

マウスの腎アミロイド症の電子顕微鏡的研究

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/2297/4604

マウスの腎アミロイド症の電子顕微鏡的研究

金沢大学医学部病理学第一講座 (主任：梶川欽一郎教授)

村上英徳

(昭和49年12月28日受付)

本論文の要旨は1973年第62回日本病理学会総会において発表した。

アミロイドの病理発生についてはこれまで多数の研究が行われ、様々な見解が発表されている (Cohen¹⁾, Franklin & Zucker-Franklin²⁾ の総説参照)。その主な説の一つは、アミロイド症は免疫機構の異常に基因するという見解で、血行性に運ばれた異常な血漿タンパク、又は、抗原-抗体複合物が諸臓器に沈着することによって発生するとするものである³⁾⁻⁵⁾。他の説は局所の間葉細胞から直接アミロイドが産生されるというものである。しかし、アミロイド産生細胞については意見が分れる。最も有力視されているのは網内系細胞⁶⁾⁻¹¹⁾であるが、その他、線維芽細胞¹²⁾⁻¹⁵⁾、周細胞¹⁶⁾、プラズマ細胞¹⁷⁾¹⁸⁾などもアミロイド産生細胞としてあげられている。

このような論争の原因の一つは、アミロイド沈着の初期像を形態学的に同定することが困難であるため、比較的進行した時期の所見に基いた議論が多いことによるものと思われる。この問題を解明するためにはアミロイド沈着がおりやすく、しかも、間質が比較的単純な臓器について経時的な観察を行う必要がある。この意味において著者は腎間質のアミロイド症を選んだ。

尿細管周囲のアミロイド沈着に関しては Shirahama ら¹⁶⁾の優れた研究がある。彼らはアミロイド沈着は毛細血管周囲から尿細管周囲に向かって広ることに注目し、毛細血管周囲細胞がアミロイドを産生する可能性を示唆している。一方、同様な研究で、Shibolet ら¹²⁾や Jao ら¹⁵⁾は腎間質の線維芽細胞によってアミロイドが産生されるものと推定している。

本研究はカゼイン注射による腎間質におけるアミロイドの沈着過程を電顕的に追求したものであるが、特にアミロイド沈着前及びアミロイド沈着の初期にみられる変化の観察に重点をおいた。

実験材料及び実験方法

実験動物として雄性C₃H系マウス (体重約20g)を用いた。0.25% NaOH に溶解した5%カゼイン溶液0.5ccを1週間に5~6回皮下注射した。3週後から1~2週ごとに屠殺し、18週まで観察した。

摘出した腎は一部光顕的観察のためパラフィン切片を作成し、HE, Van Gieson, azan, PAS, congo red 染色及び toluidin blue (pH2.5) によるメタクロマジー反応を行った。又、congo red, thioflavin T染色を行い蛍光顕微鏡を用いて観察した。

電顕試料の作製には組織を2.5% glutaraldehyde (0.2M cacodylate 緩衝液でpH7.4) で4°Cで1時間固定し、さらに2%オスミウム酸 (0.2M cacodylate 緩衝液で pH 7.4) で1時間半後固定し、エチルアルコール系列脱水、エボン812で包埋した。一部の材料は Luft の方法を一部改変した松田の方法¹⁹⁾に従ってルテニウムレッド染色を行った。

間質の水腫を確認するために、フェリチン (Sigma 製) 0.5ccを尾静脈より注射し、1時間後に殺し、電顕試料を作成した。

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、硝酸鉛の重染色をおこなった。切片は日立HU-11型、HU-11DS型、HU-12型で直接倍率1,900~35,000倍で撮影した。

実験成績

I. 対照群

正常動物の腎間質の微細構造については従来の報告²⁰⁻²⁵⁾とほぼ同様であるので、簡単な記載に止める。腎間質は尿細管と血管とに囲まれた狭い空間を占め、細胞や線維に乏しい疎性結合組織から成る。尿細管基底

An electron microscopic study of renal amyloidosis of mice. Hidenori Murakami, Department of Pathology (I) (Director : Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

面はほぼ平滑で、連続性の基底膜で包まれる。lamina lucida は狭く(幅約250Å), lamina densa の幅は900~2,000Åと変動がある。Henle 係蹄や遠位尿細管では基底膜が処々肥厚し、多層化を示すことがある。尿細管周囲の毛細血管は有窓性の内皮細胞で被われ、基底膜で包まれる。lamina lucida の幅は400~900Åであるが、lamina densa の幅は約600Åとほぼ一定である。尿細管相互又は尿細管と毛細血管とが近接した部位では、それぞれの基底膜が融合している。

間質にはいわゆる間質細胞(interstitial cell)が散在する。最も普遍的な細胞は細長い突起を延ばした細胞で、従来、線維(芽)細胞様細胞、又は第1型間質細胞と呼ばれている細胞に相当する^{20)~25)}。細胞小器官の発育は乏しく、時々拡大した粗面小胞体と脂肪滴がみられることが特徴的である。そのほか糸粒体、小胞、ゴルジ装置などが同定される。細胞突起には細胞質フィラメントが多い。細胞突起は尿細管又は毛細血管の基底膜に沿って延びている。そのほか第II型の間質細胞²⁰⁾²¹⁾とよばれているリボゾームの多い円形細胞がまれにみとめられる。

