

(49)

氏名(生年月日)	飯 島 治 之
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第1296号
学位授与の日付	平成4年7月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Staining of semithin tissue sections embedded in HPMA, Quetol 523 and MMA (HPMA, Quetol 523, MMA 包埋による準超薄切片の染色について)
論文審査委員	(主査) 教授 串田つゆ香 (副査) 教授 相川 英三, 高桑 雄一

論 文 内 容 の 要 旨

目的

最近、パラフィン切片に代わってプラスチック包埋切片を光学顕微鏡レベルに応用する試みが検討されつつあるが、その特性が充分生かされていない現状である。本研究では、詳細な細胞学的検索が可能となるための準超薄切片法を開発しさらに光学顕微鏡的一般染色、特殊染色および免疫組織化学を含む組織化学染色などの染色性を獲得するための方法を検討した。

研究対象および方法

研究材料は、マウス(C3H/He)の肝臓、小腸、顎下腺、腎臓、膵臓などの組織である。これらの組織片を新しく開発した HPMA (2-hydroxypropyl methacrylate)-Quetol 523 (methoxy polyethylene glycol 400 methacrylate)-MMA (methyl methacrylate) 樹脂混合液で包埋し、0.5~3.0 μ m の組織切片を作製した。固定法ならびに染色法については、種々の改良を加え、細胞内構造、酵素活性、抗原性などの保存および染色体を中心に細胞レベルにおける研究に必要なとされる条件についても検討した。また、酵素活性や抗原性の保存には、包埋樹脂の重合条件が大きな影響を与えることから、重合温度についての実験的研究も行っている。

結果および考察

親水性メタクリル樹脂 HPMA-Quetol 523-MMA 包埋法における包埋剤の混合比は、65:10:25が最適であり、重合温度は、60 $^{\circ}$ Cが良好である。この条件下

では、切削性、組織浸透性および染色性にすぐれた特性を示す。本包埋法は、免疫組織化学染色を含む各種の光学顕微鏡的染色に有効であった。また、適切な固定剤と樹脂の重合条件を選択することにより、組織化学的検索にも応用することができた。固定剤は、染色法によっても多少異なるが、一般には4%パラフォルムアルデヒド・1%グルタルアルデヒド混合液が適当であった。作製切片は、脱包埋することなく H-E 染色などの一般染色を施すと、よりすぐれた染色性と分解能とを獲得するため、ミトコンドリアなどの細胞小器官の形態を容易に同定することができる。また、PAS 染色では、肝細胞や小腸上皮の杯細胞などのグリコーゲンや多糖類を含む果粒が、鮮明な解像力をもって観察できた。さらに、約40 $^{\circ}$ Cの低温重合を行うことにより、組織化学的染色が可能となり、たとえば、小腸上皮細胞のゴルジ装置や腎尿管主部の刷子縁などのアルカリフォスファターゼ反応部位およびランゲルハンス島 β 細胞におけるインシュリンの局在を、より明確に検出することができた。

結論

本研究は、光学顕微鏡レベルの細胞学的観察のための準超薄切片法の開発、とくに、HPMA-Quetol 523-MMA による包埋法および固定法の大幅な改良を行ったものである。この方法を用いることにより、従来の光学顕微鏡レベルでは認め難かった細胞小器官や多糖類、タンパク質、酵素活性などの局在について

すぐれた結果を得ることができた。この方法は、今後、細胞学の発展に大きく寄与するものと考えられる。

論文審査の要旨

本研究は、準超薄切片法の開発、とくに電子顕微鏡のプラスチック（HPMA-Quetol 523-MMA）包埋法を改良することにより、各種の光学顕微鏡的染色法を可能にすることができた。すなわち、本法は、より、すぐれた染色性と分解能とを獲得するため、従来のパラフィン切片では認め難かった細胞小器官の形態を容易に同定することが可能である。また、多糖類、タンパク質、酵素活性などの局在は、光学顕微鏡レベルにおいても、一層、明確に検出することができた。したがって、この方法は、今後の細胞学の発展に大きく寄与するものと考え、学術的に価値ある論文である。

主論文公表誌

Staining of semithin tissue sections embedded in HPMA, Quetol 523 and MMA

(HPMA, Quetol 523, MMA 包埋の準超薄切片の染色について)

Okajimas Folia Anatomica Japonica

第69巻 第1号

15-24頁 (平成4年5月20日発行)

副論文公表誌

- 1) 培養状態におけるマウスの精子形成過程について。東女医大誌 51 (7) : 636-646 (1981) 飯島浩之
- 2) オスミウム酸固定組織における準超薄切片のヘマトキシリン・エオシン染色について。解剖誌 59 (1) : 3-8 (1983) 串田つゆ香, 飯島治之, 串田弘
- 3) An improved embedding method employing

epoxy resin Quetol 651 for stereoscopic observation of thick section under a 300kV transmission electron microscope. J Electron Microsc 37 (4) : 212-214 (1988) 串田つゆ香, 飯島治之, 串田弘, 鶴田忠正

- 4) 厚切り切片の400kV透過型電子顕微鏡によるステレオ観察のためのエポキシ樹脂 Quetol 651-ERL 4206改良包埋法。細胞 22 (1) : 32-35 (1990) 串田つゆ香, 飯島治之, 串田弘, 会田嵯武朗
- 5) En bloc staining available for stereoscopic observation of epoxy resin Quetol 651-embedded thick sections under a high voltage transmission electron microscope. J Electron Microsc 40 (1) : 76-77 (1991) 串田つゆ香, 飯島治之, 串田弘, 鶴田忠正