

エチオニン投与時の白鼠精細管の組織学的 並びに組織化学的研究

(特に多核性巨細胞の発生起源について)

京都大学医学部泌尿器科教室 (主任 稲田 務教授)
大学院学生 広 川 栄 助

HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDIES ON THE SEMINAL TUBULUS OF RAT TREATED WITH ETHIONINE

With a Special Reference to the Origine of Multinucleated Giant Cells

Eisuke HIROKAWA

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director : Prof. T. Inada, M. D.)*

Ethionine, being a biological antagonist of methionine, was given to rats intraperitoneally for a period of 4 weeks and histological and histochemical examinations of the seminal tubuli were performed. The results obtained are summerized as follows.

1) On the basis that daily administration of ethionine produced marked degeneration of the seminal tubuli, it was found that methionine, one of the indispensable aminoacids, is absolutely necessary for spermatogenesis.

2) Among various stages of germinal cells, spermatozoas were found to have the highest sensitivity to ethionine.

3) A marked decrease in activity of succinic dehydrogenase was found to precede the degeneration of spermatozoas.

4) Strong activities of succinic dehydrogenase and adenosine triphosphatase were demonstrated in matured spermatogenic cells.

5) Strong activities of DPN diaphorase and lactic dehydrogenase were found in immature germinal cells.

6) A conclusion was drawn that multinucleated giant cell is derived from either spermatogonia or spermatocyte, since the cell has weak activity of succinic dehydrogenase but has strong activities of DPN diaphorase and lactic dehydrogenase as well as positive glycogen reaction.

目 次

緒 言	
第 I 章 実験材料・方法	
I 実験材料	
1. 実験動物	
2. 飼 料	

II 実験方法

1. 体重測定	
2. エチオニン投与方法	
3. 対 照 群	
4. 組織学的及び組織化学的検索法	
第 II 章 実験成績	

I 体重への影響

II 組織学的並びに組織化学的所見

1. ヘマトキシリン エオジン染色
2. PAS
3. Alkaline phosphatase
4. Adenosine triphosphatase
5. Succinic dehydrogenase
6. DPN diaphorase
7. Lactic dehydrogenase

第三章 考按並びに総括

I 睪丸障害に関する文献的考察

II エチオニンに関する考察

III 睪丸に関する2,3の組織化学的考察

IV 巨細胞の発生起源についての考察

第四章 結 語

緒 言

睪丸の機能は造精，内分泌作用の2作用であるが，就中造精機能に関する分裂分化の過程は他臓器に比して迅速に行われる。X線照射，ビタミン欠乏，不良栄養，抗癌剤，物理的障害，諸種ホルモン，化学薬品その他に鋭敏に反応する事が報告され，その際の睪丸障害は質的乃至量的にも種々な像を示現する。

1888年 Sanfelice¹⁾ が睪丸障害時に多核性巨細胞が出現する事を記載して以来幾多の報告があるが，その発生起源については定説がない。著者は必須アミノ酸であるメチオニンの生物学的拮抗物質のエチオニンを白鼠腹腔内に連続投与した場合の睪丸の造精現象Spermatogenesisに及ぼす影響を組織学的並びに組織化学的に観察し，特に多核性巨細胞の発生起源に対して些が興味ある所見を得たのでここに報告する。

第I章 実験材料・方法

I 実験材料

1. 実験動物：Wistar系ラット Wistar系ラットは生後5～6週頃より睪丸の肥大，発育が開始し生後50～60日で精子形成現象がみられ，睪丸重量自体については10～30週で成熟の域に達するがLeydig細胞のandrogen activity 即ち副性器の発育肥大は充分でなく，20週に至つてようやく頂点に達する。実験には20週以上のもので体重240～260gのものを使用した。

2. 飼料：固形飼料（実験動物中央研究所より購入

表 1

〔成分〕

粗蛋白質	25.5%	V. A	12,000 IU/kg
粗脂肪	4.0	V. D	2,400 IU/kg
粗繊維	4.0	V. E	20mg/kg
粗灰分	7.0	V. B ₁	7mg/kg
Ca	1.7	V. B ₂	10mg/kg
P	1.2	V. B ₆	4mg/kg
K	0.5	ナイアシン	80mg/kg
Na	0.3	パントテン酸	30mg/kg
		葉酸	0.2mg/kg
		コリン	1,400mg/kg

したもの。）その成分を表1に示す。

II 実験方法

1. 体重測定：1週2回記録

2. エチオニン投与方法

A群：D.L.エチオニンを25mg/mlの割合で無菌的に温湯に溶解し，そのmlすなわちエチオニン50mg/100g体重を1日1回2週間，ひきつづきml25mg/100g体重をその後2週間，通計4週間ラット腹腔内に連日注射（20匹）

3. 対照群

B群：注射用蒸留水をラット腹腔内に最初の2週間は2cc/100g体重，その後2週間は1cc/100g体重注射。

C群：B群と同じ要領で蒸留水を腹腔内に注射し飼料の絶対量を適時増減し可及的にA群の体重増減にあわせた。

4. 組織学的及び組織化学的検索法

実験開始1週間，2週間，3週間，4週間，6週間後に断頭にて殺し，直ちに睪丸を剔出し，その一部をホルマリン固定，アルコール固定，アセトン固定し，パラフィン切片を作製し，他の一部を-18°C～-20°CのCryostat内にて10～15μの新鮮未固定凍結切片を作製した。その各切片に次の染色を行つた。

(i) ヘマトキシリン・エオジン染色。

(ii) PAS染色 (Mc Manus²⁾ 1948)。

1) アルコール固定後，パラフィン切片作製。

2) 脱パラフィン，次いで水洗後，切片を0.5%過沃素カリ水溶液中に10分間浸漬し，水洗15分間の後，Schiff試薬中に30分間浸漬。

3) 重亜硫酸水を3回換えて計5分間浸漬。

4) 流水で10分間洗い、ヘマトキシリンで後染色。

5) 脱水、透徹、封入。

PAS 陽性物質は赤紫色に染まる。

消化試験：切片貼布スライドの上に汙過唾液を滴下し、1時間放置後水洗し上記の染色を行い PAS 陽性物質のうち消化試験で PAS 陰性となつた物質をグリコーゲンと認める。

(iii) Alkaline phosphatase (ALP) (Burstone⁹⁾, 1958)

incubating mixture :

Naphthol AS-MX phosphate	10mg
Fast Blue B Salt	20mg
M/5 硼酸苛性ソーダ緩衝液 (pH 9.2)	20ml

方法 :

1) 新鮮凍結切片を10%中性ホルマリンで5分間固定する。

2) 水洗後, incubating mixture 内に室温で20分間浸漬する。

3) 水洗後, グリセリン封入する。

赤紫色の部分で酵素活性とみなす

(iv) Adenosine triphosphatase (ATPase),

(Wachstein et al.⁴⁾, 1957)

incubating mixture :

125mg per cent ATP 2Na	20ml
0.2M-Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.2)	20ml
2 per cent Pb (NO ₃) ₂	3ml
0.1M-MgSO ₄	5ml
蒸溜水	2ml

方法 :

1) 新鮮未固定凍結切片を1%の塩化カルシウムを含有した6%の中性ホルマリンで5分間固定する。

2) 水洗後 mixture 内に 37°C で30分間漬する。浸

3) 水洗後1%黄色硫化アンモン水にて約1分間処理し、その後水洗。

4) 脱水、透徹及びバルサム封入。

黄褐色の着色がATP ase の活性を示す。

(v) Succinic dehydrogenase (S. D.)

a) Nachlas et al.⁵⁾, (1957)

incubating mixture :

0.2M Sod. Succinate	5ml
0.2M phosphate buff (pH 7.6)	5ml
Nitro-BT	10mg
蒸溜水	10mg

方法 :

1) 新鮮切片貼布スライドを未固定のまま incubating mixture 内に 37°C で20分間浸漬。

2) 水洗後, 10%中性ホルマリンで2~3時間固定す

る。

3) 水洗, 脱水, 透徹及びバルサム封入。

b) 水谷, 引間法⁶⁾ (1961)

incubating mixture :

0.1% Nitro-BT	1ml
0.1% phosphate buffer (pH 7.4)	1ml
0.2M Sod. Succinate	1ml
0.1 Phenzine methosulfate	0.1~0.05ml

方法 :

1) アセトン固定パラフィン切片貼布スライドの上に incubating mixture を30分間 37°C の所で浸漬。

2) 水洗後, 脱パラフィン, 透徹及びバルサム封入。

結果：青色の diformazan が S. D. 活性のあるところに沈着する。

(vi) Diphosphopyridine nucleotide (DPN) diaphorase 水谷・引間法⁶⁾ (1961)

incubating mixture :

0.1% Nitro-BT	0.5ml
0.1M phosphate buffer (pH 7.2~7.4)	0.5ml
蒸溜水	0.5ml
DPNH	5mg

方法 :

1) アセトン固定, パラフィン切片貼布スライドの上に incubating mixture を30分間, 室温で浸漬。

2) 水洗後, 脱パラフィン, 透徹及びバルサム封入。

結果：青色の diformazan が DPN diaphorase の活性のあるところに沈着する。

(vii) Lactic dehydrogenase (L. D.)

a) Nachlas et al.⁷⁾ (1958)

incubating mixture :

0.5M Sod. Lactate	4ml
0.1M Veronal acetate buffer (pH 7.4)	13ml
Nitro-BT	5mg
DPN	2.5mg
蒸溜水	3ml

方法 :

1) 新鮮切片貼布スライドを未固定のまま incubating mixture 内に室温で20分間浸漬する。

2) 水洗後, 10%中性ホルマリンで2~3時間固定。

3) 水洗, 脱水及び透徹を経てバルサム封入。

b) 水谷・引間法⁶⁾ (1961)

incubating mixture :

0.1% Nitron-BT	0.5ml
0.1M phosphate buffer (pH 7.0~7.2)	0.5ml
0.3M Sod. Lactate	0.5ml

DPN 5mg

方法:

1) アセトン固定, パラフィン切片貼布スライドの上に incubating mixture を30分間, 室温で浸漬.

