—臨床・実験報告—

いわゆるクロム親和性細胞の検討

西山 明子*・藤井 幸子・杉本 啓治

日本医科大学第1解剖学教室 (指導: 中村逸雄教授)

Observations on the so-called chromaffin cells

Akiko Nishiyama, Sachiko Fujii, and Keiji Sugimoto

The First Department of Anatomy, Nippon Medical School

Various histochemical reactions, such as chromaffin, argyrophilic, and argentaffin reactions, and formalin-induced fluorescence, are commonly used to identify the so-called chromaffin cells which are one of the constituents of the APUD cells. With the purpose of finding out whether the former cells are composed of a single type of cells that possess all these characteristics, two or more methods mentioned above were applied to the adrenal gland, duodenum, and stomach of the male mouse on the same sections.

The procedure used for each reaction was as follows: six hours of fixation in Helly's solution for chromaffin reaction; six hours of fixation in 10% formalin for formalin-induced fluorescence; and methods by Masson-Fontana and by Grimelius for argentaffin and argyrophilic reactions respectively.

In order to find out whether chromaffin cells are the same as argentaffin and argyrophilic cells, silver impregnation was performed on sections which revealed chromaffin cells after fixation in Helly's solution. All the chromaffin cells of the stomach and duodenum were rendered positive by argentaffin reaction while in the adrenal gland only the cells in the medulla with strong chromaffin reaction turned out to be argentaffin. All the chromaffin cells of the duodenum were also argyrophilic. In the stomach and duodenum the number of chromaffin cells was smaller than that of argentaffin or argyrophilic cells.

When the cells with formalin-induced fluorescence were examined by applying silver impregnation to them, all the fluorescent cells in the adrenal medulla, stomach and duodenum turned positive to argentaffin reaction, and those in the duodenum showed positive argyrophilic reaction as well. In the duodenum there were fewer fluorescent cells than argentaffin or argyrophilic cells.

To find out whether the chromaffin cells showed formalin-induced fluorescence, chromaffin cells of the adrenal medulla, stomach and duodenum were observed under an ultraviolet light. This method indicated that all the chromaffin cells of the stomach and duodenum possessed formalin-induced fluorescence, although not all the fluorescent cells of the stomach were chromaffin cells.

From these observations we conclude that among the cells of the stomach and duodenum which are commonly called chromaffin cells, there exist some cells which show positive chromaffin, argentaffin and argyrophilic reactions and formalin-induced fluorescence while others only possess some of these characteristics, indicating that the so-called chromaffin cells are of a heterogeneous population.

Key words: chromaffin cell, argentaffin cell, argyrophilic cell, fluorescence

* 本学第4学年学生

Present address: The First Department of Anatomy, Nippon Medical School, 1-1-5, Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

結言

クロム酸塩を含む固定液によって黄褐色に染まる顆粒を持つ細胞の存在は、最初に副腎髄質に発見され、その後、胃や腸などにも同様な反応を示す顆粒を持った細胞が見出された。これらの細胞は総称してクロム親和性細胞 *chromaffin cells* と呼ばれている。副腎髄質のこれらのクロム親和性細胞は、腹腔神経節ができたときにそこからさらに交感神経系の細胞が移動してきたものであると考えられている。一方、胃、腸におけるクロム親和性細胞がどこから発生するかはよくわかっていない。副腎のクロム親和性細胞にはアドレナリンを合成・分泌する細胞とノルアドレナリンを合成・分泌する細胞の2種類があり、後者は蛍光反応および銀親和性反応を示すが、前者は示さないといわれている¹⁾。一方、消化管において細胞基底部に多数の顆粒を有する細胞がみられ、これらは基底顆粒細胞と呼ばれている。この顆粒はクロム親和性を示すので腸内クロム親和性細胞とも呼ばれる。また、鍍銀に対するこれら顆粒の態度から銀親和性細胞と銀好性細胞が区別されている。これらの基底顆粒細胞の中にはホルマリン誘起蛍光を示す細胞が発見されている。基底顆粒細胞と呼ばれる細胞が上記のすべての諸反応に対して陽性を示す一種類の細胞で構成されているかどうかは現在のところ残されている問題である。一方、機能的な面においてクロム親和性細胞が内分泌系に属するという認識は従来からもたれていたが、近年、消化管のクロム親和性細胞をはじめとして種々の器官および組織に分布する一群の細胞がモノアミンとペプチドホルモンを同時に合成分泌し^{2,3)}、しかもこれらの細胞が内分泌細胞と神経細胞の両方の特徴を兼ね備えているということが明らかにされた^{4,5)}。さらにそれらのペプチドホルモンやモノアミンが神経系諸要素においても検出されるようになった^{6,7)}。Pearse らのいう APUD (amine precursor uptake and decarboxylation) 細胞や藤田ら^{8,9)}のいうパラニューロンは純粋生物学的にも、また臨床医学的にもその形態および機能の解明は重要な課題となっている。このような背景のもとでわれわれはまず、いわゆるクロム親和性細胞とは何かという疑問を抱いた。クロム親和性細胞と銀親和性、銀好性、あるいはホルマリン誘起蛍光性細胞との反応性における相互関係はどうなっているのだろうか。この疑問点を解決するために、まずそれぞれの反応の検出法を検討し、次に同一細胞にそれぞれの方法

