

肥満細胞顆粒の形成に関する電子顕微鏡的研究

金沢大学医学部病理学第一講座(主任 梶川欽一郎教授)

林 武 雄

堀 功

北 田 博 久

梶 川 欽 一 郎

(昭和46年3月30日受付)

肥満細胞は形態学的には特殊顆粒の存在により、また機能的にはこの顆粒に含まれるヘパリン、ヒスタミン、およびセロトニンの薬理作用によって特徴づけられている。したがって、肥満細胞の研究の焦点は顆粒の形成、顆粒の形態とそこに含まれる物質の相互関係、および、顆粒の細胞外への放出機序におかれる。とくに、顆粒形成の機序は、顆粒の成熟過程や放出機序を理解するために基本的な知識を提供する。この問題については現在二つの意見がある。一つは、顆粒の前駆物質がゴルジ装置で形成され小胞体の膜系の中で成熟顆粒に発育するという説¹⁾²⁾である。他は、細胞基質の中に集積した顆粒構成成分が新生された膜で包まれて顆粒となるという主張である³⁾⁴⁾⁶⁾。

成熟肥満細胞は細胞質が顆粒で満たされ、小器管は顆粒間のせまい細胞質に少数しかみとめられないため、顆粒の発育と他の小器管の関係を追求することは非常に困難である。

そこで、著者らは Combs¹⁾、Combs^ら²⁾の実験に従って、新生仔ラット皮下組織における未熟肥満細胞を材料とし、顆粒の形成過程を電顕的に検討した。

実験材料と方法

生後1~7日のラット皮下組織を材料とした。採取した組織は2.5% glutaraldehyde 1時間固定後、さらに2%オスミウム酸 (cacodylate buffer で pH 7.4) で1時間、後固定を行ない、エタノール系列で脱水、Epon 812 に包埋した。一部の材料は Luft 法⁷⁾によるルテニウムレッド染色を行なった。

切片は酢酸ウラニールと鉛の二重染色を行ない、日立 HU-11、および JEM-7 型電子顕微鏡で観察した。

実験成績

肥満細胞は特殊顆粒によって容易に同定される。新生仔ラット皮下組織にはさまざまな発育段階の肥満細胞がみとめられる。

未熟肥満細胞では顆粒は一般に少なく、延長した細胞としてみとめられる(写真1)。細胞表面には指状の突起がみられるが、成熟細胞に比べてその数は少ない。細胞表面にはルテニウムレッドに染まるうすいコートが証明される。しかし顆粒は染色されない。これは顆粒に可溶性物質が存在しないためではなく、ルテニウムレッドが細胞内に滲透しないためであると思われる。

核は楕円形で不規則な凹凸を示し、核周辺クロマチンは豊富で、ときどき核小体のみとめられる。核膜は明瞭で、その外側板の表面にはリボソームが付着している。

細胞質は広く、遊離状のリボソームに富み、それらはしばしばロゼット状の配列を示す。粗面小胞体は細管状の断面を呈し、細胞質中心域に多く存在する。ときどき粗面小胞体の嚢状の拡大がみられ、その中に中等度の電子密度をもつ等質性物質をいれている。核膜外側板もときどき部分的に拡大することがある。滑面小胞体は甚だ少ない。糸粒体は円形ないし楕円形を呈し、クリスタは明瞭である。

ゴルジ装置は核の一侧に位置し、その発育は良好である。ゴルジ層板、小胞および空胞が区別される。小胞は層板の周囲に密集し、その中にしばしば高電子密度の小顆粒をいれている(写真1)。小胞の拡大とともに小顆粒は大きくなる。同時にその内容は等質性を失い、中等度の電子密度をもつ基質の中に高電子密度

An Electron Microscopic Study of the Formation of Mast Cell Granules. Takeo Hayashi, Isao Hori, Hirohisa Kitada & Kinichiro Kajikawa, Department of Pathology (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

