

化学的消化法を用いた肝表在毛細リンパ管の走査型電子顕微鏡的研究 — 硬変肝について —

徳光 誠司

肝被膜を用手剥離した後に化学的消化法 (HCl-collagenase 法) を利用する被膜剥離後化学的消化法を用いて、硬変肝の肝表在毛細リンパ管を走査電顕で観察し、次のような結果を得た。

1. 肝硬変では毛細リンパ管が減少していることと強い線維化のため、本法では一部の毛細リンパ管を非自由表面から観察することができたにすぎなかった。
2. 内皮細胞の小孔はほとんど観察されず、一般的な毛細リンパ管の形態であった。
3. 内皮細胞間隙の近傍に存在するいわゆるアンカリングフィラメントを三次元的に観察することができた。それは、内皮細胞の表面から微細網目状の構造で、周囲の結合組織へ束を形成しながら移行していた。

(平成4年10月24日採用)

Scanning Electron Microscopic Study of the Capsular Lymph Capillaries of Liver by Chemical Digestion Method — Observation of Cirrhotic Liver —

Seiji Tokumitsu

This report describes the scanning electron microscopic features of capsular lymph capillaries of the liver. The all materials were obtained from surgically resected cirrhotic liver with HCC. All of specimen were treated with the chemical digestion method (HCl-collagenase method) after mechanical capsule stripping.

1. Only a small number of the capsular lymph capillaries were observed in liver cirrhosis due to decreased lymph capillaries in them with dense connective tissue.
2. On viewing the external surface of capsular lymph capillaries, pores were scarcely present inside the endothelial cells, but were identical with those seen in other organs.
3. The three-dimensional structures of so-called anchoring filaments were well demonstrated. These filaments composed of fine reticular fibers, forming various sized bundles, arose from the surface of the endothelial cells near intercellular space and fused into the connective tissue adjacent to the lymph capillaries. (Accepted on October 24, 1992) *Kawasaki Igakkaishi* 18(3):191-196, 1992

Key Words ① Liver cirrhosis ② Lymph capillary
③ SEM ④ Chemical digestion method

緒 言

肝臓はリンパに富む臓器¹⁾であるが、肝リンパに関する形態学的な研究は生理学的なものに比較して少なく、成書においてもその記載は乏しい。^{2)~4)} 筆者は、肝表在リンパ管が肝表面に豊富に存在すること⁵⁾に注目し、化学的消化法を用いた肝表在毛細リンパ管の走査型電子顕微鏡(以下、走査電顕と略す)的観察を正常肝および特発性門脈圧亢進症(以下、IPHと略す)肝において行い、その立体的構築と非自由表面の微細構造を明らかにした。⁶⁾ 硬変肝においては、肝リンパの量的のみならず質的变化があるとされている。^{4) 7)} そこで、肝表在毛細リンパ管を同様な方法を用いて走査電顕的に観察したので報告する。

材料および方法

1. 材 料

材料は肝細胞癌(単結節型)合併肝硬変症例(46歳、男性)の外科的切除肝の非癌部の一部を使用した。組織学的には乙型肝炎硬変であった。

2. 方 法

既報⁶⁾のごとくである。すなわち、材料を被膜を含む約5×5×5mmの小組織片に切り出し2%グルタルアルデヒド加磷酸緩衝液で約24時間浸漬固定した。0.1M 磷酸緩衝液で洗浄し、肝被膜をピンセットを用いて用手剝離した後、8NのHClに60°Cで約70分間浸漬しさらに同緩衝液で洗浄後、10mg/10ml collagenase (Worthington type II)加磷酸緩衝液に37°Cで6~12時間浸漬し消化した。蒸留水で洗浄後、エタノール列脱水し、酢酸イソアミル浸漬、臨界点乾燥、Auスパッタコーティングし、走査電顕JSM-T300型を用いて加速電圧10~15kVで観察した。

