

酸素欠乏組織内に移植された骨髓細胞の形態学的研究

第 3 編

全身貧血家兔に於ける移植骨髓細胞の増殖

岡山大学医学部病理学教室（指導：妹尾左知丸教授）

専攻生 木 村 三 雄

〔昭和 33 年 7 月 25 日受稿〕

I. 緒 言

著者は前編に於いて家兔の肝動脈を結紮し、このようにして O_2 欠乏状態に陥つた肝の骨髓細胞増殖状態を観察し、組織細胞が変性を起した周囲の部分のグリソン氏鞘内及び洞内にかなり著明な造血竇が長期に亘つて残る事を見出した。然しこの場合には肝の病変が可成高度で、一時増殖したと思われる細胞も再び変性に陥る傾向が認められる。そこで著者は全身貧血家兔に於いて同様な移植実験を繰返して長期観察をとげた結果、肝、脾に胎生期造血に酷似する造血竇の発生を起す事に成功した。よつて本編に於いてはその詳細について報告する。

II. 実験方法

成熟健康家兔15匹の耳静脈より3日間毎日瀉血30~50 ccを行ひ赤血球数200万以下の高度の貧血の状態において後、第1編の実験と同様にしてこの貧血家兔に骨髓細胞を注入する。注入後も常に赤血球数を200万以下に保つために、毎日20~30 ccの瀉血を継続する。

骨髓細胞注入後は24時間、48時間、72時間、1週間、2週間毎に1回に2~3匹を殺し肺、肝、脾、腎、副腎、腸間膜淋巴節、骨髓より組織切片を採り、ツエンケルフォルモール液固定後、Hämalaun-Eosinの普通染色を施し、之と対比するため割面のStampを作製しGiemsa或はMay-Giemsa染色を施して組織内細胞の分布、増殖状態を細胞学的に検索した。対照として第1編の正常家兔の組織切片及びStampを用いた。又同様の方法により高度の貧血のみを惹起せしめた家兔の末梢血の塗抹標本を作り、骨髓細胞を移植せる貧血家兔のそれと比較対照した。なお、貧血家兔動脈血の O_2 及び CO_2 含

有量は齊藤幸一郎氏の考案にかかる微量血液瓦斯分析装置(Mikro Van Slyke)を使用して測定した。

その測定方法に関しては「微量血液瓦斯分析法」612, 127, 1(齊藤幸一郎著)に詳しく述べられているので参照されたい。

III. 実験成績

骨髓性未熟血球の血液及び諸臓器に於ける分布及び細胞数

貧血家兔組織内に於ける骨髓細胞の分布並に細胞数、細胞の増殖状態は注入後の時間的経過並に髓器の種類により夫々の特徴を示すものではあるが、健常被移体内に於けるそれと比較する時、明らかな相違を示した。

末梢血液

第1編に於ける正常健康家兔の場合、或は第2編に於ける肝動脈結紮家兔の場合でも末梢血に出現する未熟血球は正赤芽球に限られ、然もその数は極めて少数であるが貧血家兔に骨髓細胞を注入した場合は、その末梢血に於いては可成り多数の正赤芽球を見、然も之に比して数は少ないが大赤芽球も出現して来る。

又24~48時間では前骨髓球が極く僅かに散見せられ、その他骨髓球及び後骨髓球は概ね各期に少数ながら見られるが淋巴芽球と思われる幼若細胞も時々認められる。

注射後1週間目では正常家兔ではNormoblastenは消失して見当たらないが、貧血家兔では高度の貧血にも拘わらず可成り多数の赤芽球が認められる。

白血球系は著しい白血球増多症を示し20,000 1 cu. mm. に達しているが、之等はその大部分が成熟顆粒球であり、その他種々の有核細胞も含まれている訳である(表1)。

表 1 貧血家兎に骨髓細胞注入後の末梢血液像の変化

経過時間 (日)		1	2	3	7	14
検査事項	赤血球数 (万)	200	123	183	192	185
	Hb sahli (%)	35	24	30	34	30
	色素指数	0.87	0.97	0.81	0.88	0.81
	白血球数	19120	12800	22600	17100	16700
分類	原赤芽球	0	0	0	0	0
	大赤芽球	3.2	2.0	2.0	0.8	2.8
	正赤芽球	14.0	23.6	14.8	22.8	15.0
	骨髓芽球	0	0	0	0	0
	前骨髓球	0.4	0.8	0	0	0
	骨髓球	0	0	1.2	0	0.4
	後骨髓球	0.4	0.4	0.8	0	0.4
	桿核球	6.8	5.6	4.4	2.8	13.2
	分節核球	29.6	26.0	22.8	20.8	25.4
	好酸球	0	0.4	0	0.4	0
	好塩基球	0	0	2.0	0.4	2.8
	淋巴球	34.0	37.2	47.2	49.2	36.0
	単球	7.2	3.2	4.0	2.4	4.4
其他	0.4	0.8	0.8	0.4	0	

