

組織培養法による栓球並に紡錘状細胞の研究

第 3 編

健康人栓球及び家鶏紡錘状細胞の墨粒貪喰能 及び中性紅生体染色

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

浜 聰

[昭和33年3月10日受稿]

内 容 目 次

第1章 緒 言	a) 骨髓内紡錘状細胞
第2章 実験材料並に実験方法	b) 末梢血内紡錘状細胞
第3章 実験成績	2) 中性紅生体染色
A) 健康人栓球	a) 骨髓内紡錘状細胞
1) 墨粒貪喰能	b) 末梢血内紡錘状細胞
2) 中性紅生体染色	第4章 総括並に考按
B) 家鶏紡錘状細胞	第5章 結 論
1) 墨粒貪喰能	

第1章 緒 言

代表的な栓球系細胞である健康人栓球並に家鶏紡錘状細胞 (以下紡錘と略す) の機能を組織培養法を用いた新生態観察法により追求し、第1編、第2編に於て主としてそれ等の運動形態につき報告したが、本編では墨粒貪喰能及び中性紅生体染色所見を検索したので報告する。

血球の貪喰能、生体染色に関する研究は、その機能解明に極めて重要なものであり、殊に白血球については Metschnikoff⁵⁴⁾、清野教授¹³⁾等に始まる幾多の研究があり、血液学の進歩に大なる貢献をなした。最近の教室の角南¹⁶⁾、田村²²⁾の骨髓組織培養による骨髓内細胞の貪喰能、生体染色に関する研究は更に多くの新知見をもたらしたのである。しかし血液の第3有形成分の一つである栓球及び紡錘に至つては系統的な研究は極めて稀であり、その知見は甚だしく少く、白血球に比し著しく立ち遅れている。

即ち栓球並に紡錘に関してその貪喰能、生体染色を系統的に追求したのは僅かに泉⁴⁵⁾が家兎の栓球、家鶏の紡錘の発生、機能等に関する研究の一部として墨粒貪喰能、超生体染色所見に触れたに止まり、

その他 Shaw⁶³⁾、Sabin⁵⁶⁾、Forkner⁴⁷⁾、長雄²⁴⁾、杉山¹⁷⁾、天野¹⁾、森³⁰⁾、野手²⁵⁾、角南¹⁶⁾、田村²²⁾等が断片的に記述しているに過ぎない。特に組織培養法による栓球系細胞の貪喰能、生体染色に関する研究は前原²⁰⁾、角南¹⁶⁾、田村²²⁾の骨髓体外組織培養による墨粒貪喰能、生体染色の研究に於て散見するのみである。

私は栓球並に紡錘の機能に関する研究の一つとして墨粒貪喰能及び中性紅生体染色につき詳細に追求した。

第2章 実験材料並に実験方法

健康人栓球の墨粒貪喰能、中性紅生体染色には第1編と同じく末梢血の簡易培養法を、家鶏紡錘には第2編と同じく海野氏載物硝子使用の骨髓及び末梢血培養法を夫々行つた。

1) 栓球墨粒貪喰能

墨粒は良質の古梅園製紅花墨を用い、リングル氏液を以て硯で軽く磨り、濃度の決定には森³⁰⁾、角南¹⁶⁾等に従い墨汁の液柱の高さを5mmとして、下に置いた白紙上の墨の辺縁が見え始めるところを取つた。この際に光源は60W電球を20cmの高さ

より照らした。上記器具は墨を除き予めすべて乾熱滅菌し、墨は使用に際し滅菌リングル氏液でよく洗った。

実験操作は大亀⁷⁾の方法に従い、先づ血清1滴をとり直径約1cmに拡げ、その中央に培養組織を載せ、次で墨汁とチョコラ B₁₂ を1:1の比に予め混じったもの1滴を添加する。

観察は1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 24時間後に夫々粒球200個を数え、各運動形態(I~IV型)につき貪喰, 吸着の有無を求めて貪喰率, 吸着率を算定した。粒球はその摂取墨粒子は極めて微細であり谷²¹⁾の如く貪喰度を分類することは困難であるため、平均貪喰度は求めなかつた。

2) 粒球中性紅生体染色

大亀⁷⁾の方法に従い染色液は無菌の0.2%中性紅水溶液を使用した。

実験操作は先づ血清1滴を直径約1cmに拡げ、その中央に培養組織を載せ、次に染色液とチョコラ B₁₂ を1:9に予め混じったものを1滴添加混和する

(培地濃度0.01%)。

観察は貪喰能の場合と同様、染色率のみを求めた。即ち粒球200個を数え、各運動形態(I~IV型)につき、培養後時間を追つて夫々染色率を算定した。

3) 紡錘墨粒貪喰能

実験方法は角南¹⁶⁾の方法に従い、先づ血漿1滴をとり、直径1.5cm位の円形に拡げ、その中央に骨髓組織片或は末梢血の紡錘層を載せ、次に鶏胎搾液と墨汁とを1:1の比に混じったものを2滴加えた。

紡錘は粒球に比し大型であり貪喰率と共に平均貪喰度も求めることが出来た。しかし後述の如く摂取墨粒子は白血球に比し微細で且つ融合する傾向も少ないため、貪喰度を谷²¹⁾の分類に従わず次の如くした(第1図)。

- 0度: 墨粒摂取なし
- 1度: 小墨粒1個
- 2度: 小墨粒数個
- 3度: 小墨粒多数, 小墨粒数個と中墨粒1個
- 4度: 小又は中墨粒が胞体を充滿する

第1図 家鶏紡錘の墨粒貪喰像及び貪喰度

貪喰度	
1	
2	
3	
4	

以上の標準のもとに紡錘100個を数え、杉山の方法に従つて平均貪喰度を算定した。観察は培養後1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18, 24時間の各時間に行つた。

