

生体染色並びに墨粒貪喰による人腹水の細胞学的研究

第 1 編

人非病的腹水に就いて

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

小松原利繁

[昭和 35 年 12 月 8 日受稿]

内 容 目 次

第 1 章 緒 言

第 2 章 実験材料並びに実験方法

第 3 章 実験成績

第 1 節 細胞数並びに細胞構成

第 2 節 食細胞の生体染色並びに墨粒貪喰 所見

1. 大, 中型食細胞

2. 小型食細胞

第 3 節 漿膜細胞の生体染色並びに墨粒貪喰

所見

第 4 節 其他の腹水細胞の生体染色並びに 墨粒貪喰所見

1. 好中球

2. 淋巴球

3. 好酸球

4. 肥胖細胞

第 4 章 総括並びに考按

第 5 章 結 論

第 1 章 緒 言

動物腹水細胞の研究は従来より多くの学者の対象とする処であり, 就中その主要を占める腹水貪喰細胞に関しては多くの学説がみられる。即ち初期の塗抹染色時代の Makrophagen (Metschnikoff⁴⁷⁾、Große Wanderzellen (Marchand⁴¹42⁴³)、Große Transsudatzellen (Weidenreich⁸²83)、Große Lymphozyten (Bergel⁷8)、Polyblasten (Maximow⁴⁴45⁴⁶) 等と呼ばれた時代から、清野³⁰の生体染色による組織球説、Sabin, Doan⁶⁹70⁷¹72) 及び Cunningham¹²13) 等の超生体染色に基く単球と Clasmatocyte 二元論、更に Seemann⁷³の単球組織球移行説と変遷し、その後本邦では天野³4)、平田²²) 等の超生体染色、過酸化酵素反応 (陽性) に基く単球説と、赤崎¹2)、村田³¹40) 等の過酸化酵素反応 (陰性) 及び氏等の細網内皮系論に基く組織球説とが対立し、現今に至る迄解決をみなかつた。しかし之らの研究は何れも下等動物の腹水を材料とし、又その研究方法も塗抹染色或いは超生体染色等死後若くは類死の状態に於ける細胞のみの検索であつた為、今一つの極手が得られず解決をみなかつた様である。然るに教室の大藤⁵²53) 等は各種動物を用いて従来の

研究方法に教室考案の体外組織培養法²⁰21) を応用した動態観察, 生体染色, 墨粒貪喰, 位相差顕微鏡観察並びに螢光顕微鏡観察等多数の新術式による腹水並びに大網乳斑の生態観察を行い, 貪喰細胞の本態に就いて詳細な再検討を行つた結果, 過酸化酵素反応は赤崎¹31⁴⁰) 等の言う陽性顆粒の貪喰による面も一部にはあるが, それ以外に本細胞は確かに本来性に陽性であること, 組織培養では細胞周囲に単球に特有な膜状, 旗状偽足を認め運動性のあること, 中性赤顆粒の花冠状配列並びに墨粒貪喰の集簇性と逐時的墨粒子放出の欠如していること等から, 組織球に遠く単球に極めて近縁の細胞であり, 特に高等動物程この性格が強いと言う結論に達した。

以上腹水貪喰細胞の本態の研究は約半世紀を閲し, 結局教室大藤等により漸く解明されるに至り, 腹水の細胞数, 細胞構成と共に動物腹水に就いては一応明らかにされたが, 一方人腹水に関しては臨床上屢々遭遇する疾患腹水に於いても, 一般には古くから行なわれている物理化学的性状検査に止まり, 細胞学的検索はもとより細胞数の算定すら行なわれていない。就中人非病的腹水に関しては全くその検索の跡を知らない。尤も最近になつて一部研究者¹⁸34) 62⁶⁴65⁷⁹86) の疾患腹水に関する報告がみられるが,

之とても単なる細胞百分比の羅列であつたり、個々の細胞観察に止まつて、疾患別による細胞学的特性に就いては全く顧みられず、又これと比較検討すべき非病的腹水の所見を欠ぐが故に、これらの所見は極めて漠然として確たる診断的価値のあるものはみられない。もとよりこの事は人非病的腹水の採取が簡単には出来ない事にもよるのであらうが、と云つて動物特に小動物の腹水の細胞学的検索所見を以つて人非病的腹水の夫を推論し、これと病的腹水と比較するのでは、細胞構成は勿論、個々の細胞形態並びに機能に就いての比較研究に正確を期し難いのは云う迄もない。尚又之が検索に当つては従来広く行なわれている塗抹染色或いは超生体染色ではたとえ細胞構成は或程度判断出来るとしても、何と云つても死後又は頻死の状態に於ける観察であるためその細胞診には限界があり、特に腹水の如く特殊の細胞を含有する場合には確実な細胞鑑別を期待する事は到底困難である。この点教室で広く行なつている組織培養法を応用した細胞の生態観察によると、機能観察に基いた詳細な細胞鑑別が可能であり、且又非病的と病的との差異を掌握する上にも、この機能形態学が単なる塗抹染色による死後形態学に遙かに優れている事は想像に難くない。そこで教室入江⁶⁶⁾は人非病的腹水に就いて、組織培養に基いた諸細胞の動態観察を行ない興味ある多くの知見を挙げているが、私は同時に同様の人非病的材料につき、組織培養に基いた生体染色並びに墨粒貪喰による細胞機能の観察を行ない、聊か興味ある知見を得たので以下報告する。

