

細網細胞におけるデキストラン鉄貪喰の電子顕微鏡的研究

金沢大学大学院医学研究科病理学第一講座(主任 渡辺四郎教授: 指導 梶川欽一郎助教授)

中西 功夫

(昭和43年2月2日受付)

本論文の要旨の一部は、昭和41年8月第6回国際電子顕微鏡学会、昭和42年4月第7回日本網内系学会、昭和42年5月第23回日本電子顕微鏡学会において発表した。

貪喰は間葉細胞の重要な機能の一つであり、昔から多数の研究が報告されている。近年、電子顕微鏡によって異物のとりこみ方や細胞内消化の過程がかなり明らかにされた^{1)~5)}。異物のとりこみ方についてはほとんど意見が一致し、細胞表面の異物は陥入した細胞膜がくびれ切れることによって細胞内にとりこまれるものと信じられている。しかし、とりこまれた異物が細胞内でどのような処理をうけ、それに伴って細胞の微細構造がどのような変動を示すかについてはなお議論がある。細胞内消化について最近とくに注目されるのは lysosome の役割である。lysosome は酸性水解酵素を含む小体として生化学的に定義されたものである⁶⁾。この小体は生体の細胞に広く存在し、さまざまな機能が指摘されているが^{7,8)}、食細胞においては細胞内消化に重要な役割をもつことが次第に明らかになってきた。

一方、電顕的細胞化学の進歩と共に酸性水解酵素をもつ小体は決して単一の構造を示すものでないことも明らかになった⁹⁾。いきおい、lysosome の形態学的変化と貪喰との関係が反省され、貪喰過程における lysosome の発生や運命についてかなり多くの研究が報告されているが、まだ意見の一致をみない現状である。

議論の紛糾の原因の一つは実験条件の相違にあると思われるが、この種の実験にはいくつかの留意すべき点がある。第1は貪喰物質および細胞内での消化産物が電顕的に容易に同定されることである。第2は貪喰物質またはその投与方法によって、食細胞に非特異的な障害を与えないことである。これらの条件を満足させるため、著者はデキストラン鉄をラット足臓に注射し、同側の膝窩リンパ節の細網細胞を観察する方法を選んだ。貪喰されたデキストラン鉄はフェリチンに転

換するが、この2つの物質は電顕的に容易に同定される。またデキストラン鉄は細胞障害が少なく、上述の投与方法では細胞に対して注射による直接の刺激を避けることができる。Richter⁹⁾ は同じ意図のもとに脾の細網細胞を用いたが、脾では生理的に含まれるフェリチンと新生されたフェリチンと区別できないという欠点がある。

第3に注意すべき点は観察時間の問題である。これまでの研究は貪喰後比較のおそい時期の観察が多いように思われる。このような時期では細胞内にすでに複雑な変化が起り、その変化の成り立ちを解析することは困難である。細胞内消化の過程について意見が分れる原因の一つはこの点にあると思われる。著者は貪喰後5分から4週間にわたって観察し、とくに貪喰初期の変化と、以後の微細構造のうごきとの関係に注意を払った。

本研究は、以上の諸点を考慮に入れて、細網細胞にとりこまれたデキストラン鉄の運命と、それに伴う lysosome の果たす役割を明らかにするため行なわれたものである。

実験材料および実験方法

Wistar 系成熟雄ラット(体重約 200gr)の足臓にデキストラン鉄(杏林製薬製) 0.1 cc を皮下注射し、注射後 5, 10, 15, 30, 60分, 12, 24, 48時間, 1, 2, 4 週間目に同側膝窩リンパ節を手術的に摘出し、研究材料とした。細切された材料は2%オスミウム酸¹⁰⁾(ヴェロナール緩衝液, pH 7.4) に氷室(4°C) で約1時間半固定、アセトン系列脱水、エポン 812¹¹⁾ で包埋した。

酸性フォスファターゼ反応は Sabatini らの法¹²⁾ による。材料を2.5% グルタルアルデヒド(カゴジ

Electron Microscopic Studies of Iron-dextran Phagocytosis in Reticulum Cells of the Rat Lymph Node. **Isao Nakanishi**, Department of Pathology (I) (Director: Prof. S. Watanabe), School of Medicine, Kanazawa University.

ル酸緩衝液, pH 7.4) で2時間前固定後, 凍結マイクロトームで40~60 μ に薄切, 薄切切片を一晩氷室(4°C)の中で緩衝液で水洗, Gomori メジウム(pH 4.6), 37°C, 30分浸漬, 0.05 M 酢酸緩衝液(pH 5.0)で軽く水洗, 2% オスミウム酸(ヴェロナール緩衝液, pH 7.4)で1時間半後固定, アセトン系列脱水, エポン 812¹¹⁾で包埋した。

薄切切片は Fernández-Morán 型超マイクロトームでガラスナイフを用いて作成した。切片は硝酸鉛¹³⁾, または酢酸ウラニル¹⁴⁾, 硝酸鉛二重染色を施した。使用電顕は HU-11 および JEM-7 型で直接倍率 2,500-30,000 で撮影した。

実験結果

I. 貪喰初期における変化

1. 注射後5分~10分

デキストラン鉄は 20-30 Å の鉄が連なり, 長さ約 100 Å の高電子密度のフィラメントとしてみとめられ, その同定は容易である。

注射後5分~10分では細胞間に多量のデキストラン鉄がみとめられ, 一部は細胞内にとりこまれている。

細網細胞はよく発達した滑面小胞体と円形または楕円形の特徴的な小体(直径0.1~0.5 μ)の存在によって特徴づけられる。この小体は単位膜で包まれ中等度の電子密度を有する等質性物質で満たされるが, 通常限界膜内側に約 200 Å の透明帯がみとめられる。ときどき透明帯の内縁に沿って高電子密度の顆粒が並んでいる。この小体は他の研究者によって, dense body¹⁵⁾, cytosome¹⁶⁾¹⁷⁾, H-granule¹⁸⁾, segresome¹⁹⁾, 消化体²⁰⁾などさまざまな名称で呼ばれている。細胞化学的には後述のように酸性フォスファターゼ反応が陽性であるので lysosome の定義に一致する⁷⁾。しかし, 貪喰の経過中にこの小体と異なったさまざまな形態をもつ酸性フォスファターゼ反応陽性の構造物が出現するので, それらと区別するため, 本論文ではこの小体を dense body と呼ぶことにする。

注射後5分では細胞内にとりこまれたデキストラン鉄の量は少ない。細胞膜に接近してデキストラン鉄を含む貪喰小胞または貪喰空胞が少数みとめられるにすぎない(図2)。dense body の内にはデキストラン鉄はみとめられない。

注射後10分では貪喰空胞の数はやや増加するが, 内腔に含まれるデキストラン鉄の量はまだまだ多くない。ときどきゴルジ体の近くに貪喰小胞ないし貪喰空胞がみとめられるが, ゴルジ構成成分の内にはデキストラン鉄は存在しない。この時期には滑面小胞体の増加はみと

められない。ミトコンドリアや粗面小胞体は一般に少なく特別の変化を示さない。

2. 注射後15分

この時期になると旺盛な貪喰がみられる。多量のデキストラン鉄が細胞表面に集合してみとめられる(図3)。細胞膜のいりこみが強くなり, その間隙にはデキストラン鉄が充満している。細胞膜のいりこみがくびれ切れて限界膜に包まれた貪喰小胞を形成する過程を追求することができる(図3)。デキストラン鉄は coated vesicle⁸⁾の内にもとりこまれている。coated vesicle は限界膜表面に付着する長さ約 200 Å の放射冠によって, 他の滑面小胞体と区別される(図3)。貪喰小胞は 0.1~0.2 μ の円形または楕円形の断面を示し, これらが融合して貪喰空胞に発育する(図3)。貪喰空胞は凹凸の著しい輪郭を有し, その大きさはさまざまである。

