

骨髓組織培養に於ける墨粒貪喰能の研究

第 二 編

健康人及び家兎骨髓内細胞の墨粒貪喰能に就て

岡山大学医学部平木内科教室 (主任：平木 潔教授)

助 手 角 南 宏

〔昭和 31 年 4 月 23 日受稿〕

内 容 目 次

第 1 章 緒 言	B. 健康家兎骨髓
第 2 章 実験材料並に実験方法	C. 成熟好中球平均貪喰度
第 3 章 実験成績	D. 成熟偽好酸球平均貪喰度
A. 健康人骨髓	E. 家兎骨髓培養に対する抑制物質の影響
I. 骨髓系細胞	I. ナイトロミン添加
II. 単球系細胞	II. P ³² 添加
III. リンパ球系細胞	第 4 章 総括並に考按
IV. 赤血球系細胞	第 5 章 結 論
V. 栓球系細胞	
VI. 所謂“Makrophagen”(nach Rohr)	

第 1 章 緒 言

前編にて組織培養法に於ける墨粒貪喰能の検査方法を種々考案し詳述したが、本編では同法を用いて健康人及び家兎の骨髓組織培養を行い、骨髓内諸細胞の墨粒貪喰能に関する研究を試みた。末梢血白血球の貪喰能に関する記載は古くより数多く見られるが、それに比して骨髓内諸細胞に就いて貪喰能を観察した文献は寥々たるものである。その中細菌貪喰に関しては 1925 年 Bermann⁴⁶⁾ が骨髓炎の機転解明を目的として幼若天竺鼠の骨髓組織培養を行い、葡萄状球菌を添加して貪喰を観察したのに始まり、1936 年 Huddleson and Munger⁵⁸⁾ は海猿の骨髓を用いて免疫学的立場よりブルセラ菌に対する貪喰能を検討し、1937 年 Osgood and Brownlee⁷¹⁾ は彼独自の液体培養法により人骨髓培養を行い、 β -溶血連鎖状球菌を加えて貪喰能を検査し Sulfanil-

amide の作用機転を研究した。一方骨髓内諸細胞の墨粒貪喰能に就いては 1939 年 Galinowski⁵²⁾ が胸骨穿刺により正常及び疾患時の人骨髓で肺炎菌、黄色葡萄状球菌、大腸菌に対する貪喰能を詳細に検索し、その際に併せて墨粒貪喰能を試験管法にて観察したが、本邦では 1941 年芳賀・森³¹⁾ が人骨髓穿刺液を墨汁と混和し、同様の実験を行つた。次いで 1950 年糸井³⁾ は森氏載物硝子法にて健康人及び各種疾病時の人骨髓内細胞の墨粒貪喰能を超生体観察で詳細に試べた。1954 年小原¹⁹⁾ は同法を以て小児に就いて報告している。尚 1940 年河島¹³⁾ は家鶏骨髓組織培養で烏賊の墨汁を加え、網内系細胞以外の細胞には殆んど喰能を認めなかつた。

以上の諸家の報告に於て、未熟白血球の喰能の有無に就いては完全な一致を見ていない。この点に関しては古くより白血病患者で種々の業績が見られる。即ち Jacobsthal⁶⁰⁾ は骨

髓性白血病患者で朱及び細菌貪喰を観察した結果、骨髓芽球は強い貪喰能力を有し、骨髓球は少数が弱い貪喰能力を示したと云い、田辺²⁵⁾も骨髓芽球の貪喰能を認めている。之に反して v. Philipsborn⁷⁷⁾ は骨髓球以上のものに貪喰能を認めず、又八木⁴⁰⁾ は Jacobsthal と同様の方法で実験を行い、骨髓芽球は墨粒貪喰能を有しないと述べている。天野¹⁾ は骨髓球以上の幼若細胞に墨粒貪喰能なく、単球系幼若細胞には貪喰能を認めると述べて、これを骨髓系と単球系との鑑別点の一つとして挙げている。斯様に貪喰能に関して議論が分れた理由の大きなものは観察方法の差によるものと考えられる。

私は骨髓組織培養で出現する骨髓系細胞、単球系細胞の未熟なるものより成熟細胞に至る各細胞の貪喰能を追求し、更に粒球系、網内系細胞についても併せて観察した。本法は従来行われた墨粒貪喰法よりも、より生体内に近い有利なものであると信ずる。次いで増生帯に出現する成熟好中球の平均貪喰度を培養経過及び増生帯部位に分けて追求し、之により骨髓機能を窺い得るや否やを知る目的で、従来骨髓機能を抑制すると信じられている Nitromin 及び P^{32} を添加し、各濃度に就いて観察を行つたので茲に併せて報告する。

第2章 実験材料並に実験方法

健康壯年者(男子7名、女子3名)10例に就いて胸骨骨髓穿刺を施行し、前編に述べた方法により組織培養を行つた。此の場合に穿刺液中の骨髓組織片を取り出し、充分に末梢血を洗い流すことが必要である。適当な大きさの組織片を得るためには穿刺時に吸引する陰圧を強くするべきで、かくすると多数の灰白色の小片として穿刺液中に出現する。骨髓組織片を含まない穿刺液の凝塊を培養すると、細胞の分裂増生を欠ぎ、単に遊出せる少数の白血球が見られるのみで以下述べる如き実験成績は得られない。

