

組織グリコゲンの固定に就て

青森縣立病院産婦人科

芳 賀 武 雄

Ehrlich が 1883 年初めて組織グリコゲンを顯微鏡的に證明せし以來之に關する種々なる業績は枚舉に遑なし。然れ共グリコゲンは動物の死後速に、グルコース、葡萄糖等に變化し、彌散し易く、且つ極めて水に溶解し易きが爲めに、之を證明する事は困難とせられたり。

故に之が檢索に際しては、動物の死後直に、出來得べくんば生活體溫に於て組織を採取し、而も固定液には絶対に水性固定液を避け、必ず無水酒精若しくは 96% 酒精を用ひべし、とは一般に信じられ且つ漠然と實行されつゝある事實にして、且つ又特殊の事情の爲め水性固定液を使用せんとせば、グリコゲンの溶解性を防ぐために之等の液はデキストローゼを以て飽和せしむるを要すと云はれ、Neukirch はデキストローゼ飽和昇汞水又はデキストローゼ飽和フォルマリン原液を使用し、H. j. Arnd はデキストローゼ飽和 10% フォルマリン液を用ひたり。

而してこのグリコゲンの分解し易き事、及び水に甚しく過敏なる事は、グリコゲン檢出上の二大障礙と見做されつゝあるも、之等の事柄は果して眞なるか或は又如何なる程度迄保守せざるべからざるものなるや、疑義なき能はず。即ち Borfurth, Frankel, u. a. はグリコゲンは細胞内に於ては水に不溶性の状態に於て含有せらるゝと云ひ、これグリコゲンは組織蛋白質と結合して存するに因ると稱し、Patzelt はグリコゲンのポリメルジールングに因るものなりと稱す。

又生理學の教ふる所に依れば、純グリコゲンは物理學的に嚴密なる意味に於ては水に溶解せず、唯水によりて膨大するのみにて、眞の水溶液に非ず、1 種の膠樣液なり、從て氷點を低下せず、又動物膜を滲透せずと。然るに永らく水に接せば細胞内グリコゲンの消失するは事實なり、これ細胞内にてグリコゲンの一旦葡萄糖に分解し、然る後に細胞膜を通して水に溶解するに因るならんか。又 Christine Tab. の純化學的實驗に依れば、グリコゲンは 35.5% 酒精に依りて沈澱し始め、55% 酒精によりて完全に沈澱すと云ふ。

Ehrlich u. Krause は組織グリコゲンの水溶性はグリコゲンの含有せらるゝ組織によりて甚だ差異あるものにして、肝、腎、筋肉、血液等のグリコゲン及び病的狀態に出現せるもの即ち、膿球、肉腫、惡性脉絡膜上皮腫等のグリコゲンは甚だ容易に且つ迅速に水に溶解抽出せらるゝに反し、重層扁平上皮細胞及び軟骨等に含有せらるゝグリコゲンは水に溶解し難しと、之グリコゲンは純粹に細胞内に存するに非ずして、今日尙不明の他の物質と結合し

て含有せらるゝものにして、この物質は組織の異なるに従ひ、其の水溶性に差異あり、即ちグリコゲーンの組織の異なるによりて其の水溶性に差異あるは、此と結合せる物質の性状に關するものなりと云ふ。

Fränkel は、酒精によりてグリコゲーンの固定さるゝは酒精によりて沈澱せる蛋白質を以てグリコゲーンを被包するに因るものなりと、又 Pavy は酒精によりてグリコゲーン分解酵素の作用を不能ならしむる爲めなりと説明せり。而して無水酒精及びデキストローゼ飽和水溶液以外にグリコゲーン固定液として用ひられたるものに、無水酒精及びフォルマリン原液を等分に混合せるもの (Bark)、又は之れに食塩を均等壓に加へたるもの (Bang, Sjövoll)、飽和昇汞水、殊に食塩加昇汞水 (J. Arnold)、10% 3 クロール醋酸 (Zieglwallner)、ツエンケル氏液 (淺井)、及び 1-2% オスムウム酸水溶液と無水酒精等分液 (Gelei) 等挙げらる。

J. Arnold は組織グリコゲーン固定液は種々あるも無水酒精最良なりと、而してフォルマリン液又は飽和昇汞食鹽水等にて固定せるものと、無水酒精にて固定せるものとを比較するに、後者の場合に於てグリコゲーンの量多量なりと、唯フォルマリン液及び昇汞水にて固定せるものは、無水酒精固定の缺点とする細胞内に於けるグリコゲーンの偏移及び組織の攣縮を防ぎ得と稱せり。

Schmoll はカイゼルリング氏液に貯藏せられたる組織は最早グリコゲーン検出に適せずと言ふも、富岡氏は同液に貯藏せる卵巢肉腫に於てグリコゲーンを著明せりと言ふ。

