〈原 著〉

実験的 D-Galactosamine 肝炎

——好酸体形成過程の電顕的観察および UDPG の影響を中心に——

三 辺 謙 土 屋 雅 春 亀 谷 麒 与 隆
織 田 正 也 岡 崎 勲*

ヒトのウイルス性肝炎の病原体に関しては、最近 Au 抗原の発見¹⁾、研究²⁾により、手がかりがつかめた感があるが、肝炎発生の機序 (formale Genese) はほとんど不明である。現在までに、ヒトのウイルス性肝炎にかなり特異的にみられる acidophilic body³⁾、肝細胞の好酸性変性などを含むウイルス性肝炎と同様、ないし類似の肝病変を実験動物に作りえたとする報告は、D-galactosamine による hepatitis⁴⁾以外にみられない。急性 CCl₄ 肝障害でもまれに肝細胞に好酸体様変性がみられるが⁵⁾、この場合、光顕的にもかなり著明な肝細胞の脂肪化、空胞化がみられ、全体としてヒトのウイルス性肝炎の組織像とは異なった印象をうける。

Keppler ら (1968)⁴⁾ は、ラットにおける hexosamine 代謝の研究で、D-galactosamine (GalN) のラット腹腔内注射により、ヒトの急性ウイルス性肝炎と形態的ならびに機能的に、きわめて類似した所見がえられることを観察し、その後 D-galactosamine の投与により UDPG が減少し、その結果 glycogen, heteropolysaccharides, glucuronides の合成阻害を生じて、これが肝障害の原因となることを示唆し⁶⁾、GalN の投与で肝の uridine phosphates の量が正常の 30% 以下で数時間経過すると、肝障害がおこると報告している⁷⁾。著者らは GalN のラット腹腔内投与で、糖質、脂質および蛋白質代謝が著しく障害されることから、これら機能障害に対応する肝細胞の所見を電顕的、酵素組織化学的に検討し、さらに D-galactosamine hepatitis における UDPG 投与の影響を観察した。

実 験

1) 方 法

体重 150g 前後の Wistar 系雌性ラットを標準ラット固形食で飼育し、以下の 5 群にわけて検討した。すなわ

ち、対照群 8 匹、GalN 初回投与より 25 時間後屠殺群 20 匹、48 時間後屠殺群 10 匹、2 倍量投与 25 時間後屠殺群 10 匹、2 倍量投与 48 時間後屠殺群 8 匹である。GalN の投与は Keppler らの方法に従い、GalN の 0.45 M 中性溶液を作製し、ラット体重 100g につき 1 回 25 mg の割合で 6 回腹腔内に注射した。すなわち、最初の 3 回は 4 時間間隔で注射し、第 3 回目の注射から 14 時間後に第 4 回目の注射を行い、それから 1 時間間隔で第 5、第 6 回目の注射を施行した。初回注射から 25 時間、48 時間後に断頭屠殺を行った。

屠殺後ただちに肝の一部を 0.5mm 角に細切し、1% オスミウム酸に固定後、エポン包埋を施した。Porter-Blum MT II 型 Microtome で超薄切片を作製、ウラン・鉛二重染色後、Hitachi HS 8 型電子顕微鏡下で観察した。光顕用には 10% 等張中性ホルマリンおよび純アルコールで固定、いずれもパラフィンに包埋、薄切後、H-E 染色、Mallory 膠原線維染色、PAS 反応、ジアスターゼ消化後の PAS 反応 (DPAS 反応) を施行した。酵素組織化学的には acid phosphatase 活性を Barka & Anderson 法⁸⁾にて、glucose-6-phosphatase を Wachstein-Meisel 法⁹⁾にて検索した。さらに血清にて血糖値、総ビリルビン値、SGPT 値、alkaline phosphatase 値 (Kind-King 法)、血清総蛋白量、蛋白分画、triglyceride、総コレステロールおよび NEFA について測定した。肝組織の総脂質重量の測定は、Folch ら¹⁰⁾の方法に従った。

2) 成 績

i) 形態学的所見：Keppler ら⁴⁾の用いた量では、初回注射から 25 時間、48 時間の屠殺前に死亡した動物は皆無であった。2 倍量の投与では、初回注射より 25 時間以内の死亡はみられなかったが、初回注射より、48 時間後の屠殺時期に達する前に 8 匹中 5 匹 (62.5%) が死亡した。死亡例はすべて出血傾向を示し、そのうち 2 匹に著しい腸管粘膜出血がみられた。屠殺時 GalN 投与