次に家兎は健康幼若家兎(1800g迄のもの)を使用した。実験前1週間以上一定の飼料を

与えて全く健康状態を維持せるものについて実験した。墨粒貪喰能は後述する如く鋭敏に細胞機能を示すから、動物実験では特に注意を要する。家兎は空気栓塞にて殺し、大腿骨骨髓を無菌的に取り出し、リングル氏液で末梢血を洗い流して培養を行つた。

第3章 実験成績

A. 健康人骨髓

I. 骨髓系細胞

骨髓芽球は増生帯上に出現する率が少く、稀にしか認められないが、すべて運動能及び貪喰能を共に欠ぐ。

a) 好中球系

前骨髓球は原組織周辺に少数に認められるが、表面に少数の墨粒子を吸着することあるも貪喰能はない。本細胞は運動能を示さないため、表面吸着を貪喰と区別することが困難であるが、長時間の観察で他の遊走細胞に押されて位置移動するので吸着を知る事が出来た。

骨髓球は原組織周辺に多数に出現し、細長い突起を出すことあり。極く稀に貪喰能を認めるが、貪喰度は(±)に過ぎない。

後骨髓球は増生帯に多数見られるが貪喰率は成熟好中球に比し遙に劣る。貪喰度も(±)~(+)程度迄である。

成熟好中球は著明な貪喰能を有し、殆んどが(±)~(卅)迄種々の程度の貪喰度を示す。

b) 好酸球系

健康人骨髓内の好酸球は成熟及び幼若を問わず、すべて貪喰能を有しない。但し次編に述べる慢性骨髓性白血病患者で好酸球増多を示したもので、若干の成熟好酸球に貪喰能を認めた。又鉤虫症で極度の貧血例で、稀に貪喰能陽性のものあり。

c) 好塩基球系

健康人骨髓では本細胞は甚だ少数しか認め得ないが、いずれも貪喰能を認めなかつた。然し急性好塩基球性白血病例では少数の成熟好塩基球に明らかに貪喰能を認めた。

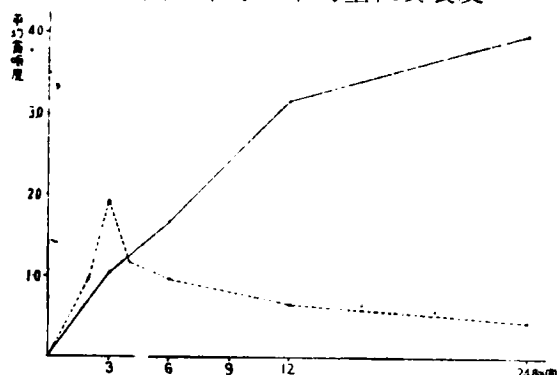
II. 単球系細胞

単芽球は正常では殆んど見出されないが、単球白血病に於ける観察では墨粒子の吸着は認めるが貪喰能は存在しない。

前単球では運動能を有すると共に、可成りの程度(±)~(++)の貪喰度を示す。

成熟単球は喰能甚だ強く、好中球を遙に凌駕し、24時間後にはすべて(++)を示し、胞体は墨粒子で殆んど充満される。喰像に就いては前編で既に述べたが、貪喰度と培養後経過時間との関係は第1図に示す如くで、好中球貪喰度の時間的推移と比較して興味がある。

第1図 単球の平均墨粒貪喰度



Ⅲ. リンパ球系細胞

増生帯に少数(1~2ヶ)の成熟リンパ球が見られることがあるが、貪喰能は認められない。

Ⅳ. 赤血球系細胞

各成熟段階にある赤芽球は原組織周辺に見られるが、貪喰能を全く欠く。

Ⅴ. 粒球系細胞

a) 粒球

増生帯に出現する粒球は培養後早期に崩壊するが、貪喰能は強度である。更に時間を経

過するに従つて、培地内の墨粒子を吸着する様になり、之が著明になると胞体を覆いかくすに至る。

b) 巨核球

成熟巨核球は墨粒子を著明に吸着するが、通常貪喰能を認めない。時に増生帯に出現する前巨核球に喰能が認められることがある。

Ⅵ. 所謂“Makrophagen”(nach Rohr⁷⁸⁾)

胞体は不規則で、薄く広く、その限界は全く不明瞭であり、核は卵形、核小体は1~3個で中等大明瞭、而して運動性乏しく原組織の上部に4~5個現われる。本細胞は単球以上に高度に墨粒貪喰を行い、不規則な大小様々の墨塊を胞体内に充満させている。墨粒子は胞体内部で殆んど動かない。

B. 健康家兎骨髓

人骨髓内諸細胞に比して一般に貪喰度は低値を示す。骨髓球には貪喰能を全く認めず、後骨髓球でも極く稀にしか貪喰能は見られない。成熟偽好酸球では好中球よりも貪喰度低く(一)が多数に見られる。単球の喰能も人ほどではない。他種細胞に就いては人骨髓に於けると同様である。

