

ヒトとウサギの大動脈弾性組織構築

岡山大学医学部第二解剖学教室 (指導: 村上宅郎教授)

劉 晶潔・大谷 修・菊田 彰夫
大塚 愛二・田口 勇仁・村上 宅郎

医療法人社団光生病院

佐 能 正

(昭和62年12月24日受稿)

Key words : aorta, elastic tissue, scanning electron microscopy, human, rabbit

はじめに

大動脈は主に平滑筋細胞, 膠原線維, 弾性線維および基質成分から構成されており, そのうち特に弾性線維に富んでいるので, 弾性動脈と言われている¹⁾. この弾性線維は, 管壁にかかる圧を分散させるなどの重要な機能を果していると考えられている^{2,3)}. Ayerら(1958)⁴⁾は, Hass(1942)⁵⁾の記載したギ酸処理法を用いて大動脈の弾性組織構築を光学顕微鏡と電子顕微鏡で観察し, Carnesら(1977)⁶⁾と, Hartら(1978)⁷⁾は, 未固定ヒト大動脈を水酸化ナトリウム処理, 走査電顕観察し, 中膜の弾性組織は弾性板と板間の弾性線維からなることを示した. Songら(1985)⁸⁾はヒツジ, イヌ, ウサギ, ネコ, ラットの未固定の胸部大動脈を水酸化ナトリウム処理し, 増田(1984)⁹⁾はヒト, ウサギ, ラットの未固定の大動脈をギ酸処理, 走査電顕観察して, 弾性板の層数と壁の厚さには種差があるが, 他の構築には明らかな差がないとした.

一方, Smith(1976)¹⁰⁾はウサギ大動脈を固定後に引き裂いて, 中膜の弾性組織を走査電顕観察し, 弾性板は幅の広い弾性線維と, その間を直角に連絡する弾性細線維からなるとし, Wasanoら(1983)¹¹⁾はラットの大動脈を固定後にギ酸処理し, 走査電顕観察することにより, 弾性組織の三次元的構築を明らかにしたが, 彼の示した弾性板も板間線維も表面が平滑で膜状

である. このような弾性組織についての所見の相違は, 処理方法の違い, 特に, あらかじめ組織を固定するか否かによると考えられる. そこで, 我々は, ヒトとウサギの固定および未固定の胸部大動脈をギ酸処理して, その弾性組織を走査および透過電顕観察した.

材料と方法

成体のウサギ(3-4kg) 4羽の胸部大動脈と非血管性疾患で死亡した5人の日本人剖検例の胸部大動脈を用いた.

1. 走査電顕

ヒトとウサギの大動脈を2群に分け, 一方は, 未固定のまま, 他方はホルマリン固定して, いずれも, 横断面, 縦断面, 正接面が観察できるように, 3 X 2mmに細切し, 加温した88%ギ酸(45°C)に, 組織が半透明になるまでつけた. これに要した時間は, ウサギの未固定組織で約20時間, 固定組織で約40時間であった. ヒトの組織は, 固定, 未固定いずれも18-20日ギ酸処理した. ウサギの一部の組織は半透明になる以前にギ酸処理を中止した. 組織は蒸留水で約12時間洗浄し, 1%タンニン酸で約6時間導電染色(Murakami, 1973)¹²⁾した後, 蒸留水で約6時間洗浄し, 1%OsO₄で約12時間後固定した. エタノール系列で脱水後, 臨界点乾燥, 金蒸着して, 加速電圧15kVで走査電顕観察した.

2. 透過電顕

ウサギの大動脈を2.5%磷酸緩衝グルタル・アルデヒドで固定し、細切し、一部は走査電顕の場合と同様にギ酸処理した後、残りは無処理で、1%タンニン酸に1時間、OsO₄に1時間浸漬して固定し、エタノール系列で脱水、エポキシ包埋し、超薄切片を作製し、ウラニウムと鉛の二重染色を施して、透過電顕観察した。

3. 光学顕微鏡

ギ酸処理したウサギの大動脈をエタノール系列で脱水し、パラフィン包埋して横断面の切片を作製し、アルデヒド・フクシン染色し、光学顕微鏡観察した。

結 果

1. 走査電顕観察

(1) ウ サ ギ

半透明になる以前にギ酸処理を中止した大動脈の内弾性板の表面は不規則で凹凸を示し、ほぼ円形または卵円形の小孔をもつ窓膜状を呈していた(図1)が、半透明になるまでギ酸処理した大動脈の内弾性板は互いに融合、分岐する細い弾性線維から構成されていた(図2)。後者の場合、内弾性板はほぼ血管の長軸方向に走行する直径の比較的大きい線維と、その間を斜めに走る細い線維とからなり、所々に円形また