結 果

結合組織線維に埋もれ、わずかに屈曲しながら走行する表面平滑な脈管構造物が非自由表面を一部露出して、走査電顕的に観察された(Fig. 1 矢頭)。拡大を上げて観察すると(Fig. 2)、この脈管構造物の径は10μmより少し太く、周細胞は観察されなかった。非自由表面には小溝が不規則な亀甲状に配列しているのが観察された(矢頭)。Figure 2の右上部(矢印)を更に拡大して観察すると(Fig. 3)、小溝は不連続性に不規則な亀甲状配列を示していた(矢頭)。その他に小孔が少数観察された(小矢印)。小溝の近傍では周囲の結合組織と連続する微細網状の線維が表面に付着しているのが処々で観察された(矢印)。この脈管構造物は表面平滑で周細胞がないこと、また非自由表面で観察された不規則な亀甲状に配列した小溝は内皮細胞間隙に相当するもので、リンパ管と考えられ、径からは毛細リンパ管と考えられた。小溝の近傍に観察された微細網状の線維はいわゆるアンカリングフィラメントに相当すると考えられた。Figure 4は別の毛細リンパ管であるが、上述の微細網状の線維は非自由表面から微細な網目状に広がる線維として観察され、それが線維束(矢頭)になって、周囲の結合組織線維に連続することが明瞭に観察された。またFigure 4では小溝(矢印)は一部で観察されたのみであり、小孔はみられなかった。

考 察

被膜剝離後に化学的消化を行うことにより、筆者ははじめて、肝被膜結合組織内の毛細リンパ管を走査電顕的に非自由表面から三次元的に観察することが出来、報告した。⁶⁾ そして、肝表在毛細リンパ管は注入法⁵⁾で実体顕微鏡的に確認

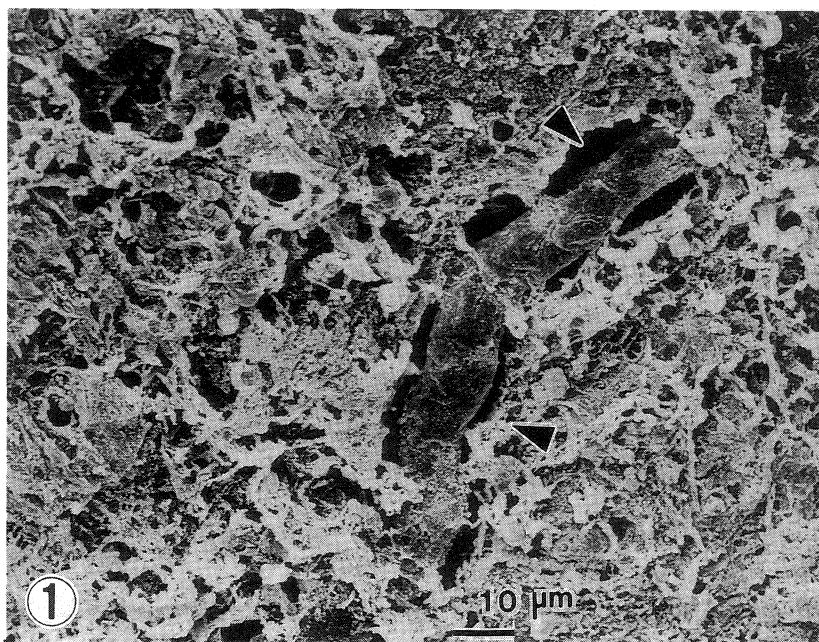


Fig. 1. Scanning electron micrograph (SEM) under treatment of chemical digestion after liver capsule stripping. Capsular lymph capillary (arrow heads) are demonstrated in connective tissue.

