

(56)

氏名(生年月日)	ナガ ト ヤス カズ 長 戸 康 和
本 籍	
学位の種類	医学博士
学位授与の番号	乙第590号
学位授与の日付	昭和58年1月21日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	準超薄切片におけるグリコーゲンの組織化学的観察
論文審査委員	(主査)教授 串田つゆ香 (副査)教授 飯沼 守夫, 教授 遠藤 光夫

論文内容の要旨

研究目的

グリコーゲンの組織化学的証明は、光学および電子顕微鏡的レベルでそれぞれ試みられているが、両者の対応については、全く行なわれていない。本研究は、光学顕微鏡的に同定できるグリコーゲン野を、直接、電子顕微鏡的に対比観察することによってグリコーゲンの組織化学的局在を明らかにすることを目的としている。

研究材料および方法

材料には、マウスの肝臓を用いた。これらを、種々の固定液を用いて固定し、肝細胞中のグリコーゲンのPAS反応による染色態度について実験的研究を行なった。さらに、その局在を光学および電子顕微鏡的レベルで観察するためGMA-Quetol 523とGMA-Quetol 523-MMA包埋法に改良を加えた。PAS反応によるグリコーゲン野は、同一切片・同一部位を対比観察した。

結果および結論

1) 固定条件

グリコーゲンの組織化学的固定には、リン酸緩衝液で緩衝したピクリン酸・ホルムアルデヒドに0.5%程度の割合でグルタルアルデヒドを加えた液が最も適していた。この固定において、肝細胞中にびまん性に局在するグリコーゲン野を観察でき、グリコーゲンは、0.2~0.3 μ mを程度に薄切した切片において組織化学的に証明できた。

2) 包埋条件

ピクリン酸は、樹脂混合液中に溶出し、包埋剤の重

合を阻害する。このため、本研究では、従来のGMA-Quetol 523およびGMA-Quetol 523-MMA包埋法を改良し、浸透液には2倍量の触媒を加えた樹脂混合液を用いた。この結果、樹脂の重合が完全に行なわれ、硬化ブロックからは、0.2~2.0 μ mの切片を薄切できた。また、重合には、熱重合が適切であった。

3) 光学および電子顕微鏡による対比観察

0.2~0.3 μ m程度の準超薄切片は、PAS染色を施し、光学および電子顕微鏡的に観察した。包埋樹脂は、電子線に対する透過性が高いため準超薄切片を電子顕微鏡的に観察でき、同一切片の任意のグリコーゲン野を光顕および電顕写真上で比較対比することができた。

その結果、光顕的に鮮明に観察できるグリコーゲン野は、電顕的にも高いコントラストを示すことが確認できた。対照としたアミラーゼ処理切片などの結果からもPAS反応で示された高コントラスト部位が、グリコーゲンの局在を電子顕微鏡レベルで正確に示していると考えられる。また、PAS反応産物は、拡散や流出像が観察されず、他の細胞内構造物からも容易に識別できた。グリコーゲン野の電顕像は、0.3 μ m程度の切片では、団塊状に集合している状態を示し、また、0.2~0.25 μ m程度の切片では、顆粒状に認められたが、ロゼット形態は観察されず、従来の超薄切片像とは異なった結果が得られた。

重金属を含まない従来の光顕的染色を施し、その反応産物の局在を、直接、光学および電子顕微鏡で観察した結果、グリコーゲンの局在について新しい所見が得られた。

論文審査の要旨

本論文は、準超薄切片におけるグリコーゲン検出のための固定、染色および包埋法の確立を行なったものである。すなわち、同一切片、同一視野における電子顕微鏡と光学顕微鏡との共通観察を可能にし、なお、これらはすぐれた染色性と分解能とをもってグリコーゲンの局在を明らかにすることができた。学術上価値ある論文と認める。

主論文公表誌

準超薄切片におけるグリコーゲンの組織化学的観察
東京女子医科大学雑誌 第51巻 第10号
1333~1346頁 (1981年10月25日発行)

副論文公表誌

- 1) 生物組織の光学顕微鏡的観察のための親水性メタクリル樹脂包埋法。
解剖学雑誌 52 (1) 1~9 (1977. 2.)
- 2) Observation on the same place in semi-thin section with both light and electron microscopy. (準超薄切片における同一切片・同一視野の光学および電子顕微鏡的観察)。
J Electron Microsc 26 (4) 345~348 (1977. 12.)
- 3) GMA-Quetol 523包埋法による光学顕微鏡用切片の電子顕微鏡的観察。
東女医大誌 48 (10・11) 961~971 (1978)
- 4) Preparation of 1-to 2-micron sections of plastic embedded tissue for enzyme histochemistry (プラスチック包埋法による生物組織の酵素組織化学的観察)
Tokai J Exp Clin Med 4 (1) 59~63 (1979)
- 5) New embedding method employing GMA and Quetol 523 for light and electron microscopic observations of semi-thin sections. (準超薄切片による光学および電子顕微鏡的観察のためのGMAとQuetol 523を用いた新しい包埋法)。
Okajimas Folia Anat Jpn 56 (1) 1~22 (1979. 5)
- 6) Histochemical observation of GMA-Quetol 523 embedded tissue by light microscopy. (GMA-Quetol 523包埋法による光顕的組織化学的観察)。
Okajimas Folia Anat Jpn 56 (1) 23~34 (1979. 5.)