* K. Sambe, M. Tsuchiya, K. Kamegaya, M. Oda, I. Okazaki : 慶応大学 内科。

群の肝はいずれも淡橙黄色で、肝の脂肪化をうかがわせた。ことに 48 時間後の全例に肝腫大がみられ、その変化は著しい。

光顕的には、初回注射後 25 時間で、グリッソン鞘部の小円形細胞ならびに好中球の浸潤、Kupffer 細胞の動員、spotty necrosis が小葉全体にわたって散在し (図 1)、肝細胞索の乱れ、肝細胞の大小不同、好酸性変性とともに肝細胞内および肝細胞外にヒトのウイルス性肝炎にみられる acidophilic body と同様の光顕所見を示す構造物も多数認められる (図 2)。肝細胞の一部に微細脂肪滴もわずかに認められるが、この点はヒトのウイルス性肝炎の組織像と異なると考えられる。

初回注射より 48 時間経過すると、肝細胞の変性所見はさらに著明で、肝細胞の脂肪化も明らかとなる。2 倍量投与 25 時間後の肝は、標準量投与の 25 時間後より肝細胞の変性所見はやや著しいが、グリッソン鞘の炎症性細胞反応はほぼ同程度であった。2 倍量投与 48 時間後の肝では、肝細胞内に大脂肪滴が目立ち、肝細胞の大小不同、グリッソン鞘の細胞浸潤、Kupffer 細胞の動員などが著しい。

電顕的には、観察した肝細胞の大部分に共通して粗面小胞体腔の囊胞状拡大、ribosome の脱落・消失、滑面小胞体の局所的増生、拡大した小胞体腔における脂蛋白様物質の貯留、glycogen 顆粒の減少と部分的消失が観察される (図 3, 12, 13)。部位によっては、小胞体の変性糸粒体あるいは脂蛋白様物を包囲して同心円状の層状配列を示す。糸粒体に関しては、cristae の不規則な配列と部分的な膨化、糸粒体顆粒の減少・消失傾向を示すものと、ほぼ正常の形態を示すものとが混在しているが、全般的に電子密度が増大している (図 3)。

肝細胞膜では、Disse 腔に面する肝細胞 microvilli が減少し、浮腫状に腫大する傾向がみられ、一部肝細胞膜が部分的に破壊されてその部から変性小器官が Disse 腔、さらに類洞内に流出していると考えられる所見も観察される。また変性の著しい肝細胞が Disse 腔に突出し、それを取り囲むように、Kupffer 細胞あるいは macrophage が接近し、変性肝細胞が肝細胞索から脱落する過程を示唆する所見も認められる (図 4)。光顕レベルで好酸性変性を示す肝細胞の細胞形質は、電顕的には電子密度が著しく高く、小器官は変性凝縮し、糸粒体以外的小器官の識別は困難であり、肝細胞の凝固壊死を思わせる (図 5)。

特記すべきことは、主としてヒトのウイルス性肝炎の

際に出現する acidophilic body と同様の光顕的所見を示す構造物が肝細胞内、Disse 腔内、Kupffer 細胞内などに多数認められることである (図 2)。これらは Mallory 染色で赤紅色、紫紅色、藍色などの多彩な色調を呈し、色調に関しては alcoholic hyalin¹⁴⁾ と似た所見である。ジアスターゼで切片を消化したのちの好酸体は、PAS 反応陽性で中性ムコ多糖の存在を示唆する。

Lysosomal enzyme の一つである acid phosphatase の活性を simultaneous azo-dye coupling method⁸⁾ で検索すると、好酸体は homogeneous に活性を示すものから、まったく活性のないものまで種々観察される。Kupffer 細胞および小壊死巣部の間葉系細胞にも著明な活性が認められる。肝細胞 1 個が変性して acidophilic body に変容することもあるが、肝細胞質の一部のみ変性して acidophilic body の形態をとり、次いで比較的健常な肝細胞質から分離され、肝細胞外に放出されることを示すとき像が光顕的に観察された (図 2)。これをその形成の初期から電顕的に追跡してみた。

まず比較的変性の著しい小器官および基質が、2 層の限界膜で境された球状の小体として周囲の肝細胞形質から分離される (図 6)。その小体内の小器官は識別可能で、いずれも肝細胞小器官に相当するが、小器官相互の位置的配列はまったく乱れ、細胞質基質 (hyaloplasm) はやや電子密度の高い顆粒状を呈する。糸粒体は著しく膨化し、糸粒体基質は顆粒状となり、cristae および糸粒体顆粒は減少・消失する。滑面小胞体は小胞状に増生し、その腔内に脂蛋白様物質を包含し、これらを囲繞し ribosome がほとんど脱落した粗面小胞体が渦巻状に配列している (図 6)。Glycogen 顆粒、Golgi 体および lysosome は認められない。

