

横紋筋の再生修復時に於ける細胞改築

第一編 形態学的研究

昭和34年9月18日 受付

信州大学医学部病理学教室 (指導: 那須 毅教授)

研究生 小 沢 喜 市

Cellular Architecture in the Repair and Regeneration of the Striped Muscle

Part I: Morphological Study

Kiichi Ozawa

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

緒 言

横紋筋組織の再生及び修復時に於ける細胞構築, 筋線維の再生機序等に関しては多数の病理形態学的, 実験的研究がある。筋線維再生の様式に就いては, 筋障害の原因又は条件が多種であることにより, 其の所見が一様でないことは勿論である。文献上 (1) 筋線維の再生を Sarcoplasma の機能と見做し, 所謂筋線維からの発芽によるとするもの (Neumann^①, Nauwerck^②, Millar^③, Clark^④, Gay & Hunt^⑤), (2) 筋核を新線維形成の根源と考え, 筋核に由来する筋細胞によるとするもの (Volkman^⑥, Forbus^{⑦⑧⑨}), (3) 再生を筋外性組織即ち Perimysium の細胞の機能によるとするもの (Waldeyer^⑩, Zenker^⑪) 等がある。

このような再生現象に際して, 組織内には多彩な細胞反応が現われる。横紋筋の機械的損傷の修復時に特異な単核細胞及び多核巨細胞が観察されることは, Forbus^⑦, Millar^③, Clark^④, 佐藤^⑫等が詳細に報告しているが, 之等細胞群の起源, 機能等に関する諸家の見解はかならずしも一致していない。

著者は筋組織病理の研究の一環として, 機械的損傷時に於ける横紋筋線維の変性, 修復及び再生所見を, 2, 3 の特種染色と生体染色により検討した結果, 以上の細胞群の中の多数が再生への意図を示す性質のものであることを知り得たので, 再生途上に於けるこの様な半再生現象 (abortive Regeneration) の所見を記載すると共に之等細胞群の起源, 機能等に就いて考察を試みた。

実験方法

I 動物実験

健康成熟家兎を4群に分け, 皮膚切開により露出した横紋筋を下記の方法を用いて損傷を与え, 所定の日数後に標本を採取した。

第1群 (挫滅); 腰椎側方及び大腿前面の皮膚を各々約3cm 切開し, 腰筋, 大腿伸筋群の筋膜を可及的保存して, 筋腹を周囲の結合織から僅かに遊離した後, 其の中央部を筋の走行に直角に幅3mmの止血鉗子で挾持し, 同一箇所を急速に連続2, 3回挫滅した後皮膚を縫合し, 1, 3, 5, 7, 10日, 2, 3, 4週後に挫滅部を含み筋肉片を切除採取した。挫滅部の筋組織は損傷直後肉眼的に若干の線維成分を残すのみで, 線状に破壊され筋腹表面から内部の出血が明瞭に透見された。

第2群 (切断); 大腿前面及び下腿後面の皮膚を各々約3cm 切開し, 第1群の場合と同様に遊離した大腿伸筋群, 腓脛筋の筋腹を筋膜をも含めてメスで横断したまゝ, 断端からの出血はガーゼで少時圧迫のみにより止血した後皮膚を縫合し, 1, 3, 5, 7, 10日, 2, 3, 4週後に横断部の筋肉片を切除採取した。腓脛筋の切断は疼痛反応が強く Ether 麻酔を必要とし又断端は切断直後著しく退縮して切断部が広く修開した。

第3群 (絹糸挿入); 第1群の場合と同様に腰筋を露出し, 筋腹の一方の側面から外科用縫合針を用いて直径約0.5mmの絹糸を反対側へ誘導貫通し, 此の操作を同一筋腹の2, 3箇所に行い, 絹糸端は筋膜表面で軽く結紮して移動を防いだ後皮膚を縫合し, 1, 3, 7日後に絹糸挿入部を含み筋肉片を切除採取した。

第4群 (生体染色); 第1及び第3群と同一の方法で損傷を与えた後, pro kilo 3cc の Trypanblue の滅菌溶液 (1%) を, 標本切除前日まで1日1回づつ耳静脈から注入して生体染色を行いつつ, 損傷第3日と第7日後に筋肉片を切除採取した。標本採取時全身

皮膚、鞏膜は著明に青染し、挫滅部は濃青緑色帯状に筋腹を横断している。又絹糸挿入部は絹糸を中心に直径約 2mm の範囲に濃青緑色に着染し、両者共非損傷部と明らかな対照を示した。

Ⅱ 固定及び染色法

固定；標本を採取後室温で約30分間放置して筋線維の収縮力の消失するのを待ち、次いで10% Formalin 液、Bouin 液（約5時間）、純 Alcohol（約3時間）、Carnoy 液（約3～5mmの幅の標本を約2時間）を用いて固定し、Paraffin 包埋を経て3～5 μ の切片を作製した。

染色法；Hematoxylin-Eosin (HE) 染色，van Gieson 染色，Mallory-Azan 染色，Masson の Trichrome 染色（Goldner 染色），Heidenhain，及び Spielmeier の鉄 Hematoxylin 染色を行つた。Carnoy 液，純 Alcohol，Bouin 液は細胞核，変性物質の固定は良好であるが，生体染色所見は Alcohol 性固定液では10% Formalin，Bouin 液に比し細胞群の食喰像にむらを生じ良好な結果が得られない。

検 索 成 績

損傷後1～3日の細胞構築

第1群（挫滅筋の変性及び再生）

HE 染色では挫滅部の筋線維は筋鞘も含めて広範囲に断裂，崩壊し，顆粒状，絮状の物質或は粗大不整な原形質片に分散している。崩壊した筋線維片は所謂蠟様変性，硝子様変性等に陥いるものが多い。損傷部に近い筋線維は一般に腫大し且つ不規則にうねり，あるものは限局性に無構造化して所々蠟様変性，又は硝子様変性を呈し，或は微細な顆粒状構造に変化している。又あるものは原形質構造が粗鬆化して縦に細分し，又は分節状に崩壊している（写真1）。この様な筋線維の核は主として辺縁にあつて稍々其の数を増して居り，個々の核は多くは円形又は橢円形に膨大し，Chromatin は乏しいが1～2個の明瞭な核小体を有する。損傷部には大小多数の出血巣，Fibrin の析出，多核好中球，好酸球，線維芽細胞等と共に，多数の単核細胞が散在する。単核細胞の大部分は原形質が稍々好塩基性を帯び，核は円形，卵円形，腎形等で Chromatin に富むが，核小体は一般に明瞭でなく時に有糸分裂を行つている。この種類の細胞は崩壊筋線維片の周囲又は其の内部に多く，Débris を食喰して居り，形態上組織球性細胞である。其の他に Eosin に好染する比較的豊富な原形質と，大型の円形又は卵円形の核を有する細胞が散見される。胞体の辺縁は一般に不整で，多くは核内に明瞭な核小体を有する。この種類

の細胞は発生起原上，筋線維の核が少量の Sarcoplasma を伴つて筋線維から遊離したもので，遊離筋細胞と称すべきものである（写真2）。

蠟様変性に陥つた筋線維原形質は，van Gieson 染色では Picrin 酸の黄色調が減じて淡褐色を，Mallory-Azan 染色では Azocarmine の深紅色を，Goldner 染色では Fuchsin 又は Fuchsin-Ponceau の紅色を呈する。鉄 Hematoxylin 染色では全く着染していない。

生体染色所見では，組織球性細胞の大部分は崩壊筋線維片の附近又は筋鞘内等で多量の色素顆粒を摂取している。

第2群（切断筋の変性及び再生）

HE 染色では切断面は Fibrin，好中球，単核球，凝血の層で覆われ，其の直下には多数の無構造化した筋線維が接している。其の他の筋線維は位置が比較的良く保たれているが，原形質が残存した筋鞘内で所々崩壊し，組織球性細胞に依る貪喰が見られる。一般に筋線維の退行性変化及び核増殖の範囲は挫滅した場合よりも狭い。Mallory-Azan 染色，Goldner 染色等による変性筋線維の所見は挫滅の場合と略々同様である。