細胞間には低電子密度の無定形物質で満たされるが、髄質内帯では微粒子とフィラメントから成る網状の礎質がみとめられる。このような構造物は hyaluronate と proteoglycan から成ることが知られている²⁶⁾。間質の線維成分は乏しく、少数のコラゲン線維(直径約300Å)が散在性にみとめられるにすぎない。基底膜周辺又は間質細胞の表面に少数の microfibril がみとめられる。

II. 実験群

アミロイド沈着の程度はカゼイン注射の期間にほぼ比例して増加し、注射後13週ではほとんど全例に腎アミロイド症をみとめることができた。アミロイド沈着の強さは動物によって様々であり、又同一動物でも部位によってかなり著しい差異がみられるので、多数の材料の観察結果を整理することによって、アミロイド沈着の過程を推定することができる。本論文ではアミロイド沈着がまだ起っていない時期をアミロイド前期(カゼイン注射後8~11週)と称し、アミロイド沈着期と区別して記載する。

1. アミロイド前期

アミロイド前期にみられる主な変化は、間質の水腫、基底膜の肥厚及び細胞反応である。対照群に比べて間質は著しく拡大し、低電子密度の絮状物質で満たされる(写真1)。この物質は血管内の血漿成分と同様にルテニウムレッド陽性の微粒子状物質の集合から

成り、静脈注射されたフェリチンがびまん性に沈着するので、血漿タンパクを含んでいることは明らかである(写真2)。

光顕的には拡大した間質はエオジンに淡染する等質性物質で占められ、azan 染色で淡青色、Van Gieson 染色で黄色、PAS 染色で淡紅色に染色される。メタクロマジー陰性で congo red に親和性を示さず、又、thioflavin T や congo red 処理によってもアミロイドと同定される蛍光物質は証明されない。

間質の水腫の減退とともに尿細管基底膜と血管基底膜の肥厚が目される。尿細管基底膜の肥厚が特に顕著で、びまん性、又は層板状の肥厚を示し、その厚さは約1.2 μ にも達する。lamina lucida の幅もしばしば拡大する。又、増加した基底膜が屈曲し尿細管基底膜面に結節状の肥厚としてみられることがまれでない(写真3)。さらに基底膜は本来の構造を失い、層状ないし塊状の基底膜様物質、低電子密度の無定形物質及び多数の細胞質崩壊物を含む構造物に変わり、その外側が薄い連続性の基底膜様物質で包まれるようになる(写真4)。

尿細管上皮細胞には遊離リボゾームの増加、粗面小胞体の拡大、ライソゾーム様封入体の増加がみとめられる。細胞基底面では細胞質の電子密度が増加し、基底面に沿って細胞質内 microfilament の集積がみとめられる。細胞基底面には細胞膜の不規則な陥入や突出がみとめられる。増加した基底膜の中に多数の小胞と小顆粒がみとめられる(写真3)。

肥厚した基底膜には光顕的にPAS陽性物質の増加が証明されるが、congo red 染色及び蛍光顕微鏡的にアミロイドと同定される物質は証明されない。

毛細血管や細静脈の基底膜にも肥厚や層状化がみられるが、その程度は尿細管基底膜の変化に比べて一般に軽度である。内皮細胞は腫大し粗面小胞体とリボゾームの増加がみられる。細胞基底膜は凹凸を示し、ここでも肥厚した基底膜内に小胞がみとめられる。

細動脈では内皮細胞基底膜の肥厚はほとんどみられないが、中膜平滑筋細胞の基底膜は限局性の肥厚を示すことがある。

アミロイド前期における細胞反応は大食細胞と線維芽細胞様間質細胞の増殖である。無処置動物において小器官の乏しい細長い細胞としてみられた間質細胞は、アミロイド前期では細胞質が広くなり粗面小胞体とリボゾームの増加が目立ち線維芽細胞様の形態を示す(写真1, 3, 4,)。粗面小胞体はしばしば囊状の拡大を示す。核周辺に層板と小胞から成るゴルジ装

置が存在する。少数の脂肪滴や dense body がみとめられることがある。この細胞はしばしば肥厚した基底膜に沿って細長い細胞突起を延ばしている(写真3)。注目すべきことは細胞周辺には、時々濃厚な無定形物質、microfibril 及びコラーゲン線維がみとめられることである(写真5)。

アミロイド前期に増殖する他の細胞は大食細胞である。定型的な大食細胞は偽足をもった淡明な広い細胞質に多数の滑面小胞体と様々な大きさのライソゾームがみられることによって容易に同定される(写真1, 6)。ライソゾームの内にはまれに線維状物質が含まれる。粗面小胞体は少なく細管状の断面を示す。極くまれに核分裂像に遭遇した。これらの細胞はしばしば巣状に増殖し、線維芽細胞様細胞とともに細胞は互いに密着して存在する。このような場合、比較的未分化な細胞ではリボゾームが豊富で特徴的な小器管の発育が乏しいため、細胞の同定が困難なことがある。又、かなり発育した粗面小胞体とライソゾームを有し、大食細胞と線維芽細胞様細胞との中間型の構造を示す細胞もある。血管周囲には大食細胞のほか、プラズマ細胞、及び少数のリンパ球と好中球がみとめられることがある。