この小体はさらに凝縮し、全体的に大きさが減少するとともに小体内小器官の識別はまったく不可能となり、電子密度の高い不規則顆粒状物質と低密度の明調な囊胞状構造物の集合から成るに至る (図 7)。部位によっては、同様の小体がさらに過密化され、明調な部分は目立たなくなり、大部分が電子密度の著しく高い無定形物質の集塊から成るきわめて暗調な小体として観察される (図 8)。なかには同小体内に結晶状ないし細線維状構造物が混在しているもの、あるいは大きな脂蛋白様物質を包含しているものも認められる (図 9)。なお、小器官の識別不能となった小体周囲の肝細胞小器官の変化は、同小体形成初期のそれと比べ軽微となっている。

以上のごとく、肝細胞内にみられた小体は focal cyto-

図 1. ラット肝. GalN 投与開始後 25 時間. Spotty necrosis (矢印), 好酸体, グ
鞘の細胞浸潤など, ヒトウィルス性肝炎類似の所見がみられる. H-E 染色.

図 2. ラット肝. GalN 投与開始後 25 時間. 肝細胞内に好酸体様構造物 (矢印)
がみられる. H-E 染色.

図 3. GalN 初回注射 25 時間後の肝電顕像：粗面小胞体の囊胞状拡大，ribosome の脱落，滑面小胞体の小胞状増生（矢印），脂蛋白様物質の貯留像（左上部）がみられ，glycogen 顆粒はほとんど消失している．糸粒体の crista は拡大し，その基質の電子密度は高まっている．BC：毛細胆管（やや拡大している），N：肝細胞核．ウラン・鉛 2 重染色， $\times 5,300$ ．

図 4. 変性肝細胞 (H) が類洞側に舌状に突出し、それを取り囲むように間葉系細胞 (m) が接近している。e: 内皮細胞, lym: リンパ球, S: 類洞, r: 赤血球, ウラン・鉛 2 重染色, $\times 5,000$.

図 5. 肝細胞全体が凝縮し、電子密度が著しく高まった暗調細胞像 (H₁) 明調な隣接肝細胞 (H₂) から一部解離しつつあり (矢印), 間葉系細胞 (MC) が接近している。bc: 毛細胆管, D: Disse 腔, ウラン・鉛 2 重染色, $\times 15,000$.

図 6. 小器官の変化が著しい肝細胞質の一部が2層の限界膜で境され、球状小体(太い矢印)が形成されている。小体内の基質は顆粒状となって電子密度がやや高まり、滑面小胞体が増生し、それを取り囲んで粗面小胞体が渦状配列を示す。糸粒体は著しく腫大し、cristaeは減少・消失している(細い矢印)。

H: 肝細胞, MC: 間葉系細胞, ウラン・鉛2重染色, $\times 9,400$.

図 7. 図 6 に示された小体がさらに凝縮した像 (矢印). 小体内小器官の識別は不可能となり, 電子密度の高い顆粒状物質と明調な囊胞状構造物から成る.

H: 肝細胞, S: 類洞, ウラン・鉛 2 重染色, $\times 13,500$.

図 8. 図 7 の小体はさらに過密化され、電子密度が著しく高い無定形物質の集塊として観察されるに至る (矢印). H: 肝細胞, n: 肝細胞核, ウラン・鉛 2 重染色, $\times 18,400$.

図 9. 図 7, 8 と同様の小体が Disse 腔内で macrophage (MP) によって包囲されつつある像 (長矢印) とその胞体内に完全に貪食された像 (短矢印) を認める。

H: 肝細胞, ly: lysosome, N: macrophage の核, ウラン・鉛 2 重染色, $\times 9,800$.

図 10. 正常ラット肝, G-6-Pase 活性. 凍結切片. 肝細胞内にびまん性活性がみられる.

図 11. ラット肝, GalN 投与開始後 48 時間, G-6-Pase 活性. 凍結切片. 活性のみられない肝細胞の混在で虫喰状にみえる.

図 12. 小胞状に増生した滑面小胞体腔内に電子密度の高い脂蛋白様物質が貯留し（小矢印），大きさの増大とともに肝細胞基質に沈着した像（大矢印）を呈する．同物質の一部は exocytosis により肝細胞間隙（IS）に排泄されつつある（細矢印）．ウラン・鉛 2 重染色， $\times 47,500$.

