

脳質コリンエステラーゼ活性分布に関する 組織化学的研究

〔第4篇〕 脳質コリンエステラーゼ活性分布と脳透過性との関係

京都大学結核研究所小児特異性研究部（指導 授教 佐川 一郎）

木 口 尙 好

（昭和34年6月30日受付）

〔内 容 抄 録〕

コリンエステラーゼ (Ch E) の細胞透過性に対する作用についてその活性分布との関係を明らかにするため、マウスにトリパン青、又は酸性フクシンによる生体染色（生染）を行い、更に Ch E 活性に変動を及ぼすと思われるアセチルコリン (ACh), ワゴスチグミン (Vag) を併用し、その脳質 Ch E の組織化学的検索を行つて次の結果を得た。

1) トリパン青による生染において、その染色性の高い部分の全および特異的 Ch E 活性は軽度の増大傾向がある。

2) 酸性フクシンによる生染法により動物は痙攣死を来し、染色性は高度であるが、その際の全および特異的 Ch E の活性は増大している。

3) ACh-Vag 併用注射により致死したときの全および特異的 Ch E 活性は著しく減少している。

4) 酸性フクシン生染に ACh-Vag を併用注射したときの染色性は著しく高度で、しかも染色範囲が広いが、その際の全および特異的 Ch E 活性は減少している。

5) 非特異的 Ch E 活性はすべて陰性である。

1 緒 言

神経系の刺激伝達物質に関する研究の進歩は、幾多未踏の分野を漸次開拓しつつあり、アセチルコリン (ACh) についても、単に神経作用の化学的伝達機能物質、局在ホルモンとしての機能に加えて、細胞透過性に対する作用が近時注目されるに至り、生理機構の解明に ACh, コリンエステラーゼ (Ch E) の役割が新しい展開を与えている。血球の透過性は Ch E を抑制しても左右されない¹⁾ と云われるが、脳の透過性は Ch E を抑制することにより高ま

る¹⁾²⁾³⁾と報告されている。しかして、これらは Ch E 抑制剤と薬剤効果の組合せによる実験の結果である。一方、脳透過性が年令的差異を有することを生体染色（生染）法によつて組織学的に示した報告があり⁴⁾、私は Ch E 活性が年令的差異を有することを組織化学的に検索し第3篇⁵⁾に述べた。このことより、生体染色法を行つて Ch E を検索することにより、Ch E 活性状態と脳透過性の関係を知り得るのではないかと考え、次のごとき実験を行つたのでここに報告する。

2 実験方法

1) トリパン青 (Trypan blau) 生染法による実験

生体染色法については既に報告紹介されている⁴⁾⁶⁾のでここでは簡単に述べる。

染色液の作製法：

トリパン青0.5 g 又は 1 g を蒸溜水 100cc に溶かし、使用時濾過し、濾液を沸騰させた。この溶液は使用度毎に新しく作製した。

染色法：

上記0.5%又は1%トリパン青を下記の通りに体重15 g 前後のマウスに注射した。

(1) 1%トリパン青を隔日に3回背部皮下に注射。

(2) 0.5%トリパン青を隔日6回背部皮下に注射。

以上いずれも体重20 g に対し0.5cc の割合で行つた。

(3) 1%トリパン青を第1回目は静脈注射、以後隔日に2回皮下注射。

(4) 0.5% トリパン青を第1回目静脈注射、以後隔日に5回皮下注射。

以上静脈注射はいずれも皮下注射の1/3量を注射した。

最後の注射後5日目にクロロホルムにて屠殺し、直ちに脳を摘出して一部は次の固定液に浸漬した。又一部はそのまま凍結切片として Ch E の検索に供し、更に一部は冷アセトンに投入して非特異的 Ch E 検索用とした。

