

# 骨髓体外組織培養による好酸球に関する研究

## 第 2 編

### 各種好酸球増多症患者の胸骨骨髓培養に おける好酸球運動の観察

岡山大学医学部平木内科 (主任: 平木 潔教授)

副手 井 上 正 勝

[昭和33年5月20日受稿]

#### 内 容 目 次

第1章 緒 論

第2章 実験方法

第3章 実験成績

第1節 人好酸球運動形態の新分類法

第2節 正常人好酸球の運動

第3節 鉤虫症患者好酸球の運動

第4節 気管支喘息患者好酸球の運動

第4章 総括並びに考按

第5章 結 論

#### 第1章 緒 論

好酸球は臨床上色々の疾患に際して増加或は減少を来し、その数的変動は極めて興味のある所であり、屢々その疾患の診断的根拠となり、或は類似疾患との重要な鑑別点となる事は周知の通りである。しかし、好酸球増多症は種々の疾患に於て認められるが、その末梢血をギムザ染色をすると、何れも同様に染色され、好酸球性白血病は別としても、その数的変動以外は、成熟好酸球には格別の染色形態学的な変化を認める事は出来ない。しかるに、最近清水・八田<sup>44)45)46)58)</sup>は好酸球のペルオキシダーゼ反応について研究し、興味深い結論を導いた。即ちベンチジン、硫酸銅液、ビタミンC、過酸化水素を用いるペルオキシダーゼ反応に対する態度によつて、好酸球を3型に分けた。即ち鉤虫症、骨髓性白血病、下垂体副腎皮質不全症などで好酸球増多症を呈する場合には、空腹時と食後1時間の好酸球のペ反応は黄色であり (I型、鉤虫症型)、健康人の好酸球のペ反応は空腹時には青色、食後に黄色となり (III型、正常型)、気管支喘息更にストマイとヒドラジッド使用後の好酸球増多症にみられる好酸球は、前2者の中間 (II型、気管支喘息型) であるとした。更にこの様な反応の差異が、好酸球に含まれる還元物質の多寡によつて起り、還元物質が多いために、黄色に

なる事を銀反応で確かめた。食後正常者の好酸球が黄色を示すのは、グルコースがふえる為という。I型とII型に含まれる還元物質は、チロシンのフェノール水酸基が遊離したものと考え、氏等は好酸球の機能は、至適酸化還元電位の下で酸化を促進するものであると推論した。以上の細胞化学的研究により、好酸球を質的に分類した事は注目に値する事である。

さて好酸球の運動形態学的研究としては、千田<sup>48)</sup>等の末梢血における超生体観察による記載があるが当教室考案の骨髓体外組織培養法によつて、各種骨髓白血球の生態運動が、生々としてしかも長時間に亘つて観察出来る様になった。そして好酸球についても大藤<sup>33)</sup>、巨理<sup>35)</sup>の記載、山本<sup>59)</sup>の好酸球減少機転におけるアドレナリン、ACTH、コルチゾンに関する研究、安東<sup>1)</sup>の顆粒運動の研究等がある。千田氏は、末梢血の超生体観察法により、好酸球運動形態をI~IV型に分類し、鉤虫症患者の好酸球の各運動型の百分率は、健康人のそれと異つていと述べている。

さて鉤虫症や気管支喘息患者に於ては、血液像に好酸球増多症を認めるが、これらの疾患には、健康人とは異つて、夫々身体内の変調乃至代謝異常が存する事は当然考えられ、従つてこれらの変調が、好酸球に対しても単に数的増加のみならず、清水等の

云つている様に質的にも、或は更に好酸球の運動形態にも影響を及ぼしても不思議ではない。もし疾患別に好酸球の運動様式に可成りの特異像が存在するならば、逆に骨髓培養を行い、好酸球の運動を観察する事によつて、臨床上鑑別診断の一助ともなるであろう。このような恩師平木教授の御示唆に従い、私は主として鉤虫症並に気管支喘息患者の胸骨骨髓培養を行い、夫々の疾患に於て好酸球に殆んど特異的と見做さるべき運動様式の存在する事を見出したので、茲に報告する次第である。尚これに先立ち、人好酸球の運動形態の新分類法について述べる。