の顆粒状物質が凝集してくる。この顆粒状物質を含む空胞はゴルジ野を離れるにしたがって大きさを増し、後述の肥満細胞顆粒へ移行するようにみえる。

ゴルジ野にときどき中心小体が存在する。dense body その他のライソソーム様小体は同定されない。

特殊顆粒はほぼ円形の断面を呈するが、大きさと形態においてかなり変動がある。顆粒は限界膜で包まれた空胞の中に存在する。

空胞が互に接近し、さらに相互に融合する場合がある。顆粒の内容はかなり複雑である。本論文ではその形態によって、顆粒を仮に4型に分けて記述するが、その間には移行がある。I型は比較的小型で(直径平均 0.79μ)、等質性基質の中に顆粒状物質の凝集を含むもので、ゴルジ空胞内にみられた顆粒と類似している(写真2, 3, 5)。顆粒の輪廓は不規則で、空胞限界膜との間に比較的に広い空隙がみられることが多い。II型は大型円形の顆粒で(直径 0.93μ)、中等度の電子密度をもつ基質の中に紐状物質が充満し、しばしば蜂巣状を呈する(写真3)。III型はII型とほぼ同様な大きさ(直径平均 0.94μ)と形をもつが、内容が高電子密度の等質性物質で占められる点でII型と区別される(写真4)。II型とIII型の顆粒は一般に空胞内を満たし、限界膜との間の空隙はせまい。IV型は大空胞内に粗大顆粒、または膜様構造物が凝集状に存在するものであるが(直径平均 2.66μ)、その数は少ない(写真5, 6)。

顆粒は核をはさんで、ゴルジ装置の反対側に集在する。したがって未熟細胞では、ゴルジ装置および粗面小胞体の発育の良好な領域と、顆粒の多い領域とが区別される。前者にはゴルジ空胞内の顆粒とI型顆粒がみられ、後者にはI型顆粒のほか、II, III型顆粒が多い。この領域でも、核の周辺から粗面小胞体が顆粒の間にのび、しばしば空胞の限界膜と接近し、まれに粗面小胞体と顆粒をいれる空胞との間に構造的連続が暗示される(写真5)。

細胞の成熟に伴って、顆粒の数と大きさが増加し、ついに細胞質のほとんど全域が顆粒で占められる。顆粒はII型ないしIII型の数が多くなり、I型はほとんどみられなくなる。細胞小器管は顆粒の増大とともに減少し、せまい顆粒間の細胞質に少数の小胞、糸粒体およびリボソームが散在する。粗面小胞体は著しく減少する。ゴルジ装置は成熟細胞でもかなりよく発育し、とくに層板の発達が目立つ。しかし、空胞内の顆粒はもはやみとめられない。

肥満細胞の顆粒を含む空胞が細胞膜と融合し、その開口から顆粒が細胞外へ放出される像に遭遇すること

がある(写真7)。細胞外の顆粒は形と大きさにおいて細胞内のそれと大差はない。しかし内容の電子密度は一般に低く、顆粒表面に放射状に並ぶ柔毛状のコートがみられる。同様なコートは細胞質周辺の空胞内顆粒においてもみとめられることがある。まれに、細胞質のせまい縁をもった空胞が顆粒をいれたまま細胞外に遊離している像に遭遇した(写真7)。

考 察

肥満細胞が未分化間葉細胞から分化することは *in vivo*¹⁾²⁾ および *in vitro*³⁾ の観察で確かめられている。本研究においても未熟肥満細胞は、顆粒が少なく、粗面小胞体とリボソームに富み、成熟するにしたがって、細胞は円形化し、細胞表面の小突起が多くなり、小器管は減少し、顆粒の数と大きさが増加することが観察された。このような細胞の発育の過程で、顆粒の形成と成熟が行なわれることは明らかである。

顆粒の形成に関して、本研究で注目される所見は、未熟肥満細胞のゴルジ空胞の中に高電子密度の顆粒状物質の凝集がみとめられ、この物質と肥満細胞顆粒との間に移行が示唆されたことである。同様な所見は、Combs¹⁾ によっても報告されており、彼はゴルジ空胞内の顆粒状物質を“Progranule”と称し、肥満細胞顆粒の中核をなすヘパリン前駆物質とみなした。

