

胸腺リンパ組織内に出現する cytoplasmic body の組織化学的研究

岡山大学医学部第1解剖学教室 (主任：尾曾越文亮)

植 木 絢 子
浅 野 一 幸
大 村 守 人
尾 曾 越 文 亮

〔昭和43年12月19日受稿〕

I. はじめに

哺乳動物のリンパ組織内に cytoplasmic body が出現することはかなり古くから知られており、リンパ球の原形質がちぎれてできるものであろうと推測されている。今世紀のはじめ血小板の由来に関する論議が盛んであつた頃、cytoplasmic body と血小板とが混同されて、血小板の起源をリンパ球に求める研究者が多かつた。その後 Wright (1910)¹⁾ が独自の染色法を開発して、血小板が巨核球より作られることを立証し、この説が一般に認められるようになった。それ以来、cytoplasmic body の存在は研究者の記憶から薄れて、忘れられた存在となつていゝ。ところが近年になつて、リンパ球が免疫反応に重要な役割を演ずることが明らかにされてきたので、リンパ組織の cytoplasmic body と免疫反応との関係を見直さねばならぬ情勢となつた。そこでわれわれは cytoplasmic body の系統的再検討を企てたが、そのいとぐちとして、この報告では組織化学的検索の結果について述べる。

II. 実験方法

雌雄の成熟 Db マウス (平均体重 25 g) をエーテル麻酔後断頭して、胸腺と腸間膜根リンパ節を摘出して検査した。前もつて 0.5%ゼラチン液で処理したスライドガラスに、摘出した胸腺とリンパ節を塗抹し、風乾して、1) Carnoy 液、2) メタノール、3) Zenker-Formol 液でそれぞれ固定した。また臓器の一部は挫滅せぬよう注意しながらナイフで細切し、10%フォルマリンで30分間固定し、できるだけ細胞を遊離せしめてから上記と同様に塗抹標本を作

製し、Carnoy 液で再固定した。塗抹標本は、1) ヘマトキシリン・エオシン染色、2) Methyl green-pyronin 染色、3) acridine orange 染色、4) Periodic acid-Schiff 反応 (PAS 反応) を行なつた。

acridine orange 染色はメタノールまたは Carnoy 液で3分間固定した標本を pH 6.0 の 0.005 M 磷酸緩衝生食液 (PBS) で10分間洗つた後、次の順序で染色および封入を行なつた。

- 1) acridin orange の 0.01% PBS 溶液 (pH 6.0) で8分間染色、
- 2) 0.1% CaCl₂ 溶液で数秒間洗う。
- 3) PBS (pH 6.0) で数分間洗う。
- 4) グリセリン・磷酸緩衝液 (1:2) で封入。

標本の観察は Nikon 螢光顕微鏡下で UV フィルターを使用して行なつた。

塗抹標本の一部は Brachet の方法に従い、RNase による消化試験を行なつた。すなわち、再蒸溜水に 0.2mg/ml の割合にリボヌクレアーゼ (RNase) を溶解し、65°C で30分放置して混在する DNase を不活化してから標本を入れて1時間の消化を行なつた。これを冷水で静かに洗つてから Methyl green-pyronin 染色を施した。また、はじめに Methyl green-pyronin 染色を行ない標本を検討してから、水洗により脱色して RNase 消化試験を行ない、水洗後再び Methyl green-pyronin 染色を行なう方法も試みた。この方法により標本の同一個所における RNase 消化前後の染色性の相違を観察した。なお RNase は Worthington Biochemical Laboratory の製品を使用した。

III. 結 果

Cytoplasmic body は Methyl green-pyronin 染色で pyronin に顆粒状、または均一に染まる小型の小体として観察され、methyl green に染まる DNA 成分は認められない。したがって、原形質成分のみから成り、RNA を多量に含むことが推定される。大きさは種々で、小リンパ球にほぼ等しい大きさのものから、血小板程度のごく小さいものまであり、球形のものが多く、しばしば pyronin 好性顆粒を含む。表に示すごとく、ヘマトキシリン・エオシン染色で赤く染まり、PAS 反応は弱陽性であった。acridine orange 染色では均一に橙赤色の蛍光を発し、Methyl green-pyronin 染色の結果と同様、DNA を含まずかなり多量の RNA を含むことがわかった (Table 1)。