4) 紡錘中性紅生体染色

田村²²⁾の方法に従い染色液は無菌の0.05%中性紅水溶液を使用した。

実験操作は血漿1滴を直径約1.5cmの円形に拡げ、その中央に培養組織片を載せ、次に予め染色液と鶏胎搾液を1:2の比に混じったものを1滴半添加する(培地濃度0.01%)。

観察は紡錘貪喰能の場合と同様、培養後1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18, 24時間に紡錘100個につき、夫々染色率, 平均染色度を求めた。染色度は次の如く分類した。

(第2図)

- 0度: 染色顆粒なし
- 1度: 小顆粒1個

- 2度：小顆粒数個
- 3度：小顆粒多数，小顆粒数個と中顆粒1個
- 4度：大顆粒及び中顆粒数個

第3章 実験成績

A) 健康人粒球

1) 墨粒貪喰能 (第3図, 第1表, 第2表)

粒球は軽度の貪喰能と共に著明な吸着能を示し，摂取墨粒子は極めて微細で円形乃至類円形を呈し融合傾向はなく1個乃至数個のことが多く，主として透明部に摂取される。一方吸着粒子は貪喰粒子に比し比較的粗大で屢々細胞全体が覆われる像を認め，且つ細胞の回転に際し胞体外に一部突出することで貪喰粒子と区別される。

貪喰率は図表に示す如く運動形態により差異があり，I，II型に著明でIII，IV型には殆んど認めなかつた。即ちI型は2時間後最高貪喰率平均24.0%，II型は2時間後22.7%を示し，培養後時間の経過と共に急速に貪喰率は低下する。III，IV型は貪喰率は極めて低く，最高貪喰率はIII型は1時間後9.4%，IV型は2時間後7.4%で，培養後期には貪喰像は極めて少くなる。

吸着率はIII，IV型に著明で，I，II型には軽度見るのみであるが，時間と共に増加し，24時間後に至れば平均32.5%となり，全胞体が粗大な吸着粒子に覆われる像を随所に認める。

2) 中性紅生体染色 (第4図, 第3表)

粒球は中性紅により赤褐色乃至暗紅色に染まる染色顆粒が出現する。この染色顆粒は極めて微細で殆んど同大であり，略々円形を呈し，胞体周辺部に不規則に散在して融合傾向は少い。染色所見は運動形態により差異があり，I，II型は染色顆粒は小さく且つ少数であり，III，IV型は染色顆粒は大きく多数あり，稍々融合傾向を認める。

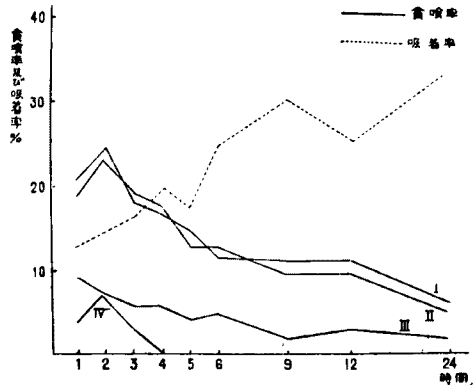
培養後時間を追つて各型につき染色率を求めるとI型が最も染色率低く，4時間後に於て最高染色率

第2図 家鶏紡錘の中核紅生体染色像及び染色度

染色度	
1	
2	
3	
4	

平均24.2%を示した。II型は5時間後に最高値46.7%となり，以後比較的緩慢に褪色する。III，IV型は染色率高く，III型は4，5，6時間後に平均50.1%，62.1%，47.6%，IV型は4，5，6時間後に平均54.4%，63.8%，53.3%を示し，褪色は緩慢である。24時間後に至れば細胞は変性し，運動を停止するものが多い。

第3図 人粒球の墨粒貪喰率及び吸着率 (平均)



第1表 人絨球の墨粒貪喰率(%)

運動型	経過時間	経過時間									
		1	2	3	4	5	6	9	12	24	
例1	I	19.7	23.8	14.2	12.2	10.5	8.6	4.0	6.6	5.2	
	II	12.1	17.0	11.5	14.2	11.1	7.3	6.2	10.0	2.2	
	III	10.0	6.3	4.0	0	0	0	0	0	0	
	IV	0	3.4	0	0	0	0	0	0	0	
	平均	14.6	14.2	8.8	8.4	6.6	5.1	3.5	6.2	1.9	
例2	I	23.8	31.2	27.2	17.8	16.1	17.1	16.1	16.0	8.6	
	II	25.8	28.5	23.3	18.1	12.3	15.5	12.4	11.2	8.2	
	III	12.0	10.5	8.6	10.5	3.1	9.0	2.9	4.5	3.5	
	IV	11.1	10.5	5.0	0	0	0	0	0	0	
	平均	18.2	22.7	16.5	15.0	9.5	13.5	10.0	9.6	6.5	
例3	I	18.1	17.2	21.4	21.2	18.7	12.5	15.3	12.1	4.3	
	II	18.7	22.7	20.3	20.3	18.0	17.3	12.2	10.8	6.4	
	III	6.2	5.5	5.8	8.3	9.0	6.2	5.5	4.5	0	
	IV	0	8.3	5.5	0	0	0	0	0	0	
	平均	13.7	16.5	16.3	17.0	14.0	12.2	10.4	9.4	3.5	
平均	I	20.5	24.0	17.6	17.0	15.1	12.7	11.8	11.5	6.0	
	II	18.8	22.7	18.4	17.5	13.8	13.3	10.2	10.6	5.6	
	III	9.4	7.4	6.1	6.2	4.0	5.0	2.0	3.0	1.1	
	IV	3.7	7.4	3.5	0	0	0	0	0	0	
	平均	15.5	17.8	13.8	13.4	10.0	10.2	7.9	8.4	3.9	