第2章 実験材料並びに実験方法

1. 実験材料

漿膜面並びに腹水に病的影響のないものとして主として胃潰瘍患者の腹水を用いた。即ち胃潰瘍患者の開腹術時血液の混入を防ぎつつ肝臓後窩に貯留した僅少の腹水を硝子製毛細管で無菌的に採取し、その1分間1,000回転、5分間遠沈後の沈渣を使用した。

2. 実験方法

1) 細胞数 白血球用メランジュールにて1.0迄腹水を吸いチュルク氏液にて希釈、ピュルケル・チュルク氏計算盤の9区割全体の細胞数に100/9を乗じたものを1mm³の細胞数とした。

2) 細胞構成 細胞変性のまだ起らない培養後1時間の細胞百分比を求めた。

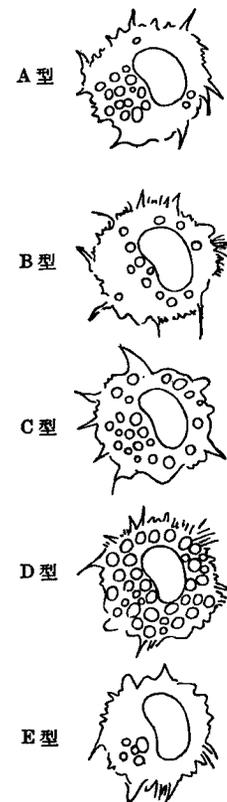
3) 生体染色 教室考案の骨髓体外組織培養法を応用して、培養器に海野氏穴明き載物硝子を用い、培地の支持体には健康人へパリン加血漿を、發育促進物質として孵化7~9日目の鶏胎圧搾液と腹水上清の同量混合液を使用し、之に培地濃度0.01%の中性赤水溶液及び0.001%のヤーヌス緑水溶液を加えた。即ち穴の片面を覆える被覆硝子の内面上記血漿、腹水沈渣、發育促進物質、中性赤溶液、ヤーヌス緑溶液の順に夫々1滴づつ滴加し、片面を更に被覆硝子で覆い、37°C 孵卵器に入れる。

4) 墨粒貪喰 上記組織培養法に準じへパリン加血漿、腹水沈渣の各1滴に、墨汁と前記發育促進物質の同量混合液2滴を添加、37°C 孵卵器に入れる。墨汁は教室角南⁶⁸⁾の法に倣い紅花墨をリンゲル氏液で磨り濾過後使用、濃度は墨汁液往5mmで下に置いた白紙上の墨が見え始める処をとつた。

3. 観察方法

37°C 孵卵器に保存中の標本を、生体染色では培養後1, 2, 3, 4, 5, 6, 9時間、墨粒貪喰では1, 3,

図1 染色顆粒並びに墨粒子の胞体内分布様式



6, 9, 12, 24時間の各時に取り出し、同温の保温箱内で検鏡した。中性赤染色度並びに墨粒貪喰度は杉山⁶⁷⁾、谷⁷⁰⁾に倣つて0~4度に分け、ヤーヌス緑の染色度は小型貪喰細胞内に於けるヤーヌス緑顆粒の数により、全然認めない場合は0, 1~10個を1度, 11~20個を2度, 21~30個を3度, 31個以上を4度とし、大細胞では小型貪喰細胞を単位容積として、平均単位容積内のヤーヌス緑顆粒数を現わした。又染色顆粒並びに貪喰墨粒子の胞体内分布をその分布状態により図1の如く、主として核陥凹部に集簇し所謂花冠状形成

表 1 人 非 病 的 腹 水

症例	食 細 胞					漿膜細胞	淋 巴 球	好 中 球	好 酸 球	肥 胖 細 胞	細胞数 (mm ³)
	大 型 (%)	中 型	小 型	印 環 細胞	合 計						
No.1	3.5	51.0	38.0	0	92.5	0	5.0	2.5	0	0	1322
No.2	9.2	42.4	41.0	0	93.1	0.2	3.5	2.2	0.5	0.5	1084
No.3	6.5	44.5	42.5	0	93.5	0	4.0	1.5	0	1.0	1155
No.4	5.5	42.0	48.8	0	96.3	0.2	2.5	1.0	0	0	1211
No.5	7.2	52.0	37.3	0	96.5	0.2	2.5	0.8	0	0	1033
平均	6.4	46.4	41.6	0	94.4	0.1	3.5	1.6	0.1	0.3	1161

