

## 脾組織培養に関する研究

## 第 3 編

## 脾螢光培養法と脾細網細胞を中心とする螢光観察

附, 全編総括, 参考文献, 及び附図

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木潔教授)

木 畑 正 義

【昭和43年12月12日受稿】

## 内 容 目 次

I. 緒 言	網細胞を中心とする所見に就いて
II. 脾螢光培養法に関する基礎的実験	A. 実験方法
A. 螢光色素 Acridin-Orange の細胞増生並びに細胞機能に及ぼす影響	B. 実験成績
1) 実験方法	1) 正常マウス脾増生帯の螢光所見
2) 実験成績	2) 脾細網細胞の螢光所見
B. 淋巴球に於ける螢光染色度の検討	3) 爾余細胞の螢光所見
1) 実験方法	IV. 総括並びに考按
2) 実験成績	V. 結 語
C. 小括	附) 全編の総括
III. 回転培養法への螢光法の応用 —— 特に脾細	VI. 参考文献
	附) 附図

## I. 緒 言

先年来教室では, 服部, 渡辺<sup>56)</sup>, 小塚<sup>28)</sup>, 小林<sup>28)</sup>, 等により螢光色素 Acridin-orange (以下 Ao. と略す) による腹水, 骨髓, 淋巴腺諸細胞の生体染色による観察が行なわれて来た。螢光色素添加による二次螢光の観察が医学に貢献する所は大きく, ひとり細胞形態学のみならず, 抗原抗体反応に於ける Coons の業績は免疫学に進歩をもたらしめ, また癌細胞の細胞化学的研究にも一役を荷っている。

さて, 細胞の生体観察, 殊に培養による観察の意義はいう迄もなく, 先に挙げた教室諸氏の業績が, 之迄天木<sup>3)</sup>, 山下<sup>57)</sup>, Braunsteiner<sup>60)</sup>, Kosenow<sup>69)</sup> 等により行なわれた方法が主として超生体染色であり, いわば頻死の状態にあるものを観察したのと異り, 生きた細胞を観察しているという点極めて重要であり, 従って同種の細胞の所見に於いても大きな差違が認められる。

嗣って, 細網細胞の螢光顕微鏡的観察は, 天木が淋巴腺に於いて, 山下が骨髓に於いて, それぞれ超生染により, 又 Kosenow は海狸骨髓組織培養により観ているが充分とはいいい難い。尚又, 脾組織培養に螢光色素 Ao. を加えて螢光観察せるものは未だ之をみない。

かくて私は教室諸氏の業績に鑑み, 脾臓諸細胞の螢光色素法による生体観察を企て, 教室渡辺が案出せる骨髓螢光培養法に則り, 脾臓に就いての螢光培養法が可能か否かを検討した。更に第1編, 第2編で観察せる脾細網細胞の螢光色素 Ao. による生体染色を行ない, 第2編に述べた中性赤, ヤーヌス緑 B による所見と比較しつつ観察を行なったので以下述べる。

## II. 脾螢光培養法に関する基礎的実験

螢光色素 Ao. を添加せる培地に於いて, 脾組織培養が可能か否かについて検討し, 更に染色性の面

よりその螢光観察に適当な濃度を知るため以下の基礎的実験を行なった。

**A. 螢光色素 Ao. の細胞増生並びに細胞機能に及ぼす影響**

1) 実験方法

実験材料：正常成熟マウスの脾組織を用いた。

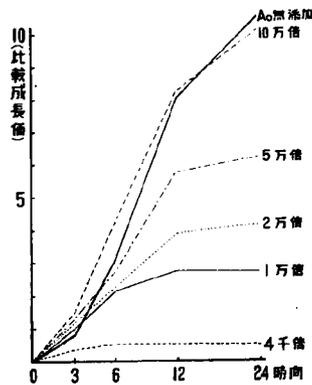
培養方法：平木式臨床組織培養盤 No. 1 を用い、培地には正常ラッテ非働化血清一滴及び 1cc 中 Vitamin B12 807, Ao. 0.5~0.02mg を含む 5 段階の濃度の生食溶液一滴を用いた。即ち、Ao. 培地濃度を  $1/4 \times 10^{-3}$ ,  $1/10 \times 10^{-3}$ ,  $1/20 \times 10^{-3}$ ,  $1/50 \times 10^{-3}$  及び  $1/100 \times 10^{-3}$  の 5 段階とし対照には血清一滴及び B12 一滴を培地に用いた。

観察方法：各培地に付き培養後 3, 6, 12, 24 時間にて比較成長価を, 6, 12 時間にて細胞密度指数を, 3, 6, 12 時間にてリンパ球遊走速度をそれぞれ明視野顕微鏡にて測定した。なお実験成績の記載は全て, 3 例の平均値をもってした。

2) 実験成績

比較成長価：(表 2) 培養後 3 時間にて培地濃度  $1/4 \times 10^{-3}$  では 0.31 で対照 0.80 に比し  $1/2$  以下だが  $1/10 \times 10^{-3}$  以下の濃度ではむしろ大となる。6, 12, 24 時間では  $1/100 \times 10^{-3}$  以外は対照より小となる。

表 2 比較成長価  
(Ao. 培地濃度の変化による影響)



細胞密度指数：(表 3)  $1/4 \times 10^{-3}$  では殆んど増生を認めず  $1/10 \times 10^{-3}$  では培養 6 時間後の平均 71 で対照 97 に比し少々低下し濃度を減ずるに従い対照に近づく。

リンパ球遊走速度：(表 3)  $1/4 \times 10^{-3}$  では遊走を認めず  $1/10 \times 10^{-3}$  では培養後 6 時間に  $3.6 \mu/m$  で対照

表 3

細胞密度指数・リンパ球遊走速度

(Ao. 培地濃度の変化による影響)

	4千倍	1万倍	2万倍	5万倍	10万倍	Ao. 無添加
細胞密度指数	6	5	71	66	67	94
細胞密度指数	12	8	81	69	74	96
リンパ球遊走速度	6	0	3.6	3.7	4.0	5.5
リンパ球遊走速度	12	0	1.6	2.5	2.5	3.6

$5.1 \mu/m$  に比し少々低下し低濃度ほど対照に近づき  $1/100 \times 10^{-3}$  では  $5.5 \mu/m$  とむしろ対照より高値を示した。

**B. リンパ球に於ける螢光染色度の検討**

1) 実験方法

実験材料, 培養方法は前項と同様であるが, Ao. 培地濃度は  $1/10 \times 10^{-3}$ ,  $1/20 \times 10^{-3}$ ,  $1/40 \times 10^{-3}$  の 3 段階とした。

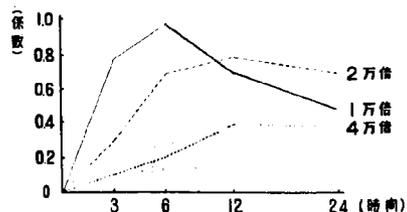
観察方法：螢光顕微鏡を用いた。即ち光源には OSRAM HBO 200 高圧水銀蒸気灯, 光源フィルターには BG 12, 接眼フィルターには OG5 を使用し拡大倍率は  $40 \times 12.5$  で螢光色の変化を防ぐため可及的迅速に観察した。

記載方法：Ao. を添加した培地に出現した細胞を上記の螢光装置で観察すると活発に運動中のリンパ球で最も鮮明な螢光を発するものは核帯黄緑色で胞体は弱緑色に見え明瞭な赤橙色の顆粒を有する。今, 斯る螢光のリンパ球を基準とし核及び顆粒について基準に適するリンパ球数と増生帯の全リンパ球数との比を求め之れを核係数, 顆粒係数とすれば生きたリンパ球を碍得せずに最も鮮明に染色し得る濃度が判るはずである。

2) 実験成績

核係数：(表 4)  $1/10 \times 10^{-3}$  では 3 時間で 0.78, 6 時間で 0.97 と略々充分に染色されるが  $1/20 \times 10^{-3}$  では 3 時間で 0.27 と極めて低く 12 時間で最高の 0.78 と