次に同様の滴血の方法による高度の貧血家兎の末梢血を1週間に亘り観察した結果は次の如くである。即ち正赤芽球、大赤芽球共に前述の貧血家兎に骨髓細胞を注入した場合と同程度出現するが、大赤芽球は前述のものに比し僅かに少ない。又前骨髓球は各期を通じて出現しないが骨髓球、後骨髓球は前述のものと同程度出現する。

白血球増多症は極く僅かに認められるが前述のものに比べて遙かに軽度である。

肺： 肺に出現する骨髓未熟血球は第1編に於ける実験と同様に肺胞壁毛細管及びその他の細血管の内腔にあり大体に於いて全般に亘り均等に散在しており、次に述べる肝に於けるが如き限局性聚落を作る傾向は殆んど見られない。

細胞数も第1編に於けるよりはやや多い傾向にあるが著明な差は認められない。又巨核球も特に多数散見されるが1週間後ではややその数を減じ、2週間目には殆んど認められなくなる。次に注射後24時間では骨髓球系細胞が多く、その中では特に偽好酸性骨髓球が多く前骨髓球及び後骨髓球が之に次いでいる。

赤芽球系は骨髓球系に比し遙かに少なく、その中で大赤芽球が正赤芽球よりも多い。

注射48時間以後では骨髓球系が急激に減少し1～

表 2 反復滴血による末梢血液像の変化及び滴血量

経過時間 (日)		1	2	3	1W
検査事項	赤血球数(万)	175	200	184	200
	Hb sahli(%)	20	34	22	35
	色素指数	0.59	0.85	0.59	0.87
	白血球数	9840	7100	11000	6020
分類	原赤芽球	0	0	0	0
	大赤芽球	6.8	5.6	1.2	1.8
	正赤芽球	8.4	2.4	12.4	22.0
	骨髓芽球	0	0	0	0
	前骨髓球	0	0	0	0
	骨髓球	0.8	0.4	0.4	0
	後骨髓球	1.2	0.4	1.2	1.2
	桿核球	11.2	12.4	5.6	10.2
	分節核球	26.0	26.8	29.6	28.4
	好酸球	0.4	0	0	0.4
	好塩基球	0.8	0.4	0.8	1.2
	淋巴球	40.8	48.0	42.4	33.2
	単球	2.8	3.6	1.6	1.6
其他	0.8	0	1.2	0	

日	1	2	3	4	5	6	7	8	9
滴血量	50cc	45cc	50cc	25cc	40cc	40cc	30cc	20cc	30cc

図1. 貧血家兎に骨髄細胞注入後末梢血に出現する骨髄細胞数 (1立方耗)

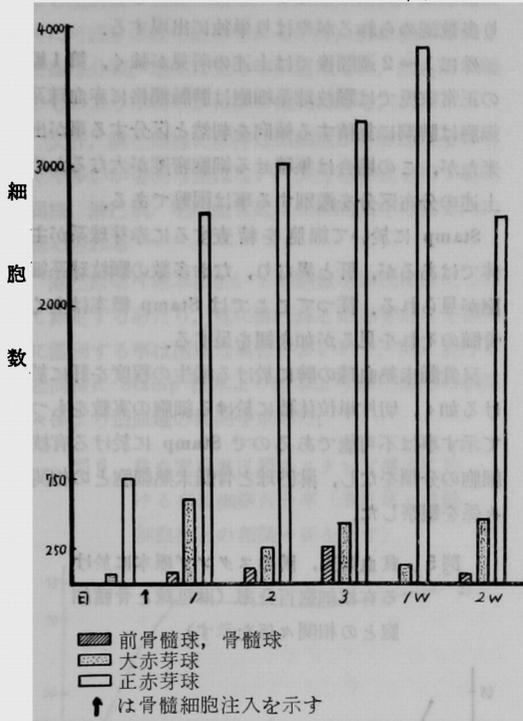
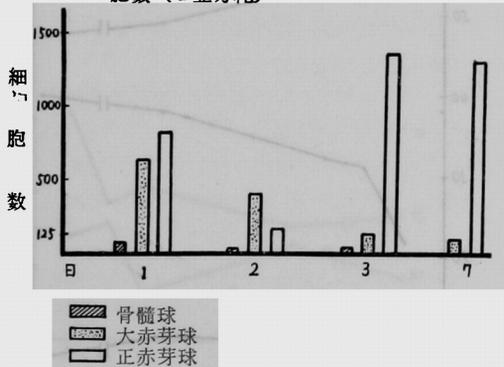
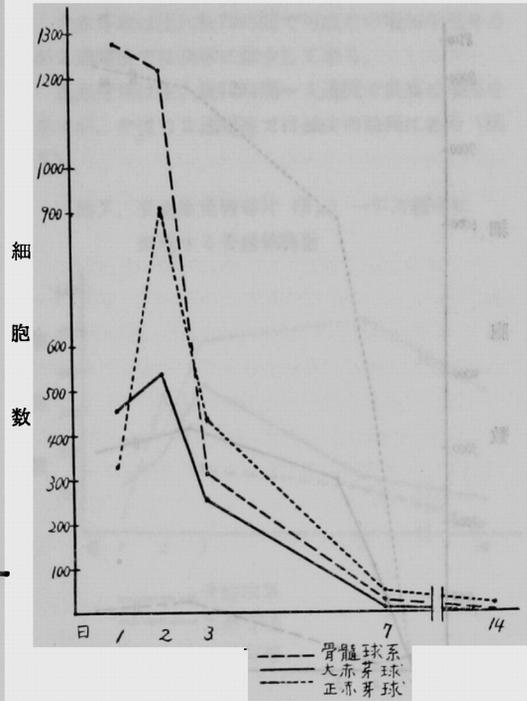