に類するものをA型、核周或は核近辺の細胞質に群在するものをB型、胞体内に不規則に散布するものをC型、胞体一面に多数充満性のものをD型、更に核に無関係に胞体内局所に1乃至数個孤立性に存するものをE型に大別した。

第3章 実験成績

第1節 細胞数並びに細胞構成(表1)

細胞数は最多 1322/mm³ 最少 1033/mm³ 平均—1161/mm³ で、個体差は動物に比し少ない。細胞構成では特定の貪喰細胞が大部分即ち94.4%を占め、その他は淋巴球、好中球、好酸球、漿膜細胞、肥胖細胞が低率にある。この主要%を占める貪喰細胞は以下腹水食細胞と呼称するが、之は大、中、小型の3型に分けられ、赤血球の1.5倍以下のものを小型、3倍迄のものを中型、それ以上を大型とした。之を教室山近⁸⁰⁾のマウス、家兎に於ける分類と比較すると、食細胞が大部分を占める事には大差ないが、その内訳では山近の諸動物に比して、人に於いては中型食細胞が最も多い事が解る。又漿膜細胞は教室山近⁸⁰⁾、福田(源)¹⁵⁾、嘉村²⁰⁾によると動物正常時腹水では殆んど認められないが、人では全体の細胞数が少ないのにも不拘低率乍ら認められる事が多い。

第2節 食細胞の生体染色並びに墨粒貪喰所見

食細胞は大きさにより形態、機能を異にするが、この中、大、中型食細胞は形態的にも機能的にも略々同様所見を呈するので、以下大、中型食細胞と小型食細胞に大別して述べる。

1. 大、中型食細胞

胞体は一般に円形で、胞体縁には膜状、旗状、触手状、刷毛状、鋸歯状、気泡状等の偽足或いは突起が認められるが、就中触手状、刷毛状のものが多く、偽足運動の見られるものは少ない。核は主として腎

形、楕円形を呈するが分葉形もかなりあり、核膜は少々不明瞭である。胞体には微細顆粒を認めるものが多い。

a) 生体染色(表2, 3・図2, 3)

中性赤染色は培養直後より染色開始され、1時間後には平均染色度1.68で最高となる。中性赤顆粒は橙紅色で病的腹水のものに比し色調一般に淡く、その分布状態は大小不同の少ない顆粒が胞体内に散布するC型が最も多く、次で前者より少々大型の顆粒が数ヶ集合して胞体内に見られる処のE型が多い。花冠状形成を示すA型は少ないが、このものでは核

表 2 大、中型食細胞中性赤染色

経過時間	染 色 度					染色率	平均染色度
	0	1	2	3	4		
1	27.6	20.5	16.6	27.3	8.0	72.4%	1.68
2	36.1	15.8	21.6	21.4	5.1	63.9	1.43
3	46.3	12.3	19.5	18.2	3.7	53.7	1.21
4	66.0	8.4	10.8	12.3	2.5	34.0	0.77
5	73.7	5.6	13.2	7.5	0	26.3	0.55
6	85.4	6.2	8.4	0	0	14.6	0.23
9	100					0	0

表 3 大、中型食細胞ヤーマス緑染色

経過時間	染 色 度					染色率	平均染色度
	0	1	2	3	4		
1	16.1	24.6	41.5	17.8	0	83.9%	1.61
2	19.1	31.0	34.7	15.2	0	80.9	1.30
3	33.1	33.7	27.5	5.7	0	66.9	1.06
4	46.3	35.4	15.1	3.2	0	53.7	0.75
5	56.7	31.7	8.2	3.4	0	43.3	0.58
6	62.1	30.5	7.4	0	0	37.9	0.45
9	100					0	0

図2 食細胞中性赤染色度経過曲線

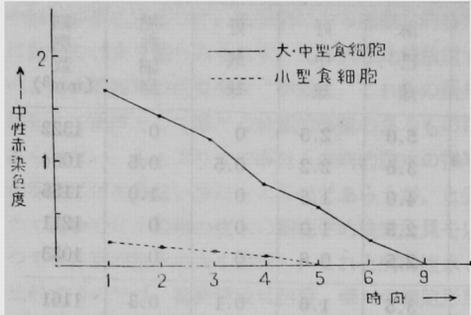
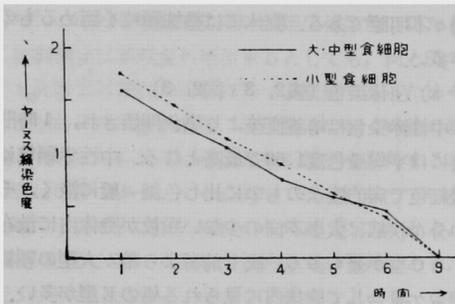


