

原 著

膜嚢胞性病変（那須）に関する病理組織学的
および組織化学的研究

藤 原 正 之
信州大学医学部第二病理学教室
(指導: 那須 毅教授)

HISTOPATHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDIES
OF MEMBRANOCYSTIC LESION (NASU)

Masayuki FUJIWARA
Department of Pathology, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. T. Nasu)

FUJIWARA, M., *Histopathological and histochemical studies of membranocystic lesion (NASU)*. Shinshu Med. J. 27: 78-100, 1979.

The systemic membranocystic lesion (MCL) of the adipose tissue is characteristic of membranous lipodystrophy (MLD). Similar lesions have been incidentally found in an autopsy case unrelated to MLD. In the present study, the incidental MCL was found in the adipose tissues of 22 cases among 400 examined autopsy cases (5.5%) and 10 biopsy materials as a focal lesion, "membranocystic degeneration", of the adipose tissue. In addition, these lesions were induced experimentally in rabbit bone marrow by saponin injection and both fixed and unfixed tissue specimens obtained from the incidental and the experimental materials were compared histochemically with that of MLD. The peculiar membranous structures observed in degenerated adipose tissue of these three groups showed bluish or yellowish autofluorescence, positive reaction for Sudan dye stainings and also for various methods of phospholipid on frozen and even paraffin embedding sections. Furthermore, they were stained for carbohydrate and protein. Sudanophilic materials of MCL were not extracted with fat solvent, but were hydrolysed with KOH, and the biochemical analysis of hydrolysates revealed a large amount of fatty acids. Thus, these membranocystic lesions of each material were identically characterized and considered to be a stable complex of lipid, carbohydrate and protein.

Key words: 膜形成性脂質異常症 (membranous lipodystrophy)
膜嚢胞性病変 (membranocystic lesion)
膜嚢胞変性 (membranocystic degeneration)

I 緒 言

Membranous lipodystrophy は骨髓をはじめとす

る全身の脂肪組織に、系統的に膜嚢胞性病変が形成されるとともに、脳に sudanophilic leucodystrophy を伴う疾患で、病因として脂質代謝異常が考えられて

いる。本疾患は1961年に那須が骨髓の生検材料を観察して、パラフィン切片標本で奇妙な唐草模様を呈する膜様構造物に注目し、これを multiple Membranocystose と呼び、寺山¹⁾により整形外科集談会に於て初めて発表された。この症例はのちに剖検されて、1971年に那須ら^{2) 3)}により membranous lipodystrophy と命名され、本症の疾患概念が確立された。この際には膜様構造変化は膜嚢胞性病変 membranocystic lesion と呼ばれ、本症に特徴的な病変と考えられた。本疾患は当時、整形外科領域で、骨の多発性脂肪腫とかリンパ管腫と呼ばれて数例の報告がなされていた。

また1964年頃からフィンランドでも同様な症例が報告^{4) 5)}されているが、これは骨の嚢腫状病変があり、組織学的に脂肪細胞あるいは線維組織間に嚢状の膜構造が認められ、また血管の異常を伴っているという。従って Hakola, Järvi ら^{4) 5)}は病因として、母斑症すなわち先天性神経外胚葉性形成異常を考えている。

その後、1975年に本疾患とは無関係に、いわば非特異的に、膜嚢胞性病変が皮下脂肪組織に生じている皮膚筋炎剖検例を那須ら⁷⁾が報告した。次いで1977年に吉田ら⁸⁾が皮膚疾患に伴い、本病変が皮下脂肪組織に生じた数例を報告し、著者ら⁹⁾も諸所の脂肪組織に膜嚢胞性病変がみられることを発表した。このように本病変は membranous lipodystrophy 以外にもかなりみられることが明らかになった。そこで那須¹⁰⁾は本病変を脂肪組織という場で局所的に生じた変性と考えて、膜嚢胞変性 membranocystic degeneration と呼んだ。

一方、1976年に島峰¹¹⁾および遠藤¹²⁾はサポニンによる実験的骨髓線維症の発生過程で、骨髓脂肪組織に膜嚢胞性病変の発現することを報告した。著者ら¹³⁾はこれを追試し、ほぼ100%に本病変が発生することを確認した。

膜嚢胞性病変を解析することは membranous lipodystrophy 解明のために重要であると考え、1) 非特異的膜嚢胞性病変、2) 実験的膜嚢胞性病変、3) 膜嚢胞性病変の組織化学的性状の3主題について研究を行った。

Ⅱ 非特異的膜嚢胞性病変について

骨髓を中心に全身の脂肪組織に系統的に膜嚢胞性病変がみられる membranous lipodystrophy に対して、前述の如くある脂肪組織に局所的に本病変がみ

られることがある。このような症例は membranous lipodystrophy とは明らかに異なった臨床像を示すので、脂肪組織の病変は“非特異的”膜嚢胞性病変といわざるを得ない。このような病変のみられる症例を収集して検討することは、本症解明の一つの手がかりになると考えて、系統的検索を行った。

A 検索材料と方法

信州大学医学部第2病理学教室における昭和48年から52年までの剖検例300例、国立松本病院の昭和48年から52年までの剖検例70例および昭和伊南総合病院の昭和51年と52年の剖検例30例の計400例を無作為に抽出し、検索対象とした。これらの症例の剖検時に作製されたパラフィン切片、H. E. 染色標本について光学顕微鏡の検索を行った。対象とした部位は骨髓や両側副腎周囲、胃周囲、心外膜、脾周囲、腎盂周囲および乳房脂肪組織である。これらのうち副腎、胃、脾、腎盂については大部分の例が標本化されていて検索できたが、骨髓は400例中301例、乳房は400例中16例のみが組織標本化されていた。また副腎は周囲脂肪組織が除去されているものもかなりあり、腎盂は周囲脂肪組織があまり付着していない切片が殆どであった。

膜嚢胞性病変として注目した所見は、H. E. 染色でエオジン好性に染まる唐草模様状の嚢胞状膜様構造物である。これらをさらに確認するため PAS, luxol fast blue MBS (LFB), Sudan black B 染色と自家蛍光の有無を観察した。蛍光観察は千代田 FM 200 A 型蛍光顕微鏡、光源側 UV 励起、接眼側 No. 2 (ラッテン 2B+L39) フィルターを使用した。

上記400剖検例を母集団とした年齢・性別および疾患別分布を Table 1, 2 に示す。

これらのほかに生検で偶然膜嚢胞性病変が認められた例が10例あるので、検索対象とした。

また対照として、種々の変化のみられる脂肪組織に Azan-Mallory, PAS, LFB, Sudan black B 染色を行って比較検討した。対照症例は、1) 61才男、高度のろいそを伴う無為萎縮で死亡した例の骨髓、副腎周囲の膠様萎縮に陥った脂肪組織、2) 72才女、心筋梗塞で死亡した例で、飢餓による変化として多数の lipid-depleted fat cells がみられる脾周囲脂肪組織、3) 44才女の乳房脂肪組織にみられる paraffinoma および4) ほぼ正常と思われる骨髓、副腎周囲、乳房脂肪組織である。

B 検索結果と症例の概要

400剖検例を系統的に観察した結果、22例に膜嚢胞

性病変を認めた。これらの症例の概要を Table 3 に示す。年齢分布は8才から75才までで、60才以上が12例である (Table 1)。性別は男12例、女10例であった。本病変の発生部位は副腎周囲13例、うち5例では両側に認められた。また case 13 では全身の脂肪組織を再度観察した結果、両側副腎周囲のほか胃周囲、心外膜、乳房脂肪組織にも本病変が認められた。しかし後腹膜、腸間膜脂肪組織などには認められなかった。骨髄脂肪組織には本病変が8例にみられたが、腰椎にみられたもの4例、大腿骨骨髄にみられたものが5例

であった case 2 では肋骨と大腿骨骨髄脂肪組織に本病変を認めた。case 4 では腰椎と大腿骨骨髄に本病変があり、さらに脾周囲脂肪組織の白血病細胞浸潤がある部にも同様な病変が形成されていた。このほか乳房脂肪組織に局所発生している症例が1例あった。疾患別にみると骨髄に本病変を認めた8症例は Table 2 の如くいずれも白血病や網内系腫瘍例で、そのうち特に急性リンパ性白血病が多い (4例)。副腎周囲脂肪組織にみられた13例のうち主疾患が悪性腫瘍であるもの8例、糖尿病2例である。病気の経過との関係では、

Table 1 Age and sex distributions of autopsy cases showing the incidental membranocystic lesion (MCL)

Age	No. of cases examined (M : F)	No. of cases showing MCL (M : F)
0 - 9	73 (40 : 33)	1 (0 : 1)
10 - 19	10 (6 : 4)	2 (1 : 1)
20 - 29	17 (11 : 6)	1 (1 : 0)
30 - 39	23 (14 : 9)	2 (2 : 0)
40 - 49	44 (24 : 20)	3 (2 : 1)
50 - 59	77 (55 : 22)	1 (1 : 0)
60 - 69	92 (57 : 35)	8 (3 : 5)
70 - 79	56 (35 : 21)	4 (2 : 2)
over 80	8 (2 : 6)	0
Total	400 (244 : 156)	22 (12 : 10)

