

Title	組織培養ニ於ケル壘被覆硝子法ト被覆硝子懸滴法トノ比較
Author(s)	高橋, 信次
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1944, 5(3), p. 327-336
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16323
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

組織培養ニ於ケル壘被覆硝子法ト被覆硝子懸滴法トノ比較

東北帝國大學醫學部放射線醫學教室(主任 古賀良彦教授)

醫學士 高橋 信次

Ein Vergleich der Deckglas-Flaschemethode mit der Deckglasmethode bei der Gewebezüchtung.

Von

S. Takahasi.

Aus dem Institut für Strahlentherapie (Direktor: Prof. Dr. Y. Koga.)
der kaiserl. Tohoku-Universität zu Sendai, Japan.

目 次

- | | |
|---------------------|-----------------|
| 1) 緒 言 | 計的計測 |
| 2) 實驗材料及ビ實驗方法 | ロ) 染色標本ニヨル發育帶計測 |
| 1) 材 料 | ハ) 組織細胞學的觀察 |
| ロ) 培 養 | 4) 考 按 |
| ハ) 觀 測 | 5) 結 論 |
| 3) 實驗成績 | 6) 文 獻 |
| 1) 生體ニ於ケル概觀的成長面積ノ追時 | |

1) 緒 言

組織培養ニ際シテ組織ヲ長期間生存サセントスル目的ノ爲ニハ壘法ガ被覆硝子懸滴法ニ優ル事ハ一般ニ認メラレテキル。

然シ壘法ト被覆硝子懸滴法トノ優劣ヲ實驗的ニ詳細ニ觀察シタ文獻ハ決シテ多カラズ。

余ハ既ニ第1編「組織ノ培養法ニ就イテ」中特ニ1項ヲ設ケテ此ノ間ノ消息ニ言及スル處ガアツタガ更ニ詳細ニ此ノ點ヲ検討セント欲シカレル壘法及ビ被覆硝子懸滴法ノ改良法デアル壘被覆硝子懸滴法ト被覆硝子懸滴法トニ就テ培養組織ノ發育狀態、發育帶、細胞學的變性等ヲ能フ限リ詳細ニ觀察比較シタノ之ヲ報告スル。

蓋シスルシテ壘被覆硝子法ガ存來ノ被覆硝子法ニ對スル優秀性ヲ實驗的ニ證スルヲ得タト信ズル。

2) 實驗材料及ビ實驗方法

イ) 材 料

培養組織ハ抱卵第8日鶏胎心室ノ細小切片。ソノ大イサハ約2分ノ1耗平方。支持體トシテノ血漿ハ1日前ヨリ水ノミ與ヘテ絶食セシメオキタル若家鶏ヨリ採血。遠心セルモノデ、「パラフィン」被覆硝子管ニ氷藏シ置ク。

發育促進物質トシテノ家鶏胎兒壓榨液ハ抱卵第8日乃至15日ノ鶏胎兒ヲ使用ス。

之ヲ被覆硝子懸滴法ノ場合ハソノ儘用ヒ。壘被覆硝子法ノ場合ハタイロード氏液ニテ5%及ビ25%ニ夫々稀釋シテ用ヒル。

之等ノ材料ヲ用ヒテ被覆硝子懸滴法ト壘被覆硝子法トヲ施行シタ。

ロ) 培 養

被覆硝子懸滴法(以下懸滴法ト略ス)

30×30耗ノ被覆硝子ノ上ニ毛細管「ピペット」ヲ以ツテ血漿ヲ1滴(30分ノ1耗)滴下シ心室切片ヲソノ上ニ載セ。次イデ胎兒壓榨液ヲ同ジク1滴附加シ。硝子棒ヲ以ツテ此ノ3者ヲ手早く攪拌シツ。血漿培地ヲ15耗直徑ノ圓ニ迄擴ゲル。

ソノ際組織片ハ血漿ノ中央ニ在ラシメル。暫時ニシテ血漿ガ凝固シタル後之ヲ陷凹載物硝子上ニ倒置シ。周圍ヲ「パラフィン」ニテ密封スル。

壘被覆硝子法(以下壘法ト略ス)

壘内ニ豫メ並置シアル18×18耗大ノ被覆硝子ノ上ニ血漿組織片。胎兒壓榨液ヲ滴下シテ組織ヲ被覆硝子ノ中央ニ定著セシメタル後。更ニ液狀成分トシテ25%胎兒壓榨タイロード液10耗ヲ壘内ニ加ヘテ綿栓著帽サス。

