OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	壜被覆硝子法ニヨル組織培養法
Author(s)	高橋, 信次
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1944, 5(2), p. 89-118
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18359
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

壜被覆硝子法ニヨル組織培養法

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

內容抄錄

組織培養法トシテ從來行ハレテ來タ被覆硝子懸滴滴法及ビ「カレル」壜法ニ就テ檢討シ，前者ハ長期培養ガ困難デアリ，後者ハ觀察ガ不便デアルノデソノ培養法ヲ改良シテ比較的長期培養ニ堪ヘ，且ツ實驗觀察ニモ便利ナ培養法ヲ考ヘ，之ヲ壜被覆硝子法ト命名シタ。本論文ニハソノ培養術式及ビ之ヲ用ヒテ鷄胎心ニ就イテ行ツタ培養組織ノ成育狀態ヲ記載シタ。

1．壜被覆硝子法ニヨル培養術式

余ハ先ヅ大形及ビ中形「カレル」壜ヲ特製シタ。是等ハ共ニ硬質硝子製デ大形壜ハ底徑100粍，高サ20粍デ組織插入口ノ柄ノ長サ50粍，ソノ內徑ハ20粍デアル。中形壜ハ底徑50粍，高サ20粍デ組織插入口ノ柄ノ長サ40粍，內徑ハ矢張20粍デアル。壜底ニハ豫メ18×18粍ノ被覆硝子ヲ敷石狀ニ2～10枚敷キ滅菌シテ置ク。

先ヅ此ノ壜內被覆硝子ト壜底トノ內ニ胎兒壓搾液加血漿ヲ滲透凝固セシメタル後細切セル鷄胎心組織片ヲ被覆硝子上ニ植エ，ソノ後ハ一般ノ壜法ト同樣ニ培養ヲ繼續スル。

此ノ組織ノ成育狀態ノ觀察ハ每日生體ノ儘投影器ヲ以ツテ成長面積ヲ計測スルコトモ出來ルシマタ他方隨時被覆硝子ヲ壜底ヨリ剝離，壜外ニ取リ出シ固定染色標本ヲ作製シテ詳細ニ顯微鏡的ニ檢索スルコトモ出來ル。

2．壜被覆硝子法ニヨル鷄胎心培養組織ノ發育。

イ）健常鷄胎心組織片ノ成育ハコノ培養法ニヨレバ生體觀察デハ組織ノ成長曲線ハ培養第6日迄ハ拋物線的ニ增大シ培養第8日ニ至ルモ尙發育ヲ續ケル。

ロ）固定染色標本ニヨレバ培養第6日目デハ原組織ヨリ成長シ來レル組織ハ數個ノ發育濃度ヲ異ニスル發育帶ヨリ成リ，之ヲ中心部ヨリ順次中心帶，移行帶，薄帶，境界帶，侵入帶及ビ邊緣帶ニ區別スル。此等各發育帶ハ夫々之ヲ構成スル細胞ノ核ノ大イサ，原形質ノ多寡，細胞走向，細胞密度，培地血漿ノ菲薄化等ヲ判定條件トスレバ容易ニ區別出來ル。

ハ）發育帶ハ過度ノ高溫，榮養不良，老廢物蓄積，「レ」線放射等不利ナル培養環境デハ發育ヲ阻害サレル。

特ニ境界帶ハ最モ敏感デ薄帶此ニ次ヅガ侵入帶ハ是等ノ障碍ヲ受ケルコトガ最モ少イ。

ニ）各發育帶ヲ通ジテ存在スル細胞ハ結締織母細胞ト考ヘラレルガ特ニ移行帶ニテ索狀ヲナシテ發育シテ來ル細胞ハ內被細胞デアルト考ヘラレル。

目　次

緒　言
史的沿革及ビ現況
組織培養法ノ意義
組織ノ培養法
　イ）支持體
　ロ）榮　養
　ハ）容　器
　　（1）被覆硝子法　（2）壜法
　　余ノ考案セル壜法改良法
　イ）容　器

ロ）タイロード氏液調製法
ハ）血漿調製
ニ）胎兒壓搾液調製
ホ）操　作
在來ノ培養法ト余ノ方法トノ比較
1. タイロード氏液調製
2. 血漿調製
3. 胎兒壓搾液
4. 容　器
余ノ方法ニ依ル組織培養
イ）發育面積測定法
ロ）固定染色標本作成
1. 成長狀況ノ生體ニ於ケル觀察
小括：面積計測法ニ就テ
2. イ）成長狀況ノ固定染色標本ニ於ケル觀測
ロ）發育帶ノ數量的觀察
ハ）生活條件ニヨル發育帶發達ノ消長
小括：發育帶ニ就テ
3. 細胞學的觀察
1）余ノ培養組織ニ於テ觀察セラレタル細胞
2）之等ノ細胞ニ就テノ考察
イ）神經纖維
ロ）組織球細胞
ハ）筋母細胞
ニ）內被細胞
結　論
文　獻

緒　言

一體或特定ノ組織ヲ母體外ニ發育增殖セシムルニハ．2通リノ方法ガアル。

其ノ1ハ實驗對象ヲ新規ノ生活系內ニ收容スル場合デ．此ノ際其ノ實驗對象ノ生活ハ母體ニ於ケル場合ト同樣．ソノ新系ノ作用ヲ綜合的ニ執行サレル。之ハ古クカラ行ハレテヰタ移植 Transplantation デアル。

之ニ對シ他ノ1ハ．實驗對象ヲ各作用因子ヲ自由ニ變更セシメ得ル如キ或無生物系ノ環境ノ下ニ生活サセル方法デアル。之ヲ W. Roux (1905) ハ特ニ Explantation ト呼ンダ。

Roux ハ Explantation ニ成功シタワケデハナカツタガ．コノ定義ニ從ヘバ組織體外培養．或ハ一般ニ組織培養法ハ實ハコノ範疇ニ入ルベキデアル。

石橋ニ從ヘバ組織培養法トハ組織又ハ臟器ヲ生體外卽チ人工培養器中ニ生活ヲ營マシムルコトデアルト言フ．之ヲ更ニ具體的ニ言フ爲ニ佐藤ノ表現ヲ借リレバ．生體ヨリ組織片ヲ切リ出シ之ヲ吾人ガ細菌ヲ培養スル要領デ試驗管內ニ增殖セシムルコトデアル。

組織ノ培養ハ比較的早ク隆盛ヲ極メタニモ不拘．其ノ後ノ發達ノ割合ニ見ルベキモノ少イノハ．諸家ガ實驗目的ヲ逐フニ急ニシテ根本ナル問題卽チ培養法．觀察法ニ何等改良ヲ施サヾルニ其ノ理由ノ大半ガアルト思ハレル。Carrel ハ30年前既ニ組織培養法ハソノ方法ニ尙幾多ノ改良スベキ問題ガアルト嘆ジタ。然モソノ後ノ情勢ハ Harrison, Carrel ノ方法ヲ殆ド踏襲スルニ止マツテヰル。

余ハ組織培養法ヲ用ヒテ「レ」線ノ生物學的作用ヲ驗セントスルニ當リ．聊カコノ點ニ思ヒヲ致シ．コノ目的ニ比較的合致セル壜被覆硝子法ヲ考案シタノデ之ヲ報告シヨウト思フ。

史的沿革及ビ現況

1906年 R. G. Harrison ハ成長シテヰル神經ノ終端ヲ生存シタ儘デ觀察シヨウトノ目的ノ下ニ 3mm 長サノ蛙胎兒ヨリ神經襞ヲ分離シ．一方成熟蛙ノ淋巴囊ヨリ淋巴ヲトリ．ソノ1滴ヲ被覆硝子ニ落シソレニ該組織ヲ包埋セシメタルニ凝固シタ。ソノ被覆硝子ヲ凹陷載物硝子上ニ倒ニ載セ．周邊ヲ「パラフィン」ニテ封ジタ。

コノ組織ヲ毎日顯微鏡デ觀察シ上皮細胞．筋纖維及ビ特ニ神經纖維ノ發育．運動等ニツキ論ジ．此處ニ用ヒラレタ方法ハ細胞本來ノ生活ヲ分析考按スルニ價値ガアルダラウト結ンダ。コノ成功ガ組織培養法ノ嚆矢トナツタ。

1910年ニ A. Carrel ハコノ Harrison ノ方法ハ組織細胞ノ基礎的研究ニ極メテ重要ナル方途タルコトヲ確信シ M. T. Burrows ト共ニ成長セル犬．猫．蛙等ノ小組織片ヲ淋巴液ヨリハ種々ノ點デ更ニ優レテヰル血漿培地ニトリ．懸滴法デ培養．觀察シ．更ニ進ンデ肉腫ノ培養サヘ行ツテヰル。

コノ新シイ研究方法ヲ A. Carrel, M. T. Burrows, A. H. Ebeling, V. Biscegeie, Strangeways, Champy 等ガ發展セシメ．我國ニ於テハ木村及ビソノ門下．石橋．那須等ハ上述外國學者ニ遜色ナキ多數ノ業績ヲ出シテ斯界ニ貢獻シタ。斯クシテ現在マデ殆ド總テノ組織ノ培養ガ試ミラレテヰル。木村ノ綜說ニヨレバ皮膚．神經組織．筋組織．特ニ心臟組織．腺組織ノウチ胃及ビ腸．膵臟．肝臟．甲狀腺．腎臟．睾丸．造血組織デハ脾臟．淋巴球．骨髓等ガ培養可能デアル。然シ乍ラ之等ノ組織ハ永久的ニ純粹ニ植エ繼ギ增殖サセ得ルワケデハナク．ソノ組織ニ附屬スル結締織ガ次第ニ增加シテ本來ノ組織ノ增殖ヲ壓倒シ去ルノガ普通デアル。

現今純粹培養ノ可能ナルモノハ結締織母細胞．巨大單核白血球．上皮細胞ノウチ虹彩上皮．水晶體上皮．網膜上皮．軟骨細胞等比較的僅カナル組織ニ過ギヌ。

純粹培養デ特ニ操作ガ比較的簡單デアル爲ニ最モ行ハレテヰルノハ結締織母細胞デアツテ．之ハ鷄胎心臟片ヲ約5世代植エ繼ギ行ヘバ得ラレル。最初ハ心筋細胞ソノ他遊走細胞ヲ含ムノデアルガ．之等ハ次第ニ結締織母細胞ノ增殖ニ壓倒サレテ遂ニハ結締母細胞許リガ殘ルトサレテヰル。現在 Rockfeller 研究所．Fischer 研究所等デハ既ニ20年以上ノ結締織母細胞ヲ植エ繼ギニヨリ培養シテヰル現況デアル。

腫瘍ノ培養モ行ハレテヰル。卽チ鷄．鼠．犬．人ノ肉腫ニ始リ．Lambert, Hanes, Fischer 木村等多數ノ學者ノ動物或ハ人類腫瘍培養ノ報告ガアルガ殊ニ Fischer ハ獨特ノ方法ヲ案出シテ Rous 肉腫ノ永久培養ヲ可能ナラシメ．本邦ニ於テモ木村．榊原等ハ家鷄粘液肉腫ノ長期培養ニ成功シテヰル。又癌腫ノアル種．例ヘバ Flexner Jobling（「ラッテ」癌腫）ノ培養ヲ Fischer ハ報告シテヰル。然シ人類惡性腫瘍ノ永久培養ハ未ダ成功シテヰナイ樣デアル。

組織培養法ノ意義

組織培養法ニ於テハ他ノ實驗法ノ到底企及シ得ヌ利點ガアル。其1ハ組織細胞ノ（主トシテ高等動物）ノ構造．行動ヲ正確ニ．生キテヰル其儘ニ觀察セシメ得ルコト。其2ハ細胞ノ生活反應ト．ソノ役目ヲ．個體ノ生活影響即チ血管系．神經系及ビ其ノ他ノ干涉カラ解放サレタ相デ研究シ得ルコトデアル。

コノ事ハ細胞物質代謝ノ過程ヤ．放射ニヨル生活體ノ複雜ナ反應ヲ分析スル試ミトシテ極メテ重要ナルモノデアル。然シ乍ラ一方組織培養法ノ缺陷トシテ次ノ如キ疑問ヲ持ツテヰル人ガヰル。即チ第1ハ培養サレテヰル組織ハ不自然ナル環境ノ爲大部分ハ變性ニ陷リ．而モ實驗ハソレラニ就テノミ行ハレテヰルノデハナイカ．然シコノ疑問ノ解答ハ極メテ容易デアル。in vitro ニ於テ健康ニ組織ヲ保タセルコトハ容易デハナイガ出來ナイコトデハナイ。熟練シタ實驗者ハ組織ヲ何年ト生存セシメテヰル。而モ一體 in vitro デアラウガ in vivo デアラウガ變性細胞ノ特色ハ直グ判ルノデアルカラ行キトドイタ觀察サヘ行ヘバ此ノ誤リハ避ケルコトガ出來ルノデアル。

第2ノ疑問ハ培養當初ハ成程ソノ組織デアツタガ次第ニソノ實質ガ變ツテ來テ後ニハ當初トハ別ナ組織ニナルノデハナイカトノ疑問デアル。

上述ノ疑問ニ就テハ．in vitro ニ於テ成長シテヰル組織細胞ノ主ナ特色ヲ手短カニ話ス必要ガアル。大體 in vitro ニ於テ培養サレタ組織ハ成長ニ際シテハ2ツノ型．即チ正規發育ト無制限發育ヲ同時ニ行フ。

正規發育トハ組織ガ生體ノ正常ナ一部分トシテ發育スル場合ト同樣ナ發育ヲ行フ場合デ．例ヘバ Ebeling ハ抱卵第18～19日ノ鷄胎甲狀腺ヲ培養シ．甲狀腺上皮ノ純培養ヲ7ケ月ニ亙ツテ觀察シテヰルガ．培養第129日目ニ於テモ腺ノ葡萄狀構造ヲ明カニ觀察シ．ソノ中ニハ膠樣物質ヲ含有シテヰルト報告シタ。又 Carrel 及ビ Burrows ハ腎臟ノ培養ニ際シテ腎上皮ノ增殖ヲ見．時ニ細尿管ト覺シキ構造ヲ認メテヰル。又那須及ビ松井ハ成長家兎角膜ノ體外培養デ實質細胞ノ再生現象ヲ確認シタ。