図 13. 多数の脂蛋白様物質が Disse 腔内に分泌され（大矢印），さらには類洞内に流出している像がみられる（小矢印）．S：類洞，e：内皮細胞，H：肝細胞，ウラン・鉛 2 重染色， $\times 36,800$.

plasmic degradation の像 (巨大な autophagic vacuole) に相当すると考えられるが, 同小体は Disse 腔あるいは類洞内に放出され, さらに Kupffer 細胞あるいは macrophage によって近接, 包囲され, ついにはそれら胞体内に貪食されているとき像も観察される (図 9)。

以上より acidophilic body の起源は, 変性した肝細胞小器官と基質との集合と考えられる。

対照の無処置ラット肝の PAS 反応では, グリコーゲンと目される陽性顆粒 (ジアスターゼによる消化で消失) が, 肝細胞内に多量に認められる。しかるに Gal N 投与群では, 標準量の初回注射後 25 時間の肝細胞内には, グリコーゲン顆粒はほとんどみられず, 電顕的にも大部分の肝細胞で glycogen area はほとんど消失している (図 3)。肝における糖代謝異常の機序を解明する一助として, 肝細胞の G-6-Pase の活性につき酵素組織化学的に検討した。対照無処置ラットの肝細胞には, 肝小葉全体にはほぼ均等に明らかな G-6-Pase の活性がみられるが (図 10), Gal N の標準量 6 回投与法で初回注射後 48 時間のラット肝の G-6-Pase 活性は全般的に低下し, 虫喰状に活性のまったくみられない箇所が観察される (図 11)。

脂質代謝については, 初回注射後 25 時間の肝の 10 %ホルマリン固定標本につき oil red O 法による脂肪染色を施行すると, H-E 染色では識別しえない肝細胞内

微細脂肪滴が小葉内にびまん性に多数認められ, 電顕的には拡大した滑面あるいは粗面小胞体腔内に電子密度の比較的高い物質として貯留しはじめ, 大きさが増大するにつれて, hyaloplasm に沈着した像を呈してくる (図 12, 13)。さらに, この脂蛋白様物質が exocytosis によって肝細胞間隙あるいは Disse 腔内に排泄されている像も観察される (図 12, 13)。

ii) 検査室成績: 血清総ビリルビン値は, 標準量投与 25 時間後, 48 時間後, 2 倍量投与 25 時間後のいずれの群でも, 対照群に比し有意の差をもって高値を示した。ことに 48 時間後には, 無処置群の血清総ビリルビン値の約 10 倍量にまで達している。SGPT 値は標準量投与後 25 時間で 444 ± 247 単位と高値を示し (無処置対照ラットでは 47.5 ± 19.9), 2 倍量では 888 ± 452 単位と著しい上昇がみられた (表 1)。アルカリ性フォスファターゼ値については偏差が大きいが, 投与群で高値を示す個体が多い。

血糖値についてみると, 標準量投与後 25 時間および 48 時間群ではほぼ程同度の著しい低値を示し, 対照群の 55% であり, 2 倍量投与 25 時間群の血糖値はさらに低く, 対照群の 48% であった。これは前述の肝細胞内のグリコーゲン顆粒の消失, G-6-Pase の活性低下などの所見に対応するものであろう。血清総蛋白量も Gal N 投与の各群で有意の低値を示し, 対照群のそれの約

表 1. Laboratory findings after galactosamine treatment

	Control			25 hrs.				48 hrs.				25 hrs. after two fold doses			
	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Sign.	Mean	SD	N	Sign.	Mean	SD	N	Sign.
Total bilirubin (mg/dl)	0.26±0.028		5	0.66±0.47	5		<0.001	2.84±1.70	5		<0.001	0.60±0.24	5		<0.004
GPT	47.5±19.9		8	444±247	5		<0.003	378±130	5		<0.001	888±452	5		<0.001
Alkaline phosphatase (K. K. U.)	11.0±6.39		5	25.4±6.63	5			26.9±17.5	4						
Total cholesterol (mg/dl)	70.2±14.1		5	35.2±13.7	5		<0.001	34.6±16.1	5		<0.001	37.2±11.2	5		<0.001
Total protein (g/dl)	7.64±0.71		5	4.44±1.56	5		<0.01	4.92±0.97	5		<0.001	4.44±0.30	5		<0.001
Albumin (g/dl)	4.65±0.39		5	2.94±1.37	5			2.68±0.64	5			2.53±0.13	5		
Globulin (g/dl)	2.99±0.49		5	1.50±0.42	5			2.24±0.53	5			1.91±0.28	5		
A/G	1.58±0.23		5	2.00±0.85	5			1.23±0.29	5			1.33±0.20	5		
Blood sugar (mg/dl)	109 ±11		7	60 ±10	5		<0.001	62 ±4.5	5		<0.001	52 ±7.6	5		<0.001

