

# 汙胞性肝炎の肝組織の電子顕微鏡的研究

岡山大学医学部第一内科教室（主任小坂淳夫教授）

檀 上 博

（昭和51年2月25日受稿）

## 緒 言

慢性肝炎の肝組織ではグリソン氏鞘（以下グ鞘と略す）を中心とした持続性の炎症があり，円形細胞浸潤と線維の増生により門脈域の拡大がみられる<sup>1)2)</sup>。小坂<sup>3)4)</sup>らはかゝる慢性肝炎の中に，グ鞘の浸潤円形細胞が単なる集簇にとどまらず，その局所において芽中心を認めるリンパ汙胞を形成するものがあり，その免疫化学的および組織化学的検索から，かゝる組織表現は自己免疫反応としての組織所見の一つであると，汙胞性肝炎なる名称を提唱した。一方，慢性活動性肝炎では，限界層の破壊が特徴で，星細胞の動員と，肝細胞の変性ならびに小壊死巣などを伴う<sup>1)2)</sup>。Popper<sup>5)</sup>らは慢性肝炎経過中の肝組織で，小葉辺縁における細胞単位の実質小壊死と，その局所に起るリンパ・プラズマ系細胞を含む円形細胞浸潤，とくに彼らのいわゆる piecemeal necrosis が免疫性肝障害の組織表現の一つであると提唱し，その局所の電子顕微鏡的（以下電顕的と略す）観察も行っている。ところで最近細胞性免疫の概念がとくに注目されるようになり<sup>6)</sup>，細胞動態学的研究がめざましい発展をなして来ている。そこで汙胞性肝炎のグ鞘に形成された芽中心をもつリンパ汙胞について改めて電顕的観察により，その構成細胞を超微形態的に検討し，免疫反応の組織表現とされている他のリンパ組織のそれと比較考察するとともに，その肝小葉限界層における浸潤細胞と肝細胞の態度をも検討した結果，かゝる組織表現は，超微形態的にも慢性肝炎の病態に関連する免疫反応の形態学的表現であることを示唆する所見を得たので報告する。

## 検索症例および方法

検索対象は，岡山大学医学部附属病院第一内科において，肝生検を受け光学顕微鏡的（以下光顕的と略す）に慢性活動性肝炎と診断した症例のうちその

肝生検組織のグ鞘内にリンパ汙胞を認め，上述の汙胞性肝炎の概念に該当すると思われた6例の生検肝組織である。

電顕的観察の目的には肝生検組織の一部を2～4%グルタルアルデヒド液（0.1M 磷酸緩衝液でpH7.2に調製したもの）で2～4℃で2時間前固定後，蔗糖加等張磷酸緩衝液（pH7.2）で水洗し，2%オスミック酸一蔗糖加等張磷酸緩衝液（pH7.2）で後固定<sup>7)</sup>した。脱水はエタノール系列でおこない，Luft<sup>8)</sup>の方法でEpon 812に包埋した。Epon包埋ブロックから超マイクロームでガラスナイフを用いて厚さ1～2μの切片を作り，0.1%トルイジンブルー染色後，光顕的にグ鞘内にリンパ汙胞が存在することを確認した。そのグ鞘で芽中心をもつリンパ汙胞部（Fig. 2）と，限界層の破壊部（Fig. 3）について，それぞれの部分につゞく超薄切片を超マイクロームでガラスナイフを用いて作製した。電子染色は，1%酢酸ウラニル液<sup>9)</sup>と水酸化鉛で二重染色した。電顕的観察は，HU-11型およびJEM-7型電子顕微鏡を使用し，加速電圧50Kv，直接倍率5,000～10,000倍で行った。リンパ汙胞の細胞構成を見るためには，可能なかぎり広範囲なモニタージュ写真を作製する目的で，同一切片を低倍率（3,000倍）撮影し，合成写真を作製した。

光顕的には肝生検組織片をブアン液で固定し，エタノール脱水，パラフィン包埋して，ヘマトキシリン・エオジン，Azan-Mallory，Bielskowsky-Pap 鍍銀法，PAS，唾液消化PAS等の染色をおこない観察した。

## 成 績

対象症例でEpon包埋されていたブロックは1mm<sup>3</sup>大の生検組織片が4～5個ずつあったが，その各ブロックについて超マイクロームでガラスナイフを用いて厚さ1～2μの切片を作り，トルイジンブルー染

色して、光顕的にグ鞘内にリンパ滲胞が存在するものを探したが、リンパ滲胞の存在が確認出来たものは下記の1症例のみであった。

症例：41歳，男子，郵便局員

主訴：全身倦怠および食慾不振

家族歴：父系祖父が胃癌で死亡，同祖母が脳出血で死亡，母が気管支喘息で死亡，実兄が肺結核で治療中である。

既往歴：生来健康で特記するものはない。輸血を受けたこともなく，薬物の常用もない。なお昭和42年2月迄1合/1日程度の飲酒歴があり，喫煙は10～15本/1日であった。

現病歴：昭和36年，特に誘因なく全身倦怠および食慾不振があり，黄疸はなかったが某医院で急性肝炎と診断され，約2ヶ月間通院治療をうけ自覚症状

はなくなった。昭和42年2月，過労のあと同様な自覚症状が出現し某病院を訪れ，黄疸，肝腫，血清トランスアミナーゼの高値を指摘され入院加療をうけた。同年5月経過良好で退院し，その後外来治療をうけていたが全身倦怠感は持続していた。昭和42年8月，9月，12月の検査では，血清トランスアミナーゼが500～200 karmen 単位の動揺を示した。昭和43年3月には全身倦怠が強く，食慾不振，悪心，体重減少等が出現し，昭和43年5月22日精査の目的で当科へ入院した。

現症：肝を肋弓下に1横指径触知し，その硬度は増強し，下縁鈍で圧痛なく，表面平滑であった。脾は触れないが，その濁音界の拡大を認めた。黄疸，星芒状毛細血管怒張，手掌紅斑等も認められず，その他異常な理学的所見はなかった。検査成績は表1

Table 1 Laboratory findings

<u>hematological examinations</u>			
RBC	427×10 <sup>4</sup>	A/G ratio	1.04
Hb (Sahli)	94%	Bilirubin	0.90 mg/dl
Ht	44%	direct	0.41 mg/dl
WBC	7800	GOT	38 karmen u.
stab	3%	GPT	76 karmen u.
segment	49%	TTT	5 kunkel u.
lymph	39%	CCF	+
mono	3%	ZTT	10 kunkel u.
eosino	6%	ALP	2.0 B.U.
Reticulo	7%	Cholesterol	165 mg/dl
Platelet	8.1×10 <sup>4</sup>	Glucose	85 mg/dl
LE cell	—	Fe	178 γ/dl
bleeding time	3 min	Cu	101 γ/dl
Coagulation time (Lee-white)	10 min	IgG	2800 mg/dl
TGT	47.5%	IgM	240 mg/dl
		IgA	178 mg/dl
<u>urinalysis</u>		<u>others</u>	
protein	—	BSP	30 min 22.2%
sugar	—		45 min 17.0%
urobilinogen	±	ICG	k=0.14
<u>fecus</u>		BSR	1 hr 4 mmH <sub>2</sub> O
occult blood test	—		2 hr 6 mmH <sub>2</sub> O
parasites or ova	—	CRP	—
<u>blood chemistry</u>		RA test	+
TP	7.9g/dl	AICF	—
alubumin	5.0%	ANF	—
globulin	49.0%	DNCB	++
α <sub>1</sub>	3.5%	in vitro blastlike	
α <sub>2</sub>	8.0%	transformation of lymphocyte	
β	9.5%	PHA	60.50%
γ	28.0%		

の通りで、血清 GPT の軽度上昇、 $\gamma$  グロブリン血症、免疫グロブリンの増量、RA test 陽性、リンパ球の *in vitro* 幼若化現象異常および DNCB 陽性が認められた。

腹腔鏡検査では軽度な肝腫大を認め肉眼的に斑紋肝の状態であった。脾腫大も軽度に認めた。Vim-Silverman 針を用いて行った直視下肝生検標本では、光顕的に軽度な小葉構造の変形がみられ、小葉内では肝細胞の小壊死巣ないし単細胞壊死が散在し、類洞では Kupffer 細胞の反応が中等度に存在し、単核細胞の浸潤が軽度に見られた。グ鞘では、膠原線維の増生が見られ、リンパ球を主とする細胞浸潤が著明で集簇性であった。限界層の破壊が見られ、特に一部のグ鞘ではリンパ滷胞の形成が認められた。

(Fig. 1)。すなわち小坂<sup>3)</sup>らの提唱する滷胞性肝炎の組織所見に一致するものであった。

電顕的所見はグ鞘の芽中心をもつリンパ滷胞部とそれにつづく限界層の破壊部に分けて記載する。

1) 芽中心をもつリンパ滷胞

i) 芽中心

光顕的に明るく見える芽中心部を電顕的に観察すると、細網細胞、大型円形細胞、少数のリンパ球系細胞および大食細胞が見られ、それらの細胞の位置関係や細胞内小器管の超微構造を詳細に検討することが出来る (Fig. 4)。

細網細胞には多突起性で複雑な外形を示すものと、少数ではあるが細胞質突起が少く遊離状に見られるものがあつた (Fig. 4)。多突起性の細網細胞は、細胞膜の一部で desmosome を形成し互に密着するほかに、多数の複雑な microvilli 様の細胞小突起を有し、かゝる小突起は複雑に互にてん絡して見られた (Fig. 5)。核は不整形を呈し、核質は疎で少い。細胞質には、その伸びた側に糸粒体が比較的多く、細胞質全体に桿状の粗面小胞体が観察されるが、遊離 ribosome は少なかった (Fig. 6)。Golgi 装置は核の近くに観察された。遊離状に見られる細網細胞は、多突起性細網細胞に比べて円形に近く、細胞膜突起も少く、desmosome の形成も見られなかった。核は凹凸はあるが卵円形に近く、核質はやゝ密に分布するものが多かった。細胞質内には、少数の粗面小胞体や糸粒体があり、polysome が比較的多い (Fig. 4)。一方、Fig. 7 の如く核、細胞質内小器管がかゝる遊離状の細網細胞に類似していて、その細胞質内に多くの lysosome と考えられる、電子密度の高い顆粒や、一重の膜でとり囲まれた中に、

