

氏 名 葛 西 四 朗

授 与 学 位 医 学 博 士

学位授与年月日 昭和39年7月8日

学位授与の根拠法規 学位規則第5条第2項

最 終 学 歴 昭和27年3月 東京文理科大学卒業

学位論文題目 Studies on the Bone Marrow
Cells in Vitro and in vivo, Prol-
iferation and Differentiation
of the Bone Marrow Mechanocytes.
(生体内及び生体外における骨髓性メカノ
サイトの増殖と分化に関する研究)

論文審査委員 東北大学教授 和 田 正 男

東北大学教授 浦 良 治

東北大学教授 赤 崎 兼 義

論 文 内 容 要 旨

骨髓芽細胞の増殖性と分化能を検索するために、先づ、犬、猫、兎、等の骨髓から骨髓芽細胞を高濃度に分離することが必要であつた。そこで本実験では蔗糖水による勾配遠沈法を行つて全有核細胞中53%の純度で骨髓芽細胞の分離に成功した。犬の骨髓から分離した骨髓芽細胞を先づ生体外で培養し3カ月に亘つて継代した。骨髓芽細胞は培養条件下で典型的なメカノサイト (Mechanocyte) に収斂する。かかるメカノサイトについて、増殖率と分化能を検索したものである。増殖率は静置法でも回転培養法でも同程度であり、培養液中の鶏胚搾汁が高濃度になる程度に応じて増殖率の上昇が認められた。また、培養液中のブドウ糖濃度は通常0.1%を用いたが、これを1~2%に昂めても増殖率の低下は認められなかつた。窒素ガス相の下での培養ではメカノサイト型の細胞の増殖がブドウ糖濃度が高い時に旺盛であることが判つたので、この種の型の細胞が、解糖作用を営むものであると理解された。一方、鶏胚搾汁を高濃度(40%)与え、しかも血清含有量を通常の15%以下に減じた培養液中では、メカノサイトは急激に分裂増殖して小型の円形細胞となる。このような急激な増殖を、増殖細胞分裂 (Multiple cell division) と呼んだ。而して、かかる分裂が如何なる方法で行われるかについて検索した結果、これは、基本的には激しい有絲分裂のたえずの継続によつて起ることが判明した。そこでこれを Meromitosis と呼んだ。これは、R. Pape の提唱した Meromitosis に対比されるべきものである。しかし、時として、かかる小形細胞が無糸分裂によつても生ずる所見も得られたので Meromitosis を否定することは出来ないと思われた。血球形成に先行して、実際にかかる増殖細胞分裂が造血器官で生起しているか否かについては未だ確認するところまでに至らないで、胎生期の鶏胚の造血像の中には、かかる分裂様式によつて形式せられたと思われる像が可成りの頻度で観察された。

かつて、M. Plum は赤芽球の培養に際して急激に多数の赤血球が形成されることを観察し、これは、一個の母細胞から胞子形成様の過程を経て多数の赤血球が生産されるものと考え、いわゆる胞子説を提唱した。しかし、私の本実験による観察結果からすると、その急激な増殖は決して胞子形成によるものではなく基本的には1:1の関係でおこる有絲分裂を経て行われるものと思われた。

骨髓芽細胞の分化能に関する観察では、上記の如き増殖細胞分裂が起きる条件下で特にメカノサイト型の細胞が減じて、小型円形細胞が増加するという現象や、その条件下で実際に赤血球様

の無核細胞が形成されたこと、或いは、メカノサイト型細胞の増殖には寧ろ無酸素条件が適している事などの所見から判断すると、メカノサイトからの赤血球への分化には酸素の存在することが必須の条件となつていゝと思われた。即ち、高濃度の鶏胚王搾汁と低濃度の血清及び、充分な空気相を確保するのが生体外で赤血球分化を起させる重要な条件であつた。尙生体外の培養条件下では、犬のメカノサイトに対して、人血清を用いたが、生産された赤血球内のヘモグロビン形成が極めて不充分であつた。このことは、血清の異種性に基づくものと考えられたのでRatの骨髓性メカノサイトをMembrane filter(最大孔径/μ)製の袋に入れてRatの腹腔中で生体内培養した結果、犬の骨髓性メカノサイトの場合よりもヘモグロビン合成が進行しているとの所見が得られた。