図3 食細胞ヤーマス緑染色度経過曲線



陥凹部に真紅色清明な大小の中性赤顆粒集合像を認め、胞体も他のものより清明で、緩慢ではあるが膜状或いは旗状偽足の運動を認める。染色度は1時間後を最高として以後段階的に低下し、中性赤顆粒も減少し、色調は消える如く消褪して、9時間後には完全に脱色する。細胞の平均染色率は最高時でも72.4%で、かなりの非染色細胞を認めるが、これらの細胞は刷毛状或いは気泡状突起で囲まれ、胞体には変性顆粒多く、細胞機能の低下した老化細胞と思われる。ヤーマス緑染色では染色後30分頃よりヤーマス緑顆粒（以下ヤ緑顆粒と略す）の出現を認め、1時間後には染色完了し表3、図3の如く染色率、染色度とも最高となる。ヤ緑顆粒は綠色乃至暗綠色微細で、大小不同なく、粒状又は短桿状を呈し、核周辺に密在し、中性赤顆粒のA型を呈するものでは核陥凹部に中性赤顆粒と混在し、この部に稠密である。染色後1時間を頂点として染色率、染色度共に漸次低下するが、染色時間は中性赤に比し少々長い。

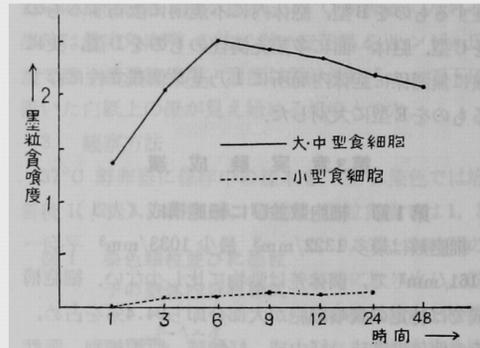
b) 墨粒貪喰 (表4・図4)

培養初期よりかなりの貪喰能を認め、培養後1, 3, 6時間の平均貪喰度は夫々1.35, 2.03, 2.51で6時間後に最高となり、以後この状態を持続し、長時間を経過するも逐時的墨粒子の放出は認められない。墨粒子は円滑で、1時間後では小さく数も少ないが、

表4 大, 中型食細胞墨粒貪喰

経過時間	貪喰度					貪喰率	平均貪喰度
	0	1	2	3	4		
1	31.8	18.5	32.2	17.5	0	68.2%	1.35
3	20.6	9.1	24.0	40.5	5.8	79.4	2.03
6	11.8	4.4	17.6	53.7	12.5	88.2	2.51
9	9.1	6.2	24.4	48.5	10.8	90.9	2.44
12	9.4	5.0	31.2	49.3	5.1	90.6	2.36
24	13.4	9.2	25.7	49.4	2.3	86.6	2.18
48	11.9	5.7	35.5	42.1	1.8	88.1	2.10

図4 食細胞墨粒貪喰度経過曲線



時間の経過につれて次第に大きさ、数を増し、大型墨粒子を出現して大小不同が著明となり、6時間後には墨粒子の接合或いは癒合を認め胞体内に充満性となる。墨粒子の分布状態は培養初期より胞体内に不規則に散在するC型が最も多く、E型、A型が之に次ぐ。各型とも時間の経過につれて墨粒子の胞体内への遍満化を認め、C型ではこの傾向が著明である。尚A型を呈するものでは膜状、旗状偽足と相俟つて単球の喰像に極めて近似する。

2. 小型食細胞

大, 中型食細胞と同形態のものもあるが、概ね突起は短針状乃至鋸齒状で、胞体縁は一般に少々不明瞭である。核は胞体に比し大きく類円形で特有の切れこみを有し、核膜薄く、偏在性である。胞体には微細顆粒を認める。

a) 生体染色 (表5, 6・図2, 3)

中性赤染色は大, 中型食細胞同様培養後1時間で略々完了するが、平均染色率20.4%, 平均染色度0.22で、両者とも大, 中型食細胞に比し著しく低い。中性赤顆粒は小さく、数も少なく、略々同大の2~3ヶの小顆粒がA型或いはE型分布を呈す。平均染色率、平均染色度は染色後1時間を頂点として漸次低

表5 小型食細胞中性赤染色

経過時間	染色度					染色率	平均染色度
	0	1	2	3	4		
1	80.6	15.6	3.8	0	0	19.4	0.23
2	82.7	15.2	2.1	0	0	17.3	0.19
3	86.4	12.6	1.0	0	0	13.6	0.14
4	90.5	9.5	0	0	0	9.5	0.10
5	100					0	0

表6 小型食細胞ヤーマス緑染色

経過時間	染色度					染色率	平均染色度
	0	1	2	3	4		
1	5.1	29.5	48.3	17.1	0	94.9%	1.77
2	13.3	35.7	41.2	9.8	0	86.7	1.48
3	19.4	45.7	31.4	3.5	0	80.6	1.19
4	28.3	54.6	17.1	0	0	71.7	0.89
5	46.1	48.7	5.2	0	0	53.9	0.59
6	62.7	34.9	2.4	0	0	37.3	0.40
9	100					0	0

