

Holzer 氏グリア線維染色法の一変法 佐伯変法の提唱

金沢大学医学部神経精神医学講座 (主任: 大塚良作教授)

佐 伯 峯 義
大 塚 良 作

(昭和47年10月2日受付)

神経病理の検索にグリア線維染色は欠かすことのできない染色法である。グリア線維染色法として報告されたものは少なくないが、現在もなおその重要性の認められている方法は、Weigert 法、Holzer 法などごく一部のものに限られている。ことに Holzer 法¹⁾はグリア線維を撰択的かつ美麗に染め出す極めて優れた染色法である。

さきに秋元²⁾は Müller 氏液固定材料から Holzer 染色をおこなう方法を発表したが、その後この方法に若干の改良をくわえた。私信によっては一部の方にお知らせしたので、武谷³⁾の組織病理学入門などでは佐伯変法という名ですでに記載されているが、この変法については公表されていない。そこで、全ての材料において Holzer 法よりもより鮮明なグリア線維染色像をうるができるようになったので、この方法について報告したい。

方 法

1 材 料

10%ホルマリン固定, 25 μ 切片; アルコール固定, セロイジン包埋, 20 μ 切片; あるいは Müller 氏液固定, セロイジン包埋, 25 μ 切片のいずれでもよい。

2. 酸化と漂白

上記の切片を0.3%過マンガン酸カリウム水溶液に入れて30分間おく。切片は褐色になるが、その切片を軽く水洗したのち、1.0%蔞酸水溶液と1.0%無水亜硫酸水溶液の等分混合液に入れ、切片が漂白されて純白になるまでおき、その後充分に水洗する。この切片を50%アルコール中に入れる。

3. 脱セロイジン

セロイジン包埋からの切片は局方メタノールあるい

はアセトンでセロイジンをよく溶解除去した後、70%アルコール中に保存する。

4. 切片の張り付け固定

50%アルコール中で切片を卵白グリセリンを塗ったオブジェクトガラスの上に掛け、液から取り出して濾紙で圧迫し、オブジェクトガラスに密着固定させる。

5. 染色

切片を乾燥させないように注意しながら、次の操作をおこなう。

a. モリブデン・アルコール液 (原法と同じ) を注ぎ1分間後に液を捨て、濾紙で軽く圧迫する。この操作を3回反復する。

b. 次の処方による染色液を注ぎ、2~3分後に余分の液を捨て、濾紙で軽く押える。

(染色液) 80%アルコール 100cc

クリスタル紫 1g

c. 10%ブローム・カリウム水溶液を注いで4~5分間置く。余分の液を捨て濾紙で圧す。

6. 分 別

アニリンとキシレンの等分液を注加して脱色分別の処理をする。数回反復することが必要である。なお分別に長時間を要するときは原法の分別液、すなわちアニリン4, クロロホルム6, 10%氷錯酸1滴の混合液で分別すると、分別時間を短縮することができる。適当に分別されたならばキシレンを注いで充分にアニリンを洗い流す。

7. 封 入

バルサムまたはビオライトで封入。

結果ならびに考察

1. 原法と比較しての変法の特徴

Über eine Modifikationsmethode der Holzerschen Gliafärfarbung: Saheki'sche Modifikationsmethode Mineyoshi, Saheki und Ryosaku, Otsuka Aus der Neurologisch-Psychiatrischen Klinik der Universität Kanazawa (Direktor: Prof. R. Otsuka)

Holzer の原法とここに報告した変法の最も大きな方法的差違は次の2点に要約される。すなわち、1) 前処置として過マンガン酸カリによる酸化操作を施したこと、2) 染色液の処方を変え、クリスタルバイオレットを稀薄なアルコール溶液とし、染色操作を容易にしたことである。

まず前処置の切片の酸化操作は変法における最も重要な点である。なぜ酸化が組織の染色性を変化させるかは未だ明らかでない。しかし過マンガン酸カリのほか過酸化水素、過沃素酸などを用いて酸化操作を加えてもほぼ同様な結果が得られるので、本変法において前処置の酸化操作が重要な意味をもつことは疑いを入れない。この過マンガン酸カリによる酸化操作は前処置として重要な意味をもつほかに、従来は不能とされていた、Müller 氏液固定材料からグリア線維染色標本を作成しうようになったことにも大きな意味のあることは、すでに報告したとおりである。