核質ときわめて類似した内容をもつ貧喰胞を有する細胞が散在性に観察された。

大型円形細胞は細網細胞の突起が形成する網状構造の間に遊離して観察された (Fig. 4)。この細胞は径約  $15\mu$  の円形で、核は多少の凹凸はあるがほぼ卵円形で、クロマチン顆粒の凝集が著明でない核質は一搬に疎に見える。核小体は 2~3 個明瞭に見られ、核膜に接するもの (Fig. 8)。と核中央に位置するもの (Fig. 9) があつた。細胞質内には polysome が密にびまん性に分布し、細胞質辺縁は巾の狭い均質な ectoplasm を形成し、一部で細胞膜は microvilli 様小突起を示した。糸粒体は少く散在性で、小胞体は非常に少い。Golgi 装置は核陥凹部に見られるが貧弱で明瞭でない。細胞質内に少数の電子密度の高い顆粒が見られた。胚中心では、しばしば核分裂像が見られた。Fig. 10 は、その metaphase 像で赤道板部の染色体が見られ、核膜は消失している。細胞膜は凹凸を示し、細胞質には polysome がびまん性に観察され、小胞体と糸粒体が散見される。

ii) 暗殻部

芽中心をとり囲み光顕的に暗く見える暗殻部は、主としてリンパ球系細胞からなっている。多くのリンパ球は径約  $3\sim 5\mu$  の円形で、クロマチン顆粒の豊富な卵円形ないし馬蹄形の核をもち、狭い細胞質内には、遊離 ribosome が散在し、小胞体は管状のものが少数見られ、数個の糸粒体および Golgi 装置は核陥凹部に見られた。又、電子密度の高い顆粒や空胞も散在性に見られる (Fig. 11 の  $L_1, L_2, L_3$ )。核の形態が上述のリンパ球に酷似しているが、核膜の cisterna が拡大し、細胞膜が消失して細胞質内小器管が流出している細胞 (Fig. 11 の  $L_4$ ) も少数観察された。一方、核膜は凹凸を示すが、クロマチン顆粒の分布状態等が上述のリンパ球と同様であり、細胞質の一部が広くなり、その部分に糸粒体や遊離 ribosome, polysome の多い細胞が見られた (Fig. 12)。又、Fig. 13 の如く、やゝ大型で円形の細胞も見られた。この細胞の核はクロマチン顆粒が密に分布するため芽中心で見られた大型円形細胞のそれよりも暗く見え、リンパ球の核に近い。細胞質はリンパ球に比較すると全体に巾広く、密に分布する polysome と少数の小胞体をもち、糸粒体は比較的多く、細胞質の一部に集まって見られる。これらの細胞に混って散在性に見られた形質細胞は Fig. 14 の如く、核はクロマチン顆粒が核膜に接して塊状に凝集しいわゆる車軸状を示す。RNP 顆粒が附着した

粗面小胞体は、Golgi 装置の部分のをのぞく細胞質内に層状をなして充満し、その内腔は拡大し amorphous な物質を観察した。Golgi 装置は、層板、小腔胞、空胞からなり、中心体を取り囲んで比較的広い範囲を占めている。その部分に数個の dense body が見られた。糸粒体は小胞体にとり囲まれて細胞質内に散在していた。

## 2) 肝小葉限界層部

リンパ球をもつグ鞘で、光顕的に肝小葉の限界層が乱れている部分を電顕的に観察すると、リンパ球や形質細胞が肝細胞に接して見られることがあり、又、macrophage も観察される。Fig. 15 では、種々の大きさの空胞、density の異なる顆粒、少数の糸粒体および小胞体を有する macrophage の細胞質の一部がリンパ球に接近して見られる。macrophage の細胞膜は複雑に入り込み、一部で隣接するリンパ球の細胞膜に接近している。Fig. 15 で見られるリンパ球は、肝細胞とは接して見られず、その肝細胞の organelle の変化は比較的少ない。Fig. 16 は、2 つのリンパ球が肝細胞に密着しているが肝細胞膜の一部は追跡出来ない、かかる肝細胞ではリンパ球が接していない肝細胞の小胞体 (Fig. 15) に比較して、その空胞化および RNP 顆粒の脱落消失が著明であった。核膜に平行して配列する扁平層状の粗面小胞体に富んだ形質細胞が肝細胞に非常に接近して見られる場合でも肝細胞の microvilli は消失し、特に形質細胞が密着している部分では、肝細胞の小胞体腔は拡張や断裂がみられた (Fig. 17)。また肝細胞と細胆管細胞の移行部にリンパ球や形質細胞が接して観察される場合があった。Fig. 18 では細長く伸展したリンパ球の細胞質が肝細胞と細胆管細胞の間に割り込んだように見られる。リンパ球と肝細胞の細胞膜は互に密着し、かかる部分の肝細胞内では小胞体の空胞化や RNP 顆粒の脱落消失が著しい。一方、細胆管細胞とリンパ球が接した場所では、通常細胆管細胞に見られる基底膜は観察されず、その細胆管細胞では、核膜腔の拡大や糸粒体基質の電子密度の低下等が見られる。又、Fig. 19 の如く、形質細胞が肝細胞と細胆管細胞にまたがって観察される場合もある。この肝細胞では小胞体の空胞化や断裂が見られるが Fig. 8 の場合の如くには著明でない。形質細胞と細胆管細胞の間には、基底膜は見られないが、細胆管の変化は少ない。しかし毛細胆管は狭少で microvilli 膜の不鮮明化やその腔内に電子密度の高い不規則な小同心円状あるいは円状の構造

物が見られた。

## 考 按

慢性肝炎の形態学的特徴の一つはグ鞘を中心とした円形細胞の浸潤である<sup>1)2)</sup> このグ鞘内浸潤細胞の由来は興味ある問題であり、いくつかの報告がなされている<sup>1)12)</sup> 一方、小坂<sup>3)</sup>らはこのグ鞘内のリンパ球を中心とした円形細胞浸潤が、著明な集簇として認められるのみならず芽中心を形成したリンパ球として存在する症例のあることに注目し、慢性肝炎の 1 組織型として濾胞性肝炎なる名称を提唱し、かかる症例では自己免疫機序の関与があることを報告している。近年ウィルス性肝炎の病態はオーストリア抗原 (HB 抗原) の発見以来、特に B 型肝炎について次々と新しい事実が解明されつゝある<sup>13)14)</sup>

著者の報告する症例は HB 抗原の血清学的検索が残念ながらなされていないが、電顕的に観察し得た超薄切片中には HB 抗原と考えられる粒子を認めなかった。慢性肝炎の症状には特徴的なものがなく、臨床的に慢性肝炎の診断を下すことが困難な場合が多い。したがってわが国においては肝生検による組織学的検索によって確診がなされており、その組織診断基準がきめられている<sup>15)16)</sup> 一方、その病因論に関しては Lupoid hepatitis なる疾患概念が提唱されて以来、慢性肝炎を自己免疫疾患という立場で理解しようとする考えが主になされ、この考えが慢性肝炎の理解に決定的な方向づけをしてきている。即ち慢性肝炎は種々の病因による肝細胞障害とその個体の免疫反応とのかゝりあいによって発症するものと考えられる<sup>16)</sup>

自己免疫機序によって肝炎が慢性化するという問題は、流血抗体を中心とした体液性免疫と同時に細胞性免疫との関与によるものであるが<sup>1)</sup> 近年、免疫に関与する細胞学的研究として、T 細胞、B 細胞の概念が確立され、細胞動態学的研究がすすめられると同時に、形態学的にも走査型電子顕微鏡や<sup>17)18)</sup> 透過型電子顕微鏡で<sup>19)20)21)</sup> それらの細胞の同定も出来るようになりつゝある。一方、免疫刺激によるリンパ節の反応に関しては古くから多くの研究がなされ、その超微構造的観察も報告されている。そこでこれらの報告と本症例のグ鞘にみられた芽中心をもつリンパ球の超微構造を比較検討するとともに、それにつゞく限界層の破壊部についても肝細胞と浸潤細胞との超微構造的な関係を、免疫反応の場としての立場から、その病態に検討を加えてみたい。

汙胞性肝炎と診断された症例で、電顕的検索のために肝組織片が得られた症例は6例であったが、その各症例の5~6個のブロックから、リンパ汙胞をもつグ鞘が切片として得られたものは、症例として呈示した1例のみであった。しかし本症例では臨床検査成績でも、高 $\gamma$ グロブリン血症、免疫グロブリンの高値、血中抗体異常およびDNFB陽性、in vitroでPHAによるリンパ球幼若化がみられることが示されており、光顕的にもグ鞘にリンパ汙胞が見られ限界層破壊もある典型的な汙胞性肝炎の症例である。

#### 1) 芽中心をもつリンパ汙胞部

グ鞘のリンパ汙胞を電顕的に観察すると、光顕的に明るく見える部分には大型円形細胞と細網細胞が見られた。そしてこれをとりかこむ光顕的に暗くみえる暗殻部ではリンパ球系細胞が見られ、更に形質細胞、大食細胞および核分裂像が散在して見られた。リンパ節のリンパ汙胞は、小リンパ球の結節状集合としてみとめられる1次小節と、芽中心および暗殻をもつ2次小節に区別される。この2次小節は正常なヒト胎児や無菌飼育動物にはみられず、しかも各種疾患に伴って異所的にも新生することなどから、その形成には何らかの抗原刺激が必要であるとされている。<sup>25)</sup>従来の報告では、2次小節即ちリンパ汙胞を構成する細胞は、細網細胞、大型円形細胞、大食細胞、リンパ球系細胞および形質細胞とされている。従って機能的な面は別としても細胞構成の面からすれば、著者の観察したグ鞘内のリンパ汙胞は上述の2次小節のそれと一致していた。今井<sup>22)</sup>らによればリンパ節の2次小節に見られる細網細胞は、遊離状のものと、多突起性で細胞膜が複雑に入り込みその一部でdesmosomeを形成しているものがあると記載している。著者の観察したグ鞘のリンパ汙胞でも遊離状に見えるものと、多突起性のものが見られた(Fig. 4)。多突起性の細網細胞は、Fig. 5, 6の如く細胞膜が複雑に入り込み、互にてん絡して一部でdesmosomeが見られる。核質は疎で、伸展した細胞質内に多くの糸粒体と桿状の粗面小胞体が見られ、リンパ球系細胞とは明らかに異なる。Schwarzenzdruber<sup>26)</sup>はヒツジ赤血球で感作したマウス脾臓の芽中心を電顕的に検索し、複雑に入り込んだ細胞突起をもった細網細胞はdesmosomeを形成して網状構造を示し、その細胞間にdense materialが見られることから、これらは物質を貯留させることに関係があると推論している。この様な突起をもつ細網細胞をNossal<sup>27)</sup>らは、dendritic cellと呼んで、

