

下等脊椎動物に於ける血球の行動と白血球形成との関係

千島喜久男 (岐大 農)

(1949年8月2日受領)

緒言 各種脊椎動物に於ける赤血球の行動、細胞質放出現象及び之れと白血球形成との関係については既に數次に亘り報告 (千島 '48 a. d. c. d ; —, '49 a. b. c. d. e. ; 丹下及千島 '49) し、矛盾對立に滿ちた今日の血液學説には根本的な再検討を要するものがあるとの見解を述べて來た。本報に於ては爬虫類以下の各種脊椎動物の血液培養及び血液塗抹標本上に於ける赤血球の行動と各種白血球、血小板等の關係並びに血液凝固現象等についての知見を述べたい。

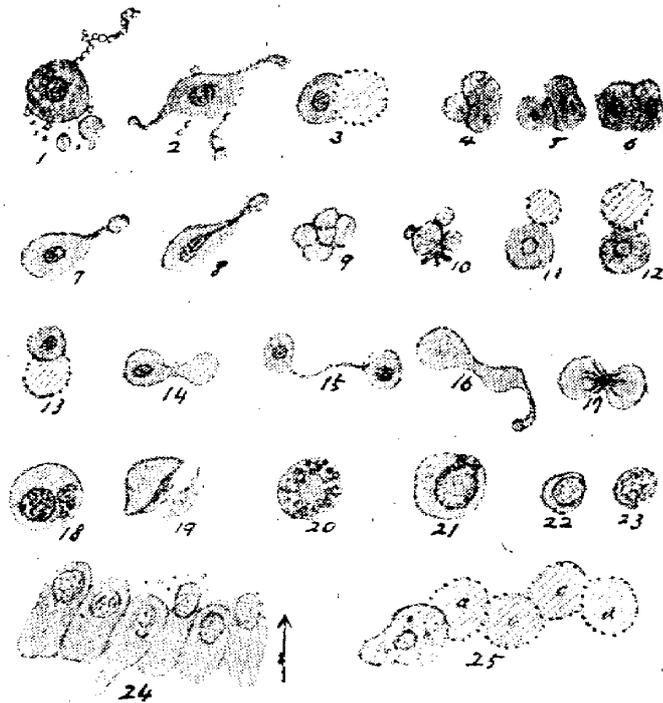


圖1 カエル血液の培養其他に見る赤血球の行動及アミーバの一種に見る特殊な運動様式

1. 2. 48時間培養赤血球のGr型細胞質放出
3. 同上Po型；4. 9時間培養赤血球の細胞質放出。5. 同上更に2時間半を經過せるもの；6. 更に6時間を経過し放出物が血小板状となれるもの；7. 培養4日、時に33日後に見られるL型放出；8. 同上、核の突出せるもの；9. 10. 20-30日培養赤血球に見るfragmentation又はbuddingの状態；11. 12. 13. 赤血球のPo型放出；14. 15. 16. 17. 1-3日培養赤血球に一種の變形amitosis；18. 3日培養赤血球の一例に小顆粒の集合及小核様小體の出現；19. 21日培養の變形赤血球と其の放出物(右)；20. 15-20日培養血液中に見る顆粒白血赤血球との間に移行型存在。21. 培養赤血球に見られた壺状核；22. 23. 21日培養血液中に見られる小リンパ球様細胞中に顆粒出現；24. 載物硝子上で乾燥に際し赤血球核の移動矢は乾燥の進む方向；25. 腐敗せるオタマジャクシ尾部中に見られた一種のアミーバがゴム風船状に細胞の一部を出芽し、數秒の間隔でa. b. c. d. へと順次に膨出して運動する状態。

