

Title	Histochemical studies on acid mucopolysaccharides. On some new methods and differentiation in the tissue sections( Abstract_要旨 )
Author(s)	Sugiyama, Taketoshi
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	1964-12-22
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2433/211381">http://hdl.handle.net/2433/211381</a>
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

【146】

氏名	杉山武敏
	すぎ やま たけ とし
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第161号
学位授与の日付	昭和39年12月22日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	<b>Histochemical studies on acid mucopolysaccharides. On some new methods and differentiation in the tissue sections</b>
	(酸性粘液多糖類の組織化学的研究。二、三の新しい方法および組織切片中における鑑別について)
論文調査委員	(主査) 教授 岡本耕造 教授 早石 修 教授 翠川 修

論文内容の要旨

酸性粘液多糖類の組織化学的研究は、Hale (1946) によるコロイド鉄法の導入以来、急速に進展した。最近の結合織や上皮性粘液の生化学あるいは生物学的研究の進展に伴い、各種、酸性粘液多糖類の組織内における鑑別方法の確立、あるいは鋭敏な方法の確立が望まれている。とくに現在この方面の研究の盲点は、人体において知られている8種の酸性粘液多糖類すなわち、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸 A, B, C, ケラト硫酸, ヘパリン硫酸, ヘパリンのうちケラト硫酸が全く組織化学の対象となっていないことである。従って、著者は本研究において、この二点を改善しようと試みた。

すなわち、まず、酸性粘液多糖類が陰性荷電を有する糖の重合体で、陽性荷電粒子をこの荷電群と結合、これを封鎖すれば沈殿を生ずるが、これが有色沈殿あるいはのちに着色可能な沈殿であれば、組織化学的方法となりうることを考え、多くの陽性荷電物質、すなわち、数多くの塩基性色素、金属コロイド、ヘモグロビンコロイド、陽性表面活性剤の試験管内での酸性粘液多糖類の沈殿能力を検討した。沈殿を発生したもののうち、組織に適用して実用可能なものを選択し、その結果、二つの興味ある方法をつくりあげた。

(1) 一つは表面活性樹脂を用いる方法で、このものはスルホン酸基を有する一般の酸性色素とも沈殿を生ずるが、種々検討の結果、安定で分別の良好なアゾ色素をとり入れた。この方法はヒアルロン酸など弱酸性のものを含む酸性粘液多糖類の一般的証明方法である。

(2) 塩基性色素は、単にその静電氣的吸着性の利用される場合もある(アルシアンブルー)が、そのうえメタクロマジー性(チオニン、トルイジンブルー)や蛍光性(アクリジンオレンジ)が酸性粘液多糖類の証明に利用されている。著者の研究した色素のなかで、ニュートラルレッドは、酸性粘液多糖類を、赤染する硫酸性のものと、褐色染する弱酸性のもの2群に染めわけける点で興味のある色素であり、両群の同一切片上での同時証明に利用出来る。

以上のほか、コロイドジルコニウム、ヘモグロビンなどの陽性コロイドでも酸性粘液多糖類の証明が可

能であることが示され、今後さらに長鎖パラフィン基を有する色素、あるいは色素団を有する陽性表面活性剤の使用が、酸性粘液多糖類証明法の改善への一つの方向であろうと考えられた。

つぎに、酸性粘液多糖類のうち、未だ組織化学的方法の知られていないケラト硫酸の証明法について二つの原理を検討した。

(3) この物質は、畢丸ヒアルロニダーゼ耐性であるため、コンドロイチン硫酸Bとの鑑別が、第1の問題となる。この2者の相違点の一つに、前者が硫酸基のみを有し、COOH基をもっていないのに対し、コンドロイチン硫酸Bは両者をもっている。硫酸基は一般にメチル化によって脱落し、カルボキシル基はメチル化をうける。さらにこれを鹼化すれば、メチル化をうけたカルボキシル基だけ酸性性質を回復する。従って、ヒアルロニダーゼ消化、メチル化、鹼化の組合せのち塩基性色素で染色することによって、一定の濃度以上にこれら物質が存在すれば鑑別が可能となる。純品に関して、あるいは老人軟骨、動脈壁などにこの原理を応用し、検討してある程度使用出来ることを確認した。

(4) ケラト硫酸がガラクトーズを含むために糖反応が陽性であることを応用検討した。方法としては、岡本氏らの $\alpha$ -ナフトール硫酸法 (Molisch 反応) で良好な成績がえられるが、このほかカルバゾール硫酸も使用出来る。

これらの方法は、ケラト硫酸の増量する軟骨などの老化過程の研究に有力な手段となる。

以上の新しい方法を取り入れ、以前から存在する方法と組合わせて、組織化学的鑑別表を作製した。

### 論文審査の結果の要旨

酸性粘液多糖類の組織化学的証明法とくにその鑑別法は、未だ充分でない。著者はこれら物質の組織化学的証明法を研究して数種の新しい方法を得た。まず、酸性粘液多糖類はすべて陰性荷電を有するので、陽性荷電物質でこの陰性基を封鎖して沈殿させ、これを有色物質として鏡下にとらえようとし、多くの塩基性色素、金属コロイド、陽性表面活性剤による種々酸性粘液多糖類の沈殿状態と発色性等を検討した結果、本物質一般証明法として表面活性樹脂・アゾ色素法を得た。つぎに陽性荷電をもつニュートラルレッドを pH 2.1 の塩酸酸性液で使用するにより硫酸基含有、非含有の2群を鑑別できること、また、メチル化つづいて鹼化によって硫酸基が脱落する点を酸性粘液多糖類の鑑別に応用できることをみだした。さらに、現在までに組織化学的証明法のないケラト硫酸について本物質がガラクトースを含む唯一の酸性粘液多糖類である点に着目し、Molisch 反応、カルバゾール硫酸法をもって検出できることを確認し、その他、N硫酸基をもつヘパリン、ヘパリチン硫酸がベンチジン・アゾ色素法で検出できることも明らかにした。

本研究は問葉系の成分である酸性粘液多糖類の形態学的研究の重要な基礎資料となるものであり、医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。