岡山大学医学部，解剖学教室（主任：関教授）。
Anat. Inst. d. Med. Fak., Univ. Okayama (Vorstand: Prof. M. SEKI).

ビクトリア青での組織細胞の超生染.

Supravitale Färbung der Bindegewebszellen mit Viktoriablau.

田 村 良 喜 Yoshiki TAMURA.

〔昭和 28 年 6 月 11 日原稿受付.〕

先の報告 (1952) にアルコール溶性染料なる中等極性のビクトリア青が白血球，殊にリンパ球と単球内の粒子と糸粒体をよく超生染することを書いた。続いて私は二十日鼠の皮下結織を取り，ビクトリア青で超生染して諸細胞を観察した。同時に中性赤とヤーヌス緑を以て組織を超生染して比較観察し，なお中性赤とビクトリア青の混合溶液ででも超生染して結果を比較することを試みた。

I. 材料と方法.

先ず 5% アルコールを以て 0.1% ビクトリア青溶液を作り，その 0.1cc を Ringer 氏液 1cc 中に混じて 0.01% ビクトリア青溶液を作る。但し NaOH を加えて pH 7.5—8.0 としたレチチン（卵からの）飽和溶液 1 滴を予め 1cc の Ringer に入れてよく混ぜて置く。これは溶けたビクトリア青分子の凝結を防ぐためである。二十日鼠の背部の毛を剃り，その皮膚を大豆大に切除して直ちにその裏面にある皮下結織を鉤ピンで挟んで挙上し，その小塊を鉗で切り取り，前記染料溶液に投入し，少し広げて染料が内部に入り易いようにする。およそ 30°C に 15—20 分放置し，小塊の一部を切り出して，清拭した載せ硝子の上で軽く伸展し，直ちに被いガラスをして，周囲を白色ワセリンで縁封した。特に線維細胞，線組球，組織球，単球の染色の状況が観察された。

中性赤溶液は 0.01%，ヤーヌス緑溶液は 0.05% とし，中性赤とビクトリア青の混合溶液は 0.01% 中性赤溶液 1cc にレチチン加 0.02% ビクトリア青溶液 2 滴を加えたものを使用した。これ等の染料溶液を作るには専ら Ringer 氏液を用いた。ビクトリア青としては戦前の Grubler 社の Viktoriablau 4R n. Lustgarten がよいが，戦後の Merck 社の Viktoriablau も役立つ。中性赤は戦前の Merck のもの，ヤーヌス緑は最良と云われる戦前の I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft の Janusgrün B が用いられた。

II. 結 果 と 考 察.

a) ビクトリア青での超生染.

二十日鼠の皮下結織をビクトリア青で 15—20 分間超生染して鏡検すると、**線維細胞**は図 1 に示されたように、胞形質は殆んど透明無構造で、その輪廓の認めにくいものが多い。核は多くは卵円形で、概ね他の細胞のものに比較して大であるが、時に核がやや小で、円形のものもある。核のうちには核小体と思われるものを 2—数個見ることがある。

線維細胞の胞形質内に、殊に核の周りに薄青に染った糸状や杆状や点状のものが数—数 10 個現われる。時に核の一侧に多いこともある。糸状または杆状のものは長さ 1—2 μ までで、時に中央部が少しく膨れたもの、また両端が膨れて垂鈴状となったものがある。これ等の糸状または杆状のものは時とともに減じ、凡そ 1 時間を過ぎれば殆ど無くなり、その代りに点状のものが多くなる。これ等の青染物象はその大きさと形と、又それ等が時とともに変化する事等から、少くも大部分は疑いなく糸粒体である。

線維細胞の糸粒体の染色は杆状のものよりも点状のものの方が濃いようである。線維細胞の脂肪滴は Zweibaum と Elkner (1930) も云ったように甚だ少く、また空胞も稀である。

これ等の線維細胞のほかに図 2 の如く、大小不同の青染粒子を持つものがあり、これは線維細胞と組織球の移行形の**線組球**である。線組球の輪廓は線維細胞のものよりは明かで、核は多くは類円形である。青染粒子は核の周囲に小型のものが多く、外方に移るにつれて大形のものが加り、即ち大小の粒子を見るようになる。小形の粒子も多くは線維細胞で見た点状の糸粒体よりも大で、大形の粒子のうちには点状の糸粒体の 2 倍以上の大きさのものもある。線維細胞に見たような青い糸状や杆状のものは殆ど見当らない。線組球の上記の青染物象は後のヤーヌス緑での超生染の所見から推して、小形の粒子の大部分は糸粒体であり、大形のものは膨れた糸粒体または類脂質を多く有する粒子または小滴か空胞かであると思はれる。

