

## 原 著

## 実験的高窒素血症における家兎肝臓の変化

—とくに類洞を中心とした光顕および電顕的所見—

山 田 初 嘉

信州大学医学部第一病理学教室

PATHOLOGICAL STUDY ON THE RABBIT LIVER  
IN THE EXPERIMENTAL AZOTEMIA  
Hatsuyoshi YAMADADepartment of Pathology, Faculty of Medicine,  
Shinshu University

(Director: Prof. H. Kawai)

key words: 高窒素血症, 肝臓, 電顕所見

## I 緒 言

腎機能障害に伴う肝臓の形態学的変化に関しては、1955年 Faludi<sup>(1)</sup> による急性および慢性腎炎 400 例（人体例）の病理組織学的検索から fettige Degeneration, centro-lobuläre Nekrose, periportale Infiltration, Ödem を挙げた研究があり、1954年 Paget<sup>(2)</sup> は、人体の肝臓を組織学的に検索して、急性または、亜急性尿毒症例に、核分裂像を認めている。近年、吉利等<sup>(3)(4)</sup> は、腎疾患を伴った人体例を検索し、肝細胞の脂肪化、被膜およびグリソン鞘の水腫性変化、Disse 腔の開大を認めている。

著者は、尿毒症性病変の発生が、基本的には全身血管壁の透過性亢進、あるいは、類線維素変性に伴うことを強調した Muierhead<sup>(5)</sup> の実験に示唆を得て、人体例 100 例につき、血中尿素窒素値を基準として、肝臓の、特に類洞壁の所見に着目し、壁の崩壊像について、第 58 回、日本病理学会に報告<sup>(6)</sup> をおこなった。今回は、家兎を用いて、実験的に急性の腎不全状態を惹起し、血中尿素窒素値を測定し、光学顕微鏡的検索および電子顕微鏡的検索をおこなって、肝臓の組織、とくに類洞を中心とした変化に重点をおき、若干の知見を得たので報告する。

## II 実験方法

家兎は、体重 2~3 kg のものを用い、飼料は、日本クレア会社販売の固型飼料 CR-I を与えた。処置は、2 回に分けて、両側の腎臓摘出をおこなった。麻酔は、エーテルの吸入により実施した。手術法は、家兎を腹位に固定し、脊中より脊筋に沿って腎周囲の脂肪組織に達し、腎臓を周囲組織から

剥離し、腎門部を結紮して摘出を終了する。両側腎臓の摘出例では、一侧腎臓摘出後 1 週間を経て再び他側の腎臓摘出を施行した。両側腎臓摘出後の家兎は、飼料を殆んど取ろうとせず、4~5 日を経て死亡するが、死亡前、すなわち 3~5 日目に、耳静脈への空气の栓塞によって屠殺した。一侧腎摘出例は、術後約 2 週間で屠殺した。対照として、

表 1 実験家兎の検査成績

処 置	体重 (瓦)		最終処置 後死亡ま での期間 (日)	血液尿素 窒素値 (mg/dl)	GPT (単位)	GOT (単位)
	処置前	屠殺または 死亡時				
1 腎摘(側)	3500	3550	5	130		
2 "	3600	3700	4			
3 "	3000	2900	5	200		
4 "	2500	2650	5	162	120	45
5 "	2700	2800	4			
6 "	3400	3500	5	195	140	58
7 "	3450	3500	4	165	145	60
8 "	3200	3400	3			
9 "	3500	3300	4			
10 "	3600	2400	6	135	130	53
11 腎摘(四)	2400	3000	13	23	82	43
12 "	2900	3400	13	15	60	20
13 "	3450	3800	20	18	80	38
14 飢 餓	3400	2800	7	27	113	86
15 "	3200	2700	10	42	42	54
16 無処置		3500		13	20	15
17 "		3550		12	25	10
18 "		2950		16	30	19
19 "		3000		15	21	10

無処置の動物、および1週間から10日間、飢餓状態においた動物について観察した。表1のごとく、両側腎臓摘出例、10、一側腎臓摘出例、3、飢餓例、2、無処置例、4について検索をおこなった。血液の採取をおこない、血清中の尿素窒素値、および、肝細胞障害の指標として、GOT, GPT の測定をした。

検索の目的である肝臓に関しては、10%ホルマリンにて固定し、光顕用標本の作成をおこない、H. E. 染色、Pap 鍍銀染色、脂肪染色 (SudanIII, Sudan black 染色) を実施。電顕用標本の作成には、1.25% glutaraldehyde (0.1M, phosphate buffer でPH 7.2) による前固定、1%OsO<sub>4</sub> (同じbuffer) にて後固定をおこない、Epon 812に包埋、クエン酸鉛、醋酸ウラニール染色をおこなって検索した。電子顕微鏡は、日立 (HU-11A 型) を用いた。

### III 検査成績

1. 体重：手術例においては、一側腎臓摘出後体重の減少はおこらず、他側腎臓摘出までの約1週間に増量を認めた。しかし、両側腎臓摘出後は、殆んど飢餓状態となるため、4～5日間に、300～400gの減量を來たしていた。

2. 血中尿素窒素値：無処置の家兎では、血中尿素窒素値は10台をしめし、一側腎臓摘出後は、軽度の上昇値 (15～23mg/dℓ) に止まり、両側腎臓摘出後においては、急激な上昇値 (135～200mg/dℓ) に達した。飢餓例では、一側腎臓摘出例より、むしろ高値 (27～42mg/dℓ) をしめした。

3. 肝機能：GOT, GPT を測定したところ、両側腎臓摘出例では、GOT, GPT ともに、無処置例の5～6倍の数値をしめし、次いで、飢餓例、一側腎臓摘出例の順に上昇値をしめした。

### IV 光顕的組織所見

#### H. E. 染色

1) 一側腎臓摘出例では、無処置例と所見に余り差異はなく、肝細胞の原形質が、明るく、核のクロマチン濃度は均一性で、核の大小不同はない。また空胞変性は、原形質が淡明なため確認出来ない。類洞の輪廓は、ほぼ整然としているが、部分的に肝細胞との境界が不明瞭となり、粗造となっているところがある。

