

# 心筋の粘質多糖体変性に関する研究

## 第一編 心筋の粘質多糖体変性の組織化学的研究

昭和33年2月14日 受付

信州大学医学部病理学教室 (指導: 那須 毅教授)

助 手 塩 沢 久 要

### I 緒 言

1905年 Geipel<sup>①</sup>はロイマチス性心筋炎に観られる所謂 Aschoff 結節附近の心筋線維にヘマトキシ-リンエオジン染色で青染する物質の存在する変化を認め、又1908年西郷<sup>②</sup>は Purkinje 線維の空泡変性に就いて同様な観察を行つており、之等両者の観察は恐らく今日好塩基性変性と呼ばれる心筋の変化に一致していたものであろうが、当時は余り注意を惹かれなかつた。然し1910年 Hewitt<sup>③</sup>が最初に此の変性を一つの病変として注目し、心筋線維の“Peculiar degeneration”と言う表題を掲げ、この変性物質を硝子様物質と解した。

下つて1935年 Haumeder<sup>④</sup>、1936年 Liebegott<sup>⑤</sup>等は夫々若干の染色学的特性から、この変性物質が粘液性物質に近いものであることを予想し、之に漠然とした好塩基性変性 (Basophile Degeneration) と言う名称を用いたのも理由がない訳ではなかつた。

其の後1941年に梅田<sup>⑥</sup>は Best の Carmine 染色、Bauer 反応陽性等の性質から変性物質が胃や十二指腸の類粘素と同性状のものとして類粘素変性 (Mucoide Degeneration) と名づけた。

斯くして次第に注目を惹き始めたこの変性に總論的研究が行われるのと平行して、本変性の発生病理学的考究も行われ、之が或る種の物質代謝疾患 (甲状腺機能低下症或は粘液水腫) 等に特異性を有するとする者 (Schultz<sup>⑦</sup>, Dietrich<sup>⑧</sup>, Fisher & Mulligan<sup>⑨</sup>, Doerr<sup>⑩</sup>, Strukmann<sup>⑪</sup>, Brewer<sup>⑫</sup>) 或は核変化にその原因を帰せんとする者 (Linzbach<sup>⑬</sup>) 等があつたが何れもその本態を穿つようものはなく、更に化学的性状の研究に就いては梅田の域を出なかつた。

那須<sup>⑭</sup>は本変性に関し、之を特に心筋細胞病理学の立場から、筋肉代謝の複雑な機序の下に生じた病的代謝現象としての本変性の意義の重要性に関し既に早期より注目し、1948年には之が主として心筋細胞原発性の変化であつて、核物質流出により始動せられた変性状態であらうとしていた。

その後 Nabe<sup>⑮</sup>、Puccini & Stigliani<sup>⑯</sup>、Spencer<sup>⑰</sup>、Gotthold<sup>⑱</sup>等は各々変性物質の組織化学的究明を行

い、その大要は夫々若干の差はあるが初期の研究中にみられるような粘質多糖体の性状を呈することが知られるようになった。

然し最近に至り (1952年) Doerr<sup>⑩</sup>は本変性物質の発生病理に就いて、既に那須が指摘したように之が心筋細胞核代謝と密接な関連性を有しており、更に其の好塩基性はリボ核酸物質に起因していると報告している。以上の如く本変性は現在のところその発生病理は尙不明であり、更に変性物質の本態も未だ確然たる証明のつかめない現状にある。

私は那須教授指導の下に本変性に関するあらゆる知見 (組織化学的性状の究明、発生機序、並にその分布状態等の組織形態学的研究、病因的關係 (各種疾患、年令、臨床症状) 及び各種動物心臓との比較、更に所謂心筋症に対する本変性の意義等) に関する究明に従事しているが、茲に組織化学的性状の検索成績に関し一編を草する理由は、従来の組織化学的検索方法の不備を補うと共に、本変性の発生病理及び更に広く筋肉の変性の本態の究明へ一歩近寄らんが為に外ならない。

### II 研究材料及び検索方法

主として当数室剖検例中此の変性を特に多数認められる心臓 (心疾患、悪性腫瘍、高令者等) の比較的新鮮な材料に就いて左右心室前壁中央部、左右心房壁、心中隔、乳頭筋等を切り出し、各種染色法の為豫め用意した固定液に固定した。

Paraffin 包埋し 3μ乃至 10μの切片となし、又必要に応じて Celloidin 又は凍結切片を、又必要に応じ連続切片によつて観察した。

染色は一般組織化学的染色法としては Hematoxylin-Eosin 染色、Mallory-Azan 染色、Masson の Trichrome 染色、van-Gieson 染色、Molybdaehematoxylin 染色、Halmi の Aldehyde fuchsin 染色、Weigert の弾力線維染色等を、特種組織化学的染色法の内粘質多糖体染色法として、PAS (Lillie, Hotchkiss, Mac manus) 法 Bauer 法、Casella 法、唾液消化後 Lillie PAS 法、Colloid 鉄法、唾液消化後 PAS 法、Colloid 鉄法 (Hale-Rinehart)、Colloid 鉄-PAS 重染法 (Ritter-Oleson)、

# 正 誤 表

頁	行	誤	正
162	左 3	ヘマトキシリンエオジン	ヘマトキシリン-エオジン
164	右 13	<b>Aldehyde fuchsin</b>	<b>Aldehyde fuchsin</b>
165	右 1	核染色レ	核染色 <sub>レ</sub>
166	左 8	Lilli 法	Lillie 法
167	左 20	原液容	原法 <sub>4</sub> 容
170	右 2	<b>Alcohol</b>	<b>Alcohol</b>
"	右 10~11	Alcohol	Alcohol
"	右 45~46	<i>maphoganibrann</i>	<i>maphoganibraun</i>
171	左 32	純 Alcohol	純 Alcohol
173	左 12	脂肪染色	脂肪染色
"	左 38	鍍銀法	鍍銀法
174	表の題名	粘質多糖変性	粘質多糖体変性
175	表の染色法 (2行)	H-das	H-dase
"	表の着染態度 (8行)	terr cotta	terra cotta
"	表の染色液 (10行)	Cong red	Congo red
"	表の判定 (24行)	+ +	? ?
"	表の染色法 (25行)	鍍銀法	鍍銀法
176	左 2 (人名)	Stiguliani	Stigliani
"	左 23	aecohol	Alcohol
"	右 5	少いか	少いか
177	右 35	Herzmuskelfastr	Herzmuskelfaser
178	左 36	Athyresis	Athyreosis
"	右 43	muespolysaccharides	mucopeolsaccharides
182	Fig. 13	Cong red	Congo red
187	右 35~36	Lipofusin	Lipofuscin
191	右 11	Haumede	Haumeder
192	右 11	Nephrore	Nephrose
197	右 20	(mucoïd)	(mucoïde)
198	左 33	chages	changes
"	右 36	th	the
"	右 44	occurrene	occurrence
207	右 9	obscure, but.	obscure, but

Toluidine blue の Metachromasia 法, Hyaluronidase 消化後の Toluidine blue 染色, Chrome 酸処理後の Toluidine blue 染色. (Lison), Hyaluronidase 消化後の PAS-Colloid 鉄重染法, Mucicarmine 染色, Best の Carmine 染色, Amyloid の 爲の Jod, Gentiana violet 及び Congo red 染色, Lillie の Allochrome 染色, Feyrter の Thionine 封入染色, Goodpasture の Gram 染色, Weigert の Fibrin 染色等を, 核酸系物質染色として Feulgen 反応, Methyl green-Pyronine 染色, 浜崎石炭酸 フクシン 沃度法, Baryt 水作用後の Methyl green-Pyronine 染色等を, その他の染色として Sudan III 脂肪染色, Bielschowsky 鉍銀染色, カルシウム染色 (Kóssa), アルカリ性 フォスファターゼ染色等を試みた。

### Ⅲ 一般組織化学的染色態度

先づ染色に先立つて変性物質の染色状態を説明する上に変性巣内細部に亘る染色性が各々の染色法で種々特徴を示すので, 便宜上本変性を化学的並びに形態的の特徴を考慮した変性型に分類して説明を試みる。但しこの分類は必ずしも変性巣の新旧を示すものではない。

#### A 類結晶型, 或は類晶型 (Crystalloid 型)

原形質内に限局し概ね核周辺等に於て, 透明空胞状変性巣内に見硝子様の微細な恰も封入体様の小体として認められる。即ち楕円球状, 曲玉状, 豆莢状, 長半状時として棒状となり筋原線維間に介在することもあり, 夫々上述の様な一個の形態を保持して相互に融合しない。時には空泡を認める場合もある。これ等種々な形の変性塊は単に一個の場合もあり, 或は多数集簇する場合もある。時には核より離れた遠隔な Sarcoplasma に在ることもある。この型の変性は陳旧な末期的変性巣に於ても原則として細胞体の他の部位に変化を及ぼさない謂わば限局性のものである。又核に於ては時として可成りの変形を生じたものも認め, 屢々開門転転を示すような形態を認め, 変性巣が核質湧出物質であるかの像を示す場合もある。又稍々陳旧な変性巣には高度の変性に陥つた核も認められる。これは大凡 5~12 $\mu$  に達する比較的微細な変性巣である。

#### B 類粘液型, 或は類粘型 (Mucoïd 型)\*

初発の変性巣が単一細胞々体内に生ずることは類晶型のものと変りがないが, 変性巣の形態は不定であつて, 核周辺 Sarcoplasma の部, 或は筋原線維間に瀾藪性に拡がる傾向を示すが初期変性像では余り核に強

い変化を認めない。この型のもは前者に比べ変性の進行と共に形態的にも次第に増大し, 変性物質も平行的に増量すると共に, 物質の濃縮過程或は稠密度の部位の変動が示される。即ち変性巣は雲架状を呈し物質の濃淡を示し, 空泡状を呈する空隙も認められる。又この内には特に砲弾状, 球状の濃度の密な一種の濃縮過程を示すような部分も認められる。時として僅かに保持せられたか或は顆粒状乃至網状に断裂崩壊した筋原線維を認める。この様な時期に在る変性巣にみられる核は種々な程度の変性を生じ強い萎縮や細片に断離し, 或は核軸が横転し, 変性巣中に混在或は空隙部に存在する。この様な変性期に在るものは未だ比較的一个の細胞内に概ね鈎錘形となつて存在し, その周囲胞質には未だ明らかに筋原線維束が保持せられているが, 更に変性が進行すると遂に破壊せられて変性物質は外部に流出して稀薄となり泡沫状を呈し, その形態も非常に不定となる場合がある。核も高度に変性崩壊し細片となるか或は断片すら認め得ないようになる。時には Syncytium を介して接続する他の筋線維に及ぶことがある。この様な場合は巨大となり 500 $\mu$  に達するものもある。

#### C 混合型

類晶型, 類粘型二者が混合して一個の変性巣を形成する型で, 主に類粘型の初期或は鈎錘形をした中期の変性像と, 前述の如く特有な形態をした類晶型変性物質が混在している。事実この両者は染色学上若干の差違を有する為混合型と確認する為には後述する様な特殊な染色を施す必要がある。

#### ① Hematoxylin-Eosin 染色

この染色法によつて Hematoxylin で青染することがたまたま本変性の発見せられた端緒となり, 所謂好塩基性変性と呼ばれるに至つた所以である。

類粘型変性巣は大部分のものが Hematoxylin で種々な濃淡を有した青紫色に染め出される。特に雲架状不定形な変性塊の部は濃淡の差が大きく淡い部分は殆んど染色されず透明性で, この様な部分には若干弱い Eosin 好性の部分すら認められる。又雲架状塊に混在する砲弾状, 楕円球状の部分は(屢々変性巣の中心部に在る)特に濃青染する傾向にある。

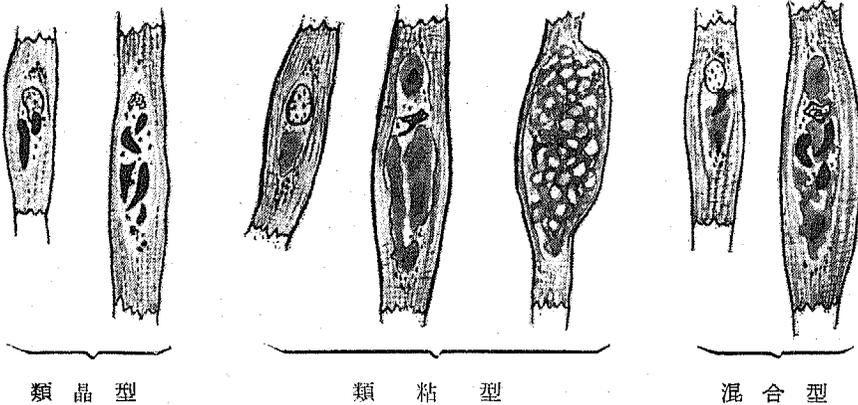
類晶型変性巣は之が Eosin に淡染することが特徴である。然し常に一定の染色態度ではなく Carnoy, 無水 Alcohol 等の無水固定のものは淡い青色を示すことがある。又常に一定の透明度を有し所謂硝子様滴に近い像を呈する。