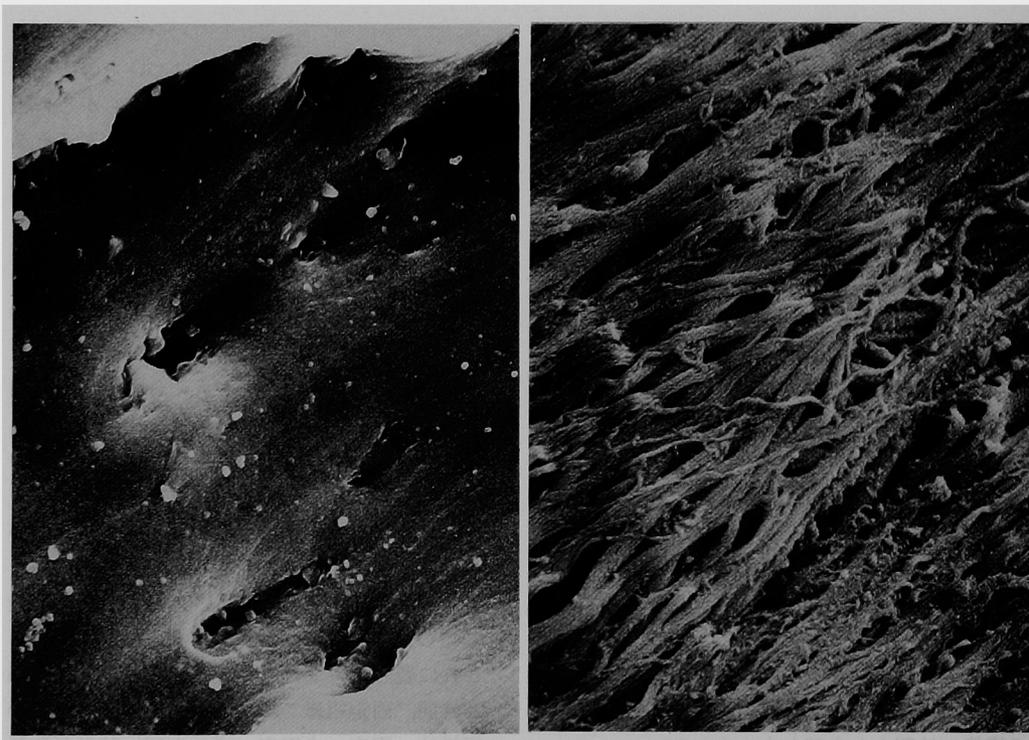


図1 短時間ギ酸処理したウサギの未固定大動脈の走査電顕写真。小孔を持った膜状の内弾性板が見える。×3000。

図2 半透明になるまで十分にギ酸処理したウサギの未固定大動脈の内弾性板の走査電顕写真。弾性細線維の集合からなる弾性線維が、ほぼ血管の長軸方向に走り、分岐と吻合を繰り返して網状の内弾板を形成している。弾性線維間に、図1の小孔に対応する孔が見られる。×5000。

は卵円形の小孔を持つ立体的な網目で構成されていた。

縦断面では、約30層の層状に配列した弾性板が明瞭に認められた。弾性板の厚さは約2—4 μm であった。半透明になるまで十分ギ酸処理した大動脈の弾性板は、ほぼ平行に走る細い弾性線維が融合、分岐を繰り返して形成された網状構造であった(図3)。層と層の間には、種々の大きさの弾性線維が存在し、これらは互いに融合、分岐して樹枝状を呈しており、隣接する弾性板と融合していた。各々の弾性線維は表面が凹凸を示し、細線維(直径約50 nm)の集合からなっていた。外膜側に近づくにつれて弾性線維は少なくなっていたが、明確な外弾性板は認められなかった。外膜の弾性線維は星状に分岐したり、融合したりして、不規則で疎な網状を呈していた(図4)。弾性線維に纏わり付くような細線維は認められなかった。

正接面では、弾性板間の弾性線維が明瞭に観察された(図5)。細い線維は次第に融合して粗い束状となって、隣接する弾性板と接合していた。6—7度傾けて撮った対の走査電顕写真を立体視すると、弾性板間の弾性線維は平滑筋細胞を入れるための紡錘形の空間を取り囲むように配列していた(図6)。

