

ヒト胸膜弾力繊維の構造と発育

吉田 徹

ヒト肺の臓側胸膜の結合織における弾力繊維について、形態発育と解剖学的構造に関して検討を行い、次の結果を得た。

1) 胎児期(妊娠後期)から新生児期では、肺臓側胸膜中皮直下の弾力繊維は非常に未熟で、非連続的な1層の層板構造を呈するのみで、全く未発達な部分もまれでなかった。2~3歳になると、弾力繊維層は内層が新たに加わって、お互いに独立した内外2層に分かれ、以後90歳代の老年期にいたるまでこの2層構造が保たれた。

2) 抗 α エラスチン抗体による免疫染色上、胎児期(妊娠後期)および新生児期では、弾力繊維中心部の無染色部分がほとんど識別されなかったが、3歳頃になると中心の無染色部分が明瞭になり、以後老年期にいたるまで同様であった。

3) 外層を構成する胸膜弾力繊維の直径は、胎児期で $0.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 、新生児期で $0.7 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 、乳児期から学童期で $1.5 \pm 0.6 \mu\text{m}$ 、10歳代で $2.0 \pm 0.4 \mu\text{m}$ と徐々に太くなるが、20歳代以後はあまり変化せず、 $2.3 \pm 0.3 \mu\text{m}$ であった。

4) 走査電子顕微鏡的観察上、ヒト肺の臓側胸膜における外層の弾力繊維層は明らかに有窓膜(fenestrated lamina)を形成し、この完成時期はほぼ3~4歳以降と考えられた。一方、内層の弾力繊維層は不規則な網目状のメッシュ構造を呈していた。

(平成3年2月28日採用)

Anatomy and Development of Elastic Fibers in Human Pleurae

Tohru Yoshida

I studied the anatomical structure and morphogenetic development of elastic fibers in human visceral pleurae and obtained the following results.

1. Elastic fibers immediately underneath the mesothelial linings of the pleurae from late fetuses to newborns were quite immature showing only a single discontinuous layer and they were not infrequently absent in some pleural portions.

From two to three years of age, the elastic fibers became doubly layered with a new internal layer added to and separated from the preexisting external one. Thereafter, the double layer remained stationary throughout all age-groups until the tenth decade.

2. Immunostaining with anti- α elastin antibody indicated that no stainable axis appeared in pleural elastic fibers in late fetal to newborn lungs, but a stainable axis was distinct in the fibers from cases two to three years of age and remained similar until the tenth decade.

3. The diameter of the external elastic layer gradually increased, measuring $0.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ in pleurae from late fetuses, $0.7 \pm 0.3 \mu\text{m}$ from newborns, and $1.5 \pm 0.6 \mu\text{m}$ from infants and children. From adolescence onwards, it remained stationary, measuring $2.0 \pm 0.4 \mu\text{m}$.

4. Scanning electron microscopically, the external elastic layer in human visceral pleurae comprised a distinct fenestrated lamina, which appeared to be completed at three to four years of age. The internal elastic layer, however, appeared to be comprised of irregular fibrous meshworks. (Accepted on February 28, 1991) *Kawasaki Igakkaishi* 17(1): 83-91, 1991

Key Words ① Elastic fibers ② Fenestrated lamina ③ Visceral pleurae

はじめに

肺組織は、胸廓の呼吸運動に伴い常に伸展と収縮を交互に繰り返す、非常に弾力に富んだ組織である。このため肺における各種疾患はその弾力性に種々の影響を及ぼし、様々な病態を呈する。肺弾力性の主役を演じる組織は弾力繊維で、その肺実質における解剖学的構造や、種々の病態による変化についてはよく検討されている。しかし、肺全体を包み込む胸膜の弾力繊維については、ヒトの場合、大まかに内外2層をなすことは知られているが、¹⁾ その3次元的構築や、胎児期から老年期に至るまでの詳細な形態発育に関する報告はない。また胸膜下病変が胸膜へ波及する場合、胸膜弾力繊維がいかなる役割を演じるか、その意義についても十分な検索が行われていない。

