

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 3 編

家兎骨髓体外組織培養に於ける組織球, 繊維芽細胞と
単球との比較並びに相互化生有無の吟味

附. 全編の総括

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 実験材料及び実験方法

第 1 節 健康家兎骨髓被覆培養

第 2 節 生体染色 (中性紅・ヤーヌス緑)

第 3 節 墨汁, リオチオンカルミン注射家兎

第 4 節 固定染色

第 3 章 実験成績

第 1 節 出現せる細胞の種類及び時間的關係

第 2 節 生態観察

第 1 項 単 球

第 2 項 繊維芽細胞

第 3 項 組織球様細胞

1. 組織球

2. 内皮細胞・細網細胞・その他

第 3 節 生体染色

第 4 節 リチオンカルミン

第 5 節 墨粒貪喰

第 6 節 固定染色

第 4 章 総括並びに考按

第 5 章 結論

附. 全編の総括

第 1 章 緒 言

健康家兎骨髓及び健康人骨髓の被覆培養法による単球の所見は第 1 編に於て詳述したが, 培養後 24 時間を経過すると原組織周辺より繊維芽細胞が次で組織球が出現してくる。

単球とこれらの細胞との関係については, 現今まで単球の発生学的研究や網状内皮系の研究に於いて種々の異論があり, 各々の細胞間の化生について論ぜられている。即ち Bloom¹⁰⁾ は単球より組織球に変化する事を, Maximow⁶⁷⁾ は単球より組織球に更に繊維芽細胞に変化する事を, Möllendorff⁷¹⁾⁷²⁾⁷³⁾ 一派は繊維芽細胞より単球となり単球より組織球になる事を認め, Seemann⁹⁸⁾ は組織球には組織固有のものと単球から変化したものがあると述べている。

又 Carrelu Ebeling¹³⁾¹⁴⁾ は単球及び組織球より繊維芽細胞に, 繊維芽細胞より組織球に変ることを, Lewis & Lewis⁶⁴⁾⁶⁵⁾ は単球が組織球乃至貪喰細胞に変わり更に巨大細胞にも変る事を観察している。本邦に於ても関⁹⁶⁾ は細網細胞より単球・組織球に又繊維芽細胞が炎症時に於いて突起を退縮させて単球・組織球に変ると述べているが, 天野³⁾⁵⁾ は単球系の独立を主張し, 単球と組織球・繊維芽細胞とは相互に移行しないと述べている。

然しとにかく以上の如く組織球・繊維芽細胞は古来単球と非常に密接な関係があるとされ, 少くとも単球類縁関係の細胞と目した学者が多い。依つて第 1・2 編に於いて単球系の検索を骨髓及び末梢血の体外組織培養によつて行つて来たので, 本編に於いては家兎骨髓被覆培養によつて出現するこれらの

細胞の生態観察、貪喰能及び生体染色、培養組織の固定染色所見より、それぞれの細胞の形態学的・機能的特徴を明らかにし、相互に化生の有無を検索せんとした。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 健康家兎骨髄被覆培養

第1編に於て詳述した如く、培養組織として幼若健康家兎大腿骨骨髄を細片としたものを用い、培地支持体は健康家兎へパリン加血漿を、発育促進物質として家鴨胎児胚搾液を用いて被覆培養法を施行し、培養時間毎に取出し 37.0°C 顕微鏡加温装置内で鏡検し培養経過及び生態所見の観察を行った。

第2節 生体染色

教室田村の方法に準じて施行した。即ち培養時に中性赤及びヤーヌス緑を添加したのでは、本編の細胞観察の如く少くとも24時間以後の観察に於ては培地自体が色素に染り細胞所見も十分に見られないので、培養時間毎に被覆硝子をはがし0.05%中性赤及び0.005%ヤーヌス緑を培養組織上に適下し再びパラフィンにて十分に封じてから 37.0°C に保ち鏡検した。

第3節 墨汁及びリチオンカルミン注射家兎骨髄

健康家兎耳静脈よりリチオンカルミン 2.5% のものを体重 1 kg 当り 3.8 cc の割で7日間毎日注射し、最後の注射より3時間後に大腿骨髄を取出し被覆培養を行う。

健康家兎耳静脈より、稀釈・濾過滅菌せる墨汁を体重 1 kg 当り 7 cc の割で3~7日間毎日注射し、最後の注射より3時間後に大腿骨髄を取出し被覆培養を行う。

培養後時間の経過と共に出現せる細胞について墨粒貪喰及びリチオンカルミン染色を観察した。

第4節 固定並びに染色

培養標本を時間毎に取出して被覆硝子をはがし、Zenker-Alkohol-氷醋酸又は Bouin 氏液にて固定し、ギムザ染色を施行し鏡検した。(此の方法は第1編にて詳述した。)

第3章 実験成績

第1節 出現せる細胞の種類及び時間的關係

培養後略々24時間を過ぎると原組織より増生帯に向つて大なる紡錘形の細胞即ち繊維芽細胞の一部が

出現してくる。時間の経過と共にその数は増し原組織全周より放射状に増生帯に向つて増殖してくる。培養後36時間目頃より原組織のすぐ周辺で繊維芽細胞の間に主として類円形なるも種々の型をした組織球が出現する。然し尚極く少数にしか認められない。

培養後3~4日になると繊維芽細胞の放射状の配列増殖は盛となり、原組織周辺部の薄くなつた所では繊維芽細胞が原組織像に沿つて平行に並んでいるのと又直角方向に並んでいるのが見られる。増生帯に出た繊維芽細胞は互に樹枝状に吻合しているのが認められる。又組織球の出現も著明となりその数も増加する。培養後6日になると繊維芽細胞の増殖も略々停止し、9日目以後には漸次崩壊像をとる。

尚、単球は第1編に記載の如く24時間以後は次第に衰え、48時間以後は漸次崩壊するが、9日目に於ても尚、少数の単球が組織球・繊維芽細胞の間にみられ、その中には運動型も認められる。