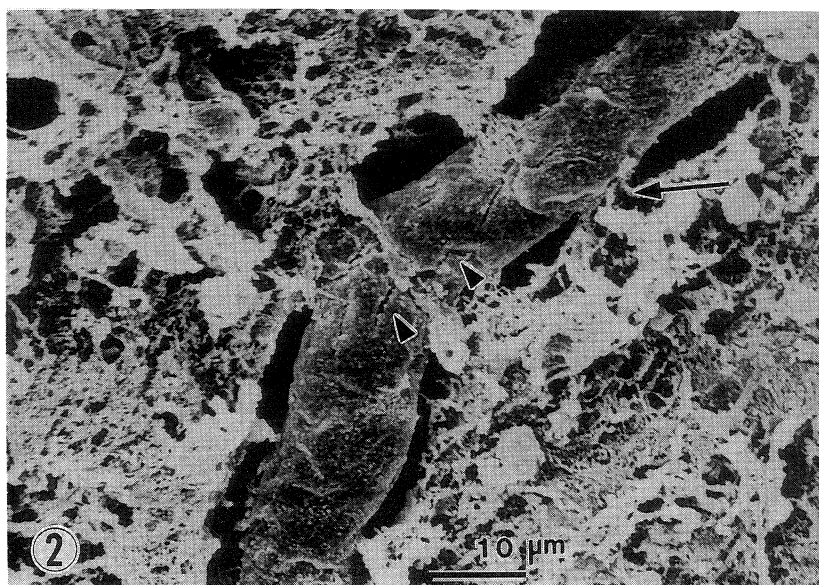


Fig. 2. High magnification of capsular lymph capillary seen in Fig. 1. The external surface of it has small fissures (arrow heads) correspond to intercellular space. The arrow part is magnified in Fig. 3.

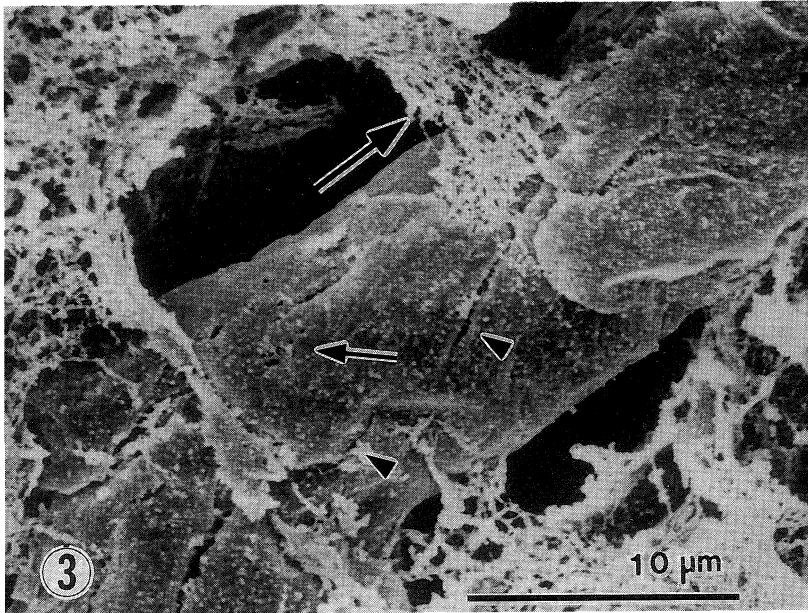


Fig. 3. The fissures (arrow heads) and the fibers (arrows) corresponded to intercellular space and anchoring filaments, respectively. Small pores (small arrow) inside the endothelial cell are observed.