Table 2 Diseases showing the incidental MCL

Diseases	No. of cases examined	Cases showing the MCL
Malignant neoplasms	218	17
Leukemia	40	6
Acute leukemia (unclassified)	7	1
ALL	8	4
AML	18	1
CML	4	0
Monocytic leukemia	3	0
Multiple myeloma	8	1
Malignant lymphoma	7	2
Other malignant neoplasms	163	8
Diabetes mellitus	7	2
Diseases of nervous system	26	0
Collagen diseases	5	0
Other diseases of infancy	59	0
Others	85	3
Total	400	22

多くは1～2年で死亡しているが、case 20のように経過1日、case 21のように8日間で死亡した症例もある。これらの膜嚢胞性病変の組織学的性状は、骨髓にみられたものでは、症例5, 7を除いて、いずれもほぼ脂肪細胞と同じ大きさで唐草模様状を呈する膜様構造にとり囲まれた病変であり、膜の厚さは比較的均等で約 1μ である (Fig. 1)。これらの病変の周辺には、白血球細胞あるいは腫瘍細胞浸潤がみられるものもあるが、概して軽度である。case 4では、骨髓に膜嚢胞性病変がみられると同時に、白血球細胞浸潤の著しい脾周囲脂肪組織内にも本病変が散見され、この両者は殆ど同様な形態を呈していた。case 5の急性骨髓性白血病例では、上記のものと異なり大腿骨骨髓に径1mmから10mmまでの脂肪壊死巣が散見され、この壊死脂肪組織の辺縁部に帯状に膜嚢胞性病変が形成されている (Fig. 2)。大きさは脂肪細胞の1ないし数倍大 (20～200 μ) で、膜の厚さは1～8 μ である。case 7はこれとかなり類似した所見を呈し、径1mm位の骨髓脂肪壊死巣に本病変がみられるものである。副腎周囲脂肪組織にみられる例は、13例とも殆ど同様な形態で、やはり脂肪細胞の1ないし数倍大 (20～200 μ) のしぼんだ嚢胞状形態を示す膜様構造物で (Figs. 3, 4)、膜の厚さは1ないし数 μ である。この嚢胞状構造の周囲をとりまくように好銀線維や細胞核がみられることもある。乳房にみられるものもこれとほぼ同様の所見を呈するが、周囲は線維化した組織で囲まれている。これらの剖検例にみられる非特異的膜嚢胞性病変は、PAS, Sudan black B 染色に陽性 (Figs. 1, 4)、LFB 染色には大部分陽性であるが、一部のものは弱陽性で、いずれも青白色ないし黄白色の自家蛍光がみられた。膜嚢胞性病変のみみられる症例と使用薬剤との関係は、骨髓に発生した例では抗癌剤、副腎皮質ホルモン、抗生剤が全例で使用されており、輸血も8例中7例に行われている。副腎周囲発生例では13例中10例に抗生剤を、6例に抗癌剤や副腎皮質ホルモンが投与され、7例に輸血が行われている。

生検例にみられた膜嚢胞性病変10例 (Table 4) の発生部位は、関節およびその周囲組織4例、皮下脂肪組織4例、骨髓および卵巣がそれぞれ1例である。組織学的所見は生検症例1では股関節内の癒着組織に多数の異物型巨細胞から成る肉芽組織が形成され、巨細胞の胞体内に膜様構造物がみられる (Fig. 5)。case 2は、粘液嚢腫の壁にある肉芽組織の中に僅かに膜様構

造が形成されている。case 3は、やはり同様の膜様構造が癒着組織内にみられるものである。case 4は、厚い線維性被膜にかこまれた粘液嚢内の壊死塊に多数の膜嚢胞性病変が形成されている。case 5は、同じく壊死に陥った類皮嚢腫の内部に本病変が形成されている。case 6は、皮膚石灰沈着症で、周囲を石灰化した被膜で囲まれ、内部の壊死脂肪組織に膜様構造物が認められる (Fig. 6)。従って cases 4, 5, 6 はいずれも周囲を線維性被膜でとり囲まれ、壊死に陥っている脂肪組織に生じた膜様構造である。cases 7, 8, 9 はいずれも皮下に脂肪肉芽腫が形成され、その中に大小の膜嚢胞性病変が散見されるものである (Fig. 7)。症例10は関節鼠の壊死骨髄脂肪組織の周辺部に嚢状の膜様構造が認められる。これらの膜様構造物は PAS, LFB 染色に大部分のものが陽性であるが、皮下脂肪組織における脂肪肉芽腫内のもものではこの2つの染色に陽性のものと陰性のものとがみられた。Sudan black B と自家蛍光は全例で陽性である。

対照として用いた脂肪組織では、まず膠様萎縮に陥った脂肪細胞は円形小型化し、胞体は変性して、微小嚢胞のみみられるやゝ厚い膜様となる。これは Azan-Mallory で赤染し、PAS, LFB 弱陽性、Sudan black B 染色で一部陽性を示す。また脂肪滴と胞体の境界部に一部光輝性変化がみられるが、嚢状構造はみられない。これらの脂肪細胞周囲には Azan-Mallory 染色で青染する粘液状基質が形成されている。飢餓により生じたと思われる lipid-depleted fat cells¹⁴⁾はつぶれた嚢胞状形態を呈するが (Fig. 8)、滑らかな嚢状構造であり、細胞核が明瞭に認められる。また PAS, LFB, Sudan black B 染色に弱陽性で、Azan-Mallory で淡赤色に染まる。paraffinoma における油嚢胞や正常脂肪細胞はいずれも PAS, LFB, Azan-Mallory, Sudan black B 染色で陰性であった。

C 小 括

剖検例 400 例の脂肪組織を検索し、22例 (5.5%) に膜嚢胞性病変を見出した。しかし今回検索した脂肪組織はごく一部の限られた部位であり、さらに系統的に検索すれば、より高頻度に本病変がみられるものと推測される。発見されたこれらの症例の性差は殆どなく、年齢分布は全年代にわたっているが、老人に多い傾向がある。発生部位は骨髓と副腎周囲脂肪組織が多い。骨髓に発生した症例の基礎疾患としては、白血病やリンパ腫が多く、中でも急性リンパ性白血病が特に多い。発生原因としては、治療に用いられた抗腫瘍剤やステロ

Table 3 Autopsy cases showing the incidental membranocystic lesion (MCL)

Case No.	Age, Sex	Tissue showing the MCL (Degree) (+~#)	Pathological findings surrounding the MCL	Pathological diagnosis	Duration of illness	Drugs			Other therapy
						anti-tumor drugs	steroid hormone	anti-biotics	
1	8 F	bone marrow of the lumbar vertebra (+)	infiltration of leukemic cells	acute lymphatic leukemia, cerebral hemorrhage	1 yr-8 mos	+	+	+	blood transfusion
2	37 M	bone marrow of the ribs and femur (##)	infiltration of leukemic cells	acute lymphatic leukemia, pulmonary mycosis	1 yr-4 mos	+	+	+	blood transfusion, radiation
3	44 M	bone marrow of the lumbar vertebra (+)	infiltration of leukemic cells, hemosiderosis	acute lymphatic leukemia, organized pneumonia	1 yr	+	+	+	blood transfusion
4	44 M	bone marrow of the lumbar vertebra, femur(+), peripancreatic adipose tissue (+)	infiltration of leukemic cells	acute lymphatic leukemia	1 yr-7 mos	+	+	+	blood transfusion, radiation
5	29 M	bone marrow of the femur (##)	necrotic foci, infiltration of leukemic cells	acute myeloid leukemia	1 yr-7 mos	+	+	+	blood transfusion
6	71 M	bone marrow of the femur (##)	infiltration of erythro-leukemic cells	acute erythroleukemia	7 mos	+	+	+	blood transfusion
7	16 M	bone marrow of the femur (##)	necrotic tissue of tumor	reticulum cell sarcoma	1 yr	+	+	+	blood transfusion, radiation
8	14 F	bone marrow of the lumbar vertebra (##)	infiltration of tumor cells	lymphocytic lymphoma, Pneumocystis carinii pneumonia	1 yr-3 mos	+	+	+	none
9	42 F	mammary adipose tissue (+)	fibrosis	multiple myeloma, acute pyelonephritis	3 yrs-2 mos	+	+	+	blood transfusion
10	69 M	periadrenal adipose tissue left (+)	no pathological findings	carcinoma of the lung	6 mos	+	+	+	none
11	75 M	periadrenal adipose tissue left (+)	lipid-depleted fat cells	carcinoma of the lung	1 yr-10 mos	+	+	+	none