第2節 生態観察

第1項 単 球

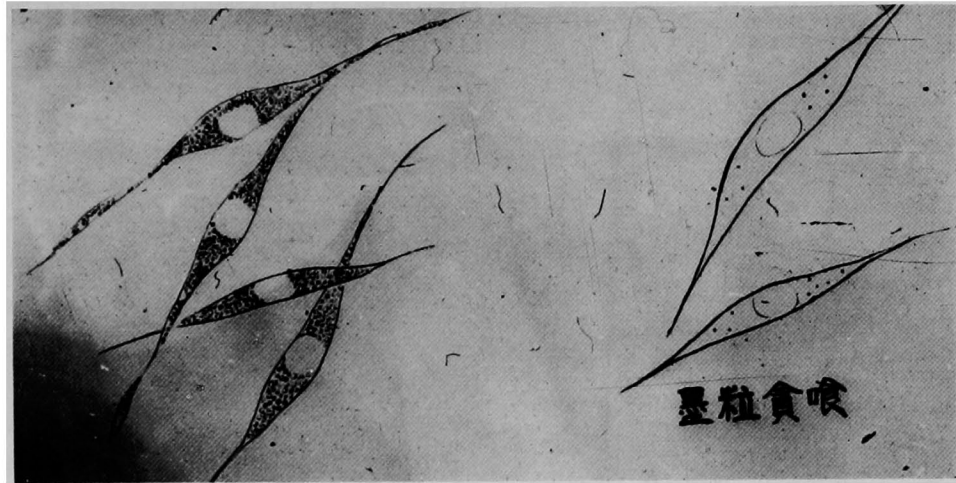
第1編記載の如く細胞全周より旗状偽足を出して、D型運動をなし、48時間以後は漸次崩壊像をとる。

第2項 繊維芽細胞

細胞の大きさは血液細胞に比し遙かに大きく個々の大きさは不定であるが、細胞の中央はふくらみ両尖端は次第に細くなり定型的な紡錘型を呈する。尖端の細くなつた部分は一方は原組織に向い、一方は増生帯周辺部に向い、多くのものは尖端は1条であるが分岐をもつて2条或は3条となつているのも認められ、他の繊維芽細胞と樹枝状に交錯吻合しているのが認められる。細胞膜は透光性が強い為明瞭にみられない場合が多く、顆粒によつて細胞型を形造つていく感じである。核は胞体の中心部の細胞膨大部に見られ楕円形を呈し、核膜は薄く非常に明るくみえる。胞体顆粒は光をよく反射する明るい感じで、大小不同なく中等大、均質性で胞体内に一層に並んで重り合う事なく、核周は疎であるが他の部には密に並んでおり、細胞尖端の細い部分迄十分につまり一列に並んでいる。顆粒の胞体内運動や流動は認められない。(第1図)

細胞運動や変形は短時間内に於ては全く認められないが、2~3日の間隔で同じ細胞を鏡検すると多少の変形、位置移動が認められる。

第 1 図 織 維 芽 細 胞



第 3 項 組織球様細胞

1. 組織球

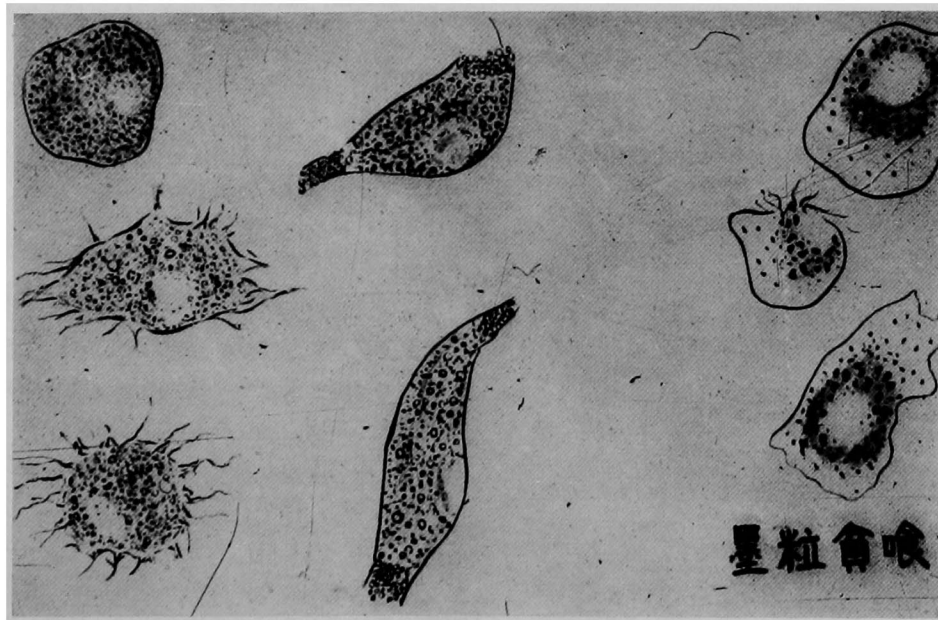
一般に大型であるが、かなり大きいものから小さいものまであり且つ多形性を示すが類円形を呈するものが多い。細胞膜は明かでなく胞体内には微細顆粒が充満している感じで、顆粒はやゝ黒く見え胞体内が汚れているように感じられる。核は胞体の略々中央に位置しているか或は僅かに偏在し、顆粒のため核膜は明かでなく核のある所は顆粒が少いためにやゝ明るく見える。顆粒は微細顆粒の他に大顆粒、中等大顆粒の大小不同がみられ、互に重り合い入り

混り、胞体内には赤血球や崩壊せる白血球の貪喰が認められる事もある。

運動及び変形は活潑ではないが認められ、特徴とするところは細胞全周より触手状、棘状の偽足を盛に出沒させていることである。偽足運動の盛な時は細胞全周より密に触手状棘状突起を出沒させ、衰えてくると数ヶ所より出沒させているのがみられる。しかし単球様の旗状偽足は認められない。

尚組織球胞体が菱形・紡錘形をとれる場合には偽足形成が認めがたく、大小不同の光をよく反射する中等大顆粒がある。(第 2 図)

第 2 図 組 織 球



2. 内皮細胞, 細網細胞, その他
 繊維芽細胞, 組織球の他に出現せる細胞は非常に

稀で、全く顆粒のない透明感が強い細胞で胞体に凹凸のあるもの、繊維芽細胞様の顆粒を有し好中球に

類似した遊走をするもの、組織球と同様の外観を呈しやゝ小型で偽足出沒の全くないもの等が稀に見られ、細網細胞乃至内皮細胞の範疇に属するものと思われたが、数が少く細胞種を決定するに至らなかった。