を適用した。その結果、銀親和性細胞のあるものは同時にクロム親和性および蛍光性を示すが、あるものは示さないということがわかった。その詳細をここに報告する。

材料および方法

使用した動物は日本生物材料社から購入した ddY 系マウス (生後7週、雄) である。

エーテル麻酔下に副腎、胃幽門部および十二指腸を切り出し、種々の固定液中に浸した。固定効果を上げるために副腎は固定液中で周りの脂肪組織をできるだけ除去し、カミソリ刃で半切した。また、胃と十二指腸はシリコンゴム板上で切開しながらピンで止め、完全に平坦にした状態で固定液中に浸した。固定中は常に振盪して、固定液の浸透を促進させた。クロム親和性反応、銀親和性反応、銀好性反応およびホルマリンによる誘起蛍光を検出するための方法は、表 1~3 に示した。

クリオスタット切片作製に際しては、粗大な氷の結晶の形成を防止するため、一度固定した試料を再びシヨ糖を 30% 含むそれぞれの固定液に入れ、約 30 分振盪しながら液の置換を行った。クリオスタット切片は 10 μ の厚さとし、0.3~0.5% (W/V) のクロブレンラバー (neoprene : W. Dupon 社) を塗布したスライドガラスに貼りつけた。クロム酸塩含有固定液で処理した試料のパラフィン包埋に際しては、クロム酸塩反応物質の溶出を防ぐために、エタノールによる脱水からパラフィン包埋までをできる限り短時間で終わるように注意した。

蛍光観察は Olympus 落射型蛍光顕微鏡を用い、V 励起法によって行った。用いたスライドガラス、封入用グリセリンはいずれも無蛍光のものを使用した。

モノアミン含有細胞がクロム親和性を示すときに、その細胞が同時に銀親和性、銀好性、ホルマリン誘起蛍光反応を示すかどうかを調べるためには同一切片を使用した。すなわち、クロム親和性を示した細胞の位置と形をスケッチするか、または写真によって記録した。次にカバーガラスを蒸留水中で注意深くはずし、同一切片に対して別の反応の検出法を適用した。このようにして、同一細胞がどのように反応するかを正確に判断することができた。クリオスタット切片の場合には、第2回目の検出操作の途中で切片が剝離することを防ぐために、約 0.2% のセロイジン膜で被覆して次の検出操作を行った。実施した内容は表 4 に示し

た。表 4 の中の矢印は反応検出順序を示している。

観察成績

1. 副腎、胃および十二指腸の各組織におけるクロム親和性反応、銀反応およびホルマリン誘起蛍光反応 (表 1~3)

