

マウスにおけるブレオマイシン肺線維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: 木田, 厚瑞 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/4602 |

マウスにおけるブレオマイシン肺線維症の 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）

木 田 厚 瑞

（昭和50年1月9日受付）

本論文の一部は、1974年7月 第6回結合組織研究会総会において発表した。

ブレオマイシン（以下 BLM と略す）は抗癌剤として臨床的に広く使用されているが、副作用として肺線維症が発生することが知られている。BLM による肺病変は、その使用量、使用期間により、又、人体例と動物実験とは若干の差異はあるが、一般に胸膜下の肺胞壁に最も強く発生し、初期には間質及び肺胞腔の漿液性水腫がおこり、次第に線維化に導かれる一種の間質性肺炎であるとされている^{1)~10)}。しかし、ブレオマイシン肺線維症の電子顕微鏡的研究は甚だ少ない。最近、Bedrossian ら⁹⁾は3例の剖検例について電顕的観察を行い、これまでの光顕的所見を裏付ける成績を報告している。いずれにしても BLM による肺病変は間質の水腫に続発する間質性肺炎であることは多くの研究者の一致した見解であるが、線維化の機序に関する解析はほとんど行なわれていない。そこで、著者はマウスにおけるブレオマイシン肺線維症の電顕的観察を行い、その発生機序を解明しようと試みた。

本研究では BLM 注射によって、胸膜及びそれに近接する肺胞中隔の水腫につづいて胞隔細胞 (septal cell) が増殖し、コラーゲン線維と弾力線維の形成がおこることが観察された。これらの所見に基いて、特に胞隔細胞が線維形成に果たす役割について考察を加える。

実験材料および実験方法

ICR 系雄マウス（体重30~40g）を2群に分け、第1群(55匹)には BLM 生食水溶液を 10 μ g/g 連続10日間腹腔内注射し、第II群(25匹)には同様な処置を施し2~3ヶ月後、さらに同じ量を10回注射した。両群とも対照として生食水のみを腹腔内注射した。I、

II群とも最終注射後、1、2、4、6、8、20、48週目に屠殺した。光顕的観察のため、一側の肺を10%中性ホルマリンで固定、パラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオジン、アザン、エラスチカ・ワンギーソン染色を施した。電顕試料作成のためには、剔出肺を直ちに2.5%グルタルアルデヒド(0.05Mカコジル酸ソーダ緩衝液、pH7.4)に浸漬、細切し、同固定液で1時間固定し、さらに2%オスミウム酸(0.05Mカコジル酸ソーダ緩衝液、pH7.4)4 $^{\circ}$ C、1時間、後固定し、エタノール系列で脱水、Epon812で包埋した。一部の組織は Luft の変法¹⁰⁾によりルテニウムレッド処理を行った。

試料は LKB ウルトロトームでガラスナイフを用いて超薄切片を作製し、ウラニール、鉛の重染色を行った。超薄切片は HU-11DS型(75kV)、JEM-100B型(80kV)電子顕微鏡を使用し直接倍率2,700~24,000倍で観察した。

成 績

I. 対照群

ブレオマイシン肺線維症は胸膜下に最も著明に発生するので、ここでは主として胸膜とそれに接する肺実質の構造について記載する。

臓側胸膜は一層の中皮細胞で被われ、中皮細胞基底膜下に連続性の弾力板が存在する。弾力板と肺実質の間には狭い疎性結合織が介在し、肺胞中隔に移行している(写真1)。このように、マウスにおいては胸膜固有組織と肺実質との境界は不明瞭であるが、ここでは便宜上、中皮細胞と弾力板を含めて胸膜とみなし、弾力板と肺実質間の結合組織を胸膜下結合組織、肺胞間の結合組織を肺胞中隔と呼ぶことにする。

Electron microscopic studies on Bleomycin-induced pulmonary fibrosis of mice
Kouzui Kida, Department of Pathology (I), (Director : Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

胸膜：胸膜の外側は一層の扁平な中皮細胞で被われる。中皮細胞の遊離縁には多数の微絨毛が存在し、隣接する細胞の接着面には処々 "tight junction" 様の構造がみられる。核は楕円形で陥入を示す。細胞質は滑面小胞体に富み、そのほか糸粒体、粗面小胞体、ゴルジ装置、遊離リボソーム、細胞質フィラメントや微細小管などが同定される。基底面は連続した基底膜（幅約1000Å）で被われ、基底面との間に狭い *l. lucida*（幅約250Å）が識別される。

基底膜に接して弾力板（幅約500nm）が存在する。その下に弾力板に沿って胞隔細胞の細長い突起がみとめられる。突起と弾力線維との間に時々 microfibril がみとめられる。中皮細胞と弾力板との間には細胞成分はみとめられない。