デキストラン鉄の増加と共に, 個々の粒子が識別できないほどデキストラン鉄が密集する。このような構造物を phagosome²¹⁾と呼び, 貪喰空胞と区別して取扱うことにする。phagosome は形態学的にも機能的にも貪喰空胞と異なっていると思われるからである。ときどき phagosome 相互の融合を思わせるような把手状の突出がみられる。

ゴルジ野に近い細胞質中間域にデキストラン鉄を含まない滑面小胞体が増加することが注目される。この滑面小胞体は円形または長楕円形の断面を示し, 集簇して存在する(図4)。

phagosome にはときどき dense body との融合を思わせる把手状の連絡や, 内部に中等度の電子密度を有する等質性物質の出現がみられる(図8)。phagosome のこのような変化は注射後30分において最も著明にみとめられるので後に詳しく述べる。

ゴルジ体の発育は良好で, ゴルジ小胞および層板から成る。ゴルジ野に dense body または貪喰空胞がみられることがあるが, ゴルジ小胞や層板内にデキストラン鉄はみられない(図5)。しばしばデキストラン鉄を含まない coated vesicle がゴルジ野にみとめられる(図5)。

3. 注射後30分

注射後30分にみられる注目すべき変化は, dense body の集簇的増加と, dense body と phagosome との融合である。dense body の増加は注射後15分で見られた滑面小胞体の増加する領域に一致してみとめられる。円形または長楕円形の形態を示し, 集簇的に存在することが特徴的である(図6)。この領域の周囲にはしばしば多数の phagosome がみられる。dense

body 内にはデキストラン鉄はみとめられない。集簇した dense body はゴルジ体と直接的連絡はみられない。

phagosome と dense body の混在している領域では、大きい phagosome と小さい dense body とが把手状の連絡を示している場合から、dense body の内容と同じ等質性物質（以後 dense body 物質と略称する）をかなり含んでいる phagosome まで、いろいろの移行を追求することができる（図10）。このような像は phagosome と dense body との融合を表わしているものと解釈される。Straus²²⁾ は腎細尿管上皮細胞の光顕的観察において、phagosome と lysosome とが融合することを述べ、これを phago-lysosome と称した。上述のデキストラン鉄と dense body 物質を共有する構造物は、後述のように酸性フォスファターゼ反応が陽性であるので、Straus²²⁾ の定義に従って phago-lysosome と呼ぶことにする。

dense body と融合しない phagosome もかなり多数にみとめられる。ときどき中心部に空胞の出現がみられる。粗面小胞体は短桿状で大きな変化はみられない。

4. 注射後30分, 酸性フォスファターゼ反応

酸性フォスファターゼ反応物質は不正形の形と高い電子密度によってデキストラン鉄との区別は容易である。dense body または phago-lysosome 内にときどき出現する高電子密度の顆粒との区別には困難を感ずることがある。しかし、酵素反応物質は電子密度がより高く、その辺縁が不正形にみえるものが多い点で区別することができる。

dense body は常に酸性フォスファターゼ反応陽性であり、とくに限界膜内側に沿って反応物質が出現しやすい（図7, 11）。phago-lysosome では、デキストラン鉄を含む部分かまたは dense body 物質、あるいはその両者に反応物質がみとめられる（図11）。

dense body 物質を含まない phagosome の酸性フォスファターゼ反応は一定しない。phagosome は一般に酸性フォスファターゼ反応陰性であるが、dense body またはゴルジ体に近接する場合には陽性を示すものがある（図7, 8, 10）。lysosome の定義に従えば、酸性フォスファターゼ反応陽性の phagosome は lysosome と呼ぶべきであり、phago-lysosome の範疇に入れるべきかも知れない。しかし、phagosome 内に dense body 物質がみとめられない場合は、酵素反応を行なわないうきり lysosome か単なる phagosome かは判定できない。従って、本論文では酵素反応を行なわない場合、dense body 物質を含まない

ものは一応すべて phagosome という名称で呼び、酵素反応を行なった場合にのみ反応陽性の phagosome と陰性の phagosome と区別して取扱う。

貪喰小胞および貪喰空胞は酸性フォスファターゼ反応陰性である（図11）。従って、phagosome または phago-lysosome と呼ばれる形態学的特徴をもつようになって初めて酵素的な処理をうけるものと思われる。これが貪喰小胞や貪喰空胞と phagosome とを区別して取扱う理由である。

ゴルジ小胞および層板の一部は酸性フォスファターゼ反応陽性を示す（図9）。酸性フォスファターゼ反応陽性のゴルジ小胞や層板の近くに dense body や phago-lysosome, および酸性フォスファターゼ反応陽性の phagosome が存在していることがあるが、構造的連絡はみとめられない。酸性フォスファターゼ反応陽性の phagosome でもその内に出現する空胞には反応物質は沈着しておらない。

5. 注射後60分

この時期には phagosome の大きさと数が増加する。同時に phago-lysosome の増加は次第に著明になり、デキストラン鉄の処理過程が進んでいることが暗示される。phago-lysosome 内には dense body 物質の増加が著しくなり、膜様物質が出現することもある。一方、dense body の数は減少する。phagosome がよく発育したゴルジ野にみとめられることがある。しかし、ゴルジ体と phagosome との形態学的連絡はみられない。まれに phagosome がデキストラン鉄を含まない滑面小胞体と連絡していることがある（図12）。

滑面小胞体は貪喰早期に比べ数が減少し、これに代って粗面小胞体が増加している。phagosome や phago-lysosome 内にフェリチンはまだみとめられなかった。

II. 貪喰中期における変化

1. 注射後12時間

この時期には貪喰小胞や貪喰空胞はほとんどみとめられず、この代りに大小さまざま（直径0.5~3 μ ）の phagosome および phago-lysosome が著しく増加する。phagosome や phago-lysosome はひょうたん形を呈し、あるいは把手状の突出を示し、これらが相互の融合によって発育したことを暗示する（図13）。phagosome や phago-lysosome の間に増加した長管状の粗面小胞体が入りこんでいる（図13）。

phago-lysosome には不正形の膜様構造物ないし dense body 物質が増加し、その中に散在性にフェリチンが同定される。フェリチンはアポフェリチンで被

われた約 30Å の4個の三価鉄のミセルからなっている²³⁾。電顕的にはこのミセルは電子密度の高い50~60Åの正方形の粒子として同定される。外被のアポフェリチンはミセルを包む電子密度の低い薄帯としてみとめられる。細胞基質内に遊離状に存在するデキストラン鉄およびフェリチンには遭遇しなかった。

dense body は依然として少なく、ゴルジ体の発育は悪い。

2. 注射後24時間

この時期においては **phago-lysosome** の変化は一層著しくなる。一方、**phagosome** は減少する。

phago-lysosome は形態が著しく不正形で、その内容は複雑となり高電子密度の粗大な顆粒、**dense body** 物質または膜様の構造物を含んでいる。このような変化と共に **phago-lysosome** に含まれるデキストラン鉄はフェリチンに変る。しかし、時間の経過にしたがって、フェリチンの量も次第に減少し、ついには **phago-lysosome** の内には **dense body** 物質、膜様物質あるいは粗大顆粒のみが存在し、フェリチンはほとんどみとめられなくなる(図14)。このような **phago-lysosome** は貪喰されたデキストラン鉄の処理の終末を表わしているものと思われるので **residual body** と呼ばれる²⁴⁾。

phagosome 内に含まれるデキストラン鉄も散在性にフェリチンに変っているのがみとめられる(図18)。一部の **phagosome** は大きさが縮小し、円形または楕円形となり、中央部ではデキストラン鉄またはフェリチンの密度が減少し、**dense body** 物質に類似した等質性物質が出現する。このような **phagosome** は注射後48時間から増加するので後に詳しく述べることにする。

