

螢光顕微鏡による穿刺液の細胞学的研究

第二編

食細胞の本態について

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

服 部 進

[昭和34年5月26日受稿]

目 次

<p>I. 緒 言</p> <p>II. 研究方法</p> <p>1. 観察装置</p> <p>2. 実験材料並びに実験方法</p> <p>III. 研究成績</p> <p>1. マウス単球</p> <p>2. マウス皮下組織球</p>	<p>3. 刺戟時腹水食細胞</p> <p>4. 刺戟時皮下組織球</p> <p>5. 大網切除実験</p> <p>6. 人単球白血病患者骨髓培養</p> <p>IV. 総括並びに考按</p> <p>V. 結 論</p>
--	--

I. 緒 言

第一編に於て腹水食細胞には動物種が異つても一連の共通した所見が存在する事を指摘した。即ち腹水食細胞の生活細胞に於ては核も胞体も緑色の螢光を呈し、更に特有なる運動形式、胞体内赤橙色顆粒の集簇性及び複雑なる核形を示す事などを挙げた。且つ之等一連の所見は血液単球の所見に類似する事を指摘し、更にこの単球への類似性は下等動物より高等動物に至るほど深まる事も併せ指摘したのであるが之等の所見が終局に於ては腹水食細胞の本態に関係を有する事はいうまでもないであろう。

扱て、腹水食細胞の本態については、古くから現今に至るまで多くの病理学者²⁾⁵⁾²⁷⁾³³⁾³⁴⁾、臨床家⁴⁾などにより種々多様の研究がなされているが、現在なお天野一門の単球説と赤崎一派の組織球説とが対立して、その解決はみられていない。そこで教室に於ては組織培養を中心とした斬新、且つ多角的な観察法により之が解決を企図してきたが、私はその一環として螢光顕微鏡の観察を以つて之に当つて来た。もとより斯かる方法を本問題解明に導入したものは従来全然みられない。即ち、先づマウス血液単球に生体染色(簡易培養法応用による)及び超生体染色を行つて螢光顕微鏡で観察し、次に人単球白血病患者の骨髓を人腹水の中で培養してその培地に

螢光色素を添加し単球の新生時及び老化時について螢光像を調べ、之等と腹水食細胞の螢光所見との関連性を吟味した。次いで、刺戟時腹水について新生細胞の螢光像を観察すると共に、大網切除術を施行して新生細胞の増殖を阻止し老化時の螢光像を調べた。

又赤崎一派の唱える組織球説に対しては、マウス皮下組織球を対象として螢光顕微鏡の観察を行つた。

以上の実験により私は本問題について漸く一定の見解を得るに至つたので以下本編に於て報告する。

II. 研究 方 法

1. 観察装置

第一編で使用せし装置と同一である。

2. 実験材料並びに実験方法

単球: マウス末梢血及び大腿骨髄を使用し超生体染色法は第一編の如くA.Oアルコール溶液を使用して500倍より100,000倍に至る濃度にわたつて施行した。生体染色は第一編に述べた通りA.O生食溶液とビタミンB₁₂混合液及び家兎血清を使用し培地濃度を10,000倍として圧搾法で観察した。

皮下組織球: マウスを断首失血死せしめて背部皮下組織を可及的に薄く切りとり、これをあらかじめ作製せるA.O 10,000倍非膜の上に伸展し超生体染色を行つて観察した。

刺戟時腹水： 実験動物にはマウスを使用した。刺戟物質としてチフスワクチン 0.1 cc を腹部正中線に近い左又は右の部位より腹腔内に注入した。その後各時間毎に断首失血死せしめて腹腔内にガラス毛細管を挿入し、腹水を採取して A. O 10,000 倍超生体染色及び生体染色（第一編）を行つて観察した。

大網切除術実験： マウスを使用し教室小谷³¹⁾の方法によつて施行した。術後5日目及び10日目に夫々断首失血死せしめ、腹腔内にガラス毛細管を挿入して腹水を採取し、A. O. 10,000倍超生体染色及び生体染色（第一編）を行つて観察した。