胸膜下結合組織：胸膜弾力板と肺胞壁の間を占める狭い空間で、少数の紡錘形細胞、コラーゲン線維、microfibril 及び礎質から成る。紡錘形細胞は弾力板に沿って配列し、下方のコラーゲン線維束を囲むように細長い突起を伸ばしている。この細胞は後述の肺胞中隔に散在する胞隔細胞 (septal cell) と同様な構造を有するので、本論文では胞隔細胞と同一の細胞として取り扱うことにする。コラーゲン線維は礎質の中に散在性にみとめられるが、処々線維束が形成される。線維束の周囲には microfibril が集積する。礎質は微粒子と微細フィラメントからなる網状構造としてみとめられる。

肺胞及び肺胞中隔：肺気腔の構造についてはこれまでの報告と同様であるので¹²⁾¹³⁾、ここでは特に付言することはない。肺胞は連続性の基底膜で包まれ、上皮細胞には I 型及び II 型の細胞が区別される。肺胞中隔の広さは場所によって様々で、狭い処では肺胞基底膜と毛細血管基底膜が融合し、胞隔細胞や線維成分は介在しない。肺胞中隔の広い部分には毛細血管、胞隔細胞、コラーゲン線維、弾力線維及び礎質が存在する。肺胞管より末梢部分に平滑筋細胞がみられることはない。胞隔細胞は細長い紡錘形細胞としてみとめられ、肺胞及び毛細血管の基底膜に沿って突起を伸ばしている。核は楕円形で、細胞小器官の発育は乏しく、少数の粗面小胞体、滑面小胞体、ゴルジ装置、糸粒体が同定されるが、脂肪滴の存在は特徴的である。又、細胞質フィラメントがかなりしばしばみとめられる。

毛細血管は互いに密着する扁平な内皮細胞で被われ基底膜で包まれている。処々に基底膜で包まれた周細胞が存在するが、上述の胞隔細胞の突起の断面と区別しにくい場合がある。

II. プレオマイシン投与群

実験 I, II 群を病理組織学的に比較すると、II 群において線維症がやや高度にみとめられたが、本質的には両群とも同様であったので、一括して記載する。

光顕的観察によると肺線維症は胸膜下からそれに接する肺実質に散在性に発生することが示される（写真 2）。その程度は一般に II 群に強い傾向があったが、個体差がかなり著しく、長期観察例においても線維症は顕著でない例があり、病変の進展と注射量や観察期間とは必ずしも平行しない。そこで、電顕的研究においては多数の症例の観察結果を総合、整理することによって、線維症の過程を推定した。

1. 初期変化

プレオマイシン投与による初期変化は間質の水腫である。水腫は細胞間を満たす低電子密度の絮状物質としてみとめられる。水腫は胸膜に近い肺胞中隔から中皮細胞直下まで広がる。特に胸膜及び胸膜下結合組織の水腫は著明である。処々中皮細胞直下に水泡状の水腫液の貯溜がみられることがある。中皮細胞は扁平化し、微絨毛は減少する。基底膜は菲薄となり、*l. lucida* は拡大し、基底膜の剥離又は消失がみられる（写真 3）。弾力板は処々に断裂がおこる。水腫の比較的軽度な部分では中皮細胞は多少とも腫大し、滑面小胞体と粗面小胞体が増加する。細胞表面には多数の突起や陥凹が生ずる。特に細胞基底面の小突起が目立ち、基底膜は肥厚又は多層化を示す。

肺胞中隔も、水腫によって拡大しコラーゲン線維の疎散がみられる。しかし、肺胞が近接し、基底膜が融合した部分では肺胞中隔の拡大はみられない。毛細血管及び肺胞の基底膜は様々な程度に肥厚する。毛細血管内皮細胞は腫大し、血管腔が著しく狭められる。腫大した内皮細胞には滑面小胞体と粗面小胞体の増加がみられる（写真 4）。しかし、内皮細胞間の開孔は見出されない。一方、毛細血管のあるものは拡大し、血管腔に血漿を満たし、栓球からなる血栓がみとめられることがある。肺胞上皮細胞の変化は乏しく、処々 II 型上皮細胞の腫大と cytosome の増加がみられる。

胸膜下結合組織の水腫状間質には大食細胞が散在性にみとめられ、断裂した弾力板を通して、胸膜に浸潤する（写真 5）。大食細胞は細胞表面の偽足様突起、豊富な dense body と滑面小胞体によって同定される。そのほか、リンパ球やプラズマ細胞がみとめられることがあるが、好中球の浸潤はほとんどみられない。

2. 線維症の進展

1) 細胞反応

水腫の減退と共に胞隔細胞の増殖が次第に顕著となる。胸膜下結合組織とそれに近接する肺胸中隔に増殖した胞隔細胞は、後述のように、活発な線維形成を営み胸膜弾力板を破って胸膜内に侵入する。