この時期においても細胞基質内に遊離状のフェリチンを確認することはできなかった。注射後12時間と同様に **dense body** はほとんどみられず、ゴルジ体の発育は悪い。長管状の粗面小胞体の増加は依然としてつづく。

3. 注射後24時間、酸性フォスファターゼ反応

この時期には大部分の **phagosome** は酸性フォスファターゼ反応陽性となり、反応陰性の **phagosome** はほとんどみられない(図15, 16, 17)。ゴルジ小胞や層板の一部も酸性フォスファターゼ反応陽性であるが(図17)、ゴルジ体における酸性フォスファターゼ反応陽性の構成成分と反応陽性の **phagosome** との構造的連絡はみとめられない。位置的には酸性フォスファターゼ反応陽性の **phagosome** は細胞質全域に散在性に存在している(図16)。

phago-lysosome および **residual body** の酸性フォスファターゼ反応は常に陽性である(図15)。

4. 注射後48時間

この時期になると細胞基質内に遊離状のフェリチンがびまん性に散布されている(図19)。**phago-lysosome** の変化は注射後24時間と大差はないが、ラメラやミエリン様構造物を有するものが増加し、この内にはさまざまな量のフェリチンが含まれ、次第に **residual body** へ変化していく(図20)。

phagosome 内のデキストラン鉄もフェリチンに変っている。この時期になると **phagosome** は形態学上2種類に分けられる。一つはフェリチンを充滿した粗大な凹凸を示す **phagosome** で、このような特徴によって **siderosome** (長径 0.5~3.0 μ) と呼ばれる²⁴⁾。

他の一つは円形または楕円形の断面を示し、中心部ではフェリチンの量を減じている **phagosome** である(図19)。この種の **phagosome** の変形はすでに注射後24時間でときどき観察されたが、注射後48時間では中心部のフェリチンの密度の減少と共に **dense body** 物質が次第に増加していくさまざまな移行像を追求することができる。**phago-lysosome** の **dense body** 物質は通常周辺部に存在するのに対して、この **phagosome** の **dense body** 物質は中心部から増加していく点が特徴的である。従って、この種の **phagosome** は **dense body** との融合によって生ずる **phago-lysosome** と異なる小体であると思われる。

この時期においてはゴルジ体の発育は良好となり、とくにゴルジ空胞の増加が目立っている。**dense body** はほとんどみられない。粗面小胞体はなお長管状の形態を保っているが、その数は減少する。

III. 貪喰後期における変化

1. 注射後1週間

phago-lysosome の数は減少し、**residual body** が増加している。**siderosome** は凹凸が著明になり大きさを減少している。

この時期には細胞内のみならず細胞外にも遊離状のフェリチンが散在性にみとめられる(図23)。細胞基質にびまん性にみられる遊離状のフェリチンの量は多くなる。まれに、**siderosome** 近傍の細胞基質にフェリチンが集んでいることがある。注意してみると、**siderosome** 内のフェリチンと連続しているようにみえ、**siderosome** の限界膜はこの部分で不明瞭になっている(図21)。滑面小胞体の内に極少量のフェリチンがみとめられることがある。しかし、細胞膜の陥入や細胞膜近傍の小胞の増加はみられない(図23)。

一方、他の **phagosome** においてはフェリチンの量

の減少と dense body 物質の増加が進行して限界膜内側に透明帯がみとめられるようになる。これは、dense body と類似した形態であるが、透明帯内縁にフェリチンがみとめられる点で区別される (図22)。

dense body はあまりみられない。ゴルジ体の発育は良好であるが、粗面小胞体は一般に少なく、短棒状である。

2. 注射後1週間, 酸性フォスファターゼ反応

この時期においては、dense body, phago-lysosome, residual body のみならず siderosome および phagosome のすべてに酸性フォスファターゼ反応が陽性である (図24)。ゴルジ小胞や層板の一部に酸性フォスファターゼ反応陽性である。その状態は注射後30分, 24時間と全く同一である。

3. 注射後2週間

phago-lysosome の減少と residual body の増加はさらに著しくなる。siderosome の形はますます不規則となる。同時に大きさが縮小し限界膜内側にフェリチンを少量しか含まない低電子密度の領域が現われる (図25)。細胞基質内および細胞外にも注射後1週間目と同様にフェリチンが遊離状にみとめられる (図26)。

前述の dense body に類似する円形ないし楕円形の phagosome が増加する。しかし、この時期になるとフェリチンの含有量は次第に減少し、dense body との区別に困難を感じるようになる (図27)。この phagosome はしばしばゴルジ体近傍に散在性にみとめられるが、ゴルジ体との形態学的連続はみられない。

dense body の存在、ゴルジ体の発育、粗面小胞体の状態も注射後1週間目と変わらない。

4. 注射後4週間

この時期になると residual body は一般に小さく定型的な phago-lysosome はほとんどみとめられない (図28)。siderosome は縮小し (長径0.3~1.5 μ)、限界膜内側のフェリチンを含まない領域は広がる。フェリチンをもった phagosome はかなり多く、dense body が散在性にみとめられる。まれにゴルジ野近傍に dense body が集簇している像に遭遇した。しかし、ゴルジ体との構造的連絡はみられない。

遊離状のフェリチンは細胞基質においても細胞外においても注射後1, 2週間目に比べ減少する。1, 2週間目に比べてゴルジ体の発育は悪いが、粗面小胞体には大差はない。

5. 注射後4週間, 酸性フォスファターゼ反応

注射後1週間目にみられたと同様に dense body,

phago-lysosome, residual body, siderosome および phagosome のすべてに反応物質が沈着している。ゴルジ体の酵素反応にも変化はみられない。

考 察

1. デキストラン鉄のとりこみと phagosome の形成

異物の細胞内とりこみは、異物の大きさにしたがって phagocytosis, pinocytosis または拡散によって行なわれることが知られている。フェリチンのように60Å程の小さい粒子が少量投与された場合は拡散によるとりこみが観察されている²⁵⁾。また、赤血球³⁾や細菌²⁶⁾のような大きな異物は、細胞膜の積極的な突出を伴う phagocytosis によってとりこまれることが知られている。デキストラン鉄の大きさは約100Åであり、pinocytosis によってとりこまれることは多くの人によって報告されている¹⁾¹⁵⁾²⁷⁾²⁸⁾。phagocytosis も pinocytosis も異物が細胞の膜系で包みこまれて細胞内にとりいれられる点では根本的な差異はないものと思われる。本研究においても、細胞膜の陥入が起りその先端がくびれ切れて貪食小胞内にデキストラン鉄がとりこまれる過程を追跡することができた。

デキストラン鉄の一部は coated vesicle⁸⁾の内にもみられた。coated vesicle は蛋白の摂取にあずかる貪食小胞であるといわれる^{29)~31)}。Rosenbluth ら³²⁾はフェリチンが coated vesicle にとりこまれることを観察している。デキストラン鉄は低分子デキストランと水酸化第二鉄の複塩であり、蛋白を含んでおらないが、体内で蛋白と結合する可能性は否定できない。小島³³⁾は異物は蛋白と結合してはじめて貪食されうると述べている。一方、Novikoff ら³⁴⁾³⁵⁾は coated vesicle は可溶性物質をゴルジ野へ運ぶ役割をもっていると述べている。著者の観察においても、coated vesicle がときどきゴルジ野にみとめられた。その中にはデキストラン鉄を含むものと含まないものがある。いずれにしても、デキストラン鉄を含む coated vesicle は少なく、デキストラン鉄のとりこみに coated vesicle が特別な意味をもつとはいえないと思われる。

