 総 説

Giemsa, May-Grünwald-Giemsa および Wright 染色法の歴史的考察

癌研究会附属病院中央検査部

原島 三郎

細胞診において、Papanicolaou 染色法について使用されている Giemsa 染色法 (1904), May-Grünwald-Giemsa 染色法 (1908) と Wright 染色法 (1902) について原法の内容と発表年度を調査し、原法と現在用いられている変法との間の染色方法の変遷について検討した。

Giemsa 染色法では蒸留水を用いた原法よりリン酸緩衝液を用いる変法の方が良好な染色所見を示した。May-Grünwald-Giemsa 染色法では原法変法ともに良好な染色所見を示した。Wright 染色法では原法より変法の方が良好な染色所見を示した。

これらの染色法の歴史についてみると、メチレン青とエオジンの単純な混合液の染色より始まり、メチレンアズールを含み Romanowsky 効果を有する染色法に発展し、至適 pH の検討によりリン酸緩衝液が使用されて安定した染色所見が得られるようになった。

現在世界中で広く、これらの方法は用いられているが、染色方法のより簡略化が研究されている。

Key words : Staining—Original report—Giemsa—May-Grünwald-Giemsa—Wright

I. はじめに

マラリア原虫染色法および血球染色法として開発された Giemsa 染色法、May-Grünwald-Giemsa 染色法と Wright 染色法は、細胞診断の領域では Papanicolaou 染色法について使用されており、日本臨床細胞学会雑誌 21 巻と 22 巻に掲載されている原著または症例報告のなかで、染色法の記載のある 130 篇中、Papanicolaou 染色法は 114 篇 87.7%、Giemsa 染色法は 33 篇 25.4% を占めている。これらの大部分は両者の併用例であるが、Giemsa あるいは May-Grünwald-Giemsa 染色法を単独に使用している報告が血液、リンパ節と乳腺疾患で各 1 篇ずつ認められる。このことは Giemsa 染色法あるいは

May-Grünwald-Giemsa 染色法が血液、骨髄、リンパ節、胸腹水と乳腺疾患などで細胞の脱落が少なく、標本が乾燥しても染色することができるとし、細胞の核、細胞質と細胞質内顆粒染色所見が美麗で細胞鑑別上有用であるといわれていることによるものと思われる。

さて、Giemsa 染色法、May-Grünwald-Giemsa 染色法と Wright 染色法は開発されてから約 80 年の歳月を経ており、現在では原法の内容と発表年度は不明瞭となりつつあり、しかも変法の内容は各成書により一定していない。たとえば、臨床検査法提要¹²⁾、日本血液学全書²⁰⁾と細胞診全書²⁹⁾に記載されている May-Grünwald-Giemsa 染色法はおおの異なっている。そして、Koss, L. G.¹⁴⁾ の Diagnostic cytology と臨床検査法提要¹²⁾に記載されている Wright 染色法の内容に差異がある。また、発表年度についてみると May-Grünwald-Giemsa 染色法は 1911 年と日本血液学全書²⁰⁾と細胞診全書²⁹⁾に記載されているが、日野²⁹⁾は 1908 年としている。

そこで、これらの染色法の歴史をたどり、原法の内容と発表年度の記録を残し、さらに現在使用されている変法の実態を確めることは、染色法の流れと原法より変法

On the historical review of the Giemsa's, May-Grünwald-Giemsa and Wright's stain

Saburo HARASHIMA, M.D., F.I.A.C.