第3群（絹糸挿入筋の変性及び再生）

HE 染色では絹糸を中心として Fibrin，線維芽細胞，組織球性細胞等が若干出現しているが，この時期には異物反応は弱い。絹糸附近の筋線維は比較的小範囲に破壊され，原形質は挫滅，切断の場合と同じく主に筋鞘内で崩壊し，或は蠟様変性，硝子様変性を起こしている。生体染色所見では絹糸の周囲及び崩壊筋線維片の附近に，色素顆粒を有する組織球性細胞が見られる。

損傷後3～5日の細胞構築

第1群（挫滅筋の変性及び再生）

HE 染色では挫滅部分又はその附近の筋線維内に於ける著しい核増殖が見られる。核は無糸分裂により増加し，筋線維内に不規則に散在する。何れも円形，卵円形を呈し明瞭な核小体を有するが Chromatin に乏しく又一部には核膜，Chromatin の消失等の核変性が見られる。筋線維のあるものは核増殖と Sarcoplasma の増加により，其の一端から筋線維欠損部へ向い伸展しているが，この部分の原形質構造は極めて粗鬆で着染性が少い。1～3日後に観察された遊離筋細胞はこの時期には増加し，特に伸展した筋線維の尖端又は側面から筋線維の一部が分離し，遊離筋細胞に移行する過程が見られる（写真3，4）。

第5日頃には伸展した筋線維内には繊細な縦紋が出現するが，この縦紋は Mallory-Azan 染色では濃紅色，Goldner 染色では橙紅色，鉄 Hematoxylin 染色

では濃青紫色に着染して明瞭に現われ、あるものは固有筋線維の原形質と連続している。然しこの時期には横紋は明らかでない。

崩壊筋線維片の変性は進み一部空胞化するが、このような状態にあつても少数の核を有するものがある。蠟様変性部分は1〜3日に比し Mallory-Azan 染色では Anilin blue の青色調を、Goldner 染色では Lightgreen の緑色調を混ざる部分が見られる。崩壊筋線維片の周囲又は其の附近には、組織球性貪食細胞が多いが、之等の細胞間には遊離筋細胞又はこれに類する細胞が多数存在している。間質内には線維芽細胞、好中球、淋巴球様細胞が増加し、此の間に遊離筋細胞が散在する。

第2群 (切断筋の変性及び再生)

切断面附近の筋線維の崩壊、変性は挫滅の場合と略々同様であるが、筋鞘は残存しているものが多く、其の内部に組織球性細胞及び遊離筋細胞が充満している。筋鞘に沿つて筋線維が伸展再生しつつある所見も見られる。間質内には線維芽細胞、好中球、組織球性細胞等が増殖している。

損傷後5〜7日後の細胞構築

第1群 (挫滅筋の変性及び再生)

HE 染色では損傷部には蠟様変性又は硝子様変性に陥つた多数の不整形の筋線維片が集塊状に存在している。この様な変性筋線維片内には Hematoxylin に好染する好塩基性物質を生ずる傾向がある(写真5)。此の物質は純 Alcohol, Cornoy 液による固定標本では、Formalin 固定のそれに比し Hematoxylin の色調が濃厚で分布も明瞭である。又 Böhmer, Delafield の Hematoxylin に濃青紫、濃青に、Meyer の Hematoxylin に淡い褐青色に染まる。この物質はビマン性に或は粉塵状、顆粒状又は短い線維状をなして密集して存在する等多様な形態を示し、場所によつてはこの物質のみが筋線維欠損部に巣状に集積存在している。尚この好塩基性物質は核増殖を来した筋線維内にも限局性に見出される。Mallory-Azan 染色では此の物質群は鮮青色で一部に紅色を混じり Goldner 染色では緑色に所々橙赤色乃至黄色を混じて現われる。其の位置、分布は HE 染色の場合に略々一致している。

筋欠損部に於ける細胞の種類は多彩で、多数の線維芽細胞、組織球性細胞、好中球、小淋巴球様細胞、遊離筋細胞、巨細胞等が新生した毛細血管、膠原線維と共に肉芽組織を形成しつつある。特に遊離筋細胞のあるものは紡錘状、長楕円状、虫状、棒状等に伸展して2〜3個の核を有するものがあり、之等の所見は筋線維形成への能力を示しているものと考えられる。この

様に発展した遊離筋細胞又は筋線維に発展した成分は残存した筋鞘直下、変性筋片、好塩基性物質の附近に多い(写真6, 7)。

肉芽組織内には多型性の巨細胞が多数観察される。(1) 主として核増殖の起きた筋線維の附近に比較的少数の核を有する巨細胞がある。原形質は Eosin に好染し、形態は不整なものが多い。原形質の着染性、核の性状は遊離筋細胞の場合に類似する。この巨細胞は屢々延長し、不整な Syncytium 様をなすものから、不完全ながら筋線維にまで発展するものがある(写真8)。然しこの様にして形成された筋線維は、其の原形質構造が粗鬆で明瞭な横紋が認められるものは少い。以上の様にこの種の巨細胞は不完全ながら筋線維形成能を示すものと思われる。(2) 次に主として崩壊筋線維片、好塩基性物質等の附近、又はこれ等と関係のない部位でも上述の巨細胞と其の性状を少々異にする。巨細胞が観察される。その大きさは不定で筋線維欠損部に時に団塊状に集積している。この種の巨細胞の原形質は一般に粗鬆で、時に顆粒状構造を呈し、又網眼、空胞を有する場合がある。原形質内には硝子様物質、好塩基性物質等の存在が認められものがあり、或場合には原形質が環状をなし、其の内部の空胞内に多量の好塩基性物質を有する。この様な所見は巨細胞原形質の好塩基性物質への変化の過程を思ひしめる。核は一般に数多く、時に数10個に及ぶが、主として原形質内の好塩基性の部分に集まり、その排列が乱雑なもの、Langhans 型又は Steinberg 型をなすもの等多様である(写真9, 10)。この種の巨細胞の形態は前記した環状のもの、不整型に延長したもの、更に延長して筋線維状をなすものがあり、筋形成性巨細胞と云い得る(写真11)。又好塩基性物質、崩壊筋線維片の附近では半月状、三ヶ月状をなしてこれを取巻くものがある(写真12)。この様な部分では遊離筋細胞が融合し、この種の巨細胞に移行しつつある所見が観察される。細胞の辺縁は一般に明瞭であるが、又不明のもの、繊細な突起を有するものもある。

かゝる細胞の特殊染色に依る所見は、van Gieson 染色では原形質は鉄 Hematoxylin の暗黒色を呈し、HE 染色の場合と略々同様の構造を有する。Mallory-Azan 染色では Azocarmine の紅色又はこれに Orange G の混合した橙赤色を呈し、これと別に原形質内に Anilin blue に濃染する粗大顆粒片を認めることが特有である。

Goldner 染色の場合でも Fuchsin-Ponceau の紅色又はこれに Orange G を混ざる橙赤色の原形質内に Lightgreen に着染する顆粒を混ざる。原形質内のこ

これらの顆粒状物質の着染性は、変性筋線維内に形成された好塩基性物質のそれと殆ど同一である。即ち巨細胞は原形質の好塩基性構造と全く異なる好塩基性物質を有するものと考えられる。鉄 Hematoxylin 染色では胞体内の好塩基性物質の存在は明らかであるが紋理の存在は見られない。(3)以上の種類の巨細胞の他に原形質が弱好塩基性を示すが、極めて粗鬆で網眼状構造を有し、細胞の辺縁が明確でないものが若干見られる。核は多数であるがその排列は不揃いで形態、核小体の有無も一定でない。この種の巨細胞は主に変性物質の周囲にあり、筋線維形成を思わせる所見を呈するものは見られず、其の形態から組織球性の異物巨細胞と見做すべきものである(写真13)。然し先に述べた好塩基性の筋形成性巨細胞と形態上類似を示し明らかに区別出来ないものもある(写真13)。

