

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 2 編

肝動脈結紮家兎に於ける骨髓細胞の血行内移植

岡山大学医学部病理学教室 (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

生体に於ける赤血球数 Hb 量が殆んど一定に保たれている事は一般に血液内 O_2 張力による調節機構として理解されている。即ち骨髓細胞特に赤芽球系の旺盛なる増生は低 O_2 圧に於いて著しく促進される事については低圧下に於ける多くの実験或は心臓病時の観察等によつて支持され又既定の事実として承認されている¹⁾²⁾。成人に於いては造血は骨髓で行われるので、この場合骨髓内の O_2 張力が問題になるが之については血管運動神経が大きな影響をもち、血圧降下神経を切断すると多血が起り、更に脊柱側交感神経を切断し血圧を下げると再び正常に帰るという Schafer の実験があり之には又更にホルモンの作用が加わり骨髓内 O_2 張力は受動的な O_2 の変化のみならず之等複雑な調節機構によつて支配されている事がわかる³⁾。一方又胎生期造血竈の生後に於ける骨髓への移行は急激な瓦斯代謝環境の変化によつて起るものかも知れない。之等の実験結果から案ずるに調節機構には多くの要因があるにしても要は造血竈の O_2 圧調節のためのものであると考えられる。

著者はこのような神経、内分泌等の調節機構の埒外にあると考えられる組織に移植された血液細胞が O_2 圧の変化のみによつてどの程度の發育を示すかについて検討する目的で肝動脈結紮肝に移植された骨髓細胞の生存、増殖の状態の観察を企図した。

第1編に於いて著者は血管内に移植された骨髓細胞が組織内で如何に發育するかを特に赤芽球系について慎重に観察を行つた結果、高 O_2 圧組織である肺、脾等では比較的赤芽球の成熟が遅れるに反し肝、腎等では速に成熟する傾向にある事を指摘した。この事は胎生期肝の赤芽球造血機構と一定の関係を有

するかも知れない。よつて著者は肝の O_2 圧を更に下げる事によつて細胞の組織内成熟の過程に更に分裂増殖の過程を起し得ないかと考え肝動脈結紮家兎の肝内に移植された血球について之を観察する事を企図した。

本編では肝動脈結紮後の肝組織の変化と之に移植された血液細胞の変化を並行して観察した結果について報告する。

II. 実験方法

肝の基礎的事項・

家兎の肝葉は Lobus anterior dextra, L. posterior dext, L. anterior sinistra, L. posterior sin, L. quadratus の5葉に分れ、その中 L. posterior sin が最大であり肝に流入する動脈は総肝動脈で之は途中で胃十二指腸動脈と右胃動脈を分岐し更に肝門近くで左右の肝固有動脈に分れて肝の各葉に注ぐ。
肝動脈結紮：

肝動脈結紮は別々に三つの箇所で行つた (図1の1, 2, 3)。実験に使用した動物は性不定、健康成熟家兎、全部で15匹、中2匹は総肝動脈を、2匹は右肝固有動脈を、11匹は左肝固有動脈を結紮した。