Cancer Institute Hospital, Central Laboratory

論文別刷請求先 ☎170 東京都豊島区上池袋1の37の1
癌研究会附属病院中央検査部 原島三郎

昭和60年6月10日受付

昭和61年4月18日受理

への変遷の程度を知ることができて有意義と思われる。

II. Giemsa 染色法, May-Grünwald-Giemsa 染色法と Wright 染色法の原法について

19世紀末に染料化学の急速な発展があり、色素の種類が増加し、血球の染色法は単染色より複染色に移行し始めた。その頃、欧州各地にみられたマラリヤの診断のために血球中のマラリヤ原虫を染色する必要があった。しかし、メチレン青やエオジンの単染色では確定的な細胞質と核の染め分けが困難であった。ところが1890年にロシアの首都ペテルスブルグの内科医 Romanowsky, D. は「マラリヤ寄生虫の構造の問題について」という題名の論文をロシア語で発表した。この論文の抄録が1891年のドイツの細菌学中央雑誌²⁵⁾に掲載され、注目されることとなった。Romanowsky は血液乾燥標本を火焰固定し、105~110度で45~60分乾燥し、2容積の水性メチレン青と5容積の1%水性エオジンを混合し、1~24時間染色後、水洗し、カナダバルサムで封入すると、3日熱マラリヤ原虫の細胞質は明るい青色に染まり、周囲に明るい暈を有する核が紫赤色に染まると述べている。それ以来、核が紫赤色に染まることを Romanowsky 効果と称するようになったが、Romanowsky の記述に従って行われた追試では Romanowsky 効果は得られなかった。一方、ドイツのシレジア地方のブレスラウの Malachowski, E. はメチレン青とエオジンの混合液による血液染色法を研究していたが、礬素をメチレン青とエオジンの混合液に加えると核が良く染まることを発見し、1890年のシレジア地方文化協会で報告し、ブレスラウ生理学協会で標本を展示したことが、1891年のドイツの臨床医学中央雑誌¹⁶⁾に掲載されている。しかし、この Malachowski の業績は注目されることなく、そのまま埋もれてしまった。そして、1898年になって、Nocht, B. の研究により、Romanowsky 効果を生じる物質がアルカリ性多染性メチレン青であることが明らかになり、ついで Nocht の指導を受けた Giemsa, G. により Romanowsky 効果を有する新染色法が確立されることになった。

1. Giemsa 染色法

ハンブルグの船員熱帯病病院に勤務していた Giemsa, G.⁵⁾ は1902年に Romanowsky 効果を有する物質はメチレン紫とメチレンアズールであるとし、これらの色素を用いたマラリヤ原虫染色法の予報を発表し、1904年にアズールⅡエオジン 3.0 g, アズールⅡ 0.8 g, グリセリン 250.0 g を60度Cに加温し、メチルアルコール 250.0

g を加え、24時間室温におき、濾過した染色液を原液として用いた Giemsa 染色法の原法⁶⁾を発表した。

Giemsa 染色法 (原法) 1904

(1) 乾燥した塗抹標本をエタノールまたはより迅速にメタノール中に(2~3分)保つ。吸取紙で水をとる。

(2) 蒸留水 1 ml に Giemsa 原液を1滴加えた染色液を広口の目盛付反応コップに入れ、振盪する。あらかじめ水を30~40度Cに加温すると染色を引き立てる。

(3) 塗抹標本に染色液を溢れるほど注ぎ、10~15分染色する(5分では十分でないため)。

(4) 激しい水の噴射で洗う。

(5) 吸取紙で水を取り、乾燥し、カナダバルサムで封入する。

その後、Giemsa は1934年に多少内容を変化させた染色法⁷⁾を発表している。

(1) 血液塗抹標本を純アルコールまたはエーテル・アルコール等量液で30分またはメタノールで5~10分間固定する。

(2) 蒸留水または緩衝液 10 ml に Giemsa 原液を10滴加えた染色液で、30~40分間染色する。

(3) 水洗し、乾燥する。

そのほかに、Giemsa は迅速染色法を1910年と1934年に発表している。

2. May-Grünwald-Giemsa 染色法

1901年にドイツの Pappenheim, A.²¹⁾ は多染性メチレン青を前染色に用いた Triacid 染色法を発表し、血液染色法に複染色法を用いることを企てている。ついで1906年に Pappenheim²²⁾ は Acta Haematologica のなかに May, R. の May-Grünwald 染色液で染めたのちにメチレンアズールⅠを用いて後染色をする染色法を抄録し、その続きに次の2つの自分の染色法を追記している。

