

膀胱ロイコプラキーの電子顕微鏡的観察 とくに virus-like particles について

愛知県厚生連更生病院泌尿器科 (医長: 和志田裕人)

上 田 公 介

和 志 田 裕 人

名古屋市立大学医学部第一解剖学教室 (教授: 渡 仲 三)

渡 仲 三

ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATIONS OF LEUKOPLAKIA OF THE URINARY BLADDER, WITH SPECIAL REFERENCE TO VIRUS-LIKE PARTICLES

Kosuke UEDA and Hiroto WASHIDA

From the Department of Urology, Anjo Kosei Hospital, Japan

(Chief : H. Washida, M. D)

Nakazo WATARI

From the First Department of Anatomy, Nagoya City University Medical School, Japan

(Director : Prof. N. Watari, M. D.)

Transurethral biopsy was performed on twelve cases of leukoplakia of the urinary bladder (type 1 of Anderson's classification).

The tissues were primarily fixed in cacodylate-buffered 3.0% glutaraldehyde and then finally fixed in osmic acid each for one hour, dehydrated in graded concentrations of ethanol, and embedded in Epon 812. Thin sections were stained with uranyl acetate and lead acetate. Observations and photography were performed on type HS-7 and HU-12 electron microscopes.

Results and discussions could be summarized as follows ;

1. Nucleus of bladder epithelial cells was enlarged and the outline of the membrane was irregularly changed and pseudonuclear inclusions were observed in 10 cases.
2. The shape of nucleolus was irregular and its enlargement or plurality were found in 11 cases.
3. Nuclear body was found in all cases, which was composed of amorphous protein without limiting membrane.
4. Mitochondria increased in number, and their deformity or gathering were found. These findings might indicate precancerous change electron microscopically.
5. Virus-like particles were observed in some epithelial cell cytoplasm in 4 cases, which were similar to cored vesicles and about 80nm in diameter. These particles resembled to the mouse mammary viruses ultrastructurally.

A virus-like particle had fine 20 subunit structures when observed with the rotation technique, strongly suggesting virus particles, although further observations are needed.

結 言

膀胱ロイコブラキーは1862年はじめて Rokitsansky¹⁾ により報告された疾患であり, Anderson (1971)²⁾ によれば, 角化を伴わない Type 1 と角化を伴う Type 2 の2つに分類される. そして, Type 2 は前癌状態として治療がおこなわれている (Kelalis ら, 1963³⁾; O'Flynn ら, 1967⁴⁾; Holley 1961⁵⁾). Type 1 は膀胱鏡で観察すると多くは膀胱三角部に白斑としてしばしば認められ, その治療は慢性膀胱炎に準じておこなわれる場合が多い.

今回われわれは1974年10月から1975年8月までの間に, 経尿道的に標本を採取し病理組織学的に Anderson²⁾ の Type 1 膀胱ロイコブラキーと診断された12例について電子顕微鏡の観察をおこない, 若干の知見をえたので報告する.

対 象 症 例

対象症例12例は, 全例女性である. 年齢は16歳から54歳までで, 平均年齢は34歳であった. 緒言に述べたごとく, いずれの症例も経尿道的に標本を採取し, パラフィン切片のヘマトキシリン・エオジン染色にて, 病理組織学的に Anderson²⁾ の膀胱ロイコブラキー Type 1 と診断された (Fig. 1). 全例とも未治療の症例ばかりである.

研 究 方 法

経尿道的に採取した標本をただちに 0.1 M cacodylate buffer で, pH 7.2 に緩衝した 3.0% glutaraldehyde と 1.0% osmic acid で 4°C, 1時間ずつ二重固定し, ethanol にて脱水後, Epon 812 に包埋し LKB Ultratome で超薄切片を作製し, 飽和水性ウランおよび酢酸鉛で二重染色ののち, 日立 HS-7 型および HU-12 型電子顕微鏡で観察した.

