

# 「グリコゲン」染色ニ就テ

(第1回報告)

## 鹽基性及ビ酸性「テール」色素ヲ以テ スル「グリコゲン」染色ニ就テ

岡山醫科大學解剖學教室(主任上坂教授)

助手 結 緣 主 計

### 緒 論

「グリコゲン」ノ組織學的檢索ニ於ケル業績ハ枚擧ニ遑ナキガ如シ。反之「グリコゲン」ノ染色學的成績ニ關スル研究報告ノ少ナキハ常ニ余等ノ甚ダ遺憾トセシ所ナリ。幸ニ余ハ上坂教授指導ノ下ニ「グリコゲン」ノ染色機轉ニ關シテ研究シ茲ニソノ成績ヲ報告スルコトトセリ。

今「グリコゲン」染色ニ關スル文献ノ大體ヲ紹介センニ既ニ早クヨリ知ラレ今日モ尙ホ應用セラルル重要ナル方法ニ沃度染色法アリ。之ニ關シ Ehrlich, Barfurth, Langhans, Driessen 氏法, 加藤寛及ビ Bleibetreu 氏變法アリ。之等ノ方法ニヨリテ「グリコゲン」ハ皆黃褐色ニ染色サルルモノニシテ普通廣ク用ヒラルルモノハ Langhans 氏法ナリ。然レドモ沃度ニヨリテ斯クノ如ク染色サルルモノ必ズシモ「グリコゲン」ノミニ限ラズシテ「アミロイド」モ亦同様ニ染色シ得ルモノナリ。此兩者ヲ區別スルニハ唾液ヲ以テ前處置ヲ施ス然ルトキハ「グリコゲン」ハ消失シテ染色セザルガ故ニ「アミロイド」ト區別セラルルモノナリ。

「グリコゲン」染色ニ最モ重要ニシテ且廣ク用ヒラルル方法ハ Best 氏「カルミン」染色法ナリ。Fränkel 氏ハ同法ノ變法ヲ發表セシモ一般ニハ用ヒラレザルナリ。其他 Fischer 氏ハ「タンニン」酸及ビ重「クロム」酸加里ヲ媒染劑トシ一部ノ鹽基時色素ヲ以テ美ニ「グリコゲン」ヲ染色スルコトヲ得タリ。Vastarini-Cresi 氏ハ「クレゾフクシン」ヲ以テ「グリコゲン」染色ヲ行ヒシモ Voorhoeve 氏ハ此法ヲ以テハ「グリコゲン」ヲ充分ニ染色シ得ズト云ヘリ。又 Muyer 氏ハ鐵沒食子酸「インク」ヲ作り之ヲ以テ「グリコゲン」ヲ染色シ良好ナル結果ヲ得タリト報告セリ。

要之「グリコゲン」染色ニ關スル報告ハ十指ヲ以テ數フルニ足ラザルナリ。而モソノ研究方法ハ局部的ニシテ且之ガ染色機轉ヲ探究セシ者ナシ。

是レ余ガ殆ド總テノ色素ヲ試用シ「グリコゲン」染色ニ關スル研究ヲ企圖シタル所以ナリ。

### 鹽基性「テール」色素ヲ以テスル「グリコゲン」染色ニ就テ

實驗材料ハ冬眠期中ノ蛙肝ヲ純「アルコール」ニテ固定シ「ツエロイジン」又ハ「バラフィン」切片トナシタリ。直接染色ノ場合ニハ多クハ前者ヲ用ヒ間接染色ヲナス場合ニハ多クハ後者ヲ用ヒタリ。

先づ鹽基性色素十數種ヲ選ビ之等ノ水溶液又ハ「アニリン」溶液ヲ作り染色スルコト10分次  
 デ「エチルアルコール」又ハ「メチルアルコール」及ビ兩者ノ混合液(Best氏「カルミン」法ニ於ケ  
 ル辨色液ノ處方ニ據ル)ニテ處置シ「アルコール」ニテ脱水シ「キシロール」透明藥ヲ用ヒ封鎖檢  
 鏡シタリ。

鹽基性色素ノ水溶液又ハ「アニリン」溶液ニテ直接染色ヲ行ヒシモ皆陰性ニ終リタリ(第1表  
 參照)。染色ノ前後ニ於テ1%ノ苛性加里液又ハ苛性曹達液ニテ處置シ上記ノ如キ操作ニテ標本  
 ナ作製シタリシニ「グリコゲーン」染色ノ陽性ヲ示ス以外ニ他組織モ亦濃染シソノ境界不明ニシ  
 テ「グリコゲーン」染色ニ適セス。次ニFischerノ方法ニ從ヒ先ヅ10%ノ「タンニン」溶液ニ浸  
 スコト10分、後水洗シ、1%ノ重「クロム」酸加里液、次デ10%ノ重「クロム」酸加里液ニ入ル  
 ルコト各10分、充分水洗シ後染色液中ニテ10分間染色シ次デ「アルコール」ニテ脱水シ「キシ  
 ロール」中ニ入レ封鎖セシユ殆ド總テノ鹽基性色素ヲ以テ甚ダ美ナル「グリコゲーン」染色標本