#### ② Mallory-Azan 染色

固定: 10% Formalin, 純 Alcohol, Zenker 液。

\* 従来の所謂好塩基性(類粘素)変性に相当する。

## MPS 変性の各型を示す模式図 (縦断面)



結果：類粘型変性巣は大部分 Aniline blue に青染するがその様相は Hematoxylin の青染する状態と良く似ている。然しその内部に混在して Azocarmine に赤染する小部分も認められる。又一部変性巣には何れの色素にも染まらぬ無色のものも認められる。

類晶型変性巣は Azocarmine に種々な程度の赤染を示すが若干 Orange-G の色調も加わり黄紅色透明な一種の光輝を發し、真紅の心筋線維と區別出来る。

## ③ Masson の Trichrome 染色

(Goldner の変法)<sup>⑭</sup>

固定：Bouin, Zenker, 10% 中性 Formalin, Carnoy 液等に固定。

結果：類粘型変性巣は比較的均質に大部分 Light green に緑染する。又 Orange-G に橙黄染する小部分が認められることもある。

類晶型変性巣は Orange-G の橙黄色調のものから少々濃赤の Ponceau に染まるが、時に若干 Light green の緑色をとり赤黄緑、灰黄赤灰色等の一見不定な色調を呈する。間質結合織或は膠原線維基質は Light green に緑染し、筋線維は Ponceau 或は Orange-G に紅黄染するので類粘型変性巣には可成り膠原線維基質の性格と共通性を有する着染成績を示すものがある。

## ④ van-Gieson 染色

固定：10% Formalin, 純 Alcohol 等。

結果：類粘型変性巣は Weigert の鉄 Hematoxylin には輝いた空色に染まるが染色範囲が狭小である。更に Fuchsin-Picrin 酸液によつて黄褐色の不定な色調となり筋線維との明確な区別が付き難い。故にこの染色で間質結合織線維或は膠原線維基質との着染上の共

通性は認め難い。

類晶型変性巣は単に黄染するに過ぎない。

⑥ Molybdaenhematoxylin 染色<sup>⑮</sup>

固定：純 Alcohol, 10% Formalin 等。

結果：類粘型変性巣は美麗な帯紫赤色調を呈するが種々な色調に染め分ける所見に乏しい。筋線維は淡黄褐色、結合織膠原線維等は赤色乃至紫色に変動する種々な色調を呈することを考慮すれば、膠原成分と共通な性格を想像出来る。Roulet, Clara 等は Mucoïd 物質も陽性であると言う。

類晶型変性巣は全く染まらないか或は黄灰色の不定な色調に染まる。

⑥ Halmi の Aldehyde fuchsin 染色<sup>⑯</sup>

固定：最良の結果を得る固定液は Zenker-Formol, Susa, Bouin 液等である。その他の固定液使用のものは切片にして Bouin 液に24時間再固定した。

染色の要約：1) 切片を固定液 (Bouin 液 100cc + クロム明礬 3g) で 37°C の下 24 時間固定。2) 水道水で静かに水洗。3) ピクリン酸に 5 分。4) 次の液 (2.5% 過マンガン酸カリ (20cc) + 2.5% 硫酸 (20cc) + 160cc 蒸溜水) で前処置 1 分。5) 3% 重亜硫酸ソーダで漂白。6) 水洗。7) アルデヒドフクシン液に 30 分以上 48 時間。8) 純 Alcohol 又は (0.5%) 塩酸 Alcohol (1:1) 液で分別。9) Light green-Orange-G 液に 30 分、水洗、脱水、封入。

結果：間質結合織細線維は紫色の極めて微細な線維として染め出され、膠原線維間基質は Light green で緑染する。筋線維は黄色、核周辺の Sarcoplasma, Conheim の間隙、辺縁部 Sarcoplasma 等の部には極

く淡緑染する部分がある。又筋原線維束間には顆粒状乃至蛇行した少々疎な微細線維が認められる。核は不染か灰黄色の不定な色調を呈する。Lipofuscin は紫色顆粒状である。

類粘型変性巣は全般的に紫色に染まる部分が大部分を占め殆んどの変性巣が陽性である。然し何れの変性巣も同様な染色態度を示す訳ではなく、濃紫色の塊状の部分から成るもの、或は少々淡い紫色透明な部分と帯緑色の部分とが不規則に混在する変性巣等がある。又この様な部分が筋原線維と彌蔓性に移行する部分も認められる。このように変性巣が膠原物質と共通性のある染色態度を示すことは興味ある所見である。

類晶型変性巣に於ては Aldehyde fuchsin の紫色と Orange-G の橙黄色とが混合した黄紫色調に染まるものが大部分である。この染色法で若し Orange-G を除いた Light green のみで後染色すると、変性巣は何れも Aldehyde fuchsin の紫色調のまゝである。従つて類晶型変性巣は酸性色素である Orange-G によつて優先的に染色される性質がある。

この染色法で染色される化学的物質は未だ明確ではないが Gomori<sup>16)</sup>、Halmi<sup>17)</sup>等の記載を参考にする、弾力線維、脾島β細胞、Adenohypophyse の一部β細胞顆粒、或は若干の Mucin、胃粘膜主細胞等が陽性である。又 Neurohypophyse に於ける所謂神経分泌 (Neurosekretion) 物質 (ホルモン性分) も陽性、Herring 小体は陰性である。又酸性細胞は Orange-G に染まる等が挙げられている。之等の諸点を総合すると Aldehyde fuchsin の影響を受ける物質は必ずしも好塩基性物質ではないことは明白であり、或る種の糖蛋白質群が陽性を示し、中性の粘質多糖体も染色されと思われる。

#### IV 特種組織化学的染色態度

##### A 多糖体特に粘質多糖体の染色

###### ① Lillie PAS 染色<sup>20)21)23)</sup>

固定: Carnoy, Acetone-Alcohol, Rossman, Zenker, 純 Alcohol, Bouin, 10% 中性 Formalin 等に固定した同一組織でも固定液の差異による染色上の差は少いようである。然し無水固定液の方が全般に反応は強い。

染色の要約: 過ヨード酸液の酸化時間は5乃至10分 (室温平均 15°C) 水洗は充分に行う。Schiff 試薬は Lillie 法に従つて作製。結晶性塩基性フクシン (Grübler 製) は難溶であるが急激な加熱を避け、1N 塩酸を加えて良く振盪し徐々に溶解した。至適 pH は 2.8-3.0 位となる。作用時間は20分。この直後直ちにメタ重亜硫酸水にて充分洗滌し3回かえて10分。Weigert の鉄

ヘマトキシリンで核染色レビクリン酸で後染色。脱水、封入。尚本染色が多糖体染色としての確実性を期する為必要に応じ Acetylation 法を行い、又コロジオン膜処理を行つて観察した。

結果: 類粘型変性巣は紅色乃至深紅色の強陽性の反応を示す。屢々他の染色で不染性を示した部分或は好塩基性を示さなかつた部分も總べて強陽性である。又変性初期像と考えられる微細変性巣までも他の染色では観られなかつた強い陽性度を示す。

類晶型変性巣は何れも広範な陽性度を示し、前者に比し深紅色に染まる様な部分は認められないが、光輝ある紅色ゼリー様に染色される。今之を筋縦断面で観察する時可成り興味ある所見を示すものが認められる。即ち特異な形態をした類晶型変性塊は大体核の片側或は核の両側で長軸に沿つて並ぶ場合が多いが、時として核を離れ筋原線維と平行して索状乃至棍棒状の変性巣として観られる場合がある。又この変性巣の周囲を取りまく胞体に空隙を生ずるもの、或は空隙を全く作らず筋原線維に平行して胞体中に深く介入した如き感を呈するものも認められる。この様な場合に於ける心筋核は屢々不整形を示す場合が認められ楔状の欠損部を生じたり、変性の陳旧な場合には強い萎縮に陥つたものもあり、時には核質中に或は核を全く圍繞した PAS 陽性物質が認められる場合があり核の形態等を参考にすると、この変性物質が一種の核質湧出物質に関係があるかの如き感を与えるが早急に断定は出来ず、又この様な所見は類粘型か類晶型か何れの変性型に属する初期像か現在のところ不明である。

然しこの染色法で屢々注意を要するのは Lipofuscin と類晶型小変性巣との鑑別であるが、前者が赤褐色に染まり核近辺の Sarcoplasma 内に多数集簇する場合後者の小変性巣が同様な位置に於て認められる故に何れかの判定に困難を生ずる場合が屢々ある。

前者は帯赤褐色調で細顆粒集合の感があるのに反し後者は紅色ゼリー様の均質少々透明で辺縁部に微細凹凸を欠く。然し実際はこの両者の鑑別が非常に困難な場合も事実屢々観察されるし、又これ等の移行形が存在するものと思われるものすら認められ、両者相互の関係は筋肉の病的代謝に於て種々な問題を将来に遺していると思われる。

PAS 陽性物質の本態に関しては尙問題があるとしても、前述の如く本変性の型種如何に拘らず、又あらゆる変性段階が陽性を示すことの出来る PAS 染色就中 Lillie 法は、この変性を心筋中に発見証明し、或は之を組織形態学的乃至発生病理学的に追究する手段として取り上げるとき、現在他の如何なる染色法よ

りも優れた簡便にして確実な染色法であると言える。

### ② Hotchkiss 法

固定は總べて Lillie 法に準ずる。染色法は Glick<sup>⑬</sup>に記載されている方法を採用した。

結果：反応の強さ染色性等概ね Lillie 法と同様であるが、Lillie 法程に強陽性を呈する部分がない。

### ③ Bauer 法 (Chrome 酸-Schiff 反応)

固定：Lillie 法に準ずる。

染色の要約：Chrome 酸の酸化時間が重要な役割を演ずる。室温 (15°C) 下で 1% Chrome 酸液で 15 時間、4% 液で 60 分酸化した。30 分でも陽性を示すが酸化時間が 60 分を超過すると急激に陽性が減弱する。

結果：本法による陽性度特に反応の広範性の問題に関しては概ね Lillie 法に一致していると思われる。然し全般的に言えば各型変性巢に於ける陽性部分の紅色調は Lillie 法程に強くない。此の差は当然過ヨード酸と Chrome 酸の両酸化剤の性質の差異に基くものと考えられる。即ち過ヨード酸は多糖体の 1-2 Glycol 基を Aldehyde 基を酸化し得るが、Chrome 酸は多糖体 → Alcohol → Aldehyde → Carboxyl 酸 → 分子の分解 (低分子化) まで至らしめると言う酸化過程に於て両者間に差異があると考えられる。

両者間の呈色反応上の差異を比較するのは、特にこの変性の形態学的特徴から可成り困難であるが、少くとも染色濃度の差以外に陽性を示す根本態度には大差を認めることは出来ない。然し類晶型変性巢及び間質結合線維、肥胖細胞顆粒及び Lipofuscin 等は Lillie 法よりも若干弱い反応を示し、特に膠原線維基質は不染色性である。Lison<sup>⑭</sup>、Lille<sup>⑮</sup>によると Bauer 法はむしろ純粋な多糖体のみ反応するが、Lillie 法では多糖体以外の若干或る種の蛋白質又はその他の物質をも一部陽性反応を示すと言う。この理論に鑑みれば Lillie、Bauer 両法の染色上の差異、特に濃淡の差異は本変性物質中に純粋な多糖体以外に若干の蛋白質に反応する陽性成分が混在しているとも言えようが、単に染色上の濃淡の差異によつてこの問題を論ずることは勿論輕率であるし、又両反応の差異を決定づけ得るような方法は現在尚不明である。梅田<sup>⑯</sup>は Bauer 反応が最も優れた本変性 (類粘型) の検出率を示すと記載しているのは注目すべきである。

### ④ Casella 法 (過マンガン酸カリ-Schiff 反応)<sup>⑰</sup>

固定：PAS 法に準ずる。

染色の要約：1% 過マンガン酸カリ液で 20 分間酸化し、水洗後 5% 蓚酸で脱色、水洗後 Schiff 試薬を 20~40 分間作用さす。

結果：類粘型変性巢は非常に弱い反応しか示さない。

い。

類晶型変性巢は全く反応を示さない。従つてこの方法では本変性の組織化学的検索手段には不適當である。

尚 Lillie、Bauer 両法をコロジオン膜処理による比較観察を行つたが末処理のものと変性巢の染色上の差異は認められなかつた。

### ⑤ Best の Carmine 染色<sup>⑱</sup>

固定：Rossman、Carnoy、純 Alcohol 等を使用。Paraffin、Celloidin 切片となす。

染色の要約：Carmine は特に Grüber 製。

結果：類粘型変性巢は比較的広範な陽性を示すが、他の染色で観られる様な濃淡を示さず又 Glycogen 特有な光輝ある赤色ではなく均質な赤色調を呈する。然し変性巢とは別に心筋線維中に観られる紅色細顆粒状物質は後述する唾液消化試験によつて陰性化するので Glycogen である。尚肥胖細胞顆粒は紅赤染する。

この染色は梅田が最初に行い其の後若干の人々によつて追試せられ、之と略々全様な結果が得られている。私の場合も之等のものと大体一致した結果が得られたものと思われるが、然し類晶型変性巢では全く不染色の結果を示す。