## 第2章 実験方法

(1) 実験材料：健康人、鉤虫症患者及び気管支喘息患者の胸骨穿刺によつて得た骨髓組織片を使用した。

(2) 実験方法(培養術式)：教室考案による簡易法<sup>15)16)18)36)</sup>によつて骨髓培養を行つた。培養器具はすべて乾熱滅菌又は煮沸消毒をなし、培養操作は無菌的に行う。先ずスライドガラス上に血清を1滴とり、適当な大きさに拡げ、ついで骨髄片をのせ、チヨコラ B12 の1滴を加え、これにカバーガラスをかけて周囲をパラフィンにて封じ、37.5°C の孵卵器内に置き、適時取り出して保温装置内で観察する。運動観察には位相差顕微鏡も併用した。

## 第3章 実験成績

### 第1節 人好酸球運動形態の新分類法

人好酸球の運動型の分類には、古くは栗原<sup>2)</sup>の分類がある。氏は白血球の姿態を瞬間的に熱気固定し染色をなし、その短径と長径との比を以て形状を表現して、好酸球の延長の度を7種類に分類した。千田<sup>4)</sup>等は末梢血の白血球の超生体観察を行い、好酸球の運動型をI—IV型に分け詳細な記載をしている。教室の大藤<sup>33)</sup>、亙理<sup>35)</sup>は、骨髓白血球の運動形態を骨髓体外組織培養法によつてA型~H型に分類し、長径と短径との比により、A型は長径が短径の3倍以上のもの、B型はそれ以下のもので、各々を更に分岐を有しないもの(A1, B1)、及び分岐を有するもの(A2, B2)に分類し、成熟好酸球は主にA型、B型運動をなすとした。教室山本<sup>59)</sup>は好酸球の運動形態をI~V型に分類しているが、何れの分類も夫々特徴があるが、比較的簡単なために、私は本編の特殊な研究目的のために新たに人好酸球の運動形態分類法を工夫せざるを得なかつた。例え

ば大藤・亙理の分類法でB1型に属するものでも之を詳細に観察すれば、ニューアンスの異なる数種の亜型に更に分類可能である。私は運動形態の新分類法に際して、好酸球の運動形態と運動機能との間に、出来るだけ有機的な関聯性を持たしめる様に念願した。そのために、細胞主体前進期における核の細胞内位置に着目し、この核の占める部位が、細胞の運動機能亢進或は減退と密接な関係にある事を知り、これに重点をおいた。一般に顆粒球である所の好酸球並に好中球に於ては、顆粒が先進し、核が後進するのが通例である。これに反して顆粒の少ない好塩基球や、リンパ球、単球に於ては、核が先進するのが普通である。ただ海狸の好塩基球は第1編で述べた様に粗大な顆粒が多いために、核は細胞の後半部に位置する事が多い。ところで、好酸球の核は細胞の後半部に存在しているが、運動機能が次第に低下して来ると、屢々核先進像を見る事がある。逆に運動機能の著明に亢進する場合、例へば本編で詳述する鉤虫症好酸球では、後に述べるIB型の如く細胞の後半部は核のみによつて占められ、顆粒は殆んど含まれない。この様に好酸球の運動機能が胞体内の核位置と密接な関係を保つているように思えるので、好酸球の運動形態分類に際して、私は細胞主体前進期における細胞の形態、偽足の分岐状況、長径と短径との比の他に、核の細胞内位置及び運動速度を加味した分類法を工夫した。しかし、同一好酸球に於ても、培養経過と共に運動機能は次第に低下して行くから、その運動型も相互に移行する事は云う迄もない。

