

骨髓並びに末梢血; 体外組織培養に 於ける単球系について

第 2 編

単球白血病患者骨髓及び末梢血の体外組織培養

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

松 木 茂

〔昭和 34 年 1 月 10 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 1 節 単球白血病患者骨髓被覆培養並に染色

第 2 節 単球白血病患者末梢血白血球被覆培養並に染色

第 3 節 単球白血病患者末梢血白血球液体培養

第 3 章 実験成績

第 1 節 単球白血病患者骨髓被覆培養

第 1 項 生態観察及び培養経過

第 2 項 染色による一般経過と所見

第 2 節 単球白血病患者末梢血白血球被覆培養

第 1 項 生態観察及び培養経過

第 2 項 染色による一般経過と所見

第 3 節 単球白血病患者末梢血白血球液体培養

第 4 章 総括並に考按

第 5 章 結 論

第 1 章 緒 言

単球白血病の診断及び所屬については、古くより異論のある事は周知の事実であるが、最近血液学の発展と共に本症の症例報告も増加しているようである。即ち 1913 年 Hassan Reschad und V. Schilling⁶⁰⁾ は Übergangsformen leukämie 又は Splenozyten leukämie なる名称を提唱し網状織内皮系統の白血病なる事を論じ、Otto Ewald²³⁾ も賛意を表し、Fleischmann²⁷⁾ は Monozytenleukämie なる名称を付したが、Naegeli⁷⁴⁾ は単球系の芽細胞は骨髓芽細胞であるとし骨髓性白血病的分派であるとした。

1959 年 Doan, Cunningham⁴⁷⁾, Sabin⁹²⁾ 等は超生体染色法により独立した単球系を認め、Schultz, Krüger⁶¹⁾ も又単球系が骨髓系、淋巴系と並立して存在する事を唱えた。1942 年天野⁴⁾ は塗抹染色所見、特に核の特有な性状、超生体染色所見、Oxydase 反応、墨粒貪食、遊走性等を詳細に観察し、又多くの剖検資料より単球白血病の独立性を強く主張してい

る。Downey¹⁶⁾ は白血病細胞の Oxydase 反応陰性の Schilling 型と陽性の Naegeli 型の 2 種の単球白血病の存在を、小宮⁵⁸⁾ は Schilling 型と天野型の 2 型を提唱している。

さて以上の如く論議されているが、臨床上的立場からみると尚現今従来の方法でもつては白血病種類の鑑別の不可能な又は非常に困難な白血病の存する事は事実である。即ち小芽球性白血病・所謂側骨髓芽球性白血病と単球白血病との異同の如くである。然るに教室³⁸⁾⁷⁶⁾⁷⁷⁾ に於ては患者胸骨骨髓組織培養を考案して、その培養上の各種白血病細胞の所見の差異により白血病種類の鑑別を行うことに成功し、単球白血病に関しても教室川野⁵³⁾ の報告がある。

私は前編の正常単球の培養所見に引き続き白血病単球の培養所見を検討せんとして、単球白血病患者骨髓並に末梢血白血球の体外組織培養(被覆法)を施行し、白血病細胞の動態観察を行うと共に培養組織を Totalpraeparat として固定、ギムザ染色を施行し染色所見を求め、又患者末梢血、液体培養により白血病細胞の増殖・分裂成熟を観察したので、以

下之等の成績について報告する。

第2章 実験材料並に実験方法

第1節 単球白血病患者骨髓被覆培養並に染色

単球白血病患者の胸骨々髓穿刺により得た穿刺液中の骨髓組織片を取出し、リンゲル液にて赤血球の見られなくなる迄十分に洗滌したものを、前編に述べた方法で健康人へパリン加血漿を支持体とし鶏胎圧搾液を培養促進物質として被覆培養を行い、同様の方法で生態観察を行い、且つ培養時間毎に取出して健康人骨髓と同様の処置を施行して、Zenker-Alkohol 氷醋酸液及び Bouin 氏液を用いて固定し、ギムザ氏液にて染色を施して観察した。白血病骨髓培養は健康人骨髓に比し培地の液化傾向が強いため、培養前の組織の洗滌及び無菌的操作は特に肝要である。

