

原

著

## ヒト胎児肝における巨核球前駆細胞の 免疫電顕的検討

新潟大学医学部第二病理学教室（主任：大西義久教授）

梅 津 哉

Immunoelectron Microscopic Study of Human Megakaryocytic  
Precursor Cells in Embryonal and Fetal Liver

Hajime UMEZU

*2nd Department of Pathology,  
Niigata University School of Medicine  
(Director: Prof. Yoshihisa OHNISHI)*

Megakaryocytic series in human embryonal and fetal livers were studied by immunoelectron microscopy using anti Glycoprotein IIb/IIIa complex antibody. The livers were obtained from 25 embryos and fetuses from 38 days to 11 weeks of gestation.

Megakaryocytic series from mature megakaryocyte (including platelet) to megakaryoblast were all positive for anti Glycoprotein IIb/IIIa. Some undifferentiated cells and macrophages revealed also positive reaction.

The undifferentiated cells were regarded as progenitors of megakaryocytic cells. The megakaryocytic progenitor cells and megakaryoblast were subdivided into two subgroups (A-type and B-type). The A-type cells were detected in the liver from 42 days of gestation. The cells were about 15  $\mu\text{m}$  in size, and had large nucleolus and finely dispersed chromatin. The B-type cells were detected in the liver from 50 days later, showing 7~10  $\mu\text{m}$  in diameter. The nucleus of the cells had obscure nucleoli and coarsely clumping chromatin.

Morphologically the progenitors of A-type were quite different from B-type. These findings indicate that the ancestor of A-type megakaryocytic progenitor cells are different from those of B-type megakaryocytic progenitor cells. Consequently these

Reprint requests to: Hajime UMEZU,  
2nd Department of Pathology, Niigata  
University School of Medicine, Asahimachi-  
dori 1, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町  
新潟大学医学部第二病理学教室

梅 津 哉

data are consistent with the theory of our laboratory that presumptive hemopoietic stem cells are a series of cells consisting of four subtypes.

Key words: fetal hemopoiesis, megakaryocyte, immunoelectron microscopy, GP IIb/IIa  
胎児造血, 巨核球, 免疫電顕, GP IIb/IIIa

## 緒 言

血液幹細胞に関する研究は Till and McCulloch の放射線照射動物の脾におけるコロニー形成の研究から飛躍的に進んだ。巨核球系への分化を方向付けられた血液幹細胞に関しても Nakeff ら, Metcalf らにより, まず巨核球コロニー形成細胞 (CFU-Meg) の存在が報告され, さらに Long ら<sup>1)</sup>, Hoffman ら<sup>2)</sup> によって CFU-Meg よりもはるかに多くの細胞から成る巨核球コロニーを作りうる一層未分化な細胞 (BFU-Meg) の存在も証明された。さらに血小板ペルオキシダーゼを検出したり, 巨核球系細胞に存在する各種抗原に対する抗体を用いて免疫細胞化学的に検討することにより, 従来は AML, ないしは ALL などと分類されていた白血病症例の中に巨核球性白血病が含まれていることが明らかになってきた。

この様にして巨核球系細胞に関する知識は着実に増加している。しかし白血病以外では未分化な巨核球系細胞の形態については不明な点が多い。そこで著者は巨核球系細胞に特徴的に存在するとされる Glycoprotein IIb/IIIa に対する抗体を用いてヒト胎芽や胎児肝に存在する未分化な巨核球系細胞の形態, およびそれら未分化な巨核球系細胞の形態から推定される血液幹細胞の形態について検討した結果を報告する。

## 材 料 と 方 法

### I. 材 料

検索に用いた胎芽や胎児は, いずれも優生保護法に基づいて入手した。検索した検体は計25例で, 40日未満2例, 40~45日が7例, 46~50日が4例, 51~56日が4例, 9週が2例, 10週, 11週がそれぞれ3例の合計25例であった。なお, 胎芽や胎児の胎齢は頭臀長 (Crown Rump Length: CRL) を基にして判断したが, CRL の不明な症例は各胎芽や胎児の四肢や頭部などの発達状態を観察し, Moore<sup>3)</sup> の記述に従い, 胎齢を決定した。

### II. 方 法

標本らの方法<sup>4)</sup> にほぼ準じて次の如く行った。得られた肝臓を細切し, ピペッティングにより肝組織から造

血細胞を単離し, MEM (Eagle's Minimam Essential Medium) に浮遊させた。これを1% BSA 加 PBS (phosphate buffered saline) で洗浄後, 1次抗体として抗 Glycoprotein IIb/IIIa (IMMUNOTECH, Cappel または TP80 生化学工業) 20 $\mu$ l/200 $\mu$ l MEM を加え, 約1時間反応させた。再び1% BSA 加 PBS で洗浄し, 2次抗体 Goat Anti-mouse IgG gold colloidal particle (Fab)<sup>TM</sup> (E.Y. LABORATORY, JANSEN) 20 $\mu$ l/200 $\mu$ l MEM を加え, 約1時間反応させた。再び1% BSA 加 PBS で洗浄し, 2% グルタルで固定後, 型の如く包埋, 染色し, 日立 H-800 電子顕微鏡で観察した。なお金粒子の大きさは種々のサイズがあるが今回の検索では直径 10nm, 20nm のサイズを使用した。検体のうち50日, 10週, 11週の各1例には Fc-receptor の阻害のため1次抗体の前に正常山羊血清を加え, 20分間反応させた後, 抗体を加えた。

## 結 果

今回の検索で陽性所見が得られた細胞は, 大きく3つの群に分類できた。すなわち, 形態学的に巨核球系細胞と認識できる細胞, 単球・マクロファージ系細胞, 及び形態学的には巨核球系や単球・マクロファージ系細胞の特徴を持たない未分化単核細胞群である。なお形態学的に顆粒球系, 赤芽球系などと認識できる細胞や肝細胞には陽性所見は全く認められなかった。

### I. 巨核球系細胞

未分化な巨核球系細胞の電顕形態学的特徴<sup>5)6)</sup> としては, 形成初期の血小板分離膜 (demarcation membrane system: DMS) や血小板特殊顆粒があげられる。また, 胞体辺縁の舌状突起および突起の内部にその長軸に沿って配列する微細線維を持った鋭い胞体突起も成熟巨核球からの形態学的な連続性から巨核球の特徴と考えられた。これらの特徴をもつ細胞をこの細胞群に入れた。これら巨核球系細胞の細胞膜に見られる金粒子の付着数は個々の症例によりかなりの差がみられた。しかし同一症例でみると, 血小板を含めて, より成熟した細胞で, 金粒子の付着数が増加していた。つまり Glycoprotein IIb/IIIa は巨核球の分化がすすむにつれて発現量が増加する

分化抗原である。以下に巨核球と判断した細胞を幼若な形態から順次記載する。さて巨核芽球や前巨核球に関しては、胎齢が進んだ胎児肝内には肝造血初期の肝内に認められたそれら細胞とは形態の異なる細胞が認められた。そこで以後、肝造血初期からみられた巨核芽球や前巨核球をAタイプとし、胎齢が進んだ胎児にみられた細胞をBタイプとして記載することにする。しかし分化した巨核球系細胞についてみると初期の肝造血巣に存在した細胞と胎齢が進んだ胎児の肝内に観察された細胞との間には形態の差はみられなかった。