B) 家鶏紡細

紡細には軽度の貪喰能あり。その貪喰像は第1図に示す如く摂取墨粒子が極めて微細で且つ融合する傾向も少い。原形質に不規則に微細墨粒子が散在し、時に核上にも認められることがある。

貪喰能は運動形態により異なるが、A型に最も著明で、D型がこれに次ぎ、B、C型には認めなかつた。

紡細には貪喰能と共に著明な吸着能があり、屢々細胞が粗大な墨粒子に覆われ、胞体の不明となる像を見る。

a) 骨髓内紡細(第5図、第4表)

骨髓体外組織培養により出現する紡細の貪喰能を培養後各時間別に追求すれば、3時間後より貪喰度を増し、5時間後では最高0.43、最低0.38、平均0.40、6時間後では最高0.59、最低0.19、平均0.44を示し、9時間後に至り急速に貪喰度は低下し、24時間後では細胞の変性が進行し墨粒子は殆んど放出されるに至る。しかし吸着像は時間と共に著明となり、培養後期では墨粒子に覆われた細胞を随所に認

第2表 人絨球の墨粒吸着率(%)

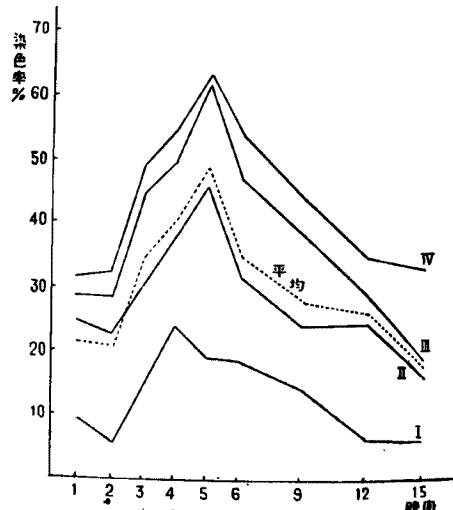
運動型	経過時間	経過時間									
		1	2	3	4	5	6	9	12	24	
例1	I	2.7	4.7	10.7	12.2	10.5	13.0	8.0	14.5	21.0	
	II	4.8	8.5	7.2	16.3	26.6	24.3	24.8	34.0	36.3	
	III	20.0	40.0	36.0	30.0	45.4	47.0	52.0	51.3	52.6	
	IV	41.6	48.2	44.0	47.6	52.6	52.9	60.0	53.8	52.3	
	平均	13.4	19.0	19.0	24.5	32.3	30.6	33.0	34.7	39.8	
例2	I	0	0	3.4	10.7	19.3	28.5	29.0	23.0	26.0	
	II	3.2	4.0	10.0	15.9	16.4	16.7	23.5	20.2	26.0	
	III	20.0	15.9	26.0	21.0	37.5	36.3	29.0	36.3	38.3	
	IV	29.6	21.0	35.0	33.3	42.8	42.8	34.4	42.1	42.8	
	平均	13.4	8.7	15.0	18.3	25.2	25.0	26.5	26.4	30.3	
例3	I	3.0	6.8	14.2	17.8	18.7	25.0	15.3	14.6	17.3	
	II	18.7	11.1	8.4	11.9	22.9	13.0	35.1	13.2	19.3	
	III	25.0	27.7	23.5	25.0	27.2	25.0	27.7	31.8	35.2	
	IV	33.3	33.3	27.7	38.4	45.0	41.6	47.0	50.0	53.8	
	平均	13.7	15.5	14.7	17.9	25.1	21.4	31.8	18.9	27.3	
平均	I	1.9	3.8	9.4	13.5	16.1	22.1	17.4	17.3	21.4	
	II	8.9	7.8	8.5	14.7	21.9	18.0	27.8	22.4	27.2	
	III	21.6	27.8	28.5	25.3	36.7	36.1	36.2	39.7	42.0	
	IV	34.8	34.2	35.9	37.4	46.8	45.7	47.1	48.6	49.6	
	平均	13.5	14.4	16.2	20.2	27.5	26.3	30.2	26.6	32.5	

める。

b) 末梢血内紡細(第6図、第5表)

末梢血液培養に於ては紡細の貪喰能は骨髓培養時に比して相当強く、且つ早期に高度の貪喰能を示し、早期に放出する。即ち3時間後に於て平均貪喰度は

第4図 人絨球の中性紅生体染色率(平均)

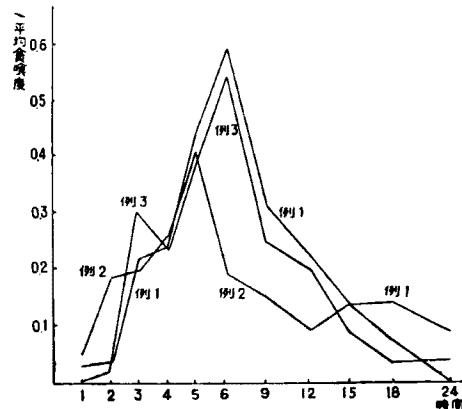


第3表 人極球中性紅生体染色率(%)