7日頃には3～5日頃に見られた様な核増殖を伴い、筋欠損部に伸展する筋線維は繊細な縦紋と其の間に見られる顆粒状原形質で満たされ、伸展筋線維全体が弱い好塩基性を示す。縦紋は主として筋線維の辺縁近く平行に走り、核は筋線維の中央部に珠数状をなして連続排列し、無糸分裂像を示している。核は一般に大型で円形、卵円形をなし顆粒状の少量の Chromatin と1～2個の大きな核小体を有する。この核小体が棒状、線維状にのびているものがある。伸展筋線維のあるものに於いては、その側面から細い多核の筋線維が分枝し間質内へ突出して居り、或は少数の核を有する原形質が膨隆し分裂しつつある所見が見られる。この所見は遊離筋細胞又は筋形成性巨細胞の形成の一つの過程を示していると考えべきものである。伸展した筋線維の尖端部の形態は、或は鈍く尖り、或は樹枝状に分裂し、或は中断され、或は棍棒状に拡大している等多様である。特に拡大した尖端部の原形質は蒼白で均等又は微細顆粒構造をなし、紋理形成はなく又此の部に接して不規則に集積する多数の核と充実性の原形質からなる部分が存在する(写真11, 14)。Mallory-Azan 染色ではこの伸展筋線維は原形質が一様に橙赤色であるが、縦紋のみが明瞭な紅色を呈し其の存在が明らかである。筋線維の辺縁附近には青染する筋鞘が認められる。Goldner 染色では原形質が淡黄色、縦紋は橙赤色、筋鞘は淡緑色である。鉄 Hematoxylin 染色では一部の筋線維に横紋の存在を明瞭に認めるが、その形成に至る種々の段階も見られる(写真15)。

以上の様な形態、構造を有する筋線維が多数平行して走って居り、その中の或ものは旧筋線維と連続していない新生筋線維であると考えられる。特に変性物質の周囲にある筋線維は単独に存在し、明らかに遊離筋

細胞から伸展したものがあり、その他に少数ではあるが筋形成性巨細胞が筋線維状に伸展したものがある。

生体染色

損傷部に於ける多数の単核細胞が色素顆粒を貪喰しており、崩壊筋線維片に接するものは特に多量の色素顆粒を有するが、組織球に属する比較的小型の核を持つものが多い。この場合胞体内の顆粒は一般に粗大である。然し生体染色陽性の細胞中には、遊離筋細胞又はこれに類する細胞が相当数あることが特に注目される(写真16)。

好塩基性構造を有する筋形成性巨細胞は殆どすべてのものが胞体内に色素を有しているが、微細顆粒状をなすものが大部分で、粗大な色素顆粒は少い。時に空胞内に大きな色素塊を有するものも見られる。この様な所見は筋形成性細胞群が貪喰作用を示しているものと考えざるを得ない(写真17, 18)。

第2群(切断筋の変性及び再生)

断端附近では挫滅筋の場合と略々同様の所見が見られるが、筋鞘の多くは残存し、原形質は其の内部で空胞変性、硝子様変性、蠟様変性等に陥っているものが多い。挫滅の場合の様に核増殖を伴って旧線維から伸展した筋線維が見られるが、之等は切断端附近で、尖端の原形質が肉芽組織により圧平され拡大するか又は細線維状に分散する傾向を示す。筋鞘内で単独に細い筋線維が形成されている所もある。筋断端部は線維芽細胞、好中球、単核球等の増生が著明であるが、挫滅の場合に比し巨細胞は少く又筋形成を示す様な遊離筋細胞も少い。

van Gieson 染色, Mallory-Hzan 染色, Goldner 染色による筋線維、変性筋片、巨細胞等の所見は挫滅筋の場合と略々同様である。鉄 Hematoxylin 染色では伸展再生した筋線維の縦紋が尖端附近まで延長し、又所々明瞭な横紋が観察される。

生体染色

筋鞘内に貪喰性の組織球性細胞が特に多いが、その間に筋原性と思われ且つ生体染色陽性の細胞が散在している。

第3群(網糸挿入筋の所見)

線維芽細胞、好中球、組織球、異物巨細胞等が網糸を取囲み増殖し被包しつつある。此の附近の筋線維は網糸による圧迫、損傷により所々小筋間に崩壊し筋形成性巨細胞も形成される。この巨細胞は網糸に直接する異物巨細胞に比較して、原形質構造が稍々稠密で輪廓が明らかな場合が多い。然し両者の間に形態上大きな差を認め得ない場合もある。

生体染色

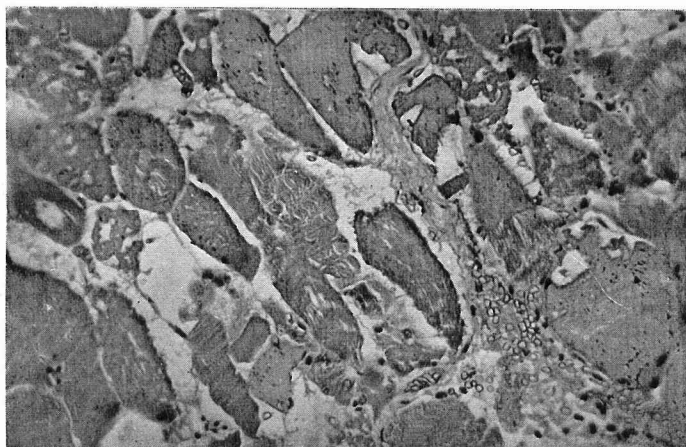


写真 1.
損傷部筋線維の破壊変性及び間質
内の変化 (挫滅1日後)
H-E 染色 ×200

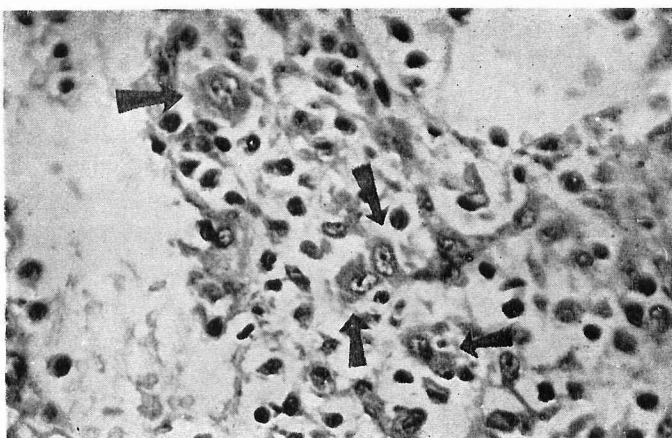


写真 2.
筋線維破壊の著しい部分に見られ
る遊離筋細胞 (矢印)
(挫滅3日後)
H-E 染色 ×400

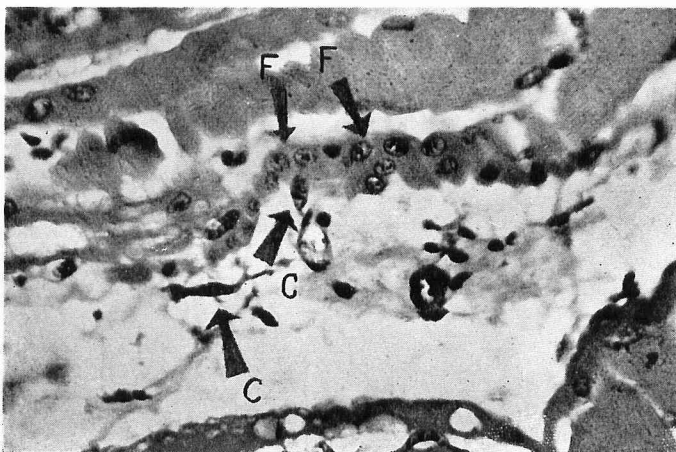


写真 3.
核増殖を伴い伸展する筋線維(F)
と遊離筋細胞(C)の発現
(挫滅3日後)
H-E 染色 ×400

写真 4.