之等ノ事實ヲ見ルト．組織ハ體外ニ培養シテモ母體ニアル場合ト同樣ニ發育分化シテ行クト考ヘテヨイト思フ。無制限發育トハ創傷ノ治癒過程ニ比スベキ發育デ．結締織母細胞ノ積極的遊走ト極メテ旺盛ナル間接核分裂ニヨル細胞增加トヲ主徵トナス。ダカラ培養組織ガ無制限發育ヲ行フ時ハ．ソノ特有ノ組織學的分化ヲ失ツテ次第ニ單純ナ構造ニナツテ行ク。

之等兩型ハ同一培養組織內デ同時ニ起ルノデアツテ．無制限發育ハ組織ノ邊緣ニ．正規發育ハ中心部ニ見ラレ。而モコノ結締織母細胞ヲ主トシタ無制限發育ヲナス細胞群ハ30代ヲ重ネテユクウチニ遂ニ正規發育ヲナス細胞群ヲ壓倒スルニ至ル。從テ組織培養ニ依ツテ得タ觀察結果ヲ生體內細胞ノ生活現象ニ當嵌メヨウトスルニ當ツテハ餘程愼重デアル必要ガアル。

併シ．培養組織ノ無制限發育ヲナス細胞ノ研究必ズシモ無用デハナクテ．細胞ノ形態．生理ニ關スル一般的ノ極メテ價値アル所見ガ之カラ導キ得ラレル。

之ハ無制限發育ヲ示ス組織細胞ノ生活過程ガソノ儘生體内細胞ノソレニ大體似テヰテ．例ヘバ培養組織細胞ノ發育．分裂變性．壞死等ノ狀況ガ他ノイロイロナ方法デ觀察サレタ生體内細胞ニ關スル實驗結果ト符合スルカラデアル。

一體生體内ニ生活スル組織細胞ハ無數ノ複雜巧妙ナ而モ未知ノ緩衝的保護ノ下ニ庇護サレテ居ルモノト考ヘラレ．コノ庇護ガ行屆カナイ場合ハコノ細胞ハ些細ナ外的影響ニ對シ極メテ敏感ニ反應スルニ違ヒナイ。サレバ．培養法ニ於ケル如ク限ラレタル庇護狀況ノ下ニ生活セシムル場合ニ於テハ．コノ敏感ニシテ纖細ナル細胞ニ出來ル丈快適ナ生活ノ出來ル樣取計ラツテヤル必要ガアル。然ラザレバ極メテ些少ナル環境ノ相違ガ意外ニ大ナル生活反應ノ相違ヲ惹起シ得ルコトヲ銘記セネバナラヌ。是等ノ注意ヲ怠リナク守リ警ムレバ細胞ヲ長期間．健康ニ成育スル事モ決シテ不可能デナイノデアル。

組織ノ培養法

組織ノ體外ニテ培養スルニハ該組織ヲ一定ノ容器内ニ支持體ヲ以テ定著サセ．必要ナル榮養ヲ與ヘテ適當ナル溫度下ニ在ラシムル操作ヲ無菌的ニ行ヘバヨイ．ソノ具體的方法ヲ述ベルト．

イ）支持體　細胞ノ增殖發育ニハ之ヲ定著セシメナケレバナラナイ。コノ爲ニコソ支持體ガ是非必要ナルモノデアル。組織ノ支持體トシテハ Buorows 以來．血漿ガ用ヒラレテヰルガ之ハ血漿内ノ纖維素ガ細胞ノ支持體トシテ最モ良好デアルニ依ル。併シ家鷄粘液肉腫等ノ培養デハコノ鷄血漿支持體モ早晩液化シテ惡性腫瘍ノ培養ヲ困難ナラシメル。

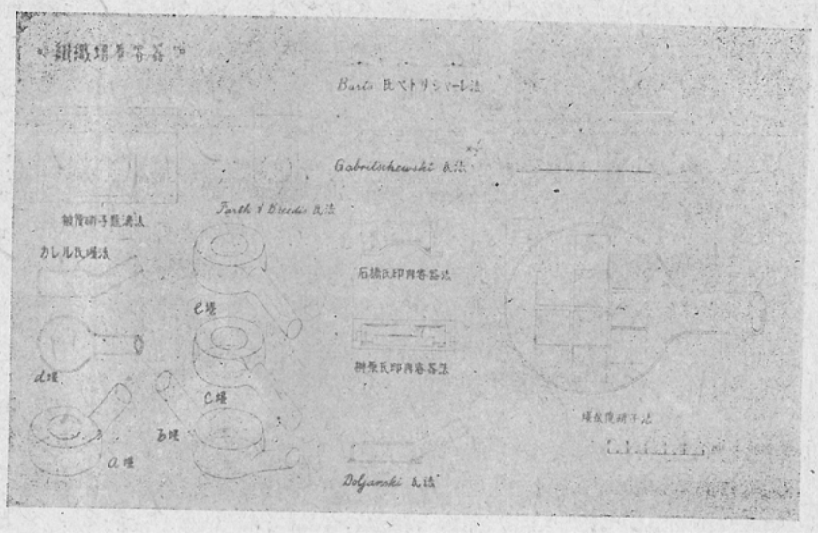
ロ）榮養　榮養分トシテハ一般ニハ血漿ニ胎兒壓搾液ヲ加ヘタモノガ用ヒラレル。血漿ハ榮養物ノ意味デ用ヒラレ．胎兒組織壓搾液ハソノ中ノ培養組織發育促進物質ヲ用ヒントスル爲デアル。發育促進物質トシテハ此ノ外脾臟或ハ骨髓ノ臟器「エキス」Carrel und Bakersche Proteose, Fischer und Dewutsche Proteose 等ガ利用サレテヰル。木村ハ「フィブリン」ノ消化物質．卵黄．卵白．「ヴィタミン」B複合體等種々ナ物質ヲ加ヘテ培養ヲ行ツテミタ。然シ結局組織ノ培養ヲ行フノニ發育促進物質トシテ最モ簡便デ最モ能率ノヨイノハ胎兒壓搾液デアラウ。又培地ノ水素「イオン」濃度．或ハ培養溫度モ．Fiseher 福光．高橋ガ觀察シタ如ク組織ノ增殖ニ至大ノ關係ヲ有スルモノデアル。

ハ）容器（第1圖）　培養容器ハ大體大キク分ケテ2ツノ基本型ガアル。

（1）被覆硝子法

之ハ組織培養法トシテ一般ニ行ハレテヰル方法デ．滅菌セル被覆硝子上ニ組織切片ヲ固定シテ．此ノ組織固定被覆硝子ヲ中央ニ陷凹部ノアル載物硝子ニ倒置シテ懸滴狀タラシメ．4周ヲ

第 1 圖



「パラフィン」ニテ氣密ニシ孵卵器デ培養スルモノデアル。被覆硝子懸滴法ヲ最初ニ用ヒタノハ Harrison デアツタガ其後原法ヲ改良シテ色々ナ方法ガ提唱サレテヰル。

例之．載物硝子ノ上ニ硝子ノ環ヲ「ワゼリン」ヲ以テ固定シ．組織ヲ固定シタ被覆硝子ヲ硝子環上ニ倒置．懸滴セシメ．「ワゼリン」ヲ以テ固定氣密トスル外組織ノ乾燥ヲ防グタメ底部ニ少シ許リノ滅菌蒸溜水ヲ插入シテオクモノヤ．被覆硝子ヲ使用セズ氣密ナル徑 11 cm ナル硝子製ノ1種ノ「シヤーレ」ノ蓋ヲ利用シ．ソレニ廣ク血漿ヲ凝固セシメ組織ヲ植エ．1種ノ懸滴培養法ヲ試ミタモノガアル。尙圓形印肉容器ノ特ニ底ノ盛リ上ツタモノヲ用ヒ．ソノ底ノ上ニ上向キニ組織ヲ安置シタ上ソノ蓋ヲスリ合セトシ．氣密タラシメテ培養スル人モアル。

石橋ノ提唱スル此ノ印肉皿法ハ我國獨特ノモノデアリ．煩瑣ナル手續キヲ要セズ而モ多數ノ組織ヲ培養スル事ガ出來ル。但シ．之ハ組織ヲ生體ノ儘觀察セントスルニハ稍ミ不便ガアル。

（2）壜 法

此ノ方法デ最モ廣ク用ヒラレテヰルノハ所謂「カレル」壜デアラウ。卽チ圖ノ如ク饅頭型ノ硝子容器ニ小サイ硝子管柄ガ斜上方ニ熔接サレテアルノガソレデ．コノ壜ノ底部ニ組織ヲ入レテ培養スルモノデアル。Carrel ガ考案セル此ノ壜ハ d 型デ上述ノ他ニ4型ガアル。卽チ此ノ硝子柄ガ左右ニ1個宛都合2個出テヰルノガ b 型デ之ハ手技ニ便利ナ爲デアル。

壜ノ上壁ニ窓ヲ明ケ直徑 3 cm ノ圓形薄硝子ヲ「シェルラック」ニテ封ジテアルノガ a 型デ是ハ上部ヨリ組織片ヲ出入サセルニ便ナラシムル爲デアル。壜ノ底ニ窓ヲ明ケ．直徑 3 cm ノ圓形薄硝子ヲ「シェルラック」ニテ封ジテアルノガ c 型デ．是ハ壜ハ倒ニシテ組織ノ生體觀察ニ便ナルノミナラズ．組織固定後．薄硝子ヲ剝離シ．又ハ切リ取ツテ顯微鏡標本ヲ作ルニ便利デアル。

上下ニ窓ガアリ．ソノ各々ニ直徑 3 cm ノ圓形薄硝子ヲヲ封ジテオク。之ガc型デ是ハ a, c ノ2ツノ特長ヲ兼ネテヰル。此ノ「カレル」壜法ハ培養ノ際凝固セル血漿ノ層ト．發育促進物質ノ液狀層ト2層ヲナス故ニ．液體培養器トモ稱セラル。

L. Doljanski ハ窓ツキ「カレル」壜ノ操作ガ不便デ一般ニハ不向キデアルニ鑑ミ．徑 36mm, 組織插入口長サ 30 mm, 該徑 10 mm ノ「カレル」壜ノ底ヲ缺イタモノヲ特製シ．底部ニ圓形 Jena 硝子ヲ卵白「グリセリン」ニテ先ヅ接著サセ．更ニソノ壜底ト Jena 薄硝子トノ周圍ヲ「パラフィン」ヲ以ツテ封ジタ一種ノ壜ヲ考案使用シタ。併シ之ハ彼自身ノ告白ヨリ見ルト可成リ不便ナモノラシイ。

余ノ考案セル壜法改良法

組織培養ヲ以テ放射線生物學的實驗ヲ行ハントスル爲ニ余ハ．「カレル」壜法ヨリ出發シテ．ヤヽ獨自ノ培養法ヲ考案．之ヲ實用シテヰル。今ソノ概要ヲ述ベル。

イ）容器　余ハ所謂大形及ビ中形「カレル」壜ヲ特製シタ。此ノ壜ト原法「カレル」壜ト異ル點ハ組織插入口タル管柄ノ內徑ガ原法ヨリ遙カニ大ナル點ニ在ル(原法ハ直徑 10 粍．余ノ改良法ハ 20 粍)。卽チ大形壜ハ底徑 100 粍．高サ 20 粍デ組織插入口ノ柄ノ長サ 50 粍．ソノ內徑ハ 20 粍デアル。又中形壜ハ底徑 50 粍．高サ 20 粍デ組織插入口ノ柄ノ長サ 40 粍．ソノ內徑ハ 20 粍デアル。何レモ 1.5 粍ノ厚サノ硬質硝子デアル。壜ノ底ニハ 18×18 粍ノ被覆硝子ヲ敷石狀ニ大形壜ニハ 10 乃至 8 枚．中形壜ニハ 2 乃至 4 枚敷クコトガ出來ル。

ロ）タイロード氏液調製法　余ハタイロード氏液ヲ簡便ニ調製スル爲．次ノ如キ方法ヲ用ヒタ。卽チ NaCl 80 瓦．KCl 2.0 瓦．$CaCl_2$ 2.0 瓦．$MgCl_2$ 1.0 瓦ニ蒸溜水ヲ加ヘ全量ヲ 400cc トシ．之ヲ 50cc 容ノ「アムプレ」ニ約 40cc 宛分注スル。コノ「アムプレ」ヲ A トス。又 $NaHCO_3$ 10 瓦．NaH_2PO_4 0.5 瓦ヲ蒸溜水ニ溶シ全量 200cc トナシ 20cc 宛「アムプレ」ニ分注ス。之ヲ B トス。

A, B ハコツホ氏釜ニテ 5 時間宛 2 日滅菌シテ後貯ヘル。此ノ際使用藥品ガ純粹デアレバ沈澱ヲ生ズルコトハナイ。使用ニ當ツテハ． A : 40cc．B : 20cc 及ビ滅菌蒸溜水ヲ混合シ全容 1000cc トスル。コノ操作ハ無菌的ニ行ヒ．出來上ツタタイロード氏液ヲ煮沸滅菌スルコトヲシナイ。コノ際滅菌スル前ニ2個ノ「アムプレ」ニ分注セル理由ハ混合調製サレタタイロード氏液ヲ煮沸スルト液內ニテ $CaCO_3$, $MgCO_3$ 等ノ沈澱ヲ起シテ了フカラデアル。

ハ）血漿調製　豫メ1日間絕食セシメ置キタル若鷄ヲ特製セル鐵力製圓筒ニ仰向ケニ插入シテ不動ニシ頸部．頭部ノミ筒ノ蓋ノ穴ヨリ露出サス。カクテ頸動脈ヲ露出シ．頸動脈內ニ「カニューレ」ヲ插入シテ滴下スル血液ヲ「パラフィン」ヲ塗レル氷冷三角「コルベン」ニ受ケ．之ヲ 3,000 回轉ノ速心器ニテ血漿ヲ分離シテ氷室內ニ藏フ。總テ操作ハ嚴重ナル滅菌的操作ニヨル。

尙此ノ際鷄ハ筒內ニアル爲ヨク固定サレ．麻醉ヲスル必要ハナイ。

ニ）胎兒壓搾液調製　電氣孵卵器ヲモツテ孵化途上ニアル受精鷄卵ノ抱卵後7乃至15日ノモノヲトリ其ノ鈍端ノ卵殻ヲ碎イテ之ヲ除去．次デ氣室ヲ形成スル2重ノ殻膜ヲ剝離スレバ透明ニシテ無數ノ血管發達セル漿尿膜トナリ．漿尿膜ヲ通シテ羊膜ヲ被レル鷄胎兒望見サル。コノ胎兒ヲ先端ノ彎曲セル鑷子ヲ以テ頭ヲ引掛ケ取リ出シ「シヤーレ」ニ移シ．汚染セル血液ヲタイロード氏液ニテ洗ヒ．次ニ胎兒ヲ細キ射口ヲ有スル50cc.ノ注射器ニ收容シ壓搾噴出セシムレバ鷄胎ハ細キ組織片トナリ細碎サル。遠心シテ上澄液ヲ冷藏ス。螢光ヲ帶ビタ胎兒壓搾液ハ斯クシテ調製サレル。

