

粥状硬化症におけるアテローム内の膜嚢胞構造について

渡 辺 正 秀

信州大学医学部第2病理学教室
(指導: 発地雅夫教授)

MEMBRANOCYSTIC FORMATIONS IN ATHEROMAS OF ATHEROSCLEROSIS

Masahide WATANABE

Department of Pathology, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Masao HOTCHI)

WATANABE, M. *Membranocystic formations in atheromas of atherosclerosis*. Shinshu Med. J., 29 : 509-526, 1981

In atheromas of human arteries, membranocystic formations (MCF) are frequently observed by lipid stains of routine paraffin sections, which resemble membranocystic lesions (MCL) in membranous lipodystrophy (Nasu) of a new disease entity.

Atherosclerotic lesions of 65 autopsy cases were examined light and electron microscopically, and histochemically in comparison to the MCL. The MCF were observed in almost all of atheromas by Sudan black B stain. The MCF consisted of unilocular and multilocular structures, and most of them were 20-50 μ m in diameter. The walls of the cysts were usually 1-4 μ m thick and showed irregular undulation. In electron microscopical examination, they were disclosed lamellar structures and amorphous matrix, which were different from fine tubular structures of the MCL. In addition, focal aggregations of sudanophilic granules (SPG) existed in fibrous caps adjacent to atheromas. The histochemical stains of the MCF, SPG and MCL showed almost the same positive results for lipid, protein and polysaccharide, except that the MCF and MCL were different from the SPG in the absence of native color and stainability as ceroid. Thus, the MCF and MCL can not be regarded as ceroid nor chromolipid. It is suggested that the morphogenesis of the MCF probably proceeds almost in the ground substances of atheromas, although a part of it may be initiated in foam cells.

(Received for publication July 2, 1981)

Key words ; 膜嚢胞構造 (membranocystic formation)
アテローム (atheroma)
粥状硬化症 (atherosclerosis)
膜性脂質ジストロフィー (membranous lipodystrophy)
膜嚢胞性病変 (membranocystic lesion)

I 緒 言

骨髄を中心とする脂肪組織に奇妙な嚢胞性病変が出現するとともに脳の白質変性を示す新しい疾患が発見され、膜性脂質ジストロフィー membranous lipodystrophy と名付けられた¹⁾。この嚢胞性病変は膜嚢胞性病変 membranocystic lesion (MCL) と呼ばれ、いわば非特異的に全身諸所の脂肪組織にも見出される。一方、大根田ら²⁾は、脳動脈のアテロームに本病変と類似の構造物が存在することを報告しているが、脂肪組織と動脈の内膜という異なった基盤の上に類似の病変が形成されることは興味深い。そこで、著者は、アテロームにみられるこのような構造物を膜嚢胞構造 membranocystic formation (MCF) とよび分けて、主として大、中型動脈を対象に MCF の形態学的ならびに組織化学的検索を行い、MCL と比較しつつ、その形態発生についての考察も行った。なお、これまでこのような構造を membranocystic change (MCC) という呼び名で報告してきたが、本論文以降上記のように呼ぶことにした。

II 材料と方法

A MCF の光顕的検索

信州大学第二病理学教室における最近の剖検例より各年令層についてほぼ均等に65例を選び、10%ホルマリンに固定された上行大動脈、大動脈弓、胸大動脈、腹大動脈、総腸骨動脈および総頸動脈より、WHO の分類³⁾に従って fatty streak や fibrous plaque などの粥状硬化性病変部を長軸方向に切り出した。また、一部症例では、冠状動脈の fibrous plaque の輪切り切片もつくった。このような材料を型通り脱水し、厚さ3 μ mのパラフィン切片を作り hematoxylin-eosin (HE), Azan-Mallory, Weigert の resorcin-fuchsin (Elastica) および Sudan black B 染色を行い、光顕にて観察した。

B MCF の組織化学的検索

Fibrous plaque と membranous lipodystrophy の骨髄のホルマリン固定、パラフィン切片について、同時に各種の組織化学的染色を行った。すなわち、phosphotungstic acid hematoxylin (PTAH)⁴⁾、渡辺の鍍銀⁴⁾、Prussian blue⁴⁾、Kóssa⁴⁾、Sudan IV⁵⁾、Sudan black B⁴⁾、Luxol fast blue⁴⁾、Baker's acid hematein⁴⁾、osmium tetroxide- α -naphthylamine (OTAN)⁶⁾、Holczinger⁶⁾、Lieb-

ermann-Schultz (Romieu 変法)⁵⁾、0.02% Nile blue⁷⁾、leuco-malachite green⁷⁾、Ziehl-Neelsen⁷⁾、Schmorl⁷⁾、chrome alum hematoxylin⁷⁾、Schiff⁶⁾、periodic acid Schiff (PAS)⁶⁾、periodic acid methenamine silver (PAM)⁴⁾、Alcian blue (pH 2.5, 1.0)⁴⁾、tetrazonium⁸⁾、ninhydrin-Schiff⁸⁾、2, 2'-dihydroxy-6,6'-dinaphthyl disulfide (DDD)⁸⁾ の各染色を行った。

また、fibrous plaque のホルマリン固定パラフィン切片について、エタノール、アセトン、ピリジン、クロロホルム、クロロホルム-メタノール (2:1)、キシレンなどの有機溶媒や酸、アルカリを作用させた後、PAS, Sudan IV 染色を行った。また、同様な切片について千代田 FM 200A 型蛍光顕微鏡を用い、UV フィルター (励起光波長: 360nm), No. 2 接眼フィルター (透過光波長: 400nm 以上) を使用して自家蛍光の有無を観察し、同じ材料を偏光顕微鏡 (Olympus BH+POL 0679) でも観察した。

さらに、ホルマリン固定された fibrous plaque の凍結切片についても、Sudan, IV, Sudan black B の染色による観察を行い、同様な材料を偏光顕微鏡 (Olympus BH+POL 0679) でも観察した。

C MCF の電顕的検索

ホルマリン固定 (5日~1年) の剖検例6例より fibrous plaque を切り出し、0.1Mリン酸 (pH 7.4) 緩衝3%グルタルアルデヒド液に3時間以上再固定を行い、各々の材料の半分はさらに0.1Mリン酸 (pH 7.4) 緩衝1%オスミウム酸に1時間後固定した。また、死後2時間以内の剖検例4例については、正常の部、fatty streak および fibrous plaque を切り出し、全例0.1Mリン酸 (pH 7.4) 緩衝3%グルタルアルデヒド液に3時間以上固定した。このうち2例については、それぞれ half-Karnovsky 液および Karnovsky 液⁹⁾ による固定も行い、これらすべての固定材料について半分は0.1Mリン酸 (pH 7.4) 緩衝1%オスミウム酸による後固定を行った。以上のように固定した材料を型通り脱水、Epon 包埋し、MT-1 型超ミクロトームで1000Åに超薄切後、酢酸ウランとクエン酸鉛で重染色を行い、日立 HU-11A 型電子顕微鏡で観察した。

III 結 果

A MCF の出現状況

1 Fibrous plaque

粥状硬化症アテローム内膜嚢胞構造について

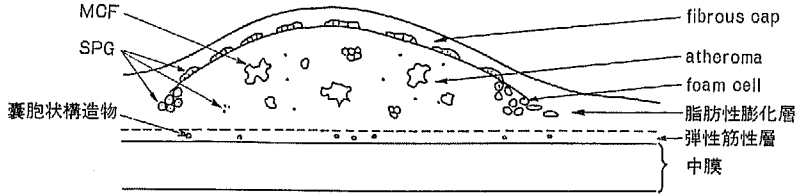


図 1-a Fibrous plaque

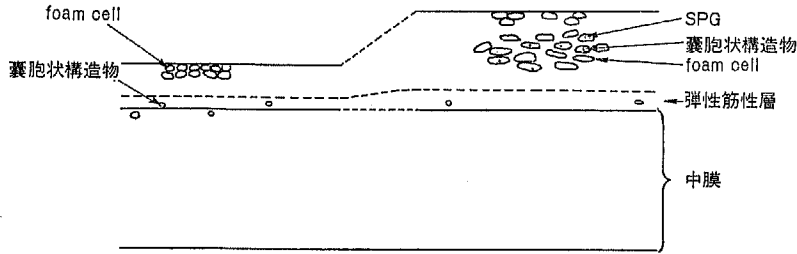


図 1-b Fatty streak

大根田らの記載¹⁰⁾による fibrous plaque の模式図に MCF などの出現状況を示したものが図 1 a である。以下その構成部分に従って述べる。

a アテローム

組織学的に明らかなアテロームには Sudan black B 染色で大きさ、形のさまざまな MCF (写真 1) が認められるが、これらは単房性 (写真 2 a~2 d) ないし多房性 (写真 2 e~2 g) である。