2) 両側腎臓摘出例では、原形質は、一側腎臓摘出例に比して、よく染まっているが、中心帯の肝細胞索は、類洞の拡張が高度のため、萎縮状となり、核の大同不同、およびクロマチンの濃度は、不均一

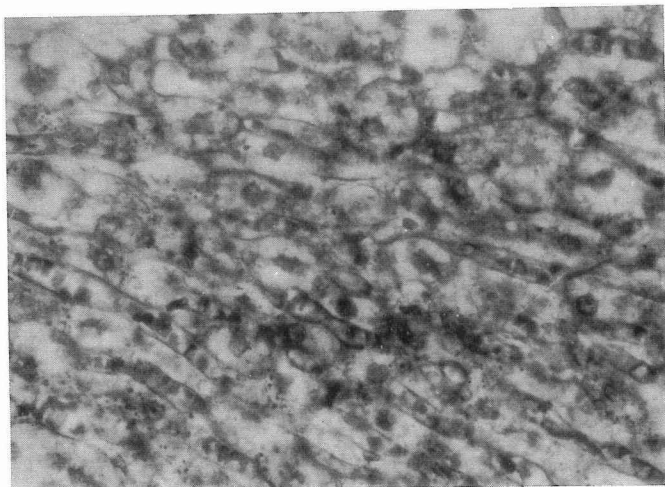


図 1 無処置例： 正常の類洞壁  
Pap 鍍銀染色 400×

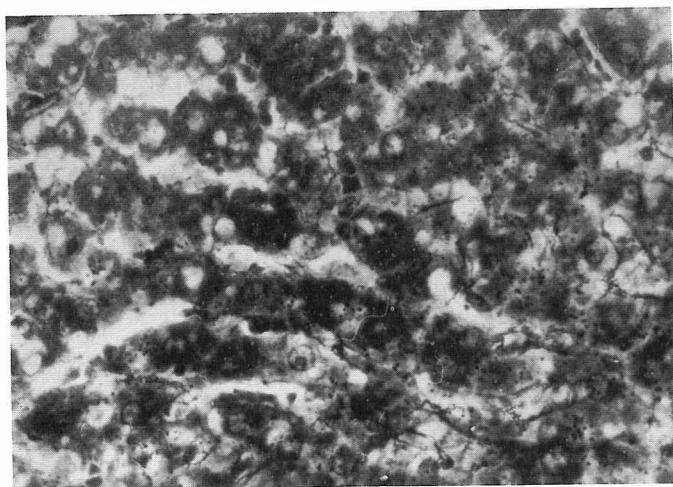


図 2 両側腎摘出例： 類洞壁の崩壊像  
Pap 鍍銀染色 400×

化している。原形質内の小空胞は、特に小葉周辺帯に著明であった。類洞の拡張に伴って、肝細胞の類洞面は、著るしく粗造となり“笹くれ立ち”の観を呈し、類洞内には、好酸性の微少顆粒、あるいは線維素様の網状構造を呈するものが認められる。

3) 飢餓例では、うっ血は、軽度から中等度で、中心静脈の拡張がみられるが、類洞の拡張は、軽度である。肝細胞の核は、クロマチン濃度が均一で、大小不同もみられない。類洞に面した肝細胞面には、境界の不規則な部分が、幾らか認められる程度である。肝細胞内の脂肪と思われる空胞は、中間帯から、周辺帯にかけて多い。

#### Pap 鍍銀染色

無処置例(図1)に比し、両側腎臓摘出例においては、図2のごとく、類洞壁の輪廓が完全に追跡出来ないところが多く、染出された類洞壁の一部は、無処置例に比して蛇行し、太く、あるいは細く、乱れた様相を呈している。輪廓の切れ目が急に太くなって途切れる像、そしてその断端は類洞壁にむかって彎曲をしめしている。また、全体として、類洞壁網の粗鬆化が認められ、辛うじて追跡し得る程度の緻細な線維だけが存在している部分も認められる。

#### 脂肪染色

##### 1) Sudan III

無処置例においても、軽度から中等度の小さな脂肪滴の沈着する細胞が、小葉の限られた地帯でなく、散在性に認められる例がある。一側腎臓摘出例では、脂肪滴は少なく、辛うじて、小葉周辺に僅かに認められるのみであるが、別に、多数の類洞壁細胞内にSudane陽性物質を認めた例がある。

両側腎臓摘出例では、脂肪の分布が、小葉中心帯にはなく、周辺帯にみられ、一側腎臓摘出例よりは多く、脂肪滴の大きさは肝細胞核の $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{2}$ のものから、核と同大までで、脂肪の多い例では、中間帯にまで分布し、脂肪を含む類洞壁細胞もその中に散在して認められた。

##### 2) Sudan black

Suden IIIとはほぼ同様の分布所見で、青黒色の大小種々の脂肪滴が認められた。

#### 肝臓以外の臓器組織所見

両側腎臓摘出例の脳、肺、腸管に変化が認められた。脳蜘蛛膜下腔の血管拡張および、新鮮な出血があり、脳実質内および、脳室内にも出血巣が認められた。肺では、比較的広い範囲に、血管の拡張および、浮腫による肺胞隔壁の肥厚が認められ、無気肺

様の組織像を呈していた。腸管では、粘膜上皮下の小血管の拡張とその周囲の浮腫および、軽度の細胞浸潤があり、粘膜上皮の剥離も部分的に認められた。

以上の光顕所見を小括すると、類洞壁の太さの不均一性および、輪廓の断裂が、鍍銀染色によって腎臓摘出例、飢餓例に認められ H. E. 染色では、類洞の拡張に伴って肝細胞の類洞面が粗造となり、好酸性の顆粒状あるいは、網状の内容が類洞内に認められた。肝細胞壊死は認められず、脂肪化については、無処置例、処置例ともに認められ、処置例においては、小葉中心部より、むしろグリソン鞘周辺帯に分布して認められた。