ホ）操作　綿栓滅菌セル壜ノ底ニ豫メ竝置セル被覆硝子ノ下面ニ毛細管「ピペット」ニテ血漿及ビ0.5%鷄胎壓搾液タイロード氏稀釋液各々1滴（30分ノ1cc.）ヲ添加シ．綿栓ノ後38°C孵卵器内ニ五分間放置スル。然ル時ハ被覆硝子ノ底面ニ滲潤シ了レル血漿ハ凝固シ．被覆硝子ハ壜底ト密著シテ動搖其ノ他ノ操作ニテハ剝離スル事ハナイ樣ニナル。カクテ此ノ被覆硝子ノ上ニ1滴ノ血漿ヲ滴下シテコノ中央ニ豫メ準備セル組織片ヲ置キ．更ニ1滴ノ胎兒壓搾液ヲ滴下シテヨク混和スル。此ノ際血漿ノ擴ガリヲ直徑15粍トスレバ組織ハ大約同程度ノ厚サノ支持體ニヨリ支ヘラレタ事トナル。次デ再ビ綿栓シ孵卵器ニ10分間放置ス。血漿ガ全ク凝固シテキル事ヲ確メタ後之ヲ孵卵器ヨリ取リ出シ．大形壜ナラバ25%．胎兒壓搾液タイロード稀釋液10cc.．中形壜ナラバ4cc.ヲ注入シ綿栓シ．「ゴム」帽（指サック）ヲ被テ孵卵器内ニ格納スル。コノ胎兒壓搾液ハ隔日ニトリ換ヘテ6日乃至8日培養スル。

在來ノ培養法ト余ノ方法トノ比較

今上述ノ余ノ培養方法ガ在來ノ一般ニ行ハレテキル培養法ニ比シテ．少シク改良シタル點ハ次ノ如キ點デアル。

1．タイロード氏液調製　タイロード氏液ヲ如何ニシテ滅菌貯藏スルカハ木村．Bisceglie ノ成書ト雖モ之ヲ明瞭ニ指示シテキナイ。St angeway ハ純粹ナル上述ノ鹽類ヲ秤量シ滅菌水ニ溶解スベシトナスガ．之ハ細菌ノ迷入ノ惧レナシトセヌデアラウ。余ノ方法ニ依レバ最モ確實且安全デアル。尤モコノ方法ハ後デ知ツタノデアルガ榊原モ既ニ之ヲ行ツテキタ。

2．血漿調製　一般ニ鷄ノ固定ガ問題デ靜肅裡ニ採血スルノハ難シイトサレテキル。然シ余ノ如ク體．翼．肢ヲ可成窮屈ナ筒部ニ插入セバ最早家鷄ハ騷動スルコトハナイ。

3．胎兒壓搾液　在來ハ胎兒ヲ鋏ニテ細切スル法．特殊ナ壓搾器ヲ使フ法（Fischer）等ガアツタガ。單ニ胎兒ヲ細片ニスルニハ注射器デ充分デアル。尤モ抱卵第15日以後ノ場合ハ骨組織ニ石灰沈著ガ可成オコル爲カ．注射器法デハ必ズシモウマクユカヌ。

4．容器　最モ意ヲ用ヒタルモノデ．特ニ多數ノ試驗及對照片ノ培養ノ出來ル廣サト長期培養ノ手輕ニ出來ルコトト．生體觀測ノ容易確實ニ出來ルコトヲ狙ツタモノデアル。卽チ今余ノ培養器ヲ在來ノ最モ廣ク行ハレテキル「カレル」壜法竝ニ被覆硝子懸滴法ニ比較シテミヨウ。

細胞增殖．長期培養

組織培養ニ及ボス「レ」腺ノ影響特ニソノ後障碍等ヲ觀察スル爲ニハ放射後ノ細胞ノ生命ヲ長ク持續サセタイ。「レ」線ノ作用ハ放射後相當ニ日ヲ經テ現レルモノデアルカラ此ノ目的ニ叶フモノハ既述ノ細胞ノ無限生存デアル。無限生存ヲ行ハセル最モ普通ノ方法ハ植エ繼ギデアルガ．之ハ上記ノ如キ目的ニハ添ヒ難イ。何トナレバ培養組織ハ長期ノ植エ繼ギノミニ依ツテモ細胞ノ變性壞死ヲ起スモノデアル。斯クノ如キ變性ガ起ルコトダケデモ．放射線ニ依ル變性トノ區別ガツキカネテ不便デアル。況ンヤ組織ノ生活狀態ノ最モ簡單明瞭ナ表現ナル成長面積計測ガ．植エ繼ギスルト極メテ不正確トナルカラ好マシクナイ。斯クノ如キ事情デアルカラ．植エ繼ギヲシナイ長期培養法ヲ探サネバナラヌ。卽チ同一ノ培養組織片ヲソノ儘デ成可ク長期ニ生存サセテ觀ル外ナイ。此ノ意味ニテ採ルベキハ「カレル」壜法デアル。余ノ壜法ハ在來ノ「カレル」壜ニ比シ前述セル如ク遙カニ大ナル容量（面積深サ共ニ大）ヲ持ツテヰル。ダカラ榮養液分ノ投與ヲ極メテ豐富ニシ且隔日ニ取換ヘ以テ榮養分ノ配給ト老廢物ノ除去トヲ極メテ理想的ニ行フ事ガ出來ル。斯クスル事ニ依ツテ懸滴法又ハ從來ノ「カレル」壜法ニ於ケルヨリモ更ニ長期ノ健常組織培養ニ成功シタノデアル。

多數同時培養

壜ノ容量ガ大デアルカラ從來ノ「カレル」壜ヨリモ遙カニ多數ノ組織片ヲ同時ニ培養シ得ル。之ニ依テ小形壜ヲ數多ク用フル場合ヨリモ遙カニ良好ナル實驗條件ノ均等性ヲ期待シ得ラレル。之等多數ノ組織片ノ培養ニハ柄管ノ口徑ガ原法ヨリ大デアル事ガ操作ノ便ヲ助ケルノデアルガ．然シ他方多數培養ニツレテ手數モ多クナリ又柄管ノ口徑モ大デアルダケ細菌感染ノ危險モ增大スルモノト考ヘラレル。コノ點　本法ノ唯一ノ缺點デアルガ實際ハ斯クノ如キ細菌感染ノ厄ニ殆ドアツタ事ガナイ。

觀察法

放射線ニ依ル組織障碍檢査法トシテ．培養組織ノ成育狀況ヲ逐日的ニ見ル方法ト．障碍組織細胞ノ形態學的檢査法トガアル。培養法トシテハ是等ノ諸檢査法ヲ快適ニ實施出來ルノガ理想的デアル。

成育狀態檢査

生體檢察ニ依テ成育狀態ヲ檢査スル最モ簡明確實ナル手段ハ培養組織ノ面積ノ追日的計測デアル。コノ計測ニ關シテ．余ノ實驗シタトコロニ依レバ「カレル」壜法．被覆硝子懸滴法共ニ大キナ優劣ハナイ。余ノ法ハ一種ノ「カレル」壜法デアルカラ此ノ點ハ普通ノ「カレル」壜法ト同樣ニ支障ナク遂行シ得ル。之ニ反シ．細胞ノ顯微鏡的生體觀察ハ「カレル」壜法或ハ壜被覆硝子法デハ顯微鏡ノ對物「レンズ」ノ焦點距離ノ關係カラ所謂弱擴大以上ヲ出ナイカラ不充分デアル。到底被覆硝子懸滴法ニハ及バナイ。最近 Rajewski ガ放射組織ヲ活動寫眞ニ撮影シタ際モ被覆硝子懸滴法ヲ採用シテヰル。

組織成育狀況及ビ障碍細胞ノ顯微鏡的觀察ニハ．生體觀測ノ外是非トモ固定染色標本ヲ作ツ

テミル必要ガアル。固定染色標本ヲ作ル爲ニハ普通ノ「カレル」壜法ハ被覆硝子懸滴法ニ及バナイ。然シ余ノ法ハ壜ノ底ニ被覆硝子ヲ列ベ．ソノ上ニ夫々組織片ヲ固定培養シテアルノデアルカラ．壜底ヨリ被覆硝子ヲ硝子棒ヲ以テ簡單ニ剝離スル丈ノ操作デ．後ハ一般ノ被覆硝子懸滴法同樣ノ處理デ固定染色標本ヲ作製スル事ガ出來ル。壜法ノ形態ヲ具ヘテ然モ固定染色標本ヲ作製セントスル試ミハ在來ナカツタワケデハナイ。例之「カレル」壜 c 及ビ e 法デアル。卽チ組織ニ對シテハ「カレル」壜法ト全ク同ジ發育ヲ期待シ得ルシ．實驗後ソノ底ノ Schellack ヲ取去ツテ普通ノ被覆硝子ト同ジ操作ニ依リ．固定染色標本ヲ作リ得ルト言フワケデアル。然シ此ノ方法ハ底部ノ被覆硝子ヲ壜ニ貼付ケル又剝ギトリ或ハ切取ル操作ガ極メテ煩瑣デアツテ一般ニ用ヒル處トナツテヰナイ。此ノ缺點ヲ救ハントシタ Doljanski ノ壜モ亦不便デ用ヒルニ足リナイ。余ノ法ノ容易ニシテ確實ナルニ及バナイト考ヘテヰル。

被覆硝子懸滴法ニシテ幾分ナリトモ「カレル」壜法ノ長所ニ近付カントス努力スルモノニ．Maximow 石橋．榊原等ガアルガ未ダ滿足ナモノデハナイ。卽チ被覆硝子懸滴法及ビ此ガ亞流ナル Gabritschewski 氏法．Barta 氏法．石橋氏法．榊原氏ハソノ長期觀察ノ點デ余ノ法ニ劣リ．「カレル」壜ハ實驗觀察ノ點デ余ノ方法ヨリ不便デアル。「カレル」壜 c, e 型．Doljanski 氏壜ハ余ノ場合ト同ジク放射線ノ作用ヲ觀察スルニハ便利デアルガ．實驗操作ノ點デ甚シク厄介デアル。

以上要スルニ余ノ壜法ハ「カレル」壜ノ壜口ヲ大キクシテ被覆硝子ヲ插入シ．壜底ニ敷キ並ベ．血漿ヲ以テ豫メ固定シ．然ル後普通ノ「カレル」壜法ノ如ク組織ノ培養法ヲ行ハントスルモノデアルガ．之ニ依テ組織片ノ多數ヲ比較的長期ニ培養シテ．生體觀察モ行ヒ又顯微鏡染色標本作製モ容易ニ行ヒ得ル。卽チ「カレル」壜ト被覆硝子懸滴法トノ兩長所ヲトリ．放射線ノ生物學的檢索ニ便ナラシメタノガ余ノ法デアル。余ハ此ノ法ヲ今後壜被覆硝子法ト呼ブ事トスル。

余ノ方法ニ依ル組織培養

上述ノ理論ヲ基礎ヅケルモノハ今述ベル鷄胎心組織片培養實驗デアル。培養方法ハ前述ノ余ノ考案ニ成ル壜被覆硝子法ニ依ル。此ノ實驗ニ於テ余ノ明ニセント欲シタル點ハ．

1．本培養法ノ操作上ノ難易及ビ長短．2．本培養法ニヨル組織ノ培養期間ノ限度ノ設定。3．本培養法ニヨル組織成育狀況ノ究明。4．本培養法ニヨル培養組織ノ細胞學的所見ノ檢討デアル。

今培養組織ノ記載ニ先立チ培養組織ノ檢査法タル面積計測法ト固定標本ノ作リ方ヲ述ベル。

イ）發育面積測定法

Eddinger ノ垂直投影器ノ代リニ余ハ國產「オリンパス」顯微鏡ヲ以テ投影器ヲ作ツタ。卽チ載物臺．集光器等ヲ取除キ．對物「レンズ」ハ「ツアイス」3．對眼「レンズ」ハ「オリンパス」5 ナル顯微鏡ヲ倒置ス。光源ハ 60「ワット」電球．光ハ徑 10 mm ノ絞リヲ通過シ．壜內組織．次イデ

顯微鏡ヲ通リ顯微鏡ヨリ 3 cm 直下ノ上部ニ小孔ヲ穿テル暗箱ニ入ル。暗箱内ニハ光ノ方向ニ 45 度ヲナス様鏡ガ裝置サレテアル。光ハ其處デ反射サレ鏡ノ前 20 cm ノ所ニ在ル「ピントグラス」ニ像ヲ結ブ。之ヲ「パラフィン」紙ニ記錄スル。投影ニヨル擴大率ハ 15 倍デアル。此ノ面積圖ヲ「プラニメーター」ニテ計ル。余ノ實測値ハ之ヲ其ノ儘記錄シテアル。

培養組織ハ培養直後及ビ毎日一定ノ時間ニ孵卵器ヨリ取出シテ面積圖ヲ描寫シタ。

ロ）固定染色標本作成

臺被覆硝子法ニテ培養第 6 日或ハ第 8 日ニ至レバ液狀成分ヲ棄テ去リ．代リニ 2%「フォルマリンタイロード」氏液ヲ注ギ．以テ固定ヲ行ヒ 24 時間放置ス。次デ 24 時間ノ水洗。斯カル操作ノ後硝子棒ヲ以テ臺内被覆硝子ヲ靜カニ然シ力强ク壓迫スレバ被覆硝子ヲ臺底ヨリ剝離遊離セシムル事ガ出來ル。ソノ硝子ノ表裏ヨリ．組織細胞ノ含マレテヰル以外ノ餘分ノ血漿ヲ拭ヒ去リ．其ノ際臺ニテ四周ニ番號ヲ附ス。臺ノ乾クノヲ待チ Mink 氏「ヘストキシリン」液(「ヘマトキシリン」末 1 瓦ヲ水ニ溶シソレニ「グリセリン」30cc. ヲ加ヘ別ニ明礬 8 瓦ヲ水ニ溶セルモノヲ加ヘ其ノ後更ニ硫黃華 1 瓦ト 96%「アルコール」50cc. ヲ加ヘ更ニ水ヲ補ツテ全量ヲ 100cc. トスル) ヲ 1:4 ニ蒸溜水ニ溶キ 24 時間染色スル。標本ハ 10 分間水洗ヒセル後 2%鹽酸「アルコール」液ニテ血漿ガ赤クナル迄脫色シ．再ビ 1 日間水洗ヒスル。斯ク水洗ヒセル被覆硝子ハ 50%. 75%. 98%「アルコール」ニテ各々 2 分宛脫水シ．第一液(「アセトン」95 容．「キシロール」5 容混合)．第二液 (「アセトン」70 容．「キシロール」30 容)．第三液 (「アセトン」30 容．「キシロール」70 容) ニ各々 5 分宛通シ．次イデ「キシロール」第一液．第二液各々 10 分宛クベシテ「バルサム」封入ヲ行ツタ。

