

論 文 内 容 要 旨

I 研 究 目 的

胆石の構造を破損することなく、胆石成分の分布・配列状態を観察することは胆石の形成機転、さらにはその成因を解明する上での重要な手がかりとなる。一般に胆石の顕微鏡的研究には、まづ、胆石から薄い均一な切片を連続的に得ることが必要である。著者は従来の胆石切片作製法を検討したが、いずれも胆石の微細構造の観察や組織化学的検索には不満な点が多いので、新しい胆石切片作製法を考案した。一方、榎・鈴木は、最近、*in vitro* で実験的にビリルビン石灰石様凝塊や炭酸カルシウム粒子からの結石形成、さらに柿胃石様凝塊を作ることに成功し、生体内における物質の凝集および凝結機転に関して新しい理論を提唱した。すなわち、榎らによれば膠質内に含まれる有機高分子電解質による粒子間の架橋作用が、結石形成にあたり一つの重要な役割を演じているとのべている。人体内で最も普通にみられる有機高分子電解質としてはムコ多糖体が考えられる。そこで著者はヒト炭酸石灰石から、新しい胆石切片作製法によつて連続切片を作製し、結晶学的検索を行ない構造を観察してみた。つぎに、種々の組織化学的染色を行ない、ヒト炭酸石灰石内にはムコ多糖体が存在するか、存在するとすれば結石形成上いかなる役割を演じているかについて結晶学的検索結果と対比し、検討を加えてみた。

II 実 験 材 料 と 方 法

教室において4人の胆嚢結石症患者から手術的に剔出した炭酸石灰石4個および榎らが*in vitro*で実験的に形成した炭酸石灰石様凝塊を用い、個々の資料からそれぞれ5 μ 、10 μ 、15 μ および20 μ の連続切片を適宜作製し、研究の対象とした。

胆石切片作製法：1) 歯科用エンジンに *carborundum disk* を装着し、胆石の両端を切り落とす(比較的大きな胆石は半割する)。2) 胆石をパラフィンに5~10分間浸漬する。3) パラフィン包埋胆石を台木に貼りつけ、不要のパラフィンを切り落してからマイクロームに装着する。4) マイクロームで胆石割面を露出させ、表面に合成樹脂を塗布する。5) 樹脂が十分乾燥してからマイクロームの目盛りを必要な厚さに調節して切片を切り出す。この操作をくり返すことによつて、最低1~3 μ までの、任意の厚さの切片を、簡単に、連続的に作製することができる。

胆石内炭酸カルシウム結晶の形態および分布の観察には偏光顕微鏡と *contact micro-radiography (Softex CMR)* を用いた。胆石内ムコ多糖体の検索にはホルマリン蒸気固定後の、未脱灰および脱灰切片について種々の組織化学的染色を行なつた。実験的炭酸石灰石様凝塊内の有機質としてはアルギン酸ナトリウムが用いられているので *Scott-Douling* の *Alcian blue* 染色にて観察した。

III 実 験 成 績

1) 結晶学的検索結果：胆石切片全域に炭酸カルシウム結晶が不規則に配列している中に、小さな顆粒状結晶を包有した直径200~300 μ 程度の円形ないし類円形構造物がほぼ均等に散在していた。これら構造物内の炭酸カルシウム結晶は他の部分にくらべて小さく、しかも、中心部に多く集つていた。また、これら構造物の間隙には針状、棒状および少量の顆粒状結晶が不規則に堆積していた。連続切片により観察したところ、これら構造物はほぼ球形を呈していた。2) 組織化学的検索結果：脱灰前および脱灰後の切片にPAS反応、コロイド鉄染色、Alcian blue染色(pH0.5~4.1)などを行なうと、いずれの染色でも切片全域にわたって陽性所見を呈するが、PAS反応では弱く、コロイド鉄染色およびAlcian blue染色ではより強い陽性反応を呈した。とくにpH2.0以下の領域におけるAlcian blue染色では強陽性を呈した。Toluidine blueによるMetachromasia反応では鮮明な γ -Metachromasiaを呈した。Methylation処理をうけた切片は、pH0.5~2.0の領域でAlcian blue好性を示さなくなり、Alkali-Demethylation後もその染色性はほとんど回復しなかつた。これらの染色態度より、ヒト炭酸石灰石内には硫酸基をもつたムコ多糖体が存在し、その他に中性、弱酸性多糖体が混在しているものと思われた。これら染色標本を鏡検してみたところ、球形部には顆粒状に脱灰された跡がみられ、酸性ムコ多糖体が網状に分布していた。また、球間部には球形部よりもやや粗ではあるが、同様に網状に分布していた。実験的炭酸石灰石凝塊内のアルギン酸ナトリウムは炭酸カルシウム結晶間に網状に分布し、あたかも各結晶粒子を結びつけているとき観を呈していた。以上の所見より、ヒト炭酸石灰石内の酸性ムコ多糖体と実験的炭酸石灰石凝塊内のアルギン酸ナトリウムの分布・配列状態はよく類似して、また、化学構造上からも類似性を有していることから、ヒト炭酸石灰石内の酸性ムコ多糖体は結晶形成にあたり、炭酸カルシウム結晶の各粒子を結びつける作用を演じているものと推察された。

