

結合組織の病理組織学的並びに組織化学的研究

京都大学結核研究所外科学部 (主任 教授 長石 忠三)

山 崎 昇

(昭和40年7月26日受付)

〔内 容 抄 録〕

炎症又は外傷による組織障害が結合組織の増殖により修復される場合には、結合組織、特に膠原線維が過剰に増殖すると、生体に却って不利となることがある。例えば、慢性肺結核の病巣では、膠原線維性の被膜が形成されると、病巣の吸収癍痕化が障害せられ、癍痕ケロイドでは、膠原線維が過剰に増殖して、完全な癍痕化が障害される。

そこで、その治療に当っては、結合組織の増殖を何らかの方法により調節することが望ましいが、結合組織についてこのような目的で検討した報告は殆んどないといっても差支えない。これは病理組織学的並びに組織化学的にみて、適当な検討方法がなかったためであろうと考えられる。

一方、近年における結合組織や膠原線維についての生化学的並びに電子顕微鏡学的な研究の進歩発達には目覚ましいものがあるが、それ等の成果を実地臨床的に応用する途は、未だ開かれていない。

そこで、著者は、それ等の諸研究の成果を従来から行なわれている病理組織学的並びに組織化学的な検討方法に応用することにより、結合組織や膠原線維の性状及び形成状況等を明らかにし、その増殖調節に必要な手掛りを得ようとした。

第1篇では、van Gieson の染色法、Mallory の染色法、メタクロマジア染色及びペプシン消化試験等を適宜に組合せ、組織切片を用いて、結合組織、特に膠原線維の性状を明らかにした。

即ち、van Gieson の染色により殆んど染まらないか、又は、黄赤色に染まり、Mallory の染色により青色に染まる線維は、多量の可溶性コラーゲンを含む幼弱型であり、van Gieson の染色により赤染し、Mallory の染色により濃青色に染まる線維は、可溶性コラーゲンが少なく、これに対し不溶性コラーゲン及び酸性多糖類との割合が多く、これらが適当に組合された成熟型であることを知った。

成熟型の膠原線維はペプシンに対する抵抗性が大で

あり、生化学的にもかなり安定したものと考えられる。

第2篇では、結合組織、特に膠原線維についての著者の組織学的研究方法を、臨床切除材料や動物実験材料の場合に応用し、著者の研究方法の応用価値について検討した。

結核性肺病巣についてゆくと、X線的に硬化性病巣としての所見を示す病巣では、被膜は一般に3層の膠原線維層からなっており、最内側のそれは成熟型の線維からなっていて、もっとも強靱である。最内側のこの線維層は寺松、山本等の所謂メタクロマジア陽性層に相当しており、本篇ではその性状からみて病巣の安定化に役立つ反面、病巣の吸収癍痕化に対してもっとも大きな障害となっていることが明らかにされている。

癍痕ケロイドでは、成熟型膠原線維の線維腫様増加と、ヒアルウロニダーゼで消化される酸性多糖類の増加とがみられ、この種の過剰な酸性多糖類が線維の層状化、即ち、完全な癍痕化を阻害するわけである。従って、癍痕ケロイドの治療には、従来行なわれている種々の方法を応用するとともに、この種の酸性多糖類を減少せしめる手段を講ずることが必要である。

又、本篇では、実験的異物性炎における各種の薬剤の作用機序について検討した結果、コーチゾンは抗炎症作用と線維の成熟化を阻害する作用とを有し、グリチルリチンは投与の初期にはコーチゾン様の作用を示し、ついで線維形成促進作用を示すものなること、及び、オキシフェンブタゾンは、線維の成熟化は阻害しないが、その形成量を低下せしめ、ヘパリン及びコンドロイチン硫酸は、その作用機序は多少異なるが、ともに線維形成を促進する作用を有することを知った。

以上、著者は、著者の研究方法を炎症その他の結合組織の研究に応用して、在来に比べてより多くの知見を得られることを実証するとともに、これにより結合組織の増殖を調節する手掛りが得られることを明らかにした。

結合組織の病理組織学的並びに組織化学的研究

〔第 1 篇〕 結合組織の病理組織学的並びに組織化学的研究方法

京都大学結核研究所外科学部 (主任 教授 長石 忠三)

山 崎 昇

(昭和40年7月26日受付)

〔目 次〕

緒 言

第1章 膠原線維の染色法

第1節 膠原線維の染色時の固定法

第2節 膠原線維の染色時の染色液の組成

第2章 結合組織基質並びに肥満細胞の染色法

第3章 結合組織線維並びに基質に対する2, 3の分解酵素の影響

第1節 蛋白分解酵素の影響

第2節 ヒアルウロニダーゼの影響

第4章 綜括並びに考按

結 論

緒 言

炎症その他により生じた組織壊死は、周知のように、壊死物質の吸収、実質細胞の再生及び結合組織の増殖等により修復される。これ等の組織反応は相伴って招来されるのが普通であるが、組織障害が強い場合には、実質細胞の再生が障害せられ、結合組織による修復が主体となる。その結果、癆痕化傾向が強くなり、組織の持つ本来の機能が低下する。

例えば、肺の炎症性疾患の治癒後にしばしばみられる肺組織の線維化は、肺機能を著しく低下せしめ、患者に種々の不利を招く。

近年、肺結核の場合にも化学療法による病巣の吸収癆痕化に伴う肺組織の線維化が問題となっており、又、化学療法により乾酪性物質の周りの線維化がすすんで、病巣の被包化乃至限局化が招来せられ、所謂硬化性病巣が形成されることが少なくない。

この種の硬化性病巣の被膜は結合組織を主体

としており、病巣の限局化に役立つ反面、その吸収癆痕化の障害となるものである。

外傷又は手術後にみられる癆痕のケロイド化も亦、異常な結合組織反応の結果であるといつて差支えない。

一方、生化学や電子顕微鏡学の進歩により、結合組織に関する知見は近年大巾に増しつつあり、細胞及び膠原線維を中心とした結合組織の微細構造や、膠原線維及び結合組織の基質の形成等についても数多くの報告がなされている。

しかしながら、それ等の基礎的知見の臨床的応用はいまだしの感がある。

例えば、各種の炎症や外科的創傷により招来される過剰な肉芽の増殖は生体にとって不利なものであるが、これをいかにして調節し、生体に有利なものならしめるかといった問題については臨床的には未だ十分な解明がなされていない状態である。

著者が基礎と臨床との中間的な立場から、結合組織の問題について追求しつつある所以も亦ここにあるわけである。

以下、第1篇では、結合組織の病理組織学的並びに組織化学的な研究方法について再検討した結果から、著者の研究方法を述べ、第2篇では、これを種々の場合、例えば、切除肺結核病巣や癆痕ケロイド及び実験的異物性炎の肉芽組織やこれに影響を及ぼすと考えられる数種の薬剤を使用した場合等に適用し、それ等の場合における結合組織の性状や形成機序について述べる。

まず、第1篇では、基本的な問題として、結

合組織の組織化学的研究方法について検討する。

膠原線維を中心とする線維成分や線維細胞については、従来主として電子顕微鏡学的並びに生化学的に検討されており、コラーゲン蛋白の構造やその生合成、コラーゲンファイブリルの形成等についてかなりの知見が得られている。

しかしながら、臨床的又は動物実験的な立場から炎症を論ずる場合に必要だと思われるコラーゲンファイブリルから膠原線維への成長、膠原線維内での不溶性コラーゲンと可溶性コラーゲンとの相互関係、及び、膠原線維と基質との関係等については未だ不明に属する点が少なくない。

それ等の諸問題を明らかにするには、生化学的又は電子顕微鏡学的方法の外に、組織化学的な研究方法による検討も亦必要だと考えられる。

しかしながら、結合組織の組織化学的な研究方法としては、現在までのところでは、基質や肥満細胞を対象とする酸性多糖類の染色その他の2, 3の方法が行なわれているにすぎない。

そこで、著者は、まず最初に病理組織学的に従来広く応用されている膠原線維の2, 3の染色法について再検討し、ついでこれを組織化学的研究にも応用し得るか否かについて検討するとともに、基質や肥満細胞についても組織化学的に検討した。

なお、著者は van Gieson の染色法や Mallory の染色法 (Heidenhein の変法) により染色される線維を膠原線維とみなして取扱っており、従って、本論文では、格子線維の1部をも膠原線維として取扱っていることを一言お断りしておく。

第1章 膠原線維の染色法

第1節 膠原線維の染色時の固定法

第1項 実験材料及びその処理法

実験材料としては、切除結核肺の乾酪性病巣、皮膚手術創の癒痕及び癒痕ケロイド等を使用した。

実験材料の処理法は以下の通りである。

1) 新鮮な材料をそのまま凍結切片として生理食塩

水に浮遊せしめた後、載物ガラスにとって乾燥せしめる。ついで、これを a, b, c, d のような4種の固定法により処理し、それ等の処理を行なわないものを対照とした。

- a, 10%中性フォルマリンで1時間固定,
- b, Carnoy の液で1時間固定,
- c, 70%アルコールで1時間固定,
- d, 0.05M 醋酸溶液中に24時間浸漬,
- e, 以上の処理の何れをも行なわないもの,

ついで、同様な新鮮な材料を3等分し、それぞれを2)~4)のような方法で固定し、型の如くパラフィン切片として使用した。

- 2) Carnoy の液で2~5時間固定,
 - 3) 70%アルコールで24時間固定,
 - 4) 10%中性フォルマリンで固定,
- 用いた染色方法は以下の通りである。

- 1) van Gieson の染色
- 2) Mallory の染色 (Heidenhein の変法)
- 3) メタクロマジア染色 (pH4.0, 0.1%トルイジンブルー溶液を用い、室温で30分間染色)。

染色後、型のようにしてバルサムで封入した後、膠原線維の染色性について比較検討した。

第2項 実験成績

実験成績は以下の通りである。

即ち、同じ固定法であれば、凍結切片でもパラフィン切片でも、基質や線維の染色性に差はみられない。しかしながら、固定法が異なると染色性もかなり異なってくる。即ち、van Gieson の染色及び Mallory の染色を行なってみると、膠原線維の染色性が最もよいのは中性フォルマリン固定の場合であることが判る。ついで染色性のよいのは、70%アルコール又は Carnoy の液による固定の場合であるが、後者では前者に比較して膠原線維がやや膨化してみられる。

一方、病巣の種類別に線維の染色性について検討してみると、X線上硬化性陰影を示す結核病巣及び癒痕等の陳旧性の老熟していると思われる膠原線維は、van Gieson の染色でも Mallory の染色でもほぼ同様に染色せられているが(写真1, 2)、X線上非硬化性陰影を示していた結核病巣や新しい創傷部等の膠原線維は、Mallory の染色では良く染められているが、

表 1 凍結切片における膠原線維の染色性

固定法	染色法 材 料	Van Gieson の染色		Mallory の染色		メタクロマヂア染色	
		A	B	A	B	A	B
	10%中性フォルマリン	卅	+	卅	卅	+	±
	Carnoy 氏液	卅	±	卅	卅	+	±
	70% アルコール	卅	±	卅	卅	+	±
	0.05 M 醋酸	—	—	+	—	±	±
	対 照	卅	±	卅	卅	+	±

註：1. A：硬化性結核病巣被膜又は手術創癒痕
 B：非硬化性結核病巣の被膜又は非特異性炎症の内芽組織
 2. van Gieson 染色および Mallory 染色においては各々線維の酸フクシン又はアニリンブルーの色調の程度によって染色性を判定した。

表 2 パラフィン切片における膠原線維の染色性

固定法	染色法 材 料	van Gieson の染色		Mallory の染色		メタクロマヂア染色	
		A	B	A	B	A	B
	10%中性フォルマリン	卅	+	卅	卅	+	±
	Carnoy 氏液	卅	±	卅	卅	卅	+
	70% アルコール	卅	±	卅	卅	卅	+

註：表中の記号の記載は表1と同様である。

van Gieson の染色ではその染色性がかなり劣っていることが判る（写真3, 4）。

膠原線維の染色性がもっとも悪いのは凍結切片を0.05M醋酸で処理した場合である。即ち、van Gieson の染色では膠原線維は殆んど染色されず、Mallory の染色でも線維の膨化と断裂とがみられる。

凍結切片についてメタクロマヂア染色を行なってみると、中性フォルマリン、70%アルコール及び Carnoy 氏液等の何れにより固定する場合でも、膠原線維やその線維間の部分では、瀰漫性にメタクロマヂア陽性である。しかしながら、0.05M醋酸処理の切片では、ごく弱いメタクロマヂア陽性が認められるのみである。

一方、パラフィン切片においても、固定法の差によるメタクロマヂア陽性の差は殆んど認められないが、膠原線維そのものがメタクロマヂ

ア陽性を呈し、線維間にはメタクロマヂア陽性物質を認められない。

又、これ等の処理を行なわなかった凍結切片、即ち、対照では70%アルコール固定の場合の切片とはほぼ同様の所見がこれ等3種類の染色の何れにおいても認められる。

以上をまとめてみると、表1及び表2の通りになる。

第2節 膠原線維の染色時の染色液の組成

第1項 実験材料並びに実験方法

実験材料としては、第1節、第1項で述べたものと同様の材料を使用した。

実験材料を10%中性フォルマリン、70%アルコール又は Carnoy 氏液によって固定し、型のようにしてパラフィン切片として染色に供した。

検討した膠原線維染色法は van Gieson の染色及び Mallory の染色である。各々の染色液の組成及び

染色方法は表3並びに表4に示す通りである。即ち、これ等2つの染色法の膠原線維を染色する染色液の組成を変化させた場合、及びこれ等の染色液に含まれている各色素の単独溶液を使用した場合の膠原線維の染色性について、各々の原法と比較検討した。

第2項 実験成績

実験成績は以下の通りである。

即ち、van Gieson 染色時の染色液の組成を変えた5種類の染色法のうち、膠原線維の染色性が van Gieson の染色の原法よりもよいのは、van Gieson の染色液に塩酸を加えた場合である。この場合には膠原線維は極めて特異的に染色せられ、その色調も鮮明である。

又、塩酸々性の0.1% 酸フクシンで染色した場合には、膠原線維の特異的な染色所見は認められず、切片全体が強く赤染する。この切片を更に飽和ピクリン酸で後染色した場合には、線維以外の部分を染めていた酸フクシンが溶出して、van Gieson の染色の原法に近い染色状態

となる。しかしながら、核その他に酸フクシンによる共染がみられる。

次に、まず飽和ピクリン酸で染色した後、塩酸々性酸フクシンで染色する場合には、膠原線維の染色性は同一標本においても不定である。

又、少量の苛性ソーダを加えた van Gieson の染色液によって染色した場合には、van Gieson の染色の原法に近い所見がみられるが、苛性ソーダの量を多くするに従って染色液の酸フクシンの色が褪色し、組織全体が染色されなくなってくる。