最初の方法は、まずデッキグラスをコルネットピンセットで熱固定または May-Grünwald 液で2分間固定する。それから、蒸留水を数滴滴下し、5分間染色する。次に、5 ml の蒸留水に5滴の Giemsa 原液を入れた染色液で3分間染色する。激しい流水で水洗し、送風機または濾紙の間で乾燥し、カナダバルサムで封入する染色法である。

ほかの方法は、固定した標本に 2 ml のメチルアルコール性 May-Grünwald 溶液に5滴の Giemsa 染色液を加えた染色液を載せ、蒸留水を2滴加え、3分後に蒸留水で水洗し、乾燥して封入する染色法であり、これらの方法が May-Grünwald-Giemsa 染色法のプロトタイプであると思われる。

続いて Pappenheim は「Panoptische Universalfärbung für Blutpräparate」の標題で、May-Grünwald-Giemsa 染色法の原法²³⁾を 1908 年に発表した。

May-Grünwald-Giemsa 染色法 (原法) 1908

- (1) 空気乾燥したデッキグラスを (コルネットピンセットで挟み) May-Grünwald 液で約 3 分間固定する。
- (2) 2~3 滴の蒸留水を加える。まずエオジンに染まった赤血球が純粋な淡紅色の地を呈する May 染色を開始する。染色時間は 3~4 分間である。
- (3) May 染色液を捨て、(蒸留水 2~3 ml に約 3 滴の原液を入れた) 濃厚な Giemsa 染色液を注ぐ。染色時間は 4~5 分間である。
- (4) 蒸留水で強く水洗する。火焰の上でなく乾燥し、封入する。

この方法が、May-Grünwald-Giemsa 染色法、Pappenheim 染色法または Panoptic bloodstaining といわれている染色法であり、本邦で多くの成書に引用されている 1911 年の Pappenheim²⁴⁾ の文献には、トルイジン青を加えた染色法が記載されており、May-Grünwald-Giemsa 染色法の原法の記載はない。

3. Wright 染色法

1899 年に英国、ロンドンの Jenner, L.¹¹⁾、1902 年にドイツ、ミュンヘンの May と Grünwald¹⁷⁾ は通常のメチレン青とエオジンのアルコール溶液の混合液を用いて固定と染色を同時に行う方法を発表しているが、これらの方法では Romanowsky 効果は得られなかった。重炭酸ソーダを加えたメチレン青とエオジンのアルコール性染色液を用いることにより、Romanowsky 効果がありしかも短時間で固定と染色のできる方法を 1902 年に発表したのは、米国、ボストンの Wright, J.H.²⁷⁾ であった。

Wright 染色法 (原法) 1902

- (1) 血液塗抹標本を薄く引き、空気乾燥する。
- (2) アルコール性染色液で 1 分間標本を覆う。
- (3) 標本上の染色液口、混合液が半透明になり、黄色の金属性かすが表面に浮上するまで十分に水を滴下する。2~3 分間混合液をそのままにしておく。
- (4) 水、できれば蒸留水で、標本のうすい部分または良く伸びた部分が黄色またはピンク色になるまで水洗する。
- (5) 濾紙の間で乾燥し、バルサムで封入する。

その後、Wright²⁸⁾ は 1910 年に多少表現を変えた方法を発表している。

- (1) Wright 染色液を滴瓶で滴下し、標本を覆う。1 分間。
- (2) 等量の蒸留水を滴下し、混和する。2~3 分間その

ままにしておく。

- (3) 30 秒間水洗し、または標本のうすい部分が黄色あるいはピンク色になるまで水洗する。
- (4) 乾燥し、バルサムで封入する。

III. 日常検査として現在用いられている Giemsa 染色法、May-Grünwald-Giemsa 染色法と Wright 染色法 および染色条件の検討

現在本邦で調査が可能な臨床検査法書と検査関係雑誌などに記載されている Giemsa 染色法、May-Grünwald-Giemsa 染色法と Wright 染色法の内容を調査し、原法との差異を明らかにした。