材料及方法 アオガエル、トノサマガエル、食用ガエル、オタマジヤクシ、アオダイショウ、アカハライモリ、フナ等を材料とし、その血液をそのまま、又は中性赤の超生體染色併用でslide culture し生きた血球の室温(15-30°C)中に於ける行動を連續觀察し、且つ一定時間觀察後之れをメタノール固定、Giemsa染色を施し、新鮮な血液の塗抹標本等と比較検討し、又オタマジヤクシの尾部血管中を流動する血球の状態と、尾部切斷による出血直後の血球の行動との比較、又血球の人為的破壊等によるその染色性の變化其他に就いての實驗をも併せ行つた。血球培養の方法は前報(千島'49 a. b)と同様であり、33日間mediumの交換は行はなかつた。

觀察及論議 [I] 血液培養其他の場合に於る赤血球の行動血液培養に於て見られるこれ等動物の赤血球の行動は前報(千島'49 a. b. c)せる哺乳類及鳥類のそれと根本的には何等の相違は認められない。即ち、赤血球の變形(外縁不整、金米糖状化、又は偽足狀突起、線狀突起の形成、絞挫型、盃狀化又は帽子狀化及球形化)細胞質及核の外縁の波うち運動、細胞質放出現象等が認められ然もそれ等の程度は一層著明に見られる。然し、33日間培養血液に於ても尙圓板狀赤血球が存在することもある。これ等の詳細雞胚の場合と殆んど同様であるから重複を避けてこゝには省略する

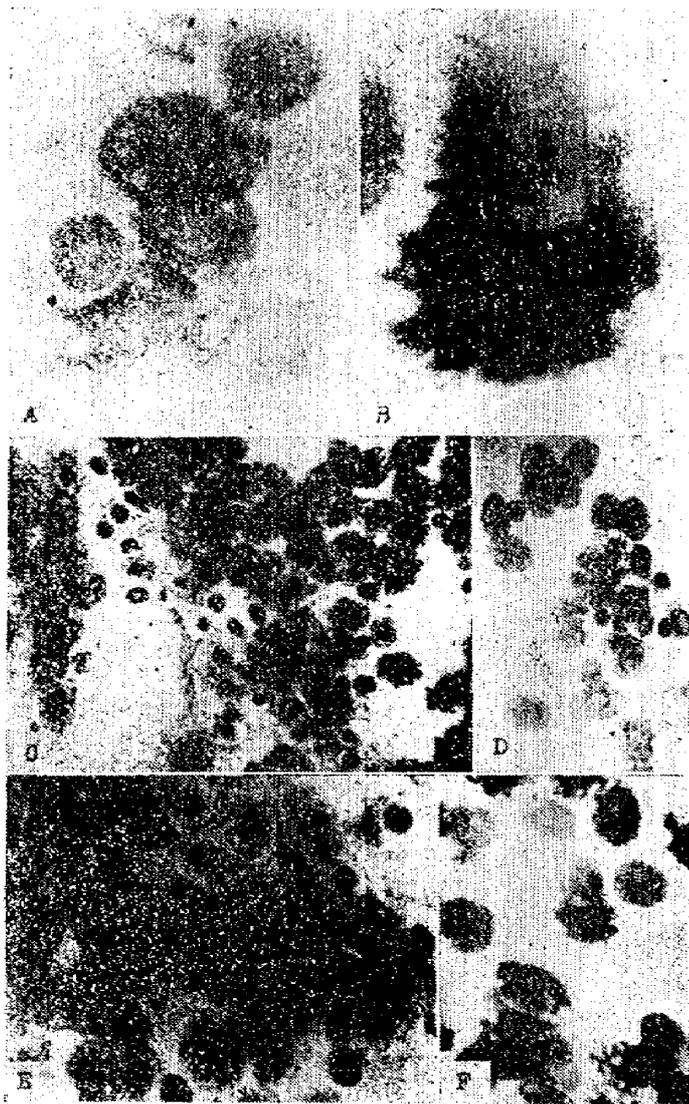
(前報圖. I. 2 參照) Clark 及 Rex ('36)等はカエルの多核白血球培養に於て私の所謂絲狀突起に似た小突起“Spicule”の形成を報告し、佐藤忠雄氏('31)はアカガヒの生きた血球の著しい變形及絲狀突起の形成を報告されてゐる。佐藤磐根氏('38)もキリギリスの血球の運動性あることを認められて居る。