単房性の MCF で最もしばしばみられるものは長径が 20~50 μ m で、嚢胞壁は僅かな凹凸を示し、その厚さは 1~4 μ m である (写真 2 a, 2 b)。比較的大型のものでは、壁の凹凸が顕著で MCL に似たもの (写真 2 c, 2 h) もみられ、長径が数百 μ m に達するものも認められた。多房性のものは大きさが 100 μ m までであり、その中で桑実状ともいえるもの (写真 2 g) は径 30 μ m までであった。これらの嚢胞壁はいずれも厚さが不規則で、壁の一部が菲薄なもの (写真 2 c, 2 e) や欠損したものがしばしばみられ、嚢胞状を示さずに膜状物だけが認められることもあった (写真 2 i)。また、コレステリン結晶によって貫かれた形を呈するもの (写真 2 b) がしばしば観察された。

アテロームの中にはこのような MCF のほかに、径 10 μ m 以下の微細泡沫状の嚢胞状構造物も多数認められるとともに、顆粒状を呈するズダン好性物質 su-

danophilic granule (以下 SPG と略す) も多数存在する (写真 1)。

b アテロームの周辺部

Fibrous cap のアテロームと接する部には、しばしば膠原線維間の紡錘形の間隙に SPG が多数集合している (写真 1)。また、アテロームの両側辺縁部にある foam cell の胞体内にもしばしばこれが認められ、アテロームの中膜側の周辺部にもときどき認められる。アテロームの側方周辺部には膠原線維の膨化とともに foam cell が散見され、線維性に肥厚した内膜へと移行している。このような、アテロームより周辺内膜への移行部が比較的広範なものをみると、不完全な崩壊を示す膨化した膠原線維間に、単房性ないし多房性の MCF や微細泡沫状の嚢胞状構造物が SPG に混じって存在していた (写真 3)。

膠原線維の膨化が主体で foam cell のほとんど認められない脂肪性膨化層には MCF は認められなかった。硝子様肥厚した比較的厚い fibrous cap の一部には、線維間を紡錘形に縁取るような形の MCF がみられたが、その壁は比較的平滑であった。

また、比較的小型のアテロームでは、その中膜側に弾性筋性層¹¹⁾ が保たれており、同部には径 10~20 μ m の嚢胞状構造物がしばしば散見された (写真 4)。

2 Fatty streak

Table 1. Relation between size of atheroma (A) and amount of MCF (B)

A \ B	-	+	++	total
small	5	13	4	22
medium	0	16	6	22
large	0	11	11	22

Table 2. Relation between site of atheroma in various arteries (A) and amount of MCF (B)

A \ B	-	+	++	total
ascending aorta	0	1	0	1
aortic arch	1	2	4	7
thoracic aorta	1	20	8	29
abdominal aorta	0	10	2	12
com. iliac artery	1	6	3	10
com. carotid artery	1	3	3	7
coronary artery	2	6	0	8

Table 3. Relation between amount of SPG in surrounding region of atheroma (A) and that of MCF (B)

A \ B	-	+	++	total
+	2	4	6	12
++	1	5	7	13
+++	4	7	5	16

Table 4. Relation between amount of SPG in atheroma (A) and that of MCF (B)

A \ B	-	+	++	total
+	2	5	6	13
++	2	4	7	13
+++	2	4	3	9

Table 5. Relation between amount of cholesterol crystal (A) and that of MCF (B)

A \ B	-	+	++	total
+	1	2	3	6
++	0	2	4	6
+++	1	5	0	6

Fatty streak の構造を模式的に示したものが図 1 b である。内膜表層や肥厚した内膜の中層から深層にみられる foam cell の胞体内には MCF はほとんど認められず、SPG が散見された。しかし、foam cell が集簇している内膜の弾性筋性層から内弾性板直下にかけて、しばしば径 10~20 μ m の囊胞状構造物が散見された(写真 5)。

3 MCF の出現頻度

65例の剖検例から切り出されたアテローム 211個のうち、MCF が存在していたものは 201個で、アテローム内の部位では、中膜側に比較的多くみられた。MCF の密度は症例によりかなりの差があり、ある症例ではどのアテロームでも多くみられ、ほかの例ではどのアテロームにも少ないという傾向があった。アテロームの大きさ、部位、アテローム周辺部 SPG の量、アテローム内 SPG の量、およびコレステリン結晶の量などと MCF の密度との関係をそれぞれ、アテロームの大きさについて 5 例 66個、アテロームの部位について 5 例 74個、アテローム周辺部 SPG の量との関係について 18 例 41個、アテローム内 SPG の量との関係について 16 例 35個およびコレステリン結晶の量との関係について 9 例 18個のアテロームで調べた(表 1-5)。しかし、これらと MCF の密度との間には明らかな相関関係はみられなかった。また、カルシウムやヘモジデリンの沈着部位と MCF の出現部位との間にも関係は認められなかった。

B MCF の組織化学

明瞭な囊胞構造を示す MCF、アテローム周辺部のズダン好性顆粒 SPG と membranous lipodystrophy における MCL の各種組織化学的染色結果をまとめたものが表 6 である。

無染色パラフィン切片では、SPG は黄色ないし淡黄褐色の色調を有するが、MCF および MCL には明らかな色調はない。MCF の一般染色では、HE 染色で淡赤色に染まり(写真 6)、Azan-Mallory 染色で

Table 6. Histochemical findings of MCF, SPG and MCL

Stainings	MCF	SPG	MCL
HE	Pale red	Pale red	Pale red
Azan-Mallory	Red	Red	Red
PTAH	Blue	Blue	Blue
Silver impregnation	-	-	-
Elastica	-	-	-
Prussian blue	-	-	-
Kóssa	-	-	-
Sudan IV	+	+	+
Sudan black B	++	++	++
Luxol fast blue	+	+	+
Baker's acid hematein	++	++	++
after pyridine extraction	++	+	-~+
Holczinger	+	+	+
after HCl treatment	+	+	+
after HCl+acetone treatment	+	+	++
Liebermann-Schultz (Romieu)	±	±	-
Schiff	-	-	-
PAS	+	+	++
after acetylation	-	-	-
after acetylation+deacetylation	+	+	++
after diastase digestion	+	+	++
PAM	++	++	+
Alcian blue (pH 2.5, 1.0)	-	-	-
Tetrazonium	++	+	++
Ninhydrin-Schiff	-~+	-~+	-~+
DDD	-~+	-~+	-~+
0.02% Nile blue (pH 3.0)	-~+	++	-
Leuco-malachite green	-~+	++	-
Ziehl-Neelsen	+	++	-~+
Schmorl	-	-	-
Chrome alum hematoxylin	-	-	-
Autofluorescence	Yellow	Yellow	Yellow

* MCF=membranocystic formation
 SPG=sudanophilic granule
 MCL=membranocystic lesion

赤色 (写真7), PTAH 染色では青紫色を呈する。SPG と MCL は、これらの染色で MCF とほぼ同様の結果であった。渡辺の鍍銀法 (写真8), 弾性線維染色, 鉄染色およびカルツウム染色では、3者とも

陰性であった。

各種脂肪染色では、MCFは Sudan IV 染色 (写真9), Sudan black B 染色 (写真10) および Luxol fast blue 染色のいずれも陽性で、SPG と MCL も

陽性であった。リン脂質のための Baker の酸ヘマテイン染色では、3者とも陽性であった。しかし、ピリジン抽出後の同染色では MCF に著変がみられなかったのに対し、SPG と MCL には褪色がみられた。同じく、リン脂質のための OTAN 染色では、MCF は陽性(写真11)で、SPG と MCL も同様であった。しかし、水酸化ナトリウム水解後の同染色では、MCF と SPG に著変がみられなかったのに対し、MCL には褪色がみられた。脂肪酸のための Holczinger 法では3者とも陽性であり、MCL は塩酸およびアセトン作用後に染色性の増強がみられた。コレステロールのための Liebermann-Schultz 法の Romieu 変法では、MCF と SPG は陽性とはいえないものの褐色調を示したのに対し、MCL は陰性であった。

糖質の染色では、MCF は PAS 反応陽性(写真12)で、SPG と MCL も陽性であった。PAM 染色でも3者とも陽性であったが、Alcian blue 染色 (pH2.5, 1.0) は3者とも陰性であった。

タンパク質染色では、MCF は tetrazonium 反応が陽性(写真13)で、SPG, MCL も陽性であった。ninhydrin-Schiff 反応および DDD 反応は3者とも陰性ないし弱陽性であった。

セロイドやリポフスチンの染色では、SPG が Ziehl-Neelsen 染色陽性(写真16)、0.02% Nile blue 染色 (pH 3.0) 陽性、leuco-malachite green 染色陽性(写真18)であったのに対し、MCF は Ziehl-Neelsen 染色弱陽性(写真17)で、0.02% Nile blue 染色 (pH 3.0) および leuco-malachite green 染色では陰性ないし弱陽性(写真19)であった。MCL は Ziehl-Neelsen 染色が陰性ないし弱陽性であり、ほかの2つの染色は陰性で、Schmorl および chrome alum hematoxylin 染色では3者とも陰性であった。

