甲殻類, 特にザリガニの免疫学的性状について

Ⅱ. 血液細胞に関する所見

関西医科大学微生物学教室

大沢 忍婦, 井上恵美子, 松井 信子, 栗本 栄子

Serological Studies on the Crawfish (III) Especially on the Hemogram of Normal and Immunized Crawfishes

Shinobu Osawa, Emiko Inoue Nobuko Matsui and Eiko Kurimoto

Department of Bacteriology, Kansai Medical School

A report is made of the influence of immunization with sera of foreign animals on the hemogram of the crawfish (*Cambarus Clarkii*). Some properties of the blood of the crawfish were routinely estimated and the results obtained were as follows:

The number of blood cells was 8129 ± 2532 ($n=23$, June, 1955), serum protein 5.8%, depression of freezing point 0.828°C and pH 7.5 ($n=75$)

Various types of the blood cell of normal crawfish were counted and the results obtained were compared with those of crawfish immunized with goat's serum. But no definitive relationship was observed between the hemogram of normal crawfish and that of immunized crawfish.

Another approach seems to have been suggested to a further study of the immunological character of crawfish.

序

吾々は下等動物を材料として免疫学的現象の原始的な形態を探り, 高等動物への発展の径路を知る目的で研究をつづけている¹⁾²⁾³⁾。既に述べた如くザリガニの体液性の免疫の発生は免疫体の種類の範囲が局限され, しかも極めて微弱である。ここにはザリガニの血液細胞の種類の免疫操作による変動の状況を記す。

材料並びに手技

ザリガニは本学附近の河池等に棲息するアメリカザリガニを捕獲後数日間水槽内に飼育したものを用いた。免疫並に採血の手技は既述の方法により, 抗元には山羊血清を選び, 0.2ccを心臓内に注射した。血液細胞は血液を稀釈することなく, 注射器から直接 Bürker の血球計算板に採り, 法

の如くに算出した他, 塗抹標本を作製し, May Grünwald-Giemsa 染色を施して観察した。

血清成分等に対する検査は既述の採取法により, 血清はそのまま操作を加えることなしに氷室に保存し, 夫々の目的に用いた。

実験成績

血球数: 正常ザリガニの血球数は第1～2表に示す如く, 最大16,600から最小381の間にあつて平均6,394で母集団平均の推定値は $6,394 \pm 3,255$ である。又, 性, 体重は必ずしも明確な連関を持っていない。Tauber & Eager⁵⁾ のザリガニについて示す数字では $18,700 \pm 6,500$ とあつて一層大きな標準偏差を示すので一般にその正常値に変異性の大きいことが判る。

血清: 75匹から得た血清を混合したものについて得た値は蛋白質量 5.8% 結氷点降下度 0.828°C

第1表 ザリガニの血球数について

	重量 (g)	性	血球数 l cmm
1	12.5	♂	16225
2	15.4	♀	1187
3	18.0	♀	886
4	12.0	♀	9753
5	20.5	♂	762
6	28.7	♂	10020
7	15.2	♀	3945
8	18.2	♀	5605
9	16.0	♂	4890
10	40.5	♀	6835
11	25.7	♂	7082
12	25.2	♀	4046
13	14.2	♀	4445
14	11.4	♀	4563
15	17.7	♀	16563
16	23.0	♀	1777
17	15.7	♀	5563
18	22.2	♀	5875
19	19.0	♀	381
20	22.5	♂	8135
21	23.7	♂	8055
22	42.2	♂	10621
23	30.5	♀	9843

平均値 6394 母集団平均推定値 上限9649 下限3139 危険率5%

pH=7.3である(7月)。

血液細胞の種類

ザリガニの血清細胞の分類に関しては別に詳細な研究を要する。しかし May Grünwald-Giemsa 染色によつて高等動物の血液細胞に関する知識を基礎として大別すれば、大小の空胞性細胞と単核性細胞とに分け、単核性細胞を更に淋巴様細胞と単球様細胞とに区分することが出来る。両者共に大小の別を分けることが出来るし、また特に空胞性細胞には好酸性の強いものと塩基性のものとに区別される。

