各月胎児臍帶の細胞間質の研究.

II. 線維物象の超構密度と偏光度の関係.

Studien über die Interzellulärsubstanz des Nabelstranges
von verschieden alten Embryonen.

II. Die Beziehung zwischen der ultrastrukturellen Dichte
und dem Lichtpolarisationsvermögen des fibrösen
Gebilde.

長 野 壽 久 Toshihisa NAGANO.

[昭和 28 年 9 月 23 日原稿受付]

さきに私(昭28)は胎児の臍帯にある粘液多糖類の分布と変動, 確認法, ヒアルロニダーゼ消化実験等について述べたが, これは本報にも関係するから, その原色写真を本報に附図として示す. 田村(昭23)は動脈壁, 特に太い動脈と硬変した動脈に異調染色する粘液様物質の多量に存在することを確かめ, この異染物質で硬変しつつある動脈に増加することは組織液成分が析出し沈着することを防ぎ, 組織液の浸潤拡散を易くするに役立つであろうと述べ, 最近 Burkl (1953) は粘液多糖類の多い組織を primitive Stützgewebe と名づけ, そこには常に血管の発生が殆んど見られず, 粘液多糖類はその物化学的性質により栄養物を組織へ拡散させると述べた.

次には主に Wharton 氏膠質に現われる線維物象の構密度と偏光度の發育に伴う変化を観察する.

I. 材料と方法.

人工流早産術で得た 3—8 月の胎児と 9 と 10 月の生児の臍帯を鉛糖メタノール飽和液, チオキサン, 純アルコールで固定し, 5 μ のパラフィン切片とし, これに物象の超構密度を知るために Heidenhain 氏アツァン染色, 膠原線維の染出にはヒアルロニダーゼ処理ののち Held 氏モリブデン-ヘマトキシリン染色を施した. 光の複屈折度は顯微鏡に偏光装置を取りつけ, 通例 20 倍対物レンズと 15 倍接眼レンズで, 不染色標本について検べられた. キシロールバルサムに封ずれば, 形態複屈折が消され, 固有複屈折のみ残ることは云うまでもない.

II. 観 察 所 見.

A. アツァン染色.

説明の便宜上 3, 5, 7 月胎児と新生児の臍帯について附図に従って述べ

る。

1. 胎生3月の胎児臍帯(図省略).

アツァン染色では臍帯の脉管, 殊に臍動脈の内膜は淡赤に染り, 中膜の筋層には滑平筋芽細胞が輪走するが, 未だ筋線維構造を示さず, 内膜に近いところから外に遠ざかるにつれて次第に紫の色調が強くなって, 遂に帯赤紫に染る. 外膜の幼若な結組織線維は帯青紫に染る. つまり臍動脈の外層になるほど紫の色調が強くなり, 超構密度は低くなる.

次に顕微鏡の拡大を増して見ると, Wharton 氏膠質内の間充織細胞の胞形質は赤染して比較的多く見られ, 全般に紫の一見均等無構造部位と帯青紫の膠原前線維とが混在して全体として帯青紫一帯紫青に見える. 羊膜上皮細胞は赤染する. 強拡大で詳細に観察するに(図1), 各間充織細胞間はやや太い膠原前線維(未熟な細い膠原線維で, 成熟した膠原線維の特

図1. 3月の胎児の臍帯の Wharton 氏膠質. アツァン染色から推定せられる超構密度の凡そを黒の濃淡で示す. 但し赤を最黒で, 紫を薄黒で示し, 濃青と紫青の物象は紫に薄く染るものよりも疎構であるが, 中間の程度の黒で現した. 900×.

Abb.1. WHARTONSche Sulze des Nabelstranges eines 3 monatigen Fetus. Skizze. Die aus der Azanfärbung geschlossenen verschiedenen Ultrastrukturdichte ist durch schwarze Abstufung ausgedrückt, wobei die roten dichtesten Gebilde mit der stärksten Schwärze und die violetten weniger dichten mit einer schwächeren Schwärze gezeigt sind. Tief blaue und tief violettblaue Gebilde sind in Wirklichkeit ultrastrukturell lockerer gebaut als die schwächer, aber violett gefärbten. Sie sind aber hier mittelstark schwarz ausgedrückt. 900×.