1. Giemsa 染色法

メタノールの固定時間は 1~5 分で 2 分間が多い。Giemsa 原液の希釈液は蒸留水よりも pH 6.4 の 10 倍希釈リン酸緩衝液が広く用いられている。希釈濃度は希釈液 1 ml に Giemsa 原液 1~1.5 滴であり、染色時間は 15~30 分間で気温により調節されている^{6,8,10,12,15,19,30)} (表 1)。

2. May-Grünwald-Giemsa 染色法

May-Grünwald 染色液による固定時間は 1~3 分間である。希釈液には pH 6.4 の 10 倍希釈リン酸緩衝液を染色液と等量用い、希釈液 1 ml に Giemsa 原液を 1~3 滴加えた Giemsa 染色液による染色時間は 5~20 分間である^{4,8,10,12,13,23)} (表 2)。

3. Wright 染色法

Wright 染色液による固定時間は 1~3 分間であり、希釈液には pH 6.4 の 10 倍希釈リン酸緩衝液が染色液と等量用いられている。染色時間は原法より長い 4~7 分間が多い^{4,8,10,12,18,26,27)} (表 3)。

4. Giemsa, May-Grünwald-Giemsa および Wright 染色法の染色条件の検討

3 染色法に用いられている染色液中に含まれているエオジン (Eosin Y) は酸性色素であり、細胞中に含まれているエオジンと反対に荷電している塩基性物質と結合して赤色、紅色を呈する。メチレン青 (Methylene Blue) は塩基性色素であり、酸性物質と結合して青色を呈する。アズール II (Azur II) も塩基性色素であり、酸性物質と結合して紫赤色を呈する。

これらの色素には染色上至適 pH があり、溶媒がアルカリ性に傾くとメチレン青が良く染まり、酸性に傾くとエオジンが良く染まるようになる。しかし、細胞のように塩基性物質と酸性物質の両方を含んでいる場合には一

表 1 Giemsa 染色法

Name	Giemsa, G. ⁹⁾	金井, 金井 ¹²⁾	Lynch, M.J., et al. ¹³⁾	新谷 ¹⁹⁾	糸賀 ¹⁰⁾	日野 ⁸⁾	山口 ³⁰⁾	原島
Year	1904	1968	1969	1970	1972	1977	1978	1986
メタノール固定	2～3'	1～5'	3'	2'	1～2'	1～5'	2'	2'
希釈液	distilled water	buffer	buff.	buff.	buff.	buff.	buff.	buff.
pH		6.3～6.5	6.8	6.4	6.4	6.4	6.4	6.4
希釈液 Giernsa 原液	1m/ 1 drop	1m/ 1～1.5 drops	9～15m/ 1m/	1m/ 1.5 drops	1m/ 1～1.5 drops	1m/ 1～1.5 drops	1m/ 1～1.5 drops	1m/ 1 drop
染色時間	10～15'	15～30'	15～60'	15～20'	20～30'	15～30'	15～30'	15～30'
分 別		1'			1'			

表 2 May-Grünwald-Giemsa 染色法

Name	Pappenheim, A. ²³⁾	加藤 ¹³⁾	金井, 金井 ¹²⁾	新谷 ¹⁹⁾	糸賀 ¹⁰⁾	Davidsohn, I. and Nelson, D.A. ⁴⁾	日野 ⁸⁾	原島
Year	1908	1948	1968	1970	1972	1974	1977	1986
May-Grünwald 液による固定	3'	2'	3'	1'	2～3'	1'	1～3'	1'
希釈液	distilled water	distilled water	distilled water	buffer	buff.	buff.	buff.	buff.
pH				6.4	6.4	6.4	6.4	6.4
希釈液量	2～3 drops	等量	等量	等量	等量	等量	等量	等量
May-Grünwald 希釈液 染色時間	3～4'	3'	1'	3'	2～3'	1'	2～6'	1'
蒸留水	2～3m/		1m/			10m/		
リン酸緩衝液		9m/		1m/	1m/		1m/	1m/
Giernsa 原液	3 drops	1m/	1 drop	2～3 drops	1～1.5 drops	1m/	1～1.5 drops	1 drop
Giernsa 染色時間	4～5'	12～14'	10～20'	10～15'	10～15'	15～20'	5～10'	20'
分 別					1'			