貪食小胞と貪食空胞との間には大きさにおいてさまざまな移行がみられる。貪食空胞の周辺に多数の貪食小胞が接近し、一部は融合していることから、貪食空胞は貪食小胞の融合によって形成されるものと思われる。

phagosome は貪食空胞とほぼ同じ大きさであるが、円形で、デキストラン鉄は密集して存在する。また、

貪喰小胞および貪喰空胞は常に酸性フォスファターゼ反応陰性であるのに対して、**phagosome**の中には陽性の反応を示すものがある。このような形態と酵素反応から判断すると、**phagosome**は単にデキストラン鉄の含量が増加した貪喰空胞ではなく、その内部においてデキストラン鉄の濃縮と共に消化処理に必要な一定の化学的変化を伴った特殊な構造物であると考えられる。

2. dense body の形成

貪喰初期において注目されるのは **dense body** の増加である。この小胞が貪喰と密接な関係があることは多くの人によって指摘されている^{8)15)20)22)36)~38)}。**dense body**は酸性フォスファターゼ反応が常に陽性であり、定型的な **lysosome** の一つである。その起源については、酸性フォスファターゼの産生と関係して多くの研究が発表されている。一般には **dense body** または類似物質はゴルジ体由来すると考える人が多い^{39)~42)}。Novikoff⁸⁾はゴルジ体との関係に注目し、酸性フォスファターゼ反応陽性のゴルジ小胞を **pure lysosome**⁴³⁾ と考え、これが **dense body** の起源であると述べた。しかし、最近ラットの神経節細胞⁴⁴⁾⁴⁵⁾ やオロチン酸投与後のラット肝³⁵⁾を精査し、GERL複合体 (GERLはGolgi, Endoplasmic Reticulum, Lysosomeを意味する)において **dense body** が直接滑面小胞体から形成されると主張している。Hugonら⁴⁶⁾は、十二指腸粘膜上皮細胞において **dense body** とゴルジ近傍の滑面小胞体との形態学的連続を証明している。また、Brandes⁴⁷⁾は前立腺上皮細胞や精巣上皮細胞では **dense body** は発達した粗面小胞体の間に生じ、皮脂腺分泌細胞ミドリムシ細胞ではゴルジ体から由来すると述べている。このように、**dense body** は必ずしもゴルジ体由来するとは限らず、むしろ、滑面小胞体から発生するという見解を支持する証拠が次第に多くなってきた。

著者の観察では、**dense body**の大部分は滑面小胞体の内に電子密度の高い等質性物質が集積することによって形成されると思われるいくつかの証拠がえられた。第1には、**dense body**の増加に先立ってデキストラン鉄を含まない滑面小胞体の増加がみられること、第2に、**dense body**はこの滑面小胞体が増加する細胞中間域に一致して集簇的に増加すること、第3に、増加した **dense body**の中にはしばしば長楕円形の断面を示すものがあり、この形は増殖初期の滑面小胞体の形と一致すること、第4に、増加した **dense body**内にはデキストラン鉄を含まないことである。従って、ここに増加した滑面小胞体は細胞膜に由来す

る貪喰小胞とは別の起源をもった膜系統であり、貪喰物質がそのまま濃縮して発生するものではないと考えられる。著者の観察した範囲では、ときどき **dense body** がゴルジ体の近くに存在することはあっても、ゴルジ成分との直接の連続は確認されなかった。前述の他の研究者の成績を考え合せると、おそらく細胞の種類によって、ゴルジ体あるいは滑面小胞体のいずれかがより優勢に **dense body** の形成に参与するものであろうと思われる。細網細胞は著者の成績からはその後者に属する細胞であると考えられる。

次に酸性フォスファターゼの供給源が問題となる。酸性フォスファターゼは他の蛋白と同様にリボゾームによって合成され粗面小胞体を經由して転送されると考えなければならない^{48)~50)}。この場合、粗面小胞体から直接滑面小胞体に供給される方法と、粗面小胞体からゴルジ体に転送されたのち、滑面小胞体に移動する方法とが考えられる。ゴルジ体には酸性フォスファターゼが陽性である。この所見は他の細胞においてもみとめられ、**dense body** がゴルジ体から発生するという主張を支持する一つの証拠になっている。しかし、本研究の範囲では、上述のようにゴルジ体と **dense body** との構造的連絡は確認されず、またゴルジ体の酵素反応の強さは **dense body** の増減に関係なく貪喰経過中ほとんど一定であることから、酸性フォスファターゼがゴルジ体から **dense body** に転送される可能性は少ないと思われる。

一方、粗面小胞体と滑面小胞体との構造的連続はときどきみとめられる。しかし、粗面小胞体に酸性フォスファターゼ反応物質は証明されない。おそらく、滑面小胞体の膜に水解酵素を濃縮する能力があるか⁵¹⁾、または粗面小胞体内で非活性であった酵素が滑面小胞体で活性化されるものと推定される。

3. dense body と phagosome の融合—phago-lysosome の形成とその意義

Straus²¹⁾⁵²⁾はラットにワサビから精製したペルオキシダーゼを静脈注射し、腎細尿管上皮、肝Kupffer細胞で形成される **phagosome** と **dense body** との関係を経理的に研究し、**phagosome** は **dense body** との融合によって消化酵素をうけ **phago-lysosome** となり細胞内消化が進むと述べた。同様な所見はHela細胞⁵³⁾、腎細尿管上皮³⁸⁾、腹腔大食細胞⁵⁴⁾、白血球³⁶⁾、下垂体前葉細胞⁵⁵⁾、甲状腺上皮細胞⁵⁶⁾、L-株線維芽細胞³⁷⁾においても知られている。

著者の観察では、細網細胞においても **phago-lysosome** は **dense body** と **phagosome** との融合によって形成されるものと考えられる。その主な根拠は次

の通りである。

第1に, phagosome はしばしば dense body に接近した部位にみられること. 第2に, 図10に示すように, phagosome と dense body との構造的連続がみられること, 第3に, phago-lysosome はデキストラン鉄と dense body の内容と同様な等質性物質を共有すること, 第4に, 貪喰の経過が進むにつれて dense body は減少し phago-lysosome が増加することである. 第2, 第3の所見だけからは phagosome 内で等質性物質が造られ, これが phagosome から遊離にして dense body を形成する可能性が考えられる. しかし, phago-lysosome の増加と共に dense body が減少すること, および前述のように dense body は phagosome と別の滑面小胞体から発生することから考えると, この可能性は少ないと思われる.

phago-lysosome における酸性フォスファターゼ反応は陽性である. 一般に反応物質はデキストラン鉄を含む基質によく出現する傾向がある. Hirsch³⁶⁾ は位相差顕微鏡によって白血球の貪喰処理過程を研究し, phagosome と白血球の特殊顆粒との融合が細胞内消化に必要な現象であり, この融合は瞬間的に起ることを観察した. 細網細胞においても, おそらく, phagosome と dense body との融合は瞬間的に起り, 酸性フォスファターゼは速やかにデキストラン鉄を充満する基質内へ移行するのであろうと推定される. Hirsch³⁶⁾ が指摘するように, phagosome と lysosome との融合は細胞内における異物処理に対する普遍的な現象であり, これにより phagosome は消化処理に必要な酵素を獲得するものと思われる.

dense body 物質を含まない phagosome にときどき酸性フォスファターゼ反応が陽性のことがある. この像から, 切断面以外の所で dense body と融合している可能性を否定することはできない. しかし, phagolysosome 内の dense body 物質は一般に限界膜に接近して存在するので, もし phagosome と dense body が融合すれば切断面にこの物質が現われない機会はむしろ少ないと想像される. また, 貪喰の過程が進むにしたがって phagosome と dense body の融合が増加することは前述した通りであるが, この時期にもなお dense body 物質を有しないにもかかわらず, 酸性フォスファターゼ反応陽性の phagosome がかなり多くみとめられる. このような点から考えると, phagosome は dense body との融合以外のルートから酸性フォスファターゼを獲得する可能性があるものと思われる. Miller^ら⁵⁸⁾⁵⁹⁾ はヘモグロビンを

