

# 酸素欠乏組織内に移植された骨髓細胞の形態学的研究

## 第 1 編

### 正常家兎血行内に移植された骨髓細胞の運命

岡山大学医学部病理学教室（指導：妹尾左知丸教授）

専攻生 木村三雄

〔昭和33年7月25日受稿〕

#### I. 緒 言

従来、骨髓外造血の組織発生に関しては、二つの可能性が考えられている。即ち一つは局所発生説で、他の一つは之を骨髓から転移した骨髓細胞の所謂 Colonization とする説である。局所発生の説く所は胎生期に重要な造血部位であつた肝、脾に、しばしば出現する事から胎生期造血への復帰、即ち逆分化であるとし、局所の固定細胞である網内系細胞が血管外膜細胞、或はその他の結合織細胞から化生によつて生ずるとするものである。そしてこの説は多数の血液学者により所謂骨髓化生現象として理解されて来た<sup>4)7)8)9)</sup>。

然し、他方 Helly (1906), Ziegler (1906), Askanasy (1911) 等によつて提案された所謂 Colonization 説は殆んどかえり見られない状態であつた<sup>2)3)12)</sup>。

1933年 Livadas は家兎に大量のサポニンを注射する事により数時間以内に肝、脾に造血聚落が出現する事を報告し、更めて Colonization の可能性を主張した<sup>5)</sup>。

更に1949年尾曾越、大村両氏は骨髓細胞の行血内移植の実験に於いて家兎の耳より家兎骨髓細胞の新鮮浮游液を大量に注入する事により肝、脾その他の臓器に著明な造血細胞の Colonization を認め、Livadas の説を支持した<sup>10)</sup>。

之等の実験から考えて肝、その他の臓器に移植された血液細胞は、ある程度局所で生存し分化して行く事は明らかである。

一方、又骨髓の造血は  $O_2$  圧によつて直接的に支配されている多くの証拠がある<sup>14)15)</sup>。著者は之等 Colonization を起した細胞が再び胎生期に於けるが如き造血竈として働き得るや否やに於いて観察する

目的で、且又、造血調節機構解明の一手段として、 $O_2$  分圧の変化を起して Colonization を起した細胞の変化を逐的に観察する事を企図した。

このような目的のために先づ第1編に於いては尾曾越氏の実験結果を追試して Colonization の状態を観察した結果について報告する。

#### II. 実験材料並に方法

実験動物としては成熟健康家兎を使用した。骨髓細胞の移植は尾曾越氏の方法により正常健康家兎、特に Coccidium 感染のないもので而も移植体、被移植体共に成熟せるものを使用した。尾曾越氏の研究により成熟正常家兎では肝、脾、その他の臓器には造血巣は存在しない事が証明されている<sup>6)13)</sup>。

移植骨髓は体重 3 kg 程度の比較的大きな家兎 2 匹の大腿骨、脛骨、上腕骨から採取し之より骨髓細胞の濃厚な生理食塩水浮游液を作つた。

骨髓組織より実質細胞を障碍する事なく脂肪を除去するには尾曾越氏の如く滅菌二重ガーゼの上で細切した骨髓細胞を注意深く指で磨砕し之を滅菌生理食塩水で洗い出す事によつて充分な量の障碍されない骨髓細胞を採取する事が出来る。浮游液中に大量に混入して来る脂肪滴は1000回転5分間の遠心沈澱により注入時に脂肪栓塞を起すような事はない。

又、之を注射器に取る際に下層の赤血球を入れぬようにしないと注入時に激しい痙攣を起す事があるので注意を要する。

懸濁液細胞成分の鑑別算定によつて含有される顆粒球系細胞と赤血球系細胞との比は、ほぼ骨髓球（前骨髓球及び後骨髓球を含めて）1に対し赤芽球6の割合である。若し桿核球や分節球の如き成熟型をも算入するならばこの比率は大略 1 : 2 の割合となる。

