

壊血病モルモットにおける創傷治癒の電子顕微鏡的研究

金沢大学病理学第一講座 (主任：梶川欽一郎教授)

林 信 治

(昭和48年2月26日受付)

本研究の一部は第54回日本病理学会総会 (昭和40年)で報告した。

壊血病肉芽組織においてコラーゲン線維の形成が阻止されることは周知の事実である。しかし、線維形成の阻止の機序については不明な点が多い。従来の研究成績は線維芽細胞のコラーゲン合成に障害があるという説を支持しているが^{1)~3)}、酸性ムコ多糖の異常⁴⁾⁵⁾、線維芽細胞の成熟抑制⁶⁾、さらに既存のコラーゲン線維の維持の障害²⁾⁷⁾⁸⁾などが考慮されている。

形態学的には壊血病肉芽組織に増殖する線維芽細胞に特徴的な超微構造的变化がおこり、細胞間にはコラーゲン線維の代りに無定形物質の集積がみられることが確かめられている^{9)~12)}。又、ビタミンC (以下VCと略す) 投与によって、細胞構造の回復とともに細胞間の無定形物質は速やかに新生線維に置きかえられることが観察されている³⁾⁴⁾。しかし、このような細胞間物質の変化と細胞の機能障害との関係については十分な説明がついていない。

生化学的には壊血病肉芽組織ではヒドロキシプロリンが減少することは一般に認められた事実であるが、この所見がVC欠乏によってプロリンの水酸化が障害された結果か¹³⁾¹⁴⁾、又はコラーゲンの合成そのものの低下の結果であるのか¹³⁾については議論のある所である。

酸性ムコ多糖は線維形成に密接な関係があると考えられるので、その産生に関する知見は壊血病における病変の本態を理解するために重要である。しかし、壊血病における酸性ムコ多糖の産生については意見が一致していない。ヒアルロン酸が増加するという説^{17)~19)}、硫酸化ムコ多糖が低下するという説²⁰⁾²¹⁾、又、酸性ムコ多糖の産生には有意な変化はみられないという説⁴⁾が対立している。

VC欠乏が線維芽細胞以外の結合組織細胞に与える影響については未解決である。壊血病では出血の処理

に組織球の役割が重視され、その機能の障害は線維形成に必要な環境の異常をもたらすことが予想されるが、壊血病における組織球の研究はほとんど報告されていない。

又、壊血病にみられる出血性素因は一般に血管基底膜の形成不全に基づくものと考えられている^{22)~24)}。しかし近年、内皮細胞自体の変化が指摘され^{25)~28)}、壊血病における血管障害の機序について、なお検討すべき問題が残されている。

本研究は壊血病モルモットの創傷治癒の電顕の観察によって、VCが結合組織に及ぼす作用を理解する手掛りをうめる目的で計画されたもので、とくに線維芽細胞の形態学的変化と細胞間物質の形成障害との関係の解明に重点がおかれた。この目的のため、壊血病肉芽組織に増殖する線維芽細胞の変化と、それに伴う細胞間物質の状態及びVC投与によるその回復の過程を経時的に観察し、又、非創傷部における結合組織の変化とを比較検討した。さらに、VCが組織球の貪食機能や血管透過性に及ぼす影響についても若干の観察を行った。

実験材料及び実験方法

雄モルモット (体重600~700g) を表1に示すVC欠

表1 VC欠乏飼料 (1日量)

豆腐カス	100 g
玄米	10 g
粉碎わかもと錠 (わかもと製薬)	6 g
食塩	少々

乏飼料と十分な飲料水を与え飼養した。対照実験群には同一飼料と隔日にVC（田辺製薬KK製）30mgを腹腔内に注射した。

飼養後2週間目にモルモットの背部皮膚にカミソリで長さ約1cmの皮下組織に達する切創をつくり、創傷後3, 5, 7, 9日目の創傷部を検査材料とした。回復実験として壊血病モルモットの創傷7日以後毎日VC30mgを腹腔内注射し、注射後1, 4, 8, 12, 18, 24, 48時間目の創傷部を採取した。

肉芽組織細胞の食食及び血管透過性を調らるため、VC欠乏群及び対照群の創傷後3, 7日目の動物は屠殺前に5%デキストラン鉄（友田製薬KK製、以下IDと略す）を体重100g当り1mlを頸静脈に注射した。創傷後3日目の動物は屠殺15分前に、7日目は30分及び24時間前にIDを注射した。非創傷部の結合組織を検査するため耳翼皮膚をID注射45分後に採取した。

電顕試料の作製には細切した組織を2%オスミウム酸（ペロナール緩衝液pH7.4）で4°Cで固定し、アルコール系列で脱水しEpon 812で包埋した。VC欠乏創傷7日目と回復4時間目の材料の一部はLuft²⁹⁾法によるレテニウムレッド（以下RRと略す）処理を行なった。

超薄切片はガラスナイフを用いてLeitzウルトラミクロトーム、及びLKB-Ultratome Iで作製した。1 μ 切片をトルイジンブルーで染色し、光顕的観

察に用いた。超薄切片は酢酸ウラニール、硝酸鉛の重染色をし、日立HU-11型及び日本電子JEM-7型電子顕微鏡で直接倍率3,000~20,000倍で撮影した。

成 績

壊血病動物と対照動物の体重変化は図1に示す。壊血病動物では創傷後急速に摂食が低下し、運動が緩慢となり、血便が現われる。創傷縁の接着は悪く、出血性で、関節、歯肉、皮下組織に溢血がみられ、骨折がおこりやすくなる。

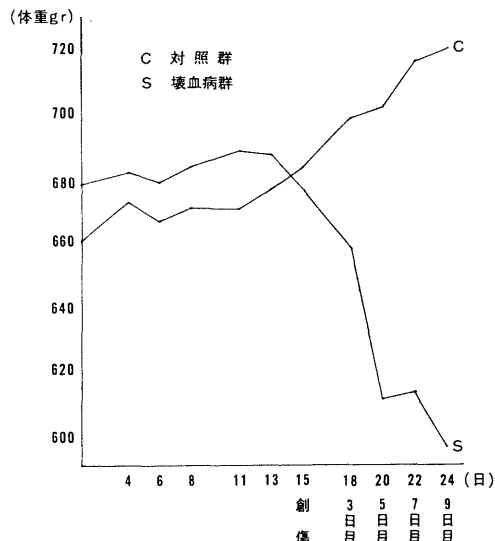
I. 創傷治癒

1. 対照群

3日目：創傷中心部にはフィブリン、赤血球、好中球をまじえた滲出液がみられ、その中に多数の組織球が同定される。組織球は滑面小胞体の發育、dense bodyや食胞の存在によって特徴づけられる。ときどき脂肪滴がみとめられる（写真1）。

線維芽細胞は創傷周辺から増殖を開始し、滲出液の中に遊走する。増殖初期の細胞では、細胞が互に接着し、ところどころdesmosome様構造がみられる。核は大きく著明な核小体を持ち、層板状に配列した粗面小胞体とゴルジ装置が特徴的に發育する。小胞膜表面や細胞基質には多数のポリゾームがみとめられる。滲出液の中に遊走した線維芽細胞では、粗面小胞体の囊状拡大、dense bodyの増加及び脂肪滴の出現がみられる（写真1）。脂肪滴は粗面小胞体に近接して

図1. 実験動物の体重の変動



集在し、小胞腔との間に連続がみられることがある。

創傷周辺の細静脈は拡張し、内皮細胞に小胞の増加と少数の dense body がみられる。内皮細胞間は離開し血漿の滲出がみられることがある。毛細血管においては、ときどき内皮細胞の腫大と、リボゾームや小胞体の増加がみられる。