蛍光顕微鏡による観察では、MCF は帯緑黄白色の自家蛍光がみられた(写真14)のに対し、SPG は黄白色ないし黄褐色の自家蛍光を示した。偏光顕微鏡での観察では、両者ともに複屈折性は認められなかった。

凍結切片では、MCF は嚢胞状構造を示さず、その内腔を含めて全体が Sudan IV 染色や Sudan black B 染色で陽性に染まった(写真15)。

エタノール、アセトン、ピリジン、クロロホルム、クロロホルム-メタノール(2:1)などの有機溶媒により室温で48時間処理を行ったところ、MCF は溶解せず、キンレン 56°C 1晩、1%水酸化ナトリウム 37°C 60分、1N塩酸室温2時間、1%塩酸加クロロ

ホルム-メタノール(2:1)室温30分の各処理でも MCF は難溶であった。

C 電顕所見

1 MCF

エポン厚切り切片で比較的大きな MCF を電顕的に観察すると、弱拡大では嚢胞壁は比較的 electron dense で粗粒であり、内腔は electron lucent である(写真20)。また、内腔面は凹凸不整で、外縁は比較的平滑であり、残存した膠原線維の走行に沿っているところや、周囲へ膨隆しているところもある。強拡大では、中等度の電子密度を有する matrix に混じって lamellar structure が多数認められる(写真21)。これは、単位膜様の構造が重なって複雑な曲線を描いているが、それらの間隔は疎なところもあれば密なところもある。この単位膜様構造は、全体の厚さが100~150Å、外側の electron dense な層と中心の electron lucent な層はそれぞれ30~50Å である。このような lamellar structure は、今回行ったいずれの固定操作でも認められた。matrix は、electron dense な微細粒子や amorphous な部分から成っており、lamellar structure によって囲まれた小さな空胞様の部分も散見された。

2 Ground substance 内微細泡沫状構造物

エポン厚切り切片で微細泡沫状を呈する径10μm以下の嚢胞状構造物を電顕的に観察すると、これらの薄い膜状物は基本的には MCF と同様の構成である。しかしながら、多くは径0.5μmまでの多数の空胞から成っており、しばしばそれらを取り巻く1~数層の lamellar structure が認められる(写真22)。このような構造物の内腔はまったく electron lucent なものばかりではなく、内腔面を縁取る様にしてかなり electron dense で均質な物質がみられるものや、内腔がまったくこの様な物質で満たされているものも観察された。

3 SPG その他

SPG に相当する顆粒は、多彩な形態を示し、electron dense な部や amorphous で比較的 electron lucent な部とからなっている(写真23)。electron dense な部の強拡大では、様々な周期を示す lamellar structure が認められ、いわゆる myelin-like figure を示すところもあった(写真24)。このような顆粒は ground substance のみならず、foam cell 内にも認められた。

また、fatty streak の foam cell やアテローム

周辺部の foam cell 内には、光顕での微細泡沫状構造物と考えられる lipid inclusion¹²⁾ が認められた。その壁は多数の空胞ないし空胞様構造とそれを取り囲む myelin-like figure から成っており、内腔に沿ってかなり electron dense な物質が存在していた(写真25)。

アテロームの ground substance には、径1 μ m以下の空胞又は空胞様構造が無数に存在しており、あるところでは、近接する空胞様構造の境界部に断片的な単位膜様構造が認められた(写真26)。なお、アテローム内には微細泡沫状構造物と SPG とが混在していたが、両者の間には明らかな移行像は認められなかった(写真27)。

IV 考 察

MCF は大部分のアテロームに認められるが、fatty streak にはほとんど認められず、また、正常の内膜にも観察されないことから、MCF の出現はアテロームの形成と深い関係があるといえる。MCF の出現率は症例により異なっていたが、この背景については現段階では不明であり、今後明らかにすべき課題である。

1953年、Hartroft¹³⁾ は、アテロームにみられる ceroidlike pigment を顆粒状の hemoceroid と膜状の hyaloceroid に分類しており、後者は主として硝子化した fibrous cap に認められるとしているが、形態は MCF に相当する。彼はこれらを ceroidlike pigment と呼んでいるが、固有の色調についての記載はない。大根田ら²⁾ は1961年に、脳内の小動脈において MCF に相当する菊状のズダン好性難溶物質を認めており、組織化学的にはセロイド色素によく似た性格を有するが、固有の色調が認められないことからこれをセロイド様物質と解釈した。また、Györkey ら¹⁴⁾ は1967年に、大動脈の手術材料を用いて MCF に相当する構造物の電顕的検索を行っている。彼は、組織化学的にセロイドと解釈しているが、固有の色調については記載していない。

セロイド¹⁵⁾ あるいはリポフスチン¹⁶⁾ は、ヘモジデリンなどの赤血球由来の色素やメラニンとともに内因性の色素とされている¹⁷⁾。しかし、両者は共通点が多く、人によっては同一のものに対して別の名称を用いていることもあるため混乱が生じている。このため、最近では、黄色ないし黄褐色の顆粒で、黄色の自家蛍光を発するものをクロモリピド¹⁸⁾ としてまとめようとする研究者¹⁹⁾ もある。1942年にセロイドという言葉

を最初に記載した Lillie らによると、この物質はパラフィン切片でも脂肪染色で陽性であり、抗酸性、帯緑黄色の自家蛍光を有し、通常の有機溶媒には不溶であるとした¹⁵⁾²⁰⁾。その後 Casselman²¹⁾ は、セロイドは黄金色の色調を有し、PAS 反応陽性であるとしている。現在までセロイドは、人体ならびに実験動物の各種臓器に観察されており、動脈硬化症の病巣にも存在する²²⁾。動脈の粥状硬化巣のセロイドに関しては、1956年に Schornagel²³⁾ が分布状況を調べているが、アテロームの周辺部に多くみられたとしており、まさに SPG に相当するものである。セロイドの本体については、不飽和脂質の酸化重合物とする考え方²¹⁾²⁴⁾⁻²⁶⁾ が古くからある。このほかには、タンパク質も含まれているとする研究者²⁷⁾²⁸⁾ もあるが、Maeda²⁹⁾ は脂質、タンパク質及び糖質から構成されていると考えている。また、その発生に関しては出血あるいは赤血球との関係を重視する人が多い¹³⁾²¹⁾²⁶⁾⁻³⁰⁾。

ここで今回の検索結果をみてみると、まず注目すべき点は、SPG が顆粒状であるのに対し、MCF は内腔に中性脂肪を容れた囊胞状構造を呈することと、無染色パラフィン切片で SPG が黄色の色調を有するが、MCF は無色であることである。すなわち、MCF は色素とは言い難い。さらに、SPG は抗酸性染色が陽性であるのに対して MCF は弱陽性であり、セロイドの特異的染色法として前田ら⁷⁾ の推奨している 0.02% Nile blue (pH3.0) や leuco-malachite green 染色で SPG が陽性であるのに対し、MCF は陰性ないし弱陽性である。

SPG と MCF にはこのような違いが認められたが、いずれもパラフィン切片での脂肪染色、タンパク質染色、糖質染色が陽性で、各種有機溶媒や酸、アルカリに難溶であるなどの点は共通している。加えて、前田ら⁷⁾ がリポフスチンの特異的染色法として推奨している Schmorl および chrome alum hematoxylin 染色法でも両者は陰性であった。

これらの結果をまとめてみると、SPG はセロイドと考えられるのに対し、MCF はセロイドやリポフスチンあるいはクロモリピドなどとはやや異なる物質と考えられる。なお、MCL と MCF はアルカリや有機溶媒に対する溶解性などの点で若干の差がみられたもののほぼ同様の性格を有しており、MCL も MCF と同様にクロモリピドとは異なっている。

今日、セロイドやリポフスチンは secondary lysosome 由来の residual body であることは定説と

なっており²⁶⁾³¹⁾⁻³⁴⁾, これらは電顕的に, 空胞や granular ないし amorphous な部と帯状ないし lamellar な部などから成っている²⁶⁾³¹⁾⁻⁴¹⁾. SPG はこれらとほぼ同様の像を呈するが, MCF は, 単位膜様構造が重層化した lamellar structure と matrix が主体であり, これら顆粒状のものとは違う特異な像を呈する。