固定：ハイデンハイン氏液⁷⁾⁸⁾ (昇汞4.5g, 食塩0.5g, 蒸溜水 80 cc, トリクロル醋酸2g, 氷醋酸 4cc, フォルマリン 20cc) またはブアン氏液⁷⁾⁸⁾ (飽和ピクリン酸 15cc, フォルマリン 5cc, 氷醋酸 1cc) で固定した。固定時間はハイデンハインの場合は24時間、ブアンの場合は2時間とした。固定後ハイデンハインよりは純アルコールへ、ブアンよりは80%アルコールへ移し、次の操作によつてセロイジン、パラフィン包埋を行つた。

純アルコール 12時間

エーテルアルコール 5時間

2%セロイジン 2日

4%セロイジン 7日

クロロホルム 数日

カルボール・キシロール 1時間

ベンゼン 1時間

ベンゼン・パラフィン 1晩

パラフィン包埋 1時間半

切片作製

後染色：ピスマルク褐染色。

脱水、透徹、封入後鏡検。

凍結切片、冷アセトン投入の Ch E 検索方法については第1篇⁹⁾に述べたので省略する。

上記生体染色標本および Ch E 検索標本の両者につきその所見を観察した。実験方法の概要については第1表に示す通りである。

2) 酸性フクシン, アセチールコリン (ACh), ワゴスチグミン (Vag) による実験

トリパン青による動物の皮膚青染に時日を要するため、酸性フクシンの使用を考え、酸性フクシン 10mg を蒸溜水 200cc に溶かし、その液を濾過、沸騰させ体重 20g 前後のマウス

第1表 トリパン青生染による実験方法

染料濃度	注射量, 方法	屠殺法	固 定	切片作製	Ch E 検索
1%	0.5cc/20g 皮下注射 隔日3回	最後の注射より五日目にクロロホルム屠殺	ハイデンハイン 又は ブアン	セロイジン パラフィン 二重包埋	
	第1回 0.2cc/20g 静脈注射後 0.5cc/20g 皮下注射 隔日2回		冷アセトン	セロイジン パラフィン 二重包埋	非特異的 Ch E (Gomori)
0.5%	0.5cc/20g 皮下注射 隔日6回		凍 結	凍結切片	全 Ch E (Koelle & Frieden-) 特異的 Ch E (Koelle)
	第1回 0.2cc/20g 静脈注射後 0.5cc/20g 皮下注射 隔日5回				

に 0.2cc/10g の割合で注射した。すなわち酸性フクシン 10 mg/kg となる。同時に既述の報告¹⁾²⁾³⁾を参考として、ACh, Vag の使用を考え、酸性フクシンは 0.1cc/10g すなわち 5mg/kg とし、ACh は 50mg/kg, Vag は 0.1mg

第2表 酸性フクシン生染, ACh-Vag 注射による実験方法

薬 品	注 射 量, 方 法	屠 殺	固 定	検 索
酸フクシン	酸性フクシン 10mg/kg 腹腔内注射	全 部 死 亡	ハイデンハイン 冷アセトン 凍 結	染色状態 Ch E 検索
ACh + Vag	ACh 50mg/kg } 腹腔内 Vag 0.4mg/kg } 注射		冷 凍	Ch E 検 索
	ACh 50mg/kg } 腹腔内 Vag 0.2mg/kg } 注射		アセトン	
酸フクシン + ACh + Vag	ACh 50mg/kg } 腹腔内 Vag 0.1mg/kg } 注射		凍 結	染色状態 Ch E 検索
	酸性フクシン 10mg/kg } ACh 50mg/kg } Vag 0.4mg/kg }		ハイデンハイン 冷アセトン 凍 結	
	酸性フクシン 5mg/kg } ACh 50mg/kg } Vag 0.2mg/kg }		凍 結	

/kg の割合で注射した。以上を組合わせて次のようにした。

- (1) 酸性フクシン単独腹腔内注射。
- (2) 酸性フクシン - ACh-Vag 併用。
- (3) A Ch-Vag 併用。

動物致死後、脳を摘出しハイデンハイン固定、冷アセトン固定、そのまま凍結切片作製の3群に分け、後の2者はCh E検索用とし、生染標本と併せて観察した。実験方法の概要は第2表に示す通りである。