大正 6 年安藤教授は組織學的實驗の結果、組織を蒸留水又は 30% 以下の酒精中に永らく貯藏せば、グリコゲーンの減少及び消失を來たすも、24 時間以内に以ては甚しき變化を受けず、50% 以上の酒精を以てせば少くとも 96 時間組織を放置するも、無水酒精を以て固定せるものに比し何等の差異を認めず、故に可及的變化少き細胞像を、グリコゲーン染色切片上に求めんとせば稀酒精より次第に濃度を進めて固定し得る事、及びグリコゲーン固定に必ずしも無水酒精又は 96% 酒精を要せざる事、並に新鮮なる組織を清淨ならしむる爲めに冷水にて洗滌するも差支なしと稱せり。唯フォルマリン液に固定せるものはグリコゲーンの減少著しく、殊に濃度高き程グリコゲーンの減少著明なり、故にフォルマリン液はグリコゲーン固定に適せざるが如しと稱せり。然るに 1928 年 Schiller は 4 乃至 8% のフォルマリン液は何等顧慮する事なくグリコゲーン固定に用ひ得と稱せり。

之に依つて之を觀れば、組織グリコゲーンは水に過敏ならずと稱するもの尠なからざるものゝ如し。

余も亦 10% フォルマリン液硬化を施せる子宮癌組織に於てベスト氏カリウム、カルミン染色を施し、グリコゲーンを著明に證明する事屢々なりしを以て、グリコゲーンの固定に關し、成書の教ふる所に疑問を抱き、無水酒精固定とフォルマリン液固定とに於けるグリコゲーン量

の差異を比較せんとし、次の如き実験を行ひたり。

實 験 1.

材料。子宮癌17例、腫瘍1例、著變を認めざる子宮腫部及び腫粘膜7例、合計25例に於て局所的誤謬を避くるため、相接せる部より2個の組織片を採り、1は無水酒精に、他を10%フォルマリン液に固定し、ベスト氏カリウム、カルミ染色法を施し、癌細胞及び粘膜上皮細胞に於けるグリコゲン含有量の兩固定法による差異を比較研究せり。癌腫の間質組織及び周圍組織に於ける圓形細胞にも亦グリコゲンを認めらるゝを以て共に比較研究し得る筈なるも、部位を異にするに従つて圓形細胞浸潤の度を異にし、爲めにグリコゲン量を誤認し易く比較研究に適せざるを以て之を行はざりき。

第 1 表

番 號	姓 名	診 斷	組 織	グ リ コ ゲ ー ン		成 績
				無水酒精	10%フォルマリン液	
1	松 山	子 宮 癌	癌 細 胞	++	+	不 一 致
			扁平上皮細胞	++	++	不 一 致
2	永 井	子 宮 癌	癌 細 胞	+	+	一 致
			扁平上皮細胞	++	++	一 致
3	手 塚	子 宮 癌	癌 細 胞	+	+	一 致
			扁平上皮細胞	++	++	一 致
4	宮 澤	子 宮 癌	癌 細 胞	+	+	一 致
			扁平上皮細胞	++	++	一 致
5	成 田	子 宮 癌	癌 細 胞	—	—	一 致
			扁平上皮細胞	+	—	不 一 致
6	古 川	子 宮 癌	癌 細 胞	++	++	一 致
			扁平上皮細胞	+	+	一 致
7	菊 地	子 宮 癌	癌 細 胞	+	+	一 致
			扁平上皮細胞	++	++	一 致
8	小 笠 原	子 宮 癌	癌 細 胞	—	—	一 致
			扁平上皮細胞	—	++	不 一 致
9	佐 々 木	子 宮 癌	癌 細 胞	++	++	一 致
			扁平上皮細胞	++	++	一 致
10	坂 本	子 宮 癌	癌 細 胞	+	++	不 一 致
			扁平上皮細胞	++	++	一 致
11	工 藤	子 宮 癌	癌 細 胞	+	++	不 一 致
			扁平上皮細胞	++	++	不 一 致

12	伊 藤	子宮癌	癌細胞 扁平上皮細胞	一 ++	一 +++	一 致 不一致
13	蒔 苗	子宮癌	癌細胞 扁平上皮細胞	十 ++	++ +++	不一致 不一致
14	小山内	子宮癌	癌細胞	++	+++	不一致
15	山 本	陰 癌	癌細胞	++	++	一 致
16	安 田	子宮癌	癌細胞	++	++	一 致
17	雪 田	子宮癌	癌細胞	一	一	一 致
18	杉 山	子宮癌	癌細胞	++	++	一 致
19	梅 田	子宮發育症 不全	扁平上皮細胞	+++	+++	一 致
20	外 崎	妊 娠	扁平上皮細胞	+++	+++	一 致
21	熊 谷	子宮發育症 不全	扁平上皮細胞	+++	+++	一 致
22	小比類巻	附屬器炎	扁平上皮細胞	+++	+++	一 致
23	八 戸	妊 娠	扁平上皮細胞	++	++	一 致
24	竹 内	老人性子宮萎縮症	扁平上皮細胞	十	十	一 致
25	中 原	陰 脱	扁平上皮細胞	十	十	一 致