運動型	経過時間	培養後経過時間									
		1	2	3	4	5	6	9	12	15	18
例1	I	8.3	7.2	15.0	23.8	14.2	9.0	13.6	7.3	5.8	
	II	19.1	19.2	29.6	31.8	47.5	30.9	25.2	19.5	14.0	
	III	20.0	26.0	41.6	37.8	64.7	50.0	44.4	30.9	18.7	
	IV	20.6	27.5	46.6	45.4	60.0	57.1	45.1	36.3	25.0	
	平均	18.4	20.1	33.3	34.7	46.7	34.7	27.7	27.6	17.0	
例2	I	14.2	10.0	12.5	25.0	28.5	25.0	14.2	10.0	8.3	
	II	22.2	16.6	22.2	39.5	40.3	30.5	20.0	25.4	10.0	
	III	26.9	25.0	28.6	51.6	53.3	42.8	27.7	24.1	14.9	
	IV	35.7	27.2	36.3	52.6	55.0	50.0	29.4	33.3	18.1	
	平均	27.2	19.4	22.3	43.8	43.2	33.3	24.2	23.7	13.2	
例3	I	7.3	2.7	15.0	23.8	14.2	22.0	13.6	7.3	5.5	
	II	36.3	35.7	42.2	41.1	52.4	35.5	25.2	27.4	26.8	
	III	38.4	35.1	66.6	61.1	68.3	50.0	44.4	30.9	18.7	
	IV	38.3	43.3	62.9	65.2	76.6	65.2	95.4	83.6	32.5	
	平均	23.3	26.7	44.7	46.0	52.1	37.3	29.3	25.9	22.2	

I	9.9	6.6	14.1	24.2	18.9	18.0	13.8	8.2	6.5
II	25.8	23.8	31.3	37.4	46.7	32.3	23.4	24.1	16.9
III	28.4	28.7	45.6	50.1	62.1	47.6	38.8	28.6	17.4
IV	31.5	32.6	48.6	54.4	63.8	53.3	43.1	35.3	22.1
平均	22.9	22.0	33.4	41.5	47.3	35.1	27.0	25.7	17.4

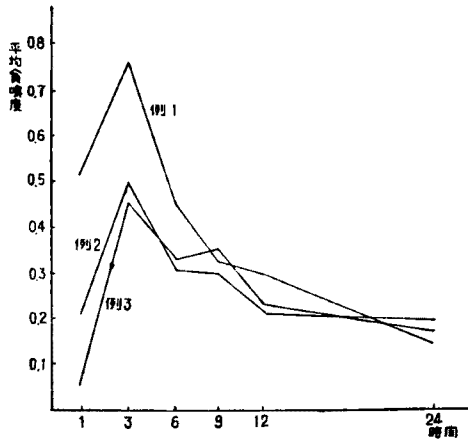
第5図 家鶏紡錘の墨立平均貪喰度(骨髓)



第4表 家鶏紡錘の墨粒貪喰能(骨髓)

貪喰度	培養後経過時間	培養後経過時間										
		1	2	3	4	5	6	9	12	15	18	24
例1	0	98	98	89	87	75	68	80	85	89	88	92
	1	2	1	5	8	14	15	13	10	9	10	7
	2	0	1	2	1	6	8	4	3	2	2	1
	3	0	0	3	2	3	8	2	2	0	0	0
	4	0	0	1	2	2	1	1	0	0	0	0
平均貪喰度		0.02	0.03	0.22	0.24	0.43	0.59	0.31	0.22	0.13	0.14	0.09
例2	0	96	84	83	77	77	83	87	91	93	93	100
	1	4	14	14	20	12	15	11	9	2	7	0
	2	0	2	3	3	4	2	2	0	4	0	0
	3	0	0	0	0	7	0	0	0	1	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均貪喰度		0.04	0.18	0.20	0.26	0.41	0.19	0.15	0.09	0.13	0.07	0
例3	0	100	98	86	87	78	70	81	88	91	92	97
	1	0	2	6	8	13	14	14	8	9	8	2
	2	0	0	2	1	4	8	4	1	0	0	1
	3	0	0	4	2	3	8	1	2	0	0	0
	4	0	0	2	2	2	0	0	1	0	0	0
平均貪喰度		0	0.02	0.30	0.24	0.38	0.54	0.25	0.20	0.09	0.03	0.04

第6図 家鶏紡細の墨粒平均貪喰度（末梢血）



最高0.77, 最低0.46, 平均0.57を示し6時間後では急速に貪喰度は低下し, 24時間後に至れば殆んど墨粒子を放出する。末梢血に於ても吸着像は著明に認められる。

2) 中性紅生体染色

紡細は第2図に示す如く極めて微細な暗紅色乃至褐色の染色顆粒の出現を見る。染色顆粒は殆んど同大で, 一般に胞体内に不規則に存在するが, 核の片側のことが多い。

紡細の中性紅生体染色性は運動形態により異り, 染色顆粒はA, C型が特に微細で融合傾向も少く, B, D型は顆粒が稍々粗大で融合傾向を認めた。

a) 骨髓内紡細 (第7図, 第6表)

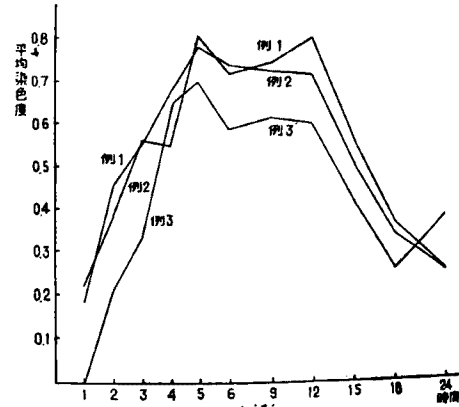
骨髓体外組織培養により出現する紡細はA, C型の染色顆粒は上記の如く極めて微細で融合傾向も少く大顆粒となるものは稀である。しかしB, D型ではその染色顆粒は中乃至大顆粒となることが多い。

