

動物穿刺液細胞の主として組織培養法を 応用せる生体染色の研究

第一編

マウス他各種動物の正常時腹水細胞特に食細胞の所見

岡山大学医学部平木内科（主任：平木 潔教授）

福田 正 夫

〔昭和33年7月26日受稿〕

内 容 目 次

第1章 緒 言	
第2章 実験材料並に実験方法	
第3章 実験成績	
I. マウス腹水細胞	
1. 塩基性色素生体染色	
a. 食細胞	

b. その他の腹水細胞	
2. 酸性色素生体染色	
II. 家兎, ラッテ, 猫, 犬, 鶏の腹水食細胞	
第4章 総括並に考按	
第5章 結 論	

第1章 緒 言

腹水貪喰細胞（以下食細胞と略記する）に関しては、古来幾多の研究がなされており、その中で超生体染色及び生体染色は極めて重要な役割を演じている。今、代表的なる文献に就き先人の研究の後を辿つて見るに、初期の Makrophagen (Metschnikoff¹⁹), Grosse Transsudatzellen (Weidenreich^{35,36}), Grosskernige Wanderzellen (Marchand^{12,14}), Grosse Lymphocyten (Bergel²³), Polyblasten (Maximow¹⁷) 等と種々命名されたる固定染色万能の時代に次ぎ、Goldmann⁹, 清野⁵¹ 等の酸性色素による生体染色が行われるに及び食細胞の本態観に一大飛躍が見られ、Goldmann はこれを Pyrolyzellen と名づけ、清野は皮下組織球と同種細胞であると見做した。次いで Sabin³², Doan 及び Cunningham⁸ 等は中性赤、ヤーヌス緑による超生体染色を応用して、食細胞は単球と Clasmatocyte よりなるとして二種の細胞の存在を認めた。又 Seemann³⁹ は同じ超生体染色により血液単球が類単球を経て炎症時組織球に移行するとし、正常腹水内には、単球、類単球、組織球の三者が存在するとした。仁藤⁶² は広範なる研究の中、塩基性色素による超生体染色も併せ行い、食細胞を単核細胞と組

織球に分けて記載しているが、この両者は其の形態に於て相類似せるを認め、中性赤花冠状配列をなすものを幼弱型、大にして多数の中性赤顆粒を有するものを成熟型と見做すのが合理的であり、これ等両細胞の差は、細胞の機能状態の差違によるものではないかと述べている。その後天野^{40,41,42} 等は Sabin の超生体染色にならぬ、氏等の単球系の一環として、食細胞の詳細なる検索の結果、Sabin 等の誤謬を指摘し、Sabin が Clasmatocyte として記載した所の細胞は、実は老化単球に他ならずとして、単球との間に移行過程を認めており、中性赤花冠状配列、核の分葉像、ペルオキシダーゼ反応陽性等の性状から食細胞の本態は単球であると結論した。堀井⁷⁴, 玉木⁶⁰, 寺田⁶¹ 等も天野の説に賛意を表明している。一方最近に至つて村田^{75,76,77}, 赤崎^{37,38,39} はオキシダーゼ並にペルオキシダーゼ反応は本来陰性であると反論し、天野等の言う陽性とは細胞が陽性物質を貪喰した結果の見せかけの陽性であるとし、又刺戟時皮下組織に小型組織球が増加し、これが食細胞に極めて類似することから、腹水食細胞は生理的に刺戟された状態の組織球であると見なした。然しその根底には彼等の細網内皮系論があり、天野の単球論と同様に、組織球も多形性を示し得ると考えているのであり、核の多形性、中性赤ロゼット等を

認めている。

以上食細胞の本態観の変遷に就き概観したのであるが、結局今の所、単球説と組織球説が相對峙して互の主張を譲らないと言うのが現状である。私はこれが解明のため、新術式なる組織培養による塩基性色素生体染色と、併せて体内色素注入による従来の酸性色素生体染色を行い、マウスを中心に家兎、ラッテ、猫、犬、鶏の腹水細胞を検索し、一定の見解に達する所があつた。

第2章 実験材料並に実験方法

実験動物にはマウス、ラッテ、家兎、猫、犬、鶏を使用し、腹水の採取は、出血による血液混入を避ける為出血死させた後、毛細管ピペットにて吸引した。塩基性色素生体染色には海野氏考按の穴開き硝子を培養器として用い、培地の支持体には同種動物のヘパリン加血漿（但しマウスにはラッテの血漿）を、発育促進物質には孵化7~9日目の鶏胎圧搾液を使用し、之に培地濃度0.01%の中性赤、0.001%のヤーマス緑を添加して培養した。中性赤、ヤーマス緑複染色では夫々の染色度を抑制するので、主として各々単染色を行い、37°C 顕微鏡保温箱中にて観察した。マウスを用いての酸性色素生体染色には4%リチオンカルミン水溶液及び2%トリンパンブラウ水溶液を夫々別に0.2~0.3 ccを24時間毎に腹腔内に注入し、24時間、48時間、72時間後に腹水採取し培養観察した。

第3章 実験成績

I. マウス腹水細胞

1. 塩基性色素生体染色

a) 食細胞

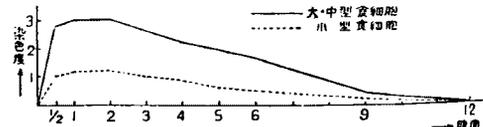
多くは円形であるが楕円形、不整形を呈するものもあり、全周に針状、触手状、旗状等の偽足を有するもの多く、核は腎形、楕円形時に分葉形を示し、胞体は菲薄で一見無構造に見えるも微細顆粒を少数有する。先人の分類せる如く、好中球大以下のものを小型とし、好中球の3倍以上のものを大型とし、その中間に位置するものを中型として観察したが、大型食細胞と中型食細胞とは同じ染色態度を示すので、これ等を一括して大、中型食細胞とし、これと小型食細胞とに二大別して記述する。先づ中性赤染色に於ては、大、中型食細胞は培養直後より染色開始し、5~10分で極く微細なる黄褐色の染色顆粒が数ヶ乃至十数ヶ核陥凹部に集簇性に現われ、急速に