伸展しつつある遊離筋細胞(矢印)

(挫滅 5 日后)

H-E 染色 ×400

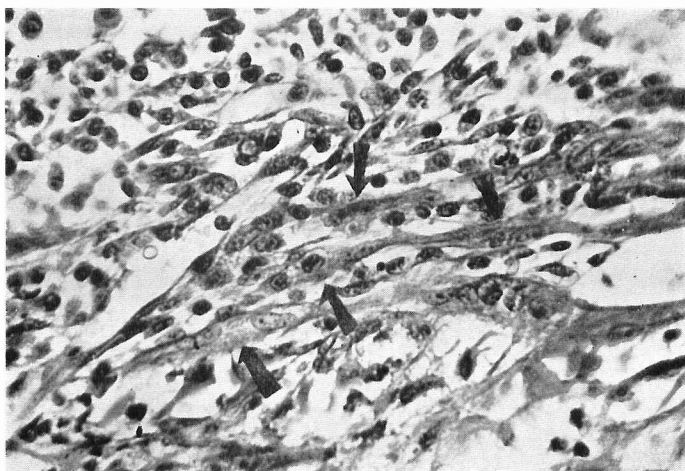


写真 5.

変性筋線維内に見られる好塩基性物質

(挫滅 7 日后)

H-E 染色 ×200

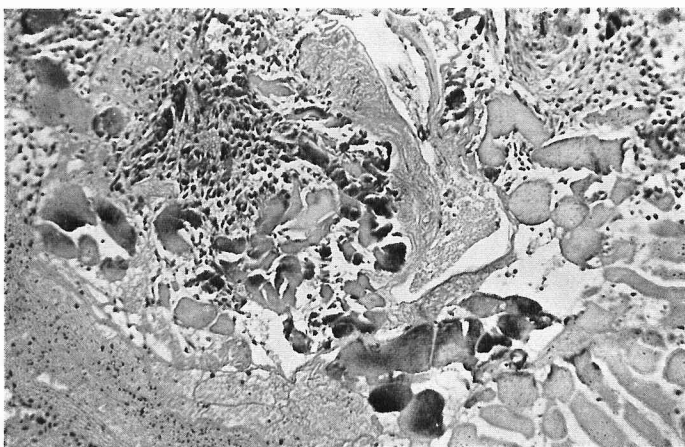


写真 6.

損傷部の残存した筋鞘に沿って筋線維化しつつある遊離筋細胞

(矢印) (挫滅 7 日后)

Goldner 染色 ×400



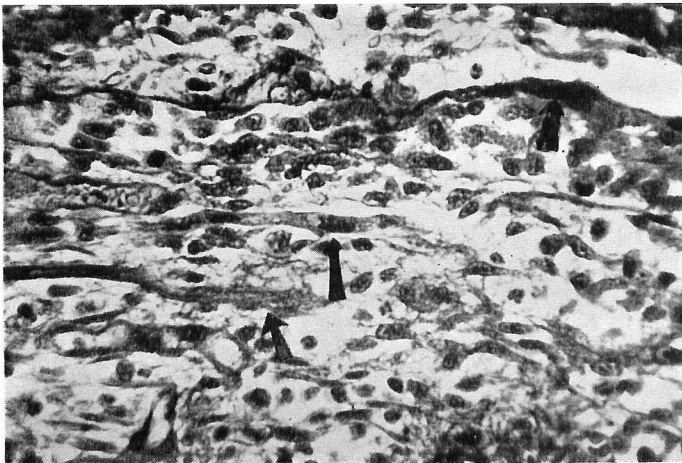


写真 7.
遊離筋細胞からの筋線維の新生
(矢印) (挫滅7日后)
Mallory-Azan 染色 ×400

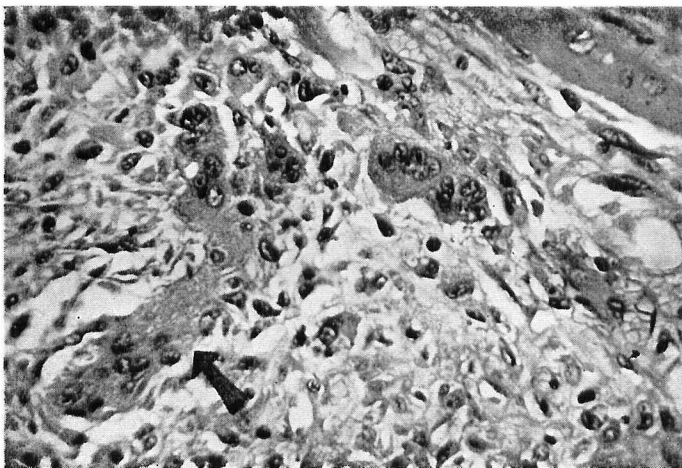


写真 8.
筋原性巨細胞と其の筋形成への過程を示す (矢印)
(挫滅7日后)
H-E 染色 ×400

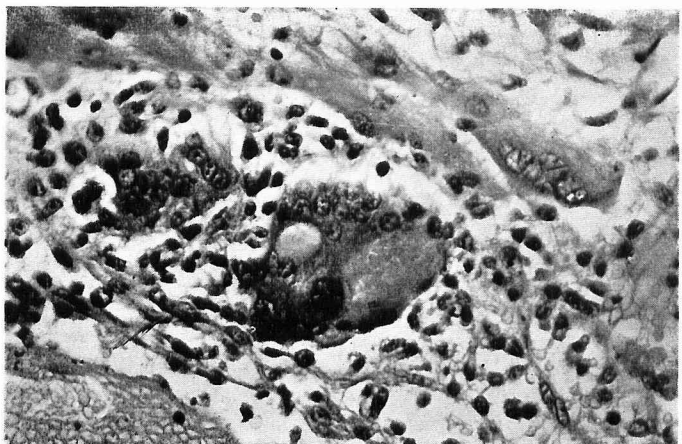


写真 9.
好塩基性物質を有する筋原性巨細胞 (中央) (挫滅7日后)
H-E 染色 ×400

写真 10.

筋原性巨細胞群

a, b は胞体内に好塩基性物質
を有する。左上方は幼若な再生
筋線維 (挫滅 7 日後)

Mallory-Azan 染色 ×200

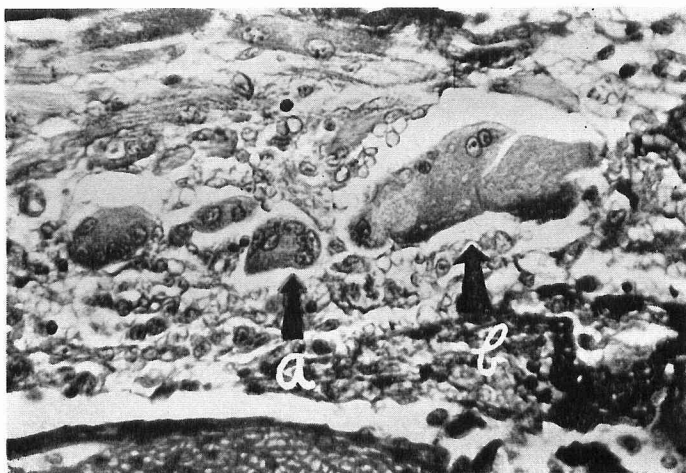


写真 11.

筋形成能を示す筋原性巨細胞群
(上方)と伸展筋線維(下方) 后者
には縦紋が明らかである

(挫滅 7 日後)

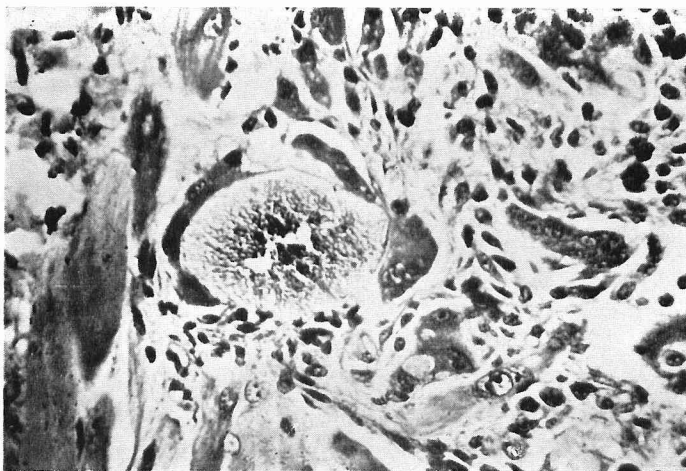
Mallory-Azan 染色 ×400



写真 12.