第 1

本文参照	直接染色		Fischer氏法ヲ應用セシモノ			
	「アニリン」溶液 或ハ水溶液		「ア ニ リ ン」 溶 液		水 溶 液	
	辨 色 液 「メチルア ル」或ハ「エチ ルアルコール」	辨 色 液 「メチルア ルコホル」	辨 色 液 「エチルア ルコホル」	辨 色 液 「メチルア ルコホル」	辨 色 液 「エチルア ルコホル」	
Safranin	—	++±	+++	+±—	++—	
Gentianaviolet	—	++±	+++	+-—	±--	
Crystalviolet	—	++—	++—	+-—	±--	
Anilinblau	—	++±	++—	++±	+±—	
Methylviolet	—	+±—	++±	---	---	
Methylenblau	—	++±	+±—	++—	+±—	
Pyronin	—	++±	+±—	+±—	±--	
Neutralrot	—	+±—	++±	±--	±--	
Thionin	—	+±—	+±—	±--	+±—	
Jodgrün	—	+±—	+±—	+±—	+±—	
Fuchsin	—	+±—	---	+--	++—	
Nilblau	—	+±—	++—	---	---	
Dahlia	—	±--	+--	±--	±--	
Toluidinblau	—	+±—	+±—	+--	+--	
Bismarkblau	—	---	---	+±—	+±—	

ヲ得タリ(第1表参照). 即チ他組織ハ染色セズ核モ亦染色スルコトナケレドモ「グリコゲン」ノミハ境界判然著明ニ染色スルヲ見タリ. 且此方法ニテ作製セシ標本ハソノ保存力モ大ナリトス. 之ニ反シ Fischer 氏法ニ依ル「タンニン」溶液及ビ重「クロム」酸加里溶液一ツ丈ヲ作用セシメ染色スルモ「グリコゲン」ハ染色スルコトナシ. 次ニ唯ダ單ニ吐酒石ノミニヨリテ處置シ後「グリコゲン」染色ヲ行フモ同様ニ陰性ノ結果ヲ得タリ(第1表参照). 然レドモ Fischer 氏法ノ重「クロム」酸加里液ニ代フルニ吐酒石ヲ以テセンカ即チ先ヅ切片ヲ10%ノ「タンニン」溶液中ニ浸スコト10分, 水洗後1%ノ吐酒石溶液, 次ニ10%ノ吐酒石溶液ニ各10分間入レ更ニ水洗シテ染色セシニ Fischer 氏法ト同様ニ良好ナル「グリコゲン」染色ヲ得タリ. 之等ノ關係ヲ表示スレバ次ノ如シ. 但シ染色結果ノ良ナルモノヲ+符ニテ顯シ同符ノ多キモノ程益々好成績ヲ意味セリ. 以下ノ他表モ之ニ準ズ. 辨色液ニ Best 氏處方ノ液ヲ使用セシモノハ單ニ「メチルアルコール」或ハ「エチルアルコール」ヲ用ヒシ場合ノ中間ノ成績ヲ得タリ, 故ニ表示セズ.

表

「タンニン」溶液ノミヲ媒染劑ニ用ヒシ場合	重「クロム」酸加里ヲ媒染劑ニ用ヒシ場合	吐酒石ノミヲ媒染劑ニ用ヒシモノ	Fischer 氏法ニ於ケル重「クロム」酸加里ニ吐酒石ヲ代用セシモノ	
「アニリン」溶液或ハ水溶液	「アニリン」溶液或ハ水溶液	「アニリン」溶液或ハ水溶液	水 溶 液	
辨 色 液 「メチルアルコール」 或ハ 「エチルアルコール」	辨 色 液 「メチルアルコール」 或ハ 「エチルアルコール」	辨 色 液 「メチルアルコール」 或ハ 「エチルアルコール」	辨 色 液 「メチルアルコール」	辨 色 液 「エチルアルコール」
—	—	—	++±	±--
—	—	—	++±	++-
—	—	—	++-	++-
—	—	—	++±	++±
—	—	—	++±	++±
—	—	—	++-	+±-
—	—	—	++±	±--
—	—	—	++±	++-
—	—	—	+++	+±-
—	—	—	++-	++±
—	—	—	++±	---
—	—	—	++±	---
—	—	—	±--	---
—	—	—	±--	---

## 酸性色素ヲ以テスル「グリコゲン」染色ニ就テ

### 1. 直接染色法ニ就テ

材料ハ總テ前述ト同様ノ者ヲ用ヒタリ。染色液モ同様ニ主ナル酸性色素ノ水溶液及ビ「アニリン」溶液ヲ作り之等ヲ以テ直接染色ヲ試ミシニ或ル酸性色素ハヨク「グリコゲン」ヲ染色スルヲ見タリ。而モ色素ノ水溶液ニテヨク染色スルモノ又ハ「アニリン」溶液ニテヨク染色スルモノ或ハ脱水ノ際ニ「メチルアルコール」若シクハ「エチルアルコール」ヲ用ヒ好結果ヲ得シモノ等ノ區別アリ。之等ノ關係ヲ表示セバ第2表ニ示スガ如シ。但シ酸性色素ニ依リ直接染色シ陽性成績ヲ得シモノハ皆特ニ「グリコゲン」ヲ良染セシメ他組織トノ區別判然セリ。然レドモ又同時ニ核モ多少染色セリ。就中核染色ハ「メチルアルコール」ヨリモ「エチルアルコール」ニテ處置セシ場合ニ於テ強キガ如シ。

第2表 酸性色素ニテ直接ニ染色セシ成績

染色液ノ種類 (本文参照)	「ア ニ リ ン」 溶 液		水 溶 液	
	辨 色 液 「メチルアルコール」	辨 色 液 「エチルアルコール」	辨 色 液 「メチルアルコール」	辨 色 液 「エチルアルコール」
Pikrinsäure	-----	-----	-----	-----
Rubin S	-----	-----	-----	-----
Fuchsin S	+++++	±-----	+±-----	±-----
Eosin	-----	-----	-----	-----
Orange G	±-----	±-----	-----	-----
Bordeux R	-----	-----	-----	-----
Trypanblau	+++++	+++±-	+++++	++±--
Congorot	+±-----	+±-----	+±±--	+±-----
Lichtgrün	-----	-----	-----	-----
Azur II	-----	-----	-----	-----
Indulin	-----	-----	+-----	-----
Indigocarmin	-----	-----	-----	-----
Wasserblau	±-----	-----	±-----	-----
Anilinblau	++±--	±-----	±-----	-----
Bleu de Lyon	+±-----	+++--	-----	-----
Methylblau	±-----	±-----	+-----	++±--
Scharlachrot	-----	-----	-----	-----
Erythrosin	-----	-----	-----	-----