増殖初期の胞隔細胞は延長した細胞としてみとめられ、胸膜弾力板及び肺泡や毛細血管の基底膜に沿って長い突起をのばしている。その表面は処々基底膜様物質で被われる。正常の胞隔細胞に比べて細胞質は広く、小器官は豊富で、とくに粗面小胞体、滑面小胞体及びゴルジ装置の発育が目立ち、ポリゾームが増加する。少数の dense body がみられることがある。数個の脂肪滴の存在がこの細胞を同定する有力な形態学的特徴を与える(写真5, 6)。細胞突起は小器官が乏しく、少数の小胞と遊離リボゾームが散在性のみられるにすぎない。

胸膜下結合組織に増殖した胞隔細胞は、しばしば相互に、又は、大食細胞や未分化の間葉細胞と接着して存在する(写真6)。未分化の間葉細胞は楕円形又は陥入のある核を有し、核小体が明瞭で、細胞質には小器官の発育が乏しい(写真7)。このような細胞は未熟な大食細胞か、胞隔細胞かを決定することは困難である。

細胞間物質の増加とともに、胞隔細胞は粗面小胞体の発育がより顕著となり、線維芽細胞様の構造を示すことがある(写真8)。粗面小胞体は互いに吻合した cisternae を形成し、ポリゾームが豊富でゴルジ装置の発育も良好である。粗面小胞体とゴルジ空胞の中に無定形物質をいれ、粗面小胞体とゴルジ小胞との連続がみられることがある。脂肪滴は減少または消失する。

一方、胞隔細胞のあるものでは、粗面小胞体の減少、滑面小胞体の相対的増加及び細胞質の中心部から microfilament の集束が増加することによって、平滑筋細胞様の細胞に変形する。脂肪滴は完全に消失する(写真9, 10)。このような胞隔細胞から変化した細胞と定型的な平滑筋細胞との間にさまざまな中間型を追求することができる(写真9-11)。すなわち、胞隔細胞の細長い細胞突起は次第に失われ、不規則な突出を示す延長した細胞から紡錘形の細胞へと変形し、細胞は基底膜で被われるようになる。細胞質の microfilament はますます増加し、細胞の長軸に平行に走る集束をつくり、遂に細胞質の大部分を占める。集束の処々にいわゆる dense body が出現し、筋原線維の形態を備えるようになる。同時に、他の小器官は減少し、核周囲及び細胞質周辺に糸粒体、小胞体、リボゾームが限局性に存在する。細胞膜に接して

pinocytic vesicle がみとめられる。時々、細胞質周辺に滑面小胞体の増加や(写真10)、粗面小胞体の拡大がみられることがある(写真11)。

2) 細胞間質

水腫の消退とともに、増殖した胞隔細胞の周囲に microfibril と濃厚な無定形物質の集積が目される(写真12, 13)。無定形物質は構造的に基底膜と類似し、しばしば中皮細胞、毛細血管又は肺泡の肥厚した基底膜と連続している(写真12)。microfibril は直径約150Åの細線維で、処々70-100Åの間隔で濃淡がみられる。横断面では中空状にみえる。空の直径は約100Åで、壁は最高5個の粒子状物質(直径約30Å)から構成されているようにみえる(写真15)。

胞隔細胞の表面には、上述の無定形物質の中に細い弾力線維(直径400~800Å)が散在性のみとめられる(写真13)。これらの線維はその大きさ及び位置から、新生初期の弾力線維と考えられる。弾力線維の表面は microfibril で囲まれることが多いが、細い線維では無定形物質の中に包埋され、microfibril を欠いている(写真13)。成熟するとともに、弾力線維は細胞表面から離れ、直径を増し、その周囲は無定形物質の代りに microfibril で囲まれる。

一方、microfibril 内に周期性横紋を示すコラーゲン線維が形成される。コラーゲン線維は細胞表面から少しく離れた部位に散在性に出現する。直径は約400Åで500~700Å周期の横紋がみられる(写真14, 16)。線維の数と直径が増加するに従って、線維は互いに平行に配列して線維束を形成する。コラーゲン線維の直径は約600Åで約700Å周期の横紋がみられる。コラーゲン線維の成熟とともに microfibril は減少するが、線維束の周囲には microfibril が残存している。

胸膜下結合組織に増殖した胞隔細胞は胸膜弾力板を破って胸膜内に侵入し、水腫状の胸膜間質は下方から次第に線維成分で置換される(写真16, 17)。線維化が進行すると、胸膜弾力板は分断され、中皮細胞直下から肺泡に至る間質は弾力線維をまじえた多量のコラーゲン線維で占められる(写真17)。

線維成分の新生と成熟は、既述の胞隔細胞の平滑筋細胞への変形とほぼ平行して行なわれるようにみえる。無定形物質、microfibril、弾力線維及びコラーゲン線維の新生は、胞隔細胞又は胞隔細胞と平滑筋細胞との中間型の細胞の表面に最も活発にみとめられる(写真6, 9-11, 13, 14, 16)。細胞が平滑筋細胞の特徴を備えるに従って、無定形物質や microfibril は減少し、細胞表面には microfibril を伴った弾力線維が存在し、細胞間には成熟したコラーゲン線維束で満

たされる(写真10, 11, 14, 16, 17).

