処理過程に於ける犢皮組織の変化に関する研究

IV Trypsin 消化による犢皮組織の変化

木 塚 静 雄

(山口大学農学部)

Studies on the histological change of calf-skin during the process

IV On the change of skin digested by trypsin

SHIZUO KIZUKA

(Faculty of Agriculture, Yamaguchi University)

I 緒 言

第2報によつて観察した通り生皮内の弾性繊維は他組織に比し石灰漬によつては殆んどその形態的变化が認められなかつた。弾性繊維は皮革及び Gelatin の製造上多大の意義を有し弾性並に張力を要する皮革の如き革を製するとき以外、一般の柔軟皮又は高級ゼラチンを製する時は概して邪魔物となるのであつて、他の有用繊維を害することなくこれを取除くことは牛皮利用上重要な問題となる。従来蛋白質分解酵素たる Trypsin によつて生皮中の弾性繊維が消化されるということは通説であつてこれに関しては OPPENHEIMER¹⁾, ROHM⁶⁾, SEYMOUR-JONES²⁾, WILSON and DAUB³⁾, KUNZEL and DIETSCH⁴⁾ その他多数の報告がある。著者は犢生皮を Trypsin によつて消化した場合は弾性繊維のみならず生皮内の各組織が如何なる変化をなすかを観察したのでこゝに取纏めたのである。

II 研究材料及び方法

従来組織学的に行う蛋白質の消化法は主に氷結法を行うが本研究に於ては次の如き別法によつた

1 研究材料 第2報において供試せるものと同じ原皮 (a₁ 及び b₂) を用い、その背皮中央部より 1.0×1.5 cm² 程度に截切せるものを材料とした。

2 研究方法 材料を一応水戻しをなした後別に製したる消化液中に浸漬して 38°C に調節せる恒温器中に静置しおき 5 時間目、10 時間目、15 時間目、20 時間目、25 時間目にそれぞれ取出し、直ちに固定して、常法により 10μ の切片を作成し、染色し検鏡した。

消化液の調製法

材料 結晶 Trypsin 0.3 g, 0.3% Na₂CO₃ 100cc, Toluol 2.0cc, 先づ Na₂CO₃ 0.3% 水溶液 100cc に結晶 Trypsin 0.3 g を秤量投入して溶解せしめ、Toluol を 2.0 cc 注加し静かに攪拌して製する。消化液の pH は 7.8 である。

染色は主として次の方法を用いた。

- a. WEIGERT の Resorcin fuchsin + BÖHMER の Haematoxylin + 酸性 Fuchsin
- b. BÖHMER の Haematoxylin + Van Gieson の Picro fuchsin
- c. 酸性 Fuchsin

尙参考として次の研究法も行つてみたが Trypsin 消化による組織の変化は大差なく、却つて染色度が明瞭に観察されたのである。即ち生皮材料を先づ Formalin (1:9) 液で固定し、常法に従い Paraffin で包埋し 10μ 乃至 15μ の切片を作成した。この切片を水のみをもつて載物硝子に貼着し Xylene に 24 時間浸漬して Paraffin を溶出し、次いで無水酒精に 24 時間、Benzene で 2 日間処理して脂肪分を除去し、更に無水酒精から酒精度を稀釈し最後に蒸留水で 12 時間水洗して後前記消化液で消化した。消化液は pH 7.8 で 38°C の恒温器中で行つたものである。しかして消化液中で各 5 時間、10 時間、15 時間 20 時間及び 25 時間消化したものを取出し水洗してから染色したものを検鏡した。

III 成績及び考察

1 Trypsin 消化 10 時間後の観察

a 表皮層中角質層は濃紫色を呈し、淡明層は赤紫色に染色されるが形態的には生皮の場合に比し大なる変化は認められない。顆粒層と淡明層との境界は濃紫乃至黒色を呈して明らかに区別される。顆粒細胞の核は黒色に染り細胞質は白色であるが Keratohyalin 顆粒は黒染せられその数が多少減じている。胚芽細胞の形には変化は殆んど認められないがその中の核小体及び Melanin 色素は稍々不明瞭となる。

b 真皮層中膠原繊維は稍膨潤し繊維素の末端或は両側面において繊維の分離を認められるものあり染色性一般に不良である。核の一部が溶解している造繊維細胞には形態上殆んど変化は認められない。弾性繊維中乳頭層内