5—7日目：滲出液は減少し、結合組織細胞の増加と毛細血管の新生が活発となり、肉芽組織が形成される。

線維芽細胞には、ときどき核分裂がみられる。粗面小胞体は複雑に吻合し、小胞腔に絮状物質を満たし、小胞膜には多数のポリゾームが付着する（写真2）。ところどころ粗面小胞体と滑面の小胞との連続がみられ、又、細胞質辺縁に広がった粗面小胞体の一端が細胞膜に接近していることがある。

ゴルジ装置の発育は良好で、細胞中心域から細胞質周辺まで広がることもある。ゴルジ小胞はしばしば粗面小胞体と構造的連続を示す。ゴルジ空胞には微細なフィラメント状物質が満たされ、高電子密度の物質に濃縮される過程が追跡される（写真3）。

滑面小胞体は円形の細胞として粗面小胞体の間や細胞質周辺に散在性にみとめられる。細胞質周辺には、しばしば coated vesicle が存在する。coated vesicle はゴルジ装置にもみられることがある。細胞質基質には遊離状リボゾームが存在し、大部分はポリゾームを形成する。まれにグリコゲンの集積がみられる。細胞質内フィラメントがところどころ束をなして存在する。ときどき少数の脂肪滴をもつ線維芽細胞が見出される。

線維芽細胞の貪食能は一般に低く、dense body はまれにしかみとめられない。ID注射例では、注射後30分でIDを含む少数の食胞が出現し、IDはゴルジ空胞や多房体の中にも取りこまれることが観察される。注射後24時間ではIDを含む dense body がみとめられる。

組織球もひきつづき活発な増殖を示す。細胞質には多数の dense body と滑面小胞体が発育し、貪食された赤血球やミエリン様構造を含む residual body も存在する。とくにID注射例では dense body の増加と siderosome の形成が顕著である。ゴルジ装置は小胞と空胞に富み、その周辺に dense body が集在する傾向がある。粗面小胞体の発育は一般に乏しい。リボゾームは小胞膜の表面及び細胞質基質に存在し、ポリゾームを形成する。

この時期には滲出液はほとんど消失し、細胞間に活発な線維形成が始まる。増殖した線維芽細胞の周辺に

は次の4種の細胞間物質が区別される（写真4）。第1の構成成分は中等度の電子密度をもつ無定形物質である。この物質はしばしば細胞表面に接近して存在する。注射されたIDがその表層に付着していることがあるが、この物質は血漿成分より濃密な限局性物質としてみられ、又、フィブリンより電子密度は低く、線維構造に乏しい。第2の構成成分は網状配列をとるフィラメントで、他の研究者³⁰⁾³¹⁾によって酸性ムコ多糖と同定された物質である。この物質は上記の無定形物質や microfibril の間に介在し、注射されたIDはこの物質の中にはほとんどみとめられない。第3の構成成分は microfibril である。この細線維は直径150—200Åで、ときどき約200Åの周期様構造がみられる。第4の構成成分はコラーゲン線維である。コラーゲン線維は直径400—500Åで定型的な700Å周期の横紋をもっている。

microfibril は上記の網状フィラメント又は無定形物質の中に無秩序に出現するが、数の増加と共に、細胞表面に平行に走る傾向を示す。コラーゲン線維は細胞表面から少し離れた部分に出現し、microfibril との間に移行があるように見える。コラーゲン線維が増加するにしたがって、microfibril、無定形物質及び網状フィラメントは減少する。

毛細血管内皮細胞は腫大し、細胞質には小胞体とゴルジ装置が発育し、リボゾームは増加する（写真5）。血管は基底膜で包まれ、基底膜にときどき多層化がみられる。周細胞にも粗面小胞体とリボゾームの増加がみとめられる。

細静脈内皮細胞は腫大し、細胞相互の接着面は直線的となる。細胞質にはゴルジ装置、粗面小胞体、小胞体が目立ち、ときどき dense body や脂肪滴がみられる。ID注射例では細静脈及び毛細血管内皮細胞にIDを含む少数の食胞がみられる。まれに細胞間隙を通して血管内のIDが血管外へ滲出している像が観察される（写真5）。

9日目：肉芽組織の構造は創傷5—7日目のそれとほとんど同一である。しかし、線維芽細胞は多少とも延長し、粗面小胞体は部分的な拡大を示し、減少の傾向を示す。このような細胞ではゴルジ装置も縮小する。

組織球においても小器官の発育は一般に乏しくなり、dense body や貪食物質は減少する。

細胞間には多数のコラーゲン線維束が形成される。線維芽細胞の表面には少量の無定形物質がところどころ残存し、コラーゲン線維束の間には microfibril が散在性にみとめられる。

創傷辺縁の既存結合組織と肉芽組織の境界において、線維芽細胞内に限界膜で包まれたコラーゲン線維がみとめられることがある。このような細胞には細胞表面の陥凹や離断がみられ、限界膜で包まれたコラーゲン線維の一端が細胞外にのびている像に遭遇する。おそらく、細胞内に存在するように見えるコラーゲン線維は陥入した細胞膜に包まれた細胞外線維の断面を表わしているものと解釈される。

2. 壊血病

3日目：創傷中心部には赤血球、白血球、血小板及びフィブリンをまじえた血液成分が多量にみとめられるが、創傷周辺部から線維芽細胞や組織球の増殖が始まっている。

組織球は創傷周辺部においては対照群のそれとほとんど同一の構造を示す。創傷中心部に遊走した組織球は小器官に乏しく、細胞質には多数の赤血球や複雑な内容をもつ食胞が含まれ、しばしば脂肪滴がみとめられる。

線維芽細胞も創傷周辺部から増殖するが、細胞間の多量の出血のため、対照群のような細胞相互の接着はほとんどみとめられない。増殖初期の細胞は大きな核と著明な核小体を有するが、細胞質の構造は対照群に比べて著しい差異がみとめられる。最も顕著な変化は粗面小胞体における腔の拡大及びポリゾームの減少である。ゴルジ装置も小さく、空胞や小胞の減少がおこる。これらの変化は5日後さらに顕著になるので後に詳述する。

創傷周辺から毛細血管の新生がみられる。増殖した内皮細胞は腫大し、細胞質に多数のポリゾームがみられる。ときどき粗面小胞体の拡大が伴われる。tight junction はみとめられるが、内皮細胞相互の接合はゆるく、ときどき離開した内皮細胞の間隙から赤血球の濾出がみとめられる。血管周囲には多量の血液成分がみられ、血管基底膜は欠損している。周細胞にも粗面小胞体の拡大と脂肪滴が観察される。ここでも基底膜の部分的欠損がみられない。

細静脈は拡大し、内皮細胞はリボゾームに富み、粗面小胞体の増加と拡大、糸粒体の腫大がみられ、ときどき細胞間が離開し、血液成分の濾出が観察される(写真6)。

5～9日目：壊血病創傷治癒の像は5, 7, 9日目にほとんど差異がみとめられないので一括して述べる。この時期でも出血が多く、肉芽組織の形成は不良である。しかし、1 μ 切片の光顕的観察では増殖した結合組織細胞の数は対照群に比べて大差はない(写真8)。