長を示すより前の状態のものをかく呼ぶ)で連結して網を形成し、その内部には一層細く、短く、走行も不規則な帯青紫に染る膠原前線維のさらに前段階と思われる様な微細な線維状物象が見られる。此等の有形物象以外の一見無構造に見える細胞線維間質は紫色に染って、ここをよく見ると、其処には微細粒子状であったり、微細な網があつたりする。つまり3月の Wharton 氏膠質には膠原線維の前段階と考えられる膠原前線維と微細の粒子や網があり、この微細の網は膠原前線維に次第に連る。

2. 胎生5月の胎兒臍帶(附図3).

臍動静脈、特に臍動脈壁の内膜は暗濃赤に染って居り、中膜には筋線維が次第に豊富となつて来て、淡赤色に染り、筋線維間は紫染した結織線維が介在して居る。外膜の結織線維も胎生3月に比較して密樁で帯紫赤色である。次に Wharton 氏膠質内には次第に血管を圍繞して未だ余り太くは

図2. 5月の胎兒の臍帶. 説明は図1に同じ.

Abb. 2. Nabelstrang eines 5 monatigen Fetus.
Beschreibung wie in Abb. 1.

ない青染する成熟膠原線維が配列する様になり、その末端部は次第に細くなって、帯紫青色に染る未分化の細線維に移行する像が随処に認められる。赤染した胞形質を持つ間充織細胞とは関係なく、細胞間に帯紫青色の幽かな細線維と均等に紫染する無構造物象が存在する。強拡大(図2)では比較的太い淡青色に染った線維がこれを取り囲むように走り、羊膜上皮

の近くではこれに平行に走り、その間に紫青色に染る甚だ不規則に微細な膠原前線維の形成が起つて居る。胎生3月に比し間充織細胞は減少し、間充織細胞を連結していた膠原前線維網も目立たなくなっている。膠原前線維の末端には図2の右端に見られる様にまたその場所を強拡大した図3で示される様に、紫染する粒子様網様の物象が灌木の葉を茂らせた如く拡がる像が認められた。

3. 胎生7月の胎兒臍帶(図省略).

臍動脈壁は特に筋層が目立ち、壁の厚さが増す。内膜の内皮細胞体は橙

赤色か橙色で最も密構であり、中膜には既に筋線維束が広い範囲に形成されて輪走し、内膜に近い部位では帯橙赤色に、その他では濃赤に染る。

Wharton 氏膠質内には青染する太い膠原線維が規則正しく血管と羊膜上皮に平行して走り、兩者の周囲に増量して来ている。強拡大(図4)では各膠原線維が濃青に染り、その末端が分枝して一段と細い線維に移行し、その更に末端が紫染の粒子様網様の母地内に消える。逆に云うと、一見均等な細胞間物質をよく見れば、微粒子が集合して来て幽かな線維狀の構造を生じ、その一部はそれより一段と太い線維に移行し、更に高位の線維を形成することが認められる。つまり図の如く線維形成の各段階が線維束の間に介在しているのである。

4. 新生兒の臍帶(附図4)。

臍動脈には輪走筋線維の層が強く発達し、筋線維の構密度が上例に比して一層高くなって居ることが目立つ。次に Wharton 氏膠質内の線維のうち太い線維束を形成するものは濃青色に染り、血管と羊膜上皮に平行して走る。胎生7月には線維は血管周囲と羊膜の近くに多いが、10月に斯様な Wharton 氏膠質内の線維量の部位的差位は少くなる。間充織は見かけ上減少している。強拡大で見れば、図5の如く、太い膠原線維束、紫青色の細い線維等があり、この時期には上例のどれよりも未分化の膠原線維の量が少ない。

図3. 7月の胎兒の臍帶. 説明は図1に同じ。

Abb. 3. Nabelstrang eines 7monatigen Fetus. Beschreibung wie in Abb. 1.

図4. 7月の胎兒の臍帶で図3の右上部から. 1200×.