Table 1. Histochemical properties of cytoplasmic bodies in the mesenteric lymph node of the mouse

Methods	Findings
PAS reaction	weakly positive
Methyl green-pyronin stain	pyroninophilic
Fluorescence by acridine orange	red fluorescence
Effect of RNase digestion	disappearance of pyroninophilia

標本を前もって RNase で処理すると、細胞の pyronin 好性顆粒が染色性を失うが、Cytoplasmic body も pyronin に染色されなくなる。このことから、cytoplasmic body 内の pyronin で染まる顆粒は ribosome とみなして差つかえないと思われる。

つぎに Methyl green-pyronin 染色を施した塗抹標本を観察して cytoplasmic body が pyronin に染まっていることを確かめてから、RNase 消化試験を行ない再び Methyl green-pyronin 染色を施すと、リンパ球の核成分は Methyl green による染色性を失っていないのに対して、リンパ球や形質細胞の原形質とともに、cytoplasmic body の pyronin 好性が消失していることが確かめられた (Figs. 1~4)。このことは、cytoplasmic body が多量に RNA を含むことを示す、上述の一連の結果とよく一致する。

Cytoplasmic body はリンパ節に多数みられるが、胸腺にも数は少ないがみとめられた。また、Methyl green-pyronin 染色を行なった標本を観察すると、

多くは中リンパ球に pyronin 好性の原形質の著しい突起がしばしば認められるが、これがちぎれて cytoplasmic body になるという確証は得られなかった。

IV. 考 按

はじめに述べたように、今世紀のはじめ頃、血小板の由来について様々の論議がなされた。Downey (1913)²⁾ の総説によると、当時血小板の起源を赤血球の原形質に求める者、赤芽球の核にもとめる者、リンパ球や顆粒球の原形質にもとめる者などがあつたが、Dominici (1902)³⁾ はリンパ球由来説をとり、リンパ節内で中および大リンパ球の原形質が活発に突起を出して、これが細胞体から離れてリンパ液に入り、更に血流に乗って血小板として働くのだと考えた。またこの原形質の突起の形成は、家兎のリンパ節でとくに活発であると記載している。後に血小板の正確な起源は Wright (1910) により、彼独自の染色法を用いて明らかにされ、更に Ogata (1912)⁴⁾、Bunting (1909)⁵⁾ らによつて確認された。これにより Dominici の説は誤りであつたわけであるが、彼の記載はリンパ節内の Cytoplasmic body を指していたと思われ、その観点から眺めれば正確で、他の報告によく一致する。

Downey は Wright の染色法を用いて血小板と cytoplasmic body の異同をくわしく検討したが、彼によると、cytoplasmic body は特有の顆粒を持たない点で血小板とは明瞭に区別され、ほとんどすべての哺乳類のリンパ節と脾臓に認められるが、家兎で特にその形成が盛んであるという。一方、胸管内リンパ液には cytoplasmic body は少ししか含まれず、したがって血中に入る数は極くわずかであろうという。また骨髓内のリンパ球が原形質の突起を形成していることは稀であるが、形質細胞は活発にこれを行なつていると述べている。

Williamson (1950)⁶⁾ は哺乳類 (主として家兎) のリンパ節の塗抹標本作製して、cytoplasmic body の由来について調べ、主として中リンパ球の原形質がちぎれてできるものであろうと述べている。われわれの観察によつても、中リンパ球の原形質が著しく突出していることがしばしばあり、この部の染色性が cytoplasmic body のそれに類似することが確認された。しかし、そのような原形質突起がちぎれて cytoplasmic body になるという確証は得られなかった。

Cytoplasmic body の生体内での機能については現在のところ全く不明であるが、多量に RNA を含むので、その主要な構成要素は ribosome と推定され、蛋白質合成との関係や免疫反応における役割などが将来検討されるべき重要事項と思われる。

