

肺の結核性病巣被膜に於ける膠原線維の研究

京都大学結核研究所外科療法部

山 崎 昇・木下修二郎
吉 田 要・馬 渡 誠

(昭和35年1月20日受付)

緒 言

肺の結核性病巣のうち、硬化性病巣と云われる一群の病巣は今日の進歩した化学療法によつても十分な治療効果、即ち、瘢痕性治癒を期待し難いとされているものである。このような硬化性病巣の病理組織学的特徴は、所謂病巣被膜に類上皮細胞及び Langhans 氏巨細胞等よりなる結核の特異性炎と云われている組織像が少く、主として結合織性の被膜がみられることである。このような被膜には層状をなす膠原線維をみる事が多く、この層状の膠原線維を主体とする結合織性被膜の存在が、硬化性病巣の瘢痕性治癒を阻害している原因の一つではないかと考えられる。

昭和33年5月以降、切除結核肺中の病巣、空洞切開術の病巣開放時及び筋肉弁充填による閉鎖時に得られた空洞壁を主たる検討材料として、結核性病巣殊に硬化性病巣の被膜に於ける膠原線維の組織化学的検討を行い、硬化性病巣の瘢痕性治癒が困難なことから、病巣被膜の層状の膠原線維の性状との関係について若干の知見を得たのでここに報告したい。

従来の膠原線維染色法の検討

結合組織のうち、酸性多糖類を中心とした基質の組織化学的検討法については、既に多くの方法が発表されており、病的状態に於るその変化についても既にいくつかの研究成績が発表されている。併し乍ら膠原線維の組織化学的検討法については未だ適当な方法が確立されていない現状である。

そこで、現在広く行われている膠原線維の染

色法のうち、比較的操作の簡単な染色法である Van Gieson 氏法及び Mallory 氏法をとりあげこれらの方法が膠原線維の組織化学的研究に応用し得るものであるか否かについて検討を加えてみた。即ち、大黒鼠尾臍より抽出し試験管内で再線維化した膠原線維及び切除結核肺中の乾酪性病巣を材料として、この2つの染色法を比較検討し、第1表の如き成績を得た。これをまとめてみると次のようになる。

1) 再生膠原線維は Mallory 氏法によつては濃くアニリンブルーをとり、よく染色されるが、VanGieson 氏法では殆ど酸フクシンをとらず、染色性はよくない。

2) 硬化性病巣に於いては、被膜の膠原線維の染色性は Mallory 氏法及び Van Gieson 氏法の間に認むべき差はみられない。

3) 一方、空洞切開術に於いて、病巣の閉鎖時に採取した病巣壁では、本来存在していたと思われる古い膠原線維は両法に同程度に染色されるが、開放療法の際に新しく生じたと思われる非特異性肉芽の部分の膠原線維では Mallory 氏法の方が Van Gieson 氏法よりもはるかによく染色し得る。

膠原線維を構成している所謂コラーゲン蛋白には稀酸とか酸性の緩衝液によつて抽出可能な可溶性コラーゲンとこれらの方法によつては抽出し得ない不溶性コラーゲンとにわけられ、これらのうち可溶性コラーゲンについて Orekhovitch 等是不溶性コラーゲンの前駆体であり、幼若な動物の方に成熟した動物よりも多く含まれていると述べている。従つて病的組織に於いても硬化性結核病巣の被膜の膠原線維に比較し

第1表 Van Gieson 氏法及び Mallory 氏法の染色所見の比較

	試験管内 に再生 した膠原 線維	硬化性病 巣被膜の 層状の膠 原線維	軟化融解 巣の膠原 線維	新しい非 特異性肉 芽の膠原 線維
Mallory 氏法 染色所見	(++)	(++)	(++)	(++)
Van Gieson 氏法 染色所見	(±)	(++)	(+)	(±)

註 ± 色素を殆どとらないもの、+ 線維がうすく色素をとっているもの、++ 線維がふつうに色素をとっているもの。色素はMallory氏法ではアニリンブルー、Van Gieson 氏法では酸フクシンである。