下し、脱色は大、中型食細胞に比し早い。ヤーマス緑染色では平均染色度は大、中型食細胞より少々高く、培養後1時間で略々全細胞に認め、平均染色度も最高となる。ヤ緑顆粒は微細点状で、大、中型食細胞の夫より更に小さく、核周或は核周辺の一ヶ所に多在する。

b) 墨粒貪喰(表7・図4)

培養後3時間で漸く喰像を認めるが、9時間後でも平均貪喰度0.12で、大、中型食細胞に比し極めて低い。墨粒子は小さく点状で2~3ヶ集合してE型分布を呈し、長時間を経過するも墨粒子の増大並びに漏満化の傾向は少なく、墨粒子の放出は認められない。

表7 小型食細胞墨粒貪喰

経過時間	貪喰度					貪喰率	平均貪喰度
	0	1	2	3	4		
1	100					0	0
3	93.7	6.3	0	0	0	6.3	0.06
6	91.5	8.5	0	0	0	8.5	0.09
9	89.0	9.4	1.6	0	0	11.0	0.13
12	90.1	8.7	1.2	0	0	9.9	0.11
24	88.1	10.1	1.8	0	0	11.9	0.14

第3節 漿膜細胞の生体染色並びに墨粒貪喰所見

本細胞は非病的腹水中には極低率にしか認められないが特異な存在である。中型食細胞大(小型漿膜細胞)で疾患腹水中のものより小さく、胞体は円形で、辺縁部は短針状突起で囲まれ、細胞質には多数の微細な固有顆粒を認め、之に少々粗大な変性顆粒が混在している。核は円形で概ね胞体中心部に位し、核膜厚く、1~2ヶの核小体を認める。生体染色ではヤ緑顆粒は、大、中型食細胞のものより少々大きく、粒状或いは短桿状で、核周辺部に同心円状に配列し特有な所見を呈するが、疾患腹水中のものに比し色調淡く、数も少ない。中性赤顆粒及び墨粒貪喰能は見られない。尚本細胞に就いては後編の疾患腹水に於いて詳述する。

第4節 其の他の腹水細胞の生体染色並びに墨粒貪喰所見

1. 好中球

何れも細胞変性を認め、胞体には変性顆粒出現し、核は不明瞭となり、遊走性は消失している。中性赤顆粒は小さく同大で、骨髓並びに血液中の本細胞に見られるものより小さく、微細点状のヤ緑顆粒と共に胞体内に散在している。中性赤、ヤーマス緑の平均染色度は培養1時間後、夫々1.50、1.27で最高となり、5~6時間で脱色し、大、中型食細胞に比し少々その経過が早い。墨粒貪喰は培養後6時間で最高となり平均貪喰度は1.33で、墨粒子は小さくC型分布を呈す。

2. 淋巴细胞

小型食細胞と略々同大のため塗抹染色では屢々小型食細胞と混同されているが、生態観察を行えば次の如く両者の鑑別は容易である。即ち淋巴细胞は胞体縁円滑明瞭で突起無く、核膜厚く、細胞質は無構造で顆粒を認めず、且つ運動性のもものでは本細胞に特有な核先進の遊走運動(教室の骨髓細胞の運動形態分類C型⁴⁰⁾)を行なうが、小型食細胞では胞体縁に短針状或いは鋸歯状の突起を認め、核は胞体に比し大きく且つ特有の切れ込みを有し、核膜薄く、細胞質には多数の微細顆粒を認め、遊走運動は認められない。中性赤染色率は小型食細胞に比し更に劣るが、被染色細胞の中性赤顆粒は小型食細胞のものより大きく、E型分布を呈す。ヤ緑顆粒は漿膜細胞のものより少々大きく粒状で、核周或いは核近辺の一部に集合し、平均染色率、平均染色度は小型食細胞より低い。墨粒貪喰能は陰性である。

3. 好酸球

血液中のものと同様に特有の粗大な光輝性顆粒を認めるが、変性顆粒多く、運動性消失し、生体染色、墨粒貪喰像は見られず、本腹水中ではかなりの変性を認める。

4. 肥胖細胞

低率にしか見られないが、その中性赤染色所見は特有で、培養後1時間頃には濃赤色、同大の中性赤顆粒が胞体内に充満し、食細胞の脱色後も長時間染色を持続する。ヤ緑顆粒は不明瞭で、墨粒貪喰は見られない。