表 2. Serum lipid level of GalN treated rats

	Control			25 hrs.				48 hrs.			
	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Significance	Mean	SD	N	Significance
NEFA (mg/dl)	720	± 230	5	2480	± 683	5	<0.001	2670	± 924.7	5	<0.002
Triglyceride (mg/dl)	87.3	± 28.5	5	23.0	± 10.8	5	<0.002	27.5	± 22.1	5	<0.002
Total cholesterol (mg/dl)	70.2	± 14.1	5	35.2	± 13.7	5	<0.001	34.6	± 16.1	5	<0.001

60%に相当する。その低下は、主としてアルブミン値の低下によるもので、肝細胞傷害との関係が推測される。

血清 triglyceride, 総コレステロール, NEFA についてみると, Gal N 投与群の triglyceride は対照群のその約 28% と減少し, 総コレステロール量も対照群の 50% と低く, NEFA は対照群の約 3.5 倍に達する (表 2)。肝の総脂質量は, Gal N 投与群で有意の増加がみられたが (表 3), 組織学的にも脂肪染色陽性顆粒が, 肝細胞内に多量に認められ, 電顕的にも, 既述のごとく小胞体腔内および基質部に電子密度の比較的高い均等な物質として観察される (図 12, 13)。

表 3. Total lipid of rat liver after galactosamine treatment (mg/g wet tissue weight)

	Mean	SD	N	Significance
Control	41.74	± 1.48	5	
25 hours	68.70	± 16.43	5	<0.001
48 hours	125.46	± 26.09	5	<0.001

実験 II

Keppler らは, D-galactosamine の投与量がラット体重 1 kg あたり 250 mg 以上になると, 肝細胞内に Gal N-1-P, UDP-Gal N の蓄積がおこり, Gal N-1-P は UDPG pyrophosphorylase の酵素活性を阻害して UDPG の生成の低下, すなわち glycogen 合成系の低下をきたすとした^{6,12)}。著者らは UDPG (uridine diphosphate glucose) の Gal-N 肝炎におよぼす影響をうかがう目的で次の実験を行った。

1) 方法

体重 150g 前後の Wistar 系雌性ラット 10 匹を 5 匹ずつの 2 群に分け, 1 群では, Gal-N の 0.45 M 中性溶液をラット体重 100g につき 1 回 25 mg の割合で 5 回腹腔内に注射した。最初の 3 回は 4 時間間隔, 第 3 回

目の注射から 14 時間後に第 4 回目の注射を行い, それから約 1 時間後に第 5 回目の注射を施行し, 初回注射から 25 時間後に断頭屠殺した。この間, 水および標準ラット固形食は自由に摂取させた。他の 1 群では, Gal N の投与は前記の対照群とまったく同様にを行い, さらに Gal N 投与のそれぞれ 60 分前に, ラット体重 100g につき 10 mg の UDPG を筋注あるいは腹腔内に投与した。屠殺後直ちに 10% 等張中性ホルマリンに固定, パラフィン切片を作製し, 光顕的観察を行い, 血清で血糖値および SGPT 値の測定を行った。

2) 成績

UDPG 併用群のラット肝は, Gal N 単独投与群のそれに比し, 概してグリッソン鞘の細胞浸潤, 巣状壊死あるいは Kupffer 細胞の動員の程度, 好酸体の数などは明らかに少なく, Gal N 単独投与群の半数以上に認められた光顕レベルでの肝細胞脂肪化は, UDPG 併用群のラット肝にはみられない。UDPG の併用群でも, 血糖値がやや低値を示す個体もみられるが, Gal N 単独投与時に遭遇するとき極端な低値はみられない。SGPT 値も UDPG 併用群では正常ラットのそれよりも明らかな高値を示すが, Gal N 単独投与群に比し, 全般的に低値を示す (表 4)。

考 案

肝炎の causale Genese に関しては, ウイルスなどが主因をなすことは, ほぼ疑いのないことであろうが, formale Genese に関してはまったく不明といわざるをえない。劇症肝炎と呼ばれる 1 群の肝壊死を主病変とする病態は, 発生頻度は低いが, いったん発症すると致命的なことが多いので, その発生機序の解明と, その防止および治療法の開発は急務であるが, 実験的に同様な状態を再現することができないことが, この方面の研究の一つの隘路となっていた。

表 4. Effects of UDPG upon GalN hepatitis (24 hrs.)