### ⑥ 唾液消化後の Best の Carmin 染色及び

#### Lillie PAS 法<sup>⑲⑳</sup>

染色の要約：pH 7.0 磷酸緩衝液 (Sørensen) 1cc に人の唾液 (濾過したもの) 4cc の比。37°C の下で 60 分間切片を消化後コロジオン膜処理し夫々の染色を実施。対照切片と比較。

結果：Best の Carmine 染色では上述の如く Glycogen 顆粒は良く消化を受けるが、類粘型変性巢は唾液消化の影響を全く受けないので Glycogen と直接関係がない。Best の Carmine 染色は Glycogen の他に所謂 Mucoïd、或は Fibrin 等が染色されるとも言われている。

Lillie の PAS 染色では筋線維は少々膨化するが陽性度は類粘型変性巢に於て何等変化を示さない。この標本でも Glycogen 顆粒は良く消化を受けている。

類晶型変性巢も同様に唾液消化を受けない。従つて本変性物質中には少くとも遊離状態の Glycogen (Lyo-glykogen) は含まれないことが判る。

然し梅田<sup>⑳</sup>は類粘型変性巢が Best の Carmine に染まる点を考慮して Galactogen であろうと考えたがヨード反応の所見が不明瞭である。又 Puccini & Stigliani<sup>㉑</sup>は Glycogen と蛋白の結合状態にある比較的安定な *Desmoglykogen* であると言う。然しこの変性の物質的特性を考慮するならば、更に広範に亘る

組織化学的検索が望ましい。

### ⑦ Mucicarmine 染色<sup>(15)</sup>

固定: 純 Alcohol, Formalin-Alcohol (1:9) Rossman 液等に固定。

結果: 類粘型変性巣は一般に Mucicarmine では難染性の結果を示す。然し中心部の濃縮された変性部には僅かながら陽性を示すことがある。この染色で難染性の結果を得ることは梅田<sup>(22)</sup>の記載にも認められ、又 Linzbach<sup>(23)</sup>は不染であると明示している。が一方 Haumeder<sup>(24)</sup>は陽性としている。

類晶型変性巣は一部に稍々濃く染まるものはあるが全般的に矢張り不染性である。尙肥胖細胞顆粒は赤染, Lipofuscin は赤褐染する。

### ⑧ 酸性粘質多糖体の為の Hale-Rinehart 法 (Colloid 鉄法)<sup>(25)(26)</sup>

固定: 純 Alcohol-Formalin (9:1), 純 Alcohol, 10% Formalin, Carnoy 液等に固定。

染色の要約: Colloid 鉄は大根田<sup>(27)</sup>の記載する法に従つて作製。製品は暗褐色粘稠なコロイド状をなす。この原液容に氷醋酸 1 容を加えた液が酸コロイド鉄液 (Rinehart) である。染色は Hale の法で実施する。

i) 3% 醋酸液に 10 分, ii) 酸コロイド鉄液に 10 分, 蒸溜水で充分洗う, iii) 黄血塩液に 10 分 (2% 黄血塩 1 容と 1% 塩酸液 2 容を使用直前混合調整), iv) 後染色 (Kernechtrot)。

結果: 類粘型変性巣は透明性美麗な空色に染まる。特に砲弾形, 球状の濃縮部と思われる部分は強い青色である。然し又非常に淡い部分又は全く陰性の部分も認められる。特にこの染色では夫々標本によつて若干染色性 (陽性度) を異にすることは注意すべきである。類晶型変性巣は殆んどが陰性の結果を示すが時として淡青染するものが認められる。

間質の膠原線維基質, 肥胖細胞顆粒等は青染する。筋線維の一部時には核も淡青染する場合がある。Lison<sup>(28)</sup>はこの Hale の反応を疑問視している。即ち陽イオン  $Fe^{+++}$  は酸性多糖体のみでなく核酸とも結合することが出来、尙その上蛋白質にも吸着されるので特異性が疑わしく、酸性多糖体の確実な在すると思われる軟骨基質では陰性であつたと言う。私の実験でも確かに核が弱青染することがある。然し前縦隔洞瘤型腫や気管支等の軟骨基質では強陽性の成績を得ている。

### ⑨ Colloid 鉄-PAS 重染法 (Ritter-Oleson 法)<sup>(29)</sup>

固定: 前法に準ずるが無水固定剤が望ましい。

染色の要約: 前法に準じて Colloid 鉄法を実施し、Ritter-Oleson 法に従つて PAS 染色を行う。

結果: 類粘型変性巣は大別して 3 種の部分に染め分

けられる。即ち PAS のみ陽性の紅色調の部分 ( $\beta$ ) は変性巣内の様々な部分に認められる。この陽性部分は標本によつて非常に変動を示すが多量の場合は変性巣全体を占める場合も認められる。又一般的には何れの変性巣にも  $\beta$  の部分は必ず認められると言つてよい。反応の強さは PAS 単独染色のものと大差なく紅色の種々な段階が示される。Colloid 鉄にのみ反応する青色の部分 ( $\gamma$ ) は全般的には微量である。稍々陳旧性変性巣のものに多く認められる傾向があり、特に無水固定剤標本の場合多く認められる。

PAS 及び Colloid 鉄両者に陽性と思われる帯赤紫色調の部分 ( $\alpha$ ) は多少標本による差異はあるが多くの変性巣に於て認められる。然し変性巣全体を占める様な場合は少い。

以上の所見から全体として  $\beta$  の部分が平均して可成りの部位を占めるが、 $\alpha$  及び  $\beta$  の各部分は標本によりその量的分布を異にし常に一定ではない。又  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  が常に特定の形態に染め分けられると言う所見はなく何れも不規則不定形であるが、 $\alpha$  は砲弾形をした部分に多く Toluidine blue で Metachromasia を示す部分と概ね一致している。然し  $\alpha$  の部分と Colloid 鉄単独染色と比較しても必ずしも一致しない。望月は  $\alpha$  を酸性粘質多糖体 (Mucoitin 硫酸),  $\beta$  を中性多糖体或は Mucoproteide, Glycoproteide に相当するものと考え、 $\gamma$  は組織化学的性状は不明であるが鉄, 銅, Cobalt 等と親和性があると言う。

この染色で示される一つの特徴は  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  の各量的分布状態が標本材料により常に異つた成績を示していることである。従つて酸性多糖体や中性多糖体等が変性の各段階に応じ複雑な分布状態を成して混在していることが判る。この成績は本変性物質の本質的な発生機序を伺うことが出来る点で注目し値する。

類晶型変性巣は總べて ( $\beta$ ) の紅色調を示す。標本差による変化はない。従つてこの類晶型変性巣は中性多糖体 (Mucoproteide, Glycoproteide) 等の成分を示している。

### ⑩ 酸性多糖体の為の pH を異にした Toluidine blue の染色 (大野法)<sup>(30)</sup>

固定: 純 Alcohol, 10% 中性 Formalin, Formalin-Alcohol, Carnoy 液等に固定。この内特に純 Alcohol 固定のものが良好な結果を示す。Carnoy は組織の pH に変化を与える点で問題がある。

染色の要約:  $M/10$  クエン酸,  $M/5$  第 2 磷酸ソーダの混合度合による pH 2.5, 4.1, 7.0 等の各種緩衝液

(註)  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  の分類は青木<sup>(1)</sup>, 望月<sup>(30)</sup>等による。

で 0.05% Toluidineblue-O (Grübler 製) 液を作り同種切片 3 枚を夫々の染色液に 10 分間染色。調製 Toluidine blue-O 液は 2~3 日後が染色能力が最良であつた。室温 15°C, 脱水, 分別等に用いる純 Alcohol 及び封入用カナダバルサム, キシロール等は厳密に中性のものを使用。脱水乾燥には太陽光に注意し, 操作中の温度に注意した。検鏡に際して光源である電燈光の色温度を 4000°K に保持して観察した。

結果: pH 7.0 液, 心筋細胞核, 間質結合組織細胞核は紫色顆粒状の Metachromasia を呈する。膠原線維基質は紫赤色の, 又肥肝細胞顆粒は赤紫色の Metachromasia を呈する。筋線維は淡い青色の orthochromatic な色調に染まる。Lipofuscin は青緑色である。

類粘型変性集は紫色乃至紫赤色の Metachromasia を呈する。これ等の色調は又種々な濃淡の差を有しており, 一部には赤色調の強い Metachromasia を呈する部分があり, 又全く染色されない不染性の部分, 或は orthochromatic な青色に染まる等の種々な形の小部分がある。

類晶型変性集は一般的に Metachromasia を呈さないが, 極く稀に淡い紫色の Metachromasia を呈するものがある。何れも青色の淡い orthochromatic に染まる部分から成つている。

大野の実験に基づけば pH 7.0 液で Metachromasia を呈して来る物質には Hyaluron 酸, Chondroitin 硫酸, Mucoitin 硫酸及び Mono 硫酸 Heparin 等の酸性粘質多糖体と核酸系物質とである。従つて之等の pH で Metachromasia を示す変性物質はその中に上述の様な諸物質が混在することが一応考えられる。又類粘型変性集中の Metachromasia 性でない爾余の大部分は PAS 染色の染色範囲或は後述する Chrome 酸処理後の Toluidine blue 染色等を参考にすると, 中性粘質多糖体ではないかと考えられる。

pH 4.1 液, 筋線維は不染性か或は極く淡い青色, Lipofuscin は青褐色, 細胞核は青色で Metachromasia 性を消失するが, 肥肝細胞顆粒は尚強い赤紫色の Metachromasia を呈す膠原線維の Metachromasia は殆んどが失われる。

類粘型変性集は依然強く Metachromasia を呈す。中には pH 7.0 液と全様の濃赤紫色を呈する部分が混在し, その範囲と強さは殆んど前者の場合と大差がない。故にこの pH で Metachromasia を呈する物質は殆んどが酸性粘質多糖体であつて, 前者と比較しても核酸系物質の存在は推定出来ないが, 然し後述するように低重合化された DNA の存在も考えられる。

類晶型変性集は全く Metachromasia を呈せず青色

乃至空色の透明な orthochromatic の色調を呈する。

pH 2.5 液, 筋線維は全く不染性, 核は淡青, Lipofuscin は淡緑褐色, 膠原線維は不染。尚肥肝細胞顆粒は依然紫色の Metachromasia を呈す。

類粘型変性集は大部分が染色性を失い, 何れも無染色状態を呈するが, 然し一部の変性集中には依然として紫色調の濃い Metachromasia を呈する部分が認められる。この陽性部分の形態は可成り特徴的で楕円球状乃至小滴状の所謂砲弾形を呈する部分である。又均質乃至雲絮状の他の変性部分にも淡い紫色の Metachromasia を呈するものがあり, この様な Metachromasia を示し, どの変性部位にも広く Metachromasia が認められた標本も経験している。又固定液の種類によつても Metachromasia 性に若干の変動があるようである。

類晶型変性集は全く不染性の結果を示す。

pH 2.5 液で Metachromasia を呈する物質は Chondroitin 硫酸, Mucoitin 硫酸或は Mono 硫酸 Heparin 等の酸性粘質多糖体であろう<sup>⑩</sup>。

標本中屢々認められる肥肝細胞顆粒は各 pH を通じ赤紫色の強い Metachromasia を呈していたが, pH 7.0, 4.1 液に於て変性集中に屢々赤紫色の強い Metachromasia を示した部分は一応肥肝細胞顆粒と同性状の物質とも考えられたが, pH 2.5 液に於て大部分この色調を失うので変性物質がすべて Heparin であるとは言えない。

以上の染色成績が示す様に類粘型変性物質は酸性粘質多糖体物質を有するものと解釈出来る。

#### ⑩ Chrome 酸処理後の Toluidine blue 染色

Lison<sup>⑪</sup>によれば中性粘質多糖体 (Schaffer の所謂 ムコイド物質, 性腺刺戟ホルモン, Glycogen 等) は Chrome 酸で処理すると, 元来好塩基性乃至 Metachromasia 性でないものが好塩基性乃至 Metachromasia 性を呈して来ると言う。この反応の機構は Aldehyde の中間過程を経て Hydroxyl 基群が酸化し, その結果生じた Carbon 酸基の出現に由来している。この酸化される反応は中性多糖体証明の積局的な指標となるもので, Chrome 酸処理によつて中性多糖体は酸性多糖体に変化すると言う。

この理論の下に次の染色法を行う。

染色の要約: 10% Chrome 酸液に切片を夫々 40 分, 50 分, 60 分間 (15°~18°C の室温) 酸化した後充分水洗し, 前記 pH 4.1, 7.0 Toluidine blue 液で染色する。酸化時間は対照切片を用いて比較検討すると 50 分のものが最適であつた。Chrome 酸の酸化時間は重要である。