## 2. 染色ノ前後酸性液ニテ處置シタル場合

酸性色素ヲ以テ染色スル際ニ染色前ニ酸又ハ酸性鹽類ヲ以テ處置スルコトニヨリテ組織ノ染色カヲ高ムルコトハ已ニ上坂教授並ニ尾藤博士ノ報告セシ所ナリ。余モ亦酸性色素ヲ以テ「グリコゲン」染色ヲ行フニあたり染色ノ前後ニ1%ノ明礬溶液又ハ1%ノ硫酸溶液等ヲ以テ處置スルコトヲ試ミタリシガ、爲メニ組織ノ染色が増加スルヲ見タリ。然レドモ「グリコゲン」ノミナラズ一般ニ他部モ濃染スルガ故ニ「グリコゲン」ノ境界不明瞭トナリ爲メニ「グリコゲン」染色ニハ却テ不適當ナルヲ認メタリ。唯ダ「コンゴローート」ノミハ染色ノ直前ニ於テ「ピクリン」酸液中ニ浸スニ由テ一層良好ナル結果ヲ得タリ。

## 3. 間接染色法ニ就テ

一般ニ酸性色素ヲ以テスル間接染色法ノ際ニ應用スル媒染劑ハ金屬(「アルミニウム」, 鐵, 「クロム」, 銅等)ノ鹽類ナリ。余モ亦5%ノ鹽化「アルミニウム」液, 鐵明礬液, 「クロム」明礬液, 醋酸銅溶液ヲ使用シタリ。即チ染色前ニ切片ヲ之等媒染劑液中ニ一定時間浸シ次デ染色後「メチルアルコール」又ハ「エチルアルコール」ヲ以テ脱水シ封鎖檢鏡シタリ。或ル色素ニ向テハ一定時間上記媒染液ノ孰レカニ浸シ次デ更ニ重「クロム」酸加里ノ溶液中ニ入レ後染色シ「メチルアルコール」又ハ「エチルアルコール」ニテ脱水シ標本ヲ作製セリ。斯クノ如ク操作セシ標本ノ染色成績ハ區々ニシテ一括シテ述ブルコトヲ得ザルモ一般組織モ又「グリコゲン」モ共ニ濃染シ後者ノ境界判然セズシテ適用シ難キモノ多シ。今之等不良ノモノハ省キ次ニハ可ナリ著明ニ「グリコゲン」ヲ顯出セシメタルモノノミニ就キテ述ベシ。

1. **Eosin.** 此色素ノ水溶液又ハ「アニリン」溶液ニテ直接染色センカ既ニ第2表ニ示シタル如ク總テ陰性ノ成績ヲ得タリ。然ルニ染色前ニ鐵明礬液中ニ浸シ「エोजン」水溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」ニ依リ辨色且脱水セシモノニアリテハ陽性ノ成績ヲ示シ。殊ニ鐵明礬液ヲ作用セシメ後ニ「エोजンアニリン」溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」ヲ用ヒシモノニアリテハ最モヨキ「グリコゲン」染色標本ヲ得タリキ。又一度鐵明礬液中ニ入レシモノヲ再ビ重「クロム」酸加里ノ溶液中ニ浸シ「エोजンアニリン」溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」ニテ辨色且脱水スルモ美麗ニ「グリコゲン」ヲ顯出セシムルヲ得ルモノナリ。

2. **Orange G.** 此色素ニ向テハ諸媒染劑中鹽化「アルミニウム」ヲ使用セシ場合ニ最モ「グリコゲン」ガ濃染セルヲ見タリ。即チ鹽化「アルミニウム」溶液ニ浸シタル切片ヲ此色素ノ「アニリン」溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」ニテ辨色並ニ脱水スレバ美麗ナル「グリコゲン」標本ヲ得ルモノナリ。

3. **Säurefuchsin.** 酸性「フクシン」水溶液ヲ用フル場合ニハ媒染劑トシテ醋酸銅溶液ヲ最モ良トシ「クロム」明礬液之ニ次グ。即チ醋酸銅溶液中ニ一定時間浸シタル切片ヲ酸性「フクシン」水溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」ニテ脱水スレバ美麗ノ標本ヲ得ルモ「メチル

アルコール]ノ代リニ「エチルアルコール」ヲ使用スレバ成績不良トナルモノナリ。又酸性「フクシンアニリン」溶液ヲ用ユル場合ニ於テモ醋酸銅溶液ヲ媒染劑トシ好結果ヲ得ルモノナリ。但シ此場合ニ於テモ「エチルアルコール」ヨリモ「メチルアルコール」ヲ用ヒルヲ良トス。其他此色素ハ其「アニリン」溶液ニテ直接ニ切片ヲ染色シ「メチルアルコール」ニテ辨色脱水スルモ好結果ヲ齎スモノトス(第2表)。