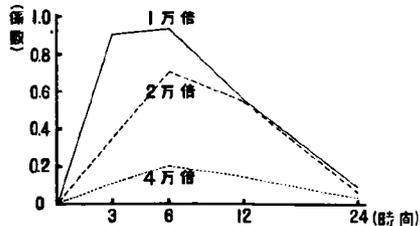
表 4 リンパ球核係数  
(Ao. 培地濃度の変化による影響)



なるにすぎず  $1/40 \times 10^{-3}$  では最高値も 0.4 に達しない。

顆粒係数：(表 5)  $1/10 \times 10^{-3}$  では 3 時間に 0.90 を示し 12 時間でも 0.55 にとどまるが  $1/20 \times 10^{-3}$  に遠く及ばず  $1/40 \times 10^{-3}$  では常に 0.20 以下である。

表 5 淋巴球顆粒係数  
(Ao. 培地濃度の変化による影響)



### C. 小 括

臨床培養法の培地へ Ao を各種濃度となる様に添加して培養可能な濃度を検索し次いで生きた淋巴球の螢光を観察して最も鮮明に染色し得る濃度を求めた。その結果比較成長価、細胞密度指数、淋巴球遊走速度に於いては Ao 培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  以下では培養が可能であり核係数、顆粒係数による淋巴球染色度の検討では培養可能な範囲で最も鮮明な螢光を得るのは培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  であった。従って血清一滴及び VB<sub>12</sub>-Ao 生食液一滴を培地とし Ao 培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  とせる方法により脾臨床培養が可能であり、之を脾螢光培養法と呼称する。

### III. 回転培養法への螢光法の応用——特に脾細網細胞を中心とする所見について

#### A. 実験方法

前章で述べた螢光培養法で Ao 培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  で培養可能であり、然も細胞の螢光観察には最適の濃度であったので本章の実験にはこの濃度を採用した。即ち第 2 編で塩基性色素を添加したと同様の方法で培養後一定時間後短冊型カバーガラスを取り出し回転培養に用いた培養液と  $1/6 \times 10^{-3}$  Ao. 生食溶液とを等量に混合して Ao. 培地濃度を  $1/10 \times 10^{-3}$  となる様にし、之を短冊型カバーガラスにパラフィンにて包埋封入した。この標本を 30~60 分の間に、また細胞変性の観察には適当な時間 37°C の孵卵器中に静置せる後、前記螢光装置で観察した。尚、油浸に際しては流動パラフィンを用いた。又、変性像の観察では紫外線照射は変性を促進するため一標本は一回のみの観察にとどめた。

#### B. 実験成績

##### 1) 正常マウス脾増生帯の螢光所見 (第 1 図)

培養 3, 6, 12 時間の観察は螢光培養法により、以後の観察は回転培養法によった。培養後 3~4 時間の増生帯はびまん性に帯黄緑色を呈し、原組織周辺で密、辺縁に行くにつれ疎となり、中に赤橙色の螢光が点在する。之は増生帯に出現せる細胞が主として淋巴球であるため、その核の螢光により帯黄緑色を呈したのであり、また好中球、単球も存在する為めその顆粒の螢光により赤橙色が点在したのである。然るに時間の経過と共に核の螢光は黄緑色となり、淋巴球にも赤橙色顆粒が増加し、増生帯の赤橙色螢光は漸次増加して来る。そして 12 時間を過ぎると顆粒の褪色により、赤橙色螢光は減少し始め核には黄色調が一段と強くなり一部の淋巴球は変性して胞体は橙色を呈するものがみられる。培養 24 時間頃では、中間部及び辺縁部で変性が著明で、遊走する細胞はみられず核は橙黄色又は黄色を呈し胞体は橙色で顆粒の螢光は認め得ない。一方、増生帯中心部では活発に運動する淋巴球、単球がみられびまん性に帯黄緑色を呈し、単球の顆粒による赤橙色螢光が稀にみられ、更に細網細胞出現により、赤橙色顆粒充満せる大なる胞体を認める。36 時間頃では淋巴球の変性著しく運動能を認めるものは少なく多くは核膨化の結果弱緑色の円形陰影或いは橙黄色の裸核の螢光として認められる。単球の核はなお緑色を呈するも胞体内に赤橙色空泡が充満し既に運動は認め得ない。斯くの如き変性細胞の中であって原組織周辺より幼若型、成熟型の細網細胞が遊出し、核の強緑色、顆粒の赤橙色螢光が著明となる。48 時間では、増生帯には細網細胞が多数かつ広範囲に遊走し核は強緑色を胞体は緑色を呈し胞体内には赤橙色顆粒が多数認められる。中心部では幼若細網細胞が散在し比較的狭小な胞体は緑色で多くは少量の赤橙色顆粒を認める。原組織内では核緑色で長大な胞体が弱緑色を示す線維芽細胞が多数出現し、一部は増生帯に突出せるものもみられる。72 時間では細網細胞の変性が進み、核は橙黄色または黄色、胞体は球形化し赤橙色空泡が充満し、或いは顆粒褪色に陥れるものもみられる。幼若細網細胞では核の黄変が著しい。原組織附近では線維芽細胞が夥しく出現し放射状に配列し増生帯へ延びる。核は強緑色を呈し胞体は緑色または弱橙緑色に認められ胞体内に赤橙色顆粒が散在する。96 時間、線維芽細胞は変性傾向を認め、そのものでは核橙黄色、胞体弱橙色と

なり赤橙色顆粒が異常に増加するのがみられる。

## 2) 脾細網細胞の螢光所見

第1編, 第2編で述べた如く細網細胞を3つの型に分類したが, 以下これに対応した細胞に就いての所見を述べる。回転培養後48時間頃のものに就いて主に観察した。

**I型:**(第2, 3図) 類円形の胞体を有し, 核膜は比較的薄く円滑で極めて明瞭に強緑色又は帯黄緑色を呈し胞体と区画される。核小体は巨大類円形で強緑色螢光を呈し一部有茎状に核膜に連なるのが見られる。核膜は殆んど螢光なく抜けてみえる。胞体は淋巴系細胞に比し広く且つ胞体縁明瞭で幾分不整形であり, 極めて弱い緑色螢光を呈する。胞体内は無構造の如く見えるが均質ではなく主として核周に散在性または集簇性の歪鈴状ないし桿状の糸粒体が弱橙黄色, 黄色又は弱黄緑色に認められ顆粒は認められない。尚この型に属すると考えられる稍々小型の細胞が認められるが弱緑色の胞体が広く強緑色の核膜は薄く明瞭円滑で核小体も明瞭に認められ核質に螢光がみられない点で明らかに淋巴系細胞と異なるものである事を知る。やや成熟したとみられる段階では核小体は幾分小となり核陥凹部に赤橙色微細な不整形の顆粒が出現し胞体周辺より偽足を出すものが認められる。

**II型:**(第4, 5図) 最も著しい運動形を示し運動に伴って自由な形を呈するII<sub>a</sub>型の他少数の, 樹枝状偽足を形成するII<sub>b</sub>型を認める。主にII<sub>a</sub>型に就いてみると, 核はI型より稍々小であるが尚2~3個明瞭な強緑色を呈し, 核質にはクロマチンの部に少量の緑色螢光がみられる。胞体は緑色螢光弱く, 多種多様な偽足を有し, 中に赤橙色大小不同不整形の顆粒が散在性に或いは運動時には主として核後方に集簇性に認められ顆粒の存在によって, 弱緑色の偽足の位置を知り得る事が多い。

**III型:**(第6, 7図) 胞体は一般に大型となり胞体内に多数の大小不同赤橙色顆粒及び大小不同のAo. 不染空胞を有し, それらに覆われて胞体の色は殆んど見えない。顆粒の存在しない部位または胞体縁にて弱緑色の輪廓をうかがい知るが, 核は濃緑色類円形で胞体の一側に偏在する。濃緑色の核膜はやや厚く輪廓不明瞭となり核内には粗大なクロマチンの凝集が濃緑色を呈し, また核小体は殆んどこれを認める事は無い。貪喰肥大せるものでは胞体内に黒色無螢光の赤血球遺影を, 淡黄緑色の淋巴球等を認めるものがあり, 更に暗黒色のAo. 不染空胞を認める