第2節 単球白血病患者末梢白血球被覆培養並に染色

前編に述べたと同様の方法で白血球層を取出し被覆培養により動態観察を行い、Zenker-Alkohol-氷醋酸液及び Bouin 氏液で固定、ギムザ染色施行後鏡検した。

第3節 単球白血病患者末梢白血球液体培養

乾燥滅菌 20 cc 注射器に0.05%ヘパリンを吸引し内壁をうるおし、余剰のヘパリンは押出す。患者血液を 15 cc 採取しゆつくり混和し、直ちに1000回転10分遠心沈澱すると血漿・白血球層・赤血球層の3層に分かたれる。血漿層を除去し滅菌ピペットにて静かに白血球層を取出し、別に用意せる Gey 氏第1液に混和し、再び1000回転10分間遠心沈澱すると白血球は管底に溜る。上清を捨て白血球 0.5 cc と健康人血清（血液型は患者と同型）2 cc を充分に混和し均等の白血球浮游液を作る。之をワールブルグ検圧計用の特種の bottle に注入する。此の際時計皿に1滴をとり白血球数を計算し塗抹標本を作る。bottle に栓をしてワールブルグ恒温槽に入れ、38.0°C に保ち振盪培養する。培養時間毎に bottle 内の白血球浮游液を時計皿にとり、先づ白血球数の計算を行い、次に塗抹標本作製し、マイ・ギムザ染色により各時間毎に2000個の白血球分類を行つた。白血球浮游液を作る際の液体培地について血清を使用する場合は、血清中には血球凝集素が存在するため、患者血液型と同型又は第3表に示す血清以外を

第1表 単球白血病患者末梢白血球液体培養培地による白血球数の変化

時間	培地	患者血清	健康人血清	タイロード	リンゲル
培養前		185,900	174,000	198,500	141,500
培養後2時間		187,750	175,500	197,000	152,000
" 4		193,500	189,750	163,250	155,000
" 6		211,250	203,500	191,000	173,500
" 8		199,000	204,000	205,500	122,000
" 10		193,250	189,500	153,000	150,000
" 12		185,200	194,500	133,400	103,500
" 14		179,000	172,000	176,500	112,500
" 16		181,000	167,000	162,000	98,750
" 18		161,000	157,000	133,000	123,500
" 20		153,000	153,500	102,000	100,750

第2表 単球白血病患者末梢白血球液体培養培地による破壊型の百分率(%)

時間	培地	患者血清	健康人血清	タイロード	リンゲル
培養後4時間		0.16	0.15	0.16	0.17
" 8		0.38	0.36	0.45	0.51
" 12		1.48	1.29	1.98	1.82
" 16		2.32	1.89	3.84	4.25
" 20		3.12	2.50	5.72	6.85
" 24		7.10	5.78	8.99	10.32

第3表 白血球液体培養による血球血液型と培地とする血清血液型の関係、凝集について((+)は凝集する)

血液	血清	O	A	B	AB
O		-	-	-	-
A		+	-	+	-
B		+	+	-	-
AB		+	+	+	-

用いると振盪中は著明でないが、ピペットにて時計皿にとり出すと直ちに凝集し白血球数計算の正確度は低下し、塗抹標本にも「むら」が出来易い。

又液体培地に患者血清、健康人同血液型血清、リンゲル、タイロード液で試みたが、第1表・第2表に示す如き結果となり、患者血清を用いた場合には軽度ながら健康人血清に比し破壊像が増加し、リンゲルタイロード液に於ては凝集はないが血球計算盤内で白血球が2~3ヶ乃至7~8ヶ互に附着した状態となり、白血球計算の正確度を欠き、且つ血清に比して細胞の破壊が早期に現われ、破壊像の百分率

も急激に増加する。以上の予備実験により液体培地としては患者と同血液型の健康人血清が最適である。

培養法の bottle の振盪の可否については、白血球浮游液を38.0°C 恒温槽に沈めておくだけではbottleの硝子壁に白血球が附着し薄層を作り、本実験の目的に合致しないため振盪法を採用した。(第1表, 第2表, 第3表)