とりこんだ腎細尿管上皮, およびフェリチンをとりこんだ腎糸球体メザンギウム細胞の phagosome が, また Goldon^ら³⁷⁾ はコロイド金を含む核酸と蛋白の coacervate をとりこんだ L-株線維芽細胞の phagosome が, 酸性フォスファターゼ反応陽性であることを報告している. Deams⁶⁰⁾ はマウスの腹腔にデキストランを注射し, 肝細胞のデキストラン phagosome と lysosome との関係を調べた. この実験では, 第1回目の注射後に形成される phagosome は dense body 物質を含み酸性フォスファターゼ反応が陽性である. しかし, 再注射後には dense body 物質を含まないにもかかわらず酸性フォスファターゼ反応陽性の phagosome が圧倒的に増加することを観察し, phagosome は dense body との融合なしに酸性フォスファターゼを獲得しうる可能性を主張した. では dense body と融合しない phagosome はどのようにして酸性フォスファターゼを獲得するのであろうか. この問題に対しては十分な説明はまだ与えられない. Goldon^ら³⁷⁾ はゴルジ小胞が酸性フォスファターゼの供給源になっていると述べている. 著者の観察では, 酸性フォスファターゼ陽性の phagosome は必ずしもゴルジ野に近接しているとは限らず, ゴルジ小胞から phagosome の内へ酵素が転送されるという見解を支持する証拠はえられなかった. 一方, Novikoff^ら³⁵⁾ は phagosome は直接滑面小胞体から酸性フォスファターゼを獲得しうることを論じている. 図12に示すような phagosome と滑面小胞体との構造的連絡はこの考えをある程度支持する所見であると思われる.

4. フェリチンの合成とその運命

細胞内にとりこまれたデキストラン鉄または鉄イオンが細胞内でフェリチンに変ることは多くの人によって報告されている¹⁾⁹⁾²⁷⁾²⁸⁾⁶¹⁾. Muir^ら²⁸⁾ は組織球にデキストラン鉄がとりこまれた場合, 注射後24時間でフェリチンはどこにも同定されなかったが, 注射後3日目になると細胞基質内と phagosome の内部に同時にフェリチンの出現をみとめ, フェリチンの合成は, phagosome 内と細胞基質内の両方で起ると推論した.

著者の実験では, フェリチンは注射後12時間目よりもまず phago-lysosome 内にみとめられた. 48時間後には phago-lysosome と phagosome の内のみならず細胞基質内に遊離の状態でびまん性にみとめられる. フェリチンが最初に細胞基質内に遊離して出現することはない. このことはフェリチンの合成は phago-lysosome または phagosome 内で行なわれるこ

とを示している。

フェリチンは phagosome より phago-lysosome の方に早く出現するように見える。これは phago-lysosome の方がフェリチンがまばらに存在するので同定しやすいためかも知れない。しかし、phago-lysosome の方がフェリチンの合成に好都合の条件をそなえているものとも考えられる。水解酵素の存在がデキストラン鉄からフェリチンを産生する過程に何かの意味をもっていることが推定されるからである。

アポフェリチンは他の蛋白と同様、リボゾームまたはポリゾーム⁶²⁾で産生され粗面小胞体を経由するはずである。Eineberg ら⁶³⁾⁶⁴⁾は腹腔内に注射された鉄は肝細胞にとりこまれフェリチンに変るが、このフェリチン産生に先立ってアポフェリチンが増加することを C¹⁴-グリシンと C¹⁴-ロイシンを用いて生化学的に証明した。著者の観察では、フェリチンの産生に先立ってかなりの粗面小胞体の増加がみとめられる。おそらく消化酵素や他の蛋白の産生のほか、アポフェリチンの産生にも関係があるものと思われる。

上述のように、デキストラン鉄注射48時間以後は細胞基質内に遊離するフェリチンの量が増加する。同時に phago-lysosome 内のフェリチンの量が減少し、residual body になる。

一方、phagosome は siderosome になるが、これも次第に縮小するのがみられる。1週間以後には細胞間質にもフェリチンがみとめられるようになる。このようなフェリチンの所在と量の経時的な変化は、phago-lysosome または phagosome の中で合成されたフェリチンの一部は siderosome の内に蓄積されるが大部分は細胞基質を経て細胞外へ放出されることを暗示している。しかし、phago-lysosome や phagosome から細胞基質内へ、また細胞内から細胞外へフェリチンが放出される機序についてはまだ充分解明されていない。

一般には、フェリチンを充滿する phago-lysosome または phagosome の限界膜はよく保たれているにもかかわらず、細胞基質内にフェリチンが増加する。従って、大部分のフェリチンは phago-lysosome または phagosome の限界膜を拡散によって通過するものと解釈した方が妥当であると思われる。

フェリチンが細胞間質に見い出される時期においても、細胞膜や小胞にフェリチンの放出に対して有意義であると思われる特別な形態学的変化はみとめられない。ここでもおそらくフェリチンは拡散によって細胞外へ放出されるものと思われる。

5. phago-lysosome および phagosome の運命

貪喰されたデキストラン鉄は phago-lysosome および phagosome の内で処理され、フェリチンになることはすでに述べた通りである。注射後48時間ではこれらの小体の内容はほとんどフェリチンに置換えられる。しかし、時間の経過と共に phago-lysosome 内のフェリチンの量は減少し、遂にはほとんど消失する。同時に、膜様ないし顆粒状の物質を含む複雑な内容で占められ、residual body⁸⁾になる。Ashford ら⁶⁵⁾は細胞内小器官やその他の膜様物をもつ小体を、cytolysome (autophagic vacuole⁴¹⁾)と呼び、細胞質の局所的な壊死が、新生された限界膜で被包されることによって形成されるものとみなした。その後この考え方は多くの人によって支持されている^{8)40)41)66)~69)}。しかし、著者の実験経過中に、明らかな細胞小器官を含む cytolysome の出現を観察することはできなかった。従って、residual body にみられた膜様構造物は phago-lysosome 内の消化産物として出現したものであり、cytolysome とは起源が異なっているものと考えられる。

phagosome の変化は3つに分けて考えられる。第1は貪喰中期における phagosome と phago-lysosome との融合である。Straus⁷⁰⁾によれば phagosome と phago-lysosome との融合は細胞内消化処理の普遍的現象であり、両者の融合したものを composite body と呼んでいる。著者の観察でも、phagosome と phago-lysosome との融合を思わせる 1.5 μ 以上の大きな phago-lysosome が注射後12~48時間に出現し、続いて同様の大きさの residual body がみられたことはこの考えを支持する。

phagosome の第2の変化は siderosome の形成である。すでに述べたように、phago-lysosome は貪喰中期からフェリチンの含有量を徐々に減少して residual body になり、貪喰後期においてはほとんど residual body に転換してしまう。これに対して、siderosome は貪喰後期に増加し、次第に不規則な輪郭をとり縮小する。この過程中に siderosome の内に dense body 物質や他の複雑な構造物はみとめられない。従って、siderosome は時期的にも構造的にも phago-lysosome と異なった形成過程を経たものと思われる。siderosome は酸性スオスファターゼ反応陽性であるから lysosome の一種である。著者はさきに dense body との融合なしに酸性フォスファターゼ反応陽性を示す phagosome が存在することを述べた。siderosome はおそらくこのような phagosome から由来するものと思われる。

同様に、肝 Kupffer 細胞や脾細網細胞⁹⁾、組織球

27)によってとりこまれた鉄は、48時間以後には **phagosome** 内でフェリチンに変わり、**siderosome** が形成されることが報告されている。