#### ① 巨核芽球 (Megakaryoblast)

ごく少数の血小板特殊顆粒、あるいは DMS の形成初期像が胞体の一部分に見られる細胞、および舌状ないしは鋭い胞体突起を持つ細胞をこのグループに分類した。

##### 1) 巨核芽球 Aタイプ

##### Megakaryoblast type A (写真 1)

このタイプの細胞は胎齢43日、55日、10週の胎芽に観察された。細胞の直径は  $13\sim 17\mu\text{m}$  であった。写真 1 の細胞には少数ながら顆粒が観察される。写真にはでないが初期の DMS 形成像のある細胞も観察された。核は大きく、核縁には不規則な凹凸を示した細胞が多かった。核クロマチンの多くは euchromatin の状態にあり、核内にびまん性に分布していた。大きく明瞭な核小体が認められ、核小体に付随したクロマチンの量も多かった。核膜孔の数は多く、perinuclear cistern は軽度拡張していた。細胞質内には polyribosome を多数認め、写真 1 の様に少数ながらも顆粒を有する細胞では軽く拡張した粗面小胞体が観察された。ミトコンドリアの数も細胞が分化するに従って増加する傾向にあった。

##### 2) 巨核芽球 Bタイプ

##### Megakaryoblast type B (写真 2)

このタイプの細胞は胎齢55日、10週の胎児肝に観察された。細胞の直径は  $8\sim 11\mu\text{m}$  で、Aタイプの巨核芽球細胞に比べて小型である。核には小さな凹凸があり、核クロマチンは heterochromatin の状態が優位で、核小体や核膜の周辺に凝集している。核小体は小さく、核膜孔は少ない。写真 2 の細胞は少数の顆粒を持っている。DMS の形成初期像がみられる細胞もあった。ミトコンドリアの数は少なく主として核の陥凹部位に認められる。胞体内には single ribosome が主体で polyribosome はAタイプの巨核芽球に比較して少量であった。粗面小胞体は少なかった。

#### ② 前巨核球 (Promegakaryocyte)

分化した巨核球の胞体には perinuclear zone, inter-

mediate zone, peripheral zone から成る3層構造が観察される。この様な胞体の3層構造が形成される以前の比較的未分化な巨核球系細胞をこのグループに分類した。

##### 1) 前巨核球 Aタイプ

##### Promegakaryocyte type A (写真 3)

このタイプの細胞は胎齢42日以降の胎芽、胎児肝に観察された。細胞のサイズは  $15\sim 25\mu\text{m}$  であった。

写真 3 の細胞では顆粒の数も少なく、marginal zone も狭いため、Aタイプの巨核芽球に近い分化段階にある細胞と考えられる。しかし核/細胞質比は低下しており、marginal zone からは細く鋭い胞体突起を認める。胞体内には polyribosome が多く、ミトコンドリアも増加している。クロマチンのほとんどは euchromatin の状態で核小体は明瞭である。核膜孔の数も多い。

分化が進んだ細胞では特殊顆粒の数が増加しており、marginal zone が広くなり大きな舌状の突起が伸び出す。粗面小胞体は増加し、ミトコンドリアは胞体内にびまん性に存在する。これらの細胞質内小器官は marginal zone が広がっているため細胞の中央部に集まる傾向にある。核のクロマチンには軽度凝集傾向を認めるが多くは euchromatin の状態で核膜孔も多く、核小体は大きい。なお写真 3 には見られないが DMS も大きくなり、塊状ないしは層板状に積み重なって観察された。

##### 2) 前巨核球 Bタイプ

##### Promegakaryocyte type B (写真 4)

写真 4 の細胞では顆粒も少なく、かつ顆粒が細胞質全体に分散していないことなどから、Bタイプの巨核芽球に近い分化段階にある細胞と考えられる。しかし細胞質の辺縁部には marginal zone の形成があり、大小の舌状の胞体突起を認める。胞体内には polyribosome, ミトコンドリア、粗面小胞体などが増加しているが、それら小器官は marginal zone の中には存在せず、細胞の中心部で核をとりかこむ状態で分布している。核は分葉しており、核小体が大きく明瞭であるがクロマチンには軽い凝集傾向がある。分化の進んだ細胞では広い marginal zone が形成され、大きな舌状の胞体突起を多数認める。顆粒や DMS も増加し、それら小器官は核の周囲に分散している。核には細網状のクロマチンの凝集を認める。

#### ③ 巨核球 (Megakaryocyte) (写真 5)

$25\sim 35\mu\text{m}$  で成人のそれよりはやや小型であった。成熟した巨核球では多数の特殊顆粒を認め、DMS は胞体内にびまん性に分布していた。細胞質には3層構造を認

めたが intermediate zone が大部分を占めており、marginal zone や perinuclear zone は狭かった。金粒子は胞体辺縁にはほぼ全周性に付着し、胞体内の DMS にも付着しており、DMS が細胞外と連続している根拠の 1 つになると思われた。

## II. 形態的特徴の無い未分化単核細胞

DMS や血小板特殊顆粒あるいは巨核芽球に見られた marginal zone や舌状ないしは鋭い胞体突起を持たない単核細胞にも免疫反応陽性所見を認めた。著者は考察に述べるいくつかの根拠からこの細胞を巨核球系の前駆細胞（巨核球系前駆細胞：megakaryocytic progenitor cell）と考えた。これらの細胞に関しても、胎齢の進んだ胎児肝には、肝造血初期に観察された細胞とは異なった形態の細胞が観察されたので、巨核芽球や前巨核球の場合と同様にそれぞれ A タイプ、B タイプとして記載する。

### ① 巨核球系前駆細胞 A タイプ

Megakaryocytic progenitor cell type A (写真 6, 7)

このタイプの細胞は胎齢 42, 55 日, 10 週の胎芽や胎児の肝に観察された。細胞の直径は  $12\sim 16\mu\text{m}$  で、このグループに分類した細胞はほとんど同じ形態であった。

写真 6 の細胞は巨核球系細胞に特徴的な所見がまったくなく最も未分化な細胞と考えられた。すなわち核/細胞質比は高く、胞体の辺縁は平滑でほとんど胞体突起が無い。狭い細胞質内には多数の polyribosome があり、粗面小胞体やミトコンドリアの数は少ない。顆粒や DMS の形成初期の像はない。核にはゆるやかな凹凸があり、クロマチンのほとんどは euchromatin の状態にあり、核内にびまん性に分布している。核小体は大きく、明瞭で、通常複数観察された。

写真 7 の細胞は写真 6 の細胞よりは胞体が広がっており、polyribosome の数がさらに増加している。marginal zone の形成は無いが小さな舌状の胞体突起がみられる。ミトコンドリアの数も写真 6 の細胞よりは多い。しかし粗面小胞体は少なく、Golgi 装置も小さく、DMS や顆粒形成の所見はない。核には凹凸があり、クロマチンは核内にびまん性に分布している。核小体は大きく、複数ある。核膜孔の数も多い。

### ② 巨核球系前駆細胞 B タイプ

Megakaryocytic progenitor cell type B (写真 8, 9)

このタイプの細胞は胎齢 50 日, 10 週の胎芽や胎児の肝に観察された。細胞の直径は  $7\sim 10\mu\text{m}$  で A タイプの巨核球系前駆細胞よりも小型であった。このグループに分類した細胞は多様な形態を示していた。

写真 8 の細胞はこのグループでは最も未分化な細胞と考えた細胞である。隣に見える脱核した赤芽球の核と対比するとこの細胞が小さく、小型リンパ球大であることが容易にわかる。核/細胞質比は高い。狭い胞体内には僅かな single ribosome と少数のミトコンドリアを認めるのみで巨核球系細胞に特徴的な所見はない。核はほぼ円形で、核膜孔の数は少ない。クロマチンの多くは heterchromatin の状態にあり、強く凝集し、核小体は見られない。