(1) クロム親和性反応

クロム親和性反応については表 1 のような結果が得られた。Hillarp と Hökfelt⁹⁾ は副腎髄質のクロム親和性細胞を検出するのにクロム酸カリウムと重クロム酸カリウムの混合液を使用している。この方法に従うと確かに副腎では十分な呈色反応を示す細胞が認められたが、胃および十二指腸では陽性反応を示す細胞を認めることができなかった。これに対して Orth 液、または Helly 液で固定した場合には副腎、胃、十二指腸のいずれにおいてもクロム親和性反応陽性の細胞が現れた。副腎においてクロム親和性細胞は髄質全域に認められ、かつ反応の弱いものと強いものの 2 種類の細胞が認められた。胃において、クロム親和性細胞の多くは胃腺の中央部から基底部にわたって、また十二指腸においては絨毛のほぼ全域で上皮内に分布し

ていた。しかし、胃と十二指腸においてクロム親和性反応を示す細胞の数は、鍍銀法によって検出される細胞数に比べると少なかった。また、胃においてクロム親和性細胞の数は、ホルマリン誘起蛍光を示す細胞の数に比べると少なかった。すなわち、鍍銀法ではクロム親和性細胞以外の細胞も陽性に現す可能性がある。Orth 液固定をすれば、その後のクロム化処理をしなくてもクロム親和性細胞の存在を認めることができるが、この処理をすれば特に胃と十二指腸において呈色反応が強くなる傾向があった。なおこの時、重クロム酸液を毎日交換しても、また静置し、あるいは振盪しても反応性は一定で強弱の変化は見られなかった。

(2) 鍍銀法

鍍銀法 (表 2) は銀親和性をみるための Masson-Fontana 法では常法どおりの処理で副腎、胃および十二指腸のいずれの組織においても、クロム親和性細胞の検出法と違って、安定した成績を示した。陽性細胞は副腎髄質においては、クロム親和性反応を強く示す細胞に一致するかのよう島状に散在し、胃と十二指腸においては、クロム親和性細胞の分布状態と同じであった。十二指腸にみられた陽性細胞は特に細長くて

表 1 クロム親和性細胞の検出

固定方法	切片	各組織における反応性			備考
		胃	十二指腸	副腎	
1. a) 重クロム酸カリウム 10 容対クロム酸カリウム 1 容の混合液					
室温 44 時間	C	—	—	+	
室温 55 時間	C	—	—	+	
b) a) の後 10% ホルマリン					
室温 25 時間	C	—	—	+	
2. a) Orth 液					
室温 24 時間	P	+	+	++	2, 3 の場合には副腎髄質に強いクロム親和性反応を示す細胞と弱いクロム親和性反応を示す細胞との 2 種類が見分けられた。
室温 48 時間	P	+	+	++	
b) a) 液 24 時間後、クロム化 (3% $K_2Cr_2O_7$)					
室温 3 日	P	+	+	++	
	C	+	+	++	
c) a) 液 48 時間後、クロム化 (3% $K_2Cr_2O_7$)					
室温 3 日	P	+	++	++	
	C	+	++	++	
3. Helly 液					
室温 1 時間	P	—	+(弱)	+	
室温 3 時間	P	+(弱)	+	+	
室温 6 時間	P	+	+	+	
室温 12 時間	P	+	+	+	

C : クリオスタット切片

P : パラフィン切片

表 2 親銀性、好銀性細胞の検出

方法	切片	各組織における反応性		
		胃	十二指腸	副腎
Masson-Fontana 法 (銀親和性細胞の検出) 10% ホルマリン液固定	P	+	+	+
	C	+	+	+
Grimelius 法 (銀好性細胞の検出) ブアン液固定	P	+	+	—

C：クリオスタット切片
P：パラフィン切片

先端がとがっているものと、基底側が広い三角形をしたものと、形の上では2種類が見分けられた。顆粒は前者では細胞全体にあるが、特に核下部に密に存在していた。後者では顆粒は核下部に局在していた。胃にみられた陽性細胞は三角形ないし円形の大きな細胞で粗大な顆粒を持っていた。好銀性をみるための Grimelius 法を行うと、副腎は組織全体が黄色をおびてしまうので、陽性細胞の判定が不可能であった。胃と十二指腸においては、Masson-Fontana 法でみられた細胞と同様な形をした細胞が同様に分布してみられた。