組織球は図 3 に写生せられたように輪廓が明かで、核は線維細胞のものよりもやや小さいことが多い。組織球の著しい特徴は胞形質内に大小種々の青く染った粒子と少しも又は少ししか染らぬ空胞が数多く散在することである。青く染った大きな粒子は多くは不正球形で、その内に多数の濃染した小粒子の含まれることがある。小さな粒子と云ってもその大多数は線維細胞等の糸粒体よりもよほど大である。即ち組織球には糸粒体はあっても甚だ少いものと思える。

單球を図 4 に示す。結合組織内で單球と呼ばれるものは、血液中に見る

ものと全く同じいか又は近似するもので、類球形のことが多く、大きさは小リンパ球より大きいことは勿論、中リンパ球よりもやや大きいが、組織球よりは小さく、輪郭が甚だ明瞭である。核は腎形または類球形を呈する。他の染色法で単球と小形の組織球を分別する際に最も役立つ標識は、単球には少数の微小の粒子と時に小空胞があっても、粗大な粒子と大空胞がなく、組織球にそれ等（大小の粒子と空胞）が多数あることである。ビクトリア青で超生染せられた単球にても青色に染色した小さな粒子が 10 数個から 40—50 個現われる。その粒子は大部分が核の陥凹側にはほぼ花形をして集ったり、2—3 所に群を作ったり、また胞形質の全域に散在性にあったりする。時に大粒子の周りを点状の小粒子が取巻くように存在するのが見られる。一般に大粒子は小粒子に比較して染る度強い様である。

上記の単球のビクトリア青で超生染する粒子のうち甚だ小形のものは後述のヤームス緑での超生染の所見と比較して糸粒体と推定せられ、大粒子は類脂質を多く有する蓄滞積物質と小滴、また一部は空胞であろう。上記のように、単球の青染した大粒子が中性赤で超生染した血液単球によく見る如く核の一側に集ってほぼ花形を作るのが見られることがあり、この花形の大粒子の少くも一部は中性赤で超生染するときに、やはり核の傍らで赤染する空胞と同一物であろう。

b) 中性赤での超生染。

中性赤での組織細胞の超生染は昔からよく行われて居り、特に新しく見られる事実はないが、ビクトリア青での超生染の結果と比較するためには簡単ながらここにその所見を記載する必要がある。ついでに中性赤で染められた細胞の種類の判断に云及しなければならない。

線維細胞には中性赤に染る粒子または空胞が少く、小さなものが僅かに数個である。染らぬ空胞も稀にある。

線組球(図 5)は胞形質の全域に亘って大小の赤い粒子をやや数多く現わす。超生染の時間の経過とともに粒子の増大増数することは既によく知られている。健常の組織から取られた線組球には初め不染の空胞が稀に見られるのみである。線組球の中性赤粒子がビクトリア青粒子よりも少いのは、前者が蓄積したり滞積したりした物質の粒子と空胞のみであり、後者にはそのみならず糸粒体が染って加っているからである。

組織球(図 6)は線組球よりも一層多くの大小の粒子を胞形質の全域に有し、著しく大きい粒子があるので目立つ。大粒子は概ね濃染する。なお不染と淡染の空胞が少なくなく、空胞のうちには著しく大きいものがある。

以上の細胞種の間には移行があるが、分別は大體容易である。分別に屢

ば困難するのは**單球**である。單球(図7)の中性赤粒子が核の陥凹側に集って花形をするのがこの細胞に殆んど特有であるが、花形はこの細胞が盛んに運動するとき、漸次肥大して組織球に移行するときに分散し、中性赤粒子は胞形質の全域に広がる。即ち單球は花形を持つが、常に花形を持つとは限らないのである。

c) ヤーマス緑での超生染.

