

メラニンおよびその前駆体の 銀親和性反応について

昭和32年9月6日受付

信州大学医学部第1解剖学教室 (指導: 尾持教授)

永田哲士 藤原泉
鳥村和夫 鈴木章平

メラニン色素およびその前駆体が、銀親和性反応を示すことは Bizzozero (1908)^①以来メラニンの組織化学的証明法として広く知られているが、この反応並びにメラニン自身の本態に関しては、依然として不明な点が多い。著者等^②は先に重層扁平上皮におけるカルシウムの分布に関する研究に際して、カルシウムの磷酸塩検出のための Kóssa 銀メッキ法により同上皮中に出現する銀好性顆粒が、メラニン色素およびその前駆体によるものであることを知り、これらメラニン色素が Masson 銀親和性反応によつて、陽性であることおよび各種酸化法による脱色により、銀親和性を失うことを発表した。このような酸化剤によるメラニン色素の脱色およびメラニンと、その前駆体の銀親和性反応の消失が還元により可逆的であるかどうかということは、メラニン分子の本態を究明する上に何らかの手掛りとなるであろうと考え、つぎの如き実験を試みた。

研究方法および材料

材料は手術時採取したヒト腹皮5例である。各例ともホルマリン固定、パラフィン包埋による5~10 μ の切片とし、数枚は脱パラフィン後対照として直ちに Fontana 液で36時間処理して水洗、5%チオ硫酸ソーダに数分入れた後明ばんカルミンで後染色する所の Masson 銀親和性反応^③を行い、残りの切片は6種の酸化法と3種の還元法を組合わせて酸化後還元してから上と同様 Masson 銀親和性反応を試みた。酸化法および還元法は下に述べる如き方法で行つた。

酸化法

- 1) Hueck 法^④ 切片を3%過酸化水素水に3日間浸漬する。
- 2) Strauss 法^④ 第2磷酸ソーダを1%の割合に含んだ3%過酸化水素水に1~2時間切片を浸漬する。つぎに1%酢酸水中に短時間入れた後水洗する。
- 3) Kopsch 法^④ 5%さらし粉1容と1%クロム酸水溶液1容を使用時に混合し切片を20時間浸漬する。
- 4) Mayer 法^④ 染色壺の底に塩素酸カリの結晶を入れ70%アルコールで充たし、切片を入れた後ピペツ

トで濃塩酸数滴を塩素酸カリの結晶に直接注ぎ24時間密閉して浸漬する。

5) Schulze 法^④ 酢酸 150gm, 塩素酸カリ 40gm, 溜水 30cc を混合し、水浴 60°C 加温、生ずる ClO₂ を溜水 500cc に 5%酢酸 50cc 加えた液へ通じ密栓し、暗所で24時間切片を浸漬する。

6) Mawas 法^④ 溜水 100cc に20滴の Br を加え、その中に切片を24時間放置する。

以上の各酸化法により、メラニン色素を脱色した後各方法による切片1枚ずつを対照として直ちに Masson 銀親和性反応を行い、残りの90枚の切片は各酸化法について5枚ずつ3群に分け次の還元法を行う。従つて酸化、還元の組合わせにより18種類の標本が1種類5枚ずつ完成するわけである。

還元法

- 1) 水素ガス 稀塩酸に亜鉛を加え発生する水素ガスを溜水中へ導き、切片を24時間密閉して浸漬する。
- 2) 硫酸第1鉄 FeSO₄ 飽和溶液 (20°C で 15.7%) 中に2日間浸漬する。
- 3) 塩化第1錫 10% SnCl₂ 水溶液中に3日間浸漬する。