次に、Mallory の染色についてみると、核染色及び燐タングステン酸(以下PTAと略)処理の後、醋酸々性アニリンブルー液で染色した場合には、膠原線維は青色に染められているが、軽度の共染がみられる。又、アニリンブルー、オレンジG混合液で染色した場合は、核染色の色素が完全に脱色しているが、膠原線維はほぼ

表 3 膠原線維の染色性に対する vanGieson 染色液の組成の変化の影響

	染色液の組成	染色方法および 染色時間	染色成績		
			膠原線維の染色性	共染の程度	その他の所見
a	van Gieson 染色液 100 cc に濃塩酸 2cc を加えたもの	室温にて2～3分間染色	原法より良好	全くみられない	
b	0.1% 酸フクシン液 110 cc に濃塩酸 2cc を加えたもの	室温にて2～3分間染色	切片全体が赤染し、原法より不良	共染が非常に多い	
c	1) 塩酸酸性0.1%フクシン酸 2) 飽和ピクリン酸液	室温にて1)で染色の後、2)で染色(各2～3分間宛)	原法とほぼ同程度で良好	核などにわずかに共染がみられる	
d	1) 飽和ピクリン酸液 2) 塩酸酸性0.1%酸フクシン液	室温にて1)で染色後、2)で染色(各2～3分間宛)	不良、染り方が一定しない	ほとんどみられない	
e	van Gieson 染色液 110 cc に 20% NaOH を加えたもの	室温にて2～3分間染色	不良、NaOH を多くすると全く染らない	ほとんどみられない	NaOH が多くなると切片ががよく障害されてくる

註： i van Gieson 染色液、1%酸フクシンと飽和ピクリン酸を1:10の割合で混合したもの、酸フクシンは Merk 製を使用した。
 ii 核染色は Meyer 氏ヘマトキシリンによって行なった。
 iii その他の所見の項で原法と大差のないものは記載していない。

表 4 膠原線維の染色性に対する Mallory 染色液の組成の変化の影響

	染色液の組成	染色方法および 染色時間	染色成績		
			膠原線維性 の染色	共染の程度	その他の所見
a	醋酸性0.25%アニリンブルー溶液	5% PTA に1時間浸漬、その後左記の液で室温、1時間染色	うすく青染するがやや不良	軽度に見られる	
b	アニリンブルーオレンジG混合溶液(100cc中にアニリンブルー0.25g, オレンジG 1g)	5% PTA に1時間浸漬、その後左記の液で室温、1時間染色	線維は青黒色に染色	ほとんどなし	核染色の色素が完全に脱色
c	塩酸酸性アニリンブルー、オレンジG混合液(bの液に濃塩酸 2ccを加)	5% PTA に1時間浸漬、その後左記の液で室温、1時間染色	線維は全く染らず、不良	なし	壊死物質が青染
d	Mallory 染色液(醋酸酸性アニリンブルー、オレンジG混合液)	5% PTA 処理を行わず、室温にて1時間染色	線維は青黒色に染色	かなりつよくみられる	
e	Mallory 染色液	核染色せず、5% PTA 1時間浸漬の後、室温にて1時間染色	切片全体が青色を呈し、線維の区別困難	非常につよい	
f	Mallory 染色液	5% PAT に1時間浸漬後、室温にて1時間染色	良好	なし	
g	5% 燐モリブデン酸(PMA)	1時間浸漬後、直射日光下に3時間放置	線維の色はうすいが良好	なし	

註：i 核染色および分別は Mallory 染色法と同様に行なった。表中特に記載してないものは核染色施行後の処置である。

ii PTA および PMA はそれぞれ燐タンゲステン酸および燐モリブデン酸の略である。

iii アニリンブルー、およびオレンジGは共に Merk 製を使用した。

特異的に染色される。同様に塩酸酸性アニリンブルー、オレンジG混合液で染色する場合は、膠原線維は殆んど染色されない。核染色の後、PTA 処理を行なわないで、直ちに Mallory の染色液で染色する場合は、膠原線維は黒青色を呈し、かなり強い共染が認められる。

次に、核染色を行わずに直ちに PTA 処理及び Mallory の染色液で染色する場合には、切片全体が青黒色を呈し、膠原線維の識別は不可能である。

5%PTA の代わりに5%燐モリブデン酸(以下

PMA と略)を用いる染色法では、PTA の場合とほぼ同様の所見が認められる。又、PMA 処理の後、直射日光下に放置した切片では、膠原線維はうすい緑青色を呈し、共染は殆んど認められない。

これ等の所見は中性フォルマリン、70%アルコール、Carnoy の液等による固定の何れの場合でもほぼ同様に認められる。

以上の成績をまとめてみると、表3及び表4の通りになる。

第2章 結合組織基質並びに肥満細胞の染色法

第1節 実験材料並びに実験方法

実験材料としては第1章、第1節、第1項と同様な材料及び成熟マウスの背部皮下組織を用いた。

実験材料のうち、切除材料については第1章、第2節、第1項と同様の方法により固定し、実験動物の材料については70%アルコールを用いて固定した。ともに型のようにしてパラフィン切片とし、表5に示した方法により染色した。

第2節 実験成績

実験成績は以下の通りである。

即ち、メタクロマジア染色では、結合組織基質は殆んど認められず、膠原線維がメタクロマジア陽性を呈している所見が認められる。このメタクロマジアは、硬化性結核病巣の被膜及び癒痕ケロイドに著明である。

pH7.0及びpH4.0の染色液による組織の染色性を比較してみると、膠原線維及び肥満細胞顆粒のメタクロマジアは共に陽性であるが、pH7.0の染色液では細胞の核及び胞体が強よく青染するのに対し、pH4.0の場合には細胞の胞体

は殆んど染らず、核だけがうすく青染している。pH4.0の染色液を使用した場合の方がよい組織標本が得られるようである。

0.1%及び0.01%の濃度の染色液による組織の染色性については、pHが同一の場合には著明な差異は認められない。

又、染色液のpHが一定の場合には、固定法による組織の染色性やメタクロマジアの陽性度には差異は認められない。又、何れの固定法においても、肥満細胞顆粒の流出像は殆んど認められない。

結合組織基質は、PAS染色によっても殆んど認められず、又、メタクロマジア陽性を示す膠原線維は、PAS染色では弱陽性又は陰性である。

肥満細胞顆粒も亦PAS染色では陰性であるが、切除肺の気管枝上皮、腺細胞及び肺胞内や壊死部にみられる多核球等ではPAS染色陽性である。

PAS染色でも、メタクロマジア染色と同様に固定法による染色性の差異は殆んど認められない。

以上をまとめてみると、表5の通りになる。

表 5 結合組織の多糖類の組織化学的検討

	染色液	染色方法	染色成績		
			膠原線維	細胞	肥満細胞顆粒
メタクロマジア染色 (酸性多糖類染色)	pH 4.0, 0.1% トルイジンブルー	室温 30分	メタクロマジア (+)	核のみがうすく青染	メタクロマジア (++)
	pH 4.0, 0.01% トルイジンブルー	室温 30分	メタクロマジア (+)	核のみがうすく青染	メタクロマジア (++)
	pH 7.0, 0.1% トルイジンブルー	室温 30分	メタクロマジア (+)	核, 胞体共によく青染	メタクロマジア (++)
	pH 7.0, 0.01% トルイジンブルー	室温 30分	メタクロマジア (+)	核, 胞体共によく青染	メタクロマジア (++)
PAS染色 (多糖類染色)	Schiff氏試薬	過沃素酸 Schiff氏法	PAS (+) 又は (±)	浸出多核球に PAS (+) の胞体のものあり	PAS (-)

註 i トルイジンブルーは pH 4.0 又は pH 7.0 の Mc Ilvaine 緩衝液と蒸留水の等量混合液に溶解した。

ii メタクロマジア染色の分別は純アルコールにより行なった。

**第3章 結合組織線維並びに基質に対する
2, 3の分解酵素の影響**

第1節 蛋白分解酵素の影響

第1項 実験材料並びに実験方法

実験材料としては、第1章、第1節、第1項と同様な材料を使用し、第1章、第2節、第1項と同様にして固定した後、型のようにしてパラフィン切片とした。

蛋白分解酵素としては、ペプシン末 (Merk 製) を使用し、これの 0.5g 及び濃塩酸 (Sp1.18) 0.2cc を 100cc の蒸溜水に溶解し、この中に切片を浸漬して、37°C で5分、10分及び20分間作用せしめた。対照としては同様の組成の液を 100°C, 30分加熱したものを使用した。

酵素液からとり出した切片は、水洗、乾燥した後、それぞれ van Gieson の染色、Mallory の染色及びメタクロマジア染色を行ない、型のようにしてバルサムで封入した後、検鏡した。

第2項 実験成績

実験成績のうち、van Gieson の染色及び Mallory の染色による所見は、表6の通りである。

表6 膠原線維に対するペプシンの影響

染色法	作用時間		5分間		10分間		20分間	
	材料		A	B	A	B	A	B
van Gieson 染色	+	-	++	+	++	+	++	++
Mallory 染色	+	-	++	+	++	+	++	++

- 註 i A, Bの区別は表1および表2と同様である。
ii 作用効果の判定は、(-)染色上全く不変、(+)線維の輪郭が不明瞭、(++)線維が部分的に染色されず断裂している状態、(+++)線維としての形が認められず、殆んど染色されなくなったもの、とした。

即ち、非硬化性の結核病巣被膜及び非特異性肉芽の膠原線維は、5分間のペプシンの作用でその輪郭が不明瞭となり、van Gieson の染色では部分的に線維が染色されない所見がみられる。10分間のペプシンの作用の後には、このような線維はほぼ完全に消化せられ、あとに酸フクシンでうすく染まる不定形の物質がみられるにすぎない (写真5, 6)。

一方、硬化性結核病巣被膜の膠原線維は、5分間のペプシンの作用では殆んど変化せず、10分間の作用で線維の輪郭は不明瞭となるが、線維の形は保たれており、20分又はそれ以上に亘ってペプシンを作用せしめると、はじめて線維としての形が失われる (写真7, 8)。

Mallory の染色でも、ほぼ同様の所見がみられるが、ペプシンを作用せしめた後の膠原線維に対する染色性は、van Gieson の染色の場合に比較してやや良好である。

メタクロマジア染色では、組織がペプシンの作用で完全に消化された場合には、メタクロマジアはみられないが、van Gieson の染色及び Mallory の染色で染色される物質が認められる場合には、その部分では対照とほぼ同様にメタクロマジア陽性である。

肥満細胞はペプシンの作用後も認められるが、作用時間が長くなるに従ってその数が減少する。しかしながら、肥満細胞顆粒の流出所見は認められない。

又、中性フォルマリン固定の標本は、Carnoy の液又は70%アルコール固定の標本に比較して、ペプシンの作用に対する抵抗性が大であることが認められる。

第2節 ヒアルウロニダーゼの影響

第1項 実験材料並びに実験方法

実験材料としては、第1章、第1節、第1項と同様の材料を使用し、これを第1章、第2節、第1項と同様な方法により固定した後、型のようにしてパラフィン切片とした。

ヒアルウロニダーゼ製剤としては、ハロダーゼ「タケダ」 (以下「ヒ」と略) を使用した。

「ヒ」2500単位を 100cc の生理食塩水に溶解し、この中に切片を浸漬し、37°C で3時間又は24時間「ヒ」を作用せしめた。次いで、切片を水洗、乾燥した後、染色を行なった。対照としては、これと同様の溶液を 100°C, 5分間加熱したものを使用した。

切片の染色は、本章、第1節、第1項と同様である。

第2項 実験成績

実験成績は表7の通りである。

即ち、膠原線維にみられるメタクロマジアは、3時間の「ヒ」の作用によりほぼ完全に消

表7 膠原線維および肥満細胞に対するヒアルウロニダーゼの影響

作用時間	材料 染色法	膠 原 線 維			肥満細胞
		van Gieson 染色	Mallory 染色	メタクロマチア染色	メタクロマチア染色
3 時 間		—	—	++	±
24 時 間		—	—	++	±

註 作用効果の判定は van Gieson 染色および Mallory 染色は表6と同じである。メタクロマチア染色においては、(-)メタクロマチア不変のもの、(+)メタクロマチアが対照に比較してかなり弱くなっているもの、(++)メタクロマチアが陰性となっているもの、(±)は(-)と(+)との間、とした。

失し、線維はうすい青色に染まるようになる(写真9, 10)。しかしながら、肥満細胞は「ヒ」を作用せしめた後もメタクロマチア陽性の顆粒を有しており、顆粒の流出等の所見は認められない。

「ヒ」の作用後、更に Mallory の染色及び van Gieson の染色を行なった際の膠原線維では、対照に比較してその輪郭はやや不明瞭であるが、線維の染色性は対照とほぼ同様である。

何れの固定法でも、3時間の「ヒ」の作用で膠原線維のメタクロマチアは完全に消失し、固定法による差は認められない。

第4章 綜括並びに考按

本篇では、光学顕微鏡による結合組織の研究手法として、膠原線維とその基質の染色法の2, 3を採り上げ、それ等の条件、意義及び価値等について追求した。著者の成績をまとめながら、考按を加えるに先き立ち、理解を容易ならしめるために、膠原線維についての現段階における一般的な見解を簡単に紹介しておく。

光学顕微鏡的に認められる膠原線維は、コラーゲンフィブリルの集合体である。このコラーゲンフィブリルはコラーゲン蛋白の結合したものと考えられる。コラーゲン蛋白には不溶性コラーゲン及び可溶性コラーゲンがあり、共に膠原線維中に含まれているものである。抽出コラ

ーゲンの再線維化に関する種々の実験^{8), 19), 37)}及びコラーゲン蛋白の分析の成績¹⁴⁾等から、コラーゲンの線維化には酸性多糖類が何らかの形で関与するといわれている。即ち、膠原線維は可溶性及び不溶性コラーゲンと酸性多糖類とからなっていると考えられることができる。そして、この膠原線維は水を含んだ酸性多糖類を主とした基質に埋められて組織中に存在していると考えられている。これ等の見解を基礎として、以下綜括並びに考按を行なってみる。

膠原線維の van Gieson の染色及び Mallory の染色による染色性に及ぼす各種固定法の影響について考えてみると、膠原線維の染色性は、中性フォルマリン固定の場合に最もよく、次いで70%アルコール固定、Carnoy の液による固定の順となり、0.05M醋酸処理の場合には、著しく劣る。中性フォルマリン固定と70%アルコール又は Carnoy の液固定との染色性の差異は、中性フォルマリン固定の場合には、包埋に際して十分な水洗が行なわれるのに対して、他の2つの固定の場合には、水洗が行なわれないことによるものと考えられる。従って、前者の場合には組織中の水溶性の成分、即ち結合組織では主として基質の酸性多糖類が、水洗によりかなり溶出し、そのために線維と色素との結合が容易になると考えられる。アルコールを主成分とする他の2つの固定の場合には、酸性多糖類の溶出が殆んどみられないものであり、従って、組織中での過剰の糖類の存在は、線維の染色性を低下せしめるものと思われる。しかしながら、フォルマリン固定の場合でも、尚、かなりの類類が残されていることは、メタクロマチア染色及び PAS 染色の成績から当然考えられるところである。