(3) ホルマリン誘起蛍光

ホルマリン誘起蛍光(表3)は、組織を -80°C の N-ヘキサン、またはアセトンの中で凍結させてクリオスタット切片にした後にホルマリンで固定した場合には、副腎、胃および十二指腸のいずれにおいても蛍

光反応は全く認められなかった。凍結前にホルマリン液固定を行った時には、ホルマリン液浸透時間が4時間の場合に胃と十二指腸にやや弱いながらも蛍光を示す細胞を認めたが、副腎には蛍光を発する細胞が検出されなかった。6時間固定すると副腎、胃および十二指腸の各組織において十分な強さの蛍光が認められた。これ以上長く固定すると、周りの組織の非特異的蛍光が強くなり、観察には適さなかった。ホルマリン誘起蛍光を示す細胞の形態および分布状態は鍍銀法の場合と似ていた。蛍光の色は各組織によって異なり、副腎は緑色を、胃と十二指腸では黄色を呈した。特に、胃の黄色蛍光は十二指腸より強く、かつ輝いている粗大顆粒の集合として認められた。6時間固定した場合は、パラフィン切片においてもそれぞれ蛍光反応が観察された。Helly 液固定のパラフィン切片について、胃・十二指腸では黄色蛍光が認められたが副腎では蛍光反応を認めることはできなかった。こうしたパラフィン切片における蛍光は、クリオスタット切片を用いた場合に比べると蛍光の輝きは弱まるけれども十分観察が可能であった。Müller 液で固定したそれぞれのパラフィン切片においては、蛍光反応は全く認められなかった。

2. 同一切片に二つの方法を施行した結果(表4)

(1) 鍍銀法による反応陽性細胞とクロム親和性細胞との比較

表 3 ホルマリン誘起蛍光の検出

固定方法	切片	各組織における反応性			備考
		胃	十二指腸	副腎	
1. 10% カルシウム ホルマリン [ホルマリン 1 2% CaCl ₂ 5 蒸留水 4]					
a) 室温 2 時間	C	—	—	—	胃の蛍光は十二指腸の蛍光より強く、かつ粗大顆粒状にみえる。
b) 室温 4 時間	C	+(黄色) (弱)	+(黄色) (弱)	—	
c) 室温 6 時間	C	++(黄色)	++(黄色)	++(緑色)	
d) 室温 24 時間	P	+	+	+	
2. Helly 液					
a) 室温 6 時間	P	+	+	—	
3. -80°C N-ヘキサン、または -80°C アセトン中で凍結後、 クリオスタット切片(10 μ)を 10% ホルマリンにつける					
a) 室温 6 時間	C	—	—	—	

C：クリオスタット切片
P：パラフィン切片

表 4 同一細胞の各検出法に対する態度

組織	検出法	Helly 液固定によるクロム親和性	鍍銀法	10% ホルマリン誘起蛍光
副腎髄質	a)	+	→(+)銀親和性(+)← →(*1) 銀好性 (*1)← →(-)	+ (緑色)
	b)	+	→(-)銀親和性(-)← →(*1) 銀好性 (*1)← →(-)	-
十二指腸	+	+	→(+)銀親和性(+)← →(+) 銀好性 (+)← →(+)	+ (黄色)
	-	-	→(+)銀親和性(+)←	-
胃	+	+	→(+)銀親和性(+)← →(*2) 銀好性 (*2)← →(+)	+ (黄色)
	-	-	→(+)	-

→(+), (-)← は反応順とその結果を表す。
+ (黄色) はその細胞の持っている性質を表す。

1. Grimelius 法を行うと副腎髄質全体が黄色になり、所々に色の濃い細胞が見られたが、その区別は明瞭ではなかった。
2. 胃において Grimelius 法を行うと周囲の細胞群に比べてやや黄褐色をしている顆粒をもつ細胞が見られたが、明瞭な陽性細胞は認められなかった。

