大阪市立大学医学部, 解剖学教室 (指導者: 鈴木 清教授).
Dept. of Anat., School of Medicine, Osaka City Univ. (Director: Prof. K. Suzuki).

造血現象の核学的研究.

I. 赤血球発生に就て.

Karyological Studies on the Hematopoiesis.

I. On the Erythropoiesis.

松下 猛夫 Takeo MATSUSHITA.

(Received November 26, 1957.)

細胞の分化現象中, 生殖細胞の形成はこの半世紀間に細胞学者及び遺伝学者達によって詳細に研究され, 特に其間に於ける細胞核の変態から核物質と遺伝因子との関係への推定に到る研究道程は第20世紀科学の特質を発揮したかがやかしい路である.

血球は最も古くから知られた細胞であり, 脊椎動物では, 其の分化生成は胎生の初期に始まり, 以後連続して生活している限り止むことのない現象であると認められている. 今世紀の初頭に於ける形態学者中, 例えば W. His等は血球生成を精子形成に似ていると言ったが, 血液学者は血球の細胞質の変化に主点を置いて研究し, 血球の機能と細胞質の変化に関するものが, 血液学の老大な文献中の大半を占めている. これに反してその核に関係した研究は前者に比して極めて少ない. 特に染色体の行動等に関しては文献調査に困難を感じる程に少数であり, 又生殖細胞に於ける染色体研究に比して極めて幼稚な程度であると言わざるを得ない.

著者は血球の分化成熟現象を今日迄の血液学研究法の orthodox から離れた方法で特にこの間に於ける核の変化に重点を置いて, 血球の生成を観察する事は分化成熟現象を一層正確に説明するのに役立つものであると感じ, 核学的の立場から本研究を進めたのである. 今回は細胞質に顆粒のない赤血球系について研究した成績を, また次回に巨核細胞系の成熟に関する成績を述べることにしている. この2つの細胞系は共に最後の階程に於いて核と細胞質との分離現象が現われる点で一致した所があるからである.

I. 材料と研究法.

本研究は, 大黒鼠 (*Rattus norvegicus* var. *albus*) の正常骨髄の切片標本及び塗抹標本を観察の基本対象としたものである. これに尚大阪市及び大阪府下に於て捕獲された七郎鼠 (*Rattus norvegicus*), エチプト鼠 (*Rattus rattus alexandrinus*), 及び家兎等の骨髄標本を研究の参考とした. マウスも使用したがその骨髄は, 量が少

ないのと細胞が小形なため、染色体数は少ないが、本研究には適当な材料ではないことが解った。

大黒鼠は正常な幼弱個体及び若い成熟個体を選んで使用した。病的変化の参考資料としては、人工鉛中毒、及び吉田肉腫を接種した大黒鼠の骨髓を用いた。

切片標本.

論争の中心によく標本作製法が挙げられる事があるので、標本作製には細心の注意を払って、かかる時間の空費を無くする様に心掛けた。即ち、細胞の生体固定を行い、脱灰法をさけ、水洗、脱水、包埋等の操作中に外力による変形、破壊を防止することに努めて切片標本作製したのである。

鼠をエーテル、クロロフォルム又はウレタンによって微麻酔させ、心嚢を開き、左心室を破って硝子管を大動脈に挿入し、固定液を大動脈から動物の全身に還流させて生体固定を行った。還流固定に使用した液中 Helly 氏液が最良であった。還流約30分後動物の大腿骨を取り出し、其骨体を注意深く開き、円柱状に固定された骨髓を損傷させぬ様に摘出する。次に、濃厚な寒天溶液(37°C)中を敏速に通して骨髓の表面に薄膜を作り、以後の操作中に骨髓の破壊変形を防止した。かく補強した骨髓を Zenker 氏液又は Maximow 氏液で更に24時間再固定後、水洗、脱水を型の如く行い、benzol を通じてパラフィン中に包埋し、10—12 μ の連続切片とした。染色は Maximow 氏のヘマトキシリン-Giemsa 重染色法を主とし、之に azan 法及び Heidenhain 氏鉄明パン-ヘマトキシリン法を並用した。鉄明磐ヘマトキシリン染色を行う際、Maximow 氏液で固定した材料では、染色体研究家が好んで使用する Chura 氏液による前処置を行って美麗な染色体像を染め出すことが出来た。

塗抹標本.

塗抹標本作製にあたって、塗抹の仕方、固定法及び染色法の撰択に特別な注意が払われた。骨髓の細胞を外力による変形を最少にして、一層フィルム状にならべる1方法として、材料を次の如く取扱った。微麻酔下の動物の後肢を切断し、手早く大腿骨に附着している筋、腱等を除去した後、細いピンセットで注意深く骨部を除き、外圧をかけることなく骨髓を約1cmの長さの円柱として取出す。これをデッキグラスの一端に置き、2ccの注射器を柄にして、其先に付けられた $\frac{1}{2}$ 乃至 $\frac{1}{3}$ の注射針の腹で軽く推すと、骨髓はローラーの様に硝子面上を廻転し、接触した面に略々一層の細胞層を残す。

かかる方法で1回に数枚の標本が得られる。塗布された骨髓は乾燥させることなく直ちに、塗布面を下にして固定液上に浮べて固定する。

固定法及び固定液の撰択には多数の実験を行わなければならなかった。其理由は畢丸の様な単一細胞系の成熟現象に於ける核の観察にはアセトカルミンの様な簡便法も使用し得るが、骨髓の様な多細胞系の組織に於て、しかも細胞の種類判定の基準が細胞質及び其の内にある顆粒等の染色性に置かれている場合、細胞質

等の染色性を变化せしめず、且つ核の形態及び染色性を变化せしめない固定法を求めなければならないからである。

実験の結果メチールアルコール, Champy 氏液, Hermann 氏液, Flemming 氏液, Carnoy 氏液, Bouin 氏液等の血液学及び核学方面に常用される固定液は一方的の特質を有するが、前述の2条件を充してくれなかった。完全ではないが、塗抹標本固定液として、この2つの条件を多少満足させてくれたものは Zenker-Navashin 液と昇汞-醋酸-フォルマリン液で、其の組成は次の如きものである。

Zenker-Navashin 氏液.

Navashin 氏液 (1%クロム酸 100 cc, 氷醋酸 10 cc, フォルマリン 40 cc) と Zenker 氏液 (重クロム酸カリ 2.5 g, 硫酸ソーダ 1 g, 水 100 cc) を使用に際して等量を混合する。

昇汞-醋酸-フォルマリン液.

昇汞飽和水溶液 100 cc, フォルマリン 10 cc, 氷醋酸 2 cc.