2) 水洗後, 脱パラフィン, 透徹及びバルサム封入.

結果: 青色の diformazan が S. D. 活性のあるところに沈着する.

第II章 実験成績

I 体重への影響

エチオン投与群 (A), 対照群 (B, C) の実験日数と体重の推移は Fig. 1 の如くである. A 群は実験開始後15~17日頃迄進行性の体重減少を来し, その後次第に体重増加が起り, 実験開始6週後にもとの体重迄回復をみるが, その時には対照群 (B) は約50%の体重増加があつた.

II 組織学的並びに組織化学的所見

(1) ヘマトキシリン・エオジン染色

a) 実験開始1週後

A 群: 殆どどの精細管は正常である. 2~3の精細管内の成熟精子の数の減少, 変性が特徴的であつて, 時として極く少数の精子細胞の変性を認める事がある. その他の精細胞, Sertoli 細胞には異常を認めない (第1図)

B 群, C 群: 共に異常を認めない.

b) 実験開始2週後

A 群: はば正常な精細管が2,3存在するが大多数の精細管より精子は消失し, 精子細胞の変性が特徴的で極く一部の精細管の中央に多核を思わせる細胞が出現する (第2図)

B 群, C 群: 共に異常を認めない.

c) 実験開始3週後

A 群: この時期になると全ての精細管がおかされ精母細胞, 精娘細胞の数の減少, 変性, 核の崩壊, 溶解がみられ, 時として精祖細胞の極く一部にも認められる. 又半数の精細管に多核性巨細胞が出現し, その核は精子細胞, 精娘細胞, 精母細胞のそれに似たものが混在している (第3図)

B 群, C 群: 共に異常なし.

d) 実験開始4週後

A 群: 精細管の狭小化が認められ精細管には極く少数の精母細胞, 精娘細胞, 精子細胞が存在するが, 殆どが精祖細胞, Sertoli 氏細胞, 多核性巨細胞で占められている. 巨細胞には核が2個のもの, 4個のもの, それより多数のもの, 色々の大きさのものがあ

り, この時期には3週後のものに比して核の多い巨細胞が多く存在していて, 細胞も大きなものがある.

細胞内の核の配列はラングハンス様のもの, 異物巨細胞様のものがみられる (第4図)

B 群: 異常認めない.

C 群: 2~3の精細管に於いて, 精子の数の減少が認められる以外に著変はない.

e) 実験開始6週後

A 群: 精細管は狭少となり, 精細胞は欠如し Sertoli 細胞のみが存在する. 基底膜はやや肥厚している (第5図)

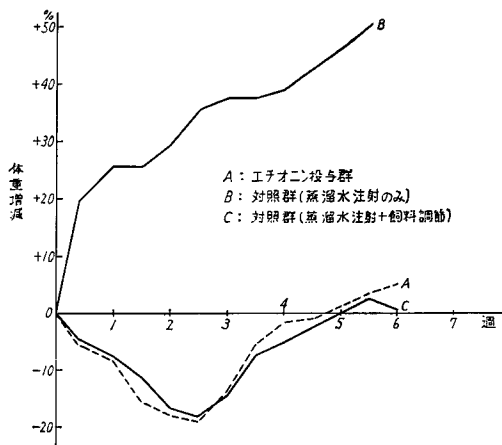


Fig. 1. 体重変動

B 群: 異常を認めない.

C 群: 4週の時のものと同一所見.

2) PAS 染色

a) 実験開始1週後のものはA 群, B 群, C 群の間には著変がなく, PAS 陽性物質は Sertoli 細胞, 精祖細胞に中等度に認められ, 精母細胞は弱陽性で, 精娘細胞, 精子細胞, 精子は陰性で, 唾液試験にて PAS 陽性物質はほぼ陰性化する. これはグリコーゲンの存在を示すものである.

b) 実験開始2週後

PAS 陽性物質の局在は1週後のものと, 殆ど変りはない.

c) 実験開始3週後

A 群: Sertoli 細胞, 正常な精祖細胞には PAS 陽性物質が存在するが, 一部変性を来した精祖細胞に PAS 弱陽性乃至陰性化するものを認める. 核が2~4個の幼弱な巨細胞には PAS 陽性物質を認めるが一部の成熟した多核の巨細胞のそれは弱陽性で, いずれも唾液試験でグリコーゲンである事が解つた (第6図).

B 群, C 群: 共に著変なし.

d) 実験開始4週後

A群：精細管に存在する細胞の殆んどが PAS 陽性の靱を与える。多核性巨細胞の内では核のより少い幼稚型のものの方が、成熟型のものよりグリコーゲンが多い。

B群、C群：著変を認めない。

e) 実験開始 6 週後

A群：精細管に PAS 陽性細胞は Sertoli 細胞のみとなり、基底膜にも弱陽性物質が認められる。

B群、C群：共に著変を認めない。

3) Alkaline phosphatase

a) 実験開始 1 週後

A群：精細管基底膜にのみ酵素活性が陽性に認められ、精細胞は陰性（第13図）

B群、C群：共にA群とほぼ同所見。

b) 実験開始 2 週後

A群、B群、C群共に 1 週後のものと同所見（第14図）

c) 実験開始3～4週後

A群：精細管基底膜の酵素活性は 1 週後、2 週後のものと殆んど変化がないように思われる。一部酵素活性が低下したものと上昇しているものが観察された。この時期に出現しはじめる多核性巨細胞の活性は陰性（第15図）

B群、C群：著変なし。

4) Adenosine triphosphatase

a) 実験開始 1 週後

A群：正常な精子に於ける酵素活性は強い。次いで精子細胞が強く未熟精細胞になるに従って活性が弱くなるが、基底膜は強陽性。変性の現れている精子は正常のそれに比して活性が低下している。Sertoli 細胞は活性が弱陽性乃至は陰性である（第 8 図）

B群、C群：精細管の基底膜は活性が強く、精細胞の内では精祖細胞、精母細胞、精子細胞と成熟するに従って活性が強くなっている。

b) 実験開始 2 週後

A群：精細胞内の酵素活性は 1 週後に比べて低下を認める。特に変性した精子、精子細胞に於いて著明である（第 9 図）

B群、C群：著変がない。

c) 実験開始 3 週後

A群：この時期になると、ヘマトキシリン、エオジン染色で多核性の巨細胞を精細管内に多数認めるが、その細胞に於ける ATP ase の活性は細胞膜にのみ弱陽性で細胞質は陰性である。変性した精母細胞、精祖細胞は活性が著しく低下している（第10図）

B群、C群：著変を認めず

d) 実験開始 4 週後

A群：精細管内に種々の大きさの多核性巨細胞が認められ、その細胞膜の酵素活性は弱陽性で、一部陰性のものもある。精細管の基底膜にも未だ弱陽性の活性を呈する（第11図）

B群、C群：著変を認めない。

e) 実験開始 6 週後

A群：精細管の基底膜にのみ弱陽性の活性を呈する（第12図）

B群：著変なし。

C群：約半数の精細管中の精子に於いて ATP ase の活性低下を示した。

5) Succinic dehydrogenase

a) 実験開始 1 週後

A群：精細管の基底膜に酵素活性は陽性を呈し、精細胞では成熟した細胞程活性が強い。

即ち精母細胞、精娘細胞、精子細胞の順に活性が強くなっている。しかし一部変性しつつある精子の酵素活性は著明に低下しているのは注目に価する（第17図）

B群、C群：著変は認められなかった。

b) 実験開始 2 週後

A群：変性した精子細胞、精母細胞の酵素活性は低下しているが、一部の正常な成熟細胞の酵素活性は未だ保存されている（第18図）

B群：著変なし。

C群：一部の精細管の精子に活性が著明に低下したものがあつた。

c) 実験開始 3 週～4 週後

A群：多核性巨細胞に活性が弱陽性ながら認められるが、核は陰性、変性した精母細胞、精祖細胞の酵素活性は弱陽性乃至陰性であつた（第19図、第20図）

B群、C群：2週後のものと同じ。

d) 実験開始 6 週後

A群：精細管基底膜に弱陽性乃至は陰性を示すのみ。その他の全ての精細胞は陰性。

B群、C群：異常を認めない。

6) DPN diaphorase

a) 実験開始 1 週後

A群：精細管基底膜及び精細胞の内では、未熟細胞に強い活性が認められた。精子にも弱い活性があつた（第22図、第23図）

B群、C群：A群の所見と同じ。

b) 実験開始2～3週後

A群：精細胞は 1 週後に比して全体的に酵素活性の低下が認められ、多核性巨細胞は核は陰性であるが、その細胞膜、細胞質は強陽性の活性を示した（第24図）

B群、C群：著変なし。

c) 実験開始4週後

A群: 精祖細胞の一部に強陽性の酵素活性を呈するものがあるが、大部分のそれは弱陽性の活性で、多核性巨細胞は未だ強い活性を示し、核の多い巨細胞程活性が強い。

B群, C群: 著変なし。

d) 実験開始6週後

A群: 精細管中には Sertoli 細胞のみが遺残して、弱陽性の酵素活性を示し、基底膜も弱陽性乃至陰性の活性を呈する(第26図)。

B群, C群: 著変なし。

7) Lactic dehydrogenase

DPN diaphorase とほぼ同じ所見を得た(第25図)ので省略する。

第三章 考按並びに総括

I 睾丸障害に関する文献の考察

睾丸が障害される時、その精細胞は退行性変化を来し、その障害の程度によつて精細胞の一部又は全部が一般細胞の病的変化に際してみられる様な核の破壊、変性、原形質の空胞、粘液、脂肪変性等におちいるが或は精細管基底膜より脱落して壊死に陥り、更に液化して遂に形を失い、又は貪食作用により搬出清掃せられ、或は線維状に変性した精細管壁と共に網状又は無定形となつた細胞物質残滓のみをみる事があ