クロム親和性細胞を検出するためには Helly 液固定のものを用いた。副腎において弱いクロム親和性反応を示す細胞は、銀親和性反応に対して陰性であった。副腎の強いクロム親和性反応を示す細胞と、胃および十二指腸のクロム親和性細胞はすべて銀親和性反応を示した (写真 1, 2, 5, 7)。しかし、十二指腸のクロム親和性細胞は同時に銀好性反応も示した。さらに、十二指腸においてはクロム親和性細胞以外の細胞も銀親和性および銀好性を示した。この場合、銀親和性細胞と銀好性細胞は形の上では似ているが、同一細胞がその両方の反応性をもっているかどうかは、同一切片を使うことができないので確定はできなかった。

一方、鍍銀法で陰性である細胞がクロム親和性を示すことはいずれの組織においても認められなかった。

(2) 鍍銀法による反応陽性細胞と誘起蛍光性

蛍光観察後に、クリオスタット切片を用いて鍍銀法を行う場合には、切片の剝離を防止する目的でセロイジン膜をかぶせているので、反応はパラフィン切片における反応に比べると弱いという欠点がみられたが、いずれの切片を用いても副腎と胃では蛍光を示す細胞は常に親銀性を示した (写真 3, 4, 6, 7)。十二指腸においては、ホルマリン誘起蛍光と同時に親銀性および好銀性を示す細胞とホルマリン誘起蛍光を示さないが、鍍銀法によって陽性を示した細胞とがあった。

(3) クロム親和性細胞と誘起蛍光性

Helly 液で固定した胃および十二指腸をパラフィン切片としたときには、クロム親和性細胞が黄色蛍光を発するのを確認した。すなわち、クロム親和性細胞とホルマリン誘起蛍光を示す細胞とが一致していた (写真 5, 6)。しかし、胃および十二指腸と同様に処理をした副腎においては、クロム親和性細胞に蛍光を認めることはできなかった。副腎、胃および十二指腸の各組織についてホルマリン誘起蛍光を確認した後、クロム反応をみるために切片を Orth 液や Helly 液に浸すと、重クロム酸カリウムと昇汞の結晶が切片上に付着して、クロム反応の観察は不可能であった。これらのことを器官別に要約して図 1 に示した。

以上のことは、いわゆるクロム親和性細胞はすべてホルマリン誘起蛍光、親銀性、または好銀性を示す細胞であるが、器官・組織によっては、十二指腸でみられるように親銀性あるいは好銀性を示す細胞が必ずしもクロム親和性やホルマリン誘起蛍光を示すとは限らないことを示している。

副腎		胃		十二指腸	
弱 Cr	強 Cr	Cr	-Cr	Cr	-Cr
-Fl	Fl	Fl	Fl	Fl	-Fl
-Ag	Ag	Ag	Ag	Ag	Ag

Cr : クロム反応陽性

Fl : 蛍光反応陽性

Ag : 銀親和性陽性

- : それぞれの反応陰性を示す

図 1 各器官における同一細胞の反応性

考察

現在、クロム親和性反応は固定液中の重クロム酸塩が生体モノアミンを酸化して黄褐色沈澱 (quinone-imine)⁹⁾ を細胞内に生成する反応であると説明されている。この反応過程の検索は別にして、実際にクロム反応を実施すると、同じクロム酸塩を含んでいる固定液であっても、その種類によって副腎、胃および十二指腸の各組織における細胞の反応態度は異なっていた。副腎のために従来用いられてきた重クロム酸塩固定液 (表1) では、胃や十二指腸に陽性細胞を認めることはできなかった。重クロム酸塩とともにホルマリンを含む Orth 液と Helly 液では上記3種のいずれの組織においても陽性細胞が現れた。しかも、副腎髄質には反応性によって2種の細胞を区別することができた。Wood¹⁰⁾ に従えば、弱いクロム親和性細胞はアドレナリンを、また強いクロム親和性細胞はノルアドレナリンを合成・分泌するものである。ホルマリンの有無によってなぜこの違いが生ずるのかかわからないが、副腎、胃および十二指腸において確実にクロム親和性細胞を検出するためには、Orth 液や Helly 液が適していると考えられる。Orth 液固定の場合には、室温 24 時間固定の時と、室温 24 時間固定後、重クロム酸カリウムで3日間クロム化した場合とでは、反応の強さには変化はみられなかったが、固定を 48 時間行った後に3日間クロム化を行った時には、クロム化を行わなかった時に比べると、特に十二指腸では反応は強く現れていた。胃においてはいずれの場合にもその反応の強さは変わらなかった。したがって、Orth 液では固定時間を 48 時間とし、3日間クロム化を行うことが望ましい。Helly 液は室温3時間固定で副腎、十二指腸では十分な反応が現れるが、胃における反応は弱い。室温6時間、12時間固定ではいずれの組織においても十分な反応が得られたので、結局 Helly 液固定は室温6時間固定で十分であると思われる。