人単球白血病患者骨髓培養： 胸骨穿刺によつて得た骨髓片を生理的食塩水の中で約 0.5 mm 大にグレーフ刀にて切り、これを簡易培養法に準じて施行した。即ち、血清の代りに人非病的腹水、又は癌性腹水を1滴々下し、次いで骨髓片を置き、その上に A. O 生食液とビタミン B₁₂ 混合液を滴下し、培地濃度を10,000倍として3, 6時間後に夫々観察した。

Ⅲ. 研究成績

1. マウス血液単球

A. 超生体染色所見

A. O 20,000倍： 核及び胞体は共に緑色の螢光を呈すが、核膜、核網は不明瞭である。胞体内顆粒は赤橙色又は緑色の螢光を呈す。

A. O 10,000倍： 核及び胞体の螢光は緑色を呈し、黄色調は殆んど認められないが発光はやや弱い。核形は立体的分葉傾向を示す。核膜は明瞭に認め、核網は繊細である。胞体は菲薄な感を与え胞体内顆粒は必ずしも赤橙色の螢光を示さず、一部の顆粒は腹水食細胞と同様に緑色の螢光を呈す。而して、胞体内顆粒は集簇性を示す。

A. O 1,000倍： 核及び胞体は共に緑色又は淡黄緑色を示し、大小不同のある胞体内赤橙色顆粒が集簇性を示して存在する。この濃度では胞体内に緑色の螢光を示す顆粒は存在しない。時によると May-Giemsa 染色で石板状を呈する部分に一致して胞体の緑色調よりやや明瞭なる緑色螢光を呈する部分を認める。

A. O 200倍： 核は緑色又は帯黄緑色を呈し、胞体は弱緑色又は弱橙色を呈す。胞体内には大小不同を呈する赤橙色顆粒が概して核陥凹部に集簇性を示して存在する。

B. 生体染色所見（圧挫法）

運動中の単球に於ては核は弱緑色の螢光を呈し、核膜は余り明瞭でなく、又核網も余り明確でない。胞体は緑色の螢光を示し、胞体内顆粒は大小不同性を有し赤橙色の螢光を呈するも、集簇性は余り認めなく、主として核周に存在する。運動を示すものに於ては、その運動は膜様偽足運動であり、この部分は胞体の緑色螢光と同一の緑色螢光を示し、膜様偽足の部分にまでは赤橙色顆粒の移動を認めない。この運動能を有する単球も長時間励起光線を照射すれば運動を失つてくるが、この場合急激なる変性を起して褪色するか、又は黄色調を帯びてくる。

一方、運動能を漸次失つて徐々に変性を起すと変性につれて核膜、核網は緑色の明瞭なる螢光を示し、胞体内赤橙色顆粒も漸次集簇性を示してくる。

2. マウス皮下組織球

核形は腎形を示す事が多く、核は緑色の螢光を呈す。核膜は厚く明瞭に認め核網は粗剛である。核小体は円形で緑色又は赤橙色の螢光を呈し2~3ヶ認める事がある。胞体内には強く赤橙色の螢光を呈するほぼ同大の比較的大きな顆粒が存在して殆んど間隙を認めない程度に、且つほぼ均等に充滿するもやや核周に密である。この赤橙色顆粒のために胞体基質の色調もミトコンドリアも判然としなない。従つて血液単球の如く赤橙色顆粒の集簇性なども認めなく、且つ核の立体的分葉傾向も認めない。やや変性を示すものに於ては胞体内の赤橙色顆粒の間に間隙を認め、時には空泡形成を認める。

3. 刺戟時腹水食細胞

主として圧挫法による所見

刺戟後24時間： 細胞構成は小型細胞が多く、小型細胞と中型細胞の比率は87:13である。

小型細胞。核の螢光は緑色調が弱い、核膜は余り明瞭でなく、核網も左程明確でない。核小体は認められない。胞体は緑色の螢光を呈し、胞体内赤橙色顆粒はほぼ集簇性を示す。而しながら一部には赤橙色顆粒が余り集簇性を示さぬ細胞も存在する。赤橙色顆粒には大小不同を殆んど認めない。

中型細胞。小型細胞に比べ核の螢光はやや黄色調を加え、核膜は小型よりやや明瞭であり、又核網も明確である。胞体は緑色の螢光を呈し、胞体内赤橙色顆粒は大小不同が甚しく、これは正常時の食細胞に比し明らかに著明である。赤橙色顆粒が集簇性を示す事は正常時の場合と同様である。