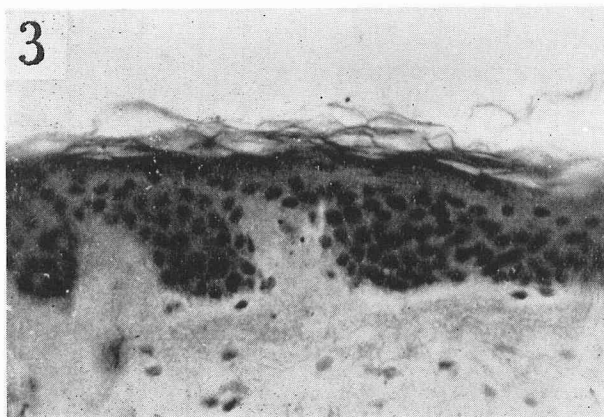
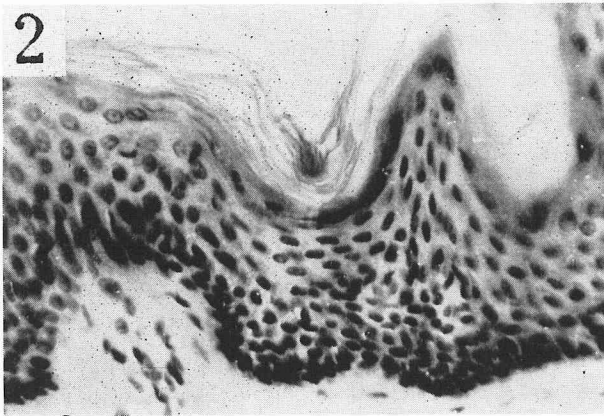
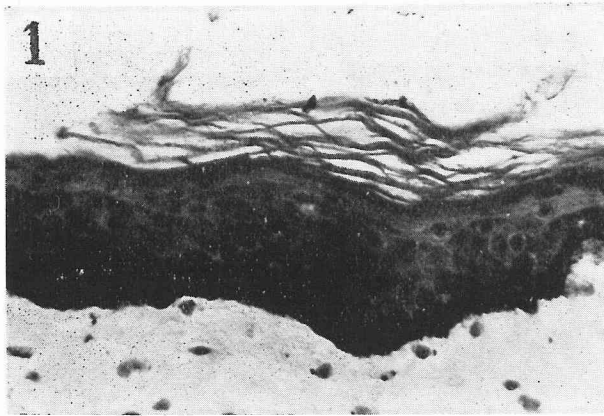
以上の還元法の後切片を2~3日間充分に水洗した後 Fontana アンモニア銀液中に24時間浸漬し、5%チオ硫酸ソーダを通し、明ばんカルミンにより後染色を行つた。還元後の水洗を充分に行わずに Masson 反応を行うと切片全体が黒色に反応する。また充分水洗した後でも Fontana アンモニア銀液に入れた後切片が黒変することがあるが、チオ硫酸ソーダに入れた後水洗を行えば黒色銀粒子は消失する。

成 績

1. 無処置 Masson 法対照切片

メラニン存在部位に一致して、上皮胚芽層の細胞に最も強く黒色顆粒が現われ、基底細胞層より表層に行くに従い顆粒の大きさ、数は減少するが角質層でも散在性に分布する。細胞質に多く、核質にはない。

(図1)。



Explanation of Plate

Fig. 1. Human abdominal skin after Masson's argentaffine reaction. Note the silver granules in the whole layer of the epidermis, especially remarkable in the basal layer. Magnification x 280.

Fig. 2. The same, after oxidation with Mayer's method, reduction with hydrogen, and Masson's argentaffine reaction. Less silver granules are observable in the basal layer than above.

Fig. 3. The same, after oxidation with Mawas' method, reduction with hydrogen, and Masson's argentaffine reaction. No silver granules are noticed in the epidermis.

