<短 報>

針生検肝組織を用いたヒト肝細胞細胞骨格の走査電顕的観察

岡上 武 加知 一友 太田 義治 太田 正治
 金岡 彦治 澤 美彦 香川 恵造 瀧野 辰郎*

最近、肝細胞細胞骨格(H-CS)を比較的明瞭に観察する方法がいくつか報告され、肝疾患の肝細胞細胞骨格病理という新しい研究分野が開けてきた。著者ら^{1,2)}は既に走査電顕(SEM)を用いて *in situ* でラットおよびマウスの H-CS の三次元的存在様式を明らかにし、ヒトの楔状肝生検組織を対象にヒト H-CS の三次元的構築像についても報告³⁾した。しかし、肝疾患の細胞骨格病理を明らかにしてゆくためには、針生検材料での H-CS の観察が必須である。今回、著者らはヒト針生検肝組織を用いて、SEM で H-CS の立体構築像を明瞭に描出したので報告する。

対象と方法：胆石症および急性肝炎回復期の患者で、光顕上正常肝組織に近い像を呈した3症例を対象とした。肝生検は19gaugeのSurecut針(Tochigi Seiko, Inc., Tochigi)を使用し、得られた肝組織を銅板上にのせ、液体窒素で冷却したイソペンタン中でカミソリの刃で切断した。肝組織片を0.5%Triton X-100を含むJahnの液に30分間浸漬の後、2.5%グルタルアルデヒドで3時間固定した。固定した肝組織に既報のごとく改良タンニン酸オスミウム導電染色を施し、エタノール系列で脱水した。イソアミール・アセテートで置換の後、臨界点乾燥を施し、白金パラジウムを約30Åの厚さに蒸着し、日立S-520LB型SEMで観察した。

Jahnの液に浸漬後の肝組織の一部はFrenchら⁴⁾の方法に準じて透過電顕用に処理し、電顕的観察に供した。

結果：透過電顕による検討では、組織を冷却状態で処理するため、微小管はほとんど観察出来なかった。しかし、中間径フィラメント(IF)は細胞質内に無数に存在し、従来のFrenchら⁴⁾、著者ら^{1,2)}の報告した結果とほぼ同様であった。細胞境界部にはやや直径が小さくかつ短いマイクロフィラメント(MF)と思われるフィラメントも存在していた。

Fig. 1 Scanning electron micrograph of the liver tissue after 30 minutes immersion with Triton X-100. Hepatocytes with round shaped nuclei are demonstrated, and nuclei are not cracked in most of the hepatocytes. $\times 960$

Fig. 2 Scanning electron micrograph of hepatocyte after 30 minutes immersion. Numerous filaments are clearly seen throughout the cytoplasm which are more dense at the cell borders (arrows). N; nucleus $\times 10,000$

* 京都府立医科大学第3内科

<受付日62年4月6日>

SEMによる観察結果を次に述べる。弱拡大で観察すると、個々の肝細胞や類洞の同定は比較的容易であるが、著者らの *in situ* の灌流処理でのラットやマウスでの観察結果と比較すると、肝細胞索の乱れがより著明であった (Fig. 1)。核が切断された肝細胞は比較的少なく、多くは肝細胞と肝細胞の間で切断されていた。強拡大像では、細胞境界部や核の周囲はもちろんのこと、細胞質全体に亘って直径140~220 Åを示すフィラメントが無数に存在していた (Fig. 2)。これらのフィラメントは頻繁に相互に接着し、立体的網目状構造を形成し、核の表面ではループを形成し核に付着していた。フィラメントの太さおよびその存在様式から、これらの大部分はIFと想定された。また、細胞境界部にはより多くのフィラメントが観察され、構成フィラメントはIFとMFであると思われた。

考案：今回、ヒトの肝針生検材料を用いてSEMでH-CSを観察し、その立体構築像を明瞭に描出した。今回の成績は *in situ* でのラット等の成績^{1,2)}とほぼ同様である。しかし、低温処理のためMTはほとんど残存

しておらず、肝細胞の核で切断されにくいという点が *in situ* での結果と異なる。IFとMFがより多く残存するため、対象とする研究によっては本法はより有用となる。また、著者ら⁵⁾はLowicryl K4M低温包埋法を用いた免疫電顕での検討から、アクチンの局在をも明確にしている。従来、種々の実験的病態肝のH-CSについて研究してきたが⁶⁻⁸⁾、ヒト針生検肝組織のH-CSのSEMによる観察が可能になったことは、今後肝疾患の細胞骨格病理の研究の発展に寄与するものと考えらる。

索引用語： ヒト肝細胞細胞骨格、中間径フィラメント、走査電顕

文 献：1) Okanoue T, et al: Hepatology 5: 1-6, 1985 2) 太田正治, 他: 肝臓 26: 598-604, 1985 3) 岡上 武, 他: 肝臓 28: 330-335, 1987 4) French SW, et al: Hepatology 2: 29-38, 1982 5) 加知一友, 他: 肝臓 20: 260-261, 1987 6) Okanoue T, et al: Lab Invest 53: 534-540, 1985 7) 太田正治, 他: 肝臓 26: 1414, 1985 8) 岡上武, 他: 生体の科学 37: 454-459, 1986

Scanning electron microscopy of hepatocyte cytoskeleton of human liver tissue taken by needle biopsy

Takeshi OKANOUE, Kazutomo KACHI, Yoshiharu OHTA, Masaharu OHTA,
Hikoharu KANAOKA, Yoshihiko SAWA, Keizo KAGAWA
and Tatsuro TAKINO*

* Third Department of Internal Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine (Kyoto)