て、新しい肉芽組織の膠原線維の方が可溶性コラーゲンをより多くもっていると考えられる。膠原線維に於いて、これら2種のコラーゲン蛋白がどのような割合で、又どのような状態で存在しているかと云う点は未だ不明であるが、再生膠原線維及び新しい非特異性肉芽の染色成績からして、Mallory 氏法は古い主として不溶性コラーゲンから成っている膠原線維とともに、未だ新しい可溶性コラーゲンも多く含んでいるような線維をも染色するが、一方 Van Gieson 氏法は主として不溶性コラーゲンから成っている線維を染色するものと考えられる。

従つて、硬化性結核病巣の被膜の如く、古い膠原線維より成っているような材料を検討し以下に述べるような膠原線維の抵抗性を染色所見から論ずるにはむしろ Van Gieson 氏法の方が適しているものと考えられる。

硬化性病巣被膜の膠原線維の生化学的な強さの検討

硬化性乾酪性病巣が現在の進歩した化学療法によつても尚充分な癰痕性治癒を期待し難い理由の一つは、病巣被膜にある層状の膠原線維が新しい肉芽組織の病巣内への進入を阻害しているためではないかと考えられる。そこでこの被膜の膠原線維が実際に新しい肉芽組織の進入を阻止し得る程に強いものであるか否かを知る目的で、その蛋白分解酵素に対する抵抗性を検討してみた。

実験材料は切除結核肺から得た各種の乾酪性病巣及び空洞切開術の際に得た空洞壁で、これ

らを Carnoy 氏液によつて固定、パラフィン切片として使用した。病理組織学的検討のためにはヘマトキシリンエオジン染色、Van Gieson 氏染色、Mallory 氏染色及び pH4.0, 0.1% トリプシンブルー溶液による染色を行つた。蛋白分解酵素としてはペプシン及びトリプシンを使用し、その実験方法は第2表の如くである。

実験成績に考按を加えながら述べてみると次のようになる。

第2表 蛋白分解酵素による消化試験法

酵素液の組成	
1) ペプシン溶液	
ペプシン末	0.5g
濃 塩 酸 (Sp 1.18)	0.2cc
蒸 溜 水	100.0cc
2) トリプシン溶液	
トリプシン末	0.5g
無水炭酸ソーダ	0.3g
蒸 溜 水	100.0cc
対照：	上記組成のものを各々10分以上煮沸したもの
作用時間：	5分, 10分, 15分, 30分
作用温度：	38°C
染色法：	Van Gieson 氏染色

病巣被膜の膠原線維に対するペプシンとトリプシンの作用を比較してみると、トリプシンによつては膠原線維は2時間後に於いても軽い変化をうけるのみであるが、ペプシンによつてはかなりの変化をうけ、1時間でも殆ど消化されてしまうものが多いように思われる。

トリプシンの作用では膠原線維は多くの場合萎縮したようになり、中には更に細い線維にわかれたような所見もみられるが、2時間迄の作用時間ではそれ以上の変化は認められない。

一方、ペプシンによる膠原線維の変化は次のような順序で進行する。即ち、先ず線維の輪廓が多少不鮮明となり、染色性がやゝ変化し、つづいて線維としての形がくずれて、単に酸フクシンをとる物質が膠原線維の存在していた部分に不規則な形で散在しているのみとなり、遂には酸フクシンをとる部分は全く認める事が出来なくなる。

このように、トリプシンは膠原線維を精々数本の更に細い線維に分ち得るのみで、線維を

構成しているコラーゲン蛋白に対する作用はあまり強くないように思われる。これに対して、ペプシンはコラーゲン蛋白に作用してこれを酸性溶液中では溶ける状態に迄分解するものと考えられる。西原及び宮田によれば、ペプシンはコラーゲン蛋白の分子を分解してポリペプチドにするのではなく、分子と分子の結合部に作用して、不溶性コラーゲンを可溶性にする作用をもつていと云われている。従つて、ペプシンに対する膠原線維の抵抗性は、膠原線維を構成しているコラーゲン蛋白の分子個々の抵抗性よりはむしろ線維として結合している状態での抵抗性を示しているものであり、従つてペプシンによる抵抗性試験は線維としての強さを示す指標としてもよいのではないかと考えられるのである。