そこで著者は、剖検によって得られた肺の正常な臓側胸膜の弾力繊維について、まず形態発育状態を組織学的および免疫組織学的に検討し、さらにその3次元的構築を走査電子顕微鏡（以下走査電顕と略す）的に観察した。

材料および方法

1. 材 料

川崎医科大学附属川崎病院における病理解剖例のうち、肺疾患以外の死亡例で肉眼的に正常な臓側胸膜を用いた。標本を採取した年代群は胎児期（胎生8～9か月）、新生児期、乳児

期～学童期、10歳代、20歳代、30歳代、40歳代、50歳代、60歳代、70歳代、80歳代および90歳代で、それぞれ2～5例につき、大部分は右中下葉より、また一部は左下葉より1か所切り出した。

2. 方 法

I. 肺臓側胸膜弾力繊維の形態発育の観察と直径の計測

上記各群のそれぞれにつき、10%ホルマリン固定・パラフィン包埋の胸膜組織標本から得た垂直切片各1枚に対して、エラスチカ・ワンギーソン染色後、光学顕微鏡的に弾力繊維を観察し、また外層の繊維についてその直径を計測した。

II. 免疫染色法

抗 α エラスチン抗体（ヒト大動脈 α エラスチンに対するウサギ血清, Elastin Products Co., Inc., USA）を用い peroxidase antiperoxidase 法（以下PAP法と略す）により、上記各群全例につき同様なホルマリン固定・パラフィン切片各1枚に対して染色を行った。

III. 走査電顕的観察

剖検で得られた未固定の肺組織は柔らかくて、標本作製中正常構造の保持が困難であるので、10%ホルマリン液で最低72時間固定した。固定後、組織を十分に水洗し、実体顕微鏡下で臓側胸膜組織が含まれるように、 $5 \times 5 \times 5 \text{ mm}$ 大の小組織片を各症例から切り出した。

i) 蟻酸による組織消化法の利用^{2)~5)}：この方法により弾力繊維以外を消化後、走査電顕で

観察した。すなわち、上記のごとく切り出された胸膜小片を90%蟻酸に浸け、45°Cの恒温器内に48~72時間 incubate した後、pH 7.2の磷酸緩衝液で中和し、1.0%四酸化オスミウムで1時間固定後、型どおりアルコール脱水、臨界点乾燥および金蒸着を行って、走査電顕 JSM-T300型を用い、加速電圧10~15 kVで鏡検した。

なお蟻酸による組織消化法で弾力繊維のみが特異的に残存するか否かは以下のように検討した。すなわち1剖検例の腹部皮膚をコントロールとして用い、また検体のうちからは20歳代、40歳代および80歳代の各1症例の胸膜を用いて、同消化法による処理後、1%オスミウム固定、エポン包埋・超薄切片に対してタンニン酸染色⁶⁾を施し、さらにウラン・鉛2重後染色後、透過型電子顕微鏡 JEM-100S(以下透過電顕と略す)で確認した。

ii) スチレン割断法⁷⁾の利用：胎児期(胎生8~9か月)、新生児期、学童期、10歳代、20歳代、40歳代、60歳代および90歳代の各1例につき、オスミウム固定・アルコール脱水(100%アルコールで停止)後、本法を用いて胸膜弾力繊維層の垂直横断方向の割断面を作製し、金蒸着後に走査電顕で観察した。

結 果

1. ヒト肺臓側胸膜内の弾力繊維の形態発育

胎児期(胎生8~9か月)においては、臓側胸膜組織内の弾力繊維は全般に未熟で、中皮被覆直下に非連続性の薄い一層を呈するのみであり、それをも欠く部分が少なくなかった(Fig. 1)。この不完全な弾力繊維層の内側(肺実質側)にも弾力繊維の微細な点状断片が少量散在性に認められたが、層形成の傾向はなかった。この時期には、肺小葉周囲や肺胞壁内には弾力繊維の出現はまだまだ認められなかった。なおこの時期、胸膜組織内にはすでに膠原繊維が豊富に出現していた。