考 察

I. プレオマイシン肺線維症の進展の様式

本研究における主要な所見は、プレオマイシン注射によって、胸膜、胸膜下結合組織及びそれに近接する肺胞壁の水腫がおこり、次いで胞隔細胞の増殖に伴ってコラーゲン線維と弾力線維が形成され線維症へと進展するということである。この成績は従来報告とほぼ一致する^{2)-4) 6)-10)}。従来の研究では病変の程度が一般に強く、初期変化として間質の水腫のほか、肺胞内の滲出、上皮細胞の反応、間質の炎症性細胞の遊走などが観察されており、線維化はこれらの滲出物の器質化の結果であると解釈されている。Fleischman ら²⁾はイヌを用いた実験的プレオマイシン肺線維症の観察において、初期におこる肺胞大食細胞の反応を重視している。

本研究では、間質や肺胞内の炎症性反応は甚だ乏しく、間質の水腫につづいて緩慢に進行する間質線維症がおこることが観察された。すなわち、ここにみられたプレオマイシン肺線維症は炎症に続発する肉芽性病変の結果ではなく、いわゆる水腫性硬化(Ödemsklerose)に類似した病変として進展するものと理解されるのである。このような差異はBLMの使用量、観察期間及び動物種の差異に基づくものと思われる。剖検例においても、軽症例では病変は胸膜下に沿った部位に局限し、間質水腫から線維症に進展することが観察されている⁴⁾。

プレオマイシン肺線維症が胸膜下に強く発生することは光顕的研究によって明らかにされているところである³⁾⁴⁾⁶⁾⁷⁾。本研究においても初期変化としての水腫は胸膜及び胸膜下結合組織に特に顕著であり、線維症は胸膜下に局限して発生することが確められた。胸膜下水腫の発生原因は明らかではないが、様々な肺病変において、しばしば胸膜下水腫がおこることが報告されており¹⁴⁾⁻¹⁶⁾、この現象はおそらく、胸膜下のリンパ管系の解剖学的分布と密接な関係があるものと推定される¹⁷⁾。

水腫の高度な場合には、礎質の正常構造は破壊され、中皮細胞の*l. lucida*の開大、基底膜の菲薄化、剥離、断裂及び消失がみられた。急性期には間質の水腫液は基底膜を通過し、*l. lucida*に貯溜する結果、基底膜が破壊されるものと思われる。水腫の比較的軽度な部分では中皮細胞基底膜の肥厚や多層化がみられる。この現象は胞隔細胞の胸膜への侵入がない時期に既にみとめられるので、中皮細胞による基底膜

の産生が亢進した結果であると解釈される。中皮細胞にリボゾーム、粗面小胞体の増加がおこり、基底面に多数の細胞質突起がみられることは、細胞の活性の亢進を示唆している。同様の現象は肺胞毛細血管にもみられる。このような基底膜の肥厚や多層化は、水腫によって障害された基底膜の再生を表わしているものと解釈される。

胞隔細胞は水腫の消退と共に増殖を始め、後述のように線維化の時期まで増殖をつづける唯一の細胞であり、細胞間マトリックスの形成に最も密接な関係をもつ細胞であると考えられる。おそらく、水腫によって障害された細胞間マトリックスの修復現象として胞隔細胞の増殖が促進されるものと推定される。プレオマイシン肺線維症が胸膜下に限局性に発生するのは、ここに最も強い水腫がおこるため、胞隔細胞の活発な増殖が要求される結果であろう。大食細胞は病変の初期に増加するが、線維症の進展とともに急速に減少する。初期に増殖する大食細胞は水腫によって破壊された細胞間マトリックスの処理にあずかるものと考えられる。

II. 胞隔細胞

胞隔細胞は正常動物においては肺胞中隔及び胸膜弾力板直下に、小器官に乏しい細長い細胞として存在する。この細胞の生理的機能や起源についてはほとんど解明されていない。形態学的類似性から、漠然と線維(芽)細胞として取り扱われている¹⁸⁾⁻²⁰⁾。胞隔細胞は、正常の肺胞中隔、胸膜下結合組織における主要な細胞成分であり、コラーゲン線維や弾力線維との密接な位置関係から、細胞間マトリックスの産生細胞であろうと推定される。