#### V 電子顕微鏡的所見

##### A) 類洞

1) 無処置例 類洞壁は一様に細く、部分的な間隙を除いては、連続的な肝細胞との隔壁として認められ、Disse 腔における microvilli の数は少なく、一定の太さで細い突起を出している。(図3)

2) 一側腎臓摘出例 類洞壁は、無処置例に比して、断裂する箇所が多くなり、類洞内には、ほぼ円形の原形質塊が、肝細胞の辺縁に沿って突出し、並列しており(図4)、この原形質塊は、図5に示すように、肝細胞より分芽状に Disse 腔にむかって突出し、類洞壁を突き破って類洞腔内に台頭している。したがって、突出した原形質内には、グリコーゲン顆粒を含んでおり、原形質塊の電子密度は、肝細胞のそれと差異がない。この部分には、隔壁である類洞壁が認められず、不規則な形に分離したと思われる類洞壁の残屑が認められるに過ぎない。microvilli は、部分的に長くなって、しかも密生する所もみられるが、とくに原形質塊の突出する近辺においては、かえって粗鬆で、肝細胞の辺縁が平坦に見えるようである。

3) 両側腎臓摘出例 図6のように、一側腎臓摘出例にみられたような、類洞内への原形質突出が、更に顕著となり、壁内皮細胞を除き類洞腔内を多数の原形質塊が占領している。類洞壁は、このため、内腔から圧迫され、その輪廓は追跡出来ない。強拡大像では(図7)、類洞壁は、比較的良く保たれているが、太さの変化が著明となり、くびれて線状となる部分、反対に、瓢箪型に腫脹し、壁内の電子密度が著しく減少する部分がみられ、図8では、類洞壁の破綻像をしめしている。この例の原形質塊には、一側腎臓摘出例のようなグリコーゲン顆粒はなく、肝細胞の原形質と同様の、円形に近い小さな

空胞が内在しており、この空胞は、明らかな一重の膜に囲まれている。これと同様なものが microvilli 内にも認められる。

microvilli は、全体に増生傾向をしめし、長く太く、さらに、たがいに癒合し合っている。したがって microvilli が太くなって類洞壁を押し上げる像と、長く延びた microvilli が類洞壁の外に突き出て、その先が大きくふくらんで塊状となったような、所謂、有茎ポリープ型の像をしめしている。類洞壁細胞に関しては、類洞壁の変化と同様、類洞内の原形質塊による圧迫を受け、原形質の電子密度の減少がみられる。

4) 飢餓例 一側腎臓摘出例と両側腎臓摘出例の中間的な変化をしめし、microvilli は不規則な形で増生し、隣接する microvilli の癒合、腫脹を伴った肝細胞からのポリープ状突出がみられるが、両側腎臓摘出例の原形質突起に比して、やや電子密度がうすいと思われる。(図9)

#### B) 肝細胞

1) 一側腎臓摘出例 核の形は円形で、無処置例に比して変化は少ないが、核周辺部のクロマチン減少が目立っている。糸粒体は、無処置例に比し、形、大きさおよび、基質の電子密度について変わりがなく、crystae に軽度の減少を来たしている程度である。小胞体は一定の幅を持って層状をしめし、形の上では無処置例との差異を認めないが、粗面小胞体の顆粒減少が無処置例に比して目立つようである。その他、原形質内にみられるグリコーゲン顆粒の量も無処置例に近い状態をしめしている。(図10)

2) 両側腎臓摘出例 核の輪廓は、鋸歯状の凹凸をしめし、核周辺のクロマチン減少は、一側腎臓摘出例と同様である。糸粒体は、図6のごとく形の不整が現われ、特に基質の電子密度において、明らかな低下をしめすことが印象的である。crystae は未だ良く保たれているものもあるが、融解して明瞭でないものも認められる。膨化の程度は、細胞によっても差がみられるが、一般に軽度である。小胞体には、糸粒体を圍繞するごとく、拡張した。しかも顆粒の減少せる粗面小胞体が見られる。(図6) さらに、類洞に近く滑面小胞体の増加がみられ、小さい円形空胞の無数の集団領域を形成している。(図6、図11) この小空胞は、類洞の所見にしろしたように、類洞内に突出する原形質突起塊の中にも認められる。この例では、原形質内のグリコーゲン顆粒が殆んど消失している。また原形質内に一層の限界膜内に封入された壊死物質の塊と思われ

るものがあり、内容は、顆粒状のもの(図12)、空胞あるいは、球状の dense body (図13)で、変質した細胞内小器官を含んだ focal cytoplasmic degeneration の像と思われる。なお、低電子密度の物質を容れた空胞状のものが、肝細胞内にみられたが、これは、無処置例の中にも認められ、人工的産物を疑って、glutaraldehyde の濃度を変えて検討してみたが、差異は認められなかった。

3) 飢餓例 核の形および、クロマチン濃度に変化は認めなかった。糸粒体の形は円形、楕円形から、少しゆがめられたものがあり、腫大したものはみられなかった。糸粒体の基質は、やや淡く、crystae の減少が目立っている。小胞体については、両側腎臓摘出例における様な滑面小胞体の密生した集団の増加はないが、肝細胞の辺縁部に円形の空胞が増加し、類洞内に突出した原形質塊の中にも同じ空胞が存在していた。

#### VI 考 察

腎疾患に伴う肝臓の病変については、成書においても定説として記載されているものはなく、この課題に関する報告は少なくない。とくに、病理組織学的基盤に立って検索されたものは少ない。

最初、Faludi が、肝臓の脂肪沈着を記載し、最近、吉利、遠田 もさらに詳細な脂肪性変化に関する研究を発表している。しかし、人体例、実験例を問わず、電子顕微鏡的所見に関する報告には接していない。Faludi は、大脂肪滴の出現を認め、脂肪肝と表現し、吉利は、細小滴性脂肪化を主張し、遠田<sup>7)</sup>は、脂肪化の分布を小葉中心帯に認めている。