第2節 生体染色

繊維芽細胞は中性赤添加後1時間では、細胞全体が非常に薄く均質に中性赤の色素に染り、胞体内の顆粒が稍淡赤色の色が強いのもみられるが、増生帯内の単球、好中球、組織球に比し非常に淡く一見染っていないように思える。3時間後では稍染色度を増し、胞体中央の核を除いて微細同大の中性赤顆粒を認める。4～5時間後では次第に強く染るが中性赤顆粒は互に融合する事はなく、細胞全体に存在するが中には核周に稍多いものや細胞端には見られぬものもある。6時間以後になると中性赤顆粒は稍粗大になる。7時間以後になると次第に褪色が始り8時間以後になると増生帯周辺部の繊維芽細胞には全く褪色したのも認められる。無添加の場合に比し繊維芽細胞の破壊が早期にあらわれる。

ヤーヌス緑添加は再三施行したがヤーヌス網染色顆粒は認められなかつた。

組織球は一般に中性赤によく染り、弱拡大に於ても濃染の状態がよくうかがわれる。中性赤添加1時間後では種々の段階のものが認められる。即ち

(一) 全く中性赤の色をとらず無添加と同様のもの。

(土) ごくわずかに中性赤に染るが尚中性赤顆粒の明瞭でないもの。

(+) 胞体内は均質性に中性赤に染り、胞体内の固有顆粒も十分に見られ少数の微細中性赤顆粒のあるもの。

(++) 中等度に染色され固有顆粒は見られるが稍不明瞭となり、細胞全体に顆粒と混じて色素がいつぱいに広がり、核のみ未染のまま残っている感じで、細胞全体に微細中性赤顆粒とそれに重つて濃い大きな中性赤顆粒があるが融合のないもの。

(+++) 中性赤顆粒の融合があり、胞体内に数ヶの円形の大顆粒を作り、全体が中性赤に強染しているもの。

(++++) 固有顆粒は殆どみられず、見られても細胞周囲にごくわずかにあるのみで、中性赤顆粒は黒味を帯びる程濃染しブロック状に数ヶに分れた赤褐色塊となり、核の存在も不明となるもの。

以上の如き段階がみられ時間の経過と共に濃染せ

るものが増加する。4時間後には染色されてない組織球は破壊したもの以外には見られないようになり、濃染せるものでは運動、変形はゆるやかで、細胞周囲よりの触手状の突起もみられぬようになり、細胞全体が大きくふくれあがつているという感じである。8時間以後になると崩壊現象があらわれ、胞体は2～4倍の大きさとなり、胞体の境界不明瞭となり平な感じとなり、中性赤顆粒は褪色し均質に胞体内に淡赤の色があらわれるようになり、細胞は内容を放出して破壊する。ヤーヌス緑染色では添加後3～4時間にて核周にごく少数ヤーヌス緑顆粒を認めるのみである。固有顆粒と混じて見難く、中には全く認められないものもある。

第4節 リチオンカルミン

培養36乃至48時間にて、リチオンカルミンの色素をとつた細胞が出現してくる。原組織内には相当高濃度に染つた細胞がみられるが不明瞭である。

繊維芽細胞は培養と共に全体が均質にリチオンカルミンの色に染つた感じで顆粒ははつきりしない。

組織球は核周のみ均質にリチオンカルミンの色をとり顆粒の不明のもの、胞体全体に(核を除いて)瀰漫性にリチオンカルミンの色をとり、その間に大小不同のリチオンカルミン顆粒が存在し、大なる顆粒は核周に多くみられるもの、又胞体内で濃い部分が数ヶ所(多くは1～2ヶ所)に見られるものがある。

第5節 墨粒貪喰

培養後36時間迄は増生帯に於て盛に単球・好中球が墨粒貪喰をしたまゝ遊走しているのがみられ、単球の墨粒貪喰は可成り高度である。

繊維芽細胞： 普通には墨粒貪喰は全く見られず、無処置骨髓の場合と同様の像をみるが、極く稀に7日間注射した場合に微細な墨粒を胞体内に散在性に少数認められる事がある。

組織球は貪喰度が非常に大で、弱拡大に於ても細胞が黒く見える程墨粒を貪喰している。貪喰の軽度のものでは胞体内に散在性に微細な墨粒を有するもの、又大小不同の墨粒を散在性に貪喰しているものがある。中等度のものでは大小不同の墨粒が細胞の中心部に集り、核が不明瞭になつたもの、核周に密に墨粒が集つたもの、大きな不正形の墨粒が微細顆粒の間に点在するもの等がみられるが、細胞形が紡錘形、長楕円形を呈する場合には、細胞の両端には墨粒は少く、存在しても微細なものが多く且つ核周に集合する傾向がある。強度に貪喰せるものでは細

胞形は多く類円形を呈し、細胞の変形や触手状偽足もあまり見られなくなり、細胞が球状にふくれている如き感じであつて、微細墨粒が細胞全体を覆いその中に大小不同の不正形又は類円形の墨粒が存在し、核はそのため胞体の1側に押されているものもある。

第6節 固定染色所見

繊維芽細胞、組織球の出現する時間には、増生帯周辺部及び中間部の細胞は殆んど崩壊し破壊されたものが散在しているが、中心部には尚生存せるものが多く特に単球が多く見受けられる。96時間以後になると組織球が繊維芽細胞より遠くまで遊走して中間部に至つているのもみられ、大型であるため染色すると弱拡大でも十分に判定し得られる。

繊維芽細胞は紡錘型を呈し細胞膜は生態観察でみられた時よりは厚い感じで、割合に滑らかで、原形質は微細顆粒状で淡塩基性に染る。

而も微細顆粒状のものは胞体内に於て少しくむらがあり、生態観察時の同大の光をよく反射する顆粒は全く消失している。核膜は割合に厚く稍濃染し、核質は非常に粗で明らかな核小体が1~3ヶ認められる。核は楕円形又は長楕円形で細胞の中心を占めて居る。