2. アミロイド沈着期

アミロイド沈着はアミロイド細線維の出現によって同定される。アミロイド細線維は周知のように直径約80Åの剛直性線維としてみとめられる。少量の場合は不規則に配列するが多量に沈着した場合は互いに平行に走る線維束を形成する。細線維はルテニウムレッドに親和性を示すが、横断面では陽性物質は細線維の表面のみ存在することが示される(写真16)。

写真7は比較的初期のアミロイド沈着を概観するため、電顕写真をトレースした図である。この図で明らかのように、アミロイド沈着は尿管管や毛細血管の肥厚した基底膜の外側、特に線維芽細胞様細胞が近接した部位に最も多くみられる。間質におけるアミロイド沈着は一般に少ないが、線維芽細胞様細胞の表面に散在性のみとめられる。

アミロイド沈着の初期に、間質に増殖した線維芽細胞様細胞の表面に処々少量のアミロイド細線維の出現がみられる(写真8)。沈着初期のアミロイド細線維はmicrofibril と類似しているが、microfibril はしばしば、既述のように濃厚な無定形物質及びコラーゲン線維と共存することによって区別される。線維芽細胞様細胞はアミロイド前期とほぼ同様の形態を示すが脂肪滴は減少する。

肥厚した尿管管基底膜にはしばしば著明なアミロイ

ド沈着がみられる。基底膜におけるアミロイド沈着はびまん性におこるのではなく、同一尿管管の基底膜においても部位によって差異がみられ線維芽細胞様細胞が外側に存在する部では特に多い(写真9, 10)。又、一般にアミロイド沈着は基底膜外側部に多く上皮細胞側に向かって減する傾向がある(写真10)。

基底膜におけるアミロイド沈着は lamina densa に相当する濃厚な物質の中には比較的少ない。そのため、沈着したアミロイド細線維の中に基底膜様物質が層状に残存する場合がまれではない。アミロイド沈着の進行とともに、上皮細胞基底面からアミロイド線維束が陥入し(写真14)、遂に基底膜は完全にアミロイドで置換される。

アミロイド沈着期には大食細胞の増殖は引き続き進行している。大食細胞はしばしば互に接着して巣状の増殖を示すが、細胞間にアミロイド細線維の沈着はなく、その間に介在する線維芽細胞様細胞の周辺にのみアミロイド沈着の初期像がみられる(写真11)。又、大食細胞が基底膜に近接する場合にも、細胞と基底膜の間にはアミロイド細線維の沈着はみとめられない。アミロイド沈着の増加とともに大食細胞の dense body や residual body が増加し、時々アミロイド様の細線維を含む封入体のみとめられる(写真12)。まれに、細胞基質内にも同様の細線維が散在性にみられることがある。

アミロイド沈着の進行とともに細胞間は錯走するアミロイド細線維によって占められ細胞成分は減少する。線維芽細胞様細胞の一部は囊状に拡大した粗面小胞体で満たされた細胞として残存するが、大部分は萎縮状の細胞の断片としてみとめられる(写真13)。

本研究では細胞表面におけるアミロイド細線維束の深い陥入は観察の全期間を通じて一般に少ないが、アミロイド沈着の多量な場合に線維芽細胞様細胞、大食細胞の表面及び内皮細胞、尿管管上皮細胞の基底面において時々観察された(写真14, 15)。

アミロイド細線維の間に hyaluronate と proteoglycan を表わす網状フィラメントやコラーゲン線維がみとめられる(写真16)。コラーゲン線維は多くの場合、集積したアミロイド細線維の中に散在しているが、時々コラーゲン線維束が線維芽細胞様細胞に囲まれて限局性にみられることがある(写真17)。

毛細血管基底膜におけるアミロイド沈着も尿管管基底膜におけるとほぼ同様であるが、その程度は一般に軽度である。ここでは間質細胞及び周細胞と基底膜との間にアミロイド細線維の出現がみられ、基底膜は次第にアミロイド細線維によって置換される。

細静脈においてはアミロイド沈着は中膜平滑筋細胞の間に最も強くみられ、一方では内皮細胞基底膜に沿って内膜の中へ、他方では外膜細胞と平滑筋細胞との間へ広がる。外膜細胞が間質に面する側にはアミロイド細線維の沈着は少い(写真18)。

小動脈においては中膜平滑筋細胞の周囲に巣状のアミロイド沈着がみられる。アミロイド沈着は内弾力板で明瞭に境され内膜におけるアミロイド沈着はほとんどみとめられない(写真19)。外膜細胞の外側にもアミロイド細線維の沈着がみとめられるが、その程度は中膜におけるものより一般に軽度である。

考 察

1. アミロイド前期における変化

アミロイド前期にみられる主要な変化は、間質の水腫と、基底膜、特に尿細管基底膜の肥厚、及び間質細胞の増殖である。基底膜は結節状に肥厚し、多層化が伴われ、上皮細胞基底面には細胞突起とその離断がみられる。このような所見は、基底膜の肥厚が単に血漿の浸入による膨潤に基くものではなく、基底膜の崩壊と新生がくり返された結果であることを示唆している²⁷⁾²⁸⁾。正常動物においても間質細胞は尿細管基底膜の形成や維持にあづかっているものと考えられており²⁹⁾、又、梶川³⁰⁾は一般に基底膜が新生される場合に線維芽細胞様の間葉細胞が接近し、基底膜形成に参加することを報告している。したがって本研究において、尿細管基底膜に沿って線維芽細胞様の間質細胞の増殖がみとめられたことは基底膜の新生がおこっていることを示唆する一つの証拠であると考えられる。