本実験例では、両側腎臓摘出例で認められた脂肪は、大小種々の脂肪滴でしかも、分布は小葉周辺帯に集まり、やや高度のものでは、中間帯に及んでいた。類洞に関して遠田は、漿液性肝炎、すなわち Disse 腔の水腫様変化を挙げているが、本実験例の光顕的所見には、類洞の拡張、すなわち、うっ血像が認められ、特に中心帯の肝細胞索は萎縮をしめし、類洞内は好酸性の顆粒状物質、フィブリン網様物質がみられた。さらに、電顕的所見においては、類洞の変化に顕著なものがあり、一側腎臓摘出例および、飢餓例において肝細胞の原形質突起が、ポリープ状に突出し、Disse 腔を押し広げており、両側腎臓摘出例では、ポリープ状の原形質塊が、さらに増大し、類洞壁を突破して、類洞腔内を充満する所見が認められ Disse 腔、類洞壁の変化を実証し得た。この所見の発生原因、機序については、未だ確証を得る

段階には至っていない。高木<sup>(8)</sup>は、文章のみにて、Clostridium Welchii- $\alpha$  toxin 投与例の類洞内皮消失部で、microvilli の腫大、崩壊の他、細胞膜の一部融解、細胞質の一部流出と認めたと記載しているが、microvilli の腫大の内容については不明である。肝細胞の電顕所見において、滑面小胞体の増生による小空胞の集団が細胞周辺にみられ、同じ空胞が類洞内に突出した原形質塊の中にも認められたが、小野江<sup>(9)</sup>が、解毒の超微構造解析として、3'Me-DAB 飼養のラッテで、肝細胞の小胞体に関する同じ所見を記載している。したがって、かかる肝細胞からの原形質突起の発生は、或る種の毒物物質に対する肝細胞の反応性変化を表現すると考えたい。他方、肝細胞の退行性変化をしめす所見としては、糸粒体基質の低電子密度化および、crystallization, focal cytoplasmic degeneration<sup>(10)</sup>、脂肪化等が挙げられ、肝細胞の障害による GOT, GPT の上昇を裏付けているが、胆毛細管には異常がなく microvilli に変化を認めなかった。検査成績によれば、血中尿素窒素値は、両側腎臓摘出例、飢餓例、一側腎臓摘出例の順に上昇をしめしており、飢餓例は、飼料と同時に水も与えなかった動物である。高木<sup>(8)</sup>が、ラッテで、飢餓5日間までの肝臓を電顕的に検索している中に、microvilli の萎縮を挙げているが、その所見の相違は、水の条件ではないかと推測される。したがって、著者の実験においては、飢餓+脱水によって招来される血中尿素窒素の増量が顕著となったものと思われる。さらに著者<sup>(11)</sup>がおこなった、人体例による高窒素血症例の検策で、類洞壁の崩壊像を強調したが、実験家兎の肝組織銀染色においても、同様の所見がみられ、さらに、今回の電顕的所見により、類洞壁に対する肝細胞側からの積極的な破壊作用を実証する所見を得ている。肝細胞のこのような変化が、何物によって直接にもたらされたものであるかは、さらに、今後の検討にまちたいが、本実験の所見は、血中尿素窒素値によって表現される血中毒性変化を物語っていると思われる。

## Ⅶ 結 論

家兎を用いて、腎臓の摘出をおこない、腎機能の完全停止状態における肝臓の変化について、光顕的および、電顕的検索をおこなった。

1. 肝細胞の Disse 腔に面する microvilli を介して、塊状の原形質突起が類洞壁にむかって突出し、壁を破って類洞腔に達する電顕像がみられ、

その程度は、両側腎臓摘出例、飢餓例、一側腎臓摘出例の順に強く、類洞壁の障害は、光顕的に、鍍銀染色によっても認められた。

2. 血中尿素窒素値は、類洞壁の変化の程度と平行的であった。
3. 本実験にみられた肝臓の所見は、中毒性肝病変の表現像と考えたい。

本研究の要旨は、第60回、日本病理学会において発表した。

## 文 献

- 1) Faludi, G. and Siegler, P.: Leberveränderungen bei Nierenkranken, Zschr. Inn. Med., 10: 874-878, 1955
- 2) Paget, G. E.: Mitotic activity in the human liver, J. Path. Bact., 67: 401-406, 1954
- 3) 吉利 和, 金井弘一, 永田直一, 織田敏次: 肝と腎, 総合医学, 20: 705-709, 1963
- 4) 吉利 和, 織田敏次, 金井弘一, 永田直一: 腎疾患時の肝について, 肝臓, 5: 77-79, 1963
- 5) Muirhead, E. E. Stirman J. A., Johns F., Lesch, W., Burns, M. and Fogelman, M. J.: Cardiovascular lesions following bilateral nephrectomy of dog (role of hypertension and other factors on pathogenesis), Arch. Int. Med., 91: 250-277, 1953
- 6) 山田初嘉: 尿毒症における肝病変, 日病会誌, 58: 196-197, 1969
- 7) 遠田裕政: 腎疾患時の肝変化および肝障害について, 肝臓, 9: 2-23, 1968
- 8) 高木文一: 細胞傷害の超微形態学, 日病会誌, 53: 17-52, 1964
- 9) 小野江為則: 肝臓の超微構造病理学, 日病会誌, 57: 3-36, 1968
- 10) Hurban, Z., Spargo, B., Swift, H., Wissler, W. R. and Kleinfeld, R. G.: Focal cytoplasmic degeneration, Amer. J. Path., 42: 657-664, 1963
- 11) 高木文一, 鈴木昭男: 肝臓の電子顕微鏡像, 肝臓, 2: 1-13, 1960
- 12) 山田初嘉: 高窒素血症における肝臓病変, 信州医誌, 18: 67-80, 1969

