

原 著

## 冠状動脈の免疫組織学的研究（第Ⅱ報）

東京女子医科大学 第一病理学教室（主任：武石 詢教授）

カネ      ダ      ヨシ      オ  
金      田      良      夫

東京女子医科大学 病院病理科

ヒラ      ヤマ      アキラ  
平      山      章

（受付 昭和63年3月11日）

## Immunohistochemical Studies of the Coronary Arteries

## II. An Electron Microscopic Study

Yoshio KANEDA

Department of Pathology (Director: Prof. Makoto TAKEISHI),

Akira HIRAYAMA

Department of Surgical Pathology,

Tokyo Women's Medical College

Comparative observation on the endothelium of coronary arteries of autopsy specimens between scanning and transmission electron microscope were carried out. It is difficult to differentiate to physiological change from postmortal change of the arteries with light microscopic observation, nevertheless, it was possible to understand the morphological changes in the arterial wall with aging. Transmission electron microscopic study on the endothelial cells which were not ablated by scanning electron microscopy revealed the degeneration of the endothelial cells. The most remarkable changes were the degeneration of the basement membrane, in addition, the insudation between the endothelial cells and the basement membrane. It was suggested that the initial pathological change of the arteries should occur in the endothelial region.

## はじめに

我々は第Ⅰ報で、正常冠状動脈が加齢にともない病理学的、免疫組織学的にどう変化していくかを動脈壁内のフィブリンや免疫グロブリンの存在との関係について、光顕、走査型電子顕微鏡ならびに免疫組織化学的方法を用いて検討を行なった結果を報告したが、今回は冠状動脈壁の内皮細胞の形態学的変化に就いて、走査型電子顕微鏡（以下走査電顕と略す）および透過型電子顕微鏡（以下透過電顕と略す）を用い前回の所見との対比検討を行った。

## 材料と方法

材料は当教室の剖検例で冠動脈疾患や心筋障害

を認めず、生後1カ月から82歳迄の死後時間がほぼ3時間以内の例、計48例（♂34，♀14）を用いて検索を行なった。

検索に用いた冠動脈の採取部位は第Ⅰ報<sup>1)</sup>に記載したので省略する。

冠動脈各部から採取した検体は、その一部を光顕切片としてホルマリン固定後、通常の方法でパラフィン包埋し、H・E（ヘマトキシリン・エオジン染色）、EvG（エラスチカ・ワンギーソン染色）、Masson染色を行なった。またその隣接部位の一部はグルタルアルデヒドで固定し、1%オスミウム酸で再固定した後、アルコールで脱水し、Epon 812に包埋後、超薄切片を作製し、ウランと

鉛の二重染色を施して、透過型電子顕微鏡 (CHU 12A, HITACHI) で観察した。

### 所 見

#### 1. 走査電顕による血管内皮細胞の変化

##### 1) 肉眼的に正常な冠状動脈内面の変化

肉眼的に正常な冠状動脈の内面を走査電顕的にみると、血管内皮細胞の変化は次の A, B, C, D の4段階に分けることができる。

A. 内皮細胞の萎縮, 平坦化

B. 内皮細胞, 細長く, 大きさ, 形, 大小不同, 配列の不揃い

C. 内皮細胞の変性(孔形成, 壊れ, 微絨毛の消失)

D. 内皮細胞の離開, 剝離, 結合織の露出

##### 2) 加齢に伴う血管内皮細胞の初期変化

走査電顕による形態学的変化としては内皮細胞の大きさ・形・配列が不規則になると共に, 萎縮, 平坦化がおこり次第に内皮細胞間の離開, 剝離を来して結合織の露出がおこってくる。この時期には赤血球, 血小板の付着がしばしば認められ, フィブリンの沈着は一段と著明になる。

#### 2. 透過電顕による血管内皮細胞の変化

ヒト剖検例の, 透過電顕材料はすでに吉田<sup>2)</sup>が報告しているように, 死後時間等の変化が加わることが多いが, 死後3時間以内なら十分に使用に耐えることができるということで我々も死後時間3時間以内の症例を用いた。

##### 1) 冠状動脈内皮細胞の特性

冠状動脈の内皮細胞を透過電顕で観察すると, 核周囲の細胞質に細胞小器官とミトコンドリアが多数集っている。

核周辺より末梢の細胞質には細胞小器官は比較的少ない。

ゴルジ装置と粗面小胞体も少なく, ribonucleo-protein particle に接してみられるリボゾームは他の血管に比して多いが細胞膜には小さい陥入 (pitz) がみられる。