抗原が樹枝状突起表面に存在することを示した。断定的な結論は下さないが、dendritic cellの存在するリンパ汙胞は、抗原投与後の芽中心の再形成を含めたリンパ球の反応の場として大切であり、この場所に一致して存在するdendritic cellがその機能面でも重要な役割を果していることは、十分予測される。<sup>28)</sup>多突起性細網細胞の間には、遊離状に見える細網細胞や、核の性状が細網細胞に似ており、その細胞室内に多くのlysosomeと考えられる電子密度の高い顆粒や核質と思われる内容物を入れた貧喰胞を有する細胞が観察された(Fig. 7)。抗原刺激を受けた脾やリンパ節の芽中心で光顕的にtingible body macrophageとしてみとめられるものは電顕的には大食胞であって、他の細胞の核やcytoplasmic debrisを貧喰胞の中に取り込み、リンパ球や形質細胞の一部をその中にみられることがある。<sup>23)29)</sup> Fig. 7の細胞は核質を含喰しており、これはいわゆるtingible body macrophageと考えられる。

グ鞘に見られたリンパ汙胞の芽中心には光顕的に明るく見え、大型円形でピロニン好性を示すDameshek<sup>30)</sup>のいうImmunoblastに相当する細胞がある。これに相当する細胞は電顕的にも他の細胞に比べて大型円形を示し、クロマチン顆粒が比較的疎に見える核質の中に、核中央に核膜に接して複数の明瞭な核小体をもち、細胞質内にはびまん性に、しかも密にpolysomeが見られ、細胞膜の一部はmicrovilli様の小突起を示す。又、その細胞には少数の糸粒体、粗面小胞体および電子密度の高い顆粒も見られる(Fig. 8, 9)。このような細胞は、従来報告されたリンパ汙胞の芽中心に存在するImmunoblastの電顕所見に一致する。その他核分裂像もしばしば見られた。芽中心と暗殻部には種々の成熟度を見せるリンパ球が観察できた(Fig. 11)。従来リンパ球は、小リンパ球、中および大リンパ球に分けて記載されて来た。<sup>31)</sup>小リンパ球は、狭い細胞質、貧弱な細胞質内小器管や豊富なクロマチン顆粒をもつ核が特徴とされている。Fig. 11のリンパ球は3~5 $\mu$ の小型で類円形又は馬蹄型の核を示し、細胞質は狭く、少数の粗面小胞体と核陥凹部に糸粒体が見られる。Fig. 11のL<sub>3</sub>のリンパ球は、細胞質の一部が広くなり、その部分にGolgi装置や空胞成分が見られ、糸粒体と粗面小胞体は少く、細胞質全体に少数のribosomeとdense bodyが見られる。Fig. 12で示したリンパ球は、Bessis<sup>32)</sup>の云う大リンパ球と考えられ、その特徴は小器管すなわちGall body、空胞成

分、少数の糸粒体が核陥凹部の広くなった細胞質の部分に集中しており、ribosome と粗面小胞体は非常に少ないことである。最近、T細胞の細胞表面は比較的平滑で、B細胞のそれは microvilli 様の突起を多くもつことが走査電子顕微鏡で観察され、<sup>17)</sup>更に渡辺ら<sup>19)</sup>は、T細胞とB細胞の超微形態学的な鑑別を試み、特にリンパ球の細胞質にみられる dense body に注目し、T細胞ではこれが集合性で、B細胞では散在性にみられることを報告している。Fig. 12 のリンパ球の dense body は彼の指摘したB細胞のそれに類似しているが、末梢血のリンパ球についておこなわれた上述の超微形態的差異をそのまま適用することには問題があるかも知れない。Fig. 13 の大型の細胞は核のクロマチン顆粒の状態がリンパ球 (Fig. 12) と非常に似ている点からリンパ球系の細胞と考えられる。この細胞は、細胞質内に ribosome と polysome を豊富にもつが粗面小胞体が少くリンパ芽球<sup>21)</sup>であろう。一方、同じような場所で、一部のリンパ球 (Fig. 11 の L<sub>4</sub>) では、核膜の cisterna が拡大し、細胞膜が消失して細胞質の一部が流出しているものが見られた。形質細胞も散見され、その粗面小胞体の腔は広く拡大しており、Golgi 装置も肥大していた (Fig. 14)。これは免疫グロブリンの分泌が盛んな状態と考えられる。しかし形質細胞と他の細胞との関連は明らかに出来なかった。

以上のようにグ鞘に出来たリンパ球では、細胞質の特異な態度、Immunoblast の存在、成熟リンパ球、未熟リンパ球およびリンパ芽球が見られ、核分裂像も見られること、それらの中に形質細胞が散在すること、又、一方では、tingible body macrophage や破壊されたリンパ球の存在もあることなどから、免疫に関係した一連の細胞の分化、増殖と同時に細胞処理や細胞破壊もこの場で行われていることが超微構造的に示された。そしてこれは抗原刺激を受けた局所リンパ節で観察されている報告と一致するものである。教室の糸島<sup>22)</sup>は、肝生検組織の連続切片による肝組織構築法により、グ鞘における円形細胞浸潤の好発部位は門脈終末枝付近で最も強く、次いで門脈枝の分枝部にも認められることを報告し、リンパ流のうっ帯を起し易い部位であることを指摘している。従って肝実質での肝細胞の変性、壊死と関連して生じた何等かの抗原がリンパ流のうっ帯する場所であるグ鞘の局所で、抗原刺激として作用し浸潤リンパ球が幼若化、分裂増殖をしている場所として、このグ鞘内の芽中心をもつリンパ球

を理解することが出来よう。

## 2) 限界層部

リンパ球を形成したグ鞘の限界層部には、macrophage、リンパ球および形質細胞が見られた。Fig. 15 では、電子密度の異なる顆粒や少数の糸粒体と小胞体をもち複雑に入り込んだ細胞膜を示す macrophage の細胞質の一部が見られ、この macrophage に非常に接近して小リンパ球が観察される。macrophage は免疫反応において、抗原を細胞内にとり込み処理して免疫担当細胞 (主としてリンパ球) に受け渡すとされ重要視されている。<sup>23)</sup>一方、細胞性免疫の発現には、感作 T細胞が中心的な役割を演じており、この感作 T細胞は、対応する抗原と遭遇すると種々の生物学的活性をもった物質 (mediators) を放出すると云われている。これらの mediator のうち macrophage の機能に影響をおよぼすものもあり、このことから macrophage は細胞性免疫に直接的、間接的に関与していると云われている。<sup>23) 24)</sup>又、macrophage とリンパ球の物理的接着の報告もある。<sup>23)</sup>このことから Fig. 15 の如く、macrophage とリンパ球が接近した状態でしばしば見られることは興味ある所見である。Fig. 16 では、2個のリンパ球が、肝細胞に接して存在し一部で肝細胞膜が不鮮明になっている。このような肝細胞では直接リンパ球が接していない肝細胞 (例えば Fig. 15 の肝細胞) に比較してその organelle に種々の変化が見られた。その変化は肝細胞膜の不鮮明化、小胞体の空胞化と RNP 顆粒の脱落等である。これらの所見は肝細胞障害時の変性所見と一致する。Fig. 17 のように形質細胞が肝細胞に近接しておる部分でも上述のリンパ球が接した部分の肝細胞 (Fig. 16) に見られたとは同様の所見が観察された。Fig. 18 では、リンパ球が肝細胞と細胆管細胞の間に割り込んだ状態であり、肝細胞はその膜が追跡出来ず小胞体の空胞化が著明であり RNP 顆粒の脱落所見を示している。又、細胆管細胞とリンパ球の間には本来存在している基底膜を見ることが出来ない。細胆管細胞でも小胞体腔の拡大や糸粒体の膨化が見られる。Fig. 19 では、形質細胞が肝細胞と細胆管細胞にまたがって接している。この部位でも肝細胞に軽度であるが上述のような変性所見が存在し、毛細胆管の変化<sup>24)</sup>も見られるが細胆管細胞の organelle には異常がみとめられない。以上のことは、リンパ球が密着した肝細胞や細胆管細胞では変性所見が超微形態的に存在していることを示している。しかしこれらのリ

ンパ球が渡辺<sup>19)</sup>らの云う T-, B-細胞のいずれかであることを区別することは出来なかった。小坂<sup>4)</sup>は、慢性肝炎で見られる限界層の破壊は補体を必要とするアレルギー反応で起るものと、浸潤リンパ球が直接作用するアレルギー反応で起るものと二種類があることを指摘している。著者の成績では、T細胞の同定は不可能であったが、リンパ球が直接密着している肝細胞や細胆管細胞では、その organelle の変性が明らかにあった。このことはリンパ球の直接作用による両細胞の障害が存在することを示しているものと考えられた。上述したように形質細胞と肝細胞および細胆管細胞との間にも、軽度ではあるがリンパ球の場合とほぼ同様な所見が見られたがこの問題に関しては、形質細胞の機能が、もっと明らかにされることが必要であろう。

### 結 論

慢性肝炎の中でグ鞘にリンパ浮胞を形成し限界層破壊の見られた浮胞性肝炎(小坂ら)の症例について、そのリンパ浮胞部と限界層部を電顕的に観察し、免疫反応の場としてとらえられるこのような組織表現を超微構造の面から検討し次のような結論を得た。

1) グ鞘にみられたリンパ浮胞は、細網細胞, Immunoblast, Lymphoblast, 核分裂像, 未熟リンパ球およびリンパ球と少数の形質細胞および大食細胞で構成されていた。