ものもある。

**Ao.** を添加した標本に於いてIII型細網細胞を経時的に観察し変性像を追求した。先づAo. 添加直後濃緑色であった核は3時間を過ぎると核膜及びクロマチンの凝塊が明瞭な黄緑色となり, 6時間後では橙黄色のものもみられる。12時間以後は漸次褪色しつつ膨化し24時間後では弱黄緑色の円形陰影として認められる。一方顆粒に於いては添加直後赤橙色粗大不整形のものが散在性に認められるが時間と共に増加し或いは空胞化して3時間を過ぎると胞体内に充滿するに至り以後更に空胞化の傾向は著明となるが, 6時間以後は顆粒の褪色が始まり, 同時に胞体の崩壊と共に空胞の消滅が起り, 12時間以後は顆粒を認め得ぬ細胞も存し, 24時間では一部の細胞に少量の橙色素を認めるにすぎない。

## 3) 爾余細胞螢光所見

**淋巴芽球:**(第9図) 中等大円形の核は多くは大きな切れ込みを有し核小体が1~2個みられ強い黄緑色を呈する。核網は比較的粗なものが多くクロマチンの部に帯黄緑色の螢光として認められ核質は胞体の緑色螢光に被われる。核膜は緑色明瞭である。胞体は緑色強く狭小で円形の胞体縁は明瞭, 核周に微細な円形又は桿状の糸粒体が弱橙黄色, 黄色, 黄橙色を呈し散在する。然るにこのものは紫外線照射により容易に螢光を失う。

**淋巴球:**(第2, 3, 4, 9図) 胞体は円形ないし遊走形を呈し, 核は円形又は胞体の変形に応じて軽度の変形を示す。核は黄緑色で核膜厚く明瞭で, 核網粗大な緑色小塊をなし核膜に接続する。胞体は弱緑色を呈し胞体縁明瞭, 赤色の円形大小不同の顆粒数個を有する。大淋巴球では核は緑色が強く, 弱緑色の胞体は広い。

**単球:**(第10図) 原組織に強く認められるが緑色の核を有し核膜, 核網は不明瞭で輪廓を辛じて知り得る程度である。胞体は広く濃緑色で, 全周より膜様偽足を出すが既に鈍い螢光のみとなり培地に移行し追跡困難である。胞体内には赤橙色円形大小不同の顆粒が数個認められ, 多くは核周に認められると同時に核陥凹部に集簇性にみられる。

**好中球:**濃緑色の核は核膜不明瞭でクロマチンの緑色螢光強く, 胞体は弱濃緑色を呈し, 中に赤橙色円形又は不整形大小不同の顆粒が多数みられる。

**形質細胞:**円形又は楕円形の核が広い胞体の一侧に偏在し核網は粗でクロマチンの部の強緑色の螢光が車軸様外観を呈する。胞体は楕円形で辺縁極めて

明瞭で弱緑色を呈しゴルジ野は螢光微弱で黒ずんで見え、時に微細赤橙色不整形の顆粒が少量集簇し、ゴルジ野周辺より胞体全域に弱黄緑色より弱黄橙色の円形又は桿状の糸粒体がみられる。幼若形質細胞の核は比較的大きく、中央部に1~2個の小円形核小体を認め、胞体内殊にゴルジ野周辺に多数の糸粒体をみる。

線維芽細胞：核は楕円形で長大な胞体の中央に位し、核膜は黄緑色で非常に明瞭で薄く、粗な核網はクロマチンの部に強緑色の螢光を有し間隙の核質の部には全く螢光なく抜けてみえる。核中央に通常1~2個の正円形大なる核小体が強緑色を呈する。胞体は弱濃緑色の螢光を有し中に赤橙色不整形の顆粒が散在性に胞体全域にみられる。

組織肥胖細胞：類円形の大なる胞体は赤色の大型略々均等大の顆粒で覆われる。

#### IV. 総括並びに考按

螢光色素 Ao. で染色すると細胞の各成分は色素に対する親和性を異にするため色素摂取量に差を生じ、この差は Strügger<sup>11)</sup> のいう Konzentrationseffekt により赤、橙、黄、緑にわたる多彩な二次螢光となって現われる。従って各々構成成分を異にする各種細胞は螢光に差を生じ、此の特性によって各種細胞の鑑別も可能な筈である。第1編及び第2編で行なった脾細網細胞の検索に更に螢光法を適用せんとし、先づ Ao. を添加せる培地に於いて脾組織培養及び螢光観察が可能か否かにつき基礎的実験を行なった。既に教室渡辺<sup>56)</sup> は骨髓螢光培養法において、Ao. の細胞増生に及ぼす影響、螢光観察に至適な濃度につき詳細に検討し、Ao. 培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  に於いて培養並びに螢光観察が可能であると報告しているが私の実験に於いても Ao. 培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  以下の低濃度では培養可能であり、その範囲内で螢光観察に至適な濃度は  $1/10 \times 10^{-3}$  であり骨髓の成績と一致した。従って血清、VB<sub>12</sub> 及び Ao. を培地とし Ao. 培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  とせるものを骨髓螢光培養法に準じて脾螢光培養法と称したのである。

而るに実験の主たる目的は脾細網細胞の生態観察であり、第1編で述べた如く回転培養法によるのが最も好結果を得たため、第2編で行なった中性赤、ヤーヌス緑B添加の方法と同様にして培養後観察標本作成時に Ao. を培地濃度  $1/10 \times 10^{-3}$  とする様に添加したのである。斯くすれば培養中色素の細胞増

生に及ぼす影響は除きうるし、而も任意の時間の脾増生帯を螢光染色下に生態観察することが可能である。脾螢光培養法と回転培養法によるものと双方の増生帯の螢光を比較するに、培養後12時間迄は全く同様であり、12時間を過ぎると脾螢光培養法の増生帯には次第に変性細胞が増加し24時間以後は殆んど生きた細胞がみられない。従って増生帯の螢光観察には12時間迄は培養法の簡便な螢光培養法により以後は回転培養法により観察したのである。

さて、脾培養増生帯の螢光は、びまん性帯黄緑色の中に赤橙色が点在するものであり、教室渡辺が観察した正常人骨髓の増生帯がびまん性赤橙色を呈したのとは全く対照的であり、むしろ教室小林の観察せる淋巴腺螢光培養の増生帯に類似した。之は主として増生帯に出現する細胞が脾及び淋巴腺では淋巴球であり骨髓では好中球であったからに他ならない。個々の細胞の螢光所見に於いても前述の渡辺、小林らの所見に略々一致したが、形質細胞のみは渡辺が骨髓に於いて観察した所見で赤橙色顆粒がゴルジ野周辺に出現すると述べているが、脾に於ける所見では赤橙色顆粒は殆んどみられず更にゴルジ野の暗黒色の螢光も認め得ぬものが多かった。更に細胞変性の所見に於いて、増生帯の螢光が時間と共に核の黄色調を増し赤橙色顆粒が褪色し、胞体の橙色螢光が出現し、次いで全て、漸次褪色し、核の膨化融解と共に、淡緑色の陰影と化するのを認めたが、之等は教室渡辺<sup>56)</sup>、小林<sup>28)</sup>、小塚<sup>29)</sup> が観察した淋巴球の変性過程と全く一致している。

この様に増生帯の螢光は24時間を過ぎる頃より一変し、細網細胞の出現と共に、その顆粒によりびまん性に赤橙色を呈する様になる。

細網細胞の螢光像に就いて、Kosenow<sup>89)</sup> は海狸骨髓培養増生帯に出現せる大貪食球を記載し、天木<sup>3)</sup> は人淋巴腺に於いて超生体染色法により観察しているが、之等は何れも私のいうⅢ型に属するものであり、幼若な細網細胞に就いての螢光観察は記載されていない。私は前2編に於いて細網細胞をⅠ、Ⅱ及びⅢ型に分類観察したが、螢光法に依れば、核、核小体、胞体を生体染色し得る上に、好塩基性の差は直ちに螢光色の差となって現われる点、また極く微細な顆粒であってもその螢光が、kontrastreich (Kosenow<sup>89)</sup>) であるために容易に認め得る点等により、他種細胞との鑑別は一層容易となる。即ちⅠ型に於いては明瞭な核膜と巨大な核小体が強緑色を呈し、核網繊細で殆んど螢光をみない