以上の固定液で、室温にて約30分固定、水洗1時間後80%の酒精中に貯える。

染色は Böhmer 氏ヘマトキシリンにて核染色後に、蒸溜水 (pH 6.8) 10 cc 中に武田製の Giemsa 氏液を5—6滴加えたもので染色した。其の他に鉄又はクロムヘマトキシリンの染色を併用して観察を行ったのである。

II. 所 見.

赤血球系の細胞は他の細胞系のものと、細胞質の染色性及び無顆粒なる点の他に、細胞の大きさ、形態、核の特徴に注意を払うならば、比較的容易に判別することが出来る。その上に骨髓に於ては此細胞系のものは、明瞭な細胞巣を形成する傾向があるので、観察は主として切片標本に於て行った。切片標本に重点を置いた今1つの理由は、塗抹標本観察に重点を置いて来た今日迄の血液学の成績と、重点変更を行った成績との比較を行いたいのが著者の希望であり、又特に赤血球の失核過程等の場合に標本作成法が論議の中心になった点を考慮して標本作成法による一方的な変形をさけたかったためである。

然し、塗抹標本では細胞体が比較的大きく保たれ且つ細胞が切片の如く2分される様な場合が殆んどないために、染色体の観察等は主としてこれによった。

成熟動物の骨髓に出現する赤血球系細胞の種類に関して種々な分類が行われ、其の名称も細部に到っては研究者間の意見が異なるので、著者は赤血球系を細胞質の染色反応に重点を置いて、A. 未分化期, B. 好塩基性期, C. 多色性期, D. 正色性期, E. 無核期の5期に便宜上分って観察所見を整理することとした。

A. 未 分 化 期.

本期の細胞の形は球形又は卵形で、時に偽足状の突起を持つことがあり、骨髓中に見られる細胞中比較的大形に属する。位置は髄中、血管外腔に散在性に見られ、数は成熟動物では少数である。

細胞質は弱好塩基性を呈し、時に小形の空胞の密集した海綿状構造を示す部分

が見られる他に、顆粒を発見することは稀である。中心体は静止期の細胞では核に接した双球が見られる場合が多い。

核は長円形又は腎形のものが多数で、其径は切片標本では $6.5-8\mu$ 、塗抹標本では $11-13\mu$ を計えることが出来た。染色質は核液と明瞭に分離し、角ばった強い網状配置を示す。核液が多く、網眼は比較的大きいため、核の概観は明るい感がある。染色質は *oxychromatin* が存在しないためか酸性色素に殆んど共染しない。核小体は球形に近い大形のを 2—3 個有するものが多く、又これ等が融合した様な大きな桿状形を呈する場合も観察された。

此の期に於ける細胞の無糸分裂像は発見出来なかった。分裂は双極性の有糸分裂で、*megakaryocytes* 系の多極性の有糸分裂とは此の点で明瞭に区別される。大黒鼠では分裂中期に於て染色体は核板上に菊花状の配列を示し、長桿状の大形のものより点状の小形に到る 42 個のものが観察される (附図 12)。染色体は形態より見ると点状のものを除いては、全て端糸的の染色体であり、染色体研究者が体細胞及び精原細胞等の分裂時に観察した結果と一致する。此の期の染色体は分裂中期に於て、桿状のものには細長の形を呈する特性があるらしく、短縮した太いものは観察されなかった。

B. 好塩基性期.

本期の細胞は、細胞質が塩基性色素に濃染し、無顆粒である。細胞質の構成は前期のものに比較すると密な感を与え、形は球形又は卵形のものがその基本形らしい。数個相接して存在する場合には、多角的な形態を示すものがある。

骨髓中では血管外に数個集って細胞巣を形成している場合が多く、大黒鼠の切片標本では径が $8.5-11.5\mu$ の大きさを示した。

核は殆んど球形を呈するものばかりで、腎形等のものは稀である。直径は切片標本で $5.3-7.3\mu$ 、塗抹標本で $6.3-11.5\mu$ 大であり、前期のものと同様核液を豊富に有する様に見える。染色質は塩基性のもののみらしく、酸性色素の色調を混えない。核液と染色質は明瞭に分離して、強い好塩基性の染色質網が疎大な網眼を作っている。網上の染色質の配置は核膜に接する方向に密な場合があり、一見車軸状核に似た像を呈する形質細胞に似た場合も少数見られた。核小体は明瞭に観察され、大形の球形のもの 1 個又は小形のもの 2 個の場合が多い。本期に於ても無糸分裂は稀で、著者は本研究に於て只 1 回無糸分裂と考えらる像を見たにすぎない。有糸分裂は双極性で多極性のものは発見されなかった。大黒鼠の本期に於ける分裂中期核板上に現れた染色体は前期細胞及び体細胞の分裂中期のものと大差なく、数は 42 個で、大形のものには非端糸性のものがない (附図 13 と 17)。前期のものと比較すると、各染色体は共通して短縮した感を与える傾向がある。

C. 多色性期.

本期の細胞は殆んど球形を呈するものばかりで、直径は切片標本で $5.8-7.3\mu$

大である。骨髓に於て赤血球系細胞巢の主要構成要素をなすもので数多く観察される。

本期に於て赤血球系の細胞は細胞質及び核は共に著明な変化を現わすのが観察される。即ち細胞質は弱好塩基性物質を有する他に、好酸性物質の出現が観察され、その量比に種々なる段階が存在する事が観察される。

本期と好塩基性及び正色性期との境界の決定を明確に行うことは難事であるが、著者は前者とは好酸性に、後者とは好塩基性に重点を置いて大別観察を行ったのである。即ち細胞質に酸性色素の色調の始まる時期から塩基性色素の色調の消失する迄の間にある細胞を本期の細胞群として観察したのであるが、核の変化と対照して、結果には不都合な点はあまり発見されなかった。

核は滑円形で切片では $6.3-4.3\mu$ 、塗抹では $7.7-6.2\mu$ の直径を有し、大形のものでは染色質網も明瞭に観察され、網眼中の核液の部分は不染であるが、小形の細胞では染色網が密になり、核液が減少するためか、網眼が観察し難く、核全体が染色質の無構造塊の如き観を呈するものも出現する。明パン-ヘマトキシリン染色後に azan 染色を行った標本では、大形のものにはヘマトキシリンに濃染した核で核網も観察されるが、小形の細胞では核は azocarmine G のみで濃染せられ無構造の観を呈するものが多い。核小体は小形の球形のものが大形の細胞に於て一個観察される場合があるが、多くは観察され難い。

本期の細胞分裂に無糸分裂像を発見する事は困難である。有糸分裂は双極性の正常型が観察される。分裂中期では核板上の染色体は配列の変化は殆んどなく、数も体細胞と同様大黒鼠では42個の端糸性のものと点状形のものが見られる(附图14)。染色体を未分化期のものと比較すると、本期に於ては全染色体が短縮され、その程度の著しいことが認められる。

D. 正 色 性 期.

本期に於ける細胞を球形又は卵形のもので、切片標本では $4.8-5.2\mu$ の直径を有する。存在位置は血管外で、赤血球細胞系の細胞巢内では次期のものと共に最多数を占めている。

細胞質は本期に於ては好塩基性を失って強い好酸性を示し、赤血球と同様に eosin には強く染まる。然し azan 染色では青色に anilin blue に染まる点は赤血球と異っている。

核は球形であるが、7%位のは中央に軽いくびれを持ったり或はクローバ葉状に中心に向う3つの陥入を持ったもの等が存在する。染色質は多少網状配列を呈するものと、殆んど無構造の配置を現わす2種の状態が観察される。前者は直径 $3.2-5\mu$ 、後者は $2.6-3.6\mu$ の直径を有する。染色質の染色性は両者共にヘマトキシリン-アズールエオジンでは青紫色に染り、ヘマトキシリン-アザン染色では赤色に染る。