注射後48時間にみられる **siderosome** は粗大な凹凸を示し大きい。時間の経過と共に大きさを減じながら著しく不正形となり、限界膜内側にほとんどフェリチンを含まない低電子密度の領域を残す。この時期には、細胞基質や細胞間質に遊離のフェリチンが多量にみとめられるので、おそらく、**siderosome** 内の一部のフェリチンが細胞基質に放出された結果であろうと思われる。**siderosome** 周辺にまれにフェリチンの集在がみられ、限界膜は不明瞭になっていることがあるが、一般には **siderosome** の限界膜はほとんど保存されている。従って、**phago-lysosome** の場合と同様にフェリチンは拡散によって限界膜を通過するものと考えられる。赤芽球においては、フェリチンは **siderosome** として蓄積され、必要に応じてヘモグロビンの素材として利用されると考えられている⁷¹⁾。細網細胞においても、合成されたフェリチンの一部は **siderosome** として貯えられ、徐々に細胞外へ放出されるものと思われる。

phagosome の第3の変化は、限界膜の内縁にフェリチンが沈着した **dense body** 様の小体への移行である。この変化は注射後48時間から貪喰後期に徐々に増加する。形態学的には、この小体の形成機序にはさまざまな可能性が考えられる。第1は **phagosome** の終末産物である可能性、第2は細胞外のフェリチンを再びとりこんだ貪喰小細胞が **dense body** と融合することによって形成される可能性、第3に細胞基質内に遊離したフェリチンが新生された膜系によって包みこまれる可能性である。しかし、滑面小胞体の増加や **dense body** の増加はみられないので、第2の可能性は少ないと思われる。細胞基質内のフェリチンはほとんど常に細胞基質内にびまん性に分散してみとめられ、このようなフェリチンが膜系で包みこまれて小体を形成するとは考えにくい。従って、第3の可能性も少ないと思われる。

一方、フェリチンをもった **phagosome** の内に等質性物質が増加すると同時にフェリチンが次第に減少するあらゆる移行像を追求することができる。この場合、フェリチンをもたない **dense body** の増加はみとめられないので、**dense body** の内にフェリチンがとりこまれたものとは考えられない。従って、この小体は **phagosome** の内容が消化処理をうけた終末的な像を表わしているものと解釈される。**Bennett**⁷²⁾ は **dense body** は貪喰物質の処理の終末産物であると述

べている。**Goldon** ら³⁷⁾はL株線維芽細胞で、コロイド金を含む核酸と蛋白の **coacervate** の貪喰を経時的に調べ、貪喰後期になるとコロイド金が **dense body** の内にみとめられるという所見から、**phagosome** は終局には **dense body** に変りうることを推論した。著者も **phagosome** の一部はフェリチンの減少と共に **dense body** 物質を増加し、結局はデキストラン鉄注射前にみられる **dense body** と区別されない小体に変るものと考えられる。

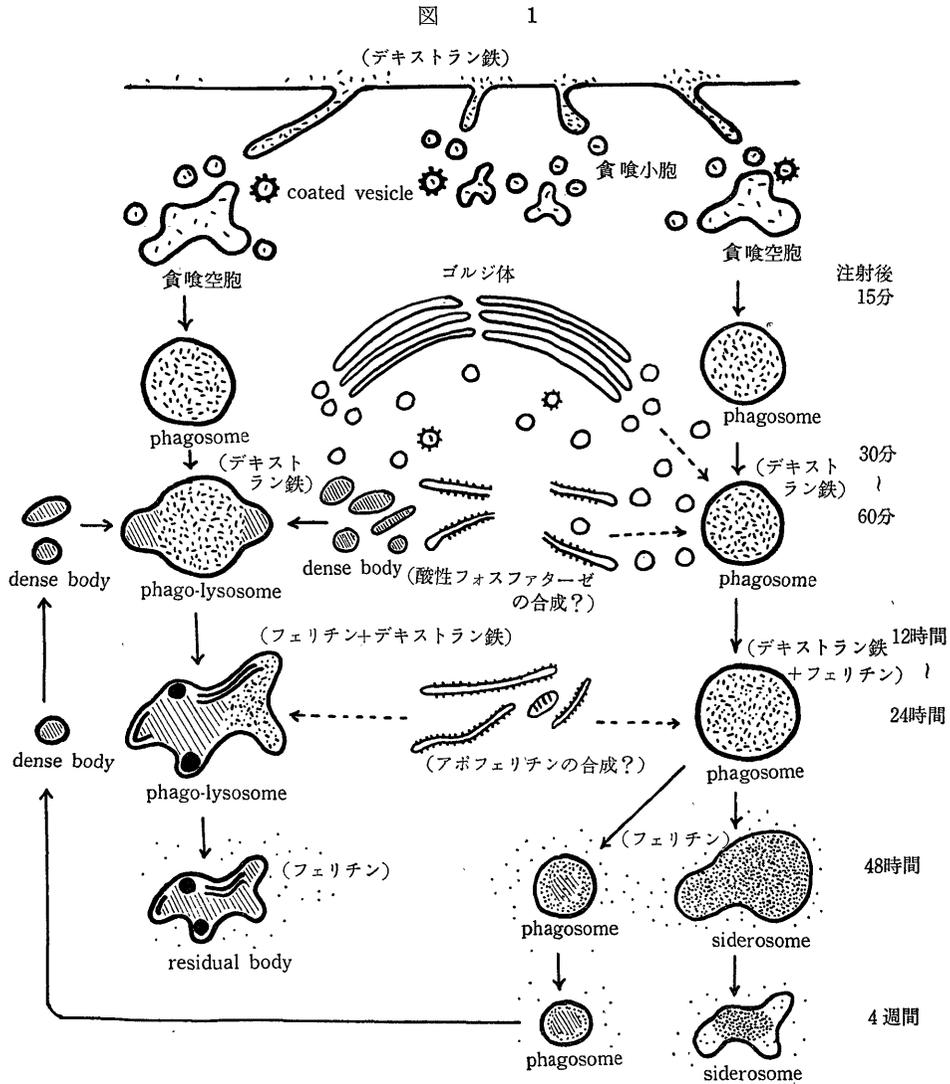
6. 貪喰と lysosome の役割

de Duve ら⁶⁾によって生化学的に定義された肝の **lysosome** は電顕的細胞化学を併用した **Essner** ら⁷³⁾ および **Holt** ら⁷⁴⁾ の研究によって、限界膜で包まれた等質性物質を満たす小体であることが証明された。その後多くの細胞において、酸性フォスファターゼ陽性の構造物が見出されたが、電顕的形態はかなり異なった内容をもっていることが明らかとなった。著者の実験においても、貪喰過程で酸性フォスファターゼ反応陽性を示す小体には、**dense body**、**phago-lysosome**、**phagosome** の一部、**siderosome**、**residual body** が区別される。

これらの小体の出現時期と発生機序は、貪喰物質の処理に応じてそれぞれ異なるものと考えられる(図1)。この中、**dense body** は無処置の動物においても常在し、最も基本的な **lysosome** であると思われる。

著者は **phagosome** は終末的には再び **dense body** に変る過程を観察した。生理的狀態にみられる **dense body** はおそらく細胞内でおこる生理的な物質処理の結果生じたものと推定される。この **dense body** はたえず行なわれる生理的な細胞内消化に利用されるものであろう。このようにして、**dense body** は細胞内消化を行ないつつ再び回収されるものと考えられる。デキストラン鉄注射後15分で、少数ではあるがすでに **phago-lysosome** が観察される。おそらく、**phagosome** と既存の **dense body** との融合によるものであろう。貪喰の極く初期には、まず既存の **dense body** が働くことが暗示されるのである。

しかし、多量の貪喰物質のとりこみに対しては、既存の **dense body** では処理しきれなくなり、**dense body** の新生がおこるのである。これは多量の異物処理に対する細胞の一つの適応現象とみなすことができる。新生された **dense body** は盛んに **phagosome** と融合して異物の処理が進行する。しかし、**phagosome** の一部は **dense body** との融合なしに酸性フォスファターゼを獲得して **lysosome** に変ることは