る。睾丸障害時の精細胞の感受性については文献上幾多の記述をみる。X線による睾丸障害の実験は1903年 Albers-Schoenberg⁸⁾ により既に行われ、X線を連日照射すると雄家兎、モルモットは無精子症 Azoospermia を来し授精能力を失うと記載し、Bergonie Tribondeau⁹⁾

(1904) は白鼠睾丸のX線照射で、最初細胞分裂干渉が起り次いで、精祖細胞、精母細胞、精娘細胞の順に変性し最後に精子が消失し結局、Sertoli 細胞が遺残するところから細胞、組織の放射性感受性は「reproductive capacity に比例、分化の程度に逆比例する。」という法則を確立した。Villemin¹⁰⁾ (1906) はモルモットの精細管上皮細胞が破壊されても間質細胞が健全なかぎり性交能力は保有され外科的去勢とX線去勢とが異なる根拠となつていと言つた。Hu¹¹⁾ (1941) は家兎睾丸に126r 3日間隔、6回照射により初回照射後30日で精細管に的一

な変化が起り、造精現象 Spermatogenesis の消失、Sertoli 細胞の遺残、間質肥厚、授精能力の消失等の激しい変化を来したにもかかわらず、実験動物にはなお性交能力があつたと述べている。その他 Heller¹²⁾, Bloom¹³⁾, Wattenwyl¹⁴⁾, 山本¹⁵⁾等のX線、各種放射性物質による精細胞の感受性、障害恢復過程の実験と枚举にいとまがないが、現在のところ、精細胞の感受性については精祖細胞が最も強く、精母細胞、精娘細胞がこれに次ぎ、精子が最も抵抗が強いとされている。

不良栄養については Paul¹⁶⁾ (1906), Hewer¹⁷⁾ (1914), Hatai¹⁸⁾ (1955), Siperstein¹⁹⁾ (1921), ビタミン欠乏については Funk and Douglas²⁰⁾ (1914), Mc-Carrison²¹⁾ (1919, 1920), Allen²²⁾ (1919), Dutcher and Wilkins²³⁾ (1921), Meyerstein²⁴⁾ (1922), Eckstine²⁵⁾ (1923), Alwin et al.²⁶⁾ (1944), 蛋白質欠乏については Reynold and Macomber²⁷⁾ (1921), 飢餓については林²⁹⁾ (1924)等の実験があり、Mason²⁸⁾ (1926) は人工制限飼料にて精細胞を組織学的に検索し、精細胞の中で精子が最も早く変性し、変性が進行性の時には一過性に巨細胞が出現し、やがて精細管には Sertoli 細胞が遺残し、それも消失して結合組織によつて置きかえられると言う。

抗癌剤については、Landing³⁰⁾ (1949) の Nitrogen mustards, 中村³¹⁾ (1954) の Nitro-min, 伊藤³²⁾ (1959) の Sarkomycin-INAH, Carzinophilin. Mitomycin-C の報告があり、精母細胞が最も感受性が強く、それを中心として精祖細胞、精娘細胞に強い障害が現われ、次第に進行して、精子発育の減退を来すと述べている。

ホルモン製剤の作用については、Laqueur³³⁾, Moore-Price³⁴⁾, Heckel³⁵⁾ が女性ホルモンによつて睾丸の縮小、殊に精細管、精細胞に著しい変性を招来すると言ひ、Korenchevsky et al.³⁶⁾, Bottomyl et al.³⁷⁾, Moore et al.³⁸⁾, Heckel³⁹⁾ 等が男性ホルモンの投与によつて睾丸重量の減少、精子形成障害、精細管萎縮等の変性を述べているが、かかる性ホルモン投与時の精細管の変化は男、女性ホルモン何れの投与によつてもほぼ同様の睾丸組織変化がみられ、

而も精細胞が甚だ鋭敏に反応する点から性ホルモン投与の影響は, Moore et al.³⁸⁾ が言う様な下垂体前葉の向性腺ホルモンの分泌の抑制のためのみでなく, 性ホルモン自体の化学的毒物的直接障害作用によるとするものもある (Boeminghaus et al.³⁰⁾).

Simpson⁴⁰⁾ (1942) は pitressin を15日間注射し, 睾丸重量, 体重, 精子の減少, 異常精子の出現, 精母細胞の単層配列等の所見を得ている.

Selye⁴¹⁾ 等は DOCA 投与により幼弱白鼠睾丸に於いて精子形成の障害, Leydig 細胞の萎縮を認めたが成熟白鼠では睾丸萎縮をみなかつたし, Antopol⁴²⁾ は白鼠に cortison を投与し, 睾丸重量の減少を報告, Ingel⁴³⁾. Winter⁴⁴⁾ 等は著変をみなかつたとし, 木島⁴⁵⁾ は成熟白鼠に DOCA, 或は cortison を投与し睾丸重量, 精細管, 間質の何れにも著変を認めなかつた.

Zehetgruber は cortison を投与した人間の睾丸に, X線照射の場合と略々同様な変化を認め, Boeminghaus³⁹⁾ 等も又 cortison 投与による睾丸障害を報告し, これは下垂体前葉ホルモン分泌抑制に由来するものとした.

交感神経毒として, 碓井⁴⁶⁾ はアドレナリン, ビロカルピン, アトロピンを投与して, 前二者では睾丸の大きさの縮小, 精子数の減少があり, これに反してアトロピンでは睾丸の大きさの増加と精子数の増加を認めている.

無機塩類としては昇汞, CuSO_4 , ZnSO_4 , PbCl_2 他があるが, Pařizek and Zahor^{47) 48)} (1956, 1957) はカドミウム塩を皮下注射して数時間にして著明な肉眼的変化が起る事を知り, この障害は同時に大量の亜鉛を投与すれば完全に防ぎ得ることを発見した. Pařizek はカドミウム障害睾丸に於いてホルモンを産生する間質組織が再生し, しかも精細管上皮壊死が存続する事から Leydig 間質細胞の生物学的研究に1つの新しい実験的手段を提供するものであると述べている.

文献学的にみても睾丸障害時の精細胞の感受性はその障害物質によつて異り, 変性も可逆的のものもあれば進行性のものもある.

II エチオニンに関する考察

1938年 Dyer⁴⁹⁾ により初めてメチオニンの特異的な生物学的拮抗物質として登場したエチオニンは脂肝発生物質として特に注目されて来たが, 最近に至りかなり強力な発癌物質としても知られている. エチオニン投与により肝臓のみならず他臓器に種々の組織学的変化が起ることが記載されている. 即ち Fitzgerald⁵⁰⁾ (1952), Farber⁵¹⁾ (1950), Almeida⁵²⁾ (1952) 等は Pancreatitis, Pancreatic necrosis を, Farber et al.⁵³⁾ (1950) は副腎出血を, Wachstein et al.¹⁰⁸⁾ (1951) は腎の Proximal convoluted tubule の変性を, その他 Alvizour¹⁰⁷⁾ (1954) は始めて睾丸に強い変性を起すことを記載した. 脂肝については Farber, Simpson and Tarver⁵³⁾. Koch-Weser and Popper⁵⁴⁾ 等はエチオニンの腹腔内注入により雌性白鼠に12時間~36時間で著明な脂肝発生をみる事を報告し, 更にこれが単にメチオニンからのメチル基転移を障害することによつて生ずるとは言えず, 特殊なエチオニン—メチオニンの関係によるのであろうことを明らかにした. この事はメチオニンのみがエチオニン脂肝を予防し, 他のコリン, ホモシスチン, ジメチルシスチン, エタノールアミン等の lipotropic agents は全く抑制しない事その他, 低メチオニン食による脂肝がエチオニンで却つて予防される事によつても示唆されている. 次いで Farber and Segaloff⁵⁵⁾ は雌性白鼠及びテストステロン投与雌性白鼠ではエチオニン脂肝は起らず, 去勢雄性白鼠には著明に起る事によりこれ等の性差は男性ホルモンによる事を明らかにした. 又 Farber 等は雌雄共にメチル基転移が障害されているにも拘わらず, 雄性に於いてはメチオニン, グリシン等の蛋白合成は抑制されず, 雌性では著明に抑制を認め, 且つ, かかる変化は脂肝発現以前に認められることにより蛋白合成と脂肝とに, 或る関係のある事を明らかにした⁵⁶⁾.