斯くして得られた約 30 cc の細胞浮游液の有核細胞数は平均  $70000 \times 10^6$  である。

組織切片の染色は Zenker-Formol 液で固定後 Hämalaun-Eosin の普通染色を施し、又この際、組織切片標本と対比するため、剖面のスタンプを作り Giemsa 或は May-Giemsa 染色を行つた。切片に於いては骨髓球は前骨髓球、骨髓球及び後骨髓球に三大別し、赤芽球は大赤芽球と正赤芽球に二大別した。但し赤芽球は両型共に好塩基性、多染性及び正染性の細胞を含む。

### Ⅲ. 実験結果

#### a: 骨髓細胞静脈内注入後の末梢血液所見

表 1 骨髓細胞注入後の末梢血液像の変化

経過時間 (時)		正常時	12	24	48	72	168
検査事項	赤血球数(万)	610	540	590	515	495	583
	Hb sahli(%)	83	78	81	70	82	79
	色素指数	0.68	0.72	0.68	0.67	0.82	0.67
	白血球数	7312	17211	12800	6992	6822	7121
分 類	原赤芽球	0	0	0	0	0	0
	大赤芽球	0	0	0	0	0	0
	正赤芽球	0	1.2	0.7	0.4	0.3	0.3
	骨髓芽球	0	0	0	0	0	0
	前骨髓球	0	0	0	0	0	0
	骨髓球	0	0	0	0	0	0
	後骨髓球	0	0.8	0	0	0	0
	桿核球	5.6	5.6	7.2	10.2	6.6	4.8
	分節核球	35.0	42.0	37.6	41.8	39.2	42.0
	好酸球	1.2	2.2	0	0	2.8	0
	好塩基球	0	2.4	1.8	5.0	1.4	4.4
	淋巴球	47.6	38.2	40.7	29.0	40.3	39.9
	単球	10.2	7.6	12.0	13.6	9.4	8.6
其他	0.4	0	0	0	0	0	

#### b: 骨髓細胞移植後の各臓器に於ける変化

肺: 注射後24時間目では骨髓球系の細胞が他の臓器に於けるよりも遙かに多数出現する。

肺に出現する骨髓未熟血球は肺胞壁毛細血管及びその他の細血管の腔内に限られ肺の全般に均等に散在していて次に述べる肝や脾に於けるが如く限局性聚落を作る事はない。巨核球も注射後24時間目には可成り多数出現するが時間の推移と共に変性に陥る像が認められる。

赤芽球系細胞は注射後48時間目までは可成り増加しその後は次第に減少するが骨髓球系細胞は注射後

極めて大量の骨髓組織細胞を血行内に注入しているにも拘わらず12時間後では第1表に示す如く未熟血球は極めて少く僅かに正染赤芽球が少数出現するに過ぎない。即ち末梢血に現われる幼若細胞は通常正赤芽球に限られ骨髓球は出現しない。唯、後骨髓球が稀に少数見られたに過ぎない。

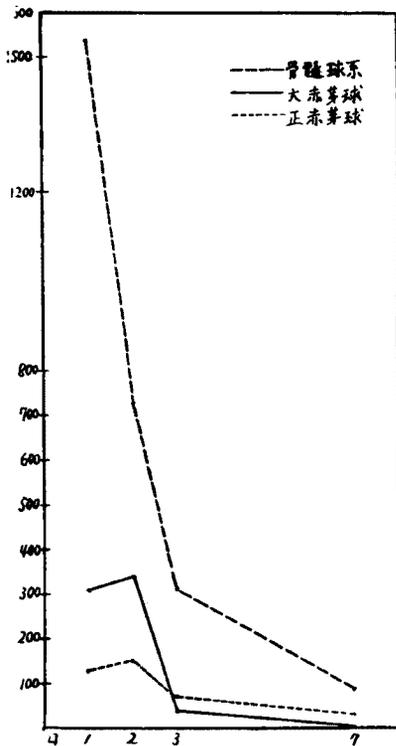
なお、注射後12乃至24時間目には著しい白血球增多症が見られたが、これは48時間目には殆んど回復した。増加した細胞は特に顆粒球が多いという事はなく顆粒球と淋巴球は正常の比率を保ちながら増加している(表1)。