此ノ標本ニツキ一方成長狀況ヲ各發育帶 (後述) ニ就テ擴大投影ニヨル面積測定ヲ行フ外．ソノ細胞學的特性ニ就テ顯微鏡的ニ詳細ニ檢査シ．出來得ル場合ハソノ數量的比較ヲ行ツタ。

1)．成長狀況ノ生體ニ於ケル觀察

余ノ標準培養法ニヨル鷄胎心培養組織ノ正常ナル成長狀況ヲ前述セル面積測定法ニヨリテ逐日的ニ測定セル結果次ノ如キ成績ヲ得タ。ソノ代表的ノモノヲ示セバ第 1 表ノ如シ。

第　1　表

A. 臺内培養組織

組織名	原組織	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日
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

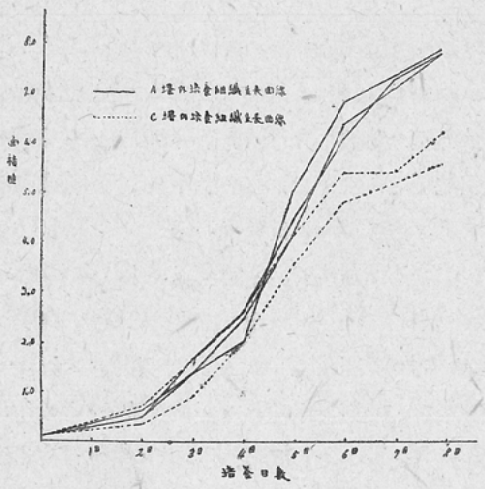
C. 臺内培養組織

Cb	0.1	—	0.4	0.9	2.0	3.5	4.7	—	5.4
Cd	0.1	—	0.7	1.6	2.6	4.1	5.3	5.3	6.1

備考　第 1 日目ハ都合ニヨリ計測セズ

即チA實驗群（塁番號Aニ竝置培養セル組織群トC實驗群（塁番號Cナル塁ニ培養セルモノ）トノ二實驗群例ニツイテ見ルニ．A及ビCハ各實驗群内ニ於ケル組織片ノ成長面積ハ夫々略ゝ均等ニシテ第1日目ヨリ順調ニ發育シテ6日頃迄ハソノ成長亦均等ナル速サヲ示ス。コノ關係ハ上表ヲ圖示スレバ最モ明カデアル（第2圖）。

第　2　圖



然ルニA群トC群トハ成長ノ大サヲ少シク異ニシA群ノ方ガ發育ガ稍ゝ良好ノ樣ニ考ヘラレル。コノ傾向即チ各實驗群ニ於テ同一塁内培養組織ノ成長ハ殆ンド同一步調ニ進ムガ．塁ヲ異ニスルモノ、間デハ步調ガ整ハナイ事ハ本實驗ノミナラズ．余ノ實施シタル總テノ實驗ヲ通ジテ端的ニ觀ラレタトコロデアル。

培養實驗ヲ8日迄ニ止メタノハ．余ノ塁被覆硝子法ニ於テハ此ノ培養日迄ニテ組織ノ發育ガ組織片ヲ搭載スル被覆硝子ノ大サノ極限ニ達シテソレ以上ノ組織ノ發達ヲ見得ナイト言フコトト．後述スル如ク偶ゝコノ極度ニテハ顯微鏡的ニ細胞ノ變性現象ガ稍ゝ目立チ始メルノデコノ位ガ余ノ法ニヨル正常發育ノ限界ナラント思ツタカラデアル。

小括：　面積計測法ニ就テ

ソモソモ培養セラレタル組織ノ擴ガリヲ逐時的ニ計測スル方法ハ成長狀況ノ全般ヲ見ルノニ最モ簡單明瞭ナルモノト考ヘラレテ居ル。計測方法トシテハ發育組織ノ縱橫徑ヲ記錄スルトカ組織ノ投影圖ヲ方眼紙ノ上ニ重ネ以テソノ方眼ノ集計ヲナストカノ方法モアルガ最モ廣ク用ヒラレテキルノハ Ebeling ノ方法デアル。Ebeling ハ Eddinger ノ垂直投影器ヲ用ヒ投影圖ヲ「プラニメーター」ヲ以テ計測スル。面積ヲ計測シテ組織細胞ノ增減ヲ推論シ得ル根據ハ次ノ如キ實驗ニヨル。R. Meier ハ多クノ培養組織ヲ各々二分シ．ソノ一ヲ「カレル」塁ニテ培養シテ成育面積ヲ測リ．且ツ試驗後乾燥シテ重量ヲ計測シタ。他ノ一ハ直ニ面積ヲ計測シ．且ツ直ニ重量ヲ計測シタ。スルト面積測定ト組織ノ重量測定ノ結果トガ一致シタ。即チ之デ面積測定ガ組織發育ノ指針トナリ得ルモノデアルコトガ判ツタ。

又實際 Ebeling ノ此ノ方法デ材料ヲ結締織母細胞ヲ用ヒタ場合．實際誤差ハ 5～6％ニ過ギズ又原組織面積ノ大サニ著シキ差異ナキ限リ．培養組織原面積ト成育後ノ組織片面積トヲ比ベタル比較成長價ハ同一條件ノ下ノ組織ニツイテハ殆ンド差ヲ認メヌコトヲ Carrel 及 Ebeling，福光等ハ報告シテキル。

併シ余ハ又計測セル面積値ヲソノ儘成長價トシテ表示シ．他ノ諸家ノ如ク比較成長價ヲ出シテ論議スルコトヲシナカツタ。ソノ理由ハ大體原組織ト發育組織トハ同等ニ考ヘルベキデハナイ。前者ハ多數ノ細胞ノ密集セル塊デアリ．後者ハ疎ナル薄層ノ大部分ハ遊走細胞群デアル。ソノ上實驗的ニモ原組織ハ爾後發育帶ニ比スレバ餘リニ面積ハ小デアリ．實驗誤差ガ意外ニ大トナル惧レガアル。然モ一方余ノ如ク成長面積ノミヲ示シテモ組織ノ成長傾向ヲ知ルニハ何等妨ゲトハナラナイカラデアル。

成長面積ヲ逐時的ニ觀察シテユク此ノ方法ハ斯ク簡單ニシテ合理的ノ如ク見ユルガ．組織ノ發育狀況ハ之ニ依テ直ニ明カニサレルモノトハ考ヘラレナイ。先ヅ培養セントスル原組織ハ密集セル無數ノ細胞群デアルガ發育帶ハ細胞ガ疎デ且ツ少イニモ拘ラズ．「プラニメーター」計測デハ何レモ同ジニ取扱ヲシテキル。

又培養組織ガ膜狀ニ擴大セズ索狀ニ擴大スル時．又ハ血漿ガ溶解シテ孔形成ヲナス時．之等モ特別ナ計測法ガ行ハレルノデモナイ。從テ成長狀況ヲ面積計測ニヨツテ推知シ得ル事柄ハ．飽クマデ概論デアリ傾向デアツテ．推論ノ底ヲ出デザル以上ソレガソノ儘細胞個々ノ健否．增減ヲ示スモノトハ言ヒ難イ。今培養セル組織ガ成長增大シテユク際ニハ．一方ニハ．1．細胞增加。2．細胞體成長。3．細胞ノ遠心性遊走ガ正ノ因子トシテ他方。4．細胞壞死。5．細胞體縮小。6．細胞ノ求心性遊走ガ負ノ因子トシテ働ク。是等兩因子ノ增減コソ眞ノ組織成長ノ目安タルベキモノデアル。

然ルニ此ノウチ最モ有力ナル正因子タル細胞增加ハ間接分裂ノ多少ニ左右サレルモノデアルガ．然シ島田ニ依レバ此ノ間接分裂ハ培養後1～2日デ最高ニ達シ後減ジテ來ル（被覆硝子懸滴法）ト言フシ．Fischer ニヨレバ之ハ中野．周邊野デモソノ數ガ可成リ違フト言フ。實際ニ於テ原組織ノ間接分裂ヲ調ベルコトハ何分多數ノ細胞ガ層ヲナシテ稠密ニ存在スルモノ故容易ナ事デハナク．況ンヤソノ量ヲ面積計測ニヨツテ推測スルト言フ事ハ．到底出來ナイコトデハアルマイカト思ハレル。

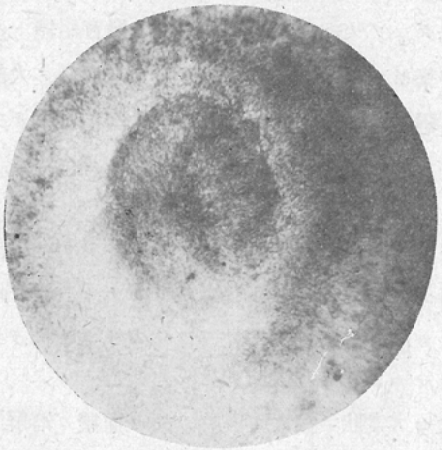
之ト全ク同ジ事ガ細胞壞死ニツイテモ言ヒ得ル。從テ是等兩因子ノ增減卽チ組織ノ眞ノ意味ノ成長增大ヲ面積計測法ノミニ依テ律セントスルハ稍ゝ行過ギタト言フコトニナル。依ツテ、組織成育ノ眞ノ姿ヲ見ル爲ニハ．コノ面積計測ノ外．是非トモ組織構成細胞ノ顯微鏡的檢索ヲ併セ行ツテ．前述セル正負ノ諸因子ニツキ一層入念ナル檢討ヲ加フル必要ガアラウ。

2）．固定標本ニヨル觀察

イ）成長狀況ノ固定染色標本ニ於ケル觀測

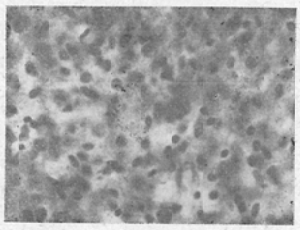
培養第6日ニ固定染色シタル標本ニ就テ見ルニ．培養組織ハ既ニ被覆硝子ノ殆ンド全面ニ擴ガリ．原組織片ヲ中心トスル濃染シタル厚層ノ組織ヲ中央ニシテ其ノ周邊ニ增殖擴散シタル厚薄濃淡樣々ナル細胞群トヲ見ルコトガ出來ル。コノ組織成育圖ニ對シ余ハ次ノ如キ區別ヲ附シテミタ。卽チ．中央部ヨリ順ニ．中心帶．移行帶．薄帶．境界帶．侵入帶及ビ周邊帶ノ六發育帶ヲ設定シタ（第3圖及ビ第4圖參照）。今是等各帶ノ特長ヲ略述スル。

第3圖　鷄胎心組織培養第6日目ニ於ケル發育帶狀況　×13



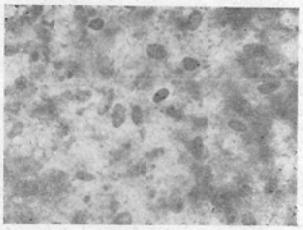
第4圖　上圖培養組織各帶ノ細胞

中心帶



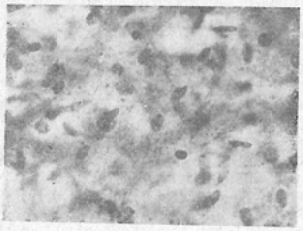
核：小ニシテ密
原形質：不明瞭
配列：不規則

薄帶



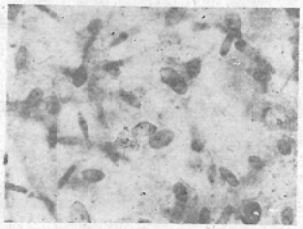
核：小，中
原形質：稍ク明瞭
配列：薄ク，概シテ膜狀

移行帶



核：小，或ヒハ中
原形質：不明瞭
細胞索陰影見ユ

境界帶



核：中，稀ニ大
原形質：明瞭
配列：放射狀竝環狀細胞分裂見ラル

侵入帶



核：中，屢ク大
原形質：明瞭
配列：放射狀

中心帯：　殆ンド原組織ソノモノニ相應スル部分デ．全體トシテ最モ濃染シ．多數ノ細胞核ノ密集塊ヨリ成ル。培養ガ進マヌ中ハ細胞集積ノ度ガ密デ．之ヲ個々ニ識別スルコトガ困難デアルガ然シ培養後期ニハ多數ノ細胞ガ夫々索狀．舌狀．渦狀等ニ排列シテヰルノヲ見ル事ガ出來ル樣ニナル。此處ニ在ル細胞ハ原形質ハ餘リ明瞭デナク．核ノ周邊部ニ明イ帶ヲ認メルノミデアル。核膜ハ厚ク．核ハ濃ク．仁ハ點狀ニ1～2個アリ．核ノ形ハ圓形．橢圓形．卵圓形最モ多ク．稀ニ狹少ナル核モアルガ．ソノ場合ハ細胞ハ大抵細長柳葉狀ノ原形質ヲ認メルコトガ出來ル。之等ノ小ナル核ニ介在シテ稀ニ大ナル圓形．橢圓形ノ明ルイ核ヲ散見スルコトガアル。之等ノ核ニハ明瞭ナル2～3個ノ仁ガアル。