3 実験成績

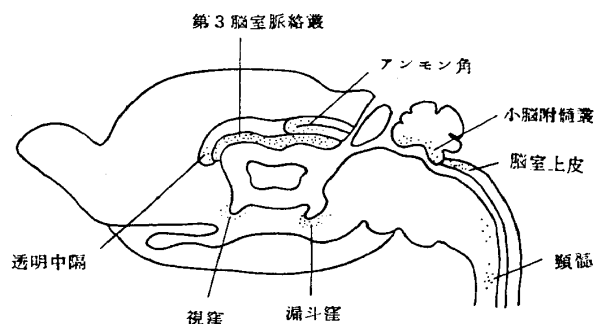
1) トリパン青生染法による実験

(1) 染料注射後の状態

0.5% トリパン青を注射すると静脈注射後皮下注射の場合は第1回皮下注射の翌日より、皮下注射の場合はその第3回目の翌日より皮膚は青染し、更に注射を続けて第6回目の注射後には眼球結膜、鼻部は深青色を帯びる。1%の場合は静脈注射ではその翌日、皮下注射では第2回目の翌日より皮膚青染し、第3回目の注射により深青色を呈する。その後5日間はその色は同様の状態を続ける。なおこの際の尿も大便も青色を呈している。

(2) 生染成績

成績は第3表、第1図に示すごとく第3脳室脈絡叢に高度の染色性を認め、顕微鏡で多くの色素顆粒を認める。視窪部、漏斗窪部、脳室上皮には中等度の染色性を認め、かなりの色素顆



第1図トリパン青注射状態(模式図)

粒を認める。アンモン角、透明中隔、小脳附随叢、頸髄部では僅かの染色性を示し、色素顆粒の散在せる所見を認める。

(3) Ch E 検索成績(第4表)

i) 第3脳室脈絡叢部

この部の全および特異的Ch E活性状態はやや増大傾向を認め、その神経細胞にはかなりの硫化銅反応を認める。非特異的Ch Eは陰性であつた。

ii) 第3脳室下部灰白質部

この部の全Ch Eおよび特異的Ch E活性はほぼ正常を示し、非特異的Ch Eの活性は認められなかつた。

iii) 小脳皮質

この部の全Ch E、特異的Ch Eの活性状態もほぼ正常程度であり、非特異的Ch Eの検索結果は陰性であつた。

2) 酸性フクシン, A Ch, Vag による実験成績

(1) 注射後の症状状態

酸性フクシン 10mg/kg を腹腔内に注射すると15~20分で皮膚赤染を来し、30分にて痙攣を起し死亡する。ACh 50mg/kg-Vag 0.4mg/kg を併用腹腔内注射すると注射後1~2分以内に痙攣をおこすことなく死亡する。また酸性フクシン - A Ch-Vag の三者を上記量併用注射しても2~3分以内に痙攣をおこすことなく死亡する。

酸性フクシン 5mg/kg-A Ch 50mg/kg-Vag 0.2mg/kg の三者を併用注射すると5分以内に痙攣をおこすことなく死亡する。A Ch-Vag の上記量併用注射では2~3分以内にこれも痙攣をおこすことなく死亡する。これらの動物は死

第3表 トリパン青生染成績(平均)

部位	第3脳室脈絡叢	視窪、漏斗窪	脳室上皮	アンモン角	透明中隔	小脳附随叢	頸髄
染色性	++	+	+	±	±	±	±

第4表 トリパン青生染時のCh E活性状態(平均)

部位	大脳皮質	第3脳室脈絡叢	第3脳室下部灰白質	小脳皮質
全Ch E	+~++	+~++	+	+
特異的Ch E	+~++	++	+	+~++
非特異的Ch E	-	-	-	-

亡時までには皮膚赤染を来さない。

酸性フクシン 5mg/kg-A Ch 50mg/kg-Vag 0.1mg/kg の三者併用注射をした場合には10～15分で皮膚の赤染を来し、30分～15時間で痙攣をおこすことなく死亡し、ACh-Vag 上記量併用注射では20～30分で痙攣をおこすことなく死亡する。概要は第5表に示す通りである。

