

組織学総論 Histology

第2回 組織学と顕微鏡

滋賀医科大学 解剖学講座
瀧 公介
勝山教授：kats@belle.shiga-med.ac.jp

古典的な組織学研究法について学ぶ意義

時代遅れで無意味ではないのか？

現代でも以下の様な状況で使われる。

全体的な形態観察（学生実習）

全体的な形態観察（病理診断）

研究においても全体像を参照する場合などに使用される

この講義で扱う古典的な組織学研究法

一般染色

化学染料等を使用

H-E染色

特殊染色

（組織化学染色も含む）

組織化学染色

鍍銀染色（写真反応）

酵素組織化学法

酵素反応を利用

トレーサー

神経連絡の研究

こういう分類にはさほどの必然性はない

古典的染色

一般染色 染色剤（染料）を用いた染色で特異性に劣る

酵素染色 酵素反応を用いた染色

限定的な特異性はあるが、応用範囲が狭い

鍍銀染色 銀を析出させる。

神経細胞の線維構造を観察するのに適する

トレーサー 神経組織でのつながりを解析する

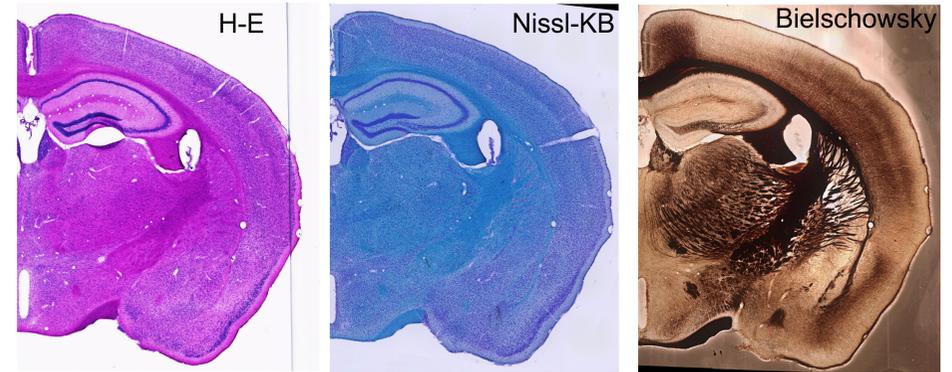
新しい染色

分子生物学的機序に基づく特異的な染色

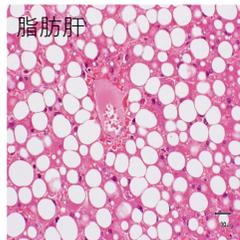
染色 staining
染色剤による染色

染色剤(法)	染色結果
ヘマトキシリン	青色：核，細胞質の酸性領域，軟骨基質
エオジン	淡赤～赤色：細胞質の塩基性領域，膠原線維
マッソンの3重染色	暗青色：粘液，膠原線維
オルセインの弾性線維染色	褐色：弾性線維
ワイゲルトの弾性線維染色	紫色：弾性線維
渡銀染色	黒色：細網線維
鉄ヘマトキシリン	黒色：筋の横紋構造，核，赤血球
PAS染色	紅色：グリコーゲン，炭水化物を含有する分子
ライト・ギムザ染色	血液細胞の鑑別染色に用いる 淡紅色：赤血球，好酸球の果粒 紫色：白血球の核，好塩基球の果粒 青色：単球やリンパ球の細胞質

いろいろな染色
staining

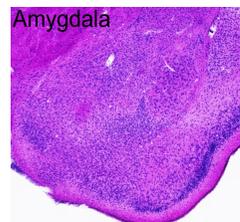


染色
staining



エオシン-ヘマトキシリン染色 (H-E staining)
組織観察で基本になる染色
非常に一般的に使われる

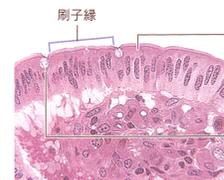
ヘマトキシリン
――塩基性色素
酸性(好塩基性 basophilic)成分を青く染める。
核酸 (DNA, RNA)を多く含む核
リボソーム