次にエチオニンの睾丸に対する影響であるが, 他の必須アミノ酸である phenylalanine^{58) 59)}, threonine⁶⁰⁾, histidine⁶¹⁾, leucine⁶²⁾, tryptophan⁶³⁾ の欠乏食によつて精子形成現象がおかされる事が報告されており, エチオニン投与が精子形成現象に障害を来たしている事が

表 2

	PAS	ALP.	ATPase	S. D.	L. D.	DPN.
Spermatozoa	—	—	++	##	+	+
Spermatid	—	—	##	++	+	+
Spermatocyte	±~+	—	+	+	++	++
Spermatogonia	++	—	±	+	##	##
Sertoli Cell	++	—	±	±	+	++
Multinuclear Giant Cell	++	—	—	+	##	##
Basement Membrane	+~++	##	++	+	++	++

らメチオニンも精子形成現象に必要な欠くべからざるものとする。この際の精細管の変化がエチオニンの一次的作用であるかどうかの問題であるが、Fitzgerald et al.⁶⁷⁾ はエチオニンのSにradioactive S³⁵ をlabelとして、これが、投与を受けた動物の睪丸に局在することを証明している事と睪丸の変化が諸家の報告している pancreas damage, 脂肝の程度と必ず相関関係にない事からエチオニンの睪丸に対する直接的作用と考えられる。

III 睪丸に関する2, 3の組織化学的考察

睪丸機能の1つである造精現象 Spermatogenesis は未分化の精祖細胞が精母細胞, 精娘細胞, 精子細胞, それから成熟精子に発達する一連の階程をふむ段階的な増殖と変形の過程である。この過程中に起る化学的变化に関する現在の知識は不完全なものであつて、殆んど組織化学的観察だけに頼っている。

(i) グリコーゲン

Montagna et al.⁶⁴⁾ (1951), Mancini et al.⁶⁵⁾ (1952) 等が組織化学的に検索して、Sertoli細胞, 精祖細胞のいづれにもグリコーゲンが豊富に存在し、それに比べて濃度は低いながらも(組織化学的に判定して)精母細胞中にも認められたが、精娘細胞と精子細胞にはグリコーゲンに対する組織化学的反応は殆んど示さないし、成熟した精子でもグリコーゲンを認め得なかつた。塩沢によると精細胞にはグリコーゲンを認めず、変性時精細管内巨細胞にグリコーゲン顆粒を発見したと報告しているが、著者の実

験では Montagna, Mancini, の所見とはほぼ同一で、多核性巨細胞に関しては塩沢⁶⁶⁾ と同じく、グリコーゲンの存在を確認し、核の比較的少い幼弱型の巨細胞にグリコーゲン顆粒を比較的強く認め、核の多い成熟した巨細胞はグリコーゲン顆粒が弱陽性であるところから多核性巨細胞中のグリコーゲンは変性から生じたものとするより、生来グリコーゲンを含有する精細胞からのものと解した方が妥当である。Sertoli細胞は鉄ヘマトキシリンに染まる顆粒及びグリコーゲン, lipid, Vitamin C を含有している事は組織化学, 組織化学的検索で確認されている Teilum⁶⁷⁾ (1950) Mancini (1952) がその意義については未だ不明で、Howard et al.⁶⁸⁾ (1950) は Leydig 細胞とは異つた第2のホルモンを産出するのではないかと言っているが、それを裏付けるものはない。

(ii) Alkaline phosphatase

酵素類の研究は現在組織化学に於いて最も活発に活動されている分野の1つであつて、いわゆる可視的酵素組織化学の発端は1938年、高松⁶⁹⁾ の Alkaline phosphatase の証明法に始る。続いて翌1939年 Gomori⁷⁰⁾ が略々同一の方法を発表して以来、今迄多方面で採用、実用化されている。phosphatase は生体内及び細胞内に於いて、広く含水炭素, 脂肪, 類脂肪, 核酸等の物質代謝に直接或は間質に関係し、これ等の代謝の存在する所に該酵素があるのみならず、代謝の旺盛な時は増強し、又異常代謝に際して出現する。

Krugelis⁷¹⁾ (1942), Wolf et al.⁷²⁾ (1943) は Gomori の金属塩法によつて初めて精細管内の Alkaline phosphatase, Acid phosphatase の活性を検索し、精細胞が成熟するに従つて核の中の酵素活性が低下すると言ふ。Dempsey⁷³⁾ (1949), Wislocki⁷⁴⁾ (1951), Mancini (1952), Montagna (1952),⁷⁵⁾ 三浦(1957) も等同方法で検索し精細胞の核に強い活性を認めたが細胞質には殆んど活性を認めていない。著者はアゾ色素結合法によつて Alkaline phosphatase の活性をみた。このアゾ色素結合法が優れている理由は

- 1) 基質液浸漬時間が短く拡散が少い。
- 2) ナフトールは正常には組織内に存在しないので、金属塩法の如く基質を除いた対照標本を厳密に作らなくてもよい。
- 3) アゾ色素は金属塩の CaHPO_4 よりずっと水に溶けにくいので、得られた標本は鮮明かつ色素の拡散による人工産物を減少出来る事。
- 4) 発色の様子を見守ることが出来、最適の時間で止める事が出来るためである。

一般に金属塩法によつて活性を示した核は、アゾ色素法では陰性となる。いずれが真の活性を示すかは不明であるが、Alkaline phosphatase のアゾ色素法の検索で精細管基底膜、間質組織中の血管壁に活性を示し、精細胞には活性が認められなかつた。睾丸は腎、肝に比べて酵素量の少い臓器であるため金属塩法に比べて鋭敏性の点でアゾ色素法は劣るので実際には精細管内に酵素活性があるにもかかわらず、アゾ色素法では発色しない事があることを念頭にに入れて考えねばならない。

(iii) Adenosine triphosphatase

Adenosine triphosphatase (ATP ase) は phosphatase の 1 種であつて磷酸エステルである ATP を加水分解する酵素を言う。ATP ase は広く生物界に分布し、Virus、微生物、菌類、植物、動物の器官でその存在が認められている。動物では筋収縮に関係した収縮性 ATPase、ミトコンドリア等の細胞内粒子と結合したもの、筋肉、肝、腎、脳、精液⁷⁷⁾、血清⁷⁸⁾ 等にある種の性質の細胞内に溶けていると

考えられる ATP ase があり、生体の energy 代謝に最も大きな役割を演ずるものの 1 つで、Creatin 代謝、磷酸基の転移解糖作用、その他種々の代謝に関係していると言われている。組織化学的には現在 Padykula et al.⁷⁸⁾ 法と Wachstin et al. 法の 2 法が広く用いられているが著者は後者の方法によつた。酵素活性は精子、成熟精細胞に強く、多核性巨細胞の細胞膜にのみ陽性であつた。又精細管基底膜、間質組織中の毛細血管壁にも強い活性が認められた。

(iv) Succinic dehydrogenase

本酵素は TCA 回路の主要なものの 1 つで脱水素酵素中、助酵素を必要としない唯一の酵素で Succinic acid を脱水素して fumaric acid を産生する。動物組織中には腎、肝、心、脳、睾丸、骨格筋、肺、副腎に比較的多量に存在し、胸腺、脾、血液中にはないと言われている。組織化学的には、本酵素の活性は formazan の形成をもつてその局在としているが、formazan が脂質に溶解する事、その組織内拡散⁶⁾ とそれに続き結晶化を生ずる事が知られて居り、時として真の局在を示さない事がある。睾丸の間質組織、一部の精細胞に脂質が存在している事は Wislocki (1949), Lynch⁷⁹⁾ (1951), Long⁸⁰⁾ (1952), Montagna (1952), その他によつて詳細に記載されているので著者は新鮮組織切片及びアセトン固定、パラフィン包埋法の小谷、引間法を合せて比較検討を加えたが Nitro BT formazan には殆んど脂質溶解性が認められなかつた。精細管内の Succinic dehydrogenase の活性は成熟精細胞に強陽性を示し、取り分け分化した精子に著明であつた。

Monis et al.⁸¹⁾ は本酵素が悪性腫瘍で活性が低下したと報告している事は興味深い事である。

(V) DPN diaphorase

DPNH から水素の供与を受けて、これを或る種の色素 (Tetrazolium 塩、メチレン青等) に伝達する一種のフラビン酵素を DPN diaphorase と称し、その活性度は細胞呼吸活性の標識となると考えられ、電子伝達系に影響を及ぼすミトコンドリア性の酵素である。これ等は

主に TCA 回路に於いて、多くの代謝産物の酸化に対し機能を発するもので、助酵素は FAD である。Wachstein, Meisel, Falcon⁸²⁾ (1959) は唾液腺の混合腫瘍中の上皮性の部分に強い DPN diaphorase 活性を認め、耳下腺の癌に於いても鮮明な強い酵素活性が見られたと言う。

Monis 等は人の腎及び膀胱癌更に耳下腺及び甲状腺の混合腫瘍で DPN diaphorase 活性が著しく強まると報告している。Wachstein and Meisel⁸³⁾ (1959) によれば再生肝細胞は普通正常肝細胞よりも強染し、肝癌に於いては著しい活性が見られるが、各細胞間にかなりの酵素活性の差異があつたと述べている。Stolk⁸⁴⁾ (1960) は腎の癌に於いて少数の癌細胞の細胞膜とミトコンドリアに高度の活性を示したと言っている。水谷⁸⁵⁾ (1960) は人体腫瘍、特に悪性腫瘍の新陳代謝過程の生化学的意義を究めんとして DPN diaphorase の腫瘍中の活性度について報告した。即ち特色ある反応として、大部分の胃癌細胞は formazan の形成によつて独特の強い活性を示したが、その染色性は癌組織全体に一律の強さでなく、DPN diaphorase 活性は癌の浸潤部位又は孤立性の癌細胞塊に於いて最も強い。一般に未分化な癌細胞では極めて強い酵素活性を示し、変性した癌細胞では常に反応は減弱していて、癌巣の中心が壊死に陥つたところでは DPN diaphorase 活性は認められず、この結果はその他の種々の腫瘍についても略々同様であつたと述べている。著者の実験に於ける精細管内の DPN diaphorase は未熟精細胞、精母細胞により強い活性を示した。

(vi) Lactic dehydrogenase

ピリビン酸と L-乳酸との間の反応を触媒すると同時に、この反応は解糖によつて生じた DPNH を DPN に再生する反応とカップルし解糖系の活性を知る上に重要な指標となる。