次に、各種の乾酪性病巣被膜の膠原線維のペプシンによる変化の程度を比較検討してみると、層状の膠原線維によつて被包されている硬化巣では、乾酪性物質に接した部分は10~15分の作用では他の部分の膠原線維に比較して変化が軽度であり、1時間後に於いて、他の組織が殆ど消化され溶解しきつても、尚屢々酸フクシンをとる部分が残存している。このような部分は殆ど全例に於いてメタクロマヂア陽性を示しているのである。この部分の膠原線維は、その蛋白がある種の変性をおこしており、そのために分子間の結合状態がより強固となつていとも考えられるが、又一方、メタクロマヂア染色所見から、メタクロマヂア陽性を示す物質が線維と結合しているためにペプシンの作用を受けにくいのではないかと考えられるのである。

一方、壊死物質を中心として膠原線維が放射状に走り、壊死物質内及び被膜への細胞浸潤も多い軟化融解しつつある乾酪巣では、ペプシンによる膠原線維の変化はどの部分もほぼ同程度で、特に変化の少い線維はみられない。このような線維ではメタクロマヂアは多くの場合陰性である。

この病巣被膜に於ける膠原線維のペプシンによる変化の程度を他の組織にみられる膠原線維と比較してみると、血管壁の膠原線維はかなり

強く、硬化性病巣被膜の線維が殆どその形を失つても、尚線維の形を保っているが、一方、肋膜の膠原線維は病巣被膜のそれに比較してやゝ抵抗性が弱いようである。

このように、硬化性病巣の被膜では層状の構造を示す膠原線維が多く、特にその内層のものはペプシンに対する抵抗性が大きく、線維として丈夫であるという事実は、生体内に於いてもこの線維は容易に破壊されないであらうと考えられる。従つて、このような層状の膠原線維の存在が新しい肉芽組織の病巣内への進入を阻止する一因となり、これが硬化性病巣の吸収癥痕化し難い原因の一つとなつていのではないかと考えられる。この事は、空洞切開術に於いて、病巣開放時の被膜と閉鎖時のそれとを比較してみると、よく理解出来るように思われる。即ち、空洞切開術では主として難治な硬化性病巣がその対象となつていのであるが、切開時に内面を搔爬清拭した後の被膜には、やはり層状の膠原線維がこの操作に抵抗して残つてい。これが、開放療法を行つた後の閉鎖時には、線維層内への多核白血球の浸潤がみられ、又病巣内へ多核白血球を伴つた新しい肉芽組織の進入がみられ、ペプシンによつて比較的簡単に消化されるのである。このような状態のところに有茎性筋肉弁を充填することによつて、病巣の癥痕化が招来されるものと考えられるのである。

結 論

以上、硬化性結核病巣の難治であると云う事を病巣被膜の膠原線維の性状の検討から追求し、併せて現今広く使用されている膠原線維染色法についても検討してみた。これを簡単にまとめてみると次のようになる。

1) Mallory 氏染色法と Van Gieson 氏染色法とを比較してみると、Mallory 氏法では不溶性コラーゲンを主体とした線維のみでなく、可溶性コラーゲンを多く含んでいるような線維も染色するが、Van Gieson 氏法は前者を主として染色するものと考えられる。

2) 硬化性病巣の被膜の膠原線維は主として

不溶性コラーゲンから構成されているものと考えられる。

3) 膠原線維の強固さの検討には、トリプシンよりもペプシンの方が適している。

4) 硬化性病巣の被膜のうち、特に乾酪性物質に接した部分の層状の膠原線維は他の部分のそれに比較してペプシンに対する抵抗性が大である。

5) 軟化融解巣に於いては、膠原線維のペプシンに対する抵抗性はどの部分も略々同程度であつて、一般に硬化巣の被膜に比較して短い時間の酵素作用によつて線維の変化がみられる。

6) 従つて、硬化性病巣被膜の膠原線維のうち、乾酪性物質に接した部分のものが、特に強固であり、そのような膠原線維が硬化性病巣に於ける新しい肉芽組織の巣内への進入を阻止し、その吸収癰痕化を阻害しているのではないかと考えられる。

参 考 文 献

1) Asboe-Hansen, G.; *Connective Tissue in Health and Disease*, Ejnar Munksgaard Puddisher, 1954.