V. ま と め

リンパ組織にみられ、今世紀はじめに血小板との異同に関して議論を呼んだ cytoplasmic body について検討を加えた。主な結果は次の如くである。

1) Cytoplasmic body はマウスのリンパ節に多数出現するが、少数ながらマウス胸腺にも認められた。

2) Cytoplasmic body の大きさは種々で、小リンパ球大のものから血小板大の小さなものまであり、形もいろいろであるが、球形のものが多く、しばしば pyronin 好性顆粒を含む。

3) Methyl green-pyronin 染色と acridine orange による蛍光発色によつて、cytoplasmic body は DNA を含まず、RNA を多量に含むことが明らかにされた。

4) 標本を RNase で前もつて処理すると、cytoplasmic body の pyronin 好性顆粒が消失する。このことから、cytoplasmic body 内の pyronin 好性顆粒は ribosome とみなして差支えないと思われる。

文 献

- 1) Wright, J. H.: The histogenesis of blood platelets. *J. Morphol.* 21, 263—277, 1910.
- 2) Downey, H.: The origin of blood platelets. *Folia Haemat.* 15, 25—58, 1913.
- 3) Dominici, H.: Le ganglion lymphatique. In: *Monographies cliniques sur les questions nouvelles en medicines; er chir., en biol.* Paris, Mason et Cie. 1902.
- 4) Ogata.: Untersuchungen über die Herkunft der Blutplättchen. *Ziegler, Beiträge zur path. Anat.* 52, 192—201, 1912.
- 5) Bunting, C. H.: Blood-platelet and Megalokaryocyte Reactions in the Rabbit. *J. Exp. Med.* 11, 541—552, 1909.
- 6) Williamson, R.: The production of Cytoplasmic Bodies by Lymphocytes. *J. Path. Bact.* 62, 47—52, 1950.

- Fig. 1 Smear sample of a mesenteric lymph node, showing a large pyroninophilic cytoplasmic body (arrow), in which pyroninophilic granules are prominent. Methyl green-pyronin stain. $\times 2400$.
- Fig. 2 The same cytoplasmic body as shown in Fig. 1 (arrow). After having been examined, the preparation was digested with RNase at 37°C for 1 hour and stained again with methyl green-pyronin. Notice that the pyroninophilic granules in the cytoplasmic body have disappeared. $\times 2400$.
- Fig. 3 Another cytoplasmic body, having densely aggregated pyroninophilic granules (arrow). Methyl green-pyronin stain. $\times 2400$.
- Fig. 4 The same preparation as shown in Fig. 3, after the digestion with RNase. Notice again that the pyroninophilic granules have disappeared completely. Methyl green-pyronin stain. $\times 2400$.

A Histochemical Study of Cytoplasmic Bodies in the Thymo-lymphatic Tissues of the mouse

By

Ayako UEKI, Kazuyuki ASANO, Morito OHMURA,
and Bunsuke OSOGOE

Ist Department of Anatomy (Director: Prof. B. Osogoe)
Okayama University Medical School Okayama, Japan)

At the beginning of the 20th century, the cytoplasmic bodies which appear in the lymphoid tissues of mammals had received much attention of haematologists, in the relation to the origin of the blood platelets. However, since Wright described and figured in 1910 the process of cytoplasmic budding of megakaryocytes by the use of his own technics, the biological significance of the cytoplasmic bodies in the lymphoid tissues has been ignored until now. Recent works on the formation of antibodies in the lymphoid tissue seem to suggest, on the other hand, that these bodies would play an important role in the immune response. Consequently, we attended a renewed study of these bodies. In this paper we described the results of histochemical observations on these bodies in the mesenteric lymph node and thymus of adult mice. The chief findings are as follows:

1. Cytoplasmic bodies are found in large number in the mesenteric lymph node of adult mice. They also occur in the thymus, though in much smaller numbers.
 2. Cytoplasmic bodies in the thymo-lymphatic tissues vary greatly in size, from the size of blood platelets to that of small lymphocytes, and are commonly round in shape. They often contain pyroninophilic granules.
 3. Staining of these bodies with methyl green-pyronin and acridine orange revealed that they contain abundant RNA. However, no evidence was obtained for the presence of DNA in these bodies.
 4. After digestion of the samples with RNase, the pyroninophilia of these bodies disappeared completely. This suggests that the pyroninophilic granules of these bodies might be regarded as ribosomes.
-