好塩基性物質を囲む筋原性巨細胞
群 (挫滅 7 日後)

0.05% Toluidin blue 染色
×400



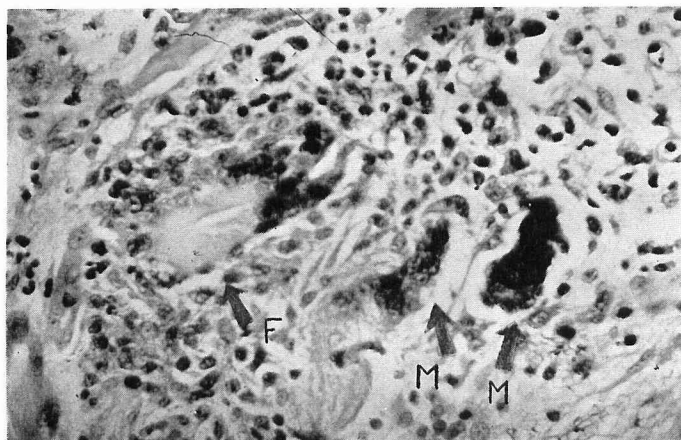


写真 13.
変性筋線維を囲む異物筋細胞(F)
と筋原性巨細胞(M)
(挫滅7日後)
H-E 染色×400

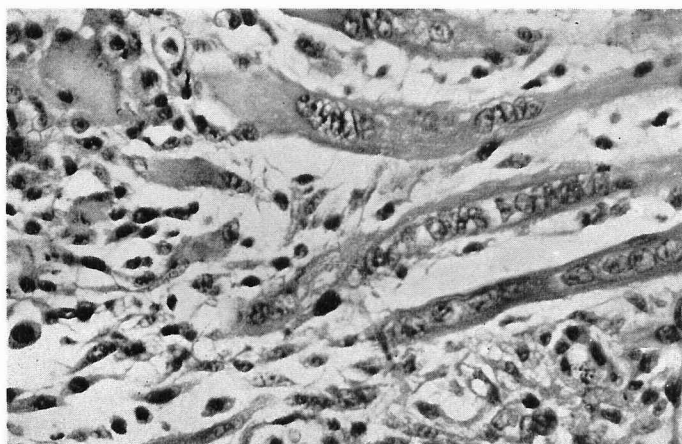


写真 14.
著しい核増殖を示す伸展筋線維
(切断7日後)
H-E 染色 400

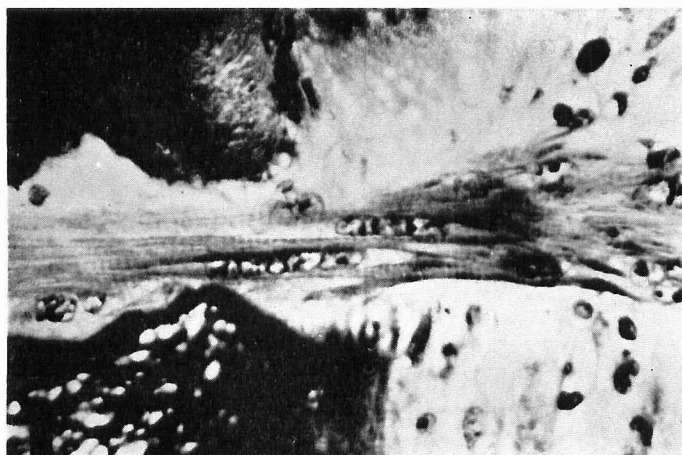


写真 15.
再生筋線維の横紋
(切断7日後)
Spielmeyer 鉄へマ染色
×400

写真 16.

貪喰能を示す遊離筋細胞 (矢印)
胞体内に繊細な色素顆粒を有する
(挫滅 7 日後)

Trypanblue 生染

H-E 染色 ×900

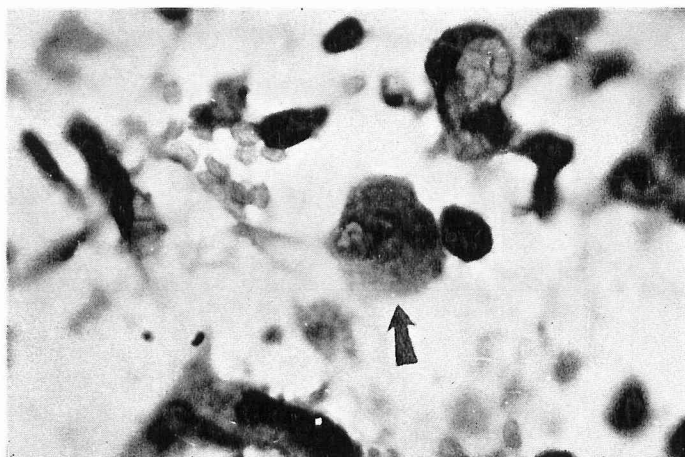


写真 17.

貪喰能を示す筋原性巨細胞
空胞内に粗大な色素塊を有する
原形質内にも色素顆粒を認める
(挫滅 7 日後)

Trypanblue 生染

H-E 染色 ×900

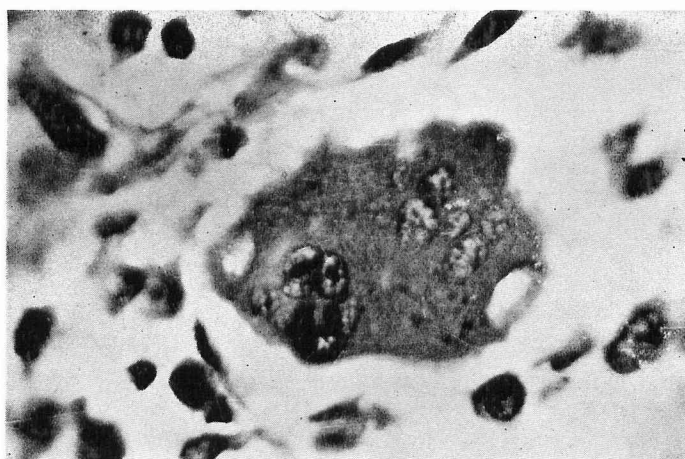


写真 18.

貪喰能を示す筋原性巨細胞
胞体内一面に色素顆粒を有する
(挫滅 7 日後)

Trypanblue 生染

H-E 染色 ×900



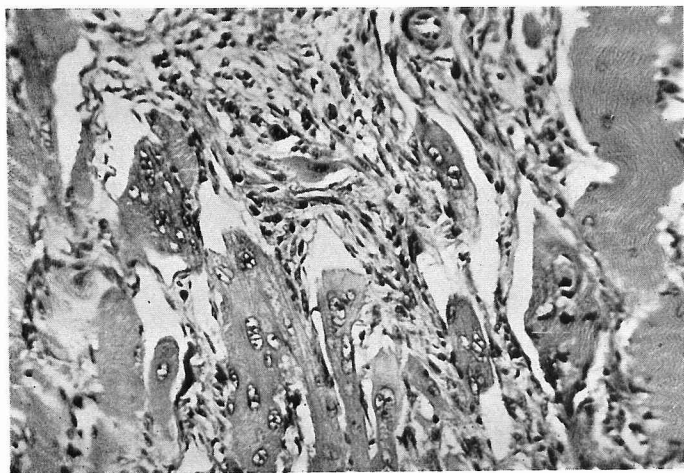


写真 19.
筋線維の再生像
(挫滅10日后)
H-E 染色 ×200

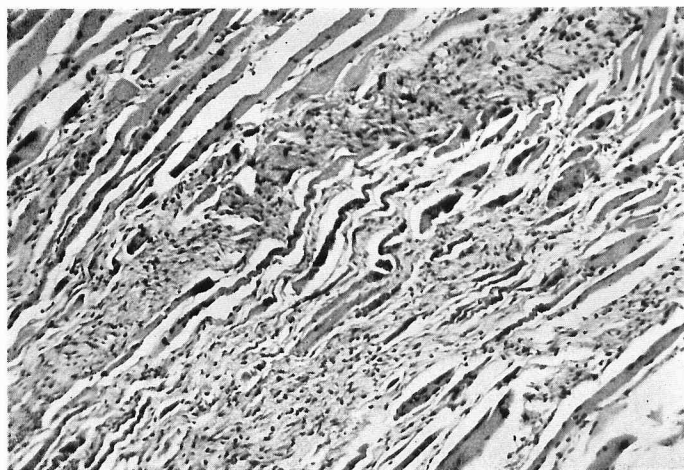


写真 20.
筋線維の再生像
(挫滅14日后)
H-E 染色 ×100



写真 21.
筋線維の再生像
(挫滅30日后)
Goldlner 染色 ×100

絹糸の周囲に密集する生体染色陽性の細胞は組織球と見做し得るが、変性筋線維の附近には筋形成性を思わせる大型で生染顆粒を有する細胞が少数存在する。筋形成巨細胞は異物巨細胞に比し貪食した色素量が多いこと等が注目される。