本期に於ける細胞分裂は双極性の有糸分裂が主流で、無糸分裂は完全に否定出来ないが、2核を持った細胞が皆無と云う結果から推すと、略々否定し得るのではないかと考えられる。有糸分裂を精密に観察すると、分裂形式は前期までの細胞と異っている。核の容積が細胞質の溶積に比して縮少の割合が少ない結果、分裂中期に於て核板上に配列する染色体は其の外端が細胞の表面に殆んど接するが如き観を呈する(附図19)。又染色体は短縮して点状に近い外観を呈するものもあるが、多数の細胞では生殖細胞の減数分裂の中期に見られる様な2価染色体に類似した形態を現わす(附図16と21)。その数は20—23個であり、その内数個の2価染色体環状又は複合輪状4個体状の形態を常に現わしている。かかる分裂の前期の核を観察するに、染色体は減数分裂の diakinesis に於けるが如き形態を表わす場合が屢々認められる。

分裂終期の染色体数は細胞が余りに小形であるため、光線顕微鏡では正確に観察する事が出来なかった。

小形の核を有する細胞に於ては核は球形の染色質塊の如き観を呈し、染色質網、核小体等の内部構造は全く観察し難い。かかる像を呈する細胞に於ては、細胞質は核に密接しているが、核膜と細胞質との間に隙間が観察される同型の細胞が多数に存在するのが認められた(附図2, 7, 8)。

この隙間は液状の成分によって充されているらしく、酒精、オスミウム酸、昇汞、醋酸、クローム酸、重クローム酸カリ及びフォルマリン等では沈澱像を生じない。又塩基性色素、酸性色素及び種々なる金属のヘマトキシリンラックによっても染められない。

此隙間の大きさは小さいものでは核膜に接した球膜状に見えるが、大きいものでは細胞質中に核の数倍の容積を有する球形を呈し、其の間に核が浮遊しているが如き観を呈する。此の液球は細胞の中心部位より次第に偏心して、細胞質を破り、其の内に浮遊せる核を細胞外に放出させるが如き形態の変化の順序が骨髓内の赤血球系細胞巢内に多数に観察される(附図1, 2, 3, 4, 6—11)。

かかる細胞質と分離して行く核を見るに、核の周囲に液腔を生じ始めたと考えられる期から脱核の期までの間に、核内に小球形の網眼を生じ、液腔の増大に比例して網眼が拡大されて行く傾向が明確に認められた。

放出前の核は azan 染色では azocarmin の色調に僅かに青の混った紫紅色であるが、放出されると azocarmin に orange の色調の混った橙紅色に染るのが認められる。放出された裸核は種々なる大きさの球形体に変化し、骨髓内の紡錘形の核を持った結合組織細胞及び好中球等に摂取され消滅して行く過程が多数に認められる。

E. 無核期.

大黒鼠の骨髓切片標本をヘマトキシリン-アズールエオジン重染色法で染めて観察すると、赤血球系細胞巢中の無核細胞も血管内の赤血球も共にエオジンに一

様に染り区別が出来難い。然るに azan 染色による標本では血管内の赤血球は橙紅色か黄色の強い橙色を呈するが、細胞渠内の無核細胞は青色、緑色、橙紅色、橙色等の少なくとも 4 群に染色上区別することが出来る。此の染色性と細胞形との関係を観察するに、細胞質が純青色に染るものは有核期では正色性期前の細胞と脱核過程のもの、無核期のものでは脱核直後と考えられる椀形をした細胞に限る様に観察される。緑色に染ったものの形は殆んど椀形のもののみで、皿形又は円板状のものでは血管内の赤血球と同様橙紅色又は橙色の色調を示すものが多数を占めている。

III. 考察と総括.

a) Erythropoiesis に於ける染色体.

Rattus norvegicus の飼育種の染色体は Allen, Pincus, Painter, 藁内, Swezy, Bryden, Köller, Darlington 等により、又同種の野生種のもものは Swezy, 小熊, 立石, 牧野等によって研究された結果、飼育と野生の個体の間に形態学的の差違が認められないのみならず、牧野に依れば野生のものに於ても地方差も認め難いと報告されている。

Rattus norvegicus の核型は $2n$ では 42 本の主として端糸的の染色体があり、性染色体は桿状の X 染色体と小球形の Y 染色体であることに諸家の成績は一致している。著者が本研究に於て観察し得た結果もこれ等の諸家の成績と一致したもので、(附図 12—5) 正色性期の赤芽球の一部を除いては、全ての赤芽球の分裂期には 42 個の端糸的染色体が認められた。然し、細胞の分化に従って染色体の形態には多少の変化がある。未分化期から正色性期にいたる分化過程の染色体を比較観察するに、初期のものは螺旋糸のまき方がゆるいのか或は延びているのか、染色体は細長く大である。分化の進んだ時期のものは、これに反して、太く短かく且つ小さくなっている。即ち、もと短桿状であったものが分化の進むに従って点状に近い形態に変化して行くのがうかがわれる。

この間に於ける染色体の異変は好塩基性期の分裂に、減数分裂の第 1 分裂に非常によく似た分裂像が僅かであるが認められたことである(附図 20)。染色体は相同の対が結合して 4 分染色体状の形態を呈している。然し其の数は 30 個以上で減数分裂時に現われる 4 分染色体数よりはるかに多い。かかる分裂像が正常の骨髓中にも認められるが、吉田肉腫を移植した動物の骨髓中にはより多数に認められた。かかる現象は牧野及び吉田が同肉腫の腹水中の細胞に於いて報告した事実と関連のあることと考えられる。

この染色体像は、一見減数分裂時に於ける 4 分染色体像と同一視されるが、著者の精査した結果から推論すれば次の如く解せられるものではあるまいか。

この様な像の報告されているものには 2 つの種類がある。1 つはコルキチン又はアセチフテン等で処理した分裂に現われ、他はアセトカルミン法等による「お

しつぶし法」によく現われている。著者の場合も塗抹標本に於いてのみ観察したに過ぎず、又牧野及び吉田の場合も塗抹標本で見ている点が一致している。

コルキチン処理の場合は染色体の染色分体が分れているのに動原体の分裂がおくれる結果、生じたる像とされているが、著者の場合やおしつぶし法の場合は動原体の部分で接着していることは少なく、染色分体の間が僅かに離れすぎた像と見られる場合が多い。おしつぶし法或は塗抹法の場合は分裂直前の染色分体が外力のために僅かに離開したために生じた人工産物であると推定するのが至当ではないかと考えられる。

以上の人工産物と考えられる分裂像及び正常の有糸分裂像の他に、分裂の異変の観察されるのは正染期の脱核前の分裂に於いてである。

この期の終りに於いて細胞は核を失う事実から考えて、核に何等かの変化が起り得ることは推測に難くない。著者は注意深く此の期の分裂を観察したが、此の期の細胞核は静止期のもので、径約 3.5μ の小形であるため、光線顕微鏡では正確な事実は把握することは困難なことであった。

然し、附図 12—15 に示す様な正常分裂の他に、4 分染色体に似た染色体が 20—24 個を数える事が出来る分裂像を多数に見ることが出来た。この場合の異常形態の染色体は附図 16 及び 21 に示すが如く前記のものと形も異り、数も体細胞に於けるものの半数に近く、又細胞の形も圧平された様な形でもない。配置が不規則なる点から分裂前期のものとも考えられるが、数の点で今日までの有糸分裂に関する知見では解釈の出来ない像である。