(2) ヒ ト

ヒトの大動脈壁には、50—60層の弾性板(厚

さ2—4 μm)が認められた。内膜、中膜、外膜の弾性板の境界は明瞭ではなく、全体的にほぼ平行に、規則的に層状に配列していた(図7)。しばしば不規則な断裂が弾性板間に見られた。

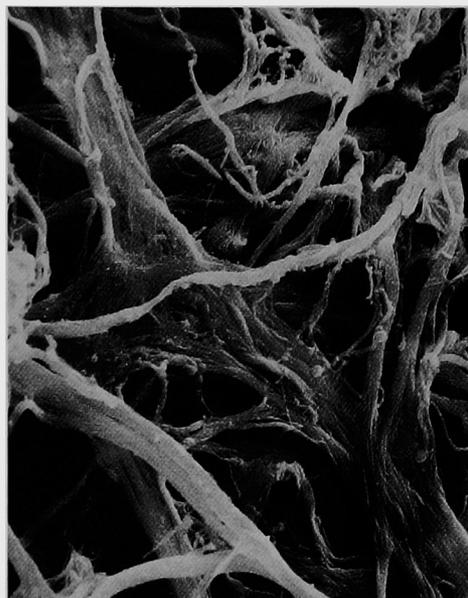


図4 十分ギ酸処理したウサギの大動脈外膜の走査電顕写真。弾性線維が分岐と吻合を繰り返して不規則で疎な網目を形成している。×2000。

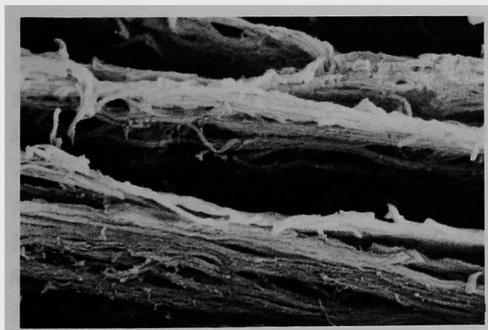


図3 十分ギ酸処理したウサギの未固定大動脈中膜の走査電顕写真(縦断面)。ほぼ平行に走る弾性線維が分岐と吻合を繰り返しながら網状の弾性板を形成している。弾性線維中には弾性細線維が見える。×1470。

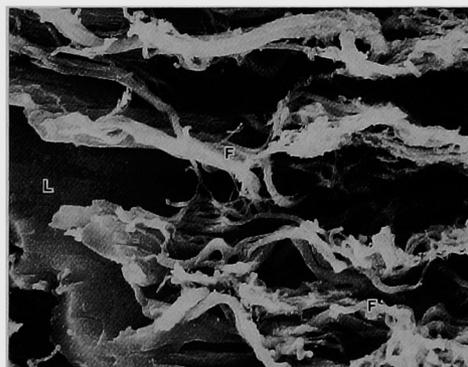


図5 比較的短時間ギ酸処理したウサギ大動脈中膜の走査電顕写真(正接面)。弾性板間の細い多数の弾性線維(F)が次第に融合して太くなり弾性板(L)に接合している。×2070。

