Untersuchung über das Aufnehmen von Sulfonamid in den Zellen der fibrohistiocytären Gemeinschaft und in den Mastzellen.

線組連合の細胞と肥満細胞のズルフォンアミッド摂取.

Hiroshi YASUHARA 安原 弘.

(Eingegangen am 18. Juli 1957.)

Das in der Medizin angewandte Sulfonamidpräparat wirkt zwar unmittelbar beschädigend auf die Bakterien, läßt aber, worauf MII (1942) aufmerksam gemacht hat, nach seiner subkutanen Injektion nicht nur in der Injektionsstelle, sondern auch im subkutanen Gewebe auf der anderen Körperseite zahlreiche bakterienfeindliche Histiocyten entstehen. Es blieb aber noch ungeklärt, inwieweit die so vermehrten Histiocyten zur Heilung der Streptokokkensepsis u. a. beitragen können. Bisher wurde zwar die Konzentration von Sulfonamid im Blut, Harn u. a. nach der Verabfolgung von Sulfonamid öfters untersucht, aber Studien über ihre Verteilung in verschiedenen Geweben und Zellen liegen wenig vor. Der Verfasser übertrug Stückchen vom subkutanen Gewebe der Maus in eine Sulfonamid enthaltende Flüssigkeit in vitro und versuchte nach dem ENDÖschen Halochromieverfahren (1953) das Sulfonamid in den Zellen der fibrohistiocytären Gemeinschaft nachzuweisen.

I. Material und Methode.

Das benutzte Sulfonamidpräparat war Theradiazine (von DAIICHI-SEI-YAKU) von der Konstitution 2-(p-Aminobenzolsulfonamid)-pyrimidin:

Es wurden Stückchen des subkutanen Gewebes aus dem lumbodorsalen Teil der Maus in reichlicher Menge von Theradiazinlösung in 800facher Verdünnung bei 37°C eingelegt. Dabei wurde das Theradiazin für die Injektion mit 0.9%iger Kochsalzlösung 80fach verdünnt. Nach 1 Stunde wusch man die Gewebestückchen mit 0.9%iger Kochsalzlösung. Zur Kontrolle legte man Gewebestückchen in 0.9%ige Kochsalzlösung ohne Theradiazin.

Man brachte die Gewebestückchen auf ein Objektglas, breitete sie aus und tupfte das überflüssige Wasser mit Fließpapier an einer Kante ab. Gleich nach dem halben Abtrocknen der Ränder der Gewebehäutchen wurde das Objektglas in der unten zu erwähnenden Reagenslösung 3 Minuten lang eingelegt, wobei die Zellen im Gewebehäutchen sofort durch den Alkohol im Reagens fixiert wurden. Hierauf spülte man die Gewebestückchen mit absolutem Alkohol aus und färbte sie nach der Eisenhämateinlackmethode. Das hier benutzte Reagens war das von ENDŌ (1953) zur Halochromie von Sulfonamid durch Ammoniumkupferchlorid. Das Reagens wurde aber in unserem Experiment von Jod befreit, da das Jod das Gewebe gelblich anfärbt. Die Reagenslösung war hellbraun und durchsichtig und bestand aus gesättigter Menge von reinem Ammoniumkupferchlorid, 2g von Jodkalium, 0.2g von Borsäure, 1g von Magnesiumchlorid und 200 cc von absolutem Alkohol. Wenn man eine kleine Menge von Theradiazin in die Reagenslösung zufügte, so entstanden *gelb bis bräunliche kristallinische und unregelmäßig gestaltete Produkte, welche in Wasser und Alkohol nicht löslich sind.*

II. Ergebnisse und Auswertung.

a) *Vorprobe an den mit Sulfonamid nicht versetzten Gewebestückchen aus dem subkutanen Gewebe.*

Die Fibrocyten, Fibrohistiocyten, Histiocyten, Mastzellen und die leukocyten Zellen erscheinen mit Eisenhämatein mehr oder weniger stark blau gefärbt und enthalten einen dunkler tingierten Kern. Aber sie zeigen keine gelbliche Färbung im Cytoplasma (Abb. 1). Daß das Cytoplasma und der Kern der Zellen sich ein wenig kontrahieren, beruht offenbar auf der entwässernden Wirkung des als Lösungsmittel des Reagens benutzten Alkohol.