一方、アミロイド前期の間質細胞には粗面小胞体の増加がみられ、細胞表面には濃厚な無定形物質とともに、microfibrilと少数のコラゲン線維がみとめられた。同様な所見は、新生仔ラットの腎間質細胞²⁹⁾や、創傷肉芽組織の線維芽細胞において観察されており²⁷⁾、コラゲン線維の新生を表わしているものと解釈される。アミロイド細線維の間にも正常動物に比べてはるかに多量のコラゲン線維の沈着がみとめられるので、コラゲン線維の形成はアミロイド沈着期にも引き続きおこっているものと考えられる。又、アミロイド細線維の間に hyaluronate と proteoglycan を表わす網状フィラメントが増加することは、水腫の消退とともに、礎質もまた新生されることを示している。

大食細胞はアミロイド前期から出現し、滑面小胞体や、ライソゾーム様小体が多いが、細胞質内にはアミロイドは見出されない。大食細胞の増殖はおそらく、

水腫によって傷害された細胞間マトリックスの処理に関係するものであろう。

間質細胞は生理的に腎の細胞間物質の形成や基底膜の形成、維持にあづかるものと考えられている²⁹⁾。アミロイド前期には間質における水腫によって傷害された細胞間マトリックスの修復機転として、間質細胞が賦活され基底膜、コラゲン線維及び礎質の形成が促進されるものと解釈される。

間質に増殖した細胞の中には、線維芽細胞様細胞と大食細胞との中間の構造を備える細胞がみられた。Romenら²⁴⁾は間質細胞は線維芽細胞と組織球との2方向に分化しうる能力があるものと想定している。しかし、形態学的所見だけから、細胞の分化の方向を決定することは困難である。

2. 基底膜におけるアミロイド沈着

基底膜、特に尿細管基底膜にアミロイドが早期にかつ多量に沈着することは注目すべき所見の一つである。同様な所見は他の研究者によっても報告されている^{15)31)~34)}。アミロイドが基底膜に沈着しやすい理由についてはいくつか可能性が考えられる。第1の可能性は上皮細胞又は内皮細胞からのアミロイド産生である。しかし、アミロイドの沈着は肥厚した基底膜にびまん性におこるのではなく、一区域を中心に周囲に向かって広がること、又、その区域での沈着は基底膜外縁に強く、上皮細胞側に向かって減少する傾向がみられること、さらに間質にアミロイドが沈着しても基底膜には沈着していない場合があることから、基底膜のアミロイドは上皮細胞や内皮細胞から供給されるのではなく、間質側からの浸潤によるものと考えられる。

第2の可能性として基底膜に吸着された血漿由来のアミロイド前駆物質から細線維が形成されることが考えられる。全身性アミロイド症が血行性に運ばれたアミロイド前駆物質又は subcellular factor によって誘発されるという見解は、様々な実験的根拠に基づいて多くの研究者によって主張されているところである^{4)5)35)~37)}。現在、この可能性を完全に否定する根拠は乏しいが、静脈注射されたフェリチンが尿細管基底膜に特に多く沈着するという所見がないことから、もし、血漿中にアミロイド前駆物質が含まれているとしても、それが基底膜に選択的に吸着されるために基底膜にアミロイド沈着がおこるとは考え難い。

第3の可能性は線維芽細胞様の間質細胞からのアミロイドの供給である。線維芽細胞様細胞のアミロイドの産生能については後に再び述べるが、この見解は基底膜に沿って増殖する間質細胞と基底膜との間にアミロイドが早期に沈着し、基底膜外縁から内側に向って

広がる事実をよく説明することができる。

3. 間葉細胞とアミロイド産生

アミロイド前期及び沈着期の初めにわたって、最も目立つ細胞反応は線維芽細胞様の間質細胞と大食細胞であるから、これらの細胞とアミロイド産生との関係が問題になる。

1) 大食細胞とアミロイド

現在、一般に網内系細胞がアミロイド産生と密接な関係があることが多くの研究者によって主張されている^{8)~11)}。その根拠の一つはアミロイド脾の網内系細胞に³H-ロイシン¹⁰⁾又は³H-トリプトファン¹¹⁾の取りこみがみられるというラジオオートグラフィの所見である。他は形態学的証拠で、網内系細胞の表面にしばしばアミロイド細線維が深く陥入していること⁸⁾⁹⁾、及び細胞質に増加したライソゾーム、又は細胞基質内にアミロイド細線維がみとめられることである⁷⁾⁹⁾。前者の所見はアミロイド細線維が細胞から分泌される像と解釈され、後者はアミロイドの細胞内形成を表わしているものと推定されている^{7)~9)}。しかし、松田¹⁹⁾はこれらの所見はアミロイドの分泌や合成ではなく、逆にアミロイドの貧食を表わしているものと解釈した。最近、Glenner及びその協同研究者はアミロイド細線維のあるものは、免疫グロブリン鎖から誘導されることを証明し⁴⁾、この成績に基いて血漿中に含まれる免疫グロブリンが局所の大食細胞に取り込まれ、ライソゾーム酵素によって分解され、アミロイドタンパクが形成されるという仮説を提唱した。この仮説に關係して、細川³⁰⁾、内野⁹⁾は網内系細胞で生理的に合成されるアミロイドタンパクがライソゾーム酵素で処理しきれなくなった結果、細胞内で凝集して細線維を形成するものと推定している。又、Shirahamaら³¹⁾は大食細胞から分泌されたライソゾーム酵素によって細胞外のアミロイド前駆物質が分解され、その結果アミロイド細線維が形成される可能性を示唆している。

