

肝類洞壁の微細構造について

村上 隆之*・斎藤 勇夫*・芦沢 広三**

Fine Structure of the Hepatic Sinusoidal Wall

Takayuki MURAKAMI, Isao SAITO and Hirozo ASHIZAWA

(1972年9月26日受理)

緒 言

肝臓では多種多様の機能が営まれるが、それらの機能と肝臓の血管との間にはきわめて有機的な関係のあることが知られている。肝小葉内の毛細血管、すなわち類洞 (sinusoid) は物質交換の場として特殊な構造を有するが、カエル¹⁾・鶏胎児^{2,3)}・マウス⁵⁾・ラット^{1,6-9)}・兎^{10,11)}・犬¹²⁾・豚胎仔¹³⁾・山羊⁸⁾・羊¹⁴⁾・人^{5,15-17)}などで報告されているごとく、類洞壁を構成する内皮細胞層には不連続部があり、またその下層に基底膜を欠くので、肝細胞と類洞内の血液成分とは Disse 腔を介しても自由に接触できるといわれている。

しかし、フ卵初期の鶏胎児⁴⁾・仔牛⁶⁾・マウス¹⁸⁾・ラット¹⁸⁻²⁰⁾・モルモット^{18,19)}・羊²¹⁾において類洞内皮細胞が連続しているという報告や反芻動物の類洞内皮細胞には基底膜が認められるという報告^{6,8,14,21)}もあり、発生上の時期や動物種、肝小葉内における類洞の存在位置⁷⁾、さらには肝疾患¹⁵⁾などによって類洞壁の微細構造にかなり差異があるようである。これらのうち、牛⁶⁾・山羊⁸⁾・羊^{14,21)}など反芻動物の類洞内皮細胞に基底膜が存在するという点ではほぼ見解が一致しているが、いずれの動物についても内皮細胞の連続性に関しては未だ不明確な点が少なくない。

そこで著者らは馬・牛・山羊・羊・犬・猫・狸の肝類洞壁の微細構造を観察し、先人の所見と比較検討したので以下にその結果を報告する。

材 料 と 方 法

供試動物は馬2頭(軽種と対州馬、いずれも年令不明の成馬)、牛2頭(黒毛和種・2歳、ホルスタイン種・5歳)、山羊3頭(日本ザーネン種・1～3歳)、羊2頭(日本コリデール種・1歳と4歳)、犬3頭(雑種、いずれも年令不明の成犬)、猫3頭(日本在来種・2ヶ月令～2歳)、狸2頭(年令不明の成狸)である。それぞれ Somonopenthyte 麻酔下または無麻酔下において肝臓片を採取、細切して s-Collidine 緩衝2%オスミック酸水溶液で2～5時間固定。ついで Ethanol と Aceton で脱水し Epon 包埋。超薄切片を作製し、酢酸ウラン(2%水溶液)と硝酸鉛(Reynold法)の重染色を施し、日立 HU-11 D-S 型電子顕微鏡で観察した。また光学顕微鏡的观察には Epon 包埋材料の切片に Toluidine blue 染色(山元法)を施したものをを用いた。

* 家畜解剖学研究室 ** 家畜病理学研究室

観 察 結 果

今回の電顕的観察に用いた材料は、予め光顕レベルによる観察で、いずれも正常であり病的変化は認めなかった。

馬・牛・山羊・羊・犬・猫・狸の肝臓を電顕的に観察すると、類洞と肝細胞間には単層に配列する類洞内皮細胞と Disse 腔が区分され、Disse 腔内には肝細胞から突出した多数の microvilli, 細網線維束, ある種の細胞片が認められる。反芻動物においては、このほか内皮細胞層と Disse 腔との間に基底膜が存在する。