移行帯：　原組織ノ外側ニ在リ稍ヾ明ルイ。コノ帶ハ更ニ內側ノ明ルイ帶トソノ外側ノ稍ヾ暗イ帶トニ區別シ得ルコトガアル。內側ハ原組織ノ細胞數ガ少クナリ．且ツ核ガ大キクナツタモノヨリ成リ．外側ハ薄帶ニ向ツテ放射狀ニ延ビタ千切レ繩狀．或ハ海藻狀ノ細胞索ト比較的大ナル核ヲ有スル細胞ノ集合セルモノトヨリ成ル。細胞索ヲ形成スル細胞ハ濃染シ．細胞質內ノ空胞少ク．橫ノ方向ノ相隣レル細胞トノ境界ハ明瞭デアルガ縱ニ相ツナガツテヰル細胞トノ境界ハ明瞭デハナク．柱狀或ハ束狀ヲナス。核ハ寧ロ小サクテ核膜ハ比較的濃ク染マリ．仁ハ1．2個アリ。圓形或ハ橢圓形デアル。細胞質ニ筋纖維ヲ證明スル事ハ出來ナイガ．屢ヾ細長ノ物質ヲ多數ミル。他ノ細胞群デハ濃染セル小核．淡染セル大核等ヨリ成ルガ．原組織ノ細胞ニ比較スレバ核ハ一般ニ稍ヾ大キク．密集ノ度合ハ減ジテヰル。此ノ細胞ノ形ハ紡錘形．柳葉狀ヲナシ且ツ活潑ナル間接核分裂像ガ見ラレ．細胞索ヲ形成スル細胞トハ明カニ區別シ得ル。

薄帶：　移行帶ノ外側ニ被覆硝子ニ滴下セル血漿ガ大部分溶解シ去リ陷凹シタル場所ニ當リ．極メテ明ルク見エル。此ノ明ルク見ユルノハ細胞層ガ薄イ許リデナク血漿ガ殆ンド無クナツテヰル爲デアル。中心帶ト異ル點ハ細胞層ガ膜狀ニ一面ニ竝ンデヰルコトデアル。此ノ放射狀ニ走ル細胞ハ大ナル核ヲ有スル事ガ多イ。尙變性壞死細胞モ散見サレ．間接核分裂細胞モ稀ニ見ラレル。

境界帶：　薄帶ガ明ルイノニ反シコノ帶ハ暗イ。血漿モ無疵デ殘リ細胞層モ薄帶ヨリハ厚イカラデアル。個々ノ細胞ヲ見ルニ原形質ハ明瞭ニ見エ而モ長ク銳イ突起ヲ有シ．核ハ相當大デアル。脂肪滴．空胞等ハ著明デハナイ。是等ノ細胞ノ走行ハ放射狀ニ走ルモノト環狀ニ走ルモノトガアツテ特異ナル樣相ヲ示ス。然シソレニ混ツテ小ナル原組織ニ見ラレル如キ核ヲ有スル細胞モアルシ．狹少ナル濃染セル核ト柳葉狀ノ原形質ヲ有スル小ナル細胞モアル。尙此處ニハ活潑ナル間接核分裂ガ見ラレルガ．反面原形質ニ空泡ガアル細胞ガ現レ始メル。

侵入帶：　境界帶ニ隣リ明ルイ部ガ侵入帶デ培養組織ノ最外側ヲナスコトモアル。細胞ハ愈ヾ疎デ．且ツ屢ヾ長クツナガツテ周邊ニ向ツテ放射狀ニ排列シテヰル。併シ移行帶ノ細胞索ト異リ層ヲナサズ．濃染セズ．又柱狀．束狀ヲナサヌ。多クノ細胞デハ原形質ハ極メテ明瞭デアルガ多ク小サイ空胞又ハ脂肪滴ヲ含ム。核ノ周邊部ハ明ルク核ハ大キクテ卵形又ハ橢圓形．

仁ハ氣花狀ノ構造ヲ示スコトガアル。併シ極メテ細長ナ柳葉狀ノ細胞モアリ．細胞間ノ境界ガ不明デ「ジンチチウム」ヲナス如ク見ラレルコトモアルシ．間接核分裂モ見ラレル。

周邊帶： 培養組織ノ最外側デ特ニ侵入帶ト區別ノ出來ナイ場合ガ多ク 特記スベキ所見モナイガ但侵入帶ノ周邊ニ數個宛連絡ノナイ細胞群ガ見エル場合ガアル。多クハ變性ニ陷ツタ細胞ヨリ成ル。

ロ）發育帶ノ數量的觀察

以上ノ各發育帶ニツイテソノ面積．細胞密度及ビソノ細胞ノ大サ．性質ノ分布狀況ヲ數量的ニ示シテ見ヨウ(第2表)。

第 2 表

例 Nr. 72		中心帶	移行帶	薄 帶	境界帶	侵入帶
面積比(%)		1.9	17.0	21.4	23.4	35.6
核ノ大サ	大	4.3	16.0	14.0	4.0	21.0
	中	36.6	68.4	79.5	93.0	62.0
	小	58.0	16.0	6.5	3.0	17.0
細胞密度		33.0	19.0	18.0	8.8	6.0
Nr. 89						
面積比(%)		1.1	7.8	31.2	12.7	47.0
核ノ大サ	大	0	0	0	0	7.0
	中	0	1.0	9.5	8.0	52.0
	小	0	99.0	90.5	92.0	41.0
細胞密度		不 明	43.0	25.0	23.0	7.3

茲ニ面積測定ハ染色標本ヲ投影器ニヨリ擴大シ．各帶面積ヲ夫々計測シ．全發育帶全面積ヲ以テ所要發育帶面積ヲ除シ．卽チ百分比ヲ永メタ。

細胞密度ハ一定ノ視野ノ下ニ數ヘ得ラレル細胞數ヲ10個ノ視野ニツイテ平均シタ。而シテ細胞ノ性質．大サニツイテハ次ノ如ク．細胞核ノ大サヲ大．中．小ニ區別シタ。卽チ小核ハ原組織內ニ最モ多ク見ラレル如キ濃染セル圓形．橢圓形ノモノ及ビ柳葉狀ノ極メテ狹少ニシテ長キ核ヨリ成ル。中核ハ核ノ直徑ガ小核ノ2倍以上アリ．圓形ハ稀デ橢圓．卵圓形ガ多イ。サホド濃染セズニ仁ヲ明瞭ニ認メ得ル。大核ハ小核ノ3倍以上ヲ有シ卵圓形ガ多イ。核質ハ極メテ明ルク．仁ハ2，3個アリ屢〻仁ニ氣花狀ノ構造ヲ認メ得ル。 核膜ハ薄イガ明瞭デ．核周邊部ハ小核程明ルクナイ。

上ノ2例ハ余ノ方法ニ依テ培養サレタ鷄胎心室組織片ノ發育帶ノ狀況ヲ數量的ニ示シタモノデアルガ．之ヲ見テ直ニ諒解サレル點ハ

（1）各發育帶ハ邊緣ニ行クニ從テ次第ニソノ面積ヲ增加スル。

（2）細胞密度ハ邊緣ニ行クニ從テ次第ニ減少スル。

（3）細胞核ハ邊緣ニ行クニ從テ大キイモノガ增シテ行ク。

（4）間接核分裂像

間接核分裂像ハ邊緣部ヲ除キドノ發育帶ニモ觀察サレル。然シ中心帶ニ於テハ細胞核密集シ居ル爲．常ニ必ズシモ分裂像ガ見ラレルワケデハナイ。

（5）變性壞死像ハ餘リ見ヌ。

今簡單ノタメニ各發育帶ノ特徵ヲ表示シテ見ヨウ（第3表）。

第3表

	血漿溶解度	染色度合	面積	細胞 走行	細胞 密度	細胞 突原形起質	細胞 空胞形成	細胞 變性	核 大	核 中	核 小	核 分裂
中心帶	＋	±±	＋	不規則	±±	－	－	－	±	±	±±	
移行帶	＋	±±	++	放環	±±	＋	±	±	＋	＋	++	++
薄帶	±±	＋	±±	放	±±	＋	±	±	＋	++	++	＋
境界帶	－	±±	±±	環放	++	++	++	＋	++	±±	＋	++
侵入帶	－	++	±±	放	＋	±±	++	＋	++	±±	＋	＋
邊緣帶	－	＋		不規則	±	++	±±	±±				－

6日間培養ノ細胞ニハ變性壞死像ハ極メテ少イガ細胞原形質内デ核ニ近イ處ニ．小ナル空胞形成ヲナスモノハ稍ゝ多クナツテ來ル。是等ハ特ニ境界帶．侵入帶ニ多ク見ラレル。邊緣帶デハ變化ガヒドク大ナル空胞形成ノタメニ核ハ細胞周邊部ニ壓迫セラレ居ルモノ．原形質突起ヲ縮小シテ團塊セルモノ等ノ變性現象ガ一番多ク見ラレル。尙被覆硝子ニ接シタ細胞ハ變性反應ガ强イ。又「リチオンカルミン」ヲ以ツテ生體染色ヲ試ミタ場合．色素貪食細胞ハ全體トシテ極メテ僅カ觀察サレルニ過ギヌ。

ハ）生活條件ニヨル發育帶發達ノ消長

以上述ベタル如ク鷄胎心ヲ余ノ方法ニ從テ培養セル後觀察セルニ．明瞭ナル各發育帶ヲ示スノデアルガ．コノ發育帶ハ生活條件ヲ變化サセテモ矢張何等變更ヲ受ケルコトナク發達シ來ルモノデアルカドウカハ興味深イ問題デアル。余ハ次ノ如キ種々ナル生活條件下ニ於テ鷄胎心臟組織片ノ培養ヲ試ミ各發育帶及ビソノ構成分子タル細胞ノ消長ヲ觀察シテミタ（第4表．第5圖．第6圖）。

1．榮養佳良　適當ナル生活環境（Nr. 72）（第8日抱卵鷄胎心室—以下同ジ—壜被覆硝子法 25%．鷄胎エキスタイロード氏液稀釋液 39°C 6日間）

2．榮養不良　適溫下（Nr. 381）（第8日抱卵鷄胎心室—片壜被覆硝子法　5%鷄胎エキスタイロード氏液稀釋液 39°C 6日間）

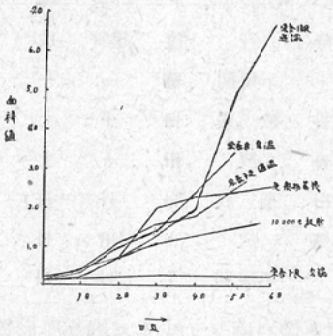
3．老廢物蓄積　適溫下（Nr. 195）（第8日抱卵鷄胎心室片—被覆硝子懸滴法 39°C 8日間）

4．榮養佳良　高溫下（Nr. 339）（第8日抱卵鷄胎心室片—壜被覆硝子法 44°C 2日間．次ニ

第 4 表

	原面積	1日後	2日後	3日後	4日後	5日後	6日後
榮養佳良適溫	0.1	—	0.7	1.3	2.0	5.0	6.8
老廢物蓄積	0.1	—	0.7	2.0	2.3	2.4	2.6
榮養不良高溫	0.1	—	—	0.25	—	—	0.25
榮養不足適溫	0.2	0.4	1.1	1.6	1.8	2.5	3.5
榮養佳良高溫	0.1	0.3	1.0	1.4	2.4	3.5	3.5
10,000 r 放射	0.1	0.2	0.7	1.1	—	—	1.7

第5圖 種々ナル培養條件下ニ於ケル培養組織ノ成長面積ノ追時的觀察



第 5 表

培養條件	原面積	中心帶	薄帶	境界帶	侵入帶	間接核分裂像	變性壞死像
1. 榮養佳良	1.9	17.0	21.4	23.4	35.6	++	−
2. 榮養不良	13.8	7.9	23.3	33.1	22.0	−	+
3. 老廢物蓄積	6.1	6.1	—	—	95.0	−	++
4. 高溫下	10.2	3.0	6.7	13.0	66.0	−	+
5. 榮養不良. 高溫	15.0	—	—	—	85.0	−	+++
6. 直後放射(10,000 r)	5.1	10.1	—	—	85.0	−	+

39°C 5日間)

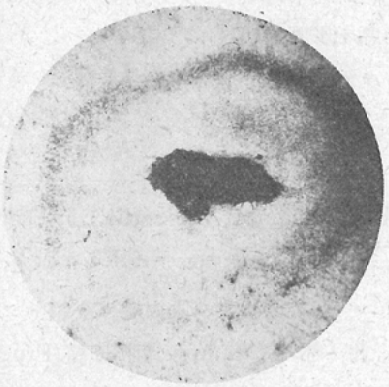
5. 榮養不良 高溫下(Nr. 319)(第8日抱卵鷄胎心室片—壜被覆硝子法 44°C 2日間. 次ニ 39°C 5日間)

6. 榮養佳良 適溫下ナレドモ培養當初外力ヲ受ケタル場合 Nr. 68 (第8日抱卵鷄胎心室片. 壜被覆硝子法 25%鷄胎エキスタイロード氏液稀釋液 38°C. 培養直後 10,000 r 放射6日間)

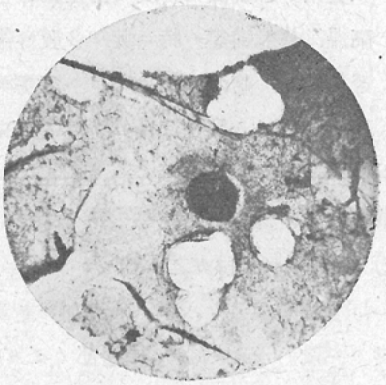
以上各條件下ニ於ケル實驗結果ハ第5表ノ通リデアル。本表ニハ今各發育帶ノ面積ハ. 全成長面積ニ對スル百分比ヲ以テ出シテアル。間接核分裂及ビ變性細胞ノ數量ハソノ多寡ヲ−. +. ++及ビ+++ノ記號ヲ以テ示シタ。