その数及び大きさを増し、一部融合も始まり、30分後で略々染色を完成する。大部分の細胞は、核陥凹部に集合して現われた染色顆粒群が、染色の進むにつれて核陥凹部を中心にして核縁に接して溢れる如く存在する様になるが、この染色顆粒群と離れて、少数の染色顆粒を核に接して持っているものも可成り存在し、又一部のものでは核陥凹部のみでなく核縁に接して1~2ヶ所に特に密集するものもある。稍々変性に陥つたと思われる一部のものに於ては胞体全体に染色顆粒を有するが、これはSabin等のClasmatocyte、天野等の老化単球、又従来多くの人が組織球と見做した細胞に該当する。今、染色顆粒の分布様式によつて、I型、主として核陥凹部に染色顆粒集合するもの、II型、主として核陥凹部に染色顆粒集合するも、他部にも染色顆粒群を有するもの、III型、枝周に略々様に染色顆粒のあるもの、IV型、胞体全体が染色されるもの、に分類し、又杉山の貪喰度にならつて染色度をI~IV度に分類すると、平均染色度、染色率は表1、表2、図1の如く

表1 マウス腹水大、中型食細胞中性赤染色

経過時間	染色率	染 色 型				染平色度均
		I	II	III	IV	
1/2	99.6	39.9%	45.3%	0%	20.8%	2.82
1	95.0	32.7"	43.3"	2.4"	21.6"	3.02
2	92.8	30.3"	42.8"	2.0"	24.9"	3.06
3	80.2	21.6"	37.8"	3.2"	37.4"	2.64
4	68.1	17.9"	40.7"	1.2"	40.2"	2.24
5	54.6	15.2"	42.5"	1.5"	40.8"	1.98
6	43.6	8.4"	46.7"	1.7"	43.2"	1.68
9	8.7	2.6"	33.1"	0.8"	63.5"	0.41
12	1.3	0"	22.7"	0"	77.3"	0.01

図1 正常マウス腹水食細胞、中性赤平均染色度



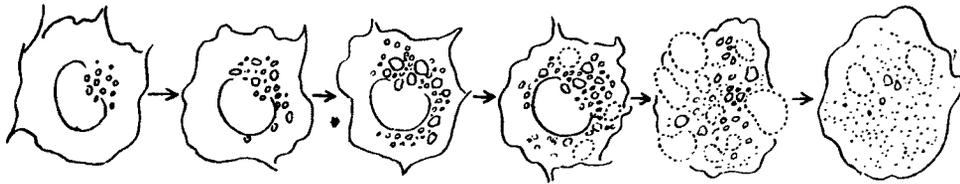
なる。これ等から判る様に、培養当初にはI、II型即ち単球類似の中性赤染色が多く、中には旗状、膜状の偽足を有し、中性赤顆粒も稍々少なく、その配列から見ても全く単球と彷彿としているものがあるが、何れも時間の経過と共に染色顆粒は次第に遍満化し、ロゼットが崩れ、散在性となり、IV型即ち天

野の老化単球に該当する細胞が増加する。平均染色度は培養後30分迄に急速に上昇し、以後は遅々として進まず2時間で最高となる。変性度の種々のものが混在せるため、変性の進めるものでは早きは1時間後より脱色を始めるものあり、変性空胞の出現と同時に脱色は急速に進み、やがて細胞縁は多数出現

する空胞縁に境される如きものが数を増し、空胞間に染色顆粒が介在する。変性空胞が次第に消失し、これに代つて変性顆粒が胞体内に充満する様になり、約12時間で全細胞が脱色する。一般的染色経過を示すと図2の如くなる。小型食細胞は一般に大、中型食細胞に比し、少々遅れて染色開始し、染色顆粒は

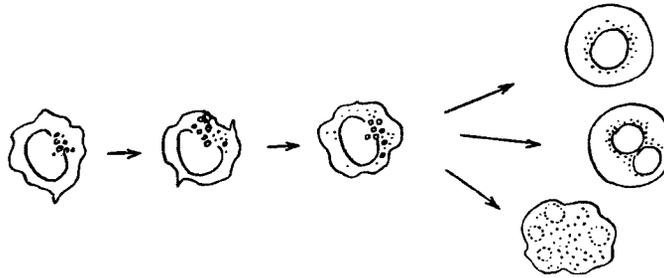
図2 マウス腹水食細胞中性赤染色の時間的経過 (大, 中型)

○ 中性赤顆粒, ○ 変性空胞, ● 変性顆粒



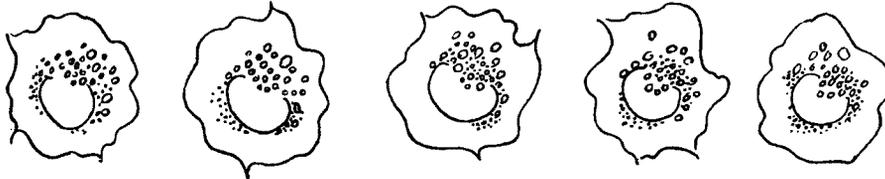
マウス腹水食細胞中性赤染色の時間的経過 (小型)

○ 中性赤顆粒, ○ 変性空胞, ● 変性顆粒



食細胞の中性赤顆粒とヤーマス緑顆粒との関係

○ 中性赤顆粒, ● ヤーマス緑顆粒 (「ミ」)