糖新代謝に於いては、グリコーゲン又はグリコースは嫌氣的状態下にあつては、Embden-Meyerhoff の模式に従つて本酵素が作用して乳酸になり、乳酸は好氣的代謝、即ち TCA 回路を経て炭酸ガスと水とに分解される。本方法

における Nitro-BT の還元発色は、基質から DPN を経て直接 tetrazolium に伝えられた水素によるものではなく、DPN-diaphorase の flavoprotein を介して伝達されたものによるとされている。従つて、この場合の formazan の形成は DPN-linked の脱水素酵素とそれに続く DPN-diaphorase の存在を示す事になる。著者の実験では DPN-diaphorase と同じ局在、活性を示した。

IV 巨細胞の発生起源についての考察

精細管内に多核性巨細胞が出現する事を最初に記載したのは Sanfelice (1888) で、彼はモルモットの睾丸組織を切断し其の創傷治癒後にその創傷附近の精細管内に多核性巨細胞の出現を発見し、これに次いで Maximow⁸⁶⁾ (1899) は平滑、中太の鋼鉄針の先端を赤熱しこれを急激に睾丸に刺し、直ちに抜き睾丸傷害を加えて、多核性巨細胞を出現させ、その出現については退行変性の前駆現象として現われる非定型的の進行性変化と考えた。Barratt et al⁸⁷⁾ (1911), Monterosso⁸⁸⁾ (1912) 等は正常な睾丸についても発見されたと述べてはいるが、Siperstein (1921) の実験で正常な造精現象 Spermatogenesis が行われている精細管にかかる多核性巨細胞を発見し得ずと云つている。Tandler et al.⁸⁹⁾ (1911) は冬眠動物の四季的睾丸変性時に、Moore⁹⁰⁾ (1924) は実験的停留睾丸に、Bouin et al.⁹¹⁾ (1900) はアルコール投与により、Barratt et al. は X 線照射後に、大家⁹²⁾ (1923) は人体例 208 人の中で 53 例に多核性巨細胞を発見し、結核性疾患に 16 例、癌腫に 6 例、麻痺性癱瘓に 4 例を認めている。Akiyoshi⁹³⁾ は悪性腫瘍、動脈硬化症に多く、Morgenstern⁹⁴⁾ は急性伝染病、悪液質、アルコール中毒に多いと云う、山代⁹⁵⁾ は実験的に昇汞、モルフィン、スベルマチン、その他諸種細菌毒の注射で出現し、睾丸変化が高度である程度出現が多く、局所に X 線照射、熱、パラフィン、凍結等障害が直接強く作用する部に強いと云う。原因は何にであれ、睾丸変性時にしばしば見られる現象である事に意見が一致している様である。

その発生起源についても病理学的に古来より諸説がある。大きく分けると①貪食による説。②精細胞説。前者は更に2つに分たれ、Wegelin⁹⁶⁾, Morgenstern⁹⁷⁾等の云う貪食細胞説と塩沢, 川村等の云う組織球説である。

④ 1921年 Wegelin は人副睾丸頭部管腔内に於いて一種の細胞が精子頭部を含有しているのを発見し、喰精現象 Spermiophagie 及び喰精細胞 Spermiophagen なる語を命名し、その後、系統的研究を56例の人副睾丸に就いて行った結果、所謂喰精細胞は ductuli efferentes の上皮細胞が生存したま剥脱、遊離してに喰作用 phagocytose に依つて精子頭を其の細胞原形質内に含有したものと考えた。喰精現象機転に就いては、その後の研究によつて2説がある。即ち貪食作用と精子の細胞体内能動的侵入 active invasion である。喰精現象を認めたものの中 Mallory¹⁰⁰⁾, Spangaro, 川村⁹⁹⁾等は本現象の機転に就いては何等記載せず、Wegelin は副睾丸内精子が運動性なき事、喰精細胞中の精子は頭部のみである事、喰精細胞が時に赤血球をその原形質内に含有する事等より喰精細胞の貪食作用を主張し、Morgenstern⁹⁷⁾ もこの説を支持している。Akiyoshi は Wegelin の貪食作用説に全然反対して多数の核が染色性悪く、細胞体の変形があり、核の良染色のものは精子を含有しない事から精子の変性細胞体内侵入をその本態と見なした。しかし、Wegelin 及び Morgenstern は喰精細胞が管上皮細胞より発生するものと考え、管腔内の多核性巨細胞は腔内及び上皮細胞層内に於いて形成されとなした。管上皮細胞層は増殖し、Syncytium 類似となり多核性喰精細胞が形成され、上皮細胞層内及び管腔内に Mitosis を認め得なかつた事から恐らく直接核分裂によつて多核性喰精細胞を生じたとし、Morgenstern はこの外精子浸潤を来した部の結合組織細胞に於いて Mitosis を認め得なかつた事から、この結合組織細胞より生ずる多核性巨細胞も亦直接核分裂によつて成立するものと考えた。Mallory¹⁰⁰⁾ は72才の前立腺肥大症患者の剔出副睾丸内に見た多数の喰精細胞を血管内皮細胞より発生した細胞と見做し、単にこの喰精細胞は多核白血球ではなく又

高度に分化した上皮細胞の変形と見做すよりも、寧ろ血管内皮細胞に帰する方が妥当であると云っているが、何ら他の積極的乃至消極的論拠を挙げていない Tiedje¹⁰¹⁾ は精管結紮睾丸に於いて Sertoli 細胞が貪食作用を現わしたと述べ、Maximow も睾丸損傷に於いて Sertoli 細胞が変性精細胞及び精子をその原形質内に含有するを認めているが、多核性巨細胞の発生起源に関しては別の見解をとつている。その他 Bardeleben¹⁰²⁾, Goldmann¹⁰³⁾等の Leydig 細胞が直接精細胞管内に遊走して Sertoli 細胞に交じ喰精細胞になる説もある。Wegelin は著者等の云う多核性巨細胞を喰精多核性巨細胞と考えていたが、塩沢⁶⁶⁾⁹⁸⁾ は喰精細胞と形態学的に区別出来なくて、唯精子を含有しない多核性巨細胞の混在するのを認めたが、カルミン色素摂取、炭末貪食を営み各種脂肪物質、グリコーゲン顆粒を含有する点がほぼ同所見であつた事から、その発生起源は同一で、組織球に由来すると云つている。

② 椎名¹⁰⁴⁾ は白鼠の酒精飼養、墨汁注射にて多核性巨細胞を出現させた。その結果、睾丸間質組織内には夥しい数の墨汁顆粒貪食細胞を認め、その多数は核をも認め難い程細胞内に飽和し組織球を思わせるもので、その他の細胞に於いては白血球中にも少数の微粒が認められたが、Leydig 細胞、精細管内には如何なる墨汁顆粒貪食細胞及び如何なる微細な墨汁顆粒も絶対に発見出来なかつたことから、中性異物に対して貪食性を有する如何なる細胞も精細管外より侵入せず、しかも巨細胞は精細管上皮細胞より起源するとした。Maximow (1899) も彼の睾丸障害実験で、巨細胞の発生起源を精細管上皮とし、巨細胞を精子細胞性巨細胞と造精細胞性巨細胞の2つに区別している。平光及び椎名¹⁰⁵⁾ も Maximow と同じ結論を下している。現在では巨細胞は生体色素摂取陰性で、全く貪食作用がない所から精細胞説が支配的で Bouin 等は精細胞内の核分裂の異常によつて起るとし、Siperstein は変性した精細胞の融合によると言い、池崎¹⁰⁶⁾, Alvizouri et al.¹⁰⁷⁾ は変性した精母、精娘細胞の凝集によつて形成されと言う。この様に精細胞説にあつてもその発

生起源について定説がない。

著者の実験に於いては睾丸の変化を比較的連続的に観察追求した。多核性巨細胞も核の少い幼弱型から核の多い成熟型に至る迄存在し、核の多い成熟した巨細胞の中には精子細胞にみられる核に類似したものが混在し、核の比較的少い2核～4核の巨細胞のそれは精母細胞、精娘細胞の核に似ている。Maximow. 平光及び椎名は前者を精子細胞性巨細胞と呼び精子細胞の融合によるとし、後者を造精細胞性巨細胞と呼び、精母細胞、精娘細胞の融合又は肥大造精細胞の核板形成及び核の断裂による直接核分裂並びに間接核分裂により形成せられると言う。著者の組織学的並びに組織化学的検索によれば、多核性巨細胞に於ける諸酵素の活性は表2に示す如く、精祖細胞、精母細胞等の未熟精細胞のそれに似ている事、多核性巨細胞にグリコーゲンが存在している事、変性過程の最終段階に至る迄巨細胞が存在している事からその発生起源は少くとも精子細胞の様な成熟細胞の融合より生じたものではなく、精祖細胞又は精母細胞等の幼弱細胞の融合又は細胞分裂なしに核分裂のみによつて多核性巨細胞を生じ、その核の一部は精子細胞にみられる核に迄成熟し得るものもあると考える。

第IV章 結 語

著者はメチオニンの生物学的拮抗物質のエチオニンを白鼠腹腔内に連続4週間投与し、その際の、精細管に於ける変化を組織学的並びに組織化学的に観察し、次の所見を得た。

1. エチオニンの連続投与によつて、精細管に高度の変性が起る事から、Spermatogenesisに対して必須アミノ酸のメチオニンが欠くべからざるものとする。

2. 精細胞中、精子がエチオニンに対して一番感受性が高い。

3. 精子変性に先だつて、Succinic dehydrogenase の活性低下が著明に現われる。

4. Succinic dehydrogenase, Adenosine triphosphatase は成熟細胞に強い活性を示す

5. DPN-diaphorase, Lactic dehydrogenase は未熟精細胞に強い活性を示す

6. 多核性巨細胞は Succinic dehydrogenase に弱い活性、DPN-diaphorase, Lactic dehydrogenase に強い活性がある事及びグリコーゲンが陽性である事から、精祖細胞又は精母細胞由来のものと結論する。