顆粒の形態とそれに基づく成熟過程については多くの研究者によってさまざまな成績が報告されている^{1) 4)-6)9)-11)}。Lagunoffら¹²⁾は分離された肥満細胞の化学的分析の結果、顆粒はタンパク-ムコ多糖複合体から成り、ヒスタミンその他の窒素イオンはヘパリン硫酸基と静電結合をなしているものと推定した。顆粒の形態学的差異はおそらく、顆粒に含まれるタンパクとムコ多糖体の割合や硫酸化の程度などによるものであろう。いずれにしても成熟顆粒では高電子密度の物質が集積することは一般に認められている。本研究においてもIII型顆粒は高電子密度の等質性物質で満たされ、細胞質に顆粒が増加するにしたがってその占める割合が多くなるので、最も成熟した顆粒であると思われる。I型顆粒は顆粒状物質の凝集から成る“Progranule”に等質性基質が加わった内容もち、最も未熟な顆粒と考えられる。

II型顆粒は大きさおよび数の分布からI型とIII型の中間にあり、I型とIII型の中間の発育段階にあるものと思われる。IV型顆粒の発生過程は明らかではないが、その構成成分がI型顆粒に類似した粒状物質の粗大凝集から成ることから、I型顆粒の成熟障害の結果で

ある可能性がある。

顆粒の発育に伴う形態学的変化はここに化学的組成の変化がおこっていることを暗示する。Combsら²⁾はアルシアン青—サフラニン染色を用いて、肥満細胞のヘパリン前駆物質が次第に硫酸化の強い多糖体になり、同時に肥満細胞 Chymase とヒスタミンが加わることを示した。Combs¹⁾はさらに電顕的所見に基づいて、ゴルジ空胞で形成されたヘパリン前駆物質 (“Progranule”) は、粗面小胞体で合成された塩基性タンパクの添加によって、微粒子状物質が加わり、さらに内容の再構成によって微粒子状物質の消失と紐状構造物が出現し、ヘパリンとタンパクの結合の進行とともに、高電子密度の等質性物質に変わることを述べている。顆粒内容へのタンパクの添加の根拠として、彼は顆粒をいれた空胞と粗面小胞体との接近、および両者の構造的連続をあげている。本研究では、粗面小胞体と顆粒の接近はしばしば認められ、また、まれではあるが両者の連続が暗示された。また、ゴルジ空胞内の “Progranule” の存在、および顆粒の成熟過程は Combs¹⁾、Combs ら²⁾の所見と一致した。未熟肥満細胞においてゴルジ装置と粗面小胞体の良好な発育があることは、この細胞の特徴的所見であると思われる。この所見は線維芽細胞や軟骨芽細胞の特徴に類似している。線維芽細胞や軟骨芽細胞では、ゴルジ装置でムコ多糖体の形成ないし硫酸化がおこり、粗面小胞体で合成されるコラーゲンとともに、細胞間物質として分泌されることはよく知られた事実である¹³⁾¹⁴⁾。肥満細胞においても、ゴルジ装置でヘパリンが形成され、粗面小胞体で合成されたタンパクの添加をうけて顆粒が完成することは十分ありうることであると思われる。

肥満細胞顆粒の形成機序として、細胞基質に集積した前駆物質が、その周囲に新生された膜系で分離され顆粒が形成されるという見解がある³⁾⁻⁶⁾。これは、顆粒の限界膜が、小胞系に属する連続性膜系であるかどうかという問題とも関係する。また、顆粒は限界膜で包まれていないという主張すらある³⁾。Padawer¹⁵⁾は腹腔肥満細胞に貧食されたコロイドトリウムが顆粒と限界膜の間の空隙に集ることを観察した。この結果から、顆粒を含む空胞は連続した小胞系に属することは明らかであると思われる。本研究においても、顆粒は常に空胞の中に存在し、その形成と成熟は膜系の中で行なわれるものと考えられた。

肥満細胞顆粒の放出は、限界膜と細胞質との融合により、空胞が細胞外に開口することによって行なわれるものと一般に信じられている⁶⁾¹¹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾。著者らの所

見もこの見解を支持する。まれに、顆粒を含む細胞質の断片が細胞外に遊離している像に遭遇した。このような像は顆粒放出の他の機序を現わしているのか、人工産物であるのか決定は困難である。