12	71	F	periadrenal adipose tissue right (+)	gelatinous atrophy	carcinoma of the stomach, postnecrotic liver cirrhosis	4 mos		+	+	blood transfusion, anti-hypertensive drugs
13	75	F	periadrenal bilateral(++), perigastric, pericardial and mammary adipose tissues (+)	marked gelatinous atrophy	carcinoma of the stomach, generalized cryptococcosis	10 mos	+			blood transfusion
14	69	F	periadrenal adipose tissue left (+)	no pathological findings	carcinoma of the ovary, peritonitis carcinomatosa	8 mos	+	+	+	blood transfusion
15	60	F	periadrenal adipose tissue left (+)	gelatinous atrophy	mixed mesodermal tumor of the ovary	5 mos			+	blood transfusion
16	63	F	periadrenal adipose tissue right (+)	lipid-depleted fat cells	carcinoma of the uterus, chronic pyelonephritis	3 yrs	+		+	blood transfusion, radiation,
17	66	F	periadrenal adipose tissue bilateral (++)	no pathological findings	carcinoma of the thyroid, Pneumocystis carinii pneumonia	7 mos	+	+	+	blood transfusion, thyroid hormon
18	66	F	periadrenal adipose tissue bilateral (+)	gelatinous atrophy	diabetes mellitus, diabetic nephropathy	1 yr-4 mos			+	blood transfusion, diuretics
19	69	M	periadrenal adipose tissue right (+)	gelatinous atrophy	diabetes mellitus, multiple ulcers of the stomach	10 yrs		+	+	none
20	52	M	periadrenal adipose tissue bilateral (+)	no pathological findings	acute phlegmonous laryngo-epiglottitis	1 day				none
21	61	M	periadrenal adipose tissue right (+)	lipid-depleted fat cells	Weil's disease	8 days		+	+	none
22	32	M	periadrenal adipose tissue bilateral (+)	gelatinous atrophy	secondarily contracted kidney	9 mos			+	artificial dialysis

Table 4 Biopsy cases showing the incidental membranocystic lesion (MCL)

Case No.	Age. Sex	Pathological diagnosis	Tissue showing MCL
1	76 F	fracture of neck of the femur	granulation tissue in hip joint
2	78 M	bursal cyst of the olecranal region	wall of cyst
3	53 F	tendovaginitis stenisans	tendon sheath
4	52 F	bursitis of the foot joint	mucous bursa
5	32 F	dermoid cyst of the ovary	content of cyst
6	61 F	calcinosis cutis of the femoral region	subcutaneous tissue
7	58 F (Tokoro's case)	lipogranuloma of the femoral region	subcutaneous tissue
8	67 F	lipogranuloma of the gluteal region	subcutaneous tissue
9	52 F	recurrent lipogranuloma of the gluteal region	subcutaneous tissue
10	50 M	loose body of the elbow joint (olecranon)	degenerated bone marrow

イドの影響も無視できない。副腎周囲に発生した症例には癌腫例が多く、病変周囲の状況として、脂肪組織の変性、特に膠様萎縮を伴っている例が多い。また検索した副腎周囲脂肪組織に比較的多く本病変が発見されたが、はたして他の部位の脂肪組織より頻度の高いものであるかどうかは不明である。たゞ case 13 において、ほぼ全身的に脂肪組織を検索した結果では、たしかに副腎周囲に病変が多く、さらにそれを取り囲んでいる後腹膜の脂肪組織には病変が認められていない。このような現象に対しては、副腎周囲脂肪組織には血管が豊富なこと、副腎皮質ホルモンの脂肪組織に対する何らかの影響などがあげられるが、今後検討されるべき問題である。生検症例では関節附近の肉芽組織や骨髓脂肪組織および皮下の脂肪肉芽組織に好発している。

これらの膜嚢胞性病変は不規則散在性に生じ、ほぼ 1 個の脂肪細胞大でしぼんだ嚢胞状構造を呈するものと、壊死脂肪組織の辺縁に带状に形成される嚢胞状構

造物とに大別される。しかしこれらはいずれも Azan-Mallory 染色で赤染し、PAS, LFB, Sudan black B 染色に陽性で、青白ないし黄白色の自家蛍光を示す。一方、対照例の正常脂肪細胞の形質膜は上記染色にすべて陰性であり、lipid-depleted fat cells の嚢状構造を呈する胞体は、PAS, LFB, Sudan black B 染色に弱陽性で、Azan-Mallory 染色で赤染する点が膜嚢胞性病変に似ている。しかしこの嚢状構造物の外側に核がみられることから容易に鑑別できる。膠様萎縮に陥った脂肪細胞はこれら 4 種の染色にいずれも弱陽性を示すが、嚢状構造を呈さず、核がみられることから鑑別は比較的容易である。

Ⅲ 実験的膜嚢胞性病変の作成

実験的に脂肪組織に膜嚢胞性病変を作成することは membranous lipodystrophy の病因を解明する上に極めて重要である。著者らは種々の薬剤を脂肪組織に注入する実験を行ってきたが、定型的な膜構造物を得

るまでに至らなかった。ところが1976年に島峰は第65回日本病理学会総会における宿題報告「慢性骨髓不全の病理」¹¹⁾において、サポニンによる骨髓線維症作成の過程で膜嚢胞性病変を認めることを指摘した。著者らはこれにならって種々のサポニンを用いて実験したが、国産のサポニン（和光純薬、関東化学、半井工業）を用いた場合定型的な膜構造を認め難く、それに反しSigma社、Merck社製サポニンを用いた場合、皮下注入実験では皮下脂肪組織内に、静注実験では骨髓脂肪組織に膜嚢胞性病変の発生を認めた。本稿では組織化学的検索の対象としてMerck社製サポニンを静注し、経時的に観察を行った結果についてその概要を述べる。

A 材料と方法

動物：家兎（2～2.5Kg）

サポニン：Saponin weiss rein (Art. 7685), Merck

投与方法：サポニンを生理的食塩水で溶解し（1.0 mg/ml）家兎耳静脈に注射

投与量：1.5mg/Kg

屠殺方法：ラボナルまたはネンブータル麻酔死

屠殺時期：以下の各群に家兎2ないし3羽使用

1. 一回投与群

6時間, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 14, 21, 30日後観察

2. 頻回投与群

週2回の割合で, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 25, 48, 61回投与後, 1～4週後屠殺, 6回投与例では, さらに6カ月後まで経時的に屠殺して観察

材料：大腿骨および脛骨骨髓

固定：Calcium acetate formalin (CAF) およびカルノア固定

染色：パラフィン切片→H. E., Azan-Mallory, PAS, LFB, Sudan black B

B 実験結果

1. サポニン1回投与例

サポニン投与後6時間で、骨髓に軽度のうっ血を生じ、これは時間とともに高度となり24時間後には出血を混じてくる。この時期の脂肪細胞には細胞質の変性を生じ、細胞質辺縁部に光輝性変化が出現する (Figs. 9, 10)。一部の脂肪細胞内には網状に光輝性物質が認められる。2日後になると、出血巣の拡大と壊死を生じ、変性脂肪細胞の数が増加してくる。このような変性脂肪細胞は4日以後になると、核は消失し、細胞質

に相当する部に微小嚢胞状変化が生じて、類円形嚢胞状の膜様構造物に変貌する。これはAzan-Mallory染色で赤染し (Fig. 11), Sudan black B (Fig. 12), LFB, PAS染色に陽性を示す。またこの膜構造の内面には有機溶媒に溶けない光輝性物質が、ふちどるようには認められる。この部分はAzan-Mallory, PAS染色では陰性であるが (Fig. 11); LFBやSudan black B染色では濃染 (Fig. 12) する。この微小嚢胞状変化は7日ないし10日間放置した例では消失して、均質な膜様構造がみられるようになる (Fig. 13)。2週後、広汎な壊死巣の一部は吸収され、線維性結合組織の増生や造血実質の回復がみられる。膜様構造物は融合したり、周囲を均質な基質でとり囲まれ、次第に内腔に向かう嚢状構造が出現して、人体例と同様の膜嚢胞性病変が完成する (Fig. 14)。この時期に形成された病変には光輝性変化が消失しているものが多く、エオジンに淡染し、Azan-Malloryで赤染し、PAS, LFB, Sudan black B染色はいずれも陽性である。これらの膜様構造物の大きさは脂肪細胞の1ないし数倍大 (15～100 μ) である。膜の厚さはだいたい1 μ 前後である。著者らはこのような所見を呈するものを、このサポニン実験では膜嚢胞性病変とみなした。また同時に膜様構造物が巨細胞あるいは多核巨細胞にとり囲まれ、一部には完全に巨細胞に貪食されているものもみられる。3週後、壊死巣の吸収と軽度の線維化がみられるが、膜様構造物に対する巨細胞反応はなおかなり存する。また一方では完成した膜嚢胞性病変も散見される。

2. 頻回投与例

少ない回数投与例では、1回投与例に比較的に類似的結果を得るが、いろいろな時期の膜様構造物がみられ、いわば新旧様々な所見を呈する。

投与回数が多くなると、骨髓のかなり強い線維化や荒廃の所見に混在して、膜嚢胞性病変が多数みられるようになり (Fig. 15)、病変の形も唐草模様状となって人体例のものに一層似てくる。また、黄色の光輝性物質も散在性に認められる。これら膜様構造物や光輝性物質が巨細胞内に取り込まれている像もみられ、著しい脂肪肉芽腫性病変が形成 (Fig. 16) される (特に5～8回投与例)。以上のような変化は投与後1ないし3週で著しく、2カ月ないし6カ月放置した場合かなり消失し、回復した骨髓造血巣のごく一部に膜様構造物や黄色光輝性物質の沈着が僅かに認められるにすぎない。