が、淋巴芽球では核の螢光は幾分黄色調を帯び核網は早期より粗剛化する傾向があり、従ってクロマチンによる強緑色不規則な螢光が核内にみられ、胞体の螢光も淋巴芽球では一層強く黄色調を帯びる。また天木<sup>3)</sup>は人淋巴球に出現せる淋巴胚球の螢光所見として黄緑色の細胞質と強い螢光を発する核小体を挙げ Ao. 空胞が核周に少数出現すると述べているが、I型では赤橙色顆粒は認められず、IIa型でも赤橙色顆粒は粗大不整形のものが少量細胞中心域周辺に集簇性に出現するなどの点で異なる。また教室小塚<sup>20)</sup>が白血病細胞を骨髓で観察したが、単芽球、前単球は緑色の核は早期より単球系特有の立体的分葉の傾向が認められ、核膜、核小体は余り明瞭でなく濃緑色の螢光を発し、前単球では細胞中心域を取り囲んで、赤橙色の粗大不整形顆粒が集簇し時間と共に空胞化して所謂花冠状を呈すると述べており、私のいうI型及びIIa型とは明らかに異なる。更に教室渡辺<sup>56)</sup>の観察した骨髓芽球では核膜は薄く不明瞭で核小体は緑色螢光が余り強くなく、胞体の螢光は弱緑色又は緑色であり、やや成熟した段階では、細胞中心域周辺に橙色微細な顆粒が出現しており、I型の螢光とは可成り異なるものである。更にIIa型は前編でも述べた如く特徴ある運動形態を示すが故に単球を始めとして他種細胞との鑑別は極めて容易である。

斯くして、螢光所見に於いても、II型はI型に比し成熟せる段階にあることが結論される。即ち遊走能をもつこと、胞体緑色螢光の減弱すること、胞体に赤橙色大小不同顆粒が出現し増加すること、核質にクロマチンによる緑色螢光が見えて来たこと、核小体は明瞭だがやや小になったこと、また糸粒体の黄緑色螢光の減じた事等であり、更に一部に貪喰能を示すものがみられIII型への移行が考えられる所見をも認めるのである。

III型では赤橙色粗大な大小不同の顆粒が胞体全域に散在し、更に時間と共に空胞化し、胞体に充満して来る時は他の細胞との鑑別は比較的容易である。単球では赤橙色の顆粒及び空胞は細胞中心域に集簇する傾向を有し、胞体縁は特有の膜様偽足を形成するため不明瞭であること、好中球では赤橙色顆粒の量が少なく、不整形のまま空胞化するものは少なく胞体の濃緑色螢光も異なる、等の点で区別し得る。更に線維芽細胞では楕円形の核内には核小体が2個明瞭であり、核網は粗なるも螢光弱く、長大な胞体内に赤橙色不整形で小なる顆粒が均等に散在す

る点で、また組織脂肪細胞では特有の好塩基性顆粒が強赤色球型を呈し胞体内に充満する点で鑑別し得る。

さて、III型細網細胞の退行性変化を螢光の面より観察した結果は、核、核小体並びに胞体の螢光は時間と共に色素濃度を増す方向に、即ち赤色の側に移行し、顆粒では色素濃度を減ずる方向に、即ち黄色の側に移行し、遂には全く褪色する。これは正常に骨髓の好中球に於いて、教室渡辺<sup>56)</sup>が種々の悪条件を負荷して観察した核及び顆粒の変性像と全く一致し又白血病時の各種白血球に就いて教室小塚<sup>20)</sup>が観察した変性像とも一致する。この現象は渡辺が実験的に証明した如く細胞機能の低下に伴って出現するものであり、核胞体の螢光が赤色調を呈するに至ったのは、細胞膜の透過性亢進 (Seyderhalm<sup>108)</sup> 田村<sup>49)</sup>、蛋白ミセル構造の変化 (Schummelfeder<sup>106)</sup>) 等が要因であると思われる。また顆粒の螢光の褪色は中性赤顆粒の褪色に就いて教室大藤<sup>37)</sup>等が指摘した如く、機能低下のため、色素毒性によって清野氏のいわゆる色素嗜好顆粒が破壊される事が Ao. 顆粒に就いても推察される。

## V. 結 語

1) 骨髓臨床螢光培養法と同様、脾螢光培養法が可能である。更に短冊型カバーガラス併用の回転培養法に應用して、脾細網細胞の生態螢光観察を行ない得た。

2) 第1編で観察せる各型に就き、螢光色素 Ao. により夫々特徴的な所見を得たが、前2編の中性赤による染色と Ao. 赤色顆粒、空胞とは類似せる所見を得た。

3) I, II, III型の間に移行並びに成熟と認められる螢光所見が得られたが、これは第1編及び第2編で、移行と成熟の過程を観察した事と同一の結論である。

4) Ao. 空胞の一部は Ao. 色素の影響下に生じた二次的空胞であることが推定される。

5) III型の変性過程に於ける螢光所見の変化を追求した。

### 附) 全編の総括及び追記

脾細網細胞を組織培養により、即ち生態観察の立場に於いて、その形態及び機能に就いて観察した結果を述べた。

成熟マウス脾を材料とし、回転培養法(Rollertube

法)に短冊型ガラスを用い、一定時間培養し、これを溝型載物ガラスに包埋し、位相差顕微鏡、中性赤、ヤースス緑Bによる生体染色、墨粒貪喰、更にAcridinorange染色にて蛍光顕微鏡観察を行なった。位相差鏡検により、I、II、及びIII型に分類し、II、とIIIは夫々a、bの亜型に分った。他の方法ではこれに準じて観察し、その結果I型は最も幼若で分裂能が旺盛であり、貪喰能、遊走能はなく、II<sub>a</sub>型は貪喰能はあるが、むしろ遊走能、遊走形態に特徴を有し、単球、リンパ球とは明らかに差がある。II<sub>b</sub>型は、静止せる型で、樹枝状、触手状突起で、網状構造を形成するものであり、III型は貪喰能高度で異物飽食し、最も成熟せる段階の細胞である。

かくして、脾では未だ貪喰能を認めない幼若な段階から高度に貪喰能を示すもの迄の細網細胞が存在し、その途中の段階で、培養という環境に於いて、可成りの遊走性を示すものがあることを認め得た。運動形態については16ミリシネにより観察したが、II<sub>a</sub>型のそれは特異であり、従来、殆んど報告をみない所のものである。

以上一連のものが、形態学的に淋巴系細胞、単球系細胞、線維芽細胞、洞内皮細胞、皮下組織球、或いは腹水食細胞等と異なるものであることを論じた。

尚、第2編で、中性赤及びヤースス緑Bの培地最終濃度を染色度、細胞変性度より $1/10 \times 10^{-3}$ 及び $1/60 \times 10^{-3}$ とし、第3編でAcridinorange最終濃度を核係数、顆粒係数より $1/10 \times 10^{-3}$ とすることにより好結果が得られることを知った。また溝型載物ガ

ラス包埋による観察は、全編を通して行なうが、培養下に油浸観察を行なうに極めて有用であった。

実験成績では述べなかつたが、以上の結果を基に、ヒト脾、生検採取及び手術摘出材料より同様の検索を進めており、その一部は既に発表した<sup>30)26)</sup>、特に再生不良性貧血脾でII<sub>a</sub>型が赤血球を貪喰して遊走するのを観察し得た。(第28図)また白血性細胞内皮症(白血性細胞肉腫)での脾及び末梢血でII<sub>a</sub>型類似の形態を呈する腫瘍細胞(第29図)を観察し得たが、Mitus<sup>26)</sup>らの報告とも併せて本論文の実験結果を強く裏付けるものと考え敢えて、ここに附加える。

一方、形態学研究の方向は光学顕微鏡から電子顕微鏡へ移った今日、本研究も改めて電顕の観察が要求されるが、田中<sup>60)</sup>はリンパ腺胚中心の電顕像により細網細胞を機能相と増殖相とに分けており、前者は著者のIII型に後者はI型に略々一致すると考えられる点極めて興味があり、今後の問題とならう。

