

(別紙様式第3号)

医論 179

論 文 要 旨

論 文 題 目

Significance of PAM histochemical reaction  
in delineating macrophages

( マクロファージ検出における PAM 組織化学反応の意義 )

氏 名 新屋 雄二 (新屋)

**【目的】** 過ヨウ素酸メセナミン銀 (PAM) 染色は、従来から糖質の特異的染色法として知られる過ヨウ素酸シッフ反応 (PAS) の変法で、染色の特異性、染色理論は同じものである。

一方、単核性食細胞系 (MPS) で多様な形態・機能と広汎な分布を示すマクロファージ (MP) は、標識細胞小器官としてリソゾームを持つことが知られている。

PAM 染色法がリソゾームも染めると言う電頭的報告に着目し、グリコールメタクリレート (GMA) 包埋した組織での簡便な MP の検出を試みた。

**【材料と方法】** 今回試料とした組織は、グルタルアルデヒドで固定、GMA に包埋、ガラスナイフで厚さ  $4\mu\text{m}$  の切片作製の後、PAM 染色、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、トルイジンブルー染色で染色した。各組織における MP の同定と他の間葉系細胞に対する PAM の染色性を検索するために、同一切片・同一視野で他の染色と比較検討した。

### [結果と考察]

クップエル細胞：PAM によって強く黒く染められた顆粒を持つ細胞は、HE によって肝臓の洞様血管に付着するクップエル細胞で、PAM がこの細胞のリソゾームを明瞭に検出している。

直腸の粘膜固有層の MP：消化管の粘膜固有層にある種々の間葉系細胞の識別で、PAM は特に MP のリソゾームの検出に有効で、細胞内の個々のリソゾームを染める。

精細管の MP：精巣の精子発生が進行する精細管にあっても、PAM によって MP の遊走を検出することが可能で、さらに退縮した精細管には、MP が残り、他の上皮細胞が完全に消失してしまうことが、HE との同一視野の染色で示すことができる。

ホフバウエル細胞：胎児性 MP である胎盤絨毛のホフバウエル細胞を PAM で染色すると多くの空胞とリソゾームが黒色に染色され、空胞の中に糖類をもつことを示している。HE 染色

では弱い好酸性を示す空胞で明瞭な内容物は観察されない。エオジン染色性はタンパク定性・定量分析にも利用できることから、空胞は若干のタンパクも含むと考えられる。ホフバウエル細胞のPAM陽性成分はおそらく栄養として母体血液から吸収される合胞体性栄養膜由来であると考えられる。本来のMPとしての貪食作用や抗原提示機能などの生体防御反応が知られているが、本研究の結果からホフバウエル細胞は、むしろ空胞に豊富に含まれている糖類や糖タンパクなどの栄養の担送に働いていることが考えられる。

**【結 論】** 種々の器官に存在するMPの同定が、PAM染色によるリソゾームの検出により可能であることが証明できた。特に胎児性MPが、その形態的特徴である細胞内の空胞に糖類を密に持つことを明らかにし、このホフバウエル細胞が栄養成分を運搬する機能を有する可能性が考えられる。

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 論文博 第 号	氏名	新屋 雄二
論文審査委員	平成 19 年 3 月 1 日		
	主査教授	吉見直己	印
	副査教授	渡口昭一	印
	副査教授	上里博	印
(論文題目)			
Significance of PAM histochemical reaction in delineating macrophages			
(論文審査結果の要旨)			
上記の論文に関して、その研究に至る背景と目的、研究の内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
過ヨウ素酸メセナミン銀 (PAM) 染色は、糖質の特異的染色法である過ヨウ素酸シッフ反応 (PAS) の変法で、染色の特異性、染色理論は同じものである。一方、単核性食細胞系 (MPS) で多様な形態や機能と広汎な分布を示すマクロファージは、標識細胞小器官としてリソゾームを持つことが知られており、証明には組織化学的な酸性フォスファターゼの活性で示されてきた。			
今回、グリコールメタクリレート (GMA) 包埋組織において、PAM染色法がリソゾームも染めると言う電頭的研究報告に着目し、保存蓄積してある包埋組織での簡便なマクロファージの検出を試みた。			
2. 研究の内容			
本研究において、試料とした組織は、グルタルアルデヒドで固定、GMAに包埋、ガラスナイフで厚さ4μmの切片作製の後、PAM染色、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、トルイジンブルー染色で染色した。各組織におけるマクロファージの同定と他の間葉系細胞に対するPAMの染色性を検索するために、同一切片・同一視野で他の染色と比較検討した。その結果、肝臓のクッペル細			

胞においては、PAMによって強く黒く染められた顆粒が観察され、細胞内のリソゾームを明瞭に検出できた。直腸の粘膜固有層のマクロファージにおいては、PAMにより細胞内の個々のリソゾームが染まり、マクロファージのリソゾームの検出に有効であった。GMA包埋切片により、トルイジンブルー、HEの各々の特性を安定して示すことができた。精細管のマクロファージにおいては、PAMによって、精子発生が進行する時期のマクロファージの遊走を検出することが可能で、退縮した精細管では、マクロファージが残り、他の上皮細胞が完全に消失してしまうことが、HEとの同一視野の染色で示すことができた。胎児性マクロファージである胎盤絨毛のホフバウエル細胞においては、PAM染色により多くの空胞と少数のリソゾームが黒色に染色され、空胞の中に糖類をもつことを示していた。この空胞はHE染色では弱い好酸性を示し明瞭な内容物は観察されなかった。タンパク質の定性・定量分析にエオジン染色性が利用できることから、空胞は若干のタンパクも含むと考えられ、ホフバウエル細胞のPAM陽性成分は、おそらく母体血液から吸収される合胞体性栄養膜由来である栄養成分と考えられる。このマクロファージは本来の食食作用や抗原提示機能も報告されているが、本研究の結果からホフバウエル細胞は、むしろ空胞に豊富に含まれている糖類や糖タンパクなどの栄養成分の担送に関わる可能性も示唆され、この観点でのより詳細な研究の必要を感じた。

### 3. 研究成果の意義と学術的水準

今回の実験の成果により、過去蓄積された豊富な電顕用固定包埋材料において、種々の器官に存在するマクロファージの同定が、酵素組織化学的な方法を探らずに、PAM染色によるリソゾーム検出で可能なことが証明できた。特に胎児性マクロファージが、その形態的特徴である細胞内の空胞に糖類を密に持つことを明らかにし、このホフバウエル細胞が栄養成分を運搬する機能を有する可能性を示唆でき、これらの結果は国際的に評価できるものである。

以上により、本論文は学位の授与に十分に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。