之ノ結果ヲ通覽スレバ次ノ如キ諸點ガ明カニサレル。

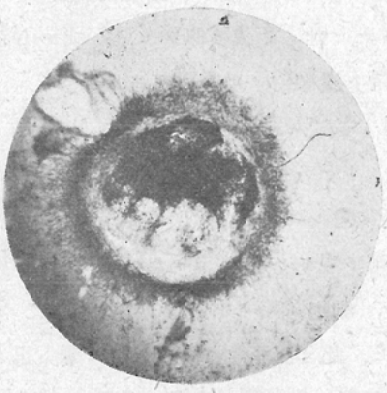
第6圖　培養條件相違セル爲ノ發育帶發達障碍



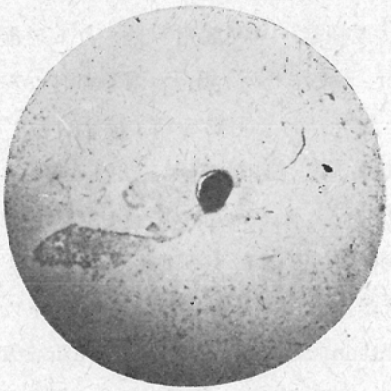
榮養良　適溫



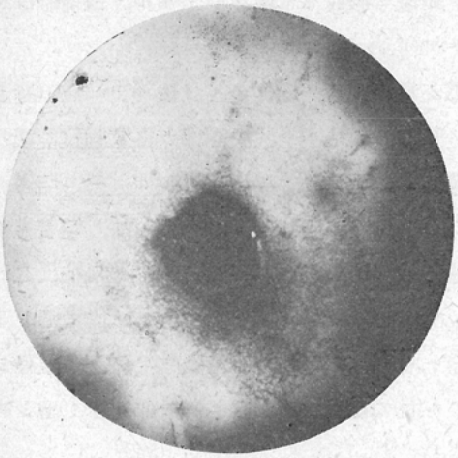
榮養不良　適溫



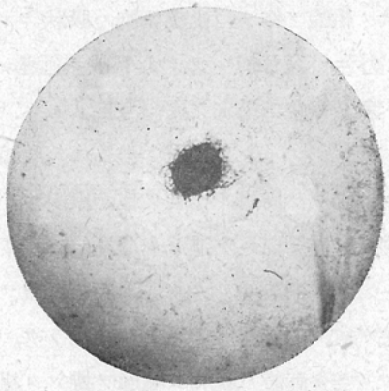
老廢物蓄積　適溫



榮養良　高溫



榮養不良　高溫



榮養良　適溫　「レ」線放射

1. 榮養條件ガ不適當デアレバ薄帶．境界帶ノ發育ガ惡クナルカ或ハ缺如スルニ至ル。
2. 被覆硝子懸滴法ニハ發育帶生成ニ有利ナ方法デハナイ。
3. 高溫．放射線等ハ特ニ此ノ2發育帶ノ發達ニ惡イ影響ヲ與ヘル。
4. 榮養佳良．適溫ノ下ニ於テハ培養第6日ニシテ尙多數ノ間接分裂像ヲ見得ル。
5. 高溫．或ハ老廢物蓄積ハ變性壞死高度ニナル。

小括： 發育帶ニ就テ

組織培養ニテ發育帶ノ觀察ヲ行ツタ者ハ割合ニ少ク．Champy, Bisceglie. Fischer and Parker 我國デハ木村ガ之ニ觸レテキルニ過ギナイ。而モ何レモ徹底シテヰナイ。例之 Bisceglie ハ培養組織成長ノ次第ヲ次ノ如ク記載スルニ止ル。卽チ培養デハ原組織ガ全體トシテ增殖ニ參與スル譯デハ無ク．ソノ周邊部ノミガ之ニ與ル。此ノ部ハ Champy ガ胚母體(Fruchtbare Zone)ト名付ケタ所デ活潑ナル細胞分裂ガ行ハレテキル。而シテ此ノ部ヨリ出タ培養組織特有ノ細胞ハ．原組織ノ周圍ノ培地內ヘ侵入シテ行ク．コレガ Champy ノ言フ侵入帶デアルト。尙彼ハ原組織ハ早晩壞死ニ陷ルコトヲ記載シテヰル。此ノ記載ニ似タモノハ Fischer and Parker ノ報告デコノ場合ハ增殖細胞ノアル部ヲ中帶ト邊緣帶トニ分ケテヰル。

之ニ對シ木村ノ記載ハ稍ミ綜括的デ．「新生細胞ノ增殖ガ組織片ノ周邊部ヨリ起ルモノデアツテ其中心部ノ細胞ハ殘生ノ狀態デアルニ過ギナイ」コトヲ先ヅ述ベ．ソノ理由ヲ Levi ノ實驗ヨリ引キ．次デ「組織ガ厚過ギレバ中心部ノ壞死ニ陷ルコトハ屢ミデアル」ト注意シ．培養組織成長狀況ニ就テハ「新生細胞ノ增殖盛ナル培養基ヲ觀レバ已ニ肉眼ニヨツテ灰白色半透明ナル組織片ノ周圍ニ灰白色ノ帶狀部分ヲ認メ得ル。細胞增殖ノ旺盛ナル部分ハ之ヲ發育帶(Wachstumszone)或ハ侵入帶(Invasionszone)ト言ヒ．此ノ部分ニハ核分裂像ガ屢ミ認メラル。發育帶ノ狀況ハ細胞ノ種類ニ依ツテ異リ．例ヘバ．脾臟．白血球ノ培養ノ場合ニハ全體トシテハ組織片ヲ取リ卷キテ圓形ヲ形成スルガ各細胞ハ組織ヲ形成セズ散在シテヰル。結締織母細胞ハ網狀ノ組織ヲ作リ．上皮細胞ハ膜狀ヲナス等デアル」トナス。

此ノ外ニハ發育帶ニツイテ丁寧ニ記述シタ文獻ハ見當ラナイ樣デアル。依ツテ．以上諸家ノ見解ト余ノ實驗結果トヲ比較考按スルニ．今余ノ原組織ヲ見ルト．中心部ガ自家融解シ壞死シテ了ツテヰルノハナイ。屢ミ濃染シテ原組織ノ構造ニ分明ヲ缺クモノガアルガ．然シ培養前ノモノニ比スレバ尙明ルイ且ツ他ノ原因ニテ壞死シタルモノニ比スレバ斷然明ルイ。培養組織ガヨク發達シタモノハ上述セル如ク．細胞索ガ棒狀．索狀．渦狀等ニ走行スルノガ判ル。之ハ豐富ナル榮養ノ供給サレタル爲．心筋組織ヲ形成スル各細胞ガ．各々成長膨大シ、恰モ繩ノ玉ノ卷キ方ガユルンダ樣ニナツタ爲デアラウ。又實際．培養後2日位デ原組織ヲ生體ノ儘觀察シテ行クト．培養直後ハ銳利ナ輪廓ヲ持ツタ組織ガアル面ヲ限ツテ．次第ニ恰モ餡ノ食ミ出シタ如ク膨脹セル原組織ヲ見ル事ガ出來ルノデアル。

卽チ余ノ原組織觀察ノ結果ハ Champy ノ言フトコロトハ異ル。之ハ余ノ原組織ガ極メテ幼

弱ナル鷄胎ヲ材料トシタ爲デハナク．組織ガ極メテ薄小デアツタ爲中心部迄榮養ガ透滲シタ爲デアラウ。

培養組織ハ總テ充分ニ發育增殖シテ行ク事ハ培養法ノ理想デアル。

培養中組織ノ中央部ガ僅カニ殘生シ．或ハ壞死ニ陷ル等ノコトハ避ケルノガ當然デアル。在來ノ移植組織ハ Champy ニセヨ大石ニセヨ 1～2 mm．粟粒大等ト言ツテ居ルガ．余ノ如ク 0.5 mm 程度ガヨイノデハナイカト思ハレル。

次ニ余ノ移行帶ハ Champy ノ所謂胚母帶ニ相當スルト思ハレル。

コノ層ハ榮養佳良デアル爲ニ．又細胞密度ガ原組織ヨリ粗イ爲．細胞個體ハヨク成育シ．又核分裂ヲ旺ンニ行フニ至ルモノデアラウ。

一體面積比較ノ考案ノ際一寸觸レタ如ク．原組織ト薄帶及ビソノ外側ノ發育帶トヲ漫然ト同ジモノト考ヘルノハ少シク早計デアル。

原組織ハ結締織母細胞．心筋細胞．神經細胞．內被細胞等ノ一大貯水池デアツテ．之等ハ數十層ヲナシテ密ニ存在シテヰル。其レニ比シテ薄帶以降ハ後述スル如ク殆ド結締織母細胞ト考ヘテヨイ。而モ精々一二層デ．細胞間ノ間隙モ原組織ニ比スレバ濶イ。

之等ノ細胞ハ原組織ヨリ遊走シテ來タモノデ面積コソ大デアルガ．量ハ全ク貧弱ナルモノデアル。

結締織母細胞ハ屢〻核分裂ヲ行ヒ乍ラ此處カラ急激ニ細胞密度ヲ減ジテユク。

Champy ハ此處ニ多數ノ核分裂ガアルノデ胚母帶ト命名シタノデアルガ核分裂ハ此處ニノミアルノデハナイ。余ハ勿論 Fischer ハ彼ノ所謂 Randzone ニ多數ノ核分裂ヲ見テヰル。

余ガ特ニ此處ヲ胚母帶ト云ハズ移行帶ト命名セル所以デアル。

此處デ注目スベキハ西部ガ發育速度ノ遲イ心筋細胞群ハ原組織ノ周邊ニ網狀ヲナシテ僅カニ觀察サレル事ガアルト稱シタノハ余ノ移行帶ニ於ケル細胞索ヲ指スモノデアツテ．此處ハ斯ク發育速度ノ遲イ他種細胞ヲ觀察スルノニ好適ナル場所デモアル。

移行帶ニ續イテ薄帶ナル層ガ存在スル。薄帶ノ部分デハ血漿ガ極メテ菲薄ニナツテヰル。顯微鏡デ見ルト殆ド一層ヲナス細胞ガ膜狀ニ或ハ敷石狀ニ竝ンデヰル。此ノ薄層デアル事ガ原組織ノ細胞ノ密ナル塊トヨキ對照ヲナシテヰル。余ガ之ヲ特ニ薄帶ト命名スル所以デアル。

其ノ次ニ境界帶ガアル。

之ニ就テモ何等先進諸家ノ記述スル所ガナイ。

此ノ部ハ薄帶．侵入帶ノ細胞ガ主トシテ中心帶ヲ中心ニ放射狀ニ排列スルノニ對シ．環狀ニ竝ンデ．全體トシテ濃ク染マリ此ノ兩帶ノ明瞭ナル境界ヲナス故ニ余ハ此處ヲ境界帶ト名付ケタ。

此ノ薄帶．境界帶兩帶ノ成因竝ニ意義ニツキ余ハ次ノ如ク考ヘル。

1．　コノ兩帶ハ生活條件ニ影響サルヽ事極メテ大デ．同一列ノ實驗デモ壜ガ異ルト之等ノ帶ノ發育モ異ルコトガアル。然シ同一組織片ヲ注意シテ同條件下ニ細分シテ同一壜內デ培養セル

如キ場合ハ然ルコトハナイ。

先ヅ之等兩帶ニ就キ特異ナル點ハ次ノ如クデアル。

2. 培養直後ヨリ2日目頃迄ハ境界帶．薄帶共ニ存在セヌ。

3. 原組織ノ膨脹ガ著明ナレバ．早期ニ境界帶ハアラハレテ來ル。

4. 境界帶ガ出現シ來ル場合ハ移行帶トノ間ニ少シ許リノ薄帶ヲ必ズ證明スル事ガ出來ル。

5. 境界帶ハ餘リ變化セズ．只周邊ニ向ツテ位置丈ヲ變移シテ行ク。薄帶ハ日ヲ經ルニ從テ其ノ面積ヲ擴大ス。

6. 境界帶ガ力强ケレバ薄帶モ明瞭且大キイ。

7. 境界帶ニハ成熟セル細胞ガ種々ナル方向ニ走リ．特ニ環狀ノ排列ガ明瞭デアル。

8. 核分裂モ旺盛デアル。

9. 薄帶ヲ構成スル細胞ノ走行ハ明瞭ヲ缺キ．恰モ敷石狀ニ敷キツメラレタル感アリ．變性壞死ニ陷ツタ細胞ハ少イ。

10. 薄帶ガ非常ニ發達セル際ハ．境界帶ニ續ク侵入帶ノ幅ハアマリ廣クハナイ。

11. 薄帶ハ稀ニ液化現象ヲ起シ．爲ニ原組織ト境界帶トノ連絡ガ遮斷セラルヽコトガアルガ．薄帶ト液化トハ同一現象ト考ヘル可キデハナイ。卽チ液化ハ薄帶部ノミニ起ラズシテ．寧ロ侵入帶ニ起ル事ガアル等ヨリ按ズレバ．ソノ成因ハ血漿ヲ標準的ニ處置セル場合ハ寧ロ細胞ノ特異性質ニ歸スベキデアラウ。

12. 中心帶．移行帶．薄帶．境界帶．侵入帶ノ順序ハ絕對變更サレル事ハナイ。

以上ノ事實ヨリ培養組織ノ成育ハ次ノ如キ順序ヲ追フモノト考ヘル。原組織周邊ノ殆ド結締織母細胞ノミヨリ成ル移行帶及侵入帶ハ培養日ヲ終ルニ從テ次第ニソノ厚サヲ增シ．ソノ幅ヲ廣クスル。

然ルニ支持體トシテノ血漿ノ厚サハ既ニ定ツテ居ルカラコノ血漿ハ細胞增殖ニ伴ヒ消費溶解サレテ減ツテ行ク。斯クテ支持體ガ無クナレバ增殖ハ此部デ停止シ．ソノ代リ更ニ周邊部ヘ．血漿ノ處女地ヘト進展シテ行ク。恰モ放牧ノ家畜ガ喰ヒ盡シテ新ナル牧草ヲ追ヒ行ク如ク。

然シ被覆硝子面ヲ支持體トシテキル細胞群ハ．血漿ノ消費ニ左右サレズ．液體培養基ヨリ榮養ノ供給ヲ受ケテ生活ヲ續ケテ行ク。

但シ．原組織．移行帶ヨリノ細胞ノ遊走モ困難デ．最早層ヲ重ヌル事モ出來ヌ。

卽チ薄帶．境界帶ノ形成ハ血漿ノ組成．培養日數．榮養ガ一定デアル場合ニハ全クソノ組織細胞ノ生活力．換言スレバ組織細胞ノ機能ニヨルモノデ．逆ニコノ帶ノ消長ヲ觀察スレバ．細胞ノ生活力ヲ推論シ得ルモノト考ヘラル。

以上ノ考按ヨリ直ニ考ヘラルヽ如ク．境界帶．薄帶成立ノ條件ハ次ノ如クデアル。卽チ．

○生活力旺盛ナル組織タルコト．——幼若鷄胎心臟ノ如キガ最モ適當シ．後述スル如ク孵化後．或ハ成育鷄心臟ノ如キハ此ノ現象アラハレズ直チニ液化ヘト移行シテ了フ。又結締織母細胞ノ純培養デハ矢張リウマク出テ來ナイ。