結果: pH 7.0 液, 類粘型変性巣は非酸化標本に比較して一層広範且つ強い赤紫色調の Metachromasia を現わして来る。之は肥胖細胞顆粒の色調にも略々等しい色調であつて, 更に従来は陰性であつた部分も著明な Metachromasia を呈し, 紫赤色を示す様になる。その陽性範囲は PAS 染色にも劣らないものがある。間質の膠原線維基質及び核等には変化がない。特に Lipofuscin は殆んど変化がないが然し或る顆粒状のものに若干青紫色に染まるものがある点は注意を要する。

類晶型変性巣に於ては Metachromasia 陰性であつたものが一部のものに明らかに紫色の Metachromasia を呈して来る。然し尙依然 Metachromasia を呈しないものがあり, 之等のものは Chrome 酸処理前に比べ Toluidine blue によつて濃青染する傾向を示す。

pH 4.1 液, 類粘型変性巣は pH 7.0 液と殆んど同様に強い Metachromasia を呈して, その強さに於ても大差がない。

類晶型変性巣は紫青染し何等変化を示さず, 且濃染する傾向にも乏しい。

尙 Glycogen 顆粒は pH 7.0 液では紫青色の Metachromasia 性に染まり, pH 4.1 液では Metachromasia 性がない。

この様に全般的に Chrome 酸処理によつて Metachromasia が増強するのは類粘型変性巣中に可成りの量に於て, 又類晶型変性巣の一部に於て中性粘質多糖体物質が含有せられていると思われる。

#### ⑬ Hyaluronidase 消化試験後の Toluidine blue 染色

固定: Toluidine blue 染色法に準ずる。

染色の要約: Sprase (持田製薬) 50,000 VUM (1mg に相当) を pH 5.6<sup>(註)</sup> の磷酸緩衝液 1cc の比に溶かす。Hyaluronidase の溶液濃度に就いては我が国の製品には未だ一定規準がないので種々の記録を参考にし, 確實の濃度と思われる前記の割合で36時間乃至72時間 37°C 保温の下で消化した。消化後蒸溜水で良く洗い対照切片と共に大野法<sup>註)</sup>を実施。両者を比較観察した。尙 Sprase 中にコンドロムチナーゼを含有するか否かわ未検討である。

結果: pH 7.0 液, 筋線維は稍々膨化する。膠原線維基質の Metachromasia は可成り失われる。間質結合線維及び核等には変化がない。変性巣の形態的特性から消化過程を一個の変性巣に就いて比較検討することは厳密な意味で困難である。

(註) Dortman 4.6-6.0, Mac Clean 5.5

類粘型変性巣に於ては Metachromasia 物質は可成り量的に減少を来している。然し依然陽性部分を相当量保有した変性巣が認められる。この陽性部分は紫赤色で一部には蛇行索状或は網状の部分が特徴として認められる。このように尙陽性の部分が存在するが全般的に或る量に於て Hyaluronidase 消化の影響を受けていると見て良い。

pH 4.1 液, 類粘型変性巣に於ては前者と略々全様依然として陽性部分は存在する。良く消化を受けたと思われる部分は透明化するが元来から陰性の部分と明確に区別が付き難い憾みが遺る。然し全般的に Metachromasia 陽性の部分は前者同様減少し或る量に於て Hyaluronidase の消化を受けているものと思われる。兩者を通じ変性巣内の所謂砲弾形の部分は消化の影響を受けることが少い。

尙肥胖細胞顆粒は消化試験に全く影響されず赤紫色調の Metachromasia を呈する。又対照切片として消化試験と平行して行つた大動脈標本に就いて Metachromasia の消長を検べたところ平滑筋線維間基質の Metachromasia 性物質は殆んどがその特性を失い消化を受けていた。

以上の染色成績で明らかな様に類粘型変性物質中には或る量に於て Hyaluron 酸を含有すると言う意味で特にこの成績は注目に値する。尙類晶型変性巣では Hyaluron 酸を証明し難い。

#### ⑭ Hyaluronidase 消化試験後の PAS 染色

染色の要約: 前法と同じ要領で消化を行つた後 Lillie の PAS 染色を行う。未消化全一対照切片と比較する。

結果: 類粘型変性巣は PAS 陽性の部分が対照に比較して余り著しい変化を示していない。これは Hyaluron 酸の存否を云々するよりはむしろ PAS 反応の広範な反応域のために消化過程の微細な変化が明確に把握出来ない為と思われる。尙 Hyaluronidase 消化試験は二三の学者によつて行われているが何れも陰性の結果を報告している。

#### ⑮ Hyaluronidase 消化後の Colloid 鉄法

前法と同じ要領で消化後 Colloid 鉄法を行う。

類晶型変性巣は全般的に若干反応の減弱が認められるが完全に陰性とはならず可成りの陽性部分が残存している。又残存陽性部分は屢々網状を呈するものがある。

類晶型変性巣は何等変化がない。

#### ⑯ Hyaluronidase 消化後の Colloid 鉄-PSA 重染法

結果: 類晶型変性巣は一般に  $\alpha$  が僅か増加し  $\beta$  が稍々減少する。 $\beta$  は依然大部分を占めている。

以上の様に变性巢中 Hyaluron 酸証明の Hyaluronidase 為の消化試験後の各種染色法を行いその消化程度を検べたが Hyaluron 酸の存在を確定するに足る染色法は Toluidine blue 染色のみと言つて良く、PAS 反応や Colloid 鉄法では明確にその消化過程を把握出来なかつた。

#### ⑩ Feyrter の Thionine 封入染色<sup>⑩</sup>

固定：10% Formalin に組織を固定（24時間）することがこの染色法に重要な意義を持たせてある。

染色の要約：大別して次の2法を行う。

- A. 凍結切片による Thionine 封入染色。
- B. Alcohol 前処理後の凍結及び Paraffin 切片による Thionin 封入染色。

A 法によつて Lipoproteide (Chromolipoid) を、B 法によつて粘液蛋白 (Mucoproteide) の証明を行う。

Thionine-酒石酸溶液 (Grübler 製 Thionine 1g, 酒石酸 0.5g, 蒸留水 100cc) を処定の処理を行つた A 及び B の切片上に 3-5 滴を滴下、その上にデッキグラスを被せて周縁をラックニスで封じ 30°C の下で 24 時間染色。その後直ちに検鏡する。封入後 24 時間位が最高の染色効果を示した。その Metachromasia 性を検べる。

結果：A 凍結切片による Thionine 封入染色

類粘型变性巢は赤紫色バラ色様の Metachromasia を呈し広範な陽性を示す。この様に染色される部分は变性巢中特種な形態をしており、主として中心部に多く球形、楕円球形、砲弾状を呈している。其の他の部分の均質或は雲架状の变性巢は淡い濃淡を有すバラ色を呈する。又变性巢内で他の色調に染まる部分は認められず上述の様なバラ色の色調で濃淡の階調を示している状態である。

間質結合線維、核等は淡い青、Lipofucsin は全く染まらず、筋線維は染まらない。

Feyrter はこの反応によつて得られる物質を Phosphatid と Cerebrosid グループの Chromolipoid<sup>(註)</sup> 即ち Lipoproteid であると言う。次に行う B の染色結果と比較することによつて Alcohol 可溶性物質である Lipoproteid の存在が判ると言う。

Dietrich<sup>⑦</sup> は骨格筋に於て、又 Dorr<sup>⑧</sup> は心筋に於て本变性が夫々強陽性を呈する結果を得たと報告している。これによつて Chromolipoid の存在を主張して

(註) Chromolipoid とはこの場合 Ciaccio の言う生体色素の一部に属するセロイド、リポフスチン、ヘモフスチン等を含む意味のものではない。

いるが B 染色法との比較がなされていない。

#### B Alcohol 前処理後の凍結及び Paraffin 切片による Thionine 封入染色

類粘型变性巢は A 法の場合と全様なバラ色の Metachromasia 性に反応する。中心部に多い球形、楕円球形砲弾状の部分は濃バラ色で A 法の場合と大差を認めない。若干異ると思われる部分は均質或は雲架状の部分で、前者より淡明化しているのが認められる。この様な染色性の変化は Paraffin 切片の方が凍結切片に於けるよりも更に明確に現われる。即ち全般的に Alcohol 前処理を行つた B 染色法の場合には反応物質の量的減少の傾向が認められる。

以上の様な観察から始めて類粘型变性巢中には若干の Alcohol 溶性の好塩基性物質 (Feyrter に従えば Chromolipoid (Lipoproteid)) の混在を認めることが出来る。然し之が Chromolipoid と言うような特種な物質の指標であるか、或は Toluidine blue と同じく単に塩基性色素に対する Metachromasia 性の異つた表現に過ぎないか疑問である。

尚類粘型变性巢内には A 及び B 染色法共に反応陽性の部分を認めることが出来ず、従つてこのような物質を認めない。

#### ⑪ Amyloid 物質の染色<sup>⑪</sup>

固定：純 Alcohol が優れているが、Carnoy, 10% 中性 Formalin 等でも良好な染色性が得られた。

#### A Amyloid 証明の為の Jod 反応

結果：筋線維は紫黄染する。

類粘型变性巢は広範な領域の陽性を示す。均質或は雲架状の部分は所謂 terra cotta pink (Hewitt) を又楕円球状、砲弾状の部分は黒色乃至 maphoganibraun (Liebegott) を呈しており、陰性の部分は非常に少い。

類粘型变性巢は紫黄染し他の筋線維等と区別がつかず不染性である。

以上類粘型变性巢に於ては標本差による若干の差はあるが大体に於て広範な陽性を示すものと言つて良く、過去の研究者の中 Hewitt や Liebegott の記録に一致するが Haumeder は之が陰性であると報告している。

#### B Amyloid 証明の為の Gentiana violet 法

結果：筋線維は淡青紫色、核は紫青色、Lipofucsin は褐紫色、肥胖細胞顆粒は深紅色を呈する。間質結合線維乃至膠原線維間基質は紫色である。

類粘型变性巢は淡紅紫色乃至紅色の美麗な陽性を示すものを認めるが Jod 法に於ける程広範ではない。この場合の陽性度は Jod 法の場合の黒色乃至 maphoganibraun 色を呈する部位と大体一致する様であ

る。楕円球状、砲弾形の部分は紅色、雲架状乃至均質な部分は淡紅紫色調である。

類晶型変性巢は淡青紫色透明に染まり筋線維と染色学的区別が出来ず陰性の結果を示した。

### C Amyloid 証明の爲の Congo red 法

結果：類晶型変性巢は赤褐色調を呈しその陽性範囲は大体 Gentiana violet 法の場合と殆んど同様な成績が得られた。

類晶型変性巢は淡赤染するが筋線維と染色学的区別が出来ず陰性の結果を示した。

Amyloid 物質の化学的組成の一部が硫酸基を有する多糖体（特に Chondroitin 硫酸と言われる）であることが知られている。この事実を参考にすると、類粘型変性巢中には所謂 Amyloid と同性状に近い物質が含まれていることは Toluidine blue の染色成績を参考にしても充分肯かかれるところである。Amyloid 物質の化学的組成が充分明らかにされていない現在、Jod 及び Gentiana violet, Congo red 等の反応が広い意味の多糖体乃至糖蛋白に対する反応として取り上げるならば、この変性物質は強いて言うならば Amyloid と共通性状を有すると言うことも可能である。又一般に Galactogen は Jod 反応が陰性であると言われているが<sup>23</sup>、以上の結果の示す様に Jod 反応が陽性を示す点ではこの変性物質全体が梅田の言うような Galactogen でないことを示している。

尙 Doerr, Haumeder 等は Amyloid 反応が殆んど陰性の結果であつたと記載しているように、研究者によつて変つた成績を示すようであるが、私の場合は標本の種別を問わず何れも上記のような成績を得ている。

### ⑩ Goodpasture-Mac Callum の Gram 染色<sup>27</sup>

固定：原法に指定された Zenker, Helly 液等が特に染色成績が良好であるが、10% Formalin, 純 Alcohol 固定でも充分染色される。

染色の要約：Gram 陰陽を同時に染め分けるこの染色法は染色時間の正確な実施が必要である。特に Jod や Gentiana violet (Grübler 製) 液の染色時間が大切で、この注意を怠ると陰陽の判定に誤りをまねく恐れがある。

結果：心筋は淡赤紫色調、所々に於て筋原線維或は筋原束が赤紫色稍々濃染する場合がある。核は Anilinfuchsin 赤染の部分及び Gentiana violet 紫染の2部分があつて夫々細顆粒状である。間質結合線維は不染、Lipofuscin は小顆粒状のものは淡赤染、大型顆粒状のものは淡紫染し全体として褐紫色調を呈するものがある。

類晶型変性巢は一部に於て強い Gram 陽性を示すも

のがあるが大部分のものが弱陽性、又これ等の中間と思われる中等度陽性のものが若干の変性巢中に認められ、この部分は細顆粒状を呈する。弱陽性の部分は殆んどが均質な部分である。極く稀に変性巢内に Fuchsin に赤染する細顆粒状の陰性部分が混在することがある。又強陽性の部分は必ずしも砲弾形、楕円球状の部分と一致せず細顆粒状を呈することがある。

類晶型変性巢は好 Fuchsin 性の Gram 陰性性格が多分に認められるけれども、之に若干の陽性性格が加わり全体の色調が混在して赤紫色調となり、中には陽性の細顆粒を含んでいるものがある。