1) 線維芽細胞

線維芽細胞は一般に延長した広い細胞質を有し、創傷3日目にすでに現われた小器官の変化がさらに明瞭にみとめられる(写真7, 9, 10)。管状粗面小胞体は吻合を失い嚢胞状に拡大する。嚢胞状の拡大は核膜の外側板からもおこる。小胞腔は対照群のそれより濃厚な絮状物質で満たされる。粗面小胞体の拡大に伴って小胞膜に付着するリボゾームは次第にポリゾームとしての集合を失い単離リボゾームとして存在するようになる(写真7, 10)。さらに小胞膜はところどころリボゾームを欠く部分が現われる。このような粗面小胞体の変化は細胞質周辺部から進行するようにみえる。細胞質周辺部に粗面小胞体の嚢胞化がおこった細胞でも、細胞中心域、とくにゴルジ装置の周囲にはポリゾームが付着した管状粗面小胞体が残存していることがある。このような場合にはゴルジ装置の発育はなお良好で、ゴルジ小胞と粗面小胞体との連続は保持され、ゴルジ空胞内にフィラメント状物質と、その濃縮をみとめることができる。しかし、粗面小胞体の嚢胞化、吻合の消失、ポリゾームの欠損が進行するにしたがってゴルジ装置の発育は衰え、とくにゴルジ小胞は急速に減少し、粗面小胞体とゴルジ装置との構造的連続は失われ、同時にゴルジ空胞内のフィラメント状物質の濃縮はみとめ難くなる(写真10)。

小胞膜に付着するリボゾームの変化とともに細胞質基質に存在する遊離リボゾームも次第にポリゾームボタンを失い、さらにリボゾームの数の減少がおこる。かくして、リボゾームをほとんど欠損した巨大な嚢胞状の粗面小胞体が、淡明化した細胞質に孤立するようになる(写真9)。

壊血病線維芽細胞の特徴の一つに脂肪滴の増加がある(写真9)。脂肪滴は細胞質周辺の粗面小胞体の間に出現し始め、しばしば脂肪滴と粗面小胞体との間に構造的連続がみられる。粗面小胞体の拡大とともに脂肪滴は増加して、ほとんど細胞質全域に広がるがみられない。脂肪滴相互の隔合はなく、その大きさはほぼ均一である。細胞質にはグリコゲンが散在性に出現し、脂肪滴の周囲に集在する傾向がみられる。

滑面小胞体の数は一般に減少する。しかし dense body, 多房体及び coated vesicle はみとめられる。ID注射例ではIDを含む食胞や dense body が増加し、壊血病線維芽細胞の貪食能は対照群のそれに比べてとくに低下しているという証拠はない。

細胞質内にフィラメントが存在し、細胞質周辺に集束する傾向があることは対照群と同様である。糸粒体は他の小器官の発育低下とともに減少するが、著しい

構造的変化はみとめられない。

2) 組織球

創傷周辺の組織球は広い細胞質に多数の滑面小胞体と dense body を有し、陥凹した核の近旁にゴルジ装置が位置する。小型の dense body はゴルジ装置の周辺に多くみられる。粗面小胞体は細胞質周辺に発育し、しばしば小胞腔の拡大を示す。小胞膜に付着するリボゾームや遊離状リボゾームはポリゾームを形成する。

創傷中心部に遊走した組織球には dense body と phagosome がとくに顕著である(写真11)。しばしば赤血球の貪食、ミエリン様構造を含む大食胞、residual body 又は自家食胞がみとめられる。ID注射例では対照群と同様に多数の siderosome が形成される。粗面小胞体は拡大し、主として細胞周辺部に位置する。小胞体の拡大とともに、リボゾームの数は減じ、ポリゾームパターンがみとめにくくなるものがある。dense body も減少する。このような細胞では細胞質周辺部に脂肪滴が出現する。

3) 血管

毛細血管内皮細胞は一般に小器官の発育は乏しい。細胞質内には拡大した粗面小胞体、ポリゾーム、小胞、多房体、ゴルジ装置及び少数の dense body が同定される(写真12)。ID注射例ではIDを含む少数の空胞がみとめられる。内皮細胞の腫大は少ないが、細胞の管腔面、基底面、及び接合面のうねりが目立つ(写真12)。ところどころ広く離開した細胞間隙から注射されたIDを含む血漿の濾出がみとめられる。周細胞はしばしば腫大し、拡大した粗面小胞体の発育がみとめられる。しかし、ポリゾームパターンは保持されている。

毛細血管周囲には多量の血液成分が存在するため基底膜を同定することは多くの場合困難であるが、出血の少ない所では膨化した基底膜や無定形物質の集積がみとめられる(写真12)。

創傷周辺部の細静脈では腫大した内皮細胞に粗面小胞体の拡大とゴルジ装置の発育がみられ、細胞表面のうねりが目立つ。内皮細胞が扁平化した所にはしばしば細胞間に離開がおり赤血球その他の血液成分の濾出がみとめられる(写真13)。

4) 細胞間物質

細胞間には多量の血液成分が存在する。フィブリンはさまざまな大きさの集塊をつくり、その中に200 Å 周期の横紋をもつ線維束がみられる。フィブリンの間には低電子密度の粒子状物質の凝集が散在し、注射されたIDが多量に含まれる。この物質はおそらく血漿

タンパクを表わしているものと解釈される。

線維芽細胞の表面には無定形物質が付着し、線維形成は全くみとめられない(写真9, 10)。血漿成分の比較的少ない部分では細胞表面にRR陽性の網状フィラメント及び無定形物質が存在する(写真14)。無定形物質は対照群に比べてはるかに多量にみとめられる。壊血病では出血が著しいので、無定形物質と血漿タンパクとの区別は慎重を要する。無定形物質の表層に注射されたIDが付着していることがある(写真10)。しかし、無定形物質は血漿タンパクより電子密度が高く、濃厚な印象を与える。フィブリンとの鑑別はかなり困難な場合がある。しかし、フィブリン凝集塊は電子密度がより高く、細線維状で明瞭な輪郭をもち(写真1, 6, 12, 20)、ときどき200 Å の周期性横紋が存在することによって区別される。無定形物質の中に微細なフィラメントが含まれているが、対照群のように microfibril やコラーゲン線維の形成が随伴することはほとんどない。極くまれに、創傷7, 9日の線維芽細胞の表面に無定形物質とともに少数の microfibril が集在し、その中に細いコラーゲン線維がごく少数存在している像に遭遇したが、コラーゲン線維の活発な形成は決してみられない(写真15)。

創傷肉芽組織と既存の結合組織との境界には、対照群と同様に線維芽細胞の中に限界膜で包まれたコラーゲン線維がみとめられることがある。

II. 非創傷部皮膚(耳翼)

対照動物の耳翼皮膚ではコラーゲン線維束の間に、小器官に乏しい細長い線維細胞がみられる。毛細血管、細静脈には特別な変化はみられない。壊血病動物においては、dense body や食胞が豊富な組織球が多少とも増加するが、線維芽細胞や細胞間物質には対照群に比べて著しい差異はみられない(写真16)。毛細血管や細静脈にも著変はみられない。

III. 壊血病回復実験

壊血病創傷7日目にVCを投与した後、経時的に肉芽組織の変化を追求すると、まづ線維芽細胞の構造が正常に復し、ついで細胞間物質の改善がおこることが観察された。

VC投与後1時間：肉芽組織の構造には著変はみられない。

4時間：この時期に、すでに線維芽細胞には正常構造への回復の徴候が現われる。ある細胞では、なお壊血病的特徴をもっているが、ある細胞では一部に管状粗面小胞体が出現し、さらに少数の細胞ではほとんど正常な線維芽細胞と同一の構造を示す。正常構造への回復の過程を追求すると、まづ小型の管状粗面小胞