著者の観察では大食細胞はアミロイド前期から増殖をつづけるが、大食細胞は一般にアミロイド沈着の多い尿管管や血管周囲から離れた部位に巣状に増殖し、細胞間にはアミロイド細線維の出現はみとめられなかった。

本研究では細胞表面におけるアミロイド細線維束の陥入は全般に少なかった。これは観察時期がアミロイド沈着の比較的初期に限られたためかもしれない。高度におこった部位では、大食細胞ばかりでなく、線維芽細胞様細胞、内皮細胞又は尿管管上皮細胞の表面にも時々アミロイド細線維束の陥入がみられた。これらの事実は細胞表面におけるアミロイド細線維の陥入は

アミロイドの分泌ではなく、細胞外に沈着した細線維による二次的変化であることを示唆している。

アミロイド沈着に伴って大食細胞のライソゾームが増加し、空胞、ライソゾーム、又は細胞基質の中にアミロイド様の細線維が見出される。この像に対しては様々な解釈が可能であろう。しかし、これらの所見は細胞外にアミロイド沈着がかなり進行した場合に多く見出され、又、空胞やライソゾームに含まれる細線維が細胞外に放出される像を捉えることができないので、細胞内線維が細胞外線維の前段階を表わしている可能性は少ないように思われる。一方、アミロイドが大食細胞によって貧食されることは *in vitro* の実験成績から明らかであり^{40)~42)}、*in vivo* においても沈着したアミロイドは網内系細胞によって異物として処理されることが報告されている³⁸⁾⁴³⁾。これらのデータを総合すると、大食細胞内の細線維はアミロイド産生ではなく、むしろアミロイドの貧食を表わしているものと解釈される。

2) 線維芽細胞様間質細胞

既述のように腎間質細胞はアミロイド前期から増殖を開始し、粗面小胞体に富む線維芽細胞様細胞に変形する。Shiboletら¹²⁾及びJaoら¹⁵⁾は腎アミロイド症の研究において、アミロイドは線維芽細胞によって産生されると述べているが、その細胞は本研究における線維芽細胞様の間質細胞と同一細胞であると思われる。著者も、次の理由によって、この線維芽細胞様の間質細胞がアミロイド産生能をもっているものと考えられる。第1は、アミロイド沈着のほとんどみられない間質において、線維芽細胞様細胞の周辺にのみ、アミロイドと思われる細線維の集積がみられることである。この細線維とmicrofibrilとの鑑別は必ずしも容易ではないが、microfibrilがほとんど常に様々な量の濃厚な無定形物質とコラーゲン線維を伴っているのに対して(写真5)、この細線維はより剛直性で、無定形物質やコラーゲン線維を伴わない点で区別される(写真8)、したがって、線維芽細胞様細胞の周囲にみられる細線維の限局性の集在はアミロイド沈着の初期像を表わしているものと判断される。細胞内にアミロイド細線維が見出されないので、おそらく、コラーゲンと同様に、細胞内で合成された可溶性アミロイド前駆物質が細胞外に分泌され、そこで細線維の形成がおこるものと推定される。*in vitro* の実験でも可溶性アミロイドが細線維に凝集することが報告されている³⁸⁾⁴⁴⁾。

第2は、線維芽細胞は尿管管基底膜に沿って増殖し、細胞と基底膜との間にアミロイドが早期に沈着することである。この所見は線維芽細胞様細胞によって

アミロイドが産生されることを強く示唆している。基底膜はおそらく、細胞から分泌されたアミロイド前駆物質を固着させるのに役立っているのであろう。アミロイド細線維は血漿タンパクやその他の巨大分子を吸着する能力があるので⁴⁵⁾。一旦アミロイドが基底膜に沈着すると細胞から分泌されたアミロイド前駆物質はますますそこに吸着されやすくなり、既述のような基底膜のアミロイドの著明な沈着が発現するものと推定される。