写真 9 の細胞のサイズは小さく、胞体は狭いが、細胞膜には小さな舌状の突起を認める。single ribosome のほかに僅かではあるが polyribosome も増加している。ミトコンドリアの数は少なく、粗面小胞体や顆粒は見られない。核に不規則な陥入があり、円形でない点が写真 8 の細胞との最も大きな相違点である。クロマチンは種々の程度に網状に凝集しており、小さな核小体を認め、核膜孔の数は少ない。

## III. 単球・マクロファージ系細胞

単球・マクロファージ系の細胞でも少数の Glycoprotein II b/III a 陽性細胞が観察された。

写真 10 の細胞は胞体内に secondary lysosome があり、多数の絨毛状の胞体突起を持った細胞で、明らかにマクロファージと判断できる細胞である。この様な細胞でも写真のように明らかに金コロイドが付着していた。しかしながら、これらの細胞に付着した金粒子の数は成熟巨核球に付着した金コロイドの数に比べ、明らかに少数であった。中には金粒子が貪食により取り込まれたと思われる所見もみられた。

写真 11 の細胞では絨毛状の胞体突起も secondary lysosome もない。胞体内には polyribosome やミトコンドリアが多く、単球に特徴的とされる細線維束もない。この様に電顕形態学的には単球系細胞の特徴は無いが、少数の金コロイドが付着していた。この細胞は先に記載した巨核球系細胞とは形態が異なっており、著者は核に深くびれがあり、細胞周囲に細く短い突起が多数みられた点から未分化な単球であろうと推測した。

単球—マクロファージ系の細胞では Fc-receptor を介しての非特異的反応が問題になる。この問題を防ぐためには 1 次抗体、2 次抗体の Fc 部分を取り除いておけば良いことになる。しかし Glycoprotein II b/III a に対する抗体で Fc 部分のない抗体が得られなかった。そのため Fc-receptor を介しての非特異的反応を防ぐため、今回の検討では 1 次抗体反応の前に正常山羊血清を反応させた。しかしこの様にして観察した検体でも、

単球・マクロファージと判断される細胞で陽性所見が得られた。しかし、正常血清を反応させた検体では血清を反応させなかった検体に比べると金粒子の付着数はやや減少していた。

## 考 察

著者は Glycoprotein II b/III a に対する抗体を用いて免疫反応を電顕的に行なうことによりヒト胎芽や胎児肝に存在する未分化な巨核球系細胞の形態を明らかにし得たと考えている。

### 1) Glycoprotein II b/III a の特異性

今日ではモノクローナル抗体を含めて巨核球系細胞を認識する手段はいくつか知られている<sup>7)</sup>。CD9, CD36, CDw29, CD31, CDw32 は血小板に発現されているが、リンパ球や単球にも発現されており、一方未分化な巨核球系細胞には発現されていない。逆に CD33, CD34, HLA-DR は未分化な巨核球系細胞には発現されているが、同時に他の造血系の未分化な細胞にも発現しており、血小板には発現していない。

これらの中で Glycoprotein II b/III a は未分化な巨核球系細胞から血小板に至るまでの巨核球系細胞の全分化段階の細胞に発現している抗原と考えている。しかし Glycoprotein II b/III a は、巨核球系細胞の他に造血幹細胞<sup>8)9)10)</sup>、単球系細胞<sup>11)</sup>、培養血管内皮細胞<sup>12)</sup>、破骨細胞 (GP III a のみ)<sup>13)</sup>、medulloblastoma や neuroblastoma などの腫瘍細胞、さらには培養線維芽細胞等に発現されていると報告されている。

一方血小板ペルオキシダーゼ (platelet peroxidase: PPO) は巨核球系細胞系に存在する特異なペルオキシダーゼとして現在では未分化な巨核球系細胞の有力なマーカーと考えられている<sup>14)~17)</sup>。しかし最近の研究では POP は活性化単球、マクロファージ、肥満細胞、hairy 細胞、さらには未分化な赤芽球にも発現されている<sup>15)</sup>と言われており、巨核球系細胞の決定的な標識とはならないことが明らかになってきた。

この様に巨核球系細胞のみを認識する方法はない。著者らの今回の研究の目的はヒト胎芽や胎児肝に存在する未分化な巨核球系細胞の形態を明らかにすると共に、さらに未分化な巨核球系細胞の形態からそれら細胞が由来するであろう血液幹細胞の形態を推定することにあった。そこで Glycoprotein II b/III a が巨核球系細胞のみならず、それが由来する血液幹細胞にも存在することは、著者の目的を損なうものではなくかえって役立つ面があると考えて巨核球系細胞のマーカーとして Glycoprotein

II b/III a に対する抗体を使用した。

### 2) 単球・マクロファージ系細胞と巨核球

今日 Glycoprotein II b/III a に対する抗体と反応することがわかっている細胞の中で、ヒト胎芽や胎児肝に存在する巨核球系細胞を検討するに当たり問題となる細胞は単球・マクロファージ系の細胞であった。写真 10 に示したようにヒト胎芽や胎児の肝でも貪食能があることからマクロファージと判断した細胞にも陽性所見を認めた。Fc-リセプターを阻害するために一次抗体を反応させる前に正常山羊血清を加えたのちに一次抗体を反応させた材料でもマクロファージに陽性所見がえられたことから、マクロファージに観察される陽性所見は Fc リセプターを介した非特異的反応とは考えられず、マクロファージ系細胞にも Glycoprotein II b/III a が発現されている可能性があると考えた。

写真 11 に示した細胞は細胞膜に細長い突起があることから、単球系の未分化な細胞である可能性があると考えた細胞である。しかし単球系細胞に特徴的とされる細胞質内の微細線維束や顆粒もなく、細い突起を除けば写真 6-9 に示した細胞との間に大きな形態の相違点はない。この様に単球・マクロファージ系細胞及び血液幹細胞 (CFU-GEMM) にも Glycoprotein II b/III a が発現されている可能性がある状態では Glycoprotein II b/III a も巨核球系細胞の決定的なマーカーとはなり得ない。写真 6-9 に示した細胞の中に単球・マクロファージ系の未分化な細胞や CFU-GEMM レベルの血液幹細胞が混在している可能性はある。しかし先に述べたように、著者の今回の研究における目的は未分化な巨核球系細胞の形態を明らかにすると同時に、それら未分化な巨核球系細胞の形態からそれらの細胞が由来した血液幹細胞の形態を推測することにあった。今日ではヒトにおいても顆粒球系、巨核球系、赤芽球系および単球・マクロファージ系細胞は共通の骨髓系幹細胞 (CFU-GEMM) から分化する事が証明されている。したがって写真 6-9 に示した細胞の形態を通じてそれらが由来した血液幹細胞の形態を推定することは可能であると考えた。

### 3) 巨核球

今回の検討で最も興味をもたれた所見は胎齡の進んだ胎児肝造血系には、肝造血初期の肝内に観察された巨核芽球や巨核球系前駆細胞とは形態の異なる巨核芽球や巨核球系前駆細胞が存在したことである。著者はそれぞれを A タイプ、B タイプとして記載したが最も未分化と考えられる A タイプと B タイプそれぞれの巨核球系前駆細胞の形態の相違点を表 1 に示した。著者はすべての検

表 1

	A タイプ	B タイプ
大きさ	15 $\mu$ m	8 $\mu$ m
クロマチン	euchromatin	heterochromatin
核小体	明 瞭	目立たない
ポリゾーム	多 い	少ない