IV 結 語

1) 著者の考案した胆石切片作製法によつて作製した切片は偏光顕微鏡やContact Microradiographyなどによる結晶配列の観察はもとより、組織化学的染色にも有用で、微細な点まで鮮明な所見をうることができた。2) 従来、無構造とされていたヒト炭酸石灰石は顕微鏡的に特異な構造をもつていることを明らかにした。3) 炭酸石灰石内にはムコ多糖体がほぼ均等に分布し、顕微鏡的には炭酸カルシウム結晶を取りまいて網状に分布していた。4) 炭酸石灰石内には硫酸基をもつたムコ多糖体が存在し、その他に中性および弱酸性多糖体が混在していることを組織化学的染色によつて明らかにした。5) 炭酸石灰石内の酸性ムコ多糖体は横らが*in vitro*で実験的に形成した炭酸石灰石凝塊内のアルギン酸ナトリウムの分布・配列状態とよく類似しており、炭酸カルシウム結晶を結びつける作用(横・鈴木の云う架橋作用)を演じているのではないかと推察された。

審 査 結 果 の 要 旨

胆石成分の分布、配列状態を顕微鏡的に観察することは胆石の形成機転や成因を解明する上で重要な手がかりとなる。そのためには、胆石の構造を破損せずに、薄い均一な切片を連続的に作製することが必要である。第1報において、著者は、従来の胆石切片作製法を検討したが、いずれも不満足な点が多いので新しい胆石切片作製法を考案した。この方法では、切面に薄い合成樹脂膜を作つて構造の破損を防ぎ、直径1~3 μ までの、任意の厚さの連続切片を簡単に作製することができる。しかも、作製した切片は偏光顕微鏡やcontact microradiographyなどによる結晶配列の観察にはもとより、組織化学的染色にも用いられ、微細な点まで鮮明な所見をうることができる。一方、榎・鈴木は、最近、*in vitro* で種々の胆石様凝塊を作ることに成功し、生体内における物質の凝集および凝結機転に関して新しい理論を提唱した。榎らによれば膠質内に含まれる有機高分子電解質による粒子間の架橋作用が、結石形成にあたり一つの重要な役割を演じているとのべている。生体内で最も普通にみられる有機高分子電解質としてはムコ多糖体が考えられる。そこで著者は第2報において、新らしく考案した胆石切片作製法を用いて、ヒト炭酸石灰石から連続切片を作製し、鉱物学的検索を行ない微細な構造を観察した。つぎに、種々の組織化学的染色によつて、ヒト炭酸石灰石内にはムコ多糖体が存在するか、存在するとすれば、どのように分布しているかを鉱物学的検索結果と対比し検討した。その結果、従来、無構造とされていたヒト炭酸石灰石は顕微鏡的に特異な構造をもつていること、酸性ムコ多糖体が結石内にはほぼ均等に分布し、顕微鏡的には炭酸カルシウム結晶を取りまいて網状に分布していること、そして、炭酸石灰石内の酸性ムコ多糖体は、榎らの実験において、有機高分子電解質の一つとして用いたアルギン酸ナトリウムの分布、配列状態とよく類似しており、榎らの云う結晶粒子間の架橋作用を演じているものと推定した。

以上本研究は新しい胆石切片作製法を考案し、従来未解決のまゝ残されていた炭酸石灰石内ムコ多糖体の存在と意義について明瞭な解答を与えたもので、胆石成因の研究に寄与するところがきわめて大きいものと認められる。

よつて本論文は学位を授与するに値するものと認める。