4. 血管壁におけるアミロイド沈着

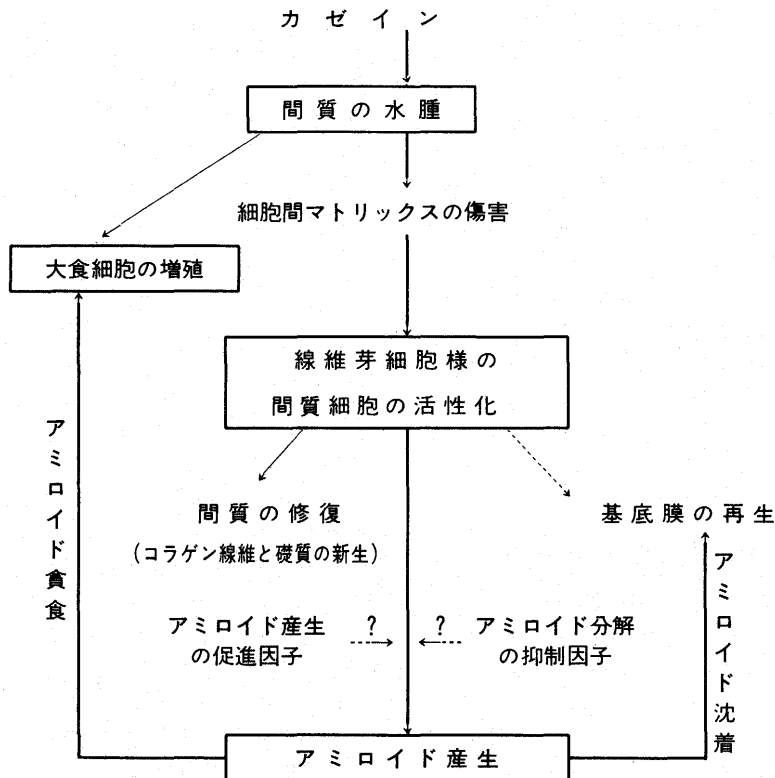
Heller ら⁴⁶⁾はアミロイド沈着をレチクリン周囲型とコラーゲン周囲型とに分け、血管壁においては前者の型では内膜から、後者の型では外膜から沈着が始まると述べている。著者の観察では細静脈では中膜に最も強いアミロイドの沈着がみられ、内膜及び外膜に向けて広がるのに対し、細動脈では中膜から外膜への沈着が著明で、内膜の沈着はほとんどみとめられなかった。外膜には線維芽細胞様の細胞が存在するので、この細胞によるアミロイド産生が可能であろう。しか

し、小血管における顕著なアミロイド沈着は一般に中膜平滑筋細胞の周囲に限局性にみとめられることから、平滑筋細胞からアミロイドが産生される可能性が示唆される。中膜平滑筋細胞は線維芽細胞様細胞や周細胞と機能的に近縁な細胞であることが推定されるので⁴⁷⁾、アミロイドタンパクの合成能を潜在的に保有していることはありうることと思われる。

5. 腎間質のアミロイド沈着の機序

以上の所見と考察をまとめると、腎間質におけるアミロイド症は次のような過程で発生するものと考えられる(第1図)。すなわち、カゼイン注射によって、まず間質の水腫がおこり、細胞間マトリックスが傷害される。この修復機転として、間質細胞が増殖し、基底膜、コラーゲン線維及び礎質の新生が誘発される。この変化が持続すると線維芽細胞様に変形した間質細胞は、アミロイドを産生するようになるものと思われる。大食細胞は初期には水腫によって傷害された細胞間物質の処理にあづかり、アミロイドが沈着し始めると、その貪食を行うものと思われる。このように考え

第 1 図



ると、アミロイドの発生過程の間に伴われる基底膜の肥厚、基底膜へのアミロイド沈着、コラーゲン線維の増加などの変化を一元的に説明することができる。

しかし、初期に細胞間マトリックスの産生を行っていた線維芽細胞様細胞の間質細胞が、後になると何故アミロイドタンパクを形成するようになるかは不明である。血漿由来の何らかの因子が細胞の代謝に直接影響を与えるのかもしれない。又、細胞から分泌されたアミロイド前駆物質を細線維に転換させるに必要な因子が水腫液に含まれているのかもしれない。さらに、Kleinら⁴⁸⁾とGathercoleら⁴⁹⁾の成績から示唆されるように、可溶性アミロイドが生理的にも産生されるものとすれば、その分解酵素の活性が抑制される結果かもしれない。これらの諸問題は今後に残された課題である。

総 括

アミロイド沈着の病理発生を解明する目的で、カゼイン注射によるマウス腎間質におけるアミロイド症の発生過程を顕微鏡的に観察した。アミロイド沈着に先立って、腎間質には水腫がおこり、線維芽細胞様細胞と大食細胞の増殖がみとめられた。水腫の減退とともに尿細管及び毛細血管の基底膜の肥厚、コラーゲン線維の新生がみとめられた。これらの現象は水腫によって傷害された細胞間マトリックスの修復を意味するものと考えられる。

アミロイド沈着の初期にはアミロイド細線維は間質に増殖した線維芽細胞様細胞の表面、肥厚した尿細管基底膜、毛細血管周囲、及び小血管壁、とくに中膜にみとめられた。アミロイド細線維の出現の時期とその位置関係から、線維芽細胞様細胞からアミロイドが産生される可能性が大きく、細胞から分泌されたアミロイド前駆物質が尿細管や毛細血管の肥厚した基底膜に沈着するものと解釈される。大食細胞の空胞及びライソゾーム内にもアミロイド細線維がみとめられたが、大食細胞はアミロイド細線維の貧食にあづかるものと考えられる。

謝辞：御指導を賜りました梶川敏一郎教授に心から感謝の意を表します。また、研究遂行に際し御助言、御協力を頂きました教室員各位と電子顕微鏡室技術員の方に厚く御礼申し上げます。（本研究の一部は文部省科学研究費、課題番号737011の補助を受けた）。