結 果

膀胱上皮細胞を中心に観察したが, 核は一般に腫大

し, 核の表面は凹凸不整となり, 核質は一般に chromatin の量が多く, chromatin が核膜の内層に接して凝集する傾向がみられた (Fig. 2). また偽核封入体 (pseudonuclear inclusion) の出現した症例が12例中10例にみられた (Fig. 3). 仁 (nucleolus) の形態は不整形化しており, 巨大化や2個以上の複数化した仁も11例にみられた (Fig. 4). また仁の一部が溶解して明調化した症例もみられた (Fig. 5). 核内小体⁶⁾ の出現は全例に認められ, 被膜を有しない無定型の蛋白より成り立っていた (Fig. 6). ミトコンドリア (mitochondria) は一般に増加しており, 大小不同, 変形が目立ち, 集合傾向がみられた (Fig. 7). 暗調細胞も全例に出現していた (Fig. 8). グリコーゲン顆粒 (glycogen particles) は細胞によってかなりの変動はあるが一般に増加しており, 上皮細胞内の線維成分も上皮の下層にいくに従い増加していた. しかし他の細胞内小器官 (cell organelles), たとえばゴルジ装置 (Golgi apparatus), 粗面小胞体 (rough-surfaced endoplasmic reticulum) の発達は特別異常を認めなかった.

一方, きわめて興味ある所見として, 12例中4例に virus-like particles と命名した直径 80 nm 大の有芯小胞が細胞質内に散在性に認められた (Fig. 9). またこの virus-like particles は1層の限界膜で囲まれた封入体の中にも多数認められた (Fig. 10). この1部のはやや長めのものもあった. この小体の典型的な1個を rotation technique⁶⁾ で焼付けてみると20回転 (360°/20) で鮮明な 20 個の subunit 構造を認めた (Fig. 11). これらは球形の場合どれをとっても20回転で鮮明な subunit 構造を認めた. 以上12例の症例とそのおもな所見を Table 1 にまとめた.

考 察

膀胱ロイコブラキーは Anderson (1971)²⁾ によれば, 肉眼的に白色で周囲と鋭利に境界され, 移行上皮が扁平上皮によって置換されており, Type は2型に分類されるといわれる. Type 1 は上皮層が肥厚し,

Table 1

Case	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Irregularity of Nuclear Membrane	+	+	++	+	+	+	++	+	+	+	+	+
Nuclear Body	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+
Deformity and Gathering of Mitochondria	+	+	+	+	+	+	+	+	-	++	+	+
Pseudonuclear Inclusions	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Enlargement of Nucleolus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Plurality of Nucleolus	++	+	+	+	+	+	+	+	-	+	++	++
Virus-like Particle	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+



Fig. 1. Bladder leukoplakia, type 1 (Anderson). The epithelium is thickened and the space between the papillae is deep, but not accompanied by keratinization. (H-E stained) ($\times 100$)

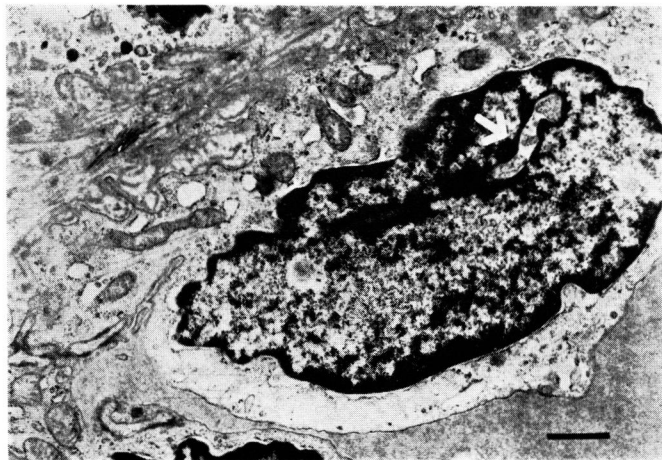


Fig. 3. Pseudonuclear inclusions (an arrow).