成績。第1表に示すが如く癌細胞18例に於ては無水酒精固定及びフォルマリン固定に於てグリコゲン量に差異を認めざるもの13例にして5例は成績一致せず、其の内1例は無水酒精固定に於てグリコゲンの増量せるを認むるも他の4例は皆、フォルマリン固定に於て反って増量せるを認めたり。重層扁平上皮細胞20例中、子宮癌患者以外の7例は成績皆一致せるも、癌腫患者13例に於ては兩者の成績一致せるもの7例、一致せざるもの6例なり、其の内無水酒精固定に於て増量せるもの2例、フォルマリン液固定に於て反って増量せるもの4例なり。

即ち以上の成績を觀るに、健康なる重層扁平上皮細胞に於ては兩者の成績常に一致し、フォルマリン液も亦グリコゲン固定に用ひ得るが如きも、癌組織に於ては兩者の成績一致せざるものあり、而して無水酒精固定に於てグリコゲンの増量せるあり、又反對にフォルマリン固定に於て反って増量せるありて其の成績甚だ不定なり。

之如何なる理由に基くか、今同一切片に於て癌細胞に就て觀るに、癌胞巢の大小により、又病變の著しき部及び癌腫の進行しつゝある部位等によりてグリコゲン量に差異を認められ、且つ又瘤組織に接せる重層扁平上皮細胞に就て觀るも、グリコゲンを含有するあり、又他の例に於ては全く之を認めざるあり。即ち癌組織及び之に接せる重層扁平上皮細胞は既に部位によりてグリコゲン量に差異を示す事あるを以て、假令相接せる部より2個の組織片を採取するも、兩者は常に必ずしも同様なグリコゲン含有状態を示すものにあらざるべし。

之上記の如く無水酒精固定とフォルマリン液固定とに於てグリコゲン量に不定なる差異を示す主因にあらざるや、故に上記の成績よりは唯フォルマリン液によりても亦グリコゲンの固定さるゝを知るも、無水酒精固定に比し如何なる關係にあるやは明言し得ざるを以て、更に家兎肝臓を用ひて之れを追試せり。

肝グリコゲンの極めて不安定なるは一般の信する所なり、故に肝グリコゲンにしてフォルマリン液に固定さるゝならば他組織のグリコゲンも亦容易に固定さるゝや明なり。且つ又 Rosenberg, Wittich, Grubner, Cramer u. a. に依れば健康なる脊椎動物の肝臓に於けるグリコゲンは平等に分布せらるゝと言ふが故に本實驗には甚だ好都合なり。

實 驗 2.

本實驗に於ては肝グリコゲンの無水酒精固定と10%フォルマリン液固定とに於ける量的差異を比較せるのみならず、之に加ふるに安藤教授の云はれるが如く、稀酒精によりてグリコゲンがよく固定さるゝや否や、並びにフォルマリン液は其の濃度高き程グリコゲンの減少を來たす事甚しきや否やをも併せて追試し、且又酒精及びフォルマリン液に肝臓を永らく貯藏せる場合に於けるグリコゲン減少の度をも検査せり。

材料。第1例、成熟せる榮養佳良なる家兎、肝臓、第2例、成熟せる榮養不良なる家兎、肝臓。

固定液。酒精は無水酒精より20%に至る、各濃度を異にする稀酒精を用ひ、フォルマリン液は原液(40%)及び10%より1%に至る各濃度を異にする溶液を用ひたり。

各溶液に家兎肝の新鮮なる小片を投じ、24時間後、12乃至18日及び2ヶ月間固定せるものに就き、ベスト氏カリウム、カルミン染色を施し、其のグリコゲン量を比較研究せり。

成績。第2表及び第3表に示すが如く、(甲)固定24時間後に於ては、

1. 第1例及び第2例共に、無水酒精固定と10%フォルマリン液固定との間に於て、グリコゲン量に差異を認めず。

2. 稀酒精固定に於ては60乃至70%迄は尙多量のグリコゲンを證明し、無水酒精に固定せるものに比し何等の差異を認めず。60%以下の稀酒精に於てはグリコゲン次第に減少し、

第

酒精固定

第

酒精固定

30乃至20%に至りては減少著しく、痕跡的に之を認め或は全く之を認めず。40%以下の稀酒精に於ては組織の硬化尙不充分なり。

3. フォルマリン液固定に就ては40%及び10乃至4%迄は尙多數のグリコゲンを認め無水酒精固定に比し何等減少せるを見ず。3乃至2%溶液に於ては稍々減少し、1%溶液に於ては減少著明なり。1乃至2%フォルマリン溶液は組織の硬化も亦不充分なり。

(乙) 12日乃至2ヶ月間固定せるものに於ては、

1. 無水酒精乃至70%酒精に家兔肝を12日乃至2ヶ月間貯ふるも、グリコゲン¹⁾の減少を見ざるも、60%以下の稀酒精に於ては次第に減少し、遂には全く之を證明せざるか又は唯痕跡的に見るのみ。