図2. 貧血家兎の末梢血に出現する骨髄細胞数 (1立方耗)



2週間では殆んど見なくなるに反し、赤芽球系は骨髄球系に比し減少の度が少く1週間後でも若干の数が認められ、スタンプ標本に於いても之を証明出来るが之れは末梢血のものが Stamp に現われたものと考えられる。それ故肺の切片1平方糎8 μ 中に出現する骨髄細胞数を算定し Stamp で細胞を分類すれば流血中の赤芽球が Stamp に現われ赤芽球が多い結果となるが、実際には赤芽球系は若干少ないものと考えられる。

図3. 貧血家兎, 肺切片 (8 μ) 一平方糎中に出現する骨髄細胞数



肝: 骨髄細胞注射72時間以後では肝はやや肥大の傾向が見られるが左程著明なものではない。

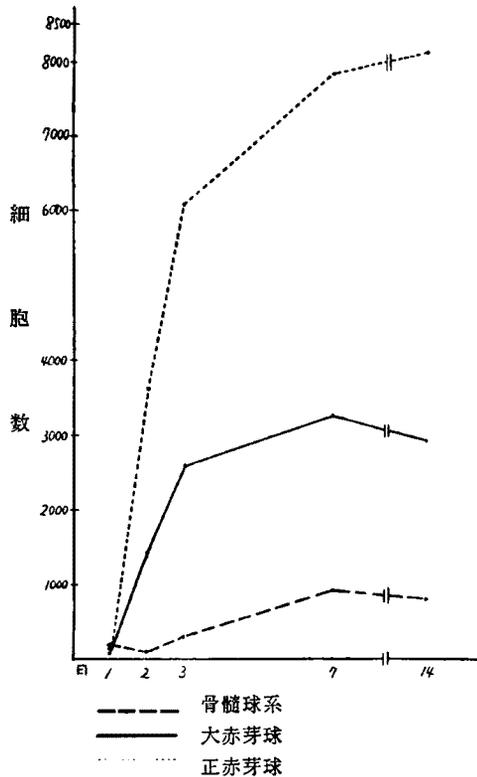
貧血家兎の肝では注射後24時間では第1編正常家兎に於けると同様の分布形成をとり、その細胞数の程度も大差は示さない。即ち赤芽球、骨髄球共に血管内性に或は散在性に小聚落をなして毛細管に出現する。又細胞数も骨髄球が赤芽球より明かに多い傾向にあり、グリソン氏鞘には赤芽球は余り多くは出現しないが、注射後48時間より2週間まで細胞数は増加の一途をたどり、然も細胞の比率は赤芽球系が圧倒的に増加し骨髄球系細胞は遙かに少ない(図4)。

細胞分布の形式は正常家兎に於けると同様肝の類洞に聚落を形成する傾向が強く、その他散在性にも多数の小聚落を見る事が出来る。巨核球も多数出現し毛細管に単独に認められる。

グリソン氏鞘に於いても明かに赤芽球と思われる細胞が比較的大きな聚落を形成しているのをしばしば認める事が出来る。

ここで特に興味深い事は正常家兎に於いては細胞増殖は注射後48時間を頂点とし次第に減少し、1週間後では殆んど消失するのであるが、之に反し貧血

図4. 貧血家兎, 肝切片 (8 μ) 一平方框中に出現する骨髓細胞数



家兎の場合は注射後48時間より急速に細胞数の増加を見、旺盛な増殖を示し、注射後1~2週間で最高度に達するのである。之等の細胞は大部分は赤血球系の細胞から成り多数の正赤芽球と共に可成多数の大赤芽球が認められるのである。その像は明かに胎生期の肝造血の像に酷似し明な増殖、成熟を思わせる像である。

末梢血中に正赤芽球が多数出現する事は、このような造血竈の発展の結果と考えられる。

脾：脾は毎常肥大し48時間以後では3~4倍に達する。

第1編の正常家兎に於いても脾が臓器中、最高度の細胞集積を示す事を述べたが貧血家兎の場合でも同様である。

骨髓球も赤芽球も集積部位は主として脾の赤髓に限られており、時間の経過と共に赤芽球聚落が第1編の正常家兎に於けるが如く、脾洞にだけではなく脾髓網格にまでも及び稠密な細胞集積を示すが、骨髓球系細胞は之に比べて遙かに少数である。これ等の大聚落のために脾洞は著しく拡張され、脾梁はこの