MCF や SPG の lamellar structure の基本をなすと考えられる単位膜様構造は, 細胞の単位膜⁴²⁾ とほぼ同様な像であるが, 後者はリン脂質の親水性部分が外に, 疎水性部分が内に向いて配列することにより基本構造が形づくられている⁴³⁾. また, myelin-like figure は, リン脂質と水を混和すると形成されるが, リン脂質の親水性部分同志の間に水を含んでいるものと考えられている⁴⁴⁾. しかし, Hata ら⁴⁵⁾は, コレステロールエステルが液晶を形成する場合には, 水と密接な関係を保ちながら層状に配列するとしており, これが電顕で観た場合の lamellae に相当するものであろうと述べている。これらを参考にすると, MCF や SPG の lamellar structure ないし myelin-like figure の主たる構成成分はリン脂質およびコレステロールエステルであるとも考えられる。なお, MCL は内腔に向かって垂直に配列する単層の膜からなる微細管状構造が特徴であり¹⁾, MCF や SPG の微細構造とは異なっている。

次に, MCF の形態発生について考察する。まずアテロームにかぎって嚢胞状構造物のみをみると, 長径が数百 μm というような明らかに細胞1個の大きさを越えた MCF があること, 小型の MCF が融合して形成されたと思われる MCF がみられること, 多房性 MCF の隔壁が菲薄化, 欠損して単房性 MCF に変化していくと思われる像があること, さらに, 径 $10\mu\text{m}$ 以下の微細泡沫状の嚢胞状構造物が多数存在することなどより, MCF は細胞内で完成するのではなく, アテロームの中で, 小さな嚢胞状構造物が互いに融合することにより大きな MCF が形成されていくことが推定される。電顕的には, 微細泡沫状構造物は空胞が主体であるが, アテロームの ground substance にも多数の空胞ないし空胞様構造が存在していることより, アテロームの ground substance において MCF が発生する可能性が考えられる。

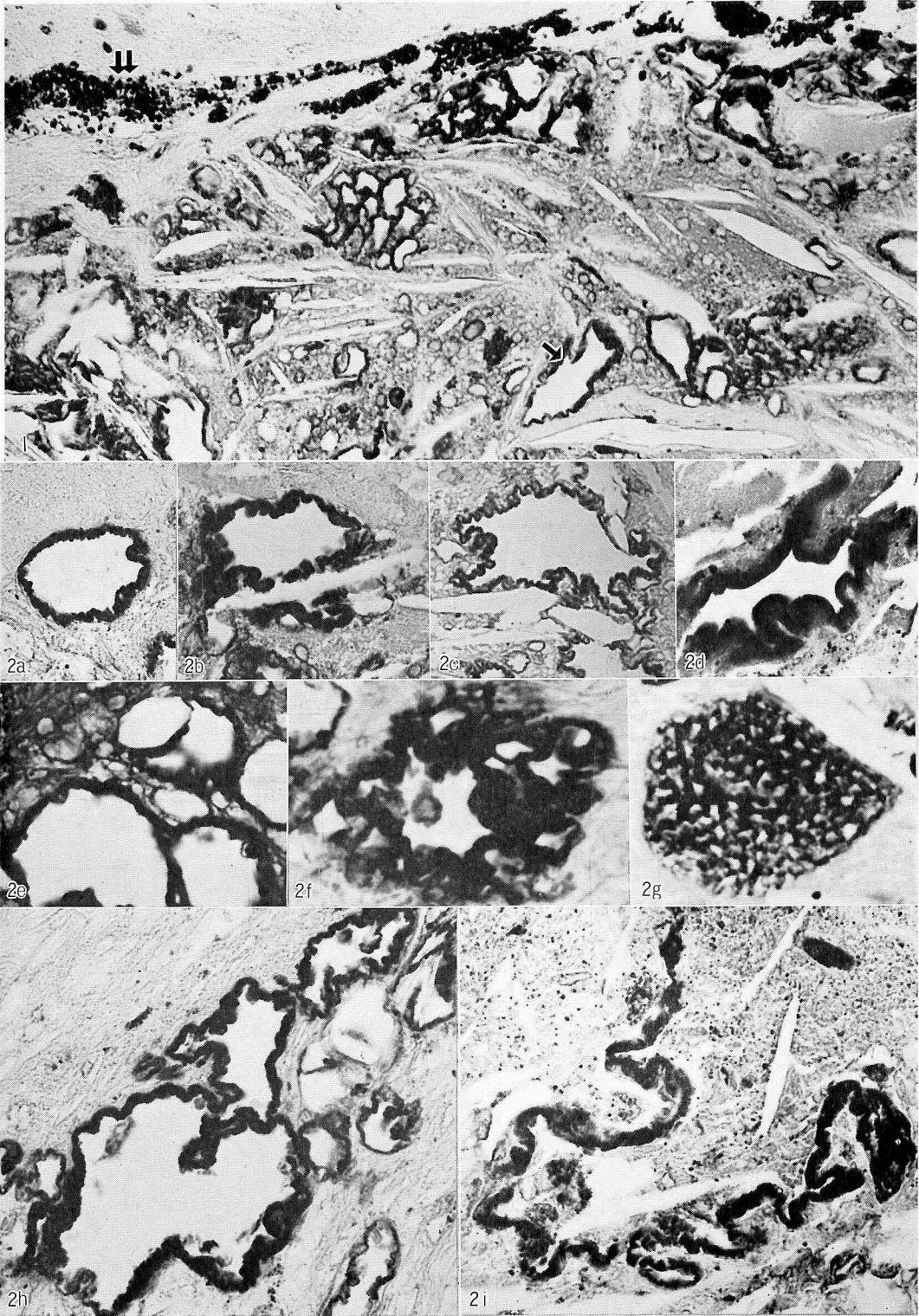
次に, MCF はアテロームと密接な関係があることから, アテロームの前段階的な変化に注目する必要がある。アテロームの発生に関しては, 従来血漿浸潤

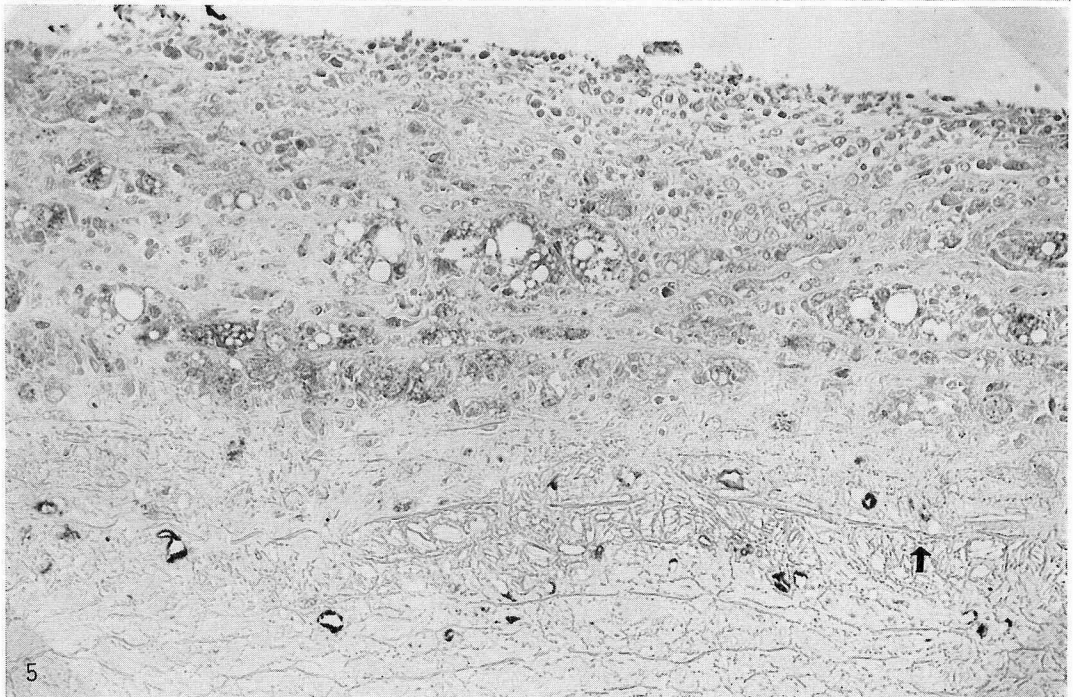
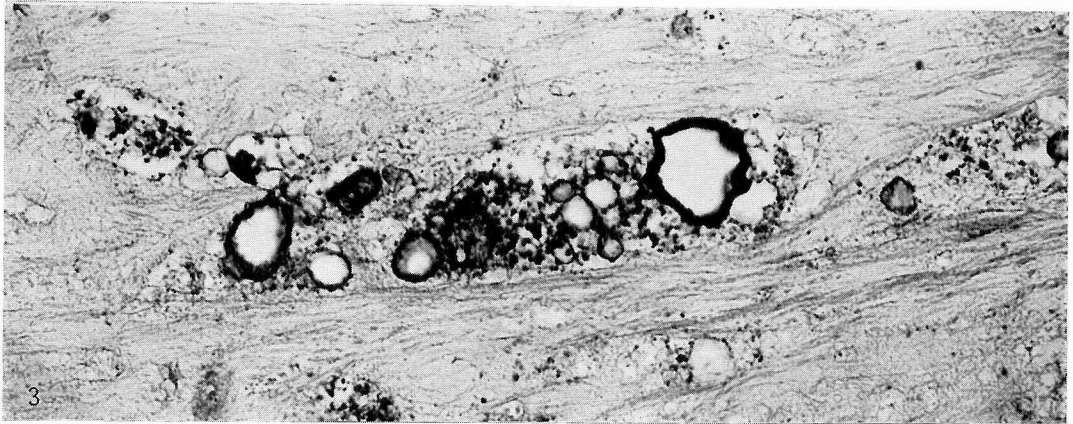
説⁴⁶⁾ や血栓説⁴⁷⁾⁴⁸⁾ などがあり, その初期像としては, 内膜水腫, 脂肪斑, 微小血栓などが重視されている⁴⁹⁾⁵⁰⁾. しかし, 大, 中型動脈では初期像の如何にかかわらずある程度組織障害が進行すると, 内膜に増生した膠原線維間及びそれらの中に血漿浸潤が加わり, 膠原線維の脂肪性膨化, さらに崩壊がおりアテロームが形成されていくと考えられている⁴⁶⁾⁵⁰⁾. その根拠として, 大根田⁵⁰⁾は, アテロームに接した内膜組織のことに遠位側に, 膠原線維の脂肪性膨化がみられると述べている。しかし, 同部には泡沫細胞もみられ¹⁰⁾⁵⁰⁾, 吉田ら⁵¹⁾は, 泡沫細胞由来の lysosome 酵素が脂肪性膨化層に認められることから, これが組織融解に関与していることを考慮すべきであるとしている。今回の検索では, fatty streak の foam cell やアテローム周辺部の foam cell 内には明らかな MCF は認められなかったものの, アテローム内の微細泡沫状構造物と類似の像を示す lipid inclusion が観察されたことは, MCF が細胞内でも発生しうる可能性を示しているといえる。