第3章 実験成績

第1節 単球白血病患者骨髄被覆培養

第1項 生態観察及び培養経過

単球白血骨髄被覆培養に於て、培養時間の経過と共に細胞の増生・遊走により原組織を中心とする円形の増生帯を作るが、この増生帯の細胞密度は健康人骨髄に比し極度に大であり、増生面積は反つて小さい。即ち白血病に於ては増生帯に出現する細胞は遊走性を欠くか、又は極めて少い幼若型が多く、又成熟単球も機能低下を示すため、健康人骨髄に比し増生面積は低値を示しているが、細胞密度は極めて大で増生帯内は細胞が一杯にたまっている感じで、而も増生帯辺縁は周囲と劇然と区別されている。

之は総ての白血病骨髄に於てみられる事であるが、単球白血骨髄に於ては幼若細胞に若干の運動性があるが骨髄性白血病に比して細胞密度は稍少く且つ増生帯の境界も幾分ボケてくるが、健康人との相違は劇然としている。而も大切な事は白血病が非白血性なると白血性なるとを問はず、常に此のような特異の増生像を示すことである。尚増生帯の細胞は殆どが単球系細胞により占められる。

培養後時間毎に観察すると、3時間では原組織周辺に単芽球及び前単球がみられるが単球の遊出は尚みられない事が多い。4時間以後になると症例により異なるが増生帯に成熟単球が出現し始め、以後時間の経過と共に成熟及び遊出により単球は増加し、培養後12時間になると原組織周囲には単芽球がぎつしりと密に存在し、中間部には単芽球・前単球を、周辺には単球の遊走しているのを認め、単球白血骨髄独自の型態をとる。12時間以後には単球・前単球の運動も次第に不活発になつてゆくが、更に又前述せる如く白血骨髄は健康人骨髄に比し培養支持体の液化が盛なるため懸滴法では長時間の観察は困難なる事が多く、時間の経過と共に液化して可視野の細胞がそのため極少数となる。

この液化の時間は早いものでは培養後10時間、遅

いものでは24時間で始まり、これは症例により異なる。そのため観察は主として48時間迄で変性現象に至る迄は観察されない。

単球： 単球の生態観察は前編健康人の場合について述べたが白血骨髄単球も運動形態に於ては健康骨髄の場合と略々変化はない。而し白血病に於ては細胞の機能低下のため遊走速度は低下し、形態的变化も稍遅鈍である。特有の旗状偽足や核については既述したが、運動について更にのべれば進行方向に対しても非常に非能率的な動きで胞体の数ヶ所より原形質突起を出し、その何れかが膨大して細胞体は稍長い形となり核もそれに適応して細長くなつて膨大部に入り、原形質の流動と共に細胞後端は前進する。又前進方向に障害物のある時は、突き当つてから少時逡巡するように障害物の左右に原形質突起を出して後に右又は左に曲るような運動をするのが認められる。変性顆粒の出現及び性状は健康人骨髄の場合と同様である。

前単球： 胞体は微細顆粒状で薄く雲がかかつた感じであるが、単球よりは微細顆粒は少く胞体縁の変形が著明に見られる。核は稍見えにくく核膜は薄く不明瞭で凹突があり、且つ核形は多く腎型を呈するが類円形のもの、切れこみを有するものがみられ、稍柔い感じである。核小体は非常に見えにくいのが通常2~3ヶで大小不同がある。運動は特有の教室規定のF型運動(胞体辺縁より団子状の突起を出没する運動)を示す。その突起の数は1ヶ~数ヶで同時に又は交互に出没するが遊走性はない。但し長時間観密すると位置移動がみられる。前単球の中でも稍成熟しつゝあると思はれるものではF型運動の原形質突起の膨大部が大きくなり、細胞形態の変化のあるものが認められ、この際には軽度乍ら核形の変化もみられ、又成熟単球によくみられる触手状突起、時には旗状偽足すら見る事がある。培養24時間以降になるとF型運動も弱り、ゆつくりと団子状突起を出すものから胞体辺縁に凹凸のあるまゝ動かぬものが認められる。