2) 岩崎龍郎; 結核の病理, 保健同人社, 東京, 1954
 3) Kawase, O. & Sunahara, K.; On the Membrane-like Architectures in Dermal Connective Tissue; A Histochemical Study on Hyaluronic Acid. *Acta Scholae Medicinalis Universitatis in Kioto*.
 4) 梶川鉄一郎: 炎症に於ける結合組織線維の崩壊と新生, 最新医学, Vol.13, No. 4,.
 5) 西原富雄 & 宮田輝夫: 不溶性コラーゲン線維の構造, 1 酵素による可溶化とその電子顕微鏡による観察, コラーゲン研究会第2回シンポジウム予稿集.
 6) 西原富雄: 不溶性コラーゲン線維の構造, 2 ペプシンで可溶化されたコラーゲン分子の物理化学的性質, コラーゲン研究会第2回シンポジウム予稿集
 7) Orekhovitch, V. N. & Shipikiter, V. O.: Procollagens. *Science*, Vol 127. No. 3311. 1958.
 8) Puchtler, H. & Isler, H.: The Effect of Phosphomolybdic Acid on the Stainability of Connective Tissue by Various Dyes. *J. Histochem. Cytochem.* 6 : 4, July. 1958
 9) Ragan, C : *Connective Tissue*, 3rd Conference, The Josiah Macy Jr. Foundation, 1952.



写真1 硬化性病巣に於ける層状の膠原線維
(Van Gieson 氏染色, 100×)

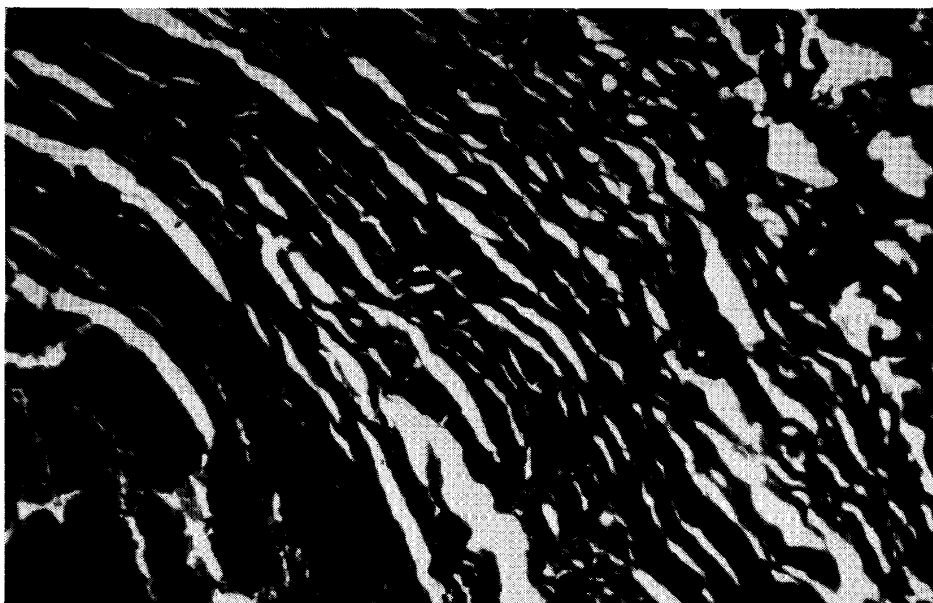


写真2 硬化性病巣に於ける層状の膠原線維
(第1図と同一標本, Mallory 氏染色, 100×)

