

結核化学療法の基礎的研究

第 52 報

o-Aminophenol の生体内分布に関する組織化学的研究 (其の 2) 経口投与後の主要臓器内分布に就て

金沢大学結核研究所細菌免疫部 (主任: 柿下正道教授)

今 市 邦 太 郎

(受付: 昭和29年11月20日)

Kunitaro IMAICHI : FUNDAMENTAL STUDIES IN CHEMOTHERAPY OF TUBERCULOSIS PART 52.

Histochemical Studies on the Distribution of o-Aminophenol in Organism : On the Distribution of o-Aminophenol in Main Organs after Oral Administration

Department of Bacteriology and Immunology, Research Institute of Tuberculosis, Kanazawa University.

(Director : Prof. Masamichi KAKISHITA)

(Received for publication : Nov. 20, 1954.)

緒 言

曩に著者は村沢, 米田と共に o-Aminophenol (OM) の組織化学的証明に関し, 「アンモニア性硝酸銀液の還元反応を適用する方法¹⁾」に就て述べたが, 今回その方法に準拠し, OM 投与後の主要臓器に於ける分布状態並にその時間的経過に就て観察したので, 茲に報告し, 大方の御批判を仰ぐ次第である。

既に寺²⁾は OM 投与後の臓器内濃度を 2,6-Dibromo-p-aminophenol を用うる Indophenol 反応によつて定量的に追究しているが, 本実験

は組織化学的証明によつて寺の成績を立証すると共に, 更に組織内に於ける OM の微細な分布状態を明かにしたものであつて, 既に発表された OM に関する種々の実験成績と対照し, 二三の新しい知見を得る事が出来た。

生体に投与される有機薬剤の中, 組織内に於ける微細な分布状態の明かにされたものは未だ少く, 本研究は OM 並に類似物質に対する生体の反応態度及び臓器内に於ける吸収, 排泄等の機転の解明に資せんとするものである。

実 験 方 法

(1) 被検動物は成熟健康海狸 (体重 400g を標準) を用い, 食餌の影響を制限する為, 臓器採取前の 24 時間は絶食せしめた。

(2) OM の投与は経口的に体重 100g に付き 150mg とした。此の投与量は甚だ大量であるが, 銀反応が非特異的であり, 対照との差異を明確に表わすべく, この程度の投与量を必要とするのである。

量的に正確を期する点より, 又内服の場合と比較検討する意味からも注射による方法を並行して実施す

るのが望ましいのであるが, 塩酸塩を用うる注射液 “303” は副作用の点よりかかる大量の使用は不可能である。又 “Depot Therapy” として行われる懸濁液の筋肉内注射による方法も試みたが, 吸収が極めて緩かな為, 本実験には適用し得ないものであつた。

(3) 内服より臓器採取迄の時間は 1, 3, 6, 12, 24 時間とした。

(4) 観察する臓器としては肝臓, 腎臓, 肺臓及び脾臓を選んだ。

(5) OM の証明法は第 1 報と略々同様である*。此の方法は対照に現われる組織固有の銀顆粒を可及的制限する事及び、臓器採取後の OM の移動や化学的变化を少なくする目的を以て、新鮮組織の儘、比較的高濃度の「アンモニア」性硝酸銀液を用い、吸引減圧によつて滲透を促進せしめ乍ら、反応を可及的短時間に止める事に努めたものであつて、第 1 報に於ては 5 分間としたのであるが、此の時間では組織片を 1 mm 以下の厚さに作製しても内部迄滲透せしめる事は困難であり、以後の実験に於ては対照の顆粒増加が判定に支障

を来さない程度に於て 8~10 分間に延長した。本法に於て試薬の滲透の稍々困難な点は、銀反応本来の不安定性と相俟つて、実験の都度、僅かの条件の変化によつて標本に現われる銀顆粒の量を変動せしめ、その量的關係の比較は或程度の不確かさを免れない。

(6) 標本の観察には位相差顕微鏡を併用したが、銀顆粒の検索には有効であつた。

(7) 組織化学標本と同時に通常の固定及び染色の標本を作製し、組織の変化を併せ観察した。

実 験 成 績

(I) 肝臓 (第 1 表参照)

i) 対照海猿に於ける所見 (OM 非投与健常海猿)

肝小葉に於ては Kupffer 氏星細胞に少量の微細銀顆粒を見るが、OM 投与時に比較すれば遙かに少く判定に支障を来す程度には至らない。肝細胞は小葉中心部に於て時に少量の顆粒を現わすが、一般には殆ど顆粒を見ない。又中心静脈の周囲組織は瀰漫性淡褐色に染色される事が多い。

Glisson 氏鞘の結締織、胆管及び血管等には殆ど顆粒を見ない。時に血管及び胆管の周囲が褐染されると共に粗大な銀沈着を見る事があるが、OM によるものとは容易に判別し得る。

ii) OM 投与海猿に於ける所見

肝小葉に現われる顆粒は甚だ多量である。殊に星細胞は最も多量の微細顆粒が分布し、OM 濃度の高い 1~3 時間に於ては殆ど充満した状態となる。肝細胞に現われる顆粒も 1~3 時間に於て甚だ多量である。肝細胞の顆粒分布は部