各例につき平均染色度を求めると第7図, 第6表に示す如く3時間後頃より染色度が増加し, 5~12時間に最もよく染色され, 最高染色度は5時間後最高0.81, 最低0.70, 平均0.76を示した。貪喰能に比

第5表 家鶏紡細の墨粒貪喰能（末梢血）

貪喰度		培養後経過時間					
		1	3	6	9	12	24
例	0	73	70	77	82	84	92
	1	14	6	10	9	8	3
	2	7	9	5	4	3	3
	3	0	7	7	3	3	1
	4	6	8	1	2	2	1
平均貪喰度		0.52	0.77	0.45	0.34	0.31	0.16
例	0	89	70	76	82	84	86
	1	4	17	16	6	12	10
	2	4	8	8	12	2	2
	3	3	3	0	0	2	2
	4	0	2	0	0	0	0
平均貪喰度		0.21	0.50	0.32	0.30	0.22	0.20
例	0	94	74	82	76	85	88
	1	6	12	7	15	7	7
	2	0	9	8	7	8	4
	3	0	4	2	2	0	1
	4	0	1	1	0	0	0
平均貪喰度		0.06	0.46	0.33	0.35	0.23	0.18

第7図 家鶏紡細の中性紅平均染色度（骨髓）



第6表 家鶏紡細の中性紅生体染色（骨髓）

染色度		培養後経過時間										
		1	2	3	4	5	6	9	12	15	18	24
例	0	85	78	65	68	57	59	55	54	66	76	78
	1	10	12	20	15	17	19	21	22	18	14	16
	2	4	5	11	13	18	16	19	16	12	8	6
	3	1	4	3	3	4	4	5	6	4	2	0
	4	0	1	1	1	4	2	0	2	0	0	0
平均染色度		0.21	0.38	0.55	0.54	0.81	0.71	0.74	0.80	0.54	0.36	0.28

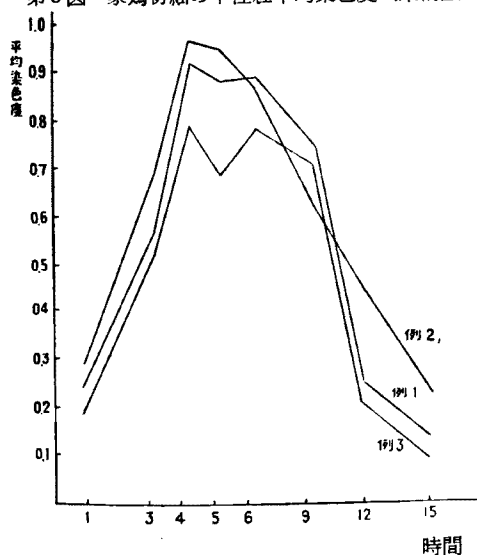
例 2	0	85	71	65	57	50	53	53	55	68	79	83
	1	12	18	21	27	31	29	29	28	20	11	10
	2	2	7	9	9	12	13	14	10	8	7	4
	3	1	3	4	4	4	3	2	5	3	2	2
	4	0	1	1	3	3	2	2	2	1	1	1
	平均染色度	0.19	0.45	0.55	0.69	0.79	0.72	0.71	0.71	0.49	0.35	0.28
例 3	0	100	88	86	74	66	69	70	72	82	85	83
	1	0	5	4	6	14	14	11	9	6	6	5
	2	0	5	3	8	10	10	11	9	5	6	5
	3	0	2	5	5	4	3	3	6	4	2	4
	4	0	0	2	7	6	4	5	4	3	1	3
	平均染色度	0	0.21	0.33	0.65	0.70	0.59	0.62	0.61	0.40	0.28	0.39

し染色性は長期間保たれ、褪色も緩慢であるが、24時間後に至れば染色顆粒は褪色空胞化することが多く、細胞の変性も著しく殆んど運動を停止するに至る。

b) 末梢血内紡錘 (第8図, 第7表)

末梢血液培養により出現する紡錘は骨髓内紡錘と

第8図 家鶏紡錘の中性紅平均染色度 (末梢血)



同様の染色顆粒を認め、4~9時間後に最もよく染色され、最高染色度は4時間後最高0.94、最低0.78、平均0.88を示した。骨髓内に於けると異り褪色は早期に現われ、培養後15時間に於て既に褪色著しく、染色顆粒は空胞化し、変性著明となり運動は停止するに至る。

第4章 総括並に考按

以上末梢血絨球並に骨髓内及び末梢血内紡錘の墨

第7表 家鶏紡錘の中性紅生体染色 (末梢血)

培養後経過時間	染色度								
	1	3	4	5	6	9	12	15	
例 1	0	83	69	47	53	49	60	86	92
	1	10	13	21	18	23	13	7	5
	2	7	12	26	20	20	20	4	1
	3	0	4	5	8	8	6	2	2
	4	0	2	1	1	0	1	1	0
	平均染色度	0.24	0.57	0.92	0.86	0.87	0.75	0.25	0.13
例 2	0	80	61	51	48	53	64	78	87
	1	12	14	16	21	20	15	9	5
	2	8	20	23	22	17	15	5	5
	3	0	5	8	8	9	6	7	3
	4	0	0	2	1	1	0	1	0
	平均染色度	0.28	0.69	0.94	0.93	0.85	0.63	0.44	0.24
例 3	0	87	75	57	64	55	61	86	94
	1	8	8	16	12	18	14	7	3
	2	5	10	20	17	19	20	7	2
	3	0	5	6	6	8	4	0	1
	4	0	2	1	1	0	1	0	0
	平均染色度	0.18	0.51	0.78	0.68	0.78	0.70	0.21	0.10