第4章 総括並びに考按

腹腔内細胞の研究には従来より多数の先人の業績が見られるが、これらは何れも腹水細胞の大部分を占める食細胞の本態に関する研究で、凡て動物の腹水を対象としたものである。然るに人腹水に関しては、日常屢々遭遇する疾患腹水に於いても、臨床検査は従来から一般に行なわれている物理化学的性状検査のみに止まり、細胞学的検索は全く顧みられていない。漸く近年長谷川¹⁸⁾、千田、中⁶²⁾(63)(64)(65)、山田⁶⁶⁾、田坂⁷⁹⁾等一部研究者の報告が見られるが、これらも単なる構成細胞の羅列であつたり、特定の細胞観察に終り、各疾患腹水の細胞学的特性に就いては全く触れていない。もとよりこれら諸氏の細胞観察は塗抹染色或いは超生体染色等死後若くは頓死の状態に於ける観察であるため、それらには限界があり、十分な細胞観察が困難であるのは当然だが、それにしても疾患腹水の対象となる非病的腹水の観察が行なわれていないために、細胞数はもとより細胞構成、個々の細胞所見が果して異常であるのかどうか先づ第一に判然としない。尤も腫瘍細胞を認める場合や好中球の著明な増加を見る様な場合には診断は容易であるが、それ以外の場合には診断的根拠は全く擲めない。そこで私は本学陣内外科の御好意により非病的と考えて差支えない腹水を採取することが出来たので、これに教室考案の組織培養法を応用して生体染色並びに墨粒貪喰を主体とした人非病的腹水細胞の生態観察を行つた。

先づ細胞数では最大1322/mm³、最小1033/mm³、平均1161/mm³で、これは教室福田(源)¹⁶⁾による各種動物の平均細胞数マウス74100/mm³、ラッテ67221/mm³、家兎1796/mm³、犬3040/mm³に比し遙かに少なく、且動物に比し個体差も少ない。構成細胞としては食細胞、漿膜細胞、淋球、好中球、好酸球、

肥胖細胞等を認めるが、この中所謂食細胞が94.4%で大部分を占めている。これを大きさにより大、中、小型に分類すると中型食細胞は46.4%、小型食細胞は41.6%で略々同率に認められる。教室山近⁸⁰⁾によれば本細胞は動物に於いてもマウス90.7%、家兎71.2%で大多数を占めるが、中型が小型に比しかなり少ない。次に漿膜細胞は0.1%で低率であるが、細胞数の多い動物に殆んど認められていない事に比較すれば特異な所見であると云える。その他の細胞は何れも少数である。

次に食細胞に就いて大、中型食細胞には形態的に膜状、旗状、触手状、刷毛状、鋸齒状、気泡状等の偽足或いは突起を有する種々の細胞を認め、胞体も清明なもの、変性顆粒の多いもの等多種多様であるが、この中、触手状、刷毛状の偽足を有するものが最も多く、又胞体清明な細胞より変性顆粒の多いものの方が多い。中性赤染色は染色直後より開始され、平均染色度は1時間後を頂点として以後漸次低下し、6時間後には略々脱色する。最高平均染色度は1.68で、教室福田(正)¹⁶⁾の動物食細胞のそれに比し遙かに低く、且染色時間も短かい。中性赤顆粒の分布状態はA、B、C、E型等多様であるが、この中C型が最も多く、E型がこれに次ぎ、又福田(正)の動物食細胞の視察では時間の経過により分布状態の1型よりIV型への移行を認めているが、人ではこの様な傾向は少ない。しかし花冠状形成(A型分布)を呈する細胞では旗状、膜状偽足の所見と共に血液単球の所見に極めて近似し、教室山近⁸⁰⁾、福田(正)¹⁶⁾、藤田¹⁴⁾等の腹水食細胞が高等動物になる程単球の性格が強くなると云う説を裏づけている。一方ヤース緑染色は培養後30分乃至1時間で染色を完了し、主として核周辺並びに核陥凹部に多数の粒状乃至短桿状のヤ緑顆粒を認める。平均染色度は1時間後が最も高く、以後漸次低下して教室福田(正)の動物食細胞の場合と略々同様な経過をとるが、染色度は動物に比し低い。墨粒貪喰は早期よりかなり高度に認められ、培養後6時間で最高平均貪喰度に達し、以後この状態を持続し、墨粒子の逐時的放出は欠如している。墨粒子は大小不揃で、C型分布が多く、時間の経過により墨粒子の膨脹増大を認め胞体内に充満性となる。A型分布は少ないが該細胞では定型的な単球貪喰像を呈す。

以上小括すると人非病的腹水食細胞は形態的にも又生体染色、墨粒貪喰所見に於いても多種多様であり、これは成熟細胞、変性細胞等細胞機能的に種々

の段階の大、中型食細胞が混在しているため、この中膜状或いは旗状偽足を有し、中性赤染色、墨粒貪喰所見にてA型分布を呈する細胞が食細胞本来の姿であると考えられる。この事は教室入江²⁵⁾の人腹水、福田(正)¹⁶⁾、藤田¹⁴⁾の諸動物腹水の実験によつても明らかである。即ち入江は私と同様に人非病的腹水に就いて未変性の成熟食細胞を長時間培養して経時的観察を行なつた結果、時間の経過と共に変性顆粒の増加して行くこと、又細胞変性のすすむにつれて膜状、旗状偽足が触手状、鋸歯状、気泡状偽足に変化して行くことを認めており、福田(正)、藤田は動物腹水食細胞の生体染色、墨粒貪喰実験に於いて中性赤顆粒、墨粒子の花冠状形成が経時的細胞変性の結果崩れて次第に遍満化し、散在性となり、老化単球に該当する細胞所見となることを認めている。