各器官等に纏絡する微細なものは殆んど消失しているが少々太く集束するもの、膠原繊維間に密着して走行するものは尙認められる。汗腺は赤紫色に染色され分泌導管に著変はないが核の多くが消失している。脂腺はその細胞質は赤紫色に、核は紫色に、細胞境界は桃色に染色され殆んど原形の儘で変化を認めない。立毛筋はその微細構造崩壊に近く全体淡赤紫色に染まり核も不明瞭で消化の過程にあるを思はしめる。しかし筋原繊維を認め得る場所もある。毛髄質及び毛皮質は赤色乃至紫色を呈し Melanin 色素顆粒は全く見られず、外根鞘は赤紫色に染まり細胞は認めるが中は空洞状になり核の残存するものは扁平となる。部位により内根鞘も認めるが細胞質は認めない。血管は一樣に紫色で構造不明瞭となる。

c 皮下組織中の細微な弾性繊維は消失し大なる繊維は残る。他の組織には著変はない。

2 Trypsin 消化20時間後のもの。

a 表皮層の角質層には殆んど変化がない。顆粒層の核は多く消失し細胞質は白色不透明の空洞となり Keratohyalin 顆粒は数が著しく減じ残れるものは塊状に集まり、黒染する。胚芽層の細胞及び核は染色性が不良で崩壊するものも多い。

b 真皮層中膠原繊維は概して淡赤色で膨潤し各繊維束は明瞭を欠ぐ。造繊維細胞も認められ淡紫色に染まり形状は生皮の如く稜状をなさず不定形となつて見える。弾性繊維は既に全く見られない。脂腺は淡赤色に染まり個々の細胞境界不明瞭になり核も多く消失し、少しく残存するものは形状変形し紫色に染着する。汗腺の核は全く不明であるが腺の原形は止め分泌導管も残存する。立毛筋の繊維は多く分離し染色度は悪いが赤色に染まる。筋繊維の幅は狭少となり筋原繊維は殆んど認められない。毛嚢各層は分離の状を呈する。血管の管壁は黒紫色となりその微細な構造も不明瞭となり毛細血管は完全なものは殆んどなく痕跡が見られる程度である。赤血球は大部分消失しているが部分的に塊状をなし紅色に染色されて残存するものもある。

c 皮下組織中の弾性繊維も既に全くない。血管や粗性結合組織の構造も明瞭を欠ぎ造繊維細胞も殆んど認められないが他は変化少ない。

3 考 察

a 以上により弾性繊維中の細微なる部分は Trypsin の10時間の消化により溶解し、20時間後には生皮内の殆んど全部の弾性繊維が消失することが観察された。この結果は WILSON 及び DAUB³⁾ ('28) の報告とはその結果に於いて大体一致するのであるがその実験法に就いては疑問が生じたので之について考察する。彼等は普通の方法により生皮切片標本を作りこれを Orcein の酒精溶液に

より染色し Trypsin 消化液に恒温の下、切片を浸漬し染色された弾性繊維の消失するのを見て24時間で完全に溶解したと報告している。しかしこの方法によつては以上の変化は、明らかにすることは出来ないであろう。即ち Orcein による染色は生皮弾性繊維には用いるが、Trypsin 液を用ればこれによつて脱色乃至色素変調を生ずるのである。亦 Orcein 染色の場合に Orcein が繊維と結合して化合物を作るのか或は単に物理的吸着乃至沈澱であるかを考慮すべきではあるまいか。元来 Orcein 染色法は全て酸性に於いて行はれるものであつてアルカリで褪色するため完全に繊維と結合するものではなく従つてこの場合は恐らく繊維の表面において吸着せるもので消化の進行に従い次第に溶解されて行くために色調が消失しても弾性繊維は幾分残留するものと考へたがよい。よつて此の様な実験には Orcein は用うべきではないと思料されるのである。本研究に於いては以上を考慮して Resorcin fuchsin を以てなしたがこれはこの場合には寧ろ染色調が増加する傾向にあるのである。故に Resorcin fuchsin により染着されなければ弾性繊維は消失しているものと判断して差支えない。

b 膠原繊維はその繊維束の分離、染色色調の変化、膨潤等より判断して幾分侵されていると考へられるが之は Trypsin によるものか消化液中の Na_2CO_3 によるものかはわからない。

c Keratin 質の組織は Trypsin 消化20時間では殆んど形態的变化はないが酸性色素と強固な結合をなすことから塩基性塩の性質を帯びたと観察される。亦細胞及び核も多少侵されていると観察される。

IV 総 括

1 生皮をトリプシンで消化すれば主として弾性繊維が消失する。即ち先づ乳頭層内の各器官に附随し交織する細微な繊維が侵され徐々に網状層、皮下組織の太い弾性繊維束が侵されて行き20時間にして弾性繊維は全部消失するに至る。

2 トリプシン消化20時間後においては膠原繊維は僅かに膨潤し、少々その形態に変化があるようである。亦ケラチン質の組織も変性している如くであるが形態的には著変を認めない。

本研究は文部省科学研究費による。(1952, 11, 14, 受付)

文 献

- 1 OPPENHEIMER (1909): Handbuch d. Biochem., 1; 335.
- 2 SEYMOUR-JONES (1918): J. S. L. T. C. 2; 288.
- 3 WILSON & DAUB (1928): The chemistry of

leather manufacture, 2nd Ed.; 352.