より減少の一途を辿り注射後72時間目には未熟血球は著しくその数を減じ注射後1週間目では偽好酸性骨髓球及び正赤芽球が僅かに散見せられる程度となる。

肺に於ける切片標本と stamp とを対比しながら肺に出現する骨髓未熟血球を骨髓球系と赤芽球系に大別して時間の経過と共に、その細胞数を曲線で示せば図1の如くなる。

肝: 肺に於ける一過性の毛細管内栓塞の状態と異り肝に於いては細胞は時間と共に増加し、注射48時間目に於いては骨髓細胞の集積は著しく高度とな

図1. 肺切片 (8 $\mu$ ) 一平方欄中出现する骨髓細胞数

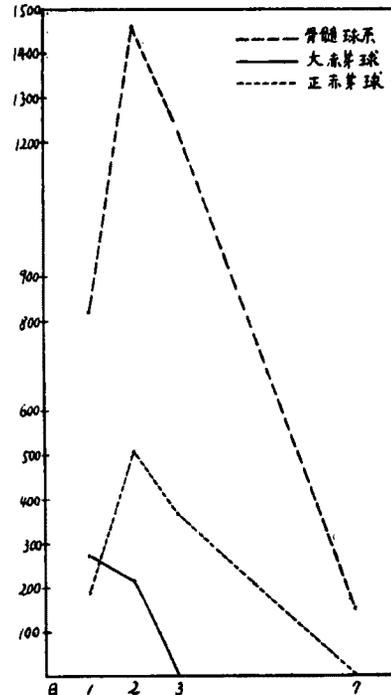


り72時間後に於いてもなお多数を認める。

巨核球は小洞内の聚落とは単独に可成り多数出現する。之等骨髓細胞の位置的分布は被囊膜下に比較的多く見られる傾向にあり、主として肝実質小洞内に数個乃至十数個の小聚落を作るか或は1個のみ存在するのが認められる。聚落を構成する細胞は主として骨髓系細胞が多く之について赤芽球が多い(図2)。

之等の中、赤芽球について見るに時間の経過と共に大赤芽球の数が減じ正赤芽球が増加し更にその数が減少して行く経過が見られ、この事は肝内では赤芽球が急速に分化して行く事を示している。之に反して肺臓では24時間乃至48時間目には増加し殊に大型のものが多くなつたり72時間後に於いて肝に既に大型赤芽球のなくなつた時期にもなお存在する。この事実は肺に於いて細胞の増殖が初期に於いてある程度起ると共に成熟の抑制(O<sub>2</sub>圧のためか)がある事を示すものであろう。之に反して肝に於いては骨髓球は72時間後も可成り旺盛な發育を示している。

図2. 肝切片 (8 $\mu$ ) 一平方欄中出现する骨髓細胞数



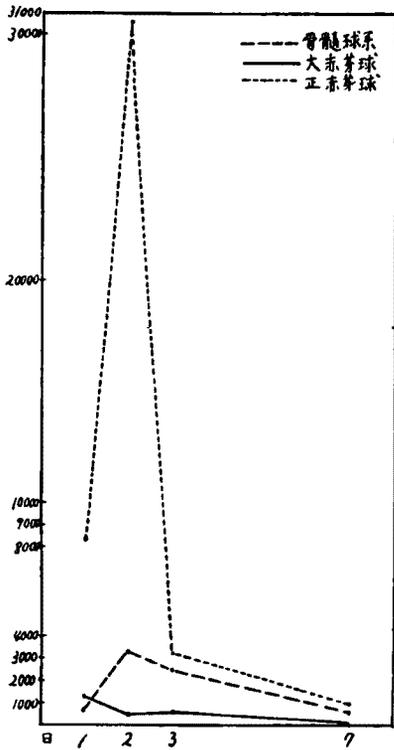
脾： 骨髓細胞注入時、脾は毎常肥大し48時間後では3~4倍大となる。未熟血球の集積も臓器の中で最高度である(図3)。

