京都府立医科大学, 第1解剖学教室 (主任: 野田秀俊教授).
Anat. Inst. d. Med. Akad. d. Kyoto-präfektur (Dept. of Anat., Kyoto
Prefectural Medical College) (Vorstand: Prof. Dr. H. NODA).

視床下部下垂体系における神膠性要素の 染色性に関する検討.

(視床下部下垂体系の比較組織学的研究. 第24報.)

Über die Färbbarkeit der neuroglösen Elemente des Hypothalamus-Hypophysensystems.

(Beiträge zur vergleichenden Histologie des Hypothalamus-
Hypophysensystems. 24. Mitteilung.)

齋藤 修, 中川幸英, 隠岐宗達.

Osamu SAITO, Yukihide NAKAGAWA u. Sötatsu OKI.

[昭和31年8月22日原稿受付.]

間脳下垂体系の研究は近年著しい進歩をみたが, 特に視床下部と下垂体との間の神経体液性協関の問題を研究するにあたって, 神経線維及び血管系統の研究にその主力が注がれ, 他の要素が比較的等閑に附せられている様な感がある. 特に視床下部下垂体系の神膠性要素に関しては今日迄, その染色技術の困難さと相まって, 追究さるところ最も少く, この部の神膠性要素の研究は, 主として後葉が神経線維を含むか否か, 或いはその内部に見られる線維が神膠性であるか結合組織性であるかという議論の盛んであった1920年以後, 殆んど見るべき進歩をもたらしていない現状である. 我々は神経分泌との関連において視床下部下垂体系における神膠性要素の一般的形態を観察するために, 先ずその染色性の検討を試みた. 今日までこの方面の研究に用いられた主なる染色法をみると, 最初に神経性下垂体の神膠性要素の存在を主張した人々, 即ち Lothringer (1886), Berkeley (1894), Retzius (1894), Trautmann (1909) 等は主として Golgi 法を用いており, Benda (1903) は Weigert の Faser-glia 染色法, Stumpf (1911) は Fieandt 法, Hoenig (1922) は Schultze-Stöhr の Natronlauge-Silber-methode, Scheele (1929) は Holzer 法等を使用している. これらの人々は神経性下垂体が神経要素を殆んど含まず, むしろ神膠性要素がその主体であるとの主張を展開させている. その後 Bucy (1930) は Horte-ga の Mikrogliazellen 及び Oligodendrogliazellen 鍍銀法の Penfield 変法を使用して牛の神経性下垂体を研究し, 神経性下垂体の神膠細胞が他の中枢神経系統に存在する定型的な神膠細胞とは区別すべき特殊な細胞である事を認

め、これを Pituitary 後葉細胞と命名し、Benda (1932) も Hortega 法により人の神経性下垂体に於て後葉細胞を記載した。以後神経分泌学説の出現に至るまでこの後葉細胞には後葉の Hormon 生産にあずかる極めて重要な分泌細胞としての役割が与えられ、Romeis (1940) は Möllendorff の Handbuch の Hypophyse の中で後葉細胞の一種である Adenopituitary 細胞に分泌所見を認めている。Bucy 以後一般に後葉細胞の証明には Penfield 変法又は Hortega Silbercarbonat 法 (Oligodendroglia のための) 等が最もよく使用せられているが、Nowakowski (1951) は猫では Cajal の Bismut 法, Hortega の Astrocyten 法, 更に Fasergrlia には Holzer 法, Reumont 法などが好結果をもたらすと報告している。

以上の如く一般に Hortega 法を主体とする定型的神経細胞の鍍銀法のいずれもが後葉細胞の証明にも使用せられる。換言すればそのいずれもが後葉細胞の特異的鍍銀法にはなり得ない事を示している。我々が犬、猫及び家鶏を用いて神経性要素の諸種染色法を吟味した結果は次の如くであった。