(I) 赤血球の細胞放出現象 カエル、ヘビ、イモリ、フナ等に於ける培養赤血球の細胞質放出現象は鰻鮠に於けるそれと殆んど同様であるが、放出の様式を次の如く大別することが出来る。

〔A〕 第1法 (Gr型) 比較的徐々に、赤血球が、小顆粒状細胞質を、細胞壁の小孔 (光學的顕微鏡では不可視的) を通じて外部に放出し、この放出顆粒は細胞周縁に附着し、Brownian motion を示し乍ら相互に融合して大なる globule (大なるものは赤血球の $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ 大) を形成、又時には縦に連結して絲状突起を形成する場合もある。この粒の放出は培養數時間後のものから2~3日のものに盛んに認められるが、培養21日、及27日後のものに於いても往々見られる (圖I~1,2)。

〔B〕 第2法 (爆發的放出, Exp. 型) 之れは血液を體外に排出する瞬間 又は排出後10分前後の極めて短時間の内に見られる。赤血球の爆發的な細胞質放出現象であり、これ等動物の血液凝固の最も重要な要因である。赤血球のこの種細胞質放出現象は、血液塗抹標本に見る血液像に極めて重要な關係を有し、この種細胞質放出現象は普通の血液塗抹標本作製法によつては到底完全に避け得られないものである。それ故塗抹標本の意義に就て、赤血球の自動的破壊作用とも見るべきこの種放出現象を考慮に入れて再検討されなければならない。この種放出現象は更に次の2型に分けられる (圖II)。

(D型 又は Diffuse 型) オタマジヤクシの尾部を鏡下に於て切斷し、排血の瞬間より赤血球の行動を注視する時、最初、核の存在が認められなかつた赤血球の中央に1~2分にして明るい核が現はれ排血後數分、時に10分前後にして、それまで明瞭であつた赤血球の外縁が卒然不明瞭となり、個々の赤血球の限界が認められず血球塊を形成する、橙色に見えた赤血球が急激に淡色になる。この放出細胞質はGiemsaに紫染する性質を新たに獲得する。核も亦膨潤し、時には核と細胞質とが一様に紫染するに至るものまでである。この種の赤血球自己破壊の状態は前報 (千島 '49 a. b. c) に於ける同様な方法による赤血球の人為的機械的破壊によつて見られるが、前述の如く slide glass 上に排出して何等之れらに機械的作用を興ふることなく放置し、單に異物及空氣への接觸のみの場合に於ても認められる現象である。これは脊椎動物の凡てに於て見られ、從來全く考へられなかつた所の“血液凝固現象に際し赤血球關與の事實”を示すものと云へる。次に



圖II. カエル及イモリに於ける 新鮮血液塗抹標本に見る赤血球の細胞質放出現象

- A... 蛙の赤血球細胞質放出、細胞中に液胞状顆粒の出現 (×2000)
 B... 赤腹イモリの赤血球の細胞質放出 (×2200)
 C... カエルの血液凝固、赤血球破壊及その細胞質放出による血小板 (細胞質の明るいもの) 及リンパ球形成 (×600)
 D... カエル血液塗抹標本、赤血球の破碎及細胞質放出による小リンパ球の形成 (×400)
 E... C圖の一部擴大 (×600)
 F... 赤腹イモリ赤血球の細胞質放出 (×500) 細胞質放出後の赤血球は核と網目状の細胞質を残すのみとなることも屢々である。