Rat No.	Liver	Cellular infiltration of portal tra.	Cellular infiltration around central V.	Spotty necrosis	Kupffer cell mobilizat.	Acidophilic bodies	Fatty metamor- phosis	Blood sugar (mg/dl)	GPT
1.	GalN(250 mg/ kg, 5×, I. P.)	++	±	++	+	+	—	80	214
2.	"	+++	±	+++	++	+++	+	70	340
3.	"	+++	+	+++	++	+++	—	90	320
4.	"	+++	±	+++	++	+++	+	45	340
5.	"	+++	±	+++	++	+++	+	60	330
6.	GalN UDPG (100 mg/kg, 5×, I.M.)	+++	±	+++	++	+++	—	70	340
7.	"	++	—	+	+	+	—	65	180
8.	GalN UDPG (100 mg/kg, 5×, I. P.)	++	—	+	+	+	—	90	150
9.	"	+	—	+~±	±	+	—	70	240
10.	"	++	—	+	+	+	—	80	

Kepplerら⁴⁾による実験的 Gal N 肝炎は、肝炎の formale Genese の検索に恰好の素材を提供すると思われる。すなわち、組成の明らかな化学物質の投与で、短時間に、高率に、ヒトのウイルス性肝炎類似の肝変化をラット、マウス、家兔、モルモットなどの種々の実験動物でおこなうことができることは、この方面の研究に好都合である。Gal N 起因性肝炎発生の機序として、Keppler らによれば、Gal N の投与量がラット体重 1 kg あたり 250 mg 以上になると、肝細胞内に Gal N-1-P、UDP-Gal N の蓄積がおこり、Gal N-1-P は UDPG pyrophosphorylase の酵素活性を阻害して UDPG 生成の低下、換言すれば glycogen 合成系の低下がまず起こることを指摘している^{6,12)}。

Gal N を腹腔内に注射すると、ラットの肝内に Gal N-1-phosphate と UDP-Gal N が蓄積する。UDPG が十分に存在すれば、Gal N-1-P は UDP-Gal N となり処理されるが、これが不足すると Gal N-1-P が蓄積し、これが UDPG-pyrophosphorylase 反応を阻害して、UDPG の生成が障害されて悪循環に陥る。UDPG が極度に減少すると、これに関連した glycogen, heteropolysaccharides, glucuronides の合成が阻害され、これが galactosamine hepatitis を誘発する大きな役割となるとしている。

すなわち、UDPG の肝細胞内における減少が肝炎発

生の契機となることが考えられるので、Gal N を投与する 60 分前にラット体重 100 g につき 10 mg の UDPG を筋注あるいは腹腔内に投与したところ、Gal N のみ投与された群に比べ、肝傷害の程度は軽い印象をうけた。すなわち、グリッソン鞘の細胞浸潤、巣状壊死、Kupffer 細胞の動員、acidophilic body の数などは明らかに少なく、肝細胞の脂肪化も阻止され、血糖値の極端な低下はみられず、血清 GPT 値も、Gal N 単独投与群に比しやや低い傾向がみられた。しかし、静注された UDPG の大部分は肝細胞膜の表面で分解され、細胞内に到達して利用されるに至らないとの観察もみられるので¹³⁾、UDPG 投与の効果あるいはその機序に関しては、今後の検討が待たれる。

Keppler らは Gal N 肝炎では肝の脂肪化はみられないと報告したが⁴⁾、その後 Medline ら¹⁴⁾、著者ら¹⁵⁾、Koff ら¹⁶⁾により、Gal N 初回注射後 25 時間に肝に脂質、主として triglyceride が蓄積することが確かめられた。なおこの際、血清の遊離脂酸 (NEFA) は著しく増量し、triglyceride、総コレステロールが減少していることはすでに述べたとおりである。この所見は CCl₄ 肝傷害でもみられる¹⁷⁾。Acidophilic body は主としてヒトのウイルス性肝炎にみられるが、CCl₄ 傷害ラット肝にも肝細胞の好酸性変性あるいは acidophilic body 様の所見がみられることがある⁶⁾。

Gal N による肝炎は、光顕的には acidophilic body, spotty necrosis など、ヒトのウイルス性肝炎にきわめて似た組織所見を示すが、電顕的あるいは検査室所見ではいくつかの相違点が観察される。すなわち、すでに Me-dline らも指摘しているように、電顕的に比較的多量の脂肪滴が肝細胞内にみられ^{14,15)}、生化学的にも肝の総脂質が著しく増量していることが証明される^{15,16)}。肝細胞内グリコーゲン顆粒は極度に減少しており、血糖値の低下も著しい。