現今、腫瘍病理学的にも又免疫細胞学的にも細網細胞系統が改めて検討されている時期に鑑み、本研究の一端が、何等かの貢献をもたらせば幸いと考える。

尚、本研究は第21回、及び第22回日本血液学会に於いてその要旨を発表した。

擧筆するに当り、終始本研究を御指導、御校閲賜わった恩師平木潔教授、大藤真教授そして喜多島康一講師に深甚なる謝意を表する。

## 文 献

- 1) 赤崎兼義：細網内皮系統とその腫瘍。日病会誌，41(総)，1，昭27.
- 2) 赤崎兼義，小島 瑞：炎症巣における網内系細胞の態度。血液討議会報告，7，121，昭29.
- 3) 天木一太：リンパ腺腫脹の臨床病理—臨床方面。日血会誌，23，321~340，1960.
- 4) 天野重安：血液学の基礎—上巻，丸善，1948.
- 5) Amano, S., G. Unno, & etc.: Studies on the discrimination of lymphocytes and plasma cells. Supplements on advocacy of the "lymphogonia" theory. Acta path. jap., 1, 117, 1951.
- 6) 浅香隆一：人腹水腫瘍細胞の組織培養による形態学的研究。岡山医会誌，71，8の1，4541，昭34.
- 7) 福光廉平：
- 8) 深瀬政市：脾のバイオプシー—脾臓穿刺法に対する批判及び白血病を中心にして。日本臨床，16，747，昭33.
- 9) 後藤五郎：Einfluß der Röntgenstrahlen auf die emigrierende Zellen des Milzexplantats von Hühnerembryo in vitro. 日本レントゲン会誌，14，昭11.
- 10) 花岡正男：血球の位相差顕微鏡像—Golgi 体と小胞体。日血会誌，19，4，341~357，1956.
- 11) 服部銈三：体外組織培養に及ぼす色素の影響について。日微病誌，24，71，昭5.

- 12) 服部銑三：脾臓組織培養の際発生する細胞種について。日微病誌，24，133，昭5。
- 13) 服部嘉之：骨髓体外培養組織の切片染色による細胞学的研究。70，6，2069，昭33。
- 14) 速水 猛，田中正治：Uber vitale Färbung d. Hühnermilz bei d. Kultur d. lebenden Gewebe in vitro, Soc. path. jap. Acta (日病会誌)，2，291，1913。
- 15) 平木 潔，大藤 真：単球白血病について私達の考案した骨髓組織培養法による診断。日本医事新報，1628，6，昭30。
- 16) 平木潔，大藤真：映画による血球の動態並びに其の臨床応用—主として骨髓培養による。日血会誌，19，4，406，昭31。
- 17) 平木潔，大藤真他：脾臓組織培養に関する研究。総合医学，16，11，1099，昭34。
- 18) Hiraki, K., T. Ofuji & etc.: The method of tissue culture (mainly of the bone marrow) and a simple method of observing living tissue, Acta Med. Okayama, 10, 3, 110, 1956.
- 19) Hiraki, K., H. Sunami & etc.: Fundamental studies on the peripheral leucocyte culture and its clinical application, Acta Med. Okayama, 12, 2, 139, 1958.
- 20) Hiraki, K., T. Ofuji & etc.: Tissue culture of spleen: studies on the growing pattern and its evaluation for clinical diagnosis of leukemias and other hematologic disorders, Acta Med. Okayama, 17, 1, 1~17, 1963.
- 21) Ishibashi, K. Takashima: Funktionelle Wechselbeziehungen zwischen der Organen bei Gewebs Kulturen in vitro, Soc. path. jap. Acta, 12, 114~116, 1922.
- 22) 嘉村淳太：位相差顕微鏡観察による穿刺液の細胞学的研究。岡山医学会誌，72，845，昭35。
- 23) 嘉村淳太，太田善介：位相差顕微鏡による血球鑑別法（骨髓圧挫法による）。日内会誌，46，569，昭32。
- 24) 加納 学：所謂 Splenozyten の本態に関する研究。日血会誌，16，1，1，昭28。
- 25) 川野嘉彦：骨髓体外組織培養による単球白血病の研究。岡山医学会誌，70，8，2761，昭33。
- 26) 喜多島康一，木畑正義他：脾臓組織培養の基礎と臨床。第1報，日内会誌，49，6，688~696，1960。
- 27) 清野謙次：生体染色研究の現況及び其の検査術式。南江堂，東京，大正10。
- 28) 小林照雄：淋巴腺組織培養に関する研究。岡山医学会誌，72，1479，昭35。
- 29) 小塚 堯：骨髓体外組織培養による白血病の蛍光顕微鏡的研究。未刊
- 30) 倉重芳嗣：鶏胎脾臓細胞について。実験医学雑誌，14，11，1235，昭5。
- 31) 松木茂：骨髓並びに末梢血体外組織培養における単球系について。岡山医学会誌，71，1253，昭34。
- 32) 前田 昭：骨髓組織培養に関する基礎的研究。岡山医学会誌，71，8の1，4629，昭34。
- 33) 森喜久男：血液細胞の超生体染色並びに生体染色について。金大十全誌，33，762，昭13。
- 34) 森田博道：家兎骨髓における「モノチーテン」の造生に関する知見。日血会誌，7，433，昭18。
- 35) 内藤孝和：Maus 脾臓内細胞に関する電子顕微鏡的研究。臨病誌，10，387，1962。
- 36) 中本 孝：超生体染色顆粒の電子顕微鏡学的研究。岡山医学会誌，71，757，昭34。
- 37) 大藤 真，山近幸生他：腹水の細胞学的研究。(1) 特に腹水の食細胞について，(2) 腹水食細胞の起源について（大網乳斑の細胞学的研究）。最新医学，13，2293及び2633，昭33。
- 38) 大森幸夫：細胞内皮系統の細胞学的研究（第一報）。日病会誌，38，34，昭24。
- 39) 小野安三：簡易骨髓組織培養法に関する研究。岡山医学会誌，70，4003，昭33。
- 40) Ota, Z.: A study on the cytomorphologic structure of blood cells by vital staining, Acta Med. Okayama, 13, 4, 1959.
- 41) 佐々木卓也：未刊
- 42) 島崎孝一：未刊
- 43) 柴田凡夫：吉田肉腫細胞の組織培養による形態学的研究。岡山医学会誌，72，10，11，12合併号，877，昭36。
- 44) 千田信行：白血球の走性。最新医学，9，1518，昭29。
- 45) 末永泰三：各種動物の骨髓体外組織培養。岡山医学会誌，70，1291，昭33。
- 46) 杉山繁輝：血液及び組織の新研究とその方法。南江堂，東京，昭17。
- 47) 水津 昭：組織培養による Bashford's carcinoma の研究。岡山医学会誌，71，5741，昭34。