○生活環境ガ適當デアルベキコト

先ニ示シタル如ク．高溫．老廢物蓄積．榮養不良．放射線照射等ノ惡條件ガアレバ．コノ發達ハ惡イ。

○培養日數ヲ充分ニスルコト

此ノ目的ニハ「カレル」壜法．特ニ壜被覆硝子法ガ最適デアル。

卽チ或ル一定ノ實驗材料．一定ノ生活條件．一定ノ培養日數ヲ以テスル實驗ニ於テ．外力ノ影響ヲ檢セントスル際ニハ．境界帶．薄帶ノ發達如何ハ有力ナル所見トナリ得ルモノト考ヘラレル。

侵入帶：之ハ Champy, Bisceglie 其ノ他ノ Invasionszone ト稱シタ所デ此ノ命名ニハ余モ全ク同感デアル。

生體ニ於ケル面積計測デハ境界帶或ハコノ帶ノ中．比較的密ニ層ヲナシテヰル部分ノミガ利用サレル。

此ノ帶ハ可成惡イ生活條件デモ細胞密度ガ粗ニナル丈デ相當ヨク發達シ來ル。

周邊帶：侵入帶ノ細胞トハ直接原形質突起ノ連絡ナク．多クハ變性ニ陷ツテヰル。突起ノナイ點．原形質內空胞形成ノ明瞭ナル點等ヨリ之ハ大部分組織球ト考ヘラル。

之ハ實際ノ實驗上ニハ殆ド意味ガナイ。脾臟ノ場合等ハ問題トナルガ鷄胎心デハ此ノ帶ハ特ニ記載シタ文獻ハナイ。

要スルニ之等發育帶ヲ斯ク詳細ニ觀察シ得ルニハ壜被覆法ガ最モ優レテ居リ．在來ノ諸家ガ發育帶ニツキ言及シナカツタノハ壜法．被覆硝子懸滴法ノミヲ使用シタ故ニ他ナラヌト思ハレル。

3．細胞學的觀察

1)　余ノ培養組織ニ於テ觀察セラレタル細胞(第7圖)

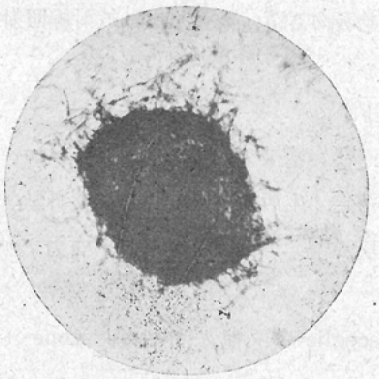
既ニ記述シタ如クソノ組織學的特徵トシテ特記スベキモノハ移行帶ノ索狀ノ細胞ト薄帶ヨリ外側ニ遊走セル細胞トデアル。

前者ハ大ナル「ジンチチウム」ヲナセル如キ細胞デ．ソノ境界ハ橫デハナク．縱ニテ僅ニ窺フ事ガ出來ル。多クハ束狀．或ハ索狀ヲナシ稀ニ舌狀ノ集塊ヲナス事モアル。ソノ原形質ハ濃染シ．突起ハ少ク且短ク．輪廓ハ略ゞ平滑デアル。

縱ニ走ル內部構造ヲ見ル事ガアルガ．空胞形成ソノ他ノ包埋物ハナイ。核膜ハ濃染シ．核ハ何レモ小サク．圓形又ハ橢圓形ヲ呈シ．核膜ハ濃染シテヰル。而シテ仁ハ 1．2 個アリ．染色體ハ明カデハナイ。

後者ハ發育帶ニ原形質突起ノ先端ニテ連絡ハシテヰルガ束狀ヲナサズ．原形質突起ハ多ク．然モ不規則デアル。境界帶ノ一部ヲ除キ大體放射狀デアル。細胞ノ輪廓ハ一率ニ定メラレナイ。「アメーバ」ヲ見ル如ク原形質突起ヲ充分ニ伸長シテヰル。原形質ハ淡染シテヰル。尤モ原

第7圖　被放射鷄胎心培養組織移行帶ニ觀察サルヽ細胞素



10,000 r 放射セル組織ノ移行帶ニ網狀ヲナシテ發達セル細胞素　×25



上圖細胞素廓大圖　細胞ヘ集合シテ膜狀ヲナス　×250



上圖細胞素廓大圖　細胞ヘ集合シテ管狀ヲナス　×250

形質ガ少イ場合ハ濃染シテヰルガ斯ル場合ハ細胞ハ柳葉狀ヲナシテ居ル。原形質內ニハ桿狀．絲狀ノ構造ガ見ラレ．時ニ核ニ近イ場所ニ多數ノ小サイ空胞形成アリ．周邊部ニハ網狀構造ガ見ラレル。

核ト原形質トノ間ニハ明ルイ境界帶ガアル。核ノ形ハ圓形．卵圓形．橢圓形．長橢圓形．桿狀等種々アルガ單純デ明確デアル。

核ノ大サハ種々アルガ．之ハ特ニ發育帶ノ場所ニ關係スル事ハ既ニ指摘セル如クデアル。中心帶ニ在ル細胞ノ核ヲ小トシ．ソノ2倍ヲ中トシ．ソノ3倍程度ノ大サヲ余ハ大形ト區別シタ。核ハ一般ニ淡染シテヰルガ特ニ大キイモノハ明ルイ。小核及ビ桿狀核ハ慨シテ濃染スル。

核小體ハ點狀ニ 1．3 個濃染シテヰル場合ガアルガ．天保錢狀．菊花狀ノ構造ヲ示ス事モアル。

2)　之等ノ細胞ニ就テノ考案

抱卵第8日目ニ至レバ鷄胎心臟ハ心房．心室ニ分レ．肉眼的．形態學的ニハ成鷄心ト殆ド選ブ所ガナイ。從テ鷄胎心室組織ノ培養ハ結締織母細胞．組織球．心筋細胞．內被細胞．神經細胞等ノ混合ヨリナル所謂不純培養トナルワケデアル。

イ）神經纖維　Levi ノ意見ニヨレバ神經組織培養ハ周圍組織カラ全ク解放サレテヰル事ガ

必要ナノデアツテ「メゼンヒム」ガ假令小量デモ存在スルト神經纖維ハ最早芽生セヌト言フ事デアル。

元來心臟組織ハ神經組織ガ澤山アルトハ考ヘラレナイ。然モ此處ニハ其他ノ「メゼンヒム」細胞ガ多イノデアルカラヨシンバ神經細胞ガアツタトシテモ殆ド發育シテ來ル餘地ガナク．發育帶ニ於ケル神經細胞ハ無視シテヨイデアラウ。

Condon ハ心臟組織體外培養デハ遂ニ神經纖維ノ發育ヲ見テ居ナイ。

ロ）組織球細胞　余ハ 0.01% Lithioncarmin ヲ以テ生體染色シテ．心室培養ノ場合ニハ極テ少數乍ラ組織球ガ結締織母細胞ノ間ニ混在スルノヲ認メタ。實際．培養第6日ノ組織ノ周邊帶ヲ構成スル細胞ハソノ形態學的所見カラ組織球デアルト考ヘラレル。大體コノ組織球ガ他細胞ニ比シヨク遊走シ．然モ早ク例ヘバ服部ニ依レバ培養24時間デ變性ニ陷ル性質ノアル事ハ Champy 以來脾臟組織ニ於テハ先進學者ノ等シク認メル所デアルカラ．培養第六日鷄胎心培養デハ先ヅ觀察サレヌノガ當然デアラウ。

ハ）筋母細胞　生後第1年ノ成鷄心室筋肉組織ノ筋細胞ハ．美麗ナル横紋ヲナス原形質構造ノ中央ニ．圓形．楕圓形ノ小核ガアリ．細胞ハ互ニ柱狀ヲナシテ整列シテ居ル。

然シ抱卵第8日ノ鷄胎心筋組織デハ之トハ異ツテ居ル。

先ヅ各細胞ハソノ排列狀況ニ於テ前者程整然タルモノデナイ。然モ原形質少ク．ソノ形ハ長徑ニ比シ横徑ハ廣ク横紋ハ見ラレナイ。核ハ大キク圓形細胞ノ中央ニ位置シ．淡染シ仁ガ2～3個見エル。

心臟外膜ノ直下ニ明カニ結締織母細胞ノ一群ガアル。コノ結締織母細胞ト心筋母細胞トノ形態學的區別ハ困難デアル。只前者ハ配列ガ疎デアル爲．原形質突起ヲ充分ニ觀察シ得ル程度デアル。

今斯ル材料ヲ以テ培養セル鷄胎心培養組織ヲ見ルニ薄帶ヨリ侵入帶ニカケテ多數ノ前述ノ如キ特性ヲ持ツタ細胞ガ膜狀ニ．網狀ニ．放射狀ニ或ハ環狀ニ排列シテ居ルノデアル。之等ノ細胞ガ結締母細胞デアルカ．或ハ筋母細胞デアルカハ未ダ明カニサレテ居ナイト Bisceglie，木村ハ記載シテヰル。併シ Levi ハ之等細胞ノウチ．比較的長クテ互ニ粗イ網狀ヲナスモノヲ心筋ト考ヘ．服部ハ筋母細胞ハ結締織母細胞ト似テヰルガ．ソレヨリハ原形質突起ガ短ク．菱形．多角形ニ近キモノナリト考ヘタ。然シ余ノ多年ノ觀察ニヨレバ之等ノ所見ハ培養ノ條件ニヨリテ自然ニ發生スルモノデアル。

尙 W. Lewis ハ筋母細胞ニハ筋纖維ガ見ラレルト主張シタガ．Levi ハ實驗ノ結果．ソノ筋纖維ナルモノハ標本固定ノ際ノ人工產物ナラント反對シテ居ル。余モ亦繰リ返シ觀察シタガ未ダ筋纖維ノ存在ヲ確認スル事ハ出來ナイ。

斯ク考ヘテ來ルト薄帶ヨリ侵入帶ニ至ル所謂發育帶ヲ構成スル細胞ハ形態的ニハ結締織母細胞ト呼稱シテモ妨ゲナイト思フ。卽チ斯クノ如ク幼弱ナル鷄胎心ニ於テハ筋母細胞ヲ結締織細

胞或ハ「メゼンヒム」ノ範疇ニ算入スルノハ蓋シ止ムヲ得ナイ事ト思フ。

ニ）内被細胞　鶏胎心培養ノ場合ニハ心臓内膜殊ニ「トラベクラ」．心臓外膜．血管　等ニ多數ノ内被細胞ノ存在スル事ハ豫想サレル。此問題ヲ追及シタノハ獨リ西部ノミデ．彼ハ心室「トラベクラ」ヲ培養セル際增殖セル内被細胞ヲ見タガ．ソノ形態學的所見及ビ發育速度ハ結締織母細胞ノ夫レト殆ド區別スル事ガ出來ナイ事ヲ指摘シテヰル。彼ハ更ニ此ノ所見ヲ基トシテ一般ニ結締織母細胞ノ純培養ト稱セラレルモノヽ中ニハ此ノ内被細胞ノ含マレ居ラルベキ事ヲ豫想シテヰル。

余ガ移行帶ニ於テ觀タル所謂細胞索ハ．内被細胞ヨリ成ルモノニ非ズヤト思ハルヽモノデアルガ．今之ヲ少シク詳ニ檢討シテミヨウ。槪觀ノ爲コノ細胞ノ結締織母細胞ト比較表示スレバ次ノ如シ。

	細胞索細胞	結締織母細胞
1. 出現時期	培養 4．5 日後培養後ニ見ラレル。	培養直後ヨリ芽生シ始ム。
2. 位置	中心帶及ビ移行帶ニ限ラレ．稀ニ薄帶ニ島嶼狀ニ散在ス。	アラユル發育帶ニ觀察サレル。
3. 槪觀	健常組織ニ於テハ荒布ガカラミ合ツテヰル．或ハ栗毬狀ノ索。	薄帶デハ敷石狀．膜狀．其他デハ放射狀。
4. 細胞相互關係	各細胞ハ橫ニハ各々柱狀ヲナシテ隙間ナク竝ブガ境界ハ明瞭デアル．縱ニハ境界ガ不明瞭デ且ツ其終端ハ鈍ニ終ル。	各細胞ハ原形質突起端デ連絡スルガ橫ニ密著シテ柱狀ヲナス事ナシ。
5. 細胞形	長キ矩形狀．且ツ原形質突起ヲ充分ニ伸長スルコトナシ。	常ニ程度ノ差アレドモ紡錘形原形質突起著明。
6. 細胞ノ大サ	大約同大ナリ。	一定セズ．侵入帶ニテハ大ナリ。中心帶ニテハ小。
7. 原形質内容	空胞．顆粒形成ヲ見ズ。但シ原形質ハ瀰蔓性ニ濃ク染マル。	容易ニ小ナル空胞形成ヲ生ジ．又顆粒樣物質蓄積ス。淡染セリ。
8. 核形	圓形。稀ニ橢圓形	圓形ハ少ク橢圓．棍棒狀．卵圓形等ナリ。
9. 核ノ大サ	小ナリ．殊ニ原形質ニ比ベテ小ナリ。	大．中．小ニ分タルモ．ソレニ應ジ原形質ノ量定マル。
10. 核内容	核膜ハ濃ク染ル。核小體ハ濃ク一個．稀ニ二個見ユ。	核膜ハ大核デハ淡，小核ハ濃。核小體ハ二個．稀ニハ一個或ヒハ三個。

以上ノ記述ノ如ク細胞索構成細胞ハ一見シテ結締織母細胞ト區別シ得ルモノデアル。

斯クノ如キ形態ヲ有スル細胞ガ鶏胎第8日心臓ノドノ部分ニ當ルカヲ考ヘテミルニ勿論結締織母細胞デハナイ。組織球．神經細胞デモナイ。成鶏心筋組織ハ柱狀ヲナシ核．原形質モ之ニ似テハヰルガ．既述ノ如ク鶏胎心組織ハ成鶏心筋組織トハ甚シク構造ガ異ナル點ヲ考ヘレバ之モ考慮ニ入レル必要ハナイ。

然ルニ心内膜．外膜ヲ構成スル内被胞細ナレバ此ノ樣ニ發育シテ來テモヨイワケデアル。卽チ栗毬狀ヲナスハ中心帶ニテ被覆硝子面ヲ被覆シタ末端ガ各々周邊ニ向ツテ解放サレタカラニ

外ナラヌ。各細胞ガ横ノ方向ニテ密ニ連絡シ柱狀ニ見ユルハ．之ガ集合シテ膜ヲ形成スル前提デアラウ。核ノ形モ内被細胞ヲ思ハセル。

或ハ論者ハ言フカモシレナイ。之等細胞ハ中心帶ノ一部デ之ガ千切レテ薄帶其ノ他ノ發育帶ニ遊走シ行クト所謂結締織母細胞ノ形態ヲトルト。然シ此ノ論ハ當ラナイノデアツテ．被覆硝子懸滴法デ培養第1日．第2日頃芽生シ來ル細胞ハ細胞ハ明ラカニ結締織母細胞デアルガ之ハ余ノ細胞索ノ如キ形態ハ決シテトラヌ。余ノ細胞索ハ獨特ノモノデアル。