2) 細網細胞は多突起性で、その細胞膜は microvilli 様小突起を示し、一部で desmosome を形成し複雑にてん絡していた。これはリンパ節のリンパ浮胞で見られる多突起性細網細胞(dendritic cell)の重要かつ特徴的な所見に一致した。

3) リンパ浮胞中に散在性に見られた形質細胞は、粗面小胞体腔の拡大, Golgi 装置の肥大等から分泌の盛んな細胞と考えられた。

4) リンパ浮胞中に核質を貪食した大食細胞や、リンパ球破壊を示す超微形態の所見が見られた。これらは、この場で細胞の処理や破壊も同時におこなわれていることを示唆していると考えられた。

5) 以上の所見は抗原刺激を受けた局所リンパ節のリンパ浮胞と細胞構成が一致していることを示し、グ鞘でリンパ浮胞の形成される場所はリンパ流のうっ滞する所であることから、このようなリンパ浮胞は肝細胞の変性と壊死に関連した抗原刺激による免疫反応の局所的組織表現であることが考えられた。

6) リンパ浮胞を形成しているリンパ球の中には、既に報告されている形態学的特徴から B細胞に一致するものも見られたが、はっきり T細胞, B細胞の区別をすることは困難であった。

7) 限界層破壊部でリンパ球が密着している肝細胞ではその organelle の変性が強く、細胆管細胞でも organelle の変性と基底膜の消失が観察された。このことはリンパ球が直接関与するアレルギー反応による細胞障害を示唆するものと考えられた。これらのリンパ球も形態的に T細胞, B細胞の区別をつけることは出来なかった。

8) リンパ球と同様に形質細胞が肝細胞や細胆管細胞に接している部分でも軽度であるが結論7の場合と大体同様な変性所見が肝細胞と細胆管細胞にみられたがその機序は不明である。

本論文の要旨の一部は日本消化器病学会中国四国第15回地方会において発表した。

本稿を終るにあたり、ご指導とご校閲を賜った小坂淳夫教授、小林敏成講師(現川崎医科大学消化器内科教授)に深甚の謝意を表わします。

電顕的観察にあたっては、技術的援助をいただいた共同実験室の林、才原両技官に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 日本肝臓病学会慢性肝炎委員会：慢性肝炎。第1回犬山シンポジウム記録, 1967.
- 2) 慢性肝炎の肝組織診断基準(第6回犬山シンポジウム)。肝臓, 16, 319, 1974.
- 3) 小坂淳夫, 太田康幸, 渡辺友邦, 青地一郎, 衣笠舜二, 柴田浩一, 横井理, 間坂孝文, 国府島紀文, 佐々木博雄, 幡慶一：自己免疫としての組織表現をもつウィルス性肝炎—浮胞性肝炎なる病名の提唱—。肝臓, 6, 281, 1965.
- 4) 小坂淳夫：慢性肝炎。日消会誌, 67, 905, 1970.

- 5) Popper, H., Paronetto, P. and Schaffner, F. : Immune processes in pathogenesis of liver diseases. *Ann. N.Y. Acad. Science*, **128**, 781, 1965.
- 6) 大原達 : 細胞性免疫. 第19回日本医学会会誌, **638**, 1975.
- 7) Sabotini, D.D., Bensch, K. and Barrentt, R.J. : *J. Cell Biol.*, **17**, 19, 1963.
- 8) Luft, J. : *J. Biochem. Cytol.*, **9**, 409, 1961.
- 9) Watson, M.L. : *J. Biochem. Cytol.*, **4**, 475, 1958.
- 10) Watson, M.L. : *Science*, **121**, 747, 1955.
- 11) Popper, H. and Schaffner, F. : *Liver : Structure and Function*. p.242 & p.432, MacGraw-Hill, New York., 1957.
- 12) Smetana, H.F. : Pathology of hepatitis, in *Diseases of the Liver*. 2nd. ed. (Ed. Schiff, L.), p. 369, Lippincott, Philadelphia, 1963.
- 13) 市田文弘, 西岡久寿弥, 高橋隆, 真弓忠, 石田多香雄, 志方俊夫, 大河内一雄, 大林明, 小島健一 : HB抗原をめぐる諸問題. 第19回日本医学会総会誌, **1142**, 1975.
- 14) Zuckerman, A.J. : *Human Viral Hepatitis, Hepatitis-associated antigen and viruses*. 2nd. ed., North-Holland/American Elsevier, Amsterdam. Oxford, New York., 1975.
- 15) Mackey, I.R. : Lupoid hepatitis. *Lancet II* ; 1323, 1956.
- 16) Mackey, I.R. : Chronic active hepatitis, *Diseases, Frontiers of Gastrointestinal Reserch*. Vol. I, Immune Disorders, p. 142, Karger, Basel, 1975.
- 17) Lin, P.S., Coper, A.G. and Woris, H.H. : Scanning electron microscopy of human T-cell and B-cell rosettes. *N. Engl. J. Med.*, **289**, 548, 1973.
- 18) Polliack, A., Lapmann, N., Clarkson, B.D. and Harven, E. : Identification of human B and T lymphocytes by scanning electron microscopy. *J. Exp. Med. Biol.*, **29**, 609, 1973.
- 19) 渡辺陽之輔, 玉置憲一, 垣生園子, 田代征夫, 赤塚誠哉, 榎本康弘 : リンパ球の微細構造—T及びB—リンパ球を中心として. *日血会誌*, **37**, 655, 1974.
- 20) Dukor, P., Suter, E.R., Dietrich, F.M. and Probst, H.M. : Functional and morphologic characteristics of complement receptor lymphocytes in mice. *Asv. exp. Med. Biol.*, **29**, 209, 1973.
- 21) Matter, A., Lisowska-Bernstein B., Ryser, J.E., Lamelin, J.P. and Vassalli. P. : Mouse Thymus-Independent and Thymus-Derived Lymphoid cells. II, *Ultrastructural Studies*, *J. exp. Med.*, **136**, 1008, 1972.
- 22) 今井大, 山口昭彦, 小島端 : リンパ節内2次小節の細胞構成. *日血会誌*, **32**, 73,, 1969.
- 23) 佐久間暁, 飯島宗一 : 脾臓内胚中心の細胞構成に関する電子顕鏡的研究. *日血会誌*, **32**, 73, 1969.
- 24) Lennert, K., Casser, R. and Müller, H.K. : Electron microscopic study of germinal center in man, Germinal center in *Immune Response*. p.40, Springer-Verlag Berlin, Heiderberg, New York., 1967.
- 25) 影山圭三, 三方淳男, 山口寿夫, 渡辺慶一, 免疫の病理 P. 65, 朝倉書店, 東京, 1969.
- 26) Schwarzendruber, D.C. : Desmosome in germinal center of mouse spleen. *Exp. Cell Res.* **40**, 492, 1965.
- 27) Nossal, G.J.V., Abbot, A., Judith Mitchell and Lummus, Z. : Ultrastructural Feature of Antigen Capture in primary and secondary Lymphoid Follicles. *J. exp. Med.*, **127**, 277, 1967.
- 28) 石川博通, 斉藤和久 : 免疫応答におけるマクロファージの役割. *代謝*, **12**, 21, 1975.
- 29) Schwazendruber, D.C. and Congdon, C.C. : Electron microscope obserbations on tingible body macrophages in mouse spleen. *J. Cell Biol.*, **19**, 641, 1963.
- 30) Dammeshek, W. : Immunoblasts and Immunocytes. *Blood*, **21**, 243, 1963.
- 31) Bessis, M. : *Living Blood Cells and Thier Ultrastructure*. p.428, Springer-Verlag, Berlin,

1973.

- 32) 糸島達也：肝組織構築法による肝循環動態の研究—とくに肝内小血管系とその周辺の細胞浸潤および線維化との関係. 肝臓, **10**, 234, 1969.
- 33) 小林登：免疫系と免疫病. P. 40, 医学書院, 東京, 1974.
- 34) 斉藤和久：細胞性免疫. P. 40, 医学書院, 東京, 1972.
- 35) Schoenberg, M. D., Muman, V. R., Moore, R. D. and Weisberger, A. S. : Cytoplasmic Interaction between Macrophages and Lymphocytic Cells in Antibody Synthesis. *Science*, **143**, 964, 1964.
- 36) Schaffner, F. and Popper, H. : Electron microscopic studies of normal and proliferated bile ductules. *Amer. J. Path.*, **38**, 393, 1961.

## Legends for Figures

- Fig. 1. Biopsy specimen from a patient with follicular hepatitis. Lymphoid cells have accumulated, forming a follicular appearance in a portal triad. (H & E)
- Fig. 2. Semithick section from Epon-block, stained with toluidin blue. A germinal center is surrounded by lymphoid cells.
- Fig. 3. Semithick section from Epon-block, stain with toluidin blue. Limiting plate is markedly destructed.
- Fig. 4. A portion of montage-photograph made of low magnification micrographs. Reticulum cells, a small lymphocyte (L) and a large round cell (IB) that is a immunoblast, are seen. One (R<sub>1</sub>) of reticulum cells has a prominently irregular plasma membrane forming microvilli but R<sub>2</sub> has a relatively smooth plasma membrane. x 6,000
- Fig. 5. Irregular and prominent microvilli of desmosome-connected (arrow) reticulum cells. x15,000
- Fig. 6. Long-branching reticulum cell with desmosmal connection (arrow). Mitochondria, rough-surfaced endoplasmic reticulum and ribosomes are in the cytoplasm. Irregularly shaped nucleus of the reticulum cell is seen at the lower right of the photograph. x 9,000
- Fig. 7. Tingible body macrophage which has numerous dense bodies (lysosomes) and phagosomes. Two phagosomes (arrows) have debris of nucleus in composition. x 9,000
- Fig. 8. Immunoblast is seen in the center of the photograph. Large prominent nucleoli are in the nucleus. Two of them touch the nuclear membrane. Polysomes are numerous, and mitochondria are scanty in the cytoplasm. x6,600
- Fig. 9. Immunoblast has a large nucleus with prominent nucleoli. The cytoplasm is rich in polysomes, and lacking in mitochondria, endoplasmic reticula and dense bodies. Microvilli are observed in some portions of the plasma membrane. x 9,000
- Fig. 10. A mitotic figure of a mesenchymal cell showing metaphase. x 13,000
- Fig. 11. Four small lymphocytes (L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> and L<sub>4</sub>) in a zone of darkstaining in follicle. Nuclear indentation is seen in L<sub>2</sub> and Golgi zone in L<sub>3</sub>. Dense bodies are scattered in the cytoplasm of L<sub>2</sub> and L<sub>3</sub>. In L<sub>4</sub>, cisternae of the nuclear envelope dilate, and the plasma membrane is destroyed. x 7,500
- Fig. 12. A large lymphocyte (LL) having more abundant cytoplasm and more numerous ribosomes than small lymphocytes in Fig. 11. Polysomes tend to increase. An increased number of mitochondria, a primitive endoplasmic reticulum and dense bodies are seen in the cytoplasm, but Golgi apparatus is not in this picture. Nucleus shows indentation. x 9,600
- Fig. 13. A large round cell has a nucleus resembling that of lymphocyte in a distribution of packed chromatin. The nucleolus is not observed in this photograph. Mitochondria, a primitive endoplasmic reticulum and plentiful polysomes are seen in the wide cytoplasm. Microvilli protrude from some parts of the surface. This cell is probably a lymphoblast. x 12,000
- Fig. 14. A plasma cell in follicle. Cisternae of the rough-surfaced endoplasmic reticulum are widened and Golgi apparatus with a centriole is prominent. x 12,000
- Fig. 15. A part of a macrophage cytoplasm (M) with numerous lysosomes is adjacent to a small lymphocyte (L). In the liver cell (LC) which is distant from a lymphocyte, the organelles degeneration is minimum. x 12,000
- Fig. 16. Two lymphocytes indent two liver cells. Some parts of the plasma membranes of the