単芽球： 胞体は円形類円形で原形質にも顆粒は全く認められない。核膜は薄く稍不明瞭で核はその為見えにくく核形は円形又は類円形を呈するが軽度の凹陷や切れこみのあるものも認められる。核小体は核質との境界が不鮮明であるが2~3ヶ大小不同のものがみられる。運動は数量の分類せる型G運動即ちブラウン運動の如き振動運動がみられる。映画観察によればこの運動は更に明瞭で芋を洗うよう

に動いているのがよくわかる。稍成熟しかけていると思われるものでは原形質が広く、胞体辺縁の軽度の凹陷の認められるものもある。

尚単芽球及び前単球について再三1ケの細胞を24時間追求してその成熟過程を知ろうとしたが度々強い光線にさらされる為か培地の液化が昂進し、追求中の細胞が視野から脱落したり機能が衰え運動を示さないようになり、遂に単芽球より単球への成熟を現実に見る事が出来なかつた。しかし全体としては前述の如く培養経過により次第に成熟単球が増加してゆくので被覆培養増生帯に於て白血病幼若単球が成熟してゆく事は確実である。

第2項 染色による一般経過と所見

培養時間と共に固定染色した標本で原組織より放射状に鏡検すると表4に示す如くで、原組織を中心

第4表 単球白血病患者骨髓被覆培養に於ける出現細胞の百分率(単球系のみ)

	単芽球	前単球	単球
培養後4時間	97.1%	0.8%	2.1%
" 6	94.1	2.4	3.5
" 8	91.5	3.7	4.8
" 10	88.9	3.7	7.4
" 12	87.5	4.2	8.3
" 15	85.4	5.6	9.0
" 18	84.7	5.2	10.1
" 21	83.5	6.1	10.4
" 24	83.7	5.9	10.4

として中心部には単芽球・前単球が周辺部には成熟単球が殆どを占めて、且つ時間の経過と共に成熟単球は増加する。(第4表)

単球の染色像は健康骨髓の場合と同様であるが形態的变化は少い。然し尚運動形態を示したまま固定染色される為胞体は楕円形、紡錘形、亜鈴形、栗実形、匙形等種々の形態を示し、核も胞体変形に応じての変形を認めるが、核形は腎形、類円形のものが多い。

前単球は円形・類円形で胞体は稍広く、胞体辺縁に凹凸又は1~2ヶ所の舌状突起が認められ、原形質は青色乃至淡紫色に染り、核は類円形、腎形、蚕豆形で陥凹のあるものもみられる。生態観察でみられた微細顆粒は染色されず、又Azur顆粒も明らかでない。核は繊細網状で比較的柔い感じで核小体は1~3ヶ核質の中に埋つたような感じをうけ稍不明瞭であり、中には核小体は明らかでなく核内が幾分明

るく核小体の存在の想像されるものもある。

単芽球は円形乃至類円形で細胞密集のため染色はあまりよくないが、前単球に比し原形質は狭く弱塩基性に染り、胞体辺縁部が稍濃色に染つているのみみられ原形質内の顆粒は全く存在しない。核は類円形で塗抹標本に比し立体感が強く切れこみ、陥凹があるのも認められる。核小体は1~3ヶで前単球よりは明らかであるが、尚核質に埋れた感じで不鮮明である。

第2節 単球白血病患者末梢血白血球被覆培養並びにその固定染色

骨髓の場合と殆ど同様の経過並びに所見を呈するが骨髓に比して培地の液化傾向が少ないので稍長期観察が可能である。然し尚健康人末梢血と比べると液化傾向は強い。

増生帯の境界は骨髓の場合に比して不鮮明で細胞密度も稍疎であるが増生面積は大となる。然し健康人末梢血の場合と比べれば尚境界は明瞭で密度も大であり、又増生面積は低値を示す。