第5表 酸性フクシン ACh, Vag 注射時症状

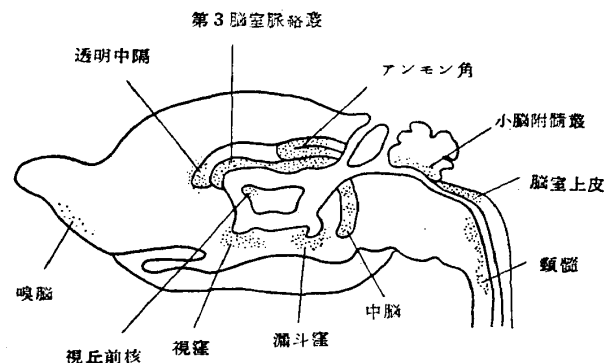
注 射 薬 品	薬 品 量	主 症 状	染色時間	致死時間
酸性フクシン	酸性フクシン 10mg/kg	痙攣	15～20分	30分
ACh + Vag	ACh 50mg/kg Vag 0.4mg/kg	痙攣	—	1～2分
	ACh 50mg/kg Vag 0.2mg/kg			2～3分
	ACh 50mg/kg Vag 0.1mg/kg			20～30分
酸性フクシン + ACh + Vag	酸性フクシン 10mg/kg ACh 50mg/kg Vag 0.4mg/kg	麻痺	未 染	2～3分
	酸性フクシン 5mg/kg ACh 50mg/kg Vag 0.2mg/kg			5分
	酸性フクシン 5mg/kg ACh 50mg/kg Vag 0.1mg/kg		10～15分	30分～15時

(2) 生染成績

酸性フクシンで皮膚赤染後死亡せるものについての成績は第6表、第2図に示すごとく酸性

第6表 酸性フクシン生染成績 (平均)

染料	酸性フクシン (10mg/kg)	酸性フクシン (5mg/kg) ACh (50mg/kg) Vag (0.1mg/kg)
部位		
第3脳室脈絡叢	++	+++
視 窓	+	+++
漏斗 窓	+	+++
脳室上皮	+	+++
アンモン角	±	++
透明中隔	±	++
小脳附随叢	±	++
頸 髄	±	++
中 脳	—	+
嗅 脳	—	+



第2図 酸性フクシン生染状態 (模式図)

フクシン単独 10mg/kg 注射せるものは、トリパン青とほぼ同様な染色性を示すが、ややその染色度は高い。酸性フクシン 5 mg/kg-A Ch 50mg/kg-Vag 0.1mg/kg 三者併用注射せるものでは、染色度高く、第3脳室脈絡叢はもちろん、視窓部、漏斗窓部、脳室上皮等の部分にて染色性強く、顕微鏡所見で多くの色素顆粒を認める。透明中隔、アンモン角、小脳附随叢、頸髄部では中等度の染色性を示し、かなりの色素顆粒を認め、中脳の諸核、嗅脳にも軽度の染色性、色素顆粒の存在を認め、視丘前角部にも僅かながら色素顆粒を認める。

(3) 検索成績 (第7表)

第7表 酸性フクシン生染, ACh-Vag 注射時の Ch E 活性状態 (平均)

薬 品	注 射 量	部位	第3脳室脈絡叢	第3部脳室白	下質	小脳皮質	中脳
酸性フクシン	酸性フクシン 10mg/kg	Ch E	全特異的 非特異的	++ —	++ —	++ —	++ —
ACh + Vag	ACh 50mg/kg Vag 0.4mg/kg	全特異的 非特異的	— —	— —	— —	— —	— —
	ACh 50mg/kg Vag 0.2mg/kg	全特異的 非特異的	— —	— —	— —	— —	— —
	ACh 50mg/kg Vag 0.1mg/kg	全特異的 非特異的	± —	± —	± —	± —	± —
酸性フクシン + ACh + Vag	酸性フクシン 10mg/kg ACh 50mg/kg Vag 0.4mg/kg	全特異的 非特異的	— —	— —	— —	— —	— —
	酸性フクシン 5mg/kg ACh 50mg/kg Vag 0.2mg/kg	全特異的 非特異的	± —	± —	± —	± —	± —
	酸性フクシン 5mg/kg ACh 50mg/kg Vag 0.1mg/kg	全特異的 非特異的	++ —	± —	++ —	++ —	++ —