2. 40%及び10乃至6% フォルマリン溶液に肝を18日間貯ふるも、グリコゲーンの減少を見ざるも、5%以下の濃度に於ては減少著明なり。2ヶ月後に於ては其の何れの濃度に於ても

著明なる減少を見、殊に 5% 以下の濃度に於ては唯痕跡的に又は全くグリコゲーンを證明せず。

即ち以上の成績を總括すれば、

1. 24時間固定に於ては 70% 以上の稀酒精及び 4% 以上のフォルマリン液は家兎肝グリコゲーンを充分に固定し得、無水酒精固定に比し何等の差異を認めず。故に普通消毒用酒精、及び 4 乃至 10 倍フォルマリン溶液を用ひて組織を固定し、グリコゲーン研究の目的を達するを得べし。

2. 無水酒精及び 70% 以上の酒精に固定されたるグリコゲーンは 2 ヶ月間其の儘放置するも何等變化を受くることなきが如し。

3. 70% 以下の稀酒精及びフォルマリン溶液に固定せる組織を 2 週間以上放置する時はグリコゲーンの減少を來たす、其の減少の度は濃度の稀薄なるもの程甚しく、又貯藏日數の永き程著明なり。故に 70% 以下の稀酒精及びフォルマリン液に永らく貯藏されたる組織はグリコゲーン檢出に適せざるを知る。

實 驗 3.

家兎肝グリコゲーンがフォルマリン溶液に固定さるゝを以て、他の水性固定液にても亦固定さるゝに非ずやと考へ、一部の人々に依りグリコゲーン固定に用ひられたる固定液、及び従來グリコゲーン固定に不可なりとせられたる固定液を以て、家兎肝を固定し無水酒精固定を施せるものとの間に於けるグリコゲーン量の差異を比較せり。其の成績は第 4 表に示すが如く、

ツエンケル氏液、飽和昇汞食塩水、オルト氏液、無水酒精、フォルマリン等分液、アルトマン氏液、及びデキストローゼ飽和フォルマリン液、等に於ては無水酒精固定を施せるものに比し、グリコゲーン量に何等の差異をも認めず。唯カイゼルリング氏液に固定せるものに於ては、時にグリコゲーンの減少を見ることあるも著明ならず。

即ち組織グリコゲーンは普通用ひらるゝ多くの固定液によりても亦良く固定さるゝを知るべし。故に組織グリコゲーンの固定に關し特殊の固定液を調製し或は固定液に關し顧慮する要なく、他の目的のために固定されたる組織よりもグリコゲーンを説明し得べし。

第 4 表

固 定 液	第 1 例 家兎肝	第 2 例 家兎肝
無 水 酒 精	++	++
ツ エ ン ケ ル 氏 液	++	++
オ ル ト 氏 液	++	++
飽 和 昇 汞 食 塩 水	++	++
飽和デキストロウゼ 1%フォルマリン液	++	++
無 水 酒 精 10% フォルマリン等分液	++	++
カイゼルリング氏液	++	++
ア ル ト マ ン 氏 液	++	++

實 驗 4.

組織グリコゲーンは動物の死後速に分解し組織學的に之を證明し得ざるに至るを以て、材料は動物の死後速に出來得べくんば生活體溫に於て之を採取すべしと云ふも、此の事柄も亦疑問なき能はず。

1901年 Moscati は人間の胎盤に於て、娩出後グリコゲーンの消失する經過を純化學的に研究せる結果によれば、攝氏15度に於て30分後に急に減少し、以後減少の孤線は少々緩かとなり23時間後には全く之を證明し得ざるに至ると云ふ。

然るに大正6年安藤教授は家兎肝臓を用ひ、剔出後に於けるグリコゲーン減少の經過を組織學的に實驗せるに、グリコゲーン減少の度は外界の溫度によりて影響せられ、低温に於ては減少の度少きも、高温に於ては減少の度大なり、而して零度以下の氷室に在りては、グリコゲーンは20時間迄は何等の變化をも受くる事なく、24時間乃至30時間に多少減少するが如きも、96時間後と雖も尙著明に之を證明し、120乃至168時間後に於てもグリコゲーンの消失を來たす事なしと云ふ。

又胎盤グリコゲーンに就ての實驗に依れば120時間後に於ても減少せずと。唯肝、胎盤等に於て、時に24時間後に於てグリコゲーンの減少を見る事あるも、之れ當時の事情の異なるに因るべしと稱せり。