より微細で、表2、図1に示す如く染色度低く、I型即ち染色顆粒が核陥凹部に集合せるものが大多数を占め、平均染色度の山は矢張り2時間にある。又時間の経過に伴う染色顆粒の遍満化が少い。小型食細胞には大、中型食細胞と全く同一の形態を示すものからリンパ球類似のもの迄あるが、後者とは食細胞の偽足、より微細なる染色顆粒の核陥凹部集合像、ミトコンドリア (以下「ミ」と略記する) の分布様式、多くの場合細胞がリンパ球より大形である等の性状を、後述のリンパ球の夫と比較すると区別は容易である。ヤーマス緑染色では、大、中、小型食細胞共染色態度を同じくし、「ミ」の出現は少々遅れ、

表2 マウス腹水小型食細胞中性赤染色

経過時間	染色率	染色型				染平均度均
		I	II	III	IV	
1/2	98.8	100%	0%	0%	0%	1.05
1	97.5	98.5"	1.5"	0"	0"	1.19
2	92.4	91.4"	8.6"	0"	0"	1.21
3	81.2	88.4"	11.6"	0"	0"	1.01
4	68.3	88.2"	11.8"	0"	0"	0.89
5	47.7	89.4"	10.6"	0"	0"	0.61
6	42.7	90.5"	9.5"	0"	0"	0.51
9	13.6	87.8"	12.2"	0"	0"	0.20
12	0.9	86.3"	13.7"	0"	0"	0.01

培養後30分頃より忽然として現われ、1時間後には殆んど全細胞に明瞭に認められる。「ミ」は非常に微細で、粒状、短桿状を呈し緑色乃至暗緑色で核陥凹部に限らず核に接して1~2ヶ所、時に3ヶ所に特に密在し、核を繞る如く存在する。図2に示す如く中性赤顆粒とは特別の関係なく、強いて言えば1ヶ所に密在するものは核陥凹部に、2ヶ所に密在するものは核陥凹部を圍繞する如く核の突起部に、或は核陥凹部と核突起部に集合する傾向がある。「ミ」数により、「ミ」の認められざるものを0度、1~10ヶをI度、11~30ヶをII度、31~50ヶをIII度、51ヶ以上をIV度とし、平均染色度、染色率を測定すると表3、表4、図3の如くなる。各細胞に於ては忽然と染色されたその頃が染色度最高で、一度染色さ

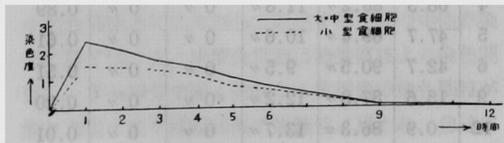
表3 マウス腹水大、中型食細胞ヤーマス緑染色

経過時間	染色率	染色度				染平均度均
		1	2	3	4	
1	98.5	5.4%	48.1%	44.6%	2.3%	2.41
2	89.6	10.5	50.0	38.4	1.1	2.06
3	75.0	11.1	52.4	33.9	2.6	1.71
4	65.3	15.7	48.4	34.7	1.2	1.43
5	53.2	23.8	58.5	17.3	0.4	1.01
6	51.4	61.3	33.3	5.4	0	0.75
9	3.6	75.3	24.7	0	0	0.05
12	0.3	98.4	1.6	0	0	0.003

表4 マウス腹水小型食細胞ヤーマス緑染色

経過時間	染色率	染色度				染平均度均
		1	2	3	4	
1	99.2	51.3%	42.7%	6.2%	0%	1.55
2	96.9	55.0	38.7	6.3	0	1.47
3	86.9	50.1	37.2	12.7	0	1.39
4	76.8	56.8	37.7	5.5	0	1.16
5	51.5	64.0	34.6	1.4	0	0.71
6	48.7	78.1	21.3	0.6	0	0.61
9	4.3	89.2	10.8	0	0	0.05
12	0.5	98.7	1.3	0	0	0.005

図3 正常マウス腹水食細胞、ヤーマス緑平均染色度



れるや長く同じ状態を保持し、変性顆粒出現する頃よりこれと「ミ」の区別が次第に困難となり、遂には変性顆粒に置き代る様になる。平均染色度は1時間が最高を示し、染色時間は中性赤の場合に比し少々短い。中性赤、ヤーマス緑複染色の場合はヤーマス緑が中性赤に先立つて褪色する。大中型食細胞は胞体大きいだけに小型食細胞に比し「ミ」数少々優るも、単位容積内の「ミ」数は後者が多いので、一見小型食細胞の方が「ミ」数多き感を受ける。ヤーマス緑染色では中性赤染色の場合と異り変性空胞の出現は少ない。

b) その他の腹水細胞

腹水中には食細胞の他にリンパ球、肥胖細胞、好中球、好酸球が常存する。リンパ球は一般に小型食細胞より小さく、胞体縁、核縁共に明瞭、円滑で、核は円形或は楕円形を呈し、原形質狭く、菲薄均一で、中性赤顆粒は正球形、少数(数ヶの事多し)、略々同大で胞体内に散在するも核の一側に偏在する傾向あり、食細胞より少々遅れて染色され、染色度の増加はあまり認められず食細胞と相前後して脱色する。「ミ」は食細胞より少々大きく、粒状、少数で核周に散在する。肥胖細胞は印象的で、中性赤染色では培養直後より濃染され、他細胞に比し少々褐色調濃き略々同大の染色顆粒が所狭しと胞体内に充満し、一度染色されるや全く脱色の傾向なく、細胞が死滅崩壊し顆粒が散在しても、顆粒自身は染色されている。時間的に染色度の変動殆んどなきも、若干のものには胞体縁の中性赤顆粒が夫と同大或は少々大きい多数の不染顆粒、不染空胞に圍繞され、時には中性赤顆粒の大部分がこれに置換され、不染顆粒、不染空胞の集団の中心部に少数の中性赤顆粒を残すのみとなる。ヤーマス緑染色にて「ミ」は染色されなかつた。好中球、好酸球は骨髓で見られると同様で、共に活潑なる運動能を有し、好中球の中性赤顆粒は食細胞に比し少々赤褐色調を帯び、染色顆粒は融合膨大して少々大小不同性を呈する。好酸球の中性赤顆粒は特有の黄褐色を呈し、染色顆粒略々同大で融合膨化の兆はない。尚この他に従来問題の多き漿膜細胞の探索に終始したのであるが、全例中唯1ヶ認められたのみで極めて稀である事を知り、実験動物に於て従来漿膜細胞と記されているものは、その記載より見て殆んどが食細胞の変性像であることが判つた。私の見た1ヶの漿膜細胞は胞体略々円形、核少々偏在、胞体縁明瞭、平滑、胞体は顆粒なく均一で、多数の「ミ」が同心円的配列を示し、胞体の一

