

結核性肺病巣に於けるカルシューム塩の 沈着機序に関する研究

〔第3篇〕 結核性炎症に於けるカルシューム塩沈着に 関与する諸因子の検討

京都大学結核研究所外科療法部 （主任 教授 長石忠三）

吉 田 誠

（受付 昭和33年9月20日）

目 次

緒 論
第1章 結核性肺病巣内に於ける溶解性の 磷酸基の検討
第1節 実験材料並びに実験方法
第2節 実験成績
第3節 本章小括
第2章 結核性肺病巣内に於ける不溶解性 の磷酸基の検討
第1節 実験材料並びに実験方法

第2節 実験成績
第3節 本章小括
第3章 外部構造とカルシューム塩との関 係
第1節 実験材料並びに実験方法
第2節 実験成績
第3節 本章小括
第4章 綜括並びに考按
結 論

緒 論

第1篇の結核性肺病巣内に於けるカルシューム塩の分布状態の成績及び第2篇の家兎の実験的肺結核症の経過を追つて、カルシューム塩の沈着に関する種々の因子を検討した成績より、結核性肺病巣内の磷酸カルシュームの磷酸基は、その殆んどが核酸に由来すると考えられるに到つた。然らばこの磷酸基は、核酸の分解に伴い、直ちにカルシュームイオンと結合するか否か、又直ちに反応せず、遊離の磷酸基が溶解性又は不溶解性の形で存在しているか否か等に就いては未だ不明な点が多い。

Klotz¹⁷⁾によれば、カルシュームは鹼化物その他の中間物質として、血中から沈着すると報告しているが、これに反対して Wells and Long¹⁴⁾は結核性肺病巣に於いて、カルシューム塩が沈着する前段階に於いては、血中にあるものと全く同一の形で存在すると報告している。

著者は本篇に於いて核酸に由来する磷酸基が

遊離又はそれに近い形で存在するか否かを確認する為に、人の新鮮な切除結核肺に気管枝動脈より10%の塩化カルシュームを注入して検討を試みた。

この実験によつて得られた知見を、更に究明する目的でシェーブを起して間のない切除結核肺を用いて、磷酸基並びにカルシュームの各種染色方法により組織化学的検討を試みた。

又、第1篇及び第2篇の成績から、結核性肺病巣のカルシューム塩の沈着が一旦沈着した後、再び溶解することなく安定して存在する為には、透過性の低い被膜によつて被包化されることが必要であると考えられる。

併し、結核性肺病巣の被包化の問題を透過性に焦点を置いて検討している研究は甚だ少なく、寺松の外部構造に関する研究³³⁾が、この点に就いて報告しているのみであるので、この問題の検討に当つては、寺松の外部構造を中心として検討を試みた。

即ち、本篇に於ける検討は、病巣内の磷酸基

がカルシウムと結合する前段階に於ける状態を知ると共に、これがカルシウムと結合し存続する為の諸因子を明らかにしめんとして企てたのである。

第1章 結核性肺病巣内に於ける溶解性の磷酸基の検討

第1節 実験材料並びに実験方法

人の新鮮な切除結核肺を用い、これを触診して病巣を確かめた後、略々中央部にて割面を入れて二分し、直ちに10%塩化カルシウム溶液（溶解後1日静置）を気管枝動脈から注入したものを、カルシウム注入側とし、Serra 固定液で固定、水洗、脱水、パラフィンにて包埋、3~6 μ の連続切片を作成した後、H.E. 染色、V. Gieson 染色、pH 3.0~4.0 トルイジンブルーによるメタクロマジア染色、アリザリンS染色、Kossa 氏硝酸銀法、岡本氏モリブデン酸法、岡本氏硝酸銀法を施行した。対照側は切除後直ちに Serra 固定液で固定し、前述と同様に包埋、連続切片を作成し上記の染色を施行した。