組織球は非常に多形性を示し、類円形、楕円形、紡錘形、不正形を示し、大小不同が甚しく、小なるは単球と同じ大きさのものから非常に大型のものまである。細胞膜は大型のもの程薄く、不正型を示すものうちの少数には、胞体より舌状の原形質突起を認めるのもあり、胞体は微細顆粒状で淡塩基性に染り、赤血球、ヘモジデリン、他細胞の崩壊物と思われる塵埃様のものを含んでいる事が多く、而もこれは大型の細胞に多くみられる。核膜は厚く核は稍粗であるが繊維芽細胞よりは密である。核形は楕円形、類円形で胞体の略々中央に存在するが貪喰の強いものでは偏在する。又核の一部に軽い凹陷を認める事もある。核小体は1~3ヶ濃染している。

第4章 総括並びに考按

本編に於ては、従来単球に類縁関係の深いと云われた繊維芽細胞及び組織球について述べた。さて骨髄網内系細胞に就ては胸骨穿刺法の考按されて以来Williはギムザ染色により網内系細胞を分類しRohr⁹¹⁾は骨髄穿刺液の塗抹と切片標本を比較検討し詳細に之を分類し、本部に於ても、天野³⁾⁴⁾・赤崎¹⁾²⁾の業績を始め多くの研究がなされている。

然し組織培養を用いての此の方面の研究は殆んど

見られず、繊維芽細胞についてはその培養は最も容易であり、他種細胞に比し抵抗が強く且つその材料もあらゆる臓器から得られるため早くから行われている。然し乍らFazzari²⁴⁾は同じ家鶏胎児から発育した繊維芽細胞も臓器を異にすれば形に差があり形態学的に区別しようと述べ、木村⁵⁵⁾は細胞の形は培養基・組織片の年齢、温度の高低等の条件により非常に違つてくると云つている。又繊維芽細胞の培養を利用して薬剤の影響、培養条件を検討した報告³⁰⁾⁴⁵⁾⁸⁷⁾もみられるが骨髄培養による繊維芽細胞や組織球の詳細な観察を行つた者はない。よつて私は家兎大腿骨骨髄の体外組織培養によつて増生してくる繊維芽細胞及び組織球の観察を行い、単球との関係を検索した次第である。

先ず生体観察に於て繊維芽細胞は中等大の光をよく反射する顆粒が胞体の尖端迄充滿し、而も重り合うことなく一層に並んでいる事は明かであるにもかかわらず、皮下組織又は心胎児に於ける繊維芽細胞についてはその詳細な記載をみない。然し乍ら運動変形のない事は天野³⁾を始め多くの学者の認めることである。組織球について大小不同・多形性があり、種々の形態をとり微細顆粒を有し、触手状突起を出すこと又胞体内に異物貪喰のある事はSabin, ⁹²⁾⁹³⁾ Strangway, ¹⁰⁴⁾ 天野³⁾等によつて認められているが私も全く同様の所見を得た。

生体染色乃至超生体染色では繊維芽細胞の中性赤顆粒の染色が軽度であり、組織球は高度に染色する事は天野³⁾(皮下組織、腹水)、岡田⁷⁹⁾(家兎腹水)、小島⁶⁰⁾・大西⁸¹⁾⁸²⁾(骨髄)等の認めることであり、たゞヤーマス緑について天野³⁾は組織球は核周に密にヤーマス緑顆粒があらわれ、核を離れるに従つて粗となり、この糸粒体所見は若い組織球の場合には稀であるとし、繊維芽細胞は極めて微少な糸粒体を見、時には全く現われないことがあると述べているが私の場合に於ては繊維芽細胞には全く認められず、組織球では詳細に観察していると微細固有顆粒の間で核周にのみ非常に少数認められる事もあるし、又全く認め難い事もある。

カルミン摂取は繊維芽細胞には認められず、組織球には軽度又は中等度に認められるが、これは清野⁵⁶⁾⁵⁷⁾、滝川¹⁰⁵⁾、大森⁸³⁾⁸⁴⁾、小島⁶⁰⁾、大西⁸¹⁾⁸²⁾等の所見に一致する。

墨粒貪喰については、特に組織球の一大特性であつて従来組織球の細胞鑑別に於ける主役を演じて来た。此の貪喰能を検索するのに、教室角南¹⁰²⁾の方

法によると彼が「高度に墨粒貪喰を行い大小様々の墨粒を胞体に充満させている所謂 Makrophagen が数ヶ原組織の上部に現われる」と述べている如く組織球は出現するも少数で観察に不十分である為、あらかじめ家兎に墨汁を注射しておき骨髄内組織球に墨汁を貪喰させておいて被覆培養を行い、増生帯に繊維芽細胞、組織球の出現するのをまつて貪喰状態を観察した。尚無処置の骨髄培養を行い細胞出現後にあらためて墨汁を添加するのでは、培地が凝固している為墨粒が細胞迄達し得ないので貪喰能の観察には不相当である。さて網内系細胞としての所謂 Makrophagen の貪喰能については芽賀³⁴⁾・森は試験管法で最もよく貪喰する事をのべ、滝川¹⁰⁴⁾は家兎・犬に墨及びリチオンカルミンを注射し超生体観察により、又ギムザ染色でも観察し、組織球は墨粒の細いものや塊を貪喰して貪喰能の旺盛なる事を簡単にのべている。又墨だけを貪喰しているものと墨・カルミンの両方を貪喰しているものとを分け、全細胞に対する百分率をみているが両者の本態については言及していない。又天野³⁾は皮下組織繊維芽細胞で細胞内部に墨粒の入ることは殆どなく、病的状態に於てのみ核の偏側乃至原形質の一部に等大の小型乃至中等の墨粒貪喰を示すと述べている。私の実験成績に於ても繊維芽細胞には殆ど貪喰は認められず、7日間墨汁注射した場合に於てのみ極く例外的に小數みられたのみである。組織球の貪喰は極めて旺盛で、大小不同の墨粒が核周に密に集合しているを認め、而も細胞が如何なる形態をとる場合に於ても貪喰は高度である。