部に小なる中性赤顆粒が数ヶ認められた。

2. 酸性色素生体染色

塩基性色素の場合と同様の海野氏考按の穴開き硝子を培養器としての酸性色素生体染色では、リチオンカルミン 4%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.02%, 0.05% 水溶液, トリパンブラウ 2%, 0.5%, 0.1%, 0.02%, 0.05% 水溶液を夫々別に 1 滴添加して培養

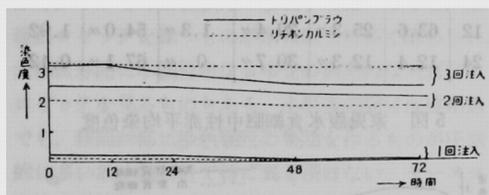
せるも、24 時間迄に染色する像を認め得なかつた。24 時間で変性非常に高度となれる為観察を中止した。腹腔内色素注入による生体染色では、注入の回数を増すに従い染色度、染色率共段階的に上昇し、3 回注入で殆んど全細胞が染色された。即ち 1 回注入に於ては表 5、図 4 に示す如くトリパンブラウでは約 10% 染色され、この中殆んどが大、中型食細胞であ

表 5 マウス腹水食細胞のトリパンブラウ平均染色度並に染色率
(24 時間毎に腹腔内色素注入し最後の注入より 24 時間後腹水採取培養)

時間	1 回 注 入		2 回 注 入		3 回 注 入	
	大, 中型	小 型	大, 中型	小 型	大, 中型	小 型
	染 色 度 (染 色 率)					
直 後	0.21 (11.3)	0.01 (1.2)	2.51 (89.6)	0.36 (23.5)	3.17 (96.9)	1.31 (66.2)
12 時間	0.20 (11.2)	0.01 (1.0)	2.50 (86.3)	0.34 (21.9)	3.09 (95.5)	1.33 (67.3)
24	0.16 (11.0)	0.007 (0.6)	2.42 (83.1)	0.31 (21.6)	2.86 (94.5)	1.28 (64.4)
48	0.04 (3.6)	0 (0)	2.19 (86.3)	0.26 (18.8)	2.49 (92.6)	1.22 (65.3)
72	0.03 (2.9)	0 (0)	2.05 (82.5)	0.20 (15.4)	2.41 (92.3)	1.19 (62.1)

図 4 図 マウス腹水大中型食細胞酸性色素
平均染色度

(24 時間毎に腹腔内色素注入し最後の
注入より 24 時間後腹水採取培養)



る。一般に染色低度で、変性顆粒、変性空胞も見られ、被刺戟状態下にあるため、多数の赤血球遊出と 20 分前後の好中球反応を見る。染色所見は中性赤の場合と略々同様で、軽度染色のものでは、核陥凹部に微細紫色染色顆粒を有し、濃染せるものでは、核陥凹部に染色顆粒集合し、ここより湧出する如く胞体内に広く存在する。染色顆粒の融合膨大も進み、大小不同性を呈し、各染色細胞中、大染色顆粒を 1~2 ヶ認められるものが多い。染色顆粒は中性赤顆粒に比し不鮮明であるが、融合膨大せる大顆粒は鮮明

なるものが多い。培養後長く同じ状態を保ち、15~20 時間では、変性顆粒多数出現するも殆んど脱色せず、以後変性顆粒漸増、染色顆粒の鮮明度低下し、軽度染色のものでは染色顆粒が変性顆粒に置き換り、次第に褪色し、48 時間後には染色度低下するも、或る程度以上染色せるものでは脱色されずその儘死後染色に移行し、何時迄も色素を離さない。リチオンカルミンではトリパンブラウと略々同様な染色態度を示すも、表 6、図 4 の如く染色度、染色率共稍々低く、染色顆粒はより不鮮明で、一見彌漫性に染色されている様である。48 時間頃より核染色せるものの出現し、染色顆粒は変性顆粒にかくれて次第に脱色し、染色顆粒の鮮明度も益々低下するも一部は何時迄も色素を離さない。2 回注入では表 5、図 4 に示す如く、トリパンブラウでは、大、中型食細胞の殆んど全てと小型食細胞の大部分が染色され、1 回注入時に比し染色高度、特に大、中型食細胞に於て然りて、胞体内広く多数の染色顆粒を有するものが増加し、変性顆粒、変性空胞も増し変性の進める像を呈する。染色軽度のものでは矢張り核陥凹部に染

表 6 マウス腹水食細胞のリチオンカルミン平均染色度並に染色率
(24時間毎に腹腔内色素注入し最後の注入より24時間後腹水採取培養)

