

皮下組織諸細胞ノ「ノイトラル赤」 超生體染色法ニ就テ

金澤醫科大學病理學教室(杉山教授指導)

研究科學生 山 浦 初 男
Hatsuo Yamaura

(昭和13年7月29日受附)

内 容 抄 録

本報告ニ於テハ家兎皮下結締織中ノ諸細胞ニ「ノイ
トラル赤」超生體染色ヲ施ス簡便法ヲ記載セリ。本法ノ
特異ナル點ハ組織片ニ直接色素溶液ヲ注入セズ、Rin-

ger 氏液ヲ注入シタル後該色素生理的食鹽水溶液ニ移
シ、色素ヲ組織ニ滲透セシムル點ナリ。

目 次

緒 言

實驗材料及ビ實驗方法
實驗成績及ビ考按

結 論

主要文獻

緒 言

組織細胞ノ超生體染色法ニ關シテハ從來ニ方法アリ。即チ新鮮結締組織ノ小片ヲ迅速ニ鋏取
シ、載物硝子上ニ延ベ其上ニ色素溶液ノ1滴ヲ
落シ、輕ク覆蓋硝子ヲ置キテ檢スル法並ニ組織
片ニ小注射器ヲ用ヒテ稀薄ナル色素溶液ヲ注入
シ、水腫狀ヲ呈セル組織片ノ一部ヲ鋏取シテ鏡
檢スル法之ナリ。而シテ前者ニ於テハ組織片ヲ
十分ニ薄ク延ベルコト實施上容易ナラザル爲組

織片中ノ諸細胞ハ顯微鏡下ニ於テ相重リテ存シ
觀察極メテ困難ナル不便アリ。又後者ノ方法ニ
從ヘバ「ノイトラル赤」如キ比較の無害ナル色
素ニ於テスラ核染色ヲ來シ易シ。

之等ノ點ニ鑑ミ、余ハ後者ノ方法ニ改良ヲ加
ヘ極メテ容易ニ且確實ニ組織細胞ニ超生體染色
ヲ施ス方法ヲ考案セシヲ以テコトニ報告セント
ス。

實驗材料及ビ實驗方法

實驗材料

1. 實驗動物 健康家兎

2. 5000倍「ノイトラル赤」生理的食鹽水溶液

3. Ringer 氏液

實驗方法

家兎ヲ動物臺ニ固定シテ約2 cm 平方皮膚毛髮ヲ剪除シ、70%「アルコール」ヲ以テ清拭シ乾燥ヲ待チテ皮膚ニ小切開ヲ施シ、手早く米粒大ノ皮下組織片ヲ切り取りテ Ringer 氏液ヲ盛りタル小「シヤール」内ニ入レ置キ手術創ヲ縫合ス。小「シヤール」内ニ入レ置キタル組織片ニ小注射器ヲ用ヒテ Ringer 氏液ヲ萬遍ナク平等ニ注入ス。タメニ組織片ハ半透明水腫狀ヲ呈セル拇指頭大ノ塊ニ膨大ス。斯クナシタルモノヲ

5000倍「ノイトラル赤」生理的食鹽水溶液ヲ盛りタル小「シヤール」ニ移シ、「シヤール」ヲ密閉シ37°C 孵籠器中ニ1時間貯藏シタル後、組織片ノ一部ヲ切り取り載物硝子上ニ靜ニ擴ゲ、覆蓋硝子ヲ以テ被ヒ油浸裝置ノ下ニ鏡檢ス。

本法ニ於テ最モ特異ナルハ組織片ニ直接色素溶液ヲ注入セズ、Ringer 氏液ヲ注入シタル後色素食鹽水溶液ニ移シ、色素ヲ組織中ニ滲透セシムル點ナリ。此方法ニ依レバ新鮮狀態ト略同様ナル染色顆粒ノ出現ヲ認メ得ベシ。