次に小型食細胞は短針状、鋸歯状突起を有し、核は類円形で切れ込みを認め、胞体に比し大きく、細胞質には微細顆粒を認める。中性赤染色は大、中型食細胞に比し遙かに劣り、染色顆粒は小さく、2~3ヶ集合してA又はB型分布を呈す。平均染色度は大、中型食細胞同様1時間後に最高となるが、褪色が早く5時間後には完全に脱色する。教室福田(正)によれば動物に於いても小型食細胞と大、中型食細胞では中性赤染色度にかかなりの差を見ると云うが、人では更に著明である。ヤース緑染色は大、中型食細胞より平均染色度稍々高く、ヤ緑顆粒は微細点状で、B型或いはA型分布を呈す。墨粒貪喰能は大、中型食細胞に比し遙かに低く、その差は教室藤田の動物の所見よりも更に大きい。墨粒子は小さく点状で、少数局所に集簇し、逐時的放出は欠如している。

以上小括すると小型食細胞は大、中型食細胞に比しヤース緑染色に於いて軽度の亢進を認めるが、中性赤染色性、墨粒貪喰能は極めて低く、又形態的にもかなりの相違を認める。しかし本細胞中にも膜状、旗状偽足を有し大、中型食細胞と同一形態のものもあり、又中性赤顆粒のロゼット形成傾向、墨粒子の局所集簇性並びに逐時的放出の欠如等重要な諸点に於いて大、中型食細胞と共通の性格が認められるので、本細胞が幼若食細胞であることは明白であり、中性赤染色性、墨粒貪喰能の低下は細胞機能の未熟によるもので、小型食細胞から中型、大型食細胞への成熟が考えられる。尚この点に関しては動物腹水では更に明らかな様で、教室福田(正)¹⁶⁾、藤田¹⁴⁾は動物腹水に於ける生体染色、墨粒貪喰実験で大、

中、小型食細胞の間には全く同一の所見が認められると述べている。

さて腹水食細胞の本態に関しては50年来多数の先人の研究があるが、今日尚組織球説¹⁾³¹⁾⁴⁰⁾と単球説³⁾とが対峙して未解決の状態であつた。然るに教室福田(源)¹⁵⁾は塗抹染色所見に於いて下等動物では単球と組織球との両性格があるが、高等動物になる程胞体弱塩基性染色、清明、核陥凹部のアズール顆粒、核膜菲薄、核網繊細等の単球の性格が強くなる事及び過酸化酵素反応が赤崎、村田の云う陽性顆粒の貪喰による面以外に本来性に陽性である事を認めており、又教室山近⁸⁰⁾も各種動物の腹水食細胞の組織培養に於いて高等動物になる程その形態は単球に類似してくると述べ、又教室福田(正)¹⁶⁾、藤田¹⁴⁾の諸動物に於ける生体染色、墨粒貪喰所見も単球の性格が強く、更に教室嘉村²⁸⁾、服部¹⁹⁾の諸動物における位相差顕微鏡、螢光顕微鏡による細胞微細構造所見も単球様であり、結局これらは総て本細胞が単球に極めて近縁の細胞であることを示している。しかし本細胞は遊走性に乏しく、これのみが血液単球と異なる唯一の所見であるが、これに就いて氏等は教室小谷³³⁾の研究から、本細胞は胎生期間葉造血の遺残である大網乳斑に由来する細胞であるから、その發育環境を血液単球と異にする事、又成熟後は腹水中と云う浮遊環境にあつて、他動的な運動を与えられているために能動的機能を必要としないことを考慮すれば一応首肯し得られるとしている。又教室入江²⁵⁾は人非病的腹水の組織培養を行つて本細胞の動態を映画撮影し、その偽足運動、胞体の変形、胞体内顆粒の流動等は教室の人骨髓組織培養に於ける血液単球の所見を彷彿せしめると云つて、本細胞の本態に関し前記諸氏と同様の見解をとつている。そこで私は人非病的腹水に就いて、前述の如く新たに組織培養による主として生体染色、墨粒貪喰に基いた生態観察を行なつたのであるが、その結果老化変性細胞は別として、成熟食細胞では単球に特有な膜状、旗状偽足をもち、それ等偽足に運動性のあること、又生体染色では中性赤顆粒の花冠状形成のあること、墨粒貪喰では墨粒子の局所集簇性並びに逐時的墨粒子放出の欠如していること等を認めたので、本細胞は教室前記諸氏の見解と同様に矢張り単球か、少なくとも単球と母体を一にした極めて近縁の細胞であると考えざるを得ない。