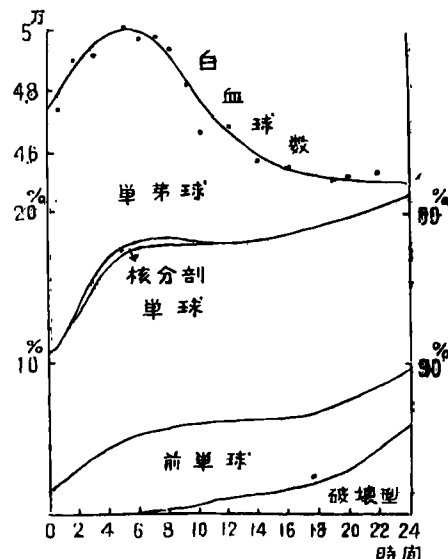
単球、前単球、単芽球の動態観察所見並びに染色所見は骨髓と同様である。

第3節 単球白血病患者末梢血白血球液体培養

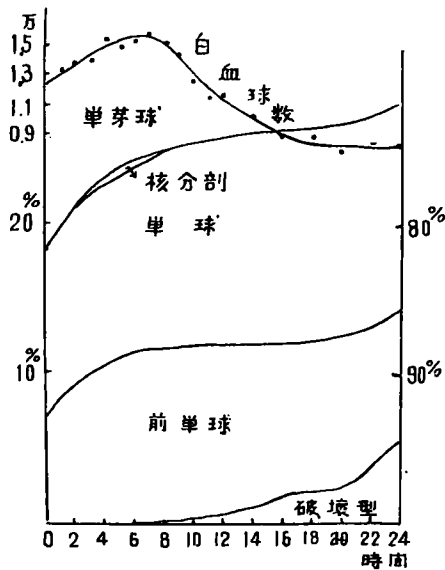
第1図に示す如く第1例では白血球数は培養後5時間までは増加し、以後次第に減少する。

白血球数増多と共に前単球及び単球の百分比は増加し、単芽球は減少する。核分割像も白血球数の最

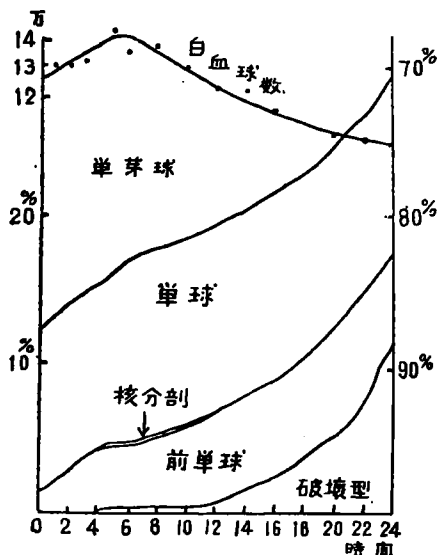
第1図 液体培養に於ける単球系のみ百分玉及び白血球数の変化 第1例



第 2 例



第 3 例



大なる時に最も多く、8時間以後になると破壊型の増加が次第に著明となる。又破壊型の増加と共に前単球が稍減少してくる。

第2例に於ては白血球増加の割合を詳細に知るため浮游白血球を少量にしたものであるが、同様に白血球数は培養後増加し、6時間を頂点として以後減少する。核分割像も6時間を中心に稍増加し、第1例では単球、前単球の増加が著明であつたが本例では前単球の増加が著明で、単球増加も第1例程ではないが認められる。破壊型は培養時間の経過と共に増加してくる。

第3例は比較的芽球の多い例であるが、培養5時

間迄白血球数は増加するが減少の速度が他の例に比べて早く、且つ破壊型の増加が著明である。又6時間以後の単芽球の減少が目ち、前単球の増加はそれ程著明ではなかつた。核分割像も極く少数見られたのみであつた。(第1図)

又何れの場合も単球系以外の細胞比率の増加は認めない。

以上3例より単芽球・前単球・単球のみの百分率に於ては、白血球数と同様に略々5~6時間を最高に単球・前単球の増加率を示し、その後も軽度ながら増加を続けるが、単芽球は常に減少の傾向を示し、又白血球数の多い時は核分裂も若干増加し白血球数減少と共に破壊型が増加する。