實驗成績及ビ考按

本法ニ依リ正常家兎皮下鬆結締組織中ノ諸細胞ニ超生體染色ヲ施セル顯微鏡像ハ附圖ニ示ス如シ。

正常家兎ノ皮下結締組織中ニ常存スル細胞ハ主トシテ結締織成形細胞、組織球及ビ所謂「モノチーテン」ニシテ顆粒性白血球及ビ淋巴球ハ殆ド之ヲ認メタルコトナシ。

1. 結締織成形細胞 (Fibroblasten 又ハ Fibrocyten) ハ皮下組織ニ最モ多數ニ存スル大形ノ細胞ナリ。而シテ多クハ長紡錘形ヲ呈スレド屢々不正形、多角形、星形ヲ呈スル菲薄ナル細胞ニシテ長キ原形質突起ヲ出ス。Dominici (1920), Heringa (1924), v. Möllendorff (1926), W. u. M. v. Möllendorff (1926) 氏等ニ依レバ此原形質突起ハ互ニ融合シテ常ニ syncytialer Zusammenhang ヲナスモノナリト云ヘリ。然ルニ Maximow ハ此點ニ關シ結締織成形細胞ハ時ニ小ナル集團ヲ作りテ存在シ細胞相互ノ境界ヲ明瞭ニ認メ難キコトアレド一般ニハ孤立シテ存在スルモノナリト記載シ居レリ。又 W. H. Lewis (1922), Benninghoff (1923) ハ該細胞原形質突起ハ互ニ融合スルモノニハアラズ單ニ接觸シ居ルニ過ギズト主張セルガ、更ニ最近 W. H. Lewis (1926), W. Pfuhl (1932) 氏等ハ結締織成形細胞ハ常ニ孤立シテ存在スルモノナリト力説セリ。

其原形質ハ一般ニ空胞ヲ有スルコト少ク等質性ニ見ヘ爲ニ細胞ノ境界明瞭ヲ缺ク。「ノイト

ラル赤」超生體染色ヲ施セル場合ハ原形質中ニ小ナル染色顆粒ガ散在性ニ出現スルヲ觀ル。炎竈ニ於テ反應狀態 (Reaktionszustand 清野, active condition: Maximow) ニ在ル結締織成形細胞ハ靜止狀態ニ於ケルヨリ稍強ク色素ヲ攝取スレドモ染色顆粒ノ數ガ僅ニ増加シ、稍大形顆粒ヲ見ルニ留リテ決シテ組織球ノ如ク大小ノ染色顆粒ガ細胞ヲ充スガ如キ狀態ヲ呈スルコトナシ。時ニ原形質中ニ「ノイトラル赤」染ルコトナキ小ナル輝耀性顆粒ヲ有スルコトアリ。又稀ニ大小多數ノ空胞ガ「ノイトラル赤」淡染シテ存在スルコトアリ。(Maximowニ依レバ炎竈又ハ組織培養ノ場合ニ多シト。)本細胞ニ於テ可成特異ナルハ細胞中ニ纖細ナ fibrilläre Struktur ヲ觀ルコトナリ。Pfuhl ハ此 fibrilläre Strukturニ關シテ超生體染色ヲ施セル場合ノミナラズ固定標本ニ於テモ之ヲ認ムト。Maximowモ亦其 Textbook of histology ノ中ニ mitochondria ハ時ニ細胞體表面ヲ走ル tonofibrils (fibroglia fibers)ニ變ズルコトアリト記載シ居レリ。余ノ家兎ニ於ケル觀察ニ於テモ結締織成形細胞ハ殆ド常ニ fibrillär Struktur ヲ認メ得タリ。而シテ本細胞ノ核ハ「ノイトラル赤」超生體染色ニ於テハ之ヲ認ムルコト能ハザリキ。

2. 下組織球ハ2種ノ形態トナリテ存在ス。即チ比較的大形ニシテ紡錘形乃至不正形ヲ呈スル不動性ノ固着性組織球 (fixe Histiocyten) ト、

比較的小形ニシテ圓形乃至橢圓形、遊走狀ヲ呈スル遊離性組織球(freie Histiocyten)ナリ。前者ハ一般ニ大形ニシテ、形態ハ紡錘形、三角形又ハ不正形ヲ呈シ、原形質内ニハ多數ノ微細空胞及ビ少數ノ輝耀性ニ富ム脂肪顆粒ヲ含ム。「ノイトラル赤超生體染色ヲ施ス時ハ多數ノ大小不同ニシテ圓形乃至橢圓形ノ染色顆粒ヲ現ハシ、同時ニ空胞モ淡染シテ極メテ美麗ナル形態ヲ呈ス。而シテ一般ニ組織球ハ單獨ニ存在スルコト割合ニ稀ニシテ多數列ヲナシテ存在スルカ又ハ大ナル集團ヲ作りテ存在スルコト多シ。此事ニ關シテハ Maximow, Jasswoin (1928) 氏等ガ既ニ記載シ居レリ。