以上をまとめると, MCF は ground substance 内に発生する可能性と, 細胞内において lipid inclusion の形で発生する可能性とが考えられた。しかし, その主要な形成過程はあくまでも細胞外で進行するものと考えられ, おそらく, 細胞内の膜成分や lipid inclusion, 間質成分, あるいは血中より浸潤した脂質やタンパク質などが, 物理化学的に反応して MCF を形成するものと推定される。

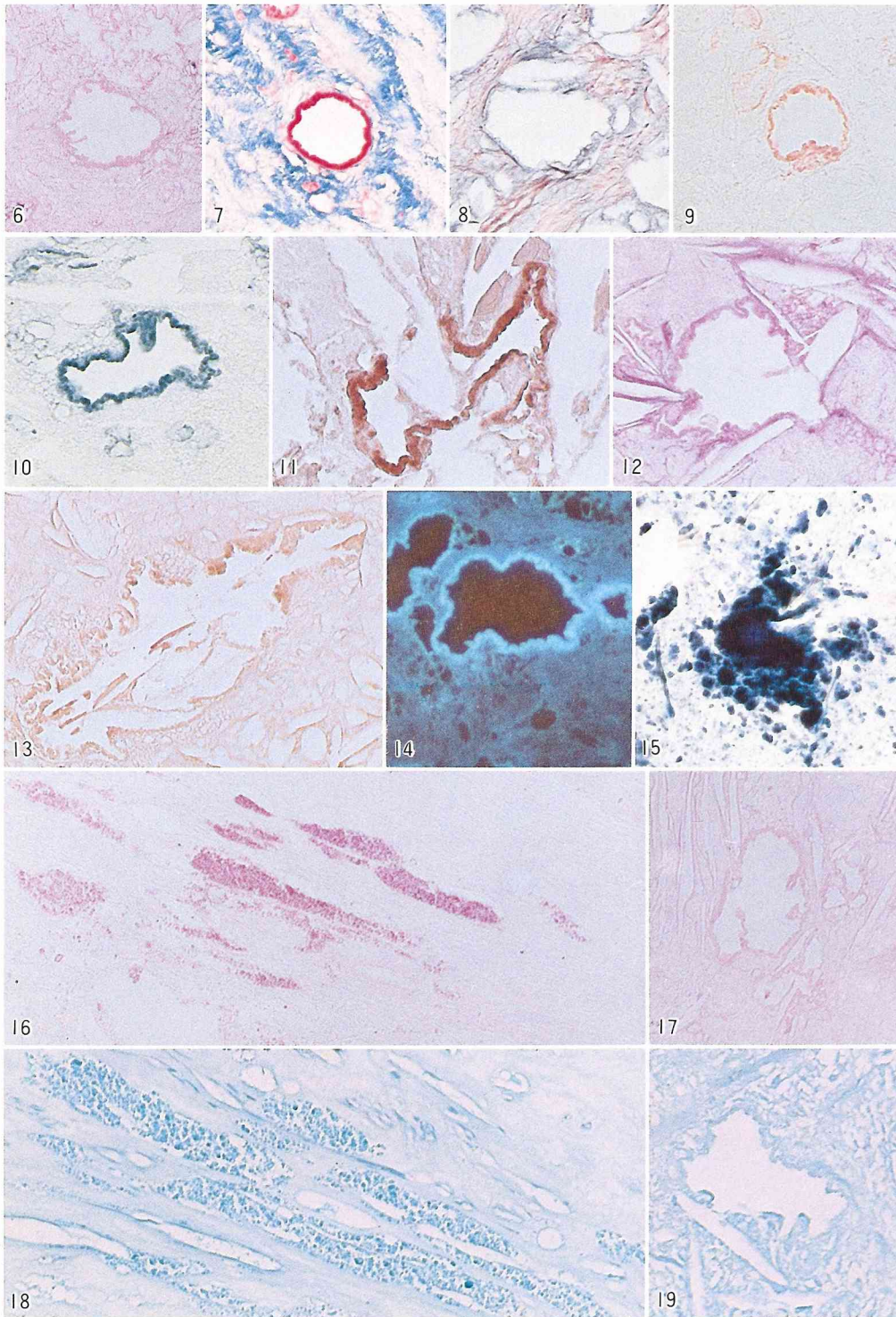
一方 MCL の形態発生については, サポニン投与家兎骨髄において, 変性脂肪細胞内の lipid-cytoplasmic interface に多数の微小空胞の形成がみられたことから, これが MCL の初期像とも考えられている⁵²⁾. この微小空胞は, fatty streak の foam cell やアテローム周辺部の foam cell 内の lipid inclusion の一部に認められる空胞ないし空胞様構造と類似しており, また, アテローム内の微細泡沫状構造物においても酷似した像が認められる。