新生児期では、胸膜中皮直下の弾力繊維層は連続性に発育する部分が多くなり、層構造がよ

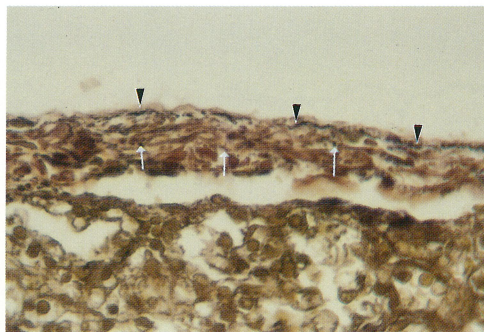


Fig. 1. The visceral pleura from a fetal lung (8 or 9 months) showing an incomplete single layer of elastic fibers (arrowheads) just underneath the mesothelial lining and small amounts of punctate elastic substance (arrows) below the former. No appreciable elastic fiber was identifiable around pulmonary acini and alveolar walls (Elastica-Van Gieson stain, $\times 900$).

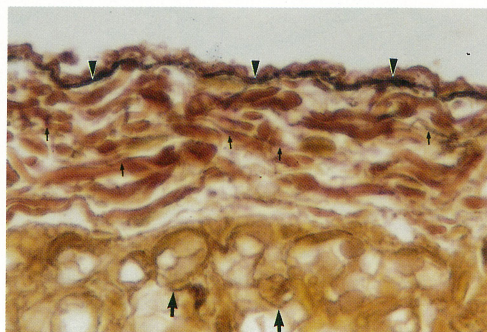


Fig. 2. The visceral pleura from a newborn showing a distinct single layer of elastic fibers (arrowheads) with a few thin fragments of elastic fibers (small arrows) scattered beneath it. Thin elastic fibers are beginning to appear within alveolar walls (large arrows) (Elastica-Van Gieson, $\times 1,000$).

り明瞭になった(Fig. 2)。しかしこの弾力繊維層の内側にみられる弾力繊維はいまだ未発達で、きわめて細い繊維が非連続性に散在するのみであった(Fig. 2)。この時期には、肺小葉周囲や肺胞壁内に細い弾力繊維が出現し始めた(Fig. 2)。

2~3歳になると、胸膜弾力繊維は中皮直下の1層(外層)のほか、その内側に平均 3.3 ± 0.3

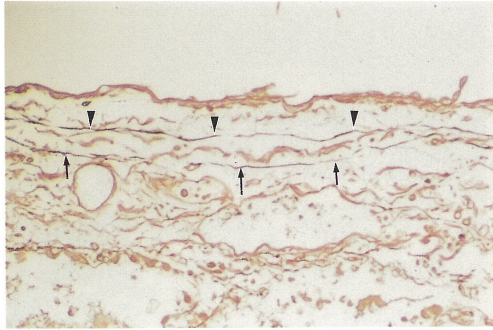


Fig. 3. The visceral pleura from a three-year-old boy demonstrating definitive double layers of elastic fibers (arrowheads: external layer, arrows: internal layer) (Elastica-Van Gieson stain, $\times 850$)



Fig. 4. The visceral pleura from a teenage boy disclosing definitive double layers of elastic fibers (arrowheads: external layer, arrows: internal layer) (Elastica-Van Gieson stain, $\times 800$)

μm 離れて、もう1層の内層が現われ、外層と内層の相互に独立した2層構造が明瞭になった (Fig. 3)。この時期には上記のような肺実質の弾力繊維がよく発達していた。

学童期以降、10~90歳代まで全年齢群を通じて、肺臓側胸膜の弾力繊維は、平均 10.3 ± 0.5 から $12.7 \pm 0.4 \mu\text{m}$ の間隔をもつ、内外2層からなる基本構造が維持され、大きな変化は認められなかった (Figs. 4~7)。

2. 発育に伴うヒト肺臓側胸膜の弾力繊維外層の直径と抗 α エラスチン抗体による免疫染色色の变化

ヒト肺の臓側胸膜における中皮被覆直下の弾

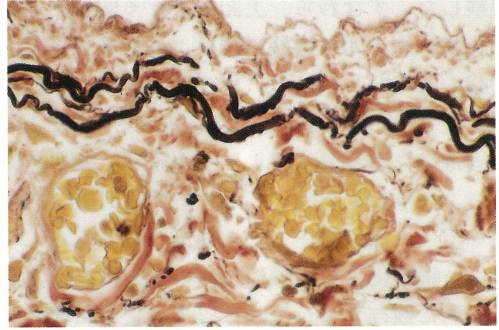


Fig. 5.

