

positive even after the bath in distilled water containing 10^{-5} mol. of CO_2 (pH: 5.6, radioactivity per 0.1cc of bath water: 10.3 div./min.).

2) After the bath in bicarbonate solution (pH: 6.6, radioactivity per 0.1cc of bath water: 9.6 div./min.) transition of bicarbonate ion into the body was greater than that after the bath in distilled water.

3) By the addition of sodium sulfate (one gram

per liter) to the sodium bicarbonate solution percutaneous absorption of bicarbonate ion was promoted, while it was suppressed by the addition of sodium chloride (one gram per liter).

4) Irrespective of above mentioned kinds of baths percutaneous absorption of bicarbonate ion was accelerated by making a burn or by application of methylenblue to the skin of the bathed animals.

植物性色素による細胞核青染剤について

昭和30年9月23日 受付

信州大学医学部第一解剖学教室 (指導 尾持教授)

井 上 智 弘

緒 言

今日組織学的標本作製技術に於いて所謂永久標本作製に際し核染色に用いられる色素にはヘマトキシリンとカルミンがある。而してカルミンはメキシコ原産の有物目同翅亜目に属する胭脂虫 (Coccus cacti) の雌を原料として、得られた動物性色素を含んだ染料で、核を赤染し耐久力あるものである。併し現在最もよく用いられている核染色剤はヘマトキシリンであつて、これは熱帯地方に産する荳科植物の *Haematoxylon campechianum* L. より製出した植物性色素「ヘマトキシリン」 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ を酸化して生じた「ヘマテイン」 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$ を用いるものである。ヘマトキシリンは核を青染する他はカルミンと同じく耐久力あり染色操作も容易で且結果は常に確実であることが賞用せられる大きい理由であると考え。殊に核を青染するのはエオジン等による複染色を可能にし、又視覚に対しても赤色より生理的に優つている。

ヘマトキシリンは上述の如く組織学的標本作製上甚だすぐれた色素であるが、原料が熱帯又は亜熱帯地にのみ産し、我国には殆んど生産されないの、その使用に当つてはもつばら輸入にたよらねばならないのが現状である。しからば我が国産によつて簡易に求められる植物性染料にしてヘマトキシリンに代り得るものは全くないかというに、文献によれば数種の核青染剤を挙げる事が出来る。即ち、ナス(布施、鈴木両氏)、黒豆(鈴木氏、郷氏)及びツユクサ(尾持教授)がそれであるこれらはそれぞれに特徴ある染色剤であるが、その他にも純国産植物による核青染剤はないかと研究した結果、その条件に適うような色素を確認したので報告し併せて使用法をも述べようと思う。

自家所見及び考察

今回私がとり上げたものはつばき科に属するさかき

(*Cleyera ochracea* D. C.) の漿果に含まれる色素である。さかきは本邦中部以南の山林中に生ずる常緑亜喬木であつて、夏に開花し秋に多数の種子を入れた黒色の漿果を生ずるのである。この漿果を採取して 37°C の卵卵器中にて急速に乾燥して保存に耐えるように処置したものを原料とする。

染色液製法

乾燥して得られたさかきの漿果10gを乳鉢に入れて乳棒をもつて、種子がつぶれない様注意しながら充分にすりつぶしてから、70%アルコールを約50cc加え混和して5~6時間放置する。そして最初にガーゼを用い、次いで濾紙を以つて濾過する。濾液を皿にとつて一日放置するとアルコールが蒸発して濃縮するが、更にその液に97%アルコールを約20cc加えると白色の沈澱を生ずる。再び濾過して濾液を放置すると濃縮してくるので、同様の操作を繰返して濾液を得る。これに10%明礬水10ccと氷醋酸を0.5cc加えて染色液の調製を終る。

染色操作

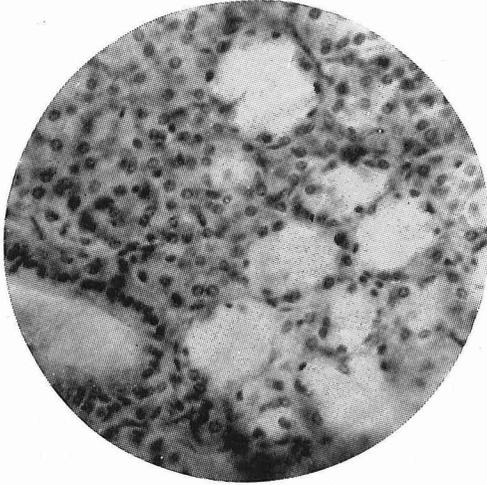
切片は水洗した後、上記染色液に約10~20分間浸しておくと、総ての細胞核は青染される。弁色はヘマトキシリンと同様稀塩酸アルコールを用いて行うことが出来る。