組織球ノ核ハ本超生體染色ニ於テハ全く認ムルコトヲ得ズ。然レドモ先人ノ記載ニ依ルト核ハ多ク橢圓形、時ニ灣入シテ腎臟形、馬蹄形ヲ呈スルコトアリト。更ニ Maximow 其他ニ依レバ本細胞核ハ結締織成形成細胞核ニ比シテ常ニ小ニシテ固定標本ニ於テモ核小體ハ著明ニハアラズト。而シテ結締織成形成細胞核ハ大ニシテ固定標本ニ於テハ常ニ淡染シ中ニ著明ナル核小體ヲ有シ、之等ノ點ハ兩種細胞鑑別ノ重要ナル目標タリ得ルト記載シ居レリ、然ルニ Pfuhl, W ハ之ニ反對シ核ノ大サニ於テモ染色性ニ於テモ兩種細胞間ニ差異ヲ見ラズ、又組織球ノ核ニ於テモ適當ナル染色ヲ施セバ核小體ヲ明瞭ニ認メ得ルガ故ニ兩種細胞核ノ間ニハ根本的ナ區別ヲ發見シ得ズト主張セリ。Brodersen (1928) モ「オスミウム酸 (Osmiumsäure) 固定標本ニ於テ兩細胞核ノ間ニ差異ヲ認メザリキ。余ハ家兎皮下組織片ノ一部ヲ「オスミウム酸ヲ以テ固定シ(大月五、参照) Romanowsky-Giemsa 染色ヲ施セルニ兩種細胞ヲ殆ド區別シ能ハザリキ。

前述セル如ク固定染色標本ニ於テ細胞及ビ核ノ染色性、大サ、核小體ノ狀態ヲ以テ兩種細胞ヲ鑑別センニハ尙多少ノ疑點ノ存スル所ナレバ余ハ超生體染色法ヲ以テ兩種細胞ヲ區別スルヲ最モ適當ナリト思考ス。而シテ本超生體染色法ニ依レバ組織球ハ極メテ著明ナル「ノイトラル赤染色顆粒ヲ出現スルニ反シ、結締織成形成細胞

ハ然ラズ。又結締織成形成細胞ハ其原形質中ニ fibrilläre Struktur ヲ明瞭ニ認メ得ラル、ヲ以テ之等ノ點ヲ以テスレバ兩種細胞ノ鑑別ハ極メテ容易ニ且確實ニ遂行シ得ルコトヲ附言ス。

後者遊離性組織球(freie Histiocyten)ハ小形ニシテ原形質突起ナク、圓形乃至橢圓形ヲ呈シ、細胞境界ハ明瞭ナリ。「ノイトラル赤超生體染色像ニ於テハ著明ナル大小不同ノ染色顆粒ヲ原形質内ニ現ハシ、此顆粒ハ核ノ存在スルトオボシキ周圍又ハ其一側ニ集簇シテ出現スルコト多ク、稀ニ集簇セル染色顆粒ハ美シキ花冠狀排列ヲナスコトアリ。又「ノイトラル赤染色顆粒ノ外ニ空胞、脂肪顆粒ノ存在ヲ認メシムルコトアリ。

3. 皮下組織中ニ所謂「モノチーテン」(Monocyten) ト稱サル、所ノ圓形細胞ノ存在スルコトハ Maximow (1902, 1906), Weidenreich (1911), Renaut (1907), 清野, Benninghoff (1923), 氏等以來認メラレタル所ニシテ最近又本細胞ニ關シテ W. Pfuhl 其他多數諸家ノ記載アリ。本種細胞ハ正常ニ於テハ皮下又ハ筋肉間ノ結締組織中ニ少數ニ分布シ居ルモノナレド、血管附近又ハ脂肪組織ニ於テハ比較的多數存在スルモノナリ。而シテ本細胞ノ形態ハ一般ニ圓形ナリ。大サニ依リテ本種細胞ヲ小淋巴球大ノモノト血液大單核球ニ匹敵スルモノトニ大別シ得。「ノイトラル赤超生體染色ヲ施セル場合 Maximow (1906, 1929) ハ小圓形細胞ハ殆ド染色顆粒ヲ現ハサズ大圓形細胞ニ於テノミ Neutralrot Rosette ヲ形成スト云ヘルモ余ノ場合ニ於テハイヅレモ常ニ美シキ Neutralrot Rosette ヲ形成セリ。