時間	1 回 注 入		2 回 注 入		3 回 注 入	
	大, 中型	小 型	大, 中型	小 型	大, 中型	小 型
	染 色 度 (染 色 率)					
直 後	0.11 (7.8)	0.01 (0.9)	2.03 (81.4)	0.32 (21.4)	3.21 (98.3)	1.25 (61.3)
12時間	0.10 (7.7)	0.01 (0.8)	2.01 (80.6)	0.29 (20.3)	3.09 (98.0)	1.20 (63.1)
24	0.10 (7.0)	0.005 (0.4)	1.98 (80.7)	0.25 (18.9)	3.11 (96.4)	1.31 (65.8)
48	0.03 (2.8)	0 (0)	1.78 (78.5)	0.20 (13.7)	3.02 (96.3)	1.22 (60.4)
72	0.02 (2.2)	0 (0)	1.75 (77.6)	0.12 (12.6)	3.03 (97.1)	1.13 (58.8)

色顆粒が集合している。染色顆粒の鮮明度は前述の如く中性赤染色顆粒に劣り、リチオンカルミン染色顆粒に優る。濃染せるもの多きため大部分死後染色に移行する。リチオンカルミンでは大、中型食細胞の殆んど全てと小型食細胞の約30%が染色され、表6、図4に示す如く染色度、染色率共トリパンブラウに比し稍々劣る。大部分死後染色に移行する。3回注入に於ては表5、表6、図4の如く染色非常に高度となり、大、中型食細胞の全てと、小型食細胞の大部分が染色され、大、中型食細胞は濃染されるものが多いが、小型食細胞は染色軽度である。リチオンカルミンでも非常に濃染され、トリパンブラウと同程度染色し、殆んど死後染色に移行する。

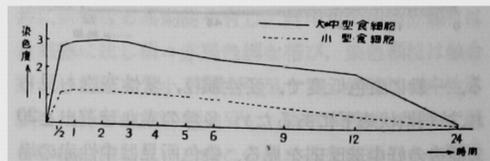
II. 家兎, ラッテ, 猫, 犬, 鶏の腹水食細胞

家兎の食細胞は、中性赤染色では、大、中型食細胞は培養直後より染色を始めマウスの場合と根本的に異なる所はない。今、食細胞をマウスの夫と比較するに、細胞は大きく、染色顆粒がより球形で核陥凹部に集団を作るものが多い。中には Sabin 等の所謂美麗なるロゼットを形成せるものを少数見る。かかる細胞は、中型と小型の中間大位のものに多く、胞体は菲薄で旗状偽足を有するものあり、胞体構造微細で血液単球と同一の観を呈する。かかる単球類似細胞はマウスより稍々多い。食細胞の染色顆粒の融合膨大はマウスに比し稍々優る。マウスに於ける如く、染色型をI~IV型に分ち染色率、平均染色度を示すと表7、図5の如くなり、マウスより各時間

表7 家兎腹水大、中型食細胞中性赤染色

経過時間	染色率	染 色 型				染平均度均
		I	II	III	IV	
1/2	99.2	50.4%	35.3%	1.0%	13.3%	2.73
1	98.8	47.1"	33.9"	1.7"	17.3"	2.95
2	98.0	41.8"	36.3"	1.5"	20.4"	3.00
3	96.3	38.3"	36.1"	2.3"	24.3"	2.95
4	95.1	38.0"	35.0"	3.6"	27.4"	2.70
5	93.6	35.0"	36.2"	1.5"	25.3"	2.62
6	84.7	33.2"	33.5"	2.0"	31.3"	2.41
9	75.4	31.5"	29.5"	1.6"	37.4"	2.20
12	63.6	25.3"	29.4"	1.3"	54.0"	1.92
24	12.4	12.3"	30.7"	0 "	67.1"	0.12

5 図 家兎腹水食細胞中性赤平均染色度



に於ける平均染色度高く且つ長時間染色されており、I型が多い事が判る。24時間で大部分脱色するも、長きは30時間余も染色されているものもある。次第に変性して染色顆粒の遍満化せるもの数を増すも、最後にI型を示すものがマウスより多い。脱色様式はマウスと特に異なる所はない。小型食細胞はマウスに比し特に言う所なく、表8、図5に示す如くI型

表8 家兎腹水小型食細胞中性赤染色

経過時間	染色率	染色型				染平均度均
		I	II	III	IV	
1/2	99.3	99.5%	0.5%	0%	0%	1.11
1	97.1	98.8%	2.2%	0%	0%	1.20
2	95.3	95.3%	4.7%	0%	0%	1.21
3	91.5	95.5%	4.5%	0%	0%	1.12
4	87.3	93.4%	6.6%	0%	0%	1.10
5	82.8	92.7%	7.3%	0%	0%	1.02
6	80.7	92.3%	7.7%	0%	0%	0.96
9	53.2	89.3%	10.7%	0%	0%	0.70
12	35.2	91.2%	8.8%	0%	0%	0.42
24	5.7	90.2%	9.8%	0%	0%	0.06

が圧倒的に多く、染色度も同程度に低きも、染色時間はマウスより長く、長きは30時間余も染色されている。ヤーヌス緑染色ではマウス同様、大、中、小型共同し染色態度を示すも、「ミ」数はマウスより稍々少なく、強いて言えば小型食細胞に於て「ミ」が1ヶ所に集合するものがマウスより稍々多い。染色時間は中性赤に並行して長い。

ラットの腹水食細胞は、形態、染色態度は最もマウスに酷似しているも、マウスに比し中性赤染色ではI型が若干多く、染色度は稍々劣る。又融合膨大せる染色顆粒を1~数ヶ有する食細胞の数は稍々多い。「ミ」はマウス同様である。