此ノ際液ハ硝子片上ノ組織片ノ上面ヲ充分浸スニ足ル。

斯クテ壘法デハ隔日ニ液狀成分ノ取り換ヘヲ行ヒ懸滴法ニテハ最初ノ操作ノマ、電氣孵卵器ニテ攝氏38度ニ保タシメテ培養シタ。

コノ間全操作ヲ無菌的ニ行フ事ハ勿論デアル。

ハ) 観 測

培養組織ノ成長狀況ヲ詳ニスル爲生體ニ於テ日々ソノ全生長面積計測ヲ行フト共ニ適時ニ固定染色標本ヲ作ツテ細胞學的ノ檢索ヲ行ツタ。

生體ニ於ケル成長面積ノ計測ハ獨自ノ投影器ヲ以ツテ原面積及ビ組織増殖ノ漸ク明カナル培養後第2日以後順次ニ3, 4, 5, 6, 7, 8日迄毎日之ヲ行ツタ。

擴大組織ノ投影像ハ一旦紙上ニ描寫シタ後。之ヲ「プラニメーター」ヲ以ツテ計測シタ。投影

ニヨル擴大率ハ6.2倍デアル。

計測ハ生體ニ依ルノミナラズ、固定染色標本ニ就テモ亦之ヲ行ツタ。

之ニ依ツテ概略的成長状態ノ外發育帶ノ各分帶ノ發育狀況ヲ夫々詳ニ計測スルコトガ出來タ。

コノ際移行帶ノ解像ガ明デナイ場合ハ此ヲ中心帶ニ算入シ、又周邊帶ハ壘法ニ於イテハ殆ンド被覆硝子ヲハミ出ス場合ガ多カツタガ、此モ計測ヲ行ハナカツタ。

細胞學の検査ハ壘法、懸滴法共、特ニ侵入帶ニ就テ之ヲ行ツタ。

之ハ侵入帶ハ一層、或ヒハ2,3層ノ細胞ヨリ成リ、而モノノ原形質、核共ニ明瞭ニ觀察サレルコトト、コレ以外ノ各帶、例ヘバ薄帶、境界帶ハ壘法ニハ常ニ在ルガ懸滴法ニテハ屢々缺クカラデアル。

健常細胞ハ之ヲソノ核ノ大イサニヨリ、小核、中核、大核ノ3ツニ分類シタ。

小核ハ核ノ大イサ 10μ 以下、中心帶ニ主トシテ存在スル。

中核ハ核ノ大イサ $10\mu\sim 20\mu$ デ移行帶ヨリ侵入帶ニ在ル最モ多イ細胞デアル。

大核ハ $20\mu\sim 30\mu$ デ此ハアマリ多クナイ、 30μ 以上ノ大イサノ核ヲ有スル結締織母細胞ハ巨態結締織母細胞ト稱シ、病的異常細胞ト考ヘテキル。

此ノ外病的異常細胞トシテハ多核細胞、畸形核細胞、核萎縮、核崩壞、核融解、原形質内顆粒形成、原形質過染色原形質内空胞形成、直接核分裂像等デアル。

檢索ハ百個以上ノ細胞ニツイテ之ヲ行ヒ、健否各細胞ノ含有率ヲ全細胞數ニ對スル百分率ヲ以ツテ表示シタ。

以上述ベタ實驗材料及ビ實驗方法ハ既ニ第1編ニ詳述シアルコト故、詳細ハ其ノ方ヲ参照セラレタイ。

3) 實驗成績

1) 生體ニ於ケル概觀的成長面積ノ追時的計測

今、培養直後ヨリ毎日一定時刻ニ組織ヲ投影器ヲ以ツテ投影、計測セル値ヲ逐日的ニ列挙シテミル。

壘法ニテハ壘A、壘Cノ2壘ヲ代表トシテ表示スル(第1表)。組織片ハ各々Aa~Ag等ノ番號ニ分タレルガ何レモ同一壘内ニ同一心室片ノ細片ヲ培養セルモノデアル。壘Cニ就テモ亦同ジ

第1表 壘A内組織群 (Aa~Ag)

組織番號	原面積	第一日	第二日	第三日	第四日	第五日	第六日	第七日	第八日
Aa	0.1	—	1.2	2.3	3.3	5.2	6.4	—	7.5
Ab	0.1	—	0.6	1.2	2.5	4.3	5.2	6.0	7.0
Ac	0.1	—	0.5	1.3	2.4	4.1	6.3	7.0	7.7