なお、このサボニン静注実験では定型的な膜嚢胞性病変は、骨髓のみに生じ、他の脂肪組織や網内系、脳などに著変はみられなかった。

C 小 括

家兎に Merck 社製サボニンを静注し、経時的に骨髓を採取して、特に骨髓脂肪組織の変化を光学顕微鏡的に観察した。① まず初期変化として、脂肪細胞の細胞質の変性を生じ、次第に嚢胞状の膜様構造物に変化する。同時に細胞内に存する脂肪滴と胞体の接する部、つまり lipid-cytoplasmic interface に光輝性変化が出現してくる。この段階までは1個の脂肪細胞の変化としてとらえることができる。② 1回注射2週後、この膜様構造物には内腔に向かう襞状構造が形成され、光輝性変化は大部分消失し、また膜様構造物の周囲は無構造な間質基質でとりまかれるようになる。このような所見から、実験例における完成した膜嚢胞性病変においては、脂肪細胞のみでなく、内腔にある脂質の何らかの変化と、周辺の基質とが本病変の形成に関与していることが推測される。この時期には巨細胞に貪食された、いわば異物として存在する膜様構造物が多数認められる一方、巨細胞と無関係に、完成した定型的な膜様構造物も認められる。③ 頻回投与例では上記の新旧様々な病変がみられるとともに、膜嚢胞性病変はさらに多数形成されている。④ 頻回投与後数ヶ月放置したものでは、膜様構造物は殆ど消失し、ごく一部に残存しているにすぎなくなる。

IV 膜嚢胞性病変における膜の組織化学的性状

実験的に作成した膜嚢胞性病変や非特異的膜嚢胞性病変と membranous lipodystrophy における同病変について、膜の組成を組織化学的に比較検討した。

A 検索材料と方法

1. 実験例について

家兎にサボニン 1.5mg/Kg を1回投与後2週間放置したものや、6回投与後1～3週放置した例では、ほぼ100%に骨髓に膜嚢胞性病変が形成されるので、この時期のものを組織化学的検索材料とした。

麻酔死させた後、大腿骨および脛骨の骨髓を採取。

1) Calcium acetate formalin (CAF), カルノア固定後パラフィン包埋。パラフィン切片を作製し、一般染色、各種の脂質^{15)~17)}、糖質¹⁵⁾¹⁷⁾、蛋白質染色¹⁸⁾¹⁹⁾(Table 5)を行った。この他にもそれぞれの染色法に指示された固定(例えば Baker 法のためのホルマ

リン・カルシウム固定, Elftman のクロム化対照法のための重クロム酸カリ固定など)を種々行った。

2) CAF あるいはホルマリン・カルシウム固定後、クリオスタットで凍結切片を作製し、各種脂肪染色を行った。3) 未固定クリオスタット切片を作製し、種々の有機溶媒による抽出試験を行った。

2. 非特異例について

前述した非特異的膜嚢胞性病変を生じている症例の中から、剖検症例5の急性骨髄性白血病例の骨髓と症例13の胃癌例、副腎周囲脂肪組織の2材料を主として検索した。材料はいずれもホルマリン固定、パラフィン包埋されたもので、パラフィン切片作製後各種染色^{15)~19)}(Table 5)を行った。また長期ホルマリン固定材料から、凍結切片を作製し、脂肪染色も行った。

3. Membranous lipodystrophy 例について

組織化学的検索の対象とした症例は、信州大学医学部第2病理学教室で剖検され、那須によって membranous lipodystrophy と命名された本邦第1症例¹⁾で、その概要は下記のようなものである。本症のホルマリン固定、パラフィン包埋材料のうち、主として、膜嚢胞性病変が無数にみられる骨髓について種々の染色^{15)~19)}(Table 5)を行った。

症例 38才 男

1958. 3. (27才): 右脛骨骨折
1958. 8. 信大病院整形外科初診, 右脛骨の嚢腫状陰影を指摘される
1958. 9. 右脛骨病巣搔爬 + 自家腸骨片移植
1959. 2. 骨癒合完了するも歩行不能
1959. 11. 左脛骨遠位端にも骨吸収像出現, 以後次第に両下肢, 両上肢の骨に病変を証明
1962. 10. 右大腿骨下端病的骨折
1963. 8. 右大腿骨頸部病的骨折, “とんちんかん”なことを言うようになる
1965. 1. てんかん様発作があらわれ, 以後失外套症候群が明らかとなる
1967. 9. 嚥下不能となり, 以後鼻腔栄養
1970. 2. 死亡 (38才)

病理解剖学的診断

脳白質変性症を伴い、骨系統に著明に発現した膜形成性脂質異常栄養症

1. 膜嚢胞性病変

- i) 骨髓(長管状骨を主とし、病的骨折を伴う)
- ii) 脂肪組織(網膜, 心外膜, 腸間膜, 後腹膜, リンパ節周囲, その他)

- iii) 肝（類洞内）および肺（胞隔内）
2. 脳白質変性症（1,050 g）
3. 両肺の気管支肺炎
4. 両腎盂の樹枝状鉀型結石（6×4×2 cm）
5. 糖蛋白変性を伴う心筋の褐色萎縮（130 g）
6. 副腎皮質の萎縮，肝・脾の萎縮
7. 頭，肩，背，臀部の褥瘡
8. 高度のゐいそう

B 膜囊胞性病変の組織化学的性状

膜囊胞性病変は実験例では大きさ 15~150 μ ，膜様構造物の厚さ約 1 μ ，非特異例では大きさ 20~200 μ ，膜の厚さ 1~8 μ ，membranous lipodystrophy では大きさ 20~1500 μ ，膜の厚さは 1~14 μ で，形態はいずれもほぼ同様にしぼんだ囊胞状あるいは唐草模様状を呈する膜様構造から成っていた。これらの実験例，非特異例，membranous lipodystrophy における膜様構造物についての組織化学的性状は Table 5 に示したように，いずれもかなり近似の所見を呈した。

1. 一般的染色法による染色所見

すべての膜はヘマトキシリン・エオジン染色では淡赤色に染色され（Figs. 2, 3, 15, 17），Azan-Mallory 染色や Masson の trichrome 法では赤ないし淡青色に染まり，van Gieson 染色では黄色ないし赤色を呈した。弾性線維染色ではいずれの膜も染まらず，鍍銀法では膜の外周の一部が染まった。PTAH では種々の染色性を示し，membranous lipodystrophy 例では大部分強陽性，非特異例では強陽性のものと陰性のものとが混在してみられ，実験例では陽性を示した。鉄やカルシウム，アミロイド，メラニン，胆汁色素等の染色ではいずれも陰性。リボフスチンやセロイドの染色としては Schmorl, Ziehl-Neelsen, クロム明礬ヘマトキシリン，0.02% Nile blue, leucomalachite green 等の染色をしたが，すべての膜は陰性であった。また membranous lipodystrophy 例および非特異例では青白色（Fig. 19），ないし黄白色，実験例では黄白色の自家蛍光がみられた。

2. 各種脂肪染色による染色所見

脂質のための 3・4 benzpyrene, phosphine 3R による二次蛍光はいずれも陽性。また Sudan III, IV, Sudan black B, アセチル化 Sudan black B 染色では，凍結切片の場合，膜様構造物は内腔を含めて全体が染まり（Figs. 20, 23），パラフィン切片の場合，膜構造のみが染色された（Figs. 4, 6, 21, 24）。以上の結果は membranous lipodystrophy, 非特異例，

実験例で全く同様であった。従って膜囊胞性病変における膜様構造物はすべての症例で，脂質を構成成分とし，内腔には脂肪溶媒可容の単純脂質を主成分とする物質を容れていることが考えられる。次に複合脂質を染める luxol fast blue (MBS) 染色では，ほぼ全例において，大部分の膜はかなり強く染まるが（Fig. 18），一部のものは陰性あるいは弱陽性であった。例えば membranous lipodystrophy 例の肝，肺にみられたものおよび非特異例のうち，生検例皮下脂肪組織に生じたものや関節附近に生じたものなどが陰性であり，実験例は大部分陽性であるが，一部は陰性ないし弱陽性であった。このことはこれら 3 者の膜の固定条件の違いや，また同一症例でも染まるものと染まらないものがあることが示唆される。Nile blue 染色では 3 者とも膜は青く染まり脂酸の存在を疑わせる。しかし Fischler 法，Hölzinger 法および岡本・上田らの脂酸染色法では陰性であるので，遊離脂酸あるいは脂肪酸塩は存在しないものと考えられる。

磷脂質のための染色については，新鮮な材料が得られる実験例では，種々の染色法に適した固定をしたが，非特異例や membranous lipodystrophy などの人体例では，ホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いて染色した。まず実験例で重クロム酸カリ固定をして行った Elftman のクロム化対照法，Smith-Dietrich, Ciaccio 法では膜はすべて陽性で，磷脂質の存在を疑わせる。またホルマリン・カルシウム固定材料の Baker の酸ヘマテイン染色では，実験例は陽性で（Fig. 29），磷脂質の存在が考えられ，これを確認するために弱ブアン固定をして pyridine 抽出後，Baker 法を行うと染色性は低下した。membranous lipodystrophy 例と非特異例のホルマリン固定，パラフィン切片に酸ヘマテイン染色をすると，陽性のものと陰性のものとが混在していたが（Figs. 30, Top, 31），pyridine 処理後本法を行うと褪色する（Fig. 30, Bottom）。従っていずれの膜にも磷脂質の存在することが強く示唆される。実験例骨髓のホルマリン・カルシウム固定の凍結切片に四酸化オスミウム・ α -ナフチルアミン（OTAN）染色をすると，膜様構造物は全体に黒く染まり，中性脂肪の存在が考えられる。acetone 抽出後 OTAN 法を行うと膜のみが赤褐色に染まる。従って膜および内腔にあった中性脂肪が抽出されて，膜には磷脂質が残存しているものと考えられ