血球の染色体に関する報告は極めて少なく、且つ報告された標本も染色体研究の資料としては不適当なものである場合が多い、Isaacs は高度の貧血に罹った人の末梢血中に有核赤血球の分裂する像を認め、その染色体数は 48 個か、或は 24 個の 2 価染色体であると報じている。そしてこの有核細胞の細胞質は好塩基性であり、ブリリアント-クレシール青又は中性赤で染まる小網が多量に存在することを附言している。

木下等は造血の場合に減数分裂様の異常分裂が存在することを報告し、又 Michells は魚類の 1 種 (*Gongylus ocellatus*) の脾に現われる肥胖細胞の分裂前期に、附図 22 と 23 の如き 4 分染色体類似の像が核内に存在することを図示している。

これらの報告は染色体を研究目的とした研究ではなく、他の目的の研究の副産物的記載であるため、無批判のままでは承認し難い。又分化の期が明瞭でないために著者の場合とは直接に比較することは出来ないが、著者の成績と総合して考えれば造血に関係を持つ細胞系には、生殖細胞系に於いて行われる減数分裂に似た特殊な有糸分裂型を現わす機能があり、且つ正常の赤血球形成の過程に於いて、正色性期に多数この型式の分裂が存在すると推定して不都合はない様に思われる。

尚今日まで染色体に関する異変として報告された B 染色体の出現による異数性

及び核酸欠亡によって生ずる異質染色質の出現は全期の有糸分裂像に1回も観察されなかった。

細胞核の分裂形式の他の1つである無糸分裂の像は正色性期に於いて僅かに観察し得たのみで、他の期の分裂には之を認めることが出来なかった。それ故に正色性期以前の分裂は先ず正常なる細胞分裂形式のものと考えてよく、唯分裂後に染色体の大きさが成育復元されることが欠けているのが特徴の様に考えられる。これに反して、正色性期に至っては正常なる有糸分裂の他に4分染色体形成に似た期を有する有糸分裂の変態及び少数ではあるが無糸分裂の像が見られる点を考慮すれば、正色性期に於いては細胞分裂形式の乱れが存在すると言わざるを得ない。

この分裂形式の乱れと中心体及び紡錘糸との関係は精密に観察したが、これ等の間に著明なる法則性の存在することは終に確認することが出来なかった。

b) 赤血球形成過程に於ける核の大きさの変化に就て。

核の大きさに関する問題は Hertwig 一族 (O., R., P., G.), Boveri 及び Heidenhain 以来多数の研究者によって論争されて来た問題である。この半世紀余りに渉この方面の研究は大略次の3方向にむかって進められて来ている様である。即ち初期に於いては核の大きさと細胞質の関係がしらべられ、R. Hertwig の「核細胞質比」が問題の中心をなしていた。これより細胞の分化、発育、機能と核の關係に発展し、Heidenhain 及び其の門下の Jacoby に到って細胞の発育に週期的の変化があり、核の体積は 1, 2, 4, 8 の等比級数的の週期を持つことが報ぜられている。今1つの方向は Boveri 以来の核の大きさと染色体との關係についての研究で、染色体の倍数性と核の大きさ及び組織中に出現する巨大細胞の核の形成と染色体との關係等が研究の主題にされている。

著者は前節に於て赤血球形成過程に於ける染色体の変化を明らかにしたが、この間に於いて休止核の形態が如何様に変化するかを追及してみた。表1に掲げた

表 1. 各期の細胞核60個についての計測成績.

核	細胞の種類			
	未分化期	好塩基性期	多色性期	正色性期
長径 (μ)	8.1 $\pm$ 0.1	6.3 $\pm$ 0.05	4.9 $\pm$ 0.04	3.5 $\pm$ 0.03
短径 (μ)	6.4 $\pm$ 0.07	5.4 $\pm$ 0.04	4.3 $\pm$ 0.04	3.4 $\pm$ 0.03
長短指数	80.2 $\pm$ 1.1	85.7 $\pm$ 1.0	87.7 $\pm$ 0.9	93.5 $\pm$ 0.6
面積 (μ^2)	43.0 $\pm$ 1.08	26.4 $\pm$ 0.31	16.4 $\pm$ 0.23	9.2 $\pm$ 0.13
体積 (μ^3)	171.0 $\pm$ 5.2	95.5 $\pm$ 1.5	47.4 $\pm$ 1.2	20.6 $\pm$ 0.4
体積比	1	$\frac{1}{1.8}$	$\frac{1}{3.6}$	$\frac{1}{8.3}$
V=0.3 μ としての 修正値	1	$\frac{1}{1.9}$	$\frac{1}{4.3}$	$\frac{1}{11}$

数値は各期に於ける休止核60個の長短両径と面積を計測して、この値から体積、長幅指数、体積比を計算し、それ等の算術的平均値を求めたものである。計測に用いた骨髓は Zenker-Navashin 液で生体固定後、 12μ のパラフィン連続切片とし、ヘマトキシリン及び Giemsa 氏液で重染色を行ったものである。核の計測に当って生体計測が完全に行われれば、これは理想的のものであることは論ずるまでもない事であるが、骨髓細胞では細胞質の染色状態で期を決定しているため生体計測法が用い難い。又切片標本を用いた理由は塗抹又はプリント標本では、各標本毎に固定、染色等の条件が異り、又外力の影響も細胞毎に一定だとは言い難い。その上核の圧平される程度も一様ではないから比較する場合に各核が相似形等と仮定することも出来ぬ。以上の理由から固定染色が比較的均等に行われる切片標本を使用し、且つ1枚の硝子に21枚の連続切片の一部を貼着した標本中から細胞を選ぶこととしたのである。

図1. A 線の光像の強度, B 線の実長, C 光像の外縁を計測した長さ, D 実用的計測による長さ, V 使用した対物鏡の分解能。

Fig. 1. Diagram showing the relation between the luminous line and its image under a microscope. A light-intensity of the image of line B, B the length of the line to be measured, C the distance between first minima of the diffraction-pattern of the image of B line, D average length of the image of B line measured by ordinary visual method under a microscope, V the value of the resolving power of the objective used for measurement.

各期の細胞核は分裂の前後を区別し得ないため、前後のものの混合したものを計測したことになっている。

計測に当って使用した光学機の分解能の影響も考えねばならぬ。顕微鏡の分解能は、その光学系によって作り出される廻折円の第1暗環の半径であると考え、計測値は真値より分解能の2倍近く大きい値となる。図1のAはBなる直線の光像の略計算である。鈴木の実験によれば計測長は分解能の約 $\frac{4}{3}$ 真値より大きく計られるらしいと言う(D)。浸油レンズの分解能が $0.3-0.25\mu$ としても直径 $3-4\mu$ の核ではそれより計算された体積は真値とは相当な開きのあるものと考えねばならぬ。表の7段は分解能 0.3μ として関係比の補正を試みた値である。長短両径より体積計算には Jacoby 等は球又は桿状核には円筒の両端に半球の結合されたものとして計算しているが、著者

の場合は核像の変化が図2の様であるから廻転楕円体として計算した。集団の代表値として Jacoby, Schreiber 等は mode を用いているが著者は算術的平均値を計算した。

表の数値から赤血球形成過程に於いて核は一途に小さくなると共に楕円体より次第に球形に変わって行く傾向が推定される。その核体積は未分化期のものを基準

にとれば、略々 $1, \frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{8}$ の如く等比的に週期を持って減少する様である。

