

## nonA・nonB型肝炎の形態学的検討

吉田安雄\*  
清沢研道\*\*  
清水桂子\*\*\*  
吉田雅行\*\*\*\*

### Morphological Study of nonA・nonB Hepatitis

#### Summary

Methods of morphological proof for the virus of nonA・nonB hepatitis in the tissue of twenty-five cases of hepatoma and two cases of hepatitis were studied. The LFB and the Lendrum as staining methods for inclusion body, the Orcein and the Aldehyde thionine as the staining methods for HBs antigen were used for this study.

Result: Inclusion body-like substances were notified in sixteen out of twenty-seven cases by the staining methods of inclusion body. This kind of substances is supposed to be the acidophile which has a chemical attraction to the choline radical, in consideration of the structure and the characteristic of the staining pigments of the LFB and the Lendrum. It seems to be the most probable that the substances are closely related to the virus of nonA・nonB hepatitis, because of the appearance of the substances with high rate by using the staining methods of inclusion body.

#### 1 はじめに

ウイルス性肝炎のA型肝炎およびB型肝炎は、ウイルスの発見により免疫学的方法により正確な診断がつくようになった。また、B型肝炎については一般的な色素による染色法で肝組織内の証明が広く行われている。しかし、nonA・nonB型肝炎ウイルスについては現在のところ未知といえる。

輸血後の肝炎は、思ったより減少せず、また、輸血後の90%以上、また、散在性急性肝炎の50%がいわゆる nonA・nonB型肝炎と考えられている。現在、nonA・nonB型肝炎の研究で、判明していることはチンパンジーおよびマーモセットに感染させて肝炎を発症

\* 信州大学医療技術短期大学部衛生技術学科

\*\* 信州大学医学部第二内科学教室

\*\*\* 健和会病院

\*\*\*\* 松本血液センター

させる事と、これらの動物で継代が可能といわれている事である。動物実験による電顕的検索で2種類(H株, F株)の形態的变化が証明されることから、2種類のウイルスが現在のところ考えられている。

一方、パラフィン切片での色素による一般的染色法での証明法も検討されているが、筆者らもウイルス性肝炎の証明法については免疫学的、形態学的に研究をすすめてきた。田中らの方法によると、肝炎の症例をLuxol fast blue 青法(以下LFB法)で染色したところ肝細胞内に封入体様に染まる構造物が認められたことを報告している。筆者らはこのことに着目して、LFB法ほか4種類の特殊染色法を選択して肝疾患27症例について組織内の封入体様物質の染色性について検討したので報告する。

## 2 材料および方法

材料は、剖検例および生検例25例の肝癌例と、nonA・nonB型肝炎(疑い)2例の27例の肝症例を用いた。通常の10%ホルマリン固定をして、パラフィン包埋した、染色法は、封入体染色法としてLFB法とレンドルム法それにHBs抗原染色法として、オルセイン法、アルデヒド・チオン法も導入し検討した。

### 1) 染色過程

#### <LFB法>

- 1) 脱パラフィン
- 2) 95%アルコール(10分)
- 3) LFB液(50c. 20時間)
- 4) 95%アルコール(1~2分)
- 5) 水洗(蒸留水, 20秒程度)
- 6) 0.05%炭酸リチウム(4秒~2分)
- 7) 70%アルコール(分別)
- 8) 水洗(蒸留水, 20秒程度)
- 9) ケルンエヒトロー赤(7分)
- 10) 水洗
- 11) 脱水 透徹 封入

#### <レンドルム法>

- 1) 脱パラフィン
- 2) ヘマトキシリン液(10分)
- 3) フロキシジン液(30分)
- 4) 水洗(充分)
- 5) タルトラジン液(鏡検して封入体が鮮紅色になるまで)
- 6) 脱水 透徹 封入

### 2) LFB, レンドルム法, における染色形態

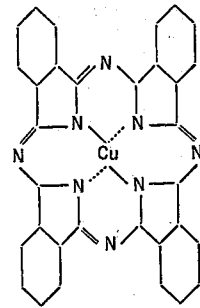
染色法	封入体	細胞質	核
LFB法	青色	青色	赤色
レンドルム法	鮮紅色	黄色	青紫色