粒貪喰能及び中性紅生体染色を組織培養法を用いて種々検討した。

従来絨球の貪喰能に関しては若干の報告がある。即ち長雄²⁴⁾は流血中に注入した墨汁の運命並にこれによる細胞的变化を研究し、絨球にも貪喰性のあることを発見した。泉⁵⁾は試験管内に於て家兎の絨球の墨粒貪喰を追求し、1時間後に最高貪喰率81.0%を示し、時間の経過に従い貪喰絨球の減少を来たし、

78~80時間内に全く消失すると報告している。その他粒球の墨粒貪喰については Fonio⁴⁵⁾、天野¹⁾等もこれを認めている。一方組織培養による観察は前原²⁸⁾、角南¹⁸⁾の報告があるのみであるが、前原は骨髓体外組織培養により巨核球より分離する血小板様小体に墨粒貪喰能は認めずと述べ、角南は骨髓体外組織培養に於ける主として白血球の墨粒貪喰能に関する基礎的並に臨床的各分野に亘る詳細な研究の中で粒球にも貪喰と吸着とを有すると報告している。私の組織培養による成績では健康人の末梢血内粒球の墨粒貪喰能は粒球の運動形態により異なり、I、II型に著明で1~2時間後に最高貪喰率を示し、時間と共に低下した。吸着能はIII、IV型に著明であり、時間と共に増加し、培養24時間後に至れば随所に粗大な墨粒子に覆われた粒球を見るに至る。私の実験に於ける最高貪喰率17.8%に比し泉の成績は相当高率を示しているが、彼の試験管内に於ける実験では組織培養法に比してIII、IV型が多く出現するもので、吸着像を呈しているものを貪喰と混同したためと考えられる。貪喰と吸着の区別は仲々困難であるが、私の観察では吸着粒子は貪喰粒子に比し一般に粗大で且つ球形のことが多く、而も細胞の表面に附着するため、回転、移動に際し屢々吸着墨粒子の一部は胞体外に突出する像を認める事により両者を区別し得た。

次に粒球の中性紅生体染色に関する報告は墨粒貪喰能に比して更に少く、Sabin⁵⁸⁾は血液細胞の生体染色についての研究で粒球の中性紅及びヤームス緑の染色所見に言及し、ブラウン運動をしない不動の顆粒に染色されると述べている。野手²⁹⁾は諸種色素による血液細胞の生体染色並に超生体染色について報告し、粒球は中性紅により2~3分後最初は赤褐色を呈し、後暗褐色となり数時間後に脱色すると述べ、泉⁵⁾は粒球の墨粒貪喰能に関する研究で、中性紅による染色顆粒に墨粒子が附着するのを認めている。更に Bessis³⁵⁾は粒球の中性紅及びヤームス緑による生体染色につき、中性紅に染る極めて微細な顆粒が透明部(周辺部)に現われると発表している。組織培養による報告は前原²⁸⁾、田村²²⁾に見るのみであるが、前原は血小板様小体にはリチオンカルミン摂取を見ず陰性なりとし、中性紅については触れていない。田村は粒球にも融合性で比較的早期に褪色する中性紅顆粒を認めている。私の組織培養による成績では粒球は赤褐色乃至暗紅色に中等度に染色される中性紅染色顆粒を出現するが、染色顆粒は極め

て微細で一般に細胞周辺部に分布し、高度の場合は胞体全体に拡がる事がある。粒球の生体染色所見を長時間観察し、染色率を求めた報告は未だ見ないが、私は培養後4~6時間後に於て最もよく染色され、最高染色率47.3%を示し時間と共に褪色することを知った。更に運動形態により染色状態並に染色率に差異を示した。即ちI、II型は染色顆粒は少数で殆んど融合を認めず染色率も低く、III、IV型は融合を僅かながら認め、多数の染色顆粒を有し、染色率も高度であつた。

粒球の貪喰能、生体染色に対する態度はその運動形態によつて甚だしく相異なるもので、粒球はI、II運動型の如く活潑に運動を行い、貪喰能著明にして、染色率の比較的低いものと、III、IV運動型の如く膜様伸展或は類円形に膨大して僅かのブラウン運動様震顫運動をなし、貪喰率低く、吸着能が著明で、高度に染色されるものとの機能的に異つた二種類に大別される。即ち細胞機能(運動、貪喰、生体染色)より見れば前者は細胞機能が活潑で、後者は稍々衰えたものと解釈される。

一方紡細の墨粒貪喰については森³⁰⁾は中性紅を摂取した蛙の紡細の生体外澱粉及び墨粒貪喰能を検索し、染色陽性の紡細は全く澱粉貪喰をするものなく、稀に墨粒を貪喰するがその時には胞体が膨大化するものが多いと報告し、これに対し天野¹⁾は家鷄エンブリオの血液細胞の発生に関する研究で、卵黄囊血管に墨汁を注入して一定時間後に超生体観察を試み、血管中の細胞では紡細が最も活潑に墨粒を捕捉貪喰する事を認めている。私の成績では家鷄の紡細にも天野のいう如く貪喰能及び著明な吸着能を認めた。貪喰能は粒球と同じく運動形態により差異があり、A型に最も著明で、D型がこれに次ぎ、B、C型には殆んど認めなかつた。細胞及び墨粒子が微細なため、谷²¹⁾の分類とは別に、私は貪喰度を0~4度に分類し、各時間の平均貪喰度を求めたが、骨髓では5時間後平均0.44、末梢血では3時間後平均0.57の最高貪喰度を示し、時間の経過と共に墨粒子は放出される。吸着能はB、C型に著明で粒球と同様の像を呈し、時間と共に増大するのを認めた。