Table 5 Histochemical findings of the membranocystic lesion

Stainings	Membranous lipodystrophy	Experimental materials	Incidental cases
H E	pale red	pale red	pale red
Azan-Mallory	red~(pale blue)	red	red
Masson trichrome	red~(pale blue)	red	red
van Gieson	yellow	yellow~red	yellow~red
Weigert's elastica	—	—	—
Silver impregnation	partially +	partially +	partially +
P T A H	+~卅	+	—~卅
Congo red	—	—	—
Methylgreen pyronine	—	—	—
Prussian blue	—	—	—
Ralph's hemoglobin	—	—	—
Mallory's hemofuscin	—	—	—
Fontana Masson	—	—	—
Schmorl	—	—	—
Ziehl-Neelsen	—	—	—
Chrome alum hematoxylin	—	—	—~±
0.02% Nile blue	—	—	—
Leucomalachite green	—	—	—
Autofluorescence	blue~yellow	yellow	blue~yellow
3·4-Benzpyrene fluorescence	silver	silver	silver
Phosphine 3R fluorescence	silver	silver	silver
Sudan Ⅲ	++	+	+
Sudan Ⅳ	++	+	+
Oil red O	+	+	+
Sudan black B	卅	卅	+~卅
Propylene glycol Sudan black B	卅	卅	卅
Acetylated Sudan black B	卅	卅	/
Nile blue	blue	blue~violet	+
Fischler's method for fatty acids	—	—	/
Holczinger's method	—	—	/
Okamoto's method for fatty acids	—	—	/
Feigl's method for fat peroxide	/	—	/
Menschik's nile blue	blue	blue	/
Luxol fast blue	卅~(±)	+	—~卅
Elftman's controlled chromation method	/	++	/
Smith-Dietrich	/	++	/
Ciaccio	/	++	/
Baker's acid hematein	++~(±)	+	—~++
“ after pyridine extraction	—~+	±~+	—~±
O T A N	++	卅	+~卅
“ after acetone extraction	++	++	+~++
“ after NaOH hydrolysis	—~±	—~±	—~+
Okamoto's mercury diphenylcarbazone I, II, III	+	+	/
Phosphomolybdic acid method	+	+	/
Plasmal reaction	/	—	/
Birefringence	—	—	—
Liebermann-Schultz	—	—	—
Modified Romieu	—	—	—
Digitonin	—	—	—
Schiff reaction	—	—	—
Naphthoic acid hydrazide reaction	+	+	±

膜囊胞性病変（那須）に関する病理組織学および組織化学的研究

Stainings	Membranous lipodystrophy	Experimental materials	Incidental cases
Performic acid Schiff	+	±	+
Peracetic acid Schiff	±	±	+
Ultra-violet acid Schiff	+	+	+
Osmic acid	≡	≡	≡
α-Naphthol	—	—	—
Modified Brückner	—	—	—
Extraction effect on lipid staining	formalin fixed material	formalin fixed material	unfixed material
Ethanol at r. t., 48hrs.	—	—	—
Chloroform "	—	—	—
Acetone "	—	—	—
Ether "	—	—	—
Hexan "	—	—	—
Benzene "	—	—	—
Pyridine "	—	—	+
Chloroform/methanol "	—	—	+
Hot acetone 60°C, 20hrs.	—	—	±
Hot ether "	—	—	±
Hot pyridine "	±	±	±
Hot CM "	—	—	+
Hot CM+1% HCl "	±	±	±
1% KOH 37°C 20min.	+~±	+~±	±
37°C 60min.	≡	≡	≡
Periodic acid Schiff	≡	+~±	±
Acetylation PAS	—	—	—
Acetylation, deacetylation PAS	≡	+	+~±
Bromination PAS	+	+	/
Diastase digestion PAS	≡	±	±
Pectinase digestion PAS	≡	±	±
Best's carmine	—	—	—
Chromic acid Schiff (BAUER)	+	±	+
Permanganate Schiff (CASELLA)	±	+	+
P AM	+	±	+
ConA-HRP-DAB	+	+	+
High iron diamine	—	—	/
Aldehyde fuchsin	+	+	/
Colloidal iron	—	±	/
Saponification-colloidal iron	+	+	/
Toluidine blue metachromasia	—	—	/
pH 2.5, 4.1, 7.0			
Alcian blue pH 2.5	±	+	/
pH 1.0	—	—	/
Millon	—	—	—
Tetrazonium	±	±	+
Dinitrofluorobenzene (Burstone)	—	—	—
Ninhydrin Schiff	±	±	±
2,2'-Dihydroxy-6,6'-dinaphthyl disulfide	±	±	+
Dimethylamine-benzaldehyde	—	—	±
2-Hydroxy-3-naphthoic acid	+	+	±
hydrazide (Barnett-Seligman)			
Acid permanganate-aldehyde fuchsin	≡	+	/
Enzyme digestion			
Pepsin	—	—	—
Trypsin	—	—	—
Collagenase	—	—	—

る。さらに 2N-NaOH で水解した後の OTAN 法では膜は殆ど陰性化した。これはアルカリ非耐性のグリセロ磷脂質が加水分解により破壊されたことが推測される。また実験例、非特異例、membranous lipodystrophy 例のパラフィン切片に OTAN および acetone 抽出後 OTAN 染色をすると、いずれも赤褐色を示し (Figs. 26, 27, 28), NaOH 前処理でかなり褪色し、ほぼ実験例凍結切片と同様の結果を示した。さらに磷脂質のための岡本の銀・ジフェニルカルバゾン染色 I, II, III 法、磷モリブデン酸染色 (Figs. 32, 33) では、実験例の凍結切片、パラフィン切片および membranous lipodystrophy 例のパラフィン切片でいずれも陽性であった。実験例の新鮮凍結切片に plasmal 反応をすると陰性であったので、plasmalogen はないものと思われる。また過酸化脂肪のための Feigl 法も陰性であった。

コレステリンやコレステリンエステルの反応としては、Liebermann-Schultz, その Romieu 改良法はいずれも陰性であった。また digitonin 反応標本および無染色標本の偏光顕微鏡観察で複屈折性はみられない。

不飽和基にもとづく不飽和脂質染色として行った過蟻酸 Schiff, 過酢酸 Schiff, UV-Schiff 反応は疑陽性ないし陽性であり、四酸化オスミウム反応は全例で強陽性であった。従って不飽和基 ($-C=C-$) の存在が強く示唆される。糖脂質や糖化合物の反応として用いられる α -ナフトール法や Diezel の Brückner 変法では陰性であるが、後に述べるように糖質は存在するものと考えられるので、これらの反応は糖質が多量に存在しないために陰性であったと考えられる。

次に主として膜様構造物の脂質について、種々の有機溶媒や KOH 処理の効果を調べた。材料は membranous lipodystrophy 例骨髓のホルマリン固定パラフィン切片と、実験例のホルマリン固定パラフィン切片および未固定凍結切片である。上記の溶媒処理後に Sudan black B 染色を行って結果を判定した。

室温 48 時間処理では未固定材料のみが、pyridine と chloroform/methanol に若干溶解した。すなわち処理後は Sudan black B による染色性が低下した。60°C 20 時間処理ではパラフィン切片で、熱 pyridine と熱 1% 塩酸加 chloroform/methanol に若干の溶解が認められ、未固定材料ではより多く溶解した。しかし膜様構造はなおも比較的良好に保たれている。1% の

NaOH または KOH で 37°C 20 分処理した後 Sudan black B 染色を行うと、実験例、membranous lipodystrophy 例ともかなり染色性が低下し、37°C 60 分処理では殆ど染まらなくなる (Figs. 22, 25)。このことからアルカリに加水分解されて膜様構造物の脂質が破壊されたことが推定される。