### 3) 染色液の組成

#### <LFB法>

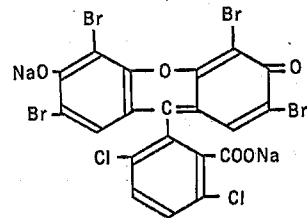
##### a. LFB液

LFB(和光) 1g



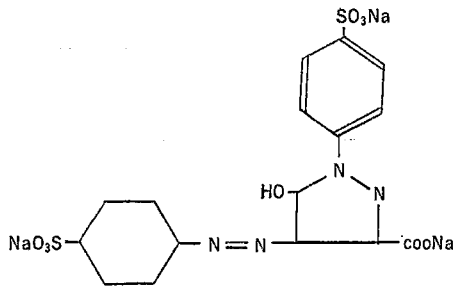
①

フタロテアニン銅



②

フロキシジン



③

タルトラジン (CI. 19140)

するスフィンゴミエリン，レンチンに対し強い親和性をもつ色素である。

#### <レンドルフ法>

##### a. 0.5%フロキシソ液

フロキシソ (和光)	1.0g
70%エタノール	200cc
塩化カルシウム	1.0g

##### b. 2.5%タルトラジン液

タルトラジン (和光)	2.5g
セロソルブ	100cc

95%アルコール 1000cc

10%酢酸 5cc

使用直前にろ過して，50°C に温め染める。

##### b. LFB 色素の構造，性質

安定した色素であり硫酸化した，フタロチアニン銅のアルコール溶性アミン塩である。（塩基性タール色素）髄症の脂質，特にコリン基を有

### 3 結果及び考察

#### <LFB 法>

本来，中枢神経の髄鞘染色法として，LFB 法が推奨されている。染色のコツは分別の程度にあるといわれていて分別に注意すれば極めて再現性が高い染色法と評価されている。良好な染色結果を得る為 LFB 液の分別時間による検討を行った，検討に用いた組織は HBs 抗原陰性，臨床的に nonA・nonB 型肝炎の疑いのある 2 例の切片を用いた。最も良好な結果が得られた例を写真 1 に示すように，染め出された肝組織内の封入体様物質は淡青色調でびまん性，乃至は局所的にみられた。このように定安し，得意的な反応を示した一つの理由として，組織の種類にもよるが今回，肝組織で筆者らの経験によると，LFB 液染色後，0.05%炭酸リチウムで切片が淡青色調になるまで分別（約 1 分間）する，次の 70%アルコールでは無色に近い淡青色調になるまで（約 30 秒）分別する。このとき切片を鏡検して結合織が青く染まり細胞質が無色に近い淡青色調であることを確認してから後染色することにより正確な染色が得られると思われた。

#### <レンドルフ法>

好酸性封入体，検出の為の最良の方法といわれているが，より優れた染色結果を得るには，タルトラジン液の染色時間が染色結果を左右する。この事を重視し，LFB 法で分別の検討をした同一切片を用い，タルトラジン液の時間別による染色性について追跡した。

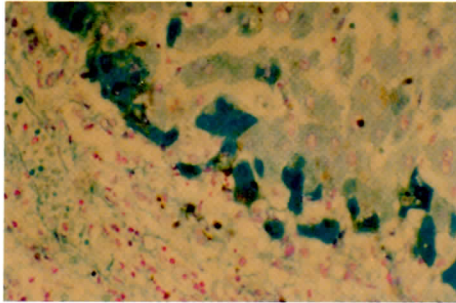
各種染色法による染色性 (表1)

