- 腎臓疾患の病理及療法, 第 7 版 (1938)
腎臓疾患の診断より治療迄 (1950)
- 5) 中沢房吉: : 日本内科学会雑誌, **40**, 48, 7 (昭 26)
 - 6) 楠井賢造: 内科及小児科 **3**, 464 (昭 18)
 - 7) 楠井賢造: 日本臨床 **7**, 389 (昭 24)
 - 8) 楠井賢造: 内科及小児科 **2**, 455 (昭 17)
 - 9) 楠井賢造: 日本臨床 **9**, 843 (昭 26)
 - 10) 中沢房吉: 日本臨床 **9**, 799 (昭 26)
 - 11) 布施信良: 日本臨床 **9**, 814 (昭 26)
 - 12) 楠井賢造: 治療, **34**, 10 (昭 27)
 - 13) 楠井賢造: 臨床, **4**, 6 (昭 26)
 - 14) 楠井賢造: 治療, **33**, 7 (昭 26)
 - 15) 山口寿: 臨床の進歩, **3**, 257 (昭 25)
 - 16) 大島研三: 日本臨床 **8**, 12 (昭 25)

結核菌検索に於けるオオラミン染色の 各種条件についての比較研究

螢光法による結核菌検出法の改善に関する研究

第 7 報

日本医科大学臨床検査所

蓑 茂 上 高 椋 卯 吉 青 木 孝 夫
Takasi Minomo Ukuti Takamuku Takao Aoki

ま え が き

結核菌検出に螢光法を用いて居ると或る時には非常に綺麗な標本が出来るかと思うと、又或る場合には螢光が弱くてとても見にくい標本が出来たりする。

そこで私達は是等の原因を究明し、常に一定した優良い標本を作る目的で染色条件を色々変えて、これに検討を加えたので以下報告する。

検査方法及び被検材料

(1) 染色液の調製法

オオラミン末 0.1 瓦を純酒精 10 cc に溶解し、これに溶媒 (特にことわらない場合は 5% 石炭酸水) 100 cc を加えたもの

(2) 染色条件

特にことわらない場合は 30°C の定温で 10 分間上記染色液にて染色後、1% 塩酸アルコールにて 1 分間脱色、10 倍メチレン青液にて 10 秒間後染色を行う。(註) 定温染色には蓑茂の考案した定温染色装置を用いた。

(3) 鏡検条件

光源 SHL 100 UV, 光源フィルター硫酸銅安門水槽 (厚さ 3.5 cm), 接眼フィルターイワキ FY 4, 顕微鏡 ESA 型。

硫酸銅安門水槽組成: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 8.33 瓦, 33% 強アンモニア水 ($d=0.880$) 100 cc, 餾水 166 cc

(4) 被検材料

結核患者 市川, 佐藤の喀痰

実 験 成 績

(1) 固定条件, 固定時間と螢光の強さの比較

加温固定の好適温度は 150°C で 1~10 分間行う方が良く、加温固定の温度が低くとも又高過ぎても螢光が弱いことが分つた。又固定液を用いた場合は純アルコールが一番良かった。(第 1 表参照)

(2) オオラミンの各社製品についての比較

保土谷化学の製品は FL (螢光染色用として発売のもの) 及び同社の工業用, 其他大和化工, 特殊化学 (製品及びこれを精製したもの), メルクの 6 種を用いた。大和化工製品は鱗片状の黄緑色結晶, 他は粉末状, メルク, 特殊化学精製品は黄色, 他は茶褐色である。

第1表 固定条件, 固定時間と螢光の強さの比較

固 定 条 件	固 定 時 間 (分)	螢光の強さ	
固 定 セ ズ		卅	
ホ ル マ リ ン	10	卅	
メ タ ノ ー ル	10	卅	
純 アル コ ー ル	10	卅	
加温固定の温度（乾熱滅菌器中に於て固定）	100°C	1	卅
		3	卅
		5	卅
		10	卅
		20	卅
	150°C	1	卅
		3	卅
		5	卅
		10	卅
		20	卅
	200°C	1	卅
		3	卅
		5	+
		10	+
		20	みえない