猫の腹水食細胞は上記諸動物に比し、中性赤ロゼットが遙かに綺麗で、大、中型食細胞に於てもI型多く、やがては染色顆粒が散在する様になるも、最後迄ロゼットを保つものが家兎以上に多く認められ、大顆粒外圍に小顆粒中なる中空の典型的な美麗なるロゼットを見るものもある。小型食細胞は他種動物でも、核陥凹部に染色顆粒の集団を作るものが圧倒的に多い故、猫に於て特に異なる所はない。ヤーヌス緑染色に於て「ミ」は明瞭に染色され、他の動物と同様である。

犬の腹水食細胞に於ては、I型が猫に比し尚多く、美麗なるロゼットを認めるものあり、形態、染色態度等血液単球と同一の観を呈するもの多く、変性顆粒が多数出現せる後に尚ロゼットを保持するものもある。「ミ」は他の動物と同様で特に云々する所はない。

鶏では、偽好酸球、好酸球等が哺乳類に比し特異なる形態を有するに反し、食細胞は多く円形で、針状、触手状、旗状等の偽足を有し、染色態度も哺乳

類腹水食細胞に極めて類似している。中性赤染色所見をマウスの夫と比較するに、染色顆粒は稍々褐色調を帯び、胞体の一侧に核陥凹部を中心に染色されているもの多きも、顆粒稍々散在性である。時間的経過はマウスと変る所がない。ヤーヌス緑染色でも、「ミ」はマウス同様で、極めて明瞭に染色され、核に接して特に1~2ヶ所に密在する。「ミ」数、染色率はマウスに準ずる。

以上の各種動物の中性赤平均染色度、染色時間を表示すると表9、表10の如くなり、家兎、猫、犬は染色時間が長い。

表9 各種動物腹水食細胞（大、中型）の中性赤平均染色度

経過時間	染色度					
	鶏	マウス	ラット	家兎	猫	犬
1/2	2.71	2.82	2.33	2.73	2.89	2.60
1	2.87	3.02	2.54	2.95	3.30	2.72
2	2.90	3.06	2.62	3.00	3.37	2.83
3	2.55	2.64	2.28	2.95	2.93	2.61
4	2.01	2.24	1.56	2.70	2.44	2.13
5	1.58	1.98	1.17	2.62	2.08	1.92
6	1.14	1.68	0.75	2.61	1.57	1.63
9	0.54	0.41	0.36	2.20	0.91	1.10
12	0	0.01	0	1.92	0.53	0.61
24		0		0.12	0	0

表10 各種動物腹水食細胞（小型）の中性赤平均染色度

経過時間	染色度					
	鶏	マウス	ラット	家兎	猫	犬
1/2	1.21	1.05	0.98	1.11	1.27	1.24
1	1.29	1.19	1.08	1.20	1.39	1.35
2	1.32	1.21	1.12	1.21	1.43	1.41
3	1.22	1.01	0.82	1.12	1.34	1.21
4	0.96	0.89	0.56	1.10	1.01	1.03
5	0.76	0.61	0.49	1.02	0.85	0.89
6	0.51	0.51	0.34	0.96	0.66	0.70
9	0.25	0.20	0.15	0.70	0.39	0.42
12	0	0.01	0	0.42	0.18	0.20
24		0		0.20	0	0

第4章 総括並に考按

腹水細胞の大多数を占める食細胞の研究は、多数の先進諸家により為され多くの業績があるが、初期

の固定染色によつた時代は別としても、Goldmann⁹⁾、清野⁵¹⁾等の酸性色素による劃期的なる生体染色が行われて以来尚、諸説紛々として今日未だその解決を見ていない、Goldmann⁹⁾、清野⁵¹⁾、Kamiya¹¹⁾、浜崎¹⁰⁾(66/67)及び最近では赤崎一派³⁷⁾(38/39)(53/75/76/77)の称える組織球説と、Sabin—門⁸⁾(32)、Seemann³³⁾、岡田⁴⁷⁾等の単球、組織球混在説、或は天野一派⁴⁰⁾(41/42)、堀井⁷⁴⁾、玉木⁶⁰⁾、篠崎⁵⁴⁾(55)等の単球説とがあるが、今日混在説は否定され、単球説と組織球説が相対立している。私は杉山氏⁵⁷⁾法による塩基性色素超生体染色を追試すると共に、主として新術式なる組織培養による塩基性色素生体染色を行い、更に従来の酸性色素生体染色をも併せ行い、食細胞の本態を追求した。以下各種動物正常腹水の生体染色所見に就て總括並に考察を行い、食細胞本態論に就ては他の実験成績をも勘案して第二編で述べる。

1. 塩基性色素生体染色

Sabin, Doan 及び Cunningham⁸⁾は超生体染色にて、単球と Clasmatoocyte の二種に分け、前者を花冠状細胞 (rosettel) とし、中性赤に反応する顆粒が中心体の周囲に花冠状をなして配列するを特徴となし、後者を否花冠状細胞 (Nonrosettecell) とし、中性赤顆粒が不規則に原形質内に散在するを特徴とした。仁藤⁶²⁾は同じ超生体染色を行い単球と組織球に分けて記載しているが、両者間に幾多の移行型を見ており、且つ「ミ」は、単球では必ず核周に散在して存し、微細顆粒状なるも、色素摂取程度は微弱であり、組織球は「ミ」が単球程著明に現われないと記し、両者の差は唯細胞の機能的差異によるものではなかるうかと述べている。岡田⁴⁷⁾は Sabin 等と同じ観点より混在説を称えている。天野⁴⁰⁾(41/42)は、食細胞は単球であるとして、中性赤ロゼットが出現するのみならず、「ミ」はこのロゼットを圍繞するか或はその範囲を拡大して胞体内に散布しており、単球が老化する際にはロゼットの個々の液泡は次第に大となり、且つ胞体内に拡大散布される為に単球は次第に小型の組織球とでも云うべき形態に接近して来る。併も「ミ」は次第に減少すると言っている。堀井⁷⁴⁾、玉木⁶⁰⁾、寺田⁶¹⁾等も略々同様の事を述べている。長谷川⁶⁸⁾は食細胞を A ~ D 型に分ち、A 型は小型とし、B 型は中型で中性赤空胞は核の彎曲部のみならず胞体全体に存在せるもの、C 型は大型で不染空胞出現し、「ミ」なく、中性赤空胞は胞体全体にあるもの、D 型は不染空胞現われ、「ミ」及び中性赤空胞のなきもの、として