**4. Trypanblau.** 第2表ニ示セルガ如ク此色素ハ水溶液又ハ「アニリン」溶液トナシ直接染色ヲ行ヒ充分ニ目的ヲ達シ得ルモノナリ。媒染劑ヲ用ヒ間接染色ヲ行ハンカ却ツテ一般組織ヲ濃染セシメ「グリコゲン」ノ境界ヲ不明瞭トナラシムルコト多シ。但シ切片ヲ先ヅ醋酸銅溶液、次デ重「クロム」酸加里液ニ浸シ此色素ノ水溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」ニテ脱水セバ可ナリ好結果ヲ得ルモノトス。

**5. Congorot.** 此色素モ亦單ニ直接染色ヲナスカ又ハ染色ノ直前ニ於テ「ピクリン」酸ヲ作用セシムルニヨツテ好結果ヲ得ルコト多シ。然レドモ「クローム」明礬ヲ媒染劑トシテ使用シ後染色セバ最も好成績ヲ得ルガ如シ。即チ染色前ス「クローム」明礬液中ニ浸シ後、此色素ノ水溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」ニテ脱水セバ最良ノ結果ヲ得ベシ。次ニ一度「クローム」明礬溶液中ニ浸シタルモノヲ再び重「クロム」酸加里溶液中ニ浸シ後ニ染色シ「メチルアルコール」ニテ脱水スルモ陽性ノ成績ヲ得ルモノナリ。媒染劑トシテハ「クローム」明礬ニ次グニ鐵明礬、醋酸銅ヲ宜シトス。鹽化「アルミニウム」液ハ最も不適當ナリ。

以上述ベシ間接染色ニ於ケル成績ヲ表示セバ次ノ如シ。

第3表 酸性色素ヲ以テスル間接染色成績

	處置溶液 處置時間	處置溶液 處置時間	染色溶液 染色時間	辨色並ニ 脱水藥	透明藥	封鎖藥	結果ノ 良否
Eosin	鐵明礬液 5分	/	水溶液 10分	「メチルア ルアルコール」	「キシロール」	「バルサム」	+
	〃 〃	/	〃 〃	〃	〃	〃	+
	〃 〃	重「クロム」 酸加里液 5分	「アニリン」 溶液 10分	〃	〃	〃	+
Orange G	鹽化「アルミ ニウム液」 5分	/	〃 〃	〃	〃	〃	+
Fuchsin S	醋酸銅液 5分	/	水溶液 10分	〃	〃	〃	+
Trypanblau	〃 〃	重「クロム」 酸加里液 5分	〃 〃	〃	〃	〃	+
Congorot	「クロム」明礬液 5分	/	〃 〃	〃	〃	〃	+
	〃 〃	重「クロム」 酸加里液 5分	〃 〃	〃	〃	〃	+

既ニ述ベシガ如ク鹽基性色素ヲ以テスル「グリコゲン」染色ニ適切ナル方法ニ Fischer 氏法アリ。今此方法ヲ酸性色素ヲ以テスル間接染色法ニ應用シ先ヅ切片ヲ 10% ノ「タンニン」溶液ニ浸スコト 10 分、後ニ水洗シ、1% ノ重「クロム」酸加里溶液、次デ 10% ノ同溶液ニ浸スコト各 10 分、水洗シ酸性色素ノ水溶液又ハ「アニリン」溶液ニテ染色シ「メチルアルコール」又ハ「エチルアルコール」ニテ脱水シテ標本ヲ作製セシニ酸性色素ノ或ル者ニ於テハ次表ノ如ク美ナル「グリコゲン」染色ヲナスヲ得タリ。

第 4 表 Fischer 氏法ニ酸性色素ヲ應用セシ成績

染色液ノ種類	「ア ニ リ ン」 溶 液		水 溶 液	
	辨 色 液 「メチルアルコール」	辨 色 液 「エチルアルコール」	辨 色 液 「メチルアルコール」	辨 色 液 「エチルアルコール」
Rubin S	- - -	- - -	+ - -	+ ± -
Fuchsin S	+ - -	+ - -	+ - -	+ ± -
Eosin	+ + -	+ ± -	+ - -	+ - -
Orange G	- - -	- - -	- - -	- - -
Bordeux R	- - -	- - -	- - -	- - -
Trypanblau	- - -	- - -	- - -	- - -
Congorot	- - -	- - -	- - -	- - -
Lichtgrün	+ - -	+ + -	+ ± -	+ + ±
Azur II	- - -	- - -	- - -	- - -
Indulin	- - -	- - -	- - -	- - -
Indigocarmin	- - -	- - -	- - -	- - -
Wasserblau	- - -	- - -	- - -	- - -
Anilinblau	- - -	+ - -	- - -	+ - -

## 4. 「コンゴローート」ヲ以テスル「グリコゲン」染色ニ就テ

「コンゴローート」溶液ハ少量ノ酸ヲ加フルニ依リテ色調ヲ變ジテ青黑色ヲ呈スルガ故ニ一種ノ指示薬トシテ用ヒラルルハ周知ノ事トス。我が教室ノ松浦氏ハ既ニ「コンゴローート」ヲ以テスル弾力纖維ノ染色ヲ發表セラレシガ余ハ「コンゴローート」ノ水溶液ヲ以テ「グリコゲン」染色ヲ行ヒ後ニ種々ニ操作スルコトニヨリ甚ダ興味アル所見ヲ得タルガ故ニ次ニ之ヲ報告スルコトトセリ。

第 5 表 「コンゴローート」染色成績 (其ノ 1)