Ad	0.1	—	0.5	1.6	2.5	4.4	6.0	7.2	7.7
Ae	0.1	—	0.6	1.3	2.0	5.0	6.8	—	7.8
Af	0.1	—	0.7	1.7	2.5	—	6.2	—	8.0
Ag	0.1	—	1.0	2.1	—	5.5	—	7.5	7.5

壘C内組織群(Ca~Cf)

組織番號	原面積	第一日	第二日	第三日	第四日	第五日	第六日	第七日	第八日
Ca	0.1	—	0.6	1.2	2.2	4.0	4.4	4.4	—
Cb	0.1	—	0.4	0.9	2.0	3.5	4.7	—	5.4
Cc	0.1	—	1.0	1.5	2.6F	—	—	—	—
Cd	0.1	—	0.7	1.6	2.6	4.1	5.3	5.3	6.1
Ce	0.1	—	0.9	1.4	2.7	4.5	—	—	—
Cf	0.1	—	0.9	1.3F	—	—	—	—	—

F: 該日限り剝離固定セルヲ示メズ 第一日ハ都合ニヨリ計測セズ

次ニ同一ノ材料ヲ用ヒテ、懸滴法ヲ以ツテ培養セル場合ノ成績ヲ示メスト第2表ノ如クナル。

此ハ1個ノ被覆硝子ニ1個ノ組織片ヲ植エテアル丈デアル故、組織Kノミガ培養第8日迄成長價ヲ計測スル事ガ出來タ。

然シソノ他ノ組織片モツノ中途迄夫々成長價ヲ計測シテアル。

第 2 表

組織番號	原面積	第一日	第二日	第三日	第四日	第五日	第六日	第七日	第八日
A	0.1	—	0.4F						
B	0.1	—	0.7	2.0U					
C	0.1	—	0.5	1.8F					
D	0.1	—	1.0	2.4					
E	0.1	—	0.6	1.5	1.6	1.9F			
F	0.1	—	0.9	1.4U					
H	0.1	—	0.9	1.7	—	2.2	2.8F		
I	0.1	—	0.6	1.4	2.5F				
J	0.1	—	0.7	2.0	2.3	2.4	2.55	2.6F	
K	0.1	—	0.7	2.0	2.2	2.4	2.4	2.4	2.4

F: 該日限り剝離固定セリ U: 該日ニ他ノ被覆硝子ニ植エ繼ケリ 第一日ハ都合ニヨリ計測セズ

以上ノ2法ニヨル成長價ノ計測値ヲ夫々縦軸ニトリ培養日數ヲ横軸ニトリ曲線ニテ示メセバ第1圖トナル。

今第1表、第2表、第1圖ヲ通覽スルニ、壘法デハ組織ハ日ヲ經ルニ從ツテ發育面積擴大ノ度ヲ増シ培養第6日迄ハ明ラカニ増加曲線的ノ上昇ヲ示メス。

其ニ對シ、懸滴法デハ第3日迄ハ壘法ト同歩調ノ發育ヲ示メスガ、第4日ニ至ルト俄然衰へ第5日以後ハ最早殆ンド擴大シナイ。

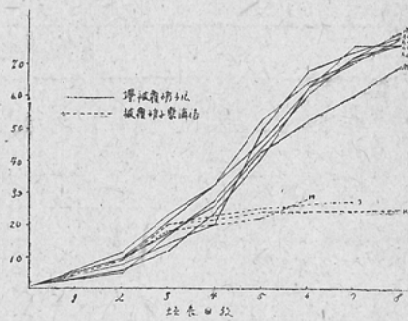
茲ニ特ニ注目スベキハ壘法ニテA及ビCノ兩群間ニハ少シク成長差ヲ現ハスニ不拘、各群内

ノ試験片ノ間デハ夫々殆ソド同等ナル發育ヲ遂ゲ、ソノ差ハ±10%ヲ出ナイト言フ事實デアル。

ロ) 色標本ニヨル發育帶計測

第 2 圖

培養日數ヲ等シクスル組織ヲ各々1群ニ分チ夫々ニ就イテ中心帶ヨリ侵入帶ニ至ル各發育帶ノ投影面積ヲ計測シ之ヨリ境界帶ニ至ル迄ノ中心帶、移行帶、薄帶、境界帶ノ面積ヲ求メ、且ツ薄帶ガ全面積ニ對シテ占メル百分比ヲ計算シタモノガ第3表ニ示サレテキル。但、懸滴法デハ境界帶ノ存在ガ明瞭デナイ場合ガアル。斯カル際ハ侵入帶ノ内部デ移行帶ト考ヘラル、發育分帶ノ最外側迄ノ發育帶面積ノ和ヲ以ツテ此ニ代ヘタ。