2. 酸化後 Masson 法対照切片

前回と同様全層にわたり黒色顆粒は現われない。たゞし Mayer 法による酸化後の Masson 法は無処置 Masson 法と同様な黒色顆粒が主として基底細胞層に現われたが無処置より弱い。

3. 還元後 Masson 法

18通りの標本の中 Mayer 法酸化後の3通りの還元切片は Masson 陽性顆粒が酸化後 Masson の対照切片と同様に現われたが(図2), 他の15通りの標本はすべて陰性であつた(図3)。

考 察

Hueck, Strauss, Kopsch, Schulze, Mawas 各法による酸化後の切片は3種類の還元法によつても Masson 銀親和性反応は陰性であつたが Mayer 法によるものは還元前の対照も還元後の3種類の標本も共に陽性であるから Mayer 法による酸化は他の方法より不完全であると考えられる。メラニンおよびその前駆体の銀親和性反応が各種酸化法によつて、陰性となることはすでに発表した所であるが^②今回の実験によつて、酸化後の還元によつても、その失われた銀親和性はもとへもどらないことが判明した。たゞしこゝで問題となることは、還元が充分であつたかという点であるが、3種類の還元法いずれも、切片を還元後数分水洗した程度では、Fontana 液へ切片を挿入すると直ちに切片全体が黒変し、チオ硫酸ソーダ中でも黒色は除去できたため、水洗は24時間乃至3日間を要する程であつた。従つて切片は充分に還元されていたと考えられる。Pearse^⑤は酸化剤によつて酸化され、脱色されたメラニンは還元剤を用いると、銀反応によつて証明することが可能であると述べているが、著者等の今回の実験では、銀親和性は非可逆的であつた。たゞし Mayer 法による酸化のみは、メラニン色素は完全に脱色せず、わずかに褪色したにすぎない状態であつて、還元剤を用いると用いないとにかゝらず、銀親和性は存在するから Pearse の述べた所は酸化が不完全な場合であろう。

結 論

1. 6種の酸化法の中 Mayer 法以外でヒト皮膚のメラニン色素は完全に酸化、脱色された。
2. 脱色されたメラニンの銀親和性反応は陰性となる。
3. 脱色されたメラニンを3種の還元法により還元しても、銀親和性反応は陽性とならない。
4. 従つて酸化によるメラニンの脱色は、還元によつてももとへもどらない。

終に臨み、御指導、御校閲を賜つた恩師尾持教授に深謝します。

なお本論文の要旨は昭和32年10月19日第16回日本解剖学会中部地方会において発表する。

引用文献

- ①Bizzozero, E.: Münch. med. Wschr., 55: 2140, 1908 (cited after Pearse). ②藤原泉・永田哲士・島村和夫: 重層扁平上皮におけるカルシウムの分布について, 解剖誌, 32 (3), 305, 1957. ③Masson, P.: *Diagnostics histologiques*, Maloine, Paris, 1923. (岡本より引用). ④岡本執造・上田政雄・前田隆英: 顕微鏡的組織化学, p. 314-315, 医学書院, 東京, 1955. ⑤Pearse, A. G. E.: *Histochemistry, theoretical and applied*, p. 343, Churchill, London, 1954.

On the Argentaffine Reaction of Melanins and Their Precursors

Tetsuji Nagata, Izumi Fujiwara,
Kazuo Shimamura and
Shōhei Suzuki

Department of Anatomy, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. Sh. Omochi)

Melanins and their precursors were oxidized in the section preparations of human abdominal skin by means of Hueck's, Strauss', Kopsch's, Mayer's, Schulze's, and Mawas' methods. After then, the sections were reduced with hydrogen, tin chloride and ferrous sulfate. Masson's argentaffine reaction was carried out on the sections thus oxidized and reduced, as well as on the control sections without any treatment or with oxidation alone. The results obtained were as follows.

The control sections without any treatment showed positive argentaffinity (Fig. 1), while the sections oxidized showed negative argentaffinity.

The sections which were oxidized and then reduced showed negative argentaffinity as well (Fig. 3).

From these results, it is obvious that the lost argentaffinity of melanins and their precursors after oxidation is irreversible by means of reduction.