I. 材料と方法.

犬及び猫では Ravonal 麻酔後直ちに頸動脈より Lock 氏液にて頭部血液を還流し、所定の固定液を注入、直ちに開頭し視床下部と下垂体を一体として採り出し、細断して当該固定液に浸漬した。家鶏の場合は直ちに視床下部下垂体系を摘出して固定した。Penfield、柏村等が注意する如く、神経性要素の所見或いは鍍銀の成果は死後時間と固定液の迅速な浸透に影響される所が大きい。我々の例では全て死後30分をこえなかった。

使用した染色法及び鍍銀法は Rio-Hortega の protoplasmatische und faserige Neuroglia のための Silbercarbonat 法 (4. Modifikation) (1917), Oligodendroglia のための Silbercarbonat 法 (1921), 及び Mikroglia (drittes Element) のための Silbercarbonat 法 (1921), F. Cardillo 法 (1929), 辻山氏 Makroglia 法 (1951), 矢野氏加温ホルマリン法 (1952), 矢野氏硼砂ホルマリン法 (1953), 三宅川氏法 (1933), Cajal の Goldsublimat 法 (1926), Penfield の zweite Modifikation (1928), Reumont 法, Holzer の Gliafaser 染色法 (1921), Mallory の Phosphorwolframsäure染色法 (1901), Severinghaus 染色法 (1932), Kraus 染色法 (1914), Azan 染色法 (1915), Gomori (CHP) 染色法 (1939) 及び Hämatoxylin-Eosin 染色法の諸法である。

以上の諸染色法のうち最も良好な結果を得た矢野氏法の概略を述べると

次の如くである.

1. 矢野氏加温ホルマリン法 (1952).

本法は人の Mikroglia 及び Oligodendroglia の証明に適すると報告せられ、材料が固定後数週を経た後にも非常に良好な結果を得るとされているものである.

1. 固定, 10%ホルマリン水.
2. 凍結切片作製.
3. 1—2 秒間蒸溜水で水洗.
4. アンモニヤ銀液に入れる事約 5 秒間.
5. 蒸溜水にて水洗する事約 1 秒間.
6. 20%中性ホルマリン水で $40^{\circ}-58^{\circ}\text{C}$ に保ちつつ還元する事約 1 分間.
7. その後型の如く鍍金する.

2. 矢野氏硼砂ホルマリン法 (1953).

本法は材料が新鮮であることを要し、人の Mikroglia 及び Oligodendroglia の証明及び病的 Makroglia の証明に適するとされているものである.

1. 固定は10%単純ホルマリン水のみで行う.
2. 凍結切片作製.
3. 2—3 秒間蒸溜水で水洗.
4. アンモニヤ銀液に入れる事約 5 秒間.
5. 蒸溜水にて水洗する事約 1 秒間.
6. 硼砂ホルマリン水にて還元する事数10秒間. 約 $30^{\circ}-32^{\circ}\text{C}$ で行う (ホルマリン 2cc + Aq. dest. 98 cc + Borax 0.1g).
7. その後型の如く鍍金する.

両方法に用いられるアンモニヤ銀液は10—20%硝酸銀溶液の任意量の中へ10%アンモニヤ水を滴下しながらよく振盪し、生じた茶褐色沈澱が丁度溶解し去つた所で止める. この液は1—2年間保存に耐える. 硝酸銀溶液の濃度と還元するホルマリン水濃度との関係については、20%硝酸銀溶液の使用に際しては同様に 20%ホルマリン水で還元するのが結果よりみてよく、又10%硝酸銀溶液よりも20%硝酸銀溶液を使用の方が鍍金が強く行われると矢野氏は教えている. 尚、通常固定に用いる中性ホルマリン水は炭酸カルシウムで中和を行つているが、硼酸と NaOH を用いた緩衝液で pH 7.2 に中和すると神経線維が共染して神膠細胞の研究には適しない事を知り、又、硼砂ホルマリン液中の硼砂量は 0.1% よりも 0.3—0.4%の方が良好なる事を知つた. 固定に際して頸動脈より Lock 氏液で頭部血液を還流せる後固定液を注入したものと、死後直ちに固定液に入れたものの間には、鍍銀性及びその所見に差異が認められず、固定日数は 2—20 日間の種々のものを用いたが鍍銀性は認むべき変化を呈しなかった.