壘 法

第 3 表

組織名	培養日	中心帶	移行帶	薄 帶	境界帶 全面積	境界帶 至ル全面積	境界帶 全面積	侵入帶	全面積	
Ef	(2日)	47		7	4	75	129	35	82	211
Eg	(2日)	81	13				94		146	240
Ec	(3日)	26	5	46	7	265	342	40	327	669
Ee	(3日)	68		16	4	194	278	48	126	404
Cf	(3日)	70		27	6	153	250	32	232	482
Cc	(4日)	111		105	12	245	461	29	390	851
Ea	(4日)	54		106	13	97	257	12	544	801
Eb	(4日)	101		263	13	172	536	10	710 522	1768
Be	(5日)	94		295	20	191	580	12	944	1524
De	(6日)	62		185	15	88	335	7	914	1249
Aa	(8日)	108		512	30	313	933	18	785	1718
A	(8日)	75	30	211	13	396	612	24	927	1639
A	(8日)	36		548	48	373	957	32	204	1161
A	(4日)	68		437					393	
A	(4日)	59		415	30	329	803	24	552	1355
A	(4日)	64		420	42	113	597	11	404	1001
A	(4日)	102	39	459	25	316	916	17	909	1825

懸滴法

A	(2日)	39		3	2				130	172
C	(3日)	70					317		245 358	675
I	(4日)	129					342		213 833	1175
E	(5日)	76		224	25	156	456	8	430	886
H	(6日)	75		54	6	111	240	12.5	649	889
J	(7日)	43	30				73		1024	1094

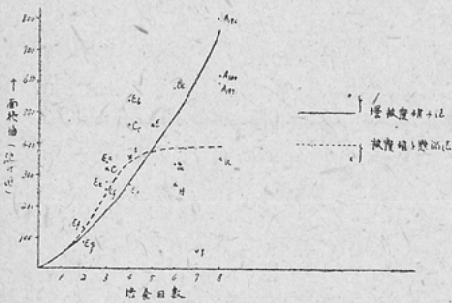
K	(8日)	35	85	15	5	340	1	(220 207)	547
---	------	----	----	----	---	-----	---	--------------	-----

侵入帯ヲ2個ノ數字ヲ表ハセル場合ハ前者ハ多層後者ハ單層ナルト示メス

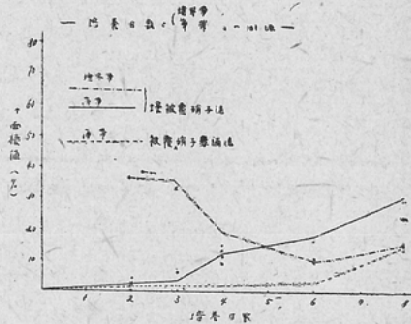
今發育帶總體ノ傾向ヲ見ル爲コノ第3表ノウチ第8欄即チ中心帶、移行帶、薄帶、境界帶ノ面積和ヲ追時的ニ圖示スレバ第2圖ノ如クナル。

本圖ヨリ明ラカニ觀取サル、ハ、境界帶迄ノ發育帶ノ面積總和ハ壘法ニテハ美事ナル拋物線ヲ描イテ急激ニ上昇スルニ反シ、懸滴法ニテハ第4日目位ヲ頂點トスル飽和曲線ヲ描クコトデアル。

第 2 圖



第 3 圖



即チ吾人ハ壘法ニ依ル培養ニ於テハ組織ノ發育ハ障礙ナシニ上昇シ、上昇ノ割合モ毫モ衰ヘザルコトヲ推測シ得ルニ反シ、懸滴法ニ依ル時ハ曲線ノ傾向ガ比較的早期ヨリ漸減曲線ノ特性ヲ有シ、ヤガテ特有ナル飽和曲線ヲ描ク點ヨリ察スレバ組織ノ發育ハ極メテ短期間ニ於イテノミ活潑ナルモ、忽チ發育ノ度ノ下降ヲ招來シ、遂ニ全ク發育ヲ停止スルニ至ルヲ知ル。

