

採血せずに観察する生きた白血球の活動

歯肉周辺的好中球を観察する

兵庫県立須磨東高等学校 薄井 芳奈

【検討の背景】

生物基礎では「体内環境の維持」の単元で免疫のしくみについて学習する。古くは、針などによりわずかに出血させた自己の血液を用いて、血球の観察や血液型の判定を試みる実験が行われていたが、感染の危険や血液が付着した器具などの処理（医療廃棄物として扱う）が課題となり、学校での実施は現実的ではなくなっている。昨今は、多くの教科書で、コオロギやバッタなどの昆虫を用いた白血球の食作用の観察が取り上げられている。ただ、この実験は、材料の確保や扱いについての指導、墨汁の注射→体液の採取と観察という2日間におわたる操作が必要になる。

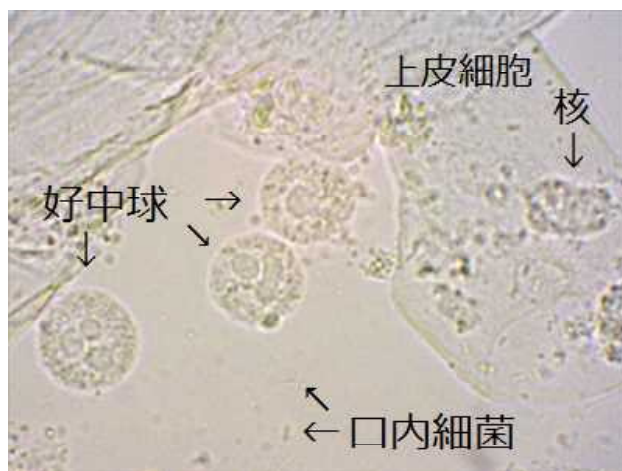
今回、採血することなく、安全に、より手軽に、ヒトの生きた白血球を観察することを試みた。細菌などの貪食を行う白血球（主に好中球）が、血液中ではなく、粘膜など、自然免疫の最前線に出て、活発に活動していることを目の当たりにすることは、免疫分野の導入のひとつとして、効果的であると考えられる。思いのほか、簡便に観察できたので、紹介したい。

【観察方法—1】

A：生きた好中球の観察—最も簡単な方法

- ① 口をすすぎ、手指をきれいに洗っておく。
- ② 口中、奥歯の歯茎を指でこすり、ついてきたものをスライドガラスになすりつける。乾燥する前に、手早くカバーガラスをかける。
- ③ 生物顕微鏡 400～600倍で、細胞内部の動きがわかるように、絞りを調節する。

歯肉上皮または口腔上皮の細胞、好中球と、口内細菌が観察できる。好中球は細胞内部が活発に動いているようすが観察できる。→



染色して観察—1（Aのプレパラートを染色する場合）

- ④ Aのプレパラートのカバーガラスの縁にメチレンブルー液を滴下し、カバーガラスの下に送り込む（滴下すれば自然に入って行く）。

染色して観察—2（はじめから染色する場合）

- ① Aの方法で細胞をスライドガラスに取る。
- ② メチレンブルー液を滴下し、1分間染色後、カバーガラスをかけ、余分の染色液はろ紙で吸い取る。



【観察方法—2】

B：生きた好中球の観察—納豆菌などを塗布したスライドガラスを用いた方法

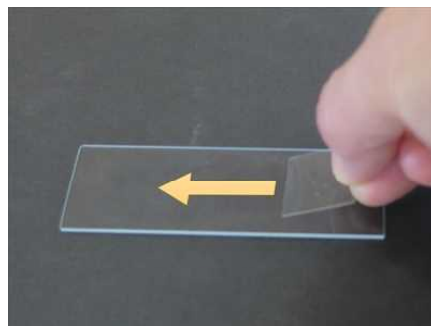
納豆菌、酵母、墨汁など、異物を塗布したスライドガラスを用いると、白血球の動きが活発になり、アメーバ運動や貪食のようすを観察できるチャンスが増えた。