固定染色所見で両者は核及び胞体はよく似た染色態度を示し、組織球の類円型を示す場合には形態的にも鑑別し得るが、組織球が紡錘型をなす場合には全く困難であつて、細胞形態より、又核、胞体より丁度繊維芽細胞と組織球の中間型の状態で、あたかも両者間の移行型であるかの如き感を抱かしめる。即ち従来両者の移行を認めている学者のあるのは、染色標本を主として観察を行つた為であろうと考えられる。

さて単球、組織球、繊維芽細胞間に於て互に移行しうるか否かの問題であるが先ず

I) 単球と組織球との間にあつては天野³⁾⁶⁾の云う老化単球と小型組織球とが問題である。Sabin⁹²⁾⁹³⁾は両者の鑑別に ① 単球にはロゼットの形成のある事、② 単球の貪喰物は核嚢入部に接近して現われぬが、組織球貪喰物は核に直接位置す

る事がある事、③ 組織球はヤース緑顆粒を有しない。

事等をあげているが、天野³⁾は腹腔内組織球の中性赤、ヤース緑顆粒の特性をあげ、老化単球では中性赤ロゼットは恒常の特性ではなく組織球様の縁を呈する事をのべ、岡田⁷⁹⁾は又家兎腹腔内に家鶏血液注入後腹水細胞の中性赤超生帯染色にて単球、組織球の鑑別をのべている。此処に於て天野の云う老化単球を本実験に於て機能のおとろえた単球という意味に解しても組織培養に於ては単球と組織球は次の諸点に於て明確に区別される。① 偽足運動が全く異なる、即ち単球は細胞全周にみられる旗状偽足を布が風にたなびく様に動かすが、組織球は触手状突起を出没するのみである。② 胞体内の固有顆粒が単球は微細顆粒状であり、その他特有の光輝性のある変性顆粒が見られるが、組織球は顆粒がやゝ大きく黒く見え、数も多く胞体に充満し、胞体内が汚れている感じである。③ 単球の核は柔い感じで不明瞭であるが明るく、組織球は顆粒が覆う様になり核の辺縁が不明瞭である。④ 生体染色で単球はロゼットを作る事多く、組織球にはこれをみない。染色度も組織球の方が遙かに強く中性赤顆粒の融合が著明である。⑤ 貪喰は一般には単球が組織球より軽度であるが程度のみによつては鑑別する事は出来ない。然し単球の運動の遅鈍になつたものでは墨粒は核凹陷部に集り、組織球では墨粒は胞体に遍満性に在り、又大小不同が甚しく細胞全体が汚れている感じが強い。⑥ 固定染色所見にては老化単球が運動性を欠除している場合には組織球との鑑別は固難な場合がある。次に

II) 繊維芽細胞と組織球。形態的に繊維芽細胞は紡錘形、組織球が類円形を示す場合は割合簡単であるが、組織球が紡錘型を示す場合は染色所見では上述の如く移行像であるかの如き感を抱かしめる。関⁹⁶⁾は運動性、形態、Mitochondria に於て両者は相違するとのべている。し乍ら組織培養所見に於ける生態観察では次の諸点で区別できる。① 繊維芽細胞は運動性なる特有の固有顆粒が充満し、細胞尖端までつまつているが、組織球紡錘型のものでは繊維芽細胞程尖端が細く長くならず、細胞端がちぎれたような形を示すものもあり、且つ顆粒が微細で細胞尖端まで顆粒が入りこんでいない。但し繊維芽細胞のに似た顆粒の存在する事も屢々みられる。後者に於ては運動及び触手状の偽足はないが、時間的に5~10分間隔で同一細胞を観察すると次第に変形

を来して突起をちよめて類円形組織球となり、触手状偽足を伸縮するようになるのを認めるが、繊維芽細胞にはかゝる事は全くみられない。② 中性赤顆粒は組織球には非常に多く且つ融合傾向が強く大小不同があるが、繊維芽細胞には非常に軽度で③ 貪食は組織球は強くみられるが繊維芽細胞には例外的にみられるのみである。

Ⅲ) 繊維芽細胞と単球に於ても、培養末期に単球が運動停止し紡錘形を呈する事があるが、此の場合にも上述の生態観察、生体染色並びに貪食能所見により両者は明確に鑑別しえられる。

即ち以上の如く骨髄組織培養によれば、単球・組織球・繊維芽細胞は夫々明確なる特徴を有し、相互に完全に鑑別しうる、又緒言で述べた如く Maximow⁶⁷⁾、Bloom¹⁰⁾、Möllendorf⁷¹⁾、72)、73)、関⁹⁶⁾等により之等の細胞種の間には相互に移行があることが云われて来ているので、私はその点に関しては本研究に於て終止特に慎重に観察したつもりであるが遂にどの組合せに於ても全く斯る事実を認める事はできなかつた。即ち私の観察し得た培養期間に関する限り、これら細胞相互間の化生は確実に否定し得るもので、この点天野⁹⁾の意見に賛意を表するものである。

かくの如く組織培養法は個々の細胞の形態学的並に機能的観察に優れているのみならず、細胞間の化生についての研究、観察にも最も優秀な研究方法であることをあらためて認め得た。

全編の総括

先年来教室に於ては、骨髄体外組織培養によつて細胞学的な基礎研究並びに臨床応用が行われて来ているが、私はその研究の一環として特に単球を中心として組織培養による詳細なる研究を行つた。

第1編に於ては健康人及び健康家兎の骨髄並びに末梢血白血球の被覆培養を施行して、培養時間毎に単球の逃走速度を計測し、又生態所見、中性赤生体染色所見、墨粒貪食所見を観察した。又培養組織を固定染色せんとして固定液選択の予備実験を行い、Zenker-Alkohol-氷醋酸液、Bouin 氏液、Carnoy 氏液が適当せることを見出し、培養時間毒に Totalpraeparat のまゝ固定、ギムザ染色により単球の観察を行つた。以上の各種所見より単球の形態的機能的特徴を明らかにし、骨髄単球と末梢血単球を比較検討し、又単球と他細胞間の化生のないことを確認

第5章 結 論

健康家兎大腿骨骨髄体外組織培養被覆法によつて出現する繊維芽細胞・組織球について、その生態所見、中性赤ヤーンヌ緑による生体染色、リチオンカルミン色素摂取能、墨粒貪食能を観察し、併せて培養組織の固定染色所見を観察し以てその形態学的並びに機能的特性を検索し、更に単球との比較並びに相互の化生の有無を吟味した。