位により、又実験時の僅かの条件の相違によつて著しく変化し、微細なものが甚だ多数散布する場合、或は粗大なものが数個点在する場合等種々である。肝小葉の顆粒は何れも 6 時間で著しく減少し、以後は痕跡的となる。他の部位に於ても同様であるが、細胞内に於ける顆粒分布が原形質に限定し、核に殆ど見られない事は注目すべき現象であつて、OM 濃度が高く顆粒が原形質全体を蔽う様な状態の場合にも核は殆ど完全に空白の儘残つている。肝小葉全体としての顆粒分布は、一般に中心部に多く、周辺に至るに従つて次第に減少する傾向が見られる。又 OM 大量投与後の普通標本に於て認められる肝細胞の濁濁腫脹、空胞変性も一般に小葉中心部に於て顕著である。

小葉間結締織に於ては 1~3 時間に僅少の微細顆粒が散布するのみである。門脈系統に属する静脈では OM の吸収時に相当して内腔及び壁に密着した極めて多量の銀顆粒集塊を認める。

動脈では他の臓器一般の血管系統と同様に 1

*1 其の大要は次の如くである。

- i) 新鮮組織の薄片を作る。
- ii) 10%「アンモニア性硝酸銀液」に入れる。8~10分。(吸引減圧によつて滲透を促進。)
- iii) 100倍稀釈「アンモニア水」に入れる。
- iv) 蒸留水にて洗滌。
- v) 3%「チオ硫酸ソーダ」溶液に入れる。
- vi) 流水にて洗滌。
- vii) 常法により「パラフィン」切片標本作製。
- viii) 「ヘマトキシリン」後染色。
- ix) 結果：OM の存在は黒色の銀顆粒として現われる。

～3時間に於て顕著な顆粒分布を見る。胆管には1～6時間に亘つて稍々多量の顆粒分布を認め、腸管より吸収された一部が遊離の儘*²肝臓

より胆管を経て排泄される事を示している。

全経過を通じ中心静脈及び肝静脈に顕著な鬱血を認める。

Table I. Distribution of silver granules in liver

Parts observed		Times examined	Before administration	Hours after administration				
				1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
Lobules of liver	Hepatic cells	Central zone	+	+++	+++	+	+	+
		Intermediate zone	-	+~++	+~++	+	-	-
		Peripheral zone	-	+	+	-	-	-
	Stellate cells	Stellate cells	+	+++	+++	+	+	+
		Central veins	+	++	++	+	+	+
Glisson's capsule	Bile ducts	-	+	+~++	+	+	-	
	Arteries	+	++	++	+	+	+	
	Veins	+	+++	+++	+	+	+	
	Connective tissue	-	+	+	+	-	-	

(II) 腎臓 (第2表参照)

i) 対照海狸に於ける所見

糸球体, Bowman 氏嚢, 集合管及び乳頭管等には全く銀顆粒を見ない。細尿管主部及び潤管部は甚だ淡く褐染されるが、顆粒を現わす事は尠い。蹄係は淡褐色に染ると共に少量の微細顆粒が散布している。腎に於ける組織化学的検索方法としての銀反応の所見には、今⁵⁾、関⁶⁾等の研究に述べられた如く、疑問の点が多いのであるが、單に顆粒の多寡のみよりすれば、OM投与時の対照との対比に於て4臓器中最も明瞭な所見を呈した。

ii) OM 投与海狸に於ける所見

糸球体に見られる顆粒は比較的少量である。血中濃度の高い1～3時間に於て微細な或は稍々粗大な顆粒が点在しているが、糸球体個々の分布量は著しく不均等であつて、殆ど分布しないものより相当多量のもの迄懸隔が大きい。之はその時間に於ける糸球体個々の機能発現の程度が異なるのよると考えられる。Bowman 氏嚢

では概ね糸球体に並行して微細な顆粒が散布している。又 Bowman 氏嚢内腔にも壁に接して少量乍ら顆粒が点在し、濾過されたOMの存在を示す。之等は何れも6時間に至つて極めて少量となり、以後は対照と全く差異を認めない。

細尿管主部に至れば顆粒は急激に増加する。主管細胞の原形質全体に稍々粗大な顆粒が散布する。個々の主管細胞内では外側に少く内側に至るに従つて多量である。又通常の固色及び染色を行つた標本では主管細胞の濁濁腫脹を認める。糸球体より主部細尿管に至つて顆粒が著明に増加する事、主管細胞に軽度の変性を認める事及び一般に生体に対して異物として作用する物質は腎よりの排泄に際して細尿管の分泌作用を関係するものが多い事等を併せ考えれば、腎に於ける排泄に際しては糸球体の濾過のみならず、此の部分の作用も大きく関与しているものと思われる。蹄係の部分は1～6時間に亘つて褐色に染色されると共に最も多量の顆粒を含んでいる。然し乍ら蹄係は対照に於ても既に少量

*² 第1報¹⁾に於て述べた如く、OMの酢化体 $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{NH}\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_3$ 及び硫酸抱合体 $\text{C}_6\text{H}_4(\text{NH}_2)\text{O}\cdot\text{SO}_3\text{K}$ は殆ど銀反応を呈せず、強い還元作用を呈するのは遊離型のOMのみと考えられる。