脾に於いては顆粒球系細胞と赤血球系細胞の集積部位に明らかな相違が見られた。即ち骨髓球の大多数は赤髓基質の網格に散在状に或は瀰漫状の聚落を作つて出現する。赤芽球の主なる集積部位は静脈洞内であり、しばしば拡張した内腔を閉塞している。巨核球は単独に脾洞内のみならず赤髓の他の部分にも見られる。この場合、肝の所見に反し第3図に示す如く赤芽球が骨髓球よりも遙かに多く見られ、何れも72時間までは変性の傾向は見られなかつた。赤芽球の増生は特に著しく24~48時間で最高に達し、その分化も又著しいが72時間目に於いてもなお可成り大赤芽球を認める。又大赤芽球と正赤芽球の比は72時間に於いても約1/4であり肺の約2/4に対するより少く、肝の $0/360$ より大きい。即ち赤芽球の成熟度は肺と肝の中間に位する(図3)。

腸間膜淋巴節、腎、副腎：

之等の臓器に於いても未熟血球は散在性に或は小聚落をなして血管内に出現した。即ち腸間膜淋巴節では所謂 Postcapillarvene に、腎では糸球体及び

図3. 脾切片 (8 $\mu$ ) 一平方糎中に出現する骨髄細胞数



その他の毛細管並に網静脈に、又副腎に於いては主として索状層及び網状層の血管内に可成の数が認められる。

之等の臓器に集積した骨髄細胞は腸間膜淋巴節に於いては赤血球系では終始正染赤芽球のみ認められ初期に於いては可成りの数であるが時間の経過と共に速にその数を減じ72時間目で消失する。顆粒球系も前骨髄球は現われず骨髄球、後骨髄球を主体とし、赤芽球と同様、注入初期では可成り多く認められるが時間の推移と共に速に減少し1週間後では著しく少数となる。従つて淋巴節に於ける骨髄細胞は速に成熟して、ここで著しい細胞分裂を起すような事はないものと考えられる。

腎に於いても顆粒球系はほぼ同様の傾向を示し前骨髄球は出現しない。赤芽球の方はその数は肝、脾に比して著しく少ないが著明な成熟傾向が認められ48時間後既に好塩基赤芽球はなくその傾向はほぼ肝の場合に等しい。

副腎では24時間目に僅かながら大赤芽球が出現し、之等は48時間目には消失しているが、この時期に正

染赤芽球の数が増し明かに分裂増殖→成熟への過程が認められる。然し之等は72時間目には著しく減少する。顆粒球系は24時間目に前骨髄球の出現を見、それ以後は出現せず48時間では骨髄球、後骨髄球が可成り多数認められ24時間後では著明に減少し1週間では完全に消失する(図4, 図5)。

図4. 腸間膜淋巴節切片 (8 $\mu$ ) 一平方糎中に出現する骨髄細胞数

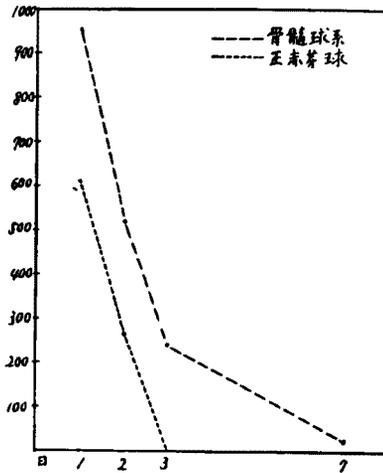


図5. 腎切片 (8 $\mu$ ) 一平方糎中に出現する骨髄細胞数

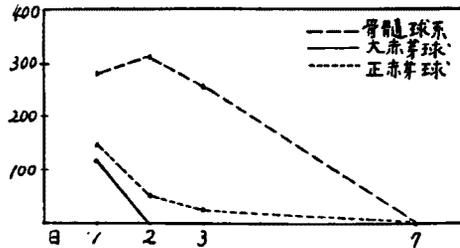
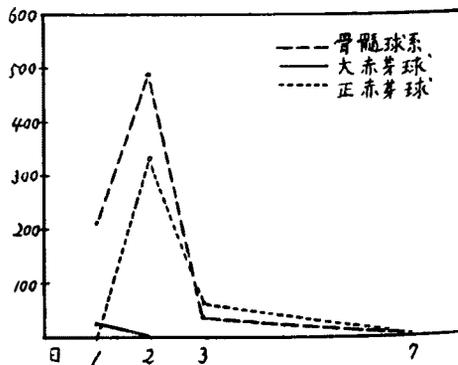