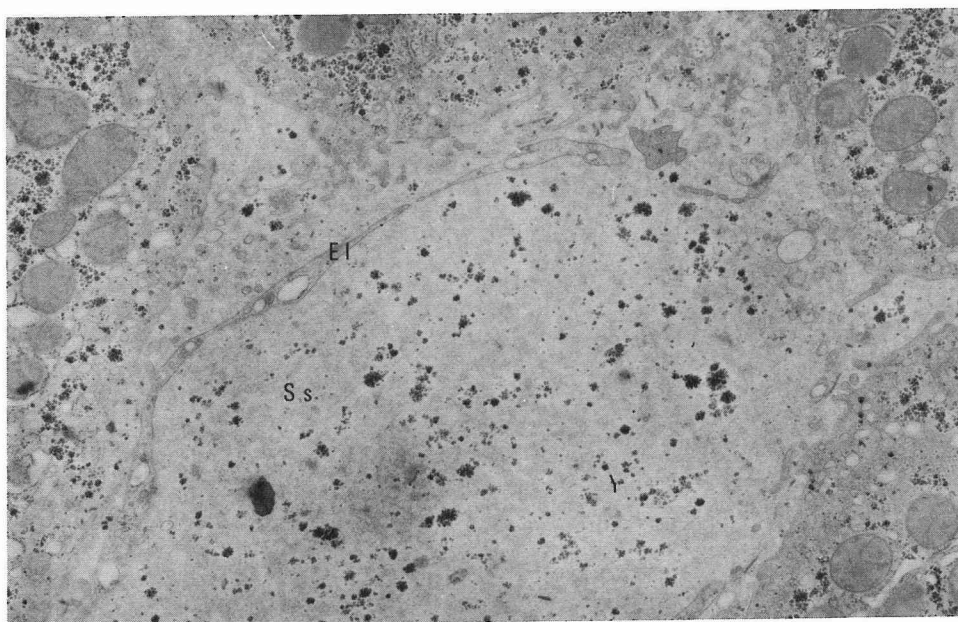


図 3 無処置例：類洞 (Ss)  
類洞壁 (E1) 14,000×

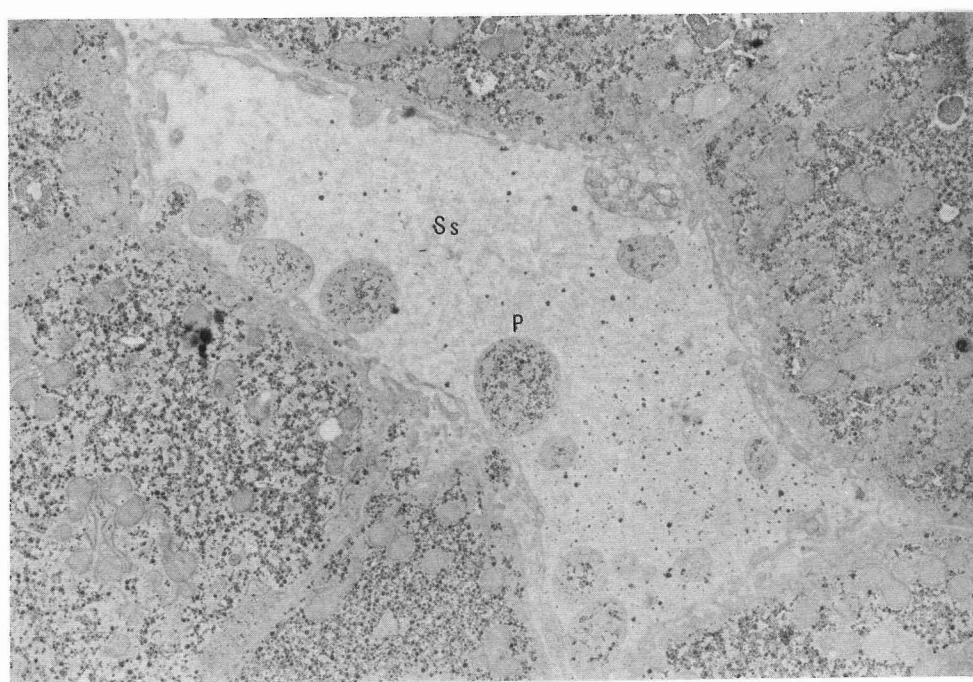


図 4 一側腎摘出例：肝細胞類洞縁に並ぶ原形質  
突起 (P) 4,800×



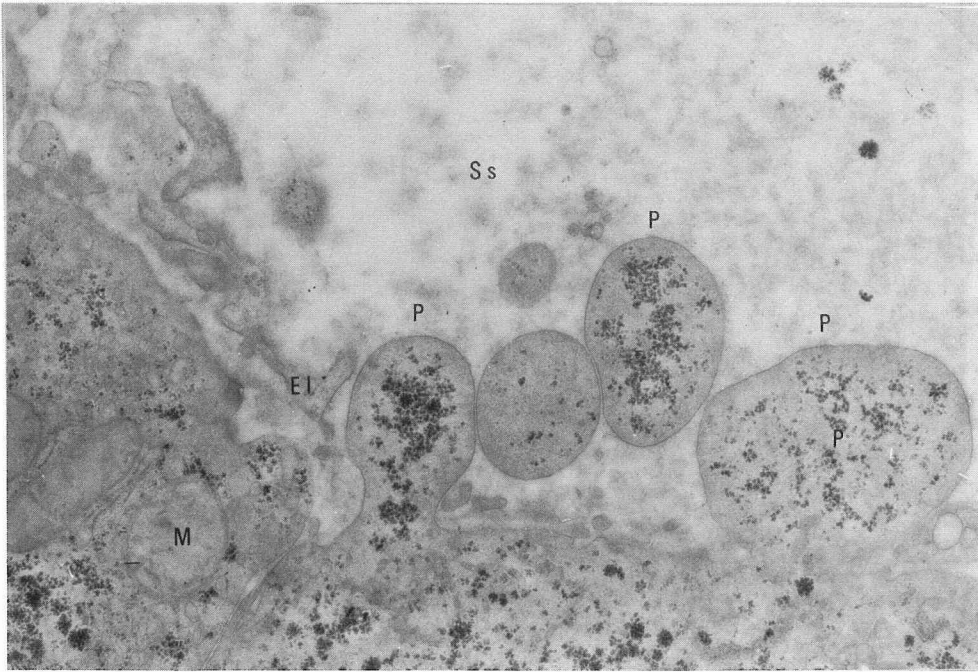


図 5 図4の強拡大像 19,200×