本稿の要旨は昭和39年4月4日の第52回日本泌尿器科学会総会、昭和39年5月16日の第33回日本不妊学会関西支部集談会の席上で発表した。

稿を終るに当り、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜つた恩師稲田務教授に深甚の謝意を表すとともに、又自由な研究の場を賜つた結核研究所病理学部主任、高松英雄教授、御援助、御鞭達をいただいた酒徳助教授に衷心より感謝する。尚種々御援助を被つた教員各位に厚く感謝する。

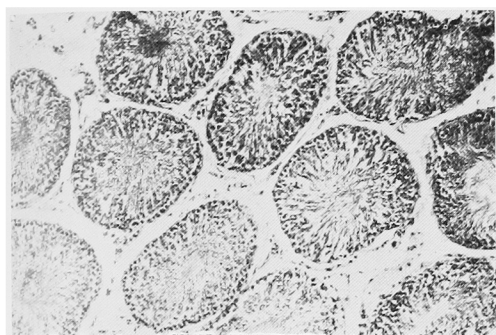
参 考 文 献

- 1) Sanfelice, Bollett. d. Societa d. Naturalisti d. Napoli Vol. 2 Ann. 2, cit. Maximow, A. : Beit. z. Path. Anat., 26 : 230, 1899.
- 2) McManus, J. F. A. : Stain Techn., 23 : 99, 1948.
- 3) Burstone, M. S. : J. Histochem. Cytochem., 6 : 87, 1958.
- 4) Wachstein, M. and Meisel, E. : Am. J. Clin. Path., 27 : 13, 1957.
- 5) Nachlas, M. M., Tsou, K. C., de Souza, E., Cheng, C. S. and Seligman, A. M. : J. Histochem. Cytochem., 5 : 420, 1957.
- 6) 水谷昭・引間啓祐 : Acta Tuberc. Jap., 11 : 17, 1961.
- 7) Nachlas, M. M., Walker, D. G. and Seligman, A. M. : J. Biophysic. Biochem. Cytol., 4 : 29, 1958.
- 8) Albers-Schoenberg : Mensch. Med. Wochschr., 50 : 1859, 1903.
- 9) Bergonié, J. et Tribondeau, L. : Compt. rend. Soc. Biol., 57 : 400, 1948.
- 10) Villemin, F. : Compt. rend. Acad. Sci., 142 : 723, 1906.
- 11) Hu, C. K. : Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 48 : 44, 1941.
- 12) Heller, C. G. : Histopathology of Irradiation IV 1948.
- 13) Bloom, W. : Histopathology of Irradiation IV 1948.

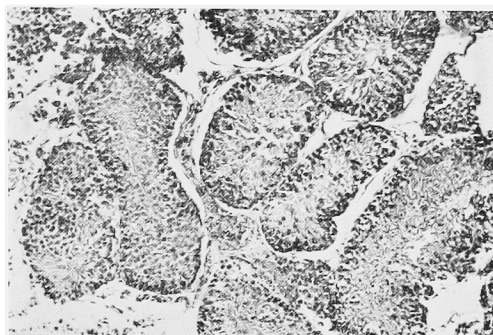
- 14) Wattenwyl, H. V. : Strahlentherapie, **70** : 499, 1941.
- 15) 山本武 : 泌尿紀要, **7** : 203, 昭36.
- 16) Paul, C. B. : J. Physiol., **34** : 14, 1906.
- 17) Hewer, E. E. : J. Physiol., **47** : 479, 1914.
- 18) Hatai, S. : Anat. Rec., **9** : 1, 1915.
- 19) Siperstein, D. M. : Anat. Rec., **20** : 355, 1921.
- 20) Funk, C. and Douglas, M. : J. Physiol., **47** : 475, 1914.
- 21) Mc-Carrison, R. : Ind. J. Med. Rec., **6** : 275, 1919.
- 22) Allen, E. : J. Morph., **31** : 133, 1918.
- 23) Dutcher, R. A. and Wilkins, S. D. : J. Physiol., **57** : 437, 1921.
- 24) Myerstein, A. : Virchow's Archiv. f. Path. Anat. u. Physiol., **239** : 350, 1922.
- 25) Eckstein, A. : Pflüger's Archiv., **201** : 16, 1923.
- 26) Alwin, M. and Pappenheimer, M. D. : Am. J. Path., **20** : 239, 1944.
- 27) Reynolds, E. and Macomber, D. : J. Am. Med. Assn., **77** : 169, 1921.
- 28) Mason, K. E. : Proc. Nat Acad. Sci., **11** : 377, 1925.
- 29) 林良材 : 京都医会誌, **21** : 799, 大13.
- 30) Landing, B. H. : Cancer, **2** : 1075, 1949.
- 31) 中村晃一 : 外科領域, **2** : 272, 昭29.
- 32) 伊藤尚一 : 日本不妊会誌, **4** : 183, 1959.
- 33) Laqueur, E. : Jahresber. Physiol. u. exper. Pharm., **12** : 154, 1933.
- 34) Moor, C. R. and Price, D. : Am. J. Anat., **50** : 13, 1932.
- 35) Heckel, N. J. : The Effects of Hormons, Springfield, U. S. A., 1951.
- 36) Korenchevsky, V., Dennison, M. and Kohn-Speyer, A. : Biochem. J., **27** : 1506, 1933.
- 37) Bottomly, A. C. and Folley, S. J. : J. Physiol., **92** : 33, 1938, **94** : 26, 1938.
- 38) Moor, C. R. and Price, D. : Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **28** : 38, 1930.
- 39) Boeminghaus, H. and Klosterhalfen, H. : Z. Urol., **51** : 249, 1958.
- 40) Simpson, M. E. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **51** : 318, 1942.
- 41) Selye, H. and Friedman, S. : Endocrinology, **28** : 129, 1941.
- 42) Antopol, W. : Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **73** : 262, 1950.
- 43) Ingel, D. J. : J. Clin. Endocrinol., **10** : 1312, 1950.
- 44) Winter, C. A., Silber, R. H. and Stoerk, H. C. : Endocrinology, **47** : 60, 1950.
- 45) 木島一英 : 日内分泌会誌, **30** : 665, 1954.
- 46) 碓井博司 : 泌尿紀要, **7** : 118, 昭36.
- 47) Pařízek, J. and Zahor, Z. : Nature, **177** : 1036, 1956.
- 48) Pařízek, J. : Endocrinol., **15** : 56, 1957.
- 49) Dyer, H. M. : J. Biol. Chem., **124** : 519, 1938.
- 50) Fitzgerald, P. J. and Alvizour, M. : Nature, **170** : 929, 1952.
- 51) Farber, E. and Poppær, H. : Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **74** : 838, 1950.
- 52) de Almeida, A. L. and Grossman, M. I. : Gastroenterology, **20** : 554, 1952.
- 53) Farber, E., Simpson, M. D. and Tarver, H. : J. Biol. Chem., **182** : 91, 1950.
- 54) Koch-Weser, D. and Popper, H. : Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **79** : 35, 1952.
- 55) Farber, E. and Segaloff, A. : J. Biol. Chem., **216** : 471, 1955.
- 56) Farber, E. : Fed. Proc., **14** : 402, 1955.
- 57) Fitzgerald, P. J., Hellman, L., Weinstein, J. and Schimmel, R. : Am. J. Path., **30** : 619, 1954.
- 58) Maun, M. E., Cahill, W. M. and Davis, R. M. : Arch. Path., **39** : 294, 1945.
- 59) Schwartz, C., Scott, E. B. and Ferguson, R. L. : Anat. Rec., **110** : 313, 1951.
- 60) Scott, E. B. and Schwartz, C. : Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **84** : 271, 1953.
- 61) Scott, E. B. : A. M. A. Arch. Path., **58** : 129, 1954.
- 62) Maun, M. E., Cahill, W. M. and Davis, R. M. : Arch. Path., **40** : 173, 1945.
- 63) Adamstone, F. B. and Spector, H. : Arch. Path., **49** : 173, 1950.
- 64) Montagna, W., and Hamilton, J. B. : Anat. Rec., **109** : 635, 1951.