Curry ら²¹⁾は胞隔細胞に、脂肪滴をもつ線維芽細胞様細胞と、脂肪滴をもたない淡明な細胞の2種類が区別されることを報告している。同様に、Yu ら²²⁾は生下時ラット肺の発育過程を電顕的に観察し、胞隔細胞は立方形の淡明な細胞質をもつ未分化間葉細胞から分化し、紡錘形細胞に変形すると共に脂肪滴が出現し、コラーゲン線維や弾力線維の形成能をもつようになることを述べている。本研究においても、胞隔細胞の増殖初期に胞隔細胞と接触しながら増殖する未分化な間葉細胞が観察された。しかし、このような未分化な細胞は胞隔細胞へ分化するのか、又は他の細胞、例えば大食細胞へ分化するのかは未決定である。

間質性肺炎において胞隔細胞が増殖することは多くの研究者によって指摘されている²³⁾⁻²⁵⁾。本研究においても胞隔細胞の増殖が観察されたが、最も注目すべき点はこの細胞が線維芽細胞様細胞から平滑筋細胞様の

細胞に変形し、同時にコラーゲン線維と弾力線維とが形成されることである。増殖初期の胞隔細胞は粗面小胞体とゴルジ装置の発育が良好で線維芽細胞に類似した形態をとる。しかし、脂肪滴が残存し、粗面小胞体の拡大が少なく、時々細胞表面に基底膜様物質がみとめられることから定型的な線維芽細胞と区別される。細胞間に線維形成が進行するに従って、細胞は延長した紡錘形細胞に変わり、粗面小胞体の減少と細胞質の microfilament の増加及び基底膜の出現と共に、次第に平滑筋細胞に類似した形態を示すようになる。線維化が進んだ胸膜下結合組織にしばしば定型的な平滑筋細胞が見出される。肺の様々な慢性疾患、例えば肺気腫において、平滑筋細胞が増殖することはよく知られた事実であるが²⁶⁾、その起源については十分明らかにされてはいない。生理的に存在する血管、細気管支、リンパ管周囲の平滑筋細胞が増殖する可能性は否定されない。しかし、正常マウスの胸膜及び胸膜下結合組織には平滑筋細胞は見出されないで、ブレオマイシン肺線維症において増殖した胸膜下の平滑筋細胞の大部分は上述の胞隔細胞に由来するものと推定される。

Kapanci ら²⁷⁾は胞隔細胞に含まれる細胞質フィラメントがアクチン様タンパクから成ることを述べている。さらに、肉芽組織に増殖する線維芽細胞にも蛍光抗体法や薬理的反応の結果から actomyosin が含まれていることが推定されている^{28)~30)}。超微構造的にも、平滑筋細胞と線維芽細胞との中間型を示す細胞が、幼若動物の大動脈³¹⁾、動脈硬化症³²⁾、卵巣の theca externa³³⁾、エストロゲンで刺激された子宮筋層³⁴⁾、肉芽組織²⁸⁾などに見出され "myofibroblast"²⁸⁾³⁰⁾³¹⁾³³⁾ 又は "intermediate smooth muscle cell"³²⁾ と呼ばれている。

これらの所見を総合すると、線維芽細胞と平滑筋細胞は形態学的にも機能的にも近縁の関係にある細胞であると考えられる。一般には組織の生理的機能の要求に応じて、線維芽細胞又は平滑筋細胞の性格のいずれかがより優勢であるが、刺激が加わると両者は互いに移行しうるものと考えられる。胞隔細胞は生理的状态においても線維芽細胞と平滑筋細胞との中間的性格をもついわゆる "myofibroblast" に属し、刺激によって線維芽細胞又は平滑筋細胞に分化し、細胞間マトリックス形成にあずかる細胞として働くものと考えられる。平滑筋細胞は線維芽細胞と同様にコラーゲン線維と弾力線維を形成する能力をもっているが、特に弾力線維の有力な形成細胞であることが知られている³⁵⁾。ブレオマイシン肺線維症においてはコラーゲン線維と同

時に多量の弾力線維の新生がおこるのは、そこに増殖する胞隔細胞が平滑筋細胞の性格を持っていることに起因するものと思われる。

Ⅲ. 線維形成

増殖初期の胞隔細胞の表面には基底膜様の無定形物質と microfibril の集積がみられ、次いで弾力線維とコラーゲン線維が、その中に形成される。この過程は、胞隔細胞が平滑筋細胞様に変形する間に最も活発にみとめられる。堀¹¹⁾は創傷治癒に増殖する線維芽細胞の表面に基底膜様の無定形物質が集積し、その中に microfibril、次いでコラーゲン線維が出現すると共に無定形物質が減少すること、及びラジオオートグラフィにより H³-プロリンのラベルがみとめられることから、この無定形物質の中にコラーゲン前駆物質が含まれているものと推定している。本研究においてもほぼ同様なコラーゲン線維の形成過程が観察された。コラーゲン線維は microfibril とともに出現し、線維の成熟とともに microfibril が減少するので、microfibril の少なくとも一部はコラーゲン性であると思われる。しかし、microfibril の総てがコラーゲン性であるか否かは甚だ疑問である。成熟したコラーゲン線維束はしばしば microfibril で包まれ、又、次に述べる弾力線維の周囲にも microfibril の著明な集積がみられる。これらの microfibril はコラーゲン線維との間に形態的な移行はなく、コラーゲンと異なった物質である可能性が大きい。