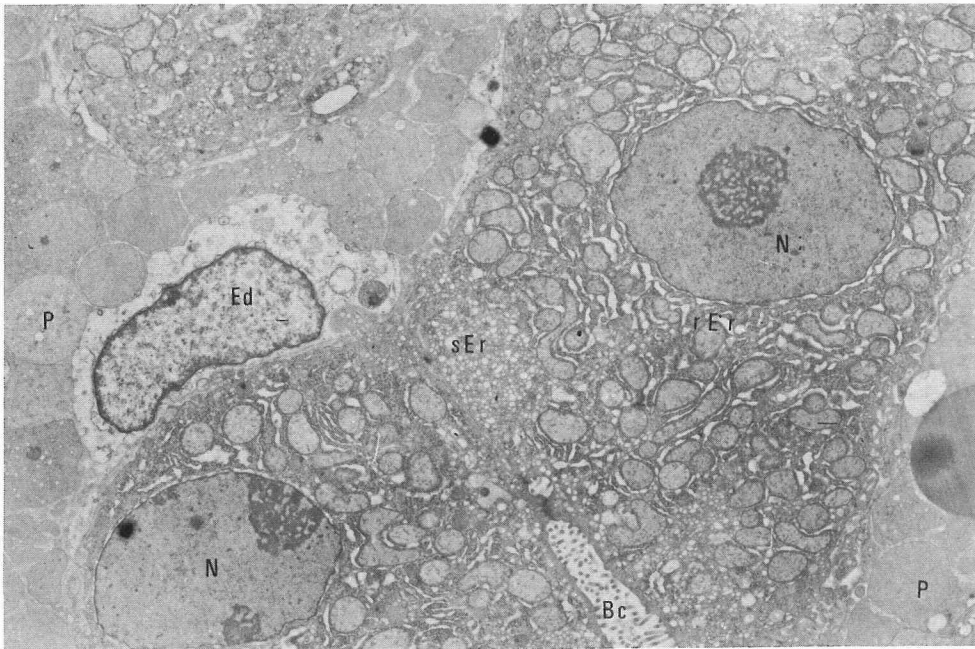


図 6 両側腎摘出例：肝細胞原形質突起で充満した類洞、粗面小胞体（rEr）の拡張、滑面小胞体（sEr）の増加 4800×

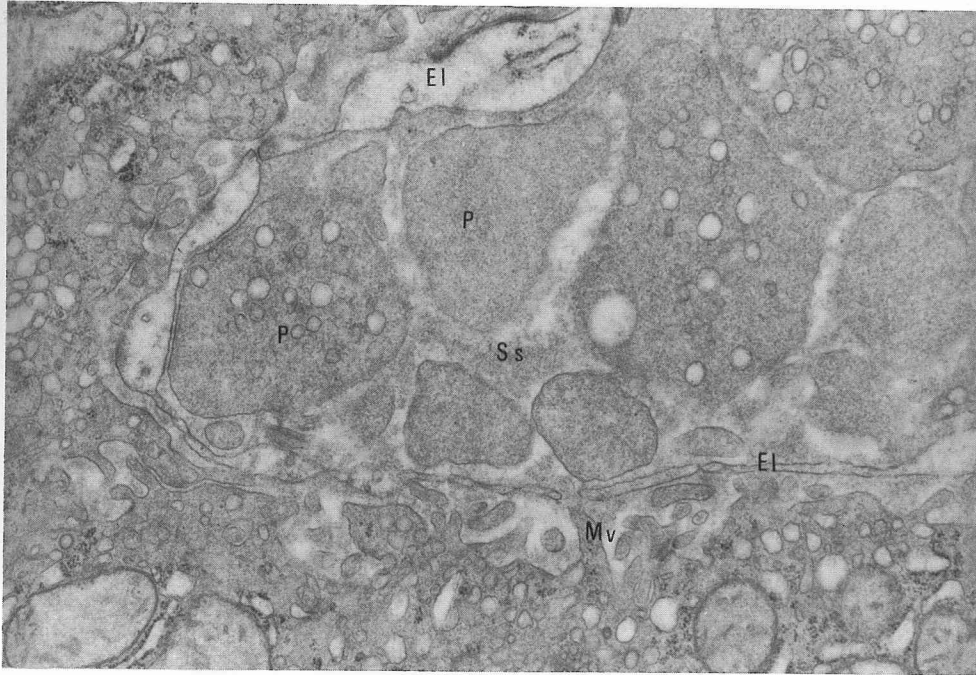


図 7 両側腎摘出例： 原形質突起で充満した類洞と類洞壁 (El) の変化 24,000×

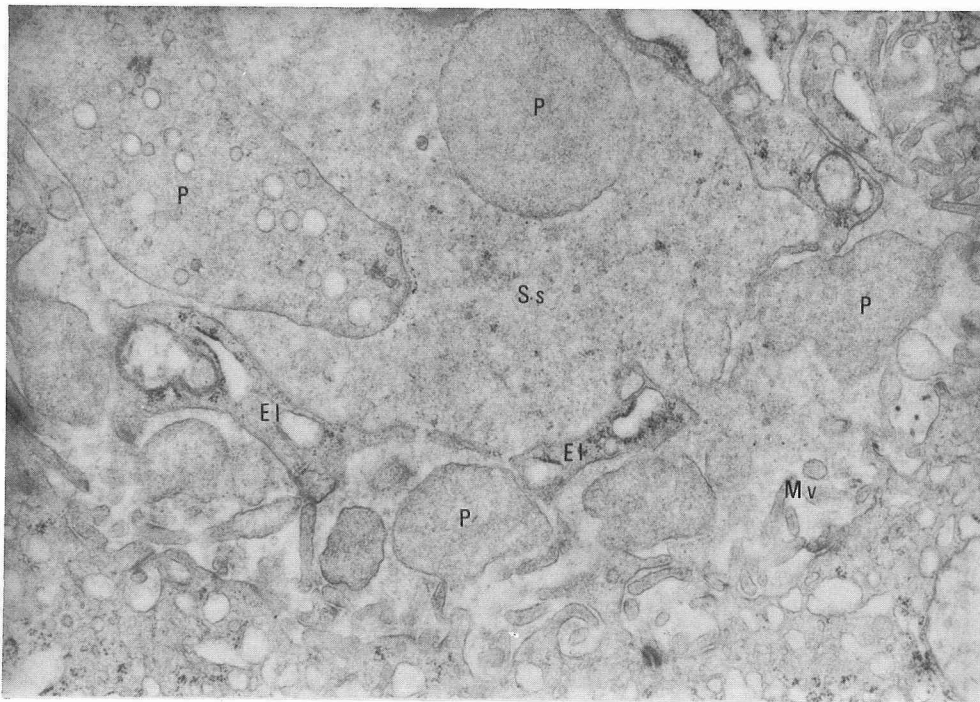