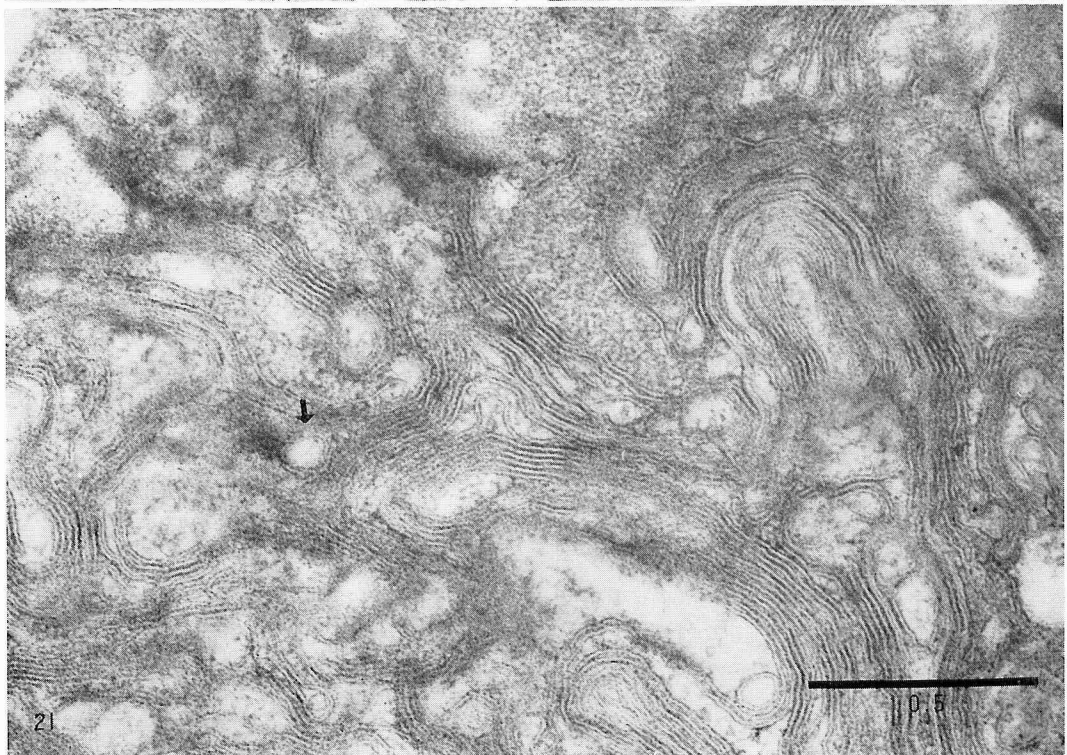
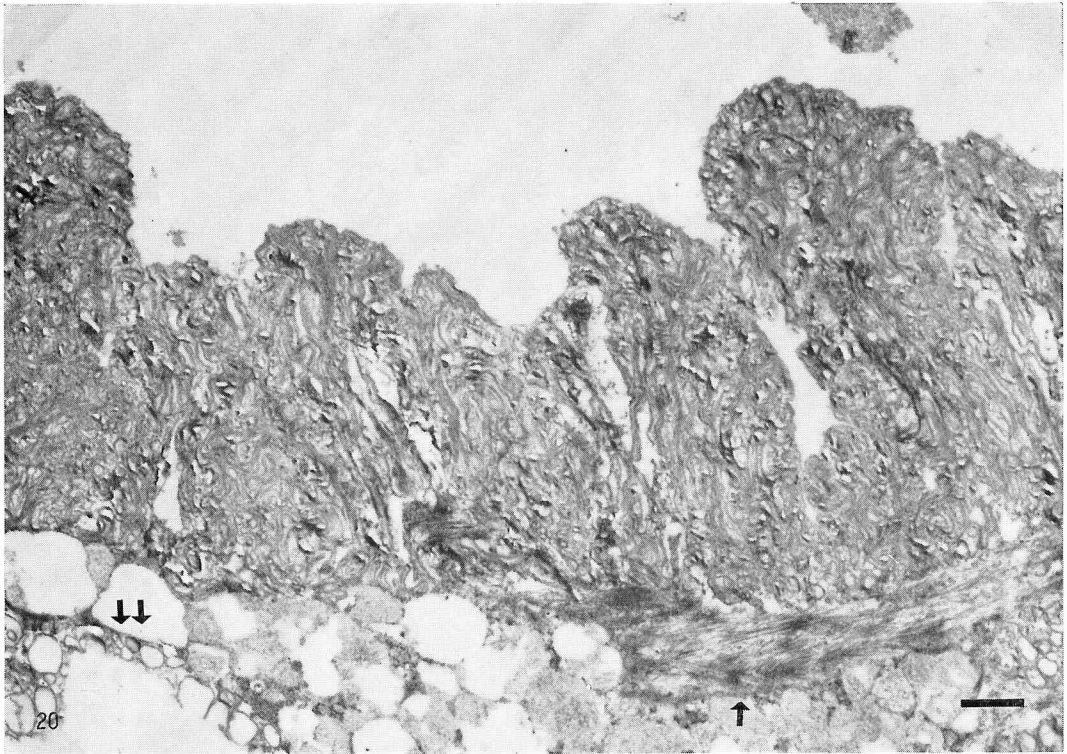
MCF と MCL は, 組織化学的性状に若干の相異があるとともに, 電顕的に異なった像を呈していることから, 両者には物質的な違いがあるものと思われる。さらに, 発生の方が, MCF では主として細胞外にあると考えられるのに対し, 実験的に MCL では脂肪細胞内にあると考えられている。しかしながら, それらの形態はよく類似しており, おそらく, 脂質を中心として基本的な形が作られ, さらに糖質やタンパク質

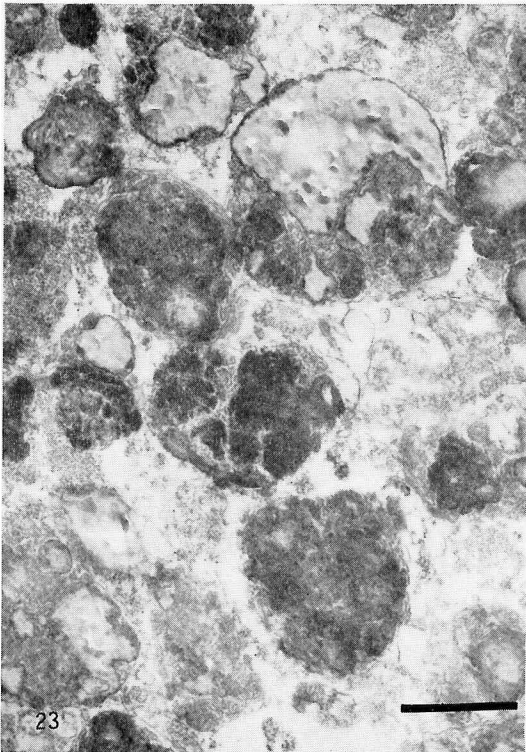
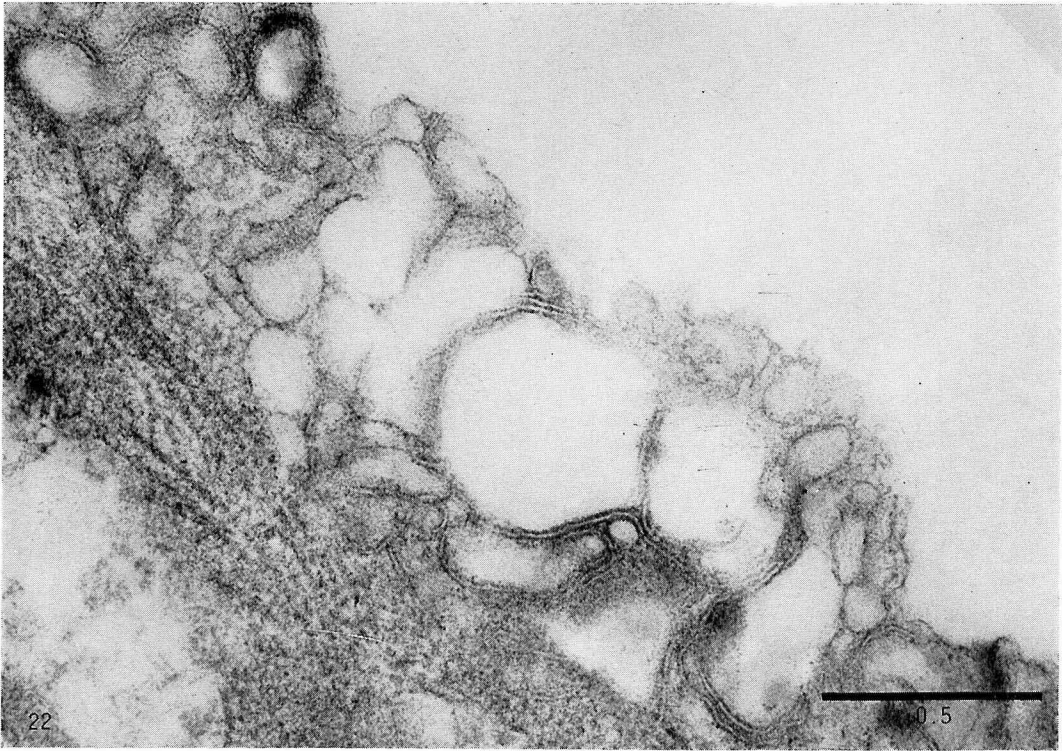