C. 成熟好中球平均貪喰度

増生帯に出現する好中球の貪喰度は増生帯の部位により、又培養後経過時間の推移により変化するものである。

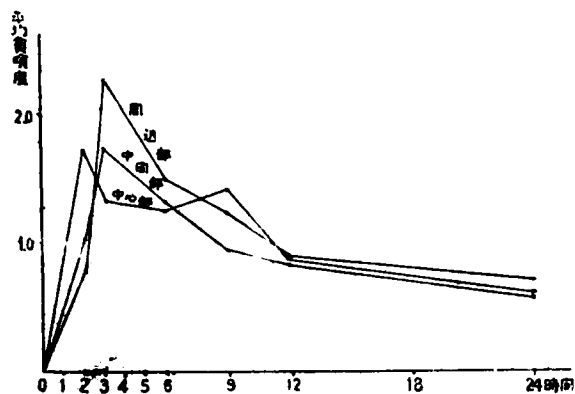
先ず増生帯を中心部、中間部、周辺部の3層に区分し、培養後時間を追つて各層の好中球平均貪喰度、貪喰率を求めた。その結果は第1表、第2、3図に示す如く、培養後2時

第1表 健康人骨髓組織増生帯部位別好中球墨粒貪喰能

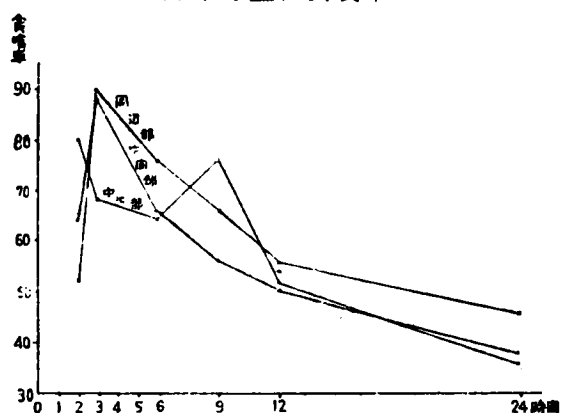
各層別 経過時間	中心部							中間部							周辺部						
	貪喰度				貪喰率	平均貪喰度	貪喰率	貪喰度				貪喰率	平均貪喰度	貪喰率	貪喰度				貪喰率	平均貪喰度	貪喰率
	(一)	(±)	(+)	(++)				(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)			(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)		
2時間後	10	12	14	10	4	80	1.72	18	17	11	4	0	64	1.02	24	16	8	2	0	52	0.76
3	16	13	12	7	2	68	1.32	6	17	15	9	3	88	1.72	5	9	14	12	10	90	2.26
6	18	13	10	7	2	64	1.24	17	12	12	7	2	66	1.30	12	16	11	8	3	76	1.48
9	12	18	11	6	3	76	1.40	22	13	11	4	0	56	0.94	17	14	11	7	1	66	1.22
12	24	14	8	3	1	52	0.86	25	13	8	4	0	50	0.82	22	15	10	3	0	56	0.88
24	32	10	6	2	0	36	0.6	31	11	5	3	0	38	0.56	27	13	8	2	0	46	0.7

間目では中心部が最高値を示し、周辺部が最低である。3時間後ではこの関係は逆転し周辺部が最高を示す。9時間目では再び中心部

第2図 健康人骨髓組織増生帯部位別
好中球平均貪喰度



第3図 健康人骨髓組織増生帯部位別
好中球墨粒貪喰率



が高度となり、中心部、周辺部、中間部の順となる。更に12時間以後は3層共に大差を見

ない。

以上の如く各層によつて好中球の貪喰度は相当に相違するものであるから、全増生帯の平均貪喰度を最も忠実に表現するには、原組織を中心にして各層を放射線状に通る様に貪喰度を測定する必要がある。そこで健康人10例で各例について放射線上の平均貪喰度及び貪喰率を求めた。その結果は第2, 3表, 第4図に示す如くである。即ち培養後2時間目で平均貪喰度は最高 1.32, 最低 0.67, 平均 0.96, 3時間目では最高 2.22, 最低 1.66, 平均 1.91, 4時間目では最高 1.68, 最低 0.93, 平均 1.18, 6時間目では最高 1.46, 最低 0.69, 平均 0.96, 9時間目では最高 1.04, 最低 0.6, 平均 0.81, 12時間目では最高 0.92, 最低 0.54, 平均 0.63, 24時間目では最高 0.61, 最低 0.23, 平均 0.44 を示す。

D. 成熟偽好酸球平均貪喰度

前述の好中球と同様に増生帯の部位、培養後経過時間の推移による変化を追求した。その結果は第4表, 第5図に示す如く、各層共に培養後最高平均貪喰度を示すのは5～6時間目で好中球に比して遙に遅れる。而も周辺部を除く他の2層は貪喰度全く低く、周辺部 1.54 に比し中間部はその $\frac{1}{2}$, 中心部は略々 $\frac{1}{4}$ の値を示すに過ぎない。更に時間の経過につれて中心部、中間部は低下が甚だ緩慢である。