細胞質内部には小管構造を示す内容物を入れた特殊顆粒 (Weibel-Palade 顆粒) がある。この特殊顆粒は冠状動脈内皮細胞では他の血管系に比して少ない。

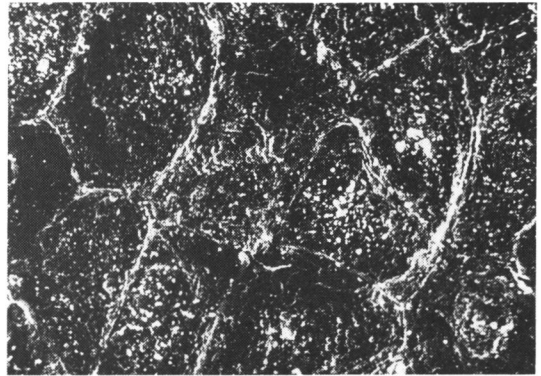


写真1 走査電顕像,  $\times 1,000$

内皮細胞の平坦化, 微絨毛の萎縮と辺縁ヒダは保たれている

内皮細胞では, 細胞の下面に基底膜を認める, すなわち細胞基底膜があってその上に内皮細胞がのっている状態である。これは物質透過性としての働きは勿論のこと, 最近では barrier などの, 重要な機能を有することが明らかになっている。

##### 2) 透過電顕による血管内皮細胞の加齢的变化

一般的には走査電顕でみられるように, 加齢と共に内皮細胞は小さくなり, 扁平化し (写真1), 時には細胞間接合部の離開を認めるが, 透過電顕では一般に細胞質はよく保たれ, 細胞質内 vesicle は腫大し, 内皮下腔は僅かに拡大し, 該部には無構造物質を認めるようになる。

加齢的变化で特に目立つことは, 内皮と内弾性板との間に存在する内皮下組織は極めて薄いものであるが, 全てではないが加齢とともに広がってくる (insudation) のが特長のようなのである。この傾向は動脈硬化の initiation であると考えられ, これは走査電顕での B 群ですでに観察された所見に一致する。

また同時に内皮細胞に軽度の空胞変性を認めることが多い (写真2)。

#### 3) 走査電顕の血管内皮細胞の所見と透過電顕の血管内皮細胞の所見との対比

前項で記載したように, 肉眼的に正常な冠状動脈の表面を走査電顕で観察した内皮細胞の形態的变化を表1のように4段階に分け, これらの所見と透過電顕の形態的所見を対比検討した。

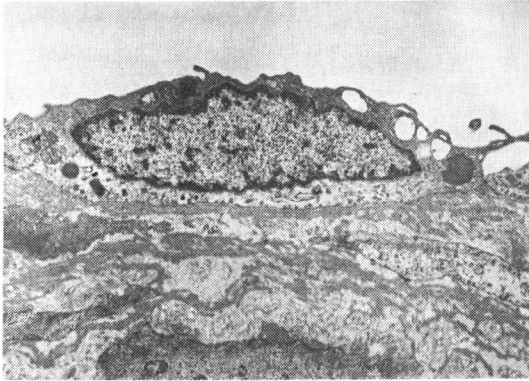


写真2 透過電顕像, ×8,000

内皮細胞の核の腫大と糸粒体の増加および細胞質内の小空胞変性

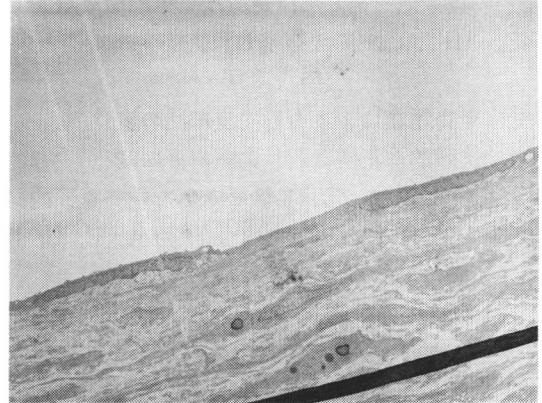


写真3 透過電顕像, ×1,800

内皮細胞接合部は保たれているが、内皮細胞下細胞の小脂肪滴沈着

表1 内皮細胞の形態的变化

A 群	内皮細胞の萎縮・平坦
B 群	内皮細胞は細長く、大きさ・形・配列の不揃い
C 群	内皮細胞の変性（孔形成・壊れ・微絨毛(－)）
D 群	内皮細胞の離開・剝離・結合織の露出

#### A 群：

扁平な一層の内皮細胞が内面を覆い、内皮細胞間接合部はよく保たれている。内皮細胞は紡錘形で細胞質はよく保たれ、その下面は基底膜で覆われている。細胞質には糸粒体、pinocytic vesicle、粗面小胞体がみられた。