i) 第3脳室脈絡叢

酸性フクシン単独では全 Ch E および特異的 Ch E 活性は増大を認め、神経細胞に強い硫化銅反応を認める。非特異的 Ch E の検索成績は陰性であつた。A Ch-Vag 併用では全および特異的 Ch E の検索成績はほとんど陰性で、拡大所見で僅かな硫化銅反応を認めるのみであり、非特異的 Ch E も陰性所見を呈した。酸性フクシン -A Ch-Vag 併用では Vag 0.1 mg/kg のもののみ全および特異的 Ch E の活性を認めたが、正常活性に比べると減少を示していた。非特異的 Ch E 活性を認めなかつた。

ii) 第3脳室下部灰白質部

酸性フクシン単独では全および特異的 Ch E の活性増大を認め、以下各群とも第3脳室脈絡叢とほぼ同様の所見を呈していた。

iii) 小脳皮質

この部においても酸性フクシン単独が全および特異的 Ch E の活性がやや増大傾向にあつたが、以下各群の活性状態は第3脳室脈絡叢部とほぼ同様な所見であつた。

iv) 中脳

酸性フクシン単独のこの部の全および特異的 Ch E の活性はほぼ正常程度であり A Ch-Vag の併用およびそれと酸性フクシン併用時に全および特異的 Ch E の活性減少を認め、特に前者においてその減少度が大きであつた。非特異的 Ch E はいずれも陰性であつた。

4 総括および考按

1) 生染法について

生染の機序については従来から類脂肪説、超濾過説、酸塩基説などが唱えられているが、未だ通説がない。生染に用いる染料には酸性のものと塩基性のものとがあり、酸性染料としてトリパン青、カルミン、塩基性染料として中性赤、メチレン青、ヤーマス緑、ニル青、ビスマルク褐、ナフトール青などが挙げられており⁶⁾、どの染料を使うかが先ず問題となる。私は Behnsen の実験⁴⁾を参考として最初トリパン青を選んだ。この溶液は使用度毎に新しく作製する必要がある、古くなつた溶液はしばしば毒性が

増している。第1回目に静脈注射をしたものもあつたが、皮下注射を主とした。これはマウスでは静脈内の再注射は困難で、しかも染料の関係上4~5回注射を繰り返す必要があるためである。静脈注射の場合中毒を避けるために皮下注射よりもその量を少なくすることはもちろんで、皮下注射の1/3量とした。

普通マウスに対しては体重20gに対して0.5%を0.5~1cc 皮下注射するとされているが、私は1%, 0.5%のものをつくり、いずれも0.5cc/20g 注射した。これは4~5回の注射回数を少なくし得ると考えたためで、事実1%を使用すると3回注射で皮膚は深青色となり、その目的を達し得る。更に高濃度にするとは、その毒性の点より疑問があり、1%では中毒死は来さなかつた。上述のごとくこの染料では染色に時日を要し Ch E 検索を行う上に不便を感じる。そこで酸性フクシンを次に試用してみたわけであるが、15~20分で皮膚は赤色を呈し、その点では有利なものとする。ただし、痙攣死を来し、第2篇¹⁰⁾に述べたごとく痙攣と Ch E の活性には関連性が認められるので、Ch E 検索結果を考察する場合考慮を有するものとする。しかし一方、Ch E 活性増減と染色性を一度に観察し得る利点があることも考えられる。次に凍結切片を作るときには問題にならないが固定液の問題がある。ハイデンハイン氏液またはブアン氏液の使用において、ハイデンハインは固定時間が長い色素が游出する欠点を認め、ブアンは固定時間は短かいが、組織標本が黄色に着色する欠点があり、いずれとも云い難いのではないかと考える。Behnsen は20%フォルマリンで12~24時間固定しているが、ハイデンハインよりも一層色素の游出が大きいのではないと思われる。