胞体内赤橙色顆粒の存在様式をI~IV型に分類すれば、小型、中型細胞を合わせてI~II型を示すも

の61%, その他39%である (I~IV型: 第一編)。

刺戟後72時間: 細胞構成は小型細胞が圧倒的に多いが, 24時間後に比較すれば中型細胞がやや増加を示し, 小型対中型の比は77: 23である。

小型細胞. 核及び胞体は緑色の螢光を呈するも核膜, 核網は不明瞭であり, 核と胞体との鑑別もやや困難な細胞が多い。胞体内顆粒は赤橙色又は緑色の螢光を呈して集簇性を示すも大小不同を殆んど認めない。

中型細胞. 核及び胞体は共にやや黄色調を帯びるも緑色の螢光をうかがい得る。小型細胞に比し核膜, 核網は明瞭である。胞体内赤橙色顆粒の大小不同は著明にして, 且つ集簇性も強い。

刺戟後96時間: 細胞構成は中型細胞が増加し, 小型細胞と中型細胞の比は66: 34である。

小型細胞. 核は緑色の螢光を呈し, 胞体は核よりやや弱い緑色螢光を示す。胞体内顆粒は大小不同を殆んど認めず, 赤橙色の螢光を示し, 存在様式はIII型をとるものが多い。

中型細胞. 小型細胞に比較すると変性が強い。核及び胞体はやや黄色調を帯び, 胞体内赤橙色顆粒は大小不同が極めて著明である。然して胞体内に屢々好中球の貪喰像を認める。貪喰された好中球の螢光像は次の通りである。

即ち, 核は赤色の螢光を呈し, 胞体内顆粒は認められず, 胞体と認められるものは赤色を呈して食細胞の胞体とは明らかに区別出来る。

胞体内赤橙色顆粒の存在様式は小型, 中型細胞を合わせI~II型22%, III型59%, その他19%である。

刺戟後5日目・細胞構成は中型細胞が増加して小型細胞より多く, 従つて小型細胞と中型細胞の比は46: 54である。

螢光像は小型細胞, 中型細胞共に96時間後の夫と大差を認めない。只, 中型細胞の胞体内赤橙色顆粒の大小不同が左程目立たない。従つて正常時に復しつある事を示している。

胞体内赤橙色顆粒の存在様式はI型14% (うち小型2%, 中型12%), II型42% (うち小型14%, 中型28%), III型26% (うち小型14%, 中型12%) でその他16%である。

4. 刺戟時皮下組織球

刺戟後24, 72, 96時間及び5日目に観察したが特別の所見なく, 従つて胞体内赤橙色顆粒の集簇性も認められない。

5. 大網切除実験

主として圧挫法による所見

大網切除5日目 細胞構成は教室小谷の成績に示す通り中型細胞が大部分を占める。

中型細胞. 核は緑色又は帯黄緑色を呈す。核網及び核膜は比較的明瞭に認める。胞体内赤橙色顆粒は大小不同が極めて著明であり, これは刺戟後5日目の中型細胞に比較すれば極めて明確である。胞体は弱緑色又は帯黄緑色を呈して広まり, 時には胞体内に空泡形成を認める。この胞体の変性像を示す細胞が多数存在し, これも刺戟後5日目の中型細胞に比較すると明瞭であり, 一般に変性像が目立つ。胞体内赤橙色顆粒の存在様式は殆んどI~II型で占められる。

大網切除10日目: 小型細胞は極めて少ない。

小型細胞: 核は中型細胞に比較すると緑色調強く, 胞体は狭いが弱緑色に認め得る。胞体内の赤橙色顆粒は集簇性を示し, 大小不同は認めない。

中型細胞: 核は弱緑色又は帯黄緑色を呈し, 胞体は灰緑色を呈す。変性像を示すものに於ては胞体内赤橙色顆粒が胞体内にある程度瀰漫性に拡がっている。然しながら皮下組織球の存在様式とは全く異なり, 且つ大小不同が著明であり, 更には核にも胞体にも細胞の変性像を認める。