- 65) Mancini, R. E., Nolzco, J. and de la Balze, F. A. : *Anat. Rec.*, **114** : 127, 1952.
- 66) 塩沢善市 : 日微誌, **21** : 2413, 昭2.
- 67) Teilum, G. : *Acta Endocrinologica*, **4** : 43, 1950.
- 68) Howard, R. P., Sniffen, R. C., Simmons, F. A. and Albright, F. : *J. Clin. Endocrinol.*, **10** : 121, 1950.
- 69) 高松英雄 : 満洲医誌, **29** : 1351, 昭13.
- 70) Gomori, G. : *J. Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **44** : 23, 1939.
- 71) Krugelis, E. J. : *J. Cell. Comp. Physiol.*, **19** : 376, 1942.
- 72) Wolf, A., Kabat, E. A. and Neuman, W. : *Am. J. Path.*, **19** : 423, 1943.
- 73) Dempsey, E. W., Greep, R. O. and Deane, H. W. : *Endocrinology*, **44** : 88, 1949.
- 74) Wislocki, G. B. : *Endocrinology*, **44** : 167, 1949.
- 75) 三浦武芳 : 泌尿紀要, **3** : 30, 1957.
- 76) Heppel, L. A. and Hilmore, R. J. : *J. Biol. Chem.*, **202** : 217, 1953.
- 77) Meister, A. : *Science*, **106** : 167, 1947.
- 78) Padykula, H. A. and Herman, E. : *J. Histochem. Cytochem.*, **3** : 161, 1955.
- 79) Lynch, K. M. and Scott, W. W. : *Endocrinology*, **49** : 8, 1951.
- 80) Long, M. E. and Engle, E. T. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **55** : 619, 1952.
- 81) Monis, B., Nachlas, M. M. and Seligman, A. M. : *Cancer*, **12** : 1238, 1959.
- 82) Wachstein, M. : *Handbuch d. Histochem.*, VII/2, *Enzyme* : **86**, 1962.
- 83) Wachstein, M. and Meisel, E. : *J. Histochem. Cytochem.*, **7** : 189, 1959.
- 84) Stolk, A. : *Naturwissenschaft*, **47** : 188, 1960.
- 85) 水谷昭 大川欣一 : *Acta Tuberculosea Japonica*, **10** : 1, 1960.
- 86) Maximow, A. : *Beit. z. Path. Anat.*, **26** : 230, 1899.
- 87) Barratt, J. O. W. and Arnold, G. : *Arch. f. Zellforschung*, **7** : 242, 1911.
- 88) Monterosso, B. : *Arch. de Biol.*, **27** : 35, 1912. cit. Mason, K. E. : *J. Exper. Zool.*, **45** : 159, 1926.
- 89) Tandler, J. and Groz, S. : *Arch. f. Entw. Mech.*, **33** : 297, 1911.
- 90) Moore, C. R. : *Am. J. Anat.*, **34** : 269, 1924.
- 91) Bouin, P. et Garnier, C. : *C. R. Soc. de Biol.*, **52** : 23, 1900. cit. Mason, K. E. : *J. Exper. Zool.*, **45** : 159, 1926.
- 92) 大家武夫 : 東北医誌, **7** : 113, 大13.
- 93) Akiyoshi, T. : *Virch. Arch.*, **250** : 641, 1924.
- 94) Morgenstern, Z. : *Virch. Arch.*, **245** : 229, 1923.
- 95) 山代義雄 : 北越医誌, **48** : 1287, 昭8
- 96) Wegelin, C. : *Ziegl. Beitr.*, **69** : 281, 1921.
- 97) Morgenstern, Z. : *Virch. Arch.*, **250** : 648, 1924.
- 98) 塩沢善市 : 日微誌, **22** : 23, 昭3, **22** : 2835, 昭3, **22** : 2853, 昭3.
- 99) 川村麟也 : 日病会誌, 第14年 : 665, 大13.
- 100) Mallory, F. B. : *J. Exper. Med.*, **5** : 1, 1900.
- 101) Tiedje, F. : *Deutsh. Med. Wochschr.*, **10** : 618, 1912.
- 102) Bardeleben, K. : *Arch. f. Anatomie u. Physiol., Anat. Abt., Suppl.* 193, 1897.
- 103) Goldmann, E. E. : *Beit. z. Klin. Chir.*, **64** : 192, 1909.
- 104) 椎名順二 : 北海道医誌, 第2年 : 521, 大14.
- 105) 平光吾一・椎名順二 : 北海道医誌, **2** : 107, 大13.
- 106) 池崎生喜 : 慶応医誌, **8** : 317, 昭3.
- 107) Alvizour, M. and Warren, S. : *A. M. A. Arch. Path.*, **57** : 130, 1954.
- 108) Wachstein, M. and Meisel, E. : *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **77** : 645, 1951.

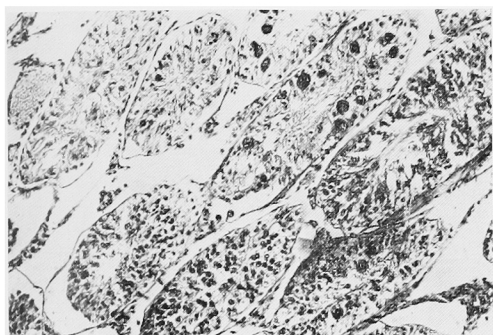
(1964年6月1日受付)