#### B 群：

内皮細胞の核は大きく、不正形で、核小体ははっきりし、核：細胞質比は低下し、細胞基底膜の融解も認められる。内皮接合部は時には離開して、内皮下腔は拡大し、水腫状態を示している。内皮下細胞の萎縮・変性も認める。細胞質内にすでに脂肪沈着も認める（写真3）。

#### C 群：

内皮細胞の形態の不規則性、方向性の乱れが目立って観察され、内皮細胞の主に内腔面に接している細胞質の空胞変性、微絨毛の変性も認める。細胞質の糸粒体の増加、腫大と細胞基底膜の融解が目立つ。内皮下腔の水腫はD群程強くないが、剝離した場所ではかなり目立ってきている（写真

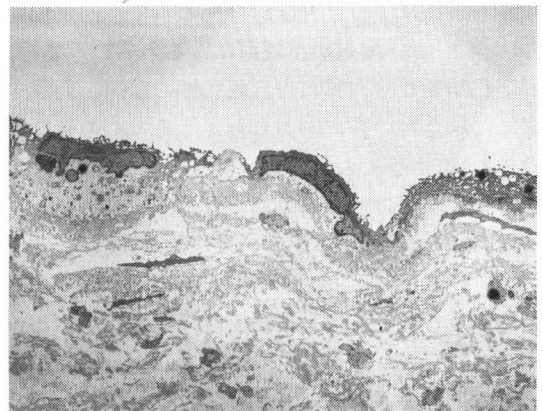


写真4 透過電顕像, ×2,500

内皮細胞基底膜の融解と内皮細胞下腔の著明な水腫状態

4)。

#### D 群：

走査電顕所見と同様に表面内皮は剝離、消失したものが多く、内皮下腔は拡大し、水腫状態であり、この所見はC群よりもさらに強く、D群では内皮下腔には脂肪を貪食した細胞も認められる。拡大した内皮下腔には細胞の変性が目立ち、基底膜物質や cell debris が認められる。時折、中膜平滑筋細胞には線維素の沈着をも認められる（写真5）。

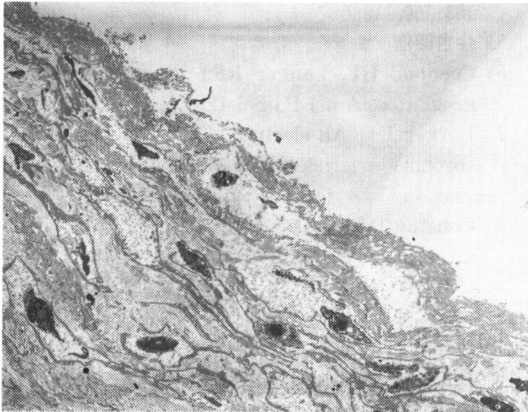


写真5 透過電顕像,  $\times 2,500$

内皮細胞の剝離, 消失し, 内皮細胞下腔の著明な水腫と内皮細胞下腔の細胞の変性が目立つ

## 考 察

血管内皮細胞は全血管系の最内層に位置する一層の細胞であって, 物質透過性のコントロール, 抗血栓作用, 脂肪代謝, さらに重要な機能としての血液関門等の多種多様の機能が明らかになっているが, 血漿成分のしみこみの機序と硬化についてはいまだに議論のあるところである。今回はヒト剖検例を用いて走査電顕と透過電顕を併用して観察したが, 電顕的検索には死後変化が必至であるが, 前に述べたように死後何時間まで検索に耐えるかどうかは重要なことで, 吉田のデーターを参考にした。

### 1. 走査電顕所見と透過電顕所見による血管内皮細胞の対比

走査電顕的分類 (A 群, B 群, C 群, D 群) を透過電顕的に比較観察すると透過電顕の所見は内皮細胞の変性, すなわち内皮細胞の扁平化, 萎縮と内皮細胞の density の増加, 核の大小不同, 細胞質の ER の粗造化, 糸粒体内小胞体の増加がおり, そして細胞質内に脂肪滴が出現している。これはすでに走査電顕的分類の A, B, C 群にみられ, 加齢と共に高頻度にみられるようになる。これは田中<sup>3)</sup>が報告しているように, 内皮細胞の剝離こそないが, 内皮下の水腫状, 細胞質内の endoplasmic reticulum の拡大, 粗造化がみられ, 透過電顕的にもすでに退行性変性がうかがわれた。ま

た走査電顕所見で内皮細胞接合部の離開のないものは, 内皮下の水腫はなく, 離開のあるのは内皮下腔に水腫を認めたが, 水腫性変化部の物質には必ずしも線維素が多いとは限らなかった。