Jacoby が人の新生児骨髓に於いて計測した数値と比較するに、normoblast の代表値と著者の正色性期の代表値とは数値的に偶然ではあるが完全なる一致を見せている。彼はこの normoblast は基準核の $\frac{1}{8}$ 、即ち彼の記号では $K\frac{1}{8}$ で表現される核を有すると断定し

ている。著者の計測では未分化期の細胞核を基準核とすれば正色性期の核は前者の約 $\frac{1}{8}$ に当ることが解る。細胞が発育及び分化の場合に以上の如き週期的な変化を行う点では多数の研究者の意見は一致しているが、其の増加比又は減少比とも名付けられる此の値に関しては $\frac{1}{8} : \frac{1}{4} : \frac{1}{2} : 1 : 2 : 4$ の如き値を採ると言う Heidenhain 及び其の門下の主張に対して $1 : 1.5$ 或は $1 : 1.41$ 等の比を示すと言う Wermel 及び Portugalow、並びに G. Hertwig 等の業績がある。著者の材料はこれ等の僅な差異の正否を判定するには充分でないために批判は差しひかえる。

赤血球の形成とは異なるが村上は大リンパ球から小リンパ球が生成されるとし、塗抹標本で両細胞の長短両径を計測している。その結果から、両細胞の固定された形を簡単に相似であると仮定して、両者の体積比を $1 : \frac{1}{16}$ と推定している。之に反して Jacoby は人体材料で又 Freeksen は家兎で小リンパ球の核は基準核の $\frac{1}{4}$ の体積を有すると報じている。核と細胞質との関係に Heidenhain の、 $\frac{MK}{MP}, \frac{2MK}{2M}, \frac{4MK}{4MP}$ …の比率が認められるとすれば、村上と Jacoby 及び Freeksen 等の成績には 2 階級の差が存することになる。

著者の場合に於いても塗抹標本で計測を行った時は未分化期のものと正色性期のものととの比は約 $1 : \frac{1}{16}$ の数値を得た。又計測の 1 例として、天野の「血液学の基礎、図 75、の顕微鏡写真中の原赤芽球と正色性正芽球の長短径を計測し、この値より計算を試みると、両者の核体積比は 1 に対して $\frac{1}{16} - \frac{1}{17}$ の数値になることが解る。

標本の製作法が計測値に及ぼす影響はかくの如く存外大きく又計測値の持つ生物学的意義の判定は簡単ではない。それ故に、直接計測した値に於いても条件如何によって大差を生ずるのはめずらしくない事である。この計測値から計算した体積等の比較に於いてその比が $1 : 2, 1 : 1.5, 1 : 1.4$ 等の何れが生物学的に正しいか否かの批判は著者の計測では批判しがたい。然し、 $1 : \frac{1}{2}$ に近い比率をもった週期の存することは認めても差支えない事実だと思われる。

核の体積と染色体との関係に就いては O. Hertwig 及び Boveri のウニ、蛔虫の

図 2. 赤芽球の各期に於ける大きさの比較。U 未分化期、B 好塩基性期、P 多色性期、O 正色性期。

Fig. 2. Diagram showing forms and sizes of nuclei from erythroblasts in four successive stages of erythropoiesis. U nucleus from an undifferentiated cell, B nucleus from a basophil erythroblast, P nucleus of a polychromatophil erythroblast, O nucleus from a normoblast.

分割に関する研究以来倍数性, chromatin-diminution との関係が明らかにされ, 近時昆虫の巨核の形成を Geitler, Painter 等は endomitosis による polynemy によると説明している. 然し著者の研究の場合の様に, 染色体数は未分化期から正色性期まで形は小さくなるが数は半数にもならぬのに, 核体積が週期的に減少する現象は今日迄の染色体と核との知見では説明し難い.

観察の結果, 核網が次第に消失して行く点から核液の減少して行くことは推定される. 又分裂毎に染色体の形が小さくなる点は分裂後の核の成長復原現象が抑制されるのか或は急速な連続分裂のために分裂準備の不完全な状態のまま分裂するのではないかと考えられる. 図3は精子形成に於ける核体積の変化と赤血球形成に於けるものとを比較

図3. 赤血球発生と精子発生に於ける細胞核体積の変化の比較. *a* 大黒鼠の精子発生, *b* スッポン, *c* バッタ, *d* 赤血球発生. *I* spermatogonia, *II* spermatocyte I. *III* spermatocyte II, *IV* spermatid.

Fig. 3. Comparison between spermatogenesis and erythropoiesis in relation to the change of nuclear volumes in the course of maturation. *A* spermatogenesis of a white rat. *B* spermatogenesis of a soft-shelled turtle, *C* spermatogenesis of an orthoptera *D* erythropoiesis of a white rat. *I* spermatogonial stages, *II* stages of primary spermatocytes, *III* stages of secondary spermatocytes, *IV* stages of spermatids.

したものである. 分裂は II と III 及び III と IV の間にある. IV と V は spermatid から精子に転化する間の核変化で, 此の間には細胞分裂はない. この間の縮小は核が核液を失って行く結果, 核体積の減少を来たすものとされている. 第2次分裂は第1次に引続いて起るため, 核及び特に染色体の成長復元と考えられる染色螺旋糸の増加は出来ないまま行われるものと考えてよいと思われる. 即ち第1分裂前に染色螺旋糸が一定数に増加し, 其後はこれの増加(即ち染

色体の大きさの増加)が行われず分裂するものと考えられる.

精子形成に於ける分裂と赤血球形成時の分裂とを比較すると, 前者は成長期を持つが, 後者はこれを持たない, 即ち染色螺旋糸の増加することのない点が異っている. 赤血球形成時に染色体形及び核体積の減少, 又染色螺旋糸の減少, 即ち oligonemy 現象が原因の1つではないかと推察する.

G. Hertwig は「内分裂による核膨張と反対に, 連続分裂が重なって行われる場合があり, この場合には分裂準備の出来た多価の染色体及び核が生長する合間もなく引き続いて分裂するため8価であった染色体及び核が4, 2, 終には1価, 即

ち Teilungsminum のものになる」と著者と同様の推定を核体積の縮小現象に対して下している。

Freeksen はテンジク鼠及び家兎の胎児の赤芽球の核には体積比が 2 : 4 : 8 の 3 種があり、家兎の新生体では、この比の下 の 1 の階級のものがある。これ等の赤芽球は Maximow の正色性の正赤芽球に当るものであると断定し、ヘモグロビンが出現し始め且つ核構造の明らかな彼の所謂前赤芽球は 16 : 32 時に 64 の比の階級に属するものと報じている。著者の材料ではかかる成績は得られなかった。彼のかかる成績は使用動物の特性のためか或は胎児の特性のためかは不明である。然し彼の細胞種類の判定法と標本製作法の異った標本について行った計測値の総合の結果が成績に大きな影響を与えていないとは云い難い。

核計測の結果から著者は赤血球形成過程は少なくとも 4 つの期に分けられると推論するのが正しいと信ずる。即ち未分化期、塩基性期、多色性期、正色性期の分類は細胞質の性質のみならず核計測上からも正しい分類であると言うことが出来る。また、この各期の細胞に常に有糸分裂が観察される点を顧慮すると、細胞世代を基準とした分類法にて少なくとも 5 世代以上に分類し得る訳であるが、分裂前後の細胞の形態学的の特徴は明らかでないために、この基準による分類は困難である。

c) 赤芽球の失核機序.