視野の色は紫, 結核菌の螢光の色は黄金色

第3表 オオラミンの溶解に用いる溶媒についての比較

媒 染 剤	溶液の外観	視野の色	結 核 菌	
			螢光の色	螢光の強さ
5% 石炭酸水	黄色 潤濁	藍~紫色	黄金色	卅
5%ホルマリン水	黄色 透明		みえない	+
溜 水	やや淡黄色 透	藍~紫色	黄金色	+
5%クローム酸水	褐色 不透明		みえない	みえない
2% 醋酸水	やや淡黄色 透	藍~紫色	淡黄色	+
20% タンニン酸水	黄 褐色 潤濁 沈澱		みえない	みえない
5% 重曹水	黄色やや潤濁	藍~紫色	黄金色	卅
5% アニリン水	黄色 潤濁	藍~紫色	黄金色	卅
2% 明バン水	黄色 透明	藍 色	黄 色	+
0.01% 苛性カリ液	黄色 潤濁	藍 色	黄 色	+
1% 修酸アンモン液	黄色 透明	藍 色	黄 金色もあり	+

オオラミンは保土谷化学 FL, 後染色メチレン青 10×液にて 10 秒間染色。
+, 卅, 卅……は結核菌の螢光の強さを示す。

是等を純アルコールに溶解後, 5%石炭酸水を加えて染色液を調製した場合, 大和化工製品のみ黄色透明, 他は黄色で潤濁する。

結核菌の螢光の強さは是等6種の製品の間に余りたいたし差異は認められなかつた。

強いて差をつけるとすれば, メルク及び特殊化学が多少弱い様に感じられ, 保土谷(工業用)が一番良い様であつた。

故に結核菌染色用としては特に高価なものを使用する必要はなく, 和製の普通の製品で十分間に合うし, 又特にオオラミン0でなくとも宜しい。

(3) オオラミン液の濃度及び染色時間についての比較

オオラミンは 0.1~0.5%, 染色時間は 1~20 分間

第2表 オオラミン液の濃度及び染色時間についての比較

オオラミン FL(%)	1	3	5	10	15	20
0.1	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.2	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.3	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.5	卅	卅	卅	卅	卅	卅

- 1) +, 卅, 卅……は結核菌の螢光の強さを示す
2) いづれも視野の色は紫, 結核菌の螢光の色は黄金色

とした。

実用的には 0.2% オオラミン石炭酸液 5~10 分染色が適当であらう。(第2表)

(4) オオラミンの溶解に用いる溶媒についての比較

オオラミンの溶解に用いる溶媒については第3表の様に比較して観たのであるが, 石炭酸水が最も良かった。

(5) 染色温度及び染色時間についての比較

標本の染色については, 染色温度と染色時

間とが大いに関係することは言うまでもない。

4°~70°C までの間の色々な温度に於て、1~20 分間と染色時間を変えて比較した結果 25°, 30°, 35°C で5分以上染色した場合が最も良く、実用的には5~10 分で充分である。染色温度が 50° 以上になると反つて螢光は弱くなり、又挟雑物の螢光が多くなつて不利である。(第4表)

第4表 染色温度及び染色時間についての比較

染色温度 (°C) \ 染色時間 (分)	1	3	5	10	15	20
4°	+	+	+	+	+	+
15°	+	+	+	+	+	+
20°	+	+	+	+	+	+
25°	+	+	+	+	+	+
30°	+	+	+	+	+	+
35°	+	+	+	+	+	+
50°	+	+	+	+	+	+
70°	+	+	+	+	+	+

いづれも視野の色は紫、結核菌の螢光の色は黄金色

(5) 各種脱色液と脱色時間についての比較

塩酸アルコールの塩酸の濃度を 0.5~10%の間に於

て色々に変えたもの、其の他を第5表の通りに比較したが、従来通り1~3%塩酸アルコールが実用的である。

挟雑物の螢光は余り少くても鏡検の時に焦点を合わせるのに不利である。

(7) 脱色液の温度、脱色時間と螢光の強さの比較

同じ染色液で一定の条件のもとで染色しても、時に依つて螢光が強いことと、そうでないことがある。殊に盛夏の時期に於て結核菌の螢光が極めて弱いことを屢々経験した。

これが如何なる原因に因るかは長い間判らなかつた。私達は脱色液の温度と脱色時間とを色々に変えてみることに依つてこの原因をつかむことが出来た。

即ち脱色液の温度は 30°C 以下の方が良く、それ以上になると、脱色力が強すぎて結核菌の螢光が弱くなることが判つた。(第6表)