粥状硬化症アテローム内膜嚢胞構造について







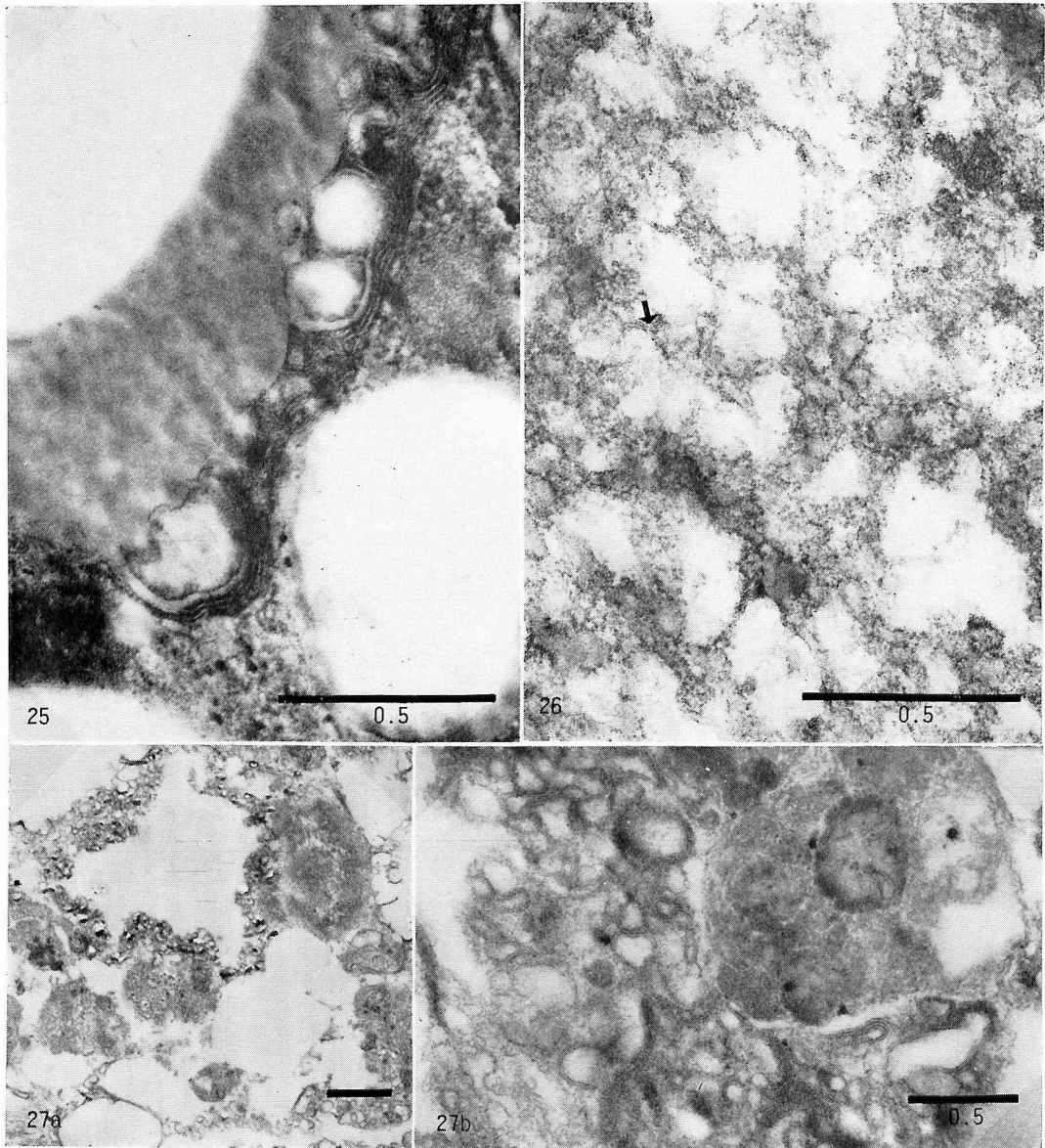


写真1—19 光顕写真

写真1—5 Sudan black B 染色

写真1 アテロームおよびその内腔側周辺部。アテローム内には多数の MCF (↑) と径 $10\mu\text{m}$ 以下の微細泡沫状構造物が散見され、ズダン好性顆粒 SPG も散在している。アテロームの周辺部には SPG (↑) が集簇している。×100

写真2 MCF の種々形態。

2a—2d, 2h, 2i ×200 2e—2g ×400

写真3 アテロームの側方周辺部。

不完全な崩壊を示す膨化した膠原線維の間隙に、MCF ないし微細泡沫状構造物と SPG が混在している。×200

写真4 アテロームの中膜側周辺部。

弾性筋性層に微小な囊胞状構造物が多数認められる。内弾性板 (↑)。×100

などが結合して形成されるという共通の過程が存在するものと考えられる。

V 結 語

ヒト動脈のアテロームのパラフィン切片において脂肪染色などでしばしば認められる微小な嚢胞状構造物を、膜嚢胞構造 (MCF) と名付け、膜性脂質ジストロフィーにおける膜嚢胞性病変 (MCL) と比較しつつその形態学および組織化学的検索を行い、以下の結論を得た。

1 MCF は単房性ないし多房性の嚢胞状構造物で、長径は20~50 μ mのものが多いが、数百 μ mに達するものも存在する。嚢胞壁の厚さは1~4 μ mのものが多く、不規則な凹凸を示す。

2 凍結切片ではMCFの内腔には中性脂肪が存在する。MCFには固有の色調はなく、帯緑黄白色の自家蛍光がみられ、脂質、糖質、タンパク質などの染色で陽性である。また、各種有機溶媒や酸、アルカリに対して比較的安定な物質である。

3 MCFとMCLは光顕上の形態でも組織化学的にも類似しており、嚢胞状を呈することや、固有の色調を有しないこと、さらにセロイドヤリポフスチンの染色性を示さないことなどから、セロイドヤリポフスチンなどのクロモリピドとは若干異なった物質と考えられる。

4 電顕的には、MCFが複雑な走行を示す lamellar structure と matrix が主体であるのに対し、MCLは微細管状構造から成っており、両者は異なっている。

5 MCFは、細胞外あるいは ground substance に発生する可能性と細胞内 lipid inclusion の形で発生する可能性とが考えられたが、その主要な形成過程は ground substance において進行するものと推定された。

本論文の一部は第69回日本病理学会総会 (1980年6月、於：札幌) および第21回日本脈管学会総会 (1980年10月、於：福岡) において発表した。

写真5 fatty streak

内弾性板 (↑) 付近に微小な嚢胞状構造物が散見される。×100

写真6—15, 17, 19 MCF, 写真16, 18 SPG, 写真6 HE 染色, ×200 写真7 Azan-Mallory 染色, ×200 写真8 渡辺の鍍銀法, ×200 写真9 Sudan IV 染色, ×200 写真10 Sudan black B 染色, ×200 写真11 OTAN 染色, ×200 写真12 PAS 反応, ×200 写真13 tetrazonium 反応, ×200 写真14 凍結切片, Sudan black B 染色, ×200 写真15 自家蛍光, ×200 写真16, 17 Ziehl-Neelsen 染色, ×200 写真18, 19 leuco-malachite green 染色, ×200

写真20—27 電顕写真

写真20 MCFの膜状部。×9,000

膜状物は比較的 electron dense で、その周囲には、アテロームの ground substance のほか、残存した膠原線維 (↑) や微細泡沫状構造物の一部 (↑) が認められる。

写真21 MCFの膜状部。×60,000

中等度の電子密度を有する matrix の中に、複雑な走行を示す lamellar structure が認められる。また、ところどころに lamellar structure で囲まれた空胞様の部分 (↑) も散見される。

写真22 MCFの薄い膜状部。×60,000

中央部には径0.5 μ mまでの空胞が多数みられ、それらの周囲を取り囲む様にして単位膜様構造が認められる。

写真23 アテローム周辺部の SPG。×15,000

electron dense な部と amorphous で比較的 electron lucent な部とからなる多彩な像がみられる。

写真24 electron dense な SPG。×60,000

様々な周期を示す lamellar structure が認められ、一部は myelin-like figure (↑) を示す。

写真25 fatty streak の foam cell 内の lipid inclusion ×60,000

多数の空胞ないし空胞様構造を取り囲む myelin-like figure がみられ、内腔に沿ってかなり electron dense な物質が認められる。

写真26 アテロームの ground substance。×60,000

近接する空胞様構造の境界部に断片的な単位膜様構造 (↑) がみられる。

写真27 a 微細泡沫状構造物と SPG の混在部。×9,000

b aと同様の部の拡大像。×30,000

膜状部と SPG には明らかな移行は認められない。

稿を終るに当たり、懇切なる御指導、御校閲を賜った発地雅夫教授に深甚なる謝意を表します。また、那須 毅名誉教授の御校閲を感謝致します。同時に、この研究に対して暖かい御援助をいただいた勝山 努助

教授、藤原正之講師ならびに病理学教室の諸兄に感謝いたします。なお、標本作製には、当教室の羽山正義、殿村静香、滝沢淳子および総合研究室の市川良治、中平敦子の諸氏の御協力を得た。記して感謝いたします。