手塚ら³⁶⁾は培養線維芽細胞のコラーゲン合成能はブレオマイシンによって増強することを示唆している。一方、市橋ら³⁷⁾は BLM 処置マウス皮膚から培養した線維芽細胞について、コラーゲン合成能は正常であるが、コラーゲナーゼ活性が低下していることを報告している。ブレオマイシン肺線維症がコラーゲン産生の亢進によるのか、分解の低下によるのかは形態学的には決定できないが、BLM とコラーゲン代謝との関係は今後に残された興味ある問題であろう。

ブレオマイシン肺線維症において注目される所見は弾力線維の形成である。弾力線維は平滑筋細胞様細胞に変形したの胞隔細胞の表面に多数の microfibril と共に新生される。microfibril とエラスチンとの関係は現在未解決である。幼若弾力線維は多量の microfibril で包まれ、弾力線維が成熟するとともに microfibril が減少するので、microfibril にエラスチン前駆物質が含まれているとする見解がある³⁸⁾。しかし、Bouissou ら³⁹⁾は生化学的検査から弾力線維周囲の microfibril はエラスチンともコラーゲンとも異なった糖タンパクから構成されていることを報告

している。

著者の観察では、平滑筋細胞様細胞の表面に出現する微小な弾力線維が細胞表面の無定形物質の中に包埋されている像に遭遇した。同様な所見はニワトリ胚大動脈中膜の平滑筋細胞から新生される弾力線維においても観察されている³⁵⁾。これらの所見から細胞表面の無定形物質の中にエラスチン前駆物質が含まれている可能性が考えられる。

以上のようにコラーゲン線維も弾力線維も胞隔細胞及びそれから変化した平滑筋細胞様細胞によって産生されることが示唆されるが、この2つの相異なるタンパクがそれぞれどのような機構で合成、分泌されるかについては不明である。コラーゲン線維と弾力線維は同一の細胞からほとんど同時に形成されるように見える。しかし、1個の細胞表面のある部分ではコラーゲン線維、他の部分では弾力線維の新生が優勢で、両種の線維が混在して形成されることはほとんどない。この理由については明らかではないが、コラーゲンとエラスチンの前駆物質が別々の細胞内 pathway をもつのか、又は分泌の時期が異なるのか、さらに、細胞表面で一方の線維の形成が進行すると、他方の線維の形成が抑制されるのか、さまざまな可能性が考えられる。これらの諸問題の解明は今後の研究にまたなければならない。

結 論

プレオマイシンの腹腔注射によるマウスの肺線維症の発生過程を電顕的に観察した。プレオマイシンによる肺線維症は主として胸膜、胸膜下結合組織及びそれに近接する肺泡中隔に発生した。初期変化としてこれらの部位における間質水腫が目された。炎症性反応は一般に乏しく、大食細胞の浸潤がみとめられたに過ぎない。水腫の消退と共に、中皮細胞、毛細血管及び肺泡の基底膜が肥厚し、胞隔細胞の増殖がみとめられた。増殖した胞隔細胞は始めは線維芽細胞に類似した構造を示すが、次第に平滑筋細胞様の細胞に変形することが示唆された。これらの胞隔細胞の表面には基底膜様の無定形物質と microfibril の集積を伴って、コラーゲン線維と弾力線維の新生が観察された。以上の所見から、プレオマイシン肺線維症は間質水腫に続発する胞隔細胞の増殖によって形成される間質の fibroelastosis であると結論された。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜りました梶川欽一郎教授に深謝の意を捧げます。また、終始御親切な御助言を頂きました北川正信助教授に心から感謝の意を表します。また本研究遂行に際して御協力を頂きました第一病理学教室員各位、第三内科教室員各位ならびに電子顕微鏡技術員の方々に厚く御礼申し上げます。