体を同様な手順で処理していることから、両者の形態の差異が検体処理によって生じたとは考えられない。

表 1 に示した A タイプ、B タイプの形態の差異は巨核芽球や未分化な前巨核球にも観察される。そして A タイプ巨核球系前駆細胞から A タイプの巨核芽球を経て前巨核球へ至る細胞の分化に伴う形態の変化にも、B タイプの巨核球系前駆細胞から B タイプの巨核芽球を経て前巨核球に至る細胞の分化に伴う形態の変化にも滑らかな移行性があった。この事実は A タイプの巨核球系細胞と B タイプの巨核球系細胞とは異なった細胞系に属する細胞であると考えたい。即ち胎齢が進んだ胎児肝造血系には肝造血初期に存在する巨核球系細胞群とは異なった巨核球系細胞群が存在すると考えたい。

#### 4) 未分化な巨核球系細胞の形態から推定される血液幹細胞の形態

A タイプの巨核球系前駆細胞、巨核芽球においても B タイプの巨核球系前駆細胞、巨核芽球においても細胞の分化にともなう形態の変化には滑らかな移行があったことから、血液幹細胞から A タイプの巨核球系前駆細胞への分化、および血液幹細胞から B タイプの巨核球系前駆細胞への分化にともなう形態の変化にも連続性があると考えられる。この考えに従うと A タイプの巨核球系細胞が由来した血液幹細胞は直径 14~16 $\mu$ m の細胞で胞体内には polyribosome が多く、核は大きくクロマチンのほとんどは euchromatin の状態により、核小体の明瞭な骨髄芽球様の細胞であると考えられる。一方、B タイプの巨核球系細胞が由来した血液幹細胞は直径 6~7 $\mu$ m の小型な細胞で胞体内にはほとんど小器官が無く、クロマチンのほとんどは heterochromatin の状態にあり強く凝集し、核小体のない小型リンパ球に類似した形態の細胞と考えられる。

著者の所属する教室ではヒト胎芽や胎児の肝造血系に存在する顆粒球系細胞、巨核球系細胞、赤芽球系細胞、リンパ球系細胞を形態学的に研究してきた。その結果骨髄系の未分化な細胞 (megakaryocytic progenitor cell, erythroid progenitor cell, myeloid progenitor cell) について見ると、胎齢が進んだ胎児の肝造血系には肝造

血初期の肝内に存在するそれら細胞群とは全く形態の異なった細胞群が存在するという成績を得ている<sup>(6)(18)(19)(20)</sup>。そして電顕による観察結果からヒト胎芽、胎児肝に存在する血液幹細胞は肝に発生し、胎齢の進行とともに形態を変えてゆく細胞で、4 群 (presumptive hemopoietic stem cell type I, II, III, IV) に大別できること、肝造血初期には presumptive hemopoietic stem cell type II から顆粒球系、巨核球系および赤芽球系細胞が分化し、胎齢の進んだ胎児肝では presumptive hemopoietic stem cell type IV から前述の 3 系統の細胞に加えてリンパ球系が分化するとの結論に達している。

今回著者が見いだした巨核球系の細胞と江村の電子顕微鏡による観察結果を対比すると、A タイプの巨核球系前駆細胞と巨核芽球はそれぞれ early hepatic megakaryocytic progenitor cell と early hepatic megakaryoblast に、B タイプの巨核球系前駆細胞と巨核芽球はそれぞれ late hepatic megakaryocytic progenitor cell と late hepatic megakaryoblast に対応する細胞で、対応する細胞は同じ形態を示している。さらに写真 6 の A タイプの巨核球系前駆細胞と presumptive hemopoietic stem cell type II との間、および写真 8 の B タイプの巨核球系前駆細胞と presumptive hemopoietic stem cell type IV との間には形態の差異を見だし得ない。これらの所見は A タイプの巨核球系前駆細胞は presumptive hemopoietic stem cell type II から、B タイプの巨核球系前駆細胞や巨核芽球は presumptive hemopoietic stem cell type IV から分化する事を示しており、先に述べた著者の教室の結論を支持する結果である。

#### 5) 巨核球性白血病との関連

近年モノクローナル抗体を用い免疫反応を行なうことや血小板ペルオキシダーゼを電顕的に観察する方法により、従来急性骨髄性白血病、あるいは急性リンパ性白血病とされてきた症例の中に巨核球の性質を持つ白血病細胞からなる白血病 (急性巨核芽球性白血病) が存在することが明らかになってきた<sup>(14)~(17)</sup>。報告されているこれら症例の白血病細胞と今回明らかにし得たヒト胎芽や胎児肝に存在する未分化な巨核球系細胞とを比較して興味ある点は、巨核芽球性白血病で巨核芽球あるいは前巨核芽球とされている未分化な白血病細胞にも、クロマチンが凝集した小型な細胞で著者の B タイプの巨核球系前駆細胞や巨核芽球に類似した形態の細胞と、核小体が明瞭でクロマチンが核内にびまん性に分布した細胞で著者の A タイプの巨核球系前駆細胞や巨核芽球に類似した細胞

胞との2種類の全く形態の異なる細胞があることである。

巨核芽球性白血病に見られるこれらの白血病細胞の形態の差は細胞が腫瘍化したことにともない生じた可能性はある。しかしヒトの腫瘍を見ると、例えば肝芽腫や腎芽腫のようにそれぞれの臓器の胎生期の細胞形態や組織構築に類似した細胞形態や組織構築を持った腫瘍が全身の臓器から発生する。出生後の個体には通常、胎生期の細胞形態や組織構築を残した臓器は存在しないことから、このような胎生期の細胞形態や組織構築を模倣した腫瘍は、腫瘍細胞が腫瘍化するさいに“先祖帰り”し胎生期の細胞の性格を再び持った細胞が増殖した結果であると考えられている。最近の研究では巨核芽球性白血病の白血化は血液幹細胞に極めて近い未分化な段階で起こっているとの報告がある<sup>21)</sup>。白血病においても細胞が白血化する際に“先祖帰り”しているならば、Aタイプの巨核球系前駆細胞や巨核芽球に類似した形態の白血病細胞は先に記載した presumptive hemopoietic stem cell type II ないしはそれに近い分化段階の細胞が白血化した結果であり、一方Bタイプの巨核球系前駆細胞や巨核芽球に類似した形態の白血病細胞は Presumptive hemopoietic stem cell-type IV ないしはそれに近い分化段階の細胞が白血化した結果である可能性がある。今後、白血病をより正確に理解するためにはAタイプの巨核球系細胞とBタイプの巨核球系細胞とを明確に識別する方法を確立することが必要であると考えられる。

## ま と め

ヒト胎芽、胎児肝に存在する未分化な巨核球系細胞の形態を明らかにし、未分化な巨核球系細胞の形態から推定される血液幹細胞の形態を解明するため、ヒト胎芽、胎児肝の巨核球系細胞を Glycoprotein II b/III a に対する抗体を用いて免疫反応を電顕的に検討した。Glycoprotein II b/III a 陽性所見は、① 巨核球系細胞、② マクロファージ、③ 形態学的に帰属を決定できない未分化な細胞に観察された。③ の未分化な細胞群には巨核球系の前駆細胞、血液幹細胞およびマクロファージ系の前駆細胞が含まれていると考えられた。①に属する巨核芽球や未分化な前巨核球および③の未分化な細胞群はいずれも形態学的に異なる2つの細胞群(Aタイプ、Bタイプ)に分けられた。Aタイプの未分化な細胞、巨核芽球、前巨核球の間にも、Bタイプの未分化な細胞、巨核芽球、前巨核球の間にも分化にともない滑らかな形態学的な移行が観察されたことから、ヒト胎芽、胎児には異なった2つの巨核球系細胞群が存在することが明らかに