空胞性細胞は所謂曝発細胞に一部一致すると考えられ、新鮮標本では観察中に屢々急速に曝発性に崩壊する。これらの細胞の間には夫々移行型が認められ、幼弱細胞から成熟老化まで種々の段階を経過して、観察時期によつて別々の細胞の如き所見を示すこともあると考えられるが、これらの点についてはまだ充分な見解を得ないためにここでは触れない。一応見えるままに上記の如き仮の分類を取つて置く、尚個々の種類の細胞の一般性状に関しては別に述べる³⁾。

正常ザリガニの血液細胞の分類は第2表に示す。表中血球の百分率は2項分布と推定されるの

第2表 正常ザリガニの血液像

動物番号	血 球 数	空 胞 性 血 球 (%)					単 核 性 血 球 (%)					
		大 型	小 型	好 酸 性		計	淋 巴 類 似 細 胞			単 球 様 細 胞		
				大	小		大	小	計	大	小	計
1	16.200	7.9	11.6	5.8	1.2	26.5	37.4	10.8	48.2	24.9	2.5	27.4
2	1.190	2.8	19.2	3.4	1.7	27.1	25.5	15.5	41.0	26.4	6.3	32.7
4	9.750	19.9	11.5			31.9	26.6	12.8	39.4	21.3	7.5	28.8
5	760	26.7	26.3			47.5	18.6	0.8	19.9	18.4	1.54	33.8
6	10.020	24.8	10.6	0.4		35.8	21.8	4.2	26.0	24.8	10.7	35.5
8	5.600	29.6	7.4			36.9	30.6	0.5	31.1	31.6	0.5	32.1
9	4.890	11.3	4.5			15.8	18.4	6.3	24.7	52.5	7.1	59.6
13	4.450	4.9	2.4			7.3	49.7	22.3	72.0	19.5		19.5
14	4.560	2.7	6.3			9.0	48.8	17.9	66.7	23.1		23.1
15	16.560	8.3	7.0			15.3	52.4	18.8	71.2	13.9		13.9
16	1.777	5.0	2.7			7.7	62.2	18.0	80.2	11.9		11.9
17	5.560	5.8	5.0	0.4		11.2	58.4	12.5	70.9	17.9		17.9
18	5.880	3.2	18.4	0.5		22.1	50.7	11.5	62.2	16.1		16.1
19	380	5.2	0.7	11.2		17.1	22.2	0.7	22.9	60.0		60.0
20	8.140	4.0	9.6		0.3	13.9	66.4	3.6	70.0	18.2		18.2
21	8.060	12.7	8.7			21.4	48.2		48.2	30.2		30.2
算術平均	6.479	9.5	8.4	0.3		21.0	39.3	8.3	49.6	28.0		28.0
母集団平均の信頼限界	上限 7.152 下限 806	14.3	12.5	1.3		27.3	68.9	28.0	87.0			53.6
		5.6	5.1	0		3.8	13.4	0.1	12.5			8.4

(危険率5%)

第3表 免疫処置によるザリガニの血球の変動

番号	経過	空胞性血球(%)					単核性血球(%)				
		大	小	エオジン嗜大	嗜小	計	淋巴類似細胞大	細胞小	計	単核様細胞大	小
1	正 常	7.9	11.6	5.8	1.24	26.6	37.4	10.8	48.0	24.9	2.5
	2 日	5.6	8.9			14.5	27.0	9.9	36.9		35.6
	3 日	14.2	7.1		0.79	22.1	37.2	11.1	48.2	26.1	1.2
	4 日	19.6	14.8		1.2	35.2	6.4		6.4		58.4
	7 日	2.1	11.5				29.4	20.0	49.4		37.9
2	正 常	2.8	19.2	3.4	1.7	26.3	25.5	15.5	40.5	26.4	6.3
	2 日	5.4	16.5	0.9	7.4	30.2	30.9	18.1	49.0		20.6
	3 日	11.1	3.4	5.3	2.4	22.2	41.1	22.2	63.3		9.2
	4 日	16.1	21.9	4.5	9.8	51.7	16.1	8.9	25.0		21.9
	6 日	33.2	2.0	0.7	0.3	36.2	25.3	1.7	27.0		35.2