Abb. 4. Nabelstrang eines 7monatigen Fetus. Aus rechts oben der Abb. 3. Beschreibung wie in Abb. 1. 1200×.

B. Held 氏モリブデン-ヘマトキシリン染色.

臍帯の Wharton 氏膠質の膠原線維と膠原前線維と云うべきものは Held 氏モリブデン-ヘマトキシリンで染めて現わすことが出来るが、前報(昭28)で述べた様に粘液多糖類が多いと線維構造が被われて明らかでないので、その組織切片にヒアルロニダーゼを作用させ、それを消化したのち染めた標本が図6と7である。特に強拡大の図7では比較的太い膠原線維が横に走り、その間に短く不規則に走った極く細い膠原前線維が認められる。然しアツェン染色でその前段階の状態と認められた微細な粒子様網様の物象はこれでは窺えない。胎生の進むにつれてすべての線維の量が増し、且つ太くなる。

図5. 10月の新生児の臍帯. 説明は図1に同じ.

Abb. 5. Nabelstrang eines 10-monatigen Fetus. Beschreibung wie in Abb. 1.

図6. 4月の胎児の臍帯の切片をヒアルロニダーゼで消化実験したのち、モリブデン-ヘマトキシリンで染めた。膠原線維の構造が著明に現わされる。400×.

Abb. 6. Nabelstrang eines 4 monatigen Fetus. Die Schnitte sind nach der Verdauung mit Hyaluronidase mit Molybden-Hämatoxylin gefärbt. Die kollagenen Fasern sind deutlich dargestellt. 400×.

図 7. 図 6 の標本の Wharton 氏膠質の一部の強拡大. 膠原前線維を示す. 900×.

Abb. 7. Ein Teil des Präparates in Abb. 6, stark vergrößert. man sieht die Präkollagenfasern. 900×.

C. 線維のアツアン染色性と偏光度の関係.

一般に線維は光学的異方体に屬し、光を複屈折する. 小林と平野(昭26)は種々の太さの線維に就いてその複屈折の程度の差を認め、一般に van Gieson 染色の結果と複屈折性とに順関係を認めると述べているが、私は偏光顯微鏡により成熟膠原線維完成までの各段階に於て、第1にその複屈折の程度に差異な認めることが出来るかどうか、第2にそれが出来るとすれば、アツアン染色の結果とどんな関係があるかを調べた. 図8と図9は

図 8. 5 月の胎兒の臍帶. 光複屈折. 500×.

Abb. 8. Nabelstrang eines 5 monatigen Fetus. Doppelbrechung des Lichtes. 500×.

図 9. 新生児の臍帯の光複屈折. 図 8 に比べて複屈折する膠原線維が増し, 複屈折力も強い. 500×.

Abb. 9. Nabelstrang eines Neugeborenen. Doppelbrechung des Lichtes. Die doppelbrechenden, kollagenen Fasern sind im Vergleich zu der Abb. 8. vermehrt, und die Lichtbrechung ist stärker. 500×.

胎生 5 月と新生児臍帯の偏光顕微鏡写真で, 後者に於いて複屈折を呈する線維が非常に多く, 且つその屈折程度も強いことが解る. アツェン染色と複屈折性との関係を分り易くするため表で示す.

複屈折度	アツェン染色色調	線 維 分 化 の 段 階
—	紫	一見均質無構造の微細粒子様網様の母基.
—	帯 青 紫	出来始めた微細の線維様物象.
十	紫 青	細く短い膠原前線維.
廿	青	細い膠原線維.
卅	深 青	十分に分化した太い膠原線維とその束.

つまり線維の母基と考えられた微細粒子様網様の物象はモリブデン-ヘマトキシリン染色で染まらないが, これは光を複屈折せず, 発生の進むにつれて, それで染め出される様になってくると次第に屈折性が現われ, 膠原線維として立派に成熟して来ると強い複屈折性を示す様になる. このことは水平 (1951) がオタマジャクシの真皮線維の発生とその排列を調べたときに, 膠原線維の発生が進むにつれて最初複屈折しないものの変態後期に成熟膠原線維となれば強い複屈折を示したのとは一致する.