(L型又は Leucocyte放出型) これは塗抹標本作製時には爆発的に起るが、血球培養に際しては比較的徐々に現はれる。前者の場合に於ては赤血球の一例より普通一個の類リンパ球状細胞質を放出する場合と赤血球が急激に2~3個の類リンパ球(外圍には屢々赤血球細胞質と同様な細胞質の薄層を有し、多數密在する場合が多い)に解體(fragmentation)する。これは血液塗抹標本の乾燥過程の數分乃至十分前後の間に血液層の稍厚い部分に現はれる。この種類リンパ球と前述の瀾散性放出物(D型)との中間型も存在する。此の場合稍均質な放出細胞質の中央に核質の凝集により血小板様となる場合もある。これ等の差異は赤血球の個性と medium の性質とによるものと考へられる。又2個以上の赤血球の共同による放出物から中性嗜好性白血球又は單球(又は大型リンパ球)狀の形成過程が培養及血液塗抹標本に於て認められる。詳細は前報(圖II)。

類リンパ球放出は培養33日の赤血球に於ても尙見られる。この場合は赤血球が稍立體的紡錘形となりこの一端に縊れを生じ原形質膜に皺の捻れが見られ、恰も團子を捻ぢ切る如くに數日の経過によつて縊れる場合がある。之れは一種の出芽法又は異常型直接分裂とも考へられる。然もこの場合核は普通、放出類リンパ球とは無關係であるが、往々核も亦一側がとがり、該細胞質の突起中へ伸びて居る場合が見られる(圖I~7,8)。又20-30日培養の赤血球が數個の類リンパ球様塊に出芽又は解體する場合もある(圖I~9,10)。排出直後に放出した類リンパ球はその周圍に淡い好鹽基性細胞質を形成し、所謂血小板又は紡錘形血球への分化を示すと見るべき移行型が見られる。血液塗抹標本には極めて屢々、類リンパ球又は血小板と赤血球より放出されたものであると認むべき證左が多い(圖I~5,6,圖II~C)。生きたオタマジャクシの尾部血管及蛙の蹠血管内を流動中の血球には斯如、結合状態にある血球は良く認められないにも不拘、體外に排出せる血液に之れを認めること及び生きた赤血球の細胞質放出の現象が認められる事から、これは排血による變化した状態であることは疑ふ餘地がない。Jordan ('38) はいモリの實驗的饑餓後の恢復期に於ける赤血球中に“naked nuclei of disintegrating atypical erythrocytes”を見たとき報告して居るが、私の所謂 Exp 型放出を指しているものではないかと思はれる(圖II~C,D,E)。又 Jordan ('36) は鳥類血小板が小リンパ球に由來すると報じて居るのは、私の類リンパ球様放出物が血小板への移行状態と一致する。天野高安氏('48)によれば Darling ('10. Inana) Schridde ('11 鳥類), Hartmann ('29, 兩棲類, 爬蟲類, 及鳥類), Kleinberger-Carl ('27 各種實驗動物), Cossoli ('30 鳥類)等は、何れも顆粒を有する原形質の細片が發芽狀に生じ血小板様のものを作ることを確めて居ると云ふ。之れは明かに私の所謂、前述赤血球のD型及L型放出による血小板形成と同一現象を指すものと考へられる。又同氏によれば、杉山氏は鳥類以下の血小板は變性せる幼弱赤血球(赤血球の發育中絶型なり)と主張せりと云ふ。私も亦血小板と赤血球との移行過程の存在を確認するものであるが、杉山氏の如く赤血球の發育中絶型であるとの證左は何等認め得ない。そして私は紡錘形細胞は血小板と全く別個な存在であると云ふ何等の證左をも認めないのである。天野氏('48)は哺乳類の栓球が骨髓巨態細胞を唯一の母體とするとの斷案は許されない様にも思ふと述べられて居るが、私はこれと同様な見解を鳥類及哺乳類に關しては既報(千島 '49 a, b, c)し、爬蟲類以下の脊椎動物に於ても亦同様に考へ、血小板が赤血球の細胞質放出(D型及L型)に基くものと考へる。