次に紡細の生体染色については貪喰能と同様、これを組織培養を用いて長時間追求した報告はないが、森³⁰⁾は被覆硝子に1滴の血液をとり、これを載物硝子の中性紅溶液を塗布した面に伏せ、被覆硝子の周囲を封じて検鏡し、家鷄紡細は中性紅により2~3分後に微細な淡赤色染色顆粒を現わし、核は細長く

クロマチンに富み遊走しないと報告し、Forkner⁴⁷⁾は家鶏の血液細胞の中性紅及びヤーマス緑の超生体染色所見につき、紡錘は核の一侧又は両側に褐色で光を屈折しない顆粒が生じ時間と共に大きくなり、時々数個又は多数の微細なミトコンドリアを核の周囲に認めると述べている。又 Shaw⁶⁸⁾は中性紅を含むA液とクリスタルバイオレットを含むB液を混合して超生体観察をなし、鳥類紡錘は楕円形で硝子様半透明で原形質も核も淡緑色で明瞭な区別はなく、光沢のある紅色の顆粒1~2個を有すると述べ、滝川¹⁹⁾は中性紅超生体染色により鶏の紡錘は核の周辺に数個染色顆粒が出現すると報告している。又室本²⁰⁾は中性紅及びヤーマス緑の超生体染色により家鶏紡錘は中性紅で褐色で光を屈折しない大顆粒1~2個を認めた。私の組織培養に於ける成績では中性紅により微細な暗紅色乃至褐色の染色顆粒が生じ、融合傾向は少く散在し、淋巴球に見る花冠状の如き特徴ある配列は示さなかつた。栓球と同様、運動形態により差異を認め、A、C型は染色顆粒が特に微細であり、染色顆粒も少く、これに反しB、D型は顆粒は稍々大きく融合も軽度認められる。染色度を0~4度に分類し、培養後時間を追つて観察したが高染色度は骨髄では5時間後0.76、末梢血では4時間後0.88であり、貪喰度に比し比較的緩徐に褪色した。

以上紡錘の墨粒貪喰及び中性紅生体染色を追求したが、第2編で述べた如き特有の運動形態と同様、栓球に極めて類似した成績を示した。又貪喰能の有無、生体染色所見により紡錘は明らかに淋巴球等とは区別出来、栓球と同様独立細胞である事を確認し得た。

第5章 結 論

健康人栓球及び家鶏紡錘の墨粒貪喰能並に中性紅生体染色を組織培養により検索し、次の結論を得た。

1) 健康人栓球には貪喰能及び吸着能を認めたが、運動形態により差異があり、I型、II型に貪喰、III型、IV型に吸着が夫々著明である。

貪喰率は培養後1~2時間後に最高を示し、以後低下し、吸着率は培養後時間と共に高くなる。

2) 中性紅により栓球は極めて微細な赤褐色乃至暗紅色の染色顆粒が現われるが、運動形態により多少の差異があり、I型、II型は染色率低く、III型、IV型は高い。

培養後4~5時間後に最高染色率を示す。

3) 次に家鶏の紡錘も貪喰能と共に吸着能を有し、運動形態により差異がありA型、D型に貪喰能が著明で、B型、C型は吸着能が高度で、貪喰は殆んど認めない。

平均貪喰度は骨髄では6時間後、末梢血では3時間後に夫々最高を示す。

4) 紡錘は中性紅により暗紅色乃至褐色の微細な染色顆粒を認めるが、栓球と同様運動形態により染色性が異なり、A型、C型は染色顆粒が特に微細で染色度低く、B型、D型は顆粒が稍々大きく融合も認め染色度は高い。

最高染色度は骨髄では5時間後、末梢血では4時間後に夫々示す。

擱筆するに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師平木教授並に角南講師に深甚なる謝意を表す。

(本論文の要旨は昭和32年度第19回日本血液学会総会に於て発表した)

文 献

- 1) 天野重安：血液学の基礎，上巻，昭23.
- 2) 安西茂則：日血会誌，13巻，320頁，昭25.
- 3) 泉与一：十全会雑誌，39巻，16頁，昭9.
- 4) 泉与一：十全会雑誌，40巻(上)，715頁，2228頁，昭10.
- 5) 泉与一：十全会雑誌，41巻(上)，80頁，昭11.
- 6) 海野源太郎：日血会誌，16巻，10頁，昭28.
- 7) 大電学：未刊.
- 8) 小野安三：未刊.
- 9) 緒方鷲雄：日病会誌，3巻，293頁，大3.
- 10) 加藤二郎：日血会誌，11巻，194頁，昭23.
- 11) 河鳥勇：日血会誌，4巻，71頁，昭15.
- 12) 木村廉：組織培養，昭30.
- 13) 清野謙次：生体染色研究の現況及び其検査術式，大10.
- 14) 栗原操：日血会誌，8巻，119頁，昭19.
- 15) 神前五郎：綜合臨床，5巻，1153頁，昭31.
- 16) 角南宏：岡山医学会雑誌，68巻，1169頁，昭31.

