

73

トリパフラビンに依る組織性肥胖細胞顆粒の検出

北山 吉雄

(金澤醫科大學解剖學教室 主任 岡本規矩男)

L. Lison (1935)¹⁾ の行つた黒染物質に關する研究の結果、その本態が高分子の硫酸エステルで一般に $R-OSO_3H$ と云ふ形で示される事が確認されて以來、動物體に分布してゐる黒染物質の生物學的意義を闡明するために、あるひは生化學的方面から、あるひは組織學的方面からの研究がストックホルムの人々に依つて協同的に行はれた。E. Jorpes, O. Wilander, Hj. Holmgren (1937-1939) 等は諸組織内の黒染物質に就き廣汎な検索を遂げたが、その結果組織性肥胖細胞内の顆粒は、ヘパリンに他ならずと推定し、この細胞こそヘパリン造出系統であると考へた。かうした結論に到るまでの實驗成績として組織内に存在する肥胖細胞の數亦はその顆粒の量と、その組織を破碎して抽出した物質のヘパリン様効果との間に著しい平行現象を認めてゐるが、組織性肥胖細胞の顆粒は極めて水に不安定な物質で、その組織内檢出法は、定量的に結果を判斷する程精細であり得るかどうかが問題となる。この目的に用ひた Holmgren 等の方法を吟味して見ると一部は從來の不充分な固定法に依り他は10%の鹽基性酢酸鉛水溶液で處理してゐる。その量的判定には、トリイデン青水溶液で黒染性染色を施し、現はれた顆粒の大きさ及び色調の濃淡に基いて判斷を行つてゐる。私は Holmgren の原法²⁾ 及び其後の改良法 (1937-1938)³⁾ を再三検討した結果、鹽基性酢酸鉛水溶液は未だ完全に組織性肥胖細胞顆粒を固定するには到らず、細心の注意を拂つても一部顆粒物質の逸脱を認めた。また顆粒の量的判定を顆粒の大小

1) L. Lison: *Archives de Biologie*. Tome. 46, 1935.

2) H. Holmgren & O. Wilander: *Z. f. mik. anat. Forsch.* Bd. 42, 1937.

3) H. Holmgren: *Z. f. wiss. Mikr.*, Bd. 55, 1938.

で決める事は固定の際に受ける顆粒容積の變化を顧慮すればその不適當な事は明瞭であり、殊に色調の濃淡は黒染性そのものが Lison の言明してゐる様に溫度、水素イオン濃度、鹽の存在等に依り變比するものであつて判定の基準とはなり得ない。私は昭和14年⁴⁾左右田、江上⁴⁾の發表したトリパフラビンと諸種硫酸エステル⁵⁾の試験管内反應で、ある種の硫酸エステルはトリパフラビンに依りアルコールに不溶性沈澱を生じ且その沈澱反應が極めて定量的である事を知り、本反應を肥胖細胞顆粒の固定に使用し得ないだらうかと考へ次の實驗を行つて見た。

被檢動物として犬及び家兎を用ひ^{*)}、動物を撲殺し直後に肝臟、肺臟、小腸、大網の各臟器から適當な大きさの切片を鈹取し、これに次の様な各列の操作を加へる。

第1列 20分の1モルのトリパフラビン水溶液内に各臟器切片を24時間乃至48時間浸し、次いで水洗する事なく直ちに60%アルコール溶液に移し、以下脫水パラフィン包埋を型の如くに行ひ、5ミクロンの薄切片となし、その一部には1%トリヂェン靑水溶液で染色を施し、他は何等特殊な染色を加へず脫パラフィン操作後バルサムに封入して檢鏡する。

第2列 50分の1モルのトリパフラビンの50%アルコール溶液内に24時間乃至48時間固定、脫水パラフィン包埋を行ひ、以下第1列と同様に操作して檢鏡する。

第3列 4%鹽基性醋酸鉛水溶液内に24時間乃至48時間固定水洗後脫水、パラフィン包埋を施したものと、水洗を行はず直ちに脫水、パラフィン包埋を施したものとに別け、薄切後1%トリヂェン靑水溶液で染色する (Holmgren の原法)。なほ一部は1%トリヂェン靑アルコール溶液(60%)で染色する。