なった。Aタイプの巨核球系細胞は直径 15 $\mu$ m ほどで胞体内に polyribosome を持ち、クロマチンが核内にびまん性に分布し、核小体の明瞭な骨髄芽球に類似した血液幹細胞から分化すると考えられた。一方Bタイプ巨核球系細胞は直径 8 $\mu$ m ほどで細胞質内小器官がほとんどなく、クロマチンが強く凝集し、核小体の無い小型リンパ球に類似した形態の血液幹細胞から分化すると判断された。

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり、貴重な検索材料を快く御提供いただいた仲村産婦人科医院と竹山病院産婦人科の諸先生方に深謝致します。また論文を終始暖かく御指導、御校閲していただいた大西教授に心より深く感謝致します。さらに御指導頂いた江村助教授、ならびに御助言、御協力をしていただいた“胎児造血に関する研究班”をはじめとする教室の諸先生方に心より感謝致します。また惜しめない技術的御協力をしていただいた長谷川、佐藤、百崎各技官と教室の職員の方々に深謝致します。

## 参 考 文 献

- 1) Michael W. Long, et. al.: In Vitro Differences in Responsiveness of Early (BFU-Mk) and Late (CFU-Mk) Murine Megakaryocyte Progenitor Cells, "Megakaryocyte development and function" ed by LEVINE RF, WILLIAMS N, LEVIN J & EVATT BL, 179~186, Alan R Liss, New York. 1986.
- 2) Robert A. Briddell, et. al.: Characterization of the Human Burst-Forming Unit-Megakaryocyte, Blood., 74: 145~151, 1989.
- 3) Moore KL (ed): The developing human. Clinical oriented embryology. third edition. WB Saunders Company, Philadelphia, London, Mexico city, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, 1982.
- 4) 榎本康弘, 他: モノクローナル抗体による免疫電顕と血小板ペルオキシダーゼを併用しての巨核球性白血病細胞の解析. 臨床血液, 29: 1150~1162, 1988.
- 5) D. ZUCKER-FRANKLIN: Megakaryocytes and Platelets, ATLAS OF BLOOD CELLS function and pathology, 1981.
- 6) Iwao Emura, et. al.: Two Types of Immature Megakaryocytic Series in the Human Fetal Liver,