第2表 健康人骨髓好中球墨粒貪喰能（放射線上）10例

第1例 石井 25才 女

第2例 岡田 26才 女

経過時間	貪 喰 度					貪喰率	平均貪喰度	経過時間	貪 喰 度					貪喰率	平均貪喰度
	(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)				(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)		
1時間後	30	13	7	0	0	40	0.54	1時間後	35	11	3	1	0	30	0.4
2	9	21	15	5	0	82	1.32	2	5	29	15	2	0	90	1.3
3	0	5	30	14	1	100	2.22	3	1	11	25	12	1	98	2.02
4	5	15	21	9	0	90	1.68	4	14	17	12	7	0	76	1.24
5	8	15	20	7	0	84	1.52	5	10	16	18	6	0	80	1.40
6	9	14	22	5	0	82	1.46	6	14	18	15	3	0	72	1.14
9	16	19	12	3	0	68	1.04	9	20	12	13	4	0	60	1.00
12	22	13	12	3	0	56	0.92	12	27	16	7	0	0	46	0.6
18	38	5	5	2	0	24	0.42	18	38	7	5	0	0	24	0.49
24	41	5	4	0	0	18	0.26	24	40	8	2	0	0	20	0.24

第4例 沼本 26才 ♂

第6例 松本 21才 女第8例 高崎 17才 ♂

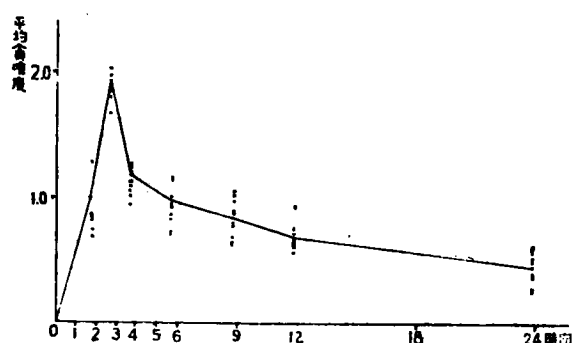
第10例 唐木 28才 ♂

經過時間	食 喰 度					食喰率	平均食喰度	經過時間	食 喰 度					食喰率	平均食喰度
	(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)				(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)		
2時間後	48	28	16	8	0	52	0.83	2時間後	55	23	16	6	0	45	0.73
3	10	24	26	20	10	90	1.96	3	12	27	39	15	7	88	1.78
4	35	31	22	12	0	65	1.11	4	44	29	18	8	1	54	0.93
6	44	27	20	9	0	56	0.94	6	51	32	13	4	0	49	0.70
9	53	25	15	7	0	47	0.76	9	50	38	7	5	0	50	0.67
12	57	28	10	5	0	43	0.63	12	57	29	11	5	0	43	0.64
24	61	28	10	1	0	39	0.51	24	60	24	14	2	0	40	0.56

第3表 健康人骨髓好中球墨粒貪喰能
(10例 平均値)

経過時間	貪 喰 率	平均貪喰度
2時間後	63	0.96
3	91	1.91
4	69	1.18
6	59	0.96
9	52	0.81
12	45	0.66
24	33	0.44

第4図 健康人骨髓好中球墨粒平均貪喰度



第4表 健康家兎骨髓組織増生帯部位別偽好酸球墨粒貪喰能

各層別 経過時間	中 心 部						中 間 部						周 辺 部					
	貪 喰 度					貪喰率 平均貪喰度	貪 喰 度					貪喰率 平均貪喰度	貪 喰 度					貪喰率 平均貪喰度
	(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)		(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)		(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)	
2時間後	40	8	2	0	0	20 0.24	40	8	2	0	0	20 0.24	40	8	2	0	0	20 0.24
3	30	3	2	0	0	14 0.2	26	3	2	0	0	16 0.23	37	7	6	0	0	26 0.38
4	45	4	2	0	0	10 0.16	42	5	3	0	0	16 0.22	16	18	14	2	0	68 1.04
5	42	5	8	0	0	16 0.42	35	9	6	0	0	30 0.42	7	14	26	3	0	86 1.50
6	45	3	2	0	0	10 0.14	27	11	11	1	0	46 0.72	6	13	27	4	0	88 1.54
7	40	6	4	0	0	20 0.28	32	10	7	1	0	36 0.54	17	17	15	1	0	66 1.00
9	38	8	4	0	0	24 0.32	35	8	5	2	0	30 0.48	24	15	9	2	0	52 0.78
12	41	5	4	0	0	18 0.26	23	17	10	0	0	53 0.74	65	15	16	4	0	35 0.59
24	42	5	3	0	0	16 0.22	27	13	10	0	0	46 0.66	30	14	6	0	0	40 0.52

貪喰能を示さず、1mg/cc では3時間目迄極く僅か認められるが6時間目では全くみられない。10⁻¹mg/cc では6時間目迄は僅に貪喰するが9時間目では完全にみられず、10⁻²mg/cc では12時間目迄可成り貪喰像が見られるが24時間では見られず、10⁻³mg/cc 以下の低い濃度では対照に比し少々低値を示すが、有意の差はない。

以上の如く好中球に比し偽好酸球の平均貪喰度は甚だ低いものであるから、原組織を中心とし各層を通る放射線上の細胞に就いて貪喰度を測定すると第5表の如くなり、貪喰度の比較検討をなすには不適當である。従つて以下家兎偽好酸球の平均貪喰度を示すには周辺部の値を以つてする。