1. 総肝動脈結紮

総肝動脈では胃十二指腸動脈及び右胃動脈の分岐点より中枢部に於いて二重結紮の間を切断した。

2. 右肝固有動脈結紮

1本の肝固有動脈の本幹が、左右の肝固有動脈に分岐し各々の肝葉に入る直前で結紮切断した。

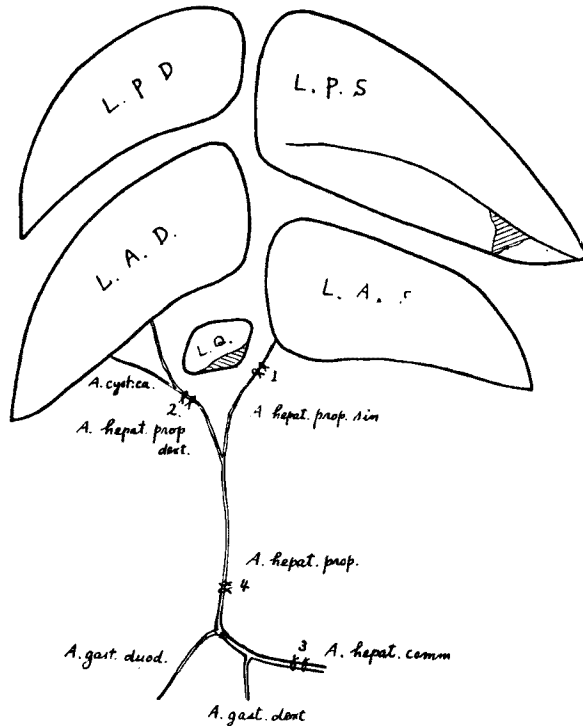
3. 左肝固有動脈結紮

右と同様、肝左葉に入る直前に於いて結紮切断した。

墨汁注入・

動脈血行の変化の状態をしらべるため、結紮後、

図1. 肝の模型図. 1, 2, 3, は著者の結紮部位. 4, は Fajers の結紮部位. 斜線は結紮1により起る変性部位. (Lobus quadratus にも起る事が多い)



腹腔動脈の腹部大動脈からの出口の上下で之を結紮し、ここから墨汁を注入した。

墨汁は普通のスミをすり濾過して使用した(濃度不定)。

骨髓細胞浮遊液注入

骨髓細胞は第1編に於けると同様の方法により浮遊液を作り、上述の肝動脈結紮家兎の耳静脈より、肝動脈結紮直後に注入し、24時間、48時間、72時間後に之を殺し肝組織切片の染色は 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、断面のスタンプを作り Giemsa 或は May-Giemsa 染色を施した。

Ⅲ. 実験結果

1. 動脈結紮肝に於ける組織の変化

A. 総肝動脈結紮肝

家兎2匹に於いて之を行つたが各肝葉の何処にも肉眼的な変性部を認め得ず、又墨汁注入によつても

肝全葉に瀰漫性の黒染を見、特に之を欠く部分は認め得なかつた。

之等の事より総肝動脈結紮肝では副行枝の存在により動脈血の血行障礙は認められず、あつても極く軽微であると考えられる。
B. 右肝固有動脈結紮肝

家兎2匹中、1匹には肝の何処にも肉眼的な変性部又は血行障礙の部は認め得なかつたが他の1匹では L. anterior dextra の前外縁に小指頭大の不正形の軽度の変性と考えられる炭白色斑を認めた。墨汁注入によつては、左程明確な血行障礙は認められなかつた。

C. 左肝固有動脈結紮肝

左肝固有動脈結紮家兎11匹中、9匹に於いて L. posterior sinistra の前外縁に楔形の栓塞状の灰白色の変性部を認めた(図1)。

このような変化は肝動脈結紮後、概ね10時間で起り、墨汁注入試験によつてもこの変性部を中心にして可成り広範な非黒染部を認め得た。これ等の部分に於いては可成り高度の低 O_2 の状態が想像される。

この変性部は動脈結紮後48時間乃至72時間で大略 $2.0 \times 1.0 \times 1.0$ cm の大さとなるが、この時期では、しばしば Welch 類似の嫌気性菌の増殖により肝膿瘍を併発する

事が多いので之の予防のため、結紮後はペニシリン10万単位を毎日1回行つた。之により肝膿瘍の発生を防ぐ事が出来た。

2. 肝動脈結紮直後、骨髓細胞を静脈内に注入後の肝切片標本の所見

A. 24時間後

変性を起した肝組織の中心部では實質細胞の核は不鮮明となり細胞質も著明に膨化して来る。それに接する周囲の肝組織では上記の如き変性は認め難いが鬱血乃至充血の傾向にあり全体として肝細胞索の間が拡がり明に周囲の健常組織とは区別された。

之等、変性高度の肝組織の周囲には多数の円形細胞の浸潤が見られるが、之等の炎症性細胞浸潤とは別に骨髓細胞の聚落が混在しているのが認められる。之等の細胞集積は変性高度の部と組織構造の乱れた変性軽度の部との境界部の帯状に形成されるが切片標本では赤芽球とも骨髓球とも明確には鑑別が困難である。又このような帯状の細胞集積は肝被膜下にと平行にしばしば出現する。

之等の細胞聚落を詳細に観察すれば、やはり拡張した各類同内に集まっていることが判るが既に一部の細胞には変性の傾向が見られる。又この部に於けるグリソン氏鞘内には明に赤芽球と思われる大小の細胞聚落を多数認め、又この部の門脈内にも赤芽球を認め之等の細胞には変性の傾向は認められなかつた。