体が細胞中心域に増加し、孤立性の囊胞状粗面小胞体との間に吻合がおこる。ゴルジ装置はまだ萎縮状であるが、ゴルジ空胞内容の濃縮をみとめることができる。注目すべき点は管状及び囊胞状粗面小胞体の表面にポリゾームが形成されることである(写真17)。細胞質基質の遊離状リボゾームも粗面小胞体が発育する領域から次第にポリゾームに変る。脂肪滴はなお多数にみられるが、管状粗面小胞体の発育とともに次第に細胞質周辺部に局在するようになる。

組織球は活発な増殖を示し、細胞質には多数の dense body と円形ないし管状の断面を示す滑面小胞体の発育が著明である。核の彎入側にはよく発育したゴルジ装置が位置し、その周囲に小型の dense body が集在している。細胞質周辺部には管状粗面小胞体の増加がみとめられる。創傷中心部の組織球には赤血球、多数の食胞や dense body が含まれている。

細胞間にはなお多量の血液成分が残存し、コラーゲン線維の形成は著著ではない。しかし、上述のような細胞質構造の改善がおこった線維芽細胞の周囲にはRR陽性の網状フィラメントの増加がみられる(写真18)。壊血病にみられた無定形物質は細胞表面や網状フィラメントの間に散在し、その中に少数の microfibril やコラーゲン線維がみとめられる。

8—12時間：血液成分の濾出は減少し、結合組織細胞の分布密度が増加する。細胞はしばしば互に接着し、その接着面に desmosome 様構造がみられることがある。

線維芽細胞においては粗面小胞体の増加と吻合はますます顕著となり、ポリゾームは著明に増加する(写真19)。壊血病にみられた孤立性の囊胞状粗面小胞体はほとんど消失する。同時に滑面の小胞も増加し、粗面小胞体との間に連続が現われる。ゴルジ装置は大きくなり、ゴルジ小胞と粗面小胞体の連続やゴルジ空胞の内容の濃縮が明瞭になる。脂肪滴は少なくなり、大部分は細胞質周辺部に局在する。

組織球の増殖はひきつづき活発である。滑面小胞体、dense body は豊富であるが、phagosome、residual body は減少する。肉芽組織の周辺には組織球又は線維芽細胞の中に限界膜で包まれた多数のコラーゲン線維がみられることがある。

細胞間には赤血球や血漿成分が散在し、その中に凝縮したフィブリンの集塊が残っている。線維芽細胞の表面には microfibril を含む無定形物質が増加するが、コラーゲン線維の形成は対照群に比べてかなり劣っている。

24時間：線維芽細胞には粗面小胞体とゴルジ装置の発育がますます顕著となる。ゴルジ装置では小胞の増加がとくに目立つ。細胞質周辺に残存する少数の脂肪滴を除けば、対照群の線維芽細胞に匹敵する構造に回復する。

組織球の形態も正常となり、residual body や脂肪滴はごくまれにしか見出されない。

毛細血管内皮細胞は腫大するが、粗面小胞体の拡大はみられない。

細胞間の血液成分は著しく減少し、フィブリンの小集塊や少数の赤血球が散在性に残っているにすぎない。この時期には線維芽細胞の周囲から多量の網状フィラメントが増加する。無定形物質は線維芽細胞の周囲及び網状フィラメントの中に散在性にみられる(写真20)。注目すべき点は無定形物質の中に多数の microfibril が出現し、しばしばその中に直径250~350Åのコラーゲン線維が散在性にみとめられ、これらの線維成分の増加とともに、無定形物質が減少することである(写真21)。

48時間：肉芽組織は対照群の7、9日目と同様な構造に回復する(写真22)。線維芽細胞はよく発育した粗面小胞体とゴルジ装置をもつ延長した細胞としてみとめられ、脂肪滴はほとんど完全に消失する。線維芽細胞にまじって、滑面小胞体と、さまざまな量の dense body と食胞とによって特徴づけられる組織球が存在する。毛細血管の構造も対照群のそれと同一となる。細胞間は多数の新生コラーゲン線維によって満たされる。

考 察

1. 細胞間物質

壊血病肉芽組織の細胞間物質の変化として注目される所見はコラーゲン線維の減少と無定形物質の集在である。これらの所見は他の研究者によっても記載されているが^{9)~11)}、その本態や発生機序についての深い考察は行なわれていない。

無定形物質の集積は、その量と分布から光顕的にみられる Mallory 染色で青染する細胞間の無定形物質¹¹⁾に対応する物質であると思われる。静脈内に注射されたIDが共存していることから、無定形物質の中に血漿成分が混在する可能性は否定されないが、形態学的にフィブリン、その他の血漿タンパクとは区別される。この物質は微細フィラメントを包埋する濃厚な等質性物質としてみられる点において基底膜構成物質と類似している。基底膜は生化学的に酸性ムコ多糖とコラーゲンを含むことが知られている。無定形物質もR

Rに対する親和性から酸性ムコ多糖を含むものと考えられる。一方 Ross ら³²⁾の実験で示されたように、 H^1 -プロリンで無定形物質が標識されることから、この物質の中に低重合コラーゲンが含まれている可能性がある。

同様な無定形物質は少量ではあるが対照動物においても線維芽細胞の表面や新生コラーゲン線維の間に観察され、又、壊血病において集積した無定形物質はVC投与によって microfibril やコラーゲンの増加とともに減少する。これらの所見を総合すると、無定形物質はおそらく線維芽細胞から分泌されたコラーゲンと酸性ムコ多糖の混合物で、正常動物においては、コラーゲン線維の形成とともに速やかに消失するが、壊血病においてはその中に含まれるコラーゲンの重合が抑制される結果、細胞表面の集積として残存するものと思われる。

壊血病において細胞間のコラーゲン線維の形成を抑制する因子についてはいくつかの可能性が考えられる。第一は出血である。出血の多い部分では線維形成が障害されるばかりでなく、既存の線維が疎散する。第2は線維芽細胞によるコラーゲン産生の異常である。壊血病肉芽組織ではヒドロキシプロリンが減少することは多くの研究者の一致した意見である¹⁾⁻³⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。コラーゲン合成には他のタンパク合成と異った2つの特徴がある。1つはコラーゲン合成には他の球状タンパクの場合より大きなポリゾームが必要であること³³⁾³⁴⁾、他はコラーゲンに特徴的なアミノ酸であるヒドロキシプロリンは、ポリゾームでペプチッドが合成されたのち、プロリンの水酸化によってつくられるということである³⁵⁾。プロリンの水酸化酵素の補助因子として Fe^{2+} 、 O_2 、 α -Ketoglutarate 及び VC が必要であるとされている³⁷⁾⁻³⁹⁾。壊血病ではヒドロキシプロリンを含む大型ポリゾームの減少や⁴⁰⁾、microsome 分画のヒドロキシプロリンの減少が報告され⁴¹⁾⁴²⁾、VC欠乏によって、プロリンの水酸化が microsome レベルで障害される結果、プロリンの多い、いわばコラーゲンの未完成産物が前駆物質として蓄積すると云う仮説が提唱された¹⁵⁾¹⁶⁾。

しかし、その後、コラーゲン前駆物質とみなされたタンパクのアミノ酸組成¹⁵⁾、プロリンとヒドロキシプロリンの比率及びVC投与における C^{14} -ヒドロキシプロリン量を検討した成績から、壊血病においてコラーゲン前駆物質が蓄積するという上述の仮説に対して疑問が生れた¹⁾。さらに壊血病では中性可溶性コラーゲンが減少し²⁾、抽出されたコラーゲンの重合能力はVC欠乏によって障害されていないことが報告され⁴³⁾、壊血病では不