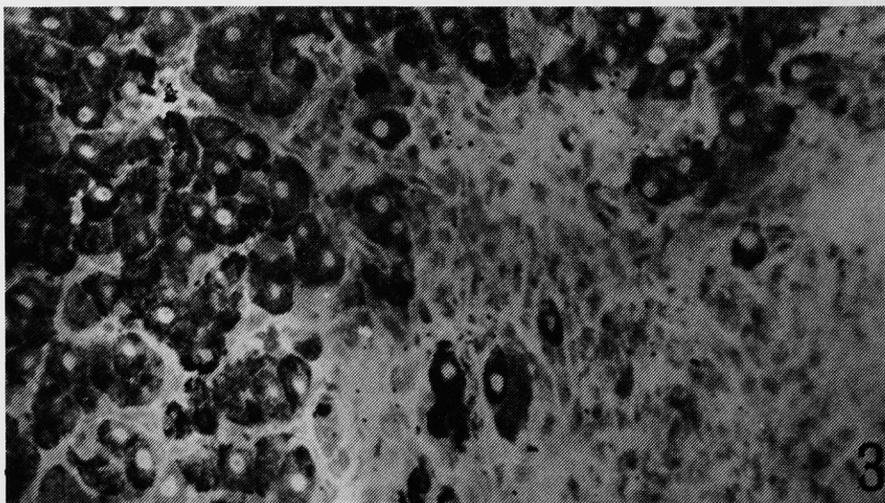
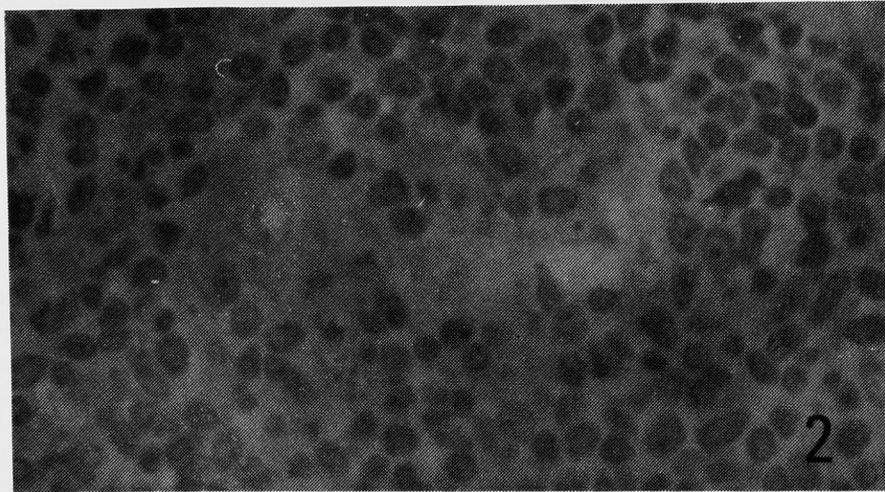
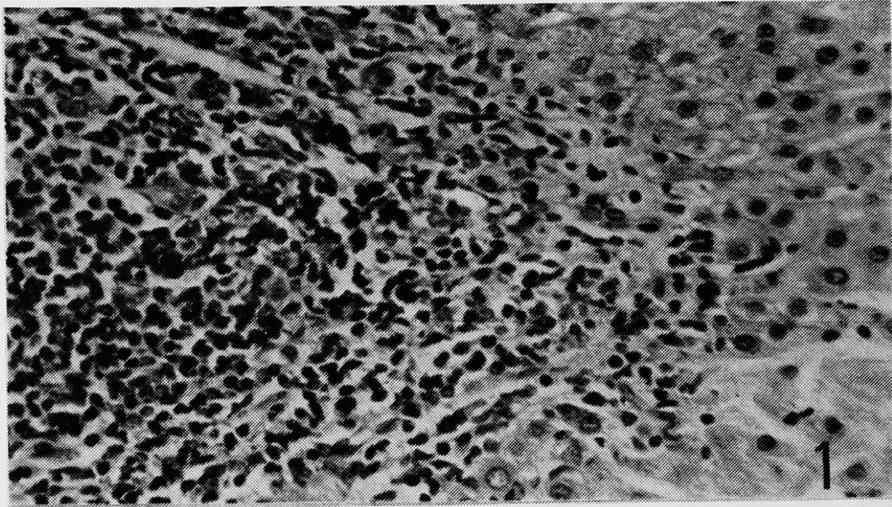
lymphocytes coapt with those of the liver cells. Plasma membrane of one of the two hepatocytes disappears (arrow) in some parts. In the hepatocytes, marked vesicular dilatation of endoplasmic reticulum, movement of ribosomes from the endoplasmic reticulum and autophagic vacuoles are observed. x 12,000

Fig. 17. Two plasma cells are adjacent to a liver cell. Microvilli of the liver cell reduce in number. The grade of organelle degeneration is less significant than that shown in Fig. 16. x14,000

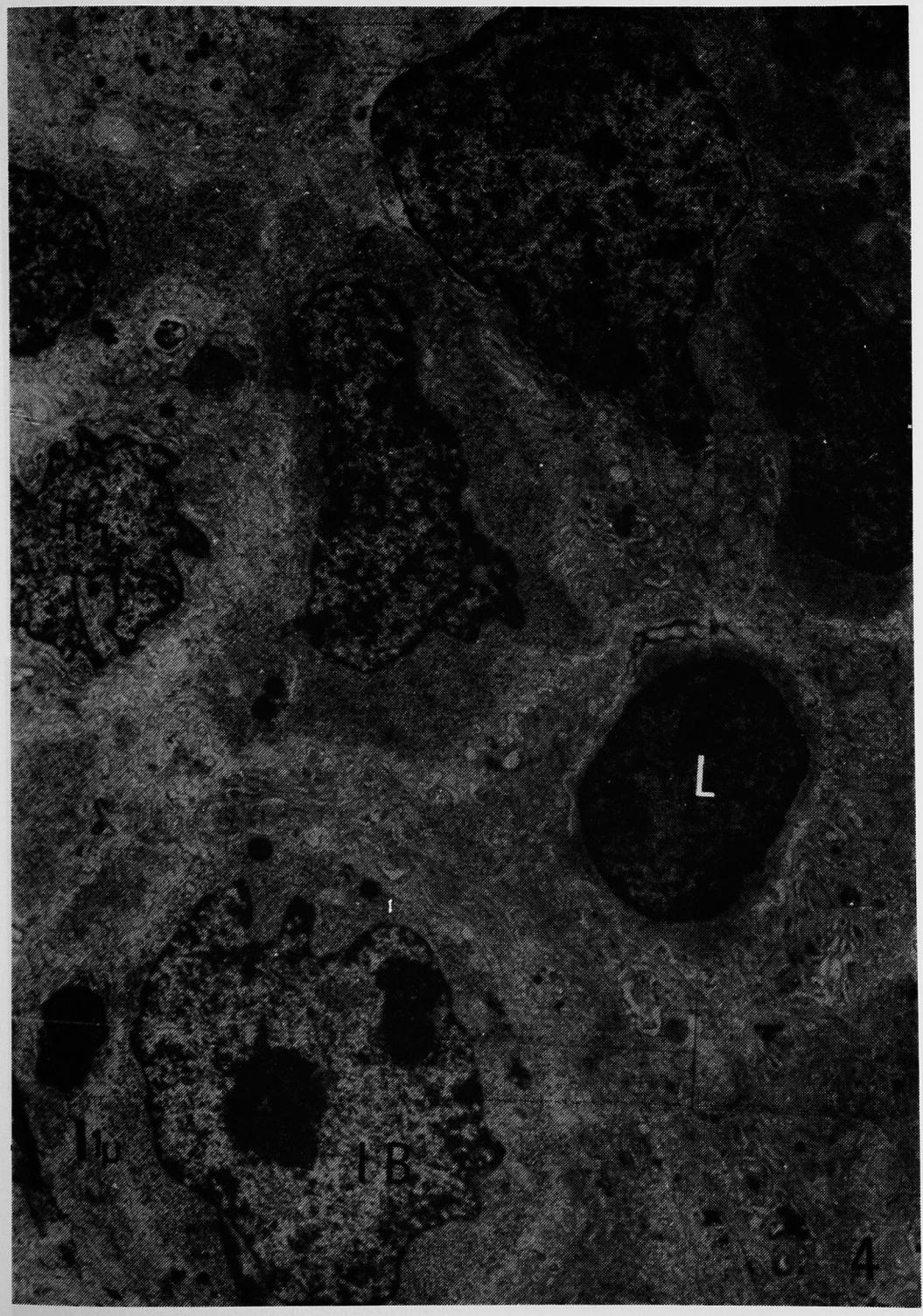
Fig. 18. Cytoplasm of a lymphocyte (L) extends between a liver cell (LC) and a ductular cell (DL). Plasma membrane of the lymphocyte coapts with that of the liver cell, and the plasma membrane of the liver cell disappears in some parts. Degeneration of organelles of the hepatocyte is marked, and in particular, that of endoplasmic reticulum is prominent. In the ductular cell, cisterna of the nuclear envelope are distended and matrix of a mitochondrion is electron lucid. Basement membrane is not seen between the lymphocyte and the ductular cell. Inclusion bodies (arrow) are found in the lymphocyte. x14,000