小圓形細胞ノ由來ニ關シテハ或ハ淋巴球ナリトシ(Maximow, Bloom, Weidenreich, Stieve) 或ハ然ラズ(Schilling, Schittenhelm, Aschoff) トナシテ未ダ確定スル所ニ至ラズ。此小圓形細胞ニ關シテハ當教室ニ於テモ渡邊氏ノ業績アリテ、「ノイトラル赤超生體染色ニ於テハ美シキ Neutralrot Rosette ヲ形成シ、「カルミン」生體染色陰性、「オキシダーゼ」反應陽性、墨粒貪喰ハ極メテ旺盛ナリト、而シテ氏ハ以上ノ事實ノミヲ以

テ之ヲ淋巴球又ハ組織球ト斷定スル根據ナシト云ヘリ。余ノ觀察ニ於テモ亦本小圓形細胞ハ美シキ Neutralrot Rosette ヲ形成スルヲ認メ又墨粒貪喰旺盛ナリキ。

而シテ小圓形細胞ヨリ大圓形細胞ニ至ル、更ニ遊離性組織球ニ至ルマデノ一列ノ移行型ガ存在スル事實ハ既ニ Maximow (1902), Weidenreich (1911), Pfuhl (1932) ガ記載セル所ナリ。余ノ觀察ニ於テモ大體同様ナリキ。殊ニ炎竈附近ニ於テカ、ル移行型ガ多數出現スルモノノ如シ。此種ノ細胞ニ關シテハ更ニ今後ノ研究ニ待ツベキナリ。

又遊離性組織球ト固着性組織球トノ移行、固着性組織球ト結締織成形成細胞トノ移行ノ問題ハ

古來 Ranvier (1890, 1900), Maximow (1902), Weidenreich (1911), Benninghoff (1923), v. Möllendorff (1926), W. u. M. v. Möllendorff (1926) 氏等ニ依リ盛ニ論議セラレタル所ナルモ未ダ一定セル結論ニ到達セザルモノノ如シ。

4. 組織性肥胖細胞 (Mastzellen)

余ハ家兎ニ於テ發見シタルコトナキモ, Maximow ハ極メテ稀ニ血管附近ニ存在スト。

5. undifferenzierte Mesenchymzellen

Maximow ハ毛細血管附近ニ存在スト云ヘルモ余ハカ、ル細胞ヲ確實ニ認メタルコトナシ。本種細胞ニ關シテハ Maximow 及ビ Pfuhl ヲ参照セラレタシ。

結 論

本報告ニ於テハ家兎皮下結締組織中ノ諸細胞ニ「ノイトラル赤超生體染色」ヲ施ス簡便法ヲ記載セリ。本法ノ特異ナル點ハ組織片ニ直接色素溶液ヲ注入セズ、Ringer 氏液ヲ注入シタル後

色素溶液ニ移シ、色素ヲ組織ニ滲透セシムル點ナリ。此方法ニ依レバ核染色ヲ來スコトナク極メテ容易ニ且確實ニ超生體染色ヲ施シ得ベシ。

文 獻

- 1) **Aschoff, L.**, Das reticuloendotheliale System. Erg. d. inn. Med. u. Kinderh. **26**, 1, 1924.
- 2) **Benninghoff, A.**, Beobachtungen über Umformungen der Bindegewebszellen. Arch. f. mikr. Anat. **99**, 571, 1923.
- 3) **Bloom, W.**, Über die Monocytenfrage. Klin. Wschr. **8**, 481, 1929.
- 4) **Brodersen, J.**, Die Zellen des Unterhautbindegewebes der weissen Maus. Ztschr. f. mikr.-anat. Forsch. **14**, 60, 1928.
- 5) **Carrel, A. and Ebeling, A.**, The fundamental properties of the fibroblast and the macrophage. I. fibroblast II. macrophage. J. of exp. med. **44**, 261 and 285, 1926.
- 6) **Dominici, H.**, zit. nach Maximow.
- 7) **Dubreuil, G.**, zit. nach Maximow.
- 8) **Heringa, G. C.**, Untersuchungen über den Bau und die Bedeutung des Bindegewebes. Ztschr. f.