図6. 副腎切片 (8 $\mu$ ) 一平方糎中に出現する骨髄細胞数



#### IV. 肝、脾及びその他の臓器に集積した骨髓未熟血球の運命

図1~6に見られる如く肝、脾、その他の臓器に集積した骨髓性幼若細胞は48時間乃至72時間までは可成の數に於いて認められるが、それ以後では増殖の傾向を示さず速にその數を減じ注射後7日目には肝、脾、淋巴節に極く少數の骨髓細胞を認めるのみとなる。従つて之等の骨髓細胞は恐らく成熟血球に分化したものと考えられるが或は退行變性に陥つて消滅したのかも知れない。

何れにしても成熟正常家兎を使用する限り之等の骨髓細胞を幼若型のままで異所的増殖を継続する事は望めない。

#### V. 対照実験

注入すべき骨髓組織細胞を殺すか或は強い障得を与えて前実験と同量或はそれ以上を、正常家兎に注射した場合は前実験群とは比較にならぬ程度の少數の骨髓細胞が肝、脾に出現するのみであり之等は決して聚落を形成しない。

#### VI. 考 按

以上の実験結果からして血行内に移植された骨髓細胞は主として肝、脾、肺を中心にして多數の集積を示し一定期間増殖する。

その像は各臓器に於て特有の徑過を示すが赤血球系は管内性に顆粒球系は管外性に集落を作つて増殖する傾向が著明に認められる<sup>1)11)13)</sup>。

之等の実験は尾曾越氏の得た実験結果とほぼ一致するものである<sup>13)</sup>。

更に赤芽球系に於いて仔細に観察すると肺、脾等、比較的、血流の豊富な O<sub>2</sub> 圧の高いと考えられる臓器に於いては、赤血球の成熟が抑制される像が認められ、之等の臓器では可成長期にわたり大赤芽球の存在が認められる。

之に反し比較的的血流量の少い或は O<sub>2</sub> 圧の低いと思われる肝、腎等に於いては之等の細胞は速に消失し、可成り急速に成熟が起る事がわかる。従つて O<sub>2</sub> 圧の変化による骨髓の赤血球造生調節機構は主としてその成熟抑制或は促進にあるのではないかと考えられる。

又胎生期造血の場として肝、脾を考慮すると脾は胎生の中期中に於て既に造血を停止するが、肝は胎生後期までその造血を維持している。然し肝は赤血球

系増血の場であり骨髓球の増生は胎生中期後は殆んど見られない。

このように赤血球系増血の場としての肝が速かな赤芽球系の成熟を示し寧ろ脾の場合に劣るのは一見矛盾した現象のようであるが之は肝が胎生期循環と生後の循環の切換えに對して著しい血流の変化を起す場合であり、この事から考へて胎生期肝と出生後肝を同一視するわけには行かない。

胎生期赤血球系造血が生後骨髓にその位置をかえる機構については現在全く不明であるが、之がただ循環系の変化のみによつて起るものか換言すれば O<sub>2</sub> 圧の変化という事に重要な原因があるかどうかについて著者は肝動脈結紮によつてその正否を判定する事を企図した。この結果については第2編を参照されたい。