ために萎縮に陥つた像が認められる。

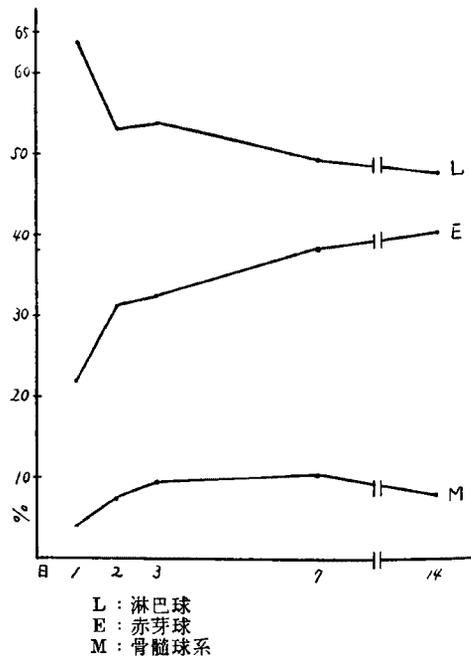
巨核球も脾洞のみならず赤髓の他の部分にも可成り多数認められるがやはり単独に出現する。

殊に1~2週間後では上述の所見が強く、第1編の正常家兎では顆粒球系細胞は脾髓網格に赤血球系細胞は脾洞に集積する傾向を判然と区分する事が出来たが、この場合は集積せる細胞密度が大なるため上述の分布区分を鑑別する事は困難である。

Stamp に於いて細胞を精査するに赤芽球系が主体ではあるが、肝と異なり、なお多数の顆粒球系細胞が見られる。従つてここでは Stamp 標本は全く骨髓のそれを見るが如き観を呈する。

又骨髓未熟血球の脾に於ける増生の程度を肝に於ける如く、切片単位体積に於ける細胞の実数をもつて示す事は不可能であるので Stamp に於ける有核細胞の分類をなし、淋巴球と骨髓未熟細胞との相関々係を観察した。

図5. 貧血家兎, 脾のスタンプ標本に於ける有核細胞百分率 (淋巴球と骨髓細胞との相関々係を示す)



腸間膜淋巴節

骨髓細胞注入後は各期を通じて腸間膜淋巴節に於いて著明な腫脹は認められなかつた。

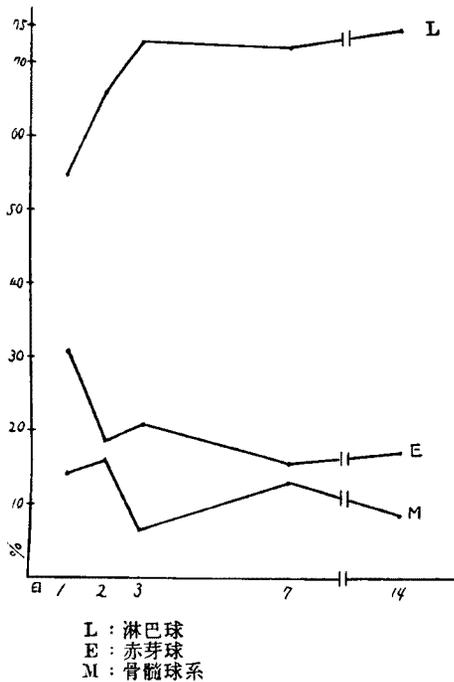
第1編の正常家兎に於いては注入後時間の経過と共に速に細胞数を減じ1週間目では消失するが貧血

家兎の場合では時間の推移と共に幾分の減少はあつても注射後2週間に亘り、骨髓球系細胞、赤芽球系共に可成りの数で認められるが肝、脾に於ける如き旺盛な分裂、増生は見る事が出来ない。然し第1編のものよりは明らかに多い傾向にある。

又肝、脾と同様に赤芽球系細胞が骨髓球系よりもやや多いが著明な差はない。又分布形式も第1編と同様、淋巴洞、毛細血管或は比較的大きな血管内に認められる。

淋巴節切片標本に於いて細胞数を単位体積について算定するあたり、殊に淋巴球と正赤芽球とを確実に鑑別する事は困難な場合が多いので、脾に於けると同様に Stamp 標本より標本より淋巴球との相関々係より造血量の傾向を求めた。

図6. 貧血家兎淋巴節のスタンプ標本に於ける有核細胞百分率(淋巴球と骨髓細胞数との相関々係を示す)