銀親和性反応および銀好性反応の反応機序は現在のところまだはっきりわかっていない。Masson-Fontana 法は銀親和性細胞を示し、Grimelius 法は銀好性細胞を示すといわれている。前者ではホルマリン液固定を行い、後者ではブアン液固定を行うのが常法である。その常法にしたがった場合、Grimelius 法では副腎髄質は陰性であったが、Masson-Fontana 法ではクロム親和性反応の強い細胞と対応して鍍銀された。副腎の

クロム親和性の強い細胞は銀親性をもっているということができる。銀反応で陽性を示す細胞は銀親性の細胞も銀好性の細胞も光顕的には同様な形態を示しているが、Ferreira¹¹⁾ は成体マウスの空腸に3種類の銀親和性細胞があることを電顕的に証明している。ただし、彼は銀親性と銀好性とを区別していないように思われるので、表2の中に示した銀親和性細胞と銀好性細胞の内容については今後の検索が必要であると考えられる。

Eränkő (1950)¹²⁾ が開発したホルマリン誘起蛍光によってモノアミンを検出する方法は、さらに Falck ら¹³⁾ によって改良されて現在最も信頼性の高いモノアミン検出法とされている。その蛍光はモノアミンがアルデヒドと環状化合物を形成し、さらに脱水反応によって形成される isoquinoline によるものであると説明されている¹⁴⁾。今回、われわれが行った Eränkő の方法は Falck らの方法に比べると検出能が低いと考えられているが、ホルマリン液で6時間固定した組織のクリオスタット切片において、十分強い蛍光を発する細胞を認めた (表3)。またホルマリン液、Helly 液固定を行った胃および十二指腸のパラフィン切片においても黄色蛍光を有する細胞が認められた。しかし、この蛍光は Helly 液からホルマリン液を除いた固定液 (Müller 液) 固定によるパラフィン切片では認めることができなかった。したがって Helly 液固定後のパラフィン切片でみられた蛍光はホルマリン誘起蛍光と判断される。クリオスタット切片およびパラフィン切片いずれにおいても、ホルマリン液固定の副腎に蛍光反応を認め、Helly 液固定ではそれが認められないことは、反応物質の性質であろうか。カテコールアミンは緑色蛍光を、またインドールアミンは黄色蛍光を示すことが知られているので、副腎髄質の陽性細胞はカテコールアミンをもち、胃と十二指腸の陽性細胞はインドールアミンをもつということになる。また -80°C アセトン、または -80°C N-ヘキサンの中で凍結した組織を薄切してからホルマリン液で固定すると、どの組織においても陽性細胞を検出することができなかった。これは、凍結切片を室温に戻すときにモノアミンが流出するためではないかと思われる。

以上の三つの方法で検出される反応陽性細胞の数を比較検討すると、十二指腸における銀反応陽性細胞の数は、蛍光法やクロム反応によって陽性を示す細胞の数よりも多いという傾向がみられた。すなわち、クロム親和性反応および蛍光反応で陽性に現れる細胞はす