すでに論及したとおりである。

いずれにしても、酸性フォスファターゼ反応が陽性となった phagosome に共通してみられることは、デキストラン鉄からフェリチンへの合成である。従って、lysosome は貪喰物質の消化の場所であるのみならず、それを素材とした物質の合成の場所であるということが出来る。合成されたフェリチンの大部分は細胞基質を経て細胞外へ放出されるが、一部は siderosome として残る。この意味では、lysosome は合成物質の蓄積の場所として働くといえよう。フェリチンを放出してあとに残る residual body も同様に、消化産物の蓄積場所としての lysosome であると解釈してもよいであろう。

結 論

リンパ節細網細胞におけるデキストラン鉄の貪喰処理過程を電顕的並びに電顕細胞化学的に観察した。その成績を総括すると次のとおりである。

デキストラン鉄は陥入した細胞膜に由来する貪喰小胞によって細胞内にとりこまれる。貪喰小胞は互に融合し貪喰空胞を形成する。貪喰空胞はデキストラン鉄の増加と共に phagosome に発育し、ここでデキストラン鉄は処理される。

貪喰初期において、細胞膜と別個の起源を有する滑面小胞体に、電子密度の高い物質が集積することによって dense body が新生される。dense body は酸性フォスファターゼ反応陽性である。

phagosome の大部分は既存の、または新生された dense body と融合し phago-lysosome となる。電顕細胞化学的観察によると、phago-lysosome の酸性フォスファターゼは融合した dense body から供給されるものと思われる。

phago-lysosome の内でデキストラン鉄はフェリチンに変わる。フェリチンは細胞基質を経て細胞外へ放出され、phago-lysosome は膜様物、粗大顆粒または等質性物質を含む residual body に変わる。

一部の phagosome の内には dense body と融合することなく酸性フォスファターゼが出現し、デキストラン鉄はフェリチンに変わる。この phagosome のあるものはフェリチンを放出して再び dense body となり、他のものはフェリチンを貯蔵した siderosome として残る。

稿を終るに当り、御指導と御校閲を賜りました恩師、渡辺四郎教授、梶川欽一郎助教授に心から感謝の意を表します。また、研究遂行に際して御助言、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。

文 献

- 1) Ball, J., Chapman, J. A. & Muir, K. D. : J. Cell Biol., 22, 351 (1964).
- 2) Brandt, P. W. & Pappas, G. D. : J. Cell Biol., 15, 55 (1962).
- 3) Essner, E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 7, 329 (1960).
- 4) Karrer, H. E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 7, 357 (1960).
- 5) 大家啓一 : 十全医会誌, 70, 96 (1964).
- 6) de Duve, C., Pressman, B. C., Gianetto, R., Wattiaux, R. & Appelman, F. : Biochem. J., 60, 604 (1955).
- 7) de Duve, C. : Lysosomes (ed. A. V. S. de Reuch & M. P. Cameron), Ciba Foundation Symposium, p. 1, London, J. & A. Churchill, LTD., 1963.
- 8) Novikoff, A. B. : Lysosomes (ed. A. V. S. de Ruech & M. P. Cameron), Ciba Foundation symposium, p. 36, London, J. & A. Churchill, LTD., 1963.
- 9) Richter, G. W. : J. Exp. Med., 109, 197 (1959).
- 10) Caulfield, J. B. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 827 (1957).
- 11) Luft, J. H. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 409 (1961).
- 12) Sabatini, D. D., Bensch, K. & Barnett, R. J. : J. Cell Biol., 17, 19 (1963).
- 13) Reynolds, E. S. : J. Cell Biol., 17, 208 (1963).
- 14) Watson, M. L. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 475 (1958).
- 15) 梶川欽一郎・中西功夫 : 網内会誌, 6, 216 (1966).
- 16) Ericsson, J. L. E., Trump, B. F. & Weibel, J. : Lab. Invest., 14, 1341 (1965).
- 17) Schulz, H. : Beitr. Path. Anat., 119, 71 (1958).
- 18) Kajikawa, K. & Hirono, R. : J. Electronmicroscopy, 8, 50 (1960).
- 19) Tanaka, H. : Ann. Report Instit. Virus Res. Kyoto Univ., 4, 118 (1961).
- 20) Yamori, T. : Acta Path. Jap., 14, 1 (1964).
- 21) Straus, W. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 5, 193 (1959).
- 22) Straus, W. : J. Cell Biol., 20, 497 (1964).
- 23) Farrant, J. L. : Biochem. Biophys. Acta, 13, 569 (1954).
- 24) Richter, G. W. : J. Exp. Med., 106, 203 (1957).
- 25) Maunsbach, A. B. : J. Cell Biol., 19, 48A (1963).
- 26) Nelson, B., Blinzinger, K. & Hagar, H. : J. Neuropath. Exp. Neurol., 21, 155 (1962).
- 27) Lundin, P. M. & Schelin, U. : Z. Zellforsch., 63, 692 (1964).
- 28) Muir, A. R. & Golberg, L. : Q. Jl. Exp. Physiol., 46, 289 (1961).
- 29) Roth, R. F. & Porter, K. R. : J. Cell Biol., 20, 313 (1964).
- 30) Bruni, C. & Porter, K. R. : Am. J. Path., 46, 691 (1965).
- 31) Ericsson, J. L. E. : Lab. Invest., 14, 16 (1965).
- 32) Rosenbluth, J. & Wissig, S. L. : J. Cell Biol., 23, 307 (1964).
- 33) 小島 瑞 : 最新医学, 17, 194 (1962).
- 34) Novikoff, A. B., Quintana, N., Villaverde, H. & Forschirm, R. : J. Cell Biol., 23, 68A (1964).
- 35) Novikoff, A. B., Roheim, P. & Quintana, N. : Lab. Invest., 15, 27 (1966).
- 36) Hirsch, J. G. : J. Exp. Med., 116, 827 (1962).
- 37) Goldon, G. B., Miller, L. R. & Bensch, K. G. : J. Cell Biol., 25, 41 (1965).
- 38) Maunsbach, A. B. : J. Ultrastruct. Res., 15, 197 (1966).
- 39) Essner, E. & Novikoff, A. B. : J. Cell Biol., 15, 289 (1962).
- 40) Balis, J. U. & Conen, P. E. : Lab. Invest., 13, 1215 (1964).
- 41) Novikoff, A. B. & Shin, W. Y. : J. Microscopie, 3, 187 (1964).
- 42) Brandes, D., Bertini, F. & Smith, E. W. : Exp. Mol. Path., 4, 245 (1965).
- 43) de Duve, C. :