## 梅津論文付図(I)

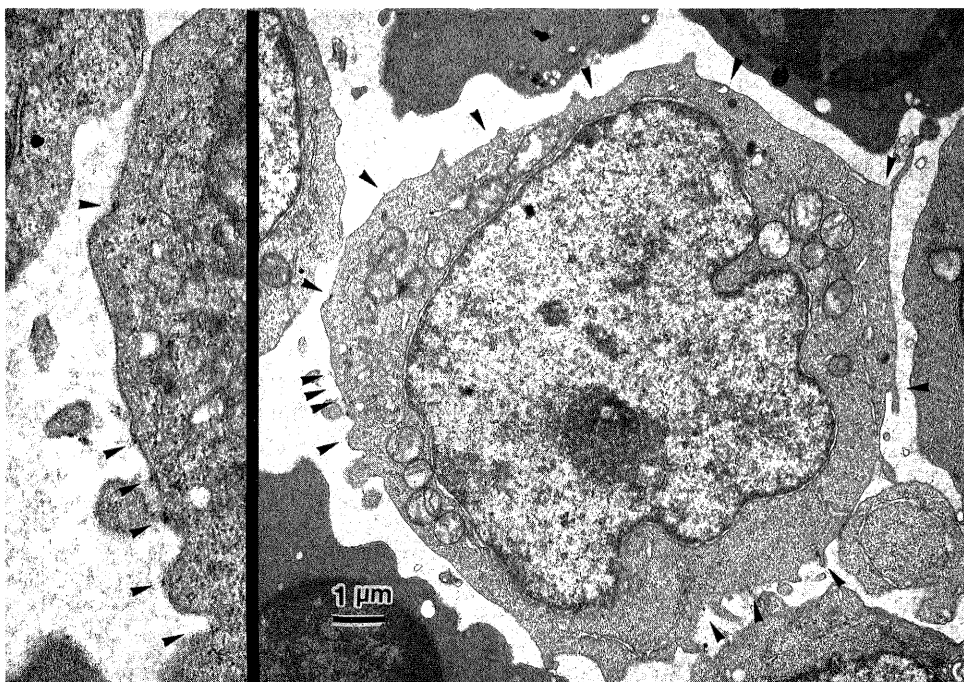


写真 1 巨核芽球Aタイプ，拡大は金粒子の付着像

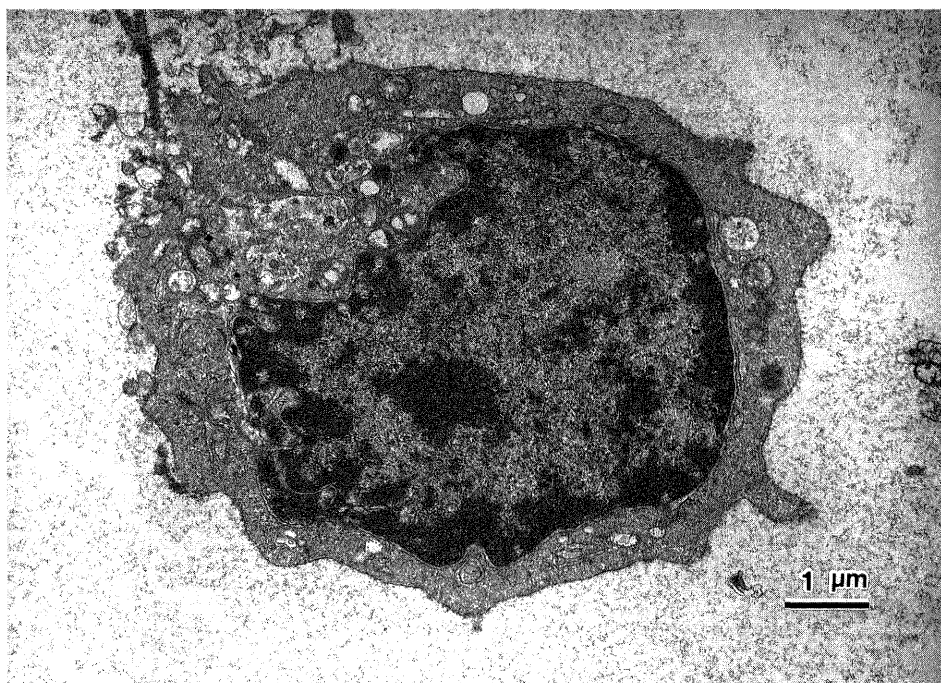


写真 2 巨核芽球Bタイプ



## 梅津論文付図(Ⅱ)

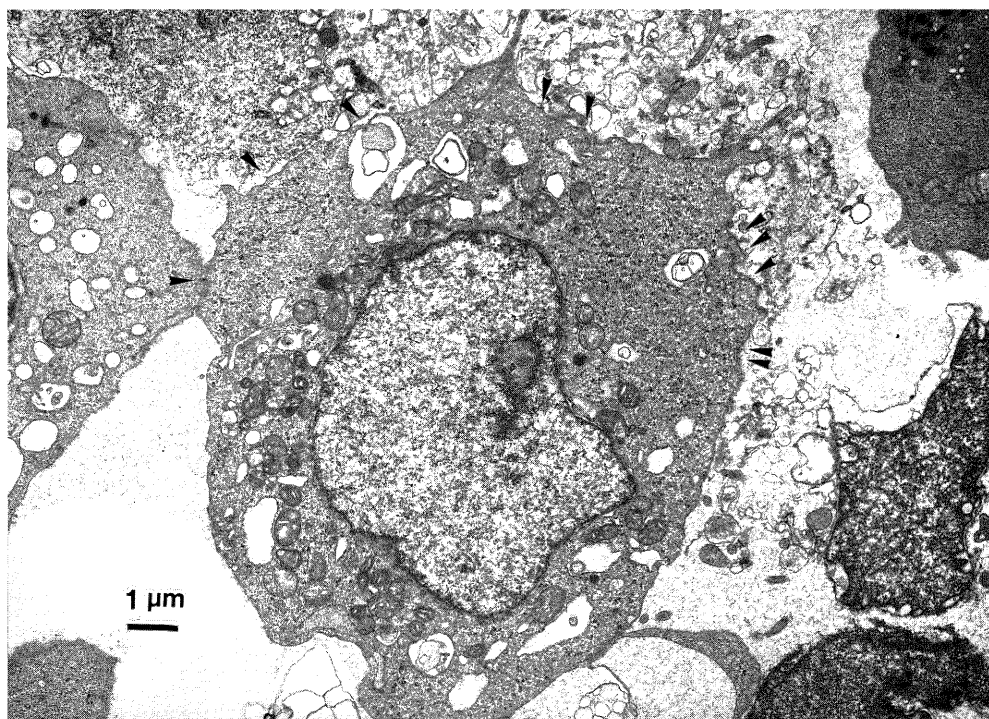


写真 3 前巨核球Aタイプ

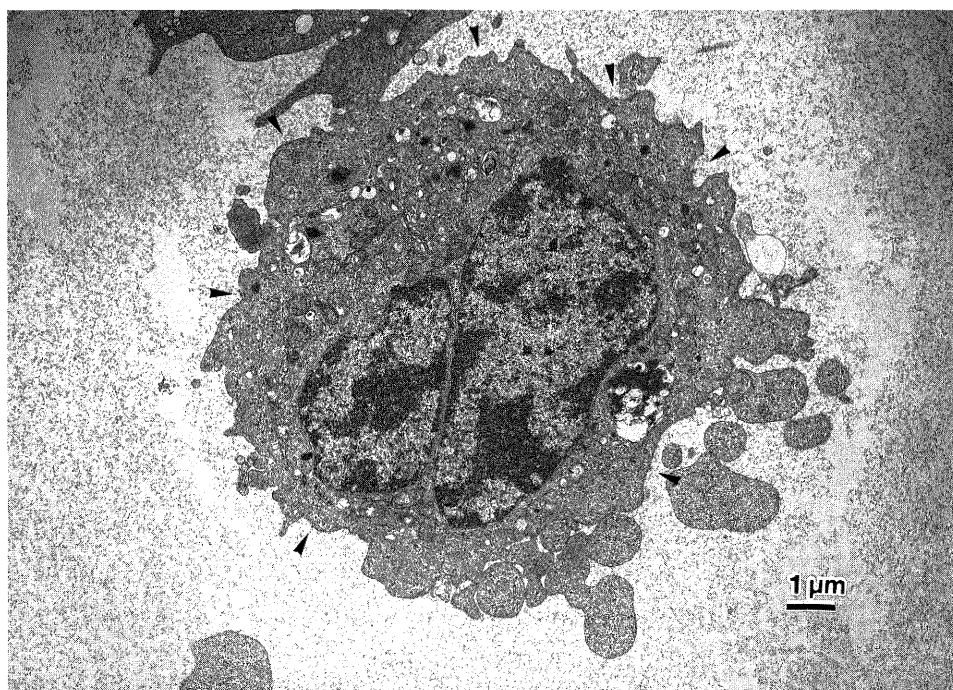


写真 4 前巨核球Bタイプ

### 梅津論文付図(Ⅲ)

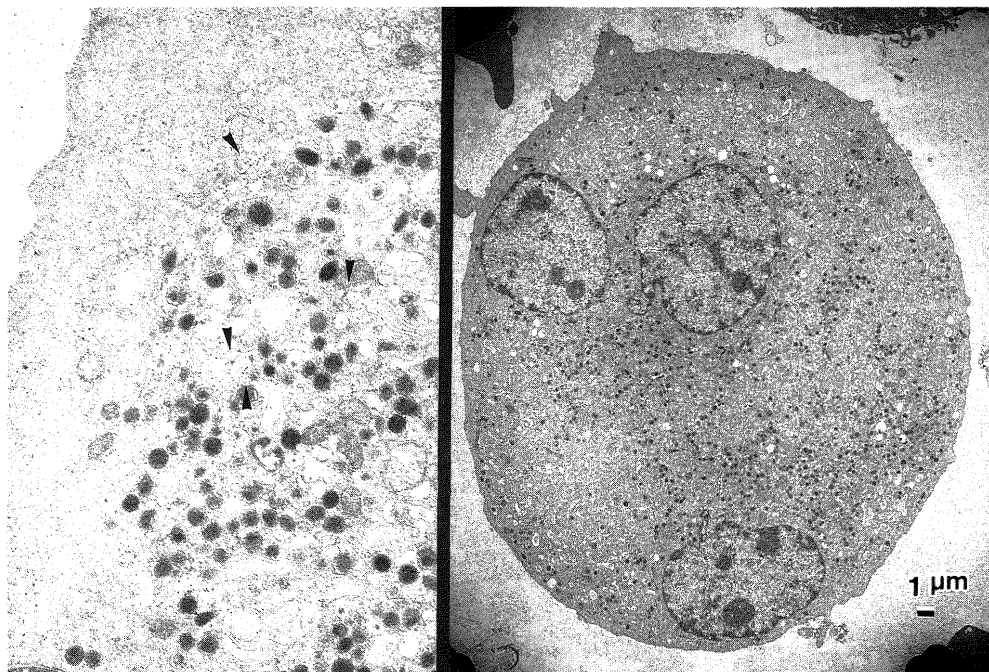


写真 5 巨核球，拡大は DMS 内の金粒子

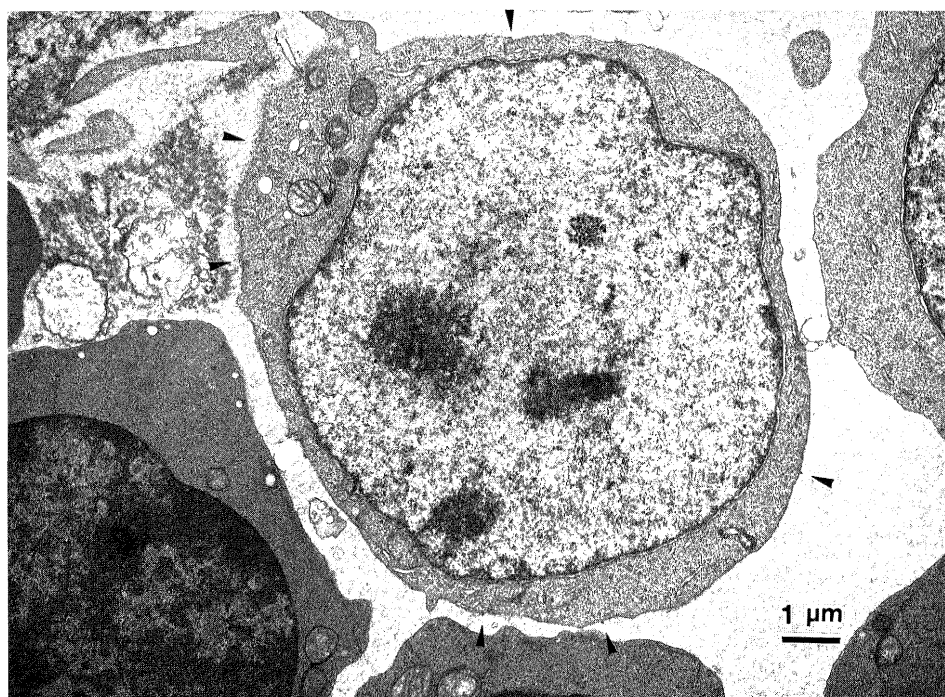


写真 6 巨核球前駆細胞Aタイプ

# 梅津論文付図(Ⅳ)

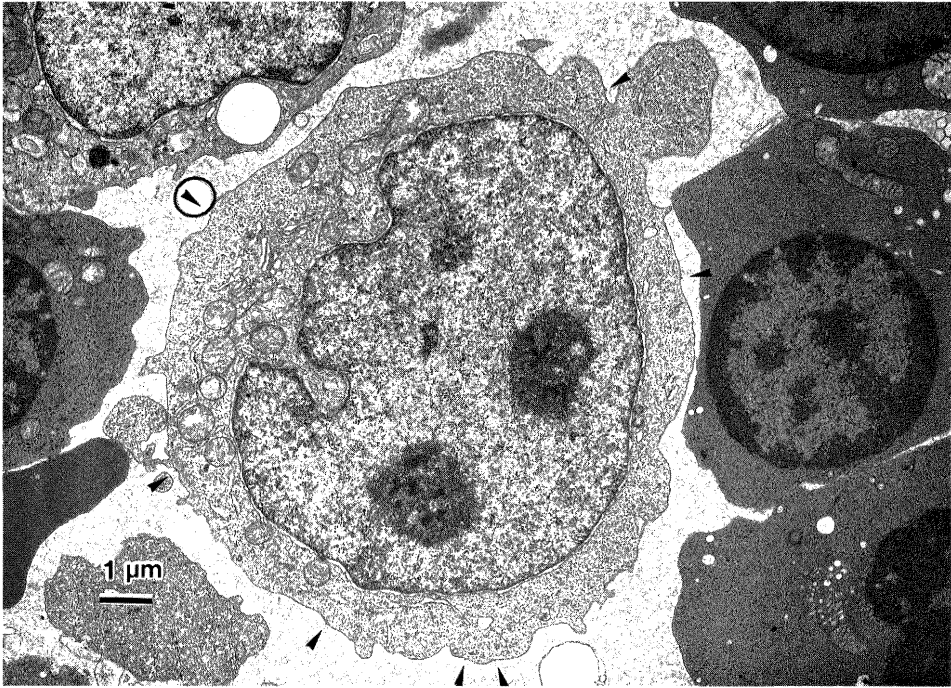


写真 7 巨核球前駆細胞Aタイプ，胞体の舌状の突起，核の陥凹

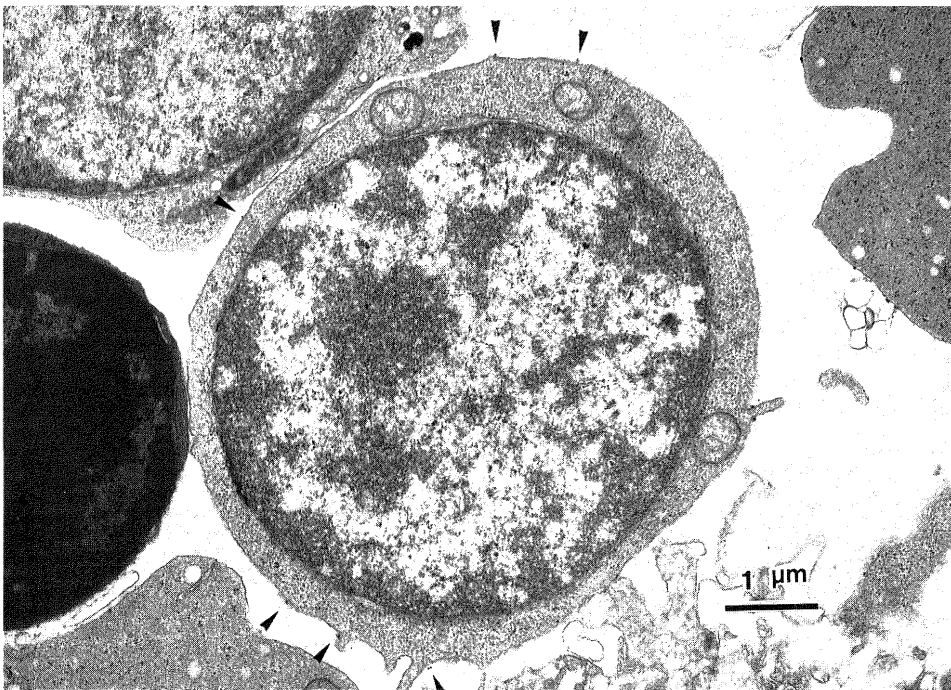


写真 8 巨核球前駆細胞Bタイプ



## 梅津論文付図(V)

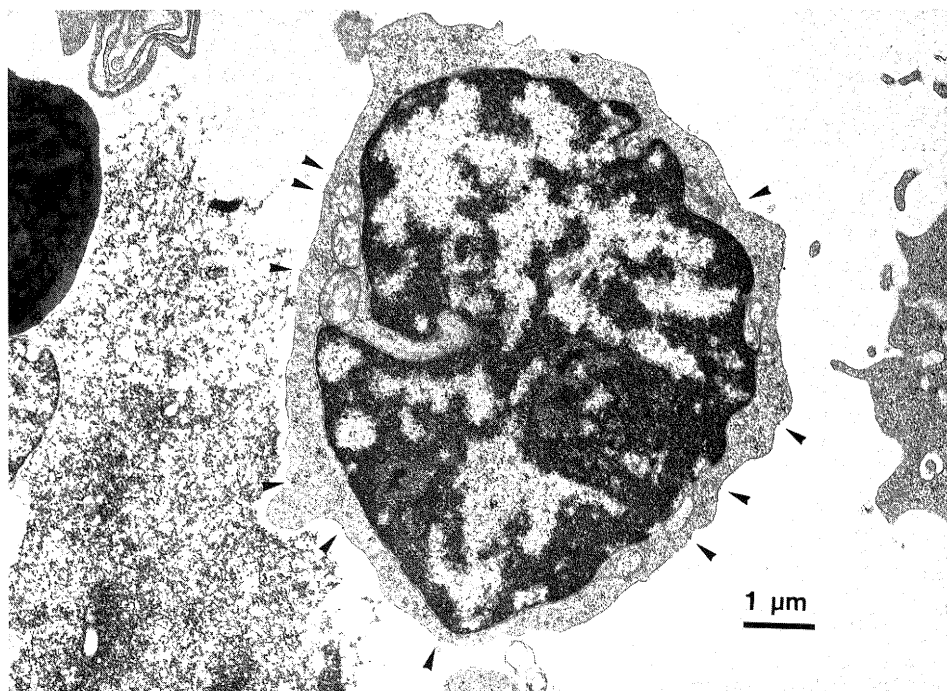


写真 9 巨核球前駆細胞Bタイプ，核にくびれをみる

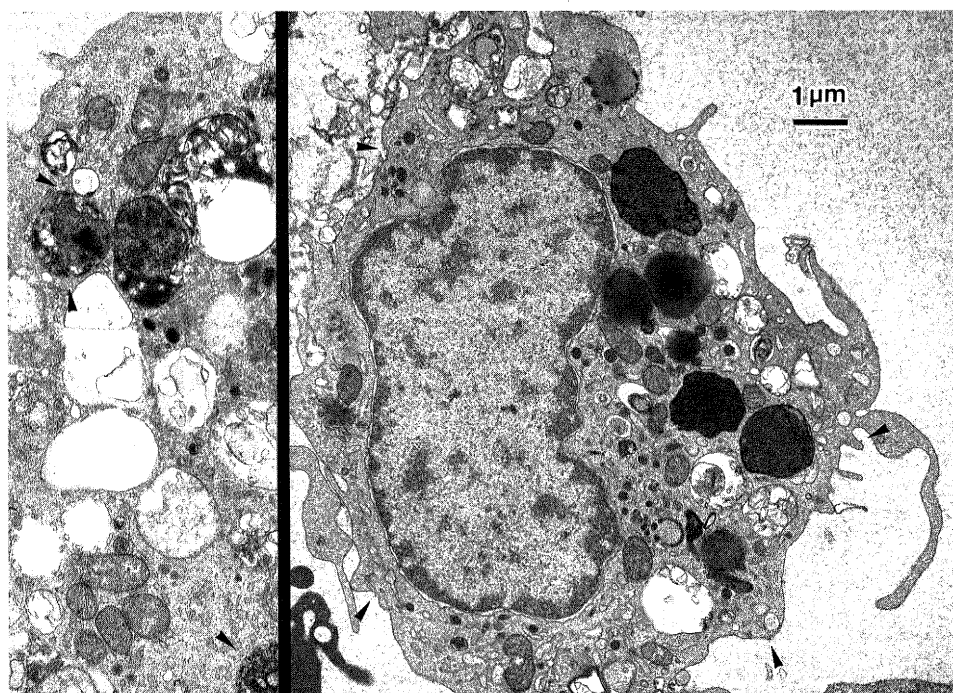


写真10 マクロファージ，拡大は2次 Lysosome 中の金粒子

梅津論文付図(VI)

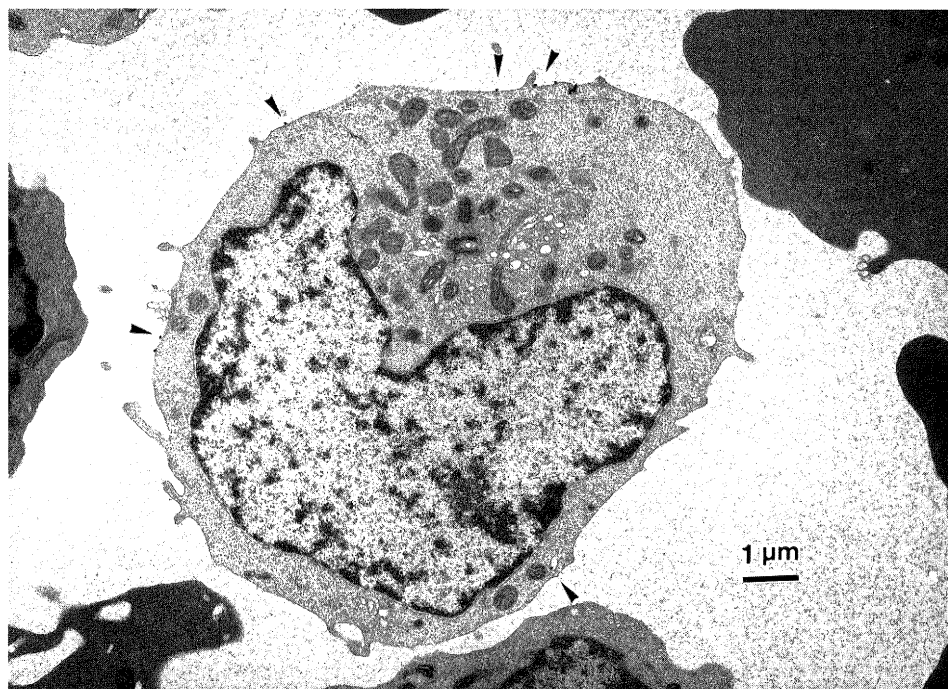


写真11 単球前駆細胞

- Archivum histologicum japonicum: **46**: 103~114, 1983.
- 7) **Michael A. Horton and Nancy Hogg**: PLATELET ANTIGENS: NEW AND PREVIOUSLY DEFINED CLUSTERS, "Leukocyte Typing III" ed by MCMICHAEL, 733-746, Oxford University Press, Oxford. 1987.