つぎに原法における染色液はクリスタルバイオレットの10%アルコール・クロロホルム溶液であるが、これは溶媒がきわめて蒸発しやすいために、染色操作を極めて敏速に運ばなければならず、ともすれば標本に色素の結晶が付着する危険のあることはよく経験するところである。本変法の染色液はクリスタルバイオレットを80%アルコールに約1%になるように溶解したものであり、急速に蒸発することなく、色素液が低濃度であるために染色操作を原法ほどにいく必要はない。したがって技術的な差がいちじるしく縮小されている点の特徴である。すなわち、原法では技術的に相当習熟していてもコンスタントな所見がなかなかえられないが、本変法によって染色操作が簡単となり、比較的初心者にも容易に染色できるようになったといえよう。

2. 染色像における原法との比較

染色される対象は原法と本質的には変わらない。すなわち、主として染め出されるのは述べるまでもなくグリア線維であるが、ほとんど同一と考えてよい対象についてグリア線維の染色程度を比較すると、変法の方が濃染すると同時にその量も多い。その関係を連続切片の相隣れる切片で比較したのが図1~12である。この差違はあくまで量的差違であって、原法で全く染め出すことのできなかつたグリア線維を変法によって染め出すことはできない。しかしこれは実質内のグリオーゼに対する所見であって、辺縁グリオーゼについては原法と変法では顕著な差がある。すなわち、原法ではほとんど証明されない程度の辺縁グリオーゼでも、変法によって美麗に染め出される現象にはしばし

ば遭遇する。

つぎにマクログリアの胞体がしばしば染め出される。ことに肥大した線維性マクログリアは胞体ならびにその突起がかなり末端まで濃く染まってくる。これは原法では稀な現象であるが、変法では恒常的な所見と考えるとよい。さらにグリア性癩痕においては退行期のマクログリアの萎縮した胞体が染めだされることも稀ではない。

グリア以外の組織で染まるのは血管壁ならびに軟膜であるが、これは原法でも変法でも変わることはない。ただ変法ではこれらの組織の被染性が原法に比して高いために、炎症巣あるいは変性巣などで血管の増殖をとまなうような場所では、本来の目的であるグリア線維がないのに、肉眼的にはグリオーゼがあるかのごとくに見えることもあるので注意する必要がある。