6. 人単球白血病患者骨髓培養

培養後3時間: 単芽球の核は緑色にして, 核小体は緑色であり, 変性を示す細胞に於ては核小体は赤色を呈す。単球の核は緑色にして, 胞体も緑色を呈す。核膜及び核網は比較的不明瞭である。胞体内顆粒は赤橙色を呈し, 胞体内に集簇性を示さず多くは核周に存在する。

培養後6時間: 運動は殆んど認められず単球は強染して, 核膜及び核網は明瞭である。核及び胞体は共に緑色の螢光を呈す。胞体内顆粒は赤橙色の螢光を呈し, やや集簇性を示し, 且つ大小不同を認める。

培養後9時間 核及び胞体共に淡緑色の螢光を呈するも, 両者は共に膨化し, 即ち最早変性像を示し微細構造は全く不明である。

IV. 総括並びに考按

腹水食細胞に関する歴史を緋けば古くは固定染色法による Grosse Transsudatzellen (Weidenreich)⁶⁰, Grosse kernige Wanderzellen (Marchand)⁸³, Polyblasten (Maximow)⁸⁴ などの名称が見られる。

次いで生体染色法による組織球説(清野²⁷)があり、やがて超生体染色法による単球と Clasmatoocyte よりなる説(Sabin⁴⁰41)、第一次、第二次の組織球説(Seeman⁴²)と移り変つている。近年に至り天野⁵、平田²¹)は超生体染色、貪喰能、核の多形性及び過酸化酵素反応陽性などから単球説を打立て、一方赤崎¹⁾²⁾³⁾、村田³⁷)は氏等の細網内皮論により組織球は刺戟に対して速かに複雑なる反応を呈し、腹水食細胞様に変わり得る事及び腹水食細胞の過酸化酵素反応が陰性とみなされる事より本細胞の組織球説を打立てている。この二つの説は現在まで解決されていないので教室に於ては組織培養を中心とした多くの生態観察を集中して之が解決を企図している。私はその一環として螢光顕微鏡による観察を行った。

若し天野、平田の唱える単球説によるならば、血液単球と腹水食細胞の間には当然可成りの形態学的関連性が存在するはずである。このため、血液単球について徹底的なる検索を行い、両者の比較を行った。従来、血液単球についての螢光顕微鏡の観察は人単球についてのみ記載があり、マウス血液単球については未だその所見を見ない。人単球については Kosenow³⁰、天木⁴)は超生体染色法により核は緑色で核網は繊細であり、胞体も緑色の螢光を呈すと述べている。山下⁵²、Contier⁸)は同じく超生体染色法により単球の核は緑色で胞体は赤色であると述べている。私は人単球白血病患者骨髓を腹水で培養して人単球の螢光像を観察した結果、生活細胞に於ては核も胞体も緑色であり、又核膜、核網は比較的染色され難い事を認めた。胞体内赤橙色顆粒は新生時の単球に於ては大小不同がなく、且つ多くは核周に存在して集簇性を示さない。細胞の変性が進むにつれと教室渡辺⁵⁵)も唱える如く核膜、核網共に濃染し、且つ胞体内赤橙色顆粒もやや集簇性を示してくる。マウス血液単球の生体染色所見に於ても、核膜、核網はやや不明瞭で、胞体内赤橙色顆粒は集簇性を示さなく、培養時間の経過と共に遊走性を失つて核膜、核網共にやや明瞭となり、且つ赤橙色顆粒の集簇性を認めるようになる。然るに人及びマウス正常時腹水食細胞の生体染色像に於ては最初から核膜、核網は比較的明瞭で赤橙色顆粒も集簇性を示している。即ち人では全てI~III型であり、マウスでは中型のみにIV型を3%認めるが他はI~III型である(I~IV型:第一編)。この単球と腹水食細胞の螢光像の相違は食細胞が新生時より腹水中に浮遊するため、既に或程度老化したものが多いためと考え

られ、この事は後述の刺戟時新生細胞の所見からもうなづけられる。

次に正常時皮下組織球について螢光像を観察したが、超生体染色に於ても腹水食細胞の如く特異なる胞体内赤橙色顆粒の集簇性及び大小不同性はなく、且つ核形、核膜、核網構造などより腹水食細胞と同種の細胞とは認め得られず、まして血液単球とは全く異つた螢光像を認めた。