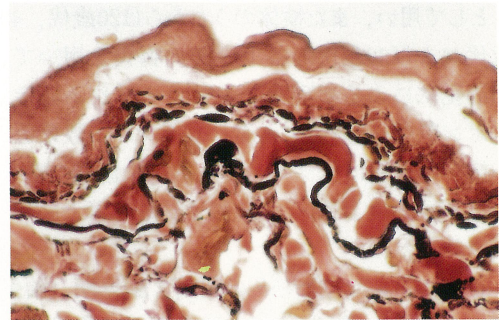


Fig. 6.



Fig. 7.

Figs. 5, 6, 7. The visceral pleurae from a 30-year-old (5), a 60-year-old (6) and an 80-year-old (7), revealing definitive double layers of elastic fibers (Elastica-Van Gieson stain, Fig. 5: $\times 780$, Fig. 6: $\times 780$, Fig. 7: $\times 950$)

力繊維外層の直径(厚さ)は、胎生期や新生児期は非常に細く、それぞれ $0.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 、 $0.7 \pm 0.3 \mu\text{m}$ であるが、乳児期~学童期には $1.6 \pm 0.6 \mu\text{m}$ となり、10歳代には $2.1 \pm 0.4 \mu\text{m}$ と、徐々に太くなる傾向があった。しかし20歳代以降は $2.3 \pm 0.3 \mu\text{m}$ と、その直径はほとんど変化しなかった (Fig. 8)。

ヒト臓側胸膜弾力線維（外層）の年代別平均値

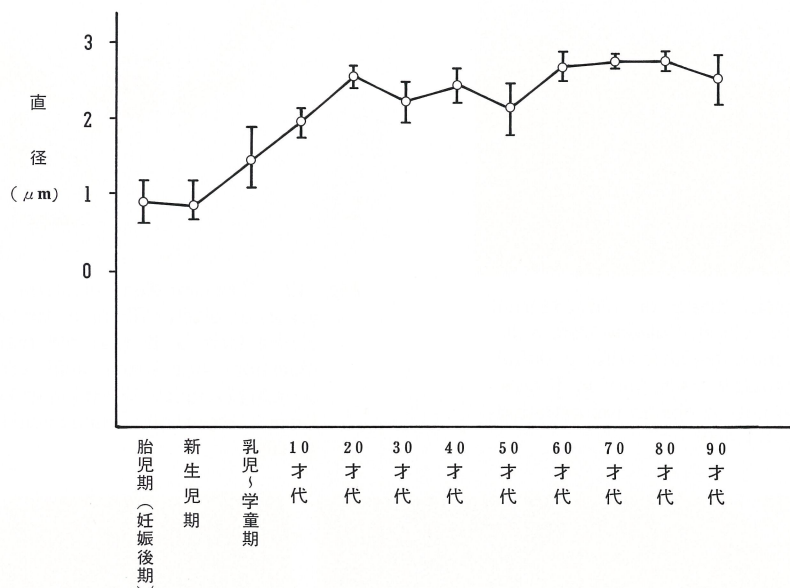


Fig. 8. Average diameter of elastic fibers (the external layer) in human visceral pleurae according to age-groups

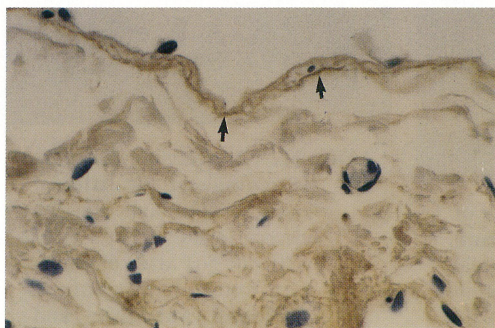


Fig. 9. The visceral pleura from a fetal lung (8 or 9 month) demonstrating an unstainable axis portion on anti- α elastin immunostaining (PAP, $\times 1,000$)