検討対象として、10例にこの方法を施行して、その中2例に極めて興味ある所見を認め、残りの8例は対照例と被験例にその差を認めなかつた為、この8例に就いての説明は省略する。

第2節 実験成績

V. Gieson 染色に於いて、乾酪巣を取り囲んで膠原線維層が認められ、乾酪壊死巣はピクリン酸をとり、この部分に酸フクシンをとる部分は見当らない。

第7図は H.E. 染色による所見で、被包乾酪巣に周囲より滲出性細胞が集団をなして浸潤し、病巣の内部に於いて、滲出性細胞の核崩壊部が認められる。即ち、軟化融解せんとしての処の病巣である。

カルシウム注入側のカルシウム染色法の所見は極めて特異的で、乾酪壊死巣の内部にカルシウム塩が奇妙な形をなして認められる。

即ち、第8図はアリザリンS染色によるもの

で、その陽性部分に一致して Kossa 氏硝酸銀法、岡本氏モリブデン酸法も陽性を示し、これ等の所見は一致している点からみて、磷酸カルシウムであることは間違いがない。そしてこれ等のカルシウム塩の沈着は、膠原線維層とも関係がなく、又ヘマトキシリン染色とも特に関係が認められず、第9図に示すように、メタクロマジア陽性物質によつてのみ取り囲まれている。即ち、メタクロマジア陽性物質より成る袋の中に入つたような感じで見出される。

これに反して、対照側には岡本氏モリブデン酸法、Kossa 氏硝酸銀法、アリザリンS法によつても、前述の所見は見出されない。この場合のメタクロマジア陽性部は、ヒアルロニダーゼ及びペプシンにより消化されず、核の崩壊部には一致していない。

第3節 本章小括

以上の所見から、結核性肺病巣に於いて、多量の磷酸基が核酸より放出せられた場合、その一部は溶解性の磷酸基の形で存在しているということが判る。即ち、本実験にみられるように、遊離の磷酸基が溶解性の状態で存在する場合があることが判明した。

第2章 結核性肺病巣内に於ける不溶解性の磷酸基の検討

遊離の磷酸基の状態を更に究明する目的でシェーブを起して間もない人の切除結核肺を用いて検討を加えた。これはシェーブを起して間もない人の切除結核肺は極めて稀な症例であり、いろいろ炎症過程の新しい知見が得られるかもしれないということと、同時に滲出性細胞の核崩壊部附近の磷酸基並びにカルシウムの状態、存在形式を究明する目的で本実験を試みたのである。

第1節 実験材料並びに実験方法

シェーブを起して間もない新鮮な人の切除結核肺を Serra 固定液で固定し、型の如くパラフィン包埋して 4~6 μ の連続切片を作成した

後、この標本を2群に分ち、第1群は被験例として10%塩化カルシウム溶液を2～3分作用させて後、十分に蒸留水にて水洗した後、病理組織学的並びに組織化学的に検討を加え、第2群は対照例として病理組織学的並びに組織化学的に検討を加えた。気管枝周辺部の標本を作成したのは、肉眼的に特にこの附近に炎症が強く、又炎症反応に於いて、常に気管枝周辺部がその中心となる為である。

第2節 実験成績

気管枝周辺部を中心として剝離性肺炎像を呈し、中には既に壊死に陥入っている像もみられる。第10図は、H.E. 染色法による所見で、多数の多核白血球、大滲出性細胞がみられ、処々に核崩壊部が認められる。

被験例に於いては、滲出性細胞核崩壊部並びに壊死部に一致して、岡本氏モリブデン酸法で陽性を呈し、アリザリンS法でも陽性で、両法による陽性部が一致している為に、磷酸カルシウムの存在が推定されるわけである。