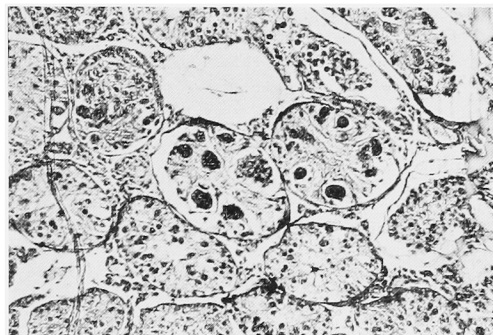
第1図 H・E 染色, 1 週後.
100×



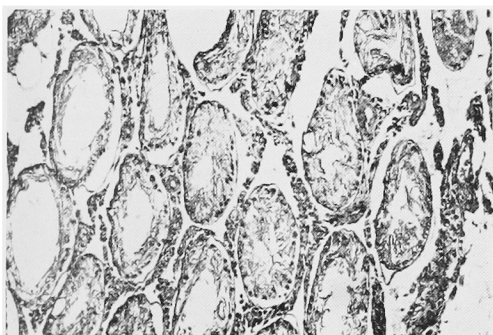
第2図 H・E 染色, 2 週後.
100×



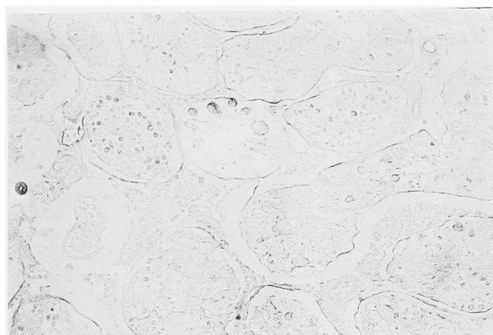
第3図 H・E 染色, 3 週後.
100×



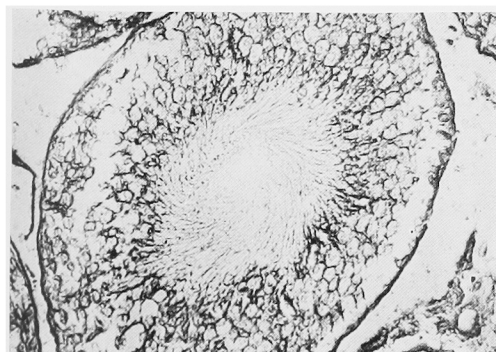
第4図 H・E 染色, 4 週後.
100×



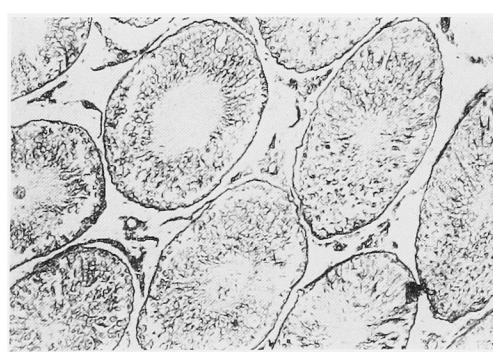
第5図 H・E 染色, 6 週後.
100×



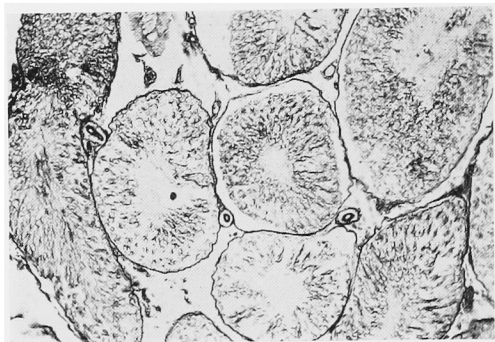
第6図 PAS 染色, 3 週後.
後染色 (-) 100×



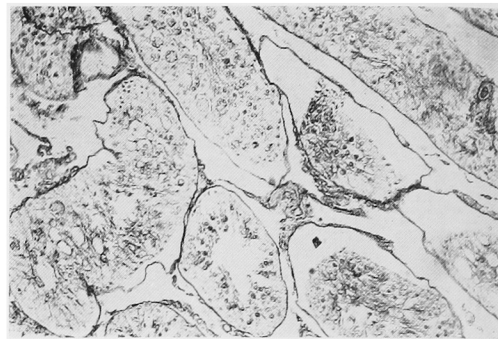
第7図 ATPase 染色, 正常.
200×



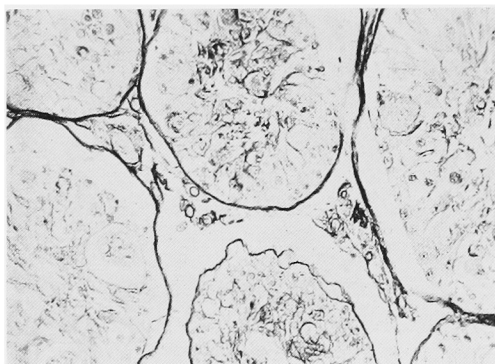
第8図 ATPase 染色, 1 週後.
100×



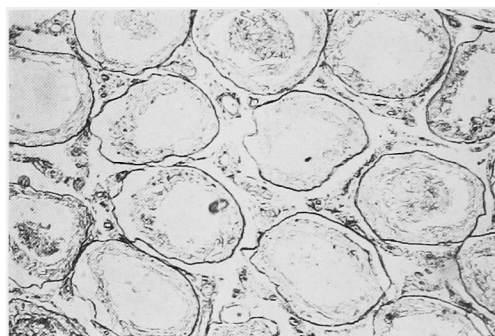
第9図 ATPase 染色, 2 週後.
100×



第10図 ATPase 染色, 3 週後.
100×



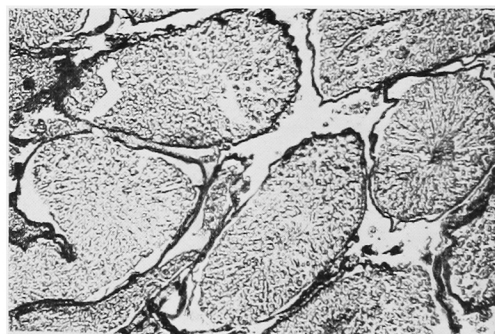
第11図 ATPase 染色, 4 週後.
100×



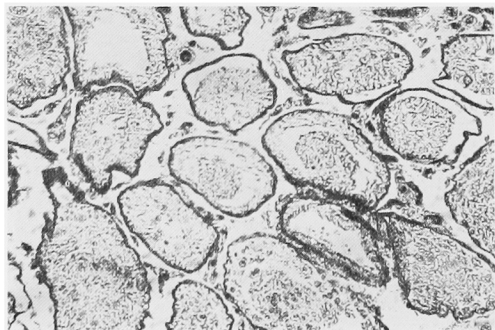
第12図 ATPase 染色, 6 週後.
100×



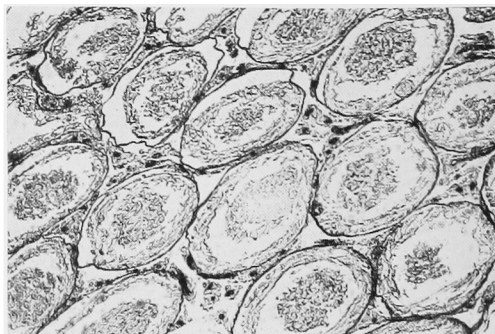
第13図 ALP. (アルカリフォスファターゼ)
1 週後. 100×



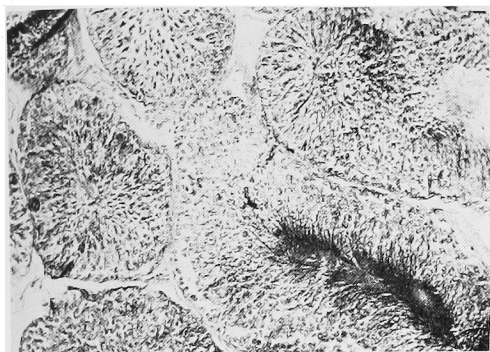
第14図 ALP. 2 週後.
100×



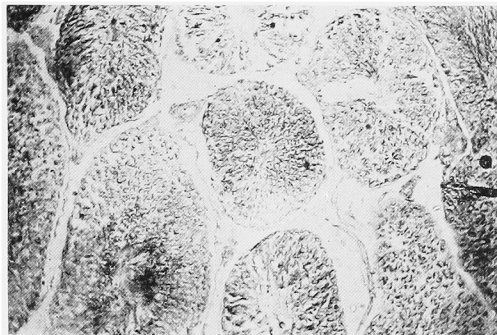
第15図 ALP. 4 週後.
100×



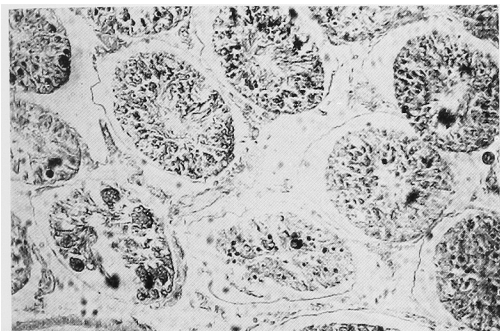
第16図 ALP. 6 週後.
100×



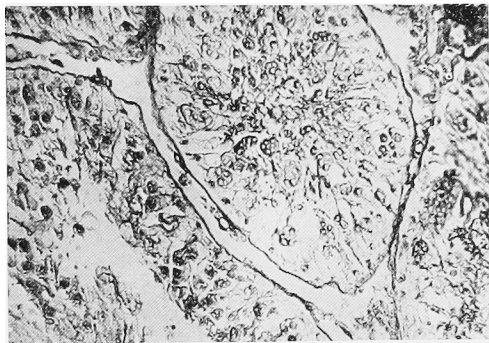
第17図 S. D. 染色, 1 週後.
100×



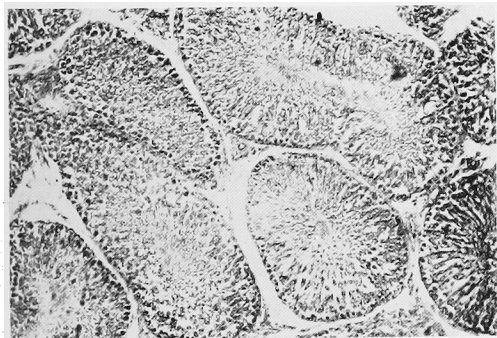
第18図 S. D. 染色, 2 週後.
100×



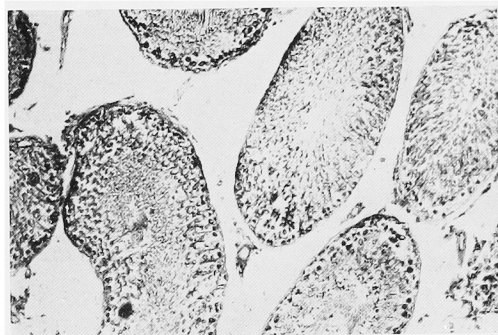
第19図 S. D. 染色, 3 週後.
100×



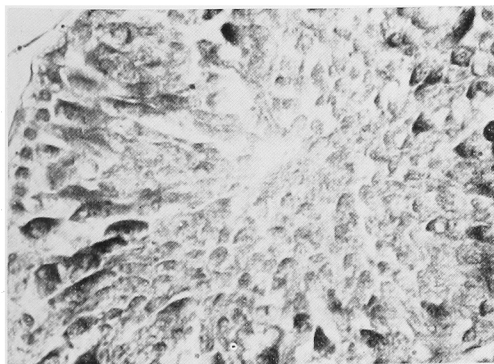
第20図 S. D. 染色, 4 週後.
200×



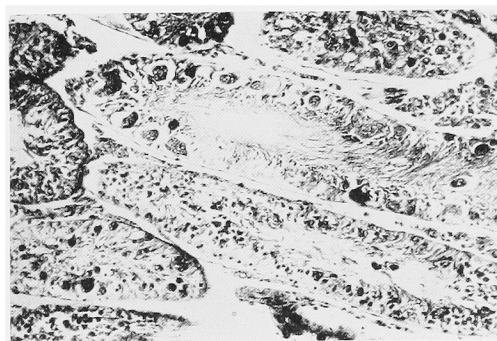
第21図 DPN. diaphorase, 正常.
100×



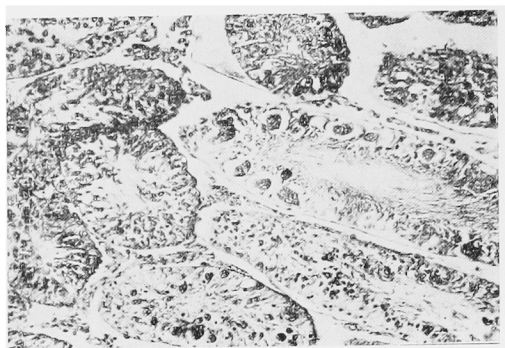
第22図 DPN. diaphorase, 1 週後.
100×



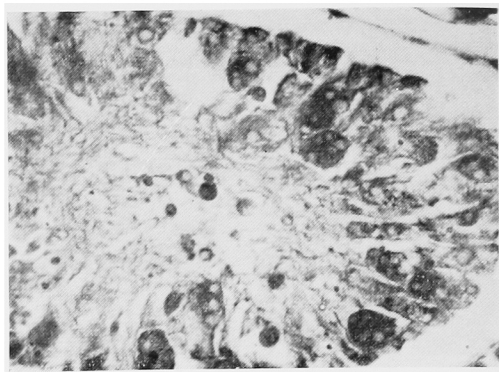
第23図 DPN. diaphorase, 1 週後.
400×



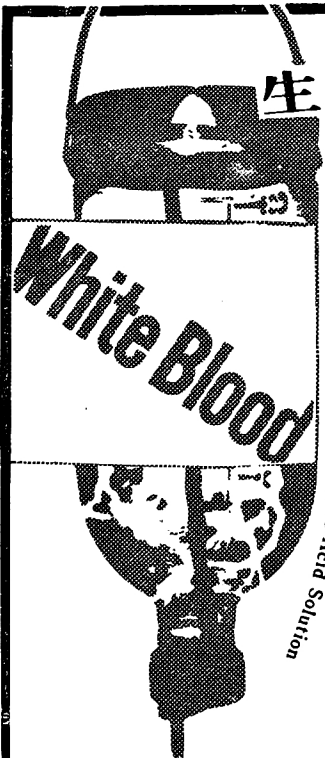
第24図 DPN. diaphorase, 3 週後.
100×



第25図 L. D. 3 週後.
100×



第26図 DPN diaphorase, 4 週後.
400×



生血・保存血の不足を補う

新総合代用血漿・栄養輸液

スーパミンプラス

SUPAMIN PLUS

特長：1. 低重合のアルギン酸ナトリウムをプラスマエキスパンダーとして含有
 2. 必須アミノ酸比率は筋肉蛋白の組成に準きょしているため組織蛋白の合成に好適
 3. 必須アミノ酸に加え、非必須アミノ酸も適切な量で配合
 4. 輸液セットは新式で使用に便利
 包装：500ml (輸液セット添付)



大阪市東区道修町2丁目40
 住友化学工業株式会社 医薬事業部

販売元
 稲畑産業株式会社