第4章 総括並びに考按

組織培養は Harrison により創案されてより次第に応用範囲が広くなり多くの研究がみられるが白血病に関する研究は極めて少く、本邦に於ては鈴木の種類動物血漿メジウムに於ける白血病血球の培養をみるのみであるが、形態学的な所見にはあまり触れていない。而るに先年来教室で行われている骨髓組織培養によつて白血病の診断及び鑑別診断に劃期的な新生面が開かれた。即ち平木教授³⁸⁾³⁹⁾の述べて居られる如く、白血病の患者骨髓体外組織培養では白血病細胞の増生が旺盛で、而も幼若細胞はもとより成熟細胞でもその遊走性が低い為、増生帯は境界鮮鋭の所見を呈し、弱拡大でも一見して明瞭に認められる。

さて単球白血病に就て観察すると、教室川野⁵³⁾も述べている如く矢張り増生帯の境界鮮鋭であつたが、骨髓性及び淋巴性白血病に比べればやゝ境界は不鮮明であり、これは白血病細胞の運動性が他の白血病細胞に比し大なる事と、成熟型が割合多いことによるものである。

又培養後時間経過と共に原組織を中心として単芽球・前単球・単球と放射状にその成熟過程を示すように配列するので、これら細胞の細胞学的診断によつて単球白血病の診断は確実に行いうる。即ちこれら単球白血病細胞の生態所見と、従来教室で観察され又先に私⁴¹⁾⁴²⁾の観察した他種白血病細胞の生態観察所見との相違点をのべると、先ず骨髓芽球は円形で胞体の境界鮮明で原形質に乏しく、単芽球より硬い感じで無顆粒であり、核膜も厚い感じで明瞭に見え、核仁も明らかで変形せず、胞体の運動変形は殆んど見られない。次に淋巴芽球は円形乃至類円形で

原形質狭く無顆粒で、核は明瞭に見え核表面に稍凹凸感があり、核仁は割合明瞭であつて胞体の変形・運動・位置移動は殆んど見られない。

而るに単芽球は原形質が稍広く核膜は薄くそのため核は稍不明瞭であつて、核は軽度の凹陷やきれこみを屢々みられ、核小体も稍不鮮明であり又特有のブラウン運動の如き廻転運動を行うので生態観察を行えば単芽球と骨髓芽球・淋巴芽球との鑑別は可能である。

前骨髓球は廻転運動、胞体の軽度変形があり、原形質には特有の光輝性の弱い中等大の黒く見える顆粒少数を有し、核は明瞭にみられ略々円形であつて核仁が認められる。幼若淋巴球は原形質稍広くなり、全く顆粒を認められず、核は明瞭に見え軽度の胞体変形がみられ、胞体は全く透明な感じである。而るに前単球は胞体辺縁より団子状突起を出没する事、又触手状突起もかなり出す場合多く、これだけでも前二者との鑑別は容易であるが、更に原形質内に存する少数の微細顆粒や、柔い感じの凹凸の可成りある核の性状より前骨髓球・幼若淋巴球との鑑別は容易且つ確実である。

さて培養時間の経過と共に増生帯の成熟単球の増加がみられるが、これは原組織中よりの遊走速度の大なる成熟単球の遊走もあるが、主として分裂増殖及び成熟の過程が培養組織の中で行われている為と考えられる。

培養組織の染色所見については前編にも述べた如く培地の共染があり、又細胞が平面でなく立体であり且つ細胞が重り合う為、塗抹染色に比べれば染色の程度が悪い。而し染色所見に於ても十分に細胞の特徴をとらえ得るし、他種白血病細胞との鑑別も或程度可能なる上、運動形態を示したまま固定される為、運動の各期の状態を永久標本として観察しうるので上記生態観察と並行して本法による観察を行うと、培養細胞の所見を一層確実に且つ豊富にする事が出来る。