即ち Moscati の實驗と安藤教授の實驗とは其の結果に於て大なる差異あり。Moscati の實驗にして誤なしとせば、組織學的に證明さるゝものは果してグリコゲーンなるや否や疑問なき能はず。されどベスト氏カリウム、カルミン染色法は特異性のものにして、殆んどグリコゲーンのみを染色し、時に胃に於ける杯狀細胞の粘液、中樞神經のアミロイド小體、纖維、石灰沈着等を染色する事あるも之等は顆粒狀ならず、又沃度沃度加里陰性、且つ唾液試驗によるも陰性とならざる故に、グリコゲーンと鑑別し得べし。故にベスト氏カリウム、カルミン染色陽性なる顆粒狀物質にして唾液により陰性となる時はグリコゲーンと見做して差支なき事は一般の信する所なり。尙又安藤教授は家兎肝臓を用ひ、グリコゲーンの定量的減少と組織學的減少の度合とを化學的並に組織學的に比較研究せるに、兩者は少々嚴密に平行して現はるゝものなり、唯容量1%以上の差は組織學的に之を認め得らるゝも1%以下の差は之を認め得ずと。同氏は之等の實驗の結果、動物の死後組織を零度以下の氷室に貯ふる時は少くとも24時間迄は少しの誤謬もなく、グリコゲーンの研究を遂行し得べく、冬時にありては動物の死後組織の所置を悠々に行ひ得るものにして、死後可及的迅速に、而も生活體溫に於て固定液に投すべしとの注意は夏時にありても一つの杞憂に過ぎずと結論せり。

Kulz (1881年) は肝、及び筋肉のグリコゲーンを検したるに、グリコゲーンの死後の變化

は差程急ならざるを知れりと。

余も亦手術によりて得たる材料を手術終了後迄即ち2乃至3時間、室温（攝氏27度内外）中に放置し、然る後に之を固定液に投じ、ベスト氏カリウム、カルミン染色を施し、グリコゲンを著明に證明する事屢々なりしを以て、グリコゲン検出に際し、組織は必ずしも之を生活體温に於て固定せざるべからざる程、嚴密なる意味のものに非らざるべしと想像し、次の如き實驗を行ひたり。

即ち生きたる家兎より肝を剔出し、其の1部を直に無水酒精に投じ、以て對照となし、次にグリコゲンの分解に關與すと見做さるゝ酵素の作用は外界の温度に影響さるゝ事大なるを以て、残りの肝より3個の大なる組織塊を取り、各々を滅菌シャーレに入れ、氷室内、室温（攝氏10乃至17度）及び孵卵器内に保存し、各時間毎に其の1部を無水酒精に固定し、グリコゲン減少の度合を檢查せり。其の成績は第5表の如し。

第 5 表

時間 温度	零	0.30	2.30	4.00	7.30	12.00	20.00	24.00	32.00	48.00	72.00	96.00
零 度		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
室 温	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
37 度		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

即ちグリコゲン減少の度は温度高き程大なるも、2時間半迄は零度に於ても、室温に於ても亦37度に於ても同様に之を證明し、生活體温に於て固定せる對照に比し、何等の差異を認めず。尙零度に於ては32時間後に於ても尙多量のグリコゲン顆粒を認め、室温に於ては20時間後迄、37度に於ては7時間半後迄尙多量のグリコゲンを認む、唯對照に比して稍々少きのみ。又零度に於ては96時間、室温に於ては72時間後に於ても尙少量のグリコゲンを認め得らるゝを以て、グリコゲン消失迄にはより以上の時間を要すべきも、室温中72時間以上、37度に於て12時間以上放置せる肝は組織の軟化甚しきを以て、其の後の檢查は之を行はざりき。

以上の實驗の結果を總括すれば、グリコゲンの分解は從來考へられたるが如く迅速に行はるゝものに非ざるが如し。唯グリコゲン研究の材料は敢て生活體温に於て之を剔出固定する要なきも、誤謬なく研究の目的を達せんとせば、動物の死後2時間半以内に固定液に投ずるを要し、假令氷室に貯藏する際に於ても長時間放置するは不可なり。

實 驗 5.

グリコゲンを組織學的に證明するに當り、組織の包埋は、ツエロイデン包埋を最良と

し、パラフィン包埋は不適當なりと見做されたり。之 Saak に依ればツエロイデン包埋に於ては切片はツエロイデンの被膜により被包され、グリコゲーンは該被膜を通過する力なく、唾液により分解され始めて之を滲透し得るものなるも、パラフィン切片に於てはパラフィン除去により組織は露出されたる儘染色され、而も其の操作中に水及び水性染色液を使用するが故にグリコゲーンの溶解消失を來すものなりと云ふ。故に Arnold の如きはパラフィンを除去せる後に於て、更に切片を稀薄なるツエロイデン中に1乃至2時間浸し然る後にグリコゲーン染色を施せり。然るに安藤教授は組織を豫め酒精にて固定せる際に於ては、パラフィン包埋を施せるものと、ツエロイデン包埋を施せるものとの間に於て、グリコゲーン量に何等の差異を認めずと稱せり。

之に關し余は犬及び家兎肝臓を用ひ、無水酒精固定及び10% フォルマリン液固定を施し、各々よりツエロイデン包埋切片及びパラフィン包埋切片を作り、ベスト氏カリウム、カルミン染色を施し、以て兩者のグリコゲーン量を比較せるに、パラフィン切片に於ても亦著明にグリコゲーンを證明し、ツエロイデン包埋切片と何等差異を認めず。又豫め無水酒精固定を施せるパラフィン切片と、フォルマリン液固定を施せるパラフィン切片との間に於ても亦差異を認めず。

故に酒精に固定せる組織のみならず、フォルマリン液固定を施せる組織よりも亦パラフィン包埋を施し以てグリコゲーン研究の目的を達し得る事を知れり。

實 驗 6.

