

デキストラン硫酸の線維芽細胞に及ぼす影響— 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
三 輪 淳 夫
梶 川 欽 一 郎

(昭和46年5月21日受付)

デキストラン硫酸(以下 DS と略する.)はデキストランの硫酸エステルで、脂血清浄作用を有し、またヘパリン様物質として線溶系に対する活性化作用があるといわれる¹⁾⁻⁵⁾。臨床的には β -lipoproteinlipase 活性化剤、脱コレステロール剤として動脈硬化症の予防や治療薬として用いられる。

また、lipoproteinlipase (LPL) には、ライソソーム膜を不安定化させる作用のあることが知られており⁶⁾⁷⁾、DS は血中の LPL 活性を増強させることから DS がライソソーム膜の不安定剤として働く可能性が推察されている。

一方、DS が結合組織に及ぼす作用が注目されている。DS は肥厚性瘢痕に対して治療効果があり⁸⁾、また、実験的肉芽腫や培養された線維芽細胞に対して、その増殖や機能を抑制する効果があることが報告されている⁹⁾。しかし、DS の結合組織に及ぼす作用機序については未解決である。著者らは DS の結合組織に対する作用機序を解明する手掛りとして、DS がカラギニン肉芽腫の線維芽細胞に及ぼす影響を電顕的に観察した。

実験材料および実験方法

Wister 系成熟ラット(雄、体重約 200g)の背部皮下組織に 1% カラギニン生食水溶液 1cc を注射し、1 および 2 週後の肉芽腫を材料とした。ラットを 2 群に分け、1 群にはカラギニン注射の前日から、DS (MDS コーワ) を体重 100g につき 0.5mg を連日皮下注射し、他の群は生食水を注射し対照群とした。

材料は 2% オスミウム酸(ヴェロナール緩衝液、pH7.4)で氷室(4°C)で約 1 時間固定、一部は Luft

の方法¹⁰⁾によるルテニウムレッド処理を行なった。固定後、エタノール系列脱水、エポン 812 で包埋し、薄切切片は酢酸ウラニルと硝酸鉛で二重染色を行なった。試料は HU-11 型電顕(75KV)を用い、直接倍率 3000~5000 倍で観察した。

実験結果

I. 対照群

1, 2 週後のカラギニン肉芽腫においては活発な線維芽細胞の増殖がみとめられる。その超微構造については、従来多数の報告があるので(梶川¹¹⁾、Ross¹²⁾の総説参照)ここでは簡単に記載するにとどめる。

線維芽細胞の最も特徴的な構造は粗面小胞体とゴルジ装置の発育である(写真 1)。粗面小胞体は層状配列をとり、しばしば小胞腔は嚢状に拡大する。小胞膜には多数のリボソームが付着し、ポリソームを形成する。粗面小胞体の内容は中等度の電子密度をもつ等質性物質で満たされる。

ゴルジ装置はよく発達しており、核の近辺から細胞質のかなり辺縁まで広がることもある。ゴルジ装置は、ゴルジ空胞、層板、小胞よりなる。空胞内にはフィラメント状物質が濃縮し高電子密度の紡錘形の小体が形成される。ときどきゴルジ装置近辺に被覆小胞(coated vesicle)や多胞体(multivesicular body)がみとめられる。

滑面小胞体は粗面小胞体の間や細胞膜の近くに小円形の小胞としてみとめられる。ときどき粗面小胞体と小胞との連結がみられる。

細胞内には直径 50~80Å の細胞質フィラメントが認められ、しばしば、細胞質辺縁において細胞表面に

Effects of Dextran Sulfate on Fibroblasts: An Electron Microscopic Study. Hidenori Murakami, Atsuo Miwa and Kinichiro Kajikawa, Department of Pathology (I) (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

平行に集束する特徴をもっている。

その他、細胞質内には少数の **dense body**、脂肪顆粒、中心子およびそれと連なる繊毛がみとめられることがある。

II. DS 注射群

DS 注射群では線維芽細胞にさまざまな程度の変性がみとめられる。細胞質は一般に萎縮的で細胞質はせまい。変性の軽度な細胞では粗面小胞体の発育やゴルジ装置の発育には特に著しい変化はみられない。しかし、注意してみると粗面小胞体は部分的に拡大し、その表面に付着するリボソームは減少ないし消失し、粗面小胞体の空胞化がみとめられる(写真2, 3)。空胞の内容は空虚または低電子密度の不定形物質が含まれる。ときどき、拡大した小胞体内にミエリン様膜状物質がみられることがある(写真2)。同時に細胞質内に膜状構造物を伴った限局性の融解や電子密度の増加がおこり、自家食胞が出現する(写真3)。自家食胞は二重または一重の限界膜で包まれ、その中に粗面小胞体、滑面小胞体または糸粒体が含まれる。糸粒体には膨化やクリスタの消失がみとめられるものがある。

変性が進むに従って、細胞質には **dense body** の数と大きさの増加がみられ、不整形の輪郭をもつ封入体が増加する(写真4, 5)。**dense body** は高電子密度の等質性物質で満たされ、限界膜の内側に狭い透明帯が存在する。小型の **dense body** はゴルジ装置の近傍にみられることがある。不整形の輪郭をもつ封入体は 1~2 μ またはそれ以上の直径で、内容は複雑である。さまざまな濃度をもつ不定形物質の凝集、小胞、顆粒状、膜状ないしミエリン様構造物が含まれる。また、封入体が空胞状に腫大し、内容の電子密度の低下、限界膜の融解を示すものがある。このような小体が存在する部分では、しばしば細胞質の限局性壊死が伴われる。封入体、空胞および **dense body** の増加とともに粗面小胞体は減少し、ゴルジ装置は萎縮する。細胞表面にはさまざまな大きさの不整形の突起を出し、細胞質から離断し、細胞は縮小する。