次に、0.05M醋酸処理の場合、van Gieson の染色では殆んど膠原線維が染色されず、Mallory の染色では線維は染色されているが、その断裂及び膠化が強く認められる。いうまでもなく、0.05M 醋酸は酸可溶性コラーゲンの抽出に用いられる試薬である。それであるから、この場合には酸可溶性コラーゲンが溶出し、膠原線維の本来の構造が変化しているものと考えられる。

このことから、van Gieson の染色は前述のような膠原線維の3つの成分、即ち、酸性多糖類、可溶性及び不溶性コラーゲン等が適当に組合せられ完成した膠原線維に対して良好な染色性を示すものと考えられる。これに対して、Mallory の染色では、0.05M 醋酸処理後も、尚、かなりの線維が染色されていること、及び、再線維化した酸可溶性コラーゲンがこの染色法によって良好に染色されるという吉田³⁷⁾の成績等から、Mallory の染色はコラーゲン蛋白そのものを染色するものと考えられる。従って、同一標本の van Gieson の染色の所見と Mallory の染色の所見とを比較検討することによって、その標本の膠原線維の性状について1つの指標が得られるものと考えられる。

次に、van Gieson の染色及び Mallory の染色における染色液の組成を変えた場合の成績から、両染色の染色機序について若干の考按を加えてみる。

まず、van Gieson の染色では、膠原線維は酸フクシンによって染色される。そして原則として、染色液の酸性度が増加するに伴って染色性はより著明となり、逆の場合には染色性は低下する。しかしながら、酸性の酸フクシン溶液による染色では、共染が非常に強よくみられる。それであるから、この場合には共染を防止する適当な色素の共存が必要となり、色素と酸の両方の性格をもつピクリン酸がこの目的に合うものとして選ばれたものであろう。又、適当な割合の酸フクシンとピクリン酸の混合溶液で染色した場合に、最も良好な結果が得られることから、van Gieson の染色の本質は関²⁵⁾が述べているように吸着であり、そのために膠原線維の3つの成分の配合が適当であることが必要であると考えられる。

Mallory の染色では、核染色を行なうアゾカルミンGが核以外の部分にも親和性をもっており、この色素が分別によって核以外の部分から遊離することが、まず必要である。この色素の共染色は Mallory の染色液による膠原線維の染色を妨害するが、一方、この色素の完全な脱色はアニリンブルーの共染を招来し、線維の特

異的な染色が行なわれない。又、核染色の後、PTA による処理を行なわないで Mallory の染色液を使用した場合には、膠原線維の染色性は不良で強い共染が認められる。PMA で処理した後、直射日光下に放置した切片では、膠原線維は緑青色を呈するが、これは膠原線維に附着した PMA が日光により変化した結果である。Mallory の染色では、PTA は PMA と同様の意味をもつものであり²⁶⁾、PTA も PMA と同じく膠原線維に附着し、アニリンブルーの膠原線維に対する親和性をたかめると考えられる。染色液が酸性であることはアゾカルミンGの脱色を防止し、同時に PTA 附着膠原線維に対するアニリンブルーの親和性をたかめるものと思われる。一方、Mallory の染色液を塩酸々性とした場合に膠原線維の染色性が低下するのは、酸性度が強すぎて線維に附着した PTA が不活性となるためだと考えられる。又、アニリンブルー単独溶液の染色性は PTA 処理を行なった場合でもよくない点から、Puchtler 等²¹⁾の述べているように PTA が膠原線維と色素との間の橋渡しをすとしても、それは混合色素液の状態で行なわれるものと考えられる。

パラフィン包埋を行なった標本では、メタクロマヂア染色及び PAS 染色において、基質が殆んど認められず、膠原線維がメタクロマヂア陽性及び PAS 弱陽性を示しているが、これは包埋の過程において組織が強い脱水をうけ、基質が線維に附着した形となるためと思われる。又、「ヒ」による消化後においても尚、van Gieson の染色及び Mallory の染色により膠原線維は染色されている。これ等のことから、膠原線維がメタクロマヂア陽性を呈するのは線維を形成している酸性多糖類によるのではなく、線維に附着した基質の酸性多糖類によるものと思われる。そして、この酸性多糖類は、「ヒ」によって消化されることから、ヒアルウロン酸及びコンドロイチン硫酸と考えられる。

膠原線維にペプシンを作用せしめた場合、まず分解されるのは分子間の結合が弱いと考えられる可溶性コラーゲンである。従って、可溶性コラーゲンの豊富な線維がまず消化されるが、

これの少ない線維は消化され難い。

このことから、すでに著者等^{33),34)}が述べたように、ペプシンの消化試験から膠原線維の組成を推定することは可能と思われる。

肥満細胞のメタクロマチア陽性の顆粒は「ヒ」によって消化されないが、これは一般にいわれているように、ヘパリン化合物であるためと考えられる。この肥満細胞は慢性炎症では増加し、肉芽形成に対して何らかの関係をもつといわれている²³⁾もので、本細胞については、第2篇で改めて検討する予定である。

結 論

本篇では、結合組織の諸成分のうち、膠原線維、肥満細胞及び基質を中心として、各種の固定法と膠原線維染色法又はメタクロマチア染色との相互関係、ペプシン及びヒアルウロニダーゼの作用等について検討し、以下の結論を得た。

1) 膠原線維の染色性は、中性フォルマリン固定の場合がもっともよく、70%アルコール固定及び Carnoy の液による固定の場合がこれにつづき、0.05M 醋酸処理の場合がもっとも劣る。

2) van Gieson の染色による膠原線維の染色性は、van Gieson の染色液に塩酸を加えて酸性度を増強することにより、良好となり、苛性ソーダを加えて、酸性度を低下せしめることにより、低下する。

3) van Gieson の染色は、可溶性コラーゲン及び不溶性コラーゲン、酸性多糖類が適当な割合に組合されたいわば完成した膠原線維に対して、もっとも良好な染色性を示す。その本質は酸性溶液中における吸着であると考えられる。

4) 一方、Mallory の染色では、核染色の色素が適当に残されていることが、染色性を高める上で必要であり、この目的に対しては、染色液が適当な酸性をもつことが必要である。

5) Mallory の染色は、コラーゲン蛋白自体を染色するものであり、ために Mallory の染色の染色域は van Gieson の染色のそれに比較してかなり広がっている。又、この染色では、PTA が重要な役割を果しているものと考えられる。

6) ペプシンによって消化されやすい膠原線維は、消化され難いものに比較して可溶性コラーゲンを多く含んでいると考えてよい。

7) それであるから、van Gieson の染色や Mallory の染色を併せ行なうことにより、又、更に必要に応じてペプシンの消化試験を加えることにより、組織切片で膠原線維の性状をかなり詳しく知ることが出来る。即ち、Mallory の染色では青染するが、van Gieson の染色では殆んど染められないような線維は、可溶性コラーゲンが豊富でペプシンによって消化されやすい。いわば幼弱型の膠原線維といえよう。一方、Mallory の染色及び van Gieson の染色で共に好染する線維は、可溶性コラーゲンが少なく、これと酸性多糖類及び不溶性コラーゲンとの割合が適当な成熟型と考えられ、ペプシンにより消化され難い。

8) 結合組織基質の酸性多糖類は、固定及び包埋の過程での脱水のために、膠原線維に附着するものと考えられる。この基質の酸性多糖類はヒアルウロン酸及びコンドロイチン硫酸であると考えられる。

9) 肥満細胞のメタクロマチア陽性の顆粒は、諸家のいっているように、ヘパリンを含んでいるものと考えられる。

結合組織の病理組織学的並びに組織化学的研究

〔第 2 篇〕 著者の方法による結合組織の再検討

京都大学結核研究所外科学部（主任 教授 長石 忠三）

山 崎 昇

（昭和40年7月26日受付）

〔目 次〕

緒 言

第 1 章 結核性肺病巣並びに癥痕ケロイドの結合組織についての検討

第 1 節 結核性肺病巣

第 2 節 癥痕ケロイド

第 2 章 実験的異物性炎の結合組織に及ぼす数種の薬剤の影響

第 1 節 実験的異物性炎における肉芽組織

第 2 節 薬剤の影響

第 1 項 コーチゾン及びグリチルリチン

第 2 項 ピラゾール系消炎剤

第 3 項 ヘパリン及びコンドロイチン硫酸

第 4 項 ヒスタミン

第 3 章 総括並びに考按

結 論

全篇結論

緒 言

第 1 篇では、各種の基礎的実験の成績から、結合組織、特にその膠原線維は、van Gieson の染色、Mallory の染色、メタクロマヂア染色及びペプシンの消化試験等の諸検査を適当に組合せて行なうことにより、その組成や成熟の度を推定し得ることを明らかにした。

それでは、このような知見は、実際に組織標本を観察する場合に、どの程度の有用性を示すであろうか。

従来、病理組織学的乃至組織化学的な検討といえ、細胞を中心とした検討方法により行なわれてきた。

しかしながら、細胞の働きの背景として、そ

れを規制している支持組織、特に膠原線維を中心とした結合組織についての知見は未だ極めて少なく、又、この結合組織の状態から生体反応を眺めた知見はより一層稀である。

そこで、第 2 篇では、各種の炎症における結合組織について、著者の方法を用いて検討し、それ等炎症の現状の把握や予後の推測等が可能か否かを検討した。

本篇では更に、現在、抗炎症剤又は消炎剤として、実験的又は臨床的に使用されている薬剤や、結合組織の形成に関与すると思われる薬剤等についても実験的に検討し、著者の方法により、それ等薬剤の効果の詳細や作用機序の理解等がどの程度に可能であるかをも知らんとした。

さて、炎症巣における結合組織について検討するためには、結合組織が主役を演ずる慢性増殖性炎又は炎症の修復期を対象とするのがよいと考えられる。この意味から、又、著者が結核外科を専攻している関係から、結核性肺病巣を検討材料として撰んだ。

又、各種の炎症のうち、皮膚手術創癥痕に生じた癥痕ケロイドは、かなり頻繁にみられるものでありながら、その成因や性状についての報告は比較的少ない。そこで、これを今 1 つの検討素材とした。

消炎剤、催炎剤及び結合組織の形成に影響を与えると思われる薬剤としては、臨床的に作用されてはいるが、尚、作用機序や効果の判然としないもの及び実験的にこれ等の効果を期待するもの等について検討した。

第1章 結核性肺病巣並びに癥痕ケロイドの結合組織についての検討

第1節 結核性肺病巣

第1項 検討材料並びに検討方法

検討材料としては、切除結核肺 105 個を、切除直前の X 線所見により、学研分類に従って、非硬化性及び硬化性病巣に分類し、それ等の病巣被膜について検討した。更に、病巣の大きさ別に、63 個の切除肺中の 329 個の被包乾酪巣について、その被膜の性状をも検討した。

検討材料を 10% 中性フォルマリン、70% アルコール又は Carnoy の液によって固定した後、型のようにしてパラフィン切片として染色に供した。

染色方法はヘマトキシリン・エオジン染色、Mallory の染色、van Gieson の染色及びメタクロマジア染色である。

又、必要に応じて、第 1 篇、第 3 章に述べたペプシン及び「ヒ」による消化試験をも併用した。

第2項 検討成績

(a) 非硬化性及び硬化性病巣の被膜

学研分類で非硬化性の基本型を示す結核病巣は、病理組織学的には繁殖性又は増殖性炎の像を示すものが多い。又、同時に病巣周囲に強い周焦炎がみられる。非硬化性空洞もこれとほぼ同様であり、壊死物質内及び空洞被膜にはリンパ球、単球等の浸潤が強くみられる。

このような病巣では、線維芽細胞及び膠原線維は細胞浸潤の減少とともに増加する。

即ち、非硬化性の病巣では、被膜に小型の類上皮細胞が多数浸潤しており、病巣周囲のリンパ球浸潤も強くみられる。この場合には、線維芽細胞は類上皮細胞層とリンパ球浸潤との中間部にごく僅かに認められるのみである。炎症が消退するに従い、線維芽細胞が増加し、幼弱な膠原線維がみられるようになる。次いで、類上皮細胞層と壊死物質との間に線維芽細胞及び幼弱な膠原線維がみられるようになる(写真11)。病巣周囲のリンパ球浸潤の減少とともに線維芽細胞及び膠原線維が増加し、線維は漸次成熟化してゆく。同時に類上皮細胞の間にごく幼弱な膠原線維がみられるようになる(写真12)。このような非硬化性の病巣では、肥満細胞は類上皮細

胞層及び膠原線維の層には殆んど認められず、その外側にごく僅かに認められるに過ぎない。

又、このような病巣の膠原線維は、ペプシンを 5 分間作用せしめるだけでもかなりに変化し、10 分間作用せしめると、ほぼ完全に消化される。

非硬化性の空洞の被膜における膠原線維の所見も亦これとほぼ同様である。

学研分類で硬化性の基本型を示す病巣は、病理組織学的には、主として硬化性炎の像を示している。これ等では、膠原線維の配列からみて 3 層の構造を示す被膜が認められることが特徴的である(写真13)。

即ち、病巣被膜の最外側及び被膜の内側の乾酪性物質との境界部に比較的規則正しい走行を示す 2 つの膠原線維層がみられ、更に、これ等 2 層の規則正しい線維層の間には、類上皮細胞をとりまくようにして微細な網状の膠原線維の層がみられ、従って、計 3 層の膠原線維層がみられる。このうち、規則正しい配列を示す内、外 2 層の膠原線維は成熟型であり、中間部の配列の乱れた膠原線維は成熟型と幼弱型との中間の性状を示す。又、内、外の 2 層ではメタクロマジア陽性で、このうちの内層は山本³⁶⁾のいうメタクロマジア陽性層に一致する。

次に、硬化性空洞の被膜では、乾酪巣にみられるような 3 層の膠原線維層を認めず、外側のほぼ規則正しい配列の線維層とそれに接した内側の不規則な配列の線維層、即ち、硬化性乾酪巣の外側及び中間層の 2 層のみである(写真 3, 4, 14)。このうち、外側の層状の膠原線維は van Gieson の染色及び Mallory の染色によって、共に好染する成熟型であるが、内側の線維はこれより幼弱型で、これ等 2 層のうち、外側の線維のみがメタクロマジア陽性である。

硬化性の乾酪巣の規則正しい配列の膠原線維は、2 層ともペプシンの作用をうけ難いが、特に乾酪性物質に接している内側の線維層のものがその作用をうけ難い。これ等はペプシンを 20 分間作用させても、その線維としての形を残している。一方、中間層の不規則な走行の膠原線維は非硬化性の病巣被膜の線維と同様に、ペプシンで消化されやすい。