E. 家兎骨髓培養に対する抑制物質の影響

I. Nitromin 添加

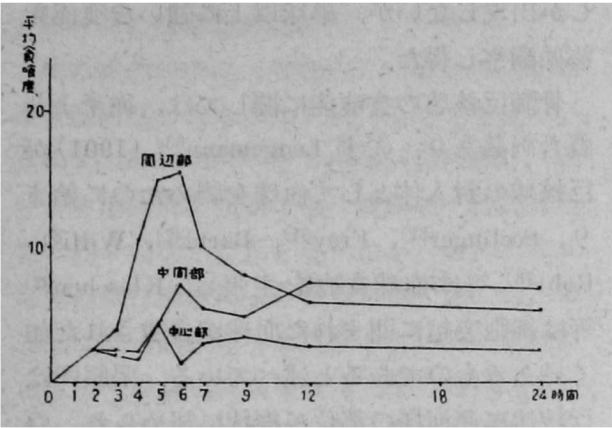
藥物添加実験では添加物：圧搾液：墨汁の比を1：1：2となして「ツ」注射器内にて混和して、それを2滴添加した。

Nitromin 結晶をリンゲル氏液に溶解して10, 1, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵mg/cc の各濃度の溶液を調製して添加した。対照としてはリンゲル氏液を使用す。実験成績は第6表、第6図に示す如くで、此の場合上述の如く、偽好酸球平均貪喰度は増生帯周辺部をとつた。最高濃度 10 mg/cc では細胞増生殆んど見られず原組織周辺にある偽好酸球は全く

II. P³² 添加

放射性同位元素 P³² を第1磷酸ソーダの形で1滴が 10⁴μc 以下 10⁵μc になる如く調整し、対照には第一磷酸ソーダを用いた。結果は第7表、第7図の如く 0.1μc 以上の線量では、それに比例して低下を示したが、それ以下では対照と差なし。

第5図 健康家兎骨髓組織増生帯部位別
偽好酸球平均貪喰度



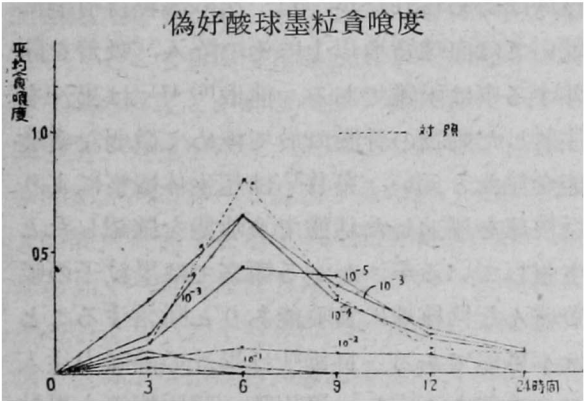
第5表 健康家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能
(放射線上)

経過時間	食 喰 度					貪喰率	平 均 貪喰度
	(一)	(±)	(+)	(++)	(+++)		
2時間後	43	6	3	1	0	19	0.28
3	44	9	5	2	0	27	0.42
5	50	10	7	3	0	29	0.47
6	56	24	13	4	0	42	0.64
7	75	17	8	4	0	28	0.43
9	79	18	6	3	0	26	0.37
12	83	15	2	0	0	17	0.14
24	92	12	1	0	0	12	0.13

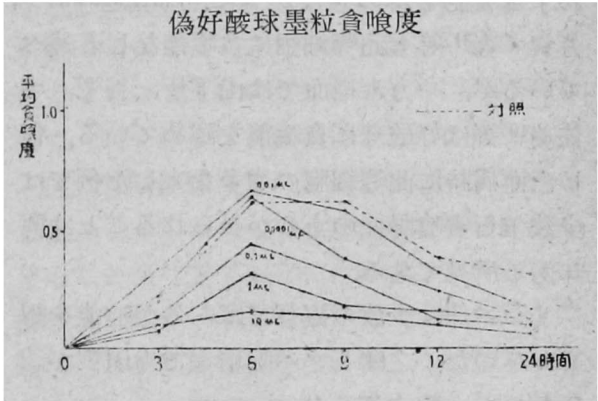
第6表 ナイトロミン添加家兎骨髓培養偽好酸球墨粒貪喰度

濃度 mg/cc	10	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	対 照
経過時間								
3時間後	0	0.02	0.08	0.06	0.16	0.3	0.12	0.12
6	0	0	0.02	0.1	0.66	0.66	0.44	0.8
9	0	0	0	0.08	0.36	0.3	0.4	0.32
12	0	0	0	0.08	0.18	0.14	0.16	0.1
24	0	0	0	0	0.1	0.08	0.08	0.08

第6図 ナイトロミン添加家兎骨髓培養
偽好酸球墨粒貪喰度



第7図 P³² 添加家兎骨髓培養



第7表 P³² 添加家兎骨髓培養偽好酸球墨粒貪喰度

放射線量 μc	10	1	0.1	0.01	0.0001	対 照
経過時間						
3 時 間 後	0.1	0.08	0.14	0.34	0.22	0.2
6	0.16	0.32	0.44	0.66	0.64	0.62
9	0.14	0.18	0.3	0.48	0.38	0.62
12	0.1	0.16	0.12	0.32	0.24	0.38
24	0.06	0.12	0.1	0.16	0.12	0.32