染色後の水洗はヘマトキシリンの場合と異り簡単に余剰の染色液を除く程度でよく、長時間の水洗はかえつて脱色或は変色するおそれがある。必要によつてはエオジンによる後染色も行う事が出来る。

10%ホルマリン固定によるツユクサ包埋した切片を用いて上記染色液とエオジンの複染色をして作製した標本を観察するに、弱彫大では総ての核は青染し、胞体は赤染して一見ヘマトキシリン、エオジン複染色による標本と全く同じである。併し色調に於いて

やゝさえない感じがある。

次に強廓大にて観察するに核の染色は染色質の多寡によつて濃淡の差があつて、この青染の状態は核の染色質によるものであることはヘマトキシリンのそれと同様である。この様に染色の能力についてはヘマトキシリンと変わる所のない染色液であることが知れる(挿図参照)。



さかきの実の色素とエオジンによる複染色
(人頭下腺)

さかきの漿果を原料とした染色液による染色標本の耐久力を考察するに昭和27年冬に染色した標本を2年余保存し、その間には日当たり良き場所に放置するなどの悪い条件があつたにも拘らずその色調は全然変化を認めることなく、褪色或は変色の徴候は見られない。即ち、本色素による染色標本は耐久力の点に於いては他の色素に対してもいさゝかの遜色を見ない。

以上述べた様にこの染色液は種々の長所を有しているが、缺点もまたもつている。缺点としては第一に調製した染色液の保存性が確かでないことである。即ち調製後数日を出ずしてすでに染色能力が劣えてしまうことである。その他染色力がヘマトキシリンに優らず色調もさえないことも缺点である。なお染色液調製に際してアルコールがやゝ多量に要することもこれに挙げることができる。

最後に文献に見られる純国産植物性染料と比較するにさかき色素はそれらに比して決して劣る所ない色素であるとは信ずるが果実を直接使用するため純粋な色素のみならず配糖体などの染色上不要な成分が混入する缺点がある。

總括的結語

そもそも植物性の細胞核青染色素であるための条件は 1. 細胞核を青染すること、2. 原料の入手が容易であつて、季節を選ばないこと、3. 原料より染色液

調製にいたる過程が簡単であること、4. 染色操作が容易であつて、結果が確実であること、5. 染色力が強力で染色時間が長くないこと、6. 一旦染色された標本は耐久力があつて容易に褪色や変色をしないこと、などであるがヘマトキシリンはこれらの条件の多くを満しているから優秀な組織永久標本作製上不可欠の染料として賞用されているのもむべなりといえるが、たゞ一つ純国産にして内地に原料を求めることが出来ない点は最大の缺点である。これを満し更に上記の各種条件を満すものとして、前記したツクサ色素(尾持教授)、黒豆色素(鈴木氏、郷氏、尾持教授)がありその他の核を青染する植物性色素としてナス色素(布施、鈴木氏)による染色法がある。それに加えて今回私が研究したさかき色素を挙げることが出来る。

これらの色素を比較検討するに、さかき色素は細胞核を青染する植物性色素であつて、原料の入手は本邦に於いて容易であり採取の季節は限定されるが原料を乾燥保存して随時使用の便に供することが出来ることは原料の入手を容易にするものである。染色操作は容易でその結果は確実であることは純国産であることと共に不可欠の条件を満足し、その他染色時間も短く耐久力も充分に有している。たゞ染色液の調製が簡単でない点はいさゝか遺憾とするが、原料を安価に得られることよりしてなお改良すれば優秀な染色剤となるかと考える。

尾持教授のツクサ色素による染料は染色液の調製法簡単であり、染色能力は相当にあり、標本の耐久力も大であり且原料の入手も容易であることなどの美点あり優秀な染料である。黒豆色素による染料は材料の入手に缺点あるが染色成果については優れている。但し郷氏の染色液調製法は複雑である。ナス色素は材料の入手に季節的な困難がある。

ツクサを直接原料とする以外は青花紙を用いる法も、その他黒豆、ナスすべては栽培される植物であつて安価に原料を入手出来ないことは考慮するに値する。

稿を終るに臨み終始懇切な御指導御校閲を賜りました恩師尾持教授に深謝致します。

文 献

- ① Fuse, G. & Suzuki, Y.: Über das "Solanylin" ein Ersatzmittel des Hämatoxylin. Arb. a. d. Anat. Inst. b. Kaiserl. Jap. Univ. z. Sendai. 1935.
- ② 郷晃太郎: 黒豆色素=依ル核染色, 日本病理学会々誌, 第26巻, 1936.
- ③ Kuroda, Ch.: The colouring matter of Awobana. Proc. Imp. Acad. vol. 7, 9, 11.
- ④ Kuroda, Ch.: The colouring matter of Aduki bean. Proc. Imp. Acad. vol. 10.
- ⑤ Kuroda, Ch.: The colouring matter of Shiso. Proc. Imp. Acad.