損傷後10日の細胞構築

第1群 (挫滅筋の変性及び再生)

筋欠損部は線維芽細胞乃至線維細胞が主体となり、非特異性線維組織を形成しつつあり、好中球、組織球等は減少し、遊離筋細胞、巨細胞等は見られない。線維組織内には種々の太さの再生筋線維が走っているが、著しくうねっているものが多い。之等再生筋線維の原形質は以前の様な粗鬆な構造が少く充実性となり、核は辺縁に位置しているものがある。一部のものはその尖端が5~8日後の場合と同様に拡大又は分裂し、核は中心部に排列して居り幼若な状態を示す(写真19)。

鉄 Hematoxylin 染色では之等新生横紋筋には明らかな横紋形成が見られる。尚線維組織内には少量の好塩基性物質が存在し貪食され或は被包されつつある。Goldner 染色では筋線維は鮮かな橙赤色を呈し、特に線維組織内に散在する紡錘状の短い新生筋線維は膠原線維の緑色と明瞭な対照を示して現われる。Mallory-Azan 染色では新生筋線維の周囲に旺盛な筋鞘の形成が見られる。

第2群 (切断筋の変性及び再生)

切断部附近では線維化が進み、その直下で伸展した筋線維は尖端が膨大、分裂し著しくうねっている。その他筋線維の形態は挫滅の場合と同様である。

損傷後14日の細胞構築

第1群 (挫滅筋の変性及び再生)

損傷部は次第に線維化が進み、毛細血管の新生が豊富である。線維組織内には少数の短い筋成分が散在する。これらの筋線維は Mallory-Azan 染色、Goldner 染色により明らかに出現する。又筋線維の附近に少量の好塩基性物質が散見される。筋線維は大部分が細く、Eosin に濃染するものがあり、多くは周囲に多少の空隙を介して線維組織と接している。又この様な筋線維から分枝し延長しているものもある(写真20)。核は楕円形で一般に小さく Chromatin に富み濃密である。鉄 Hematoxylin 染色ではこの時期には殆どすべての再生筋線維に横紋を証明し得る。

第2群 (切断筋の変性及び再生)

切断部附近の線維組織内には細い多核の線維が散在する。あるものは本来の筋線維と続き、あるものは分離している。筋線維の尖端は多くは細く尖りうねっている。

損傷後20~30日の細胞構築

第1群 (挫滅筋の変性及び再生)

筋欠損部は線維組織で置換される。この時期には線維組織内には細胞成分は少く、長さが不揃いで細くうねる筋線維が散在している。伸展した筋線維の尖端も細く尖り、樹枝状に分裂したり或は棍棒状に膨大する等その形態は甚だしく不揃いである。核は尖端部附近では稍々大型のものが筋線維の中央部にあるが、その他の場所では殆どすべてが辺縁に位置し其の数、形態は正常の核の場合に近い(写真21)。

以上の様に線維組織内の再生筋線維は何れも細く萎縮性である。筋線維尖端部の附近に時に少数の核を有する遊離した小型の筋成分があるが、之は巨細胞ではなく迂曲する筋線維の一部が切片内に現われていると考えられる。

第2群 (切断筋の変性及び再生)

断端は厚い線維組織で覆われており、その内部に散在する再生筋線維の形態は挫滅筋の場合と略々同様である。

考 按

挫滅、切断、絹糸挿入等の実験的損傷時初期に於ける筋組織の所見は、筋線維の断裂、破壊、横紋の消失、均等化、蠟様変性、硝子様変性等の多様な退行性変化を示す場合と、破壊を免がれ且つ筋核の増殖を来す場合とに分けられる。

破壊して蠟様変性に陥つた筋線維片の一部には、更に損傷後3~5日頃から好塩基性物質を生ずることが屢々ある。この物質は残存した筋線維内に於いても限局性に発現することがあり、何れの場合にも Alcohol 性固定液で良く固定され、DeLafield, Böhmer の Hematoxylin に濃青又は濃青紫色に染まる。これと同様の所見は Fishback & Fishback^⑧が家兎横紋筋の打撲の際、損傷の8日目頃に見られることを記載している。又この物質は他の筋線維破壊産物に比し其の除去、吸収が遅延し、後には被包化される傾向がある。この様な好塩基性物質の出現は筋線維の特異な変性過程として注目する必要がある。

損傷直後から筋核が無糸分裂によつて増殖するが、其の際核容積の増大、核小体の肥大、Chromatin 糸の肥厚等が著明で、浜崎^⑨の云う進行性の核変化の所見を呈し、修復の初期反応と見做すべきものである。Nauwerck^②は動物実験に於いて損傷4~6時間後に既に著しい核増殖を認めている。

損傷部の筋鞘結合組織内には出血、浮腫、Fibrin の析出、好中球の遊出と共に単核細胞が現われる。其のあ

るものは形態上筋線維内の核が Sarcoplasma を伴い筋線維から分離したものであることは確実であるが、其の大部分は後には変性消滅する。

損傷 3～5 日に至り筋線維の尖端附近は核の著しい増殖と、筋成分の増加により不規則に突出する。この所見は Clark^④の云う "plasmodial outgrowth" に一致し、彼によれば家兎の横紋筋挫滅の際 3 日目頃にこの所見が現われ、其の後 1 日に少くとも 1～1.5mm の速さで伸展すると云う。更に著者の例では Millar^③が家兎の標本で観察したのと同様に、この突出部の伸展と共に残存した筋線維から縦紋が次第に延長伸展する所見を認めた。

此の縦紋は Azocarmine, Ponceau, 鉄 Hematoxylin で明瞭に現われ、筋線維の辺縁に多く、筋線維再生時の支持要素として重要な役割を果すものと考えられる。この際中央部に連続排列する核の周囲は粗鬆で繊細な顆粒状構造を呈する。この伸展した粗鬆な筋線維は 10～14 日頃には其の原形質が充実し、縦紋は不明瞭となり、同時に不規則ながら横紋が新生し、核は緻密、細小化して筋線維の辺縁に排列し、この様にして筋線維が再生するが、一般に正常筋線維に比して細い。筋鞘は筋線維の伸展と平行して延長し形成されるものゝ様である。挫滅標本の場合、20～30 日後には増殖した肉芽組織内で、両側から伸展した筋線維が甚だしくうねりながら一部で交錯する。

Gay & Hunt^⑤は家兎の切断横紋筋の解組標本を位相差顕微鏡により検索し、延長した再生筋線維が 10 日後には対側からの線維と尖端部で吻合し、30 日後には完全に再結合して連続した筋線維を形成すると結論している。

著者の実験例では挫滅部には肉芽組織の形成が広汎で、再生筋線維は甚だしくうねって偏位し、萎縮性で明らかな筋線維の連絡像は観察され得なかつた。

以上の様な筋線維の一連の伸展過程は所謂 Budding に依る再生現象として Neumann^①, Nauwerck^②, Millar^③, Clark^④, Goy & Hunt^⑤等によつて支持された再生様式に相当する。特に Millar^③は実験的損傷時にはこの様式以外の再生は起きないと結論し、Clark^④もこの主張に賛意を表している。

再生時に増殖する核の内部では、核小体が肥大又は延長し、その一部は更に棍棒状に変形する。この変化は核増殖の著しい場合に見られ、核分裂のみならず筋線維原形質の形成に関係を有するものと想像される。Millar^③は再生時の核内で核小体が増大し時に虫状又は S 字状に変化し、あるものは核外へ離脱することに注目し、著しく変形した核小体を "rhombosome"