第1図はその人成熟好酸球の運動形態分類法であるが、次にその各型の運動形態学的特徴を、従来の教室分類法と比較対照しながら、簡単に記述する。

I型：これは更にA, B, C, Dの4亜型に小分類した。IA, B, Cは大藤・亙理の分類法のB1型に含まれ、IDはA1型に相当する。要するにI型は偽足が明瞭に二叉に分岐する事なく、且つ核が細胞の後半部乃至中央部に位置するものを云う。IA型は人好酸球の運動最盛期に於て最も普通に見られる型で、基本型をなすものである(写真1)。IA型の核は細胞の後半に2核が平行して存在し、核と細胞膜との間、2核の間隙、核の後方等に少数の顆粒が存在し、偽足は鋸齒状の事が多い。遊走速度は10—26  $\mu$ /mで平均15.1  $\mu$ /mである。IB型(第4図並に写真2, 3)は、IA型に類似するが、細胞の略々中央部で、外形質の鋭利な「クビレ」を

第1図 人骨髓好酸球運動形態の分類 (井上)

運動型	I				II	III	IV	V
	A	B	C	D				
平均遊走速度	15 $\mu$ /m	18 $\mu$ /m	9 $\mu$ /m	7 $\mu$ /m	16 $\mu$ /m	8 $\mu$ /m	5 $\mu$ /m	2 $\mu$ /m
静止期   尾形   細胞主体   前進期   偽足   形成期   原型期								

認め、これより後半は核のみによつて占められ、この部の細胞膜は弓形の弧を画き、核と細胞膜とは密着し、又2核も相互に密着し、この間に殆んど顆粒を認めず、核より後方の原形質に極く少数の小顆粒を認めるのみで、細胞後半部は外形質の収縮能が著しく大であるが、「クビレ」より前半は自由に変形し、顆粒は偽足の方向に流入する。偽足は鋸歯状又は舌状。遊走速度は大で、15-23 $\mu$ /m。平均17.7 $\mu$ /mを示し、運動機能の著明な亢進像であり、鉤虫症患者に特異的に認めた。しかし第3編で述べる様に、健康人骨髓培養でも、鉤虫症患者血清を使用すると少数ながら認める。次にIC型もIA型に類似するが、核が細胞の中央部に位置するために、顆粒によつて核の周囲が覆われ、核膜の境界を明瞭に認め難いものを云い、運動機能の軽度低下像である。短尾を形成するものが多い。遊走速度は5-13 $\mu$ /m。平均9.0 $\mu$ /m。ID型は、核は細胞の中央乃至後半部に存在するが、胞体が細長く延びるもので、頻度は割合少ない。遊走速度は4-10 $\mu$ /mで平均7.0 $\mu$ /mである。

II型 大藤・亘理の分類法のB2型に相当し、この型の特徴は、運動開始期に偽足が2ヶ所より出て明瞭に分岐するものを云う。その中、何れか一方の偽足に顆粒が流入して、細胞は前進する訳であるが、II型とIA型は屢々移行するが、後者の方が多い。II型は更に分岐部の「切れ込み」の深い型や、細胞が細長く延びる型などに小分類する事も可能であるが、一般には非常に少ないので省略した。遊走速度は15-20 $\mu$ /mで平均16.4 $\mu$ /mで活発に運動する。III型は頻度は少ないが、時々遭遇する。即ち

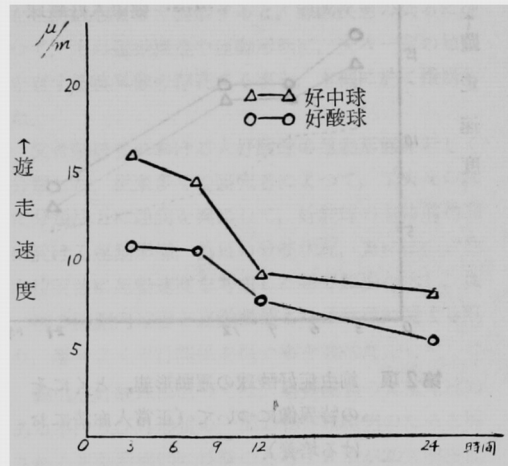
偽足が細胞の側方近くに出現し、顆粒はその方向に核の前を横に流動し、「横這ひ」型であり、運動速度は低下しており、7-9 $\mu$ /m、平均8 $\mu$ /m前後である。IV型は好酸球の前進期の一時期に、1核又は2核が先端に位置し、所謂「核先進像」を呈する。多くは1核が先進し、1核は細胞の中央部にある。運動機能は強く低下し平均4-5 $\mu$ /mである。V型は運動停止する直前のもので、僅かに偽足が出没して胞体の変形が認められるのみである。