考 察

DS 注射群にみられた最も顕著な変化は線維芽細胞の萎縮と細胞質内の変性である。この変性は初期には粗面小胞体のリボソームの消失を伴う限局性空胞化と細胞質における限局性融解、電子密度の増加、膜様構造体の発生および自家食胞の出現としてみとめられる。同時にみられる **dense body** の増加は、線維芽細胞にはカラギニンの貪食がほとんどみられないの

で、外来性異物の貪食に対する反応ではなく、上述の自家食胞の内容の消化に利用されるものと解釈される。萎縮状の線維芽細胞にみられる多数の空胞や複雑な内容をもつ不整形小体は、粗面小胞化体の空胞化および自家食胞に由来する **residual body** と思われる。

DS が線維芽細胞に与える障害作用の機序は明らかではない。近年、DS と抗癌剤との併用が抗癌効果をあげることから、DS がライソソーム不安定剤として作用する可能性が指摘されている。著者らの実験ではライソソーム膜に及ぼす影響を直接証明することはできなかった。しかし、線維芽細胞の変性初期に、細胞質や小胞体腔にミエリン様物質の出現があることから、DS が生体膜の構造に障害作用を与える可能性は否定できない。

佐々木ら⁹⁾は培養された線維芽細胞に対する DS の効果を検討し、DS によって線維芽細胞の増殖が抑制され、コラーゲンやムコ多糖の産生が低下すると述べている。著者らの形態的所見からコラーゲンやムコ多糖の産生に対する影響を結論することは困難であるが、粗面小胞体のリボソームが消失し、小胞体が限局性空胞化をおこすことは興味がある。上述のように DS が小胞膜構造に何らかの障害をおこすとすれば、このような膜の変化がリボソームの付着を困難にするのかもしれない。いずれにしても、粗面小胞体におけるこれらの変化はコラーゲン産生に障害をもたらす可能性を示唆している。変性が高度になれば、**residual body** の増加によって粗面小胞体の減少やゴルジ装置の萎縮がおこり、コラーゲンやムコ多糖の合成が低下することは十分ありうることである。

結 論

ラットのカラギニン肉芽腫を用いて、デキストラン硫酸 (DS) が線維芽細胞に及ぼす影響を電顕的に観察した。DS 注射によって線維芽細胞にさまざまな程度の変性がみとめられた。初期には粗面小胞体におけるリボソームの消失を伴う空胞化、自家食胞の出現および **dense body** の増加が目された。変性の進行とともに線維芽細胞は萎縮し、空胞と **residual body** の増加、および粗面小胞体の減少がみとめられた。

文 献

- 1) 山田弘三・葛谷文男：最新医学，17，2605 (1962)。
- 2) Robinson, D. S., Harris, P. M. & Ricketts, C. R. : Biochem. J., 71, 286 (1959)。
- 3) 横山 勤：名古屋医学，88, 68 (1966)。
- 4) Yamada, K., Kuzuya, H.

- &Noda, M. : Jap. Circ. J., 25, 497 (1961).
 5) Yamada, K., Kuzuya, H. & Noda, M. : Jap. Circ. J., 25, 570 (1961). 6) 谷口 猛・仁井谷久暢・稲垣治郎・滝口正子・杉浦 衛 : 医学のあゆみ, 71, 261 (1969). 7) 仁井谷久暢・稲垣治郎・谷口 猛・下山正徳・近田千尋・鈴木 明・滝口正子・木村禧代二 : 最新医学, 25, 172 (1970). 8) 佐野栄春 : 皮膚, 5, 216 (1963). 9) 佐々木宗一郎・新海 宏・明石幸雄 : 興和医報, 3, 31 (1970). 10) Luft, J. H. : J. Cell Biol., 23, 54A (1964).
 11) 梶川欽一郎 : 実形態誌, 20, 1 (1961).
 12) Ross, R. : Treatise on Collagen (ed. B. S. Gould), 2A, P. 2, London & New York, Academic Press, 1968.

写 真 説 明

写真1. 対照例の線維芽細胞. 粗面小胞体とゴルジ装置の発育が特徴. 少数の dense body (Db) がみられる. $\times 12,000$.

写真2. DS 注射1週後の線維芽細胞. 粗面小胞体のリボソームの消失 (\uparrow) と小胞腔内の層状膜構造物 (X), M: 腫大した糸粒体. $\times 16,000$.

写真3. DS 注射1週後の線維芽細胞. 多数の自家食胞 (Av) の形成と粗面小胞体のリボソームの減少. N: 核, G: ゴルジ装置. $\times 12,000$.

写真4. DS 注射2週後の線維芽細胞. 細胞質は萎縮状で粗面小胞体のリボソーム消失と限局性空胞化 (\uparrow), および濃厚物質を含む空胞 (V) の形成がみられる. H: カラギニンを貪食した組織球. $\times 12,000$.

写真5. DS 注射2週後の線維芽細胞. 細胞の著明な変性. 複雑な内容をもつ空胞 (V) や dense body (Db) の増加と, 粗面小胞体の減少. $\times 12,000$.

A b s t r a c t

Electron microscopic observations have been made on the effects of dextran sulfate on the fibroblasts growing in the carrageenin granuloma of rats. A subcutaneous injection of dextran sulfate gave rise to varying degrees of cytoplasmic degeneration in the fibroblasts. The initial features of degeneration were vacuolization of the rough-surfaced endoplasmic reticulum in association with the loss of ribosomes attached to the membrane surface, occurrence of autophagic vacuoles, and increase in the number of dense bodies. With the progress of degeneration the cells became atrophic, accompanied by numerous residual bodies and decrease of the rough-surfaced endoplasmic reticulum.