一旦固定包埋されたる組織は最早水に接するも其のグリコゲーンの溶解消失する事なきは一般に信ぜらるゝ所なるも、亦之に反し切片を染色操作するに當りても尙グリコゲーンの水溶性を甚しく顧慮するものあり、即ち Fichera はベスト氏カリウム、カルミン染色法は其の操作中に於て水及び水性溶液を使用するが故に、該法は唯難溶性のグリコゲーンを證明するに過ぎずと稱ひ、Ehrlich も亦グリコゲーンの如き水に過敏なるものは、之に對する溶解性を全く除去せる染色液のみを以て證明し得べしとなし、且つ溶液の粘稠なることはグリコゲーンの溶解性を防碍し得るの理により、沃度沃度加里液にアラビヤ護謨を加へたるものを以て染色するを最良となせり。H. J. Arnd, Neukirch はグリコゲーンの證明に際し組織の固定にデキストローゼ飽和水溶液を用ひたるのみならず、其の後の操作に於て使用する水、稀酒精、及び染色液等も亦總てデキストローゼを以て飽和せしめたるものを用ひたり。小出氏もグリコゲーンの如く水に過敏なるものは、固定されたる後に於ても尙且つ水に接する時間を短縮するを至當なりとし、之の意味に於て、ツェルロイデン包埋組織片を70% 酒精にて二次硬化を行ふに當り、必ず翌日切片を作り之を検索せりと。

然れ共安藤教授の實驗に依れば、ツエロイデン包埋切片を蒸留水に貯へ、3ヶ月間に亘り時々グリコゲン染色を施し、其の減少の度を檢せるに、24時間後に於ては何等の變化を認めず、1週間後に於てはグリコゲン顆粒多少減少せるも極く僅微なりと。

之に關し余は左の如き實驗を行ひたり。

材料1。無水酒精固定を施せる家兎肝、正常子宮腔部(人)、子宮頸部癌、及び10%フォルマリン液固定を施せる家兎肝、子宮頸部癌等に於てツエロイデン包埋切片を作成す。

材料2。無水酒精固定を施せる家兎肝臓よりパラフィン切片を作成す。

試験方法。パラフィン切片及びツエロイデン切片の1部は直にベスト氏カリウム、カルミン染色を施し、グリコゲンの有無及び其の量を檢し以て對照となし、他を流水中に貯へ、12日間に亘り時々其の1部を取り出し、グリコゲン染色を施し其の減少の度を檢索せり。尙ツエロイデン切片の1部は70%酒精に貯へ、1ヶ月間に亘り時々グリコゲン染色を施し以て參考となせり。

第 6 表 (ツエロイデン切片)

固 定 液	水 洗 日 數 組 織	當 日	24時間	3 日	7 日	10日	12日	唾 液 試 験
子 宮 頸 部 癌 (伊 藤)	癌 細 胞	—	—	—	—	—	—	—
	圓 形 細 胞	+	+	+	+	+	+	—
	扁平上皮細胞	++	++	++	++	++	++	—
子 宮 腔 部 癌 (蒔 苗)	癌 細 胞	++	++	++	++	++	++	—
	圓 形 細 胞	+	+	+	+	+	+	—
	扁平上皮細胞	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
無 水 酒 精 固 定	家兎肝細胞	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
10%フォルマリン液固定	家兎肝細胞	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
子宮腔部 無水酒精固定	扁平上皮細胞	+	+	+	+	+	+	—

組 織	酒精保存日數							唾 液 試 験
	當 日	6 日	10日	15日	18日	22日	1ヶ月	
子宮腔部上皮酒精固定	+	+	+	+	+	+	+	—
家 兎 肝 酒 精 固 定	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
家兎肝10%フォルマリン固定	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—

第 7 表

パラフィン切片 水洗時間	対照	4°	12°	20°	24°	32°	48°	62°	72°	96°	120°	168°	240°	288°	唾液 試験
グリコゲーン	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—

實驗成績。第6表及び第7表に示すが如し。

即ちツェロイチン切片及びパラフィン切片を12日間に亘り之を水洗するも、其の何れに於てもグリコゲーンの減少を見ず。而して之等の染色物は沃度沃度加里染色陽性にして且つ唾液を30分乃至1時間作用せしむれば總て陰性となるを以て、グリコゲーンたるや明なり。又切片を70%酒精に1ヶ月間貯藏するもグリコゲーンの減少を見ず。唯水洗10日以上に亘るもの及び70%酒精に1ヶ月以上貯藏せる切片は一般に淡染し且つ汚染して見ゆる缺点あり。