- 8) **M.V. Berridge, et. al.**: Cell-Lineage Antigens of the Stem Cell-Megakaryocyte-Platelet Lineage Are Associated With the Platelet IIb IIIa Glycoprotein Complex. *Blood*: **66**, 76~85, 1985.
- 9) **John K. Fraser, et. al.**: Expression of Antigens of the Platelet Glycoprotein IIb IIIa complex on Human Hematopoietic Stem Cells. *BLOOD*: **68**, 762~769, 1986.
- 10) **D. Geissler, et. al.**: Reactivity of anti-platelet monoclonal antibodies with committed megakaryocytic precursor cells, platelets, and megakaryocytes. *LEUCOCYTE TYPING III*.
- 11) **Yan Bai, et. al.**: Monoclonal Antibodies Specific for Platelet Glycoproteins React With Human Monocytes. *Blood*, **64**: 139~146, 1984.
- 12) **LEEKSM A OC, et. al.**: Cultured human endothelial cells synthesize a plasma membrane protein complex immunologically related to the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex. *Blood*, **67**: 1176~1180, 1986.
- 13) **Hortn M.A.**: Expression of platelet glycoprotein IIIa by human osteoclasts. *Blood*, **68**: 595~ , 1986.
- 14) **J. Breton-Gorius, et. al.**: Megakaryoblastic Acute Leukemia: Identification by the Ultrastructural Demonstration of Platelet Peroxidase. *Blood*, **51**: 45~60, 1978.