第4列 10%中性フォルマリン水に24時間固定水洗脫水、パラフィン包埋。薄切後1%トリヂェン靑水溶液で染色、檢鏡。

第5列 60%アルコールに24時間固定後、脫水、パラフィン包埋。以下第4列の如くに操作を加へ檢鏡する。

第2-5の各列は對照列である。

4) 左右田、江上：日本化學會誌。等60巻、昭和14年。

*) Holmgren の方法を用ひてしばしば次の試驗を試みた結果、犬の肝、肺、小腸等には極めて多量の肥胖細胞を見出したが、家兎の肝、肺小腸では反對に殆んど檢出されない。但し大網には可なり豊富に見る事が出來た。依つて、肥胖細胞の豊富なもの⁶⁾と少いもの⁷⁾の代表として兩動物を選んだ。斯様に動物の種類により、また臟器の種類により肥胖細胞の分布に著しい差のある事は既に注目されてはゐるが、今日、その原因に就ては全く不明であり、その分布も詳細に研べられてゐない。私はこの點に關し目下檢索中である。

結果 以上の各列の方法に依り検出された組織性肥胖細胞顆粒の明瞭さを判定する規矩として細胞輪廓の鮮明さ—顆粒物質が逸出してゐる時は輪廓は不鮮明となる—と顆粒の染り方を撰んだ。第1列のトルイヂン青水溶液(以下水溶液を略する)で染めたものでは細胞の輪廓は極めて明瞭で顆粒は黒褐色に濃染するが最早特有の黒染性色調は認められない。第2列でも同様であるが染り方は前者に比較すると淡く、周圍の他の細胞との對照が判然としない。然るに第1列のトルイヂン青染色を施さぬものでは細胞輪廓は極めて明瞭である許りでなく、顆粒もトリパフラビンに依り赤褐色の濃厚な色調に染まり、しかも顆粒の状態が明瞭な粒子となつて現はれ、あるものでは核との關係も判然と認められた。

第2列の同様に處理したものでは顆粒の染り方が稍々不明瞭で周圍の他の細胞との對照が第1列のものに比して劣つてゐた。第3列の Holmgren の原法に依つたものでは水洗を行つたものも行はなかつたものでも略同様の結果で、細胞輪廓は概して明瞭であるが中には顆粒物質の逸脱のため不明瞭なものも見られ、顆粒の染り方は、細胞體全部が一樣に濃赤紫色に覆はれ、粒子の状態は其く不明で核との關係も明瞭を缺いてゐる(Holmgren の原著の挿圖も顆粒は不明瞭である)。第4,5の對照列では細胞輪廓は不鮮明であり、顆粒の染り方も極めて淡く、殊に第5列の標本では殆んど肥胖細胞を検出する事が出来なかつた。

以上の成績は犬の各臟器に關して見られたものであるが Holmgren の原法により肥胖細胞が検出される所には同様に第1列のトリパフラビン法によつても肥胖細胞が検出された。

家兎の肝臟、肺臟では兩法ともに一個の肥胖細胞も検出し得ず、たゞ大網には比較的少量の細胞を見る事が出来た。従つてトリパフラビンに依り固定せられた細胞は Holmgren の原法によつて検出されたものと全く同一である事は論を俟たない。以上の結果を簡單の爲に一括して表示すれば次の様である。

以上述べた所によりトリパフラビン水溶液は組織性肥胖細胞顆粒を極めて良く検出する事が出来ると言ひ得る。その良さは、まづ顆粒物質の逸脱を完全に近く防ぎ得る點と、顆粒を粒子狀に周圍の他の細胞とは全く異つた濃度で染出する點にある(組織性肥胖細胞は赤褐色に濃染するのに反し他の細胞は淡黄色に染まる。これは異染色色ではない。何となれ

ば長時間濃厚なトリパフラビン水溶液中に浸すときは、この色調の差は次第に少くなる)。Holmgren は組織内の肥胖細胞顆粒の量をその色調

肥胖細胞顆粒の明瞭さの表

顆粒の明瞭さ	固定法		トリパフラビンのアルコホル溶液		鹽基性醋酸鉛	50%アルコール	10%フォルモール
	トリパフラビン水溶液	トリパフラビンのアルコホル溶液	トリパフラビンのアルコホル溶液	トリパフラビンのアルコホル溶液			
細胞輪廓の明瞭さ	極めて明瞭	極めて明瞭	明瞭	明瞭	明瞭 (一部不明瞭)	—	不明瞭
顆粒の染り方	濃黒褐色	濃赤褐色顆粒状。核との關係明瞭	異褐色 (淡し)	極めて淡し	濃黒赤紫色塊状。核との關係不明瞭	—	極めて淡し

の濃淡によつて判定したが、トリパフラビン法に依る時は前述の様に顆粒は粒子状となつて現はれるから量的判定には極めて好都合である。従つて、固定の點から言つても量的判定の點から言つてもトリパフラビン法は鹽基性醋酸鉛による固定法に比し遙かに良好な結果を有するものと認め度い。

(受附：昭和17年2月19日)