次に刺戟時腹水食細胞について超生体及び生体染色による螢光像を観察した結果、興味ある所見を得た。刺戟時腹水食細胞は小型が多く、この小型細胞の核及び胞体の螢光は明らかに緑色調が強く、且つ核網、核膜共に染色され難く、従つて核と胞体の識別が困難な事が多い。即ち、新生細胞は生活度が極めて高い事を示している。又、胞体内赤橙色顆粒に大小不同を認めず、又初期には必ずしも集簇性を示すとは限らない。即ち、この所見は前述のマウス血液単球の生体染色乃至は人単球白血病患者骨髓の腹水培養に於て出現する新生単球の生体染色の所見と似ており、従つて腹水食細胞と単球が近縁の細胞と考えられる根拠の一つとなるものである。

刺戟時皮下組織球については螢光像に特異なる所見を認める事が出来ず、従つて赤崎、小島等の唱える所の組織球が刺戟に対して特異なる巣状増殖を行い多種多様の変化を呈するという像を追求する事は出来なかつた。

次に大網を切除する事によつて新生細胞の増殖を阻止して腹水食細胞を検索するに、中型細胞が圧倒的に多く、しかも大部分が変性像を呈している。即ち、核、胞体共に黄色調を帯び核膜、核網は明瞭に染色され、胞体内赤橙色顆粒は大小不同が著明であり、且つ高度の集簇性を示す。更には、変性がより高度の細胞に於ては胞体は広まり、時には胞体内に空泡形成を認める。この状態を呈する細胞では赤橙色顆粒は矢張り大小不同が著明であるも集簇性を失い胞体内に瀰漫性に拡がってくる。この像は一見、組織球に近いが組織球の所見とは核、胞体の変性像及び赤橙色顆粒の大小不同性の相違などで明らかに異なる。

以上の如く刺戟時新生細胞及び大網切除による老化細胞との螢光像を比較して、腹水食細胞の生涯の所見を知り得た。即ち、生活度高き状態より崩壊一歩前までの変性像についての一連の所見は次の通りである。新生細胞は核及び胞体共に染色され難く、胞体内赤橙色顆粒は大小不同が認められず、又余り

集簇性を示さない。成熟するにつれ核及び胞体は共に濃染して、胞体内赤橙色顆粒には大小不同が認められ集簇性も増してくる。一定の成熟所見を呈すると、やがて崩壊が始まり、胞体は広まり、時には胞体内に空泡形成を認め、集簇性を示していた大小不同のある赤橙色顆粒は集簇性を失ってくる。その後、に於ける変性像は第一編で述べた通りの核及び胞体の赤染とか膨化などの多彩なる螢光像を呈する。即ち、之を要約すれば、腹水食細胞の螢光顕微鏡的所見は新生時には単球に極めて類似するが、成熟老化するにつれて次第に変異像が認められるといつてよい。

扱て、教室福田(源)¹¹⁾の塗抹染色、過酸化酵素反応、山近⁶⁸⁾の組織培養、福田(正)¹²⁾の生体染色及び超生体染色、藤田¹⁰⁾の墨粒貪喰能、嘉村²⁶⁾の位相差顕微鏡による研究に於ても、腹水食細胞は単球に類似する事が指摘されている。従つて私の前記の螢光顕微鏡の所見と共に、腹水食細胞は組織球よりも血液単球に極めて類似すると断定出来る。もとより些少の点では全くは一致しない点もあるが、夫は教室小谷³¹⁾の研究で明らかなる如く大網乳斑からという特殊母地から生産された食細胞が、その直後より腹水という特殊な液体の中に浮遊した状態で生存し、且つ成熟する事を考えるならば寧ろ当然であろう。

之を要するに第一編、第二編の螢光顕微鏡所見に教室諸氏の成績をも勘案するならば、腹水食細胞は組織球には遠くして血液単球に極めて近縁の細胞であると断じてよいであろう。

V. 結 論

正常時マウス腹水食細胞及びマウス血液単球、皮下組織球の A. O 螢光顕微鏡所見を相互に比較しながら検索し、更に刺戟時食細胞及び皮下組織球と大網切除時食細胞についても比較検討し、一方単球白血病性単球の所見をも参考に供した結果次の如き結論を得た。