エオシン
――酸性色素
塩基性(好酸性 acidphilic)成分を淡赤色に染める。
細胞質一般
結合組織
線維組織
赤血球など

染色
staining

十二指腸



Ross 第3版より

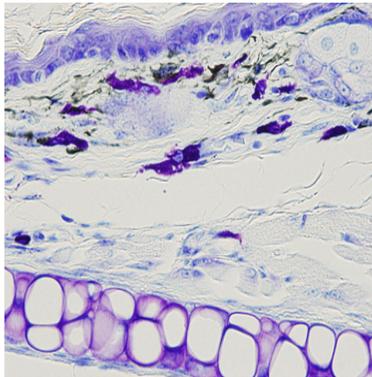
エオシン-ヘマトキシリン染色 (H-E staining)
組織観察で基本になる染色
非常に一般的に使われる

ヘマトキシリン
――塩基性色素
酸性(好塩基性 basophilic)成分を青く染める。
核酸 (DNA, RNA)を多く含む核
リボソーム

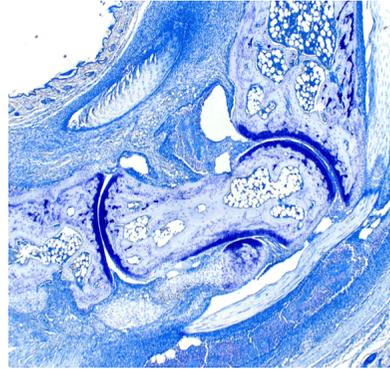
エオシン
――酸性色素
塩基性(好酸性 acidphilic)成分を淡赤色に染める。
細胞質一般
結合組織
線維組織
赤血球など

染色 staining

トルイジンブルー染色 — 組織内の高濃度陰イオンに反応して紫色 (軟骨基質、肥満細胞) それ以外は青色 (色素の元の色と違う色を生じる→メタクロマジー)



耳介の軟骨が紫色に染まっている

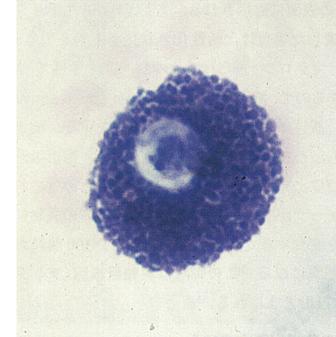


関節中の炎症している軟骨が紫色に染まっている

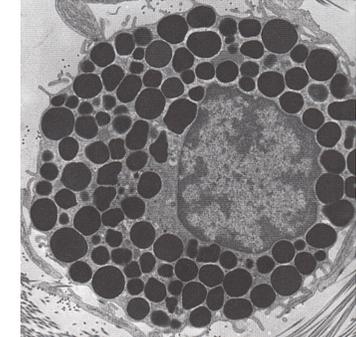
染色 staining

トルイジンブルー染色 — 組織内の高濃度陰イオンに反応して紫色 (軟骨基質、肥満細胞) それ以外は青色 (色素の元の色と違う色を生じる→メタクロマジー)

肥満細胞のトルイジンブルー染色



同じく透過型電子顕微鏡像

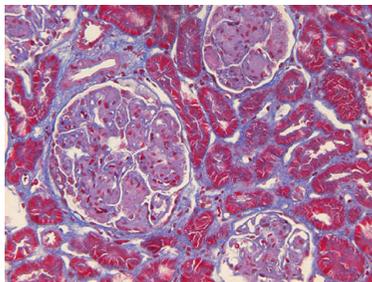


Ross 第3版より

染色 staining

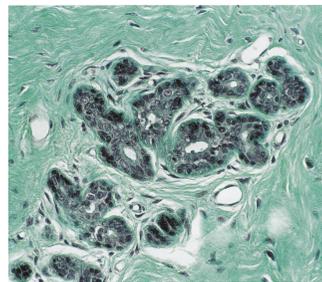
膠原線維を識別する染色

アザン染色



膠原線維はアニリン青で染色される

マッソン3重染色 (ゴムリ変法?)