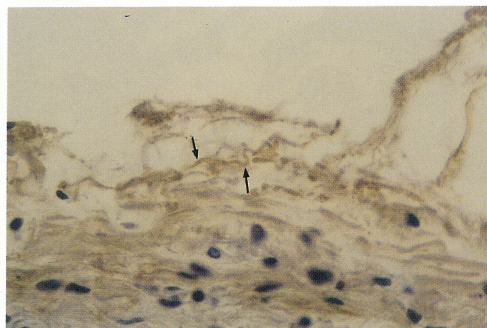


Fig. 10. Elastic fibers of the external layer in the visceral pleura from a three-year-old boy demonstrating a definitive unstainable axis portion (arrows) on anti- α elastin immunostaining (PAP, $\times 700$)

抗 α エラスチン免疫染色では、胎児期および新生児期の胸膜弾力繊維は細く、その中心部に無染色部分が識別できなかった (Fig. 9)。しかし3歳頃より徐々に弾力繊維の中心部に無染色部分が認められ (Fig. 10)、かかる無染色性軸部分は以後老年期にいたるまで、同様に確認された (Fig. 11)。

3. 走査電顕によるヒト肺臓側胸膜弾力繊維の3次元的構築

蟻酸消化法による弾力繊維以外の組織の消化状態は、検索されたコントロールの腹部皮膚および3例の胸膜標本において、それらの完全な消化・消失を確認し、かつ弾力繊維の残存を確

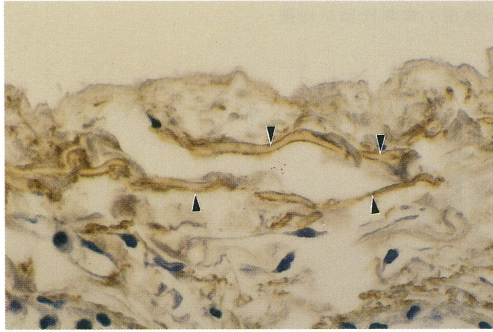


Fig. 11. Elastic fibers of the external layer in the visceral pleura from a 30-year-old man demonstrating a definitive unstainable axis portion (arrowheads) on anti- α elastin immunostaining (PAP, $\times 1,400$)

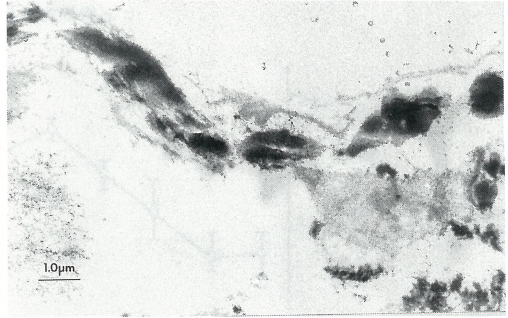


Fig. 12. Transmission electron micrograph of elastic fibers in the visceral pleura from a 46-year-old man after digestion with formic acid treatment, showing complete digestion of all other tissue components (tannic acid stain, $\times 12,000$)

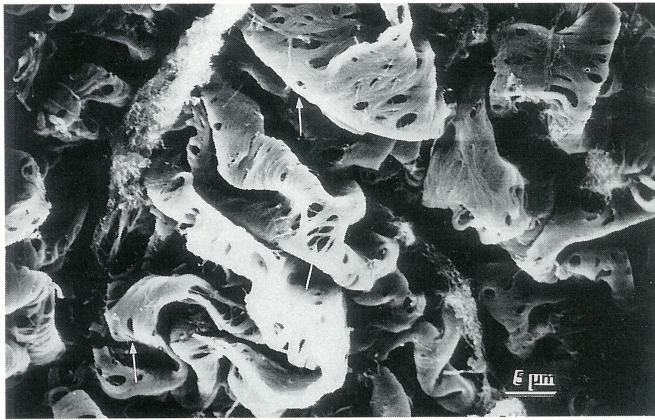


Fig. 13. A scanning electron microscopic surface view of the external elastic fiber layer in the visceral pleura from a 15-year-old girl after digestion with formic acid treatment, showing its wavy pattern and a definitive fenestration (arrows) (gold-coating, $\times 2,000$)