1) 血液単球の生活細胞に於ては核及び胞体は緑色の螢光を呈し、核膜、核網は不明瞭にして、胞体内赤橙色顆粒は集簇性を示さず多くは核周に存在するが、時間の経過と共に核膜、核網も明瞭となり、且つ赤橙色顆粒もやや集簇性を示すようになる。

2) 皮下組織球は正常時、刺戟時共に核網は粗剛にして核膜は厚く明瞭で、胞体内赤橙色顆粒は大きく大小不同殆んどなく、且つ瀰漫性に胞体内に存在し、集簇性を示さない。

3) 刺戟時腹水には小型食細胞が多く、この細胞は染色性が悪いが、核及び胞体は明らかに強い緑色螢光を呈し、胞体内赤橙色顆粒は必ずしも集簇性を示さなく、且つ大小不同を殆んど認めない。時間の経過と共に核も胞体も緑色に良く染り、且つ赤橙色顆粒も集簇性を示してくる。

4) 大網を切除して新生細胞の増殖を阻止して食細胞の老化像を追求した所、核は黄色調を帯びた緑色で、胞体は広がり時には空泡形成を認め、胞体内赤橙色顆粒は集簇性を失つて瀰漫性になるが、皮下組織球と異つて大小不同性が著明であり、且つ核、胞体に変性像を認める。

5) 人単球白血病患者骨髓を教室考案の簡易培養法を応用して腹水で培養して A. O の生体染色を施行した所、新生時及び老化時の単球螢光像は、人腹水食細胞に極めて類似する所見を呈した。

6) 以上、各種細胞の螢光像を比較検討しながら、検索した結果、腹水食細胞は組織球とは異り、単球に極めて近縁の細胞である事が明らかになつた。

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助教授に深謝します。

(本論文の要旨は第19回、第20回日本血液学会総会、第67回岡山医学会総会、第2回組織培養学会に於て発表した)

(文献、附図は第三編巻末に一括記載す)

Cytological Studies on Aspirated Fluid by Fluorescence Microscope

Part 2. Essential traits of phagocytes.

By

Susumu Hattori

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

The author conducted comparative study under a fluorescence microscope between the ascites phagocytes on one hand and monocytes of blood and subcutaneous histiocytes on the other both from normal mice and stained by acridine orange, and further compared the phagocytes of the mice under stimulation and the subcutaneous histiocytes as well as the phagocytes at the time when the greater omentum is resected. In addition, the author utilized the findings on monocytes in human monocytic leukemia as the reference; and obtained the following results.

1. In the case of active cells of monocytes in blood, the nucleus and cell body present green fluorescence, and the nuclear membrane and nuclear meshwork are indistinct. Reddish orange cytoplasmic granules do not tend to agglomerate but the majority of them are situated around the nucleus. However, with the lapse of time both nuclear membrane and meshwork grow more distinct, and also the reddish orange cytoplasmic granules begin to agglomerate to a certain degree.

2. In the case of the subcutaneous histiocytes both under normal condition and at the time of stimulation the nuclear meshwork is coarse and the nuclear membrane is thick and clear-cut, and reddish orange cytoplasmic granules are great and almost uniform in size. Moreover, these granules are diffusely scattered but never tend to agglomerate.

3. In the ascites at the time of stimulation small phagocytes are more numerous, and these cells are poorly stained. However, the nuclei and cell bodies present a clear and deep green fluorescence, and reddish orange cytoplasmic granules do not necessarily tend to agglomerate, and their size is almost uniform. With the lapse of time, both the nucleus and cell body are stained deep, also the cytoplasmic granules begin to agglomerate.

4. In the study of the senilization of phagocytes by inhibiting the cell regeneration by removing the greater omentum, the nuclei become green with yellowish tone and the reddish orange cytoplasmic granules, losing their agglomerating tendency, are scattered diffusely, but unlike subcutaneous histiocytes their size is extremely variable, and the cell body reveals a degenerative picture.

5. In the bone-marrow tissue culture of human monocytic leukemia by the simple method of our own device and in the medium of ascites, and vitally stained with acridine orange, the fluorescence picture of the monocytes at regeneration and senilization stages resembles quite closely to the findings of human ascites phagocytes.

6. From these comparative study of fluorescence pictures of these various cells, it has been verified that ascites phagocytes unlike histiocytes are the cells quite closely related to monocytes.