ウイルス性肝炎では、血糖値が低下する例も報告されているが¹⁸⁾、劇症肝炎例を除いては著しい低下はみられない。Gal N 肝炎のこのような所見は、CCl₄ 障害の際の変化に類似する。しかし、ヒトのウイルス性肝炎にみられるものと光顕的・電顕的に近い構造を示す acidophilic change, あるいは acidophilic body が多数出現することは、病因的にヒトのウイルス性肝炎との共通点を示唆するように考えられ、誠に興味深い所見である。ヒトの肝にみられる好酸体は暗調細胞が1個全体として変性に陥り、肝細胞索より細胞内に離脱して、貪食細胞により貪食されることが観察されており^{3,19-21)}、しかもその好酸体形成過程で肝細胞内に autophagic vacuole, あるいは一部に限局した局所的変性所見がみられないことから、好酸体は肝細胞の一部からは形成されないと考えられてきた。しかし、Gal N 肝炎による著者らの光顕的・電顕的観察では、肝細胞質の一部が球状の好酸体を形成し、これが好酸性変性を示さない肝細胞質から demarcate されて肝細胞外に放出され、間葉系細胞に貪食される過程も観察される。

以上より肝細胞内の focal cytoplasmic degradation²²⁾ が好酸体の形成に関与する可能性が示されたといえる。また Gal N 肝炎にみられる好酸体内に滑面小胞体の異常増生所見を認めたが、この点も、ヒトのウイルス性肝炎における同小体の電顕的観察ではこれまで指摘されておらず、好酸体の形態発生上の相異点と考えられる。

最近 Reutter ら²³⁾ は、成熟ラットに肝炎を惹きさせる量の Gal N (Gal N 0.375 g/kg, 腹腔内1回投与、24時間後に屠殺)でも、胎生期ならびに生後15日以内のラット肝では炎症反応がみられず、さらに血清中の GOT および SDH (Sorbitol dehydrogenase) 活性は正常範囲内であることを報告している。Gal N 量を3倍にすると幼若ラットでも肝傷害がみられることから、幼若ラットでは Gal N 代謝が亢進し、有毒性の Gal N 代謝産物の蓄積があまりおこらないからであろうと考えられ

ている。これに関して、肝の部分切除をうけたラットの残存肝および Morris の hepatoma では、Gal N に対する抵抗が強いことが報告されている²⁴⁾。

Gal N 肝炎がヒトのウイルス性肝炎と組織学的にかなり似ていることから、Gal N 投与により動物に潜在する肝傷害性ウイルスが活性化されることによる肝傷害ということも念頭におく必要があるが、ラット、マウス、家兎、海獺などで潜伏期をおかずに規則的に肝変化がおこり、ガラクトサミン投与の中断で、2～3日の中に組織像が完全に修復することや、種々の施設で飼育された動物で、同様に肝炎がおこることなどから、Gal N 肝炎にはウイルスが関与しないと推定される。

Gal N の長期投与により、グリソン鞘部の細胆管の増生と小円形細胞浸潤の所見はえられたが、線維の明らかな増生はみられず、ヒトの慢性肝炎様の像はみられていない²⁵⁾。

むすび

1. Keppler らは D-galactosamine のラット腹腔内注射により、ヒトのウイルス性肝炎と同様の組織像がえられることを報告した。著者らも D-galactosamine による実験的肝炎で、ヒトのウイルス性肝炎に比較的特有とされる“acidophilic body”様構造物が多数出現することを観察し、これらの形成過程を電顕的に追跡した。これらは、ヒト肝炎における acidophilic body と同様に、肝細胞質の変性に起源することが確かめられた。D-galactosamine 肝炎では、1個の肝細胞全体が変性して肝細胞索から脱落し、Kupffer 細胞に貪食されて acidophilic body の所見を示すものの他に肝細胞質の一部が変性し、この部分が比較的健常に近い肝細胞質から分離放出されて、これが Kupffer 細胞に貪食される場合もあることが認められた。後者はヒトのウイルス性肝炎では観察されていない。

2. ヒト肝炎と異なり、肝に脂質が著しく増量していることが、電顕的、生化学的に確認された。血清 triglyceride および総コレステロール値は低下し、NEFA が高値を示した。この所見は、CCl₄ 障害時に類似する。

3. D-galactosamine 肝炎では、肝細胞内の UDPG の減少が著しく、これが肝細胞障害の要因となると推定されるため、D-galactosamine 投与に先だち、UDPG を腹腔内あるいは筋肉注射にて投与して、D-galactosamine 肝傷害におよぼす影響を観察した。肝傷害は UDPG の前投与でやや軽減する傾向がみられた。