べて鍍銀反応に対しても陽性であったが、クロム親和性反応および蛍光反応いずれも陰性でありながら、鍍銀反応陽性の細胞が存在することがわかった。この鍍銀反応に対してのみ陽性を示す細胞がどのような細胞であるかは今後調べる必要がある。また、十二指腸におけるクロム親和性細胞はすべて親銀性と好銀性を同時に示している。こうしたクロム親和性細胞の鍍銀反応に対する成績は、十二指腸以外の胃および副腎では見られず、十二指腸のクロム親和性細胞の特殊性を暗示するものとして興味深い。

このように、ある特定の細胞が複数の反応を同時に示すか否かをより正確に調べるためには、同一切片を使用する必要がある。しかし、同一細胞を異なった二つの方法で観察することは、当然のことながら固定液の選択に制限を受けることとなる。クロム親和性をみるための Orth 液固定と Helly 液固定との結果は同様である。しかし、Orth 液固定後に鍍銀法を行うと銀粒子による切片の汚染が強いという欠点があるので、クロム親和性細胞と銀親和性細胞との同一性を検討するときには、クロム親和性細胞の検出法として Helly 液固定のものをを用いた。したがって、Masson-Fontana 法も Grimelius 法も常法とは異なった固定条件で行うことになった。このために、Grimelius 法では常法で陽性に反応する細胞も十分な陽性反応を示さないなど、表 2, 4 で見られる相違点が現れたものと考えられる。

胃と十二指腸において Helly 液固定によって黄褐色に染まったクロム親和性細胞はすべて蛍光を示したが、副腎髄質におけるクロム親和性細胞では蛍光を認めることができなかった。Helly 液固定による副腎のクロム親和性細胞が蛍光を示さないということは、胃と十二指腸に見られるモノアミンであるセロトニンと、副腎髄質に見られるモノアミンであるノルアドレナリンとのクロム酸塩に対する反応の仕方が異なることを示すのであろうか。

歴史的には Henle¹⁹⁾ が副腎髄質にクロム親和性細胞を検出して以来、そのクロム親和性細胞はアミン含有細胞であることがわかり、同様な細胞が副腎髄質以外に消化管や脳にも認められ、現在、APUD 細胞、すなわち amine precursor uptake and decarboxylation cell として統括され、下垂体、脾臓（ランゲルハンス島）、胃、腸、さらに甲状腺（旁濾胞細胞）などにあるとされている。それらの細胞は電顕的には、タンパク合成を行う細胞としては粗面小胞体が少なく、ゴルジ

装置の発達が悪いという特徴を備えている。また、これらの細胞は共通の特徴として、①クロム親和性、②銀親和性、③ホルマリン誘起蛍光性の少なくとも一つ、多くの場合これらの反応性を重複して示すということがいわれている¹⁹⁾。したがって今回、胃、十二指腸、副腎で得られた成績を参考にしながら、さらにほかの APUD 細胞の検出法を調べていく必要がある。同時に、われわれが今回使用したマウス以外の動物についての検討も残されているものと考ええる。

結論

マウス副腎、胃、十二指腸を材料として、いわゆるクロム親和性、親銀性または好銀性、誘起蛍光性の検出法を検討し、さらにそれぞれの方法で陽性に現れる細胞が同一細胞であるかどうかを同一切片中で検討した。その結果、次のことがわかった。

1) クロム親和性をみるためには、Orth 液 48 時間固定後、3 日間のクロム化を行うことが望ましい。Helly 液固定では 6 時間行うことが望ましい。

2) ホルマリン 誘起蛍光を観察するには、Eränkőの方法では 6 時間のホルマリン液固定が望ましい。

3) 胃、十二指腸におけるホルマリン誘起蛍光は、Helly 液、Orth 液を使用しても観察が可能である。ただし、副腎には適用できない。

4) 胃、十二指腸におけるクロム親和性細胞は、銀親和性反応、蛍光法においても、それぞれにおいて常に陽性を示す。

5) 副腎で強いクロム反応を示す細胞は、銀親和性反応、蛍光法で常に陽性を示すが、弱いクロム反応を示す細胞は鍍銀法、蛍光法いずれも陰性である。

6) 十二指腸のクロム陽性細胞は、親銀性と好銀性の両性質をもつ。

7) 十二指腸で鍍銀法により陽性を示す細胞は、クロム親和性およびホルマリン誘起蛍光を示す細胞と、それ以外の細胞をも含む。

8) いわゆるクロム親和性細胞を体系化するためには、今後さらに APUD 細胞といわれるもの全体を検討し、さらに動物種による変化を考慮する必要がある。

文献

- 1) Bloom, W., and Fawcett, D.W.: A Textbook of Histology, p. 543, 663~664, 10th ed., W.B. Saunders Co. Ltd., Toronto, 1975.
- 2) Pearse, A.G.E.: Common cytochemical and ultra-