完全なコラーゲンが蓄積されるのではなく、コラーゲン分子の産生自体に障害のあることが示唆された。

著者の形態学的所見から、無定形物質にプロリンの多いコラーゲン前駆物質が含まれるか否かを判定することはできない。しかし、壊血病にVCを投与すると、無定形物質の減少とコラーゲン線維の形成に先立って、線維芽細胞の構造の回復と酸性ムコ多糖を表わす網状フィラメントの増加がおこることは注目されなければならない。この所見はVC投与によって、細胞外の無定形物質が、そのままコラーゲン線維の形成に利用されるのではなく、細胞の機能の回復とそれに伴う細胞間物質の新生のもとで線維形成が開始されることを強く暗示している。

第3にコラーゲン線維形成に重要な役割をもつ因子として酸性ムコ多糖が考慮される。壊血病における酸性ムコ多糖の産生については研究者の意見は一致していない。生化学的にはヘサソザミンが増加し、とくにヒアルロン酸の増加と硫酸化ムコ多糖の減少があるという報告が多いが¹⁷⁾⁻²¹⁾、Bates ら⁴⁴⁾はヒアルロン酸も硫酸化ムコ多糖も減少し、糖タンパクは軽度増加すると述べ、Shimizu ら⁴⁾は酸性ムコ多糖の産生に有意な変化はみられなかったと報告している。

本研究において、壊血病肉芽組織にみられる酸性ムコ多糖を含む物質として注目される構造は既述の無定形物質と網状配列をとるフィラメントである。いずれもRRに親和性を示すが、後者は肉芽組織や幼若結合組織の細胞間に広くみとめられる物質で、ヒアルロン酸及びコンドロイチン硫酸を含むものと考えられている³⁰⁾³¹⁾。壊血病ではこの物質は対照群に比べて一般にみとめにくい。多量の血漿タンパクの滲出がフィラメントの網状配列を破壊する可能性がある。このような所見だけから直ちに酸性ムコ多糖の合成低下があるとは結論されない。しかし、VC投与により細胞間に網状フィラメントが急速に出現することから判断すると、VC欠乏はこの種の酸性ムコ多糖の産生を障害する可能性があるように思われる。無定形物質に含まれる酸性ムコ多糖の種類は本研究のデータから決定することはできない。又、この物質の集積から、その産生が亢進していると判定することも危険である。コラーゲン重合が抑制されるため、無定形物質に含まれる酸性ムコ多糖の消費が低減した結果かも知れないからである。いずれにしても壊血病では少なくともコラーゲン合成が障害されることが示唆されるので、無定形物質に含まれるコラーゲン量に比べて酸性ムコ多糖の量が相対的に多いことは云えそうである。一方 *in vitro* の実験でコラーゲン溶液に過剰の酸性ムコ多糖を加

えると、コラーゲン重合が阻止されることが示されている⁴⁵⁾。これらの所見を総合すると、線維芽細胞から分泌されるコラーゲンと酸性ムコ多糖の量的失調が線維形成を障害する重要な因子になっている可能性が大きい。

以上を要するに、壊血病肉芽組織にみられた無定形物質は低重合コラーゲンと酸性ムコ多糖を含む「コラーゲン前駆物質」で、コラーゲン線維の形成障害はこの物質に含まれるコラーゲン分子の重合が阻止されるためであろうと考えられる。このような重合の阻止は線維芽細胞からのコラーゲン及び、おそらく酸性ムコ多糖の産生の異常に基くものと思われる。

2. 線維芽細胞

前項で考察したように、壊血病における線維形成の抑制の主な原因はコラーゲン形成細胞の活性の異常にあると考えられる。

壊血病肉芽組織においては線維芽細胞の増殖そのものは障害されないことは、他の多くの研究者によって明らかである^{18)46)~48)}。著者の観察においても壊血病肉芽組織に増殖する線維芽細胞の数は対照群に比べて有意な差はみられなかった。したがって、コラーゲン産生の障害は線維芽細胞自体の機能の異常に基くものと考えなければならない。

壊血病肉芽組織における線維芽細胞の構造的変化の特徴として(1)ポリゾームの減少、(2)粗面小胞体の孤立性嚢胞化、(3)ゴルジ装置の萎縮及び(4)脂肪滴の出現をあげることができる。同様な変化は他の多くの研究者によって確認されている^{9)~12)}。Shimizuら⁴⁾は細胞内フィラメントの増加、Schaferら³⁾は糸粒体の染色性低下を報告しているが、本研究ではこれらの所見はみとめられなかった。

コルチコステロイドはコラーゲンその他のタンパク合成を阻害すると考えられるが、この場合には線維芽細胞の粗面小胞体は減少してもポリゾームの形成は保持されている⁴⁹⁾。これに対して、壊血病線維芽細胞にみられるポリゾームの減少は特異的所見である。しかし、このようなポリゾームの変化の生化学的意義は不明である。リボゾーム、又はm-RNA自体の障害か、又はプロリン水酸化の障害がリボゾームの集合や小胞膜への付着をさまたげるのかは現在のデータから論ずることはできない。

粗面小胞体の孤立性嚢胞化は壊血病線維芽細胞の注目すべき変化の一つである。粗面小胞体の内腔に分離されたコラーゲンの分泌経路についてはまだ定説はないが、一般の分泌性タンパクと同様に、少なくとも、その一部はゴルジ装置へ転送され、何らかの修飾をうけ

たのち、細胞外へ分泌されるものと推定される。線維芽細胞にとりこまれたH³-プロリンが時間の経過とともに粗面小胞体からゴルジ装置に移動し⁵⁰⁾、又、形態学的にゴルジ小胞と粗面小胞体との連続がみられることが、この推定を裏付ける。壊血病線維芽細胞では粗面小胞体の嚢胞化は細胞質の周辺から中心域へ波及し、小胞腔相互の吻合は少なくなり、他方ゴルジ小胞の減少とともに粗面小胞体とゴルジ小胞との連続は消失する。この所見は粗面小胞体の内容の転送経路が遮断されることを暗示している。嚢胞化した小胞腔が対照群よりも濃厚な絮状物質で満たされることも、ここに合成物質の異常な蓄積があることを暗示する所見と解釈されよう。

Rossら³²⁾は壊血病線維芽細胞では正常線維芽細胞に比べてH³-プロリンの取り込みと分泌が全般に遅延することを報告している。彼らのデータからはH³-プロリンが特定の細胞小器官にプールされるという証拠はえられていないが、少なくともコラーゲンの細胞内移動や分泌が遅くなっていることは事実である。このようなコラーゲンの分泌障害の機序は明らかではない。もし既述のように異常なコラーゲンペプチドが合成されるとすれば、このような異常タンパクはその分泌が抑制されるのかも知れない⁵¹⁾。

線維芽細胞はコラーゲンのほか酸性ムコ多糖も産生していることは疑いのない事実であるが、その分泌経路については解明されていない。ゴルジ装置が少なくとも硫酸化ムコ多糖の合成に密接な関係があるものと推定されている⁵⁰⁾⁵²⁾。壊血病線維芽細胞ではゴルジ装置の萎縮がおり、ゴルジ空胞内容の濃縮がほとんどみとめられなくなる。この所見はゴルジ装置における硫酸化ムコ多糖の合成障害を反映しているかも知れない。しかし、ゴルジ装置の萎縮は粗面小胞体の変化よりおくれおこり、VC投与による回復は粗面小胞体のそれより速やかである。このことは壊血病における酸性ムコ多糖の産生障害がコラーゲンの産生障害より著しくないことを暗示している。生化学的に壊血病におけるヒドロキシプロリンの減少は常に顕著であるが、酸性ムコ多糖の異常については成績が一定していないのはこのような理由によるのかもしれない。