膠原線維 ↓ ↑ 乾酪性物質

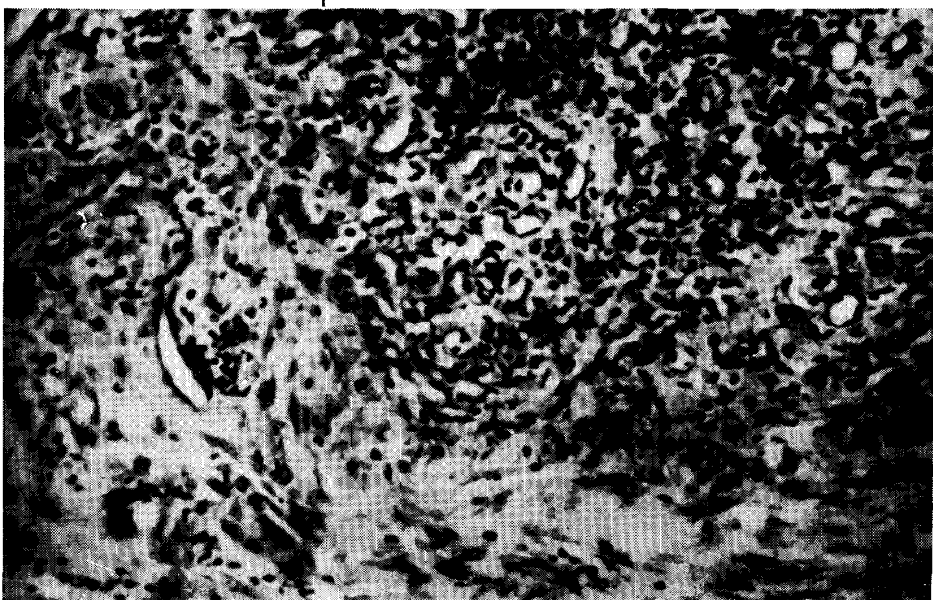


写真3 新しい非特異性肉芽組織 (H. E. 染色, 100×)
空洞切開術で約2ヶ月開放療法を行つた例の空洞壁

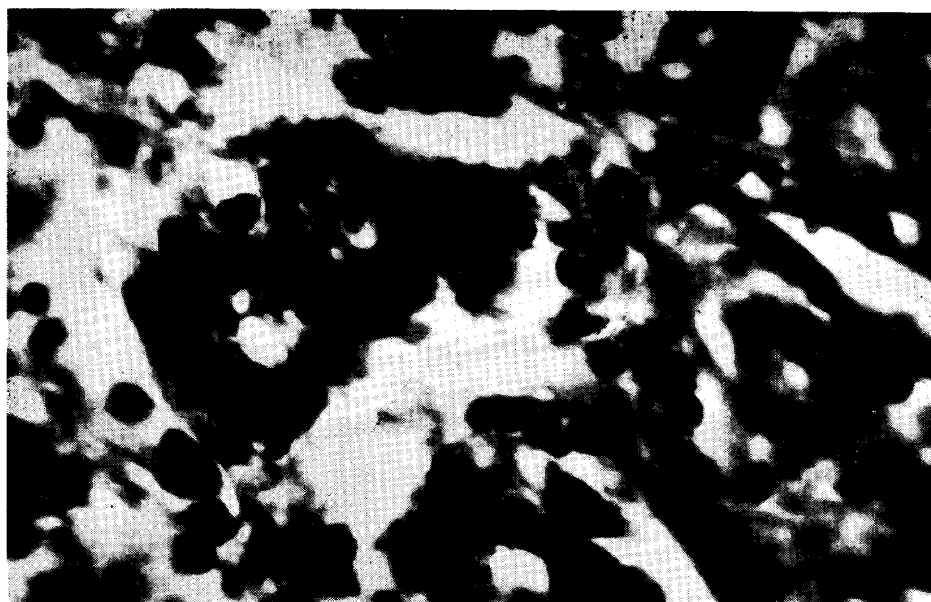


写真4 新しい非特異性肉芽組織 (Van Gieson 氏染色, 400×)
写真3 と同一標本の強拡大, 膠原線維は殆ど染っていない。



写真5 新しい非特異性肉芽組織 (Mallory 氏染色, 400×)
写真3, 4 と同一標本, 細い新しい膠原線維が染められている。



写真6 病巣被膜の膠原線維 (Van Gieson 氏染色, 400×)