表 8 肺結核病巣のレ線所見と被膜の膠原線維の性状

レ線所見 (学研分類)	病理組織所見	被膜の構造	膠原線維 の性状	膠原線維のペ プシンに対す る抵抗性	膠原線維 のメタク ロマヂア	肥満細胞
非硬化性 病巣	乾酪巣 繁殖性又は増 殖性病変	被膜の最外側に少 数の線維芽細胞, 膠原線維あり	幼弱型	容易に消化	弱陽性	被膜内に みられず
病巣	空洞 上記と同じ, 被膜内に細胞 浸潤がつよい	上記と同じ	上記と同じ	上記と同じ	上記と同 じ	上記と同 じ
硬化性 病巣	乾酪巣 増殖性又は硬 化性病変	被膜は3つの膠原 線維層よりなっ ている	外側>成熟型 中間:中間型	外側>抵抗大 中間:抵抗小	陽性	上記と同 じ
病巣	空洞 上記と同じ, 細胞浸潤がつ よい	外側に層状の膠原 線維があり, その 内側は不規則な走 行の線維がみられ る	外側:成熟型 内側:幼弱型	外側:抵抗大 内側:抵抗小	外側は陽 性	上記と同 じ

註 中間型とは van Gieson 染色および Mallory 染色による染色性が成熟型と幼弱型の中間を示すものである。

尚、膠原線維のメタクロマヂアは「ヒ」を作用せしめると消失するので、ヒアルウロン酸又はコンドロイチン硫酸だと考えてよい。

肥満細胞は非硬化性の病巣と同様に、被膜の外側に僅かにみられるのみである。

以上をまとめてみると、表 8 の通りになる。

(b) 病巣の大きさ別にみた被膜の性状

切除肺結核病巣は、化学療法後に切除されることが多い関係から、病理学的にみると増殖性又は硬化性を示すものが多い。そして、乾酪巣では、被膜に前述のような層状の膠原線維が認められる場合が多い。

しかしながら、極めて小さい病巣では被包化されているが、(a)に述べたような3層の膠原線維層が判然と認められるものは寧ろ少ない。

又、少し大きな被包乾酪巣では、3層の膠原線維層が病巣の全周にわたって認められるものも亦少ない(写真15)。

今、病巣の大きさ別に、被膜の膠原線維層の形成の程度をみると、表 9 のようになる。

表示のように、直径5mmまでの極めて小さい

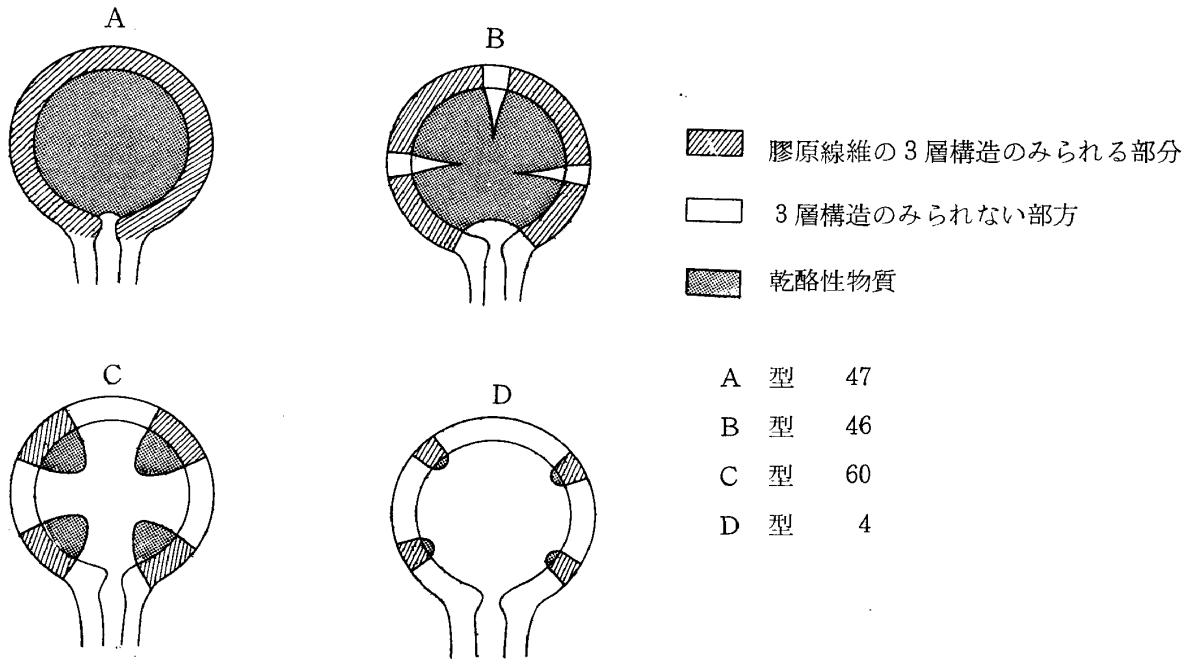
表 9 病巣の大きさ別にみた被膜の構造 (切除結核肺63個中の被包乾酪巣 329 個についての検討)

病巣の大きさ	5 mm	6 mm	10 mm
被膜の構造	まで	~10mm	以上
病巣の数	214	30	85
三層構造が認められない部分のあるもの	198	2	82
判然とした3層構造が全周にわたってみられるもの	16	28	3

乾酪巣では膠原線維の3層構造の認められるものは少なく、直径6mmから直径10mmまでのものに、もっとも多く3層の膠原線維層が認められる。

直径6mmから直径10mm以上の病巣の被膜を膠原線維層の形成状態から分類し、その状態を模式図として整理してみると第1図のようになる。

即ち、A型のものは、直径6mm~10mmまでの病巣に圧倒的に多く、B、C及びD型のものは直径10mm以上の大きさのものが大部分である。



第 1 図

直径 5mm 大以下の病巣では、乾酪性物質と思われるものが少なく、被膜の構造も、最外側の膠原線維層以外には判然とした層状構造を有しないものが多い。従って、表 9 の直径 5mm までのもの 214 個のうち、3 層構造の判然としないものとした 198 個では、乾酪性物質も判然としない程に少ないものである。これ等では、病巣の内部に向って、線維の進入が著明で、肉芽腫様の所見がみられる。それであるから、この直径 5mm 大以下の 198 個は著者の図示した被膜構造の分類中には含まれがたいので除外した。

第 2 節 癭痕ケロイド

第 1 項 検討材料並びに検討方法

検討材料としては、一次的治癒をみた人の皮膚手術創癭痕で、術後 1 週目から 5 年目までのもの 24 個を対照とし、手術創癭痕のケロイド様変化を来たしたものを切除した 13 個を使用した。

検討材料を第 1 節、第 1 項と同様にして検討した。

第 2 項 検 討 成 績

(a) 一次的治癒手術創癭痕(対照)

手術創癭痕においては、術後 1 週目には細胞浸潤は少なく、毛細血管の新生及び線維芽細胞の増加がみられる。又、切開部を中心として幼弱な膠原線維がみられる。

3 週目には浸潤細胞は消失し、成熟型又はこれに近い膠原線維が創に沿って深部に達しており、この線維はメタクロマチア陽性である。

6 カ月目以後の手術創癭痕では、正常部の皮下に比較して成熟型の膠原線維がやや多く、又、皮膚乳頭部の平坦化がみられる以外は、顕微鏡的な区別が困難となる。

(b) 癭痕ケロイド

皮膚手術創の癭痕ケロイドでは、表皮下部のメラニン色素の増加と皮膚乳頭部の平坦化がみられ、又、真皮の従来からある膠原線維の下部に、これよりも微細な線維が束状に不規則な走行を示して新生してきている(写真16)。この線維は van Gieson の染色及び Mallory の染色によると、成熟型膠原線維の像を示すが、平常よりもメタクロマチアが強陽性を示すことが特色である。そしてこの部分に少数の肥満細胞がみられる(写真17)。

この線維増殖部の周囲には、小円型細胞の浸潤及び毛細血管に富んだ層があり、ここには豊富な肥満細胞がみられるが、この部分の膠原線維は、前記の真皮下部の線維増殖部に比べてメタクロマチア弱陽性である。

これ等の膠原線維にみられるメタクロマチアは、「ヒ」の作用により消失する。しかしなが

ら、膠原線維自体のペプシンに対する抵抗性は、硬化性の結核病巣の層状の膠原線維の場合と同様である。

第2章 実験的異物性炎の結合組織に及ぼす数種の薬剤の影響

第1節 実験的異物性炎における肉芽組織(対照群)

本節の実験は第2節の実験の対照である。

第1項 実験材料並びに実験方法

実験材料としては、体重 2.5kg 前後の成熟家兎3羽及び体重 15~20g の成熟マウス8匹を使用した。

実験方法は、表10及び表13の通りである。

第2項 実験成績

実験成績は表11、表12及び表14の対照群の項の通りである。

まず、家兎におけるポリビニールフォルマールスポンジ(以下スポンジと略)の外側の所見についてみると、3日目には多核球等の浸潤とともに少数の線維芽細胞がみられる。5日目には線維芽細胞が増加し、同時に幼弱型の膠原線維がみられるようになる。1週目には膠原線維は増加し、Mallory の染色で青色に、van Gieson の染色で赤黄色に染まり、幼弱型と成熟型の中間の性状を示す。2週目には、これ等の膠原線維は層状を呈し、成熟型となる。以後、4週目まではほぼ同様の所見である。

スポンジ内の所見は、3日目及び5日目には多核球等の浸潤が中等度にみられるが、線維芽

細胞はみられない(写真18)。1週目には浸潤細胞が減少し、週辺部に線維芽細胞が出現してくる。2週目には線維芽細胞が増加し、スポンジの週辺部には部分的に幼弱型の線維がみられる(写真19)。3週目にはスポンジ内のほぼ全体に線維がみられる。この線維は週辺部では幼弱型と成熟型との中間であり、中心部では幼弱型である。そして、4週目にはスポンジ内は成熟型の線維でほぼ充たされる(写真20)。

肥満細胞はスポンジ外側では3日目に、スポンジ内では3週目及び4週目にそれぞれ少数宛認められる。

これ等の結合組織中の膠原線維のメタクロマヂアは陰性であり、この点が人の場合と異なっている。

次に、マウスにおける硝子片周囲の所見をみると、硝子片挿入後3日目及び4日目の標本では、その何れにおいててもほぼ同様に多核球等の浸潤や少数の線維芽細胞がみられるが、膠原線維はみられない。8日目には浸出細胞は減少し、線維芽細胞の増加と幼弱型の膠原線維が認められる。10日目には浸出細胞は殆ど消失しており、線維芽細胞の数は8日目とほぼ同様であるが、幼弱型と成熟型との中間又は成熟型の膠原線維が認められる。

又、肥満細胞は8日目にごく少数認められる。

膠原線維のメタクロマヂアは、家兎の場合と同様に、陰性である。

表 10 家兎における異物性炎の実験方法

異物性炎の作成	家兎の背部皮下に 0.5×0.5×1.0cm 大のポリビニールフォルマールスポンジ(スポンジと略)を挿入して作成、スポンジは約 2.5 cm 間隔で1羽につき6個宛挿入
投与薬剤および投与方法 (動物は各群3羽宛)	1. 対照群: 薬剤投与なし 2. グリチルリチン群: グリチルリチン(グリチロン) 40mg 毎日投与 3. コーチゾン群: コーチゾン 10mg 毎日投与 4. オキシフェン・ブタゾン群: オキシフェンブタゾン(タンデリル) 100 mg 毎日投与 薬剤はスポンジ挿入の日より最後のスポンジを摘出するまで毎日投与
スポンジの摘出とその処理法	スポンジは挿入後、3日、5日、1週間、2週間、3週間、4週間目に各々1個宛摘出 Carnoy 氏液にて2~5時間固定後、パラフィン切片とした
染色法	ヘマトキシリン・エオジン染色, van Gieson 染色, Mallory 染色, メタクロマヂア染色

表 11 実験的異物性炎に対するコーチゾン, グリチルリチンおよびオキシフェンブタゾンの効果 (スポンジ外の所見)

		3日目	5日目	1週目	2週目	3週目	4週目
対 照 群	浸出細胞	++	+	-	-	-	-
	肥満細胞	+	-	-	-	-	-
	線維芽細胞	+	++	+++	++	++	++
	膠原線維	-	幼弱型	中間型	成熟型	成熟型	成熟型
コーチ ゾン 群	浸出細胞	+	+	+	-		
	肥満細胞	+	-	-	-		
	線維芽細胞	+	++	++	+		
	膠原線維	-	-	幼弱型	幼弱型 (膨化)		
グリ リチ ン 群	浸出細胞	++	+	+	-	-	-
	肥満細胞	+	+	+	+	-	-
	線維芽細胞	+	++	++	++	++	++
	膠原線維	-	幼弱型 (少数)	幼弱型	中間型 ~成熟型	成熟型	成熟型
オキシ フェ ン ブ 群	浸出細胞	++	+	+	-	-	-
	肥満細胞	+	-	-	-	+	-
	線維芽細胞	-	+	++	++	++	-
	膠原線維	-	-	幼弱型 ~中間型	中間型 ~成熟型	成熟型	成熟型

第2節 薬剤の影響

第1項 グリチルリチン及びコーチゾン

a. 実験材料並びに実験方法

実験材料としては、体重2.5kg前後の成熟家兎9羽を使用した。

実験方法は表10の通りである。

投与薬剤としては、グリチルリチン製剤であるグリチロン (以下「グ」と略) 及びコーチゾンを使用した。

b. 実験成績

実験成績は表11及び表12の通りである。

対照群の所見は、第2章、第1節の家兎の所見と同様である。

「グ」群においても、スポンジの外側では、対照群と同様に3日目には線維芽細胞がみられ、5日目には少量の幼弱な膠原線維がみられる。その後、この膠原線維は漸次増加し、同時に成熟型へと変化するが、その過程は対照群よりもおそく、スポンジの全周が成熟型の膠原線維で被包されるのは3週目である。

次に、「グ」群のスポンジ内の所見をみると、初期の細胞浸潤は対照群よりやや少なく、線維芽細胞の出現も対照群よりおそい。即ち、2週目にスポンジの週辺部に線維細胞及び少量の幼弱の膠原線維がみられる(写真21)。3週目には線維芽細胞は著明に増加し、対照群よりも多くみられる。同時に幼弱型及び幼弱型と成熟型との中間の染色性を示す膠原線維がみられる。4週目には、この中間型の膠原線維がスポンジ内全体に豊富にみられる(写真22)。

コーチゾン群では、全ての動物は2週目前後に全身衰弱で死亡した。この群のスポンジの外側ではごく弱い細胞浸潤と、3日目から少数の線維芽細胞がみられる(写真23)。この線維芽細胞は5日目から1週目にはやや増加し、同時に幼弱な膠原線維がみられる。2週目には、膠原線維はやや膨化してみられ、線維芽細胞も変性し、数も減少している。