- Biological Approach to Cancer Chemotherapy (ed. R. J. C. Harris), p. 101, London & New York, Academic Press, 1961.
- 44) Novikoff, A. B. : Biol. Bull., 127, 358 (1964). 45) Holtzman, E., Novikoff, A. B. & Villaverde, H. : J. Cell Biol., 33, 419 (1967). 46) Hugon, J. & Borgers, M. : J. Cell Biol., 33, 212 (1967). 47) Brandes, D. : J. Ultrastruct. Res., 12, 63 (1965). 48) Siekevitz, P. & Palade, G. E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 7, 619 (1960). 49) Dallner, G., Siekevitz, P. & Palade, G. E. : J. Cell Biol., 30, 73 (1966). 50) Dallner, G., Siekevitz, P. & Palade, G. E. : J. Cell Biol., 30, 97 (1966). 51) Sjöstrand, F. S. & Hanzon, V. : Science, 134, 1434 (1961). 52) Straus, W. : J. Cell Biol., 21, 295 (1964). 53) Rose, G. G. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 697 (1957). 54) North, R. J. : J. Ultrastruct. Res., 16, 96 (1966). 55) Smith, R. E. & Farquhar, G. E. : J. Cell Biol., 31, 319 (1966). 56) Ekholm, R. & Smeds, S. : J. Ultrastruct. Res., 16, 71 (1966). 57) Wollman, S. H., Spicer, S. M. & Burstone, M. S. : J. Cell Biol., 21, 191 (1964). 58) Miller, F. & Palade, G. E. : Verh. dt. Ges. Path., 47, 346 (1964). 59) Miller, F. & Palade, G. E. : J. Cell Biol., 23, 519 (1964). 60) Deam, W. T. : The Vth International Congress on Electronmicroscopy (Philadelphia), 2, VV-12 1962. 61) Wessel, W. & Gedigk, P. : Virchow's Arch., 332, 508 (1959). 62) Warner, J. R., Knopf, P. M. & Richi, A. : Proc. Natl. Acad. Sci., 49, 122 (1963). 63) Fineberg, R. A. & Greenberg, D. M. : J. Biol. Chem., 214, 97 (1955). 64) Fineberg, R. A. & Greenberg, D. M. : J. Biol. Chem., 214, 107 (1955). 65) Ashford, T. P. & Porter, K. R. : J. Cell Biol., 12, 198 (1962). 66) Novikoff, A. B. & Essner, E. : J. Cell Biol., 15, 140 (1962). 67) Behnke, O. : J. Cell Biol., 18, 251 (1963). 68) Kajikawa, K. : Tohoku J. Exp. Med., 81, 350 (1964). 69) Watrach, A. M. : J. Ultrastruct. Res., 10, 177 (1964). 70) Straus, W. : Exp. Cell Res., 22, 282 (1961). 71) 東 隆介 : 九血会誌, 16, 223 (1966). 72) Bennett, H. S. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 2 (suppl.), 185 (1956). 73) Essner, E. & Novikoff, A. B. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 773 (1961). 74) Holt, S. J. & Hick, R. M. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 11, 47 (1961).

Abstract

The digestive process of iron-dextran ingested by reticulum cells of the rat lymph node was investigated by means of the electron microscope and electron microscopical cytochemical procedures.

Iron-dextran were taken up the phagocytotic vesicles formed by pinching off of invaginations of the cell membrane. The vesicles fused with each other to become large vacuoles. With concentration of the content the vacuoles developed into the phagosomes, where the disposal of the iron-dextran was performed.

During the early stage of phagocytosis dense bodies were newly formed by the accumulation of dense materials within the increased smooth-surfaced endoplasmic reticulum which had a different origin from the phagocytotic vesicles. The dense bodies exhibited intensively acid phosphatase activity.

There were evidences indicating that the majority of the phagosomes fused with the newly formed or pre-existing dense bodies to become phago-lysosomes. Cytochemical observations suggested that this process represented the way, by which the phagosomes obtained acid phosphatase from the dense bodies.

The conversion of iron-dextran to ferritin occurred in the phago-lysosomes. The ferritin was discharged from the phago-lysosomes throughout the cytoplasmic

matrix and then into intercellular spaces. With the discharge of ferritin the phago-lysosomes were transformed to the residual bodies which contained membranous, granular or homogeneous materials.

There were found the phagosomes which did not apparently merge with the dense bodies but presented acid phosphatase activity. The ferritin synthesis was found also in these phagosomes. The further process, however, were different from those in the phago-lysosomes mentioned above: some of the phagosomes appeared to transform into dense bodies as a result of discharge of ferritin and condensation of a homogeneous material, while the others formed siderosomes containing many ferritin, probably to serve as the ferritin storage in the cell.

附 図 説 明

図1 デキストラン鉄の貪喰処理過程の模式図.

図2 注射後5分の細胞. 良く発達した滑面小胞体と散在性にみられる dense body (Db) が特徴的である. 一部の滑面小胞体の内には少量のデキストラン鉄がみつめられる (矢印). 核: N. $\times 20,000$

図3 注射後15分. 細胞膜の陥入が著しく, その間隙にはデキストラン鉄が充満している. 細胞膜のいりこみがくびれ切れて貪喰小胞 (Pv) が形成され, 貪喰空胞 (Pva) に発育する過程がみられる. デキストラン鉄を含む coated vesicle がみられる (矢印). $\times 20,000$

図4 注射後15分. ゴルジ野近傍の滑面小胞体の増加 (矢印). 滑面小胞体はデキストラン鉄を含んでおらないことに注意. $\times 20,000$

図5 注射後15分. ゴルジ小胞 および層板 より成る ゴルジ体. ゴルジ野には貪喰空胞 (Pva), dense body (Db) および coated vesicle (矢印) がみられる. dense body や coated vesicle の内にデキストラン鉄はみられない. P: phagosome. $\times 20,000$

図6 注射後30分. 細胞中間域における dense body (Db) の集簇の増加. dense body 周辺にみられる phagosome (P) とはデキストラン鉄の存在によって区別される. 核: N. $\times 20,000$

図7 注射後30分, 酸性フォスファターゼ反応. 酸性フォスファターゼ反応は集簇している dense body (Db) および dense body をとりまく phago-lysosome (Pl) と一部の phagosome (P) に陽性. $\times 20,000$

図8 注射後15分にみられる phago-lysosome (Pl). phago-lysosome は dense body と把手状の連絡を示している (矢印). $\times 20,000$

図9 注射後30分, 酸性フォスファターゼ反応, ゴ

ルジ小胞および層板の一部は酸性フォスファターゼ反応陽性である. ゴルジ体に近接する phagosome (P) にも反応物質が沈着している. $\times 16,000$

図10 注射後30分. phagosome (P) と dense body (Db) とが有茎状に連絡し, 相互の融合を暗示する (矢印). $\times 20,000$

図11 注射後30分, 酸性フォスファターゼ反応. 酵素反応物質は dense body (Db), phago-lysosome (Pl) および phagosome (P) の一部に陽性であるが貪喰空胞 (Pva) には陰性. $\times 16,000$

図12 注射後60分. phagosome (P) はデキストラン鉄を含まない滑面小胞体と連絡している (矢印). $\times 32,000$

図13 さまざまの大きさとしる phago-lysosome と phagosome. これらの間には増加した粗面小胞体が見られる (矢印). $\times 20,000$

図14 注射後24時間. 高電子密度の粗大な顆粒, 膜様物や dense body 物質を含み複雑な構造を示す residual body. $\times 20,000$

図15 注射後24時間, 酸性フォスファターゼ反応. residual body (R) も反応陽性である. 核: N. $\times 20,000$

図16 同上. 反応陽性の phagosome および phago-lysosome は細胞質に散在性にみられる. $\times 20,000$

図17 同上. この時期においても, ゴルジ小胞および層板の一部に反応陽性. $\times 20,000$

図18 注射後24時間. phagosome 内に出現するフェリチン. $\times 150,000$

図19 注射後48時間. phagosome 内のフェリチンは中心部から減少している (矢印). $\times 20,000$

図20 同上. 不正形で膜様物を含む phago-lysosome はフェリチンの含有量が減少している. $\times 20,000$

図21 注射後1週間. 細胞基質内に集在しているフ

ェリチンと siderosome (S) 内の フェリチンの連続 (矢印). $\times 40,000$

図22 注射後1週間. フェリチンの含量が減少し等質性物質の増加と, 辺縁の透明帯が明らかな phagosome (P). $\times 20,000$

図23 注射後1週間. 細胞内外にびまん性にみられるフェリチン. 滑面小胞体の内にもわずからがらフェリチンはみとめられる. $\times 40,000$

図24 注射後1週間, 酸性フォスファターゼ反応. residual body (R), siderosome (S) に反応陽性.

核: N. $\times 32,000$

図25 注射後2週間. 著しく不正形となった siderosome. 限界膜内側にフェリチンをほとんど含まない低電子密度の領域が形成される (矢印). $\times 20,000$

図26 同上. 細胞基質に遊離状にみられるフェリチン. $\times 150,000$

図27 同上. 等質性物質 (dense body 物質) の増加した phagosome (P). $\times 20,000$

図28 注射後4週間. 貪喰終末期の phago-lysosome (P1) と residual body (R). $\times 20,000$