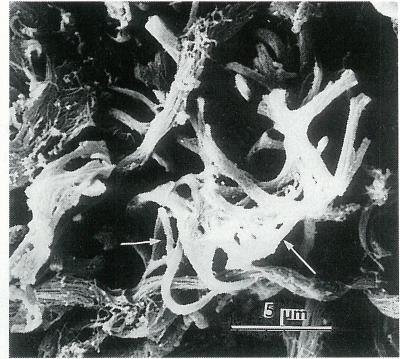


Fig. 14. A scanning electron micrograph of the external elastic fiber layer in the visceral pleura from a two-year-old girl after digestion with formic acid treatment, disclosing immature and partial fenestration (gold-coating, $\times 4,000$)

認した (Fig. 12).

蟻酸消化法後、ヒト胸膜内の成熟した弾力繊維外層を外表面から走査電顕で観察すると、弾力繊維は明らかな波状の走行を示し、すべてに多数の大小不同な卵円形の“窓”をもった。また窓以外の部分は密度の高い細繊維性充実性の膜からなっていた。すなわち、これらはいわゆる有窓膜 (fenestrated lamina) の形態と一致していた (Fig. 13)。ヒト胸膜における外弾力繊維層のこのような有窓膜形成は、観察した範囲で

は2歳以前ではいまだ不完全であり、3~4歳以降に完成すると考えられた (Fig. 14)。

一方、ヒト胸膜の成熟弾力繊維内層は弾力繊維束が不規則に吻合しあって、メッシュ構造を呈し、有窓膜その他の膜を形成していなかった (Fig. 15)。

スチレン割断法により、ヒト臓側胸膜の垂直横断面を走査電顕で観察すると、検索した全例において、有窓膜を形成する弾力繊維外層の下に、それとは完全に分離したメッシュを形成す

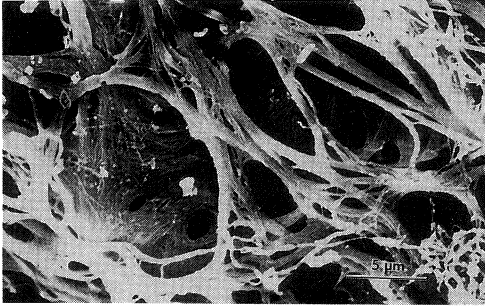


Fig. 15. A scanning electron micrographic rear view of the internal elastic fiber layer in the visceral pleura from a 74-year-old man after digestion with formic acid treatment, demonstrating an irregular meshwork (gold-coating, $\times 2,000$)

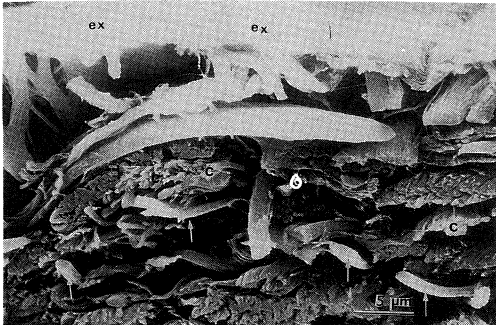


Fig. 16. A scanning electron microscopic lateral view of the visceral pleura from a 90-year-old man, revealing double layers of the external (ex) and internal (arrows) elastic fibers separated from each other by interposing abundant collagen fibers (c) (gold-coating, $\times 3,000$)

る弾力繊維内層がほぼ併走するのが側面から観察できた (Fig. 16).