哺乳類の赤血球が赤芽球の失核によって生ずる機序はこの一世紀に涉って多数の研究者により論争された問題である。現在まで多数の研究者によって支持されている学説のうちでは核融解説と核放出説の 2 つが重要なものであろう。融解説は Kölliker, Neumann に始まり, Israel と Pappenheim, Dickson, Schridde, Blumenthal, Naegeli 等に支持され、放出説は Rindfleisch 以来 Howell, Kostanecki, Maximow, Weidenreich, Jolly, Schilling, Koch, Kulczynski と Schwarz, Honneth 等の提唱するところの説である。尚放出説の分流とも見らるべき説に赤芽球の出芽又はくびれる事によって無核の赤血球が産成されると Emmel 等の主唱するものもある。

この一世紀に涉るこの間に起った論争の跡を細部に涉って歴史的に記述するのは困難な仕事であり、又本研究の目的の範囲を越えるものも多数に含まれているので略す。しかし融解説の支持者達の主張する主要点は、赤血球内に出現する核様体が核融解の残存物であり、また放出説支持者の多数の観察は塗抹標本によるものであって、核脱出が生前に行われたと云う説明がなく、なお標本製作時に加った外力が原因にならないと云う証明が不足していると云うことにある様である。他方、放出説を主唱する派の研究家は遊離の裸核が血中に出現すること、脱出の中間形とも見なされる像が骨髓等に発見され且つ裸核が骨髓中等の Reticulum 細胞又は組織球中に喰われている像が屢々見られる等を根拠とし、融解説派の主張する核様体と核との関係の根拠はうすいと論難する者が多い。又脱出核から血小

板が生ずると唱する研究者もある (Schilling, Emmel 等), これに対して Isaak の如きは正確な脱核方式を示す決定的な資料がないと簡単に評している。

著者はこの論争の内に入るについては前記の 3 説の支持者達が互いに論難し合っている点に十分に注意を払って観察し、其の結果が 3 説中何れに近接するかを調べてみた。

観察標本は健康だと判定される鼠の骨髓の切片標本を用い、先ず Feulgen 反応を行った。この標本で赤血球形成の時期を観察した結果、無核の赤血球細胞質中には Feulgen 反応陽性の顆粒又は核様体は発見することが出来なかった。ヘマトキシリン-Giemsa 氏液の重染色及び azan 染色を行った標本では附図 1 から 11 まで

図 4. 生正赤芽球の位相差顕微鏡写真。A 脱出した裸核, B 脱出しかかった核。

Fig. 4. Phase-contrast photomicrograph showing a normoblast and a naked nucleus in vivo. A naked nucleus, B normoblast extruding its nucleus.

かかった核及び細胞質の状態がうかがわれる。核の周縁に現われる液腔の形成は Schilling の硝子体に似た像を示すが、osmium 酸、クローム酸、昇永等でも固定出来ない物質を含み、酸性及び塩基性アニリン色素等では染まらない 1 種の液腔と考えざるを得ないものである。

案ずるに、生物体

の像と同様のものが多数に観察された。これ等の像を番号の様な順序に配列して見ると核放出の機序が形態学的に明確に認められる様である。即ち正赤芽球核とその細胞質との間に液腔と考えられる間隙が出来、核は次第に偏心的の位置を取る様になって、終に細胞外に液と共に放出されてしまう。著者はかかる核の放出がナイフによる力のための人工産物かとも疑って見たが、図 5 に示す様に相隣あっている細胞の脱核方向が直角に相交る像が多数にあることは著者の疑を解消してしまった。又図 4 は生活状態に於ける正赤芽球の位相差顕微鏡写真であり、脱出した核と脱出し

図 5. 骨髓切片中の正赤芽球脱核の方向を示す。a, b, c の 3 個が各々異った方向に向って核放出を行っている。

Fig. 5. Photomicrograph of a section through the bone-marrow of a white rat. Normoblast extrudes its nucleus at random in directions.

が体内に存在するものを体外に放出する機序は其の物体の周囲に液腔を先ず形成して物体を其の液中に浮かべ、次にこの液と共に体外に放出するのが通則の様である。即ち排卵に於ける Graaf 氏胞及び胎児の産出の場合の羊膜腔と羊水等の例は数少なしとしない。赤芽球で著者の観察し得た核周囲の液腔形成と放出の機序は上記の如き現象の 1 種であり、生物体の通性に反しない機序であると言うことが出来よう。

融解説に対して著者の採った検出法には種々なる反論があることと信ずるが、融解説支持者の主唱する核様体が核物質から生じたと言う形態学的及び細胞化学的の確実な何人も承認の出来る証明がない。著者は若し核が融解するとすれば少量でも中間産物があるか核質が残っている像が観察し得るのではないかと考えたのであるが、全部陰性で、Honneth の成績を健常の鼠で裏書きした事になった。

生物細胞で核の一部を消失する機序を形態学的に観察されたものには Boveri 等の馬の蛔虫に於ける chromatin-diminution 及び Meves 等の田螺の虫形精子形成、竹屋の川ニナの虫形精子等に於ける染色体の一部放出等が著明な現象である。其の他核の出芽による小核形成と其の放出吸収等が挙げられる。融解説の支持者達の示す像は以上列挙した何れの場合とも相似ざる形式であり、赤血球のみが示す細胞学上の謎の様な形式である。又この説の支持者の 1 人 (Lobenhoffer) の言の如く、融解は急速に行われるらしいと言う推論と Maximow の指摘した「移行形の欠けている」ことは核融解説に信の置けない理由の 1 つである。

Emmel が豚の胎児及び其の血球の培養に於いて観察された無核赤血球が有核赤芽球の細胞質のくびれによって生成される機序は鼠の成体の骨髓では観察することが出来なかった。又くびれた後有核の部分が血小板になることも亦観察し得なかった。かかる形式の赤血球生成は胎児の特異性か或は豚に特定の現象かは不明であるが、哺乳類の体細胞ではアポクリン汗腺に於いて又無脊椎動物では蜜蜂の精子形成時に Meves と Duisberg の観察している現象と一致している。然し、これ等の場合無核の細胞質塊は分解死滅して行く場合が多い点から推察すれば Emmel の観察した機序は正常なる生理現象と認めらるべきかの疑問が残される。

放出された裸核は附図 5 に示すが如く、骨髓中の reticulum 細胞又は histiocyten に喰されて種々な大きさの球体として観察される。恐らくは融解吸収されて行く像の様に推察される。

d) 赤血球成熟.