(8) 各種後染色液についての比較

後染色液については視野の色、結核菌の螢光の強さ、挟雑螢光の多少等を目標として比較した。(第7表)

その結果はサフラニン液、レフレル氏メチレン青液、パイフェル氏液、過マンガン酸カリ液等で10秒間染色した場合が良好であり、特にパイフェル氏液、過マンガン酸カリ液は挟雑螢光が少なくて好適の様である。

第5表 各種脱色液と脱色時間についての比較

脱色液 \ 脱色時間	30 秒	1 分	3 分	5 分	10 分	15 分	20 分
塩酸アルコール	0.5%	多し	多し	多し	やや多し	少し	少し
	1.0%	やや多し	やや多し	やや多し	やや多し	少し	少し
	2.0%	やや多し	やや多し	やや多し	少し	少し	少し
	3.0%	やや多し	やや多し	少し	少し	少し	少し
	5.0%	やや多し	やや多し	少し	少し	少し	少し
	10.0%	少し	少し	少し	少し	少し	少し
4%食塩加1%塩酸アルコール	多し	多し	やや多し	少し	少し	少し	少し
アルトン等量液	多し	やや多し	やや多し	やや多し	少し	少し	少し
5%硝酸水	多し	やや多し	少し	少し	少し	少し	少し
3%塩酸水	やや多し	やや多し	やや少し	やや少し	少し	少し	少し

1) いづれも視野の色は紫、結核菌の螢光の色は黄金色、螢光の強さは +++

2) 被検材料である喀痰中に含まれる挟雑物の螢光の多いものを「多し」少ないものを「少し」

以下これに準ず

第6表 脱色液の温度、脱色時間と螢光の強さとの比較

脱色時間(分) 脱色液の温度(C)	30秒	1	3	5	10	15	20
18°	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
20°	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
30°	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
35°	卅	卅	みえない	みえない	みえない	みえない	みえない
50°	みえない	みえない	みえない	みえない	みえない	みえない	みえない

- 1) +, 卅, 卅, ……は結核菌の螢光の強さを示す。
 2) いづれも視野の色は紫, 結核菌の螢光の色は黄金色

第7表 各種後染色液についての比較

媒 剤 染	視野の色	挾雑螢光	結 核 菌	
			螢 光 の 色	螢 光 の 強 さ
0.25% サフラニン液	赤 紫 色	稍 多 し	黄 金 色	卅
レフレル氏 メチレン青液	10 × 紫 色	稍 多 し	黄 金 色	卅
	原液 紫 色	稍 多 し	黄 金 色	卅
ナイセル氏液	10 × 藍 ~ 紫 色	稍 多 し	黄 金 色	卅
	原液 藍 ~ 紫 色	稍 多 し	黄 金 色	卅
ビスマルク褐液	藍 ~ 紫 色	稍 多 し	黄 金 色	卅
0.1% エオジン液	藍 ~ 紫 色	多 し	黄 金 色	卅
パイフェル氏液	紫 色	少 し	黄 金 色	卅
0.1% コンゴロート液	藍 色	多 し	黄 金 色	卅
1% クリソイジン液	茶 色	多 し	淡 黄 色	+
ギームザ氏液 常水 1cc 滴	藍 ~ 紫 色	稍 多 し	黄 金 色	卅
0.1% 中 性 紅 液	藍 ~ 紫 色	多 し	黄 金 色	卅
0.5% 過マンガン酸カリ液	紫 色	少 し	黄 金 色	卅

挾雑螢光の多少は少し, 多し……として表わした。

む す び

私達は以上第1項より第8項に互る種々の条件に因つて結核菌の螢光の色や強さが変わることを実験した。

それに拠ると, 先づ標本の固定条件としては150°C, 1~10 分間加温固定した場合が最も良く, これよりは温度が低くても又高過ぎても結果は良くなかつた。

オオラミンの種類としては会社に依つて余りたいした差異はなく, 濃度は 0.1% よりは 0.2~0.3% が良く又溶媒としては 5% 石炭酸水が適して居た。

染色温度及び時間については普通は室温 15 分間染色が用いられて居る。然し冬と夏とでは室温に大差があるので染色温度について種々比較したところ, 25°~35°C で5分間以上染色した場合が最も良く, 15°C 以下では 20 分間染色してもこれより劣る様な結果が得られた。又染色温度が 50°C 以上になると反つて螢光は弱くなつた。