方のみ染色では細胞を全体的に表現できないので、両方の色素が比較的良く染色される範囲内の pH で染色する必要がある。そこで、pH の異なる緩衝液による染色所見の変化、緩衝液、水道水と蒸留水の pH と染色に係るその他の因子について検討を試みた。

(1) 緩衝液の pH と染色所見について

Wright 染色法の変法を用い、染色時間を7分間とし、リン酸緩衝液の pH を 4.5～5.0, 6.0～6.5, 7.0, 8.0～9.0 の4段階に分け、同一人の血液標本を染色し、比較したところ、表4にみられるように pH 6.0～6.4 が最も良好に染まった。次に pH 7.0 が良く、pH 4.5～

5.0 と 8.0～9.0 は不良であった。

(2) 蒸留水、水道水とリン酸緩衝液の pH の検討

蒸留水は各染色法の原因に用いられているが pH の記載はないので、現在入手できる蒸留水とイオン交換水の pH を測定してみた。pH メーターで注射用蒸留水の pH を測定してみると pH 5.42 であり、イオン交換水の pH は 5.66～5.78 でいずれも酸性であった。次に癌研究会附属病院中央検査部内の2箇所の水道蛇口より採取した水道水の pH を測定してみると、pH は 6.98 と 7.01 で中性を示した。pH 6.43 のリン酸緩衝液をイオン交換水で10倍に希釈したのちの pH は 6.42、水道水で10倍

表 3 Wright 染色法

Name	Wright, J.H. ²⁷⁾	Wintrobe, M.M. ²⁶⁾	Miale, J.B. ¹⁸⁾	金 井, 金 井 ¹²⁾	糸 賀 ¹⁰⁾	Davidsohn, I. and Nelson, D.A. ⁴⁾	日 野 ⁹⁾	原 島
Year	1902	1956	1967	1968	1972	1974	1977	1986
メタノール固定			15"					
Wright 液固定と染色	1'	1'	1'	1~3'	2~3'	2'	1~3'	1'
希釈液の種類	water	distilled water	buffer	buff.	buff.	buff.	buff.	buff.
pH 量	十分に	等量	6.4 等量	6.4 等量	6.4 等量	6.4 等量	6.4 等量	6.4 等量
染色時間	2~3'	3~4'	8~10'	4~7'	5~7'	3~4'	2~6'	7'
分 別					1'	5~30"		

表 4 緩衝液の pH と染色所見

緩衝液の pH	核	特 殊 顆 粒
4.5~5.0	よく染まらない	好酸性顆粒のみよく染まる
6.0~6.5	よく染まる	好酸性, 好中性, 好塩基性顆粒はいずれもよく染まる
7.0	染まりが強くなる	好塩基性顆粒は濃染する
8.0~9.0	濃染する	好塩基性顆粒は濃染し, 好酸性顆粒は灰青色を帯びる

に希釈したのちの pH は 6.48 であり, リン酸緩衝液は十分な緩衝能力を有していた. これらからみると, pH 6.4 のリン酸緩衝液が最も良い各染色法に対する希釈液であり, 次に利用できるのが水道水であり, 蒸留水は酸性に偏りすぎていた.

(3) 3 染色法の原法と変法の比較

各原法と表 1, 2 と 3 に記載してある著者が日常使用しているおのおの変法で, 同一人の末梢血液標本中の血球または骨髓吸引細胞診標本中の腎盂癌細胞を染色して比較した.