Fig. 19. A plasma cell (P) is adjacent to a liver cell (LC) and a ductular cell (DC). Degeneration of organelles of the liver cell is not prominent and no degeneration is observed in the ductular cell. Bile capillary is slightly injured. Basement membrane is not found between the plasma cell and the ductular cell. x11,000

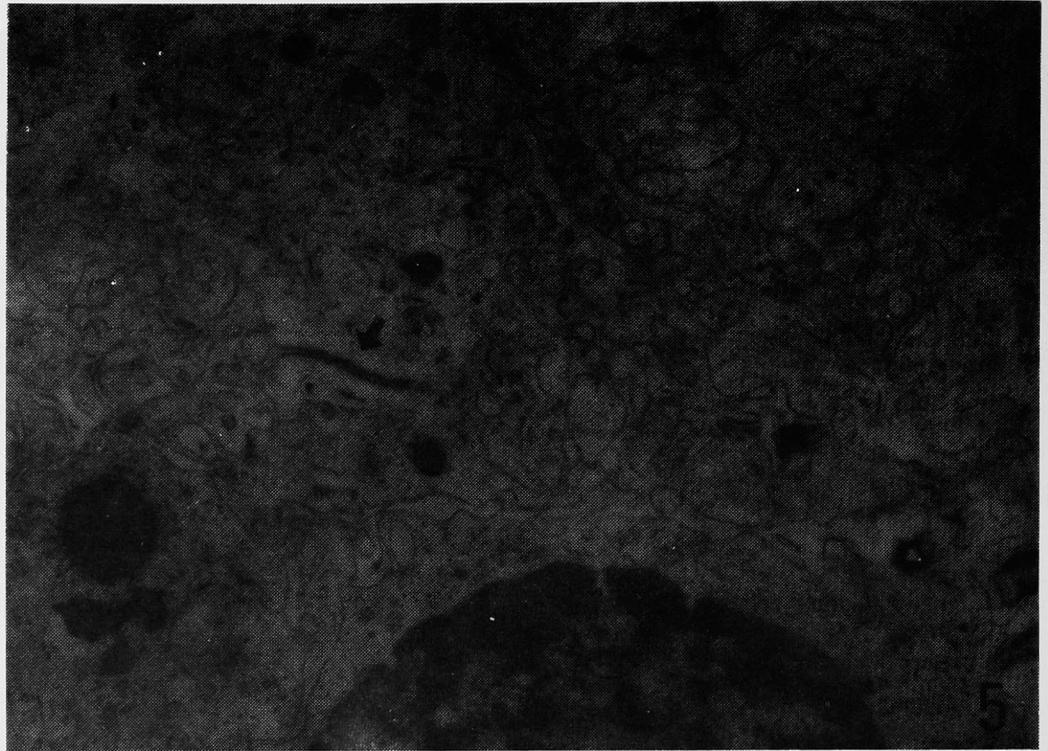
檀 上 博 論 文 附 圖



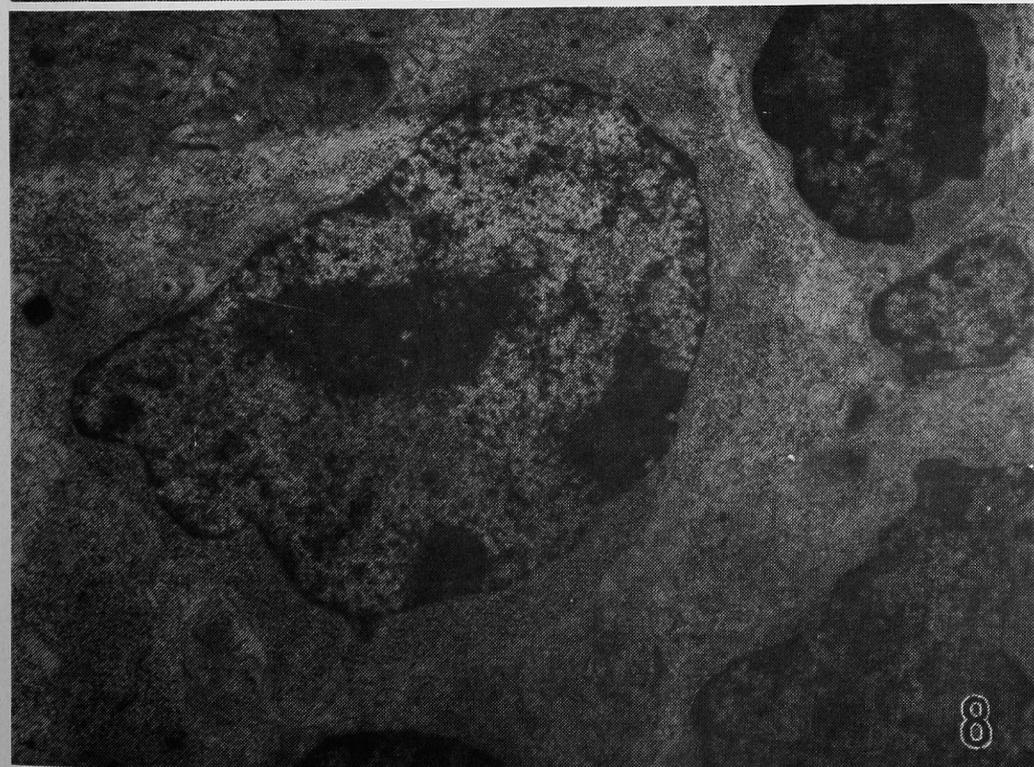
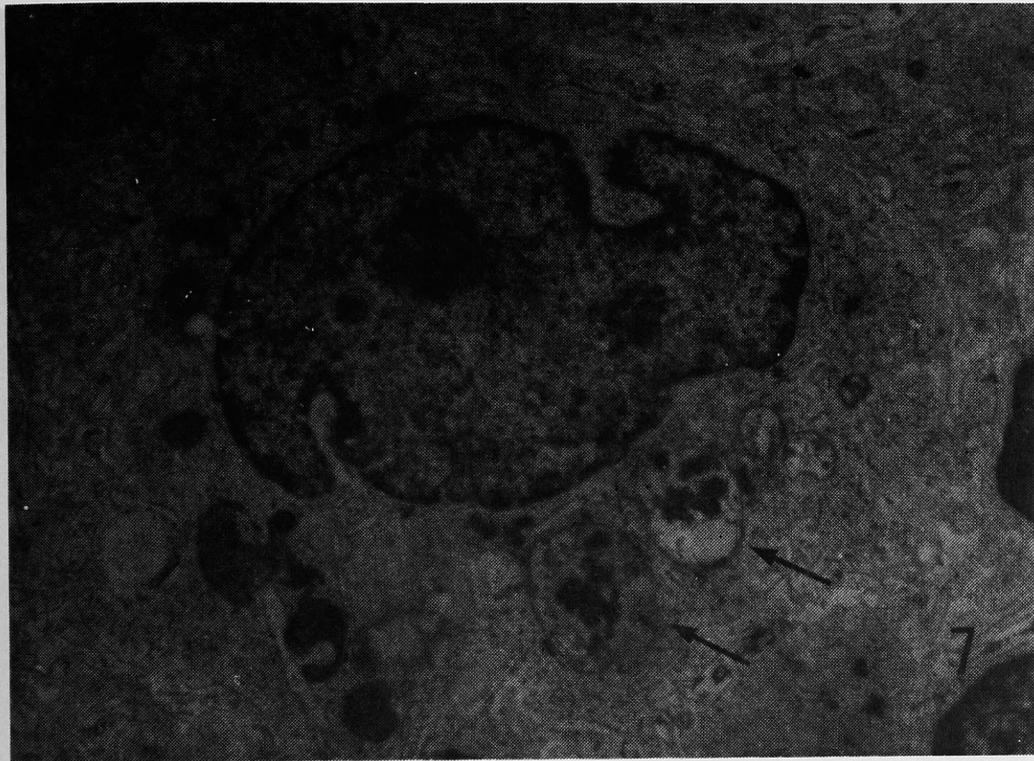
檀上博論文附図