1) 繊維芽細胞は紡錘型で特有の顆粒を有し、運動変形は全く認められず、中性赤顆粒は少数でリチオンカルミン色素を摂らず墨粒貪食能は殆んどない。

2) 組織球は多形性を示し、類円形のものでは胞体全周より触手状突起を出没し、運動性は著明ではないが形態的变化は著しい。リチオンカルミン色素摂取、墨粒貪食は著明で中性赤に濃染し、ヤーンヌ緑顆粒は少数認められる。

3) 繊維芽細胞、組織球、単球の間には夫々の特徴ある形態、運動、機能を認め、組織培養10日目迄の観察に於ては此等細胞相互間の化生、移行型は全く認められない。

擧筆するに当り終始御懇篤な御指導御高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。)

した。

第2編に於ては単球白血病患者の骨髄及び末梢血白血球の被覆培養法によつて、白血病細胞の生態観察を行い、又培養組織の固定染色による所見も併せて観察し、その特徴を明らかにした。又単球白血病患者の末梢血白血球の液体培養法を Osgood の原法より新たに考案し、培地としては予備実験の結果患者と同血液型健康人の血清を使用し、ワールブルグ恒温槽にて振盪培養し、白血病細胞の成熟分裂、増殖が培地内で行われている事を数的に確認した。

第3編に於ては健康家兎骨髄の被覆培養法によつて、培養後24時間以後に増生してくる繊維芽細胞、組織球についてその生態観察、中性赤ヤーンヌ緑による生体染色、リチオンカルミン色素摂取能、墨粒貪食能を観察し、又培養組織の固定染色により両者

の染色像を観察し、以つて形態的機能的特性を明らかにし、単球との比較を行い、これら相互間の化生及び移行型のない事を認めた。

以上の実験及び観察より次の結論が得られた。

1) 単球は独自の生態所見、細胞運動、偽足運動及び機能的特性を有し、骨髓単球と末梢血単球との差は殆んどなく、他細胞から又他細胞への化生は認められない。

2) 被覆培養組織の固定染色では細胞が運動型を示したまゝの状態を観察され、その所見は塗抹染色標本より劣るが、尚十分な所見は得ることが出来る。

3) 単球白血病患者の骨髓被覆培養法に於てはその増生帯所見及び白血病細胞の生態観察所見に著明な特徴があるので、本法は本症の確診に最も優れた

方法であり、又末梢血白血球被覆培養法によつても略々同様の所見を得るから骨髓培養の代用として施行することが出来る。

4) 単球白血病患者末梢血白血球液体培養法は、成熟形の増加する事及びその染色所見が普通の血液塗抹染色所見と同様か、それ以上に見易いので生態観察に不馴れな人にとつては白血病の診断上好都合な培養方法であり、又特に成熟形の少い芽球性白血病の診断上、被覆培養の補助手段としても価値が高い。

5) 繊維芽細胞、組織球と単球は生態観察、生体染色、墨粒貪喰に夫々特徴ある所見を認め、組織培養10日目迄の観察に於てはこれら細胞相互間の化生及び移行像は全く認められない。

参 考 文 献

- 1) 赤崎兼義：新潟医誌，60，1，昭21.
- 2) 赤崎兼義：日本臨床，4，340，昭21.
- 3) 天野重安：血液学の基礎（上巻），丸善，昭23.
- 4) 天野重安：日血会誌，6，269，昭17.
- 5) 天野重安：日血会誌，7，62，昭18.
- 6) 天野重安：日血会誌，14（補冊），80，昭26.
- 7) 天野重安：日新医学，32，651，昭18.
- 8) Aschoff, L. : Erg. inn. Med., 26, 1, 1924.
- 9) Aschoff, L. Verhand. deut. path. ges. Tag., 16, 107, 1913.
- 10) Bloom, W. Arch. exp. Zellforsch., 5, 271, 1928.
- 11) Carrel, A., M. T. Burrow : J. A. M. A., 55, 1379, 1910.
- 12) Carrel, A., M. T. Burrow : Compt. rend. Soc. Biol., 69, 299, 1910.
- 13) Carrel, A., A. H. Ebeling : J. Exp. Med., 36, 399, 1922.
- 14) Carrel, A., A. H. Ebeling : J. Exp. Med., 44, 261, 1926.
- 15) Carrel, A., A. H. Ebeling : J. Exp. Med., 34, 317, 1921.
- 16) Commandon, J., : Compt. rend. Soc. biol., 82, 1305, 1919.
- 17) Cunningham, R. S., F. R. Sabin, C. A. Doan : Compt. to embryo., 16, 227, 1925.
- 18) Downey, H. : Handbuch of Haematology, 11, 1275, 1938.
- 19) Earle, W. R., E. L. Schilling : J. Nat. Cancer Inst., 14, 853, 1954.
- 20) Ehrlich, P. : Berlin, 1893.
- 21) Ehrlich, W. : Erg. pathol., 29, 1, 1934.
- 22) Erdmann, R. h. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 15, 96, 1917.
- 23) Ewald, O. : Deutsch. Arch. Klin. Med., 142, 222, 1923.
- 24) Fazzari, J. Arch. exp. Zellforsch., 2, 307, 1926.
- 25) Fischer, A. : J. Exp. Med., 34, 447, 1921.
- 26) Fischer, A. Arch. exp. Zellforsch., 3, 345, 1927.
- 27) Fleischmann, P. : Folia. Haemat. Archiv., 20, 17, 1916.
- 28) Foot, M. D. Beitr. zur Path. Anat. zur Allg. Path. (Ziegler), 53, 446, 1912.
- 29) Forkner, G. E. J. Exp. Med., 34, 625, 1921.
- 30) 福光廉平・日微病誌，24，427，1930.
- 31) Grossmann, W. : Beitr. zur Path. Anat. zur Allg. Path., 72, 195, 1924.
- 32) Haagen, E. : Arch. f. exp. Zellforsch., 3, 353, 1927.
- 33) Haan, J. Arch. f. exp. Zellforsch., 7, 275, 1931.
- 34) 芳賀圭吾，森英章・日血会誌，5，493，昭16.
- 35) 原和一郎：解剖会誌，18，257，昭16.
- 36) 原和一郎：解剖会誌，19，250，昭17.
- 37) 服部圭三・日微病誌，24，71，1930.