以上の様な所見からして、本染色法は組織化学的見地からみても若干興味ある問題を含んでいるものと言えよう。Welsch, Henry & Stancey 等<sup>28</sup>の研究によると、Gram 陽性物質は恐らく Arginine に富む適当な蛋白と結合している Mg の RNA-塩であるらしい。又 Panijel<sup>29</sup>は Gram 反応を次の様に結論している。即ち反応には2段階が含まれ最初は塩基性色素の固定で、これに必要な条件は酸性基群が存在することで細菌の場合は RNA であり、蛔虫の精子から得られる蛋白の場合は Dicarboxyl-Amino 酸であると。次の段階の反応の特徴は Jod の作用と漂白作用で、之は蛋白複合体に影響を与える緩やかな酸化の原因となる。この作用に対する活性基は窒素基ではないかと思われる。この様な意味で Gram 陽性物質に或る種の酸性基群と複合蛋白が関係すると言う説からみても、本変性の Gram 反応所見は興味深いものがある。

### ⑪ Weigert の Fibrin 染色<sup>43</sup>

結果：類晶型変性巢の陽性部分は殆んどが Goodpasture 法の場合と一致しているものと思われる。尙 Doerr は Gram 反応が強陽性であると記載している一方 Jod 反応は陰性であると言う。

### ⑫ Lillie の Allochrome 染色<sup>41</sup>

固定：純 Alcohol, Carnoy, Acetone-Alcohol, Zenker-Formol, 10% 中性 Formalin 液等を使用。無水固定液は一般に反応が強く現われる。

染色の要約：PSA 染色実施後 Lillie の用いる Methyl blue の代りに市川<sup>20</sup>の記載に従つて、Water blue 液を使用、Picro-Waterblue 液として後染色を行う。この液は Water blue 液の濃度を飽和 Picric 酸溶液に夫々 0.04%, 0.01%, 0.005% の割合で3種の Picro-Waterblue 液を調製する。この液を充分振盪し、室温 (15°C~18°C) で正確に6分間染色。核染色には Weigert の鉄 Hematoxylin を使用。

結果：心筋線維は黄色~灰緑色~黄緑色に、核は灰黒色、間質結合線維及び基底膜等は赤紫色~青色、

膠原線維は紫色～青色， 肥細胞顆粒は赤紅色， Lipofuscin は赤褐色～青褐色調である。

類粘型変性巢の大部分はあたかも PAS 単独染色の場合の様に紅色である (0.01% 及び 0.005% Picro-Waterblue 液の場合) 0.04% Picro-Waterblue 液の場合は中心部の砲弾形， 楕円球状の部分は依然紅色調が強いが， その周辺部の雲架状網状等の部分は紫色～紫青色の好 Water blue の性格が増す。時にはその中に青い索状の部分も認めることもある。

この染色では多糖体物質と結合している種々な蛋白質成分を Picric acid と Water blue の混合度合により， 色々な色調に染め分けることが出来る。

市川は 0.04% Picro-Water blue 液で Amyloid 物質は淡紫色を呈すると言う。類粘型変性巢中には之によく似た色調を示す部分がある。

類晶型変性巢は後染色液の色素濃度が次第に濃くなるに従い紅黄色～オレンジ色～黄色調を呈し， 淡染する部分を認めず好ビクリン酸性性格が旺盛なことが特徴である。

## B 核酸系物質の染色

### ① Feulgen 反応<sup>28)</sup>

固定: Carnoy, Zenker, 純 Alcohol 液等に固定。

染色の要約: Feulgen 原法を実施， Light green で後染色するが之は変性巢を染めるので注意を要する。

結果: 核は紫色， 筋線維は淡緑。

類粘型変性巢は大部分のものが陰性である。従つて一般的には DNA は存在しない。然し精査すると核周辺に存在する変性初期像と思われるものに於て， 核を中心として放散状に淡紫色の陽性部分が認められることがある。この様に DNA は極く微量ではあるが類粘型変性巢の一部に於て或る変性期に認められる。これは二次的に核変性が起つた結果， 核内容の変性巢内流出が起り次第に解重合する過程をこの様な Feulgen 反応の状態によつて知ることが出来る。この様に解重合した DNA は又 Toluidine blue によつても一部示されたものと思われる。

尙 Linzbach<sup>29)</sup>は Feulgen 反応は陰性の結果を示し， 又 Doerr<sup>8)</sup>は之を全面的に否定し DNA の存在を認めていない。むしろ Pyronine の反応から RNA を重視している。

類晶型変性巢は全く陰性であり DNA は認められない。

### ② Methyl green-Pyronine 染色

固定: Carny, 純 Alcohol, Zenker 液等を使用。10% 中性 Formalin は色素の親和性に变化が現われ不適當のように思う。

染色の要約: この染色法は柴谷<sup>30)</sup>, Pollister<sup>31)</sup>, Lison<sup>32)</sup>, 市川<sup>33)</sup>等の記載を参考とした。色素の精製は柴谷の法に従つた。色素の溶媒には Unna-Pappenheim のもの及び pH 4.2 の醋酸緩衝液等を使用した。

結果: 核染色質は淡緑色の Methyl green 好性 (以下 M-好性と略記) 細胞質は弱い Pyronine 好性 (以下 P-好性と略記) の pink 色， 間質結合線維等は不定な P-好性， 核小体は P-好性， 肥細胞顆粒は P-好性で稍々黄色の Metachromasia 性である。Lipofuscin は P-好性の赤褐色を呈す。

類粘型変性巢は弱い P-好性を示す部分が若干認められるに過ぎない。又 Feulgen 反応で示された DNA の存在を知り得るような M-好性の部分を認めることが出来ない。

類晶型変性巢に於ては類粘型変性巢よりも稍々強い P-好性を示すものが認められる。然し乍ら以上の様な染色状態と Ribonuclease 消化の代用として Baryt 水処理 (10°C, 15時間)<sup>34)</sup>を行つた対照染色標本の染色状態とを比較検討しても， 筋線維が多少 P-好性を失う程度でどの型の変性巢も染色性に变化を示さないのので， RNA の存在はまづ認められないと断定しても差支えないであらう。

Doerr<sup>8)</sup>は Ribonuclease 消化試験による成績から， RNA が変性物質中に於ける重要な要素であつて， 本変性の好塩基性性格は専ら RNA に起因するものであるとし， この変性の本態を核原性に帰せしめているが， 私の RNA に関する成績では之に左祖することは出来ない。

結局以上の核酸物質の証明法からは RNA 及び DNA の何れも本変性の本質的な変性物質として証明することが出来なかつた。

### ③ Desoxyribonucleotide の為の浜崎 Carbofuchsin-Jod 法<sup>20)</sup>

固定: 浜崎の指定する重合剤固定液に固定し， 所定の如く Paraffin 切片となす。

染色の要約: 所定の染色時間を厳守することが最も優れた結果を得た。染色上の効果を確認する意味で肝臓標本を対照に使用。

結果: 筋線維は淡い桃色， Lipofuscin は紅紫色顆粒状， KEG 物質は淡い赤紫色顆粒状である。(対照肝臓より心臓には少い)

類粘型変性巢内に僅微の KEG や KEL 反応を認めることがある。従つてこの染色では種々な重合度の DNA が微量ながら存在することがあると言うことが出来よう。

類晶型変性巢は不染性である。

### C その他の染色

#### ① カルシウム染色 (Kóssa 法)<sup>29)(35)</sup>

固定: 10%中性 Formalin, Paraffine 或は凍結切片となす。

染色の要約: 対照には明らかにカルシウム沈着を認める肺を使用。

結果: 対照標本には明らかに黒色顆粒状のカルシウム塩が証明されたにもかかわらず, 類粘型変性巢中には何等反応が現われず陰性の結果を示した。

又類晶型変性巢に於ても全様に陰性である。従つて本変性物質中にはカルシウム塩は含有されない。

#### ② Sudan III 肥肪染色 (川村・矢崎法)<sup>26)</sup>

固定: 10% Formalin, 10%中性 Formalin, 10 $\mu$ の凍結切片標本として観察する。核染色は Bömer の Hematoxylin を使用。

結果: 類粘型変性巢は好 Sudan 顆粒が全般的に健常筋線維部より減少し, 却つて変性巢周囲の細胞質中変性部に近接する部分に於て大小滴状の好 Sudan 顆粒が観られるが, 之等と変性物質が直接関係を持つ所見ではない。

類晶型変性巢に於ても好 Sudan 物質は總べて陰性である。

#### ③ アルカリ性 Phosphatase の証明<sup>4)</sup>

固定: 包埋: 無水 Alcohol-Acetone (1:1) 液に 4~5 時間 (この間 3 回繰返す) 室温で固定。Xyloil を通して軟 Paraffin (融点 55°C) に包埋。標本は死後 2 時間で剖検したものを使用。

染色の要約: 対照として屠殺直後の家兎腎臓を使用。

結果: 対照標本の家兎腎臓の細尿管上皮には強い黒褐色の反応が現われるのに反し, 類粘型及び類晶型変性巢何れも陰性の結果を示したのみならず, 通常心筋に認められる反応も全く陰性の結果を示した。

この様に陰性の結果を示した理由は明瞭ではないが恐らく死後経過時間の延長に因るものと思う。従つて現在のところ解磷酵素と変性物質との関係を知ることは不可能の状態にある。

#### ④ Bielschowsky 鉍銀法<sup>45)(46)</sup>

固定: 10% Formalin

結果: 類粘型変性巢内の嗜銀性物質は陳旧な大型変性巢内に極く僅か存在するものがあるが全体として特に意味ある染色性は示されない。然し変性心筋の基底膜を構成する嗜銀性の微細な線維網は一般にその太さを増し, 且つ嗜銀線維の短縮が認められ心筋線維自身に部分的変化が起つているに過ぎない。

類晶型変性巢は特別な染色性を示さない。

### V 組織化学的性状の要約

以上行われた種々の染色成績から得られた特徴を基礎として, 本変性の組織化学的性状の要約を試みる。

類粘型変性巢に於て示される著しい特徴は PAS 反応によつて変性巢の全段階が總べて強陽性の反応を示す点である。PAS 反応の本態はまだ完全に解明されていないが, この PAS 陽性物質は現在の組織化学的見地から一応多糖体と言つて差支えないであろう。

Hale の Colloid 鉄法では一部或は全変性巢中に酸性多糖体の反応を示すものがあり, PAS-Colloid 鉄重染法の成績では酸性及び中性粘質多糖体が変性の各段階に応じて複雑な分布状態を成して混在するのが判る。

諸種塩基性色素に対する Metachromasia 性, 特に PH を異にする Toluidine blue の Metachromasia の成績では Hyaluron 酸, Chondroitin 硫酸, Mucoitin 硫酸, Mono 硫酸 Heparin 等を含む所謂酸性粘質多糖体の反応が得られる。この内特に Hyaluronidase 消化試験によつて僅量ながら Hyaluron 酸の存在を知ることが出来た。

Lison の言う Chrome 酸処理後の Toluidine blue の Metachromasia が全変性巢に亘り隈なく陽性化し, PAS 反応に近似した陽性度を示す点では中性粘質多糖体も本変性の本質的成分として考慮される。又 Aldehydefuchsin 染色でも Glycoprotein, Mucoprotein 等の中性粘質多糖体としての反応が示される。

然し乍ら一般に変性巢内の酸性粘質多糖体成分は同一標本内個々の変性巢に於ても又剖検標本の種別に於てもその量的消長が示され, 常に一定量を保持するとは限らない。中性粘質多糖体成分に於ても酸性粘質多糖体と同様な消長が示されるが, 変性巢中に或る一定量の中性粘質多糖体が常在すると言う意味で酸性粘質多糖体とは若干趣を異にしている。

変性の発生機序に関する病因的關係又は変性発現による新旧の程度或は緩急等の変化によつて上述の様な酸性及び中性粘質多糖体が複雑な分布状態を成して混在するものと思われる。こう言つた変性物質の混在する特徴のよつて来る Mechanism は尙不明としても, 変性自体の発生を究明する上に何等かの指示を与える点で以上の成績は注意する必要がある。

Jod, Gentiana violet, Congo red 等の染色では一部に Amyloid と同性状の染色成績を示しているものがある。

Mucicarminé で難染性の成績は従来の成績と概ね一致する。Best の Carmine 染色は唾液消化を行つても染色性が変化しないのは遊離 Glycogen でないこと