文 献

- 1) Nasu, T., Tsukahara, Y. and Terayama, K. : "Membranous lipodystrophy"—An autopsy case demonstrating numerous peculiar membrane structures composed of compound lipid in bone and bone marrow and various adipose tissues. *Acta Pathol Jpn*, 23 : 539-559, 1973
- 2) 大根田玄寿, 松山研二, 高玉真光, 吉田洋二, 武田文和, 大山泰雄, 須藤 宏, 関口守衛, 飯島 洋 : 末梢血管の病理—ことに脳循環障害の原因について—。最新医学, 16 : 1343-1353, 1961
- 3) Uemura, K., Sternby, N., Vaněček, R., Vihert, A. and Kagan, A. : Grading atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. Application of a tested method. *Bull WHO*, 31 : 297-320, 1964
- 4) 影山圭三, 渡辺陽之輔 : 病理組織標本の作り方, 第5版, 慶応義塾大学医学部病理学教室編, pp. 111-114, 145-146, 170-171, 173-174, 232-233, 237, 275-276, 286-288, 医学書院, 東京, 1978
- 5) 佐野 豊 : 組織学研究法, 第5版, pp. 478, 503, 南山堂, 東京, 1976
- 6) Lillie, R. D. and Fullmer, H. M. : "Histopathologic Technique and Practical Histochemistry", 4th (ed.), pp. 307-308, 573, 577-579, 593, McGrawhill Book Co., New York, 1976
- 7) 前田隆英, 伊原信夫 : 新組織化学, 小川和朗, 武内忠雄, 森 富編, pp. 629, 631-633, 朝倉書店, 東京, 1975
- 8) 山田和順 : 新組織化学, 小川和朗, 武内忠雄, 森 富編, pp. 441-442, 445, 449-450, 朝倉書店, 東京, 1975
- 9) Karnovsky, M. J. : A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J Cell Biol*, 27 : 137A-138A, 1965
- 10) 大根田玄寿, 松山研二, 牛久保量平, 鈴木慶二 : 動脈硬化の成因と臓器特異性。診断と治療, 55 : 1618-1633, 1967
- 11) Movat, H. Z., More, R.H. and Haust, M. D. : The diffuse intimal thickening of human aorta with aging. *Am J Pathol*, 34 : 1023-1031, 1958
- 12) McGill, H. C. Jr. and Geer, J. C. : In "Evolution of the Atherosclerotic Plaque", Jones, R. J. (ed.), pp. 65-76, The University of Chicago Press, Chicago, 1963
- 13) Hartroft, W. S. : Pathogenesis and significance of hemoceroide and hyaloceroide, two types of ceroidlike pigment found in human atheromatous lesions. *J Gerontol*, 8 : 158-166, 1953
- 14) Györkey, F., Shimamura, T. and O'Neal, R. M. : The fine structure of ceroid in human atheroma. *J Histochem Cytochem*, 15 : 732-736, 1967
- 15) Lillie, R. D., Ashburn, L. L., Sebrell, W. H., Daft, F. S. and Lowry, J. V. : Histogenesis and repair of the hepatic cirrhosis in rats produced on low protein diets and preventable with choline. *Public Health Rep*, 57 : 502-508, 1942
- 16) Hueck, W. : Pigmentstudien, *Beitr Pathol*, 54 : 68-232, 1912
- 17) Robbins, S. L. and Cotran, R. S. : "Pathologic Basis of Disease", 2nd (ed.), pp. 22-54, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1979
- 18) Ciaccio, C. : Untersuchungen über die Autooxydation der Lipoidstoffe und Beitrag zur Kenntnis einiger Pigmente (Chromolipide) und Pigmentkomplexe. *Biochem Z*, 69 : 313-333, 1915
- 19) Wolman, M. : In "Pathobiology Annual", Vol. 10, Joachim, H. L. (ed.), pp. 253-267, Raven Press, New York, 1980
- 20) Endicott, K.M. and Lillie, R. D. : Ceroid, the pigment of dietary cirrhosis of rats. Its characteristics and its differentiation from hemofuscin. *Am J Pathol*, 20 : 149-153, 1944
- 21) Casselman, W. G. B. : The *in vitro* preparation and histochemical properties of substances

- resembling ceroid. *J Exp Med*, 94 : 549-563, 1951
- 22) 小島 瑞, 高橋 潔 : 先天性網内系疾患, pp. 298-312, 文光堂, 東京, 1974
 - 23) Schornagel, H. E. : The occurrence of iron and ceroid in coronary arteries. *J Pathol*, 72 : 267-272, 1956
 - 24) Endicott, K. M. : Similarity of acid-fast pigment ceroid and oxidized unsaturated fat. *Arch pathol Lab Med*, 37 : 49-53, 1944
 - 25) Dam, H. and Granodos, H. : Peroxidation of body fat in vitamine E deficiency. *Acta Physiol Scand*, 10 : 162-171, 1945
 - 26) Hartroft, W. S. and Porta, E. A. : Ceroid. *Am J Med Sci*, 250 : 324-345, 1965
 - 27) Tappel, A. L. : Studies of the mechanism of vitamine E action. *In vitro* copolymerization of oxidized fats with protein. *Arch Biochem Biophys*, 54 : 266-280, 1955
 - 28) Gedigk, P. und Fischer, R. : Über die Entstehung des Ceroidpigmentes bei der hämorrhagischen Fettgewebsnekrose. *Virchows Archiv [Cell Pathol]*, 331 : 341-370, 1958
 - 29) Maeda, R. : The origin and characteristics of ceroid. *Acta Pathol Jpn*, 17 : 439-456, 1967
 - 30) 大和利子 : セロイド色素の起源に関する組織化学的研究—赤血球基質懸濁液注入によるセロイド色素の生成について. *関西医大誌*, 24 : 255-285, 1972
 - 31) Essner, E. and Novikoff, A. B. : Human hepatocellular pigments and lysosomes. *J Ultrastruct Res*, 3 : 374-391, 1960
 - 32) Essner, E. and Novikoff, A. B. : Localization of acid phosphatase activity in hepatic lysosomes by means of electron microscopy. *J Biophys Biochem Cytol*, 9 : 773-784, 1961
 - 33) Kajihara, H., Totović, V. und Gedigk, P. : Zur Ultrastruktur und Morphogenese des Ceroidpigmentes. I. Fettphagocytose und Bildung von lipidhaltigen Lysosomen in den Kupfferschen Sternzellen der Rattenleber nach intravenöser Injektion hochungesättigter Lipide. *Virchows Archiv [Cell Pathol]*, 19 : 221-237, 1975
 - 34) Kajihara, H., Totović, V. und Gedigk P. : Zur Ultrastruktur und Morphogenese des Ceroidpigmentes. II. Spätveränderungen der Lysosomen in Kupfferschen Sternzellen der Rattenleber nach Phagocytose hochungesättigter Lipide. *Virchows Archiv [Cell Pathol]*, 19 : 239-254, 1975
 - 35) Zelander, T. : Ultrastructure of the mouse adrenal cortex. An electron microscopical study in intact and hydrocortisone-treated male adults. *J Ultrastruct Res Suppl*, 2 : 1-111, 1959
 - 36) Howes, E. L. Jr., Price, H. M. and Blumberg, J. M. : The effects of a diet producing lipochrome pigment (ceroid) on the ultrastructure of skeletal muscle in the rat. *Am J Pathol*, 45 : 599-631, 1964
 - 37) Tsukahara, Y. and Nasu, T. : Ceroid-like pigment in age changes of human cartilage. *Acta Pathol Jpn*, 24 : 357-369, 1974
 - 38) Tachibana, F., Hakozaki, H., Takahashi, K., Kojima, M., Enomoto, S. and Wada, J. : Syndrome of the sea-blue histiocyte.—The first case report in Japan and review of the literature. *Acta Pathol Jpn*, 29 : 73-97, 1979
 - 39) Samorajski, T., Ordy, J. M. and Keefe, J. R. : The fine structure of lipofuscin age pigment in the nervous system of aged mice. *J Cell Biol*, 26 : 779-795, 1965
 - 40) Biava, C. and West, M. : Lipofuscin-like granules in vascular smooth muscle and juxtaglomerular cells of human kidneys. *Am J Pathol*, 47 : 287-313, 1965
 - 41) Malkoff, D. B. and Strehler, L. : The ultrastructure of isolated and in situ human cardiac age pigment. *J Cell Biol*, 16 : 611-617, 1963
 - 42) Robertson, J. D. : The ultrastructure of cell membranes and their derivatives. *Biochem Soc Symp*, 16 : 3-43, 1959
 - 43) Singer, S. J. and Nicolson, G. L. : The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175 : 720-731, 1972
 - 44) Stoeckenius, W. : An electron microscope study of myelin figures. *J Biophys Biochem Cytol*,

5 : 491-500, 1959

- 45) Hata, Y., Hower, J. and Insull, W. Jr. : Cholesteryl ester-rich inclusions from human fatty streak and fibrous plaque lesions of atherosclerosis. I. Crystalline properties, size and internal structure. *Am J pathol*, 75 : 423-456, 1974
- 46) Ooneda, G. : Morphogenesis of arteriosclerosis. *Acta Pathol Jpn*, 18 : 75-82, 1968
- 47) Duguid, J. B. : Thrombosis as a factor in the pathogenesis of aortic atherosclerosis. *J Pathol*, 60 : 57-61, 1948
- 48) 中島輝之 : 冠動脈硬化巣の初期像について. 第17回日本医学会総会学術講演集IV. 186-190, 1967
- 49) Haust, M. D. : The morphogenesis and fate of potential and early atherosclerotic lesions in man. *Hum Pathol*, 2 : 1-29, 1971
- 50) 大根田玄寿 : 動脈硬化症—基礎と臨床, 大島研三, 島本多喜雄, 五島雄一郎編, pp. 35-49, 朝倉書店, 東京, 1979
- 51) 吉田洋二, 城下 尚, 新開紘子, 高山泰雄, 坂田則行, 大根田玄寿 : 粥状硬化症の初期病変—とくに脳動脈について—. *動脈硬化*, 2 : 245-255, 1975
- 52) 菅沼龍夫 : 膜形成性脂質異常症—Membranous lipodystrophy (Nasu)—の 実験的研究. *信州医誌*, 26 : 460-489, 1978

(56.7.2 受稿)