4 KUNTZEL & DIETSCH (1931): Colleg.; (136).

5 WILSON & DAUB (1924): Jour. A. I. C. A 19, (482-483).

6 ROHM (1911): Colleg. (273).

Résumé

1 Being digested with the trypsin, the skin lost the elastic fibre chiefly. That is to say, the fine elastic fibre which was complicated around

every tissue and organ in the papillary layer began to vanish at first, and then gradually the large bundles of the elastic fibre in the reticular layer and the tela-subcutane were broken. All the elastic fibre disappeared within 20 hours.

2 Being digested with the trypsin for 20 hours, the collagen fibre swelled a little, but remarkable changes were not seen in form. The tissue, composed of keratin, seemed to be denaturated, but no great change was recognized in form.

外国文献抄録

Functional grafts of the anterior pituitary gland G. W. HARRIS & D. JACOBSON (1952): Proc. Roy. Soc., Ser. B., 139, (95); 263~276

下垂体前葉移植に関して implant することが出来ても正常機能を営み得ないと云う説があり、著者等は従来下垂体の portal vessel が重要な意義を有することを主張して来た。下垂体移植の場合に、portal vessel の結合を生ぜしめ得るような位置に移植しても無機能かどうかを確かめようとして実験を行つた。albino rat で、早分娩直後に自身の産仔及び早の下垂体移植、成熟早に成熟早及び合のもの、成熟合に成熟早及び合のもの等種々の組合せの移植実験を行つた。移植場所は temporal lobe の下、median eminence の下、下垂体 capsule 内の3部位で、recipient は何れも下垂体除去した rat である。移植後の検査に於ては下垂体組織の血管束について特に精査している。上記3部位に於て移植片は活着したが、median eminence を除き、何れも portal vessel との結合も生ぜず機能も認められなかつた。median eminence に移植したものは portal vessel との結合を生じ、性週期、妊娠、乳汁分泌、卵巢、副腎重量及び組織、甲状腺組織等から判定して機能的であつた。未成熟 donor の下垂体は成熟 recipient 体内で成長促進され、合の下垂体は早に移植して正常な性週期及び妊娠を示した。以上の結果は下垂体前葉ホルモンの分泌は hypothalamic portal vessel を通る hypothalamic control の下にあることを示す。 (西田司一)

Neurosecretory phenomena in the hypothalamo-hypophysial system of man and monkey SANFORD L. PALAY (1953): Am. J. Anat., 93, (1); 107~141

Chrome-alum-haematoxylin 法による猿、人類の神経分泌現象の研究で、猿に於ては、median eminence、infundibular stem では神経繊維は血管に接してはいるが、血管に終るものはない。infundibular process に入ると orientation は変化し神経繊維は血管内

皮に終り、終末は膨大して chrome-haematoxylin 好染顆粒充滿するのが見られる。顆粒をもつた繊維の内少数のものは infundibular process を通つて延び、*Pars intermedia* に接した細胞間に分枝しここで血管は終る。人類に於ては、細胞配列は猿の場合に似ているが、paraventricular nuclei に於てはやや diffuse で小細胞散在すること、又神経細胞の原形質中に微細空胞、時に大空胞も認められた。顆粒細胞の比率、染色性等から見て分泌物の量と性、年齢、病気の種類、死亡から解剖までの経過時間との間には相関はないようである。他脊椎動物と異なる点は、屢々 paraventricular と supraoptic nuclei の間で繊維に大きな不規則な ending が認められ、この ending から突起が種々の方向に出ることで、繊維、終末、突起何れも濃染顆粒をもつが、ending の中心部はやや明るい像を示す。infundibular process は猿と同様で、終末は毛細管に終るが小葉構造は猿ほど明でない。以上の事実について考察を加えて、著者は neurosecretory material は hypothalamus と下垂体腺葉間の hormonal link として役立つものと考えている。 (西田司一)

Pigmented interstitial cells showing "brown degeneration" in the ovaries of old mice

DEAN, H. W. & D. W. FAWCETT (1952): Anat. Rec., 113, (2); 239~243

Ce 及 C57 black 系の老雌マウスの卵巢では間質組織に黄褐色の lipid 様の色素を大量に蓄積する (FEKETE '46 の lipochrome)。このものは組織化学的には老マウス副腎に見られる brown degeneration のものと同じ様である。本研究では一側は BOVIN 固定、HARRIS の haematoxylin 及び eosin 染色、他側は 10% formalin 固定凍結切片とした (Cont. は acetone 抽出)。染色は Sudan black B, ASHDEL & SELIGMAN ('49) 法、前処置せずに Schiff reagent, 4% chromic acid で 1 時間酸化後 SCHIFF, SCHULTZ 法を使用した。その結果両系老雌の卵巢間質の黄褐色色素は、acetone に不溶、sudanophilic で、SCHULTZ 反応陽性で蛍光性であること、卵巢腫瘍の発生とは関係はないこと等が確かめられた。 (西田司一)