3. 各種糖染色による染色所見

糖質の染色では膜様構造物は 3 者とも、大部分が PAS 反応に強陽性を示すが (Figs. 34, 35), membranous lipodystrophy 例の肝、肺にみられるものや実験例の一部のものでは弱陽性である。アセチル化後の PAS 反応はすべての症例で完全に陰性化し、さらにアセチル化後に脱アセチル化 PAS 反応を行うと陽性化する。従って PAS 陽性はアミノアルコールでなく、1, 2 グリコール基 ($-CHOH-CHOH-$) によることが考えられる。また Gomori のメセナミン銀染色や Bauer のクロム酸 Schiff, Casella の過マンガン酸カリ Schiff 反応が陽性であることも、多糖類が存在することを意味しており、またジアスターゼ消化後の PAS 反応が不変であり、Best のカルミン染色陰性であることから、グリコーゲンは存在しないものと思われる。すべての膜構造は Schiff 反応が陰性で、NAHD 反応が陽性であるので、アルデヒド基はなく、ケトン基が存在することが示唆される。また Con A-HRP-DAB 染色、過沃素酸酸化 Con A-HRP-DAB 染色で陽性を示すことから、oligosaccharide の存在が強く示唆される。さらに実験例、membranous lipodystrophy 例において、アルデヒド・フクシン染色弱陽性で、高铁ジアミンは陰性。固定条件のよい実験例で、コロイド鉄は膜の内側の一部が僅かに染まる。さらに鹼化後のコロイド鉄反応では、実験例、membranous lipodystrophy 例とも膜の一部がより強く染まるようになる。アルシアン・ブルー pH 2.5 で膜の一部は陽性であり、pH 1.0 では陰性。トルイジン・ブルーによる異染性はみられない。これらの結果から実験例、membranous lipodystrophy および非特異例においても膜様構造物には糖質を含んでいることが考えられ、ムコ多糖はないものと思われる。

4. 各種蛋白染色による染色所見

一般的蛋白質検出法としては、Millon 反応や DNFB 反応は陰性であるが、tetrazoniam 反応は陽性 (Figs. 36, 37, 38) であるので、蛋白質の存在が示唆される。蛋白質の特殊検出法としては、まずアミノ基

のためのニンヒドリン Schiff 反応は疑陽性、SH や SS 基証明のための DDD 反応は陽性で、3種の膜様構造物はいずれも同様の結果を示した。また前記アルデヒド・フクシン染色は弱陽性であったが、過マンガン酸カリで前処理したものでは強陽性となった。これについては実験例の膜様構造物のX線マイクロアナライザーでも“S”が証明されている。インドール基証明のためのDMAB亜硝酸反応は陽性。カルボキシル基の反応として用いられるBarnett-Seligmanの混合無水物反応も陽性であった。酵素による消化法としては、pepsin, trypsin, collagenase 処理後、tetrazonium 反応を行ったが著変はみられなかった。

C 膜嚢胞性病変における膜の生化学的分析について

那須らが報告した membranous lipodystrophy 例の骨髓脂質分析⁹⁾²⁰⁾では、triglycerides と遊離脂肪酸が95~98%で、しかも triglycerides の脂肪酸組成に特殊なものはなく、 $C_{16:0}$ と $C_{18:1}$ が多いとされている。

著者らは家兎にサボニンを経口投与すると、骨髓に膜嚢胞性病変が多数出現することを確認している。この時期の材料を信州大学医学部順応医学研究施設生化学部門（主任：武富 保教授）において脂質分析を行った。骨髓脂質を chloroform/methanol で抽出して行った分析では triglycerides や遊離脂肪酸が主体をなし、特殊な脂質はなく、磷脂質の増加も認められなかった。ところが、chloroform/methanol 抽出残渣をパラフィン切片にして Sudan 染色を行うと、膜様構造物がなお残存していた。また膜嚢胞性病変は組織化学的に NaOH-OTAN 染色、さらには NaOH や KOH 処理後、Sudan black B 染色をすると、膜の染色性は著しく低下あるいは陰性化する (Figs. 22, 25) ことがわかったので、生化学分析の際にも、まず chloroform/methanol で triglycerides 類を抽出したのち、1N-KOH で処理して溶出する分画について分析を行ったところ、脂肪酸総量が対照例に比して著増を示した。しかしその脂肪酸組成では $C_{16:0}$ や $C_{18:1}$ がやや多い程度で、異常な脂肪酸は検出されなかった。また磷脂質の増加も認められなかった。

D 小 括

膜嚢胞性病変について、実験的に発現させたもの、および非特異的に発生したもの、さらに membranous lipodystrophy におけるものについて、主として組織

化学的に比較しながら検討した。上記3者を比較する場合、新鮮材料とそうでないものとの間には、固定条件の良、不良の差があり、対等な比較はなかなか困難であるが、しかし全体としてはかなり近似した染色結果が得られた。

一般染色では3者ともエオジンに淡染し、Azan-Mallory 染色では多染性であり、PTAH では概して厚い膜がよく染まる。セロイドやリポフスチンおよびその他の生体色素を証明する染色法では、どの膜様構造物も染まらないが、membranous lipodystrophy 例、非特異例ではいずれも青白色ないし黄白色の自家蛍光があり、実験例では黄白色の自家蛍光がみられた点だけが異なるのみである。

脂質染色では凍結切片においてもパラフィン切片においても、中性脂質のための染色は全例で陽性である。この膜は有機溶媒には溶けないが、アルカリで水解されることが判明した。この性質を利用して生化学分析を行った結果、多量の脂肪酸が証明された。従って Sudan 陽性は脂質の存在にもとづくものであり、また殆どの磷脂質染色でそれぞれの膜は陽性を示したが、生化学的に磷脂質の増加は証明できず、従って磷脂質の存在についてはただちに断定し得ない。

糖質については PAS, PAM, Bauer 法、Casella 法および Con A-HRP 等の染色は全例で陽性であるので、糖質が存在するのはほぼ確実で、特に glycoprotein あるいは glycolipid の側鎖としての oligosaccharide の存在が推測される。またコロイド鉄、アルシアン・ブルー pH 2.5 が弱陽性であることも糖質の存在を推測させる。

蛋白質については tetrazonium, DMAB, DDD 反応などが陽性であるので、蛋白質も存在するものと考えられる。

結局、実験例、非特異例、membranous lipodystrophy 例の膜様構造物には脂質、糖質、蛋白質のいずれも同じように証明された。

V 総括と考察

(1) 人体脂肪組織には membranous lipodystrophy とは無関係に、かなり高率に膜嚢胞性病変が生じ得る。そのような非特異的な膜嚢胞性病変の大きさは $20\sim 200\mu$ で、膜の厚さは1ないし数 μ である。一方 membranous lipodystrophy 例の病変の大きさは $20\sim 1500\mu$ で、膜の厚さは $1\sim 14\mu$ であり、やゝ後

者のほうが大きい傾向があるが、形態的には全く同様の所見を呈するので、この両者を区別することは極めて困難である。ただ非特異例は膜囊胞性病変が脂肪組織に局所的に発生することが多いのに対し、membranous lipodystrophy では脂肪組織に系統的に生じる傾向がある。前者は臨床的に骨症状、脳症状などを認めないが、そのかわり悪性腫瘍その他の基礎疾患が存在することが多く、年齢分布は全年令層にわたってみられる。また後者ではほとんどの症例で、病的骨折や骨の囊腫状変化などの骨症状または知能低下などの脳症状が認められ、20才から40才代に生じることが多い。また水島らの症例²⁰⁾は、脳に sudanophilic leucodystrophy があり、同時に諸所の脂肪組織に僅かな膜囊胞性病変がみられたが、骨症状が明瞭でなく、membranous lipodystrophy の不全型とも考えられるので、今後このような症例を集積し、脂肪組織の変化を検討する必要があるだろう。

文献的に非特異的膜囊胞性病変を検索してみると、1929年の Abrikossoff²²⁾による lipophage Granuloma として掲載された写真に本病変と思われるものが認められ、1954年堀江²³⁾は lipogranuloma を2大別し、囊腫形成がみられるものを atypical lipogranuloma と称し、その例として掲載された写真にも膜様構造物が認められる。また1956年の Arnold²⁴⁾による lupus erythematosus profundus に関する論文の写真にも本病変に該当するものをみいだすことができる。このように非特異的な病変もその存在を看過されていたわけではないことがわかる。

(2) サポニンを家兎に静注することにより、骨髓に充出血さらに壊死が生じる。同時に脂肪細胞は変性し、脂肪滴の変化と変性した細胞質または脂肪細胞周囲の基質とが相まって、次第に膜囊胞性病変ができてくる。これは電顕的にも membranous lipodystrophy におけるものとはほぼ同様な構造を呈する²⁵⁾ことが確認されている。膜様構造物が巨細胞に貪食されている像も多いが、巨細胞とは無関係な定型的な膜構造もみられる。

サポニンの作用機序としては、形質膜に作用して「孔をあける」²⁶⁾ことが知られている。このサポニン実験においては島峰¹¹⁾、遠藤¹²⁾、Hoshi and Weiss²⁷⁾によると、骨髓静脈洞内皮の傷害により、出血や骨髓微小循環の障害がおこり、骨髓の壊死を生じるとい

う。本病変の発生に関して島峰はサポニンを6回投与後

観察して、脂肪滴周囲をマクロファージがとり囲み、この両者の境界部に、物理化学的機転により膜が形成されると述べているが、著者らの1回投与実験では、脂肪細胞を主体とした変化と考えられる。しかし単純な骨髓壊死²⁸⁾や脂肪組織の壊死²⁹⁾ではこのような変化は見出だしがたいので、サポニンが直接に脂肪細胞あるいは脂肪に作用して膜形成に関与している可能性も否定できない。