図 8 両側腎摘出例： 原形質突起により変化を受けた類洞壁 (El) 24,000×



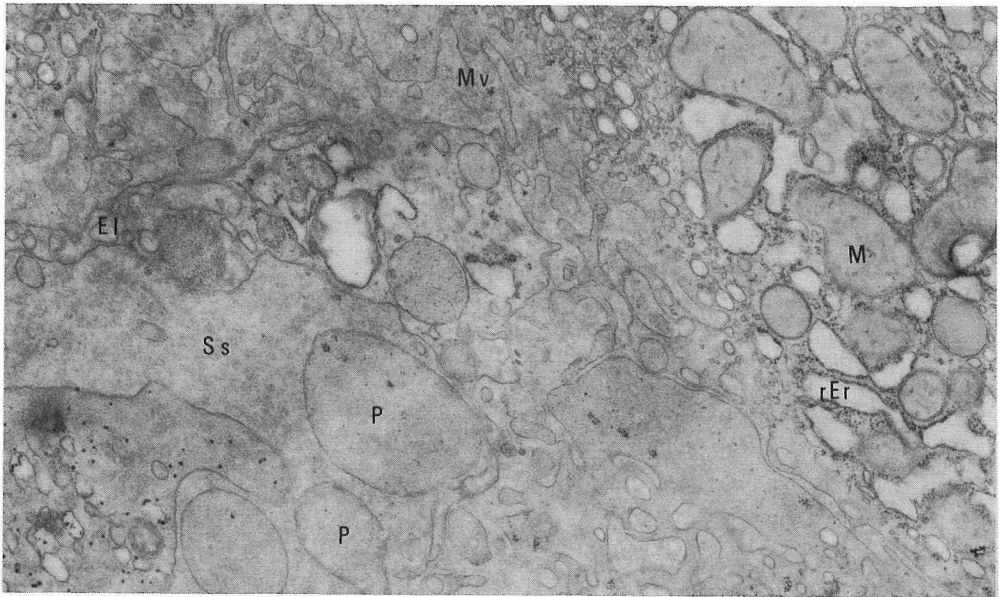


図 9 飢餓例：腎摘出例と同様の類洞および肝細胞の変化

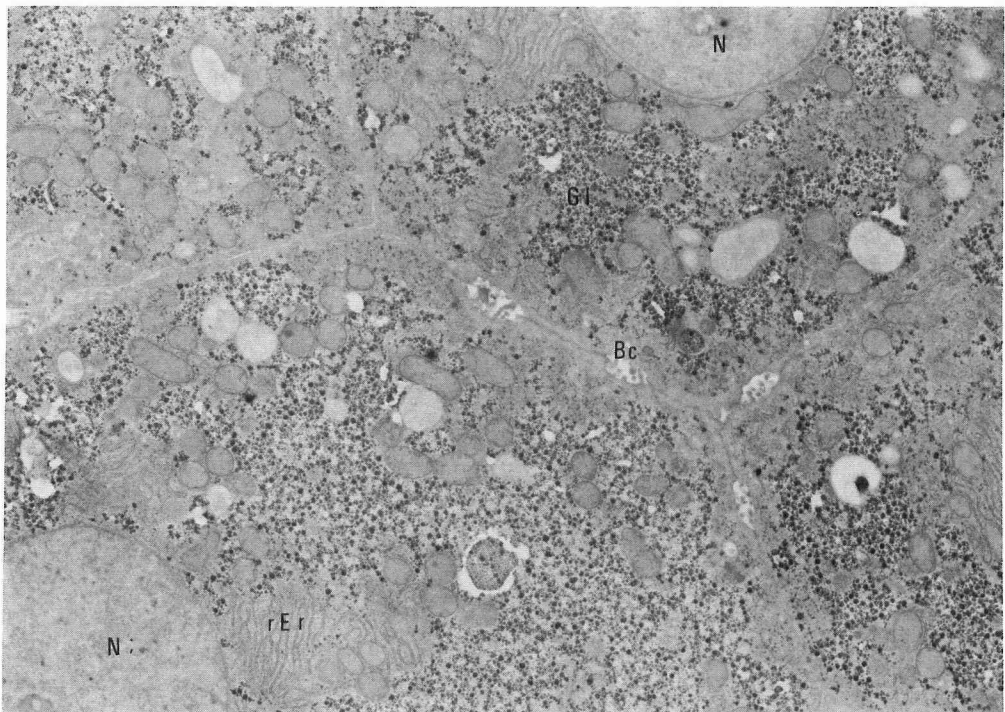


図 10 一側腎摘出例：肝細胞の核クロマチンの減少  
4,800×

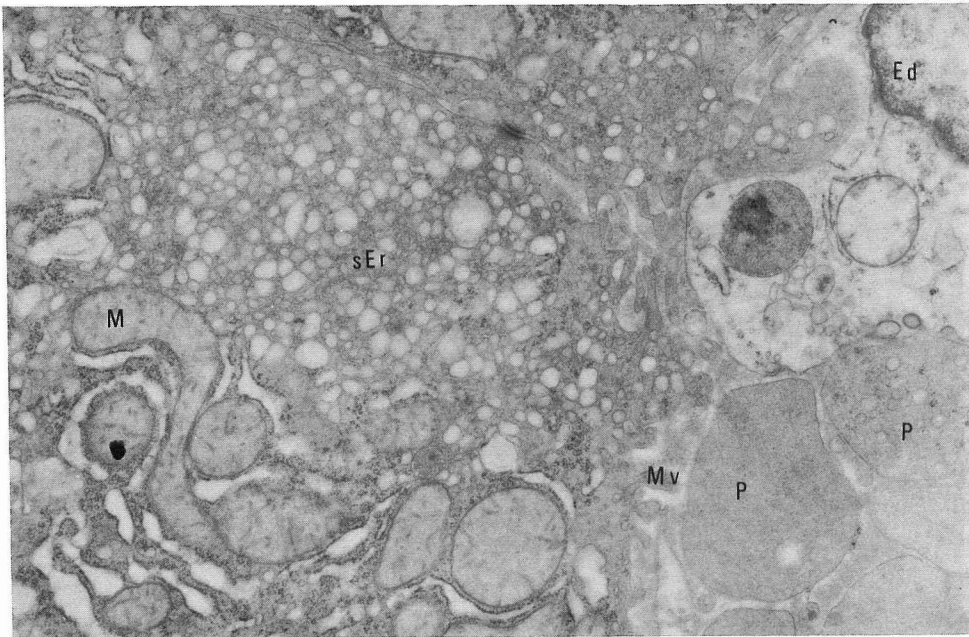


