（別紙様式第３号）

論　　文　　要　　旨

論　文　題　目

Staining of the Reinke Crystalloids in the Human Testis－Re-evaluation Study

（ヒト精巣のラインケ結晶の染色性の再検討）

氏　名　中村　信之

［目的］ ラインケ結晶は、ヒト精巣の間質細胞のみに認められる円柱もしくは円錐形の構造物である。その働きは不明で、タンパク質であるがエオジンに不染性とされている。タンパク質の分析に使用されるエオジンに不染性とされていることに疑問を抱き、ラインケ結晶の染色性を再検討した。

［材料と方法］ 精巣をグルタールアルデヒド固定後、染色時に包埋剤の除去を要しないグリコメタクリレート（GMA）に包埋し、4μmで薄切した。通常、ヘマトキシリンエオジン（HE）染色は、カラッチのヘマトキシリン変法とエオジンYとフロキシンBを含むエオジンを用いた。エオジンの種類による染色性の差異を調べるために、エオジン単染色としてフロキシンB、エオジンY、エオジンBとアルコール可溶性エオジンで検索した。さらにラインケ結晶を同一切片・視野での付加的多重染色によって結晶の染色性を検討した。過ヨウ素酸メセナミン銀（PAM）染色の後、エオジンで染色

した。他にトルイジンブルー、ライトグリーン、ハイデンハインの鉄ヘマトキシリン染色も行った。

［結果と考察］ 歴史的にラインケは、結晶の染色性に関してフクシン、ヨード、サフラニンとハイデンハインのヘマトキシリンに染色されると述べているが、HE染色に関しては報告していない。1930年にスティーブがラインケ結晶はHE染色で染色されないと述べて以来、多くの教科書や図譜でその様に記載されている。今回GMA包埋による切片へのHE染色でラインケ結晶は好酸性に染色（フロキシン染色が最も良い）された。これまで結晶が不染性で陰性像を示すとされてきたが、これは薄切の際に結晶が切片から脱落していたと考えられる。またエオジンで染色されている場合でも、染色に用いたエオジンの種類により、限界膜で包まれていない結晶は、周りの細胞質との区別が不明瞭であった可能性などがある。ラインケ結晶の脱落は、パラフィンやエ

ポキシ樹脂切片の染色時に包埋剤の除去過程で起こりえる。GMA 包埋は染色に際して除去の必要がなく、結晶の脱落の可能性が少ない。パラフィン切片でも横断像では結晶は脱落しにくいが、周囲組織との鑑別が困難となり、縦断像では切削抵抗が大きく結晶が容易に脱落する。ヘマトキシリンによる単染色や PAM 染色では、結晶は非特異的に染色された。またトルイジンブルー染色、ライトグリーン染色、ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色でも良好に染色され、タンパク質の性質に合致するものであった。

［結　論］ ラインケ結晶は①注意深い固定と包埋によりエオジンで染色される。②ヘマトキシリンと PAM 染色で非特異的に染色される。③赤血球と同じ染色性を示す。④エオジンの種類により細胞質とのコントラストが不明瞭である。⑤陰性像は薄切や包埋剤の除去時の結晶の脱落により生じると考えらる。⑥GMA は包埋剤を除去せずに染色が可能である。

(別紙様式第７号)　　平成18年1月31日

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 ＊　第　号 論文博	氏名	中村　信之
論文審査委員	平成18年1月30日		
	主査教授　小川由英		
	副査教授　金谷文則		
	副査教授　吉見直己		

(論文題目)

Staining of the Reinke Crystalloids in the Human Testis
－Re-evaluation Study

(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

ラインケ結晶は、ヒト精巣の間質細胞のみに認められる円柱もしくは円錐形の構造物である。歴史的にはラインケにより、これがタンパク質であることが証明されており、結晶の染色性に関してフクシン、ヨード、サフラニンとハイデンハインのヘマトキシリンに染色されると述べられているが、ヘマトキシリンエオジン（HE）染色に関しては報告されていない。1930年にスティーブがラインケ結晶はHE染色で染色されないと述べて以来、多くの教科書や図譜でその様に記載されている。今日までこの結晶はHEで染色されないとされてきたが、エオジンは各種のタンパク質と結合するため、不染性とされていることに疑問があり、ラインケ結晶の染色性を再検討した。

２．研究の内容

本研究においては，精巣をグルタールアルデヒド固定後、染色時に包埋剤の除去を要しない水溶性のグリコメタクリレート(GMA)に包埋し、4μmに薄切した。通常のHE染色は、カラッチのヘマトキシリン変法とエオジンＹとフロキシンBを含む

エオジンを用いた。エオジンの種類による染色性の差異を調べるために、エオジン単染色としてフロキシンB、エオジンY、エオジンBとアルコール可溶性エオジンにて染色し、ラインケ結晶はエオジンで染色され、特にフロキシンBで良好なコントラストが得られた。さらにラインケ結晶を同一切片・視野での付加的多重染色により結晶の染色性を検討するために、過ヨウ素酸メセナミン銀(PAM)染色の後、エオジンで染色し、ヘマトキシリンによる単染色やPAM染色では、結晶は非特異的に染色された。またトルイジンブルー、ライトグリーン、ハイデンハインの鉄ヘマトキシリン染色も行い、ラインケ結晶の染色性を再検討し、トルイジンブルー染色、ライトグリーン染色、ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色でも良好に染色され、タンパク質の性質に合致するものであった。これまで結晶がHE染色に不染性で陰性像を示すとされてきたが、これは薄切の際に結晶が切片から脱落していた可能性も考えられる。ラインケ結晶の脱落は、パラフィンやエポキシ樹脂切片の染色時に包埋剤の除去過程で起こりえる。パラフィン切片でも横断像では結晶は脱落しにくいが、周囲組織との鑑別が困難となり、縦断像では切削抵抗が大きく結晶が容易に脱落する。GMA包埋は染色に際して除去の必要がなく、結晶の脱落の可能性が少ないため、今回HE染色でラインケ結晶は好酸性を示すことが出来た。また、エオジンで染色されている場合でも、染色に用いたエオジンの種類により染色性が異なり、限界膜で包まれていない結晶は、周りの細胞質との区別が不明瞭であった可能性もある。

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、ラインケ結晶は、①慎重で注意深い固定と包埋によりエオジンで染色された。②ヘマトキシリンとPAM染色で非特異的に染色された。③赤血球と同じ染色性を示した。④エオジンの種類により細胞質とのコントラストが不明瞭であった。⑤GMAは包埋剤を除去せずに染色が可能であることより、陰性像は薄切や包埋剤の除去時の結晶の脱落により生じた可能性もある。この結論は従来の教科書の記述を変更する有意義な研究として国際的に評価できるものと考えられる。

以上により、本論文は学位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。