b) *Untersuchung an den mit Sulfonamid versetzten Gewebestückchen.*

Es werden Zellen mit gelb bis braun erscheinenden Granula oder Vakuolen hier und da angetroffen (Abb. 2 u. 3). Diese Färbung beruht, wie durch eine Probe im Reagensglas bewiesen wird, auf dem Vorhandensein vom Sulfonamid.

Bei näherer Beobachtung ergibt sich, daß die Zellen, die Sulfonamid am reichlichsten aufgenommen haben, die *Mastzellen* sind. Andere Sulfonamid aufgespeichernde Zellen außer den Mastzellen sind nur *Fibrohistiocyten* und *Histiocyten*. Die Fibrocyten und Leukocyten nehmen Sulfonamid kaum auf. An dieser Stelle möchte ich auf das Experiment von ARATA (1943) hinweisen, in welchem er an der Maus nach der intravenösen Injektion von Salvarsan dies in den Fibrohistiocyten und Histiocyten im subkutanen Bindegewebe nachwies. Das Sulfonamid wird zuweilen konzentriert in den Vakuolen der Fibrohistiocyten und Histiocyten gesehen (Abb. 3). Das Sulfonamid kann auch in den mit Eisenhämatein etwas blau färbbaren kleinen Vakuolen und Granula nachgewiesen werden (Abb. 2 u. 3). Man trifft nicht selten feine

gelblichbraune Kristalle außerhalb der Zellen an. Wenn sie im Präparate auf der Oberfläche der Zellen liegen, so können sie leicht irrtümlich als Zelleinschlüsse angenommen werden.

Ausgebildete Histiocyten zeigen sehr oft keine Spur von Sulfonamid. Sie sind vielleicht Erschöpfende, wie sie ŌMURA (1950) bei glaspulverähnliche Partikelchen übermäßig phagocytierten Histiocyten gesehen hat. Es wäre aber denkbar, daß das einmal in den Zellen gelagerte Sulfonamid während einer Reihe von Behandlungen des Gewebes zusammen mit dem Vakuoleninhalt nach außen ausgegangen ist. Sehr bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Fibrohistiocyten und Histiocyten das Sulfonamid konzentriert in den Vakuolen aufspeichern können. Nach den Untersuchungen von SAWACHIKKA (1950a, 1950b), MII (1954, 1955) u. a. werden in den obigen Zellen phagocytierte Bakterien von Vakuolen umgeben oder in ihnen eingeschlossen und verdaut. Es liegt also nahe, anzunehmen, daß das in diesen Zellarten in den Vakuolen aufgespeicherte Sulfonamid auf die phagocytierten Bakterien in *konzentrierten Zuständen* einwirken kann. Diese Tatsache scheint nebst der, daß das im Tierkörper einverleibte Sulfonamid die fibrohistiocytäre Gemeinschaft reizt und zahlreiche Fibrohistiocyten und Histiocyten mobilisiert, für die Abwehr gegen pathogene Bakterien auch sehr vorteilhaft zu sein. Nicht unerwähnt möchte ich lassen, daß trotz einer oralen Verabreichung und intravenösen und intraperitonealen Injektion von Sulfonamid in großer Menge das Sulfonamid nach der erwähnten Methode noch nicht in den Zellen der fibrohistiocytären Gemeinschaft nachgewiesen werden konnte.

Zum schluß möchte ich noch eine Bemerkung darüber anführen, daß die Granula der Mastzellen sich auffallend stark gefärbt hervorheben, wie in Abb. 2 und 3 dargestellt ist. Die Granula der Mastzellen enthalten bekanntlich heparinartige Mukopolysaccharide und sind stark basophil. Ob durch das Beladen von Sulfonamid die Funktion der Mastzellen beschädigt wird, muß aber vorläufig dahin gestellt bleiben.