結 論

肥満細胞顆粒の形成機序を明らかにするため、生後1~7日のラット皮下組織における肥満細胞を電顕的に観察した。未熟肥満細胞では、顆粒が少なく、ゴルジ装置と粗面小胞体の良好な発育が目された。ゴルジ空胞内に顆粒状物質の集積が認められた。この物質と肥満細胞顆粒との間に移行が暗示された。細胞の成熟に伴って、顆粒状物質に中等度の電子密度をもつ無定形物質が添加され、顆粒の内容は蜂巢状ないし紐状構造に再構成され、次いで高電子密度の等質性物質に変わることが観察された。

文 献

- 1) Combs, J. W. : J. Cell Biol., 31, 563 (1966).
- 2) Combs, J. W., Lagunoff, D. & Benditt, E. P. : J. Cell Biol., 25, 577 (1965).
- 3) Fernando, N. V. P. & Movat, H. Z. : Exp. Mol. Path., 2, 450 (1962).
- 4) Fujita, H., Asagami, C., Murozumi, S., Yamamoto, K. & Kinoshita, K. : J. Ultrastruct. Res., 28, 353 (1969).
- 5) Hashimoto, K., Gross, B. G. & Lever, W. F. : J. Invest. Dermatol., 46, 139 (1966).
- 6) Orfanos, C. & Stüttgen, G. : Arch. Klin. exp. Dermatol., 214, 521 (1962).
- 7) Luft, J. H. : J. Cell Biol., 27, 118 (1965).
- 8) Ginsburg, H. & Lagunoff, D. : J. Cell Biol., 35, 685 (1967).
- 9) Taichman, N. S. : J. Ultrastruct. Res., 32, 284 (1970).
- 10) Thiery, J. P. : J. Microsc., 2, 549 (1963).
- 11) Weinstock, A. & Albright, J. T. : J. Ultrastruct. Res., 17, 245 (1967).
- 12) Lagunoff, D., Philips, M. T., Isori, O. & Benditt, E. P. : Lab. Invest., 13, 1331 (1964).
- 13) Godman, G. C. & Lane, N. : J. Cell Biol., 21, 353 (1964).
- 14) Ross, R. : Treatise on Collagen (ed. B. S. Gould), 2A, p. 2, London & New York, Academic Press, 1968.
- 15) Padawer, J. : J. Cell Biol., 40, 747 (1969).
- 16) 堀木 学 : 臨床皮膚科, 21, 403 (1967).
- 17) Singleton,

E. M. & Clark, S. L. : *Lab. Invest.*, 14, 1744 (1965).

写真説明

写真1. 生後3日ラット皮下組織の肥満細胞。核(N)の一侧に發育したゴルジ体(G)があり, ゴルジ空胞内に高電子密度の顆粒をいれ(矢印), 肥満細胞顆粒(g_1)との間に移行がみられる。細胞の一侧に顆粒(g_2)が集在し, 他側に管状粗面小胞体(Er)が多い。顆粒を含む細胞質表面には小突起(P)がみられる。(C)は中心小体。×12,000.

写真2~5. 生後3日ラット皮下組織の肥満細胞顆

粒。写真2: I型(g_1), II型(g_2)およびIII型(g_3)の各種發育段階の顆粒。×10,000.

写真3: I型顆粒(g_1)とIII型顆粒(g_3) ×10,000.

写真4: I型(g_1), II型(g_2), およびIV型顆粒(g_4)。×10,000.

写真6. 生後1日ラット皮下組織の肥満細胞。顆粒の間にみられる拡大した粗面小胞体(Er)。顆粒(g_1)と小胞体の間に連続が暗示される(矢印)。N: 核。×11,000.

写真7. 生後7日ラット皮下組織の肥満細胞。空胞の開口によって顆粒(g)が細胞外に放出される。空胞を含む細胞質の離断(x)がみられる。×12,000.

Abstract

Electron microscopic observations were made on the granule formation of mast cells in the subcutaneous tissue of newborn rats. Immature mast cells were characterized by a small number of granules, large Golgi apparatus and well-developed endoplasmic reticula. Formation of the granules appeared to be initiated by the elaboration of dense material within the Golgi vacuoles. This was followed by an accretion of amorphous internal matrix and the subsequent occurrence of interlacing cord-like strands in the matrix, which presumably represented the reorganization of the components of the granules. Finally the granule contents were replaced by the increased deposition of a dense, homogeneous substance.