- 38) 平木潔: 診断と治療, 43, 677, 昭30.
39) 平木潔: 日本医事新報, No. 1925, 97, 昭29.
40) 平木潔他3名: 最新医学, 10, 1582, 昭30.
41) 平木潔他7名: 日血会誌, 20, 151, 昭32.
42) 平木潔他6名: 総合臨床投稿中.
43) 平木潔, 大藤真: 日血会誌, 19, 406, 昭31.
44) Ingebrigsten, R.: J. exp. Med., 15, 397, 1912.
45) 石井辰次: 日微病誌, 23, 893, 1929.
46) 伊藤真次: ビタミン, 5, 452, 昭27.
47) Israël, M. C. G.: J. Path. bact., 50, 145, 1940.
48) 岩男督: 日血会誌, 7, 195, 1943.
49) 岩崎一郎: 岡山医誌, 68, 9, 1315, 昭31.
50) Jolly, J.: Comt. rend. Soc. Biol., 74, 504, 1913.
51) 勝沼精蔵: 日内会誌, 23, 1, 昭10.
52) 勝田甫: 組織培養法, 納谷書店, 昭30.
53) 川野嘉彦: 未刊.
54) 河嶋勇: 日血会誌, 4, 71, 昭15.
55) 木村廉: 組織培養, 共立出版, 昭30.
56) 清野謙次: 生体染色の研究及其検査術式, 南江堂, 大10.
57) 清野謙次: 日病会誌, 8, 1, 大8.
58) 小宮悦造: 日本臨床, 12, 542, 昭29.
59) 小坂孝二: 日血会誌, 15, 229, 昭27.
60) 小島瑞, 大西登: 日血会誌, 14, 208, 昭26.
61) Krüger, E., W. Schultz: Ergeb. Inn. Med. Kinderh., 56, 56, 1939.
62) 久米田克哉: 未刊.
63) 栗原操: 日血会誌, 8, 109, 昭19.
64) Lewis, M. R., W. H. Lewis: J. A. M. A. 56, 1795, 1911.
65) Lewis, M. R., W. H. Lewis: Johns. Hopk. Hosp. Bull., 22, 126, 1911.
66) 牧野秀雄: ビタミン, 3, 43, 昭25. 4, 450, 昭26.
67) Maximow, A.: Arch. f. exp. Zellforsch., 5, 169, 1928.
68) Maximow, A.: Fol. haemat., 8, 125, 1909.
69) 森喜久男: 十全会誌, 33, 962, 1532, 昭3.
70) 森田博: 日血会誌, 7, 433, 昭18.
71) Möllendorff, W.: Erg. d. Anat. u. Entw., 25, 1, 1924.
72) Möllendorff, W.: Z. Zellf. u. mikro. Anat., 3, 501, 1926.
73) Möllendorff, M.: Z. Zellf. u. mikro. Anat., 6, 151, 1928.
74) Naegeli, O.: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, 5 Aufl, Berlin, 1193.
75) 大藤真: 最新医学, 10, 2642, 昭30.
76) 大藤真, 亘理善治: 東京医事新誌, 71, 454, 昭29.
77) 大藤真他2名: 東京医事新誌, 71, 517, 昭29.
78) 大藤真他2名: 臨床病理, 2, 283, 昭29.
79) 岡田義男: 十全会誌, 39, 2160, 昭9.
80) 大谷以禰子: 最新医学, 9, 110, 昭29. 10, 230, 昭30.
81) 大西登: 日病会誌, 39, 56, 昭25.
82) 大西登: 日血会誌, 14, 207, 昭26.
83) 大森幸夫: 日病会誌, 38, 34, 昭24.
84) 大森幸夫: 日血会誌, 14, 207, 昭26.
85) Osgood, E. E.: J. A. M. A., 109, 933, 1937.
86) Osgood, E. E., T. H. Brooke: Blood, 10, 1010, 1955.
87) Osgood, E. E., I. E. Brownly, J. A. M. A. 108, 1793, 1937.
88) Pappenheim, E. V.: Fol. haem. Zent. Org., 9, 274, 1910.
89) Philipsborn, E. V.: Fol. haem., 43, 142, 1931.
90) Reschard, H., V. Schilling: Münch. Med. Woch. sch. 60, No. 2, 1981, 1913.
91) Rohr, K.: Das menschlichen Knochenmark, Leipzig. 1943.
92) Sabin, F. R., Miller, : Downey Handbook of Haematology.
93) Sabin, F. R., : Bull. Johns. Hopk. Hosp., 32, 314, 1921.
94) 坂野俊彦: 日血会誌, 2, 777, 昭13.
95) Schultze, A.: Verh. deut. path. Gesell., 23, 459, 1928.
96) 関正次: 組織学, 杏林書院, 昭29.
97) 千田信之: 最新医学, 9, 1518, 1646, 昭29.
98) Seemann, G.: Ziegler's, 13, 85, 303, 1930.
99) 島菌順雄: 総合研究報告集録, 医学及び薬学編, 80, 昭28.
100) 杉山繁輝: 血液及び組織の新研究とその方法, 南江堂, 昭19.
101) 杉山繁輝, 森喜久男: 十全会誌, 33, 616, 昭

3. 34, 1370, 昭4.
- 102) 角南宏 : 岡山医誌, 68, 1169, 昭31.
- 103) 鈴木清 : 臨床病血会誌, 3, 75, 昭4.
- 104) Strangway, D.H. : Arch. f. exp. Zellforsch., 8, 477, 1929.
- 105) Schilling, V. : Fol. Haemat., 6, 429, 1908.
- 106) 滝川清治, 平松健 : 血液討議会報告集, 第5編, 173, 昭30.
- 107) 田村甫 : 未刊.
- 108) Tischendorff, W. : Deut. A. f. klin. Med., 186, 272, 1940.
- 109) Vannotti, A., G. Siegrist : Ztschr. ges. exp. Med., 108, 336, 1940.
- 110) 渡辺四郎 : 十全会誌, 35, 1171, 昭5. 36, 2032, 昭6. 37, 687, 昭7.
- 111) 亅理善治 : 未刊.
- 112) Wallgren, A. Arbeit. a. d. pathol. Instit. d. Univ. Helsingfors, Neue Folge, 3, 1, 1925.
- 113) Waldayer, W. Arch. mikr. Anat., 11, 176, 1875.