の顆粒を示し、銀反応の発現が最も容易な部分であり、又機能の点からも單なる通路たるに過ぎず、此の最も多量の顆粒分布も特に注目すべきものとは思われない。潤管部は主部と略々同程度に顆粒の分布を見るが、主部より稍々粗大な顆粒の事が多い。潤管部を通過するに従つて顆粒は次第に減少し、集合管に至れば尠々少量

の不規則な顆粒が管腔内に点在するに過ぎない状態となる。乳頭管には顆粒を認めない。細尿管の顆粒は何れも3時間次で1時間に多いが、6時間では相当減少し、12時間では痕跡的となる。又細尿管の全部分を通じ、肝臓の項に述べた如く、顆粒分布は原形質に限定し、核には殆ど見られない。

Table II. Distribution of silver granules in kidney

Times examined Parts observed	Before administration	Hours after administration				
		1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
Glomeruli	—	—~++	—~++	—~—	—	—
Bowman's capsules	—	—~++	—~++	—~—	—	—
Proximal convoluted tubles	÷	++	++	+	÷	÷
Henle's loops	÷	+++	+++	++	÷	÷
Distal convoluted tubles	÷	++	++	+	÷	÷
Collecting tubles	—	÷	÷	÷	—	—
Papillary ducts	—	—	—	—	—	—
Blood vessels	÷	++	++	÷	÷	÷

(III) 肺臓 (第3表参照)

i) 对照海猿に於ける所見

肺胞上皮には殆ど顆粒を見ないが、点在する喰細胞は毎常少量の微細顆粒を含んでいる。気管支、リンパ腺及び軟骨組織には全く顆粒を認めない。間質結締織は気管支、気管支軟骨の周囲に於て瀰漫性に褐染される事があるが、一般には顆粒を見ない。肺の標本は時として部位に関係なく不規則な粗大銀沈着が散布して、所見の不明瞭になる事がある。

ii) OM 投与海猿に於ける所見

一般に肺臓に現われる銀顆粒は肝及び腎に比し著しく少量である。肺胞上皮には1~3時間に於て概ね均等に散布した微細顆粒を認めるが、その量は比較的少く、時には明瞭な顆粒を結ぶに至らず瀰漫性淡褐色の染色に終る事もある。肺胞の喰細胞は对照に於ても既に顆粒を現わすが、著しく増量すると共に粗大な顆粒となる。肺胞上皮の顆粒は一般に6時間に至れば著減するものであるが、往々肺胞壁より剝離した細胞が12時間に至つても尠多量の銀顆粒を含んだ儘残存しているものを散見する。気管支上皮

Table III. Distribution of silver granules in lung

Times examined Parts observed	Before administration	Hours after administration				
		1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
Alveolar epithelium	—	+	+	÷	—	—
Bronchial epithelium	—	÷	÷	÷	—	—
Lymphatics of bronchus	—	+~++	+~++	÷	—	—
Lymphatic glands	—	÷	÷	÷	—	—
Bronchial cartilages	—	—	—	—	—	—
Blood vessels	÷	++	++	÷	÷	÷

に見られる顆粒も少く、1～3時間に於て少量の微細顆粒が不規則に散在するに過ぎない。又瀰漫性淡褐色の染色に終る事も多い。気管支周囲では「リンパ組織に相当して微細顆粒が広く散布している。気管及び気管支内の分泌物や剝離した細胞中にも少量乍ら顆粒の散在しているのを認め、喀出物中にも若干のOMを含むものと考えられる。気管支周囲の軟骨組織は全く顆粒を含まないが、軟骨細胞は僅少の極めて微細な顆粒を含む事が多い。肺に分布する血管は何れの部位に於ても他の臓器と同様に1～3時間に顕著な銀顆粒を認める。

(IV) 脾臓 (第4表参照)

i) 対照海猿に於ける所見

被膜及び梁柱には僅少の微細顆粒が不規則に散在する。「リンパ臓胞は全く顆粒を含まない。脾洞は瀰漫性に淡い黄褐色に染色されると共に極く少量の微細顆粒が散見される。

ii) OM 投与海猿に於ける所見

脾臓は動物実験に於て大量のOMを長期間継続して投与した場合、外見上最も著しい変化を示す臓器であつて、著明に腫大すると共に暗赤

色を呈する。組織像では鬱血及び出血が顕著である。又脾は細網内被系統の主臓器である点より最も多量の顆粒分布を予想したが、肝及び腎の著明な部分に比較すれば、比較的少量であつた。

被膜及び梁柱の顆粒は1～3時間に於て増量するが、その分布は不規則である。夫れに含まれる血管は他の臓器に於けると同様に1～3時間に多量の銀顆粒が内腔及び壁に認められる。「リンパ臓胞では1～3時間に微細な顆粒が分布するが、周辺層には少く、中心層に比較的少量である。又OM大量長期間投与の動物では、臓胞中心層の細胞に変性を認める。中心動脈は壁及び内腔に多量の顆粒を見る。脾洞は1～3時間に於て淡褐染すると共に比較的少量の顆粒を含み、その分布状態は多様であるが、髄索の構造に沿うが如き状態で網状の排列を示す事が多い。又脾洞では処々局部的に著しく多量の顆粒の密集した部分が散在する。本実験の標本では細胞を細く分類してそれらの顆粒分布を判定する事は困難である。