檀 上 博 論 文 附 図



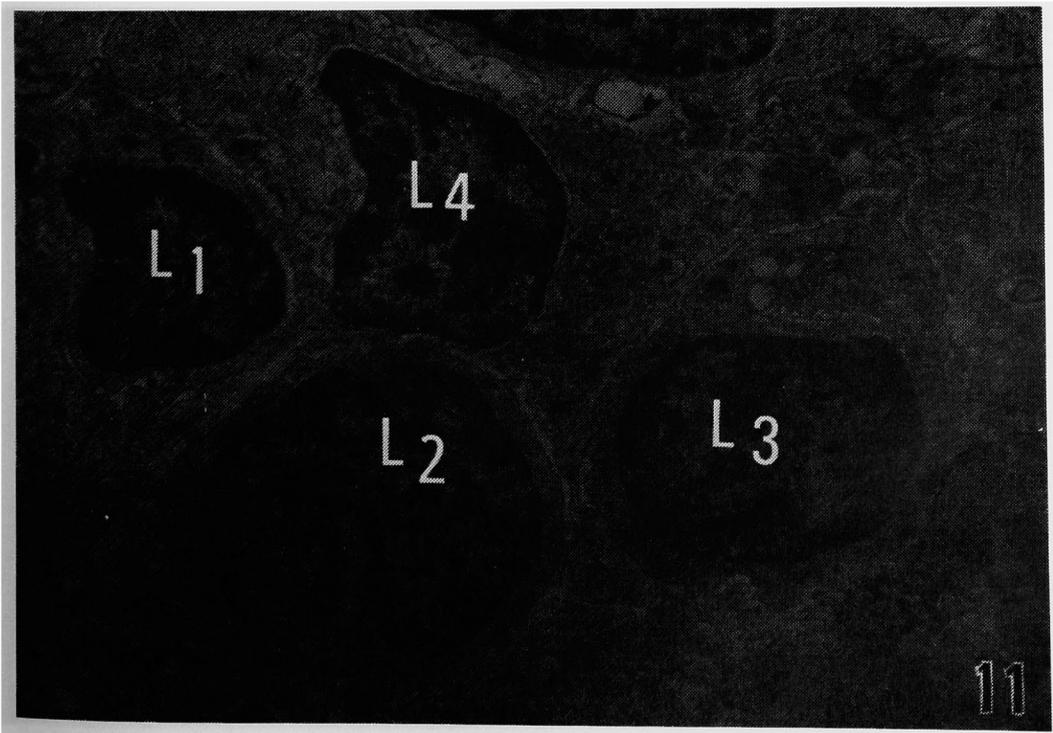
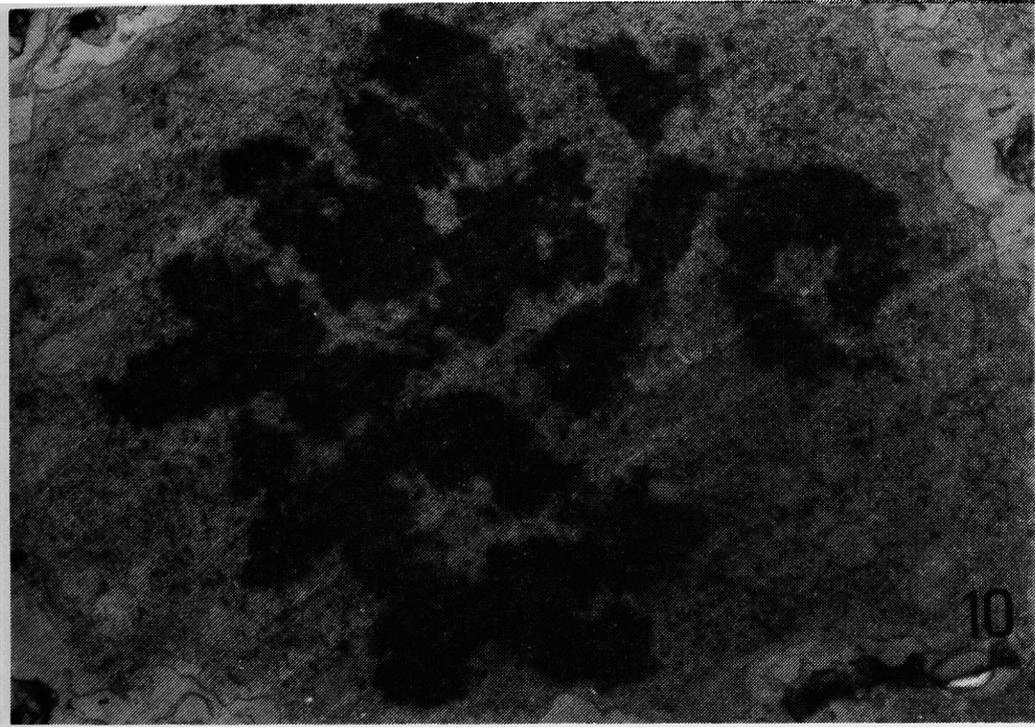
植上博論文附図



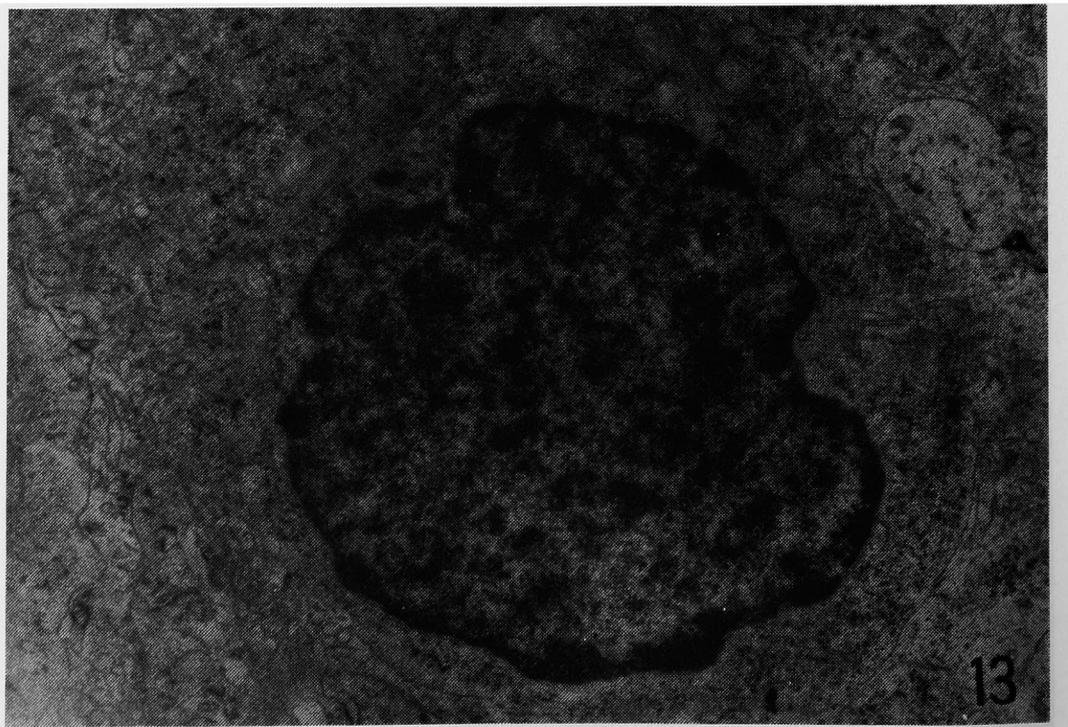
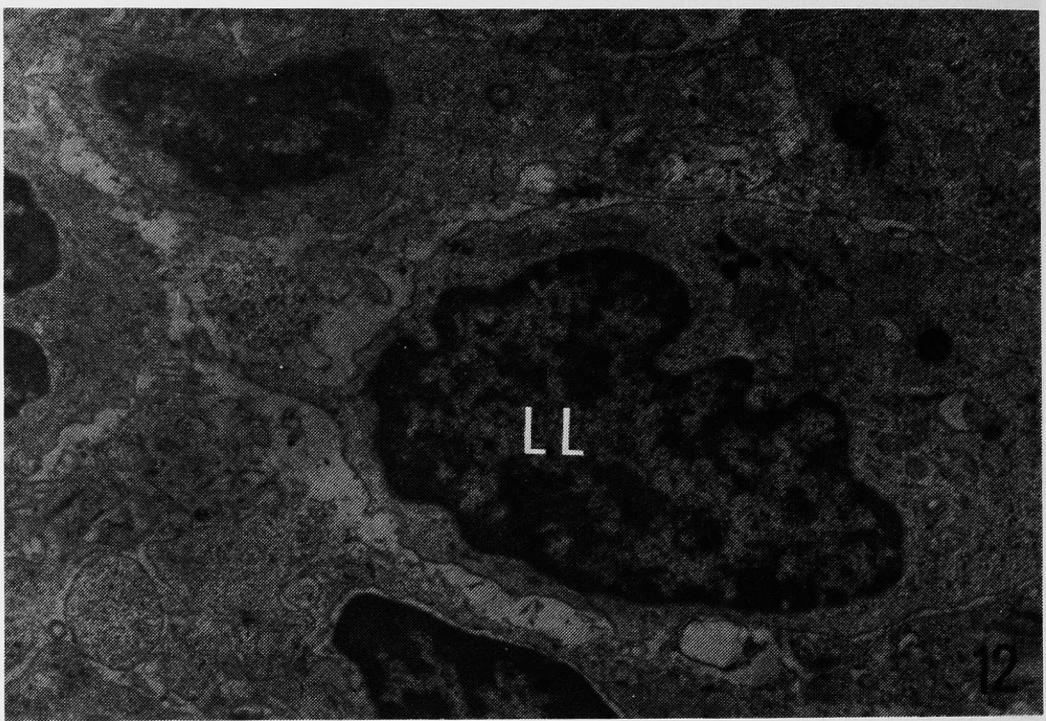
檀 上 博 論 文 附 圖