- 48) 菅野 卓: Roller tube による骨髓組織培養の吟味, 岡山医学会誌, 71, 1360, 昭34.
- 49) 田村 甫: 骨髓体外組織培養における生体染色の研究, 岡山医学会誌, 70, 7, 2629, 昭33.
- 50) 田中春高: 淋巴網状組織細胞の電子顕微鏡的観察, 日血全書第一巻, 364, 1963.
- 51) 田中春高: 淋巴球, 淋巴胚球並びに細網細胞の電顕的研究, 日病会誌, 45, 301, 1956.
- 52) 富塚八十一: 脾臓穿刺による診断, 日本医事新報, 1896, 16, 昭35.
- 53) Ueda, M.: Studien über Phagozytose in der Gewebezuchtung, Jap. Zeitschr. Mikrobiol. path., 25, 1017.
- 54) 海野源太郎: 淋巴胚球について, 日血会誌, 16, 1, 10, 昭28.
- 55) 海野源太郎: 位相差顕微鏡観察可能なる組織培養法について, 位相顕誌, 4, 22, 1951.
- 56) 渡辺 晋: 蛍光顕微鏡による骨髓細胞の生態観察—骨髓簡易培養法及び圧挫法による—, 総合医学, 医学書院, 15, 9, 昭33.
- 57) 山下貢司: 血液細胞の蛍光顕微鏡学的研究, 正常血液細胞及び白血病細胞の蛍光像とその解釈について, 総合医学, 14, 997, 昭32.
- 58) Ackerman, G. A., N. C. Bellios: A study of the morphology of the living cells of blood and bone marrow in vital films with the phase contrast microscope, I. Normal blood and bone marrow, Blood, 10, 3, 1955.
- 59) Ackerman, G. A., M. S. Ralph A. Knouff: Cytochemistry and morphology of human lymphnode cells grown in vitro, J. Nat. Cancer Inst., 12, 1267, 1957.
- 60) Bauer, K.: Über Milzexplantation, Zentr. Bakt. Ref., 136, 400, 1940.
- 61) Bensley
- 62) Bessis, M.: Examination with phase contrast. (from Cytology of the blood and blood forming organs, 39~50, 1956.)
- 63) Bessis, M. (translated by E. Pender): Cytology of the blood and blood-forming organs; The plasmacyte series, The stem cells, 532~604, 1956.
- 64) Bessis, M., M. Bricka: Etudes sur Létalement des Leucocytes du sang humain au microscope à contraste de phase et par la méthode de lombrage, Rev. Hémat., 4, 350, 1949.
- 65) Bessis, M., M. Bricka: Aspect dynamique des cellules du sang, son étude par la microcinematographie en contraste de phase, Rev. Hémat., 7, 403, 1952.
- 66) Bloom, W.: Mammalian lymph in tissue culture. From lymphocyte to fibroblast, Folia haemat. 37, 1, 1928.
- 67) Bloom, W.: Ergebnisse der Zuchtungsversuche von Blut und blutbildender Organ, Handb. der allgemeiner Hämatologie (Hirschfeld, H., Hittmair, A.), Berlin, I, 1179, 1932~1933.
- 68) Bloom, W.: Tissue cultures of blood and blood-forming tissues, Handb. of Hematology, Downey Hoeber, New York, II, 1471, 1938.
- 69) Braunsteiner, H., F. Pakesch.: Differenzierung myeloischer und lymphatischer Zellen in Fluoreszenzmikroskop. (Vitalfärbung mit Acridinorange), Wien Zeitschr. inn. Med. 32, 321, 1951.
- 70) Carrel, Ebeling: Pure cultures of large mononuclear leucocytes, J. Exp. Med. 36, 365, 1922.
- 71) Chèvremont, M.: Recherches sur l'origine, la distribution, les caractères cytologiques et les propriétés biologiques des histiocytes et des macrophages par la methode de la cultures des tissue, Arch. Biol., 58, 281, 1942.
- 72) Cunningahm, R. S., E. H. Tompkins: The supravital staining of normal human blood cells, Folia Hemat. 42, 257, 1930.
- 73) Commandon-Levaditi-Muttermilch: Etude de la vie et de la croissance des cellules in vitro a l'aide de l'enregistrement cinematographique, Compt. rend. d. l. Soc. de Biol., 74, 464, 1913.
- 74) Discombe, G.: phase contrast microscopy in the clinical laboratory, A critical study, Acta Haemat. 3, 151, 1950.
- 75) Downey, H.: Handb. of Hematology, Hoeber, New York, 1635, 1938.
- 76) Erdmann, R., H. Fischer, u. s. w.: Das Verhalten der fötalen, postfötalen und ausgewachsenen Rattenmilz unter verschiedenen Bedingungen in vitro, exper. Zellforschung des

- Universitätsinstitutes für Krebsforschg. Charité Berlin, 363.
- 77) Evans-Scott: 46) による.
- 78) Fazzari, J.: Culture "in vitro" di milza embryonale ed adulta, Arch. exper. Zellforschg., 2, 307, 1926.
- 79) Fischer, L. Doljanski: Über das Wachstum von Milzstromazellen in vitro, Wilhelm Roux' Arch. 116, 123, 1929.
- 80) Frédéric, J., M. Chèvremont: Recherches sur les chondriosomes de cellules vivantes par la microscopie et la microcinematographie en contraste de phase, Arch de Biol., 63, 109, 1952.
- 81) Glasnow: 46) による.
- 82) Hall B. E.: Evaluation of the supravital staining method, Downey's Handb. of Hemat. 1, 641, 1938.
- 83) Hartman, A.: Handb. d. Mikro. Anat. d. Menschens Berlin, II/I 397, 1930.
- 84) Haszler, K., A. Farago: Untersuchungen an Milz-Kulturen bestrahlten Meerschweinchen, Zentr. Bakt. Ref. 119, 114, 1935.
- 85) Herzog, G.: Lymphatisches Gewebe und Zellen, RES-Gewebe und Zellen, Handb. d. gesamt. Hämatologie 1957.
- 86) Hück, W., F. Marchand: Die normal Milz als Blutbehälter, Verhandl. d. dtsh. path. Anat. Gesellsch. 23, 6, 1928.
- 87) Huzzella, T.: Beziehungen zwischen Blut und Bindegewebe in der Milzkulturen, Arch. exp. Zellforsch., 11, 170, 1931.
- 88) Kasten, W.: Morphologische Veränderungen in der Milzmakrophagen Kulturen nach Phagozytose von Kohl u. Quarzstaub. Arch. Geweb. Path. Geweb. hyg., Berlin, 9, 346, 1939.
- 89) Kosenow, W.: Lebende Blutzellen in Fluoreszenz und Phasenkontrastmikroskop, 1956.
- 90) Lambert, R. A.: The effect of dilution of plasmamedium on the growth and fat accumulation of cells in tissue culture, J. exp. Med. 19, 398, 1914.
- 91) Lezarow, A., S. J. Cooperstein: studies on the enzymatic basis for the Janus Green B staining reaction, J. histochem. & cytochem. 1, 234, 1953.
- 92) Lewis, W. H., M. R. Lewis: Behavior of cells in tissue cultures, General cytology, Cowdry, Univ. of Chicago press, 384, 1924.
- 93) Lüdin, H.: Phasenkontrastverfahren in der Haematology, Acta Haemat. 7, 342, 1952.
- 94) Maximow, A.: Die cytologischen Eigenschaften der Fibroblasten, Retikulum zellen u. Lymphozyten des lymphoiden Gewebes ausselhalb des Organismus, inre genetischen Wechselbeziehungen und prospektiven Entstehungspotenzen, Arch. mikro. Anat. 97, 283, 1916.
- 95) Mitus, W., I. B. Mednicoff, etc.: Neoplastic lymphoid reticulum cells in the peripheral Blood: A Histochemical study, Blood 17, 2, 206, 1961.
- 96) Moeschlin, S.: Phasenkontrastuntersuchungen in der Hämatologie, Acta Haemat. 2, 399, 1949.
- 97) Moeschlin, S.: Die Milzpunktion, Technik, diagnostische u. hacmatologische Ergebnisse, Vol. 1, Benno Schwarbe Basel, 1947.
- 98) v. Möllendorf: 46) による.
- 99) Naegeli, O.: Blutkrankheit u. Blutdiagnostik, Lehrb. d. Klin. Häemat. Ved. Springer, Berlin, 1931.
- 100) Paremusoff, I.: Zur Kenntnis der Zellen der Milzpulpa (zugleich ein Beitrag zur Frage der Monozyten), Folia haemat. Arch. 12, 195, 1911.
- 101) Policard, A., M. Bessis: Etude microcinematographique et micro-electronique de centre cellulaire des leucocytes des vertébrés, exp. cell res. 2, 202, 1953.
- 102) Policard, A., M. Bessis: Le centrosome des leucocytes des vertébrés étudiés par microcinematographie en contraste de phase et au microscopie electronique, C. R. Acad. Soc. 234, 913, 1952.
- 103) Riach, D.: The morphology and behavior of the migratory cells in tissue cultures of the chicks spleen, Anat. Rec. 25, 41, 1924.
- 104) Rohr, K.: Das menschlich Knochenmark, Stuttgart 55, 1949.
- 105) Sabin, F. R., C. A. Doan, etc.: The discrimination of two types of phagocytic cells in the connective tissues by the supravital technique,