以上實驗の結果、無水酒精固定並にフォルマリン液固定を施せるものに於て一度ツェロイチン包埋を施せるものは、組織片或は切片を70%酒精に永らく放置するも、又染色に際し如何に多量の水を使用するもグリコゲーンの減少を來たさざる事を知る。又細胞の露出するの故を以てグリコゲーンの一層水に溶解消失を來し易きが如く考へられたるパラフィン切片に於ても亦之が染色に際し何等顧慮することなく充分に水を使用し得る事を知れり。唯水洗10日以上に亘る時並に稀酒精に1ヶ月以上切片を放置する時は組織の染色性を妨ぐるを以て不可なりとす。

總 括 及 び 結 論

1. 組織グリコゲーンは從來一般に信じられたるが如く、唯無水酒精によりてのみ固定さるゝに非ずして、60%以上の稀酒精及び4%以上のフォルマリン液によりても亦よく固定され、無水酒精固定を施せるものに比し何等の差異を認めず。
2. 他の目的のために特殊の固定法に固定されたる組織よりも亦グリコゲーンを検出し得。
3. 組織を無水酒精中に2ヶ月以上貯藏するも、グリコゲーンの減少を來たさず。
4. 70%以下の稀酒精及びフォルマリン液に1ヶ月以上貯藏する時はグリコゲーンの減少を來たす、故に水らく稀酒精及びフォルマリン液に貯藏されたる組織はグリコゲーン研究材料となす能はず。
5. 組織グリコゲーンを検索するに當り、材料は新鮮なるを要するも、敢て必ずしも生活體温に於て之を採取する必要なし。動物の死後2時間半以内に固定液に投ずれば可なり。然共假令氷室に貯ふるとも2時間半以上に亘る時はグリコゲーンの減少を來たす事あるを以て不適當なりと信ず。

6. 組織グリコゲンハツェロイデン包埋組織のみならず。パラフィン包埋を施せるものに於ても亦よく之を證明し得。且つ豫め酒精固定を施せるものと、フォルマリン固定を施せるものとの間に於て何等差異を認めず。

7. 一旦固定包埋されたる組織は、其の後の操作に於て、如何に多量の水を使用するとも又水性溶液にて染色操作するも、グリコゲンの減少消失を來たす事なし。この關係はツェロイデン切片に於ても、亦パラフィン切片に於ても同様なり。唯切片の水洗10日以上に亘る時及び切片を稀酒精に1ヶ月以上放置する時はその染色性を妨け汚染するの缺点ありとす。

擱筆するに當り井上博士の指導竝に校閲に對し深謝すると共に、文献蒐集に對し御便宜を與へられたる久保木博士に謝意を表す。

文 献

- J. Arnold;** Zur Morphologie des Leberglykogen und zur Struktur des Leberzelle. Virch. Arch. Bd. 193, S. 174. **E. v. Gierke;** Pathologische Anatomie von L. Aschoff. Bd. 1, S. 440. **Kaufmann;** Spezielle pathologische Anatomie. 6. Aufl. Bd. 1, S. 604. **R. Krause;** Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. Bd. 11, S. 883. 3. Aufl. **P. Neukirch;** Über morphologischen Untersuchungen des Muskelglykogens und eine neue Art seiner Fixation. Virch. Arch. Bd. 200, S. 73. **O. Rosenberger;** Histologische Untersuchung über das Leberglykogen. Beiträge zur patholog. Anatomie u. zur allg. Pathologie. Bd. 49, S. 290. **R. Rössle;** Pathologische Anatomie von L. Aschoff. Bd. 1, S. 39. **G. Schmori;** Die patholog. histolog. Untersuchungsmethoden. 12. u. 13. Aufl. S. 195. **W. Schiller;** Zur histolog. Frühdiagnose des Portiokarzinoms. Zbl. f. Gyn. 1928, Nr. 25, S. 1562. **Tendeloo;** Allgemeine Pathologie 1925, S. 338. **安藤畫一,** グリコゲンの組織的證明法知見. 岡山醫學會雜誌. 第326號. 大正6年. **今村肇裕,** 最近病理組織検査法. **富岡敏哉,** 卵巣肉腫に就て. 近畿婦人科學會會報. 5號. 大正6年. **小出貞亮,** 諸組織に於ける糖原質の分解並に生成機能の比較研究. 千葉醫學會雜誌. 第6卷. 上冊. 774頁. **栗原金彌,** 腔分泌物の自己清淨力に就て. 千葉醫學會雜誌. 第2卷. 263頁. **佐藤清,** 近世病理組織學検査術式. 第3版. **舟岡英之助,** 新撰生理學. 上卷. 128頁.