赤血球以外の他の細胞への分化を検索する目的で故意に培養液を長期に亘つて交換しないで放置した場合、1~2週後に、或る培養器では細胞の形ちが円形化し核の或程度の方分化が起つて恰も単細胞への分化を想わしめる場合もあり、又或る培養器では、円形化と核の方分化の外に細胞質中に多数の顆粒(時として酸好性、又時として塩基好性)が出現し恰も顆粒白血球への分化を想わしめた。しかし、かかる条件下での分化は決して積極的な分化現象とは認められず、むしろ消極的な退行現象に相当するのかも知れない。ただここで、細胞の分化と退行が或る意味で、細胞生理学的には極めて近似した性格を持つという考え方に対して何等かの暗示を与えている。この種の消極的分化を起した個々の培養条件についての分析は極めて困難であり何かがその消極的分化の原因であつたかについては不明である。しかし、骨髓性メカノサイトが赤血球への分化能を保持すると同時に白血球への分化能も保持していることは明らかであつた。一方、骨髓メカノサイトは培養器内に挿入した短ざく型のカバーグラス上で、特に培養液面に近いところで、時として上皮細胞に似た形態をとる。また逆に、培養器の底部では細胞質が細長く延びて恰も網状細胞の様相を呈する。かかる形態的变化は、前者の場合は酸素分圧の高いところで細胞の形態化を意味し、後者の場合には逆に低い酸素分圧下での変化を物語るかの如くであつた。特に無酸素状態で解糖作用を営むメカノサイトの中には屢と同様の細胞質の狭瘦化が起つている事から考えて、酸素分圧の低下と細胞の形態的变化との間に積極的関連性があるものと思われた。しかし、かかる形態变化は分化と称するよりはむしろ、環境条件に対する細胞の生理的適応に基づく変化であろう。かつて、P. Weiss は培養条件下で細胞はメカノサイトとなりこれを生体に戻すと元の細胞に復帰することを発見し、これを収斂と呼んだが、本実験においてこの収斂が骨髓性のメカノサイトとして認められ、而も、その間その細胞本来の分化能は潜在的に温存されていることが立証されたと云える。

審 査 結 果 の 要 旨

骨髓中に骨髓芽細胞は極めて僅かしか混在していないので従来の方法をもつては該芽細胞の高純度分離は不可能であつた。本研究では従来の重層遠沈法を改良して、これに各種比重による連続的勾配化をはかつた。また遠沈操作上必ず起る壁面効果を取除くために特殊な形の分離管を用い細胞の混和を最小限度に防いだ。なお、この比重勾配遠沈に先立つて低速遠沈を施したものを更に比重勾配法で分離することによつて極めて良い成績を得ることが出来た。即ち、骨髓芽細胞の純度を総有機細胞中の50%以上まで高めることが出来た。しかもこの分離法によつて得た骨髓芽細胞は培養条件下で分裂増殖を行い得るところから見て殆ど生理的機能を失うことなく分離し得たことを示す。

Weissは培養条件下に移された細胞は一般に線維芽細胞の形態(Willmer に従つてmechanocyteと呼ぶ)を取るが、これは一時的な取斂(modulation)に過ぎず、再び生体に戻せばその細胞本来の分化能を発揮して元の性状を回復するとの仮説を提唱したがその当否の結論は得られていない。本研究では骨髓性mechanocyteが旺盛な呑食能を有することを明かにした。また一方、生体内及び生体外での培養実験を通じて、該細胞が分化に必要な環境条件が与えられれば、種々の血液細胞に分化し得ることを立証した。このことはmechanocyteが分化の潜在性を失わないとの考を実験的に立証したものである。

生理的条件下において莫大な数の血球が日々崩壊し、その喪失を補うための旺盛な生産が骨髓において行われているにも拘らず、その旺盛な分裂増殖の実体が明白になつては行かない。Yorffey一派はその増殖の一部はリンパ球の骨髓内流入とその後の骨髓細胞に転化することに基くと主張し、Plum等は赤芽球からの孢子形成説を唱えて旺盛なる増殖性を説明した。またBessis等はその増殖性は有絲分裂を基調とするものであらうと主張している。本研究では、一方において骨髓性mechanocyteを用いて、その増殖率が極めて高いことを発見し、他方この急激な増殖が細胞の小形化を来たすことを指摘した。この増殖の程度と小形化との間には相補的関連性があり、この関係は更にその分裂様式とも密接な結びつきをもつことも明かになつた。即ち増殖は基本的にはmeromitosisによつて代表される分裂の結果であり、而もこれは必然的に細胞の小形化をもたらす。以上の如き知見は極めて旺盛な造血を行う鶏胚の造血像においても認められたところである。

本研究の特色は、このような旺盛な造血現象の背景には有絲分裂を基にした増殖分裂過程が存在することを具体的に観察し証明した点にある。

よつて本論文は学位を授与するに値するものと認める。