- Contr. to Embr., 16, 82, 125, 1925.
- 106) Schummelfeder, N.: Virch. Arch., 318, 119, 1950.
- 107) Schwind.: The supravital method in the study of the cytology of blood and marrow cells, Blood 5, 597, 1950.
- 108) Seidenhalm.: Zit. n. Kiyono 1939.
- 109) Stiebe, H.: Die Milz erwachsener Menschen in Explantat, Arch. exper. Zellforsch. 22, 109, 1938.
- 110) Stieb, H.: Das Verhalten der Zellen in Randschleier ausgepflanzter Milzstückchen von erwachsenen Menschen, Ztschr. Mikro. Anat. Forsch., 45, 1, 1939.
- 111) Strugger, S.: Fluoreszenzmikroskopie u. Biologie, M. U. S. Shapne Harnover, 1949.
- 112) Türk, W.: Kritische Bemerkungen über Blutzellenbildung und—benennung, Folia haemat., 2, 231, 1905.
- 113) Weiss, J. M.: Intracellular changes due to neutral red as revealed in the pancreas and kidney of the mouse by the electron microscope, J. exp. med. 101, 213, 1955.
- 114) Wendrowski, V.: Die Wirkung der gemischten u. monochromatischen Röntgenbestrahlung auf das Gewebewachstum der Milz in vitro, Zentr. Bakt. Ref. 113, 261, 1. 34.
- 115) Woodward, W. C., C. M. Pomerat: The development of patent blood vessels from human rib marrow in tissue culture, Anat. Rec., 117, 4, 663, 1953.

---

## Studies on Tissue Culture of Spleen

### Chapter III Vital Observation of Splenic Reticulum Cells by Fluorochrominized Tissue Culture

By

Masayoshi KIBATA

Okayama University Medical School, Department of Internal Medicine  
(Director: Prof. Dr. Kiyoshi Hiraki)

1) Fluorochrominized tissue culture of spleen was established by the similar method used for bone marrow culture devised in our clinic. And vital observation of splenic reticulum cells was done by fluorochrominized tissue culture method by the use of rectangular cover slip method which has been mentioned in the chapter I.

2) Each type of reticulum cells showed characteristic fluorochrominized findings when stained with acridine orange. Granules and vacuoles stained with acridine orange showed nearly similar findings to neutral red granules and vacuoles as described in the chapter II.

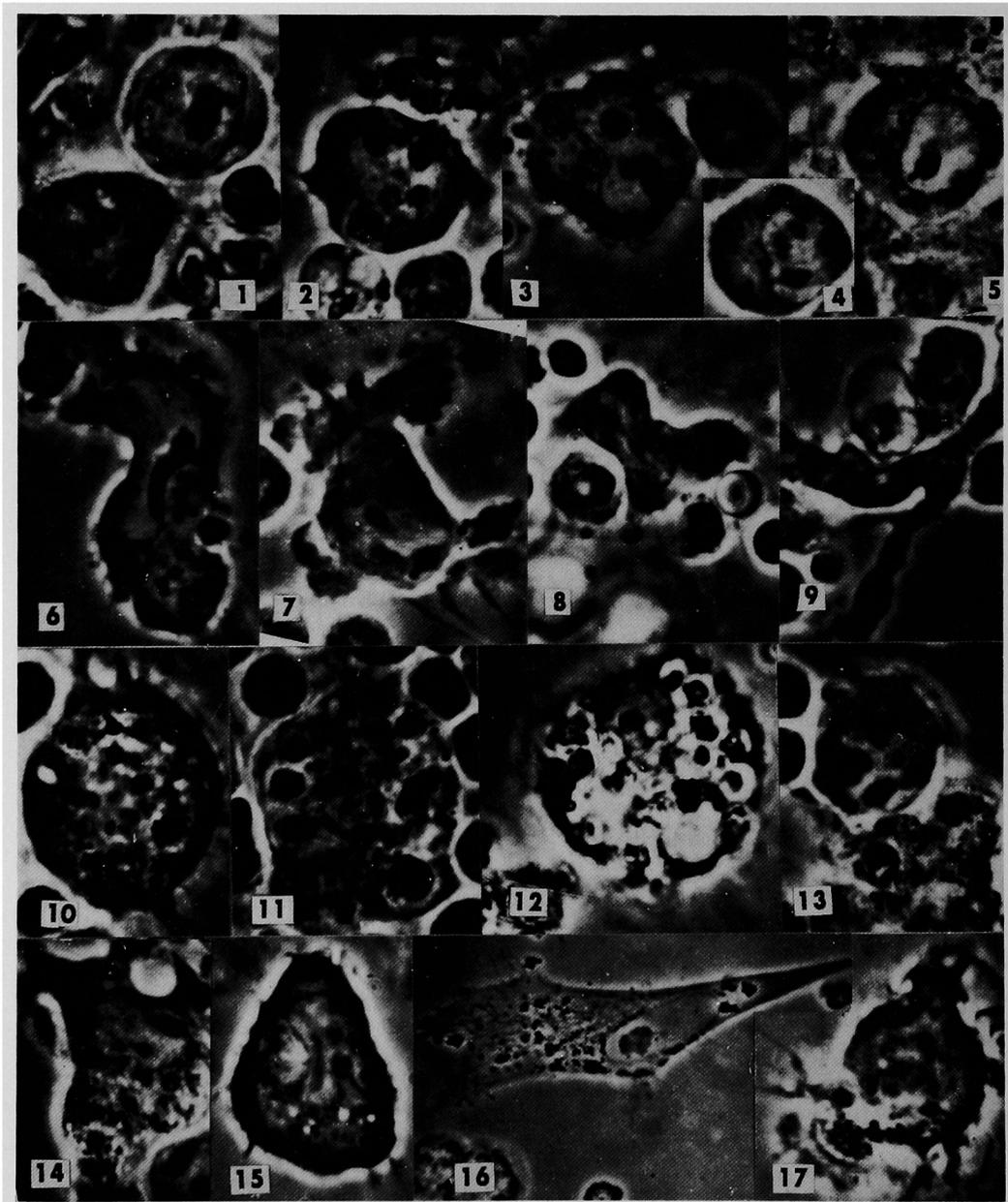
3) By this method. the existence of transitional forms between each type of reticulum cells and maturation process were confirmed in the series of types I, II and III reticulum cells, as have been already described by other methods in the chapter I and II.

4) Part of acridine orange stainable vacuoles were thought to be secondary to toxic effects of acridine orange stain.

5) Changes of fluorochrominized granules and vacuoles were observed successively in the degeneration of type III reticulum cells.