第4章 総括並に考按

私は健康人及び家兎の骨髓内諸細胞の墨粒貪喰能の有無並に貪喰度の強弱を観察したが、

その個々に就いて文献的考察を加え乍ら以下述べる。然してこの場合墨粒貪喰能は、同じ貪喰能でも細菌貪喰とは非常に相違するもの

であるから、これと別個に取扱つて考える。この点に関して Galinowski⁵²⁾ は骨髓内細胞でその間の相違を検討し、墨粒貪喰は細菌貪喰に遙に劣ると述べている。

先ず骨髓芽球、前骨髓球に全く貪喰能を認めなかつたが、Galinowski は前骨髓球に稀に認めると云い芳賀・森³⁷⁾、糸井³⁾、小原¹⁹⁾ は両者共に認めていない。Jacobsthal⁶⁰⁾、田辺²⁵⁾ はそれぞれ朱、墨汁を白血球血液に添加し骨髓芽球に貪喰能を認めているが、この場合は天野¹⁾、糸井³⁾ の指摘した如く、細胞鑑別が誤つていると考えられるが、更に試験管内で貪喰させて一定時間後に取り出し塗抹標本で観察した為に吸着を区別し得なかつたとも考えられる。次に骨髓球では極めて稀に貪喰を認める程度にすぎず、天野¹⁾ の云う如く幼若単球との鑑別点となる。後骨髓球以後は漸次貪喰度が強くなるもので、Galinowski⁵²⁾、芳賀・森³¹⁾、糸井、小原¹⁹⁾ の云う如く細胞の成熟度と貪喰能には平行的關係が存在する。

好酸球系、好塩基球系共に幼若、成熟を問わず貪喰能を認め得なかつた。Galinowski⁵²⁾、芳賀・森³¹⁾ 等も此等細胞に貪喰能なしと述べているが、一方末梢血では山下⁴³⁾、谷²⁶⁾、宇佐美¹⁰⁾ 等は好酸球に貪喰能を認めている。但し白血病時に此等細胞の増多を来した例では少数乍ら貪喰陽性のものが見られることは興味ある所見である。

リンパ球は少数の観察ではあるが喰能を認めなかつた。之はリンパ腺培養で寺田²⁷⁾ が認めたのと一致する。

単球系では単芽球に喰能なく、前単球には可成り認められ、成熟単球は高度である。従来の末梢血に於ける短時間観察では好中球に遙に劣る如く述べられているが、私の観察では単球は12~24時間で全く(Ⅲ)を示す。此は好中球が(一)~(Ⅲ)迄の差を見るのと対比して全く特異である。

網内系細胞に属すると考えられる所謂“Makrophagen”の貪喰能に関しては種々の方法で検討されているが、芳賀・森³¹⁾ は試験管法にて最も強度に貪喰すると述べ、滝川²⁴⁾

は家兎と犬に墨と Carmine を注射して、本細胞の由来を追求した。私の方法では極く少数しか出現しないが、単球以上に強い貪喰能を終始観察し得た。

骨髓巨核球の貪喰能に関しては、従来より賛否両論あり。先ず Lengemann⁶³⁾ (1901) が巨核球の封入体として血球を認めたのに始まり、Seelinger⁸¹⁾、Frey⁵¹⁾、Barta⁴⁷⁾、Willi⁸³⁾、Rohr⁷⁸⁾ 等は血球貪喰を主張し、Klaschen⁶²⁾ 等は細胞突起に囲まれた血球が貪喰された如く見えるものであると述べている。栗原¹⁸⁾ は巨核球に運河様の部位が網状に認められ、白血球はこの中を細胞外を遊走する如く自由な姿で走り廻るのを認めている。私はさきに巨核球に運動能あることを確認したが、巨核球が運動により複雑な胞体を示すことより考えれば、栗原が胞体内の運河と考えたものは、実は胞体表面の凹凸や、胞体と偽足又は突起との間の溝であつて胞体内部の構造ではない。かかる胞体とその偽足の間に生じた隙間を走る白血球は屢々認めたが、血球を貪喰した巨核球は認められなかつた。次に墨粒貪喰能に就いては血球貪喰以上にその陥入、吸着を除外する事は困難である。熊取¹⁶⁾ 17) は墨汁を注射した動物の骨髓に於て極めて微弱な貪喰能を見たと言ひ、糸井³⁾ は超生体観察により巨核球を圧迫した状態で貪喰能を確認したと主張しているが、かかる観察では墨粒子の吸着盛んな巨核球に貪喰能ありと断言することは不可能である。長雄²⁹⁾ は墨汁の静脈内注入で貪喰能を否定し、滝川²³⁾、前原³⁶⁾ 等も墨粒貪喰能なしと述べている。芳賀・森³¹⁾ は巨核球は強度の貪喰能を示し、殊に分野形成の少ないものに甚しいと述べているが、この点は興味がある。私の組織培養に於ける運動能を示す成熟巨核球の観察では、健康人の巨核球に墨粒貪喰は確認し得なかつた。然し幼若巨核球に墨粒貪喰像を時に認めた事は芳賀等の成績と考え併せて、巨核球では好中球、単球等と異り、未熟な時期に貪喰を有し、成熟すると本来の機能たる栓球分離を認める様になると同時に、貪喰能は機能として存在しなくな