	「コンゴローート」水溶液 染色時間	辨色液及ビ 辨色時間	水洗時間	脱 水 薬 及 ビ 脱 水 時 間	透 明 薬 及 ビ 封 鎖 薬	結果ノ 良否
1)	10分	/	/	「エチルアルコール」 1分	「キシロール」 「バルサム」	±—
2)	◇	/	/	◇	「カルボールキシロール」 「バルサム」	±—
3)	◇	/	1分	◇	「キシロール」 「バルサム」	±—
4)	◇	「エチルアルコール」 1分	◇	◇	◇	±—
5)	◇	/	/	「メチルアルコール」 1分	◇	±—
6)	◇	/	/	◇	「カルボールキシロール」 「バルサム」	±—
7)	◇	/	1分	◇	「キシロール」 「バルサム」	±—
8)	◇	「メチルアルコール」 1分	◇	「エチルアルコール」 1分	◇	±—

表中 1)ノ染色方法ニアリテハ「グリコゲン」ト同時ニ他組織モ染色サレ兩者ノ境界稍々明瞭ヲ缺グト雖モ他ノ諸點ニ於テ良好ノ成績ヲ見タリ而シテ此法ニ於テハ核モ著明ニ染色サルモノトス。表中 5)ノ方法ニアリテハ「グリコゲン」ノ染色ハ 1)ニ比シ多少劣ルト雖モ他部ノ染色微弱ナルガ爲メニ「グリコゲン」ノ境界著明ニ顯レテラ見ルニ適セリ。表中 2)ノ方法ハ 1)ニ比シ成績不良ナリトス。即チ「カルボールキシロール」ヲ透明薬ニ用ヒシ場合ハ「キシロール」ヲ用ヒシ時ニ比シ「グリコゲン」ノ染色不良ナリ。表中 3)ノ方法ニアリテハ染色後一度水洗スルガ爲メニ色素水中ニ出デ「グリコゲン」及ビ核ノ染色微弱ナルノ弊アリ。表中 7)ノ方法モ同様ニシテ加之「グリコゲン」及ビ核ノ染色ハ一層不良ナリトス。表中 4)及ビ 8)ノ方法ニテハ染色後「エチルアルコール」又ハ「メチルアルコール」ニ入レ更ニ水洗スルモノナルガツノ染色ノ成績ハ 3)及ビ 7)ニ比シ一層不良ナルガ如シ。是レ理學的ニ「グリコゲン」ニ結合セル色素ハ「アルコール」及ビ水ニ逢ヒ溶出スルコト一層著シキニヨルナルベシ。

以上ノ方法ニ於テハ染色セシ「グリコゲン」ハ皆色素ト同ジ色調ヲ保有スルモノナリ。

第6表 「コンゴロート」染色成績 (其ノ2)

	「コンゴロート」 水溶液染色時間	水洗時間	一次的辨色液 及ビ其時間	二時的辨色液 及ビ其時間	透明薬及ビ 封鎖薬	結果ノ 良否
1)	10分	/	「メチルアルコール」 30秒	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	「キシロール」 「バルサム」	+ + -
2)	〃	/	〃	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	〃	+ + +
3)	〃	/	「エチルアルコール」 30秒	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	〃	+ 土 -
4)	〃	/	〃	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	〃	+ 土 -
5)	〃	1分	/	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	〃	+ - -
6)	〃	〃	/	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	〃	+ - -

鹽酸「エチルアルコール」及ビ鹽酸「メチルアルコール」ハ1%ノモノヲ用ヒタリ。「コンゴロート」ハ前述ノ如ク微量ノ酸ニ逢フモ直チニ青黑色ノ色調ヲ呈スルガ故ニ第6表ノ諸方法ニヨリ染色セシモノハ皆青黑色ヲ呈スルモノナリ。表中1)ノ方法ニテハ「グリコゲン」ハ濃染シ他組織及ビ核モ染色サルルコト稍々強キモ「グリコゲン」ノ境界ハ可ナリ著明ニシテ良結果ヲ得ルモノナリ。表中2)ノ方法ニアリテハ「グリコゲン」ノ染色程度ハ1)ニ比シ稍々劣ルモ他組織及ビ核ノ染色スルコト微弱ニシテ「グリコゲン」ノ境界判然シ鮮明ノ標本ヲ得ルモノトス。表中3)ノ方法ハ1)ニ比シ遜色アルモ唯ダ「グリコゲン」ノ染色弱キノ他ニ缺點少シ。表中4)ノ方法ニ從ヘバ2)及ビ3)ヨリモ一層染色微弱ナリト雖モ他部分ノ染色ハ3)ニ比シ更ニ僅ナルガ故ニ採用シ得ベキ方法ナリトス。表中5)ノ方法ニ於テハ「グリコゲン」ハ濃染スルモ同時ニ他部モ強染スルガ故ニ「グリコゲン」ノ境界不明ニシテ良好ノ結果ヲ得ル能ハズ。表中6)ノ方法ニテハ核ノ染色5)ニ比シ微弱ナレドモ同様ニ「グリコゲン」ノ區別著明ナラズ良法ト見做スヲ得ズ。

第 7 表 「コンゴローート」染色成績 (其ノ 3)

	「コンゴローート」 水溶液染色時間	一時的辨色液 及ビ其時間	二次的辨色液 及ビ其時間	水洗 時間	脱水薬	透明薬及ビ 封 鎖 薬	結果ノ 良否
1)	10分	/	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	/	/	「キシロール」 「バルサム」	十――
2)	◇	/	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	/	/	◇	十――
3)	◇	/	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	1分	「エチルア ルコホル」	◇	十――
4)	◇	/	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	◇	◇	◇	十――
5)	◇	「エチルアルコール」 30秒	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	/	◇	◇	十――
6)	◇	◇	◇	/	「メチルア ルコホル」	◇	十――
7)	◇	「メチルアルコール」 30秒	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	/	「エチルア ルコホル」	◇	十――
8)	◇	◇	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	1分	◇	◇	十――
9)	◇	◇	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	◇	◇	◇	十――
10)	◇	◇	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	◇	「メチルア ルコホル」	◇	十――
11)	◇	◇	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	◇	◇	◇	十――
12)	◇	「エチルアルコール」 30秒	鹽酸「エチル アルコール」 30秒	◇	「エチルア ルコホル」	◇	十――
13)	◇	◇	◇	◇	「メチルア ルコホル」	◇	十――
14)	◇	◇	鹽酸「メチル アルコール」 30秒	◇	「エチルア ルコホル」	◇	十――
15)	◇	◇	◇	◇	「メチルア ルコホル」	◇	十――