- 15) **Janine Breton-Gorius and William Vainchenker**: IMMUNOLOGICAL AND CYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF MEGAKARYOCYTIC LINE AGE LEUKEMIA. "Megakaryocyte development and function" ed by LEVINE RF, WILLIAMS N, LEVIN J & EVATT BL, Alan R Liss, New York: 301~317, 1986.
- 16) **Tadashi Koike**: Megakaryoblastic Leukemia: The Characterization and Identification of Megakaryoblasts. *Blood*, **64**: 683~692, 1984.
- 17) **Tadashi Koike, et. al.**: Cell Surface Phenotyping of Megakaryoblasts, *Blood*, **69**: 957~960, 1987.
- 18) **Iwao Emura, et. al.**: Four Types of Presumptive Hemopoietic Stem cells in the Human Fetal Liver. *Archivum histologicum japonicum.*, **46**: 645~662, 1983.
- 19) **本間慶一**: ヒト胎生期肝における巨核球系造血に関する形態学的研究—免疫組織化学的アプローチ. *ACTA HAEMATOLO. JPN.*, **48**: 1557~1570, 1985.
- 20) **高木秋夫**: ヒト胎生期肝における顆粒球前駆細胞の免疫電顕的検討. *ACTA HAEMATOLO. JPN.*, **50**: 1280~1289, 1987.
- 21) **Tadashi Koike, et. al.**: Target Cell of Leukemic Transformation in Acute Megakaryoblastic Leukemia, *American J. Hemato.*, **34**: 252~258, 1990.

(平成3年2月27日受付)