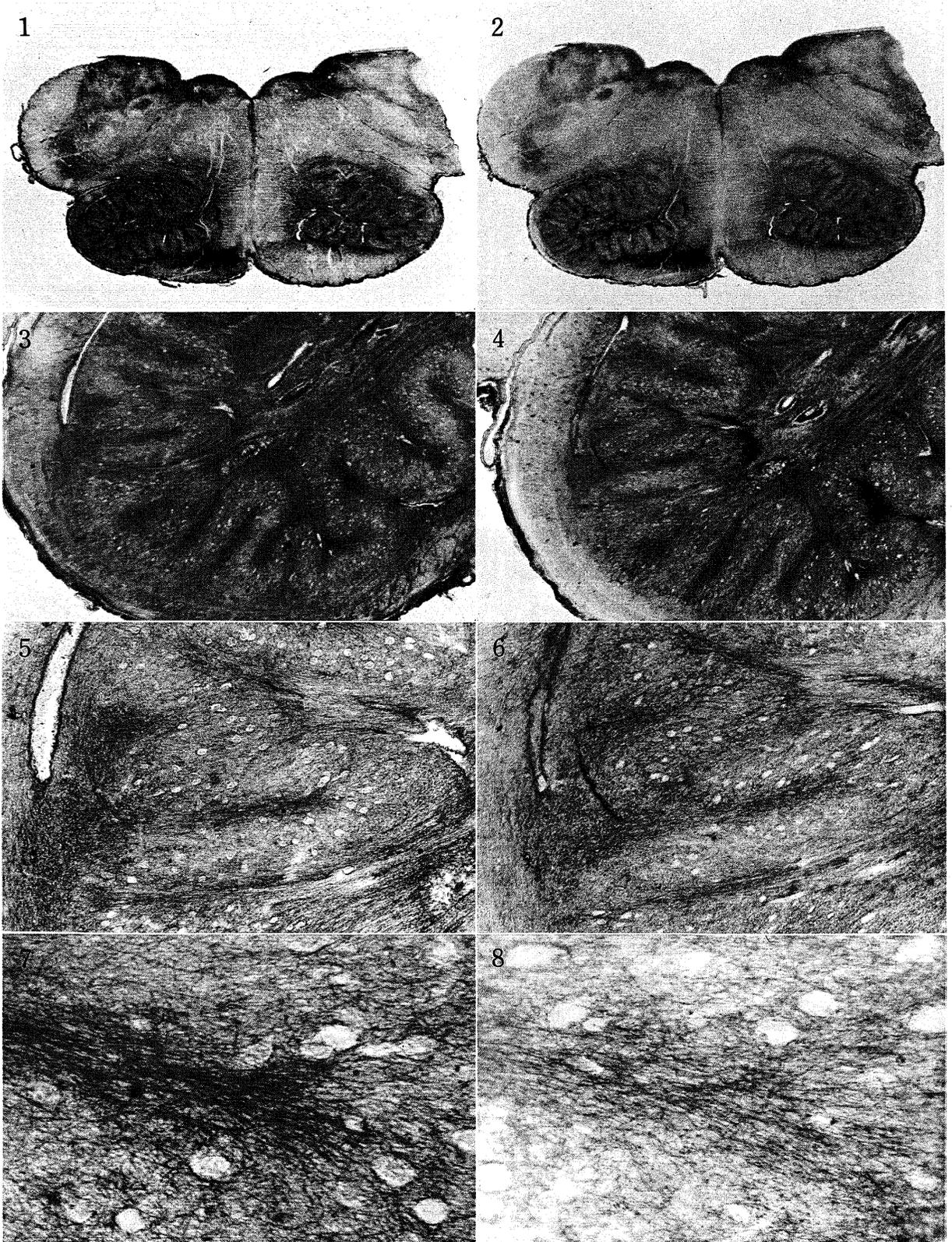
例外的な現象であるが、結合織の増殖がある場合にはこれも染め出されるが、これは変法のみの特異的ではない。