B. 48時間後

左肝固有動脈を結紮し骨髓細胞を注入した48時間後の肝組織では、その変性の程度は、ますます高度となり明に壊死と認められる部分も次第に拡大して来る。

結紮注入48時間後では前述の24時間目の変性組織周辺の帯状細胞集積の更に外側に同様の帯状の細胞集積をしばしば認める。

之等の細胞は共に変性の傾向が著明であるが、外側にある細胞の方が変性の程度が軽い。

一般に何れの壊死組織でも、その周辺には細胞浸潤が多いのであるが斯くの如く二重帯状の細胞群の出現するような事はなく、この事は肝壊死組織が時間の経過と共に拡大して行き、注入後24時間に起つた細胞集積の線を越えて変性が更に進行し、その境界部に新に骨髓細胞の集積が惹起されるものと解される。

肝動脈を結紮した場合の肝組織変性の様式は、ある場合には小葉中心から壊死が始まり、ある場合には小葉周辺から壊死が始るようであるが著者の実験では壊死は硬塞の場合に見られる変化に一致しほぼ一様に始るようである。

C. 72時間後

肝組織変性の程度及び範囲も増加し実質細胞の瀰漫性の壊死の状態が見られ、程度は軽いがグリソン氏鞘の結合組織細胞の枝もその染色性が低下して来る。

骨髓細胞集積の状態は48時間後のものと大体同様であるが、72時間後では骨髓細胞の変性は特に著明となる。然し部分的には未だ幾分か増生發育も認められ特にグ氏鞘内の赤芽球聚落には、なお変性の傾向は認められなかつた。

以上、肝動脈結紮により変性を起した肝組織に集積する骨髓細胞は第1編に於ける正常肝の場合に比し、その細胞数に於いて遙かに多数であり、又集積の形式に於いても甚だ特異な像を示すのであるが之等の移植された細胞は、一時増生發育を続けると見えたが肝組織の変性の進行と共に次第に変性がひどくなつて来るのである。

なお、スタンプ標本では切片で認められた骨髓細胞

数に比べて、その細胞数が意外に少数しか見えないのであるが之れは変性組織では骨髓細胞そのものも変性に陥っているものが多く、このためにスタンプに際して破壊されるものと考えられる。

スタンプ標本によれば各骨髓細胞の比率は、大略赤芽球系3に対し顆粒球系2の割合で、赤芽球系では正赤芽球が多く顆粒球系では偽好酸性骨髓球及び後骨髓球が主体であつた。

IV. 考 按

肝に流入する血液の中で門脈よりのものは肝の栄養を支配し肝動脈に於いてはO₂の供給を司るものと解されている。

左肝固有動脈が結紮切断された場合、動脈血の杜絶により該当肝組織には、当然高度の低O₂の状態が起る訳であるが、通常、人間の場合では肝の血流量は

門脈系 $3/4 \sim 4/5$, 動脈系 $1/4 \sim 1/5$,

O₂飽和度は門脈系50%, 動脈系95%であり、従つて肝へのO₂供給量は門脈系5に対し肝動脈系3の割合である。それ故、家兎の場合でも左肝固有動脈が結紮切断されれば、肝左葉全体としてはO₂供給量は $3/8$ だけ減少する事が想像される(11)(12)(14)(15)(16)(17)(18)(19)(20)(21)。

次に動物に於ける肝動脈結紮の実験は今日に至るまで幾多の研究者によりなされているが、Haberer¹⁰⁾ (1906), Fraser, Rappaport, Vuylsteke, Collwel⁷⁾ (1951)等は犬に於いて門脈を残して肝に流入するすべての動脈を結紮切断する事により著者の実験と同様、肝左葉に壊死が起り易いという実験結果を報告している。本邦に於いては森島氏(1955)の同様の報告がある。

然しながら犬に於いてはこの場合ショックの状態でも早期に死亡する例が多いといわれているが家兎の場合、殊に肝固有動脈結紮では死亡例は全々見られなかつた⁷⁾。

1956年 Fajers は家兎を使用して肝固有動脈の本幹を結紮切断し著者の実験とは比較にならぬ程、高度広範な壊死竈を得ている⁶⁾が、彼は肝固有動脈が更に左右に分岐する以前で而も胃十二指腸動脈よりも末梢側に於いて結紮しており(図1)。而も壊死竈に嫌気性菌が繁殖、化膿を起している。著者は二次感染防止のため、ペニシリンを使用したため壊死竈が化膿して広がるような事はなく、之れが彼の場合に比して壊死竈が小さく限局性であつた大きな原因と