アツェン染色では線維物象は初め紫から紫青で, のち青に染り, 染色性と複屈折度とに関係が認められる. 図 8 は胎生 5 月のもので, 図の上部に

見られる臍動脈壁の筋線維は殆んど複屈折しないのに、新生児の図 9 に於ては強い複屈折することが見られた。

III. 考 察.

1. 臍動静脈壁の構密度に就て.

臍帯の胎生各期について臍動静脈壁の筋層を比較観察すると、胎児の成長について紫→紫赤→淡赤→暗赤→橙赤となり胎生の進むにつれてその構密度が大きくなるのを認めた。その訳は超構密度の高い筋成分が、胎生末期になるにつれて著しく強く発達してその量を増す爲に考えられる。

2. Wharton 氏膠質内の線維物象の超構密度.

胎児の成長につれ Wharton 氏膠質は全体として帯青紫→紫青→淡青→濃青に染り、これはその構密度が胎児の成長するにつれて低下することを示す。この構密度の低下する訳は胎生各月の臍帯標本をよく見ると、胎生の初期には一見均質無構造で構密度の高い、紫染する線維の母基物象が多く、胎生末期に近づくにつれて構密度の低い青染する成熟膠原線維の量が増すのによると思われる。なお同一標本内にも線維発生の色々の段階が含まれて居り、紫染する部位を注意して見れば一見均等無構造の部分は微細粒子様であったり、微細網様であったりしている。また帯紫青染の細く短い不規則な走行を示す膠原前線維や分化した太い淡青の膠原線維、それが次第に集合して小束になり、小束が更に集って大束になり、濃青染するものをも見出し得る。細胞間物質内にポリペプチッド鎖と分子鎖が発生し、連鎖が強く集束し、太くなるにつれて関 (1952) が述べたように、集束間の隙が広がる事が想像され、終に線維はアツェン染色の場合大分子のアニン青によく染るようになる。かくて Wharton 氏膠質内の膠原線維はまず一見均等無構造の細胞間物質から発生し、初めは密構であるが、次第に膠原前線維、膠原線維と大くなるにつれて疎構になる。このことは田中 (昭26) が鼻茸を用いて膠原線維発生を観察したところと一致する。

3. 前報 (昭28) にも述べたように Wharton 氏膠質には粘液多糖類を有する複合蛋白質が次第に増す。

この物質は粘性が高いことを思えば、巨分子であるに違いなく、また強く水和しているのであるから、この物質の増加は膠質全体の超構密度が月とともに下ることの妨げにはなるまい。

4. 偏光度と構密度との関係.

細胞間物質で線維の母基と考えられる微細粒子様網様のところは全く光を複屈折しないが、線維構造が現われるにつれて次第に異方性となり、分

化完了後の膠原線維は強く複屈折する．

IV. 結 語.

人の臍帯の切片をアツェン法と Held 氏モリブデン-ヘマトキシリン法で染めて鏡検し，また不染のまま偏光鏡検した，

1. 臍動脈壁中膜の筋層の超構密度はその内膜に近いところから高り始め，一般に胎児の發育とともに上昇する．

2. Wharton 氏膠質全体の超構密度が胎生の進むにつれて低下するが，これは比較的密構の母基物質の量が減じ，疎構の膠原線維が増すためである．

3. 月とともに Wharton 氏膠質に粘液多糖類を有する複合蛋白質が増すが，この物質は分子が大きく且つ強く水和しているから，膠質全体の超構密度の下ることの妨げにはならぬ筈である

4. Wharton 氏膠質内で，膠原線維は微細粒子様網様のところに生じ，次第に太さを増すとともに超構密度を減じ，同時に光を複屈折する性質を増す．月の進むとともに Wharton 氏膠質内に上記の強く複屈折する線維が増量し，反対に胎生初期に多くあった複屈折しない母基物質が減ずる．

Autoreferat.