考 察

ヒト肺の臓側胸膜内弾力繊維については、内層と外層の大きく2層に分かれていることが Nagaishi, C. の研究¹⁾により知られているが、胎児からの発育状態や電子顕微鏡レベルの詳細な報告はなされていない。

1. ヒト肺臓側胸膜弾力繊維の形態発育について

本研究での検索対象のうち最若年群は胎生8～9か月の胎児であったが、その時期にはすでに、胸膜中皮下には豊富な膠原繊維に混じって、未熟な弾力繊維が非連続的な一つの層を形成していた。ヒト臓側胸膜は内臓性中胚葉起源で、胎生6週頃に心外膜・腹腔管(pericardio-peritoneal canal)が膨隆して形成されるといわれているが、⁸⁾ その弾力繊維の形態発育については知られていない。しかし系統発生学上、一般に弾力繊維は膠原繊維より新しい(高等な)繊維といえ、⁹⁾ また個体発生上も弾力繊維は膠原繊維にはるか遅れて出現するといわれている。¹⁰⁾ したがって上記所見からみて、ヒト臓側胸膜結合組織における両繊維の出現についても、この原則どおりの形態発生が起こっているものと考えられた。しかし胎生のいかなる時期にかかる胸膜弾力繊維が発生し始めるかについては、初期胎児の検体不足から確認することはできなかった。

新生児の胸膜弾力繊維についても基本的に上記胎児と同様な所見がみられたが、肺呼吸の開始とともに肺小葉周囲や肺胞壁内に細い弾力繊維が出現した。2～3歳の幼児期になって初めて同繊維は、相互に独立した、明確な内外2層をなすことが確認され、上記の肺実質内外の弾力繊維の発達とよく相関していた。この内外2層からなる臓側胸膜弾力繊維のパターンは90歳代に至るまで全年齢を通じて認められたので、これが基本構造であるといえよう。

ヒト臓側胸膜弾力繊維の外層の厚さをみると、胎生後期から10歳代までは徐々にその径を増す傾向にあったが、20歳代以降はほとんど増大の傾向は認められなかった。

抗 α エラスチン抗体による免疫染色では、3歳頃より胸膜弾力繊維内に無染色性の中心軸が出現することが確認された。一般に弾力繊維は骨格をなす microfibrils とその間に沈着した無構造な elastin から構成されるが、胎生期にまず microfibrils が出現し、次いで elastin が次第に沈着・集積するといわれている。^{11)~14)} エラスチンは彦酸処理によって、 α エラスチン(分子量60,000～84,000)と β エラスチン(分子量55,000)

の2種類の可溶性物質が分離され、前者に架橋物質が見いだされている。¹⁵⁾したがって上記の抗 α エラスチン染色結果からは、ヒト胸膜弾力繊維内の α エラスチンは3歳頃からは主として繊維周辺部に集積する傾向を示すことが伺えた。

2. 走査電顕によるヒト臓側胸膜弾力繊維の3次元的構築について

本研究により、3歳以降で内外2層性が明確になり、ある程度以上に成熟したヒト臓側胸膜弾力繊維の外層は、多数の不均一な窓をもつ有窓膜 (fenestrated lamina) からなり、単純なシート状膜やメッシュ構造ではないことが明らかになった。これに対して、その内層は不規則メッシュ構造からなり、有窓膜やその他の膜形成はみられなかった。

弾力繊維における有窓膜形成は動脈の内弾性板で定型的に認められるが、¹⁶⁾ その有窓性(窓の大きさや密度)は動脈の種類によって異なっている。¹⁶⁾ 一方、動脈の外弾性板は不規則なメッシュ構造をとっている。¹⁶⁾したがって“内外”は反対であるが、構造的には胸膜弾力繊維外層が動脈内弾性板に相当し、内層が外弾性板に相当することになる。

Wasano and Yamamoto¹⁶⁾によると、動脈における内弾性板が有窓膜であることの意義は、内膜と中膜の間の液性物質だけでなく細胞や繊維成分の移動のためのチャンネルの役割を果たすものと考えられている。同じ役割は胸膜弾力繊維外層の有窓膜についても類推可能である。さ

らにそれは、内層のメッシュ構造による物質移動の容易性と、伸展に対して構造的に鞏固な膜構造を兼ね備えた合目的な立体構築であるということができよう。

3. ヒト胸膜弾力繊維の臨床病理学的意義

この問題についてはほとんど研究がなされておらず、本研究においても検討することができなかった。しかし最近の報告¹⁷⁾によると、肺扁平上皮癌が胸膜弾力繊維内層を破壊するか否かで生存率に差が生ずるといわれている。