腎：腎に於いては注入後24時間～2週間を通じて第1編の正常家兎の腎に於けるよりは、骨髓細胞数はやや多い傾向にある。

細胞の分布域はやはり主として腎皮質にあり、糸球体の毛細血管内或はその他の毛細血管及び細静脈内に小聚落が認められた。

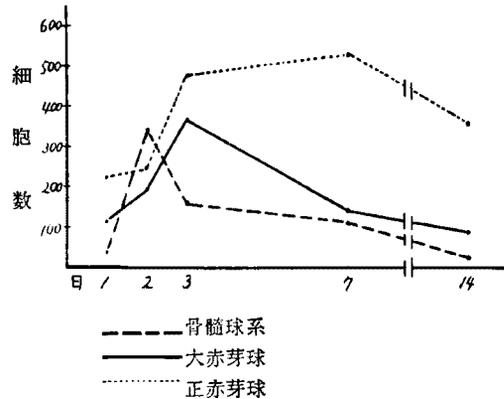
骨髓球系細胞は注射後48時間で1時やや増加を見

るが、その後は次第に減少し2週間後では殆んど見られなくなる。

大赤芽球は注入後72時間で可成りの増加を見せるが2週間後では次第に減少して来る。

正赤芽球は注入後72時間～1週間で最高の増生を示すが、やはり2週間後では減少の傾向にある(図7)。

図7. 貧血家兎腎切片(8μ)一平方程中に出現する骨髓細胞数



副腎及び骨髓：

副腎に於いてはやはりある程度の細胞集積を見るが正常家兎のそれとほぼ同様であるが、貧血家兎の場合は注入後2週間まで僅かながら骨髓未熟血球の存在を認め、之等の細胞は正赤芽球が主体であり、大赤芽球も散見せられ極く少数の骨髓球も認める事が出来る。

骨髓に於いてもやはり未熟細胞の分裂増生の傾向にあり、赤芽球系細胞が著明に多く認められる。

IV. 考 按

この編に於ける実験では反復瀉血を行い、赤血球数200万以下の高度の貧血家兎を被移植体として使用したのであるが、之の場合は第1編に於ける正常家兎を使用して各組織に形成した造血量に於ける各種骨髓性未熟血球の態度とは明らかな相違を示した。

先づ末梢血では第1編では極く少数の正赤芽球が出現するのみであるが、本編の実験では各期を通じてその末梢血に第1編とは比較にならぬ程度の多数の骨髓細胞が出現し、然も前骨髓球や大赤芽球の如き幼若型も多数出現する。

次に反復瀉血により同程度の貧血のみを惹起せしめた場合、その末梢血には多数の正赤芽球と可成り

の骨髓球，大赤芽球の出現を見るが之等の細胞数は骨髓細胞を注入した場合のそれよりは遙かに少ない¹⁰⁾。

次に各組織に於ける造血竈について見るに第1編に於けると同様，細胞の最も旺盛な分裂，増生が見られるのは肝及び脾である。然も肝，脾共に1~2週間では第1編とは比較にならぬおびたしい細胞数の集積を示しており，殊に赤芽球系において著しい。

この事は高度の貧血家兎（赤血球数200万以下，動脈血のO₂含有量6.0~8.3 vol%，CO₂ 28~31.2 vol%）に於いては特に赤芽球系細胞の旺盛な分裂増生が促進される反面，斯くの如き低O₂張力の状態では胎生期に於ける造血の場である肝，脾に於いて胎生期造血への復帰の現象が起り，斯くも長期間に亘り造血竈が保たれるものと考えられる。

この事実は胎生期髓外造血及び之れが生後速に消失して行く機転が酸素の張力の変化によつて行われている事を示唆するものかも知れない¹¹⁾。

之に反し肺に於いては正赤芽球が注射後48時間目に一時増加するが，その後は速に減少し1週間後では著しく減少し他の細胞も1週間後には殆んど消失する。之の傾向は第1編に於ける同様である。之の事は肺に於いては高O₂張力のため，幼若赤芽球の成熟の抑制があり，又一時肺に抑留され引懸つた大型の細胞も速に動脈血流により末梢血に移行し，各組織に到達するものと考えられる⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾。

淋巴節に於いても2週間後まである程度の細胞の發育，増生が見られるが著明なものではない。

腎に於いても2週間後まで造血竈は認められ赤芽球系の増生がやや著明であるが，肝，脾に比べればその程度は遙かに僅少である。

副腎に於いて同様の傾向にあるがその程度は更に僅少である。

以上の如く殆んど各組織に共通なる現象は，2週間後の長期までも造血竈が保たれ，殊に赤芽球系細胞の増生は特に著しい事である。

実験的に髓外造血竈を形成せしめる事は先人によ

り種々試みられており，その報告も文献上に求めれば，その代表的なものは第1編に於ける尾曾越氏による骨髓細胞の血行内移植¹⁰⁾，Livadasによるサポニン貧血による実験¹²⁾，或いは又Brannanによる反復瀉血のみによる貧血の場合の髓外造血¹³⁾等であるが，いずれの場合もその造血竈は軽度であり，その持続期間も短い。著者は高度の貧血家兎に骨髓細胞を移植して殊に肝，脾に於いて高度の髓外造血竈を形成せしめ，それらの細胞の分裂増生の態度を形態学的に長期間に亘り観察する事が出来た。