これに反し、対照例に於いては、岡本氏モリブデン酸法で陽性を呈するがアリザリンS法では陰性である。

第3節 本章小括

連続切片の隣接せる2つの標本に於いて、岡本氏モリブデン酸法では両標本とも陽性を呈し、10%塩化カルシウム溶液作用後の場合は、アリザリンS法で陽性を示すが、無処置の対照例に於いてはアリザリンS法で陰性である。

第3章 外部構造とカルシウム塩との関係

切除結核肺に於いて、我々が認めるカルシウム塩は、最後に残ったカルシウム塩をみている場合が多いということは、既に第1篇及び第2篇の諸実験により明確である。

周知のように、pH が酸性の場合には、病巣内のカルシウム塩は溶解する。永続的に存在する為には、炎症が周辺より波及せぬことが必要である。換言すれば、寺松の所謂外部構造³³⁾の如きものにより、被包化されることが必要条件

である。この意味に於いて、寺松の所謂外部構造³³⁾が極めて重要な因子としてその役割を示して来る。そこで著者は、外部構造に就いては、寺松³³⁾の考えに従つてカルシウム塩と外部構造との関係を検索した。

第1節 実験材料並びに実験方法

人の新鮮な切除結核肺を、肉眼的に十分検討した後、これを中性ホルマリン、Carnoy 固定液、Serra 固定液により固定、次いで水洗しカーボワックス或いはパラフィンにて包埋、2～6 μ の切片を作成し、これに組織化学的検討法として H. E. 染色法、V. Gieson 染色法、Mallory 染色、格子線維染色、Bielschowsky-Maresch 氏鍍銀線維染色法、岡本氏モリブデン酸法、アリザリンS法、Kossa 氏硝酸銀法、スーダン III 及びスーダンブラックによる脂質染色法、pH 4.0 のトルイジンブルーによるメタクロマジア染色方法により検索した。

第2節 実験成績

膠原線維層が層状に規則正しく配列し、その内側にメタクロマジア陽性層が層状に認められ、脂質陽性層がメタクロマジア陽性の内側に、層状に認められるような寺松の外部構造が完成された乾酪巣に於いては、第1篇第1章で既述したように、岡本氏モリブデン酸法、アリザリンS法、Kossa 氏硝酸銀法は、一致した部分に陽性を呈し、その染色状態は薄く均一性に雲翳状に認められる(第1図参照)。

但し、外部構造が完成された乾酪巣には、こうした形の磷酸カルシウムの沈着が認められるが、勿論陰性の場合も多い。

外部構造が完成されないか不完全な場合、即ち、膠原線維層が極めて不規則で、メタクロマジア陽性層及び脂質陽性層が部分的か又は陰性のような乾酪性病巣に於いては、滲出性細胞の核崩壊部に略々一致して、磷酸カルシウム稀に炭酸カルシウム、脂肪酸カルシウムが認められる。

次に、膠原線維層、メタクロマジア陽性層、脂質陽性層の個々を取り上げて検討を試みてみた。これ等3者は略々併行して存在している

為、個々のものとカルシウム塩の沈着には、直接的関係は特に認められない。

第3節 本章小括

カルシウム塩が薄く雲翳状に認められる場合に於いては、外部構造の完成が必要であるが、その逆の場合、即ち外部構造が完成した病巣に、必らずしもカルシウム塩の沈着は認められない。

又、滲出性細胞の核崩壊部に一致して濃く不均一性にカルシウム塩が認められる場合に於いては、外部構造との関係は特に認められない。

又、外部構造を形成する膠原線維層、メタクロマジア陽性層、脂質陽性層の個々とカルシウム塩との関係は特に認められない。

第4章 綜括並びに考按

本篇第1章の気管枝動脈よりのカルシウム溶液注入実験は、多くの極めて重要な問題を含んでいる。即ち、対照側に於いて、磷酸基並びにカルシウムの染色が陰性であつたことから、対照側に於ける磷酸基は溶解性の形で存在し、固定、水洗、包埋等の処理中に溶出したと考えられる。