- mikr. anat. Forsch. **1**, 607, 1924.
- 9) **Jasswoin, G.**, Beiträge zur vergleichenden Histologie des Blutes und des Bindegewebes. (VIII), Ztschr. f. mikr. anat. Forsch. **15**, 107, 1928. und (IX), Ebenda **19**, 513, 1930.
- 10) **清野謙次**, 生體染色ノ研究. 第2版, 昭和3年.
- 11) **Lewis, W. H.**, Is mesenchyme a syncytium? Anat. record. **23**, 177, 1922.
- 12) **Lewis, W. H.**, Macrophages of the deep fascia of thigh of the rat in spreads supravitally stained with neutral red and with janus green. Anat. record. **32**, 215, 1926.
- 13) **Maximow, A.**, Experimentelle Untersuchungen über entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Zieglers Beiträge, Supplementheft. **5**, 1902.
- 14) **Maximow, A.**, Über die Zellformen des lockeren Bindegewebes. Arch. f. mikr. Anat. **67**,

680, 1906. 15) Maximow, A., Über undifferenzierte Blutzellen und mesenchymale Keimlager im erwachsenen Organismus. Klin. Wschr. 5, 2193, 1926. 16) Moximow, A., The macrophages or histiocytes. Special cytology. vol. I, Section. XIV, P. 427, 1928. 17) Maximow, A., Bindegewebe und Blutbildende Gewebe. Handbuch d. mikr. Anat. d. Menschen (von Möllendorff) Bd. 2, I, Teil, S. 232, 1929. 18) Maximow, A., Über die Histogenese der entzündlichen Reaktion. Ziegler's Beitr. 82, 1, 1929. 19) Maximow, A., Textbook of histology. 1931. 20) v. Möllendorff, W., Über das Zellnetz im lockeren Bindegewebe und seine Stellung zum reticuloendothelialen Stoffwechselsystem. Münch. med. Wschr. 73, 3, 1926. 21) v. Möllendorff, W., Die Entstehung der Entzündungsleukocyten und die Grenzen der anatomischen Methode. Klin. Wschr. 7, 2481, 1928. 22) v. Möllendorff, W.u.M., Das Fibrocytennetz im lockeren Bindegewebe, seine Wandlungsfähigkeit und Anteilnahme am Stoffwechsel. Ztschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. 3, 503, 1926. 23) 大月五, 白血球ノ核移動ニ關スル研究補遺。(其10), 十全會雜誌, 42卷, 2437頁, 昭和12年. 24) Pfuhl, W., Die Zellen des normalen lockeren Bindegewebes, unter besonderer Berücksichtigung der Clasmatoeyten. Ztschr. f. mikr. anat. Forsch. 31, 18, 1932. 25) Ranvier, L., zit. nach Maximow. 26) v. Recklinghausen,

F., Über Eiter- und Bindegewebskörperchen. Virchows Archiv. 28, 157, 1863. 27) Renaut, J., zit. nach Maximow. 28) Schilling, V., Über hochgradige Monozytosen mit Makrophagen bei Endocarditis ulcerosa und über die Herkunft der Gr. Mononukleären. Ztschr. f. klin. Med. 88, 377, 1919. 29) Schilling, V. und Bansi, H. W., Das Verhalten der Exsudatmonocyten zur Oxydationsreaktion, ein weiterer Beitrag zur Monocytenfrage. Ztschr. f. klin. Med. 99, 248, 1924. 30) Schittenhelm, A. und Erhardt, W., Untersuchungen über die Beziehungen des reticuloendothelialen Systems zu den grossen Monocyten des Blutes mit Hilfe der Vitalspeicherung. Ztschr. f. d. ges. exp. Med. 46, 225, 1925. 31) Stieve, H., Muskulatur und Bindegewebe in der Wand der menschlichen Gebärmutter ausserhalb und während der Schwangerschaft, während der Geburt und des Wochenbettes. Ztschr. f. mikr. anat. Forsch. 17, 371, 1929. 32) 清野, 杉山, 服部, 波多野, 生體染色綜説. 昭和8年 33) 渡邊四郎, 諸種ノ實驗的疾疾ニ於ケル皮下組織體球ノ食喰能ノ變化ニ就テ。(其10), 全編ノ總括. 十全會雜誌, 38卷, 4294頁, 昭和8年. 34) Weidenreich, F., Die Leukocyten und verwandte Zellformen. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. 19, 527, 1911. 35) 山浦初男, 諸種糖類ノ生體內輸入ガ皮下網狀織内被細胞系ノ墨粒食喰機能ニ及ボス影響ニ就テ, 其1. 十全會雜誌, 42卷, 3244頁, 昭和12年.