II. 所 見.

次に以上の諸方法を間脳下垂体系の研究に用いた結果を使用目的に従って記載する.

1. 視床下部下垂体系における定型的神経細胞の観察.

犬, 猫では矢野氏加温ホルマリン法が最も良好であり, その標本では背景は淡灰色を呈し, しかも沈澱物様銀顆粒等の人工産物の生ずる事なく, 神経細胞は甚だ鮮明に選択的に黒染し, 鍍銀は平等に行われ顆粒状沈着を認めない. 血管系との関係をみるには Cajal の Goldsublimat 法が好結果をもたらす. 家鷄では矢野氏法よりも Hortega 原法の方が良好の様に思われる.

2. 視床下部下垂体系における脳室上衣細胞とその線維の観察.

犬, 猫では矢野氏硼砂ホルマリン法が最も秀れ, 上衣細胞及びその線維は選択的に明瞭に強く黒染し, その形態を観察するに適する. また Mallory 法では上衣細胞及びその線維は青染せられ, 繊細な経過の追究に適する. Azan 染色法では上衣細胞及びその線維は赤染せられ, この際結合組織は青染するために両者の関係を観察するによく, Severinghaus 法では上衣細胞及びその線維は fuchsinrot となり, 一方, 結合組織は緑色を呈するため, これまた両者の関係をうかがうに適する. 尚, 辻山氏法も非常に明瞭に上衣細胞及びその線維を顕現する. 家鷄では矢野氏法よりも Hortegas Oligodendroglia 鍍銀法の方が良好である. 上衣線維は神経線維鍍銀法, 例えば Gros 法, Schultze-Stöhr 法等によっても屢々美麗に顕現せられる.

3. Äussere und innere Gliafaserdeckschicht 及び Membrana limitans gliae perivascularis の観察.

これには Holzer 法が最も秀れ, 繊細な Gliafaser にいたるまで明瞭に紫青色に染まる. その他 Mallory 法, Azan 染色法, Gomori (CHP) 染色法でもその大略が認められる.

4. 後葉細胞の観察.

犬, 猫では矢野氏硼砂ホルマリン法が最も良好であり, 後葉細胞は紫色を帯びた黒色を呈し, 甚だ明瞭にしかも選択的に鍍銀される. 原形質及び突起に比しては核は幾分好銀性が弱い. 家鷄では矢野氏法よりも Hortegas Oligodendroglia 鍍銀法の方が秀れている. その他一般に Azan 染色法では後葉細胞は赤染し, Severinghaus 法では原形質及び核の状態が明らかであり, Kraus 法では後葉細胞に含有せられる色素顆粒が良好に証明される.

(写真の後続諸報に掲載する.)

III. 結 語.

以上を要約すれば次の如くである.

1. 視床下部下垂体系における定型的神膠細胞の観察には犬と猫では矢野氏加温ホルマリン法, 家鷄では Hortega 原法が適する.
2. 視床下部下垂体系における脳室上衣細胞とその線維の観察には犬と猫では矢野氏硼砂ホルマリン法, 家鷄では Hortegas Oligodendroglia 鍍銀法, その他一般に Mallory 法, Azan 染色法, Severinghaus 法, 辻山氏法, Gros 法, Schultze-Stöhr 法が適する.
3. Äussere und innere Gliafaserdeckschicht 及び Membrana limitans gliae perivascularis の観察には Holzer 法が適する.
4. 後葉細胞の観察には犬と猫では矢野氏硼砂ホルマリン法, 家鷄では Hortegas Oligodendroglia 鍍銀法, その他一般に Azan 染色法, Severinghaus 法, Kraus 法が適する.