表中 1) ノ方法ニテハ「グリコゲン」ハ青黑色ニ濃染スルモ色素ハ鹽酸ニ逢ヒテ沈澱物ヲ生ジ且他組織及ビ核ノ染色モ強クシテ「グリコゲン」ノ境界不鮮明ノ憾アリ。表中 2) ノ方法ニ於テモ殆ド 1) ト同一ノ所見ヲ呈シ良好ナル染色方法ト云フヲ得ズ。但シ核ノ染色ハ微弱ナリ。表中ノ 3) 及ビ 4) ノ方法ニ依テ染色後鹽酸含有ノ「アルコール」液ニ浸シ後ニ水洗スモ前同様ニ沈澱物ヲ充分ニ去ルコトヲ得ズ。表中ノ 5) 及ビ 6) ノ方法ニヨリシモノハ核染色ノ起ルト同時ニ「グリコゲン」染色モ著明ニシテ且其境界判然ス。表中ノ 7) ノ方法ニヨル時ハ 5) 及ビ 6) ノ方法ニ比シ核ノ染色スル程度少ナク「グリコゲン」染色ノ目的ニハ却ツテ良好ナル結果ヲ得ベシ。表中ノ 8) ノ方法ヲ用ヒル時ハ多少核染色ヲ生ズト雖モ「グリコゲン」染色甚ダ佳良ナリ。表中 10) 12) 及ビ 13) ノ方法ニヨル染色標本モ略ボ同様ノ所見ヲ呈スルモ「グリコゲン」染色ノ程度稍々微弱ナリ。表中 9) ノ方法ハ核ノ染色少ナク「グリコゲン」染色ニハ甚ダ適當ナリ。表中 11) 14) 及ビ 15) ノ方法ハ 9) ニ比シ稍々「グリコゲン」ヲ鮮明ニ顯出セシメ難キノ憾アリト雖モ尙ホ「グリコゲン」染色ノ一法トシテ用フルヲ得。

「コンゴローート」ニ依ル「グリコゲン」染色ニ關シ上記成績ヲ比較スルニ染色ニ適當ナルハ切片ヲ染色液ニ浸スコト 10 分、後ニ「エチルアルコール」又ハ「メチルアルコール」ニテ辨色脫水スルニアリ。但シ此場合ニ於ケル「グリコゲン」染色ノ色調ハ「コンゴローート」ノソレト同調ヲ帶ブルモノナリ。又上記ノ如ク染色セシ切片ヲ「エチルアルコール」又ハ「メチルアルコール」中ニ入ルルコト 30 秒ニシテ辨色セシメ後更ニ 1% ノ鹽酸含有ノ「エチルアルコール」又ハ「メチルアルコール」中ニ浸シ「キシロール」ニテ透明トナシ「バルサム」ニテ封鎖セシ標本モ良好ナル結果ヲ得ルモノトス。但シ此場合ニ於ケル色調ハ青黑色ヲ呈スルモノナリ。次ニ染色後一度「メチルアルコール」中ニ浸スノ後、鹽酸含有ノ「エチルアルコール」又ハ「メチルアルコール」ニテ辨色シ水洗シテ後「アルコール」脫水封鎖セシモノモ甚ダ鮮明ノ所見ヲ呈スルモノトス。「コンゴローート」染色ノ切片ヲ鹽酸含有ノ「アルコール」ニテ處置シ青黑色ヲ呈スルモノヲ水洗スルニアタリ純良ノ蒸餾水ヲ使用スル時ハ再ビ變化スルコト少ナキモ水道水ニテ洗ヘバ再ビ「コンゴローート」ノ色調ニ復歸スルヲ見ル是レ水道水ノ「アルカリ」性ノ爲メ中和サルルニ由ルナリ。

## 結 論

**A.** 純「アルコール」ニテ固定セシ冬眠期ノ蛙肝ニ於テハ「グリコゲン」ヲ鹽基性「テエール」色素ヲ以テ直接ニ染色スルコトヲ得ズ。又此染色ノ前後ニ於テ「アルカリ」溶液ヲ以テ切片ヲ處置スルモ選擇的ニ「グリコゲン」ヲ染色スル能ハズ。Fischer 氏ノ鹽基性色素ヲ以テスル間接染色法ニヨリテ初メテ鮮明ナル「グリコゲン」染色標本ヲ得ルモノナリ。但シ同氏法ニ用フル重「クロム」酸加里ニ代ルニ吐酒石ヲ應用スルモ又良好ナル結果ヲ得ルモノトス。

**B.** 上記ノ材料ヨリ造リタル切片ヲ種々ノ酸性色素ヲ以テ直接ニ染色セシニ Säurefuchsin,

Trypanblau, Bleu de Lyon, Anilinblau, Wasserblau 等ハ「グリコゲン」染色ニ對シ好成績ヲ呈シタリ。但シ酸性色素ヲ用ヒタル場合ニハ「グリコゲン」ノ他ニ核モ染色スルモノナリ。