と呼び、核小体の変形が筋原線維の形成と密接な機能的関係があるものと推定している。

損傷部の修復及び再生途上に於ける細胞構築は、全期間を通じ損傷 5～8 日頃に最も多彩である。即ち筋欠損部は線維芽細胞、好中球、淋巴球、形質細胞、組織球等を混ざる幼若な肉芽組織の形成と、組織内に遊離筋細胞、筋形成性及び組織球性巨細胞等を混ざることが特徴である。既に損傷の初期に、筋線維の破壊と同時に筋線維から単核又は多核の細胞成分が分離するが、次いで筋線維内の核増殖に伴い筋線維から分離するものが増加し、この時期には核増殖の起きた筋線維の附近に多い。この細胞は Eosin に好染する原形質と、明瞭な核小体を有する明るい大型の核から成り多形性であることが特徴で、遊離筋細胞と称すべきものであるが、時としては線維芽細胞、組織球等と形態上識別困難な場合もある。

筋線維から独立した細胞成分が遊離形成されることは、Clark^④, Forbus^⑦等も報告して居り、Forbus^⑦はこの際、彼の所謂 single muscle cell の分離の前段階として、筋線維尖端がクローバ状に腫大することを指摘したが、著者の実験例ではこの所見は明らかでなかつた。之等遊離筋細胞の大多数は少くとも 7 日乃至 10 日後には変性消滅するが、或場合には相互に融合して Syncytium を形成する。之等は肉芽組織内に於いて又は筋鞘に沿つて虫状、紡錘状に伸展延長し、同時に Goldner 染色、Mallory-Azan 染色等で筋成分が認められ、明瞭な横紋が証明されるに至る。この様な所見から遊離筋細胞は単一の新しい筋線維に分化し得るものと見做すべきである。

但しこの様にして新生した筋線維は、更に若干伸展するが、損傷 2 週間以後には旺盛な線維組織形成のため、走行は一般に不規則となり萎縮性である。

以上の様に個々の筋細胞から筋線維が形成されることも一応考え得られる所であり、特に Volkmann^⑧, Levander^⑨, Forbus^⑦等はこの機転による筋線維の再生を重視し、就中 Forbus は損傷筋の再生は専らこの様式のみによるとさえ云っている。これに対し Clark^④等は之等の要素が一応出現することを認めているが如何なる機能を有するかは不明であるとし、単一な筋細胞による筋形成の説に批判的である。

著者の実験例では既述の如く遊離筋細胞の多くは変性消滅し、少数のもののみが若干の筋線維形成を示すのみで、これも真の再生に至るものは少い。即ち遊離筋細胞は一時的に再生的増殖を示すに止まるものが多く、この所見は半再生 (abortive Regeneration) の像と云うことが出来る。

次に筋欠損部肉芽組織内に出現する巨細胞は形態上

- 1) 第1型: Eosin 好性の豊富な原形質と比較的少数の核とから成る型のもの
- 2) 第2型: 好塩基性の原形質と比較的多数の核とから成る型のもの
- 3) 第3型: 異物巨細胞に類する型のもの等に大別される。

第1型の巨細胞は主として核増殖の著しい筋線維の付近に見られる。其の多くは不整形の Syncytium 様をなし遊離筋細胞と同様に変性消滅する性格のものであるが、極めて少数のものは更に筋線維に迄発展する。発生機転上遊離筋細胞の場合と同じく核増殖を来した筋線維の一部が直接分離する場合、個々の遊離筋細胞の融合に依り巨細胞化する場合等が考えられ、この種の巨細胞は確実に筋形成能を有していると見做し得る。

第2型の巨細胞は主として崩壊筋線維片、又は好塩基性物質の周囲に見られる。原形質が全体として Hematoxylin に淡染し、更に胞体内に好塩基性物質を有することが多い。この中には好塩基性物質が明らかに原形質の変性により発生したと考えざるを得ないものがある。第2編で述べる様に組織化学的検索の結果原形質の好塩基性は RNA の存在によるものであり、この原形質内に更に RNA とは異質である好塩基性物質が存在するものと考えられる。核は主に原形質の好塩基性の著しい部分に一致して多数不整に排列することが特徴であり、胞体内に好塩基性物質を有するものが多いこと、形態上異物巨細胞に近いものがあること等は注意を要する。第2型の巨細胞は筋線維への発展を思わせる巨大な Syncytium 様成分をなすことが屢々である。然し筋線維にまで発展するものは第1型に比し甚だしい。この種の巨細胞は其の発生機転上 Millar^③が記載している様に変性崩壊により一旦分離した筋線維成分内で、核の増殖と Sarcoplasma の増加により形成される場合、遊離筋細胞の融合により形成される場合、第1型の如く一旦核増殖を起こした筋線維の一部が遊離して形成される場合等が考えられ、筋形成能は弱いと確実に筋原性であることを思わせる。

第3型: 極めて少数ではあるが、主として変性筋線維片、好塩基性物質の付近に見られる。原形質構造は粗鬆で核の配置は乱れて居り辺縁は不明確で、絹糸挿入の際に出現する異物巨細胞に一致し又は極めて類似する。形態上第2型に類するものもある。此の種の巨細胞は組織球性のものであると考えられる。但し前記した様に第2型との識別困難なものも若干見られる。

筋線維の修復、再生時に筋原性巨細胞様成分の出現することは古くから注目されて居り、其の形成機転、機能性格に就いても数多くの考察がある。

Forbus^{⑦⑧}は実験的、病理組織学的に再生の第一次の所見とされる核増殖に次いで、単一の筋細胞のみならず多核の Syncytium 様成分が分離発生し、このものからも筋線維が再生すると述べて居り、著者の実験結果からこの種の巨細胞形成様式のあること、及びそれ等が筋形成の能力を有することを認めざるを得ない。

一方 Millar^④はこれ等と異なり変性に陥り、分離した筋線維片に於いて、後に核増殖と原形質の増加を来すことにより巨細胞が形成される場合があるとして居り、著者の実験例では第2型の巨細胞の形成時にこれと類似の所見を呈するものがある。此の場合 Millar^④が述べた見解と異なり、後述する如くこの種の巨細胞が貪食能力を有する事実を認めざるを得ない。

佐藤^⑨は最近家兎横紋筋に硝子球を挿入し、7日後に損傷筋線維の附近で単球、組織球から横紋筋形成巨細胞が発生すること、更にこれから筋線維が再生することを観察している。又同様にして有蓋筋肉片の硝子管内挿入の際、同じく好中球、単球、組織球が変性筋線維片を囲んで、多核巨細胞を形成することも注目し、組織球、好中球、単球等筋外性細胞群から筋形成能を有する巨細胞が形成され得ることを示唆している。

Murphy^{⑩⑪}はリウマチ熱に際して心筋の Aschoff 体に於いて観察される単核、多核、無核の細胞成分を検討した結果、これ等細胞群には損傷筋線維片及び筋原性と見做すべき Syncytial な細胞の集団があるとし、之等の要素が障害された心筋線維の再生への意図を示す表現であると強調している。この見解は骨格筋線維に於ても成立し得るものと思われ、骨格筋の修復、再生時に際して再生筋線維を形成するものは少く、又必ずしも真の再生に至らないが、遊離筋細胞、又は筋原性巨細胞の発現は、少くとも再生への意図を示すものとして取扱うべき所見である。而してこれ等細胞群は或時期には変性消失して行くが、とにかくこの様な筋形成への潜能を有するものが増殖することは、半再生現象 (Abortive Regeneration) の像と云うことが出来る。然しながら明らかに筋原性巨細胞でも必ずしも筋形成を示さないことに注意を要すると共に又筋原性巨細胞の中には少数ではあるが、異物巨細胞に類似するものが含まれると考えられ、起源を考察する上に於て組織球性の異物巨細胞の混在を充分警戒しなければならない。

Forbus^{⑦⑧}は剖検及び動物実験例に於いて骨骼筋の修復及び再生時に出現する細胞群を、1) 白血球、2) 淋巴球、3) 形質球、4) large mononuclear phagocytic cell、5) large multinucleated phagocytic cell、6) muscle spindle cell、7) large multinucleated muscle syncytial mass 等に分類整理し、特に4)、5)、6)、7)、を再生、修復に関与する主要素として取扱っている。之等の内貪食性細胞の特徴として、核は大型充実性で Chromatin が少く且つ顆粒状をなし核小体を有せず、細胞内に於ける其の位置は不定で時に有糸分裂が見られること、原形質は多量で、白血球の約3倍有り、繊細な顆粒状で時に空胞を有し、細胞膜は不明瞭である事等を挙げている。特にこのような細胞が崩壊産物に対する貪食能を有する事を重視し、少くとも実験的変性又は再生時に於いて Hyaline debris 除去のために活動する細胞は筋外性のもので、筋線維の再生には関与しないと結論している。