各種染色法による粘質多糖変性 (MPS 変性) の染色態度

染色の種類		判定		着染態度		備考
		C型	M型	C型	M型	
Hamatoxylin-Eosin 染色	Hematoxylin	+	卅	稀に淡青染	濃淡を有する紫色	一部に不染部あり
	Eosin	+	+	淡赤染(硝子様)	一部淡赤染	
Mallory-Azan 染色	Azocarmine	+	+	紅色透明	小部分赤染	一部に不染部あり (C型は一部 Orange-G の色調を有する)
	Anilin-Orange-G	-	卅		淡染(濃淡あり)	
Trichrome 染色 (Goldner 法)	Ponceau	+	-	橙赤色~灰黄色 不定(混合色)		
	Orange-G	+	+		一部淡黄染	
	Light green	+	卅		淡緑~緑染	
van-Gieson 染色	鉄 Hematoxylin	-	+		黄淡染不定	
	Picrin酸-Fuchsin	+	-	黄染(不定)		
Molybdaenhematoxylin		-	卅	不定な灰色	美しい淡赤色	C型は Orange-G の親和性が強い
Aldehydefuchsin (Halmi 法)	Aldehydefuchsin	+	卅	黄赤紫色 (混合色)	濃淡を有する紫色	
	Light green-Orange-G	+	+		一部淡緑染	
PAS Lillie 法 (KIO <sub>4</sub> )		卅	卅	赤染(紅色ゼリー様)	紅色~深紅色	M・C型共に全段階に強陽性(Acethylation を行う)
PAS (Hotchkiss 法 (KIO <sub>4</sub> ))		卅	卅	赤染(紅色ゼリー様)	紅色~深紅色	Lillie 法と殆んど同様
Bauer 法 (CrO <sub>3</sub> )		+	卅	淡赤染	紅色	上二者に比し反応は弱い
Casella 法 (KMnO <sub>4</sub> )		+	+	淡々赤染	淡赤染	更に反応は微弱となる
Best 法 Carmine 染色		-	卅	微赤染	赤染	唾液消化後も変化なし
唾液消化後の PAS		卅	卅	赤染(紅色ゼリー様)	紅色~深紅色	唾液消化後も変化なし
Mucicarmine		+	±	淡赤染	弱赤染(難染性)	
Hale-Rinehart の Colloid 鉄法		-	卅		美しい空色~青	
Colloid 鉄-PAS 重染法 (Ritter-Oleson)	PAS β	卅	卅	赤染	紅色	α, β, γ の量的分布は標本によつて変動を示す
	Colloid 鉄 γ	-	+		空色~青	
	PAS Colloid 鉄 α	-	+		紫色~紫赤色	
Toluidine blue Metachromasia 法(大野)	pH 7.0	-	卅		紫色~赤紫色	
	pH 4.1	-	卅		紫色~赤紫色	
	pH 2.5	-	+		紫色	
Chronone 酸処理 Toluidine blue法 (Lison)	pH 7.0	+	卅	紫色	紫赤色~赤紫色	Metachromasia は常に増強する
	pH 4.1	-	卅		紫赤色~赤紫色	
Hyaluronidase 消化後の Toluidine blue	pH 7.0	-	卅		紫色~紫赤色	Metachromasia 陽性物質の減少を認む
	pH 4.1	-	卅		紫色~紫赤色	

Hyaluronidase 消化後の PAS		+	卍	赤 染 (ゼリー様)	紅色～深紅色	消化の影響は明確でない
H-dase 消化後の Colloid 鉄法		-	+		空 色 (網状となる)	僅かに消化
H-dase 消化後の Colloid 鉄-PAS 重染法	PAS $\beta$	+	卍	赤 染	紅 色	消化の影響は明確でない
	Colloid 鉄 $r$	-	+		空色～青	
	PAS Colloid 鉄 $a$	-	+		紫色～紫赤色	
Thionine-封入染 色 (Feyrter)	Alcohol 未処理	-	卍		赤紫色～バラ色	
	Alcohol 処理	-	+		赤紫色～バラ色	
Amyloid の染色	Jod 法	-	卍		terr cotta pink maphoganybrown	
	Gentiana violet	-	+		赤紫色～紅色	
	Cong red	-	+		赤 褐 色	
Gram 染色 (Goodpasture) (Mac Callum)	陽 性 部 Gentianaviolett	+	+	紫色細顆粒	紫 色	Gram 陽性部, 陰性部 を同時に染色する
	陰 性 部 Anilin-Fuchsin	+	+	赤 色 (均質)	赤色細顆粒	
Weigert の Fibrin 染色		-	+		紫 色	
Lillie の Allochrome 染色	PAS	+	卍	黄赤～オレンジ ～赤黄色 (混合 色)	紅色～深紅色	
	Picro-Waterblue 0.04%	+	+		紫 赤 色	
Feulgen 反応		-	±		淡 紫 色	M型の核周辺に陽性の ことあり
Methyl green- Pyronine 染色	Methyl green	-	-			
	Pyronine	+	+	淡 赤 染	淡々赤染	
Baryt 水作用後 M-P 染色	Methyl green	-	-			Baryt 水の影響を認め ない
	Pyronine	+	+	淡 赤 染	淡々赤染	
浜崎 KEG, KEL		-	+		紫色顆粒, ピマ ン性紫	
Ca 染色 (Kóssa)		-	-			
Sudan III 脂肪染色		-	-			
Alkali 性 Phosphatase		●	●			不 成 功
Bielschowsky 鉍銀法		-	-			主に基底膜の変化のみ M型に細顆粒物質あり

判 定 の 説 明

§ M型の陽性部を次の6段階に区分する。

- (卍) 変性巢全部が強く染まり不染部がない。
- (卍) 変性巢の大部分が染まるが一部に不染性の部分が残る。
- (+) 染まる部分と不染性の部分が相半ばする。
- (+) 一部しか染まらず不染性の部分が相当残る。
- (+) 僅かに染まる。
- (±) 染, 不染が一定しない。

§ C型の陽性部を次の3段階に区分する。

- (+) 変性巢が全部染まり不染の部分がない。
- (+) 一部が染まり一部に不染性の部分が残る。
- (+) 僅かに染まる。

を示し、むしろ蛋白と結合した *Desmoglykogen* (Puccini & Stiguliani) の存在も一応考慮すべきであろうが、上述の様に本変性物質中より酸性粘質多糖体成分を除外することは到底考えられない。

Gram 染色の組織化学的反應の本態は未だ不明であるが一部に所謂 Fibrin 物質と共通性が示されるものがある。何れにせよ変性物質が或る種の蛋白質と結合状態にあることは充分想像出来るところであるが、然し組織化学的意味に於ける特種蛋白体の反應は現在得られていない。

更に PAS 反応, Toluidine blue 染色, Colloid 鉄法, Aldehyde fuchsin 法, Molybdaenhematoxylin, Mallory-Azan 染色等によつては所謂膠原物質と共通性のある染色態度を示している。然し van-Gieson 染色はこの特徴から除外される。元來膠原物質中には一部に Hyaluron 酸, 種々な Chondroitin 硫酸等の酸性粘質多糖体が含有されていることが知られている。(Meyer) 然し本変性物質が直ちに膠原物質由来とすることは出来ない。

Feyrter の酒石酸 Thionine 封入染色の成績では特に可溶性微量の Metachromasia 陽性物質の存在が認められる。この点従来やゝもすると見逃され易かつた本変性の alcohol 溶解性と云う点で注意する成績である。

核酸系物質としては変性巢中僅量認められる DAN は心筋細胞核の主として統管性の変化によるものと考えられ、之に解重合化した核酸系物質も僅量認められる場合があるが、RNA の存在は尙確定出来ない。何れにせよ本変性物質に於いて核酸系物質は成分的にも発生的にも本質的な意義を有するものではない。

要するにこの変性物質は決して単質なものではなく、上述の様な Mucoïd, Glycoproteide 等の中性粘質多糖体や Hyaluron 酸, 硫酸粘質多糖体等の酸性粘質多糖体成分が変性の種々な段階に応じて複雑な分布状態をなして混在し、粘質多糖体成分が変性物質の最も本質的成分を成していることが判る。

類晶型変性巢に於ては類粘型と同様に PAS 反応が広範な陽性度を示すことが大きな特徴であるが、時には Lipofuscin と染色上区別困難な場合があり、又両者間に形態的移行が示されるものがある。Aldehyde fuchsin に好染するが、Amylase や Hyaluronidase で消化されない。Mucicarmine で弱染し、Best の Carmine には染まらない。Gram 染色は全般的に弱陽性で陰性部分が多いが、陽性部分は顆粒状を呈する。

Toluidine blue の Metachromasia 法では大部分陰性であるが Chrome 酸処理後の Toluidine blue の Metachromasia の成績では pH 7.0 で陽性化するものがある。

り、pH 4.1 で再び陰性化する。一般に好塩基性々格は元來殆んど示されず主に Eosin や Orange-G 等の酸性色素に対する親和性が大きい。

従つて本変性物質は類粘型変性巢に比べて酸性基群は少いが殆んど存在せず、中性粘質多糖体又は多糖体が固く蛋白と結合した Mucoprotein, Glycoprotein (Meyer) 等の性状に近いものである。

核酸系物質と関連性を示す様な組織化学的反應は何等示されない。

混合型変性巢に於ては類粘型変性巢, 類晶型変性巢夫々の染色上の特性を独立性に有してはいるが、組織化学的及び形態的觀察では類粘型の類晶型への移行形或は吸収過程が示されるものがある点で注意せねばならない。

混合型変性巢は Colloid 鉄-PAS 重染法, Goldner の Trichrome 染色, Aldehyde fuchsin 法等によつて特に明瞭に觀察出来る。

#### IV 変性の名称

類粘型変性物質の化学的性状よりすれば硝子様変性 (Hewitt) の当らないのは言う迄もないが、漠然とした好塩基性変性 (Haumeder) と云う名称は現在では最早使用に耐えない。粘液変性又は類粘素変性 (梅田) も広義に解釈すれば差支えないかも知れないが、この物質の組織化学的不均質性を参考にするとき、より包括的な名称こそ望ましい。この意味で糖蛋白 (Glycoproteide) 変性とでも称すべきであろう。然し所謂 Amyloid 反応を呈すること等を考慮する時、本質の共通成分の名を冠した粘質多糖体変性 (MPS 変性) と云うのが最も当を得た名称であろう。

類晶型変性巢はその化学的性状は勿論、形態及び筋線維内発現部位からみて、筋原線維や筋漿の膠質状態の部分的変化により所謂 Coacervate として生じたもの或は類粘型変性 (MPS 変性) の吸収過程として存在するもの等がある点特に MPS 変性と便宜上区別した名称を与えた方が本変性を理解する上により好都合である。それ故本変性巢をその性状からみて那須に従い類晶変性 (Crystalloid 変性) と呼ぶのが適當である。

然し MPS 変性にせよ Crystalloid 変性にせよ心筋の封入変性として糖蛋白系列の異常代謝像と看做す点で何等異るところはない。

#### VII 結論

剖検心臓より得た人体心筋の所謂好塩基性変性 (或類粘素変性) を特に多数認められる例を選び、之に予め種々な固定を施し、変性物質の組織化学的検索法を試み次の結果を得た。

1) 変性巢を形態的特徴と組織化学的特性を考慮し

た類粘型, 類晶型及びそれ等の混合型に区別し, 夫々の変性型に特有な染色態度を明かにした。

2) 類粘型変性巣中には Hyaluron 酸, 硫酸粘質多糖体及び中性粘質多糖体乃至 Mucoproteide, Glycoproteide の存在を証明した。

3) 類晶型変性巣中には好酸性物質, 粘質多糖体及び若干の中性粘質多糖体の反応を示す物質を証明した

4) 之等粘質多糖体成分が類粘型及び類晶型変性巣に於ける最も本变的成分である。

5) 類粘型変性巣中には僅量の DNA 乃至低重合化した核酸物質の存在を示す反応を認めることがあるが, 変性の本变的成分ではない。類晶型変性巣中には核酸系物質の存在を示す反応を認めない。

6) 本変性の名称について類粘型変性巣を粘質多糖体変性 (PMS 変性), 又類晶型変性巣を類晶変性 (Crystalloid 変性) (那須) と呼ぶのが組織化学的見地に立脚した最も適切な名称である。

尙本論文の要旨は1954年4月, 日本病理学会に於いて報告し, 同会誌43巻号に発表した。

#### 参考主要文献

- ①青木貞章・外, 癌の組織化学的研究(第一報)癌, 43巻, 65頁, 1952. ②Anderson, W. A., Pathology, Mosby Co. 1953. ③安藤晴弘, Hyaluronidase の生化学, 産婦人科の世界, 3巻, 729頁, 1951. ④Barger, J. D., A simplification of the technic for demonstrating alkaline and acid phosphatase. Arch. Path., 6, p. 620, 1949. ⑤Brewer, D. B., Myxædema: An autopsy report with histochemical observation on the nature of the mucoid infiltration. J. Path. Bact., 63, p. 503, 1951. ⑥Bunting, C. H., Bunting, H., Acid mucopolysaccharides of the aorta. Arch. Path., 55, p. 257, 1953. ⑦Dietrich, W., Pluriglanduläre Sklerose bei Myödem mit mucoider Degeneration der Skelettmuskulatur. Virchows Arch., 307, p. 566, 1941. ⑧Doerr, W., Die basophile (mucoide) Degeneration des Herzmuskels, Z. Kreisl. Forsch., 41, p. 42, 1952. ⑨Doerr, W., Holdack, K., Über das Myxödemherz, Virchows Arch., 315, p. 653, 1948. ⑩Feyrter, V. F., Über den Mukoproteidnachweis mittels der Thionin-Einschlussfärbung, Zbl. allg. Path. u. path. Anat., 93, p. 442, 1955. ⑪Fischer, C. H., Muligan, R. M., Quantitative study of correlation between basophilic regeneration of myocardium and atrophy of thyroid gland, Arch. Path., 36, p. 206, 1943. ⑫Geipel, P., Untersuchungen über

rheumatische Myokarditis. Dtsch. Arch. klin. Med., 85, p. 75, 1905. ⑬Glick, D., Techniques of Hist- and Cytochemistry, Interscience Publ. (New York)

⑭Göbel, P., Histologische Untersuchungen am menschlichen Herzmuskel zur Frage der "Myocardose", Beit. path. Anat. u. allg. Path., 114, p. 65, 1954. ⑮Gomori, G., Aldehyde-Fuchsin: A new stain for elastic tissue, Am. J. Clin. Path., 20, p. 665, 1950. ⑯Goodpasture, E., The influence of thyroid products on production of myocardial necrosis. J. Exp. Med., 34, p. 407, 1921. ⑰Gotthold, H. H., Über die basophile Degeneration der Zungenmuskulatur, Inaugural Dissertation (Heidelberg), 1951. .... ⑱より引用. ⑲Hale, C. W., Histochemical demonstration of acid polysaccharides in animal tissues, Nature, 157, p. 802, 1946.