壊血病の光顕的研究において象牙質芽細胞は骨芽細胞様に、骨芽細胞は線維芽細胞様細胞に変化し、コラーゲン形成細胞の分化が抑制されることが報告されている⁵³⁾。Mitomaら⁵⁾もVCは線維芽細胞の成熟に関係があると述べている。胎生期や新生時の動物では線維芽細胞の粗面小胞体の拡大や脂肪滴の出現がみられることがあり⁵⁴⁾、可溶性コラーゲンのプロリン/ヒドロキ

シプロリンが高いことが報告されている³⁵⁾。しかし、幼若動物ではポリゾームの消失や粗面小胞体とゴルジ装置の形成障害はみられず、壊血病線維芽細胞を未分化な線維芽細胞と同一視することは適当ではないと思われる。

VC欠乏はコラーゲン合成を障害しても、非コラーゲン性タンパク合成にはほとんど影響がないと云われるが³⁶⁾、結合組織のアルカリフォスファターゼが低下することが報告されている³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾。本研究のデータから非コラーゲン性タンパク合成の障害については詳しく論究することはできない。しかし、細胞質の遊離状リボゾームにおいてもポリゾーム形成の減少がみられることから、非コラーゲン性タンパクの合成にも障害がおこっている可能性は否定されない。脂肪滴の出現はリポプロテインの形成に必要なタンパク合成が障害された結果かも知れない。しかし、注射されたIDの取り込み及びライソゾームの形成には対照群に比べて著しい差異がみられないことから、少なくともライソゾーム酵素の合成には障害はないものと考えられる。

Gould³⁵⁾は線維芽細胞の中にVC依存性細胞とVC非依存性細胞があることを述べ、コラーゲンの代謝回転の速い細胞ほどVC依存性であると云う。Čouchalovaら³⁹⁾の成績を引用している。本研究において、非創傷部皮膚の線維芽細胞にはVC欠乏によって変化はみられなかった。一方、コラーゲン代謝回転の速い骨芽細胞⁶⁰⁾、軟骨細胞⁶¹⁾には創傷肉芽組織の線維芽細胞と同様な変化がおこることが報告されている。これらの所見からVC欠乏の影響はコラーゲンの代謝回転の早いコラーゲン形成細胞に強く現われるものと考えられる。

3. 組織球

壊血病における組織球は対照群と同様な活発な増殖を示し、構造的にも有意な差異はみとめられない。創傷中心部に遊走した細胞には多数の食胞がみられ、注射されたIDの貪食や siderosome の形成も顕著である。これらの所見からVC欠乏はコラーゲン形成細胞に対して最も著しい機能障害を与えるが、組織球の増殖や機能にほとんど影響を与えないものと考えられる。

4. 血管の変化

壊血病では出血がおこりやすいことは周知の事実である。一般に、この出血性素因の原因は血管の脆弱性にあると考えられているが、その本質については明らかではない。光顕的研究から結合組織の線維構造や基底膜の形成不全^{29)~34)}、又は内皮細胞のセメント物質の減少が推定された²⁵⁾³⁶⁾²⁾。電顕的研究では毛細血管内皮細胞の腫大と離開、小器管の減少及び基底膜の欠損が

報告されている^{25)~28)}。本研究においても、ほぼ同様な変化が観察された。Friedrici ら²⁶⁾は壊血病モルモットの皮膚、筋肉及び滑液膜毛細血管の内皮細胞や周細胞において粗面小胞体の拡大、リボゾームの増加及びゴルジ装置の発育を記載している。著者も同様な変化を創傷肉芽組織の毛細血管内皮細胞においてみとめることができた。Friedrici ら²⁶⁾はこのような変化は壊血病線維芽細胞におけると同様に内皮細胞と周細胞からのコラーゲン産生障害を表わしているものと解釈した。しかし、線維芽細胞の場合と異って、ポリゾームの形成障害はみとめられないので、内皮細胞や周細胞の変化が線維芽細胞と同一の機能障害の表現であるとは考えられない。このような内皮細胞の変化と同様な変化は一般の肉芽組織における新生毛細血管内皮細胞にもみとめられており⁶³⁾、壊血病に特有な変化とは見なし難い。

壊血病肉芽組織の毛細血管基底膜に膨化や欠損がみられたことは他の研究者^{25)~28)}の成績と一致する。基底膜は上皮細胞又は内皮細胞から分泌される前駆物質が、その下部に増生する結合組織細胞間物質によって器質化され、その形態が完成するものと考えられている⁶⁴⁾。壊血病肉芽組織にみられた上述の基底膜の形成異常が新生内皮細胞の保持や血管透過性に障害を与えることは考えうることである。しかし、このような基底膜の変化は細胞間の線維形成不全によるのか、内皮細胞からの前駆物質の産生障害によるのか、さらに多量に滲出した血液成分による二次的変化であるのか決定することは困難である。

静脈内に注射されたIDは壊血病内皮細胞内に取り込まれるが、その程度は対照群と差はなく、壊血病における血管透過性の亢進は内皮細胞の diacytosis の増加によるものとは考えられない。これに対して、注射されたIDは内皮細胞の間隙を通じて血管外へ濾出し、離開した内皮細胞の間隙から血液成分が濾出している像にしばしば遭遇する。したがって、壊血病における血管透過性の亢進の原因の一つは内皮細胞の離開に求められなければならないであろう。

壊血病においてすべての血管が障害をうけるか否かは問題である。Friedrici ら²⁵⁾、Storman ら²⁴⁾は既存の毛細血管内皮細胞にも変化がおこると述べ、他方、Lee ら²²⁾、Fabianek ら⁶⁵⁾は毛細血管の透過性亢進はみとめられないと報告している。Lee ら²²⁾によると壊血病における出血は外傷によって細静脈からおこると云う。著者の観察では、毛細血管や細静脈の変化は創傷肉芽組織において著明であったが、非創傷部結合組織では血管の変化はほとんどみられなかつ

た。又内皮細胞間の離開は毛細血管より細静脈において顕著であった。これらの所見は線維芽細胞と同様に、増殖中の内皮細胞や刺激状態にある内皮細胞は静止期の内皮細胞よりVC欠乏の影響を受けやすいこと、又、その影響は毛細血管より細静脈側の内皮細胞に強くあらわれることを示唆するものと考えられる。

総 括

VCが血管、結合組織に及ぼす作用を解明する目的で、壊血病モルモットの創傷皮膚及び非創傷皮膚を電顕的に観察し、次の成績をえた。

1. 壊血病創傷に増殖する線維芽細胞の特徵的变化として、粗面小胞体の孤立性嚢胞化、ポリゾームの減少、ゴルジ装置の萎縮及び脂肪滴の沈着がみとめられた。これらの変化はコラーゲンの合成及び分泌の障害を表わしているものと解釈された。酸性ムコ多糖の産生の異常については確実な証拠はえられなかったが、その低下が示唆された。

壊血病創傷では細胞間質に著明なコラーゲン線維の減少と濃厚な無定形物質の集積がみとめられた。無定形物質は壊血病性線維芽細胞から産生された酸性ムコ多糖とコラーゲンを含み、コラーゲン線維の形成障害はそこに含まれるコラーゲン分子の重合が阻止されるためであろうと推定された。

2. VC投与によって、48時間以内に壊血病性変化はほとんど完全に回復した。VC投与後4時間で線維芽細胞の変化の回復が開始され、ついで上述の無定形物質の減少とともに、細胞間質に酸性ムコ多糖とコラーゲン線維の増加がおこった。この所見は壊血病創傷における線維形成不全は線維芽細胞の機能障害に基づくという説に支持を与える。