第 7 表

パラフィン切片 水洗時間	対照	4°	12°	20°	24°	32°	48°	62°	72°	96°	120°	168°	240°	288°	唾液 試験
グリコゲーン	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—

實驗成績。第6表及び第7表に示すが如し。

即ちツェロイチン切片及びパラフィン切片を12日間に亘り之を水洗するも、其の何れに於てもグリコゲーンの減少を見ず。而して之等の染色物は沃度沃度加里染色陽性にして且つ唾液を30分乃至1時間作用せしむれば總て陰性となるを以て、グリコゲーンたるや明なり。又切片を70%酒精に1ヶ月間貯藏するもグリコゲーンの減少を見ず。唯水洗10日以上に亘るもの及び70%酒精に1ヶ月以上貯藏せる切片は一般に淡染し且つ汚染して見ゆる缺点あり。

以上實驗の結果、無水酒精固定並にフォルマリン液固定を施せるものに於て一度ツェロイチン包埋を施せるものは、組織片或は切片を70%酒精に永らく放置するも、又染色に際し如何に多量の水を使用するもグリコゲーンの減少を來たさざる事を知る。又細胞の露出するの故を以てグリコゲーンの一層水に溶解消失を來し易きが如く考へられたるパラフィン切片に於ても亦之が染色に際し何等顧慮することなく充分に水を使用し得る事を知れり。唯水洗10日以上に亘る時並に稀酒精に1ヶ月以上切片を放置する時は組織の染色性を妨ぐるを以て不可なりとす。

總 括 及 び 結 論

1. 組織グリコゲーンは從來一般に信じられたるが如く、唯無水酒精によりてのみ固定され、に非ずして、60%以上の稀酒精及び4%以上のフォルマリン液によりても亦よく固定され、無水酒精固定を施せるものに比し何等の差異を認めず。
2. 他の目的のために特殊の固定法に固定されたる組織よりも亦グリコゲーンを検出し得。
3. 組織を無水酒精中に2ヶ月以上貯藏するも、グリコゲーンの減少を來たさず。
4. 70%以下の稀酒精及びフォルマリン液に1ヶ月以上貯藏する時はグリコゲーンの減少を來たす、故に水らく稀酒精及びフォルマリン液に貯藏されたる組織はグリコゲーン研究材料となす能はず。
5. 組織グリコゲーンを検索するに當り、材料は新鮮なるを要するも、敢て必ずしも生活體温に於て之を採取する必要なし。動物の死後2時間半以内に固定液に投ずれば可なり。然共假令氷室に貯ふるとも2時間半以上に亘る時はグリコゲーンの減少を來たす事あるを以て不適當なりと信ず。

6. 組織グリコゲンハツェロイデン包埋組織のみならず。パラフィン包埋を施せるものに於ても亦よく之を證明し得。且つ豫め酒精固定を施せるものと、フォルマリン固定を施せるものとの間に於て何等差異を認めず。

7. 一旦固定包埋されたる組織は、其の後の操作に於て、如何に多量の水を使用するとも又水性溶液にて染色操作するも、グリコゲンの減少消失を來たす事なし。この關係はツェロイデン切片に於ても、亦パラフィン切片に於ても同様なり。唯切片の水洗10日以上に亘る時及び切片を稀酒精に1ヶ月以上放置する時はその染色性を妨け汚染するの缺点ありとす。

擧筆するに當り井上博士の指導竝に校閲に對し深謝すると共に、文献蒐集に對し御便宜を與へられたる久保木博士に謝意を表す。

文 献

- J. Arnold;** Zur Morphologie des Leberglykogen und zur Struktur des Leberzelle. Virch. Arch. Bd. 193, S. 174. **E. v. Gierke;** Pathologische Anatomie von L. Aschoff. Bd. 1, S. 440. **Kaufmann;** Spezielle pathologische Anatomie. 6. Aufl. Bd. 1, S. 604. **R. Krause;** Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. Bd. 11, S. 883. 3. Aufl. **P. Neukirch;** Über morphologischen Untersuchungen des Muskelglykogens und eine neue Art seiner Fixation. Virch. Arch. Bd. 200, S. 73. **O. Rosenberger;** Histologische Untersuchung über das Leberglykogen. Beiträge zur patholog. Anatomie u. zur allg. Pathologie. Bd. 49, S. 290. **R. Rössle;** Pathologische Anatomie von L. Aschoff. Bd. 1, S. 39. **G. Schmori;** Die patholog. histolog. Untersuchungsmethoden. 12. u. 13. Aufl. S. 195. **W. Schiller;** Zur histolog. Frühdiagnose des Portiokarzinoms. Zbl. f. Gyn. 1928, Nr. 25, S. 1562. **Tendeloo;** Allgemeine Pathologie 1925, S. 338. **安藤畫一,** グリコゲンの組織的證明法知見. 岡山醫學會雜誌. 第326號. 大正6年. **今村肇稻,** 最近病理組織検査法. **富岡敏哉,** 卵巣肉腫に就て. 近畿婦人科學會會報. 5號. 大正6年. **小出貞亮,** 諸組織に於ける糖原質の分解並に生成機能の比較研究. 千葉醫學會雜誌. 第6卷. 上册. 774頁. **栗原金彌,** 腔分泌物の自己清淨力に就て. 千葉醫學會雜誌. 第2卷. 263頁. **佐藤清,** 近世病理組織學検査術式. 第3版. **舟岡英之助,** 新撰生理學. 上卷. 128頁.