類洞内皮細胞の断面は紡錘形を呈し、核の周辺部には少量の細胞質が認められるが (Fig. 1) その他の部分は薄板状となり類洞壁の大部分を占めている (Fig. 2)。核周辺部の細胞質には小型で球形ないし楕円形を呈する mitochondria, 小胞状ないし管状の r-ER (粗面小胞体) と s-ER (滑面小胞体), 種々な形態を示す lysosome 様小体, 発達の悪い Golgi 装置, free-ribosome などが少量含まれている。また類洞腔に面する細胞膜にはしばしば pinocytotic invagination が認められる。類洞壁の大部分を占め、細胞小器官に乏しい薄板状の内皮細胞突起には、大小種々の間隙 (gap) や隔膜のない有窓部 (fenestrae) が認められる (Figs. 2-4)。しかし隣接する内皮細胞は互いに接触または重積し、単純隣接 simple apposition (または接触 contact) (Fig. 5) や中間結合 intermediate junction (または接着帯 zonula adhaerens) (Fig. 6) を示す部分がしばしば認められる。また馬・羊・猫の類洞では、腎臓, 内分泌腺, 消化管などの毛細血管と同じく、有窓部に隔膜 (diaphragm) を保有するものも認められる (Figs. 5, 6)。

馬・犬・猫・狸の類洞では内皮細胞に基底膜を欠除する (Figs. 3, 6) が、牛 (Fig. 2), 山羊 (Figs. 1, 4), 羊 (Fig. 5) では内皮細胞と Disse 腔との間に、電密度が高く幅の狭い連続性の基底膜が常に認められる。

Disse 腔は種々の広さを示し、内部には肝細胞の microvilli や細網線維のほか、ある種の細胞片が認められる (Figs. 2, 4, 6)。この細胞片は細長く内皮細胞と平行に位置し、電密度は前二者よりやや高く、大きさも種々でその胞体内には細胞小器官を全く含まないか、または mitochondria, 脂胞滴, lysosome 様小体等を少数含んでいる。この細胞片が内皮細胞のものでないことは明らかであるが、細網細胞, 線維芽細胞, 脂肪摂取細胞のいずれであるかは今のところ明らかでない。

考 察

肝臓の類洞は基底膜を欠くうえ、内皮細胞層にかなり大きい不連続部があり、また内皮細胞自体にも隔膜のない多くの有窓部が存在する。そのためこれら不連続部や有窓部を通じて、類洞内の血液成分と肝細胞とが自由に接触できる特異な毛細血管であると一般に理解されている。

しかし、フ卵初期の鶏胎児⁴⁾・仔牛⁶⁾・マウス¹⁸⁾・ラット^{18~20)}・モルモット^{18,19)}および羊²¹⁾などでは連続性の類洞内皮を観察した報告があるし、またラット¹⁹⁾・モルモット¹⁹⁾・羊¹⁴⁾などにおいては内皮細胞の有窓部に隔膜を認めた報告もある。ただし、フ卵初期の鶏胎児⁴⁾と仔牛⁶⁾の内皮細胞は無窓性であるという。著者らが馬・牛・山羊・羊・犬・猫・狸について観察した結果は、上述のごとく、類洞内皮細胞層に大小種々の間隙や有窓部が普遍的に認められた。しかし一方では隣接する内皮細胞が互いに接触または重積し、単純隣接 (接触) や中間結合 (接着帯) を呈するものもしばしば認められたし、これらは細胞間の弱い結合様式であるため、本来連続していた内皮細

胞層が切片作製過程で二次的に分離した結果、このような細胞間々隙を生じたものとも考えられる。また馬・羊・猫の内皮細胞には、有窓部に隔膜のある部分が認められた。このことから、類洞内皮細胞は元来隔膜を有する有窓内皮であるが、この隔膜も切片作製過程で破壊され隔膜のない有窓部を現わすものと判断される。従って、著者らの観察所見や先人の報告からみて、肝類洞内皮細胞層の構造には、鶏胎児⁴⁾や仔牛⁶⁾の場合のごとく年令差はあるにしても、異種動物間や同種動物内において異なる所見を呈するのは、先人^{18,19)}も示唆しているように、類洞内皮細胞が非常に脆く、材料採取から超薄切に至る過程で、何らかの影響によりその構造が変化するものと考えられる方が適当であろう。