vol. 11. ⑥Kuroda, Ch. & Wada, M.: The colouring matter of eggplant (Nasu). Proc. Imp. Acad. vol. 9, 11. ⑦Kuroda, Ch., & Wada, M.: The colouring matter of Kuromame. Proc. Imp. Acad. vol. 9. ⑧Kuroda, Ch. & Wada, M.: Kuromamin, the colouring matter of Kuromame. Proc. Imp. Acad. vol. 9, 11. ⑨Suzuki, Y.: Über ein pflanzliches Plasmafärbemittel, das "Commelinin", hergestellt aus Commelina communis, L., Tsuyukusa der Japaner. Arb. a. d. Anat. Inst. d. Kaiserl. Jap. Univ. z. Sendai. 1935. ⑩鈴木義通: 細胞核, 粘液, 弾力繊維等ノ染色ニ役立つクロマメノ色素ニ就テ, 東北医学雑誌, 第19巻, 1936. ⑪尾持昌次: 純国産植物性色素ニ依ル細胞核ノ青染法ニ就テ, 大阪医学会雑誌, 第38巻, 昭14.

On a New Vegetable Dye for Nuclei Staining in Blue Colour.

Tomohiro Inoue

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

For histological permanent preparation Hematoxylin is generally used as nuclear staining dye and it may be the most elective dye. So far as the home-made dyes are concerned, however, there are some effective dyes such as on extract from black-bean or Tsuyukusa and etc.

Now the author will introduce a new elective dye, a dye produced from pigment contained the berry of Sakaki (Cleara ochracea D. C.), by extracting with alcohol and adding alum as well as glacial acetic acid.

ラツテの胃粘膜上皮及び胃腺細胞の増殖について

昭和30年9月29日受付

信州大学医学部第一解剖学教室 (指導 尾持教授)

春 原 幸 雄

緒 言

私は先にトノサマガヘルの胃粘膜上皮並に胃腺細胞の増殖について考察せる所見を述べたが、引續いて温血動物に於ても同様なる結果を得られるものと確信し、先づ手始としてラツテを用いて実験せる結果所期の目的を達する事が出来たので茲に報告する次第である。

材料並びに研究方法

材料は成熟せるラツテ20匹を使用した。蛙の場合と同様、先づラツテをクロロフォルムにて麻醉し假死状態とし、腹壁を開き胃を露出する。次に胃を型の如く縦切し、粘膜面を損傷せぬよう充分注意しながら内容物を生理的食塩水にて洗滌する。次に新しい生理的食塩水にてもう一度よく洗滌した後胃体部を切除しその一部を Ranvier 氏 $\frac{1}{2}$ アルコール中に浸し、残部は型の如くフォルマリンにて固定し、パラフィン包埋後切片標本(1)を作製して、ヘマトキシリン・エオジンにて重染色を施した。又一部はムチカルミン染色(2)を行つた。

Ranvier 氏アルコールは約20°Cに保ち24時間後に振盪すると胃腺や粘膜が集団をなして脱落するのが肉眼で見えるから、更によく振盪していると、脱落せる細胞群が細かく分離しやがてアルコールが均質に白濁してくる。此の際注意すべき事は胃片をアルコール中に浸したら24時間放置しておく事であつて若し途中で振

盪すると細胞は以後完全に分離し難くなる事である。アルコール液が均質に白濁したら胃片を取り出すと飴色になつている。大体此の様になると筋層の上部迄は脱落している筈である。次にアルコールから胃片を取り出してパラフィンの切片標本(3)(ヘマトキシリン・エオジン重染)をつくる。液は更によく振盪した後分離標本を作製するのであるが、此の方法は蛙の場合と全く同様であるから省略する事にする。

所見及び考察

ラツテの胃壁は、人のそれと同じく粘膜、粘膜下組織、筋層、漿膜、よりなる。切片標本(1)を観察するに単層柱状の上皮が皺襞をなしその上 $\frac{1}{2}$ 位の細胞は丈が高く、胃小窩部に近づくにつれて丈が低くなり立方上皮に近い状態のものさへもある。これらの上皮の核は細胞の高さの約 $\frac{1}{3}$ のところに楕円形をなして存在する。次に胃腺部では多数の主細胞とその間に介在する壁細胞(旁細胞)とを認め、腺頸部には少数の副細胞が存在する。主細胞及び副細胞は何れも立方状をなし核は偏在するが前者は細胞体が暗調であるが後者は明調である。旁細胞は多角形乃至円形で形が大きく、細胞体は暗調で核は楕円形をなし底部に近く存する事が多い。上皮の皺襞の中央部より下部に於ては有糸核分裂像を認める。胃腺細胞に於ては腺頸部及び腺開口部に接近して有糸核分裂像を認めるが、旁細胞に於ては之を認める事が出来なかつた。腺細胞に於ては之を