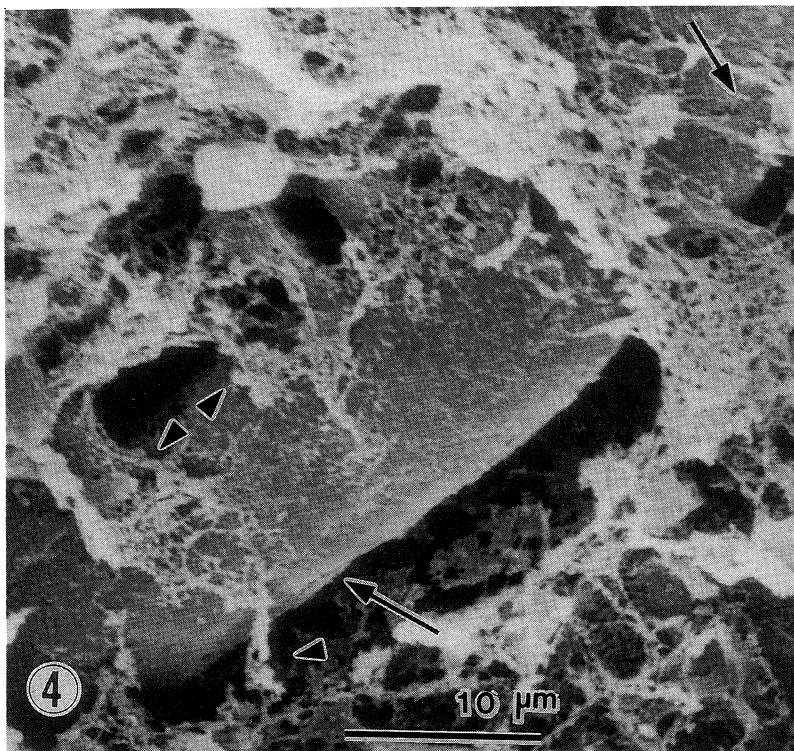


Fig. 4. SEM of another capsular lymph capillary in same specimen. The anchoring filaments (arrow heads) fuse into the connective tissue adjacent to lymph capillary. The intercellular space (arrow) are demonstrated.

されているように、正常肝とIPH肝では網目状の走行をしており、それを非自由表面から観察できた。⁶⁾ 毛細リンパ管の一般的な形態学的特徴は、周細胞が存在しないこと、アンカリングフィラメントが存在すること、内皮細胞間隙を持つことである。^{8), 9)} 筆者が正常肝とIPH肝において非自由表面から観察した肝被膜内の毛細リンパ管には、これらの特徴的な所見以外に、内皮細胞に小孔が存在していた。そしてこの内皮細胞の小孔は、肝ではリンパの量が多く、更にその含有蛋白量が血漿に近い程多いことによる肝毛細リンパ管に特異的なものであると考察した。⁶⁾

乙型肝炎硬変の2症例の剖検肝についても同様な方法で観察したが、毛細リンパ管は観察できず、外科的生検材料で行われた本症例のみで観察されたにすぎなかった。それもごく一部のみが観察された。正常肝では剖検肝でも毛細リンパ管を十分に観察できたが、⁶⁾ 硬変肝では外科的生検材料で行われた本研究においてのみ観察され、しかも毛細リンパ管のごく一部を観察しえたにすぎない。従って、肝硬変では材料が剖検肝や生検肝であることには関係なく、被膜下の結合組織層が厚く非常に結合組織線維が多いために筆者の行った方法は方法論的に硬変肝には適していないとも考えられる。しかし、肝硬変では強い小葉構造の改築と線維化のため表在毛細リンパ管の網目状走行は正常より粗大化し、毛細リンパ管網の数は減少しているとされている。¹⁰⁾ 従って、本研究でもごく一部の毛細リンパ管しか観察できなかったものとも考えられた。

本研究で観察された毛細リンパ管は、一般的な毛細リンパ管の形態学的特徴^{8), 9)}を示し(Figs. 1, 2)、内皮細胞の小孔もほとんど観察されなかった(Figs. 3, 4)。肝硬変では、類洞内皮細胞の変化—いわゆるcapillarization—やディッセ腔の線維化によりリンパの蛋白濃度が低下するとされている。^{4), 7)} すなわち、一般臓器組織のリンパの質に近くなり、正常肝におけるような血漿に近い、高蛋白濃度のリンパを吸収

