

Title	人白血球のペルオキシダーゼ反応の電子顕微鏡的研究
Author(s)	木谷, 照夫
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29883
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 9 】

氏名・(本籍)	木 谷 照 夫 き たに てる お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1501 号
学位授与の日付	昭 和 43 年 5 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	人白血球のペルオキシダーゼ反応の電子顕微鏡的研究
論文審査委員	(主査) 教 授 西川 光夫 (副査) 教 授 岡野 錦彌 教 授 清水 信夫

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

白血球のペルオキシダーゼ反応(以下ペ反応と略す)は顆粒球に特異な反応として血液学では最も一般的、且つ重要な検査術式の一つである。この反応の反応活性物質は一応特殊顆粒にあると光学的には考えられている。しかしギムザ染色による顆粒に比しペ反応陽性顆粒は少なく、又無顆粒性の骨髓芽球にもこの反応が見られるなど、特殊顆粒、即ペ反応陽性顆粒とするには矛盾する所見が存在する。本研究は電子顕微鏡的に人白血球のペ反応の局在を明らかにする方法を考案することにより、上記矛盾を解明し、細胞成熟に伴う局在の変化を追求し、更には白血病時の病的変化をも明らかにすることを目的としたものである。

〔方法ならびに成績〕

実験材料は健康人及び急性白血病患者の末梢血ならびに骨髓穿刺液の白血球である。末梢血はヘパリンで凝血を防ぎながら採血、デキストラン法で濃厚白血球浮游液を分離、低速遠沈により白血球の集塊を得る。骨髓穿刺液はあらかじめ同一人の末梢血よりペパリンで凝血を防いで分離しておいた血漿を十分量加えて直ちに低速遠沈し、上清をすて沈渣を使用した。実験方法は上記材料に静かに Palade 氏固定液を加え、10分間固定(前固定)し、次に等張食塩水で5分間2回洗滌の後、ベンチジン飽和水溶液 100ml に 3.3% H_2O_2 を3滴加えた反応液で5分間反応させる。再び等張食塩水で洗滌、Palade 氏液で1時間固定する(後固定)。後固定後は上昇エタノール系列で脱水、メタクリレート包埋を行い超薄切片を作製して直接倍率5,000ないし20,000倍で撮影した。対照実験として反応を行わないもの、反応液よりベンチジン及び H_2O_2 を夫々除いたもの、後固定を行わないものを施行した。又これら実験の各段階において、光学顕微鏡による観察も併せ行った。

成績：光学所見；反応を施行すると、顆粒球では茶褐色の反応陽性顆粒が胞体内に散在し、その所

見は塗抹標本による褐色反応を呈するペ反応の所見と同様である。リンパ球には反応が見られない。後固定により反応顆粒の色調は直ちに黒色調となり、黒褐色に変化する。試験管内でベンチデン・ブライウンを作製、オミウスム酸を加えると黒色沈澱が生ずるが、同様の機作が反応顆粒に生じているものと考えられる。

電子顕微鏡所見；成熟好中球では大型の電子密度の高い顆粒に反応が出現している。反応は微細粒子の沈着として表わされており、顆粒内のその分布は周辺に強い傾向がある。小型の電子密度の低い顆粒は反応陰性である。その他の小器官に反応は見られない。骨髓球でも同様大型の電子密度の高い顆粒が反応陽性であるが、小型の陰性顆粒は少ない。前骨髓球には大型の陽性顆粒の他に、小型の電子密度の高い陽性顆粒がしばしば認められる。芽球にも小型のかなり電子密度の高い顆粒が見られ、反応陽性である。又骨髓球、前骨髓球には限界膜と内容との間に隙間のある顆粒が見られるが、この顆粒は陰性であり充実性の隙間のない陽性顆粒との間に形態上のみならず、ペ反応上からも移行性が認められる。好酸球のペ反応はやはり顆粒に局在しており、特に顆粒の中央板以外の部分に出現し、中央板は陰性である。又、中央板のない顆粒で、反応陰性の顆粒が認められる。単球でも反応は顆粒に局在し、陽性顆粒間には単なる形態上からでは特徴は見られず、反応施行により初めて識別可能となる。リンパ球には反応は見られない。対照実験群では反応の出現を思わせるものは見られない。次に急性白血病17例について検索を行なった。うち急性骨髓性白血病15例（ペ反応陰性例2例を含む）、単球性白血病1例、急性リンパ性白血病1例である。これらの症例に電顕的にペ反応を施すことにより急性骨髓性白血病の芽球を4型に分類し得た。その1は顆粒欠如（反応陰性）型であり、その2は活性異常型で、そのうち Subtype として。a) は有顆粒、活性欠如型である。b) は活性低下型で、多数の顆粒が存在するにもかかわらず、ごく一部の顆粒にのみ反応が見られる型である。その3は少数の顆粒とそれに反応の出現を見る型で通常型とした。15例中11例は通常型であった。単球性白血病症例では同一細胞内に陽性、陰性顆粒が混在しており、それ以外に多数の顆粒を持つにもかかわらず全く反応の出現しない細胞が存在するのに注目された。急性リンパ性白血病の病的細胞には顆粒は認められるが反応は全く出現しない。

〔総括〕

ペ反応の反応活性物質の局在を電子顕微鏡的に明らかにする方法を新たに考案し、その方法を使用して正常人白血球並びに急性白血病症例の病的細胞を検索することにより、活性物質は顆粒に局在し、他の小器官には存在しないことを明らかにした。即ち好中球、好酸球、単球、共に陽性顆粒と陰性顆粒が存在し、ペ反応上、顆粒は均一なものではない。更に好中球の各成熟段階における陽性顆粒の推移を明らかにし、光顕的に認められるアズール顆粒と特殊顆粒の関係、顆粒発生にも考察を加えた。又急性骨髓性白血病の芽球を顆粒とペ反応活性より4型に分類した。

論文の審査結果の要旨

白血球のペルオキシダーゼ反応は、顆粒球に特異な反応として血液学では極めて重要な検査術式の

一つである。本研究は本反応の局在を電子顕微鏡的に証明する新術式を考案し、これを用いて正常時、並びに病的状態の白血球の本反応の態度を明らかにしたものであり、この方面の研究に一新分野を開拓した研究であると考えらる。