以下の方法で異物を塗布したスライドガラスに、Aと同様に細胞を取って観察する。

スライドガラスの準備

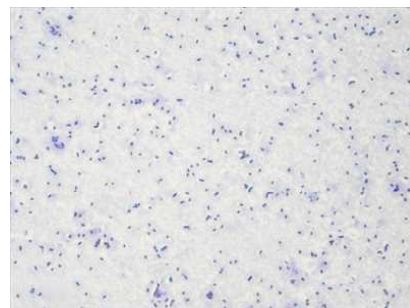
1. 納豆菌の塗抹

- ① 納豆1粒をシャーレに取り、蒸留水1mL程度を加えて、ネバを取る。
- ② ①の水に溶いたネバに、カバーガラスの一边を軽く浸し、血液の塗抹標本を作る要領で、スライドガラスに広げる。カバーガラスに取るネバの量やカバーガラスの傾きを加減して、均一に広がるように何枚か作るとよい。
- ③ そのまま、風乾する。



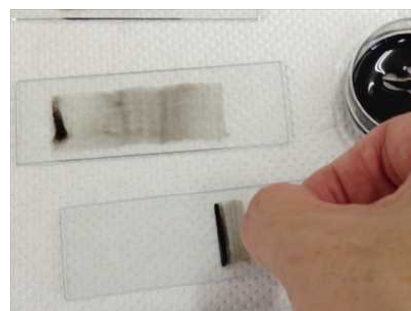
2. 納豆菌塗抹スライドガラスのメチレンブルー染色

- ① 乾燥させた納豆菌塗抹スライドガラスにメチレンブルー液を垂らし、1分間染色する。
- ② ギムザ染色水洗の要領で、スライドガラスの裏側から水道水をかけて、染色液を洗い流す。
- ③ ろ紙やペーパータオルで水滴を軽く吸って（こすらないこと）、風乾する。



3. 墨汁の塗布

- ① 水で10倍に薄めた墨汁をカバーガラスの一边につけて、血液の塗抹標本を作る要領でスライドガラスに広げる。
- ② 端にたまった墨汁が戻らないようにスライドガラスに傾けて風乾する。



4. 酵母の塗抹

- ① 乾燥酵母0.2gを10mLの水に溶き、1. 3.と同様にスライドガラスに塗抹し、風乾する。

ただし、今回、酵母塗抹スライドガラスも使ってみたが、酵母がかなり大きく、観察している白血球の活発な動きを引き出す効果はあまり見られなかった。

【観察方法－2による観察結果】

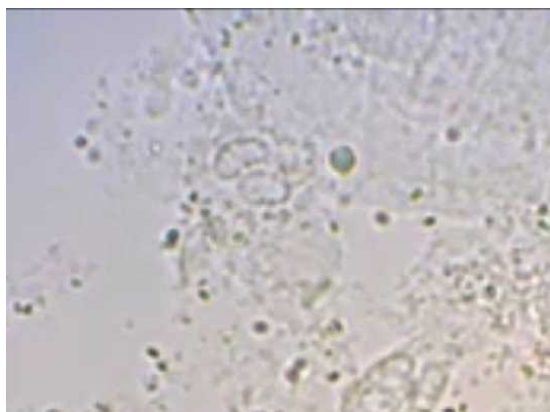
1. 納豆菌塗抹スライドガラスによる観察

丸い形で細胞内部が動いている状態のものもあるが、突起を出し（右の写真）、アメーバ運動を行うようすが観察でき、長い突起を出して、口内細菌などを取り込むようすが観察できた。