記載している。赤崎門下の村田⁷⁷⁾はこれに準じて I ~ IV 型に分ち、長谷川の B 型を二つに分けて II, III 型となし、C, D 型を一括して IV 型としており、而して II, III 型が最も多く、I 型これに次ぎ、IV 型は極く少数であると云い、且つ相互に移行像を認めるのでこれ等は同一細胞であり、結局組織球として必要な条件を備えていると述べている。尚赤崎³⁰⁾(30)はその後の研究の結果、食細胞は被刺戟状態下の組織球であると明記した。

私の組織培養による生体染色に於ては、中性赤では培養直後より染色を開始し、染色顆粒は多く核陥凹部に集合し、天野等の言うロゼットを形成し、30分で染色は略々完成し、以後は大、中型食細胞では染色顆粒は漸次散在性となり、天野の老化単球、長谷川の B₁ C, D 型、村田の III, IV 型或は表 1 の如く私の IV 型が経時的に増加し、約 12 時間で全細胞が脱色する。小型食細胞は染色度低く、染色開始は稍々遅れ、殆んどが最後迄 I 型を保持する。ヤーマス緑染色では、大、中、小型食細胞共同様で、培養後 30 分頃より忽然として現われる「ミ」は、殆んど全ての細胞に非常に明瞭に染色し、核に接して特に 1 ~ 2 ヶ所に密在し、核を繞る如く存在する。図 2 に示した如く村田の言う如き核周に略々一様にあるものは稀で、又必ずしも天野の言う様な中性赤ロゼットを圍繞する傾向にあるとは限らず、中性赤顆粒とは特別の関係なく存在する。従来の薄膜法による超生体染色を追試した結果と、私の行つた組織培養による生体染色の結果を比較するに、後者が遙かに鮮明に多数の「ミ」が染色され、染色率も高く、染色時間も長い。中性赤染色も同じ事が言えるのであり、これ私の方法が従来の超生体染色法に比し優れていると信ずる所以である。大、中型及び小型食細胞を比較するに、運動、形態、「ミ」等全く一致し、唯中性赤染色度に於て小型食細胞は低く、且つ染色開始が稍々遅れるが、染色初期の像は大、中、小型食細胞共全く同じで、諸家の言う如くこれらは同一種の細胞であることは間違いない。而して表 2、図 2 の如く染色度に於て大、中型食細胞に比し小型食細胞が遙かに低いのは、杉山⁶⁷⁾も述べている如く小型食細胞は機能的に尚未熟、即ち幼弱である為と解されるのであり、従つて小型 → 中、大型と成熟すると考えられる。この事は後述の大網切除腹水に於て小型食細胞が減少し、一方刺戟時腹水に於て小型食細胞が増加する事実により立証される所である。この点天野⁴²⁾も、乳酸による刺戟時腹水中、小型

食細胞が増加することより、小型食細胞は幼弱であるとしている。これ等の事は第二編で詳述する。次に私の分類したⅠ～Ⅳ型食細胞に就き述べると、染色初期の像は殆んど全てⅠ型であり、間もなくⅡ型が増加し、時間を経るにつれⅣ型が多くなり、変性するにつれ胞網は大型化し、やがて脱色する。然してⅠ、Ⅱ型は第2編で述べる単球染色様式に類似し、Ⅲ型は稀で、Ⅳ型は変性の進めるもので、SabinのClasmatocyte、SeemannのMonocytoid及びHistiocytin、天野の老化単球、村田のⅢ型食細胞に一致する。「ミ」はⅠ、Ⅱ型、時にⅢ型には多数明瞭に認められるが、Ⅳ型では殆んどこれを見ないか、あつても少数且つ不鮮明である。

以上の如く、変性がある程度以上進むと、食細胞に限らず如何なる細胞も類似した所見を呈して来るもので、これを比較しても意味がなく、変性軽度なる培養初期に於てこそ意味があるのであり、従つて私は、主として染色初期の像に重点をおき観察したのであるが、小型食細胞は勿論、大、中型食細胞に於ても、染色後5～10分頃では殆んど全てロゼッテを形成してⅠ型に属する染色像を示した。即ち塩基性色素による腹水食細胞生体染色の基本的染色像は単球の所見(第2編)に類似すると言ひ得る。

2. 酸性色素生体染色

清野⁵¹⁾はカルミンを用いての生体染色で、腹腔内細胞の大多数は組織球であるとし、色素顆粒は円形で、一細胞内に粗大なるものと微小なるものとが混在し、一般に顆粒に富むと言ひ、又細胞の機能状態の差により顆粒含有密度に差異あるも、概して中型及び大型組織球は小型組織球よりも顆粒数に富み、且つ粗大顆粒を有すると述べている。私の行つた実験では、中性赤の場合に於けると略々同様の染色所見を呈したが、塩基性色素と異なり何時迄も色素を離さず且つ染色顆粒が鮮明さを欠く。又この場合は後述(第二編)の刺戟時腹水に該当するので変性せる細胞多く、従つてⅣ型で、且つ高染せるものが多いが、染色軽度のものではロゼッテを形成しⅠ型に属する。何れにしても変性の進めるものが大多数を占めるので一見組織球に極めて類似する染色像が多い事になる。酸性色素生体染色は色素を腹腔内に注入して染色せるため、染色初期よりの観察不能で、中性赤染色に於ける如き詳細なる比較は困難であつたが、清野等がこれを組織球と見做したのも又当然の様に思われる。然し前述の如く或る程度以上変性せるものは、これを比較検討しても大なる意味は期