末梢血白血球の被覆培養は採血が簡単であること、何回でも反覆実験が可能なる点に於て便利であるが、更に白血病に於て骨髓繊維化が強く起り、骨髓穿刺により組織を吸引し得ない事が稀にあるが、斯る場合末梢血白血球培養は骨髓培養の代用として充分白血球の鑑別に役立つ。又骨髓培養に於て液化の早期に発現する場合、末梢血では液化が骨髄程著明でないため補助的に用いる事が出来る。而し白血球減少症の著明な場合は目的を達する事が出来ない。

液体培養法は1936年 Osgood & Brownlee⁸⁷⁾ が人骨髓細胞で行つた細胞浮游液体培養が最初であり、後に Israelis⁴⁷⁾ は人骨髓を液体培養により培養し単球・顆粒球の観察を行い、Vannotti¹⁰⁹⁾ は家兎骨髓について液体培養法の研究を行っている。

又クエン酸の稀薄溶液で細胞質が破壊され核だけは残る事より Earle¹⁹⁾ 等はL株細胞をクエン酸溶液で加温振盪する事により核数の算定計測を行い、以てL株細胞の核が増加する事を認めている。本邦に於ては牧野⁶⁶⁾・伊藤⁴⁶⁾ は家兎骨髓液体培養に対するビタミンの影響について観察し、又小坂⁶⁹⁾ は家兎骨髓穿刺液をヘパリン加血清中に混じて37.°Cに保つた結果、最初は成熟過程は進行し有核細胞数は増加して核右方移動を示し24時間以後は変性著明となり細胞数減少し核左方移動を示すのを認めている。

又島菌⁹⁹⁾ は骨髓細胞浮游培養により磷酸代謝及びHb量について研究し教室の久米田⁶²⁾・岩崎⁴⁹⁾ は家兎骨髓のホモゲナイズしたもので液体培養を行い、患者血清、アミノ酸ビタミンの添加による赤血球系の研究を行い、勝田⁵²⁾ 等は改良法により鶏胎心臓の繊維芽細胞の液体培養を試みている。

被覆培養法に於ても、もとより細胞増殖をみるが、細胞数の変化の時間的關係や細胞の増殖度並びに成熟について数的に表現することは困難であるが、液体培養法に於てはこれを正確に表現することが出来る。そこで私が単球白血病患者末梢血白血球の液体培養を行つた結果を綜括すれば、培養5～6時間迄は白血球数は次第に増加し、此の時期に核分割像も増加している。以後白血球数は次第に減少してゆくと共に細胞破壊型の百分率は増加してゆく。又当初より培養時間の経過と共に単芽球は減少し、前単球・単球は次第に増加するが、その増加率は培養6～7時間迄が最も高値を示し、以後の増加率は低い。即ち単芽球の減少と共に前単球単球の増加している事は芽球の成熟を意味し、白血球数増加の度合は白血球細胞の増殖の程度を示している。又破壊型の増加は18時間以降は急速で、此の時期に単芽球又は前単球が減少する事より、又破壊型の染色所見からも単芽球・前単球は成熟単球より破壊され易い事がうかがわれる。結局単球白血病患者末梢血白血球液体培養を行うと、白血球細胞の増殖・成熟が数量的によく分り、又その染色所見は被覆培養のそれより遙かに鮮明であるのみならず、従来の血液塗抹染色所見と比較しても全く同様か、又は薄い塗抹標本が作

れ乾燥が早く細胞の収縮がないので、むしろ良好なる染色像を得られるため、特に生態観察に不馴れな人にとっては白血病種類の診断に好都合な培養法と云いうる。又特に成熟型の非常に少い芽球性白血病の診断上被覆培養法の補助的手段として価値の高いものと考えられる。

然しこの液体培養に於ては培養可能な時間が比較的短いことが欠点であり、今後の改良の余地が多分にあると思われる。即ち実験方法に於て私は培地選定の予備実験を行つた結果、液体培地として患者と同血液型健康人血清を使用した、これでは6時間以後は細胞数が減少し始め破壊型の増加をみるようになるが、此の事は培地の改良、入れ替え、培養細胞の植えつき等の方法により、更に興味ある結果が得られるのではないかと考えられ、今後の研究が期待される。