第2節 正常人好酸球運動の観察

第1項 遊走速度

正常人好酸球の骨髓培養(簡易法)における遊走速度は、第2図の示す様に好中球の遊走速度より常に劣る。

第2図 健康人胸骨骨髓培養(4例平均) 健康人血清使用



第2項 正常人好酸球の運動形態の時間的推移。

原組織に接する部には、幼若好酸球やV型が存在するが、ここではよく運動している成熟好酸球について述べると、培養初期(3-8時間目)には、IA, IC, II型がこの順に多いが、培養経過と共にIC, IV型, V型が増加して来る。

第3節 鉤虫症患者の好酸球運動の観察。

本実験で胸骨穿刺を行つた患者は第1表の如くである。

第1項 遊走速度 (正常人血清を使用して培養)

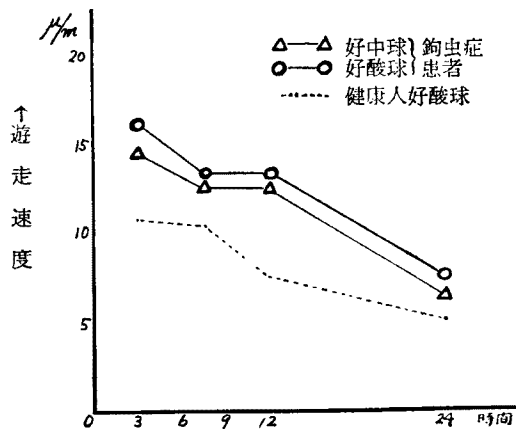
鉤虫症好酸球の遊走速度は、好中球よりもやや優

第 1 表 鉤 虫 症 患 者

	氏 名	性	年 令	末 梢 血 液 像				駆虫剤投与にて排出せる数
				H b	R	W	Eo %	
1	二 〇 豊 〇	♀	31才	40%	265万	15,250	41%	87隻
2	稲 〇 富 〇	♀	44才	78%	383万	3,500	27%	38隻
3	逸 〇 直 〇	♂	47才	78%	396万	10,200	26%	96隻
4	横 〇 婦 〇	♀	56才	69%	326万	7,200	22%	33隻
5	大 〇 照 〇	♂	26才	99%	563万	11,300	10%	7隻

り、従つて正常人好酸球のそれよりも遙かに速い(第3図)。即ち運動機能の亢進を認めた。これは本症好酸球增多症患者の骨髓好酸球の重要な特徴の一つである。

第3図 鉤虫症患者胸骨骨髓培養(4例平均) 健康人血清使用

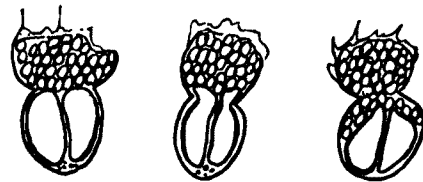


第2項 鉤虫症好酸球の運動形態、とくにその特異像について(正常人血清における培養)。

培養3~9時間目には、IA、IC型等が、正常人と略々同程度に存在するが、特異的な事は分類法で述べた様に、IB型が約20~25%に存在する事である。駆虫をしていない鉤虫症患者の骨髓培養では、常にIB型を認めた。又細胞膜が崩壊して顆粒の散乱せる好酸球を屢々認めた(写真4)。培養12時間目にはIB型は約13%に減じ、その他、IC、IA、IV、ID型等の運動型を見る。培養24時間目に至ると、IB型は消失し、V、IC型が増加する。

要するに鉤虫症にあつては、人好酸球運動型の基本型と見られるIA型の頻度は、正常人の場合と大差はないけれども、それ以外に正常人骨髓を、正常人血清を使用して、培養したのでは決して見る事

第 4 図  
I B型好酸球  
(鉤虫症患者胸骨骨髓培養)