待出来ないで、染色軽度のものに於てのみ見ると矢張りロゼッテを作る傾向にあり単球の所見に類似している。

3. 各種動物腹水食細胞

玉木⁶⁰⁾等は哺乳類、鳥類、両棲類、魚類に亘る検索に於て、腹水食細胞は単球であり、大小不同の中性赤空胞が多く往々集合して花冠状配列をとり、その周辺に「ミ」が散在し、特有の針状偽足が静止時に認められ、下等動物になるに従ひ以上の特徴が漸次稀薄化する傾向は否めないとしても、哺乳類より魚類に至る各動物に例外なく立証されると記述している。

私はマウス腹水食細胞を詳細に検索した後に、これと各種動物の腹水食細胞を比較観察し、高等動物程単球の所見えの類似性が強い事を知つた。即ち鶏、マウス、ラッテ、家兎、猫、犬の順にロゼッテを作る傾向強く、染色顆粒が散在性とならず最後迄ロゼッテを保つものも多くなる。「ミ」は各動物に於て、中性赤顆粒程差異は認められず、夫々単球様に核周分布をなし特に1～2ヶ所核に接して密在して、極めて明瞭に多数見られ、単球の所見に極めてよく類似している。又教室入江、小松原は人間の腹水食細胞に就て培養、生体染色、墨粒貪喰を行つて単球に極めて類似せることを認めている。要するに私の所見では家兎以上に於ては美麗なる中性赤ロゼッテを見るもの多く、猫、犬に於てはその数尚増加し、且つ単球特有の旗状偽足を出し波状運動を行うものが多く見られる。この所見は教室山近の組織培養、藤田の墨粒貪喰、嘉村の位相差顕微鏡観察に於て、高等動物程単球の所見えの類似性が強いと云つてゐるのとよく一致する所である。

以上総括するに腹水食細胞の生体染色に於ては、中性赤顆粒は核陥凹部にロゼッテを作る傾向にあり、特に染色初期には全て核陥凹部に染色顆粒集団を形成しており、小型食細胞では最後迄これを維持するものが殆んどである。酸性色素生体染色軽度なるものは上記同様の態度を示す。ヤーヌス緑染色では「ミ」は単球様に核に接して核周分布をなす。即ち、結局腹水食細胞の生体染色の基本像は単球に類似すると言ひ得る。而してこの性格は高等動物程明らかになつて強く現われることが注目せられた。尚然らば本細胞の本態は果して如何と言う問題になるが、之に就ては更に多角的に追求したので稿をあらためて第二編で述べる。尚食細胞以外の細胞には特に細胞学的な変異も見られなかつた。又、腹水中の細胞として

漿膜細胞は人の腹水中にはかなり多数出現し、教室入江は病的腹水中、肝硬変症の腹水に最も多く平均9.4%の出現を見ている。又人正常腹水には0.1%を認めているが、動物腹水には前述の如く極めて少なく、教室福田(源)も固定染色にて平均0.08%(マウス)認めているに過ぎない。この点従来実験動物に於て漿膜細胞と記されているものは、その記載より見て殆んどが食細胞の変性像であることが判つた。

第5章 結 論

マウス、ラッテ、家兎、猫、犬、鶏の腹水細胞、特に食細胞に就き、組織培養を用いての塩基性色素生体染色及び腹腔内色素注入による酸性色素生体染色を行った。

1. 塩基性色素生体染色では、食細胞は基本像として中性赤ロゼットを作り、又「ミ」は単球様に核周分布をなして単球の所見に類似し、且つその性格は高等動物程強い。

2. マウスを用いての酸性色素生体染色では色素注入の回数を増す毎に、細胞の変性が増す様に段階的に染色度、染色率共上昇し、塩基性色素に於ける程の特徴は把握出来なかつたが、変性以前の細胞に就て見ると、矢張り基本的には単球の所見に類似した染色像を示した。

3. 以上腹水食細胞の生体染色像は単球の所見に類似している。

(本論文の要旨は第19回、第20回日本血液学会総会、第11回内科学会中四国地方会、第67回岡山医学会総会に於て発表した)

稿を終るに臨み終始御懇切なる御指導と御校閲を賜わりし恩師平木潔教授並びに大藤真助教授に深謝します。

(文献は第三編巻末に一括記載す)

Studies on the Vital Staining of Cells in the Fluid obtained by Puncture from Animals, mainly by Means of Tissue Culture

Part 1. A Study on Cells in Ascites, especially on Phagocytes, in Mice and Other Various Animals

By

Masao FUKUDA

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

The author performed basic-dye vital staining of ascites cells, especially phagocytes, of mice, rats, rabbits, cats, dogs and chickens or acidic-dye vital staining by injecting dyes into the peritoneal cavity of these animals, by means of tissue culture in both cases, and obtained the following results:

1. In the cases of basic-dye vital staining phagocytes present a neutral red rosette formation as their basic picture; and mitochondria are distributed around the nucleus, revealing an appearance much like a monocyte; and the higher the animal is the more pronounced is this tendency.

2. In the acidic-dye vital staining as applied to mice, at each additional injection of the dye the degree and percentage of staining cells increase step by step as if it indicated an increase in the degeneration of cells with each injection. Although these cells do not demonstrate characteristics in so high a degree as in the case of basic dyes, they, nevertheless, present essentially a staining picture resembling the findings on monocytes, considering these cells prior to degeneration.

From these findings it may be said that the picture of vital staining in the ascites cells resembles that of monocytes.