

- 20) **Popper, H.**: Electron microscopy in the diagnosis of liver disease, p47-54. *In* A. E. Read (ed.), the Liver, Butterworths, London, 1967.
- 21) 谷川久一・安倍弘彦・池尻直幹: 薬物性肝障害(山本・溝口編), 73-90頁, 中外医学社, 東京, 1980.
- 22) **Schaffner, F. & Popper, H.**: Cholestasis is the result of hypoactive hypertrophic smooth endoplasmic reticulum in the hepatocyte. *Lancet*, ii, 355-359 (1969).
- 23) 池尻直幹・谷川久一: 肝の病態(2)胆汁うっ滞, 肝胆膵, 2, 667-674 (1981).
- 24) **Svoboda, D., Grady, H. & Azarnoff, D.**: Microbodies in experimentally altered cells. *J. Cell Biol.*, 35, 127-152 (1967).
- 25) **Reddy, J. & Krishnakantha, T. P.**: Hepatic peroxisome proliferation: Induction by two novel compounds structurally unrelated to clofibrate. *Science*, 190, 787-789 (1975).
- 26) **Rosa, F.**: Ultrastructural changes produced by glucagon, cyclic 3'5'-AMP and epinephrine on perfused rat liver. *J. Ultrastruct. Res.*, 34, 205-213 (1971).
- 27) 飯島敏彦: 薬剤アレルギー性肝障害におけるリンパ球刺激試験, マクロファージ遊走阻止試験, 白血球遊走阻止試験の比較検討. 肝臓, 23, 388-395 (1982).
- 28) **Shay, H. & Siple, H.**: Relationship of chemical structure of chlorpromazine to its liver-sensitizing action. *Gastroenterology*, 35, 16-24 (1958).
- 29) 加登康洋・小林健一・武内重五郎・野々村昭孝・太田五六: 薬物性肝障害の診断方法について, 日消誌, 71, 631-641 (1974).

Stereological Measurements of the Fine Structures in Hepatocytes from Patients with Drug-induced Liver Injury, in Comparison with Those of Acute Viral Hepatitis
Hideo Morimoto, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med. Soc.*, 95, 524—530 (1986)

Key words: fine structures in hepatocytes, stereometry, drug-induced liver injury, acute viral hepatitis

Abstract

In order to investigate the pathological difference between drug-induced liver injury and acute viral hepatitis, fine structures of their hepatocytes were morphometrically examined. Forty patients with drug-induced liver injury (27 hepatitic, 11 cholestatic and 2 mixed types) and 11 patients with acute viral hepatitis were studied. Nuclear diameter was measured light microscopically. Number and dimension of mitochondria, microbody and lysosome, and surface area of endoplasmic reticulum of hepatocytes were calculated using electron microscopic parameters. Nuclear diameter was not different between drug-induced liver injury and acute viral hepatitis. In drug-induced liver injury the volume of mitochondria was increased and its number was decreased, when compared with those in acute viral hepatitis. The surface area of rough endoplasmic reticulum was not different between them. The surface area of smooth endoplasmic reticulum was larger in drug-induced liver injury than in acute viral hepatitis. Microbody and lysosome were not different between them. On the basis of the above-mentioned findings, it is suggested that the stereological measurement of fine structures of hepatocytes using electron microscopic parameters is useful for differentiation of drug-induced liver injury from acute viral hepatitis.