本研究は文部省科学研究費（課題番号837005）の援助を受けた。

文 献

- 1) 森久博司：米子医誌，21，125 (1970).
- 2) Fleischman, R. W., Baker, J. R., Thompson, G. R., Schaeppi, U. H., Illievski, V. R., Coorey, D. A. and Davis, R. D. : Thorax 26, 675 (1971).
- 3) 金子 仁：臨婦産，25，449 (1971).
- 4) 岡村明治：日胸疾会誌，11,270 (1973).
- 5) 大和田英美，香月秀雄，林 豊：肺癌，10，170 (1970).
- 6) 岩井和郎，初鹿野浩：日病会誌，59，131 (1970).
- 7) 高頭正長，伊藤慶夫，近藤有好，木下康民，岡村明治，菊地陌夫，山崎雅司：日胸，31，481 (1972).
- 8) 近藤有好，高頭正長，荻間 勇，木下康民，菊井邦夫，岡村明治，山崎雅司，菊地陌夫：日胸，31，111 (1972).
- 9) Bedrossian, C. W. M., Luna, M. A., Mackay, B. and Lichtiger, B. : Cancer, 32, 44 (1973).
- 10) Luna, M. A., Bedrossian, C. W. M., Lichtiger, B. and Salem, P. A. : Amer. J. Clin. path., 58, 501 (1972).
- 11) 堀 功：十全医会誌，83，379 (1974).
- 12) Meyrick, B. and Reid, L. : Brit. J. Dis. Chest., 64, 121 (1970).
- 13) Karrer, H. E. : J. Biophysic. Biochem. Cytol., 2, 241 (1956).
- 14) Meyrick, B., Miller, J. and Reid, L. : Brit. J. exp. Path., 53, 347 (1972).
- 15) Doniach, J., Morrison, B. and Steiner, R. E. : Brit. Heart J., 16, 101 (1954).
- 16) Graham, J. R., Suby, H. I., LeCompte, P. R. and Sadowsky, N. L. : New Eng. J. Med., 274, 359 (1966).
- 17) Lauweryns, J. M. and Boussauw, L. : Lymphology, 2, 108 (1969).
- 18) Ryan, S. F. : Anat. Rec., 165, 467 (1969).
- 19) Low, F. N. : Anat. Rec., 117, 241 (1953).

- 20) Cottrell, T. S., Levine, O. R., Senior, R. M., Wiener, J., Spiro, D. and Fishman, A. P. : *Circ. Res.*, 21, 783 (1967).
- 21) Curry, R. H., Simon, G. T. and Ritchie, A. C. : *J. Ultrastruct. Res.*, 28, 335 (1969).
- 22) Yu, S. Y. and Sun, C. N. : *Cytologia*, 37, 399 (1972).
- 23) Brooks, R. E. : *Lab. Invest.*, 25, 536 (1971).
- 24) Kaplan, H. P., Robinson, F. R., Kapanci, Y. and Weibel, E. R. : *Lab. Invest.*, 20, 94 (1969).
- 25) 大石隆夫 : *慶応医学*, 51, 45 (1974).
- 26) Liebow, A. A., Loring, W. E. and Felton, W. L. : *Amer. J. Path.*, 29, 885 (1953).
- 27) Kapanci, Y., Assimacopoulos, A., Irle, C., Zwahlen, A. and Gabbiani, G. : *J. Cell Biol.*, 60, 375 (1974).
- 28) Gabbiani, G., Hirschel, B. J., Ryan, G. B., Statkov, P. R. and Majno, G. : *J. Exp. Med.*, 135, 719 (1972).
- 29) Hirschel, B. J., Gabbiani, G., Ryan, G. B. and Majno, G. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, B8, 466 (1971).
- 30) Majno, G., Gabbiani, G., Hirschel, B. J., Ryan, G. B. and Statkov, R. R. : *Science*, 173, 548 (1971).
- 31) Moss, N. S. and Benditt, E. P. : *Lab. Invest.*, 22, 166 (1970).
- 32) Scott, R. F., Jones, R., Daoud, A. S., Zumbo, O., Coulston, F. and Thomas, W. A. : *Exptl. Mol. Path.*, 7, 34 (1967).
- 33) O'Shea, J. P. : *Anat. Rec.*, 167, 127 (1970).
- 34) Ross, R. and Klebanoff, S. J. : *J. Cell Biol.*, 32, 155 (1967).
- 35) Takagi, K. : *Kumamoto Medical J.*, 22, 1 (1969).
- 36) 手塚統夫, 河井節子, 紺野邦夫 : 第29回癌学会総会記事, 234 (1970, 10).
- 37) 市橋正光, 新海 宏, 武井美保子 : *皮膚*, 14, 217 (1972).
- 38) Waisman, J. and Carnes, W. H. : *Amer. J. Path.*, 51, 117 (1967).
- 39) Bouissou, H. and Fabre, M. T. : *Eur. J. Biochem.*, 21, 507 (1971).