第5章 結 論

単球白血病患者骨髄及び末梢血白血球の被覆培養法により白血病細胞の生態観察を行い、又培養組織の固定染色所見を観察した。又単球白血病患者末梢血白血球の液体培養を行い、白血病細胞の成熟・増殖を観察した。

1) 単芽球・前単球・単球は特有の生態所見及び運動形態を示すので、患者骨髄被覆培養法は単球白血病的の確診に最も優れた方法である事が確認せられた。

2) 培養増生帯の染色所見は単球白血病特有の像

を示し、前単球・単球は運動形態を示したままの状態を観察せられ、個々の細胞所見は塗抹染色標本に劣るが、尚十分な所見を得ることが出来る。

3) 単球白血病患者末梢血白血球被覆培養に於ても骨髄と殆んど同様の所見が得られ、骨髄培養の出来ない場合には代りに施行する事が出来、本症診断上骨髄培養と同程度の価値を認める。

4) 単球白血病患者末梢血白血球液体培養法をOsgood 原法より新たに考案し、培地には患者と同血液型健康人血清を用いた。

5) 液体培養により白血球増多は培養後5～6時間が最高で、この時期に核分割像も最も多い。培養の経過と共に単芽球の減少及び単球・前単球の増加を認めた。即ち培地内で白血病細胞の分裂・成熟の行われている事が認められた。

6) 液体培養法では白血病細胞の成熟型が増加し、その染色所見も普通の血液塗抹標本と同様、或はそれ以上に良好なので、生態観察に不馴れな人にとっては白血病種類鑑別診断に好都合な方法であり、又成熟型の非常に少い芽球性白血病の診断上被覆培養法の補助手段として価値が高いものである。

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します。

(本論文の要旨は昭和31年日本内科学会中国四国地方会第11回総会に於て発表した。)

Studies on the Monocyte Series in the Bone-Marrow and Peripheral-Blood Tissue Cultures

Part 2. Bone-Marrow and Peripheral-Blood Tissue Cultures of Monocytic Leukemia

By

Shigeru MATSUKI

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

By performing both bone-marrow tissue culture and peripheral-blood tissue culture by cover-slip method the author made vital observations of leukemic cells and studied the fixed and stained specimens of cultured tissues; and also observed the mode of maturation and increase of leukemic cells by the tissue culture of peripheral leucocytes of leukemic patients in fluid medium; and obtained the following results:

1. In the tissue culture by the cover-slip method, monoblasts, promonocytes and monocytes present peculiar vital findings and movement pattern so that bone-marrow tissue culture of leukemic patients by the cover-slip method has been confirmed to be the most excellent method for an accurate diagnosis of monocytic leukemia.

2. The findings on the growth zone of the cultured tissue in the fixed and stained specimens show the picture specific to monocytic leukemia, and promonocytes and monocytes present the picture of these cells in actual motion. Although the each finding is somewhat inferior to that of smeared-stained specimens, it is, nevertheless a fair picture.

3. Even in the peripheral-leucocyte tissue culture by the cover-slip-method in monocytic leukemic patients, it gives a picture almost identical with that of the bone-marrow tissue culture. This method can take place of the bone-marrow tissue culture quite well even in the case where the bone-marrow tissue culture is not feasible, and for the diagnosis of this disease it is just as useful as the bone marrow culture.

4. For the peripheral-leucocyte tissue culture of monocytic leukemia in the fluid medium, the author used the serum of healthy person having the same type blood with that of the patient according to a modified method of Osgood's devised by the author. The increase in the leucocyte count by the tissue culture in fluid medium reaches its maximum between 5 and 6 hours after the culture, and the mitotic picture can be observed most numerous during this period. The decrease in monoblasts and increase in monocytes and promonocytes can be observed along with the lapse of the culture time. Namely, the mitosis and maturation of leukemic cells have been found to be taking place in the medium.

5. As the matured type of leukemic cells increases in number and the stained-specimen findings are good in the tissue culture of fluid medium, this is a method for even those who are not so skilled in vital observations for the differential diagnosis of leukemia. In addition this method will be quite valuable as a supplementary method for the cover-slip method for the diagnosis of blastic leukemia in which there appear extremely a small number of the matured type.