西山他論文付図(1)

西山他論文付図(2)

- structural characteristics of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin. *Proc. R. Soc. Ser. B*, 170, 71~80, 1968.
- 3) Pearse, A.G.E.: Neurocristopathy, neuroendocrine pathology and the APUD concept. *Z. Krebsforsch.*, 84, 1~18, 1975.
 - 4) Fujita, T.: The gastro-enteric endocrine cells and its paraneuronic nature. "Chromaffin, enterochromaffin and related cells" (Coupland, R.E., and Fujita, T. eds.), p. 191~208, Amsterdam, Elsevier, 1976.
 - 5) 藤田恒夫, 小林繁: パラニューロン (1). 新しい神経の兄弟たち. 医学のあゆみ, 94, 638~640, 1975.
 - 6) 藤田恒夫, 小林繁: パラニューロン (7). 消化管と膵臓の内分泌細胞. 医学のあゆみ, 98, 874~880, 1976.
 - 7) 菅野富夫: 胃腸膵ホルモン. 神経伝達物質としてのペプチド. 生体の科学, 28, 281~289, 1977.
 - 8) Hillarp, N.A., and Hökfelt, B.: Histochemical demonstration of noradrenaline and adrenaline in the adrenal medulla. *J. Histochem. Cytochem.*, 3, 1~5, 1955.
 - 9) Lison, L.: *Histochimie et Cytochimie Animales*, 3rd ed., p. 599~600, Gauthier-Villars, Paris, 1960.
 - 10) Wood, J.G.: Identification of and observations on epinephrine and norepinephrine containing cells in the adrenal medulla. *Am. J. Anat.*, 112, 285~304, 1963.
 - 11) Ferreira, M.N.: Argentaffin and other "endocrine" cells of the small intestines in the adult mouse. 1 Ultrastructure and classification. *Am. J. Anat.*, 131, 315~330, 1971.
 - 12) Eränkö, O.: On the histochemistry of the adrenal medulla of the rat, with special reference to acid phosphatase. *Acta Anat.*, 18, Suppl 17, 1952.
 - 13) Falck, B., Hillarp, N.A.: Thieme, G., and Torp, A.: Fluorescence of catecholamines and related compounds condenses with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.*, 10, 348~352, 1962.
 - 14) 千葉胤道: アミン含有細胞の同定. 医学のあゆみ, 104, 677, 1978.
 - 15) Henle, H.: Über das Gewebe der Nebenniere und der Hypophyse. *Z. Rationelle. Med.*, 24, 143~152, 1865.
 - 16) Junqueira, C., Carneiro, J., and Contopulos, A.N.: *Basic Histology*, p. 74~75, 292~300, 392~399, Asian ed., Lange Medical Publications, Maruzen Co. Ltd., Japan, 1975.

写真説明

- 写真 1 マウス副腎髄質におけるクロム親和性の強い細胞を示す (Helly 液固定). ×400
- 写真 2 写真 1 と同一切片に Masson-Fontana 法を施したものの. 銀親和性を示す. ×400
- 写真 3 マウス胃におけるホルマリン誘起蛍光を示す. ×200
- 写真 4 写真 3 と同一切片に対して Masson-Fontana 法を施したものの. 蛍光を発している細胞が銀親和性を示している. ×200
- 写真 5 マウス胃におけるクロム親和性細胞 (Helly 液固定) を示す. ×400
- 写真 6, 7 写真 5 と同一細胞が蛍光を発し, また Masson-Fontana 法によって銀親和性を示している. ×400

(受付: 1980 年 11 月 14 日)