漿膜細胞に就いては最初本細胞は食細胞と混同され、太田⁶⁹⁾等は食細胞の母細胞として本細胞の食

細胞えの移行説を唱えたが、Sabin⁷⁰⁾、Maximow⁴⁴⁾、清野⁹⁰⁾等により否定されて以来、現在は一の独立した細胞として区別されている。本細胞は非病的腹水中には低率(0.1%)にしか存しないが、動物に比較すればその出現率は高い。尚後の編に述べる如く病的腹水では屢々多数出現し、疾病診断の有力な根拠となる。非病的腹水中のものは一般に小型で、胞体縁は微細な毛状突起で囲まれ、核膜厚く、核には1~2ヶの核小体を認める。生体染色では食細胞のものより稍々粗大なヤ緑顆粒が核周辺部に同心円的に配列し特異な所見を呈するが、中性赤顆粒、墨粒貪喰像は見られない。

その他の腹水細胞の中、好中球、好酸球は共にかなりの変性を認め、胞体には変性顆粒多く、遊走性消失し、生体染色、墨粒貪喰能は低下している。淋巴球は胞体縁明瞭で、突起無く、細胞質は無顆粒清明で、核膜厚く、核先進の固有な運動を行ない、小型食細胞とはこれらの所見より容易に区別される。ヤ緑顆粒は小型食細胞のものより稍々大きく、粒状で、核周に多い。中性赤染色度は小型食細胞より更に低く、墨粒貪喰能は陰性である。肥胖細胞は稀にしか認められないが、屢々中性赤に濃染し、中性赤顆粒は胞体内全体に充満し、長時間脱色しない。

第5章 結 論

人非病的腹水に組織培養に基いた生体染色並びに墨粒貪喰を行ない、併せてその細胞数、細胞構成も検索し次の結論を得た。

1) 細胞数は平均 $1161/\text{mm}^3$ で、細胞構成は特定

の食細胞が94.4%を占め、これを大、中、小型に分類すると中、小型食細胞が相半して多い。その他漿膜細胞、淋巴球、顆粒球、肥胖細胞を低率に認めた。

2) 大、中型食細胞には成熟細胞から老化変性細胞まで種々の段階のものが存在し、生体染色、墨粒貪喰所見も多彩であるが、この中、中性赤顆粒並びに墨粒子が胞体内え散在性のものが最も多く、墨粒子の逐時的放出は見られない。

3) 食細胞本来の姿と考えられる成熟食細胞では、中性赤顆粒の花冠形状成並びに墨粒子の局所集簇性があり、又墨粒子の逐時的放出は無く、その他の生態所見(偽足運動、細胞形態)と共に、本細胞が単球近縁の細胞である事を示唆している。

4) 小型食細胞は大、中型食細胞に比し、中性赤染色度、墨粒貪喰度ともに極めて低く、形態的にも多少相違しているが、上記成熟食細胞の性格が認められる。

5) ヤーヌス緑染色は大、中、小型食細胞とも良染し、ヤ緑顆粒は核周及び核陥凹部に多在する。

撰筆するに当り終始御懇切なる御指導と御校閲を賜わつた恩師平木教授並びに大藤助教授に深甚の謝意を表す。

本論文の要旨は第19回日本血液学会総会、第12回日本内科学会中、四国地方会、第44回日本消化機病学会総会、第4回臨床病理学会中、四国地方会並びに第2回岡山地方癌交見会に於いて発表した。写真及び文献は第3編巻末に一括掲載す。

Cytological Studies on Human Ascites by means of Vital Staining and Carbon Particle Phagocytosis

Part 1. A Study on Human Non-Pathologic Ascites

By

Toshishige Komatsubara

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

For the purpose of cytological study of human ascites, the author conducted tissue culture of human non-pathologic ascites and investigated the cell count and the cell composition in

the tissue culture by means of vital staining and carbon particle phagocytosis. The following are the results of the present investigations.

1. The average cell count proves to be 1161/mm³ and as for the cell composition definite phagocytes, which can be classified into the large and intermediate and small types, occupy 94.4 per cent of the whole, and it is found that the intermediate and small types occupy the majority in about equal proportion. Other cells such as serous cells, lymphocytes, granulocytes and mast cells can be observed in a small proportion.

2. The large and intermediate type of phagocytes are consisted of cells in such various stages as mature cells to decrepit degenerated cells, and they present variegated findings in vital staining and phagocytosis. However, in these cells the majority of them present scatteringly neutral red granules and carbon black particles in the cell body but no successive liberation of carbon particles can be observed.

3. Mature cells believed to be the proper form of phagocytes present rosette formation of neutral red granules and the conglomeration of carbon particles within intra-cellular locus and no successive liberation of carbon particles can be observed. Judging from these and other findings (pseudopodial movement and cell morphology) it is suggestive that these cells are cells closely related to monocytes.

4. Although the small type phagocytes demonstrate an extremely poor stainability to neutral red and a low power of carbon particle phagocytosis and differ somewhat in their morphology as compared to the large and intermediate types, they reveal the characteristics of the above mentioned mature cells.

5. By Janus green staining all the large, intermediate and small types of phagocytes are stained well, and many Janus green granules are found in the perinuclear area as well as in the indentation of the nucleus.