考えられる。

次に壊死が肝左葉に起り易い理由について考えて見ると、Himsworth(1955)の Stream-line effect⁸⁾という見解は之れと密接な関係があるものようである。

即ち門脈の血流には二つの流れがあり一つは門脈の右側枝で小腸の大部分と大腸上部よりの静脈血を集めるもの、他の一つの流れは左側枝で胃、脾、下行結腸からの静脈血を集めるものであり、前者は後者に比べて栄養の含有量が多くこれ等二つの血流が門脈内で混合する事なく前者は右門脈に、後者は左門脈によつて各葉に別々に到達するというのである。彼は動物にアミノ酸欠乏食を続けて与える事により之を証明した。即ち之れによりアミノ酸欠乏食中に含有される極く僅かのアミノ酸により肝右葉が栄養され肝左葉が障害を起すのである。又、色素を注入する事によつても之を証明する事が出来たという。

著者の実験でも肝左葉が最も高率に変性を起したのであるが、左肝固有動脈を結紮した場合 L. posterior sin. が変性を起し、L. anterior sin. が之を起さぬ理由を考えて見ると、A. hepat. prop. は左右共直径約 0.5 cm 程度であるに拘らず L. posterior sin. は 5 葉中最大であるため、動脈結紮により血行障害を起し易いのではないかと考えられる⁹⁾。

翻つて本実験では斯の如き高度の低 O₂ の状態にある肝組織に血液細胞が移植されたのであるが、著者の企図した如く肝の低 O₂ 領域には多数の骨髓細胞の集積を見、而もその細胞数は正常肝に於けるよりも遙かに多く正常肝では注入 48 時間後の赤芽球系と骨髓球系との比が大略 1 : 2 であるのに反し本実験では逆に 3 : 2 であつた。この事は赤芽球系細胞

が低 O₂ の条件下ではその増生、発育が促進される事を物語るものである。

然しながら斯くの如き多数の骨髓細胞の集積も時間の経過と共に肝組織の変性が進むにつれて速に変性に陥つて行くのであり、この事から考えて殊に赤芽球に対しては低 O₂ 張力の状態は、その生存、発育にとつて有利な条件ではあるが、細胞移植の培地としての変性肝組織に於いては之れ以上旺盛な生存発育を遂げる事は望めないようである。

V. 結 論

1) 左肝固有動脈を結紮切断し肝の Lobus posterior sinistra の一定の部位に Hypoxia による変性を惹起せしめた。

2) 第 1 編の実験と同様の方法によりこのような家兎に大量の骨髓細胞浮遊液を耳静脈より注入した。

3) 肝組織の変性部及びその周辺には第 1 編に於ける肝とは比較にならぬ程多数の骨髓細胞の集積を見、赤芽球系と骨髓球系との比は第 1 編の正常肝では 1 : 2 であるが、本実験では 3 : 2 であつた。

4) 集積した骨髓細胞は注射 24 時間後より変性を起し、肝組織の変性の進行と共にその細胞の変性もひどくなり 72 時間後では可成り高度となつた。

5) グリソン氏鞘では赤芽球系細胞は 72 時間後も生存発育を続けた。

文

献

- 1) Castle, W. B. : Disorders of the blood. Soderman's pathologic physiologie, P. 717. Saunders, London, 1956.
- 2) Heilmeyer, L. : Das Blut. Lehrbuch der speziellen pathol. physiol. P. 1. Fischer. Jene. 1955.
- 3) Schafer, P. W. : The etiology and treatment of polycythaemia vera, Am. Surg., 22, 1098, 1945.
- 4) 福武, 高橋 : 骨髓の酸素量と造血. 東京医科歯科大学雑誌, 8 (4), 445, 昭 25.
- 5) 藤田承吉 : 肝動脈結紮の血液蛋白に及ぼす影響 (会) 日本消化器病学会雑誌, 52 巻, 3 号, 119, 昭 30.
- 6) Fajers, C. M. : Experimental studies in the so-called hepato-renal syndrome, Acta path. et microbiol. Scandinav. 39, 225, 1956.
- 7) Fraser, D., Radpapor, A. M., Vuylsteke, C. A. & Colwell, A. R. jr. Effect of the ligation of the hepatic artery in Dogs, Surgery 30 : 624, 1951.
- 8) Himsworth H. P. : The integration of medicine; The endeavour of Thomas Linacre and its present significance. P. 217—22, 1955.

