

25

亞鉛の組織内證明法

中島 實 松清 哲夫

(名古屋帝國大學醫學部眼科學教室)

私共は點眼された硫酸亞鉛が、結膜組織内にどの位まで深く入り得るか、といふ事を知る目的で、亞鉛の組織内證明法を搜して見たが、文献にも確實と思はるゝ方法が見當らなかつた。

亞鉛の組織化學的證明法としては、L. B. Mendel & H. C. Bredley 氏¹⁾等が、ニトロプルシッドナトリウムを用ゐて *Sycotypus canaliculatus* (螺の一種?) の内臓殊に、肝臓内に含まるゝ亞鉛を検出したといふ記載がある。この方法はその組織切片を 15 分間 50°C で 10% ニトロプルシッドナトリウム溶液に浸し、注意深く流水で 15 分間洗ひ、載物硝子に取つてデッキガラスで覆ひ、その間に一滴の硫化カリウムを入れると、亞鉛の存在する部分は美しい紫牡丹色に染まるといふのであるが、第一に亞鉛が組織に固定されてゐればよいが、もし可溶性の状態になつて居れば切片を作る迄に洗ひ流される心配があり、第二に硫化カリウムによる染色は、ニトロプルシッドの反應で直接亞鉛に關係がなく、第三には亞鉛とニトロプルシッド・イオンとの結合は、完全に定量的でないといふ色々の缺點が考へられ、私共が追試して見ても試験管中ではニトロプルシッドナトリウムと硫化加里とでは美しい色が出るが、既に硫酸亞鉛をニトロプルシッドナトリウム液に入れても完全な沈澱が出來ず、出來た沈澱に硫化加里を作用させても美しい色は現はれぬ。また蛙の舌に硫酸亞鉛をつけて切片を作り、ニトロプルシッドナトリウムを作用させた場合は勿論、硫酸亞鉛をつけた蛙の舌をその儘ニトロプルシッドナトリウム液につけてから切片を作つて硫化加里を作用させて見ても、十分な紫牡丹色は現はれて來ず、満足な結果は得られなかつた。

1) L. B. Mendel and H. C. Braeley: *Americ. Journ. of Physiol.* 14, 313, 1905.

そこで色々の亜鉛の定量法を検討してオキシシンを用ふる方法²⁾が極めて簡単に正確である事を知り、硫酸亜鉛をつけた家兎結膜又は蛙の舌をオキシシン・アルコールで固定した後切片を作つて鏡檢して見ると、美しいオキシシン亜鉛の結晶を組織内に發見する事が出来た。それで種々の方法を試みて、やゝ満足し得べき方法に到達したのである。

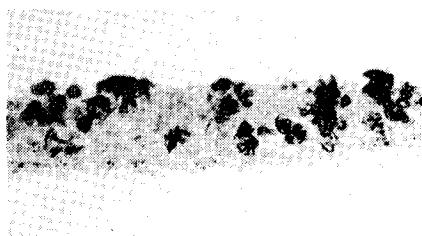
私共が考へたオキシシンに依る亜鉛の組織内定量は次の通りである。

- | | | |
|----|---------------------|-------|
| 1) | 2%オキシシン・純アルコ
ホル液 | 20 cc |
| | 10%醋酸アンモニウム液 | 30 cc |
| | 氷醋酸 | 1 cc |

をよく混和した液中に組織片を15-24時間浸して、オキシシン亜鉛の結晶を作らせると同時に組織の固定を行ふ。

2) 5%アセトン・水溶液の中に同じく15-24時間漬けておいて組織内に在る過剰のオキシシンを除く。

10% ZnSO₄ 點眼後角膜上皮細胞層内に
現出せるオキシシン亜鉛



3) 次に蒸留水中に組織片を6-12時間浸してアセトンを除き、

4) 凍結切片を作り、グリセリンに固封して鏡見する。

なほ組織の状態を明にするにはサフラニンで核染色を行へばよい。

この方法では亜鉛は組織内に 0.46-0.77 μ の帯緑黄色の正しい六角形板状結晶として現れるのが普通であるが、亜鉛イオンが少ないと0.3-0.5 μ 位の小さな結晶となつて現はれる事があり、亜鉛が多いと結晶が集つて塊状になる事もある。

本法の感度は、試験管内ではこの固定液で0.0001%迄は確實に證明されるが、組織内では大約0.001%程度であらうと推定される。このオキシシン固定液に蒸留水50 ccを加へると感度は0.0001%位に上昇するが、しかし組織の固定が不十分となり切片製作に困難を感じる。

本法はオキシシン(o-ヒドロオキシキノリン)と亜鉛イオンとが錯鹽を

2) R. Berg: Die analytische Verwendung von o-Oxychinolin („Oxin“) und seiner Derivate, 1938,

作つて組織内に沈澱する事實に基くものであるが、オキシソルビルの錯鹽は水と混和しない有機溶媒に溶ける性質があるので、ツェーデル油で組織を透明にしたり、またはバルサム封入が出来ない點が多少の缺點であらう。

なほオキシソルビルと亜鉛との反應は水素イオン濃度によつて影響を受けるので³⁾、錯酸アンモニウムと水錯酸との緩衝液を用ゐてあるが、組織の水素イオン濃度が甚だしく異なる場合には多少加減しなくてはなるまいと思はれるが、普通の組織では上述のオキシソルビル液で十分好結果を得る。

オキシソルビルは亜鉛の他鐵や銅、アルミニウムその他多くの金屬をも沈澱させるから、適當の水率イオン濃度を用ゐて種々の金屬イオンの組織内證明に應用し得られるであらう。既に私共は鐵イオンの證明には大體成功したが、さらに銅やアルミニウム等にも應用して見たいと思つてゐる。

(受附：昭和16年11月26日)

3) H. Gotō: *The Science Rep. of the Tōhoku Imper. Univ. Ser. I.* 26, p. 391. 1937.