悪性腫瘍だけでなく各種肺疾患の胸膜表面への波及に対して、これら弾力繊維層の果たす役割について、今後詳細な検討を行うことを予定している。

結 語

ヒト肺の臓側胸膜内弾力繊維の形態発育と三次元的構築について報告した。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲をいただいた川崎医科大学附属川崎病院病理部 伊藤慈秀教授に深謝いたします。また、本研究に対し御助言、御協力をいただいた同 水島睦枝講師をはじめ病理検査部の各位に感謝いたします。

本論文の要旨は平成3年4月、第31回日本胸部疾患学会総会において発表した。

文 献

- 1) Nagaishi, C. : Pulmonary pleura. In *Functional Anatomy and Histology of the Lung*, 1st ed. Tokyo, Igaku Shoin. 1972, pp. 254—284
- 2) Hass, G. M. : Elastic tissue. I. Description of a method for the isolation of elastic tissue. *Arch. Pathol.* 34 : 804—819, 1942
- 3) Carton, R. W., Dainauskas, J., Tews, B. and Hass, G. M. : Isolation and study of the elastic tissue network of the lung in three dimensions. *Am. Rev. Respir. Dis.* 82 : 186—194, 1960
- 4) Carton, R. W. and Dainauskas, J. : Formic acid corrosion for the demonstration of pulmonary elastic tissue. *Stain Technol.* 39 : 317—321, 1964
- 5) Kuhn, III. C. : Lung. In *Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy*, ed. by Hayat, M.A. 1st ed. New York, Nostrand Reinhold. 1975, pp. 111—121

- 6) 梶川欽一郎：細胞間物質の特異染色とその応用。「電子顕微鏡講習会テキスト」, 日本電子顕微鏡学会. 1977, pp. 89—99
- 7) 田中敬一：生物資料作製法。「図説走査電子顕微鏡」(田中敬一編), 第1版. 東京, 朝倉書店. 1980, pp. 57—84
- 8) Elliott, W. T., Kannerstein, M. and Churg, J.: Development, anatomy, and function of the serous membranes. *In* Tumors and Pseudotumors of the Serous Membranes, ed. by Hartmann, W.H. 2nd ed. Washington, D. C., AFIP. 1983, pp. 1—10
- 9) 藤田尚男, 藤田恒夫：支持組織。「標準組織学総論」(藤田尚男, 藤田恒夫編), 第3版. 東京, 医学書院. 1988, pp. 141—143
- 10) 広畑泰久, 相原 薫：膠原線維および弾性線維の物理化学的特性. 最新医 42 : 1828—1832, 1987
- 11) Cormack, D. H. : Loose connective tissue and adipose tissue. *In* HAMS Histology, ed. by Cormack, D.H. 9th ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Co. 1987, pp. 155—163
- 12) Ross, R. and Bornstein, P. : Elastic fibers in the body. *Sci. Am.* 224 : 44—60, 1971
- 13) Rennard, S. I., Bignon, J., Jaurand, M. C., Ferrans, V. J. and Crystal, R. G. : Connective tissue matrix of the pleura. *In* The Pleura in Health and Disease, Vol. 30, ed. by Chrétien, J., Bignon, J. and Hirsch, A. New York, Marcel Dekker. 1985, pp. 69—85
- 14) Greenlee, T. K., Ross, R. and Hartman, J. L. : The fine structure of elastic fibers. *J. Cell Biol.* 30 : 59—71, 1966
- 15) Partridge, S. M., Davis, H. F. and Adair, G. S. : The chemistry of connective tissue. 2. Soluble proteins derived from partial hydrolysis of elastin. *Biochem. J.* 61 : 11—21, 1955
- 16) Wasano, K. and Yamamoto, T. : Tridimensional architecture of elastic tissue in the rat aorta and femoral artery—A scanning electron microscope study. *J. Electron Microsc.* 32 : 33—44, 1983
- 17) Gallagher, B. and Urbanski, S. J. : The significance of pleural elastica invasion by lung carcinomas. *Hum. Pathol.* 21 : 512—517, 1990