図 11 両側腎摘出例： 網目状に密集する滑面小胞体 (sEr) の増加 17,700×

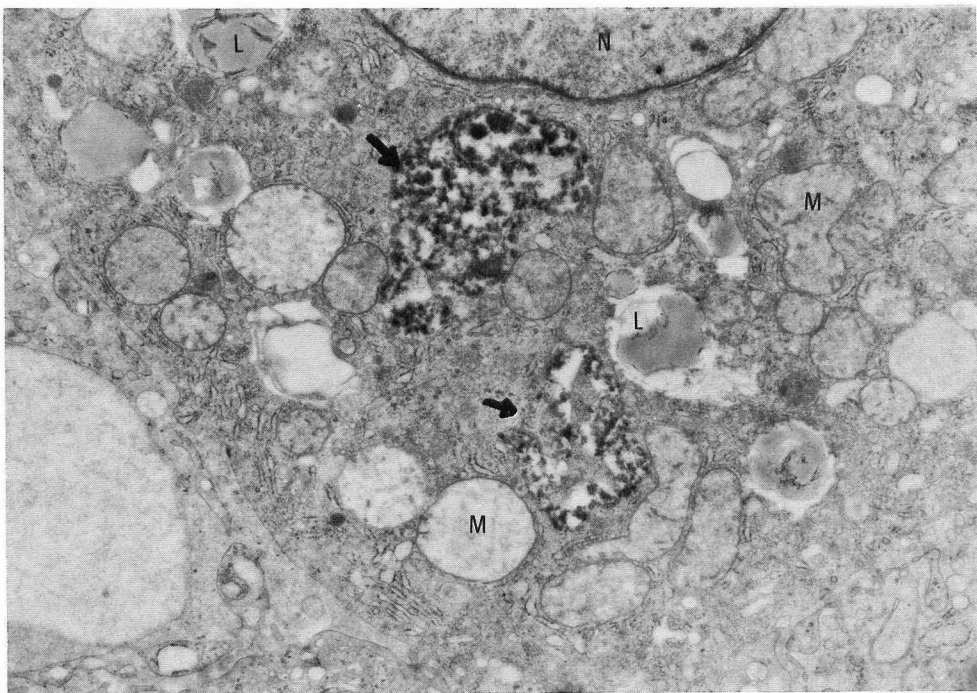


図 12 両側腎摘出例： 高電子密度の顆粒を含む Focal cytoplasmic degeneration (矢印) 12,900×

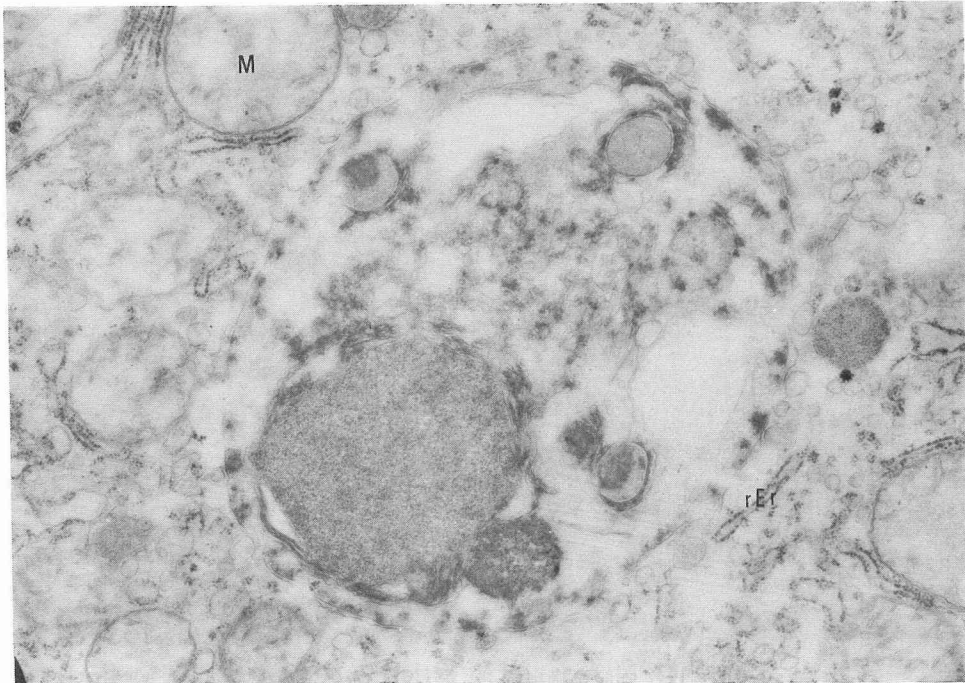


図 13 両側腎摘出例：FCD と周囲の小器官の膨化  
22,300×

(1971. 5. 13 受稿)