する必要がなくなっている。従って、硬変肝の毛細リンパ管では肝以外の毛細リンパ管に類似した形態を示すものと考えられ、筆者が正常肝で観察した内皮細胞の小孔が殆ど存在しなかったものと考えられる。しかしさらに、慢性肝炎から肝硬変への移行過程にある症例の検討などが必要である。

アンカリングフィラメントについては、Gerliら¹¹⁾の組織化学的および超薄切片の透過型電子顕微鏡(以下、透過電顕と略す)による詳細な研究がある。アンカリングフィラメントは透過電顕的に、内皮細胞間隙近くの内皮細胞の外表面から周囲の結合組織に連続して観察される¹²⁾が、Gerliらは組織化学的な研究もあわせて行い、このいわゆるアンカリングフィラメントをfibrillar elastic apparatus around lymph capillariesとして報告している。¹¹⁾そして、fibrillar elastic apparatusは毛細リンパ管の表面に着いた複数のoxytalan fiberがelaunin fiberと集束されてelastic fiberに連結しているものとしていている。本研究で観察された、ほとんどのものが内皮細胞間隙の近傍に存在し、明らかに内皮細胞の表面から微細網目状の構造で周囲の結合組織へ束を形成しながら移行していた(Figs. 3, 4)。この構造は、fibrillar elastic apparatusを非自由表面から三次元的にはじめて観察できたものと考えられる。この構造が消化をまぬがれて残存したのは弾性線維成分で形成されているからであろう。

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を賜った川崎医科大学附属川崎病院内科 小林敏成教授に深甚なる謝意を表します。

また試料を提供していただいた病理部 伊藤慈秀教授および外科 小山豆甫講師に深謝いたします。

技術的援助をいただいた上平正子氏、増地智子氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Yoffey, J. M. and Courtice, F. C. : Lymphatics, lymph and lymphomyeloid complex. London and New York, Academic Press. 1970, pp. 229—236
- 2) 藤田尚夫, 藤田恒夫 : 標準組織学 (各論). 東京, 医学書院. 1984, pp. 139—157
- 3) 金村泰輔 : 肝臓の構築. 「人体組織学 4. 消化器」(山本寅男, 渡辺陽之輔編), 東京, 朝倉書店. 1987, pp. 269—279
- 4) Barrowman, J. A. : Hepatic lymph and lymphatics. *In Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. ed. by McIntyre, N., Benhamou, J. P., Bircher, J., Rizzetto, M. and Rodes, J. Oxford, New York, Tokyo, Oxford University Press. 1991, pp. 37—40
- 5) 北爪伸仁 : ヒト肝表在リンパ管の正常構築に関する研究. 肝臓 24 : 581—590, 1983
- 6) 徳光誠司 : 化学的消化法を用いた肝表在毛細リンパ管の走査型電子顕微鏡研究. 川崎医学会誌 17 : 1—10, 1991
- 7) Henriksen, J. H., Horn, T. and Christoffersen, P. : The blood-lymph barrier in the liver. A review based on morphological and functional concepts of normal and cirrhotic liver. *Liver* 4 : 221—232, 1984
- 8) 森 堅志 : 末梢リンパ管の形態学的研究法, 微細構造並びに血管との位置関係. 解剖誌 54 : 1—20, 1979
- 9) Krstic, R. V. : *Human Microscopic Anatomy*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag. 1991
- 10) 渡邊清治 : ヒト肝硬変に於ける肝リンパ管の改築像に関する研究. 肝臓 31 : 1164—1175, 1990
- 11) Gerli, R., Ibba, L. and Frushelli, C. : A fibrillar elastic apparatus around human lymph capillaries. *Anat. Embryol.* 181 : 281—286, 1990
- 12) Leak, L. V. and Burke, J. F. : Ultrastructural studies on the lymphatic anchoring filaments. *J. Cell. Biol.* 36 : 129—148, 1968