ヤーマス緑の分子は嘗て関(1933)が注意したように、易く凝結し、易く物象に吸着し、類脂質にはあまりよくは溶けない塩基性染料であり、密構で内部表面の多いと思える糸粒体に比較的多量に吸着せられる。

線維細胞(図8)では糸状、杆状、点状の糸粒体が数一数10個現われ、これはビクトリア青での超生染のときと殆ど違わないが、物象の染色がビクトリア青の場合よりも概して少しくやや濃い。

線組球(図9)には線維細胞で見たような点状の糸粒体が現れるが、糸状や杆状のものは稀である。糸粒体には点状のもののほかにやや大きいものが混在する。染色液にヤーマス緑が濃過ぎれば、糸粒体のほかに大きい蓄滞積の粒子が染って現れ、見分けがつかなくなる。

培養せられた組織の**組織球**には、例えば Carrel と Ebeling (1926) の名著に見るように、ヤーマス緑で糸粒体がよく現わされる。しかるに動物体内の組織球(図10)にはヤーマス緑で証明せられる糸粒体が比較的少く、甚だ屢ばその存在の証明せられぬものがある。上記のように染色液にヤーマス緑が濃いと糸粒体以外の粒子が染り、これが糸粒体と混視せられ易いから、研究者自らも、また他人の所見にも注意しなければならぬ。

單球(図11)ではヤーマス緑に染る糸粒体は点状であり、胞体内の一所に集ることがあり、また全域に散在することがある。單球の組織球に移行しようとするものには糸粒体は常に散在する。

d) ビクトリア青と中性赤の伍用染色.

中性赤とヤーマス緑が伍用せられるのに倣い、ビクトリア青を中性赤に伍用して超生染することを試みた。線組球でも單球でも、像は大体中性赤とヤーマス緑を伍用した場合のものに似る。線維細胞には主にビクトリア青で染められた粒子のみ、組織球には主に中性赤に染められた粒子と空胞のみが現れる。

III. 結 語.

二十日鼠の皮下の結織細胞を類脂質の最良染料であるビクトリア青で超生染し、これを中性赤とヤーマス緑で超生染する結果と比較した。ビクト

リア青は糸粒体を染め、その他蓄積または滞積した物質の粒子と空胞の類脂質を多く含むものと思えるものを染める。糸粒体のビクトリア青で染まる強さはヤーマス緑でのものに僅かながら劣る。

Autoreferat.

Die Bindegewebszellen aus dem subkutanen Gewebe der Maus wurden mit dem besten lipoidfärbenden Farbstoff Viktoriablau supravital gefärbt, und die Resultate wurden mit denen der supravitalen Färbung mit Neutralrot und Janusgrün verglichen. Das Viktoriablau färbt die Mitochondrien und daneben auch solche gespeicherte und gestapelte Granula und Vacuolen, die viel lipode Substanzen enthalten. Die Färbungsstärke der Mitochondrien mit Viktoriablau ist etwas schwächer als die mit Janusgrün.

文 献.

Carrel, A. a. A. H. Ebeling: The fundamental properties of the fibroblast and the macrophage. II. The macrophage. J. of exper. Med. 44 (1926). — **Seki, M.:** Zur Kenntnis der intra- und supravitalen Färbung. IV. Umladbarkeit der basischen Vitalfarbstoffe als eine wesentliche Vorbedingung für das Eindringen derselben in die Zellen; Bedeutung der Flockbarkeit der Farbstoffe. Z. Zellforsch. 19 (1933). — **Tamura, Y.:** Supravitale Färbung der Kaninchenleukocyten mit einem mittelstark polaren Farbstoff, Viktoriablau. Arch. hist. jap. 3 (1952). — **Zweibaum, J. et A. Elkner:** Les structures cytoplasmiques et L'appareil de Golgi dans les cellules cultivés in vitro. Arch. exp. Zellforsch. 9 (1930).

附 図 説 明.

二十日鼠の皮下の結核細胞のビクトリア青超生染。

図 1. 線維細胞	}	ビクトリア青超生染。
図 2. 線 組 球		
図 3. 組 織 球		
図 4. 単 球		
図 5. 線 組 球	}	中性赤超生染。
図 6. 組 織 球		
図 7. 単 球		
図 8. 線維細胞	}	ヤーマス緑超生染。
図 9. 線 組 球		
図 10. 組 織 球		
図 11. 単 球		

Erklärung der Tafelabbildungen.

Supravitale Färbung der Bindegewebszellen aus Subkutangewebe der Maus

mit Viktoriablau.

Abb. 1. Fibrocyten	}	mit Viktoriablau gefärbt.
Abb. 2. Fibrohistiocyten		
Abb. 3. Histiocyten		
Abb. 4. Monocyten		
Abb. 5. Fibrohistiocyten	}	mit Neutralrot gefärbt.
Abb. 6. Histiocyten		
Abb. 7. Monocyten		
Abb. 8. Fibrocyten		
Abb. 9. Fibrohistiocyten	}	mit Janusgrün gefärbt.
Abb. 10. Histiocyten		
Abb. 11. Monocyten		
-

Viktoriablau

Neutralrot

Janusgrün