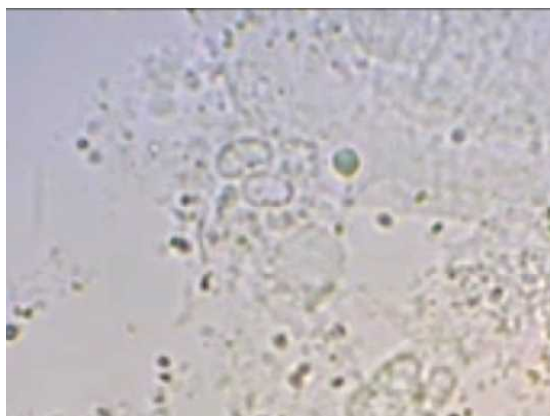
動画：YouTube チャンネル sumahigashi_hs_bio
<https://youtu.be/VAeWlvFqDzI>



0:40



2:40



4:40

2
分
ご
と

長い突起を次第に引っこめて細菌を取り込む



0:40



2:40



4:40

仮足を出して形を変える

2. メチレンブルー染色をした納豆菌塗抹スライドガラスによる観察

一部に非常に活発に、泡立つように袋状の突起を出したり引っ込めたりする動きをする細胞が観察でき、アポトーシスにおけるブレピングも疑ったが、専門家に動画を見ていただいたところ、アポトーシスを起こしているのではなく、生きた細胞が動いているようすであるとのコメントをいただいた。

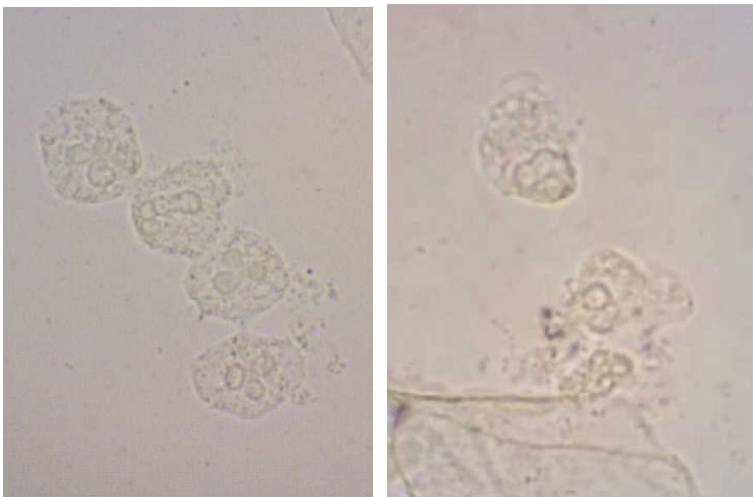
動画 : YouTube チャンネル sumahigashi_hs_bio
<https://youtu.be/1jQMyRa9rhU>