次ニ薄帶ノ全面積ニ對スル比率ヲ追時的ニ圖示スレバ第3圖ノ如クナル。

而シテ、發育帶各帶ノ狀況ヲ少シク仔細ニ檢討スルニ吾人ハ第3表ヨリ薄帶及ビ境界帶ハ共ニ培養日數ヲ閱スルニ從ツテ著明ナル増大ヲ來スコト、竝ニ特ニ壘法ニ於イテハ更ニ良好ナル發育ガアル事ガ知ル事ガ出來ル。

而シテ是等兩帶ノ發育狀況ヲ全發育帶面積ニ照シ合ハセテ見ルニ、第3圖ニ明ラカナル如ク境界帶發育ハ培養後比較的早期ニアラハレテ、總面積ノ主要部ヲ構成スルガ、間モナク後退スルニ反シ、薄帶ハ早期ノ發育ガ微弱ナルニ係ラズ、後來大イニ發達シテ次第ニソノ比面積ヲ増ス。

ハ) 組織細胞學的觀察

第4表ハ各培養日數ニ於ケル組織ノ變性狀況ヲ全細胞數ニ對スル百分比ヲ以テ表示シタモデアル。

第4表ノウチ健全細胞ノ百分比ヲ追時的ニ圖示スレバ第4圖ノ如クナル。

第 4 表

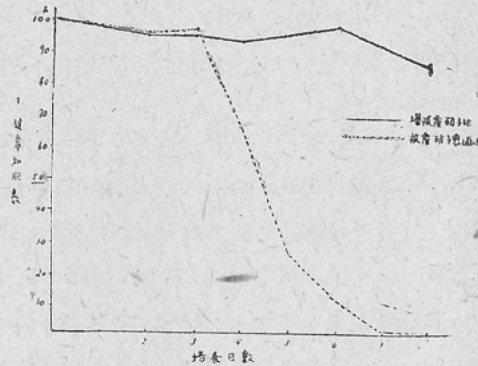
組織名	培養法	培養日數	巨態細胞	多核細胞	畸形核	核萎縮	核崩壞	核融解	原質顆粒	原質過染	空胞形成	間核分裂	直核分裂	大核細胞	中核細胞	小核細胞	健細胞	全細胞
Eg	(壘)	(2日)	—	—	—	2	—	—	—	—	2	1	—	—	21	74	95	100
A	(被)	(2日)	—	—	—	—	—	—	—	—	2.8	1.8	—	—	38	57.5	95.5	100
Ec	(壘)	(3日)	—	—	—	1.9	—	—	—	—	2.8	—	—	7.5	41	46.6	95.1	100
C	(被)	(3日)	—	—	—	1.8	—	—	—	—	—	—	—	0.9	45.5	51.8	98.2	100
Cc	(壘)	(4日)	—	—	—	0.9	—	—	—	—	0.9	1.8	—	—	23	73	93	100
I	(被)	(4日)	—	—	—	2.8	0.9	—	0.9	—	26	—	—	—	37	31	66	100
E	(被)	(5日)	—	—	—	2	—	—	—	—	72	—	—	—	5.5	22	27.5	100
Be	(壘)	(6日)	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	14	85	99	100
H	(被)	(6日)	—	—	—	3	—	—	—	—	85	—	—	—	1.1	11	12.1	100
A	(壘)	(8日)	—	—	—	1	1	—	—	—	10	—	—	—	10	78	88	100
Ab	(壘)	(8日)	—	—	—	—	—	—	—	—	15	—	—	—	17	68	85	100
J	(被)	(7日)	—	—	—	25	58	17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100
K	(被)	(8日)	—	—	—	13	25	10	—	—	52	—	—	—	—	—	—	100

壘：壘被覆硝子法 被：被覆硝子懸滴法

即チ壘法ニ於テハ培養第6日迄ハ殆ンド變性細胞ハアラハレズ。第8日ニ至ツテ原形質内空胞形成細胞ガ全細胞數ニ對シテ1割内外アラハレル。

之ニ比ベルト懸滴法デハ培養第3日迄ハ變性細胞ハ殆ンド現ハレナイガ。第4日ニ至ルト原形質内空胞形成ガ頓ニ始マリ。爾後俄然増加シ。培養第7日デ組織内ニハ殆ンド健常細胞ヲ見ザルニ至ル。