Giemsa 染色液と May-Grünwald-Giemsa 染色液は Merck の製品, Wright 染色液は武藤化学薬品の製品を用いた.

Giemsa 染色法: 原法では赤血球は淡紅色または黄褐色を呈し, アズール顆粒は褐色または淡赤紫色を呈した. 腎盂癌細胞の核は赤紫色で細胞質は淡青藍色を呈した. 変法では赤血球は淡紅色を呈し, アズール顆粒は紫赤色を呈した. 腎盂癌細胞の核は赤紫色で, 細胞質は青藍色を呈した (写真 1, 2).

May-Grünwald-Giemsa 染色法: 原法, 変法ともに血球および腎盂癌細胞の核, 細胞質の染色は良好であった (写真 3, 4).

Wright 染色法: 原法では赤血球はやや褐色調を帯びた褐紅色または淡紅色を呈し, 腎盂癌細胞の核の染色性がやや弱い傾向が認められたが, 変法では赤血球は淡紅色に染まり, 腎盂癌細胞の核は赤紫色に染まった (写真 5, 6).

(4) 染色液の製造所が異なると染色性が同一でないことがある原因について

同じ名称の染色液を使用しても, 製造所が異なると全く同一の染色所見は得られないため, 染色時間, 濃度と色出しなどの調整が必要である. 日野⁹⁾ はアズールに A と B とがあり, これらの含有量が製造所により同一でないとしており, このことが染色液の染色性の微妙な差に関係している可能性がある.

(5) 気温および細胞数と染色性について

気温が高いときには染色が進むので染色時間を短くし, 低いときには長くする必要がある. また, 標本上の細胞が多数のときは, 染色時間を長くするか染色濃度を濃くし, 鏡検しながら染色するのが望ましい.

(6) Giemsa, May-Grünwald-Giemsa と Wright 染色法の変法の比較と染色法の簡略化について

Giemsa 染色法の変法の手技は簡単で核は良く染まるが, 好塩基性顆粒が脱落したりして良く染まらない欠点がある. Wright 染色法の変法の染色時間は短く, 核, 顆粒, 細胞質は良く染まり実用である. May-Grünwald-Giemsa 染色法の変法は顆粒と細胞質を染色する May-Grünwald 染色法と核を良く染色する Giemsa 染色法の両方の特徴を備えており, 美麗な染色所見を得ることができて panoptic bloodstaining と称するに値する染色法である.

以上のように, 現在使用されている Giemsa, May-Grünwald-Giemsa と Wright 染色法は原法が発表され

てから約80年の間に、入手可能な染色液に合わせて、より安定な、より良好な染色所見が得られるように改良されたため、各成書に記載されている内容に差がみられるようになったと思われるが、原法なのか変法なのか明記した成書がないことに問題がある。

最近になって、自動染色機と自動血球分類機が血液検査に導入されつつあり、これに付随して血液染色法には簡略化の方向に進む傾向が認められる。たとえば、1970年版の *Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*¹⁾ の血液染色法の項目には Giemsa 染色法, Wright 染色法と May-Grünwald-Giemsa 染色法の3法が記載されているが、1980年版²⁾には Wright-Giemsa 染色法と Automated staining : Hema-Tek automated slide stainer の2法しか記載されていない。そのなかの Wright-Giemsa 染色法は、最初に Wright 染色をし後染色に Giemsa 染色をする従来の方法ではなく、最初から Wright 染色液粉末と Giemsa 染色液粉末を混合して作った染色液を使用し、染色効果を保持し染色時間を短縮するような内容になっている。

Wright-Giemsa 染色法

染色液 Wright 染色液粉末 9g

Giemsa 染色液粉末 1.0g

グリセリン 90ml

無水メタノール 2,410ml

染色方法

- (1) 空気乾燥標本を用意する。
- (2) 染色液で3分間固定する。
- (3) 等量の緩衝液を加える。
- (4) 3~6分間染色する。
- (5) 中性蒸留水で水洗する。
- (6) 乾燥し、封入する。