附 圖 說 明

第1圖乃至第5圖ニ於テ家兎皮下組織諸細胞ノ「ノイタル赤超生體染色像ヲ圖示セリ。(Ok. Homal. III, Objekt. H. I. 50倍率700×)

第1圖 H: 固着性組織球 (fixe Histiocyten)
F: 結締織成形細胞 (Fibroblasten)
第2圖 H: 固着性組織球 (fixe Histiocyten)
F. H.: 遊離性組織球 (freie Histiocyten), M₁: 所謂「モノチーテン」Monocyten)ニシテ血液大單

核球ニ匹敵スル大サヲ有スルモノ。

第3圖 H: 固着性組織球 (fixe Histiocyten)
F: 結締織成形細胞 (Fibroblasten), M₂: 「モノチーテン」(Monocyten) 血液小淋巴球大ノモノ。

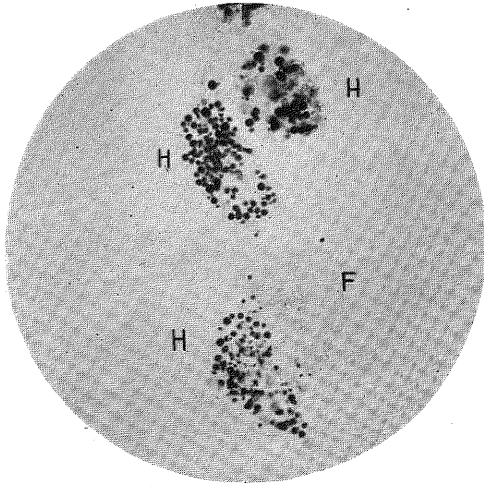
第4圖 特ニFibroblastonニ焦點ヲ合セタリ。

第5圖 同上

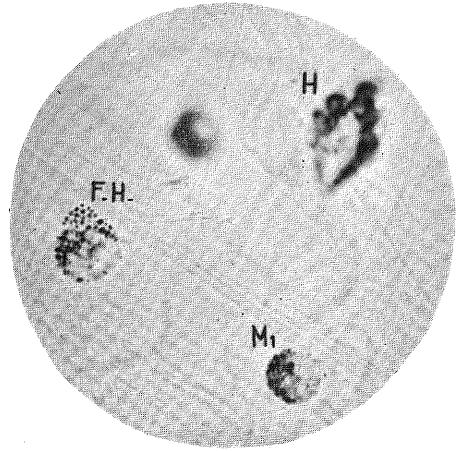
F: 結締織成形細胞 (Fibroblasten) H: 固着性組織球 (fixe Histiocyten)

山浦論文附圖

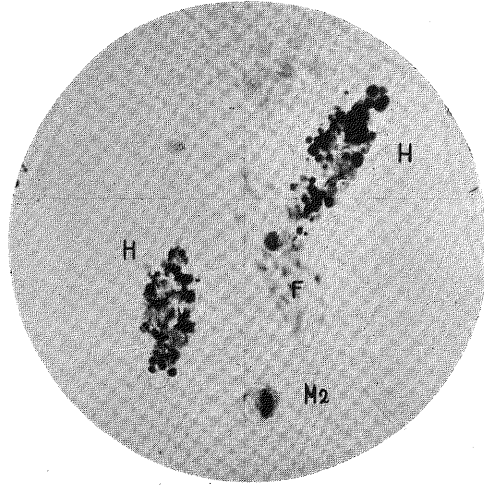
第 1 圖



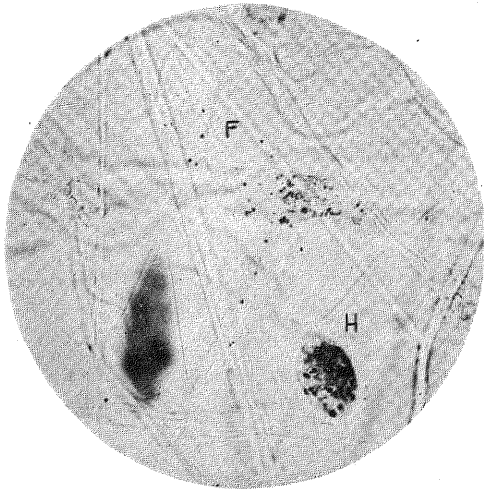
第 2 圖



第 3 圖



第 4 圖



第 5 圖