- 17) 杉山繁輝：血液及組織の新研究と其の方法，昭19。
- 18) 十川保：未刊。
- 19) 滝川清治：血液学討議会報告，第4輯，176頁，1951。
- 20) 棚橋文雄：日血会誌，3巻，107頁，昭14。
- 21) 谷藤藏：十全会雑誌，41巻，3514頁，昭11。
- 22) 田村甫：未刊。
- 23) 永井静：日本微生物学会雑誌，18巻，824頁，大13。
- 24) 長雄勝馬：日新医学，12巻，601頁，777頁，大11~12。
- 25) 野手雅信：十全会雑誌，33巻，1455頁，昭3。
- 26) 原和一郎：解剖学雑誌，19巻，250頁，昭17。
- 27) 平木深，大藤真：日血会誌，19巻，406頁，昭31。
- 28) 前原義雄：臨床病理血液学雑誌，1巻，65頁，昭7。
- 29) 室本仁：内科宝函，2巻，678頁，703頁，758頁，昭30。
- 30) 森喜久男：十全会雑誌，33巻，1532頁，昭3。
- 31) 森田久男，浅田敏雄：日血会誌，19巻，426頁，昭31。
- 32) 山尾正人：日血会誌，13巻，151頁，昭25。
- 33) 亙理善治：未刊。
- 34) Bessis, M.: *Blood*, 5, 1083, 1950.
- 35) Bessis, M.: *Cytology of the Blood and Blood-Forming organs*. 1956.
- 36) Bessis, M., Tabuis, J.: *Rev. d' hémat.*, 10, 753, 1955.
- 37) Bizzozero, J.: *Arch. f. path. Anat. u. phys. u. f. Klin. Med.*, 90, 261, 1882.
- 38) Braunsteiner, H.: *Acta Haemat.*, 3, 170, 1950.
- 39) Braunsteiner, H.: *Klin. Wochenschr.*, 29, 335, 1951.
- 40) Dantschakoff, W.: *Arch. f. mikro. Anat.*, 73, 117, 1906.
- 41) Dekhuyzen: *Zit. n. Werzberg*.
- 42) Donné: *Zit. n. 泉*
- 43) Erdmann, R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 15, 96, 1917.
- 44) Flössner, O.: *Zeitschr. f. Biol.*, 78, 37, 1923.
- 45) Fonio, A.: *Schweiz Med. Wochenschr.*, 69, 952, 1939.
- 46) Foot, N. C.: *Zieglers Beiträge*, 53, 446, 1912.
- 47) Forkner, C. E.: *J. of exp. Med.*, 50, 121, 1924.
- 48) Gohs, W.: *Folia haemat.*, 36, 337, 1928.
- 49) Gordon, L.: *Virchow Arch. f. path. Anat.*, 262, 19, 1926.
- 50) Herzog, D.: *Hirschfeld u. Hittmair's Handbuch der Allgemeine Haematologie*, I. (1933)
- 51) Jürgens, R., Graupner, H.: *Folia haemat.*, 57, 263, 1937.
- 52) Kasarinoff: *Folia haemat.*, 10, 391, 1910.
- 53) Klienberger-Carl: *Die Blutmorphologie Der Laboratoriumstiere* (1927)
- 54) Metschnikoff, E.: *Virchows Arch.* 96, 177, 1884.
- 55) Recklinghausen: *Zit. n. Bizzozero*.
- 56) Riess, L.: *Arch. f. exp. path. u. Pharmak.*, 51, 190, 1904.
- 57) de Robertis, E., Pašeyro, P., Reissig, M.: *Blood*, 8, 587, 1953.
- 58) Sabin, F. R.: *Bull. Johns Hopkins Hospital*, XXXIV—No. 391, 277, 1923.
- 59) Sabin, F. R.: *Zit. n. 天野*
- 60) Schaeffer, E.: *Folia haemat.*, 1, 239, 1939.
- 61) Schermer: *Die Blutmorphologie Der Laboratoriums tiere*. (1954)
- 62) Schultze, M.: *Arch. f. mikro. Anat.*, 1, 1, 1865.
- 63) Shaw, B.: *J. of path. and bacteriol.*, 33, 833, 1930.
- 64) Sugiyama, S.: *Zit. n. 天野*
- 65) Werzberg, A.: *Folia haemat.*, 10, 301, 1910.
- 66) Wolpers, C., Ruska, H.: *Klin. Wochenschr.*, 18, 1077 u. 1111, 1939.
- 67) Wright, J. H.: *Virchows Arch.*, 186, 55, 1906.
- 68) Zucker, M. B., Borreli, J.: *Blood*, 9, 602, 1953.

Studies on Platelets and Spindle Cells by Tissue Culture

Part 3.

Carbon-Particle Phagocytosis and Neutral Red Vital Staining
of Normal Human Platelets and Chicken Spindle Cells

By

Satoshi Hama

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

In the present report the author presents the results of observations on the carbon-particle phagocytosis and neutral red vital staining of normal human platelets and chicken spindle cells.

1) Normal human platelets possess both the phagocytic and adsorption capacities, differing according to the type of movement. Those with type I and II movement show a marked phagocytosis while those with type III and IV, a marked adsorption capacity.

The rate of the phagocytosis is at its maximum after one to two hour culture, and thereafter it gradually falls with the lapse of time, whereas the rate of the adsorption capacity becomes higher and higher along with the lapse of time.

2) In neutral red vital staining these appear extremely minute granules stained either reddish brown or dark red, but they differ somewhat according to the type of movement. Those with type I and II movement have a lower rate of staining while those with type III and IV a higher.

3) Next, chicken spindle cells possess both the phagocytic and adsorption capacities but they also differ somewhat with the type of movement. Those with type A and D movement have a marked phagocytic power whereas those with B and C type movement a marked adsorption capacity, but the latter have hardly no phagocytic capacity.

The average rate of the phagocytosis in bone marrow reaches its maximum after 6-hour culture and that in peripheral blood after 3-hour culture.

4) After neutral red staining minute granules appear stained either dark red or brown in spindle cells, but like platelets the staining differs according to the different types of movement. Those with type A and C movement show especially minute granules stained slightly, while those with type B and D movement reveal granules somewhat larger and stained deeper.

The average stainability in the case of bone marrow after 5-hour culture reaches its maximum and that in peripheral blood after 4-hour culture, respectively.