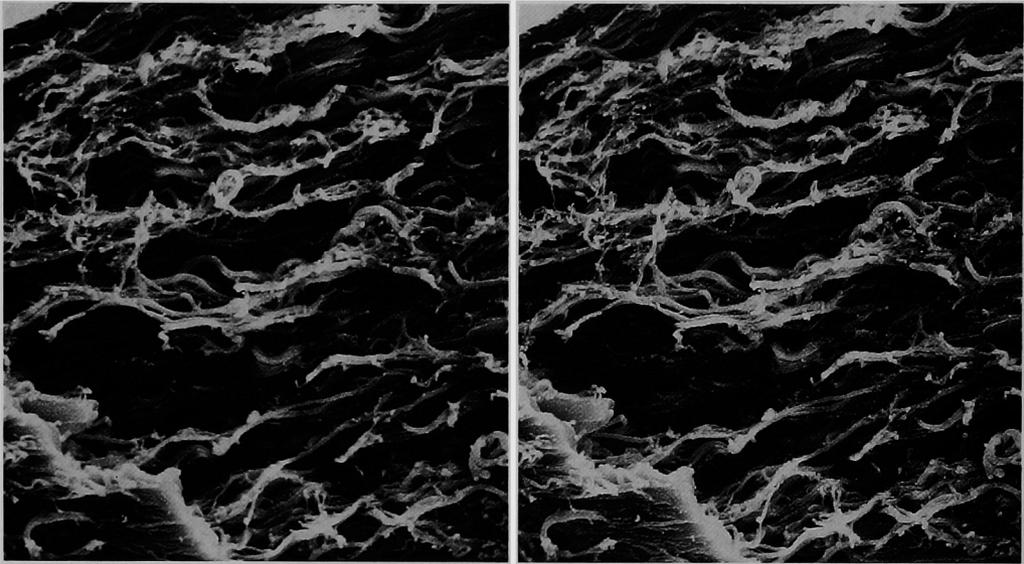


図6 未固定で比較的短時間ギ酸処理したウサギ大動脈中膜の走査電顕写真(正接面, ステレオ)。弾性板間の弾性線維が平滑筋細胞を入れるためと思われる紡錘型の空間を取り囲むように配列している。×1500。



図7 ホルマリン固定後、ギ酸処理したヒト大動脈中膜の走査電顕写真(横断面)。弾性線維の集合で形成された弾性板が層状に配列している。×1000。

弾性板はウサギと同様に細い弾性線維の集合した網目状構造をしていた(図7)。弾性板間の弾性線維はウサギより多く、束状の融合と、樹枝状の分岐を繰り返した密な立体的網状構造であった。弾性線維は細線維の集合として観察された。

2. 透過電顕観察

ウサギの無処理の大動脈の透過電顕観察では、弾性線維、膠原線維、平滑筋細胞、基質などが明瞭に認められた(図8)。ギ酸処理した大動脈では、ほぼ平行に配列する弾性板とそれから伸びた板間の弾性線維のみが認められた(図8)。

3. 光学顕微鏡観察

ギ酸処理した大動脈のパラフィン切片をアルデヒド・フクシンで染色して光学顕微鏡観察すると、紫色に染められた弾性組織が層状に認められ、平滑筋や膠原線維は認められなかった。

考 察

本研究では、未固定、固定いずれの組織も、半透明になるまで加温ギ酸処理すれば、同様に弾性組織が抽出されるが、固定した場合、ギ酸

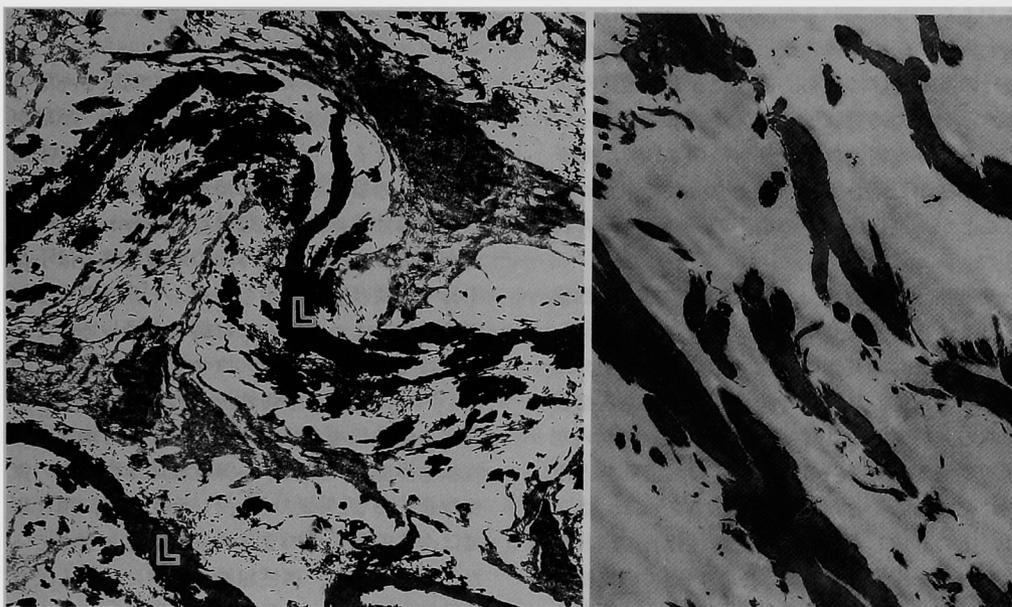


図8 ウサギ大動脈の透過電顕写真。左：無処理標本。弾性板(L)の他に膠原線維や細胞成分が見える。×2000。右：ギ酸処理標本。弾性板とそれから伸びた板間の弾性線維のみが見える。×2000。