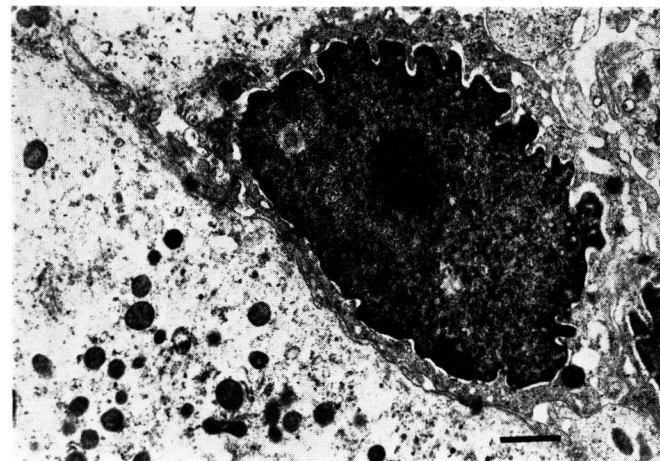


Fig. 2. Nucleus is enlarged and the outline of nuclear membrane is indented (all scales indicate 1 micron).

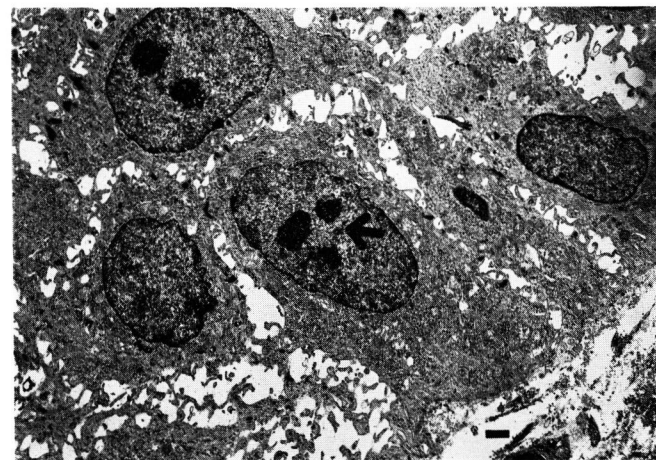


Fig. 4. Enlargement and plurality of nucleoli (arrow).

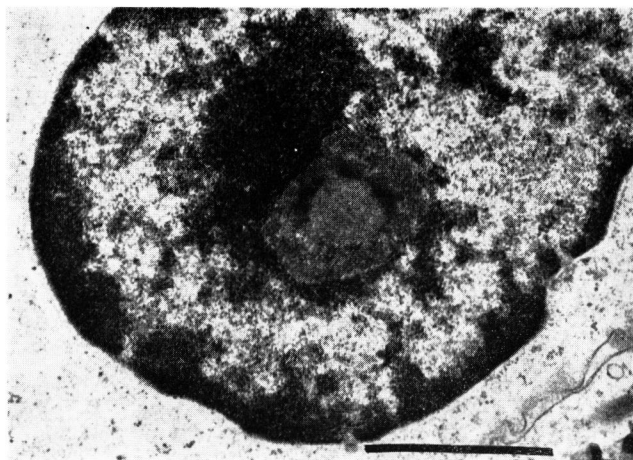


Fig. 5. Nucleolus was partly changed clear, which might be caused by resolving.