擧筆に当り, 惜しみなき御助言を賜わった 神戸医科大学精神神経科教室, 矢野賢治教授に対し篤く感謝の意を表明致します.

Autoreferat.

Um eine Vorbereitung zu der histologischen Untersuchung über die neuroglösen Elemente des Hypothalamus-Hypophysensystems zu machen, wurden verschiedene Färbungen desselben mit Silber und Farbstoffen vorgenommen. Für die Beobachtung der typischen Neurogliazellen im Hypothalamus-Hypophysensystem erwiesen sich bei Hund und Katze die YANOsche Warmformalinmethode, bei Haushuhn die HORTEGAsche Originalmethode als die beste. Für die Ependymzellen und -Fasern waren bei Hund und Katze die YANOsche Borax-Formalinmethode und bei Haushuhn die HORTEGAsche Methode für Oligodendroglia die besten. Auch die Methoden nach MALLORY, SEVERINGHAUS, TSUJIYAMA, GROS, SCHULTZE-STÖHR und die Azanmethode waren gut brauchbar. Zur Darstellung der inneren und äußeren Gliafaserdeckschicht und der Membrana limitans gliae perivascularis war die HOLZERSche Methode die beste. Für die Pituizyten waren bei Hund und Katze die YANOsche Borax-Formalinmethode und bei Haushuhn die HORTEGAsche Methode für Oligodendroglia die besten. Auch die Azanmethode, die SEVERINGHAUSSche und die KRAUSSche Methode waren brauchbar. Die Ergebnisse werden in nachfolgenden Mitteilungen durch Photos veranschaulicht.

文 献.

- Benda, C.** : Handbuch der pathologischen Anatomie des Nervensystems. 1903. Handbuch der inneren Sekretion, hrsg. von M. Hirsch. 1932. S. 867. — **Berkley, H. J.** : Johns Hopkins Hosp. Rep. 4 (1894). P. 117 a. 285. Zit. n. Romeis (1940). — **Bucy, P. C.** : J. comp. Neur. 50 (1930). P. 505. — **Cajal, R. y.** : Z. Neur. u. Psych., 100 (1926). S. 738. — **Cardillo, F.** : Rivista patol. nerv. e mentale. 46 (1929). — **Holzer, W.** : Z. Psych., 77 (1921). S. 358. — **Kraus, E. J.** : Virchows Arch. 218 (1914). S. 107. — **Lothringer, S.** : Arch. mikr. Anat. 28 (1886). S. 257. — **Mallory, F. B.** : Zit. n. Romeis (1948). — 三宅川藤平 : 京府医大誌. 9 (1933). 頁 217. — **Nowakowski, H.** : Dtsch. Z. Nervenheilk. 165 (1951). S. 261. — **Penfield, W.** : Amer. J. Path. 24 (1928). S. 117. — **Retzius, Y.** : Biol. Untersuch., Neue Folge. 6 (1894). S. 21. Zit. n. Romeis (1940). — **Rio-Hortega, P. del.** : Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid. 15 (1917). P. 367. — Mem. R. Soc. Exp. Hist. Nat. 11 (1921). S. 213. — Archivos de Neurobiologia. 2 (1921). P. 1. Zit. n. Romeis (1948). — **Romeis, B.** : Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, hrsg. von Möllendorff. Bd. 6, Tl. 3. Innersekretorische Drüsen. III. (1940). S. 625. — Mikroskopische Technik. Leibniz Verlag, 1948. — **Scheele, H.** : J. Psych. u. Neur. 40 (1929). S. 70. — **Severinghaus, A.** : Anat. Rec. 53 (1932). P. 1. — **Stumpff** : Virchows Arch. 206 (1911). S. 70. — **Trautmann, A.** : Arch. mikr. Anat. 74 (1909). S. 311. — 辻山義光 : 脳と神経. 3 (1951). 頁 259. — **Yano, K.** : Fol. Psych. Neur. Jap. 5 (1952). P. 181. — 精神神経誌. 55 (1953). 頁 528.