処理時間が長くなるのが明かとなった。本研究は、また、Carnesら(1977)⁹⁾、Hartら(1978)⁷⁾、増田(1984)⁹⁾、Songら(1985)⁸⁾と同様に、化学的処理によって得られた大動脈の弾性組織は弾性線維と、線維間が無定型物質で埋められた弾性板とからなることを示した。

一般に、Greenleeら(1966)¹³⁾が記載したように弾性線維が2つの構成要素、すなわち弾性細線維(elastic fiber microfibrils; Ross and Bornstein, 1969⁴⁾)とエラスチン(elastin)と呼ばれる無定型物質とからなると考えられている(Ross, 1973)¹⁵⁾。本研究で十分にギ酸処理した大動脈の弾性線維の表面には凹凸が見られ、弾性線維中に細線維が多数認められたのは、ギ酸処理によりエラスチンが溶出して弾性細線維が露出したためと考えられる。Kewleyら(1977)¹⁶⁾も仔ウシの項韌帯を塩化グアニジンとコラゲナーゼで処理、走査電顕観察して、弾性線維中に細線維が存在することを示している。

Smith(1976)¹⁰⁾が報告したような弾性線維に纏わり付く弾性細線維は認められなかった。こ

れは、長時間の加温ギ酸処理によって、弾性線維の表面の細線維が破壊されたためとも考えられるが、Smithは固定以外に特別な処理を施していないので、膠原線維も一緒に弾性線維と見なしている可能性がある。事実、化学的処理でも、組織を低温(25℃)の水酸化ナトリウム水溶液で数日間処理すると、細胞成分のみが溶解されて膠原線維を含む結合組織線維が本来の位置と形態を変えることなく抽出される(Ohtani, 1987)¹⁷⁾。

本研究は、Crissmanら(1984)¹⁸⁾や増田(1984)⁹⁾が述べているように、血管の弾性組織が、互いに連絡した弾性線維で構成された一続きの網状構造であることを示した。このことは、血管壁の弾性組織が、全体的に一つの機能単位として働いていることを示していると考えられる。このような大動脈の弾性組織の統一性が、血管壁を大きな圧に耐えさせ、管壁にかかる圧を分散させるための重要な条件であると考えられる。

加齢に伴い高血圧症の発病率が増加すること

は、よく知られているが、山本(1972)¹⁹⁾は、ヒト大動脈の中膜の弾性板に加齢とともに断裂、走行の乱れ、けば立ち、直線化などの変化が生じ、そのために動脈壁の伸展性が低下している。弾性構造の統一性が破壊されて、動脈の伸展性が低下し管内の圧力を分散できなくなることが、高血圧などの病因の一つと考えられる。

大動脈は、弾性組織、膠原線維、平滑筋細胞などによって、一つの統一体となっている。しかし、これらの要素の立体的な関係は、十分には解明されておらず、今後さらに研究する必要がある。特に、弾性線維と膠原線維の相互の立体的関係が解明できれば、同様な構造物を人工的に合成することが可能となるであろう。さらに、その合成した膠原線維と弾性線維の網状構造物中で平滑筋細胞を培養し、内面に内皮細胞を培養すれば、正常の血管と同じように生理的に機能する人工血管の作製も可能となるであろう。

結 語

ヒトとウサギの未固定と固定大動脈をギ酸処理し、走査および透過電顕で観察した。組織が半透明になるまでギ酸処理すれば、固定、未固定いずれの場合も同様の弾性組織構築が観察された。弾性線維は弾性細線維の集合から成っていた。内弾性板は、短時間のギ酸処理では小孔を持った膜状構造を示したが、十分処理すると弾性線維によって織られた網状を呈していた。中膜はヒトで50—60層、ウサギで約30層のほぼ同心円状に配列した弾性板からなっていた。縦走する弾性線維が分岐、融合しながら網状の弾性板を形成し、隣接する弾性板間は樹枝状の弾性線維でつながっていた。したがって、弾性組織は全体的に一つの立体的網状構造となっていた。このことは、弾性組織が管壁に加わる圧力を分散させるという機能と深く関係していると考えられる。また、弾性板の断裂などによる弾性構造の統一性の破壊が加齢に伴う高血圧症の発症率の増加と関連していると考えられる。