ることを示している。

栓球に就いては天野¹⁾、泉²⁾の云う如く著明な吸着と貪喰能を認めた。

次に成熟好中球（骨髓内）の貪喰能の時間的推移を観察したものは、従来全く之を見ない。僅に Galinowski⁵²⁾が3時間目迄観察し、墨粒貪喰能は漸次亢進し墨汁混和後1時間目の値の約3倍を示したと述べたが、それ以後は細胞の変性崩壊により観察不能であつた。糸井³⁾は2時間後のみを観察している。私は好中球の平均貪喰度を培養増生帯の部位別に、それぞれ時間的推移につれて変化を観察した。中心部、中間部、周辺部はそれぞれ異つた変化を示したが、中心部は最も変化少く、中間部、周辺部は3時間後を頂点として最初急激に、後には緩慢に低下を示す。かかる貪喰度の変化の原因としては2つの要素が考えられる。即ち原組織内で幼若好中球が分裂、成熟を来し、新生の成熟好中球となり、先ず増生帯の中心部に出現して来るが、本細胞は貪喰度低きために中心部全体の平均貪喰度は2時間後迄亢進するも、それ以後は却つて若干低下し、そこで貪喰度亢進の度と新生成熟好中球出現の程度とが均衡を保つて以後9~12時間後迄一定値を示す。更にこの新生好中球は中間部、周辺部へと遊出するため、それぞれ3時間以後低下を示すが、此等2層では中心部の如く一定値を保ち得ず低下の一途を辿る。その頃よりの低下の原因の一部としては好中球の墨粒子放出を含んでいるもので、12~24時間の間で増生は停止するも貪喰度の上昇は起らず、3層共に同一の値を示し乍ら平等に低下し、最高時の1/4に低下する。24時間後も更に低下を示して72~96時間で全く貪喰像を見なくなる。以上の推測の根拠としては骨髓組織片を含まない穿刺液の凝塊（主として末梢血よりなる）を植えると、此の初期貪喰度低下を全く示さないものである。之は分裂、成熟が余り起つていないことを示すものであり、従つて放射線上の好中球平均貪喰度が3時間後に可成り急激な低下を示すのは骨髓内細胞の分裂、成熟の盛んな事を暗示している。

以上の考察により、私の実験成績では、貪喰度の強弱を云うためには3時間目迄見る事は勿論必要であるが、それ以後の初期低下の有無を厳密に確める必要あり。又多数例の観察で2時間後の値は3時間後のそれより可成り低値を示すものであることを知つた。

家兎偽好酸球は人好中球に比して貪喰度の低いことは既に谷²⁶⁾が末梢血に於て、糸井³⁾が骨髓に於て認めているが、私の実験でも両者の間に従来云われた以上の差の存在を認めた。更に幼若細胞では後骨髓球に稀に貪喰能を認める以外に之を見ない。成熟偽好酸球の平均貪喰度の時間的推移による変化を増生帯各部位別に追求した結果、中心部は2時間目以後殆んど同じ値を維持し、中間部及び周辺部は好中球の場合より少し遅れて6時間目に最高値を示す。就中周辺部は他の層に比して最も高い値を示すもので、全層を放射線上に貪喰度を求めるに人好中球の1/3に過ぎない。6時間目以後は周辺部のみ低下を示し他の部は変化しないものである。24~48時間になると漸次3層共に低下を示すものである。斯様に家兎では人と異り放射線上の値は甚だ低くなるので比較的高値を示す周辺部の値を以て、以後の比較実験を行うことにした。

扱て骨髓組織培養に於て墨粒平均貪喰度を求めることによつて成熟好中球の機能を判定することが可能であるか否かは、之により骨髓機能状態の一端を窺い得るや否やと云う問題に連る故に無視し得ない重大な問題である。白血球の貪喰能は白血球自体と之を包む環境と被貪喰物の3つの因子によつて決定されるものである。de Haan⁵³⁾は貪喰能が細胞の生命力の判定条件として用いられるのは、標準環境で同一の被貪喰物を用いて行われる場合に限ると述べている。彼は種々環境を変化させて、結局白血球がより長期間生存し得る最良の環境は正常の同種血清であり、他の代用液は不適當であると結論している。又 Huddleson and Munger⁵⁸⁾は試験管内で骨髓細胞の *Brucella* 菌に対する貪喰能を検査し、血清の免疫学的変化と密接な関係ありと述べて

いる。さて骨髓組織培養では貪喰細胞はすべて同一の健康人血漿中という標準環境にあり、被貪喰物には免疫等に影響されざる非特異性の異物である墨粒を用いたので、この場合平均貪喰度は最も端的に成熟好中球の機能を表現し得るものである。