Table IV. Distribution of silver granules in spleen

Parts observed		Times examined	Before administration	Hours after administration				
				1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
Capsule			÷	÷	÷	÷	÷	÷
Trabecules			÷	÷	÷	÷	÷	÷
Blood vessels			÷	++	++	÷	÷	÷
Lymphatic nodes	Central zone		—	+~++	+~++	÷	÷	—
	Peripheral zone		—	÷	÷	—	—	—
	Central artery		÷	++	++	÷	÷	÷
Lining cells of venous sinus			÷	+~++	+~++	÷	÷	÷
Reticular cells			÷	+~++	+~++	÷	÷	÷

総括 並に 考按

第1報¹⁾に於て発表した方法によつて、健康海猿に体重100gにつき150mgのOMを経口投与した場合に於ける主要臓器内の分布状態並に

その時間的推移を観察した。

1. 組織に於けるOM分布の一般的経過は1～3時間に於て最も多く、6時間では著しく減

少し、12~24時間に至れば殆ど対照との差異を認めない。此の経過は比色定量によるOMの体液及び臓器内濃度の推移^{2,3)}に近似している。

2. 腸管より吸収されたOMは殆ど全組織に到達するが、その分布は均等ではなく、血管系統及び肝、腎に於ける生体としてのOM処理に直接関与する部分に集中的に多く、之等に比して肺組織は少量であつた。

3. 一般にOMに基く銀顆粒の出現が細胞の原形質に限定し、核に殆ど見られない事は特異な現象であり、OMの性状からもかかる分布は推定し得られるものであるが、銀反応は一般に核に現われ難い傾向を有しているので、此の所見のみより細胞内に於けるOMの分布状態を論ずる事は早計であらう。

4. 最も期待される肺組織に於ける顆粒分布は比較的少く、又肺胞上皮等に見られる顆粒は多数分布する毛細血管のものが多分に含まれているのであつて、実際の細胞内濃度は血中濃度に比してかなり低いものと考えられる。又特に結核病巣は血管の少い事を顕著な特徴とするものである為、OMの到達は一層制約される訳である。OMが管内試験に於て結核菌に対する強い発育阻止力を有し、又耐性を得難く拮抗物質を認めない等他剤に見られない多くの優れた特性を有し乍ら、その臨床的効果が特に勝つたものと思われぬのは投与量の制限される事と相俟つて一に有効な到達量の不十分な事によると

考えている。

5. 肝小葉に於けるOM投与後の銀顆粒分布は中心部に多く中間部より周辺部に至つて次第に減少する。対照標本に於ても中心部は淡褐色に染る事が多く、周辺部に比して銀反応が発現し易いものと考えられるが、OM大量長期間投与の動物に於て見られる肝細胞の変性が中心部に著しい点を併せ考えれば、実際の肝小葉内OM分布も銀顆粒分布の如き傾向を有しているものと思われる。

6. 胆管にもOMによる銀顆粒の現われる事は、洲崎⁴⁾の胆嚢内容の抗菌力試験成績と一致するものである。

7. 腎の曲細尿管にはOM投与後に細胞の原形質に広く且つ多量の銀顆粒分布を認め、又組織像では細胞の溷濁腫脹が見られ、此の部分がOMの排泄に直接関与している事を示している。著者はOMの「クリアランス値測定より腎に於けるOMの排泄機転を明かにせんと試みた」が、OMの投与量が制限される事、OMの体内で化学変化を受ける割合の大きい事及び比色定量値の不安定性より有意の結果を導き得なかつた。

8. 4臓器中、肝、腎及び肺に於ては概ね明瞭な所見を把握する事が出来たが、脾に於ては本法による固定が組織の観察に不適當であり、此の点が組織構造の複雑性と相俟つて稍々不明瞭な結果を得るに止つた。

結 論

第1報に発表した方法によつて、経口投与後に於けるo-Aminophenolの組織内分布を検討せる処、次の結論を得た。

即ちo-Aminophenolの組織内分布は投与後1~3時間に於て最高に達し、6時間では著明に減少、以後は痕跡的となる。又吸収された

o-Aminophenolは生体の殆ど全組織に到達するが、その分布は均等ではなく、余の観察せる4臓器では解毒や排泄に関与する肝及び腎の組織に著しく多く、肺組織には比較的少量であつた。

文 献

- 1) 村沢健介, 今市邦太郎, 米田良藏 : 金大結研年報, 11 (上), 1, 1953. 2) 越村三郎, 越浦良三 : 金大結研年報, 7 (下), 135, 1949. 3) 寺治夫 : 金大結研年報, 9 (下), 153, 1951. 4) 洲崎音丸 : 金大結研年報, 7 (上), 121, 1948. 5) 今裕, 武田勝男 : 内分泌腺の銀反応と組織化学, 1938. 6) 関健藏 : 日本病理学会誌, 14, 262, 1934.