又原組織ヲ極メテ薄小ニシテ培養スレバ原組織全部ガ充分ナル榮養ヲ取リ得テ中心帶ノ細胞ガ全體トシテ發育シ來ルモノデアルガ．ソノ際ニモ此ノ特徵アル細胞ハ之等細胞ニ混在シテ發育シテヰルノガ觀察サレルノデアツテ．此ノ意味カラモソノ樣ナ疑ノ餘地ハナイ。

次ニ斯ル細胞索ニ就キ在來ノ報告ヲ一瞥スルニ Lewis ハ Lock-bouillon-dextrose ヲ培養液トセル鷄胎心培養デ他細胞ト明ラカニ區別セラレル細胞ヲ觀察シテヰル。卽チ此ノ細胞ハ稠密デ濃ク染マリ核ハ比較的小サク圓形．1～2個ノ核小體ヲ有ス。西部ハ通常ノ懸滴培養法デ矢張リ Lewis ト同ジ細胞ヲ觀察シテヰル。但シ此ノ細胞ハ結締織母細胞ヨリ遊走速度ガオソイ爲．原組織ノ周邊ニ觀察サレ．廣イ幅ノ網狀ヲナストイフ。此ノ Lewis 及ビ西部ノ細胞ハ余ノ細胞索細胞ノ所見ト一致スル。然ルニ Lewis モ西部モ之ガ或ル旋律ヲ以テ收縮スルノデ之ハ筋母細胞デアラウト言フ。

然シ乍ラ實際ニハ細胞ノ搏動等ハ斯ク簡單ニ觀察サレルモノデハアルマイ。組織全體ノ搏動ニ覆ハレテ明瞭ヲ缺クノガ普通デアル。又鷄心筋ハ成ル程培養サレテ發育シタリトスレバ斯カル細胞形ヲトルカモシレヌガ．鷄胎心筋ハ未ダ此ノ樣ナ形態ニハ分化セヌノデアル。況ヤ培養第6日ナル幼弱ナル鷄筋母細胞ガ成鷄心筋組織細胞ノ形態ヲトルニ至ルトハ考ヘラレナイ。

卽チ余ハ此ノ細胞索細胞ハ内被細胞ニ外ナラヌト信ズルモノデアル。

此處デ更ニ附ケ加ヘタイ事ハ此ノ内被細胞ヲ特ニ觀察シタイ場合ハ培養直後 5,000 r～10,000 r ヲ鷄胎心ニ放射スルトヨイ。然ル時ハ結締織細胞ノ大半ハ壞死スルニカヽハラズ原組織ノ周邊ニテ栗毬狀ニ細胞索ガ發育シ來ルノヲ觀察スル事ガ出來ル。然モ何等ノ變性ヲモ起シテハヰナイノデアル。大體種々ナル細胞ノ混在セル組織．例ヘバ鷄胎心ヲ材料トシ．ソノ一ヲ發育障碍セシメ．他ヲ生殘セシメントスル試ミハ在來行ハレテヰナイ事デハナイ Carrel and Ebeling ハ結締織母細胞ト「マクロファーゲン」トノ混合組織ヲ用ヒ．前者ハ亞砒酸ノ80萬倍溶液デ死滅スルニ反シ．「マクロファーゲン」ハ此ノ程度デハ平氣デ20萬倍液デ漸ク死滅スル事ヲ利用シテ30萬倍液ヲ用フレバ「マクロファーゲン」ヲ分離培養シ得ベシト提唱シタ。余ノ場合ニ於テハ結締織母細胞及ビ内被細胞ノ「レ」線感受性ノ差ヲ利用シテ之等細胞ノ分離ニ成功シタト考ヘテヨイ。在來内被細胞ガ．鷄胎心ニ於テ問題ニナラナカツタ所以ハ長期培養ヲ可能ナラシムル壜被覆硝子法ヲ世人ガ用ヒナカツタ爲ト．觀察ヲ極メテ容易ナラシムル「レ」線照射ニヨル細胞分離ヲ行ハナカツタ爲ト思ハレル。

結　論

從來ノ組織培養法ニツキテ檢討シタル結果．懸滴法ト壜法ノ特長ヲ兼ネ備ヘタル長期培養及ビ觀察ニ最モ適スル培養法ヲ考案シ．之ヲ用ヒテ實際ニ組織培養ヲ行ツテ見タ。余ノ方法ハ「カレル」壜法ヨリ出發シ之ヲ改良シ．容器及ビ入口ヲ大ニシタ外．組織ハ夫々被覆硝子上ニ搭載シ．培養充分ナル培養液ヲ給與スルモノデアル。

1) 余ノ壜被覆硝子法ハ培養操作容易ニシテ．多數組織片ノ同一壜內ニ於ケル同時培養ガ出來．而モ現ニ明カニセル如ク比較的長期ノ培養ガ可能デアリ．培養組織ノ觀察ニモ極メテ便利デアル。但多數培養ガ行ハルヽダケ手數ヲトルコト及ビ培養液ヲ多量ニ要スルコト勿論デ．缺點トシテ考ヘラルヽコトハ雜菌感染ノ危險ガ小型壜法ヨリモ多イコトデアル。

2) 本培養法ニヨル培養期間ヲ知ルタメ．生體ニ於テ組織ノ成育狀況ノ概觀的計測ト．固定標本ニ於テ增殖細胞ノ細胞學的退行性變化ノ出現期トヲ觀タ。ソノ結果

イ) 培養組織ノ生體觀察ニ依レバ．成長ハ培養開始後1日既ニ明カニ見ラレ．6日迄ニ急峻ナル成長曲線ヲ示スモソノ後ノ成育ハ稍ヾ衰ヘガ見エル。

ロ) 培養組織ヲ固定標本ニツキテ見ルニ．培養6日目迄ハ增殖細胞ニ退行性變化ヲ殆ド見ザレドモ8日ニ至レバ．侵入帶ノ周邊部ニ於テ空胞形成及ビ核變性ヲ散見ス。

ハ) 是等ノ所見ヨリスレバ本法(余ノ壜被覆硝子法)ノ培養期間ハ6日ヲ以テ限度トスベキモノデアラウ。

3) 本法ニヨル鷄胎心組織片成育ノ狀況ハ．生體及ビ培養第6日目ニ固定染色シタル標本ニツイテ觀察シタ。

イ) 培養組織ノ生體觀察ニ依レバ．成長ハ培養開始後1日既ニ明カニ見ラレ．6日迄ハ急峻ナル成長曲線ヲ示スモ．ソノ後ノ成育ハサホド大ナラズ。

ロ) 培養後6日ニ固定シタル標本ニツイテ見ルニ．培養組織ハ標準的培養ノ際ニハ中心帶．移行帶．薄帶．境界帶．侵入帶．周邊帶等ノ發育帶ニ明カニ區別サルヽ發育ヲ示ス。

ハ) 中心帶ハ最モ濃ク．移行帶之ニ次ギ．薄帶ハ最モ淡ク．境界帶ハ再ビ濃ク．侵入帶ハ稍ヾ濃．周邊帶ハ點ノ散在デアル。各帶ノ占メル面積ハ侵入帶．薄帶．境界帶．移行帶．中心帶ノ順ニ廣ク．細胞ノ走向ハ中心帶デハ不規則デアルガ薄帶．侵入帶デハ放射狀．其他ノ發育帶デハ放射狀或ハ環狀デアル。細胞ノ密度ハ中心帶ヨリ周邊ニ行クニ從ツテ疎トナルガ細胞ノ大サハ逆ニ大トナル等ノ區別ガ見ラレル。

ニ) 發育帶ハ生活條件ニヨリテ大ニソノ發達ガ影響サレルモノデアル。卽チ培養條件ガ惡イト特ニ薄帶．境界帶ノ發育ガ惡イカ或ハ缺除スルニ至ルモノデ榮養不良．老廢物蓄積．高溫培養．放射線ノ影響デ何レモ此ノ事ハ實證サレタ。

ホ) 薄帶．境界帶ハ該組織ノ生活力(或ハ血漿食盡力)ノ目安トナルモノデアル。又中心帶．

移行帶．薄帶．境界帶．侵入帶．周邊帶ナル順序ハ決シテ變更サレルモノデハナイ。

ヘ）是等發育帶ノ分化ハ生活力旺盛ナル組織タルコト．生活環境ノ適當ナルコト．培養日數ヲ充分タラシムルコト等ノ條件ガ必要デアルカラ．之ヲ觀察スルノハ壜被覆硝子法ガ最モ希マシク．被覆硝子懸滴法デハ無理デアル。

ト）細胞學的ニ雞胎心培養組織ヲ觀察スルニ．移行帶ニ在ル細胞索細胞ハ其ノ他ノ發育帶ニ在ル細胞ト異ル。後者ハ結締織母細胞ト考ヘテヨク．前者ハ內被細胞ト考ヘラレル。

チ）內被細胞ハ「レ」線ニ鈍感デアルカラ雞胎心培養組織ニ5,000～10,000 r ヲ放射シ．培養第6日目ニハ美麗ナル內被細胞ノ群タル細胞索ヲ觀察スルコトガ出來ル。此ノ細胞索ニツイテハ在來餘リ言及サレテヰナカツタ樣デアル。

此ノ研究ハ文部省科學研究費ニヨル。（古賀良彥）

文　獻

1）**石橋松藏**，體外組織培養ニヨル細胞ノ機能竝ニ形態學的研究．日本病理學會雜誌．18. 2. 昭3.　2）**佐藤清**，組織培養術式．南山堂書店．東京．昭4.　3）**Carrel, A.** und **Burrows, M. T.**, Die Techinik der Gewebekultur in vitro : Handbuch de biochemischen Arbeitsmethode von Abderhalden V. 2. S. 836, 1913.　4）**Harrison, R. G.**, Observations on the living developing nerve fibre : Proc. Soc. exp. Biol. Med. 4, 140, 1906.　5）**Carrel, A.** and **Burrows, M. T.**, Cultivation of adult tissues and organs outside of the body. J. A. M. A. 55, 1379, 1732, 1910.　6）**Burrows, M. T.**, The cultivation of tissues of the chickembryo outside the body. J. A. M. A. 55, 2057, 1910.　7）**Nasu, S.**, Beiträge zur Frage der Überlebungsfähigkeit der Gewebe. Eine Untersuchung über die Veränderungen der Zellen, die von der normalen Zirkulation abgeschnitten sind; Virchow Archiv f. Path. Anat. u. Physiol. 243, 388, 1923.　8）**木村廉**，組織培養ノ研究（術式及現況）．南江堂．昭5.　9）**木村廉**，家鷄粘液肉腫ノ體外培養．日本微生物學會雜誌．22, 2505. 昭3. 1928.　23, 2255. 昭4. 1929.　10）**榊原賢三**，ルース氏家鷄肉腫ノ組織培養學的研究．日本婦人科學會雜誌．25, 1048. 昭5.　11）**Ebeling, A. H.**, A pure strain of thyroid cells and its characteristics. J. exp. Med. 41, 337, 1925.　12）**Carrel, A.** and **Ebeling, A. H.**, The multiplication of fibroblasts in vitro. J. exp. Med. 34, 317. 1921.　13）**那須省三郎**，**松井仁**，角膜組織ノ體外培養．日本病理學會會誌．18, 39, 昭3. (1928).　14）**Champy, C.**, La différentiation des tissus cultivés en dehors de l'organisme. Compt. rend. des seances de la Soc. de biol. 33, 184, 1911.　15）**Fell, H. B.**, Tissue culture. 1 The advantages and limitations as a research methode. Brit. J. Radiol. 8, 27, 1935.　16）**木村徹**，人工培養基ニヨル體外培養組織ノ發育ニ關スル研究．熊本醫學會雜誌．14. 上. 597. 昭13.　17）**福光廉平**，體外培養ニ於ケル組織ノ發育ト培養基ノ水素イオン濃度竝ニ培養溫度トノ關係ニ就テ．日本微生物病理學雜誌．23, 1925, 1929.　18）**Barta**, Gewebekulturen in Petrischalen Archiv f. exp. Zellf. 4, 600, 1927.　19）**Furth, J.** und **Breedie, C.**, Contributions to the technique of tissue cultures. Archiv f. exp. Zellf. 18, 246, 1936.　20）**Carrel, A.**, Technique for cultivating a large quantity of tissue. J. exp. Med. 15, 393, 1912.　21）**榊原賢三**，組織培養ノ基礎的研究．日本婦人科學會雜誌．25, 827. 昭5.　22）**Bisceglie, V.** und **Juhész-Schäffer**, Die Gewebezuchtung in vitro. Julius Springer Berlin. 1928.　23）**Doljanski, L.**, Eine neue Flasche zur Züchtung von Gewebekulturen. Archiv f. exp. Zellf. 13, 715, 1933.　24）**Demuth, F.**, Bemerkungen zur Züchtungstechinik in Carrelflaschen. Archiv f. exp. Zellf. 11, 690,

1931. 25) **森茂樹, 鈴江懐,** 實驗腫瘍學. 南江堂. 東京. 京都. 昭10. 26) **Vollmar, H.,** Eine neue Form von Züchtungschalen für Gewebekulturen besonders geeignet für Bestr. versuche : Zeitschrift f. Zellforschung. 23, 571, 1935. 27) **Vollmar, H.** und **Rajewsky, B.,** Mikrokinematographische Studien über die Wirkung von Roentgenstr. auf normele u. Tumorzelle in Gewebekuturen. Strahlentherapie. 60, 524, 1937. 8) **Ebeling, A. H.,** Measurement of the growth of tissues in vitro. J. exp. Med. 34, 231, 1921. 29) **Meyer, E.,** Die Grundlagen d. Wachstumshemmung an Gewebekulturen. Archiv f. exp. Zellforschung. 10, 221, 1931. 30) **Fischer, A.,** Tissue culture, William Heinemann, London. 1925. 31) **服部銓三,** 組織體外培養法ニヨル生體染色ノ研究. 日本微生物病理學會雜誌. 24, 127, 149, 165, 1930. (昭5). 32) **Nishibe, M.,** Growth of endocardiale cells from chick embryo heart in vitro. Archiv f. exp. Zellf. 7, 333, 1928-1929.