赤血球と正赤芽球の細胞質はエオジン染色では前者が後者より多少濃厚の色調を呈するに止まるが、azan 染色では正赤球及び脱核直後の赤血球はアニリン青に青色に染る。脱核直後の赤血球は一般に碗形を呈し核の脱出のために出来た縁は鋭く、多くは毛細血管に沿ってその外周に在る。鋭い縁が次第に鈍く円味を帯びる頃からは染色の色調は緑色に変じ、バスケット状になり血管内腔にも出る様になったものは汚れた橙色に近く変っている。

血管内を流れていると判定される赤血球及び血管外の一部で形体の整ったものは赤色のつよい橙か或は黄色に近い色調を呈するのが常である。Azan 染色に使用する色素は同種の荷電を有する色素で、分子量は青のアニリン青が最大で、赤色のアゾカルミンがこれに次ぎ、最小は黄色の黄金オレンジの順になっている。染色の色調の変化がこれ等 3 種の色素によって作り出されるとすれば、

1. 青 = 青単色, 2. 緑 = 青 + 黄, 3. 汚橙 = 青 + 赤 + 黄, 4. 橙 = 赤 + 黄, 5. 黄 = 黄単色。

で染った結果であることは疑う余地がないことであろう。青から黄色に移って行く色調の変化はこれ等 3 種の色素に何が染った結果出来たものであろうか。

2 種或はそれ以上の酸性色素の混合液による染色の機序は A. Fischer, Möllendorff 及び関等によって実験研究され、色素の組織成分中に拡散する速度の差が染色上の重要因をなすことが明らかにされた。特に Möllendorff のゲラチン、関の寒天中に於ける酸性色素の拡散実験の結果、色素の原子数と拡散速度との関係が明瞭にされ、2 種の酸性色素混合液で行う van Gieson 法の染色機序が巧みに説明されるに到った。関及び其門下の大倉、神山等の精細なる実験で 3 種の酸性色素に

よる Mallory 及び Heidenhain の azan 染色では大分子の青色は疎構の成分中に残り、密構成分は赤に、ゴールドオレンジの黄色に染まる成分は極端な密構成分であるとの結論に達している。

これ等の成績を参考にして、赤血球成熟の際の色調の変化を見るに、正赤芽球及び脱核直後の細胞質は一様に青染するので、この時の細胞質は疎構であると言ひ得る。又成熟した赤血球はこれも一様に黄色に染っているから密構の程度の高い、即ち赤血球は成熟すれば其の細胞質成分は非常に密なる構造になる事は明瞭である。所でこの中間期に於て緑、汚橙色、橙色の色調の変化を経過することは疎構から密構に移行する過程が簡単でないことを示しているものであ

図 6. **A.** 正赤芽球の脱核経過の模式図。 **B.** 脱核後の赤血球の変形。 Mallory 染色。 + アニリン青, - 酸フクシン, • ゴールドオレンジ。

Fig. 6. **A.** diagram showing the denucleation-process of normoblasts. **B.** Metamorphosis of young erythrocyts immediately after denucleation. Mallory-azan stain. + aniline blue, - acid fuchsin, • gold orange.

る。

著者は赤血球の断面像を精細に観察した結果、赤血球の細胞質に2つの系の存在することを認めなければならなくなった。その1つは表面の膜様部と他は内部のストローマである。前者は脱核後比較的早期に細胞質の表面に形成され、且つ密構の膜状体を呈するもので、azan染色では黄色に染まることが認められた。この膜形成に遅れてストローマの変化が青、汚赤、赤、黄と染色の変化、即ち構造の変化が起る結果、膜部の黄色の色調と混色されて前記の如き複雑なる中間色調を呈すると推定せざるを得ない。又かく推定することによって中間色調の説明はつけられると信ずる。

これ等の構造上の変化と成熟過程に於ける変形過程を模式的に示せば図6Bの如くである。

正赤芽球の核は脱核過程に入らない以前に於ては無構造な濃縮した球体で、azan染色では紫色を帯びた赤色である。核の周囲に液腔を生じ始める頃から核網に似た構造が現われ、網眼は次第に大となり、小球状を呈するに到る。脱核直後の核は多少黄味を帯びた赤色に変わり、初め網目は明瞭に認められるが、次第に体積を減少するに到ると再び濃縮された無構造球の状態に変わって行くのが観察される。

Reticulum細胞又は組織球に摂取されると正球形になり、体積は著しく小さく其の球の表層の染色の程度は薄く、Histiocytesの細胞質との間の境界面は明瞭でなくなっていく様である。

脱出した裸核の運命に関してはSchilling, Emmel等は血小板が之より生ずると唱するが、著者は注意深く追究を行ったが、これを明確に立証する像を発見することが出来なかった。

IV. 結 語.

本研究は主として大黒鼠の骨髓のプリント切片、及び超生体標本によって赤血球形成の過程を追究したものである。其の結果著者の得た主要成績は次の如きものである。

1. 赤血球形成過程に於ける細胞分裂形式は正色性期以前のは正常な有糸分裂であり、異常分裂は認め難い。但し正色性期の赤芽球には4分染色体様の染色体の出現する異常分裂が多数に認められ、又無糸分裂像も比較的小数ではあるが常に認められる。これ等に比してこの期に於ては正常分裂は少数であることが注目すべき事である。

2. 染色体数は正色性期を除いて42の定数を離れた場合は極めて少なかった。正色性期に於ける異常形式のものでは4分染色体様の染色体が20—24個核板上に数えられる。

3. 染色体の形と大きさは分化の進むに従って球形に近づき、大きさは減少する。正色性期に到っては染色螺旋系の減少(oligonema)が起る結果、形及び大きさ

に極端な変化を生じたものと推定される。

4. 休止核の大きさは略々 $1:1/2:1/4:1/8$ と分化の進展と共に週期的の減少を認め、形は卵球形より正球形に近づく傾向が認められた。

5. 核計測の結果、未分化期、塩基好性期、多色性期、正色性期の4期は核体積を基準としても分類し得ることが判明した。然しこれ等各期の細胞に各々細胞分裂像を認め得ることを考えると、世代としては赤血球形成過程には5世代の細胞が少なくとも存在すると解せらる。

6. 正赤芽球が核を消失する機序は核放出によるものと判定し得た。核放出は核膜と細胞質の間に液腔を生じ、この液腔の増大の結果、核はこの液と共に放出される点は排卵機序と相似た現象であることが認められた。

7. 核と分離した細胞質、即ち若い赤血球は最初は碗形で一様に疎構であるが、次に其の表面に膜形成が起り、stroma も漸次密構造に変化して行くことが推定された。

8. 細胞質と分離した裸核は多くは骨髓内の網様結合組織細胞か或は組織球等の喰細胞に摂られ、これ等の細胞質内で次第に小球形に変わって行くのが多数認められた。これ等の裸核から血小板の形成される機序は認めることが出来なかった。

掲筆するに当り、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った鈴木教授に深甚の謝意を捧げます。尚本研究に当り種々御協力を戴いた解剖学教室の渡辺、金子両氏に厚く感謝致します。

Author's Abstract.

A study is made of the process of erythropoiesis of the bone marrow of a white rat (*Rattus norvegicus* var. *albus*) on the basis of its prints, sections, and supervital specimens. The results obtained are as follows:

1. In the pre-orthochromatic stage, erythropoiesis follows only a normal mitotic process. But some erythroblasts in the orthochromatic stage reveal frequently an abnormal mitosis where tetrad like chromosomes appear; also amitosis, although in comparatively few instances, is always observed. It is noteworthy that this stage shows rather few instances of normal mitosis.

2. The number of chromosomes generally maintains 42, except for the orthochromatic stage. One of the abnormal types in the orthochromatic stage shows the chromosomes 20—24 numbered on a nuclear plate.

3. As the differentiation proceeds, the chromosome takes a round shape and decreases its size. In the orthochromatic stage it shows a decrease in chromonemes, oligoneme phenomenon, suggesting marked changes developed in shape and size.

4. The size of the resting nucleus shows a gradual diminution of about $1:1/2:1/4:1/8$; the shape tends to change from an oval to regular globe.