従来より墨粒貪喰能検査法は数多くあるが、糸井³⁾の行つた森氏法、Galinowski⁵²⁾、芳賀・森³¹⁾の試験管法では、白血球貪喰能は標準環境で行われていない。即ち此等の方法では被験者血漿中にある白血球の墨粒貪喰能を観察している。これでは被験者の体内に於ける好中球の墨粒貪喰能は分るが、Philipsborn⁷⁷⁾の云う如く種々の疾病に於て、その血清中に貪喰度を亢進させ、或は低下させる如き因子が有るとすると、此の検査の結果現われる白血球の貪喰能の強弱は白血球自身の生命力の表現と被験者血清の貪喰能に対する作用の総和が現われるため、それは生体防禦力の立場からは意義が大であるが、白血球自体の真の能力とのみは云えない。かかる見地から此等の方法で骨髓機能を窺うのは不適當と考える。然して白血球を生理的食塩水、リンゲル氏液等で洗滌し、遠沈して集め、その浮游液を作り試験管内で墨汁と混和する方法は上記の目的には適するが、既に多くの研究者の云う如く細胞に対する障害が大きいもので十分な貪喰力の表現は困難である。この点組織培養では細胞に対する障害は甚だ少く、長時間活潑に生存を続けるもので、最も理想的であると考える。

Nitrominは白血病、悪性腫瘍の治療薬として周知のものであるが、島内²⁰⁾等は本剤が骨髓に対して抑制的に作用することを報告している。即ち家兎で本剤の投与により骨髓の顆粒球の減少、核左方推移、ミトコンドリアの著減、骨髓呼吸の低下を見ているが、骨髓組織培養でも増生面積低下し、細胞運動能も著明に減退するが、此の際に偽好酸球の平均墨粒貪喰度は Nitromin の濃度に正比例して低

下を示した。この事実は墨粒貪喰度が如何に鋭敏に骨髓機能低下に反応するものか示している。同様に P^{32} による放射線の影響に就いて観察したが明らかに線量の増加と共に貪喰度の低下を示した。以上の抑制物質の濃度と墨粒貪喰度とが平行関係を示したことは興味ある所見である。

第5章 結 論

健康人及び家兎の骨髓組織培養により墨粒貪喰能を検索し、次の結論を得た。

- 1) 先ず好中球系では骨髓球に稀に貪喰能を認めたが、骨髓芽球、前骨髓球には貪喰能なく、後骨髓球、成熟好中球の順に貪喰度は高くなる。家兎偽好酸球は好中球に遙に劣る。
- 2) 好酸球、好塩基球、リンパ球、赤芽球には通常貪喰能は見られない。
- 3) 栓球には著明な吸着と貪喰能があるが、骨髓巨核球の成熟型には貪喰能なし。
- 4) 単球は好中球より遅れて貪喰能を発揮し、此を凌駕し、時間経過により低下を示さず。
- 5) 所謂“Makrophagen”は骨髓内諸細胞中最高の貪喰度を示す。
- 6) 成熟好中球の平均貪喰度は増生帯部位により相違し、原組織を中心に放射線上に貪喰度を求めるに3時間目で最高(偽好酸球は6時間目で最高)以後低下を示す。
- 7) Nitromin, P^{32} を添加し、墨粒貪喰度が濃度に比例して低下するのを認め、本法により骨髓機能の一端を窺い得るものであることを知つた。

擧筆するに当り終始御懇篤な御指導御校閲を賜つた恩師平木教授並びに大藤助教授に深甚なる謝意を表す。

(本論文の要旨は昭和29年日本血液学会第16回総会に於て発表した)

(文献後掲)

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

Phagocytosis of Carbon Particles Investigated by Means of the Tissue Culture of Bone Marrow.

Part II. Phagocytosis of various cells in the bone marrow of normal adult and of rabbit.

By

Hiroshi Sunami

The bone marrow tissues were cultured from normal adult and rabbit. The processes of phagocytosis were scrutinized in the cultured tissues of bone marrow. The results are as follow:

1) The majority of neutrophilic leukocytes such as myeloblast and promyelocyte but a few exceptions of myelocyte exhibited no phagocytosis. Active phagocytosis was displayed by the matured neutrophilic leukocytes more than by metamyelocytes. The pseudo-eosinophilic leukocyte of rabbit bone marrow was much weaker in its phagocytic activity than the neutrophilic leukocyte.

2) Usually no phagocytic behaviors were recognized in eosinophilic-, basophilic-leukocytes, lymphocytes or erythroblasts.

3) Remarkable adsorption and phagocytosis of carbon particles were exhibited by thrombocyte but the matured type of megakaryocyte had no phagocytic activity.

4) The phagocytic activity of monocyte was at first lower than that of neutrophilic leukocyte but gradually grew high until it surpassed the latter. This great phagocytic activity of monocyte was kept long until the end of observation.

5) The so-called "Makrophagen" showed the greatest phagocytic activity of all the bone marrow cells.

6) In regard to the average degree of phagocytosis of matured neutrophilic leukocyte, different values were obtained from one growth zone to another. When the average degrees of phagocytosis in whole growth zones were examined along the radial direction from marrow fragment, they exhibited the highest value after 3 hours' cultivation. Thereafter the phagocytic activity of neutrophilic leukocyte again fell down. Pseudo-eosinophilic leukocyte showed its highest value of the average degree of phagocytosis after 6 hours' cultivation.

7) Lowerings of phagocytic activity were observed when Nitromin or P^{32} were added to the medium and these lowerings of activity were nearly proportional to the concentrations of these substances.

This seems to point out some part of considerable importance which underlies the functions of bone marrow.