III. Zusammenfassung.

Ein kleines Stückchen von subkutanem Gewebe der Maus wurde in verdünnter Lösung von einem Sulfonamidpräparat eingelegt. Die in den Zellen aufgenommenen Sulfonamid wurde nach der ENDŌscher Ammoniumkupferchloridmethode nachgewiesen. In den Vakuolen der Fibrohistiocyten und Histiocyten ließ sich das Sulfonamid oft und in konzentrierten Zuständen auffinden, dagegen in den Fibrocyten und Leukocyten kaum. Das so in den Fibrohistiocyten und Histiocyten aufgespeicherte Sulfonamid kann auf die in demselben phagocytierten Bakterien kräftig einwirken. Die Granula der Mastzellen haben zu Sulfonamid ganz besonders starke Affinität.

内 容 自 抄

二十日鼠の皮下結織の薄片を稀釈されたズルフォンアミッド剤溶液中に置いたのち、その細胞内に出現するズルフォンアミッドを遠藤の塩化銅アンモニウム法によつて証明することを試みた。ズルフォンアミッドは屢ば線組球と組織球の空胞内に濃縮された状態で発見された。ズルフォンアミッド剤を多く溜めた線組球と組織球はそこに胞食された細菌に強く作用することが出来よう。なおこの機会に肥満細胞の粒子がズルフォンアミッドに甚だ強い親和力を持つことが発見された。

Literatur.

Arata, I.: Die Aufnahme von intravenös injiziertem Salvarsan in den Zellen des fibrohistiocytären Systems. (Jap.) Kaibo. Z. 21 (1943). — **Endō, K.:** Die histochemische Halochromie der Thioazetason und Sulfonamidverbindungen durch Ammoniumkupferchlorid. I. (Jap.) J. Osaka Med. Coll. 14 (1953). — II u. III. (Jap.) J. Osaka Med. Coll. 15 (1954). — **Mii, Yo.:** Veränderungen der Zellen im subkutanen Bindegewebe der Maus bei der Injektion von Arzneimitteln. IV. Arb. Med. Fak. Okayama. 7 (1942). — **Mii, Ya.:** Untersuchungen der Colibazillen phagocytierten Bindegewebszellen im Elektronenmikroskop. Arch. hist. jap. 6 (1954). — Phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen der frühzeitigen Veränderungen der Colibazillen phagocytierten Fibrohistiocyten. Arch. hist. jap. 8 (1955). — **Omura, M.:** Untersuchungen über phagocytierende Bindegewebszellen. Arch. hist. jap. 3 (1952). — **Sawachika, H.:** Experimente über die Phagocytose von Staphylococcus albus an den Bindegewebszellen. Arch. hist. jap. 1 (1950a). — Comparative studies on the phagocytosis of bacteria by connective tissue cells. Arch. hist. jap. 1 (1950b).

Erläuterung zu den Tafelabbildungen.

Supravitale Sulfonamidspeicherung in den Vakuolen der Bindegewebszellen. Die ENDÖsche Farbreaktion auf Sulfonamid durch Ammoniumkupferchlorid. Nachfärbung mit Eisenhämateinlack. Wiedergabe von farbigen Mikrophotographien. Kodachrom-film.

Abb. 1. Aus einem in physiologischer Kochsalzlösung ohne Sulfonamidzusatz eingelegten Gewebestückchen. Keine Farbreaktion auf Sulfonamid.

Abb. 2. Aus einem Gewebestückchen in physiologischer Kochsalzlösung, die einen Zusatz von etwa 0.1%igem Sulfonamid erhalten hat. Farbreaktion auf Sulfonamid. Fibrohistiocyten und Histiocyten mit sehr schwach gelb bis braun gefärbten Granulationen und Vakuolen. Die Granula der Mastzelle sind besonders stark gefärbt.

Abb. 3. Wie bei Abb. 2. Man sieht einen Histiocyten mit zwei großen, gelb gefärbten Vakuolen. Ferner drei stark gelb gefärbte Granula führende Mastzellen.

H. YASUHARA

1

2

3

5