文 献

- 1) Cohen, A. S. : Amyloidosis (ed. E. Mandema, L. Ruinen, J. H. Scholten, A. S. Cohen), P149, Amsterdam, Excerpta Medica Foundation, 1968.
- 2) Franklin, E. C. & Zucker-Franklin, D. : Adv. Immunol., 15, 249 (1972).
- 3) Kennedy, J. S. : Lab. Invest., 15, 84 (1966).
- 4) Glenner, G. G., Ein, D. & Terry, W. D. : Amer. J. Med., 52, 141 (1972).
- 5) Glenner, G. G. : Acta Path. Microbiol. Scand., 80 (suppl) 114 (1972).
- 6) Cohen, A. S. : New Eng. J. Med., 277, 522 (1967).
- 7) Ramløv, P. & Wanstrup, J. : Acta Path. Microbiol. Scand., 71, 575 (1967).
- 8) Kazimierzak, J. : Acta Path. Microbiol. Scand., 80 (suppl), 141 (1972).
- 9) Uchino, F. : Acta Path. Jap., 17, 49 (1967).
- 10) Bari, W. A., Pettengill, O. S. & Sorenson, G. D. : Lab. Invest., 20, 234 (1969).
- 11) Cohen, A. S., Gross, E. & Shirahama, T. : Amer. J. Path., 47, 1079 (1965).
- 12) Shibolet, S., Merker, H. J., Sohar, E., Gafni, J. & Heller, H. : Brit. J. Exp. Path., 48, 244 (1967).
- 13) Hashimoto, K. & Brownstein, M. H. : Amer. J. Path., 68, 371 (1972).
- 14) Gafni, J., Merker, H. & Shibolet, S. : Ann. Int. Med., 65, 1031 (1966).
- 15) Jao, W. & Pirani, C. L. : Acta Path. Microbiol. Scand., 80 (suppl), 217 (1972).
- 16) Shirahama, T. & Cohen, A. S. : Exptl. Mol. Path., 11, 300 (1969).
- 17) Caesar, R. : Acta Neuropath. (Berl.), 2, 94 (1963).
- 18) Zucker-Franklin, D. & Franklin, E. C. : Amer. J. Path., 59, 23 (1970).
- 19) 松田芳郎 : 十全医会誌, 80, 419 (1971).
- 20) Bohman, S. O. : J. Ultrastruct. Res., 47, 329 (1974).
- 21) Bulger, R. G. & Nagle, R. B. : Amer. J. Anat., 136, 183 (1973).
- 22) Dieterich, H. S. : Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 84, 350 (1968).

- 23) Haggitt, R. C., Pitcock, A. & Muirhead, E. E. : *Human Path.* 2, 587 (1971).
- 24) Romen, W. & Thoenes, W. : *Virchow's Arch. Zellpath. Abt. B* 5, 365 (1970).
- 25) Osvaldo, L. & Latta, H. : *J. Ultrastruct. Res.* 15, 589 (1966).
- 26) 梶川欽一郎 : *日医会誌*, 68, 602 (1972).
- 27) 堀 功 : *十全医会誌*, 83, 379 (1974).
- 28) Vracko, R. & Benditt, E. P. : *J. Cell Biol.* 55, 406 (1972).
- 29) Buss, H. & Gesek, W. : *Virchow's Arch. Zellpath. Abt. B* 1, 251 (1968).
- 30) 梶川欽一郎 : *結合組織*, 3, 7 (1971).
- 31) Cohen, A. S., Frensdorff, A., Lamprecht, S. & Calkins, E. : *Amer. J. Pathol.* 41, 567 (1962).
- 32) Bergstrand, A. & Bucht, H. : *J. Path. Bact.* 81, 495 (1961).
- 33) Sorenson, G. D. & Shirahama, T. : *Lab. Invest.* 13, 1409 (1964).
- 34) Toriumi, J. : *Acta Path. Jap.*, 22, 141 (1972).
- 35) Ranløv, P. : *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 187 (suppl), 90 (1967).
- 36) Hardt, F. : *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 72, 446 (1968).
- 37) Wanstrup, J. & Ranløv, P. : *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 74, 303 (1968).
- 38) 細川修治 : *日病会誌*, 61, 5 (1972).
- 39) Shirahama, T. & Cohen, A. S. : *Amer. J. Pathol.* 73, 97 (1973).
- 40) Shirahama, T., Cohen, A. S. & Rodgers, O. G. : *Exp. Mol. Pathol.* 14, 110 (1971).
- 41) Shirahama, T. & Cohen, A. S. : *Amer. J. Pathol.*, 63, 463 (1971).
- 42) Shirahama, T. & Cohen, A. S. : *J. Ultrastruct. Res.*, 33, 587 (1970).
- 43) DeLellis, R. A., Ram, J. S. & Glenner, G. G. : *Int. Appl. Allergy*, 37, 175 (1970).
- 44) Shirahama, T. & Cohen, A. S. : *J. Cell Biol.*, 35, 459 (1967).
- 45) 石原博博 : *日網会誌*, 12, 1 (1972).
- 46) Heller, H., Missmahl, H. P., Sohar, E. & Gafni, J. : *J. Path. Bact.* 88, 15 (1964).
- 47) Moffat, D. B. : *J. Ultrastruct. Res.* 19, 532 (1967).
- 48) Klein, L. & Gathercole, L. J. : *Lab. Clin. Med.*, 78, 855 (1971).
- 49) Gathercole, L. J. & Klein, L. : *Biochem. Biophys. Acta*, 257, 531 (1972).