第4表 免疫処置によるザリガニの血球の変動

番号	経過	空胞性血球(%)					単核性血球(%)				
		大	小	エオジン嗜大	嗜小	計	淋巴類似細胞大	細胞小	計	単核様細胞大	小
3	正 常	11.7	22.2	0	0	33.9	47.2	3.5	50.7		15.3
	2 日	6.1	6.6	0	0	12.7	48.6	28.1	76.7		9.4
	3 日	9.4	3.6	1.5	0.7	15.1	64.3	3.6	67.9	17.1	0
	5 日	3.6	6.4		0.7	10.7	47.0	8.2	55.2		33.1
4	正 常	19.9	11.5			31.9	26.6	12.8	39.4	21.3	7.5
	2 日	34.7	5.5	1.38	2.8	44.3	22.2	6.9	29.1		25.4
	3 日	13.1	0	7.7	0	20.8	62.0	0	62.0		17.3
	4 日	8.9	6.7	2.6	2.2	20.3	30.7	5.6	36.3		62.9
	5 日	13.0	5.2			18.2	54.2	10.4	64.6		18.2

で逆正弦変換によつて正規型に近似させ平均値並びに平均値の95%信頼限界を作製し更にこれを再び百分率の数値に変換した。

免疫処置ザリガニの血液像

35g 内外の体重のザリガニを選びその心内に背部胸殻から山羊血清を0.2ccづつ注射し、その前後に於ける血液像を既述の方法によつて調べた。その成績は第3～第4表に示す。

表に見る成績では次のような2, 3の点が目される。1)には空胞性細胞の増減を全体的に見た場合には注射直後の増減は不定であるが48時間後には略似た値となつて正常値よりも僅かに少なく、その後も増減不定である。単核性の細胞のうち淋巴様細胞は48時間後に一様に急速に増加し、次でまた減少して旧に復する如くである。単核様細胞は48～74時間後一般に著しく増加する。この

淋巴様細胞や単球様細胞の増加する動揺の激しい4～5日目は実はこの動物に沈降素の発現時期に当る。本実験に於ては注射回数が0.2cc 1回のみであるために本来抗体産生能の低いこの動物に沈降素の発現を見なかつたが、しかしこの時期にあつてこれらの単核性細胞数の增多又は急速な減少等の傾向を見ることは、これらの細胞が或は抗体の産生と連関を有することを暗示するかも知れない。しかし、ザリガニの血液細胞の分別に関する現在の知識の乏しいことと、空胞性細胞のうちには検索操作中に容易に空胞化して爆発性に崩壊し去るものの多いためにその数値の計測にも不備の点の多いことを附記して、これらの成績の明解を凡て今後の研究の進展に委ねたいとおもう。

結 語

アメリカザリガニ *Cambarus clarkii* に山羊血

清 0.2cc宛を注射し、かかる免疫操作による血液細胞の変化の状況を検索して次の所見を得た。

1) アメリカザリガニの正常血液細胞の数は夏期7月6,394 母集団平均推定値上限9,649 下限3,139 危険率5%及び6,479母集団平均推定値 上限7,152 下限 806 であつた。血清の蛋白量は 5.8%, pH 7.3, 結氷点降下度 0.828°C (n=75) を示した。

2) 血液細胞の正常像を調べ細胞の種類を約7種に分けてこれを表示した。

3) 免疫処置(山羊血清注射)によるザリガニの血液細胞の変動は明かでない。

4) 単核性の細胞は免疫に関連するらしいが、まだ明かでない。

文 献

- 1) 大沢, 井上, 尾上: 大阪女医大誌, Bd, 5, No. 3, (昭28. 3), P. 14~16.
- 2) 井上恵美子: 日細菌誌, Bd, 11, 1956.
- 3) 大沢, 井上, 栗本: 近刊(関医大誌).
- 4) 大沢, 井上, 栗本: 関西医大誌, Vol 8, No. 2, P. 112. (1956).
- 5) 沼野井春雄: 動物の血液, P. 56引用, (昭23).