⑳Halmi, N. S., Differentiation of two types of basophils in the adenophypophysis of the rat and the mouse, Stain Technol., 27, p. 61, 1952.

㉑浜崎幸雄, 細胞核の生理と病理, 永井書店, 1952. ㉒原田 澄, 多糖類硫酸エステルの新しい染色法について, 医学と生物学, 21, p. 47, 1952. ㉓Haumeder, M. E., Basophilic degeneration of heart muscle, Am. J. Path., 11, p. 535, 1935. ㉔Hewitt, J. H., A peculiar degeneration found in heart muscle cell: a preliminary report, Bull. John Hopkins Hosp., 21, p. 279, 1910. ㉕Highman, B., Staining of mucus with duffered solutions of toluidine blue O, thionine and new methylene blue N, Stain Technol., 20, p. 85, 1945. ㉖市川 収, 細胞化学, その理論と術式, 本田書店, 1953. ㉗石塚 支, 横紋筋の基底膜に関する実験的研究, 日大医学雑誌, 13, 別刷, 1954. ㉘木下良順, 病材料検査法, 南山堂, 1948.

㉙Liebegott, G., Über die, basophile Degeneration der Herzmuskelfaßer, "ein Beitrag zu den „vitalen Reaktionen,“ Beit. path. Anat. u. allg. Path., 98, p. 410, 1936. ㉚Lillie, R. D., Histopathologic Technic, The Blakiston Co., 1952. ㉛Lillie, R. D., Staining of connective tissue, Arch. Path., 54, p. 220, 1952. ㉜Lillie, R. D., The allochrome procedure, a differential method segregating the connective tissues, collagen, reticulum and basement membranes, into two groups. Am. J. Clin. Path., 21, p. 484, 1951. ㉝Linzbach, A. J., Mikrometrische und histologische Analyse hypertropher menschlicher Herzen, Virchows Arch., 314, p.

534, 1947. ③Lison, L., 組織化学および細胞化学, 理論と方法, 今泉 正訳, 白水社, 1954. ④望月 昇, 癌組織に於ける多糖類の組織化学的研究, 日病会誌, 44, p. 527, 1956. ⑤Nabe, R., Über die sog. mucoide Degeneration der Herzmuskeltasern., Inaugural Dissertation, (Heidelberg), 1951. ……⑧より引用. ⑥那須 毅・衣笠和夫, 嗜塩基性心筋変性について, 日病会誌, 37巻, 22頁, 1948. ⑦岡本耕造・外, 顕微鏡的組織化学, 医学書院, 1955. ⑧大根田 玄寿, 結合織の細胞間基質殊にその酸性多糖類の組織化学的研究法に関する展望, 日本医事新報, 1500号, p. 393, 1953. ⑨大野 乾・外, 酸性多糖類の組織化学的研究, ヒアルロン酸の組織化学的確認法, 医学と生物学, 19, p. 326, 1951. ⑩Pearse, A. G. E., The aldehyde-fuchsin Stain for elastic tissue, Histochemistry: Theoretical and Applied, Little, Brown & Co. (Boston) p. 423, 1954. ⑪Puccini, C., Stigliani, R., Nuove ricerche sulla cosiddetta degenerazione basofila del miocardio. I rapporti istochimici tra D.B. e gli acidi nucleici e un'indagine sopra la correlazione tra D. B. e sindromi tiro-prive., Archivio „De Vecchi“ 15, p. 811, 1950. ⑫Rinehart, J. F., Abul-Haj, S. K., An improved method for histologic demonstration of acid mucopolysaccharides in tissues., Arch. Path., 52, p. 189, 1951. ⑬Ritter, H. B., Oleson, P.H. D., Combined histochemical staining of acid polysaccharides and 1, 2 glycol groupings in paraffine sections of rat tissues., Am. J. Path., 26, p. 639, 1950. ⑭Romeis, B., Mikroskopische Technik, Leibniz Verlag, München, 1948. ⑮Roulet, F., Methoden der pathologischen Histologie. Springer Verlag, Wien, 1948. ⑯Saigo, Y., Die Purkinjeschen Muskelfasern bei Erkrankungen des Myokards., Verhandl. Dtsch. Path. Ges., 12, p. 165, 1908. ⑰Schultz, A., Über einen Fall von Athyresis congenita (Myxödem) mit besonderer Berücksichtigung der dabei beobachteten Muskelveränderungen., Virchows Arch., 232, p. 302, 1921. ⑱柴谷篤弘, 核酸及び核蛋白, 下巻, 共立出版, p. 47, 1951. ⑲Spencer, H., Mucoïd degeneration of heart muscle., J. Path. Bact., 62, p. 653, 1950. ⑳Stowell, R. E., Feulgen reaction to thymonucleic acid. Stain Technol., 20, p. 45, 1945. ㉑Strukmann, I., Herzmuskelveränderungen beim Myxödem., Inaugural Dissertation (Heidelberg), 1948. ……⑧より引用. ㉒梅田 薫, 心筋

の所謂満性嗜好性変性につきて, 日病会誌, 31, p. 623, 1941, ㉓Umeda, K., Über die sog. basophile Degeneration des Herzmuskels., Virchows Arch., 307, p. 1, 1941.

#### カラー写真の説明

- Fig. 1. Mucoïd型の Hematoxylin-Eosin 染色。一部に Eosin 好性の部分がある。強拡大 (油浸)。  
 Fig. 2. Mucoïd型の PAS 染色。中拡大。  
 Fig. 3. Crystalloid型の PAS 染色。強拡大 (油浸)。  
 Fig. 4. Halmi の Aldehyde fuchsin 染色。(混合型) Mucoïd型は濃淡のある紫色, 一部緑色。Crystalloid型は黄紫色乃至黄赤紫色の混合色。強拡大 (油浸)。  
 Fig. 5. Mucoïd型の Toluidine blue 染色 (pH 7.0) 強拡大 (油浸)。  
 Fig. 6. Mucoïd型の Chrome 酸処理後の Toluidine blue 染色 (pH 4.1) 強拡大 (油浸)。  
 Fig. 7. Crystalloid型の Chrome 酸処理後の Toluidine blue 染色 (pH 7.0) 強拡大 (油浸)。  
 Fig. 8. Mucoïd型の Colloid 鉄-PAS 重染色 (Ritter-Oleson), 陳旧型, 強拡大 (油浸)。

### Histochemical Studies on Mucopolysaccharide Degeneration of Heart Muscle

Kyuyo Shiozawa

Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director: Prof. T. Nasu)

Human myocardium obtained from autopsy cases, in which foci of so-called basophilic (or mucoïd) degeneration were numerous, was examined histochemically by applying various suitable methods of fixation.

The results obtained were as follows:

1. Taking into consideration both morphological features and histochemical characteristics, the degeneration foci were classified into three types: the mucoïd, the crystalloid and the mixed. And the characteristic staining attitudes of each type were clarified.
2. In the degeneration focus of the mucoïd type the presence of hyaluronic acid, acid and neutral mucopolysaccharides, and mucoprotein (glycoprotein) was proved.
3. In the degeneration focus of the crystalloid type some substances which showed the reaction

MUCOPOLYSACCHARIDE (MPS) AND CRYSTALLOID DEGENERATION  
OF HEART MUSCLE



Fig 1

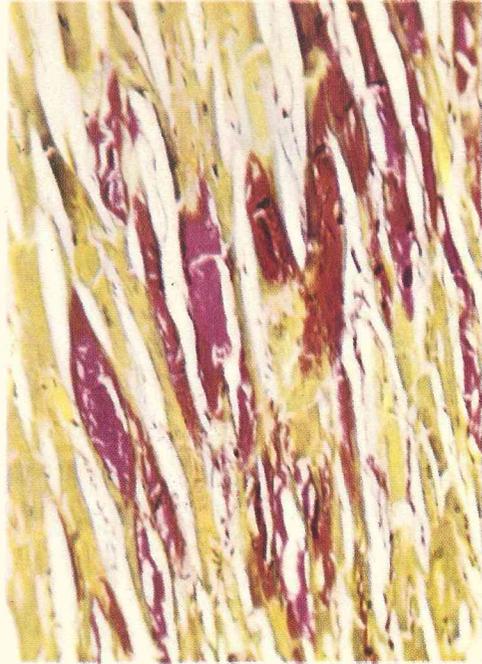


Fig 2



Fig 3

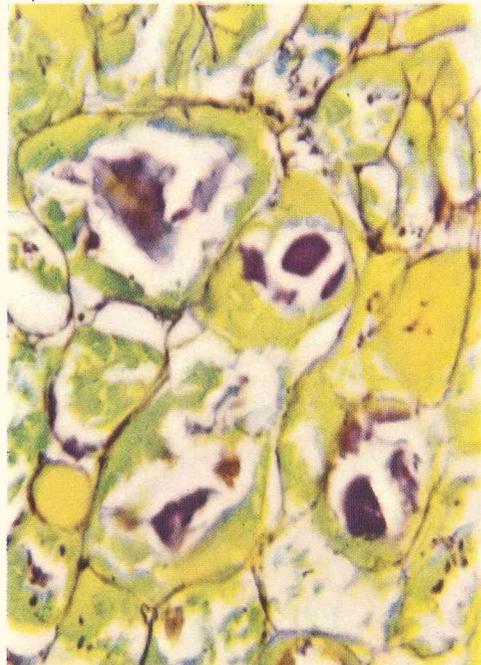


Fig 4

MUCOPOLYSACCHARIDE (MPS) AND CRYSTALLOID DEGENERATION  
OF HEART MUSCLE

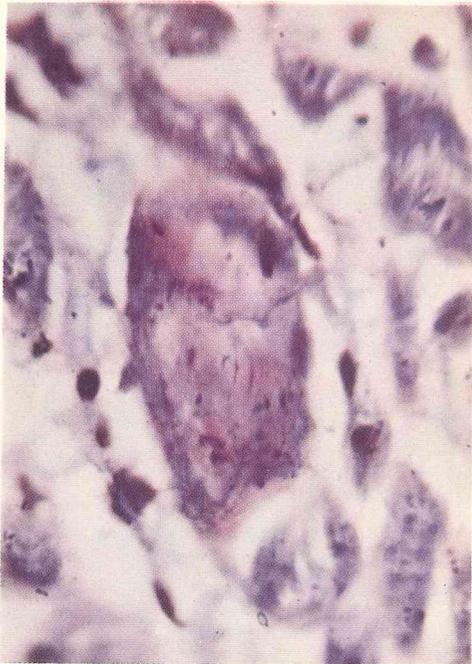


Fig 5

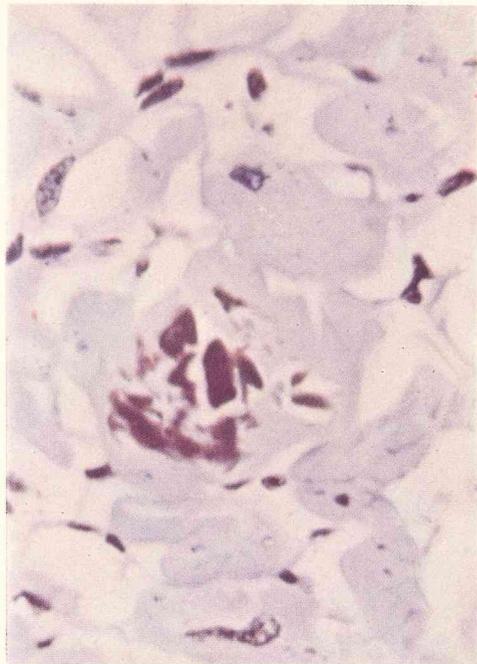


Fig 6

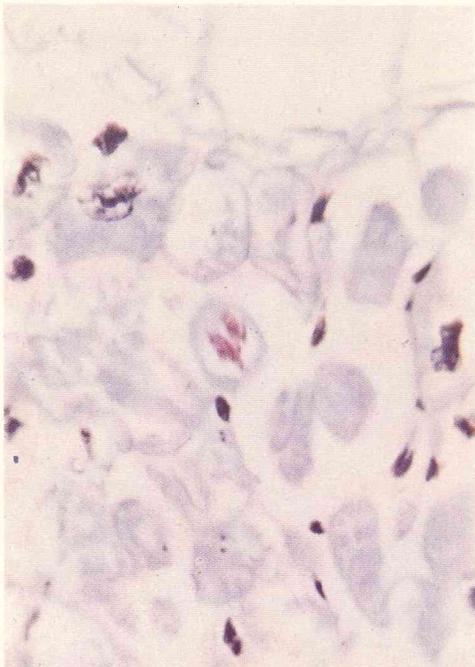


Fig 7



Fig 8

Fig. 9.