Summary

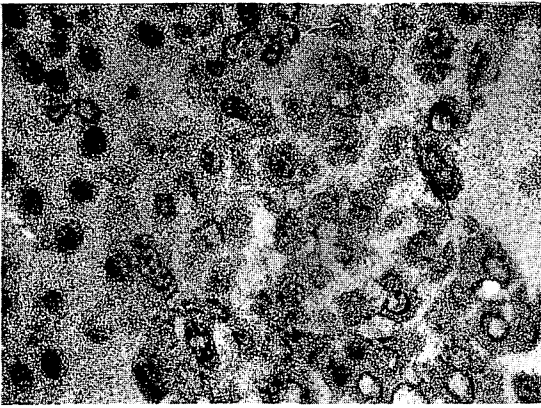
Histochemical examinations on the distribution of o-aminophenol absorbed in main organs of normal healthy guinea pigs through oral administration were followed up by the technique previously reported (No. 1), and the results revealed are as follows :

1) The absorbed o-aminophenol was taken in almost all organs, but the distribution was not equal in each organ itself, moreover remarkable deposition of o-aminophenol was observed in such organ that holds either excretional or detoxicational function as liver and kidney, though o-aminophenol in lung tissue was relatively little.

2) Deposition of o-aminophenol in tissue was found to be maximum 1 to 3 hours after oral administration, and then dissipated itself distinctly 6 hours latter, thereafter it remained only traceable in tissue herein.

今市論文附圖 (1)

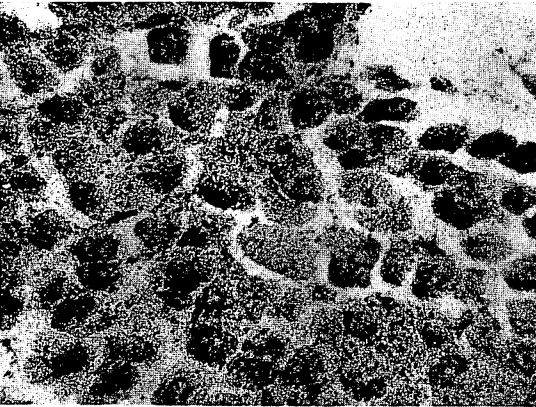
o-Aminophenol の生体内分布に関する組織化学的研究 (その2)



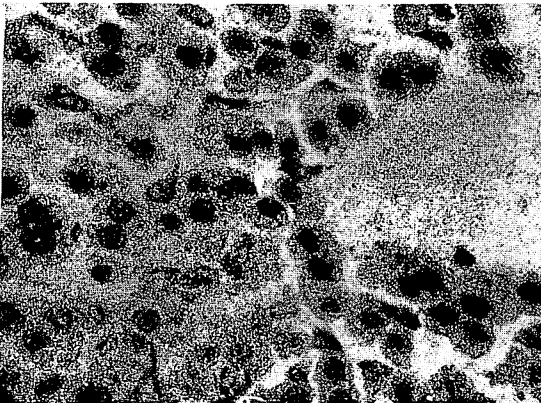
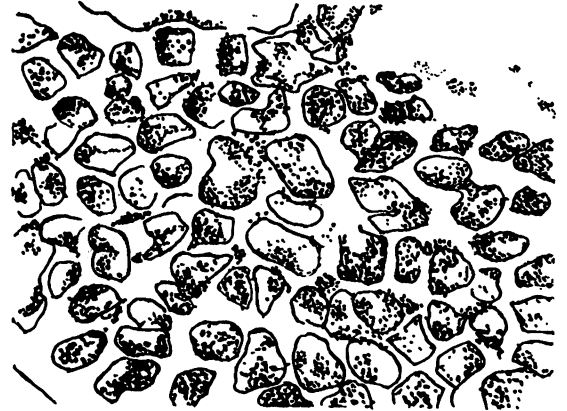
肝小葉 (対照)
ヘマトキシリン染色