第 4 圖



4) 考 按

Carrel ハ Harrison 原法ナル懸滴法ヨリ出發シテ Gabritschewski 法ヲ經驗シタ後。所謂カレル壘ト呼バレル獨自ノ培養容器ヲ試作使用シテ遂ニ。培養日數 16 日ニ至ル組織培養ニ成功スルニ至ツタ。

之ガ現在ノ組織長期培養法ノ代表タルコトハ縷述シタ通りデアル。

余ノ壘法(壘被覆硝子法)ハ素ヨリカレル壘法ヨリ出發シタルモノデアルシ。懸滴法(被覆硝子懸滴法)ハ在來ノ方法ヲ踏襲シタモノデアルガ。唯壘法ニ在リテハ前篇(壘被覆硝子法ニヨル組織培養)ニテ詳述シタ通り二三ノ改良ヲ加ヘテ之ヲ實施シタ。

今此ノ實驗結果ヲ總括。考按スルニ次ノ如シ。

壘法ニ於テハ成長面積ハ培養第2日ニハ尙餘リ大トハナラスガ。第3日目ヨリ急激ニ増加シ

始メ、第6日目迄ハ殆ンド遂増曲線ヲ描イテ上昇スル、次イテ少シク増加ノ度ヲ減ジ第8日目ニ至ルト、尙活潑ナ増加ヲナスト雖モ、既ニ明カニ増加ノ勢ヒハ弱マル(第1圖参照)。即チ成長曲線ハ培養第6日迄ハ拋物線的ニ上昇シ、ソノ後次第ニ漸減曲線ニ移行スルモノト思ハレル。培養法ニ於ケル成長曲線ノ斯ノ如キ特性ハ殆ンド總ベテノ先學者ノ經驗スル處デ柴田、Laser 等ハソノ代表的ナル人々デアアル。

他方被覆硝子懸滴法ニ於イテハ生長面積ハ培養ノ極メテ初期ニ於テハ拋物線的ニ上昇ハスルガ培養第4日ニ至レバ發育速度ハ頓ニ鈍リ爾後ハ殆ンド發育セザルノミナラズ、明ナル變性ヲ示スニ至ル。

此等發育ノ相違ガ培養法及ビ懸滴法トノ間ニ何故起コツタカ。

之ハ實驗材料、或ヒハ培養條件ノ中、唯一ツノ異ナル點即チ容器ニ依ルト考ヘラレル。之ヲ詳ニ述ブレバ培養法デハ榮養ハ充分與ヘルコトガ出來、而モ老廢物除去ガ適切ニ行ヒ得ルニ反シ懸滴法デハ榮養液ノ追加、交換ガ行ヒ得ナイカラ日ノ經ツニツレテ榮養不足、老廢物蓄積ノ二現象ガ起ツテ來ル。

コレガ發育ニ差異ヲ招來シタ所以デアアル。此ノ點ハ Carrel, 木村, Bisceglie 等モ認メル所デアリ、柴田モ亦之ヲ實證シテケル。而シテ培養法及ビ懸滴法ノ成果ノ檢討法ヲ按ズルニ從來ハ專ラ成長面積比較ニノミ依ツテキタ。然シ既述ノ如ク、單ナル面積比較ハ斯ク信憑ニ値スルモノデハ元來ナイ。

宜シク更ニ詳細ナル觀察ヲ併用スベキデアアル。是レ細胞ノ生活機能ハ單ニ發育帶ノ巨眼的ノ大サノミナラズ、ソノ細胞學的、組織學的の性状ニヨリテモ亦、決定サルベキモノデアツテ、例之同一ノ成長圈ヲ有スル場合ト雖モ組織學的ニハ健常細胞ヨリ成ル場合ト病的細胞ヨリ成ル場合トノアルコトハ既ニ記述セル通りデアアル。

ヨシ健常細胞ヨリ成ルトシテモソノ重疊ニ厚薄濃淡ノ差ガアルカラデアアル。

茲ニ於テ余ハ、成長帶計測ニ際シテハ薄帶及境界帶ヲ詳ニ觀察スベキコトヲ提唱シタ。コレ是等兩帶ニ在リテハソノ盛衰ハ前述ノ理由ニヨリ培養組織細胞ノ生活機能判定ノ規準ヲ與フルモノト考フルカラデアアル。

而シテ組織學的ニ培養組織ヲ觀ルニ懸滴法ノ場合ニハ組織ノ成長ガ間モナク緩慢トナルト共ニ、細胞ハ變性壞死ヲ起コスコトハ Carrel, Bisceglie, 木村, 榑原等ノ既ニ認ムル處デアアル。