MPS 変性の最も多発していると思われる部の H・E 染色。  
 (17才女子, 左室後壁)  
 弱 拡 大

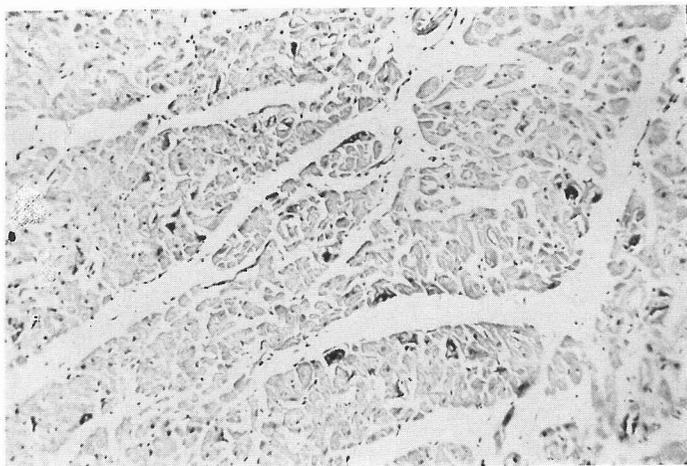


Fig. 10.

全上の部分の PAS 染色。全変性部が陽性であるのに注意。

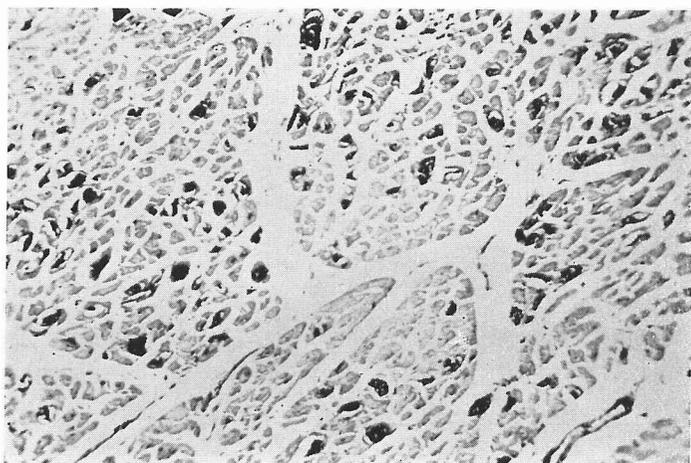


Fig. 11.

Mucoid 型に於ける Amyloid の為の Jod 反応。  
 (純アルコール固定, 54才女子)  
 強 拡 大





Fig. 12.  
Mucoid 型の Best-Carmine 染色。  
(純アルコール固定, パラフィン  
切片, 38才男子)  
強 拡 大

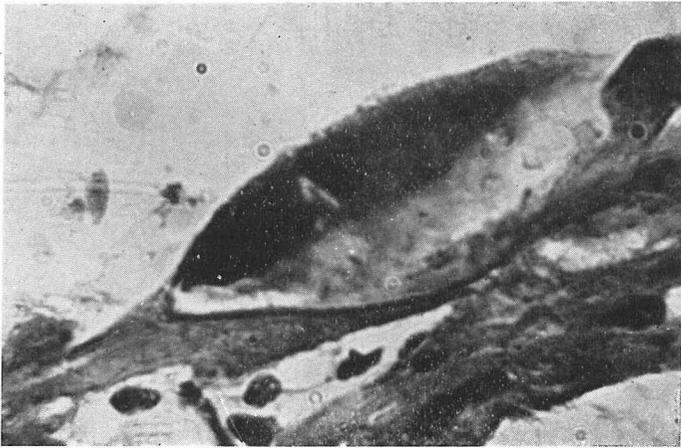


Fig. 13.  
Mucoid 型の Cong red 染色。  
(51才女子, 純アルコール固定)  
強 拡 大

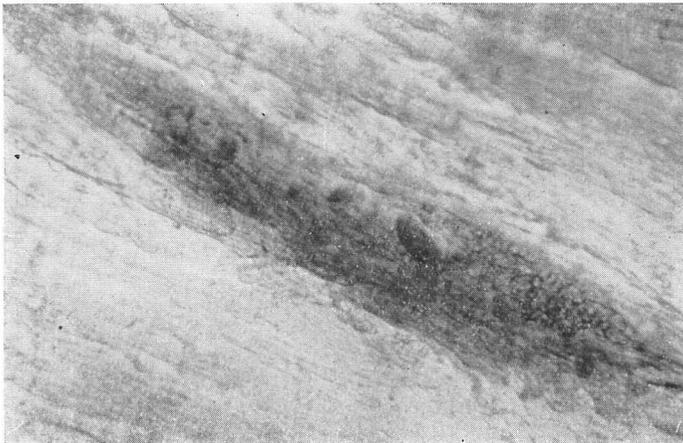


Fig. 14.  
Mucoid 型の Thionine 封入染色  
(Feyrter) アルコール未処理凍  
結切。(10%片ホルマリン固定,  
17才女子)  
強 拡 大

Fig. 15,

Crystalloid 型の H・E 染色。変性塊 (d) は筋漿とほぼ同一色調に染まる。(横断面)  
強拡大

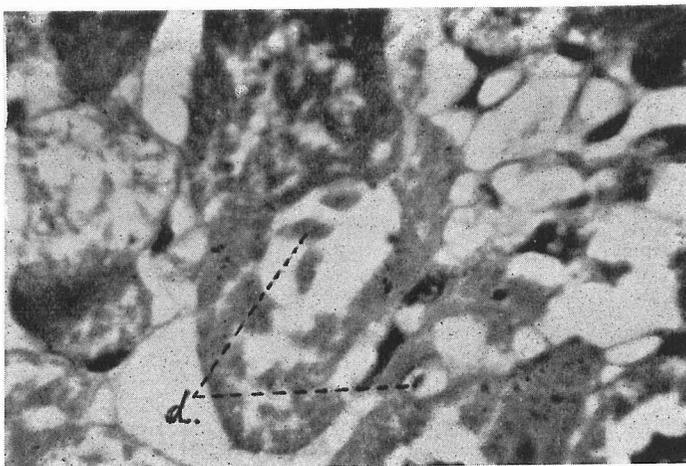


Fig. 16.

Crystalloid 型の PAS 染色では紅色ゼリー様を呈するので発見は極めて容易。(縦断面)  
強拡大

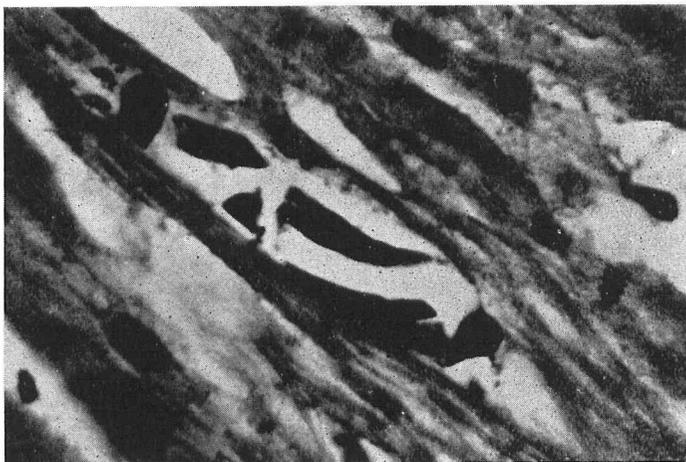
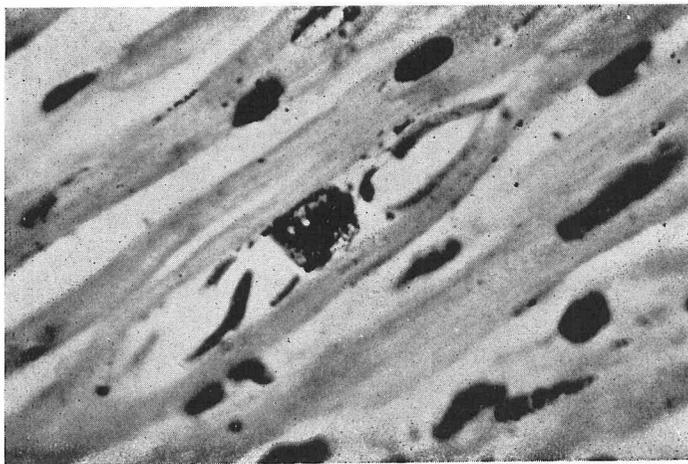


Fig. 17.

Crystalloid 型の Gram 染色。  
変性塊が細顆粒状を呈する。  
強拡大



of neutral mucopolysaccharide were present.

4. Therefore, these mucopolysaccharides were the most essential components of the degeneration foci of both mucoid and crystalloid types.

5. The reactions which disclosed the presence of DNA and depolymerized nucleic acids were sometimes slightly positive in a degeneration focus of the mucoid type. However, these were not the essential components of this degeneration. In the

degeneration focus of the crystalloid type no reaction of nucleic acid substances was observed.

6. From the histochemical as well as morphological characteristics it seems appropriate to designate the degeneration of the mucoid type as mucopolysaccharide (or MPS) degeneration (NASU), and that of the crystalloid type as crystalloid degeneration (NASU).

## 心筋の粘質多糖体変性に関する研究

### 第二編 心筋の粘質多糖体変性 (MPS 変性) の 形態学的研究と統計的観察

昭和33年2月14日 受付

信州大学医学部病理学教室 (指導: 那須 毅教授)

助手 塩 沢 久 要

#### I 緒 言

Haumeder, Liebegott 等の所謂心筋の好塩基性変性、或は梅田の類粘素変性と呼ばれた心筋線維の特有な病変は之を注目した少数の研究者等によつて規模の大小こそあれ、その形態学的研究並に組織化学的研究或は発生病理学的研究等が考究せられ、次第にその全貌が明らかにされつゝあつた。

私はさきに第一編に於て本変性の組織化学的研究を行い特に変性の名称に就いては大要次の様に述べておいた。

即ち従来呼ばれていた好塩基性変性や類粘素変性等の名称はこの変性物質の示す組織化学的成分が酸性或は中性粘質多糖体であることから適当とは言ひ難く、むしろ糖蛋白質の最近の化学的分類からみても本質的成分の名を冠した粘質多糖体変性 (MPS 変性) と呼ぶのが最も当を得た名称であることを提唱し、本変性を二型に分類して観察を行い、所謂好塩基性変性巢に相当するものを類粘型 (Mucoid 型) 変性とした。

然し Mucoid 型とは形態的に若干趣を異にする一新蛋白質変性像に就いて記述し、之に類晶型変性 (Crystalloid 型) と言う名称を与えた。之等両型変性巢は心筋中に於て互に密接な関連性を有し、心筋の封入変性として糖蛋白質系列の異常代謝像と看做した。

好塩基性変性即ち Mucoid 型変性の形態は比較的良く観察されているが、現在までの研究成績を総合すると、本変性に関する諸家の観察はまちまちであり未

解決の点も多く、確立された基本的変化が完成されている訳ではない。特に多数の症例を用いた系統的観察に至つては余り行われていない。

本変性の発生病理についての見解を総合すると或る種の物質代謝疾患によつて発生すると考える者と心筋内生性病変と見る者の2系統に大別することが出来るが、更に後者の中にも核原発性の病変であるとする者と心筋細胞の Cytoplasma に原発すると考える者にと別けられる。この変性が大局的に筋肉病理学の立場より觀て最初の病変が細胞のどの部位に始まりどの様な過程を経て進行し、最後にどんな転帰をとるのか、人の心筋にのみ觀られる特別な変化か、筋肉の物質代謝過程に於ける病的現象か或は生理的現象ですらあるのか、延いては本病変が筋肉病理学に如何なる意義を有するのか等の諸問題を深く追究した研究は非常に少いか或は皆無に等しい状態にある。

今回第二編に於ては主として本変性に関する上述の様な諸問題の解明を目的として、多数症例を用いた系統的な形態学的研究並に心各部位に於ける変性発現状況、年齢別発現頻度、性別発現比、疾患別発現頻度等の統計的観察を実施し、更に各種動物心筋について変性の発現状態を検索し、第一編に於て行われた組織化学的研究を参考にしつつ、本変性の有する筋肉病理学的本態について考究した。

#### II 研究材料及び検索方法

当教室で行われた剖検例中無作意選択材料 300 例の