細胞はスライドガラス上のメチレンブルーによって場所によっては染色されてくるものもあるが、染色されても、細胞の活動は引き続き観察できた。

3. 墨汁塗布スライドガラスによる観察

納豆菌塗抹スライドガラスのときと同様、細胞は活発に突起を出し、形を変えたり、アメーバ運動をするようすが観察できた (写真左)。

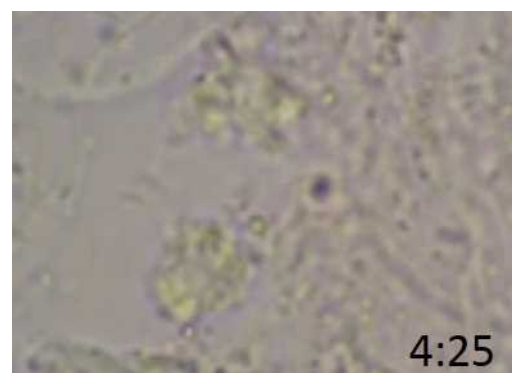
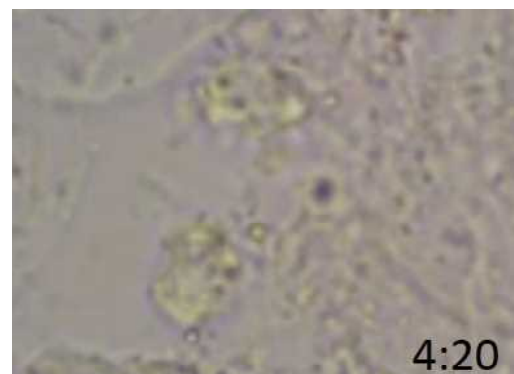
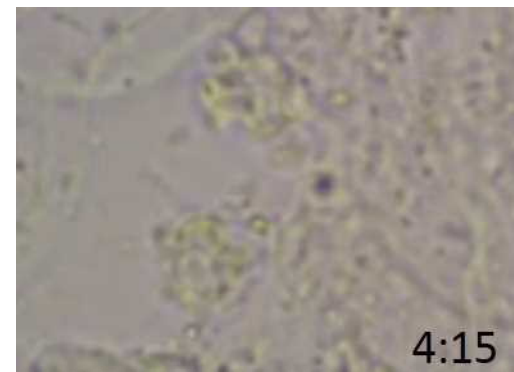
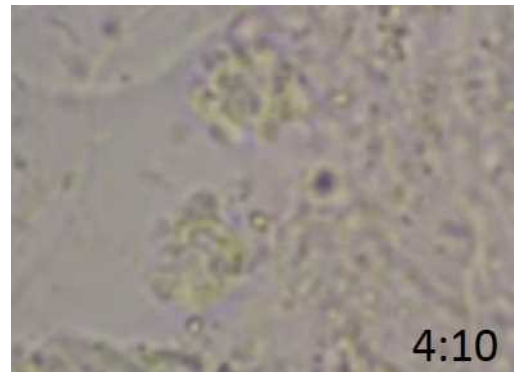
また、口内細菌を取り込むようすや、盛んに泡立つような突起を出し、細胞内に袋状の構造物ができて、動いていくようすが観察できた (写真右)。



動画 : YouTube チャンネル sumahigashi_hs_bio
<https://youtu.be/wAuOPaI6K98>

以上のように、スライドガラスに異物を塗抹しておくことで、白血球の活動が活発になり、動くようすを観察できることがわかった。

↓ 5 秒ごと



【まとめ】

血球といえばギムザ染色、口内の細胞といえばメチレンブルーや酢酸カーミンでの染色、という固定概念を取り払い、生きた細胞を観察しよう、と試みて、思いのほか面白い観察をすることができた。

口中、歯茎という、いわば、細菌の侵入の危険にさらされている最前線で、好中球をはじめとする白血球が盛んにはたらいっていることを、自分自身の身体のこととして捉えることができ、また、中学校までの「血液の成分としての血球」という理解を越えて、生体防御にはたらく白血球の役割を実感できる観察である。

たとえ、生徒実験として実施できなくても、演示として生徒の目の前で直ちに実施して見せることも可能である。動画を撮影して、時間を縮めて再生するといった見せ方もできるであろう。

また、「生物の多様性と共通性」の単元で、原核細胞と真核細胞について学習するが、この観察では、歯肉上皮細胞、好中球、といったヒトの細胞と、口内細菌が同時に観察できる。

採血をしないこと、ヒトの細胞であること、手順がきわめて簡便であること、生徒用顕微鏡で容易に観察できること、など、生物基礎で実施するのに適した方法であると考えられる。

一方、細胞の動きを捉えるためには、顕微鏡のしぼりを上手に調節することや、多少の集中力や根気も必要で、あらかじめ撮影した動画を時間を縮めて見せるなど、どこに着目すればよいのかを伝えた上で観察させるなどの工夫も必要であろう。

【参考資料】

血液のと末標本の作製技術については九州大学の以下の資料に詳しい。

画像データベースを駆使した血液形態塾 「血液塗抹標本の作製と染色法」

<http://elc.shs.kyushu-u.ac.jp/anami/375fe6a899e69cace381aee4bd9ce8a3bde6b395.pdf>

スライドガラスに異物を塗抹風乾して観察に用いる手法は、次の報告を参考にした。

第15回東レ理科教育賞（S57） 佳作

「白血球のアメーバ運動と食作用の観察法」 川崎医科大附属高 伊藤 邦夫

http://www.toray.co.jp/tsf/rika/pdf/s57_12.pdf