2) セロイジン・パラフィン二重包埋について

セロイジン・パラフィン二重包埋法は古くから行われ、Behnsen も行っているが、これは組織の収縮を避けるために行われるもので、原法のまま8%のものをクロロフォルム蒸気内で固まらせてからパラフィンに包埋すると、硬す

ぎて普通切片用のメスでは切れないことが多い。

そのために変法が考えられ¹¹⁾¹²⁾ているが、セロイジン濃度の低いため、収縮度が多少犠牲になつたり、操作にやや技術を要する。私は実験方法で述べたとき二重包埋法を行つた。

3) 生染成績について

酸性原料は細胞形質内に溜り、次第に数、大きさ、色を増すとされ、トリパン青腹腔内注射の場合は漿膜の内皮細胞に摂取される⁶⁾といわれる。私の実験では脳摘出時に髄膜を完全にとることが出来ず、この点を確かめ得なかつたが、脳質内の色素顆粒の存在部位所見はBehn-sen の報告とほぼ一致し、第3脳室を包む灰白質部に染料の沈着を認め、おそらく髄液に移行した後透過性の高い部分の脳実質内へ摂取されたのではないかと思われた。酸性フクシンによつても同様の考えを抱かしめるが、やや染色性が強かつたことは皮膚の染度が早いことより色素そのものの移行性の強いこと、それに痙攣をおこしたことより後述するときCh E活性の状態が関するものと思われる。A Ch-Vag 併用時の最も著るしい染色性は後述するときVag の非特異性Ch E活性に対する作用および第2篇で考察したときA Chの脳血流増大、脳血管拡張作用のための染料の多量移行がその一因をなしているものと考えられる。

4) Ch E 検索成績について

Ch E の検索は色素顆粒の存在する部位に重点をおいて行つたが、トリパン青生染標本でその染色性の高い第3脳室を囲む灰白質部において軽度ではあるが、全および特異的Ch E活性の増大傾向を認めたことはなんらかの関連性と思わせ興味深かつた。酸性フクシンにて生染したとき、全および特異的Ch Eの活性増大を認め、特に色素顆粒の多くの存在を示した部分においてそれが目立っていたこともその感を一層深からしめるものがあつた。

A Ch および Vag 注射時のCh E活性状態に及ぼす影響については、A Ch 単独、Prostigmin 単独注射を行つて、その脳のCh E活性値をみた結果、A Ch では幾分減少傾向はある

が大して影響を及ぼさず、Prostigmin では全然活性を抑制しなかつたという報告¹³⁾、又、Vag の脳Ch E阻害率は92%という報告¹⁴⁾があるが、A Ch-Vag 併用注射の私の実験では著るしくその全および特異的活性が減少し、正常の1/10以下の活性状態と思わせた。この二者に酸性フクシン生染を併用したときも全および特異的Ch Eの活性は同様な減少を認め、この際の染色性が最も強かつたことは、前述の関連性は特異的Ch E活性そのものではなく、その活性の増減によるA Chの変動、それに伴う特異的以外のおそらく非特異的Ch Eの活性状態が関連性を有するのではないかと考えられた。しかし非特異的Ch Eの検索結果はいずれも陰性であつて、実際の非特異的Ch Eの活性状態の増減を確認することは出来なかつた。

5) 脳Ch E活性と脳透過性の関連性について

透過性とCh E活性の関連については、緒言にて述べたごとく脳の透過性はCh Eを抑制したとき高まつていると報告¹⁾²⁾³⁾されているが、私の実験のように生染法を併用しての検索では染色性がそのまま透過性を現わすものと考えては早計であり、成績でも述べたごとく、特異的Ch E活性増大時にも活性減少時にも染色性は高かつた。そのため生染法によつてCh E活性と透過性の関係を論ずる際には、種々の点を考慮する必要があるものと考えられる。