V. 結 論

家兎に反復瀉血を行い，赤血球数を200万以下となし，之に第1編と同様，骨髓細胞浮遊液を大量に注射し，各組織に於ける血液細胞の態度を形態学的に逐目的に追求し第1編に於ける正常家兎のそれと比較した。

1) 末梢血に於いては多数の正赤芽球のみならず大赤芽球や骨髓球，前骨髓球も可成り見られた。

2) 肝，脾に於ける造血竈の血液細胞殊に赤芽球系細胞が最も旺盛な發育を示し脾が最高度である。肝に於ては胎生期に於ける髓外造血竈に酷似した像を呈した。之等の増生は1~2週間目に於て最も高度であつた。

3) 肺を除いた各組織共に正常家兎のそれよりは明らかに血液細胞の發育増生が旺盛であり，造血竈の持続期間も長期に亘つている。

4) 以上の事よりして胎生期の髓外造血竈が出産後急速に骨髓へ移行するのは急激なるO₂，CO₂代謝の変化によるのではないかと考えられ又造血調節機構の一大要素はO₂張力にあるものとする。

稿を終るに臨み終始，懇篤なる御指導御鞭達並びに御校閲を賜つた恩師妹尾教授に対し深く感謝いたします。

(本論文の要旨は第19回日本血液学会に於いて発表した)

文 献

- 1) Wintrob, M. M. : Extramedullary Hematopoiesis, Clinical Hematology, 48, 1956.
- 2) Brannan, D. : Extramedullary Hematopoiesis in Anemias, Bull. Jons Hopkins Hosp. 41, 104, 1927.
- 3) Wintrob M. M. : Relation of Disease of the liver to anemia, Arch. Int. med., 57, 289, 1936.
- 4) 齊藤幸一郎 : 微量血液瓦斯分析法, 612, 127.
- 5) Odell, T. T. J. R., and Smith, L. H. : Loca-

- lization of injected bone marrow cells by autoradiography, *act. haematol.* **19**, No. 2, 114, 1958.
- 6) Brown, M. B., Kaplan, H. S., Weimuth, P. P., and paull, J. : Effect of intravenously injected bone marrow cell suspension on thymic regeneration in irradiated C⁵⁷ black mice. *science* **117**, 693—695, 1953.
- 7) Kaplan, H. S., Brown, M. B., and paull, J. : Influence of bone-marrow injection on thymus involution and neoplasia of mouse after Systemic irradiation. *J. Nat. Cancer Inst.* **14**, 303—316, 1953.
- 8) Hilfinger, M. F., Jr., Ferguson, J. H., and Riemenschneider, P. A. The effect of homologous bone marrow emulsion on rabbits after total body irradiation. *J. Lab. & clin. med.* **42**, 581—581, 1953.
- 9) Lindsey, D. L., Odell, T. T., and Tansche, F. G. Replacement of functional erythropoietic elements following total body irradiation. *proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **90**, 512—515, 1955.
- 10) 尾曾越 : Transplantation of hematopoietic tissues into the circulating blood. II. Injection of bone marrow into normal rabbits, with special reference to the histogenesis of extramedullary foci of hematopoiesis. *Anat. Rec. V.* **108**, No. 4, Decem. 663—686, 1950.
- 11) 福武, 高橋 : 骨髓の酸素量と造血. 東京医科歯科大学雑誌. **8** (4) 445, 昭25.
- 12) Livadas, K. : Über myeloid Herdbildung. *Folia haematol.*, **49**, 338, 1933.

写 真 説 明

写真 1～5. 肝切片 H. E. 染色標本

1) 骨髓細胞注入後 1 週間 (弱拡大)

肝類洞は著明に拡張しその中には散在性に或は小聚落をなして多数の骨髓細胞が集積している。

2) 同 (強拡大)

集積した骨髓細胞は赤芽球が主体であるが中央には巨核球が単独に出現している。

3) 注入 1 週間後 (弱拡大)

グ氏鞘に栓塞状に集積された細胞が多数見える。下方には類洞内に散在性に骨髓細胞の小聚落を形成している。

4) 同 (強拡大)

5) 骨髓細胞注入後 2 週間 (強拡大)

骨髓細胞の数は 1 週間後のものより少々多い傾向にある。胎生期肝に於ける髓外造血電に酷似した像である。

写真 6. 骨髓細胞注入後 2 週間の肝スタンプ may-giemsa 染色標本。正赤芽球及び大赤芽球が小聚落を形成している。

写真 7. 注入後 2 週間の肝切片 H. E. 染色標本, グ氏鞘の赤芽球聚落, 血管内にも散見せられる。

写真 8～12. 脾切片 H. E. 染色標本

8) 骨髓細胞注入 2 日後 (弱拡大)

赤芽球聚落は拡張した脾洞内やその他の毛細管内に多数見られる。

9) 注入後 3 日 (弱拡大)

細胞の集積密度はますます稠密となり胎生期の脾に於ける造血電によく似た像を呈している。

10) 同 (強拡大)

11) 注入後 2 週間 (弱拡大)

骨髓細胞の集積は最高度となり, 此等の細胞は管内性にとどまらず網格にまで及び脾の固有の構造は識別出来ない。各所に巨核球が散見せられる。

12) 同 (強拡大)

脾の赤髓は骨髓細胞で充滿された感がある。中央に見える大きな細胞は巨核球である。

写真13. 骨髓細胞注入後2週間の脾スタンプ may-giemsa 染色標本.