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

Part 3. Morphological Comparisons of Histiocytes, Fibroblasts, and Monocytes, and the Possible Mutual Transformation among Themselves in the Rabbit Bone-Marrow Tissue Culture

By

Shigeru MATSUKI

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

By studying the vital findings, vital stainings with neutral red and Janus green, the intake of lithium carmine dye, and carbonparticle phagocytosis, in the fibroblasts and histiocytes appearing in the bone-marrow tissue culture of healthy rabbit femur by coverslip method, and also by observing the fixed and stained specimens of cultured tissues, the author studied the morphological and functional properties of these cells and also scrutinized the relationship of these cells with monocytes and the possible mutual transformation.

1. Fibroblasts are spindle-shaped, possessing peculiar granules but showing no movement or transformation at all; and they contain only a few neutral-red granules, taking no lithium carmine dye and having practically no phagocytic capacity.

2. Histiocytes are polymorphous, and those oval shaped ones have tentacle-like projections around their cell-body, which are extending and contracting. Although their motility is not so marked, their morphological changes can be observed. Histiocytes on the other hand can take in lithium carmine dye and their phagocytic capacity is marked, showing a deep neutral-red stain as well as a few granules stained by Janus green.

3. In fibroblasts, histiocytes and monocytes can be observed the characteristic shape, movement and function of respective cells, but there can be recognized no mutual transformation among themselves in the observations up to the tenth day of the culture.

松木論文附図

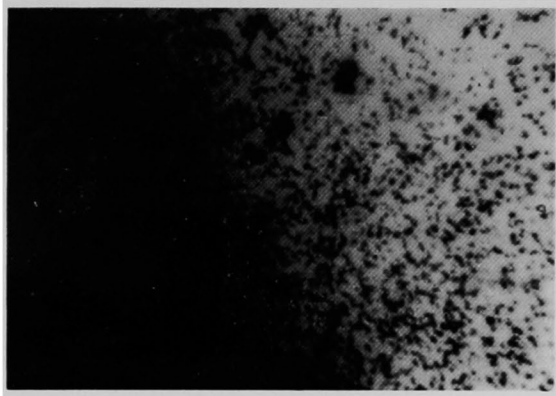


Fig. 1, 健康人末梢血白血球被覆培養増生帯

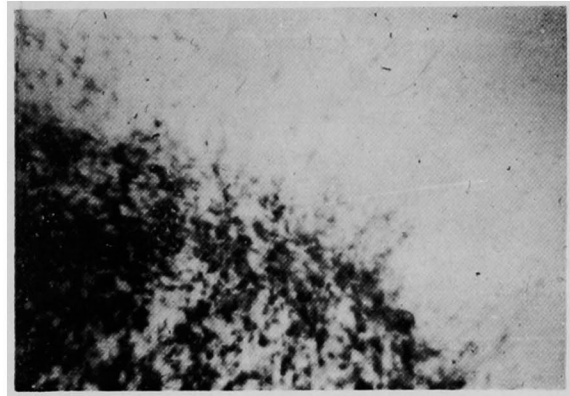


Fig. 2, 単球白血病患者末梢血白血球被覆培養増生帯



Fig. 3, 単球白血病末梢血被覆培養増生帯周辺部の単球（固定染色）

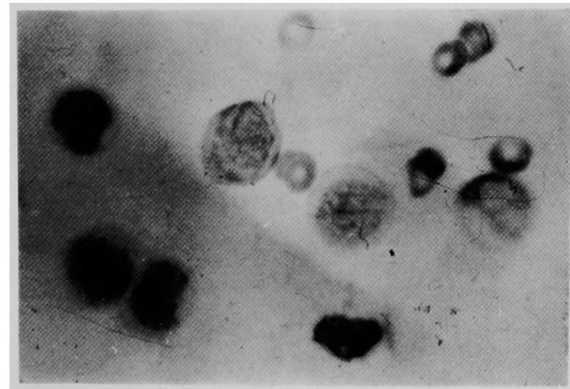


Fig. 4, 単球白血病末梢血被覆培養における単芽球（固定染色）

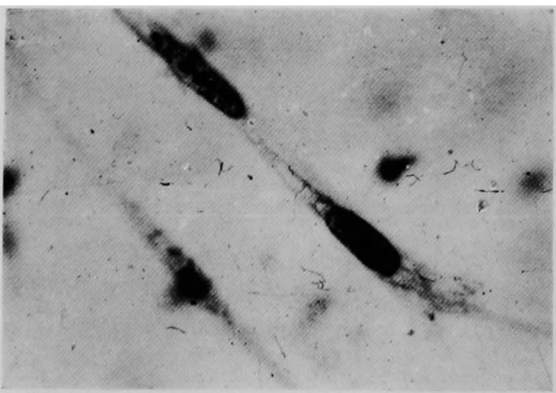


Fig. 5, 家兎骨髓被覆培養における繊維芽細胞（固定染色）

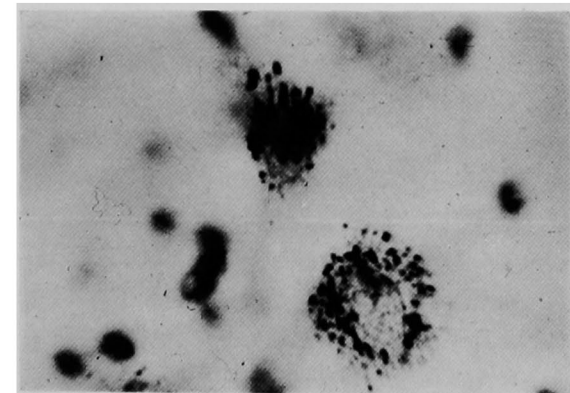


Fig. 6, 家兎骨髓被覆培養における墨粒を喰喰せる組織球