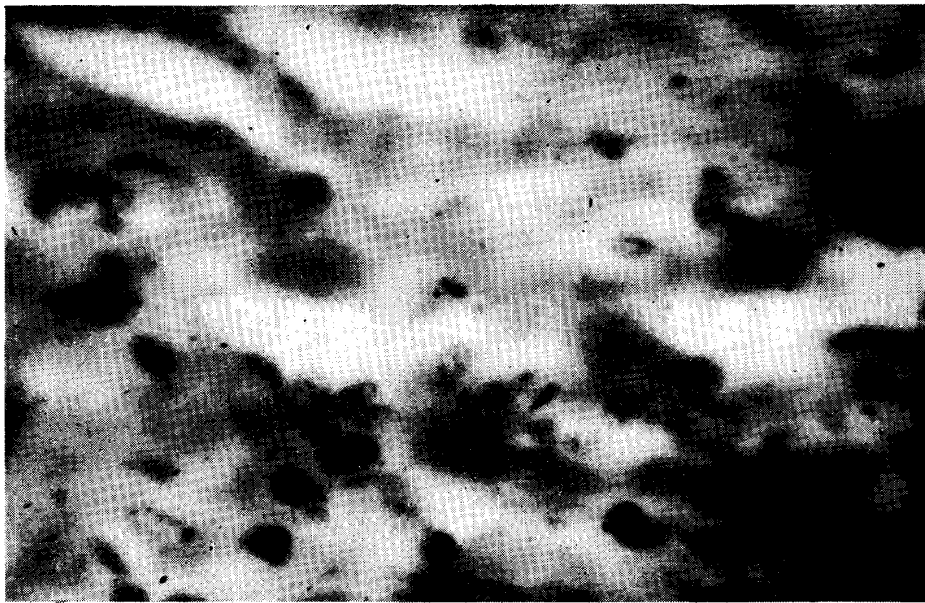
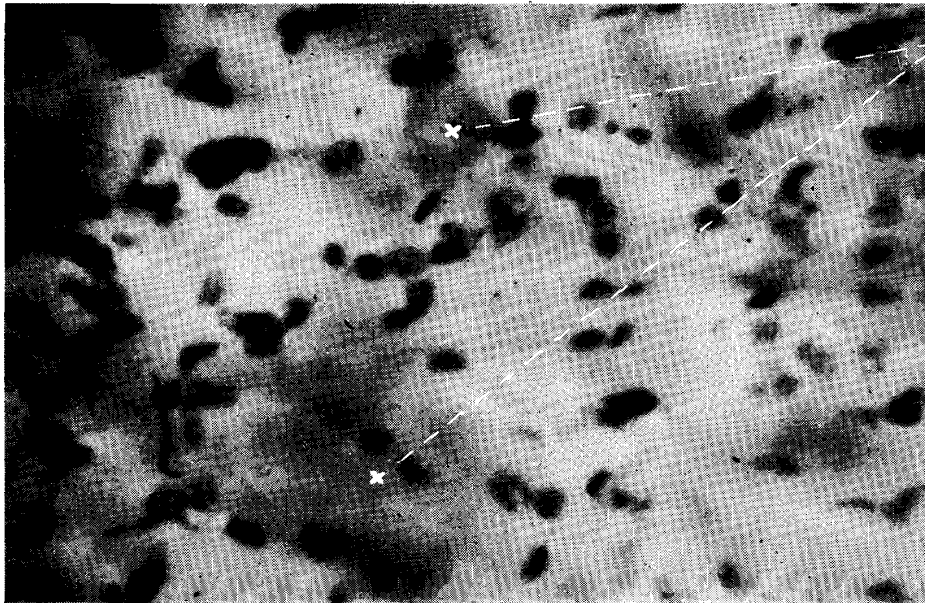


写真7 病巣被膜の膠原線維 Pepsin 5分作用後、
(Van Gieson 氏染色、
400×) 線維の輪廓は不
鮮明となつてゐるが、線
維としての形は残つてい
る。写真6と同一標本



フクシンをとる物質の残つ
ているところ

写真8 病巣被膜の膠原線
維、Pepsin 15分作用後
(Van Gieson 氏染色、
400×) 線維は殆ど消化
されて酸フクシンをとる
物質が残つてゐるのみで
ある。写真6と同一標本



写真9 病巣被膜の膠原線
維 Trypsin 15分作用後
(Van Gieson 氏染色、
400×) 線維は更に細い
線維にわかれてゐる。
写真6と同一の標本