ラット²⁰⁾・人¹⁷⁾・新生仔羊¹⁴⁾の類洞内皮細胞では、短かい不連続性の基底膜様物質が認められ、仔牛⁶⁾・山羊⁸⁾・新生仔羊²¹⁾・成羊^{14,21)}においては類洞を完全に包囲する連続性の基底膜が、また肝硬変患者¹⁵⁾やその他の病的肝臓においても連続性または不連続性の基底膜が認められている。これらのことから、反芻動物ではその発育途上において、また他の動物では肝疾患によって基底膜が形成されることを示している。著者らの観察でも馬・犬・猫・狸の類洞には基底膜を認めなかったが、牛・山羊・羊には全例において連続性の基底膜が認められ先人の所見と一致した。

ラットの肝小葉辺縁部と中心部においては門脈枝および中心静脈の内皮細胞と基底膜がいくぶん類洞壁にまで延伸し、その部の類洞では連続性の内皮細胞層と基底膜が認められるというし⁷⁾、またKarnovskyの鉛染色法を施した健常人肝において基底膜様物質が認められたという報告²²⁾もあるが、これらの点に関しては追試検討してみたい。

要 約

馬・牛・山羊・羊・犬・猫および狸の肝類洞壁の微細構造を観察し次の所見を得た。

1. これら全ての動物において、類洞と肝細胞の間には単層に配列する血管内皮細胞とDisse腔が区分され、Disse腔内には肝細胞のmicrovilli, 細網線維束, ある種の細胞片が認められる。
2. 類洞壁の大部分を構成する薄板状の内皮細胞層には、大小種々の間隙および隔膜を欠除する有窓部が認められる。しかし、隣接する内皮細胞が互いに接触または重積し、単純隣接(接触)や中間結合(接着帯)などの弱い細胞間結合を示す像がしばしば認められる。また馬・羊・猫では、内皮細胞の有窓部に隔膜を保有するものも認められる。これらの所見から、肝類洞壁を構成する内皮細胞は本来、隔膜のある有窓内皮細胞の連続性であるが、切片作製過程における何らかの影響で細胞間結合が分離し、また有窓部の隔膜も破壊される結果、大小種々の間隙や隔膜のない有窓部を持つ内皮細胞層として認められるのであろう。
3. 牛・山羊・羊では類洞内皮細胞層とDisse腔との間には連続的な基底膜が存在する。

終わりに、電顕の使用に際し親切なる御配慮をいただいた本学工学部・小佐井 昭助教授、材料を提供していただいた本学部・家畜外科学研究室ならびに家畜品種学研究室、家畜育種学研究室の各位に対し深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Fawcett, W.: J. Nat. Cancer., **15**(5), 1475-1502 (1955).
- 2) 安田 勝: 日組録, **18**(2), 223-261 (1955).
- 3) 新築 実, 藤田尚男: 解剖誌, **42**(6), 付6-7 (1967).

- 4) Karrer, H. H. and J. Cox: *J. Ultrastruct. Res.*, **5**, 116-141 (1961).
- 5) 高木文一, 鈴木昭男, 安田寛基, 斉藤実俊, 長尾悌夫: *日病会誌*, **46**(3), 362-363 (1957) .
- 6) Wood, R. L.: *Z. Zellforsch.*, **58**, 679-692 (1963).
- 7) Burkkel, W. E. and F. N. Low : *Amer. J. Anat.*, **118**, 769-784 (1966).
- 8) Kuhn, O. N. and M. L. Olivier: *J. Cell Biol.*, **26**, 977-979 (1965).
- 9) Tanikawa, K., K. Yoshimura and S. Gohara: *Kurume med. J.*, **12**, 139-147 (1965).
- 10) Horiuchi, T.: *Kobe J. med. Sci.*, **6**, 185-210 (1960).
- 11) 山岸三男: *日組録*, **18** (2), 223-261 (1959).
- 12) Schffer, F. and H. Popper (1961) : cited from 9.
- 13) Ackermann, G. A., J. A. Grasso and R. A. Knouff (1961) : cited from 9.
- 14) Gemmel, R. T. and T. Heath : *Anat. Rec.*, **172** (1), 57-70 (1972).
- 15) Schffner, F. and H. Popper: *Gastroenterology*, **44** (3), 239-242 (1963).
- 16) 近藤七郎: *肝臓*, **9** (1), 80-81 (1968).
- 17) Ito, T. and S. Schibasaki : *Arch. Hist. Jap.*, **29** (2), 137-192 (1968).
- 18) Wassermann, F. : *Z. Zellforsch.*, **49**, 13-32 (1958).
- 19) Laschi, R. and S. Cassanova: *J. de Microscopie*, **8**, 1037-1040 (1969).
- 20) Wisse, E.: *J. Ultrastruct. Res.*, **31**, 125-150 (1970).
- 21) Grubb, D. J. and A. L. Jones: *Anat. Rec.*, **170** (1), 75-80 (1971).
- 22) Rouiller, Ch. and A. M. Jezequel (1963) : cited from 16.