写 真 説 明

写真1. アミロイド前期. 間質の水腫(E), 線維芽細胞様細胞(F)と大食細胞(M)の増殖がみられる. Ep: 尿細管上皮, B: 基底膜. $\times 9,700$.

写真2. アミロイド前期. フェリチン静注後1時間, 水腫状の間質(E)と基底膜(B)にびまん性にフェリチンがみられる. Ep: 尿細管上皮. $\times 50,000$.

写真3. アミロイド前期. 結節状ないし層状に肥厚した基底膜(B). 増殖した線維芽細胞様細胞(F)は基底膜に接近する. Ep: 尿細管上皮. $\times 10,800$.

写真4. アミロイド前期. 尿細管上皮(Ep)の基底膜は層状の基底膜様物質(B)と小胞, 小顆粒状の細胞質崩壊物(Cd)を含む構造物で包まれる. F: 線維芽細胞様細胞. $\times 11,400$.

写真5. アミロイド前期. 線維芽細胞様細胞(F)の近くにみられる microfibril(m)を含む濃厚な無定形物質(A)の集積. その周囲に細いコラーゲン線維(Co)が散在する. $\times 18,500$.

写真6. アミロイド前期. 大食細胞(M)の巣状増殖. B: 基底膜, Ep: 尿細管上皮, C: 毛細血管. $\times 8,100$.

写真7. アミロイド沈着初期の電子顕微鏡写真トレース図. アミロイド(黒色)は尿細管(Ep)や毛細血管(C)の基底膜(点)に沈着. とくに外側の線維芽細胞様細胞(F)に接して沈着が著明である. Co: コラーゲン線維.

写真8. 間質に増殖した線維芽細胞様細胞(F)の表面におけるアミロイド細線維(Af)の出現. Ep: 尿細管上皮, B: 基底膜, C: 毛細血管. $\times 50,000$.

写真9. 尿細管上皮(Ep)の基底面とそれに接近する線維芽細胞様細胞(F)の間に沈着したアミロイド細線維(Af). その中に基底膜様物質(B)が残存. $\times 16,800$.

写真10. アミロイド細線維(Af)は線維芽細胞様細胞(F)から尿細管上皮(Ep)の多層化した基底膜(B)の外側にかけて多くみられ, 内側に向かって減少する. $\times 19,500$.

写真11. 巣状増殖を示す大食細胞(M). アミロイド細線維(Af)は線維芽細胞様細胞(F)の突起に囲まれてみられる. $\times 9,400$.

写真12. アミロイド沈着期における大食細胞 (M). 細胞外には多量のアミロイド細線維 (Af) がみられ, 大食細胞の胞体内にアミロイド様の細線維を含む封入体 (I) がみとめられる. $\times 12,500$.

写真13. 進行したアミロイド沈着期. 線維芽細胞様細胞 (F) と多数の萎縮状の細胞断片がみられる. Ep : 尿細管上皮, B : 基底膜, C : 毛細血管, Af : アミロイド細線維. $\times 5,700$.

写真14. 尿細管上皮 (Ep) 基底部に沈着したアミロイド細線維 (Af). ルテニウムレッド染色, アミロイド細線維は上皮細胞基底面から深く陥入する. 基底膜は消失. $\times 20,800$.

写真15. 線維芽細胞様細胞 (F) にみられるアミロイド細線維の陥入 (矢印). $\times 15,000$.

写真16. 間質に沈着したアミロイド. ルテニウムレ

ッド染色, アミロイド細線維 (Af) はルテニウムレッドに親和性を示すが, 細線維の横断面では陽性物質は線維の表面に存在することが示される. (挿入図, 矢印 $\times 100,000$). アミロイド細線維間に網状のフィラメント (f) がみとめられる. $\times 36,000$.

写真17. 線維芽細胞様細胞 (F) 周辺に増加したコラーゲン線維 (Co) とアミロイド細線維 (Af). $\times 24,000$.

写真18. 細静脈におけるアミロイド沈着. 内皮細胞 (En) の肥厚した基底膜 (B) の内, 及び平滑筋細胞 (S) の周囲にアミロイド細線維 (Af) の沈着がみられる. Ad : 外膜細胞. $\times 15,600$.

写真19. 細動脈におけるアミロイド沈着. 中膜平滑筋細胞 (S) の間及び平滑筋細胞と外膜細胞 (Ad) との間にアミロイド細線維 (Af) が沈着. En : 内皮細胞, El : 内弾力板. $\times 9,700$.

Abstract

The pathogenesis of amyloidosis was studied electron microscopically in the renal interstitium of casein-injected mice. The noticeable findings prior to amyloid deposition were interstitial edema, accompanied by thickening of the tubular and vascular basal lamina, and by proliferation of interstitial cells and macrophages. With reduced edema, collagen formation was observed around the interstitial cells which transformed to fibroblast-like cells.

The initial deposit of amyloid fibrils was found also in close contact with the fibroblast-like cells. The tubular basal lamina was intensively infiltrated by amyloid fibrils, particularly from the portion facing the fibroblast-like cells lying close to the basal lamina. Only when amyloid deposition was advanced, macrophages contained small amounts of amyloid fibrils in the intracytoplasmic vacuoles or lysosomal bodies. These observations support the view that initial edema stimulates the interstitial cells to produce extracellular matrices and subsequently amyloid fibrils.