また、染色時間が短時間ですむ迅速染色法として以前に Field 染色法¹⁰⁾があったが、最近になって Diff-Quik 染色法³⁾が発表され、細胞診に有用であると記載されている。Diff-Quik 染色法は第I, IIとIII液に5回ずつ乾燥標本を出入させ(約5秒間ずつ)、固定と染色が終了し、水洗と乾燥に移る迅速染色法である。

IV. おわりに

Giemsa 染色法, May-Grünwald-Giemsa 染色法と Wright 染色法の歴史についてみると、メチレン青とエオジンの単純な混合液による染色に端を発し、メチレンアズールを含み Romanowsky 効果を有する染色法に発展し、至適 pH を有するリン酸緩衝液の使用により安定

した良好な染色所見が得られるようになり、現在日常検査で広く使用され、細胞診においても Papanicolaou 染色法について使用されている。

しかし、各染色法の内容は原法発表以来80年の経過によって改良され原法より変法している。

そして、血液検査自動化の進展とともに、Romanowsky 効果を有する染色法にも簡略化への傾向が現れてきている。

Summary

Upon cytological diagnosis, Giemsa's, May-Grünwald Giemsa and Wright's stain come next to the Papanicolaou's stain. An original report of Giemsa's stain (1904), May-Grünwald-Giemsa stain (1908) and Wright's stain (1902) were cited.

Also the original method was compared with the recent modified one by using the same blood smears. The Giemsa's stain solution diluted with phosphate buffer stained better than the solution diluted with distilled water. The original May-Grünwald-Giemsa method had the same quality of staining as the varied one. The varied Wright's stain was better than the original.

With respect to the history of these three staining methods, the method began by the simple mixture of methylen blue and eosin then it was developed into the Romanowsky effect by addition of methylen azur. Then its stability was increased by the use of phosphate buffer.

Studies on simplification of these staining methods are under investigation though now three staining methods are used widely throughout the world.

文 献

- 1) Bauer, J.D.: Clinical laboratory methods and diagnosis, Vol. 1, pp. 506~508, C.V. Mosby Co., St. Louis, 1970.
- 2) Bauer, J.D.: Clinical laboratory methods and diagnosis, Vol. 1, pp. 763~764, C.V. Mosby Co., St. Louis, 1980.
- 3) Fable, W.J.: Needle aspiration biopsy cytology of the head and neck, 1. Lymphnodes and salivary gland appendix, Tutorial of cytology, Chicago, 1984.
- 4) Davidsohn, I. and Nelson, D.A.: Clinical diagnosis by laboratory methods, pp. 137~144, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1974.
- 5) Giemsa, G.: Färbemethoden für Malariaparasiten, Zentralblatt f. Bak., 31: 429~430, 1902.