Summary

The fine structure of the hepatic sinusoidal walls were examined with an electron microscope. Liver tissue obtained from two adult horses, two adult cows, three adult goats, two adult sheep, three adult dogs, three cats (two months to two years old) and two adult racoon dogs were cut into small pieces and fixed in conventional ice-cold 2%O₄ buffered with s-Collidine at pH 7.4. After 2 to 5 hours of fixation, the tissue blocks were dehydrated through ethanol and acetone series, and embedded in Epon 812. Ultra-thin sections were double-stained in 2% uranyle acetate and Reynold's lead citrate, and examined in a Hitachi HU-11 D-S electron microscope. All thick sections of Epon embedded material stained with Yamamoto's toluidine blue did not show any significant pathological change. The electron microscopic observations are summarized as follows:

1. In all the examined mammals, the Disse's space and vascular endothelial lining are distinguishable between the lumen of sinusoid and liver cells, and abundant microvilli protruded from the hepatocytes, reticular fibers and bits of unidentifiable cytoplasm are commonly contained in the space of Disse.

2. In all of the livers numerous gaps and fenestrae, having no diaphragm, of variable width exist in the attenuated endothelial plates forming the largest portion of the sinusoidal walls, and sinusoidal linings are seen to be discontinuous (Figs. 2, 3 and 4). This is the hepatic sinusoid described in many electron microscopic studies. However, the free edges of the adjacent endothelial plates are apposed or overlapped, and between their cell membranes the structures of loose cell junction such as "simple apposition or contact" (Fig. 5) or "intermediate junction or zonula adhaerens" (Fig. 6) are frequently recognized. In some areas of liver from horses, sheep and cats, moreover, the diaphragms closing the fenestrae of sinusoidal linings are seen (Figs. 5 and 6).

These findings suggest that the liver sinusoidal lining is continuous itself, but in the electron microscope the discontinuities are observed in the lining by detachment of the cell connection between the endothelial cells and destruction of the diaphragms closing the fenestrae during the

tissue preparation.

3. In the liver of cows (Fig. 2), goats (Figs. 1 and 4) and sheep (Fig. 5), the sinusoidal endothelium possesses a continuous basement membrane.

Explanation of Figures

- Fig. 1. An endothelial cell (E) of goat's sinusoid. L : lumen of sinusoid, D : Disse's space, —→ : basement membrane. X 18, 250.
- Fig. 2. Sinusoid of cattle liver. Endothelial lining (E) is interrupted. L:lumen of sinusoid, —→ : basement membrane. X 31, 350.
- Fig. 3. Cat's hepatic sinusoid, showing discontinuity of endothelium (E) and absence of basement membrane. L:lumen of sinusoids, D:space of Disse. X 16, 020.
- Fig. 4. Discontinuous endothelium (E) of goat's sinusoid. D:Disse's space, P:perisinusoidal cell. X 19, 150.
- Fig. 5. Continuous endothelium (E) of sinusoid from sheep. Diaphragm (arrow) and cell contact (line) are visible. X 27, 240.
- Fig. 6. Continuous endothelium of cat's sinusoid. Diaphragms (arrows) and the intermediate junction (line) are seen. P:perisinusoidal cell. X 32, 800.