余ノ實驗ニ於イテモ懸滴法ニ於イテハ細胞ノ變性ハ培養第3日迄ハ殆ンド皆無デアアルニ不拘第4日ニ至ルヤ病的細胞ハ侵入帶ニ於イテ全細胞ノ3割5分ヲ占メ、第5日デハ7割3分ト急激ニ増加シテケル。

此ノ點ヨリスレバ懸滴法ニヨル組織標本ヲ細胞學的檢索ノ對象トナスコトニ餘程ノ注意ヲ要スル。

然ルニ培養法デハ培養第6日迄殆ンド病的細胞ヲ認メズ第8日目ニ至ツテ始メテ1割内外ノ變

性細胞ガ觀察サル、ニ過ギナイ。

從ツテ此ノ種ノ培養法ニ依ルトキハ培養第6日目迄ハ充分ニ諸種ノ細胞學的檢索ヲ行ヒ得ルモノト考ヘラレル。

尙組織ノ平均發育ト言フ點カラ見ルニ壘法ニテハ壘Aニ於ケル結果ノ示メス通り同一壘内ニ於ケル發育ハ約±10%ノ發育差ヲ示スニ止ル。

此ノ事ハ木村モ亦結締織母細胞純培養ニ際シ之ヲ特ニ記載シテキル。

然ルニ壘ヲ異ニスル場合ハ然ラズ。假令同一ノ實驗條件下、即チ實驗材料榮養、溫度等ヲ全ク均シクセル場合ニテモ組織ノ發育ガ可成相違スルモノデアアル。

此ノ點ヨリシテ被檢組織ト對照組織トヲ同一壘内デ培養スルコトハ實驗誤差ヲ少クスル所以デアアルコトガ分ル。

斯ノ如ク同一培地ニ放射組織ト對照組織ト併置スル方法ハ R. Gassul, 榊原等ガ實施シタ所ガアルガ此等ハ何レモ懸滴法ニ依ルモノデアツテ余ノ如ク壘法ニヨルモノデハナイ。

次ニ成長價計測ト發育帶トノ關係ヲ考ヘテミルニ。

一般ニ生體標本ハ固定染色標本ニ比シ、ソノ對比度、鮮銳度ニ於イテ劣ルモノデアアルガ組織培養法ニ於イテモ亦コノ埒ヲ外ル、コトガ無イ。

此ハ細胞ト血漿トノ間ノ對比度ハ小サイカラデアリ、血漿内ニ散在スル少數ノ細胞ハ識別スルノハ難シイ。

例之壘法ト懸滴法トノ各々ニ於テ固定染色標本ニ依ルトキハ侵入帶ノ外縁迄ノ面積ヲ比較スルト著ルシイ差ガ見ラレナイ場合ニ於イテモ生體計測デハ明ラカナル成長差ヲ發見シ得ルノデアアル。

コレハ固定染色標本ニ於テ見ル壘法ノ境界帶懸滴法ノ侵入帶ノ中心帶ニ近イ細胞層ガ重疊シテキル部分ガ生體觀察ニ於ケル成長帶ノ限界デアラカラデアアル。

茲デ特ニ注意シ度イノハ侵入帶ノコトデアアル。コノ部ハ一般ニ培養組織ノ發育セルモノヨリ成ルト簡單ニ呼バレテキルガソノ外縁ハ細胞ノ竝ビ方、或ヒハ生體觀察デ明ラカナル如ク、細胞ノ増殖ハ實ニ一部分デ大部分ハ中心帶ヨリノ遊走デアアル。

從ツテ侵入帶ノ外縁ハ細胞ノ遊走力ノ標示ト考フルコトガ出來ル。コノ細胞遊走狀況ヲ毎日觀察シテキルト此ノ結締織母細胞ノ遊走力ハ個差ガ餘リ無ク大體平均シテキル様デアアル。

即チ懸滴法ニテ培養條件ガ不適當デアルト細胞ノ排列ハ疎トナリ壘法ニテハ密デアルダケデ遊走力ニハ大差ガナイコトハ染色標本ニテソノ面積ガ殆ンド等シイコトヨリ推知サレル。培養組織細胞ヲ何等榮養ヲ取り換ヘスル事ナク放置セル場合ノ變性狀況ヲ積細ニ觀察シタ Romanese ニヨレバ小ナル程ヨク光線ヲ屈折スル顆粒ガ原形質内ニ出來テ來テ 此次第二ニ數及ビ大イサヲ増シ主トシテ核ノ周邊ニ集合スル。其ノ他ニ通常空胞ノ形成ヲ見、原形質ハ恰モ網ノ目ノ