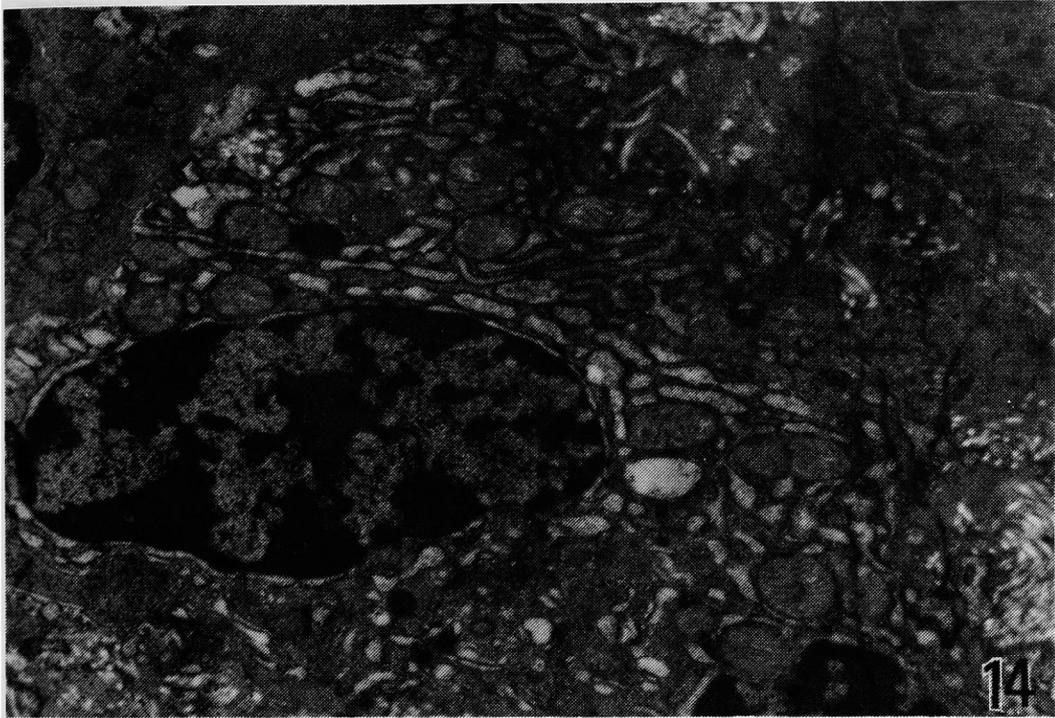
檀 上 博 論 文 附 図



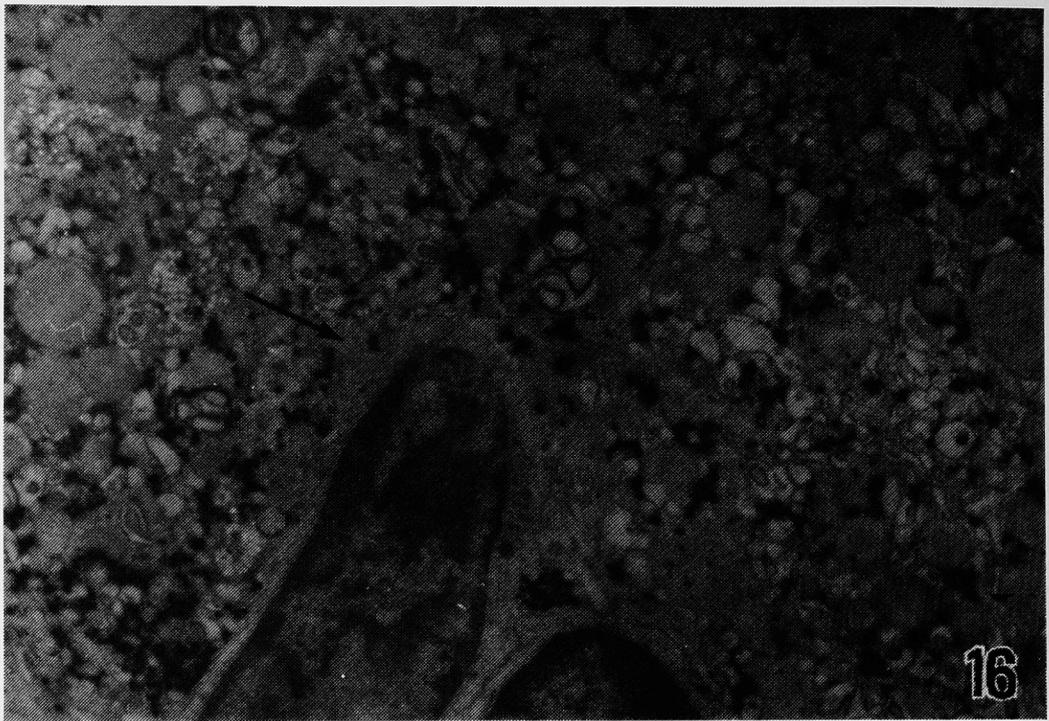
檀 上 博 論 文 附 圖



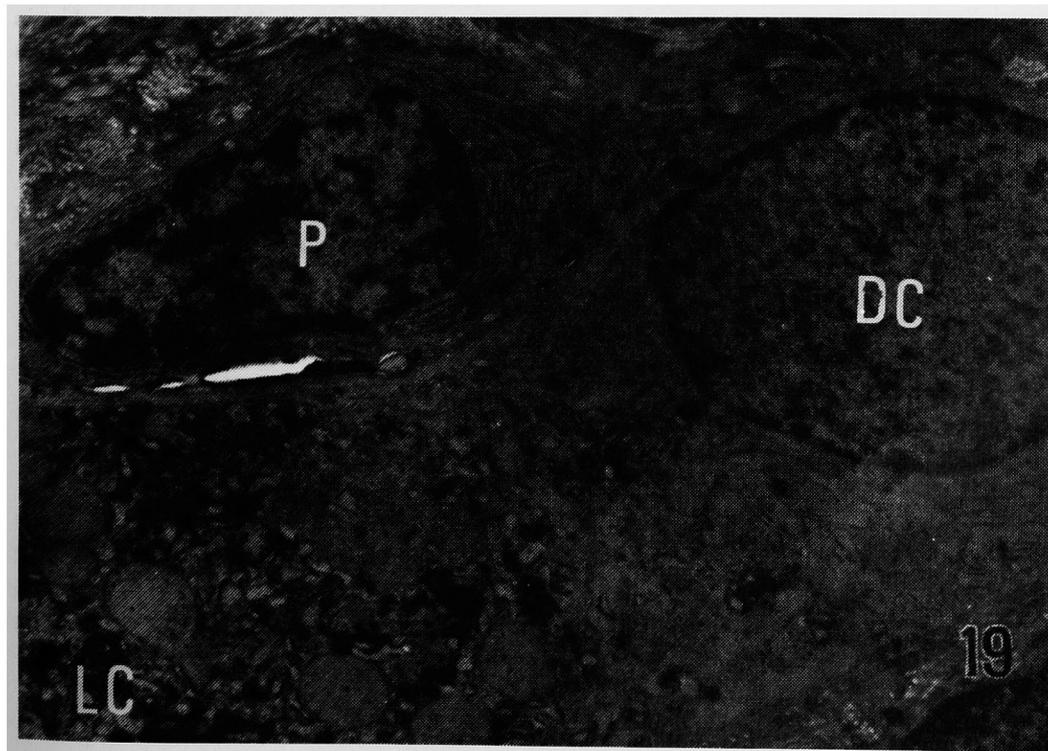
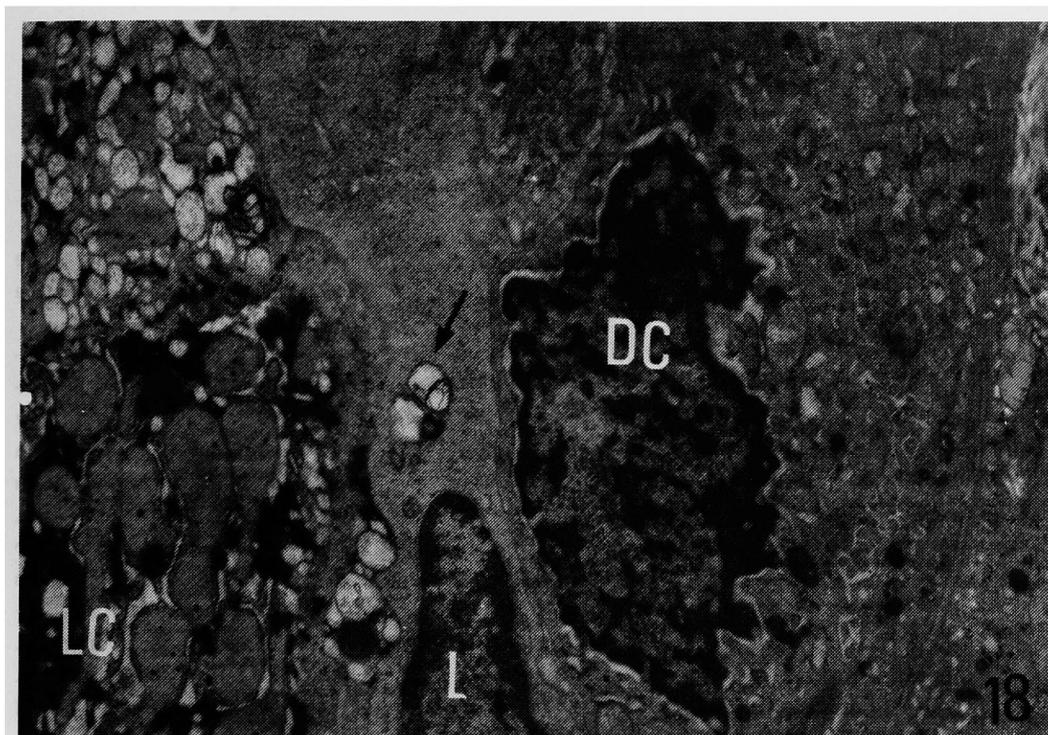
植上博論文附図



檀 上 博 論 文 附 図



植上博論文附図



## Ultrastructural study of the liver in follicular hepatitis

Hiroshi DANJO

The First Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

Okayama, Japan

(Director : Prof. Kiyowo Kosaka)

The term of "follicular hepatitis" has been proposed to certain cases of chronic active hepatitis with an intense lymphoid cell accumulation forming a follicular appearance in the portal triads.

In this study, the ultrastructural analysis of the lymphoid cells forming a follicular accumulation in the portal tracts, and of a relationship between the mesenchymal cells and hepatocytes at the destructed limiting plate was attempted. Ultrathin sections of the liver biopsy specimens obtained from a patient with follicular hepatitis were cut immediately adjacent to a semithin section which was stained with toluidin blue and in which the follicular accumulation of lymphoid cells and a destructed limiting plate were observed through a light microscope.

The center of the follicles consisted of immunoblasts and reticulum cells of both the nonphagocytic branching and phagocytic varieties. Lymphoblasts, immature and numerous mature lymphocytes, plasma cells and a small number of macrophages were observed surrounding the center. The mitotic figure of these mesenchymal cells was found to be on the increase.

Macrophages were also found in the area where the liver cells and the portal tracts adjoined. No hepatocellular degeneration was observed at the sharp border between parenchyma and portal tracts. In the area showing the destructed limiting plate, lymphocytes and, occasionally, plasma cells were adjacent to hepatocytes and/or ductular cells. These mesenchymal cells, especially the lymphocytes, indented the hepatocytes and, sometimes, their plasma membranes were coapted. The hepatocytes lacked microvilli at the area of coaptation, and the degeneration of their cell organelles that was a marked vesiculation and vacuolization of endoplasmic reticulum accompanying a loss of ribosomes, was observed near the coaptation. In the ductular cells coapted with lymphocytes, similar degeneration of the cell organelles was observed and basement membranes disappeared.

These results revealed that in these follicles in portal triads mesenchymal cells actively responded to antigen stimulation and that a cellular immunity might also be involved in the pathogenesis of chronic active hepatitis.