脱色液としては従来の 1~3% 塩酸アルコールが良く, 又脱色液の温度が 35°C 位になると結核菌の螢光

が極めて弱くなるので、盛夏の候には脱色液を冷して用う必要があることが分つた。

後染色液としては過マンガン酸加里又はパイフェル氏液の方が挟雑物の螢光が薄く良好であつた。

そこで私達はオオラミンの濃度及び後染色液を変え、其の他は同一条件にして次の様に 46 例の略痰と 4 例の膿汁標本について比較検討した。

即ち第 1 法は 0.1% オオラミン石炭酸溶液を用い、後染色には 10 倍メチレン青液を以て 10 秒間染色

第 8 表 例 数 50 例

菌の螢光の強さ	第 1 法	第 2 法
僅かによいもの	2	15 (濃汁 1)
明かによいもの	1	10
変らないもの	18 (濃汁 3)	

菌数の多小には格別の差は認められない

し、第 2 法は 0.2% オオラミン石炭酸溶液を用い、後染色には 0.5% 過マンガン酸加里液を用いた。

其の他染色温度及び時間は 30°C, 10 分間、脱色液は 1% 塩酸アルコールとし何れも同一条件とした。

その結果 50 例中 25 例は第 2 法の方が螢光が強く綺麗な標本が得られ、21 例は第 1 法、第 2 法共に大差が認められず 3 例は第 1 法の方が良好であつた。(第 8 表)。

オオラミンの精製については科研、大高学士の援助を受けたことについて感謝の意を表する。

主 要 文 献

- 1) 蓑茂上, 高橋卯吉, 青木孝夫: 螢光顕微鏡装置による結核菌の検査方法に関する研究協議会報告 (昭 28.12 月, 昭 29. 2 月)
- 2) 小川辰次, 工藤祐是: 同上報告 (昭 29. 2 月)
- 3) 工藤祐是: 第 8 回日本細菌学会関東支部総会報告 (昭 28. 11 月)

高度の脊柱彎曲を伴つた Recklinghausen 氏病の 1 例

日本医科大学齊藤外科教室 (主任 齊藤 漢教授)

公立酒田病院外科 (医長 石川一策講師)

佐 久 間 孝

Takasi Sakuma

緒 言

多発神経線維腫症 (Multiple Neurofibromatosis) は 1882 年 Recklinghausen が皮膚末梢神経の内膜及び外膜から発生するものとして神経線維腫 (Neurofibrom) と命名してより之を Recklinghausen 氏病という。其の後 1910 年 Verocay は之が無髄神経の Schwann 氏鞘細胞に由来し、神経線維は腫瘍内で分裂するが、変性等の変化なく只結合組織が増殖するので腫瘍が増大するものとし、之を Neurinom と命名した。之より本腫瘍を Neurinomatosse nach Verocay ともいう。即ち全身の末梢神経に多数の神経線維腫を発生し、皮膚では多数の小結節として触れ之に色素沈着をみる。且つこの神経線維腫は神経線維そのものは変化なく従つて何等神経症状を呈しない。神経線維が変化する時は皮下に疼痛性結節 (Tubercula dolo-

rosa) を形成することもあり、又神経根に発生する時は神経痛様症状を呈する。又聴神経に単独に発生すれば聴神経線維細胞腫 (Acoustic neurinom) と言はれ、脳に本腫瘍を発生することがあるとも考えられている。又本腫瘍は屢々家族的に出現し、神経系發育の先天性素質も考えられる他一種の系統線維腫で内分泌腺の異常を伴うものとも考えられている。尙本腫瘍の皮膚象皮病様に肥厚し皺襞或は隆起又は瓣状となつたものは瓣状象皮病 (Vollkmann) 軟性象皮病 (Virchow) 神経象皮病 (Brün) 等といはれている。其他確居氏等によると骨の変化を三主要症候の一に挙げて

私は高度の脊柱彎曲を伴つた巨大象皮病様腫瘍の一症例を経験したので報告する。

症 例