写 真 説 明

- 写真1. 対照群の胸膜 (P1) 及び胸膜下結合組織 (Sp). 中皮細胞 (Me) 直下に連続性の弾力板 (E1) が存在し, 小器官の乏しい胞隔細胞 (Se) が処々でコラーゲン線維束 (Cl) を取りまいている. Cap : 毛細血管, Al : 肺胞腔 ×10,800
- 写真2. 第1群4週目の肺線維症 (光顕写真). 胸膜下からそれに接する肺実質に及ぶ結合組織の増殖がみられる. Pl : 胸膜, H, E 染色 ×490
- 写真3. 第2群6週目にみられた初期変化. 胸膜 (P1) 及び胸膜下結合組織 (Sp) における水腫 (Ed). 中皮細胞 (Me) は扁平化し, 基底膜 (Bl) は菲薄となる. ×20,700
- 写真4. 第2群6週目. 毛細血管内皮細胞 (En) の腫大及び基底膜 (Bl) の肥厚があり, 胞隔細胞 (Se) の増殖がみられる. ×8,600
- 写真5. 第1群8週目. 断裂した弾力板 (E1) の間を通して大食細胞 (Mc), 胞隔細胞 (Se) が胸膜の水腫状間質 (Ed) に浸潤. Me : 中皮細胞, L : 脂肪滴 ×9,600
- 写真6. 第2群6週目. 増殖初期の胞隔細胞 (Se). 小器官の発達が目立ち脂肪滴 (L) が存在. 細胞表面は基底膜様の無定形物質 (Am) で被われている. 胞隔細胞は大食細胞 (Mc) と接している. ×7,400
- 写真7. 第1群8週目. 未分化な間葉細胞 (X) と胞隔細胞 (Se). 胞隔細胞の周囲には microfibril (Mf) を伴って弾力線維 (E1) とコラーゲン線維 (Cl) が形成. Me : 中皮細胞 ×11,000
- 写真8. 第1群1週目. 線維芽細胞様の胞隔細胞 (Se). 粗面小胞体 (rE) の発達が著明. L : 脂肪滴, Cap : 毛細血管 ×18,500
- 写真9-11. 第1群8週目. 平滑筋細胞への移行を示す胞隔細胞 (Se). 写真9 : 胞隔細胞の拡大した粗面小胞体と細胞質の microfibril (Mf) の増加. 細胞の周囲は新生コラーゲン線維 (Cl), 弾力線維 (E1) によって包埋される. Mf : microfibril ×13,000
- 写真10 : 細胞中心部から microfibril (Mf) の集束が増加. 細胞質に滑面小胞体 (sE) の増加がみられる. E1 : 弾力線維, Cl : コラーゲン線維 ×12,000
- 写真11 : 細胞周辺には拡大した粗面小胞体, 糸粒体, 滑面小胞体が集在する. 細胞質の大部分は microfibril (Mf) で占められ, 処々 "dense body" が出現し myofibril の形態に変わる. E1 : 弾力線維, Cl : コラーゲン線維 ×9,100
- 写真12. 第2群4週目. 胞隔細胞 (Se) 周囲の無定

形物質 (Am) は中皮細胞 (Me) の基底膜 (Bl) と連続している. $\times 24,000$

写真13. 第2群6週目. 胞隔細胞 (Se) 表面の無定形物質 (Am) の中に microfibril と弾力線維 (El) がみられる. 増加した弾力線維 (El) の周囲には microfibril (Mf) が増加. $\times 20,000$

写真14. 第1群8週目. 胞隔細胞 (Se) の表面に集積する microfibril (Mf) 内にコラーゲン線維 (Cl) が増加する. 胞隔細胞は平滑筋細胞への移行を示す. Ml : microfilament $\times 14,400$

写真15. 第2群6週目. microfibril の強拡大. 中空状の壁は最高5個の粒子状物質から構成される (矢印). $\times 124,800$

写真16. 第1群8週目. 肺胞間質は microfibril (Mf) と共に新生された弾力線維 (El), コラーゲン線維 (Cl) で満たされる. Se : 胞隔細胞 $\times 18,000$

写真17. 第1群8週目. 胸膜下結合組織. 線維成分の増加と胞隔細胞 (Se) に接して弾力線維 (El) がみられる. Me : 中皮細胞, Mc : 大食細胞, Cl : コラーゲン線維. $\times 12,000$

Abstract

Electron microscopic observation was made on the development of pulmonary fibrosis of mice following intraperitoneal injection of Bleomycin. Pulmonary lesions were largely located at the subpleural and adjacent interalveolar connective tissue. The prominent feature in the initial stage was interstitial edema without remarkable inflammatory response. Interstitial edema was followed by thickening of the basal lamina of mesothelial cells, blood capillaries and alveoli, and by proliferation of septal cells. The proliferated septal cells showed initially fibroblast-like structure, and were gradually transformed into smooth muscle-like cells.

Concomitant with the cellular transformation amorphous materials and microfibrils were accumulated on the cell surface, and subsequently these substances were replaced by newly formed collagen and elastic fibers.

From these findings it is concluded that pulmonary lesion following Bleomycin injection is interstitial fibroelastosis produced by septal cells which are subject to be transformed into smooth muscle-like cells.