カルシウム注入側にみられる磷酸基は、組織中に於いてメタクロマジア陽性の物質により取り囲まれた為に溶出せず、10%塩化カルシウムを注入することにより不溶解性の磷酸カルシウムと化した為に、固定、水洗、包埋等の処理中に溶出しなかつたのである。

又塩化カルシウムと磷酸基の反応速度からみて、カルシウム溶液注入又は固定包埋により磷酸基の局在性が移動したとは考えられず、この磷酸基はメタクロマジア陽性物質に取り囲まれた部に存在していたものと思われるのである。

核酸に由来する磷酸基は、このような遊離の磷酸基が溶解性の状態で存在することが前述の実験より明確にされた。又この場合の病巣の性質上、カルシウムイオンの存在がないとは考えられない為に、当然磷酸カルシウムは作成されているが、炎症が消褪せず、pH が酸性の

為に溶解して流出し、存在し得ないのであろう。この場合のメタクロマジア陽性物質は、ヒアルロニダーゼにより消化されず、核崩壊部に一致せず、ペプシンにより消化され難い為、現在の処、何に由来するメタクロマジアか不明である。

第2章に於いて詳述したように、シュープを起して間のない人の切除結核肺の場合、連続切片の隣接した2組の標本は、岡本氏モリブデン酸法で陽性を呈するが、10%塩化カルシウム溶液で処置した側(即ち被験例)にのみ、アリザリンS染色法により陽性を呈する。これはその部分の磷酸基が標本作成上のいろいろの操作にも拘らず残存する為に、溶解性の磷酸基のような形ではなく、有機物と結合したものか或いはゲルの状態で存在し、10%塩化カルシウム溶液を作用させることにより、簡単に磷酸カルシウムと化したことを意味する。こうした炎症の激しい場所に於いては、カルシウムイオンが全く存在しないと考えられないが、恐らくこの場合には、炎症が消褪せず、従つてpH が酸性の為に、磷酸カルシウムの形で沈着が起らなかつたものと思われる。

併し、溶解性の酸基は標本処理のいろいろの操作の間に漏出し、pH が中性となり、その結果有機の高分子物質と結合することによつて残存していた不溶解性の磷酸基が、10%塩化カルシウム溶液の処理により、磷酸カルシウムを形成するに到つたものと思われる。

次に、カルシウム塩沈着と被包化の関係は極めて重要であるが、併し、その被包化を形成する個々のもの、即ち、膠原線維層、メタクロマジア陽性層、脂質陽性層を取り出してその関係を追求しても、特にカルシウム塩沈着の間には直接的な関係は認められない。それはカルシウム塩沈着及びその存続には、周囲と或る程度隔絶した反応の場の存在が必要条件であり、その反応の場を形成する為に、被包化が必要であると考えられるのである。従つてその被包化を形成する個々のものと直接の関係がないのは当然のことかもしれない。

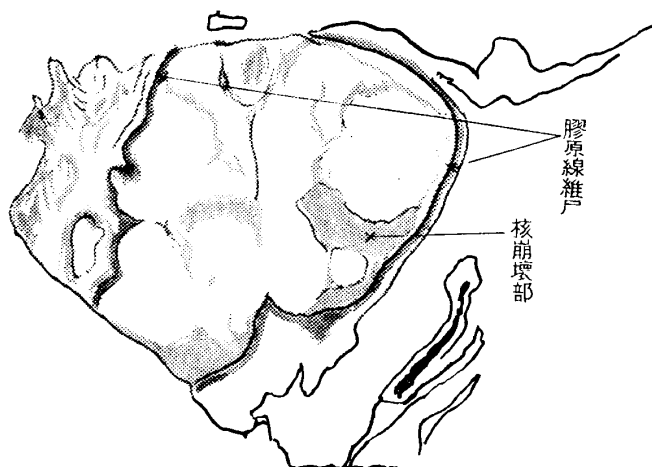
結 論

著者は、新鮮な人の切除結核肺の気管枝動脈より塩化カルシューム溶液を注入し、又シュリーブを起して間のない人の切除肺を対象として病理組織学的並びに組織化学的に検討し、更に寺松の外部構造とカルシューム塩沈着との関係を