ないIB型の観察される事である。又本症に於ては、好酸球の顆粒散乱像を培養3時間目から既に認め、本症における好酸球增多症の好酸球中には、細胞膜のとくに脆弱なものが混在している事が想像される。

第4章 気管支喘息患者の胸骨骨髓培養による好酸球運動の観察

本実験に供した骨髓は、第2表の本症患者3名よ

第2表 気管支喘息患者

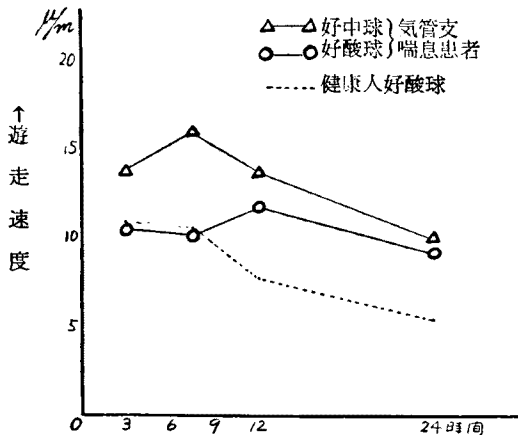
氏 名	性	年 令	末梢血 Eo%
尾 〇 宣 〇	♂	19才	13%
鳥 〇 正 〇	♀	32才	12%
矢 〇 勝 〇	♂	24才	7%

り胸骨穿刺によつて得たものである。

第1項 遊走速度(正常人血清を使用して培養した場合)。(第5図)。

本症患者の好酸球平均遊走速度は、対照として計測した好中球の遊走速度より劣るが、これを正常人好酸球と比較すると、培養初期の好酸球遊走速度には有意の差を認めないけれども、培養12時間以降はやや優つている。

第5図 気管支喘息患者胸骨骨髓培養（3例平均）  
健康人血清使用



第2項 好酸球運動形態、とくに特異像について

培養初期（3—9時間目）にはIA型が最も多く、その他IC、ID型を認める。培養12時間目にはIA型は減少し、IC、ID、II、III型などを認め、24時間目にはIA型が著減し、IC型が断然多くなり、その他V型が増す。以上のように、増生帯に於て、可成りよく運動している好酸球については、正常好酸球の運動形態と比較して差異を見つけないが、各観察時間に於て遊走速度の低下した好酸球に特異像を認める。即ち(1)胞体の後部が著明に伸長して長い尾を形成しているものが多く、しかも屢々その中に核が存在している事もある(第6図及び写真5、6)。又著明な尾糸を形成し、長いのみならず、尾糸の数が多数で且つ樹枝状の感を与える事も

第6図  
気管支喘息患者骨髓培養



あり、好酸球の粘着能の異常亢進を充分に窺わしめるのである。(2)一般に胞体内の顆粒運動が正常人好酸球のそれよりも亢進しているものが多いが、これも細胞の粘着能の異常亢進のために、細胞の前進速度に比して原形質流動が盛んなために、両者のアンバランスの一現象として、顆粒運動の亢進像が見られるのではないかと解される。(3)又本症に於ても好酸球が崩壊して顆粒の散乱像を呈するものが、培養24時間目頃に、ごく少数認める事があるが、鉤虫症好酸球增多症の場合に比較すると遙かに少い。

#### 第4章 総括並に考按

吾々が臨床上屢々遭遇する好酸球增多症の中、最もありふれており、且つ代表的疾患である所の鉤虫症並に気管支喘息患者の胸骨骨髓培養を行つて好酸球の運動機能並に運動形態を観察した結果、末梢血或は骨髓の普通塗抹染色標本では、数的増加以外特異な差異を認める事の出来ない好酸球も、一度これを生活細胞として観察すると、原因疾患の異なるに従つて、その運動機能や運動形態に、夫々一定の傾向を有する特異像の存在する事を、本編に於て指摘した。

又骨髓培養における人好酸球の運動形態を新しく分類した。従来多くの研究者によつて、工夫せられた分類法と趣向を異にして、好酸球の主体前進期に於ける運動形態、偽足の分岐状況、更に核の細胞内位置並に運動速度を考慮した新分類法を示し、且つ核の細胞内位置と運動機能とは好酸球に関する限り、屢々よく平行関係を保つ事を述べた。