その一つとして色素の移行があり、私の実験成績からは、トリパン青より酸性フクシンの方が移行性が大のようであつた。更にA Ch-Vagの併用時はCh E活性の減少を認めたが、これは第2篇で考察したごとくA Chの増大を意味し、脳血管の拡張、脳血流の増加を来し、それによつて多量の色素が脳へ移行するものと思われる。次に血管透過性の問題があり、これには非特異的Ch Eが関係を有する²⁾³⁾とされており、私の実験ではその活性がすべてに陰性であつたために多くを論じ得ないが、その抑制剤であるVagを使用した場合その染色性が高かつたことは前記諸報告と一致する所見であつた。

以上の点を除外して特異的Ch Eと透過性の

関係を考按すると、その活性の減少は透過性と関連を有しないが、活性増大の場合は関連性を有し、透過性の亢進を来すものと考えてもよいと思われる。これによつて赤血球すなわち特異的 Ch E 活性を抑制しても血球の透過性は左右されないという報告¹⁾、また生後2～3週の特異的 Ch E 活性の増大を認めた時期のマウスで染色性が高度で透過性の亢進を認めたという報告⁴⁾を説明し得るのではないかと考える。

5 結 論

マウスを使用し、これにトリパン青、酸性フクシンによる生体染色法および Ch E 活性に影響をおよぼすと思われる A Ch, Vagostigmin を併用して、その脳質活性状態を組織化学的に検索し脳 Ch E 活性と脳透過性との関係について次のような結論を得た。

1) トリパン青による生染では染色性の高い部分の特異的 Ch E 活性はやや増大傾向があり、非特異的 Ch E 活性は陰性である。

2) 酸性フクシンによる生染では動物は痙攣死を来すが、染色性はやや高度で、その際の特異的 Ch E 活性は増大している。

3) A Ch-Vagostigmin 併用注射により特異的 Ch E 活性は著るしく減少し、酸性フクシン生染を行つた場合には染色性は著るしく高度であり、非特異的 Ch E 活性は認められない。

4) 生染法によつて透過性を論ずる場合には色素の移行性を考慮する必要がある。

5) Ch E 活性と透過性との関係は、その亢進には非特異的 Ch E 活性の抑制および特異的 Ch E 活性の増大が関連を有し、特異的 Ch E の活性減少は関連を有しないと思われる。

稿を終るにのぞみ、御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師佐川教授に深甚の謝意を表し、又、御教示御援助をいただいた京都通信病院宮野博士をはじめ研究所諸先生に深謝する。

主 要 文 献

- 1) 市川洋一：日本臨床. 13, 1395 (昭30) .
- 2) Lindvig, P.E., Greig, M.E. & Peterson, S. W. : Arch. Biochem. 30, 24 (1951).
- 3) Greig, M. E. & Mayberry, T. C. : J. Pharm. Exp. Therap. 102, 1 (1951).
- 4) Behnsen, G. : Zeitsch. Zellfor. u. Mikroskop. Anat. 4, 515 (1927).
- 5) 木口尚好：京大結研紀要. 8, 2, 714 (昭34)
- 6) 山田平弥他：新しい組織学研究法. p.62 (昭30) .
- 7) 岡本耕三他：顕微鏡的組織化学. p.15 (昭31) .
- 8) 山田平弥他：新しい組織学研究法. p.5 (昭30) .
- 9) 木口尚好：昭和32年度京大結研学術講演会
- 10) 木口尚好：第62回日本小児科学会総会
- 11) 矢島権八他：新しい組織学研究法. p. 247 (昭30) .
- 12) 鈴木清：超薄総研委. 2, 5 (昭28) .
- 13) 芳我哲次郎：小児科紀要. 2, 107 (昭31) .
- 14) 北川照男：日本小児科学会雑誌. 61, 319 (昭32)