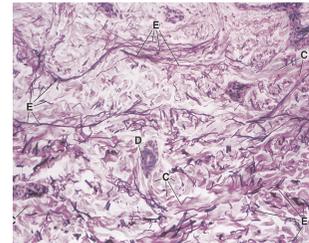


Ross 第3版より

膠原線維はライト緑で染色される
ゴムリ変法は運用が比較的簡便なので
病理で使われることが多い

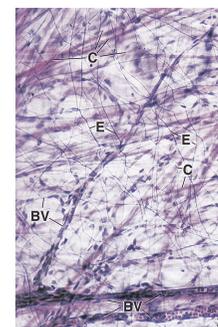
染色 staining

サル・真皮



ワイゲルトの弾性線維染色
弾性線維が明瞭な紫色に染まる

ラット
・腸間膜



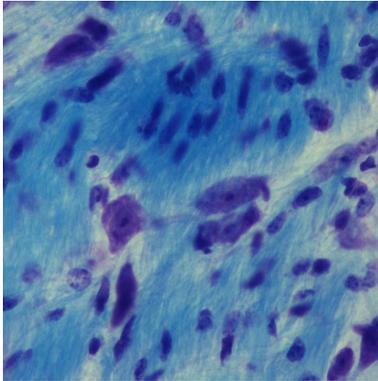
サル・
(大) 動脈



Ross 第3版より

Nissl染色

クレシル紫によって神経細胞内のNissl物質を染色する。
(クレシル紫の他にもメチレンブルーやトルイジンブルー)
クレシル紫とルクソールファスト青の二重染色が
クリューバー・バレラ染色と呼ばれる。



クリューバー・バレラ染色：ルクソールファスト青は軸索（髄鞘）を染める

その他の染色

ギムザ染色（ライトーギムザ染色）：
血液（血球）・組織内血液細胞の染色に用いる

コンゴ赤染色：
アミロイドが赤く染まる
アミロイド：しばしば病的に組織沈着・蓄積する
タンパク質からなる無構造の沈着物

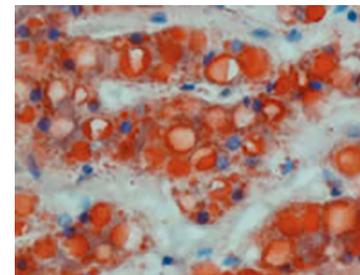
組織化学とは

本来は組織や器官に含まれている各化学物質が、細胞や組織のどの位置に分布しているかを研究する。
グルコース残基、DNA、各種アミノ酸、各種酵素などについて古典的組織化学的アプローチが研究された。
個々の物質に対して研究法を開発する必要があったため現在では免疫組織化学にとってかわられる事が多い。
(通常、膠原線維や弾性線維、神経のNissl物質などについての染色は組織化学として扱わない)

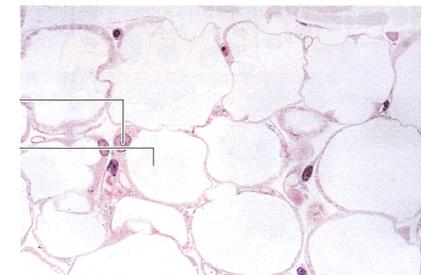
組織化学染色 脂肪染色

スダンIII、スダンIVなどによる脂肪染色では、HEでは染色されない（むしろ標本作成過程で失われる）脂肪が赤色に染色される。

スダンIII染色された脂肪組織



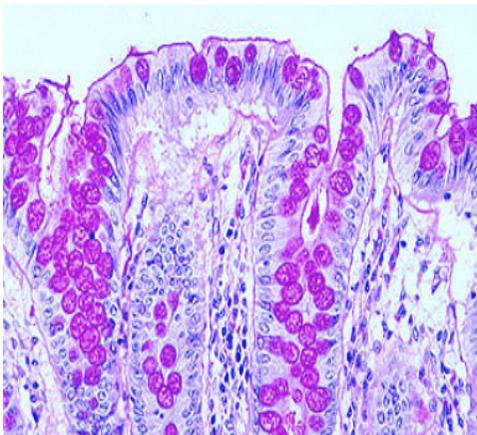
H-E染色された脂肪組織



<http://www.mutokagaku.com/products/reagent/pathology/fatstain>

組織化学染色 PAS染色

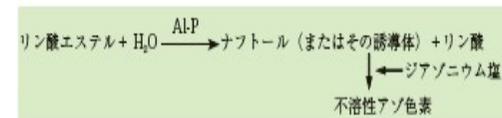
過ヨウ素酸はグルコース残基を選択的に酸化してアルデヒドを生成し、シッフ試薬によって赤紫色に変色する。