中心静脈



o-Aminophenol 投与後 3 時間

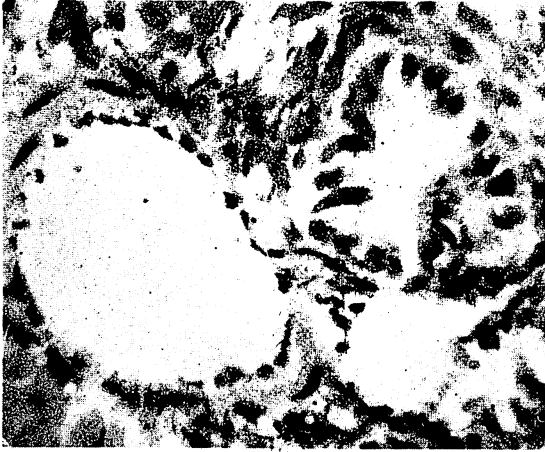


同 6 時間

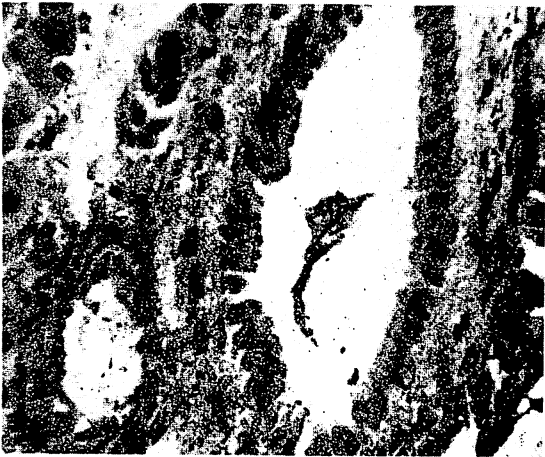
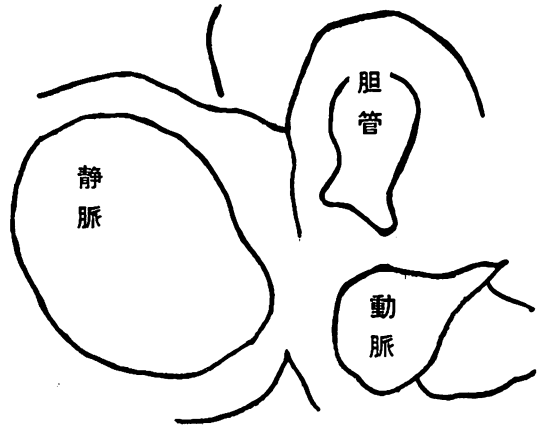


今市論文附圖 (2)

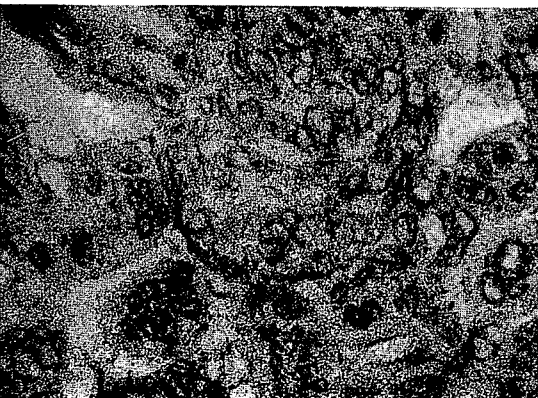
o-Aminophenol の生体内分布に関する組織化学的研究 (その2)



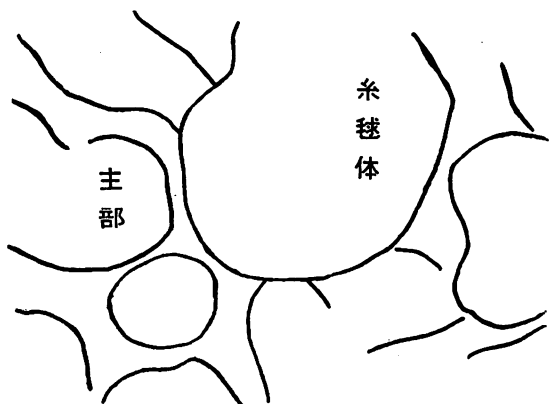
グリツソン氏鞘 (対照)
ヘマトキシリン染色



o-Aminophenol 投与後 3 時間



腎皮質 (対照)
ヘマトキシリン染色

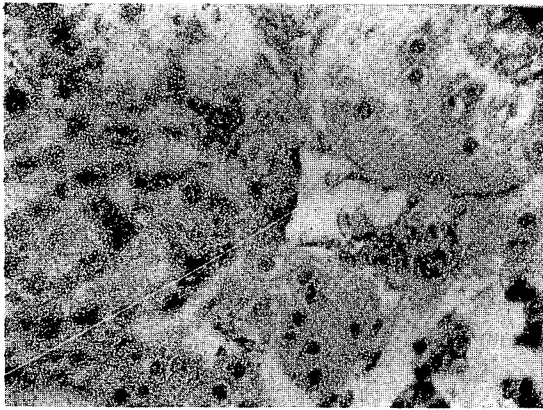


今市論文附圖 (3)

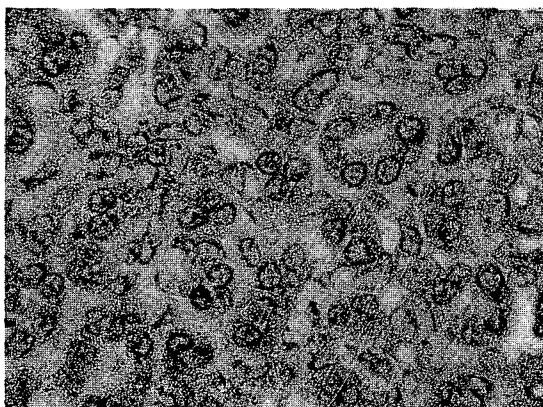
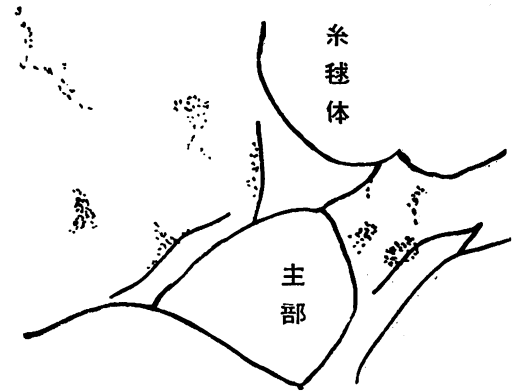
o-Aminophenol の生体内分布に関する組織化学的研究 (その2)