Pfuhl^⑩は海狸に Trypanblue を局所注入し、其の毒作用に依り惹起された横紋筋線維の変性及び再生所見を検討した結果、所謂 dissoziierende Degeneration の際に核と Sarcoplasma とに由来する所謂 Muskelkörperchen の発現することを認めているが、此の要素は貪食及び筋線維の再生には関与しないとしている。これに対しすでに Weber^⑨は損傷筋線維から分離形成された筋細胞が、或条件下では炎症細胞 (inflammatory cell) 又は膿球 (pus cell) に移行し、壊死物質の除去に重要な役割を果たすと述べて居り、Levander^⑪は中毒性筋障碍のみならず損傷時にも Pfuhl の謂う Muskelkörperchen が発現し、この要素は貪食能 (Sarkolyten) 及び筋形成能 (Sarkoblasten) を有することを肯定している。

著者の実験例に於ける生体染色では、確実に筋形成能を示すと思われる遊離筋細胞又はこれに類するものと及び筋原性巨細胞の多くが胞体内に繊細な顆粒状の色素を有する事実を認め得たことは注目すべきである。崩壊筋線維の附近に於いて、胞体内に Débris を有する単核細胞は、Janovitsch-Tschainski^⑫が記載した様に生体染色を行うと特に多量の色素を摂取して居り、組織球性細胞に属するものが多いが一部には筋細胞との中間型に属するものも見られることは、巨細胞の場合と同様其の取扱いに注意を要する。

以上の所見より遊離筋細胞又は筋原性巨細胞が筋形成能と共に貪食能を併せ有するものと考えざるを得ない。かつて生体染色が盛に用いられた時には、筋損傷及び修復時出現する生体染色陽性の細胞はすべて間葉性組織球とされていたが、此の事は当を得たものでな

く、著者の実験例の様に筋損傷部に発現する貪食性細胞は其の形態、起原は一様でなく特に明らかに筋原性で筋形成能を有するものがあることにより、貪食能の有無を以て細胞の起原を決定することは不可能である。

此の様に筋線維から分離した遊離筋細胞又は筋原性巨細胞は、それ自体その状態に於いて貪食能を有するものもあり、更に又貪食性組織球への化生を来すものもあると考えざるを得ない。

結 論

家兎横紋筋に挫滅、切断、綱糸挿入等の機械的損傷を与え、其の再生、修復時の細胞構築を検索し次の様な結果を得た。

1) 損傷に依り破壊し、蠟様変性、硝子様変性等に陥つた筋線維には更に好塩基性物質が出現する。変性物質は貪食又は吸収され消滅するが一部は後に被包化される。

2) 損傷3～5日頃から損傷部の残存筋線維は核増殖、原形質の増加に依り伸展し 所謂 Budding に依る連続的再生を営む。此の再生は約3週後に終了するが小範囲且つ不完全である。

3) 損傷1～3日頃より筋線維から遊離筋細胞が分離発現する。5～7日後には更にこれ等遊離筋細胞に由来して又は線維から直接に分離して筋原性巨細胞が形成される。之等筋原性細胞群の大多数は間もなく消滅するが、筋形成への潜能を有することは明らかで、若干のものは極めて不完全ながら筋線維を形成し、半再生現象 (Abortive Regeneration) を示す。

4) 筋原性細胞群の大多数は生染所見陽性であることを認めた。此の所見は筋原性細胞が筋形成能と共に貪食能を併せ有することを示すものである。

5) 筋原性細胞群はそれ自体貪食能を有するものと、更に貪食性組織球への化生を来すものもあると考えられる。即ち筋損傷時に出現する細胞群は貪食能の有無を以て細胞の起原を決定することは不可能である。

終りに臨み終始御懇篤な御指導と御校閲を賜った恩師那須教授に深甚の謝意を捧げると共に多大の御助言をいただいた永原助教授、教室員各位に感謝致します。

本論文要旨は昭和34年3月第48回日本病理学会に発表した。

文 献

①Neumann E.: Ueber den Heilungsprozess nach

Muskelverletzungen, Arch. mikr. Anat., 4, 323, 1868 ②Nauwerck: Ueber Muskelregeneration nach Verletzungen, Jena, 1890 ⑬より引用
 ③Millar, W. G.: Regeneration of skeletal muscle in young rabbits, J. Path. Bact. 38, 145, 1934
 ④Clark, W. E.: An experimental study of the regeneration of mammalian striped muscle, J. Anat., 80, 24, 1946 ⑤Gay, A. J., J. R. and Hunt, T. E.: Reuniting of skeletal muscle fibers after transection, Anat. Rec., 120, 853, 1954
 ⑥Volkmann, R.: Ueber die Regeneration des quergestreiften Muskelgewebes beim Menschen und Säugethier, Beitr. path. Anat., 12, 233, 1893
 ⑦Forbus, W. D.: Pathologic changes in voluntary muscle, I Degeneration and regeneration of the rectus abdominis in pneumonia, Arch. Path., 2, 318, 1926 ⑧Forbus, W. D.: Pathologic changes in voluntary muscle, II Experimental study of degeneration and regeneration of striated muscle with vital stain, Arch. Path., 2, 486, 1926
 ⑨Forbus, W. D.: Reaction to Injury, Vol. II, 889, Williams & Wilkins, Baltimore, 1952
 ⑩Waldeyer, W.: Ueber die Veränderungen der quergestreiften Muskeln bei der Entzündungen und dem Typhusprozess, sowie über die Regeneration derselben nach Substanzdefekten, Virchows Arch., 34, 473, 1865 ⑦より引用
 ⑪Zenker, F. A.: Über Veränderung der willkürlichen Muskeln im Typhus abdominalis, A. E. Junge, Erlangen, 1863 ⑦より引用 ⑫佐藤光永・外: 線維細胞, 軟骨細胞, 筋細胞及び脂肪細胞の相互関係 (異物に対する組織反応), 日病誌, 44,

385, 1955 ⑬Fishback, D. K. and Fishback, H. R.: Studies of experimental muscle degeneration, Amer. J. Path. 8, 193, 1932 ⑭浜崎幸雄: 細胞核の生理と病理, 永井書店, 1952 ⑮Levander, G.: Über die Regeneration der quergestreiften Muskulatur, Arch. klin. Chir., 202, 677, 1941
 ⑯Murphy, G. E.: Evidence that Aschoff bodies of rheumatic myocarditis develop from injured myofibers, J. exp. Med., 95, 319, 1952
 ⑰Murphy, G. E. and Swift, H. F.: The induction of rheumatic like cardiac lesions in rabbits by repeated focal infections with group a streptococci, J. exp. Med., 91, 485, 1950 ⑱Pfuhl, W.: Die Regeneration der quergestreiften Muskelfasern nach wachsender Degeneration, Jb. Morph. mikr. Anat., 41, 569, 1937 ⑲Weber, O.: Ueber die Neubildung quergestreiften Muskelfasern, insbesondere die regenerative Neubildung derselben nach Verletzungen, Virchows Arch., 36, 216, 1867 ④より引用 ⑳Janovitsch Tschainski: Ueber die entzündlichen Veränderungen der Muskelfasern. Studien aus dem Institute für experimentelle Pathologie in Wien, 1869 ⑦より引用 ㉑Ellis, J. T.: Necrosis and regeneration of skeletal muscles in cortisone-treated rabbits, Amer. J. Path., 32, 993, 1956 ㉒Oettgen, H. F.: Problem of "induced" development of transversely striped muscle fibers from mesodermal cells, Frankfurt. Ztschr. Path., 66, 48, 1955
 ㉓Godlewski, E.: Die Entwicklung des Skelet- und Herzmuskelgewebes der Säugetiere, Arch. mikr. Anat., 60, 111, 1902