- 9) 津崎孝道：実験動物解剖学，1巻，兎編，107，193，昭29.
- 10) Haberer, H. : Experimentelle Uterbindung der Leberarterie, Arch. f. klin. chir. 78, 557, 1906.
- 11) Glindlay, J. H., Herrick, J. F. and Mann, F. C. : measurement of blood flow of liver, Am. J. physiol. 132, 489, 1941.
- 12) Lonsner, S., Volk, B. W., and Iacobi, M. Anemic infarct of the liver, Arch. path. 49, 461, 1950.
- 13) Nelson C., Zefferson, M. D., Morris, M., proffit, M. D. and H. Necheles, M. D., p H. D., chicago, 1 LL. : Colateral arterial circulation to the liver of the dog, surgery 31, 724, 1952.
- 14) Huggins, C., and post, J. Experimental Subtotal ligation of the arteries supplying the liver, Arch. surg. 35, 875—886, 1937.
- 15) 常岡健二：肝の血行動態 臨床病態生理学大系，7，346，1957.
- 16) 常岡健二：肝カルテール法による研究。肝血流量の測定，その他二三に就いて最新医学 6，1128，1951.
- 17) 常岡健二：肝カルテール法による研究。肝の血糖調節作用。肝静脈圧および血漿蛋白との関連について，最新医学，7，824，1952.
- 18) 常岡健二：肝静脈カルテールの応用とその臨床的意義，綜合臨床，4，1158，1955.
- 19) Bradley, S. E., Ingelfinger, F. J., and Bradley, G. P. : Hepatic circulation in cirrhosis of the liver circulation, 5, 419, 1952.
- 20) Bradley, S. E., Smyth, C. M., Fitzpatrick, H. F., and Blakemore, A. H. : The effect of portacaval shunt on estimated hepatic blood flow and oxygen uptake in cirrhosis. J. clin. Investigation, 32, 526, 1953.
- 21) Bradley, S. E., Ingelfinger, F. J., Bradley, G. P., and curry, J. J. : The estimation of hepatic blood flow in man. J. clin. Investigation, 24, 890, 1945.

写 真 説 明

写真 1 ～ 8

肝動脈結紮，骨髓細胞注入後の肝切片，H. E. 染色標本。

1) 48時間後。（弱拡大）

肝細胞の変性高度である。その境界が明瞭で此の部に無数の細胞集積が認められる。

2) 同 （強拡大）

実質細胞は核が甚だ不明瞭で類洞は著明に拡張し，その中には多数の多核白血球の如き小さな細胞あり，又その中に可成多数の大型の骨髓細胞が混在している。

3) 48時間後（弱拡大）

下方被膜下のグ氏鞘に赤芽球聚落が見られ，その上方には巨核球が1箇見える。中心静脈の周辺の類洞内にも多数の骨髓細胞が見える。

4) 同。グ氏鞘（強拡大）

赤芽球聚落。実質細胞は膨化し核は不鮮明となつている。

5) 72時間後（強拡大）

グ氏鞘に於ける赤芽球聚落。肝実質細胞の変性がひどい。

6) 72時間後（弱拡大）

グ氏鞘に於ける赤芽球聚落。門脈内にも赤芽球が見られる。類洞内にも多数の骨髓細胞を認める。

7) 72時間後（弱拡大）

被膜下に於ける細胞集積。肝細胞の変性高度であり，細胞浸潤中には骨髓細胞が多数混在している。

8) 72時間後（弱拡大）

集積した骨髓細胞は高度の変性に陥っている。

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

Part 2. The Proliferation of Bone-Marrow Cells in the Liver
with the Ligated *A. Hepatica*