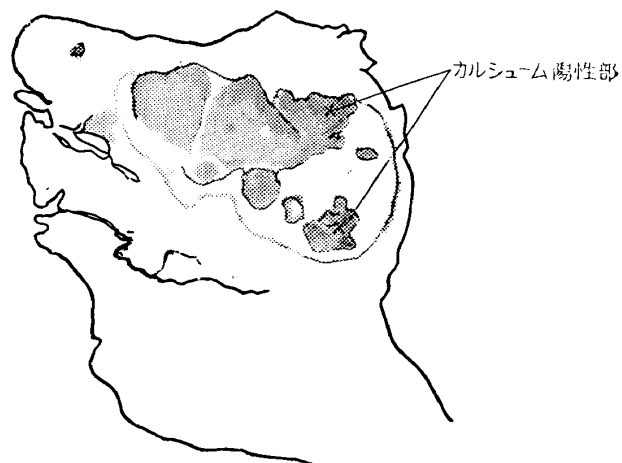
検索した結果、次の結論を得た。

- 1) 核酸に由来する磷酸基は溶解性或いは不溶解性の形で存続する場合がある。
- 2) カルシューム塩沈着と被包化形式の個々のものとは特に密接な関係は認められない。

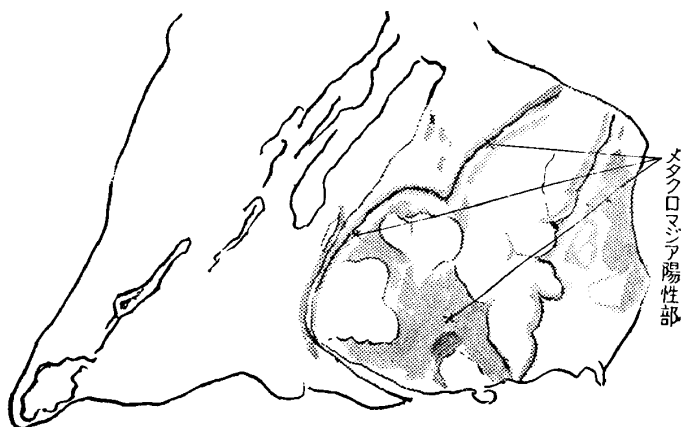
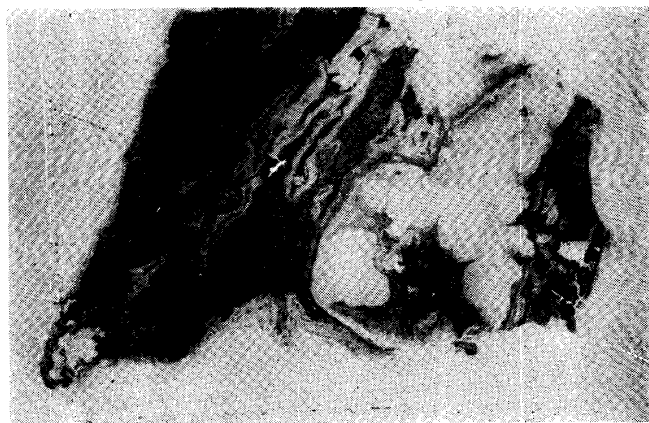
第7図 気管枝動脈より塩化カルシューム注入側 (H.E. 染色法)



第8図 気管枝動脈より塩化カルシューム注入側 (アリザリンSカルシューム染色法)



第9図 気管枝動脈より塩化カルシューム注入側 (メタクロマジア染色法)



第10図 シュ ー プを起して間のない切除肺 (H.E. 染色法)