**C.** 鹽基性色素ニ代ルニ酸性色素ヲ用ヒ Fischer 氏ノ「グリコゲン」間接染色ヲ試ミシニ Rubin S, Säurefuchsin, Eosin, Azur II, Anilinblau 等ハ好結果ヲ示シタリ。

**D.** 一般ニ酸性色素ノ媒染劑トシテ用ヒラルル「アルミニウム」、鐵、「クローム」、銅等ノ鹽類ヲ作用セシメシ場合ニハ Eosin, Orange G, Säurefuchsin, Trypanblau, Congorot 等ニ由テ特ニ「グリコゲン」ガ鮮明ニ染色スルヲ見タリ。

**E.** 酸性色素ハ一般ニ染色ノ前後ニ於テ酸ヲ作用セシムルコトニヨリ染色力ヲ高ムルモノナリ。然レドモ多クノ酸性色素ハ此際一般ニ組織ヲ濃染セシメ却ツテ「グリコゲン」ノ境界ヲ不明瞭ナラシムルノ弊アリ。唯ダ Congorot ノミハ染色ノ前後ニ於テ「ピクリン」酸ヲ作用セシムルコトニヨリ「グリコゲン」染色ニ良好ナル結果ヲ與フルヲ見ル。

**F.** 酸性色素特ニ Congorot ヲ用ヒ「グリコゲン」染色ヲ行フニ當リ次ノ諸點ハ注目スベキ事ト信ズ。

1. 切片ヲ Congorot 水溶液ニテ直接ニ染色スルコト 10 分, 後ニ「メチルアルコール」又ハ「エチルアルコール」ニテ辨色竝ニ脱水シ次デ「キシロール」ニテ透明ニスレバ良好ナル標本ヲ得ルモノナリ。一般ニ「グリコゲン」染色ニ際シ透明藥トシテ單純ノ「キシロール」ハ「カルボールキシロール」ヨリモ良好ノ成績ヲ與フルモノトス。

2. Congorot 溶液ハ微量ノ酸ニ逢フモ直チニ色調ヲ變ジテ青黑色ヲ呈スルモノナリ。今切片ヲ Congorot 水溶液中ニテ染色スルコト 10 分, 後コレヲ「メチルアルコール」又ハ「エチルアルコール」ニ入レ更ニ鹽酸含有ノ「アルコール」中ニ浸シ辨色シ作製セシ標本ハ Congorot ト色調ヲ異ニシ青黑色ヲ呈スルモ「グリコゲン」ト他組織トノ境界ヲ判然示スモノナリ。但シ「エチルアルコール」ヲ用ヒシ場合ハ「メチルアルコール」ヲ使用セシ時ニ比シ核ノ染色強キヲ見ル。

3. 切片ヲ染色液ニ浸スコト 10 分, 後コレヲ水洗シ更ニ「アルコール」ニテ脱水セバ水洗ヲ行ハザル時ニ比シ「グリコゲン」ノ染色遙ニ微弱ナリ。是レ「グリコゲン」ニ單ニ吸着セル「コンゴロート」ハ水中ニ溶出スルニヨル。

4. 切片ヲ染色後「メチルアルコール」次ニ鹽酸含有ノ「メチルアルコール」又ハ「エチルアルコール」ニテ辨色シ更ニ水洗シ次デ「アルコール」ニテ脱水シタル標本ハ上述ノ Congorot ニヨル「グリコゲン」染色標本ト同ジ程度又ハレソ以上ニ良好ナル成績ヲ示スモノトス。Congorot 染色後酸ヲ作用セシメシモノヲ水洗スルニアタリ純良ノ蒸餾水ヲ使用セバ變色セズト雖モ水道水ノ使用ハ再ビ Congorot ノ色調ニ復歸セシムルヲ見ル。是レ水道水ノ「アルカリ」性ナルニヨルモノナリ。

本稿ヲ擱スルニ當リ終始御懇篤ナル指導竝ニ校閲ノ勞ヲ惜マレザリシ恩師上坂教授ニ衷心謝意ヲ表ス。

(2. 11. 4. 受稿)

## 文 獻

- 1) Barfurth, Vergleichend-histchemische Studien über das Glykogen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 25, 1885. 2) Best, Über Kurminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 23, 1906. 3) Bleibetru, Zur mikroskopischen Jodreaktion auf Glykogen. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiologie. Bd. 127, 1909. 4) Driessen, Zur Glykogenfärbung. Zbl. allg. Path. u. path. Anat. Bd. 16, 1907. 5) Ehrlich, Über das Vorkommen von Glykogen im diabetischen und im normalen Organismus. Zeitschr. f. klin. Med. Nr. 6, H. 1, 1883. 6) Fischer A., Eine neue Glykogenfärbung. Anat. Anzeiger. Bd. 26, 1905. 7) Georgievics, Handbuch der Farbenchemie. 1922. 8) K. Kuto, Beitrag zur Frage des mikroskopischen Nachweises des Glykogens. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiologie. Bd. 127, 1909. 9) Kosaka, Über die Färbungsmethode. Nissin-Igaku. Jahrig. 1926. 10) Kosaka u. Bito, Über die Vergleichung einiger Fixierung u. Färbungsmethoden. Folia Anatomica Jap. Bd. 2, 1924. 11) Krause, Enzyklopedie d. mikr. Technik. Bd. 2, 1926. 12) Langhans, Über Glykogen in pathologischen Neubildungen und menschlichen Eihäuten. Virchows Arch. f. path. Anat. 120, 1890. 13) Matsuura, Über die Färbung mit Kongorot. Folia Anat. Jap. Bd. 3, 1925. 14) Mayer, Zur Färbung des Glykogens. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 26, H. 4. 15) Romeis, Mikroskopischer Technik. 1922. 16) Vastarini-Cresi, Un nuovo methodo di colorazione del glicogeno tessuti. Atti R. Accad. med. chir. Napoli, N. 3, 1907. (Zitat nach Schwalbes Jahresberichte über d. Forsch. d. Anat. u. Entwickl. Bd. 14, 1909.) 17) Voorhoeve, Glykogenkleuring volgens Vastarini-Cresi. Nederl. Tijdschr. Geneesk. Nr. 12, 1924. (Zitat nach Anatomischer Bericht. Bd. 3, 1925.)