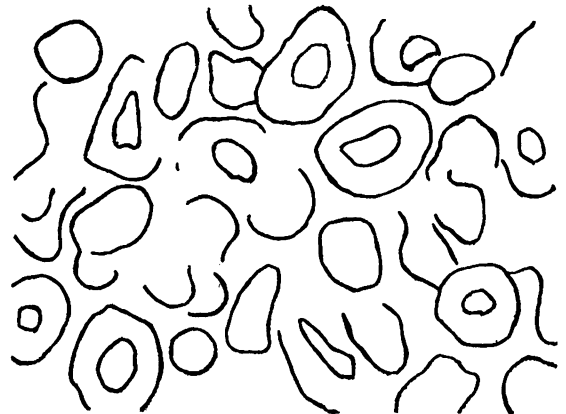
o-Aminophenol 投与後 3 時間



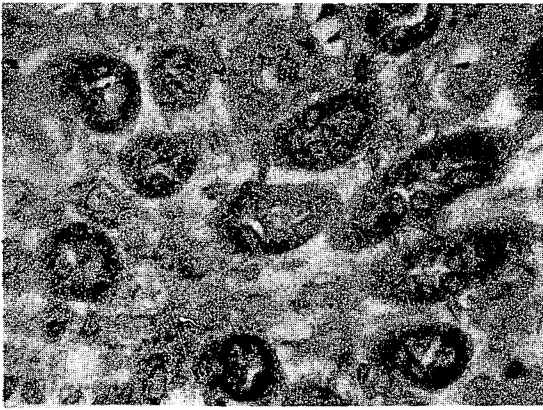
同 12 時間



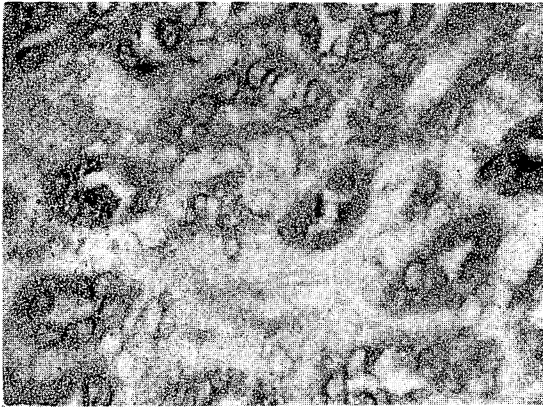
腎 髓 質 (対 照)
ヘマトキシリン染色



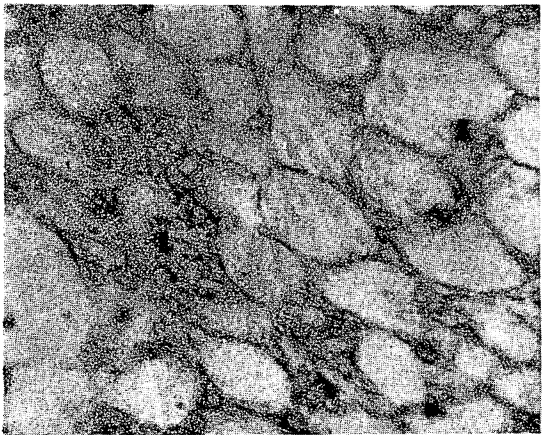
o-Aminophenol の生体内分布に関する組織化学的研究 (その2)