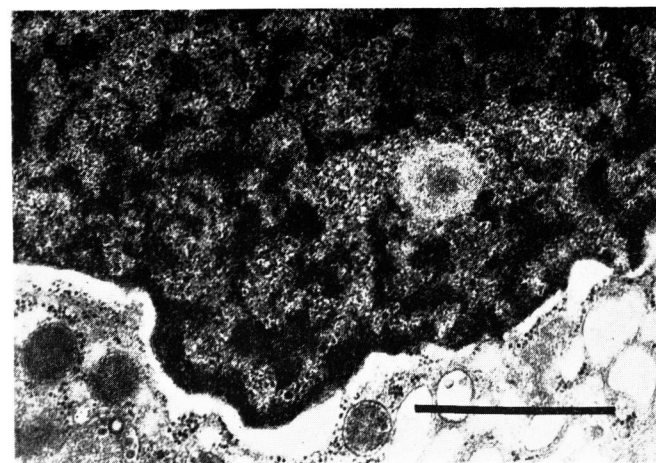


Fig. 6. Nuclear body is composed of amorphous substance without limiting membrane.

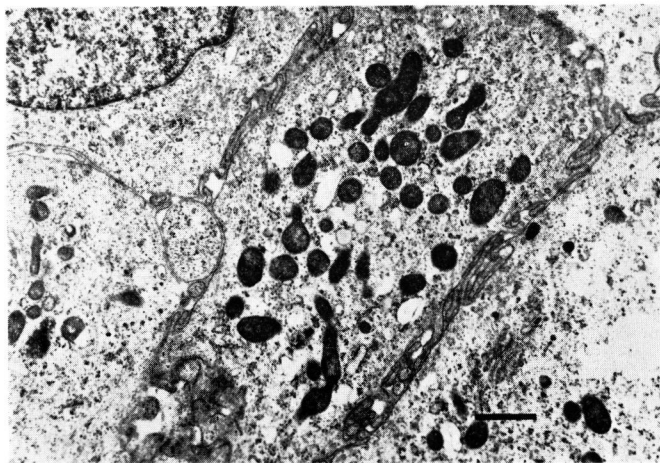


Fig. 7. Mitochondria increased in number, and their deformity or gathering are found.



Fig. 8. Dark cell.

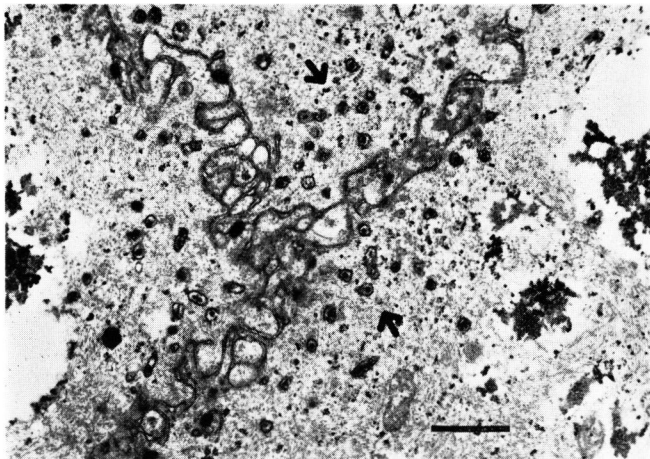


Fig. 9. Virus-like particles resembled to the mouse mammary viruses of Bernhard are scatterly observed (arrows).

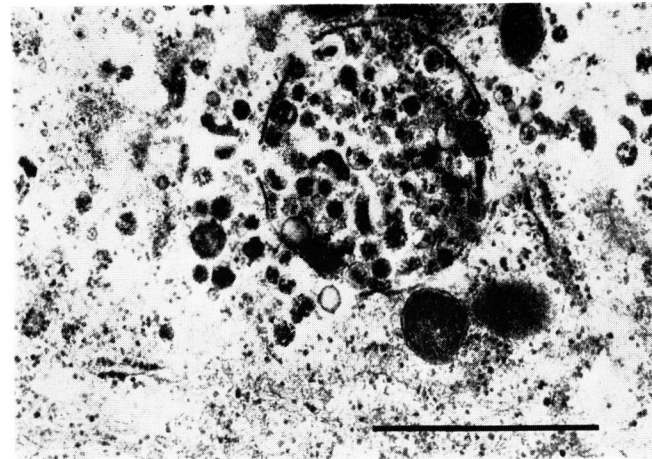


Fig. 10. Virus-like particles are also found in the inclusions.