*Kurze Inhaltsangabe.***Über die Färbung des Glykogens im tierischen Gewebe.****(1. Mitteilung).****Färbungsergebnisse des Glykogens mit basischen und sauren Teerfarbstoffen.**

Von

Kazue Yuien.

*Aus dem Anatomischen Institut der Universität Okayama.**(Vorstand: Prof. Dr. K. Kōsaka).*

Eingegangen am 4. November 1927.

Während die histologische Untersuchung des Glykogens in tierischen Geweben von verschiedenen Seiten vielfach unternommen wurde, sind wir doch über den Färbeprozess desselben Bestandteils nur ungenügend unterrichtet. Daher habe ich mich mit diesem Thema beschäftigt und einige Ergebnisse erzielt, welche ich als meine erste Mitteilung veröffentlichen will. Sie lauten wie folgt:

**A.** Ausser wenn das indirekte Färbungsverfahren nach A. Fischer, wobei ich übrigens anstatt der Kaliumbichromatlösung eine Lösung von Stibio-Kalium tartaricum mit gutem Erfolg brauchen konnte, verwendet wird, vermag man das Glykogen im Gewebe gleichgültig nicht mit basischen Teerfarbstoffen zu färben. Selbst wenn man dabei den Schnitt mit einer alkalischen Lösung vor- bzw. nachbehandelt, lässt sich diese Ingredienz nicht elektiv färben.

**B.** Dagegen kann man mit manchen sauren Farbstoffen wie Säurefuchsin, Trypanblau, Bleu de Lyon, Anilinblau, Wasserblau usw. Glykogen direkt tingieren, u. z. mit gutem Erfolge. In diesem Falle färben sich aber auch die Zellkerne mehr oder weniger intensiv.

**C.** Bei der indirekten Glykogenfärbung nach Fischer kann man anstatt der basischen auch manche saure Farbstoffe wie Säurefuchsin, Eosin, Azur II, Anilinblau etc. ohne Nachteil gut anwenden.

**D.** Viele saure Farbstoffe, besonders Eosin, Orange G, Säurefuchsin, Trypanblau und Kongorot färben Glykogen stärker mit Hilfe der metallischen Beizen wie Al, Fe, Cr, Cu etc.

**E.** Lässt man auf den Schnitt nach bzw. vor der Färbung eine Säurelösung einwirken, so erhöht sich in der Regel die Färbungskraft der sauren Farbstoffe. Doch kann man diese Tatsache zur Glykogenfärbung nicht ausnützen, denn man erzielt dadurch nur eine allgemeine intensive Färbung, so dass Glykogen sich nicht scharf

abhebt. Eine Ausnahme bildet die Glykogenfärbung mit Kongorot, welche durch eine Vor- bzw. Nachbehandlung mit Pikrinsäure sehr hübsch ausfällt.

**F.** Die Färbung des Glykogens mit Kongorot ergibt sehr verschiedene Resultate je nach der Prozedur.

1. Wenn man einen mit Kongorot 10 Minuten lang gefärbten Schnitt in Äthyl- oder Methylalkohol legt und dann mit Xylol aufhellt, so erhält man ein vorzügliches Präparat für die Glykogenfärbung. Im allgemeinen wirkt reines Xylol auf die Glykogenfärbung besser als Karbolxylol.

2. Wenn ein mit Kongorot 10 Minuten lange gefärbter Schnitt in Methyl- oder Äthylalkohol gelegt und darauf der Wirkung des salzsäurehaltigen Alkohols unterworfen wird, so bekommt man ein Präparat von blauschwärzlichem Farbenton, worin aber Glykogen durch seine intensivere Färbung besonders ausgezeichnet ist. Dabei fällt die Kernfärbung viel günstiger aus, wenn man statt des Methylalkohols Äthylalkohol anwendet.

3. Wenn man einen mit Kongorot 10 Minuten lang gefärbten Schnitt zuerst in Wasser auswäscht und dann mit Alkohol entwässert, so ergibt sich die Glykogenfärbung immer sehr schlecht. Dies ist, m. E., darauf zurückzuführen, dass der absorbierte Farbstoff vom Glykogen leicht ins Wasser ausspringt und dadurch weggespült wird.

4. Dagegen kann man den nach Nr. 2 behandelten Schnitt ruhig in Wasser auswaschen und dann mit Alkohol entwässern. In diesem Fall lässt sich ein gutes oder noch schöneres Präparat darstellen als bei den anderen Verfahren.

5. Durch Zusatz von Säure nehmen die mit Kongorot gefärbten Schnitte, wie gesagt, immer einen blauen Farbenton an. Dieser Farbenton verwandelt sich aber durch die Abspülung mit Leitungswasser wieder in die ursprüngliche rote Farbe, während dies bei der Auswaschung in reinem destilliertem Wasser keineswegs der Fall ist. Es liegt auf der Hand, dass der Umschlag der Farbe auf der alkalischen Reaktion des Leitungswassers beruht.