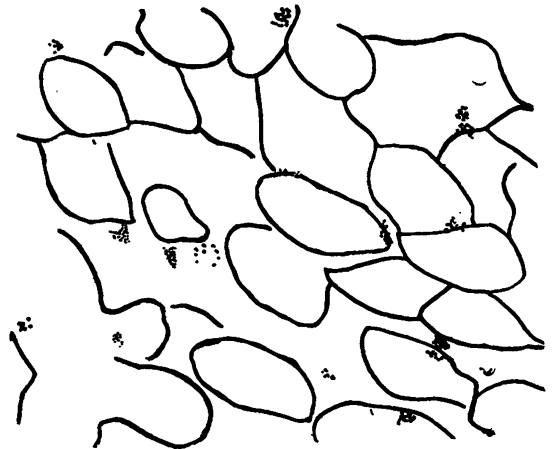
o-Aminophenol 投与後 3 時間



同 12 時間

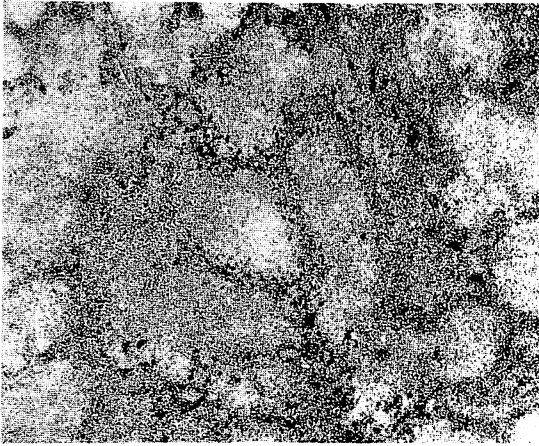


肺 胞 (対 照)
ヘマトキシリン染色

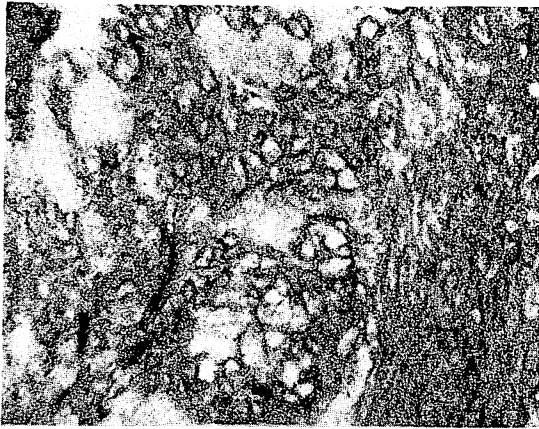
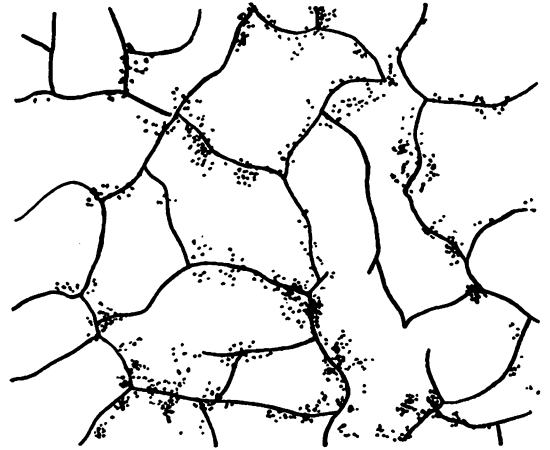


今市論文附圖 (5)

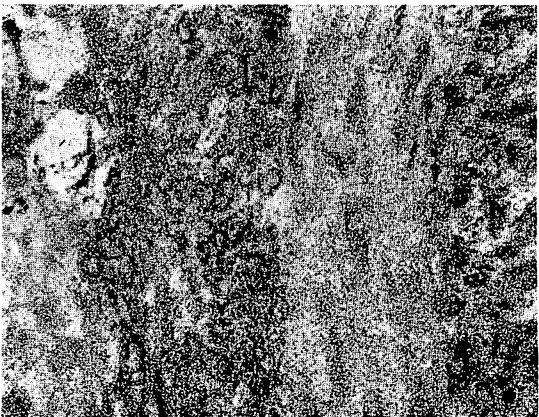
o-Aminophenol の生体内分布に関する組織化学的研究 (その2)



o-Aminophenol 投与後 3 時間



気管支周囲 (対照)
ヘマトキシリン染色

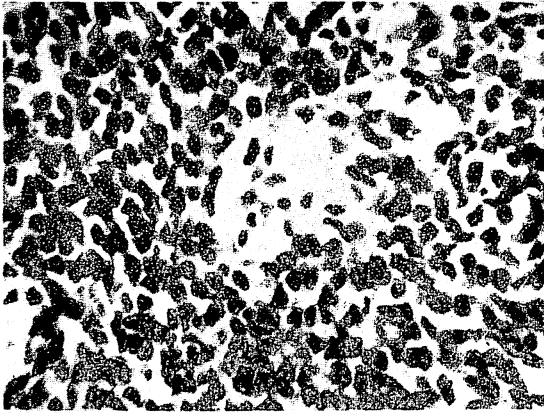


o-Aminophenol 投与後 3 時間

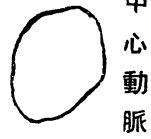


今市論文附圖 (6)

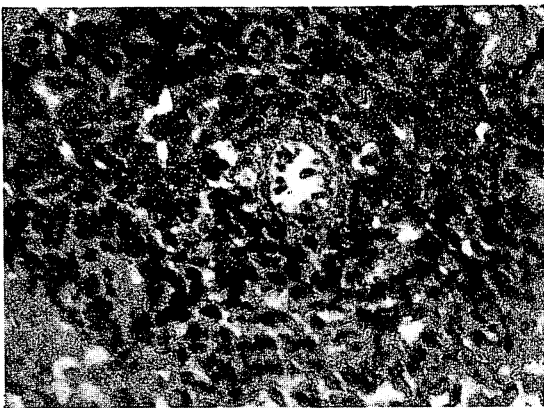
o-Aminophenol の生体内分布に関する組織化学的研究 (その2)



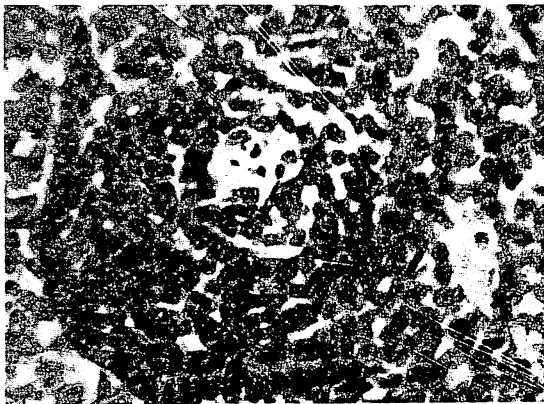
脾, リンパ 臌 胞 (対 照)
ヘマトキシリン染色



中心動脈



o-Aminophenol 投 与 後 3 時 間



同 6 時 間