3. 壊血病動物の非創傷部皮膚の結合組織では、細胞成分にも、細胞間質にも著しい変化はみられなかった。この成績から、代謝活性の低い結合組織細胞では、VCの需要は比較的少ないものと推定される。

4. tracerを用いた実験から、組織球や線維芽細胞の貪食能は、VC欠乏によって著しい影響を受けないものと考えられた。

5. 壊血病創傷における毛細血管及び細静脈の内皮細胞には、細胞質の腫大、細胞表面の不規則化、基底膜の部分的欠損がみられた。しばしば、開離した内皮細胞の間隙を通して、血液成分の濾出がみられ、これは細静脈でとくによく観察された。

謝辞： 御指導をうけた梶川欽一郎教授に感謝の意を表します。又、御助言、御協力を頂いた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。(本研

究の一部は文部省科学研究費の補助をうけた。)

文 献

- 1) Robertson, W. van B., Hiwett, J. & Herman, C. : J. Biol. Chem., 234, 105 (1959).
- 2) Gross, J. : J. Exp. Med., 109, 557 (1959).
- 3) Gould, B. S., Manner, G., Goldman, H. M. & Stolman, J. M. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 85, 385 (1960).
- 4) Shimizu, Y., McCann, D. S. & Keech, M. K. : J. Lab. & Clin. Med., 65, 286 (1965).
- 5) Schafer, I. A., Silverman, L., Sullivan, J. C. & Robertson, W. van B. : J. Cell Biol., 34, 83 (1967).
- 6) Mitoma, C. & Smith, T. E. : J. Biol. Chem., 235, 426 (1960).
- 7) Gould, B. S. : Fed. Proc., 19, 149 (1960).
- 8) Gould, B. S. : Treatise on Collagen (ed. B. S. Gould), 2, Part A., p.323, London & New York, Academic Press (1968).
- 9) Peach, R. : J. Ultrastruct. Res., 6, 579 (1962).
- 10) Ross, R. & Benditt, E. P. : J. Cell Biol., 12, 533 (1962).
- 11) Jørgensen, O. : Acta. Path. et Microbiol. Scandinav., 60, 365 (1964).
- 12) 梶川欽一郎・林 信治 : 日病会誌, 54, 269 (1965).
- 13) Ross, R. & Benditt, E. P. : J. Cell Biol., 22, 365 (1964).
- 14) Wolbach, S. B. : Amer. J. Path., 9, 689 (1933).
- 15) Robertson, W. van B. & Schwartz, B. : J. Biol. Chem., 201, 689 (1953).
- 16) Gould, B. S. & Woessner, J. F. : J. Biol. Chem., 226, 289 (1957).
- 17) Slack, H. G. B. : Biochem. J., 69, 125 (1958).
- 18) Jørgensen, O. : Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 59, 325 (1963).
- 19) Kirchheiner, B. : Danish. Med. Bull., 16, 73 (1969).
- 20) Reddi, K. K. & Norstrom, A. : Nature, 173, 1232 (1954).
- 21) Kodicek, E. & Loewi, G. : Proc. Roy. Soc. B., 144, 100 (1955).

- 22) Lee, R. H. & Lee, N. R. : Amer. J. Physiol., 149, 465 (1947).
- 23) Gersh, I. & Catchpole, H. R. : Amer. J. Anat., 85, 457 (1947).
- 24) Storman, J. M., Goldman, H. M. & Gould, B. S. : Arch. Path., 72, 535 (1961).
- 25) Gore, I., Fujinami, T. & Shirahama, T. : Arch. Path., 80, 371 (1965).
- 26) Friederici, H. H. R., Taylor, H., Rose, R. & Pirani, C. L. : Lab. Invest., 15, 1442 (1966).
- 27) Gore, I., Wada, M. & Goldman, M. L. : Arch. Path., 85, 493 (1968).
- 28) Hashimoto, K., Kitabchi, A. E., Dulkworth, W. C. & Robinson, N. : Acta Dermatovener., 50, 9 (1970).
- 29) Luft, J. H. : J. Cell Biol., 23, 54 (1964).
- 30) Meyers, D. B., Highton, J. L. & Rayns, D. G. : J. Ultrastruct. Res., 28, 208 (1969).
- 31) 梶川欽一郎 : 日医会誌, 68, 602 (1971).
- 32) Ross, R. & Benditt, E. P. : J. Cell Biol., 15, 99 (1962).
- 33) Kretsinger, R. H., Manner, G., Gould, B. S. & Rich, A. : Nature, 202, 438 (1964).
- 34) Fernández-Madrid, F. : J. Cell Biol., 33, 27 (1967).
- 35) Peterkofsky, B. & Udenfriend, S. : J. Biol. Chem., 238, 3966 (1963).
- 36) Lukens, L. N. : J. Biol. Chem., 240, 1661 (1965).
- 37) Fujimoto, D., & Tamiya, N. : Biochem. J., 84, 33 (1962).
- 38) Prockop, D. J., Kaplan, A. & Udenfriend, S. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 9, 162 (1962).
- 39) Hutton, J. J., Tappel, A. L. & Udenfriend, S. : Arch. Biochem. Biophys., 118, 231 (1967).
- 40) Fernandez-Madrid, F. & Pita, T. Jr. : Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix (ed. Balaz, E. A.), 1, p.439, London & New York, Academic Press (1970).
- 41) Stone, N. & Meister, A. : Nature, 194, 555 (1962).
- 42) Manning, J. M., & Meister, A. : Biochemistry, 5, 1154 (1966).
- 43) Bentley, J. P. & Jackson, D. S. : Biochem. Biophys. Acta, 107, 519 (1965).
- 44) Bates, C. J., Levene, C. I. & Kodicek, E. : Biochem. J., 113, 783 (1969).
- 45) 梶川欽一郎 : 十全医学誌, 59, 1 (1957).
- 46) Bunting, H. & White, R. F. : Arch. Path., 49, 590 (1950).
- 47) Williams, G. : J. Exp. Path., 40, 176 (1959).
- 48) Persson, B. H. : Acta Soc. Med. Upsal., 58, 1 (1953).
- 49) 谷井淑夫 : 十全医学誌, 73, 471 (1966).
- 50) Ross, R. & Benditt, E. P. : J. Cell Biol., 27, 83 (1965).
- 51) Kivirikko, K. I., & Prockop, D. J. : Biochem. J., 102, 432 (1967).
- 52) 鈴木 旺 : 日医会誌, 68, 571 (1971).
- 53) 武藤知信 : 十全医学誌, 59, 144 (1957).
- 54) 林 武雄 : 十全医学誌, 80, 632 (1971).
- 55) Cadavid, G. N., Denduchis, B. & Mancini, R. E. : Nature, 191, 1297 (1961).
- 56) Robertson, W. van B. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 92, 159 (1961).
- 57) Buck, R. C. : J. Path. Bact., 66, 1 (1953).
- 58) Cabrini, R. L. & Carranza, F. A. : J. Periodontal., 34, 74 (1963).
- 59) Čmucharova, B. & Chvapil, M. : IVth National Collagen Symp., Hlubka, Czechoslovakia (1964) (Gould³⁾ より引用).
- 60) Bonucci, E. : J. Microscopie, 5, 725 (1966).
- 61) Bonucci, E. : J. Path., 102, 219 (1970).
- 62) Penney, J. R. & Balfour, B. M. : J. Path. Bact., 61, 171 (1949).
- 63) Schoeffl, G. I. : Virchow's Arch. Path. Anat., 337, 97 (1963).
- 64) 梶川欽一郎 : 結合組織, 3, 1 (1971).
- 65) Fabianek, J., Herp, A. & Pigman, W. : Nature, 197, 906 (1963).