症 例	封入体染色法		HBs 抗原染色法		HBs 抗原血清学的検査法
	LFB 法	レンドルム法	オルセイン法	アルデヒド・チオニン法	
肝癌例 1	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
3	±	±	-	-	+
4	±	-	-	-	+
5	±	±	-	-	-
6	+	+	+	+	+
7	+	+	-	-	-
8	+	+	-	-	-
9	+	+	-	-	-
10	+	+	-	-	-
11	+	+	-	-	-
12	+	+	-	-	-
13	+	+	-	-	-
14	+	+	-	-	-
15	+	+	-	-	-
16	+	+	-	-	-
17	+	+	-	-	-
18	+	+	-	-	-
19	+	+	-	-	-
20	±	-	-	-	-
21	±	-	-	-	-
22	±	-	-	-	-
23	±	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-
肝炎例 1	+	+	-	-	-
2	-	±	-	-	-

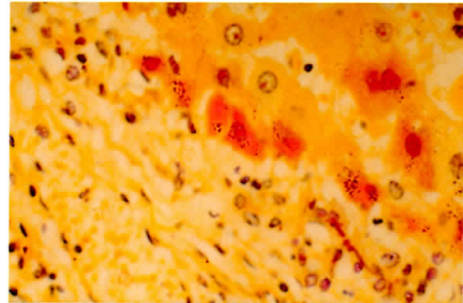
すなわち、タルトラジン液での染色時間を5, 10, 15, 20分と設定して、切片を鏡検しながら染色した結果5~8分以内での染色が最も良好な染色性を示した、タルトラジン液の処理時間は15分以上は、染色過剰となり細胞質全面が黄色調が強く封入体様物質は分別過剰の状態、全く観察困難となった。つまり鏡検下でよく観察しながら染色する事が、最も適当な処理法と言える。

特異的に染めだされた封入体物質は、LFB法の染色性状とほぼ同様に、細胞質内で、びまん性、または局在的で鮮紅色調に観察された。

この結果を基礎にして、nonA・nonB型肝炎ウイルスを形態学的に追跡した。LFB法、レンドルム法によるnonA・nonBウイルス(封入体様物質)の検出を目的として検討した結果、検討症例27例中17例(肝癌例16例、肝炎例1例)に、封入体様物質を認めた。(表1)性状は散在的、乃至は局所的で、LFB法では淡性色一濃青色調・レンドルム法では鮮紅色調に観察された。この封入体様物質は、両者の色素の構造・性質等を勘案するに、



X40 LFB 法 (写真1)



X40 レンドルム法 (写真2)

コリン基に親和性を持つ抗酸性物質と考えられる。

HBs 抗原染色法のオルセイン法、アルデヒド・チオニン法と、LFB 法およびレンドルム法との観察結果では、肝癌例16例の封入体様物質を確認した中で、HBs 抗原染色法でも3例に陽性例を認めた。(オルセイン法—茶色・アルデヒド・フクシン法—青色)その染色性状は、LFB 法、レンドルム法と一致した場所で観察された、このような所見の背景を推測するにおそらく、ウイルスの混在した形態と推定できよう。以上の如く色素による nonA・nonB 型ウイルスの染色性について検討した LFB 法・レンドルム法での封入体様物質は高率にみられ、ウイルス性の肝疾患組織に親和性があることなどを考え合せて推測すると、nonA・nonB 型ウイルスに関与した物質の可能性が高いと判断される、今後さらに研究を進めるうえにおいては免疫学的・形態学的などの方法を多くとりいれ対比しつつ追跡することが望まれる。

#### 参考文献

- 1) 志方俊夫：非A非B型肝炎ウイルス，医学のあゆみ 9：1981
- 2) 柴崎浩一：肝癌と非A非Bの電顕像 -strain-F, strain-H を中心に，日本臨床 39：1981
- 3) Roderick N. M. Macsween, Pete P. Anthony. Ppterj. Schener; Pathology of The Liver, CHURCHILL LIVNGSTONE, 1979
- 4) 田中 薫，森 亘：非A非B型肝炎ウイルス感染肝組織に観察される細胞内封入体，医学のあゆみ 118：1981
- 5) 佐野 豊：組織学研究法，南山堂 1977
- 6) 寺島 寛：病理形態検査，医学書院 1978
- 7) 吉田安雄：肝炎ウイルスの病理組織学的検査法，第17回関東甲信臨床衛生検査学会 1980

(1986年9月30日 受付)