表 12 実験的異物性炎に対するコーチゾン，グリチルリチン，オキシフェンブタゾンの効果（スポンジ内の所見）

		3日目	5日目	1週目	2週目	3週目	4週目
対 照 群	浸出細胞	++	++	+	+	+	-
	肥満細胞	-	-	-	-	+	+
	線維芽細胞	-	-	+	++	++	+
	膠原線維	-	-	-	幼弱型	幼弱型～中間型	成熟型
コーチ ゾン 群	浸出細胞	±	±	+	+		
	肥満細胞	-	-	-	-		
	線維芽細胞	-	-	-	-		
	膠原線維	-	-	-	-		
グリ チ ン 群	浸出細胞	+	+	+	+	-	-
	肥満細胞	+	-	-	-	+	+
	線維芽細胞	-	-	-	++	+++	+++
	膠原線維	-	-	-	幼弱型 (少数)	幼弱型～中間型	中間型 (多数)
オキ シ フ ン 群	浸出細胞	+++	++	++	++	+	-
	肥満細胞	-	-	-	-	+	+
	線維芽細胞	-	-	-	+	++	++
	膠原線維	-	-	-	幼弱型 (少数)	幼弱型～中間型 (少数)	中間型～成熟型 (少数)

表 13 マウスにおける異物性炎の実験方法

異物性炎の実験	マウスの背部皮下に 0.5×0.5cm 大のカバーガラス片を各々 1 枚宛挿入
投与薬剤および 投 与 法	1. 対照群(8匹)：薬剤投与なし 2. ヘパリン群(6匹)：ヘパリンソーダ20単位毎日投与 3. コンドロイチン硫酸群(6匹)：コンドロロン 5mg 毎日投与 4. ヒスタミン群(6匹)：L-ヒスタミン塩酸塩 1mg 毎日投与
材 料 の 摘 出	対照群はガラス片挿入後，3日，4日，8日，10日目に，薬剤投与群は，4日，8日，10日目に各々2匹宛屠殺し，ガラス片を周囲組織とともに切除した。
固定および抱埋	70%アルコールにて24時間固定後，ガラス片をとり去り，パラフィン切片とした
染 色 法	ヘマトキシリン・エオジン染色，Mallory 染色，van Gieson染色，メタクロマチア染色

一方，スポンジ内では線維芽細胞及び膠原線維の出現は，2週目においても認められない。

肥満細胞は「グ」群のスポンジ外側で3日目から2週目，スポンジ内側で3日目，3週目及び4週目にそれぞれ認められるが，コーチゾン群では認められない。

又，膠原線維のメタクロマチアは両群ともに陰性である。

第2項 ピラゾール系消炎剤

a. 実験材並びに実験方法

実験材料としては，体重2.5kg前後の成熟家兎6羽を使用した。

実験方法は表10の通りである。

ピラゾール系消炎剤としては、タンデリール（オキシフェンブタゾン、以下「オ」と略）を使用した。

b. 実験成績

実験成績は表11及び表12の通りである。

即ち、スポンジの外側では対照群に比較して、線維芽細胞及び膠原線維の出現がややおそく、スポンジの全周が成熟型の膠原線維で被包されるのは2週目から3週目である。

スポンジ内における初期の細胞浸潤は対照群に比較してかなり強く認められる(写真24)。線維芽細胞の出現は対照群よりおそい。即ち、2週目になって、線維芽細胞がスポンジ内の周辺部に出現し、同時にこの部分に幼弱な膠原線維が少数みられる。3週目には、線維芽細胞が増加し、膠原線維は成熟型に近づいてゆく。4週目には、成熟型と幼弱型との中間の膠原線

維がみられる。その数は対照群よりやや少ない(写真25)。

肥満細胞はスポンジの外側の3日目、スポンジ内の3週目及び4週目にそれぞれみられる。

膠原線維のメタクロマチアは全例陰性である。

第3項 ヘパリン及びコンドロイチン硫酸

a. 実験材料及びに実験方法

実験材料としては、体重15~20gの成熟マウス20匹を使用した。

実験方法は表13に示す通りである。

投与薬剤としてはヘパリン及びコンドロイチン硫酸(以下「コ」と略)を使用した。又、必要に応じて、第1篇、第3章と同様の方法でペプシン及び「ヒ」による消化試験を併せ行なった。

b. 実験成績

実験成績は表14の通りである。

即ち、ヘパリン群の硝子片挿入後4日目には、硝子片の周囲に出血がみられ、その外側に小数の線維芽細胞及び幼弱型の膠原線維がみられる。又、この部分に、核が円形で胞体がメタクロマチア弱陽性を示す細胞がみられる。8日目には、尚、出血がみられるが、線維芽細胞は増加し、線維芽細胞及び幼弱型の膠原線維が対照群よりも多くみられる。4日目と同様にメタクロマチア陽性細胞も増加する。このメタクロマチアは胞体に瀰漫性又は網目状にみられ(写真26)、「ヒ」により消失する。10日目には、硝子片周囲の出血は減少し、線維芽細胞及び膠原線維は対照群より増加する。この膠原線維の性状は幼弱型と成熟型の中間を示すものが多い。

「コ」群では、4日目に対照群と同じく線維芽細胞がみられ、又、この部分にメタクロマチアが瀰漫性に陽性である。8日目及び10日目には、線維芽細胞は対照群と同様であるが、膠原線維は対照群より多くみられる。この線維の性状はヘパリン群の8日目及び10日目と同様である。

両群ともに、硝子片の周囲には肥満細胞は認められない。

又、膠原線維のメタクロマチアも、両群ともに陰性である。

表14 実験的異物性炎に対するコンドロイチン硫酸、ヘパリンおよびヒスタミンの効果

	屠殺時期 (薬剤投与 日数)	3日目	4日目 (1日目)	8日目 (5日目)	10日目 (7日目)
		対照群	浸出細胞	++	++
	肥満細胞	-	-	+	-
	線維芽細胞	+	+	++	++
	膠原線維	-	-	幼弱型	幼弱型 ~中間型
コ 硫 ド ロ イ チ ン 群	浸出細胞		+++	++	+
	肥満細胞		+	-	-
	線維芽細胞		+	++	++
	膠原線維		幼弱型 (少数)	幼弱型 (多数)	幼弱型 ~中間型 (多数)
ヘ パ リ ン 群	浸出細胞		+++	++	+
	肥満細胞		-	-	-
	線維芽細胞		+	+++	+++
	膠原線維		幼弱型 (少数)	幼弱型 (多数)	幼弱型 ~中間型 (多数)
ヒ ス タ ミ ン 群	浸出細胞		+++	++	+
	肥満細胞		-	-	-
	線維芽細胞		-	+	++
	膠原線維		-	幼弱型 (少数)	幼弱型

第4項 ヒスタミン

a. 実験材料並びに実験方法

実験材料としては、体重15~20gの成熟マウス14匹を使用した。

実験方法は、表13に示す通りである。

投与薬剤はL-ヒスタミン塩酸塩を使用した。

b. 実験成績

実験成績は表14の通りである。

即ち、ヒスタミン群では、4日目には対照群より強よい細胞浸潤がみられるが、線維芽細胞は認められない。8日目には、細胞浸潤が減少し、線維芽細胞及び少量の幼弱型の膠原線維がみられる。10日目には、線維芽細胞の数は対照群と同様となっており、膠原線維も増加しているが、その性状は幼弱型である。

又、8日目にヘパリン群にみられたようなメタクロマチア陽性の細胞が少数認められる。

全例において、肥満細胞は認められず、膠原線維のメタクロマチアも陰性である。

第3章 総括並びに考按

本篇では、第1篇で得られた所見を応用して、肺の結核性炎症、皮膚手術創癒痕、癒痕ケロイド及び実験的異物性炎等の場合における結合組織の性状について検討した。成績を総括しつつ考按すると、以下の通りになる。

まず、硬化性結核病巣の被膜についての所見をまとめてみる。

肺結核では、初期の浸出性炎から乾酪性壊死が形成せられ、病変が限局化するとともに、その周囲に結核の特異性被膜が形成される。この特異性被膜は通常3層からなっており、炎症が繁殖性炎から増殖性炎、更に、硬化性炎へと変化するに従って完成されてゆく。

この場合、まず、病巣の外側を占める類上皮細胞層とリンパ球浸潤層との間に1層の線維層が生ずる。次いで、乾酪性物質のすぐ外側にも線維芽細胞及び膠原線維が出現して、ここにも1層の線維層が生ずる。病変が増殖性から硬化性炎へと変化するとともに、この2層の膠原線維は成熟型となり、被膜の内外側で規則正しい層状の配列を示すようになる。この2層の間に

若干の細胞浸潤が残るが、更に、炎症が硬化性に傾くと、この2層の間にある類上皮細胞をとりまくようにして微細な膠原線維がみられるようになり、ここに硬化性病巣被膜が完成する。

肺結核では炎症の比較的早期に乾酪性物質が形成される。寺松等^{27),28)}によればこの乾酪性物質は通常の化膿性炎症の膿と異なり、生化学的には比較的に不活性な性状をもっており、生体はこれを異物とみて、隔離しようと試みる。その結果、このような特異の増殖性炎の反応型式をとり、前記のような規則正しい層状の構造をとるに至るものと思われる。

この場合、内側の線維層が外側の線維層に比較して、線維間の空隙がより密となっている。乾酪性病巣での炎症の消褪は、乾酪性物質に近い部位により早期に、又、より判然とみられる。そのために、乾酪性物質に近い内側線維層の浸出液や線維間物質の吸収がより著明となり、密な線維層が形成されるのであろう。このような線維の緊密性がペプシン等の消化酵素に対する抵抗性をより一層大にしていると思われる。

この内側の膠原線維層、特にその意義については殆ど報告されていない。僅かに山本³⁶⁾、青木¹⁾及び寺松^{27),28),29)}がメタクロマチア陽性層として報告し、これが、病巣の内外からする物質の交流を阻止するのに役立っており、そのために、この層は乾酪巣の安定化に資しているとして述べているに過ぎない。

山本³⁶⁾及び青木¹⁾等が行なった乾酪巣を色素液内に浸漬し、巣内への色素の浸透状況をみた実験では、色素はこのメタクロマチア陽性層でその浸透が阻止される。

このようなメタクロマチア陽性層の性状は、これが著者の所謂内側膠原線維層であり、線維が極めて緊密に規則正しい層状構造を示していることから考えて、当然、考えられる処である。

寺松は、著者等と共に第1図とほぼ同じ模式図を乾酪巣の安定化や吸収癒痕化の機序を論ずる際に発表した。当時においては規則正しい

層状の膠原線維層（著者のいう外側線維層及び中間層）、メタクロマチア陽性層（著者のいう内側線維層）及び脂質層として報告してある。

そして、これ等3層が規則正しい層状を示しながら乾酪性物質を隙間なく被包している病巣が、真に安定化しているものであるとしている。

当時はこれ等の中でメタクロマチア陽性層が如何なるものかは判らなかつたが、今回の著者の検討により、これが膠原線維層であり、しかもその性状から推して、この層が乾酪巣の安定化機序にもっとも重大な意義を有するものであることが明らかとなった。

事実、この内側線維層が巣の全周にわたってみられる病巣は、その直径が5mm大以上10mm大以下のものが大部分で、直径10mm大以上の病巣では極めて少ない。このことは、従来寺松や永井¹⁷⁾等が報告したように、直径10mm大以上の乾酪性病巣は、不安定なものが多く、10mm大以下のものは安定なものが多いという病理組織学的並びに臨床的所見とよく一致する。

しかしながら、この内側線維層は、直径10mm大以下の病巣でも判然としないものがあり、特に直径5mm大以下の病巣では、寧ろ半数以上がこの内側線維層を認め得ないといつてよい。このような極めて小さな病巣では、乾酪性病巣が認められず、肉芽腫様の像が認められる。即ち、中間線維層がそのまま病巣内に入り込んで、巣全体を器質化しつつあるといつてよい状態を呈するのである。

このことから、著者は、内側線維層は乾酪性物質を完全に生体から隔離するために生体が形成したものだといつてよいと考えている。

それであるから、内側線維層が巣の全周にわたって認められる乾酪巣は安定であり、従来、著者が寺松等と共に提唱してきた、乾酪巣の安定化のための条件、即ち、膠原線維層、メタクロマチア陽性層及び脂質陽性層の3層構造が規則正しい層状で認められるというものに代つて、著者はこの内側膠原線維層の完成を病巣の安定化の条件として提唱したいと思う。

これが形成されるための条件、及びその性状

からみて、乾酪巣の安定化の状態をこれがもつともよく代表していると考えからである。

最後に、中間線維層について一言論じておく。

この中間線維層は奇妙なことに類上皮細胞と思われる細胞の周辺に、この細胞をとりまくようにして出来ている短い不規則な走行を示す線維からなっている。線維芽細胞は認められないか又は極めて少ない。

従来、類上皮細胞の起源は単球か、線維芽細胞かの何れかであろうとされているが、その何れであるかは今日尚判然と決定されたとはいふ難い。

著者は、この中間層で、類上皮細胞の周囲に線維が形成されている状況が、線維芽細胞が線維形成を行なっている状況に酷似していることから、類上皮細胞の少なくとも1部は線維芽細胞由来のものと考えるに到っている。しかしながら、この点については、今後、尚、追求したいと思う。

次に、手術創癒痕及び癒痕ケロイドについて述べる。

一次的に治癒した皮膚手術創では、術後3週目には細胞浸潤は消退し、創を中心として成熟型の膠原線維の増加がみられる。この膠原線維はその後漸次減少して、ついには正常の皮下組織とほぼ同様な状態になる。即ち、一次的に治癒した皮膚手術創では、組織の障害は殆んどみられず、炎症反応は極めて軽く、且つ早期に消退する。従つて、線維芽細胞が炎症によって刺激又は障害されることが少なく、膠原線維の成熟化が早期にみられるものと考えられる。3週目以後にみられる膠原線維層の菲薄化は、1部は線維の分子間結合及び線維間結合の強化による線維の緊密化により、又、1部は浸出液の吸収による線維束の収縮のためであろう。

一方、手術創の癒痕ケロイドにおいては、一次的治癒の場合と異なり、成熟型膠原線維の線維腫様の増加がみられるが、この線維増殖の原因は明らかにし得なかつた。

しかしながら、ケロイドの膠原線維と、硬化性結核にみられる成熟型の膠原線維との異なる点は、ケロイドのそれは同じ成熟型であつて

も、メタクロマチアがより一層強く陽性であるということである。ケロイドの膠原線維のメタクロマチアも「ヒ」によって消化される点からヒアルロン酸又はコンドロイチン硫酸によるといえよう。梶川¹²⁾、鶴藤³²⁾等及び Branwood⁴⁾は線維芽細胞はコラーゲンとともに酸性多糖類も産生、分泌すると述べており、ケロイドに酸性多糖類が特に多いのは、この部分では線維芽細胞の活動が旺盛であることを示すものであろう。このケロイドの周囲に肥満細胞が豊富に認められるが、この細胞はヘパリン及びヒスタミンを多量に含んでいる。後述のように、ヘパリンは線維芽細胞に対する刺戟作用を有している点から、この肥満細胞がケロイドの発生増大と何らかの関係を有していると考えてよいであろう。