多数の赤芽球と少数の前骨髓球を認め骨髓塗沫標本を見るが如き感がある.

写真14~16. 腎切片 H. E. 染色標本.

14) 骨髓細胞注入後2週間 (弱拡大)

細静脈内壁に着生している赤芽球叢が認められ, 又少数の赤芽球が赤血球に混在している.

15) 注入後2週間 (弱拡大)

腎皮質の系球体に極少数の骨髓細胞が見える. 又中央には小葉間静脈内に赤芽球叢落を認める.

16) 同 (強拡大)

Morphological Studies on the Transplanted Bone-Marrow Cells introduced into the Hypoxygenic Tissues

Part 3. The Extramedullary Hematopoiesis in Anemic Animals

By

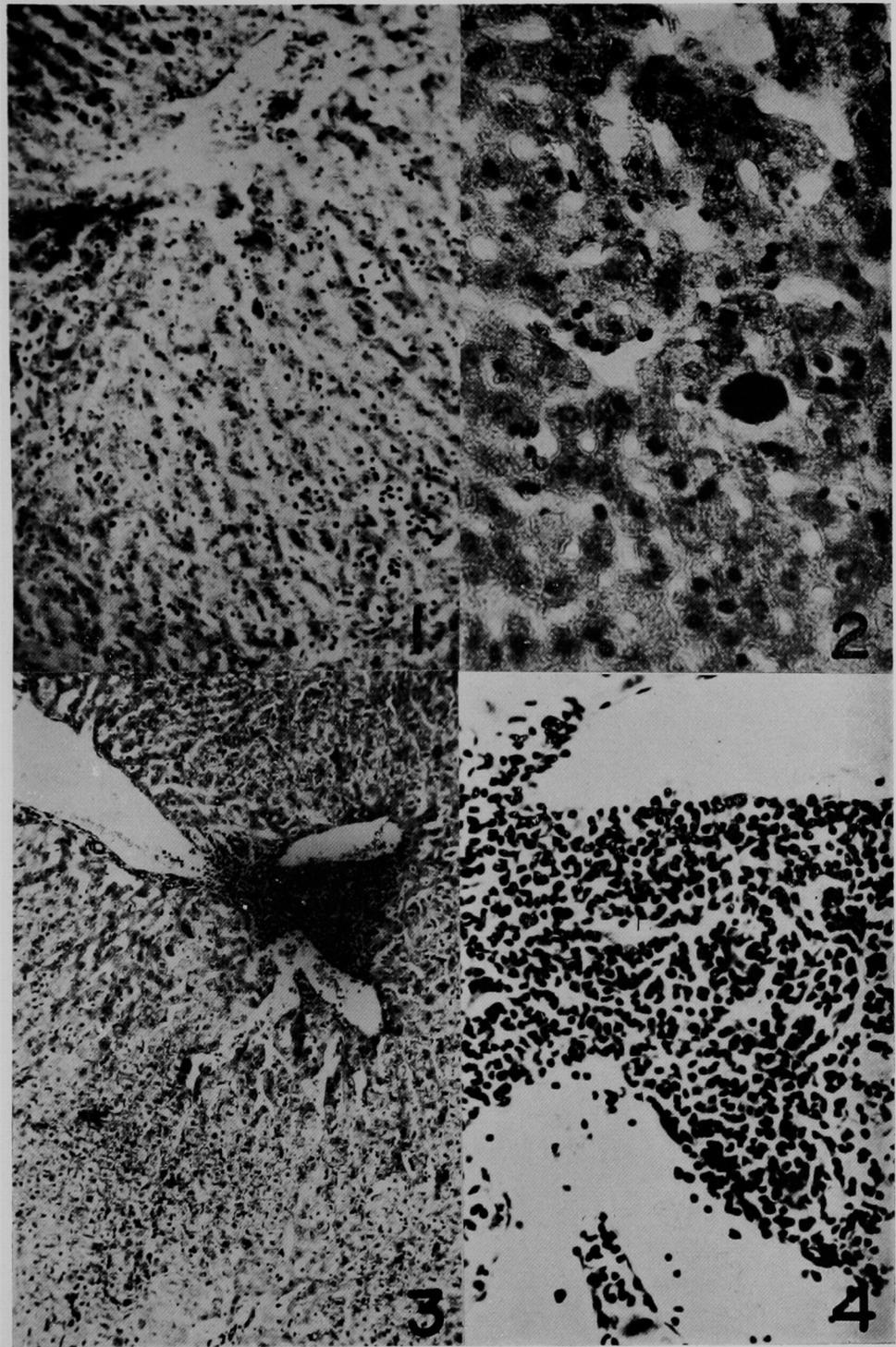
Mitsuo KIMURA

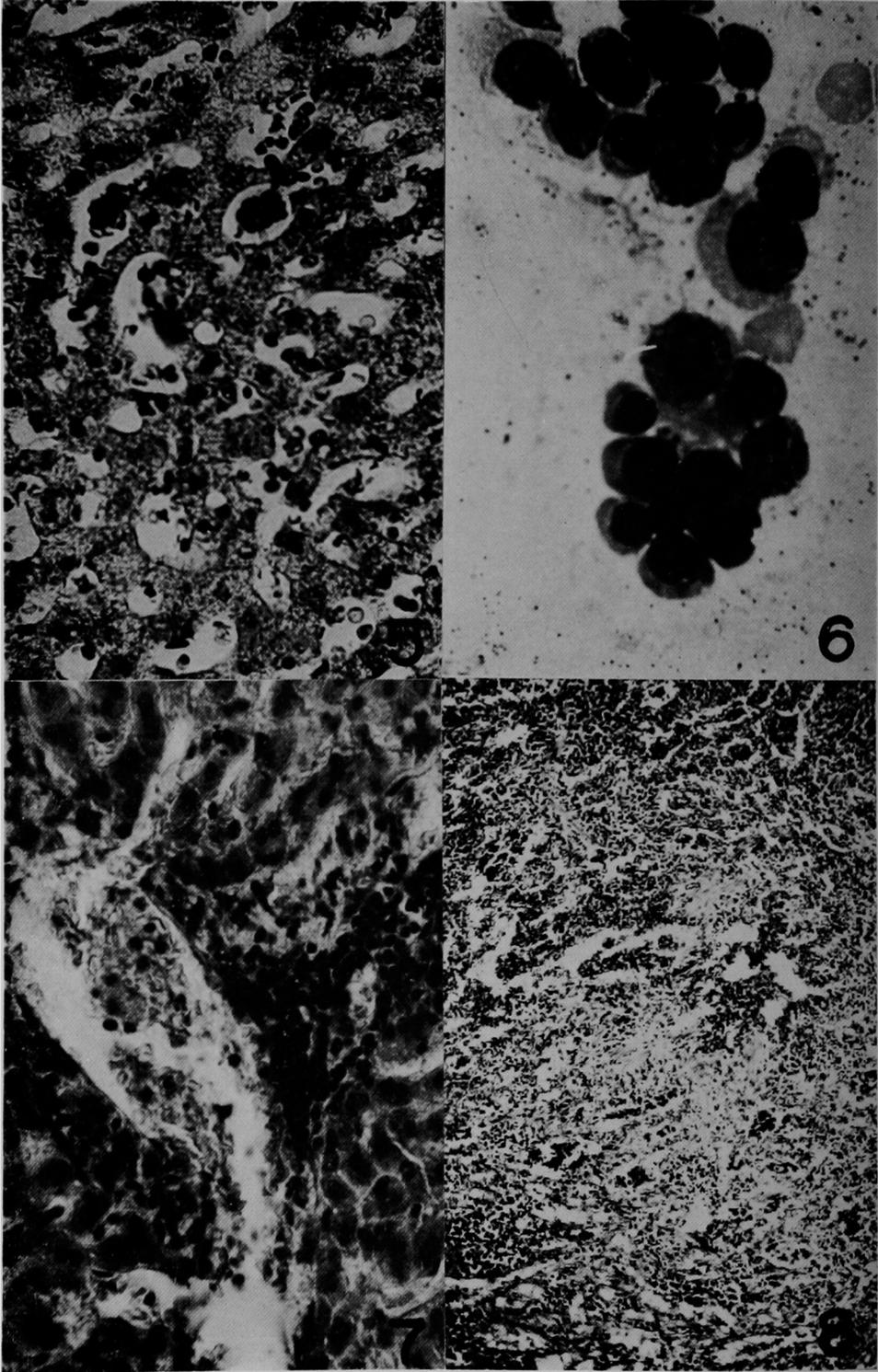
Department of Pathology Okayama University Medical School
(Director: Prof. Satimaru Seno)

The most striking effect of a lowered oxygen tension in tissues on the growth of transplanted bone-marrow cells has been observed in the anemic animals previously depleted of a large quantity of blood daily so as to keep the erythrocyte count under two millions per cu. mm.

In the liver, spleen, and probably in the lymphnodes of these animals the transplanted bone-marrow cells proved to be surviving through the whole course of the experiment lasting for two weeks, and showing an active proliferation in the sinusoids of the liver and in the sinuses of the spleen and sometimes in the lymphnodes, giving the picture like those of embryonal hematopoiesis seen in these organs.

木村論文附图





木村論文附図