文 献

1. Fawcett D W: A textbook of histology. W B Saunders, Philadelphia, 1986.
2. Glagov S and Wolinsky H: Aortic wall as a 'two-phase' material. *Nature* (1963) 199, 606—608.
3. Wolinsky H and Glagov S: Structural basis for the static mechanical properties of the aortic media. *Circ Res* (1964) 14, 400—413.
4. Ayer J P, Hass G M and Philpott D E: Aortic elastic tissue. Isolation with use of formic acid and discussion of some of its properties. *A M A Arch Pathol* (1958) 65, 519—544.
5. Hass G M: Elastic tissue. I. Description of a method for the isolation of elastic tissue. *Arch Pathol* (1942) 34, 807—819.
6. Carnes W H, Hart M L and Hodgkin N M: Conformation of aortic elastin revealed by scanning electron microscopy of dissected surfaces. *Adv Exp Med Biol* (1977) 79, 61—70.
7. Hart M L, Beydler S A and Carnes W H: The fibrillar structure of aortic elastin. *Scanning Electron Microscopy / 1978 / II* (1978), 21—28.
8. Song S H and Roach M R: A morphologic comparison of aortic elastin from five species as seen with the scanning electron microscope. *Acta anat* (1985) 123, 45—50.
9. 増田茂: 大動脈弾性組織の走査電顕による研究—3種の動物における相違点を中心に。脈管学 (1984) 24, 119—125.
10. Smith P: A comparison of the orientation of elastin fibers in the elastic laminae of the pulmonary trunk and aorta of rabbits using the scanning electron microscope. *Lab Invest* (1976) 35, 525—529.
11. Wasano K and Yamamoto T: Tridimensional architecture of elastic tissue in the rat aorta and

- femoral artery — A scanning electron microscope study. *J Electron Microsc* (1983) 32, 33—44.
12. Murakami T: A metal impregnation method of biological specimens for scanning electron microscopy. *Arch Histol Jpn* (1973) 35 : 323—326.
 13. Greenlee T K Jr, Ross R and Hartman J L: The fine structure of elastic fibers. *J Cell Biol* (1966) 30, 59—71.
 14. Ross R and Bornstein P: The elastic fiber. I. The separation and partial characterization of its macromolecular components. *J Cell Biol* (1969) 40, 366—381.
 15. Ross R: The elastic fiber. A review. *J Histochem Cytochem* (1973) 21, 199—208.
 16. Kewley M A, Steven F S and Williams G: The presence of fine elastin fibrils within the elastin fiber observed by scanning electron microscopy. *J Anat* (1977) 123, 129—134.
 17. Ohtani O: Three-dimensional organization of the connective tissue fibers of the human pancreas. A scanning electron microscopic study of NaOH treated tissues. *Arch Histol Jpn* (1987) 50, 557—566.
 18. Crissman R S and Pakulski L A: A rapid digestive technique to expose networks of vascular elastic fibers for SEM observation. *Stain Technology* (1984) 59, 171—181.
 19. 山本秀雄：加齢に伴う人大動脈壁の伸展性並びに形態学的変化に関する研究, 及びそれ等と粥状硬化症との関連について. *久留米医学会誌* (1972) 35, 1714—1734.

The organization of the elastic tissues of the human and rabbit aorta

Jing-Jie LIU, Osamu OHTANI, Akio KIKUTA, Aiji OHTSUKA

Takehito TAGUCHI, Takuro MURAKAMI and Tadashi SANO

Department of Anatomy, Okayama University Medical School,

and Kousei Hospital, Okayama 700, Japan

(Director : Prof. T. Murakami)

The organization of the elastic tissues of the human and rabbit aorta was studied by scanning and transmission electron microscopy of tissues treated with 88% formic acid at 45°C. When the tissues were treated with formic acid until they became semitransparent, fixed tissues showed the same organization of the elastic tissues as unfixed tissues. When tissues were treated with formic acid for a short time, the intimal elastic lamina was observed as a plate with numerous small pores or fenestrae, whereas long treatment revealed that the lamina consisted of a network of elastic fibers. The tunica media consisted of concentrically arranged elastic lamellae. There were 50-60 elastic lamellae in humans and about 30 in the rabbit. The elastic fibers, that consisted of elastic microfibrils, ran longitudinally, repeatedly branching and anastomosing, and formed the network of the elastic lamella. Between the adjacent elastic lamellae stretched interlamellar elastic fibers. Thus, the elastic tissues in the aorta formed an integral network, which seems to be highly associated with the aortic function of distributing the pressure applied to the vascular wall. Disruptions of the integrity of the elastic tissue architecture may be responsible for the increased incidence of hypertension with age.