写 真 説 明

1. 対照創傷3日・ID注射後15分、フィブリン(F)を含む滲出液中に増殖した線維芽細胞(Fb)と組織球(Hs)。線維芽細胞は粗面小胞体(Er)の発育が特徴。少数の脂肪(L)がみられる。組織球は滑面小胞、phagosome(Ph)と多数のライソゾーム様のdense body(Ly)を有する。×15,000。

2. 対照創傷7日(1D注射後30分)の線維芽細胞、

粗面小胞体 (Er) に付着するリボゾームは集合してポリゾームを形成(矢印). $\times 36,000$.

3. 対照創傷 7 日の線維芽細胞のゴルジ装置. ゴルジ空胞内に微細フィラメントの蓄積 (X_1) とその濃縮 (X_2). N: 核. $\times 18,000$.

4. 対照創傷 7 日 (ID 注射後 30 分) の線維芽細胞 (Fb) の周辺. 細胞間に濃厚な無定形物質 (Am), 網状フィラメント (f), microfibril (Mf) 及びコラーゲン線維 (Cf) がみられる. $\times 40,000$.

5. 対照創傷 7 日の毛細血管. ID 注射後 30 分. 内皮細胞 (Ed) は腫大し, ID を含む小胞 (V) がみられる. 血管は基底膜 (Bm) で包まれるが, 一部に ID の軽度の濾出 (矢印) がみられる. $\times 7,500$.

6. 壊血病創傷 3 日の細静脈. ID 注射後 15 分. 内皮細胞の離開 (矢印). 血管外にフィブリン (F), 赤血球 (R) を混じえた滲出が著明. $\times 9,000$.

7. 壊血病創傷 5 日の線維芽細胞. 嚢胞状の粗面小胞体 (Er) 内に濃厚な無定形物質をいれ, リボゾームはポリゾームの形態を失う (矢印). (写真 2 と比較). $\times 35,000$.

8. 壊血病創傷 7 日. 1μ 切片の光顕. 結合組織細胞の増殖を示す. $\times 900$.

9. 壊血病創傷 7 日の線維芽細胞. ID 注射後 30 分. 濃厚な物質を満たした嚢胞状の粗面小胞体 (Er), ポリゾームの消失, 脂肪滴 (L) の増加が特徴. 細胞間には赤血球 (R), ID を含む無定形物質 (Am) がみられる. $\times 18,000$.

10. 壊血病創傷 7 日の線維芽細胞. ID 注射後 24 時間. 萎縮したゴルジ装置 (G), 嚢胞状粗面小胞体 (Er), ポリゾームの消失があり, 細胞表面には ID を含む無定形物質 (Am) が集積する. 線維形成は全くみられない. $\times 25,000$.

11. 壊血病創傷 7 日の組織球. ID 注射後 30 分. 細胞質に ID を含む多数の phagosome (Ph), 貪食された赤血球 (Rp) がみられる. N: 核. $\times 14,000$.

12. 壊血病創傷 9 日の毛細血管. 内皮細胞 (Ed) 表面のうねりが多く, 小器官の発育は乏しく, 粗面小胞体 (Er) の拡大, 多房体 (Mv) がみられる. 血管

周囲は基底膜の代りに無定形物質 (Am) の集積があり, フィブリン (F) を含む滲出液が多い. P: 周細胞. $\times 15,000$.

13. 壊血病創傷 7 日目の細静脈. ID 注射後 30 分. 離開した内皮細胞 (Ed) の間隙から ID を含む血液成分が濾出 (矢印). $\times 7,500$.

14. 壊血病創傷 7 日の細胞間質. RR 染色. 線維芽細胞 (Fb) の表面に RR 陽性の無定形物質 (Am) が集積し, その間に網状フィラメント (f) がみられる. R: 赤血球. $\times 18,000$.

15. 壊血病創傷 9 日の細胞間質. 微細フィラメントを含む無定形物質 (Am), microfibril (Mf), 一部に極く少数の細いコラーゲン線維 (Cf) がみられる (写真 4 と比較). $\times 50,000$.

16. 壊血病非創傷部 (耳皮膚). ID 注射 45 分. 結合組織細胞には壊血病性変化はみられない. 毛細血管 (Cp) 内の ID の濾出もみられない. $\times 7,500$.

17. 壊血病創傷 7 日目に VC 投与 4 時間後の線維芽細胞. 細胞中心域から粗面小胞体 (Er) の吻合, ポリゾームの回復 (矢印) がおこる. ゴルジ装置 (G) はなお萎縮状. 脂肪滴 (L) は残存. $\times 15,000$.

18. 同上材料の RR 染色. 線維芽細胞 (Fb) 周辺の無定形物質の減少, 網状フィラメント (f) と少数のコラーゲン線維 (Cf). $\times 28,000$.

19. 壊血病創傷 7 日目に VC 投与 8 時間後の線維芽細胞. 脂肪滴 (L) は存在するが粗面小胞体 (Er), ポリゾームの回復は顕著. 細胞間には赤血球 (R), 無定形物質 (Am), フィブリン (F) が残存. $\times 12,000$.

20. 壊血病創傷 7 日目に VC 投与後 24 時間. 線維芽細胞 (Fb) の構造はほとんど回復. 細胞間には無定形物質 (Am), 網状フィラメント (f) 及びフィブリン (F) が区別される. $\times 14,000$.

21. 同上材料の細胞間質. 無定形物質 (Am) 内に microfibril (Mf) とコラーゲン線維 (Cf) が出現する. $\times 35,000$.

22. 壊血病創傷 7 日目に VC 投与後 48 時間. 線維芽細胞 (Fb) の構造は完全に回復し, 細胞間にはコラーゲン線維 (Cf) で満たされる. Hs: 組織球. $\times 7,500$.

Abstract

For the purpose of clarifying the effect of vitamin C on the connective tissue and blood vessels, electron microscopic observation has been made on the wounded and non-wounded skin in scorbutic guinea pigs. The results obtained were as follows :

1) The fibroblasts proliferating in scorbutic wounds showed characteristically structural changes : dilated and rounded endoplasmic reticulum, a reduced number of polysomes, atrophic Golgi apparatus and lipid deposits.

In the intercellular space there were a marked decrease of collagen fibers and an accumulation of dense, amorphous materials. Morphological evidence suggested that the amorphous materials might contain acid mucopolysaccharides and collagen molecules, and that the impaired development of collagen fibers might be due to failure of polymerization of collagen molecules contained in the amorphous materials.

2) Within 48 hours after an administration of vitamin C the scorbutic changes were restored almost completely.

The restoration of structural alterations of the fibroblasts began to appear as early as 4 hours after giving vitamin C, and subsequently the dense, amorphous materials were replaced by an increased amount of collagen fibers. These findings supported the concept that deficient formation of collagen fibers in scorbutic wounds is caused by the impaired function of the fibroblasts.

3) The connective tissue in the non-wounded skin of scorbutic animals showed no remarkable changes in both cellular and extracellular components. Vitamin C requirement appeared to be relatively small in the connective tissue cells with low metabolic activity.

4) The experiment by the use of tracer particles indicated that vitamin C deficiency did not appear to give any effect on the phagocytic activity of histiocytes and fibroblasts.

5) Endothelial cells of capillaries and venules in scorbutic wounds showed cytoplasmic swelling, irregularity of the cell surface and focal loss of the basement membrane. Frequently leakage of blood components was observed through separation of the endothelial cells, particularly in venules. In the non-wounded skin of scorbutic animals, however, vascular alterations were not prominent.