#### VII. 結 論

家兎骨髓細胞を集めて浮遊液を作りその大量を靜脈に移植して各臓器に於ける骨髓細胞を追求し次の如き結果を得た。

- 1) 骨髓細胞の集積が最も著しいのは脾及び肝で之れに次いで肺臓内に多數認める。中等度に淋巴節、腎、副腎等に認められる。
- 2) 移植後に於ける時間的觀察によれば之等の細胞は移植後24~48時間の間に増殖及び成熟の現象が著明に認められるが、72時間目では極めて少數となり1週間目では殆んど消失する。
- 3) 赤芽球の發育は脾臓が最も著しく次いで肝、肺、副腎、腎、淋巴節の順序であり之等の中、O<sub>2</sub> 圧の高いと思われる肺及び脾に於いては72時間後に於いても可成多數の大赤芽球を見るが肝、腎等に於いては之等は速に減少する傾向を示す。このような現象は O<sub>2</sub> 張力の亢進が赤血球造生に抑制的に働く事を示唆する。
- 4) 組織学的には赤芽球は主として毛細管内發育を示し顆粒球系細胞は管内發育の形をとる。

## 文 献

- 1) 天野 Statische pathologisch-Anatomische sowie hämatologische Untersuchungen über das Wesen der Leukämie.  
(1. Hauptteil der pathologie der Leukämie)  
Jap. J. med. Sci. V. pathologie, 5, 331, 1940.
- 2) Askanazy, M. : Über physiologische u. pathologische Blutregeneratcion in der Leber. Virchows Arch., 205, 346, 1911.
- 3) Helly, K Die hämatopoetischen Organe in ihren Beziehungen zur pathologie des Blutes. Nothnagels Sep. path. u. Therap., II Afl. 8, Abt., 1. 1906.
- 4) Lang, F.J. : Myeloid Metaplasia. Downey's hand-book of hematology. Vol. III, Sect. XXV 11 : 2102-2144, 1938.
- 5) Livadas, K. Über Myeloide Herdbildung. Folia haematol., 49 : 338, 1933.
- 6) Gerlach : Virchows Arch., 270, 205, 1928.
- 7) Naegeli, O. : Blut krankheiten u. Blut diagnostik. V. Afl. Julius Springer, Berlin. 1931.
- 8) Rohr, K. : Das menschliche Knocheumark. Georg Thieme, Leipzig. 1940.
- 9) Schiller, W. : Local myelopoiesis in myeloid leukemia. Am. J. path., 19, 809, 1943.
- 10) 尾曾越 . Transplantation of hematopoietic tissues into the circulating blood.  
1. Experiments with lymphnodes in normal rabbits. anat. Rec., 107, No.2, 1950.
- 11) Richter, M.N. : Leukemia. Downey's hand-book of hematology. Vol III, Sect. XIII, 2887—3036.
- 12) Ziegler, K. Experimentelle und Klinische Untersuchungen über die Histogenese der myeloiden Leukämie. gustav Fischer, Jena. 1906.
- 13) 尾曾越 : Transplantation of hematopoietic tissues into the circulating blood. II. Injection of bone marrow into normal rabbits, with special reference to the histogenesis of extramedullary foci of hematopoiesis. Anat. Rec. V. 108. No. 4, December. 663—686, 1950.
- 14) Heilmeyer, L. : Das Blut, Lehrbuch der speziellen pathol. physiol. P.1. Fischer Jena. 1955.
- 15) Schafer, P.W. : The etiology and treatment of polycytaemia vera, Am. Surg., 22, 1098, 1945.

Morphological Studies on the Transplanted Bone-Marrow Cells  
introduced into the Hypoxygenic Tissues

Part 1. The Fate of the Bone-Marrow Cells Transplanted  
Intravenously into the Normal Rabbits

By

Mitsuo KIMURA

Department of Pathology Okayama University Medical School  
(Director : Prof. Satimaru Seno)

For the purpose of observing the extramedullary hematopoiesis in the tissue of low oxygen tension the author has studied first extramedullary hematopoiesis in the tissues of normal rabbits introducing homologous bone-marrow cells intravenously by Osogoe's method, and reconfirmed Osogoe's initial findings; and obtained the following results:

1. Twenty-four hours after the injection the bone-marrow cells were found accumulated mainly in the capillary of the lungs and a small number in the liver, spleen and kidneys.
2. After three days their number decreased considerably in the lungs with a moderate increase in the liver and kidneys, and after seven days they have actually disappeared in every organ. These findings indicate that in normal rabbits the extramedullary hematopoiesis caused by the injection of bone-marrow cells is only a transient one.