鉤虫症好酸球にあつては、運動機能の異常亢進のある事、及び外形質の一部の異常収縮能のためと解される運動形態的に特徴のあるIB型が20分前後に存在する事、しかもこのIB型は正常人骨髓を正常人血清中で培養する時は認めないが、鉤虫症患者骨髓はたとえ正常人血清中に培養してもこの型を認める事を述べた。従つて本症患者の骨髓好酸球はそれ自体にかかる性質を具有しているものと考えられるが、第3編でも述べる様に、正常人骨髓を鉤虫症患者血清を使用して培養しても、少数乍らIB型を認めるから、鉤虫症患者血清中には、好酸球をしてかかる運動形態をとらしめる様な因子が存在する様に思われる。尚又鉤虫症骨髓好酸球に於ては、顆粒の散乱像が、気管支喘息患者や正常人に比して遙かに多い事から、これも本症の特徴の一つと見做して差支えなく、細胞膜の脆弱な好酸球がやや多いと思考

される。本症の末梢血好酸球の遊走速度について、三好<sup>30)</sup>は常に低下しており、概ね強貧血例に於て低下が顕著であると述べている。しかし骨髓培養における骨髓好酸球の遊走速度は、教室柚本<sup>53)</sup>の成績も示している様に常に亢進している。

次に気管支喘息患者の好酸球は、培養12時間目以降でも良く運動する。特異像として、胞体の後部が著明に伸長しているものや、尾乃至尾糸の著明に長く、且つ分岐の著しいものや、顆粒運動が一般に旺盛な事を述べたが、これは好酸球の粘着能の異常亢進による現象と解される。

さて清水・八田は、ビタミンCを使用せるペルオキシダーゼ反応や銀反応によつて、好酸球は還元物質と密接な関係を有する事を明かにし、I型(鉤虫症型)、II型(気管支喘息型)、III型(正常人型)の3型に分類し、質的にも異なる事を報告した。私はこれら疾患患者の胸骨培養によつて、骨髓好酸球を運動形態学的に観察し、夫々健康人好酸球には見られない運動形態を示すものがあると云う事を指摘し、所謂 Eosinophilie と云うも、単に正常好酸球が量的に増加しただけでなく、身体内の色々の変調が疾病により夫々の好酸球の特異的な質的性状の変化を来し、従つて又運動の性状にも反映したものと解される。

## 第5章 結 論

健康人、鉤虫症患者及び気管支喘息患者の胸骨骨髓培養を行い、その運動形態並に運動速度を観察し、次の如き結果を得た。

(1) 人骨髓好酸球の運動形態を新しくI~V型に大別し、I型は更にIA, B, C, Dの4型に小分類した。尚好酸球の運動機能の亢進・減退と細胞内核の位置との間には、密接な関係が存在するもの様である。

(2) 鉤虫症骨髓好酸球の遊走速度は、著明に亢進し、好中球よりもやや大である。又本症好酸球の中には、外形質の収縮能の異常亢進と解される特異的な運動形態IB型を示すものがある。又顆粒散乱像を屢々認める。

(3) 気管支喘息患者の骨髓好酸球の中には、細胞の粘着能の異常亢進と解される像、例えば異常に伸長した尾或は尾糸を形成するものがあり、又顆粒運動が盛んである。

(4) 以上の如く、鉤虫症、気管支喘息患者の骨髓培養における好酸球には、正常人好酸球には認められない運動形態を示すものがあり、これら疾患時における骨髓好酸球は、単に数的増加のみならず、運動形態学的変化をも相伴うものである事が明かにされた。

擧筆するに際し、御懇篤なる御指導と御校閲の勞を忝うした恩師平木教授並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33年日本血液学会第20回総会に於て発表した。

文 献 後 掲

Studies on Eosinophils in the Bone-Marrow Tissue Culture  
Part 2. Observation on the Motility of Eosinophils in the Bone-  
Marrow Tissue Culture of the Sternum of various  
Patients with Eosinophilia