また重要なことは, 透過電顕的にみられる血管内皮細胞下の細胞基底膜の機能については, 多くの研究者によって報告されているが, 前述したごとく, 物質透過性のコントロール, 内皮細胞の接着等の血液関門としての多岐に互る機能の他に, 特に透過性の問題に関しては大根田<sup>4)</sup>が報告しているように内膜 (内皮下腔) の barrier としての細胞基底膜は大切な機能があると思われる。

動脈硬化巣の反応の座が内膜にあるとしたら, 内皮下腔の諸物質の insudation による拡大は剝離に至る前の初期変化としては重要な所見であると思われた。

今回の観察で, 加齢と共に内皮下腔が拡大し, 水腫の蓄積が目立つ例には基底膜の破壊, 崩壊が観察された。

結論を出すには慎重でなければならないが, 以上の所見は冠状動脈硬化の発生進展においては内皮細胞の態度が重要な役割を演じていることを示唆している所見と考えられる。

### 2. 透過電顕的血管内皮細胞の変化と Ig (免疫グロブリン) の関係

第 I 報で報告したごとく蛍光抗体法を用いた血管壁内血清グロブリンの検索では血清グロブリンは, 動脈内膜表面あるいは内膜下に存在していることが観察されたが, 透過電顕でも血清グロブリン沈着の目立つ例では内皮細胞の変性, 特に内皮細胞下面の基底膜の破壊崩壊が認められると同時に内皮下腔の拡大, 水腫も強かった。

走査電顕的观察 B 群の内皮細胞の大きさ, 形, 配列等の不均等化例では, D 群について高頻度に Ig の沈着を認めたが, 透過電顕でもそれをうらづける所見が観察された。

## 結 語

剖検材料を用いて走査電顕の内皮細胞の所見と透過電顕の内皮細胞の所見を対比検討し, 加齢に伴う動脈壁内の動態について理解することができた。すなわち, 走査電顕所見ではなお剝離に至っ

ていない状態の内皮細胞を透過電顕で観察すると、すでに内皮細胞の変性が認められ、また、注目されたことは内皮細胞下面の基底膜は融解し、内皮下腔は拡大して水腫状態 (insudation) が起こっていることが観察された。すなわち、動脈硬化における初期の反応の座は内膜、すなわち内皮細胞から内皮下腔であるように思われた。

稿を終るに臨み御懇切な御指導、御校閲を賜りました武石詢教授に深甚なる感謝の意を捧げると共に終始、懇切に直接御指導、御鞭撻下さった豊田智里助教授に謝意を捧げます。また、技術面で色々と御協力頂いた病院病理科主任技師桜田実氏に深謝致します。

#### 文 献

- 1) 金田良夫, 平山 章: 冠狀動脈の免疫組織学的研究 (第I報). 東女医大誌 56: 33-44, 1986
- 2) 吉田洋二: 病理学領域における電顕応用, 「病理技術マニュアル5」(日本病理学会編) pp159-168, 医歯薬出版, 東京 (1985)
- 3) 田中健蔵: 細胞増殖と動脈硬化, pp158-163, 共立出版, 東京 (1986)
- 4) 大根田玄寿: 器官としての血管, 治療学 16:

153-160, 1986

- 5) 住吉昭信: 血管壁. 日本臨床 44: 56-61, 1986
- 6) Cuenoud HF, Langer RS: Focal arteriolar insudation. Am J Pathol 127: 592-604, 1987
- 7) Parker F: An electron microscopy study of coronary arteries. Am J Anat 103: 247-259, 1958
- 8) Constantinides P: Ultrastructural injury of arterial endothelium. Arch Pathol 88: 99-105, 1969
- 9) 徳永 蔵: 血管内皮細胞の特性, 実験医学 4: 579-585, 1986
- 10) 梶田 昭: 臓器体制と病変 (心血管), 臨床化学 6: 1528-1537, 1970
- 11) 今村喜久子, 寺崎文生, 林 哲也ほか: 冠狀動脈壁の構造, 日本臨床 45: 51-61, 1987
- 12) 岸 幸夫, 沼野藤夫: 内皮細胞と冠動脈硬化, 日本臨床 45: 155-164, 1987
- 13) Doerr W: Morphologische Untersuchungen zur Entstehung der Aortensklerose. Dtsch Med Wochenschr 85: 1401-1405, 1960
- 14) Henry FH, Gottlob R: A fine structure study of injury to the endothelial cells of the rabbit abdominal aorta by various stimuli. Angiology 18: 440-451, 1967