By

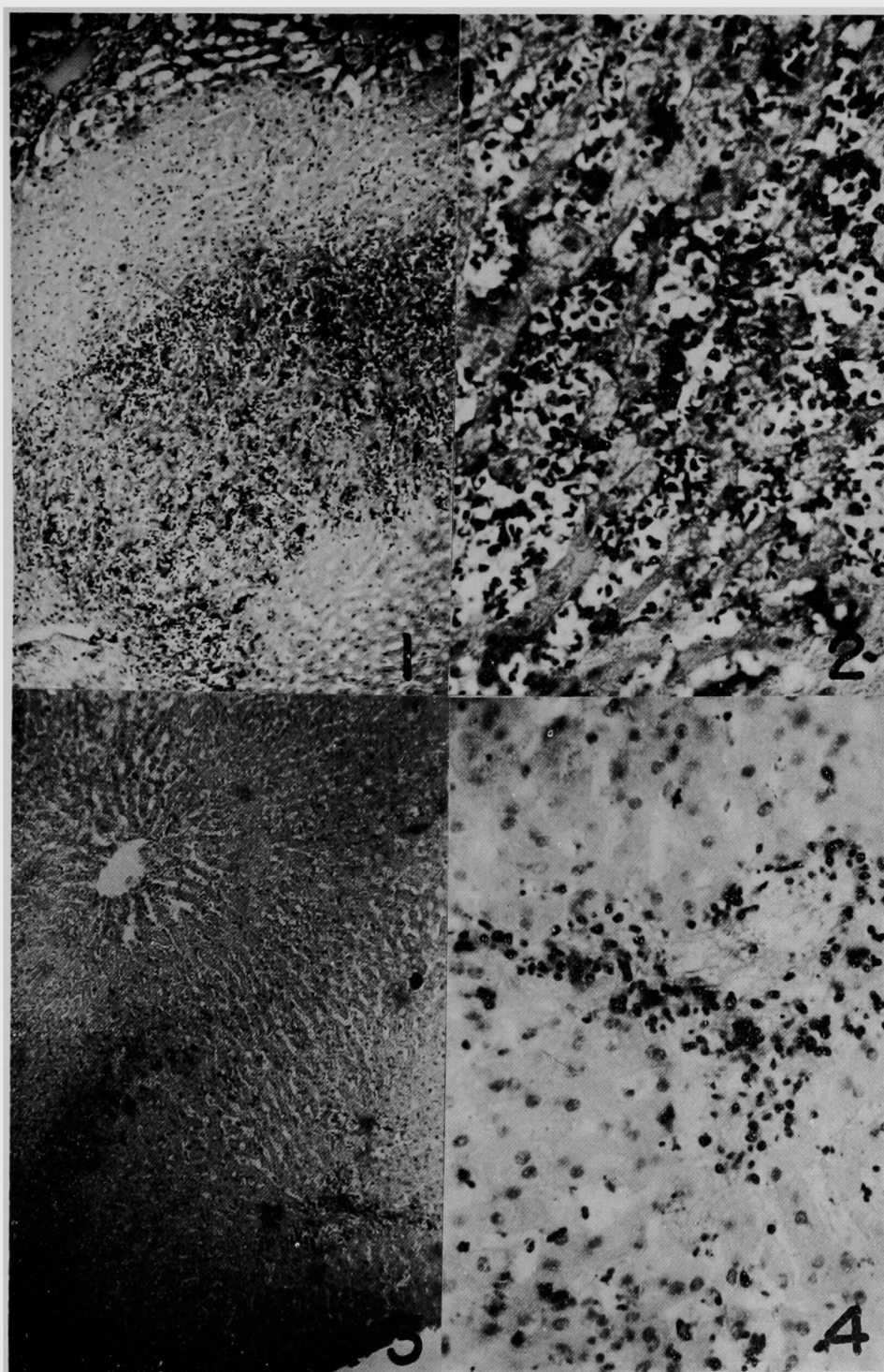
Mitsuo KIMURA

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

The ligation of *A. hepatica communis* caused not any morphologic change in the liver, while the ligation of *A. hepatica propria sinistra* resulted in severe damages to the liver parenchym of the left posterial lobus, showing the necrosis of liver cells already ten hours after the operation.

The bone-marrow cells introduced into the auricular vein are found to be accumulated in the marginal zone of the necrotic area with some inflammatory cells where the oxygen tension is supposed to be lower than that in the adjacent normal tissues, thus affording an ideal condition for the introduced bone-marrow cells to proliferate into.

木村論文附図



木 村 論 文 附 図