- 6) Giemsa, G. : Eine Vereinfachung und Vervollkom-mung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Fä-rbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Noch-tschen Chromatinfärbung, *Centralblatt f. Bak.*, 37 : 308~311, 1904.
- 7) Giemsa, G. : Geschichte, Theorie und Weiterentwic-klung der Romanowsky-Färbung, *Die medizinische Welt*, 46 : 1422~1434, 1934.
- 8) 日野志郎 : 血球染色, *Medical technology*, 5 : 1116~1120, 1977.
- 9) 日野志郎 : 血液塗抹標本染色法の歩み, *Clinical Labora-tory*, 26 : 990~993, 1982.
- 10) 糸賀 敬 : 臨床検査技術全書, 3, 血液検査, pp. 100~103, 医学書院, 東京, 1972.
- 11) Jenner, L. : A new preparation for rapidly fixing and staining, *Lancet*, 1 : 370~371, 1899.
- 12) 金井 泉, 金井正光 : 臨床検査法提要, pp. 34~39, 金原出版, 東京, 1968.
- 13) 加藤勝治 : 血液学研究法, pp. 427~443, 南山堂, 東京, 1948.
- 14) Koss, L.G. : Diagnostic cytology, pp. 610, J.B. Lip-pincott Co., Philadelphia, 1968.
- 15) Lynch, M.J., et al. : Medical laboratory technology and clinical pathology, pp. 640~644, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1969.
- 16) Malachowski, E. : Zur Morphologie des Plasmodium malariae, *Centralblatt f. Klin. Med.*, 31 : 601~603, 1891.
- 17) May, R. and Grünwald, L. : Über Blutfärbung, *Cent-ralblatt f. Inn. Med.*, 11 : 265~270, 1902.
- 18) Miale, J.B. : Hematology, pp. 1128~1129, C.V. Mos-by Co., St. Luis, 1967.
- 19) 新谷和夫 : 一般染色法, 臨床病理特集号, 13 : 4~10, 1970.
- 20) 大北 威 : 日本血液学全書, 6, 1, 古典の血球検査術式, pp. 72~100, 丸善, 東京, 1964.
- 21) Pappenheim, A. : Eine panoptische Triazidfärbung, *Dtsche. Med. Wochenschr.*, 46 : 798~799, 1901.
- 22) Pappenheim, A. : Eine neue Methode der Romano-wsky-Färbung, *Folia Haemat.*, 3 : 344, 1906.
- 23) Pappenheim, A. : Panoptische Universalfärbung für Blutpräparate, *Med. Klinik*, 32 : 1244, 1908.
- 24) Pappenheim, A. : "Panchrom", eine Verbesserung der panoptischen Universalfarblösung für Blutprä-parate jeder Art nebst Ausführungen über metach-romatische Farbstoffe und die metachromatische Potenz des polychromen Methylenblau (Unna), *Folia Haemat.*, 11 : 194~218, 1911.
- 25) Romanowsky, D. : Zur Frage über den Bau der Ma-lariaparasiten, *Centralblatt f. Bak.*, 10 : 163, 1891.
- 26) Wintrobe, M.M. : Clinical hematology, pp. 405~406, Lea and Febiger, Philadelphia, 1956.
- 27) Wright, J.H. : A rapid method for the differential staining of blood films and malaria parasites, *J. Med. Res.*, 7 : 138~144, 1902.
- 28) Wright, J.H. : Revised directions for making and using the Wright blood-stain, *JAMA*, 55 : 1979, 1910.
- 29) 山岸紀美江 : 細胞診全書, II, 検体処理および一般染色, pp. 19~22, 宇宙堂八木書店, 東京, 1980.
- 30) 山口延男 : 普通染色, 臨床病理特集号, 34 : 4~23, 1978.

写真 1 Giemsa 染色法の原法, 腎盂癌細胞,
×1,000

核は淡赤紫色または赤紫色に染まり, 細胞質は青色, 淡青藍色, 青藍色に染まっている

写真 2 Giemsa 染色法の変法, 腎盂癌細胞,
×1,000

核は赤紫色に染まり, 核構造, 核形不整は明瞭で, 細胞質は青藍色に染まっている

写真 3 May-Grünwald-Giemsa 染色法の原法, 腎
盂癌細胞, ×1,000

核は赤紫色に染まり, 核構造, 核形態は明瞭で, 細胞質は青藍色に染まっている

写真 4 May-Grünwald-Giemsa 染色法の変法, 腎
盂癌細胞, ×1,000

核は赤紫色に染まり, 核構造, 核形態, 核小体形態は明瞭で, 細胞質は青藍色に染まっている

写真 5 Wright 染色法の原法, 腎盂癌細胞,
×1,000

核は淡赤紫色で染色性が弱い. 細胞質も染色が不十分である

写真 6 Wright 染色法の変法, 腎盂癌細胞,
×1,000

染色時間を延長すると, 核および細胞質の染色は良好となる