一方、酸性多糖類の過剰な存在、即ち、線維間物質の過剰のために、ケロイドの膠原線維は緻密な層状構造をとり得ず、いつまでも肉芽様の像を呈するものと考えられる。

何れにせよ、ケロイドの治療においては、外科的な切除も1つの方法ではあるが、根本的には肉芽組織中の酸性多糖類を減少せしめることが必要であると思われる。又、この際、肥満細胞を如何にして減少させるかも問題点の1つであろう。

次に、実験的異物性炎においては、細胞浸潤がやや消退する3日目から5日目に線維芽細胞が出現し、これより若干おくれて膠原線維がみられる。線維芽細胞は漸次増加し、同時に膠原線維は幼弱型から成熟型へと変化してゆく。

実験的異物性炎の膠原線維が、人の硬化性結核病巣の膠原線維やケロイドのそれと比較して異なる点は、メタクロマチアが殆ど認められない点である。これは、人と実験動物とでは、線維間物質の量及び性状が多少とも異なるためと考えられる。

「グ」群では、対照群と比べた場合、初期には軽度の線維形成抑制作用がみられるが、その後には反対に線維形成の促進がみられる。

熊谷¹³⁾は「グ」はコルチコイドの代謝を抑制し、血中濃度を高めると述べている。この際、

糖質コルチコイドは下垂体の調節によりまもなく正常値となるが、鉱質コルチコイドは下垂体の調節をうけ難く、高い血中濃度を保つ。従って、「グ」を投与した場合、初期には糖質コルチコイドの作用がみられ、しばらくして鉱質コルチコイドの作用がみられることになる。糖質コルチコイドが抗炎症、抗肉芽形成作用を有しているのに対して、鉱質コルチコイドは肉芽形成促進作用を有している。このことから、「グ」の有する一見相反する2つの作用が理解出来る。

又、3週目及び4週目のスポンジ内で、毛細血管等の新生は著明でないにもかかわらず、線維芽細胞が対照群より多く、しかも、この時期に線維の増加と成熟化の促進がみられることから、「グ」は線維芽細胞に働いて、線維形成を促進するものと思われる。

コーチゾン群では、細胞の浸出が著しく少なく、又、線維によるスポンジの被包化ももっともわるい。

これについては、既にしばしばいわれているように、コーチゾンの抗炎症作用と線維形成抑制作用のためであることは異論のない処と思う。しかしながら、コーチゾン群においても、対照群と比べると弱い、線維芽細胞の増加と幼弱型膠原線維とがスポンジ外側には認められる。それであるから、コーチゾンにより、線維芽細胞の増加抑制やコラーゲンの分泌能の低下が招来されるが、それとともに何らかの機序により、膠原線維の成熟化が阻げられるということも注目されるべき点であると思われる。

このような所見から、炎症に対してコーチゾンを消炎剤として使用する場合には、一般にいわれているように、炎症の限局化、即ち、炎症巣の被包化は招来され難いということは、常に留意されねばならない。

「オ」群では、初期にスポンジ内に強い細胞浸潤がみられるが、線維芽細胞及び膠原線維の出現は、対照群よりおそい。その後の線維芽細胞の増加及び線維の成熟化は、対照群とほぼ同様であるが、全体として線維の量が少ない。

この点から、「オ」はコーチゾンと異なり、Miller 等¹⁵⁾ のいうように切期の炎症反応を促

進することにより、炎症部の浄化を促し、結果的に消炎作用を示すものと思われる。「オ」に線維形成抑制作用のあることは Domenjoz も認めている。線維の成熟化の時期は対照群と同様であるが、線維の形成量が少ないということから、「オ」は線維芽細胞の増殖を抑制するとともに、線維芽細胞自体にも作用して、コラーゲンの分泌を抑制するものであろう。

そして、「オ」の消炎剤としての働きをコーチゾンと比べるならば、消炎作用はコーチゾンがまさるが、炎症巣の被包化は「オ」が秀れており、この意味で「オ」はより安心して使用出来る薬剤であるといえよう。又、「オ」の炎症巣の浄化による消炎という作用機序はより合理的かも知れない。

マウスの異物性炎において、ヘパリン群及び「コ」群では、対照群に比べて、何れも線維形成がより良好である。

まず、ヘパリン群では、線維芽細胞及び膠原線維ともに対照群より多く、更に、8日目及び10日目に肥満細胞と異なった型のメタクロマデア陽性の細胞がみられることが特徴的である。

このメタクロマデア陽性細胞は、Higginbotham²⁷ のいう squasi-mastcell と考えられるが、このメタクロマデアが「ヒ」によって消失する点から、注入されたヘパリンではないことは明らかで、コンドロイチン硫酸又はヒアルロン酸等の酸性多糖類である。何れにせよ、このように酸性多糖類を豊富に有する細胞がかなり著明にみられることは、炎症巣の線維化を促進する因子の1つとなると考えられる。これらのことから、ヘパリン注射による線維形成の促進は、線維芽細胞の増殖が著明となるためであり、更に、その間に酸性多糖類を豊富に含む細胞が増加することも、線維形成の促進に1役を演じているものであろう。

又、ヘパリン群では、かなり強よい出血がみられたが、これはヘパリンが強力な抗血液凝固剤であり、又、著者の実験によると、ヘパリンは毛細血管の新生を促進する作用があり、この点から、ヘパリンの注射時には出血があるのであろう。

次に、「コ」群では、線維芽細胞の数は対照群とほぼ同様であるが、線維が豊富なことが特色である。

吉田³⁷ は抽出コラーゲンの再線維化実験から、「コ」の添加は線維を成熟型に近くすると述べている。

それであるから、「コ」投与により基質の形成が容易となり、その結果、コラーゲンの線維化が促進され、線維の豊富な肉芽組織が作られるのであろう。

ヒスタミン群では、4日目に、尚、細胞浸潤がかなり強よくみられ、対照群よりも線維化が劣っている。

これは、線維芽細胞が出現する時期である異物挿入後3日目から薬剤を投与したために、ヒスタミンによって炎症が再び惹起され、結果的に線維化がおくれたものと考えられる。

又、肥満細胞は一般に膠原線維の増殖のみられる部位の外側に存在しており、この傾向は、特に人の結核病巣、癩痕ケロイドにおいて著明である。A. Hansen^{22,31} は肥満細胞は結合組織の酸性多糖類を形成するとしているが、炎症巣では、基質の酸性多糖類を産生するのは線維芽細胞であるとする Branwood, Kennedy⁴¹ 等の説もある。著者は、この Branwood 等の説を支持し、肥満細胞は肉芽形成において、基質の形成というような積極的な役割を果しているのではなく、むしろ、肉芽形成に対して刺戟を与え、線維芽細胞の増殖や基質の分泌を促進していると考えたい。

以上、いろいろの材料を利用して、著者の方法の価値について検討したが、それ等の成績から、著者の方法は、かなりの応用価値を有するものであるといえる。

結 論

本篇では、第1篇で得られた知見を応用して、肺の結核性病巣、皮膚手術創癩痕、癩痕ケロイド及び実験的異物性炎等の結合組織の性状について、膠原線維を中心として検討すると共に、著者の検討方法の応用価値についても検討し、以下の結論を得た。

1) 肺結核の場合には、学研分類の非硬化性病巣は、病理組織学的にみると、主として繁殖性から増殖性炎の像を示し、硬化性病巣は増殖性から硬化性炎の像を示す。このような病巣の変化に伴って、被膜の膠原線維は幼弱型から成熟形へと変化する。

2) 硬化性病巣では、病巣被膜の内外側に規則正しい配列を示す成熟型膠原線維の層がみられ、これ等の中間には、類上皮細胞をとりまくようにして、これよりやや微細な膠原線維が不規則に配列している層が認められる。この関係から、乾酪性物質は計3層の膠原線維層により被包されているわけである。このうち、内側の膠原線維層は、寺松、山本等がメタクロマチア陽性層と称したもので、これが病巣の全周にわたって完成していることが、病巣の安定化にもっとも役立っているものと考えられる。

3) 内側膠原線維層の完成している病巣は、直径5mm大以上10mm大以下のものにもっとも多く、直径10mm大以上の病巣では極めて少ない。又、直径5mm大以下の極小病巣においては、病巣全体が器質化されつつあるような所見がみられるものが多い。

4) 一次的な治癒をみた手術創癒痕では、3週目に成熟型膠原線維の増加をみるが、以後は線維間物質の吸収、線維相互の結合の強化等によって、線維層の菲薄化がすすみ、ついには正常の皮下とほぼ同様の所見を示す。

5) 癒痕ケロイドにおいては、何らかの原因によって線維芽細胞が賦活され、膠原線維の増加もみられるが、酸性多糖類の増加が著明で、この過剰な酸性多糖類の存在が線維の層状化と緻密化を阻害し、癒痕ケロイドを難治なものとしていわれる。従って、ケロイドの治療に当っては、酸性多糖類を減少せしめる方法を考慮すべきものと考えられる。

6) 「グ」は炎症初期には軽い抗炎症作用を示し、つづいて線維形成促進作用を示す。これは、「グ」のホルチコイド代謝の抑制作用の結果、投薬初期には糖質ホルチコイドの作用がみられ、つづいて鉱質ホルチコイドの作用がみられることによるものである。この場合の線維形

成の促進は、線維芽細胞に働くことによってみられるものと考えられる。

7) コーチゾンは線維芽細胞のコラーゲン及び酸性多糖類の産生を抑制し、又、何らかの機序によって、線維の成熟化を妨げることによって線維形成抑制作用を示すものと思われる。

8) 「オ」は、まず、多核球等の浸出を促がし、これによって炎症部の浄化を促進することにより消炎作用を示すものと考えられる。又、線維芽細胞のコラーゲンの産生を抑制し、線維の形成量を減少せしめるが、線維の成熟化を阻害するものではないと思われる。

9) ヘパリン及び「コ」は、ともに線維形成に促進的に作用するが、ヘパリンは線維芽細胞の機能を刺戟することによって、線維形成を促進するのに対して、「コ」は基質にあって、コラーゲンが線維化し、成熟化するのを促進するものと思われる。

10) ヒスタミンは炎症を増強させ、結果的に線維形成をおくらせるものと考えられる。しかしながら、その線維形成に及ぼす直接作用については、尚、検討の余地がある。

11) これら各種の炎症では、肥満細胞は肉芽形成及び線維芽細胞に対して、何らかの刺戟作用を有しているものと思われる。

12) 以上の点から、炎症巣における結合組織の検討に当って、著者の方法はかなりの応用価値を持つものと考えられる。

全 篇 結 論

1) 第1篇及び第2篇の緒言でも述べたように、慢性増殖性炎や組織損傷等の場合には、膠原線維を中心とした結合組織が、組織の修復に重要な役割を果しているにもかかわらず、従来の組織学では、単に膠原線維を染め出すのみで、線維の性状その他については殆んど言及し得なかった。

著者は、従来行なわれている van Gieson の染色及び Mallory の染色について検討し、その染色機序をほぼ明らかにすることが出来た。即ち、van Gieson の染色は酸性溶液中での酸フクシンの吸着であり、Mallory の染色はコラ

ーゲン蛋白自体を染色するもので、これにはPTAが重要な役割を果している。

更に、それ等諸染色とともに、メタクロマヂア染色及びペプシン、「ヒ」の消化試験等を同時に行なうことにより、線維の基質の意義及び線維の強弱やその膠原線維の成熟の程度等も知り得ることを明らかにした。

2) これ等の知見を、まず、肺の結核病巣に適用することにより、病巣にみられる膠原線維の性状等から病巣の予後判定が可能であることを知った。又、皮膚手術創癒痕やケロイドについて検討することにより、特にケロイドでは、過剰な酸性多糖類がその完全な癒痕化を阻害していることを知った。

3) 更に、実験的異物性炎の肉芽組織についても検討し、これに影響を与えると考えられる数種の薬剤の作用機序についても若干の知見を得た。即ち、コーチゾンは抗炎症作用と線維の成熟化とを阻害する作用を有し、グリチルリチンは投与の初期にはコーチゾン様の作用を示し、ついで線維形成促進作用を示すものなること、及び、「オ」は線維の成熟化は阻害しないが、その形成量を低下せしめ、ヘパリン及びコンドロイチン硫酸は、その作用機序は多少異なるが、ともに線維形成を促進する作用を有することを知った。

4) 以上の点から、炎症巣における結合組織についての検討には、van Giesonの染色及びMalloryの染色、更に、必要に応じてメタクロマヂア染色、ペプシン消化試験及び「ヒ」消化試験を組合せて比較検討する著者の方法は、かなり有用であると考えられる。