骨髓に形成される脂肪肉芽腫性病変に関しては、鯉田³⁰⁾、草野ら³¹⁾および Hurley and Shelly³²⁾の実験によると、ある種の直鎖飽和脂肪酸あるいは脂肪酸塩を脂肪組織に注入すると、巨細胞形成を伴う肉芽組織が形成されるという。今回のサポニン実験では、肉芽組織のみられる骨髓に生化学的に遊離脂酸が認められており、膜様構造物にも脂質の存在が確認されたので、脂肪肉芽腫性病変はある種の脂質に対する異物反応であることが示唆される。しかし実験例中の完成した膜囊胞性病変や membranous lipodystrophy 例における病変では巨細胞の関与はみられなかった。そしてこのパラフィン切片でも保たれる膜様構造物から、生化学的に多量の脂肪酸が検出された。このことは本病変が何らかの変化を生じて、安定した脂質複合体になっている可能性を示唆している。

実験例では骨変化や脳病変は認められず、膜囊胞性病変は骨髓にのみ生じ、他の脂肪組織には認められない。また本病変の大きさはほぼ1個の脂肪細胞の大きさに等しく、この点も脂肪細胞が病変形成に関与している可能性を示唆する。また本実験で動物がそのまま放置されると、次第に病変が吸収される傾向があり、membranous lipodystrophy の剖検例のように全骨髓を占めるというようなことはない。

(3) 非特異例、実験例における膜囊胞性病変は membranous lipodystrophy におけるものと組織化学的には殆ど同一のものといつてよく、実験例における生化学的分析結果もあわせて、脂質、糖質、蛋白質を含む物質であることが明らかになった。磷脂質に関しては、現在のところその存在を断定しがたいので、今後さらに検討する必要がある。

membranous lipodystrophy の報告例は多数あるが、組織化学的に詳細な検索はなされていない。しかし杉本ら³³⁾は、この膜が糖質、脂質、蛋白質化合物から成ると推定しており、また Hakola, Järvi ら³⁴⁾は脂肪酸、磷脂質、glycosaminoglycan などが存在すると推測し、黄緑色の自家蛍光がみられたと述べてい

る。

膜様構造物の脂質の生化学的分析は那須ら³⁾、田代ら³⁴⁾、堀部ら³⁵⁾、下ら³⁶⁾の症例で行われており、tri-glycerides が多いという結果がでているが、chloroform/methanol ではこの膜の脂質は完全に抽出することはできないので、今後はさらに分析方法の検討を要する。

膜様構造を形成している物質は、非常に安定した複合物質であり、有機溶媒に不溶、自家蛍光を発するなどの点は、リボスチンやセロイド³⁷⁾に近い物質であることが推定され、また Wolman は過酸化脂質ではないかという考えを表明した（文献38）より引用）ということであるが、組織化学的には明らかにこれらの物質とは異なっている。今後生化学的に膜の組成が明らかにされることが望まれる。

VI 結 語

1. 無作為に抽出した剖検例400例の脂肪組織を系統的に検索し、5.5%に膜嚢胞性病変を認めた。本病変は脂肪組織の一変性として生じた変化と考えられ、これを非特異的あるいは局所発生型の膜嚢胞性病変とするならば、membranous lipodystrophy の定型例では本病変が脂肪組織に系統的びまん性に発現していることができる。

2. 家兎にサポニンを経注して膜嚢胞性病変を作成し、形態発生について観察した成績では、脂肪細胞における脂肪滴の変化と細胞質の変性や周辺基質の変化が、本病変の形成に関与していることが推測される。

3. 実験例、非特異例および membranous lipodystrophy の膜嚢胞性病変における膜様構造物について、組織化学的に比較しながら検討を行った。これら3者はいずれも自家蛍光を発し、各種の中性脂質・磷脂質染色や糖質および蛋白質染色に陽性で、脂肪溶媒に難溶であるが、アルカリで脂質成分は水解される。これら3者の膜は症例によって僅かな染色性の相違がみられたが、かなり類似した性状を有するものと考えられ、脂質、糖質、蛋白質など複雑な組成から成る物質と推定される。

また膜嚢胞性病変の多くは、内腔に脂肪溶媒に可溶な単純脂質を主成分とする物質を容れている。

本論文の一部は第9回（1977年7月）日本結合組織学会総会、第67回（1978年4月）日本病理学

会総会および第19回（1978年11月）日本組織細胞化学会総会において発表した。

おわりにあたり、懇切なる御指導を賜った恩師那須 毅教授に深謝いたします。また多大な御教示を頂いた当教室発地雅夫助教授、勝山 努講師ならびに非特異的症例の発掘に御協力頂いた教室の諸兄および生検症例7の材料を提供して下さいた帝京大学所 安夫教授に感謝いたします。なお標本作製には当教室羽山正義、伊藤静香、滝沢淳子の諸氏の御協力を得た。記して感謝いたします。

文 献

- 1) 寺山和雄：特異な病像を呈した骨の嚢腫様疾患の2例。日整会誌，35：626-626，1961
- 2) 那須 毅，塚原嘉治，寺山和雄，間宮典久：脳の leucodystrophy と全身長管骨の myelo-osteopathy を生じた membranous-cystic lipodystrophy（仮称）の1剖検例。東京病理集談会第59回集談会記録：10-13，1970
- 3) Nasu, T., Tsukahara, Y. and Terayama, K.: A lipid metabolic disease —“Membranous Lipodystrophy”— An autopsy case demonstrating numerous peculiar membrane structures composed of compound lipid in bone and bone marrow and various adipose tissues. Acta Path. Jap., 23：539-559，1973
- 4) Hakola, H. P. A.: Neuropsychiatric and genetic aspects of a new hereditary disease characterized by progressive dementia and lipomembranous polycystic osteodysplasia. Acta neuropsych. Scand. Suppl., 232：1-173，1972
- 5) Hakola, H. P. A., Järvi, O. H., Lauttamus, L. L., Solonen, K. A., Sourander, B. J. P. ja Vilppula, A. H.: Polykistinen osteodysplasia liittyyneenä demontoiwaan hermostovaurioon— uusi periytyvä sairaus. Duodecim, 90：106-124，1974
- 6) Laasonen, E. M.: Das Syndrom der polyzystischen Osteodysplasie mit progressiver Demenz. Fortschr. Röntgenstr., 122：313-316，1975
- 7) 那須 毅，藤原正之，菅沼龍夫，田中良三：皮下脂肪組織に膜嚢胞性病変（那須）を生じた皮膚筋

- 炎の1剖検例. 結合組織, 9: 25-31, 1977
- 8) 吉田実夫, 水谷喜美子, 斎田俊明, 日野治子, 兼島景次, 滝沢清宏, 溝口昌子: 皮下組織にみられた膜嚢胞性病変(membranocystic lesion)(那須)について. 日皮会誌, 87: 929-932, 1977
- 9) 藤原正之, 菅沼龍夫, 那須 毅: 副腎周囲脂肪組織などに非特異的な膜嚢胞性病変を認めた剖検例. 結合組織, 9: 151-152, 1978
- 10) 那須 毅: [特別講演] "Membranous lipodystrophy" (NASU) について. 第18回日本神経病理学会学術研究会演題抄録: 37-38, 1977
- 11) 島峰徹郎: 慢性骨髓不全の病理. 日病会誌, 65: 27-60, 1976
- 12) 遠藤久子: サポニンによる実験的骨髓線維症の研究. 日血会誌, 40: 160-171, 1977
- 13) 藤原正之, 菅沼龍夫, 那須 毅: サポニンによる実験的骨髓脂肪肉芽における膜嚢胞性病変の発生とその組織化学的研究. 結合組織, 9: 152-154, 1978
- 14) Williamson, J. R. and Lacy, P. E.: In "Handbook of Physiology, sect. 5. Adipose tissue", Renold, A. E. and Cahill, G. F. (eds.), pp. 201-210, Amer. Physiol. Soc., Washington, 1965
- 15) Pearce, A. G. E.: In "Histochemistry, Theoretical and Applied, 3rd. Ed.", pp. 294-380, 398-446, J. & A. Churchill, London, 1968
- 16) Adams, C. W. M. and Bayliss, O. B.: In "Techniques of Biochemical and Biophysical Morphology, Vol. 2.", Glick, D. and Rosenbaum, R. M. (eds.), pp. 99-156, Wiley-Interscience, New York, 1975
- 17) Lillie, R. D. and Fullmer, H. M.: In "Histopathologic Technique and Practical Histochemistry, 4th. Ed.", pp. 559-678, McGraw-Hill Book Co., New York, 1976
- 18) 山田和順: 新組織化学, 小川和朗, 武内忠男, 森富 編集, pp. 439-467, 朝倉書店, 東京, 1975
- 19) 前田隆英: 顕微鏡的組織化学 上巻. 4版, 岡本耕造, 上田政雄, 前田隆英, 水谷 昭, 杉山武敏共著, pp. 101-143, 医学書院, 東京, 1976
- 20) 那須 毅: 膜形成性脂質異常症(membranous lipodystrophy)の病理. 日病会誌, 67: 57-98, 1978
- 21) 水島節雄, 中沢惟晃: ズダン好性白質変性症の1剖検例. 精神経誌, 73: 840-853, 1971
- 22) Abrikossoff, A.: Über das Schicksal der spontan auftretenden Fettgranulome (Lipophagen Granulome). Verh. Dtsch. Ges. Pathol., 24: 51-64, 1929
- 23) Horie, K.: Histologic studies on lipogranuloma. Keio J. Med., 3: 215-225, 1954
- 24) Arnold, H. L.: Lupus erythematosus profundus. A. M. A. Arch. Dermatol., 73: 15-32, 1956
- 25) 菅沼龍夫, 藤原正之, 那須 毅: 脂肪髄に実験的に生成した膜嚢胞性病変の超微構造. 結合組織, 9: 155-156, 1978
- 26) 大槻磐男: 細胞のサポニン処理. 生体の科学, 27: 326-330, 1976
- 27) Hoshi, H. and Weiss, L.: Rabbit bone marrow after administration of saponin. An electron microscopic study. Lab. Invest., 38: 67-80, 1978
- 28) Rutishauser, E., Rohner, A. und Held, D.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der Ischämie auf den Knochen und das Mark. Virchows Arch. path. Anat., 333: 101-118, 1960
- 29) Gross, U. M. und Harnisch, J. P.: Histomorphologie der experimentellen Fettgewebsnekrose. Virchows Arch. Abt. B Zellpath., 14: 135-145, 1973
- 30) 鯉田 寿: 脂肪酸注射に依る組織反応に就て(1報) 直鎖飽和脂肪酸. 日病会誌, 40: 308-309, 1951
- 31) 草野信男, 渡辺次郎, 長谷純一: 脂肪酸注射による組織反応について(Ⅱ報) 高級脂肪酸による巨細胞形成. 日病会誌, 41: 119-120, 1952
- 32) Hurley, H. J. and Shelly, W. B.: The colloidal state as a stimulus for non-allergic epithelioidgranulomas: experimental studies in man with pure sodium stearate and palmitate. J. invest. Dermatol., 33: 203-220, 1959
- 32) 杉本顕俊, 吉岡順朗, 高岡邦夫, 浜田秀樹, 覚道健一: 膜性脂質異常症(Membranous lipodystrophy, Nasu)の一生検例. 住友医誌, 4:

- 152-165, 1977
- 34) 田代征夫, 小出 紀, 渡辺陽之輔, 丸谷 真, 里見和彦: 脂質代謝異常症としてのいわゆる "Membranous lipodystrophy" (Nasu). 臨整外, 11: 614-625, 1976
- 35) 堀部和好, 長束 裕, 網野勝久, 富松 隆, 古屋光太郎, 磯部 饒, 荒井孝和: Membranous lipodystrophy の一例. 関東整災誌, 7: 149-153, 1976
- 36) 卞 盛勝, 萩原健二, 曾我恭一, 山崎典郎: Membranous lipodystrophy の1症例. 関東整災誌, 7: 439-443, 1976
- 37) 高橋 潔, 岡 邦行, 箱崎半道: 胆嚢に発生したセロイド様色素蓄積組織球性肉芽腫の病理学的研究. 日網会誌, 15: 1-17, 1975
- 38) 脊山洋右: 神経系における単純脂質 コレステロールとその代謝異常. 蛋白質・核酸・酵素, 22: 771-775, 1977

(53. 11. 15 受稿)

Explanation of figures

Figs. 1-19, 21-22 and 24-38 are light microphotographs taken from paraffin sections, while Figs. 20 and 23 are from frozen sections.

- Fig. 1. Autopsy case 2. Membranocystic lesions (MCLs) in the bone marrow of the femur. The peculiar membranous structures reveal strong PAS reactivity. PAS stain. $\times 200$.
- Fig. 2. Autopsy case 5. MCLs are observed in the peripheral region of the necrotic adipose tissue in the bone marrow of the femur. H. E. stain, $\times 100$.
- Fig. 3. Autopsy case 13. MCLs in the periadrenal adipose tissue. Membranous structures stain pale-red with H. E. stain. $\times 200$.
- Fig. 4. Same case as Fig. 3. Membranous structures exhibit strong affinity for Sudan dyes. cf. Figs. 5, 6, 14, 21, 24. Sudan black B stain. $\times 200$.
- Fig. 5. Biopsy case 1. MCLs in the granulation tissue. Membranous structures are also seen in the giant cells. Sudan IV-hematoxylin stain. $\times 200$.
- Fig. 6. Biopsy case 6. MCLs in the calcified subcutaneous tissue. Sudan black B stain. $\times 100$.
- Fig. 7. Biopsy case 7. MCL in the subcutaneous lipogranuloma of the femoral region. The membranous structure stains red with Azan-Mallory. $\times 100$.
- Fig. 8. Control autopsy case 2. Lipid-depleted fat cells in the adipose tissue, which are resulted from prolonged starvation. Typical MCLs are not found among these cells. Sudan black B stain. $\times 200$.
- Fig. 9. to Fig. 16 illustrate MCLs which were experimentally induced in the bone marrows of rabbits injected with saponin intravenously.
- Fig. 9. Glittering substances appear at the lipid-cytoplasmic interface in the degenerated adipose cells. One day after the saponin administration. Azan-Mallory stain. $\times 400$.
- Fig. 10. Same as in Fig. 9. Glittering substances stain black with Sudan black B. $\times 400$.
- Fig. 11. Microvesicular changes appear in the periphery of the degenerated adipose cells. Five days after the saponin administration. Azan-Mallory stain. $\times 400$.
- Fig. 12. Same as in Fig. 11. Sudan black B stain discloses a bubble-like appearance clearly because of sudanophilia of glittering substances lining each microvesicular structure. Sudan black B stain. $\times 400$.
- Fig. 13. The microvesicular changes disappear and the undulating membranous structures are formed. Ten days after the saponin administration. Sudan black B stain. $\times 400$.

- Fig. 14. Typical membranocystic lesions are observed fourteen days after the saponin administration. Sudan black B stain. $\times 200$.
- Fig. 15. The bone marrow of a rabbit received saponin twice a week for a period of three weeks (six times administration) and sacrificed seven days after the last injection. Numerous membranocystic lesions are apparent. H. E. stain. $\times 200$.
Azan-Mallory stain imparts red staining to the membranous structures (inset). $\times 200$.
- Fig. 16. Same as in Fig. 15. Lipogranulomatous lesions with many macrophages and giant cells are also found. H. E. stain. $\times 100$. The inset shows luxol fast blue (LFB) stain of the membranous structures in the giant cells. $\times 100$.
- Fig. 17. The bone marrow of the femur of the membranous lipodystrophy (Nasu's case). Numerous arabesque-like membranous structures stain pale-red with H. E. $\times 100$.
- Fig. 18. Same as in Fig. 17. The membranous structures stain clearly with LFB-nuclear fast red stain. $\times 200$.
- Fig. 19. Same as in Fig. 17. The membranous structures exhibit bluish autofluorescence. $\times 100$
- Fig. 20. Experimental MCL. The membranous structures and contents of the cysts stain strongly with Sudan black B in the frozen section. $\times 200$.
- Fig. 21. Same as in Fig. 20. Even in the paraffin section the membranous structures disclose strong sudanophilia. Sudan black B stain. $\times 200$.
- Fig. 22. Same as in Fig. 20. Pretreatment of the paraffin section with 1% aqueous KOH at 37°C for 60 minutes, removes sudanophilia of the membranous structures. Sudan black B, stain. $\times 200$.
- Fig. 23. Sudan black B stain of the frozen section of Nasu's case is largely comparable with that of experimental MCL. cf. Fig. 20. Sudan black B stain. $\times 200$.
- Fig. 24. Same as in Fig. 23. In the paraffin section, only the membranous structures stain with Sudan black B. cf. Fig. 21. $\times 100$
- Fig. 25. Same as in Fig. 23. Saponification with KOH eliminates Sudan black B reactivity of the membranous structures. cf. Fig. 22. $\times 100$
- Fig. 26. Experimental MCL. The membranous structures are coloured reddish-brown. OTAN stain. $\times 200$.
- Fig. 27. Incidental MCL of the periadrenal adipose tissue (Autopsy case 13). OTAN stain. $\times 100$
- Fig. 28. MCL of the membranous lipodystrophy. OTAN stain. $\times 100$.
- Fig. 29. Experimental MCL. The membranous structures stain dark blue. Baker's acid hematein stain. $\times 200$.
- Fig. 30. Incidental MCL of the periadrenal adipose tissue. Baker's acid hematein procedure discloses heterogeneity among the membranous structures (Top). Pretreatment with pyridine greatly reduces acid hematein reactivity (Bottom). $\times 100$.
- Fig. 31. MCL of the membranous lipodystrophy. Baker's acid hematein stain. $\times 200$
- Fig. 32. Experimental MCL. The membranous structures stain positively. Phosphomolybdic acid stain. $\times 200$
- Fig. 33. MCL of the membranous lipodystrophy. Phosphomolybdic acid stain. $\times 200$
- Fig. 34. Experimental MCL. The membranous structures show PAS reactivity. $\times 200$
- Fig. 35. MCL of the membranous lipodystrophy. PAS reaction. $\times 200$.
- Fig. 36. Experimental MCL. The membranous structures show positive reaction. Tetrazonium reaction. $\times 200$.
- Fig. 37. Incidental MCL. Tetrazonium reaction $\times 200$.
- Fig. 38. MCL of the membranous lipodystrophy. Tetrazonium reaction. $\times 200$.