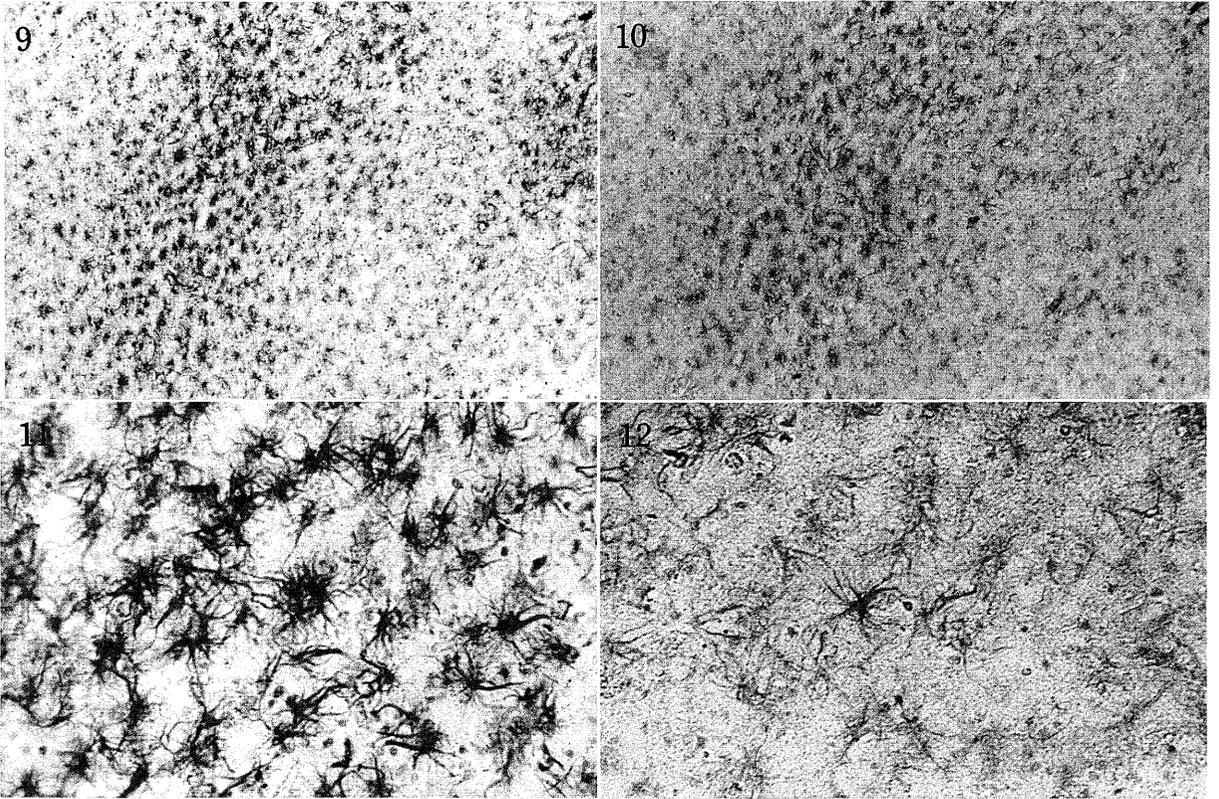
要 約

原法との最も大きな相違点は、前処置として切片を0.3%過マンガン酸カリウムで酸化し、各1%蔞酸、亜硫酸水の等分混合液で漂白すること、ならびに染色液をクリスタル紫の1%アルコール溶液(80%アルコール)としたことである。これによって、染色操作が簡単となり、かつグリア線維の染色性が一層鮮明となった。

文 献

- 1) Holzer, W.: Allgem. Z. f. Psychiat., 77, 358 (1921).
- 2) 秋元波留夫・佐伯峯義・佐々木重行・大塚良作・大路喜代司: 十全医会誌, 60, 1522~1525 (1958).
- 3) 武谷止孝: 神経病理学入門, 東京, 医学書院, 1970.





写真説明

1—8：78才，女子．脳動脈硬化ならびに脳軟化症患者の延髄のグリア線維染色標本．奇数番号（左側）は佐伯変法，偶数番号（右側）は Holzer 氏原法による標本であり，対をなす各写真は連続標本の相隣れる標本より得たものである．

1, 2 約×7； 3, 4 ×20
5, 6 ×50； 7, 8 ×200

9—12：62才，女子．亜急性海綿状脳症患者の後頭葉皮質のグリア線維染色標本．奇数番号（左側）は佐伯変法，偶数番号（右側）は Holzer 氏原法によるものである．原形質性のマクログリアが著明に増殖している．

9, 10 ×50； 11, 12 ×200

Diese Modifikationsmethode hat folgende Eigentümlichkeiten im Vergleich mit der Originalmethode von Holzer.

1. Die Modifikationsmethode kann auf die Materien, welche mit Alkohol, Formol- und insbesondere Müllerscher Lösung fixiert sind, angewandt werden.

2. Die Schnitte werden zuerst 30 Minuten lang in der 0.3%igen Lösung vom Kaliumpermanganat oxidiert. Dann müssen die Schnitte in der Lösung, einer Mixtur von der 1%igen Oxalsäure und dem 1%igen Natriumsulfitanhydrid in gleicher Menge, gebleicht werden.

3. Nachdem die Schnitte dreimal in Phosphormolybdän-Alkohollösung eingetaucht worden sind wie bei der Originalmethode, bleiben sie 3 bis 4 Minuten lang in der folgenden Farblösung stehen : 100ccm 80%igen Alkohol mit 1g Krystallviolett.

4. Darauf folgende Handhabungen sind fast gleich wie bei der Originalmethode, aber nur bei der Differenzierung wird Anilin-Xylol (1 : 1) gebraucht.

5. Die ganze Handhabung der Modifikationsmethode ist viel leichter als die der Originalmethode, aber das Resultat ist besser.