参 考 文 献

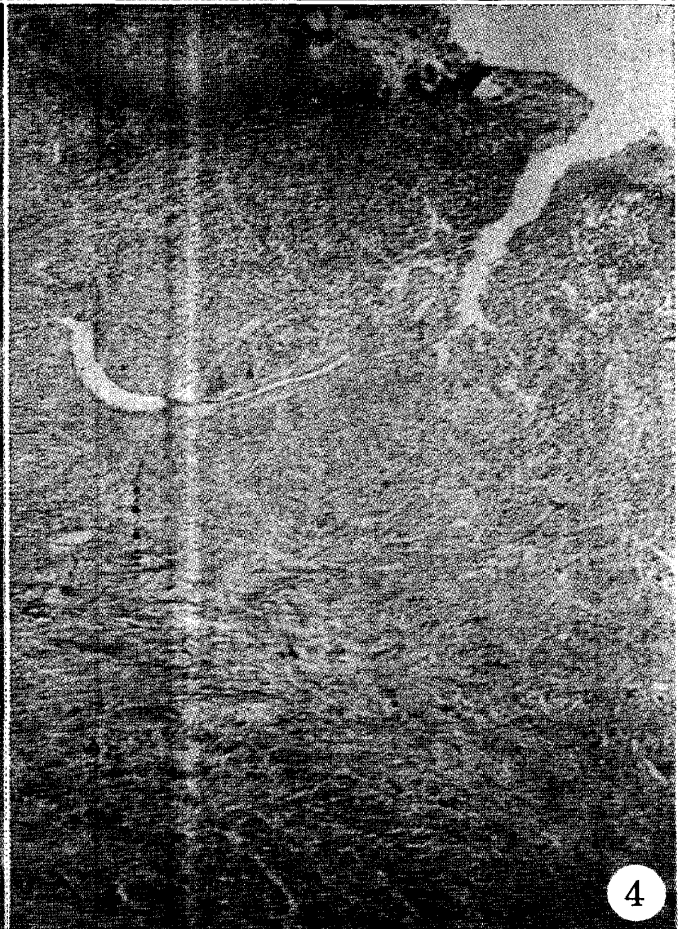
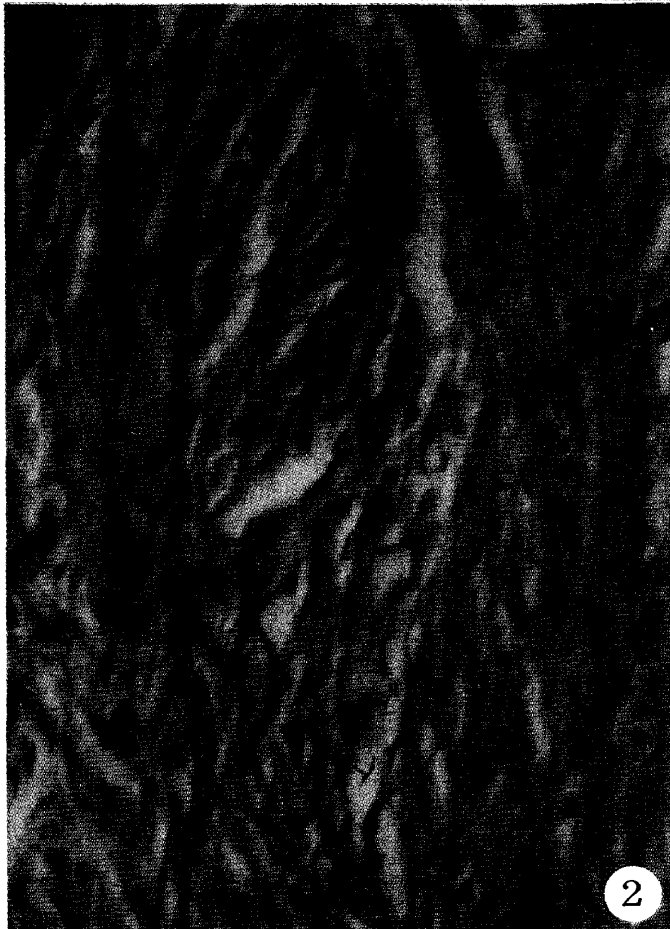
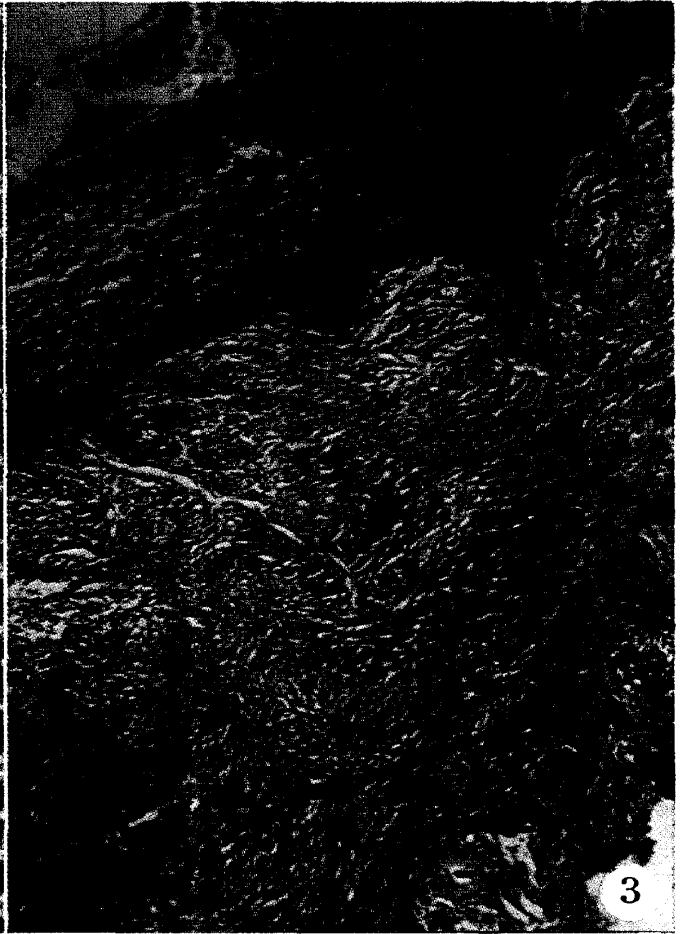
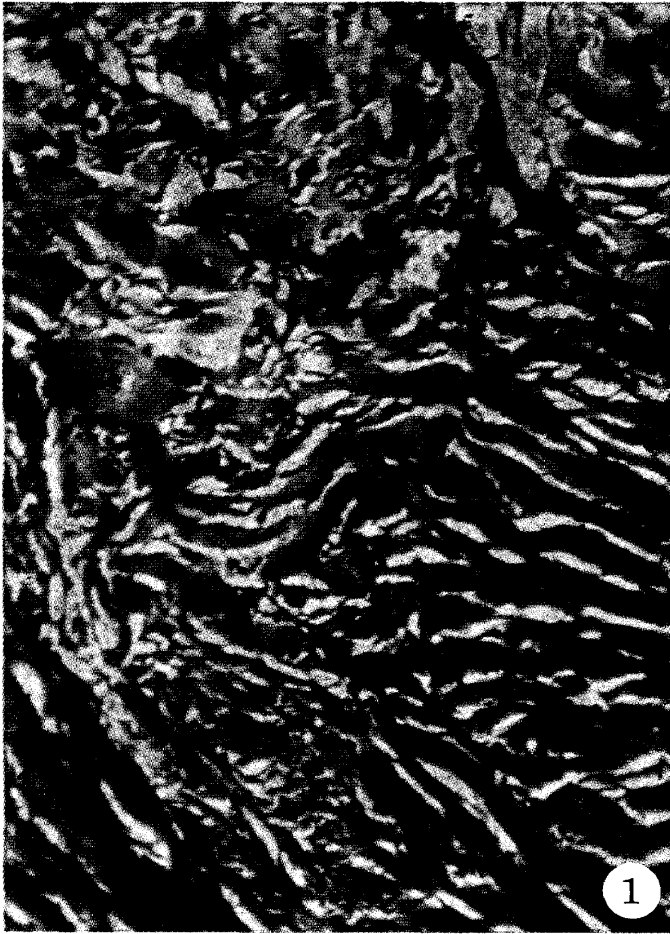
- 1) 青木幸平：京結紀要7：(3増刊2号)383(1959)
- 2) Asboe-Hansen, G.; *Connective Tissue, Health and Disease*, Ejnar-Manksgard Publisher, Copenhagen (1954)
- 3) Asboe-Hansen, G.; *The Hormonal Control of Connective Tissue*; in *International Review of Connective Tissue Research*, vol 1. Academic Press, New York (1963)
- 4) Branwood, A.W.; *The Fibroblast*; in

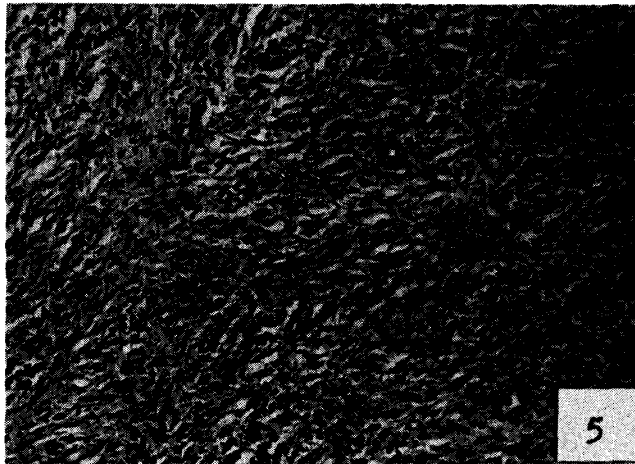
- International Review of Connective Tissue Research*, vol 1, Academic Press, New York (1963)
- 5) Delaunay, A. and Bazin, S.; *Mucopolysaccharide, Collagen and Non-fibrillar Protein in the Field of Inflammation*; in *International Review of Connective Tissue Research*, vol 2, Academic Press, New-York (1964)
- 6) Fenton, H. and West, G.B.; *Brit. J. Pharmacol*, 20: 507 (1963)
- 7) Higginbotham, R.D.; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 73: 186 (1958)
- 8) 堀部茂他；溶液コラーゲンの線維形成に関する位相差顕微鏡的観察，細胞化学シンポジウム第5巻(1957.4)
- 9) 梶川欽一郎：最新医学13：1042(1958)
- 10) 梶川欽一郎：十全会医学誌62：頁(1959)
- 11) 梶川欽一郎：最新医学17：1047(1962)
- 12) 梶川欽一郎：最新医学19：3105(1963)
- 13) 熊谷朗，矢野三郎：日本臨床15：1318(1957)
- 14) Lowther, D.A. : *Chemical Aspects of Collagen Fibrillogenesis*; in *International Review of Connective Tissue Reserch*, vol 1, Academic Press, New York (1963)
- 15) Miller, J.M. et al.; *Antibiotic, Chincial Therapy* 7: 109 (1960)
- 16) 長井靖：代謝 1：488(1964)
- 17) 永井純太：京結紀要7：(No3 増刊1号) 69 (1959)
- 18) 西原富雄，宮田輝夫：不溶性コラーゲン線維の構造 コラーゲン研究会第2回シンポジウム予稿集(1959)
- 19) 野田春彦：蛋白質化学第4巻，共立出版，東京(1956)
- 20) Orekhovitch, V.N. & Shpikiter, V. O.; *Science* 127: 1317 (1958)
- 21) Puchtler, H. & Islor, H.; *J. Histochem, Cytochem.* 6: (1958)
- 22) Ragan, C.; *Connective Tissue. 3rd Transaction*, Josiah May. Jr. Foundation, New York (1952)
- 23) Riley, J.F.; *The Mast Cells*. E & S Livingstone LTD. London (1959)
- 24) Riley, J.F.: *N.Y. Acad. Sci.* 103: (1963)

- 25) Schayer, R.W.; Ann, N.Y. Acad. Sci. 103 : (1963)
- 26) 関 正次：組織検査と物化学, 杏林書院, 東京 (1951)
- 27) 寺松孝他：肺3 : 207(1956)
- 28) 寺松孝他：肺 5 : 44(1958)
- 29) 寺松孝他：医学通信13 : 2 (1958)
- 30) 寺松孝：第37回日本結核病学会総会 特別講演 (1962)
- 31) 鶴藤丞, 尾形譲：不溶性コラーゲンの生成機序
コラーゲン研究会第11回シンポジウム 予稿集 (1964)
- 32) 鶴藤丞, 石橋貞彦：医学のあゆみ52 : 145(1965)
- 33) 山崎昇他：京結紀要8 : 152(1960)
- 34) 山崎昇他：第21回日本結核病学会近畿地方学会 (1960)
- 35) 山崎昇他：第25回日本結核病学会近畿地方学会 (1962)
- 36) 山本利雄：日胸外 4 : 445(1955)
- 37) 吉田要：京結紀要10 : 12(1961)

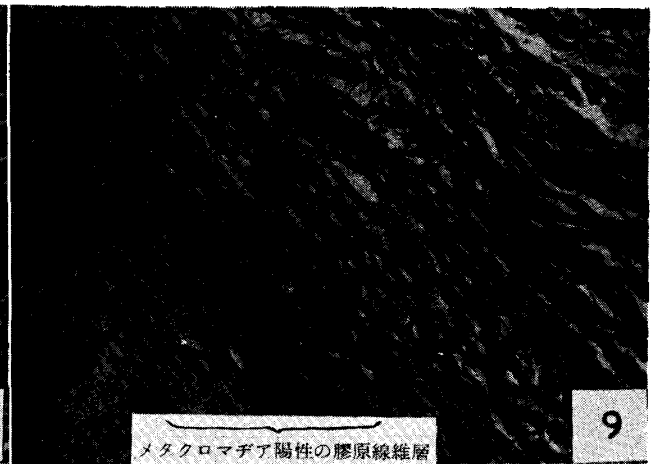
写 真 説 明

- 写真1 肺結核，硬化性病巣被膜（成熟型膠原線維）Mallory の染色，400×
- 写真2 肺結核，硬化性病巣被膜（成熟型膠原線維）van Gieson の染色，400×
- 写真3 肺結核，硬化性空洞壁（内側は幼弱型，外側は成熟型膠原線維）Mallory の染色，100×
- 写真4 肺結核，硬化性空洞壁（内側は幼弱型，外側は成熟型膠原線維）van Gieson の染色，100×
- 写真5 肺結核，非硬化性病巣の幼弱型膠原線維，van Gieson の染色，100×
- 写真6 写真5 と同一部分，ペプシン10分間作用後，van Gieson の染色，100×
- 写真7 肺結核，硬化性病巣の成熟型膠原線維，van Gieson の染色，100×
- 写真8 写真7 と同一部分，ペプシン10分間作用後，van Gieson の染色，100×
- 写真9 肺結核，硬化性病巣，メタクロマジア染色，100×
- 写真10 肺結核，硬化性病巣，「ヒ」作用3時間後，メタクロマジア染色，100×
- 写真11 肺結核，非硬化性病巣，ヘマトキシリン・エオジン染色，100×
- 写真12 肺結核，非硬化性病巣，写真11より限局化のややすすんだもの，van Gieson の染色，100×
- 写真13 肺結核，硬化性病巣，膠原線維の3層構造のほぼ完成したもの，van Gieson の染色，100×
- 写真14 肺結核，硬化性空洞壁，van Gieson の染色100×
- 写真15 肺結核，極小病巣，病巣内に細胞及び線維が進入しており，3層の線維構造は認められない，van Gieson の染色，100×
- 写真16 癆痕ケロイド，van Gieson の染色，100×
- 写真17 癆痕ケロイド，ケロイドの線維増殖部分にはメタクロマジアが強陽性である，メタクロマジア染色，100×
- 写真18 家兎実験的異物性炎，5日目，van Gieson の染色，100×
- 写真19 家兎実験的異物性炎，2週目，van Gieson の染色，100×
- 写真20 家兎実験的異物性炎，4週目，van Gieson の染色，100×
- 写真21 家兎実験的異物性炎，「グ」群，2週目，van Gieson の染色，100×
- 写真22 家兎実験的異物性炎，「グ」群，4週目，van Gieson の染色，100×
- 写真23 家兎実験的異物性炎，コーチゾン群，3日目，ヘマトキシリン・エオジン染色，400×
- 写真24 家兎実験的異物性炎，「オ」群，3日目，ヘマトキシリン・エオジン染色，100×
- 写真25 家兎実験的異物性炎，「オ」群，4週目，van Gieson の染色，100×
- 写真26 マウス実験的異物性炎，ヘパリン群，8日目，メタクロマジア染色，400×