消化管上皮の粘液産生細胞が赤紫に染まる

酵素染色（組織化学染色） アルカリホスファターゼ染色

内因性の酵素をその酵素活性を利用し適当な基質を発色させることで存在を証明する。



ES細胞やiPS細胞が紫色に染まる

酵素染色（組織化学染色） その他の主な酵素染色

コリンエステラーゼ染色

モノアミン酸化酵素染色

（他にもあるが病理組織等であまり使われない）
（研究用の動物脳アトラスなどで時に使われる）

病原体などの染色

グラム染色：濃青色ならグラム陽性菌
赤色ならグラム陰性菌

チールニールセン染色：好酸菌の証明

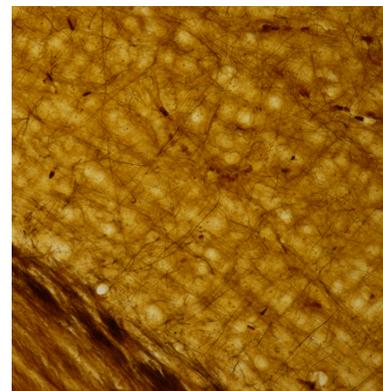
グロコット染色：真菌類の証明

オルセイン染色：HBs抗原と弾性線維が茶褐色に染まる

鍍銀染色

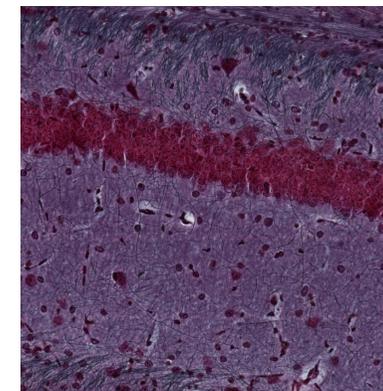
銀塩写真現像の原理に似た機序で神経線維に銀を析出させる

ビールジョウスキー染色



大脳皮質6層と白質・マウス

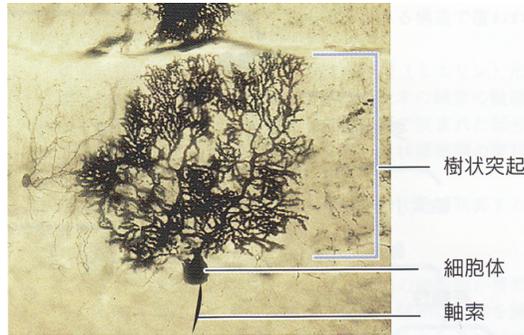
ボディアン染色



海馬・マウス

鍍銀染色
ゴルジ染色

ゴルジ染色ではランダムに選択された一部のニューロンだけが、神経突起を含めた全体像が標識される。

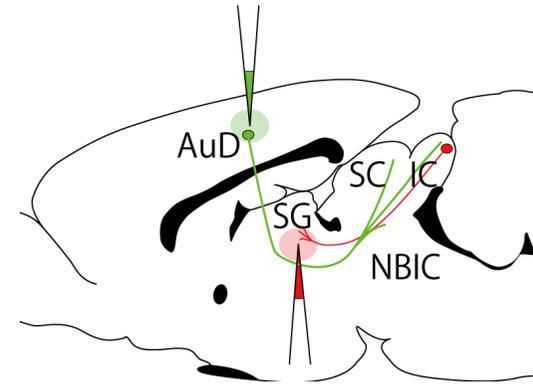


小脳・プルキンエ細胞

Ross 第3版より

トレーサー標識法

神経回路の解析に用いる



順行性標識

ニューロンの細胞体がある位置にトレーサーを注入し、軸索を標識してその分布を見る。
(図の緑)

逆行性標識

ニューロンの投射先にトレーサーを注入して、軸索を逆流したトレーサーによって細胞体が標識される。注入部位へ投射するニューロンが可視化される。
(図の赤)

Sindbis virus vector