By

Masakatsu Inoue

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

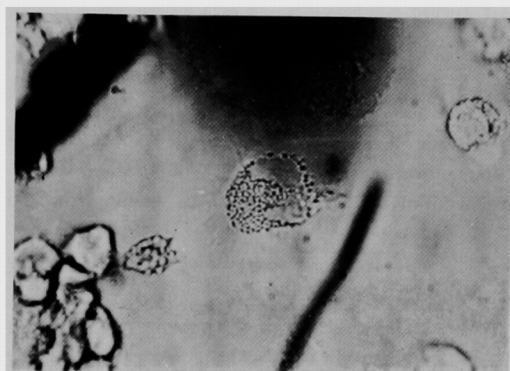
By performing bone-marrow tissue culture (simple method devised in our laboratory) of the sternum in normal person, patients with anchylostomiasis and with bronchial asthma, the author observed the pattern of movement and wandering velocity of these eosinophils and obtained the following results:

1. Patterns of movement of eosinophils in the human bone marrow have been newly classified.
2. Among the eosinophils of human anchylostomiasis there are ones that show a peculiar pattern of movement, Type IB, which may be considered to be the acceleration in the ability of retraction of the exoplasm. In addition, a picture of scattered granules can often be recognized. The wandering velocity of eosinophils in this disease is markedly accelerated, showing the velocity somewhat superior to that of neutrophils.
3. In the eosinophils of bronchial asthma there are cells suggesting an abnormally accelerated adhesive property, for example, possessing abnormally distended tail or filamentous tail with many branches; and also granule-movement is quite active.

As can be seen from the above findings, there are eosinophils in anchylostomiasis and bronchial asthma, that show the pattern of movement that can not be observed in those of normal persons, and therefore, it has been clarified that those eosinophils of the bone marrow in patient not only multiply in number but also their pattern of movement undergoes morphological changes simultaneously.

---

- 写真 1 T A型好酸球  
2,3: I B型好酸球 (鉤虫症患者)  
4 顆粒散乱像 (鉤虫症患者)  
5,6: 著明な尾形成 (気管支喘息患者)



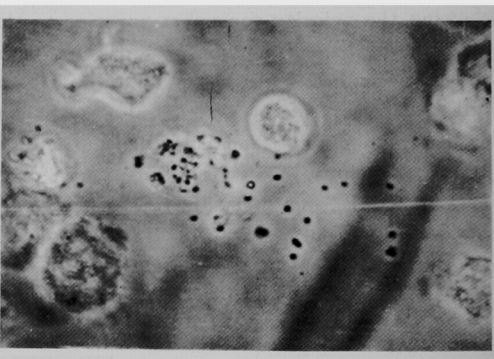
1



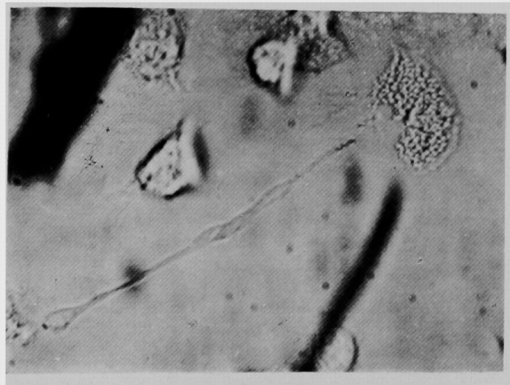
2



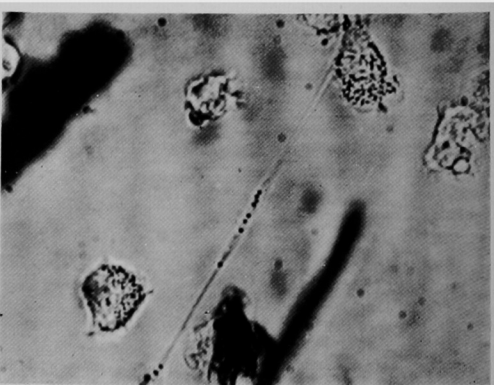
3



4



5



6