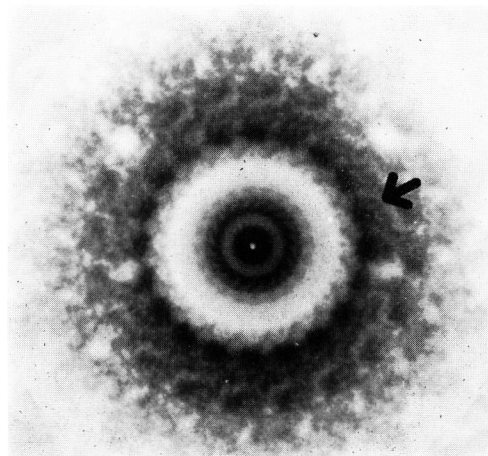


Fig. 11. 20 subunit structures (arrow) were found by the rotation technique.

扁平上皮や rete cone は大きく、乳頭の間隙は深く狭い。また角化を伴うことがない。一方 Type 2 は細胞層がよりいっそう密ではあるが、厚くなく、ただ表層を厚い keratohyaline material がおおっていると定義づけられている。今回のわれわれの観察した12例はいずれも Anderson²⁾ の Type 1 ロイコブラキーばかりであった。

結果の項で述べたように、核膜の凹凸不整、仁の巨大化および複数化、偽核封入体の形成、ミトコンドリアの大小不同や集合および変形などは、Battifora ら (1965)⁷⁾ が悪性腫瘍細胞において観察した電子顕微鏡的所見と類似していた。また安澄ら (1974)⁸⁾ がヒト表皮前癌細胞において報告しているごとく、被膜を有しない無定型の蛋白より成り立っている核内小体も多数認められた。また布施ら (1973)⁹⁾ は、膀胱移行上皮癌の組織学的電顕の研究において、分化型腫瘍においては腫瘍表面の偽巣様変化、糸粒体の増加と集合が特徴的所見であると述べているが、われわれの電子顕微鏡的観察においても同様の所見が認められた。しかし、同じく布施らが報告しているようなゴルジ装置および小体の形態異常や変性空胞、巨大顆粒などをもった表層腫瘍細胞の存在はみられなかった。

一方、暗調細胞の出現については、布施ら⁹⁾ は暗調細胞の出現は悪性度の上昇を示す所見であるとしているが、平岡 (1975)¹⁰⁾ は暗調細胞は配列およびその超微細構造上より、尿からの上皮の保護、および防水のほか、免疫などのための分泌機能の旺盛な活動性細胞であり一般に退行像と考えられる暗細胞と区別している。われわれの観察した暗調細胞は細胞小器官に乏しく機能低下細胞と考えるほうが妥当であろう¹¹⁾。

以上述べたように今回のわれわれの電子顕微鏡的所見では、悪性腫瘍細胞や前癌状態の細胞所見と同様の共通所見が多数認められたので、膀胱ロイコブラキーは超微形態的にはかなり前癌状態に近い所見と思われるが、こんど臨床的検索によってこれが実際に前癌状態であるか否か検索することが必要であろう。

一方、膀胱における virus についての報告は、Goldman ら (1970)¹²⁾ が cyclophosphamide therapy をおこなった際に発生した出血性膀胱炎において、cytomegalic inclusions が膀胱組織内に認められたと報告しているほかは今までに virus の報告はみられない。今回われわれが virus-like particles とした小体は、大きさがほぼ virus と近似し、とくに Bernhard (1958)¹³⁾ の報告したマウス乳癌ウィルスの、大きさはA粒子に、また形態はB粒子にきわめて近似していた。また細胞質内の封入体中にみられるだけでなく、