脂質分析を担当された三辺研究室鈴木紘一博士ならびに D-galactosamine を提供いただいた中外製薬株式会社に深謝する。

文 献 1) Blumberg, B. S., Alter, H. J. & Visnick, S.: A "new" antigen in leukemia sera, *J. Amer. Med. Ass.* **191**: 541, 1965. 2) Prince, A. M.: Relationship of Australian and SH antigen, *Lancet* **2**: 462, 1968. 3) 松岡建造: 人肝における好酸体 および 肝細胞その他の好酸性変性の形態学的研究, *肝臓* **10**: 380, 1969. 4) Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. & Decker, K.: Experimental hepatitis induced by D-galactosamine, *Exp. Mol. Path.* **9**: 279, 1968. 5) 織田正也: 肝線維化の機序, *肝臓* **10**: 501, 1969.

6) Keppler, D. & Decker, K.: Studies on the mechanism of galactosamine hepatitis: Accumulation of galactosamine-1-phosphate and its inhibition of UDP-glucose pyrophosphorylase, *European, J. Biochem.* **10**: 219, 1969. 7) Decker, K., Keppler, D., Rudigier, J. & Domschke, W.: Cell damage by trapping of biosynthetic intermediates, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **352**: 412, 1971. 8) Barka, T. & Anderson, P. J.: Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler, *J. Histochem. & Cytochem.* **10**: 741, 1962. 9) Wachstein, M. & Meisel, E.: On the histochemical demonstration of glucose-6-phosphate, *J. Histochem. & Cytochem.* **4**: 592, 1956. 10) Folch, J., Lees, M. & Stanley, G. H. S.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *J. Biol. Chem.* **226**: 497, 1957.

11) Iseri, O. A. & Gottlieb, L. S.: Alcoholic hyaline and megamitochondria as separate and distinct entities in liver disease associated with alcoholism, *Gastroenterology* **60**: 1027, 1971. 12) Reutter, L. R., Keppler, W. D. & Decker, K.: Das morphologische Bild der Galactosaminschädigung der Rattenleber, *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* **75**: 358, 1969. 13) Bischoff, E.,

Liersch, M., Keppler, D. & Decker, K.: Fate of intravenously administered UDP-glucose, *Hopp-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **351**: 729, 1970. 14) Medline, A., Schaffner, F. & Popper, H.: Ultrastructural features in galactosamine-induced hepatitis, *Exp. Mol. Path.* **12**: 201, 1970. 15) 岡崎勲, 加茂紘一郎, 王英傑, 織田正也, 亀谷麒与隆, 土屋雅春, 三辺謙: D-Galactosamine による実験的肝炎—電顕的, 酵素組織化学的観察—, *肝臓* **12**: 288, 1971.

16) Koff, R. S., Gordon, G. & Sabesin, S. M.: D-Galactosamine hepatitis. 1. Hepatocellular injury and fatty liver following a single dose, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **137**: 696, 1971. 17) Garner, R. C. & McLean, A. E. M.: Increased susceptibility to carbon tetrachloride poisoning in the rat after pretreatment with oral phenobarbitone, *Biochem. Pharmacol.* **18**: 645, 1969. 18) Felig, P., Brown, W. V., Levine, R. A. & Klatskin, G.: Glucose homeostases in viral hepatitis, *New Eng. J. Med.* **283**: 1436, 1970. 19) Biava, C. & Muklova Montiel, M.: Electron microscopic observations on Councilman-like bodies and other forms of acidophilic changes in human liver cells, *Amer. J. Path.* **46**: 775, 1965. 20) Klion, F. M. & Schaffner, F.: The ultrastructure of acidophilic "Councilman-like" bodies in the liver, *Amer. J. Path.* **48**: 755, 1966.

21) Cavalli, G., Bianchi, F. B., Bacci, G. & Casali, A. M.: The histogenesis and clinical significance of acidophilic bodies in various liver diseases, *Digestion* **1**: 355, 1963. 22) Hruban, Z., Spargo, B., Swift, H., Wisler, R. W. & Kleinfeld, R. G.: Focal cytoplasmic degradation, *Amer. J. Path.* **42**: 657, 1963. 23) Reutter, W., Bauer, C. & Lesch, R.: On the mechanism of action of galactosamine: different response to D-galactosamine of rat liver during development, *Naturwissenschaften* **57**: 674, 1970. 24) Reutter, W. et al.: Abstr. 5th Meeting Europ. Assoc. Study Liver (EASL), Berna, 1970, p. 65. 23) より引用. 25) 未発表

* * * * *