5. It is revealed on karyometry that the indifferentiated stage, the basophilic stage, the polychromatophilic stage, and the orthochromatic stage can be classified on the basis of nuclear volume. Since each stage demonstrates cell division, it is considered that there develop at least the cells for 5 stage in erythropoiesis.

6. The mechanism of disappearance of nucleus from normoblast has been understood due to enucleation. By enucleation it is meant that there develops a fluid space between nuclear membran and cytoplasm, which gradually increases in size resulting in washing off of the nucleus. This mechanism has been found analogous to that of ovulation.

7. The cytoplasm isolated from the nucleus, i. e., young erythrocyte looks cup-shaped at first with a uniform rough structure. Then it seems to develop the membrane all over its surface, showing a gradual change of the stroma into a dense structure.

8. Many of the naked nuclei isolated from the cytoplasm are observed to be taken in the phagocytes, such as the cells of reticuloendothelium, and the histiocytes in the bone marrow, resulting in an alteration into so many globular ones. The mechanism of formation of platelets from the naked nucleus has not been obscured.

文 献

- Allen, E.:** J. Morphol. 31 (1918). P. 133. — J. Morphol. 66 (1940). P. 453. — **天野重安:** 血液学の基礎, 上巻, 東京, 1948. — **Darlington, C. D.:** Recent advance in cytology. London, 1937. — **Darlington, C. D.:** Chromosome botany. London, 1956. — **Emmel, V. E.:** Amer. J. Anat. 16 (1914). P. 127. — **Freeksen, E.:** Z. Zellforsch. 18 (1933). S. 362. — **Heidenhain, M.:** Plasma und Zelle. Jene, (1907). — **Honneth, E.:** Fol. haematol. 64 (1940). S. 149. — **Howell, W. H.:** J. Morphol. 4 (1890). P. 57. — **Hughes, A.:** The mitotic cycle. London, (1952). — **Hungerford, D. A.:** J. Morphol. 97 (1955). P. 497. — **石沢命達:** 大阪医会誌. 20 (1921). 頁 8. — **石丸士郎:** 解剖誌. 20 (1942). 頁 404. — **Isaacs, R.:** Physiol. Rev. 17 (1937). P. 291. — Downey's Handbook of hematology. Vol. 1. New York, 1938. — **Israel, O. u. A. Pappenheim:** Virchow's Arch. 143 (1896). S. 419. — **岩男 督:** 日新医学 32 (1943). 頁 665. — **Kinkel, U. u. W. Hofer:** Virchow's Arch., 306 (1940). S. 228. — **Kinoshita, R. a. S. Ohno:** Anat. Rec. 121 (1955). S. 322. — **Knoll, W.:** Z. mikr-anat. Forsch. 30 (1932). S. 116. — **Koller, P. Ch. a. C. D. Darlington:** J. Genet. 29 (1934). P. 159. — **Krumbhaar, E. B.:** Cowdry's Special cytology. Vol. 1. Sect. 10. 1928. — **Kühn, A.:** Vorlesungen über Entwicklungsphysiologie. Berlin, 1955. — **養 東亮:** 日病雑. 29 (1930). 頁 174. — **Levy, M.:** Fol. haematol. 32 (1926). S. 125. — **Makino, S.:** J. Fac. Sci. Hokkaido imper. Univ. Ser. 6. 7 (1941). P. 305. — Ibid. 8 (1942). P. 31. — Ibid. 9 (1943). P. 19. — **Manna, G. K.:** Stain Techn. 31 (1956). P. 45. — **Maximow, A.:** Möllendorff's Handbuch d. mikr. Anat. Bd. 2, Teil 1. 1927. S. 232. — **Michels, N. A.:** Fol. haematol. 45 (1931). S. 75. — Downey's Handbook of hematology. Vol. 3. 1938. P. 235. — **Minouchi, O.:** Jap. J. Zool. 1 (1928). P. 235. — **Möllendorff, W. u. M. von:** Erg. Anat. 25 (1924). S. 1. — **村上仁男:** 京大解剖第2論集, 2 (1954). — **大倉卓治:** 日組録, 1 (1950). 頁 3. — **Oguma, K.:** J. Fac. Science Hokkaido imp. Univ. Ser. 44. (1935) P. 35. — **Painter, T. S.:** Genetics. 13 (1928). P. 180. — **Pincus, G.:** J. Morphol., 44 (1927). P. 515. — **Sabin, F. R.:** Cowdry's Special Cytology. New York, 1932. — **Shaffer, E. S.:** The essentials of histology. 12. ed. London, 1929. — **Schilling-Torgau, V.:** Fol. haematol. Arch. 14 (1912). S. 129. — **Schreiber, G.:** Biol. Bull. 97 (1949). P. 187. — **Seki, M.:** Fol. anat. jap. 10 (1932). S. 635. — **関 正次:** 組織検査法と物理化学, 第2版, 東京, 1954. — **Tanaka, T.:** Cytologia 18 (1953). P. 343. — **Tateishi, S.:** Proc. Jap. Assoc. Acad. Sci. 10 (1935). P. 1007. — **Therman, E. a. S. Timonen:** Hereditas 37 (1951). P. 266. — **Walker, B. E. a. E. R. Boothroy:** Genetics 39 (1954). P. 210. — **Wermel, E. M. u. L. W. Scherschulskaja:** Z. Zellforsch. 20 (1934). S. 54. — **Wilson, E. B.:** The cell in development and heredity. 3d. ed. New York, 1925. — **Zeiger, K.:** Physikalische Grundlage der histologischen Methodik. Dresden, 1938.

附 図 の 説 明.

- 図 1—5. 正赤芽球の脱核経過. 5. は裸核が網様結合組織細胞中で縮小したもの.
図 6—11. 正赤芽球脱核経過のスケッチ.
図 12a と 12b. 未分化期赤芽球の分裂中期.
図 13 と 17. 好塩基性期の赤芽球の分裂中期.
図 14 と 18. 多色性期の赤芽球分裂中期像.
図 15, 16, 19, 21. 正色性期の赤芽球分裂中期.
図 16 と 21. 4 分染色体構造を持つ深色体が見える.
図 22 と 23. Michells 氏の見た *Gongylus ocellatus* の肥胖細胞の分裂前期. 4 分染色体様の染色体が見られる.
図 20. 吉田肉腫にかかった大黒鼠の好塩基性期赤芽球の異常分裂像.

Explanation of Plate-figures.

- Fig. 1—4. Photomicrographs of erythrocyte in the denucleation-stage.
Fig. 5. Extruded nuclei phagocytized by a reticulum-cell in the bone marrow.
Fig. 6—11. Drawings of normoblasts in the denucleation-stadium.
Fig. 12a and 12b. Polar views of mitosis of an undifferentiated erythroblast with 42 chromosomes.
Fig. 13 and 17. Polar views of nuclear plates of basophil erythroblasts.
Fig. 14 and 18. Metaphases in mitoses of polychromatophil erythroblasts.
Fig. 15, 16, 19 and 21. Metaphases in mitoses of normoblasts.
Fig. 16 and 21. Some of chromosomes take tetrad-like forms.
Fig. 22 and 23. Two mast cells drawn by MICHELL. Tetrad-like chromosomes may be seen in both nuclei.
Fig. 20. Special mode of mitosis often observed in erythroblast of the white rat.