5



9

メタクロマチア陽性の膠原線維層

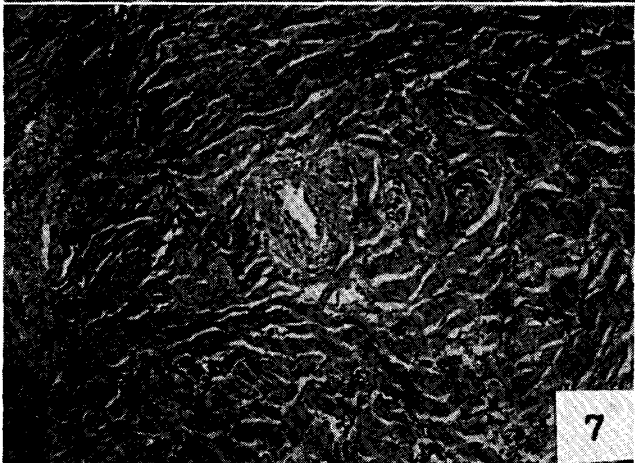


6

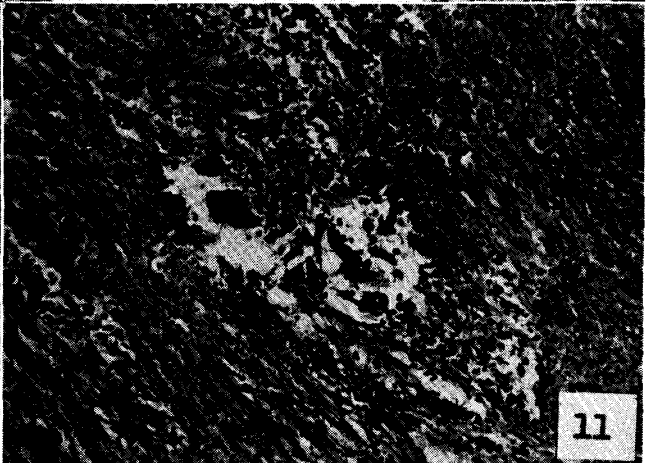


10

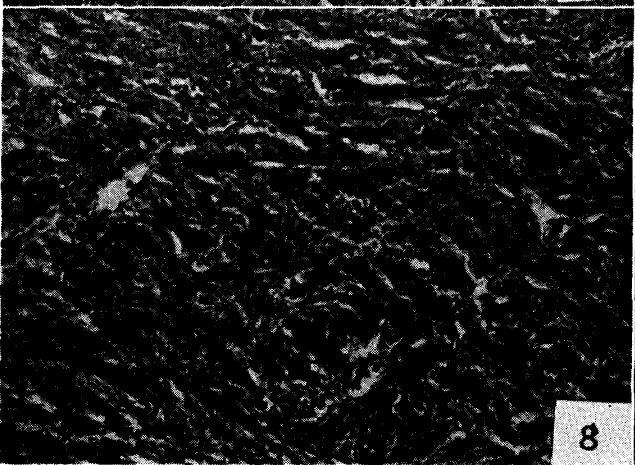
メタクロマチア陰性となつた膠原線維層



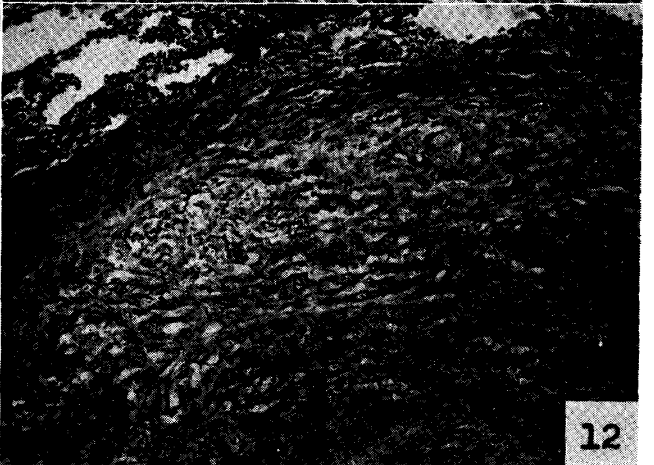
7



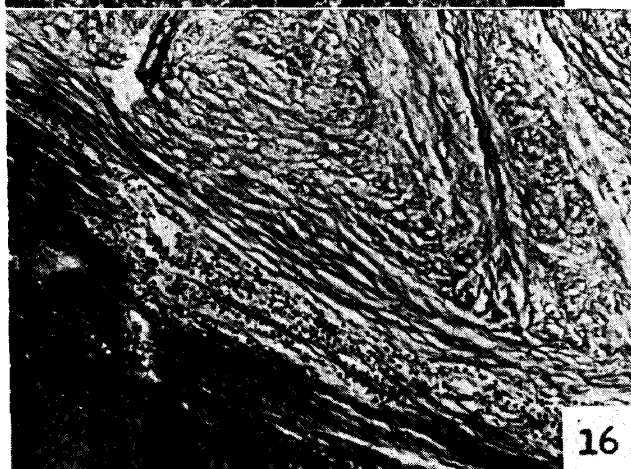
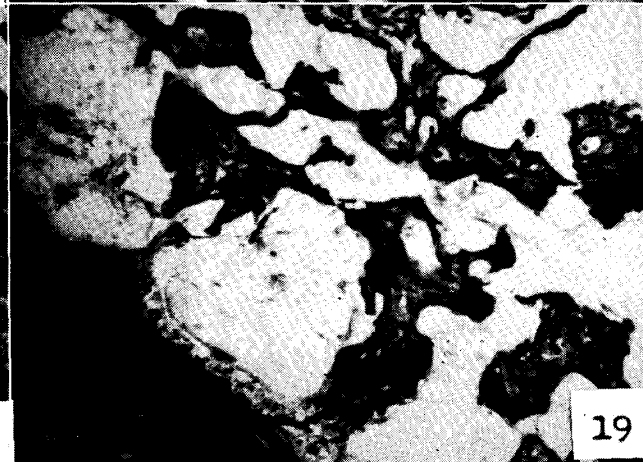
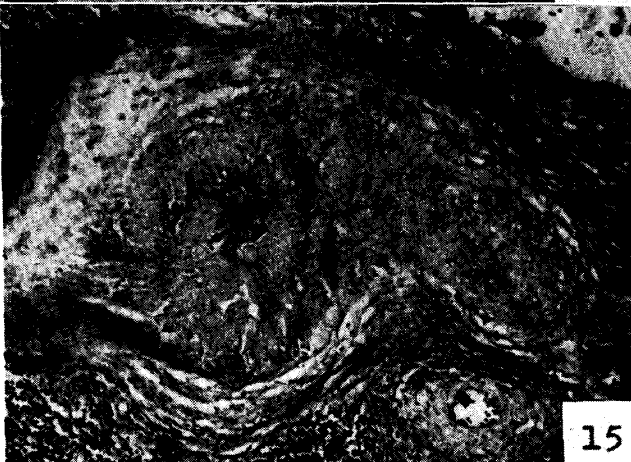
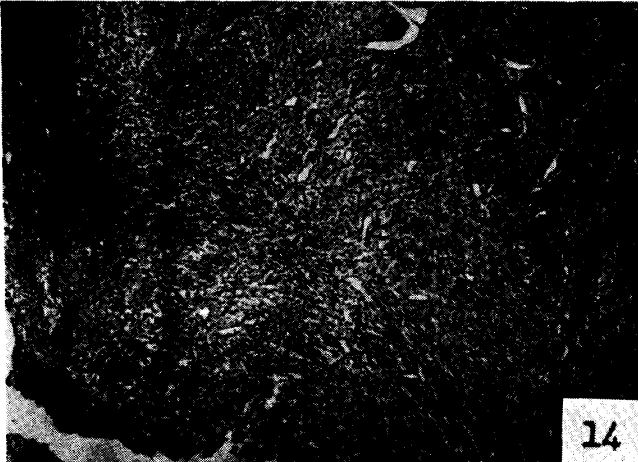
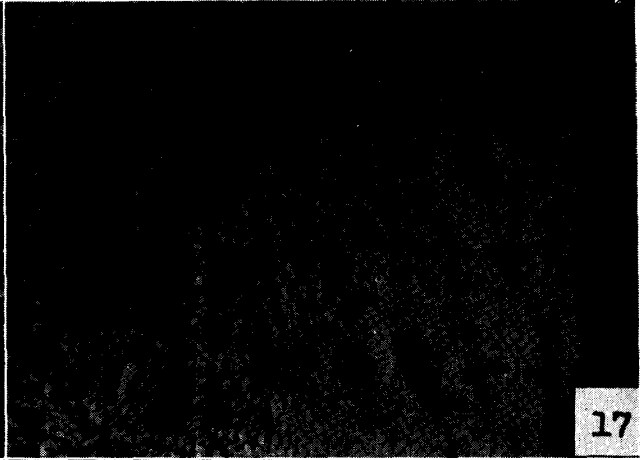
11

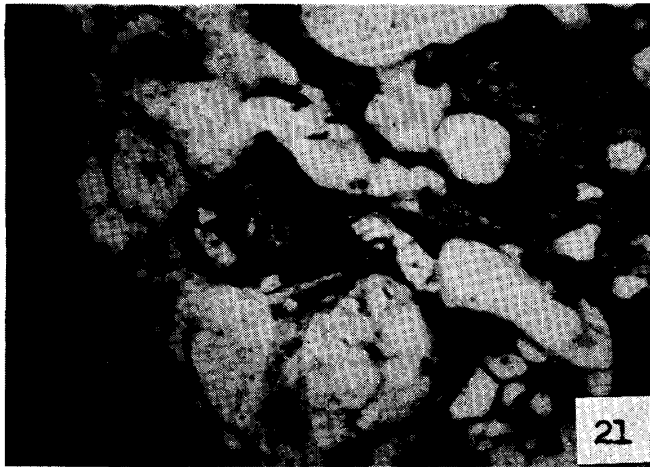


8

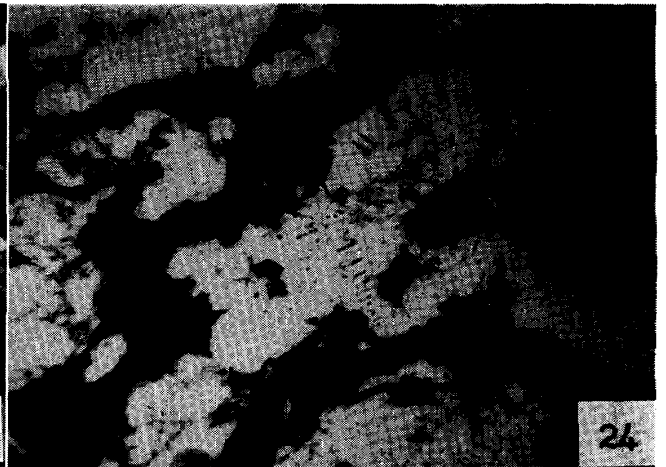


12

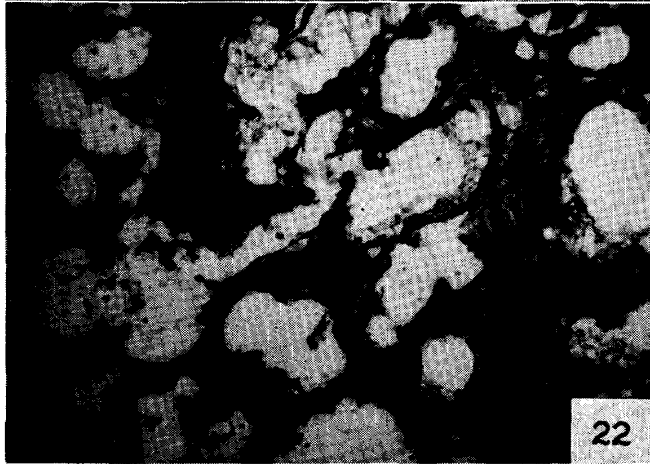




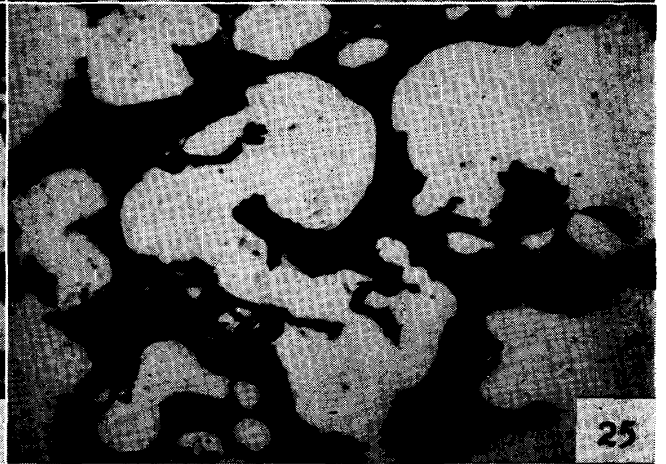
21



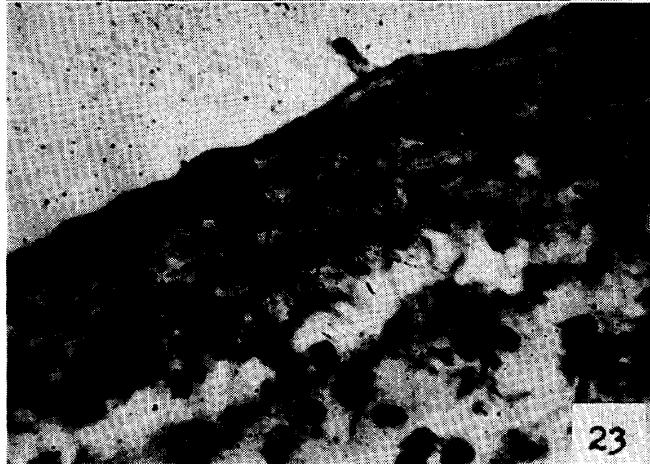
24



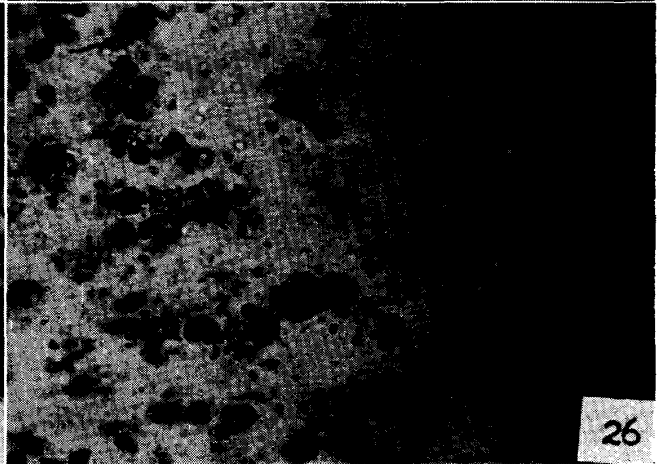
22



25



23



26