遊離で多数みられたこと、および rotation technique⁶⁾ によって、大多数の particle において20回転で20個の鮮明な subunit 構造がみられたことなどより virus の可能性が示唆された。一方、安澄 (1974)¹⁴⁾ は、virus に感染した細胞核または腫瘍核においては核内封入体が多数出現すると報告しているが、今回のわれわれの観察でも核内小体の出現は多くみられたが、その他の核内封入体はみられなかったので、さらに検索の必要があろう。また Hagueneu (1953)¹⁵⁾ が報告しているように virus-like particles の同定は超微形態的検索だけではきわめて困難であり、こんど酸フォスファターゼ染色によるライソゾームとの鑑別や、フェリチン抗体法を利用したウィルス核酸の動態などを観察することなどが必要と考えられる。

結 語

1974年10月から1975年8月までの間に Anderson の膀胱ロイコブラキー Type 1 と病理診断された12例について電子顕微鏡的観察をおこない下記の結果をえた。

1. 膀胱上皮細胞の核は一般に腫大し、核の表面は凹凸不整となり、偽核封入体の出現した症例が12例中10例にみられた。
 2. 仁の形態は不整形化し、巨大化や複数化した仁も11例にみられた。
 3. 核内小体は全例にみられ、被膜を有しない無定型の蛋白より成り立っていた。
 4. ミトコンドリアは一般に増加しており、大小不同、変形が目立ち、集合傾向がみられた。
- 以上の所見は超微形態的にはかなり前癌状態に近い所見と思われる。

5. 一方、12例中4例に virus-like particles と命名した直径 80 nm 大の有芯小体が細胞質内にみられ、Bernhard¹³⁾ の報告したマウス乳癌ウィルスに近似していた。またこの particles は封入体中にもみられ、1個の particle を rotation technique で焼付けてみると多くが20回転で鮮明な20個の subunit 構造を認めたことなどより virus の可能性が示唆された。

稿を終るに臨み、ご協力いただきました当病院電子顕微鏡室杉浦勝利氏ならびに愛知ガンセンター西義美先生に感謝いたします。なおこの要旨は第64回日本泌尿器科学会総会にて口演発表した。

文 献

- 1) 5) より引用
- 2) Anderson, W. A. D. : Pathology edit. by An-

- derson, sixth edition, vol. 1, p. 836, C. V. Mosby Co., St. Louis, 1971.
- 3) Kelalis, P. P., Emmett, J. L., and Deweerd, J. H.: Proceedings of the Mayo Clinic, **38**: 514, 1963.
 - 4) O'Flynn, J. D., and Mullaney, J.: Brit. J. of Urol., **39**: 461, 1967.
 - 5) Holley, P. S.: J. Urol., **86**: 235, 1961.
 - 6) Friedman, M. H.: J. Ultrastructure Research, **32**: 226, 1970.
 - 7) Battifora, H. A. and Eisenstein, R.: J. Urol., **93**: 217, 1965.
 - 8) 安澄権八郎・白井利彦：日本臨床電顕学会誌，**7**：139, 1974.
 - 9) 布施裕輔・藤枝順一郎・大室博・勝目三千人：日泌尿会誌，**64**: 808, 1973.
 - 10) 平岡保紀：日泌尿会誌，**66**: 303, 1975.
 - 11) 渡 仲三：解剖学雑誌，**43**(3): 152, 1968.
 - 12) Goldman, R. L., and Warner, N. E.: Cancer, **25**: 7, 1970.
 - 13) Bernhard, W.: A Review Cancer Res., **18**: 491, 1958.
 - 14) 安澄権八郎：細胞，**6**: 2, 1974.
 - 15) Hagueneu, F.: Ultrastructure of Animal Viruses and Bacteriophages, edit. by Dalton, A. J. and Hagueneu F., vol. 5, p. 391, 1973, Academic Press, Inc. New York and London.
 - 16) 岡野博光：細胞，**2**(9): 58, 1970.
- (1976年5月10日迅速掲載受付)