Schnitte von embryonalen Nabelsträngen wurden nach der Azan- und HELDschen Molybden-Hämatoxylinfärbung unter dem Mikroskop und ohne Färbung unter dem Polarisationsmikroskop untersucht, um die Veränderungen der Ultrastrukturdicke und des Polarisationsvermögens von verschiedenen Gebilden während der Entwicklung zu ermitteln. Die Ultrastrukturdicke der Muskulatur der Media der Arteria umbilicalis nimmt während der Entwicklung zu. Diejenige der WHARTONschen Sulze als ganzes sinkt aber vielleicht aus folgenden Gründen herab. Als fibröse Bestandteile der WHARTONschen Sulze sind violett färbbare, fein körnige netzartige Gebilde, blau-violett färbbare präkollagene Fasern und tief blau färbbare Kollagenfasern und Bündel derselben zu nennen. Mit dem Fortschreiten der Monate während der Entwicklung vermindert sich die strukturelose Muttersubstanz mit verhältnismäßig dichter Struktur, auf Kosten derselben vermehren sich immer mehr kollagene Fasern mit lockerer Ultrastruktur. Dabei vermehren sich auch zusammengesetzte Proteine mit Mukopolysacchariden. Die Moleküle der letzteren sind groß und stark hydratisiert, so daß sie das Herabsinken der Ultrastrukturdicke der WHARTONschen Sulze als ganzes nicht hindern.

Die Kollagenfasern entstehen aus fein körnig-netzigen Gebilden und vermindern allmählich ihre Ultrastrukturdichte. Zugleich erhöht sich ihr Lichtdoppelbrechungsvermögen. Da solche stark doppelbrechende Kollagenfasern in der WHARTONschen Sulze an Zahl zunehmen, wird das Doppelbrechungsvermögen der Sulze selbst notwendigerweise verstärkt.

文 献.

Burkl, W.: Über die primitive Stützgewebe. Anat. Anz. 99 (1953). — 小林忠義と平野網壬: 偏光顕微鏡による結合織病変の研究. 日病理誌. 40, 總會号(昭27). — 水平敏知: オタマジャクシの真皮線維の出現機構. 日組録. 2(昭26). — 長野壽久: 各月胎児臍帶の細胞間質の研究. I. 粘液多糖類の組織局所化学. 日組録. 5(昭28). — Seki, M.: Molekularhistologische Studien über die Elementar- und Mikrofibrillen des Kollagen usw. Arch. hist. jap. 3(1952). — 田中稻波: 膠原線維の発生と分化(鼻茸にて). 日組録. 2(昭26). — 田村 章: 動脈壁の等電点と構密度と年令的变化. 解剖誌. 23(昭23).

附 圖 說 明.

附図1. 5月胎児の臍帶をチオニンで染色. 原色寫眞版. 臍動脈壁とWharton氏膠質内に異調染した粘液多糖類がまだ少い.

附図2. 10月新生児の臍帶のチオニン染色. 原色寫眞版. 異調染物質が図1に比して増量する.

附図3. 5月胎児の臍帶をアツェン染色. スケッチ. Wharton氏膠質内に短く細い帯紫青の膠原線維が見られ, 一部に紫染する母基物質の存在を示す.

附図4. 10月新生児の臍帶のアツェン染色. スケッチ. 太い濃青に染る膠原線維束が見られる.

Erklärung der Tafelabbildung.

Tafelabb. 1. Nabelstrang eines 5 monatigen Fetus. Färbung mit Thionin. Reproduktion aus einer Farbenphotographie. Metachromatische Mukopolysaccharide sind in der Gefäßwand der A. umbilicalis und in der WHARTONschen Sulze noch gering.

Tafelabb. 2. Nabelstrang eines 10 monatigen Fetus. Färbung mit Thionin. Reproduktion aus einer Farbenphotographie. Die Metachromatische Substanz vermehrt sich.

Tafelabb. 3. Nabelstrang eines 5 monatigen Fetus. Azanfärbung. Skizze. Man sieht kurze, feine, violett gefärbte präkollagene Fasern in der WHARTONschen Sulze. Violett gefärbte Muttersubstanz ist auch zu sehen.

Tafelabb. 4. Nabelstrang eines 10 monatigen Neugeborenen. Azanfärbung. Skizze. Zahlreiche, tief blau gefärbte Kollagenfasern,

1

2

3

4