如キ觀ヲ呈ス。原形質ハ突起ヲ縮小シテ團塊化スル事ガアリ。次イデ變性ハ核質ニ及ブ。

上述ノ記述ハ Bisceglie, 木村等ノ承認スル處デアリ 榊原ハ又獨自ノ實驗ニ於テ大體此ノ說ニ贊同ヲ與ヘタ。

余ノ場合ヲ通覽シテモ此ノ間ノ消息ハ當ハマルノデアル。殊ニ先進諸家ガ其等ノ所見ヲ數量的ニ考慮シナカツタ丈ニ余ノ第4表ハ簡明ニ其等ヲ説明スルノデアル。

懸滴法デ培養第4日ニ所謂原形質内空胞形成ヲ行ヘル變性細胞ノ増加ノ爲。健常細胞ハ滅シテ來テ。培養第7日デハ核質變化ヲ起コセル全クノ變性細胞ガ増加シテ來ル點ハ上述先進諸氏ノ意見ト符合スル。

此處ニ敢エテ注意ヲ喚起スベキ點ハ斯クノ如ク老廢物蓄積。榮養不良ニヨリ變性シ行ク場合ノ細胞ニ起コル變化ハ形態學的ニハ先ヅ原形質内ニ始マルト云フ事實デアル。

5) 結 論

抱卵第8日鶏胎心室切片ヲ被覆硝子懸滴法及ビ壘被覆硝子法ノ兩法ヲ以ツテ培養シ。第8日迄觀察比較シタ。

培養組織ハ毎日成長價ヲ計測シテ生體觀察ヲ行ヒ。第8日目ニ至ツテ固定染色シテ發育帶ノ發育狀況ヲ調査シ。又該標本ノ侵入帶ヲ構成スル細胞ノ檢索ヲナシタ。

生體觀察トシテ成長面積ヲ追時的ニ比較スルニ。壘法ノ場合ハ成長曲線ハ培養第6日迄ハ拋物線的ニ上昇シツノ後次第ニ漸減曲線ニ移行スル。一方懸滴法デハ培養第3日迄ハ同様ニ拋物線的ニ上昇ハスルガ。4日ニ至レバ發育速度ハ頓ニ鈍リ。爾後ハ殆ンド發育セズ。此ヲ固定標本ニ就テ見テモ。變性細胞ノ出現スルハ壘法ニテハ第6日迄殆ンド見ラズ第8日ニ漸ヤク少許見ラレルニ過ギザルニ對シ。懸滴法ニテハ第4日ヨリ急激ニ増加シテ來ル。

同一壘内ニ培養セラレル場合組織ハ略々同様ナル成長價ヲ示メスガ。壘ヲ異ニセル場合ハ實驗條件ヲ均シクセルニ不拘。ソノ發育ニハ可成相違ガ見ラレル。

發育帶ハ主トシテ中心帶ヨリノ組織ノ細胞遊走ニヨリ形成サレル。侵入帶ノ細胞ヲ組織學的ニ調ベテ變性ハ先ヅ原形質ヨリ始マルコトヲ知ツタ。

6) 文 獻

- 1) Carral, A., Technique for cultivating a large quantity of tissue. J. exp. Med. 15, 393, 1912.
- 2) 木村廉, 組織培養之研究. 南江堂. 昭5, 3) Shibata, K., (柴田經一郎), Embryonalextrakt und Flaschenkulturen von Gewebezellen, Archiv f. exp. Zellf. 8, 291, 1929. 4) Laser, H. & Hiberstaedter, L., Radiosensibilität normaler und bösartiger Gewebe in vitro: Zeitschrift. f. Krebsf. 29, 411, 1929. 5) Bisceglie, V. & Andere, Die Gewebezüchtung invitro. Julius Springer. Berlin, 1928. 6) 榊原賢三, 硬「レ」線ノ鶏胎心臟組織細胞ニ及ボス作用. 日本婦人科學會雜誌. 27, 3413. 昭7. 7) Gassul, R., Über Roentgenstrahlenwirkung auf lebendes Gewebe in vitro. Strahlentherapie 27, 545, 1928.