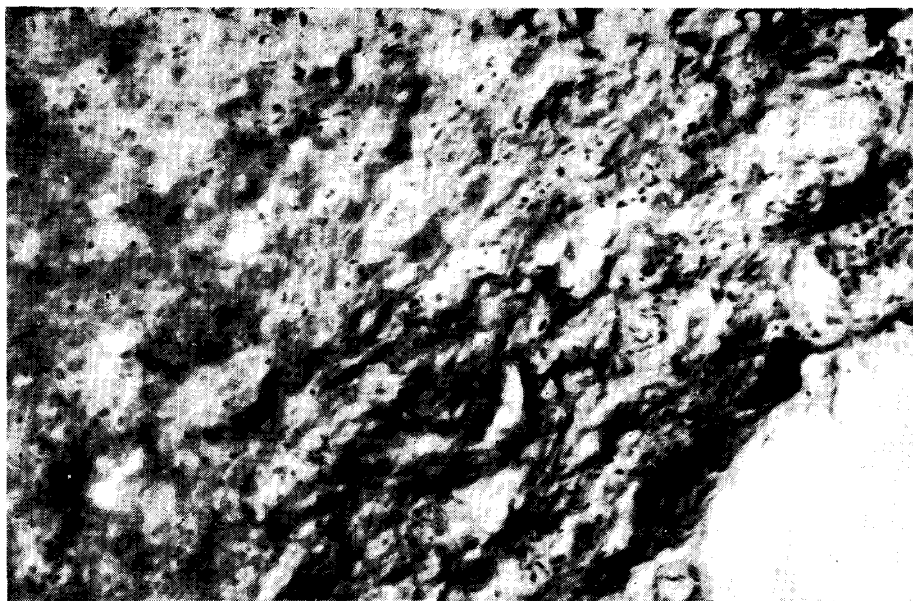


写真10 硬化性病巣被膜の
膠原線維, Pepsin 10分
間作用後, (Van Gieson
氏染色, 100×) 乾酪性
物質に近いところ程線維
の形はよく残っている。
第1, 2図と同一の標本

膠原線維 ↓ ↑ 乾酪性物質

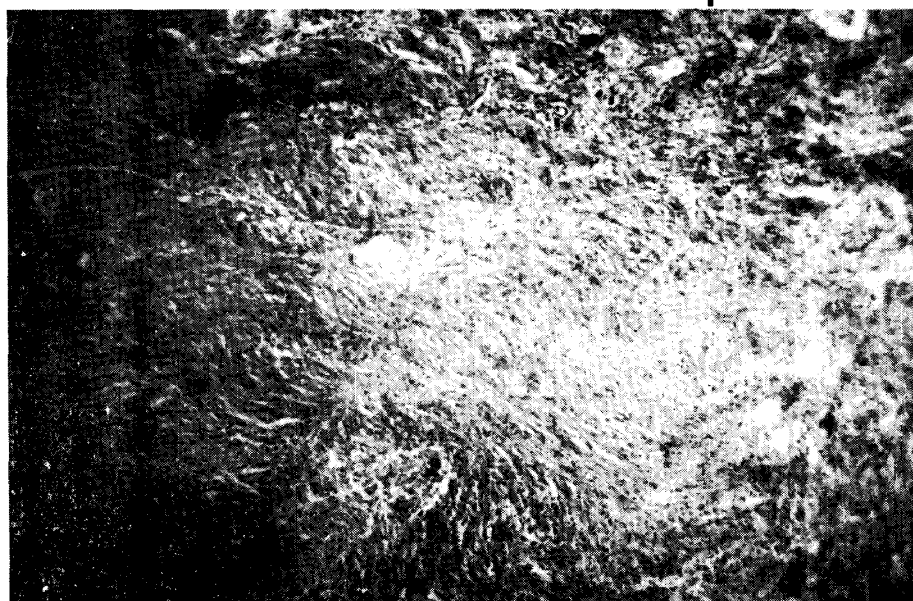


写真11 軟化融解巣の被膜
(Van Gieson 氏染色,
50×)



写真12 軟化融解巣の被膜
Pepsin 5分間作用後,
(Van Gieson 氏染色)
一本一本の線維としての
形は認めにくくなってい
る写真11と同一の標本