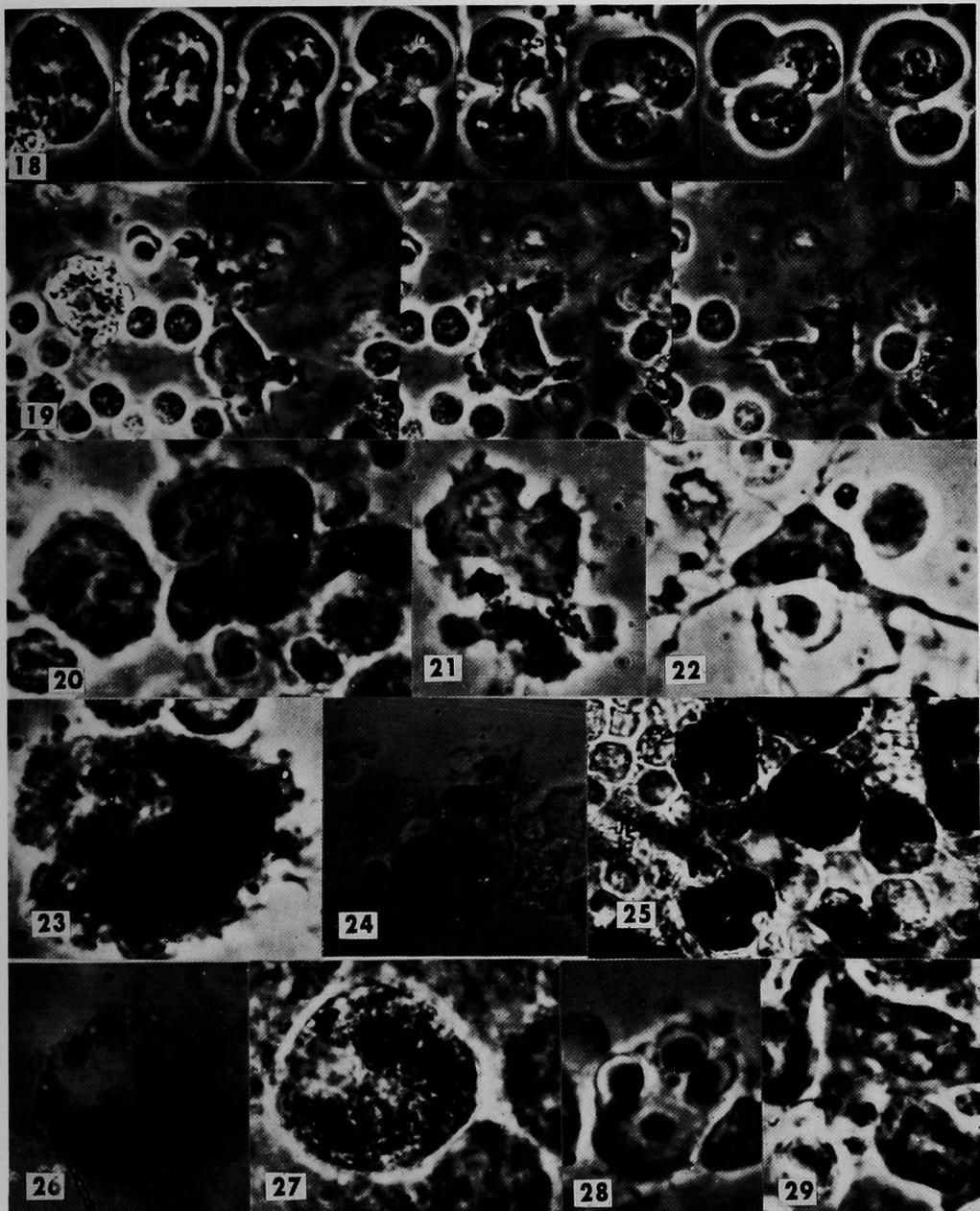
---

## 木 畑 論 文 附 図



- 図 1~5. 脾細胞 I 型  
 図 6~8. 脾細胞 II a 型  
 図 9. 脾細胞 II b 型  
 図 10~12. 脾細胞 III 型  
 図 13. 脾細胞 I 及び II の中間型及び III 型  
 図 14, 15. 脾細胞 II 及び III の中間型  
 図 16. 脾線維芽細胞  
 図 17. 脾単球

木 畑 論 文 附 図



- 図 18. 脾細網細胞の核分割像
- 図 19. 脾細網細胞の核分割像 IIa 型遊走形態
- 図 20. 脾細網細胞の核分割像 I 及び IIa 型中性赤, ヤーヌス緑染色
- 図 21. 脾細網細胞の核分割像 IIa 型中性赤, ヤーヌス緑染色
- 図 22. 脾細網細胞の核分割像 IIb 型中性赤, ヤーヌス染色
- 図 23. 脾細網細胞の核分割像 III 型中性赤, ヤーヌス緑染色
- 図 24~27. 脾細網細胞 III 型墨粒貪喰像
- 図 28. 脾細網細胞 IIa 型赤血球貪喰像 (再生不良性貧血—臨床例)
- 図 29. 脾内腫瘍細胞 (白血性細網内皮症)

## 木 畑 論 文 附 図

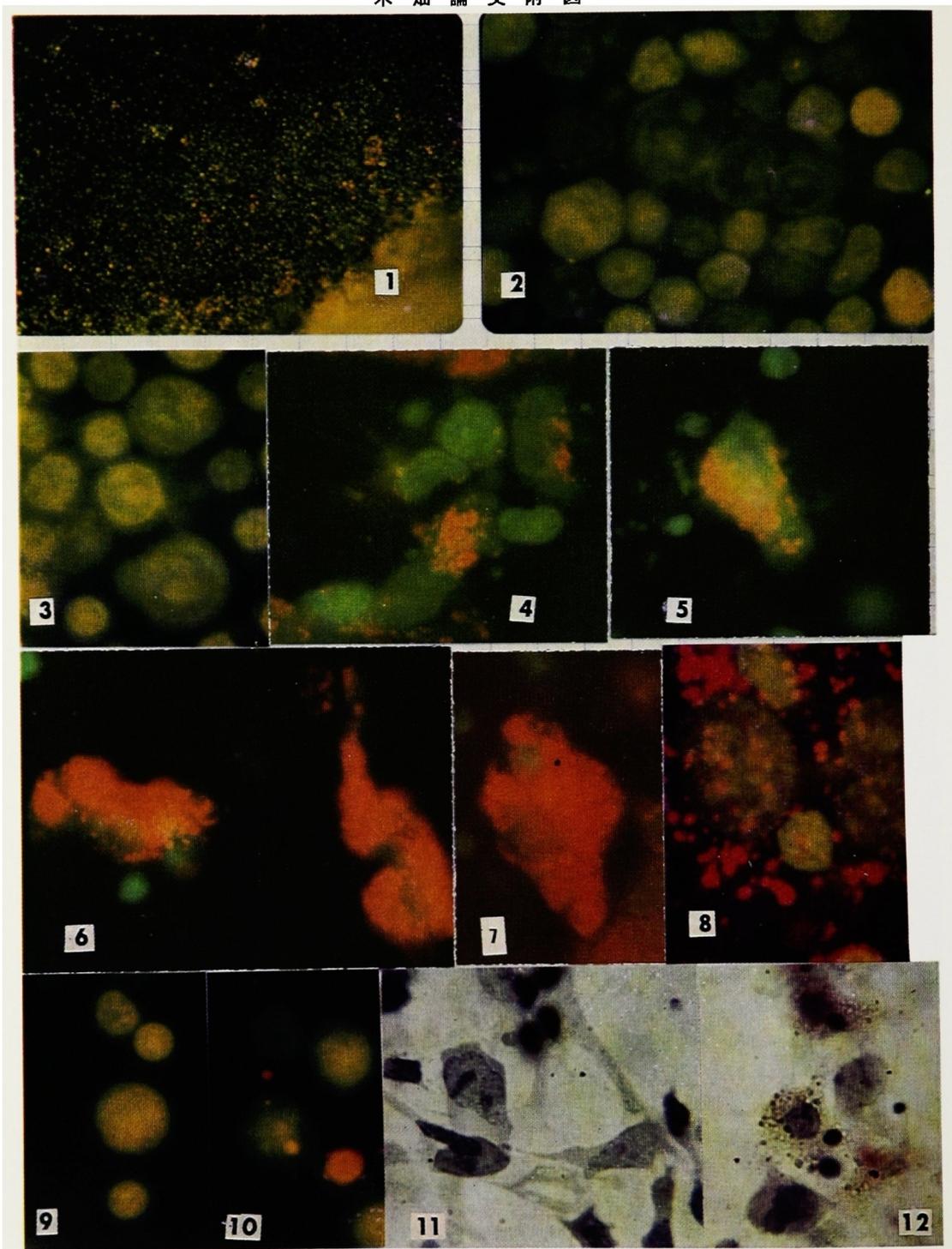


図 1. Acridin orange 蛍光像による脾増生帯

図 2. Acridin orange 蛍光像による脾細胞 I 型

図 3. Acridin orange 蛍光像による脾細胞 I 型

図 4. Acridin orange 蛍光像による脾細胞 IIa 型

図 5. Acridin orange 蛍光像による脾細胞 IIa 型

図 6. Acridin orange 蛍光像による脾細胞 III 型

図 7. Acridin orange 蛍光像による脾細胞 III 型

図 8. Acridin orange 蛍光像による脾線維芽細胞

図 9. Acridin orange 蛍光像によるリン芽球

図 10. Acridin orange 蛍光像による脾内単球

図 11. 培養 72 時間後固定染色 IIa 型

図 12. 培養 72 時間後固定染色 III 型