[C] 第3法(Potocytosis型又Po型)培養赤血球はその一側から稀薄な灰色の細胞質(活發に運動するmicronを含む)を放出し、該放出物は赤血球の一側に帽子狀又は球狀に附着して居る。之れは赤血球(又はその少々分化せる段階)の原形質膜がゴム風船を膨らます如くに伸展し、細胞質の一部が之の中に移動し一部は恐らくmedium中の水分を吸収して膨張するものと思はれる。大いさは赤血球と略等しい迄に成大する。時に赤血球の細孔を通じてmicronを含む細胞質が徐々に放出される状態が鏡下に於て觀察される。この透明な膜狀(ベール狀)放出物はアミーバ様運動を示し乍ら周圍の血球の表面へ伸展し、これ等を被包し恰も貪喰作用の如き行動を示す場合がある。これはLewis ('31)がmacrophage 其他に認めた“Pinocytosis.”又Zollinger ('48)がカエル、ウサギ、マウス等の生きた各種細胞に

つき認めた“Potocytosis”なる現象と極めてよく似た現象であるから、恐らく同一 category に屬する現象と思はれる。

培養中のものでは、D型放出物は赤血球と分離せず1日以上も兩者結合状態に在り、放出物の中央に新生核質の凝集による血小板への分化を示すことがあり、又 cover-glass に附着した赤血球の細胞質放出及赤血球自體の變化により顆粒白血球（中性赤超生體染色により赤染）に分化する状態と認められる。然し、一般にはこの放出物は（cover-glass に附着しない場合）赤血球から分離して血小板又は顆粒白血球への分化を辿る状態が認められる。

Clark (36) は家兎の耳に作った透明窓法により macrophage による赤血球の貪食作用を、又 Speidel (48) はオタマジャクシの尾部リンパ管中に於て同様な現象を報告して居る。然し、macrophage は流動するオタマジャクシの血管中に存在しない。それ故氏等の云ふこの種貪食現象とは血流が停止して數時間或はそれ以上の後に、赤血球の Po 型放出によつて隣接血球と融合する現象を指すものであることは更に別報（千島 '49g）する通りであり“macrophage による赤血球の貪食”と云ふ擬人的な考へ方よりも私は“赤血球の細胞質放出による他の血球との融合現象”と解するのがより妥當であると考へる。充分融合し、分化しないで未だ融合過程にある赤血球を見て、赤血球が貪食されて居るとか、“封入體としての赤血球”等と稱せられて居るのである。Zollinger (43) が phase microscope を用ひて、血球以外の各種固定組織細胞の遊離縁を認めた所謂 blister-like の膨出物は 30 分位の短時間に現はれること、medium の流動により母細胞から分離して圓形となることを認めているが、その後の運命についてそれが細胞に分化するとは見て居らない。私は最近生きた amoeba が私の云ふ Po 型細胞質放出（又膨隆）に似た現象即ち、amoeba の一例が急激に 1-1.5 秒間に amoeba 自體と略同様の大きさの稀薄な原形質をゴム風船を膨らます様に膨出して運動する特殊な偽足形成を確めて居る。私はかりに之れを Rubber-balloon motion と呼ぶ。（圖. I ~ 25）既報 ('49 a. b. c) の如く赤血球がアミーバ其他原生動物に似た形質を有することから推斷しても、赤血球の Po 型放出と amoeba の“Rubber-balloon motion”とが一脈相通ずる行動と考へざるを得ない。又細胞質が放出される現象にはこの場合の様には原形質膜の一部が急に自動的に薄く膨隆して内容がその内へ移動する場合と、今一つは赤血球の表面の細孔を通じて外部に放出される場合とがある（圖. 1 ~ 11, 12, 13）。この細孔は光學的顯微鏡で認められる場合と認められない場合とがある。後者の場合にも電子顯微鏡的な細孔の存在することは、最近 Heinmets (48) が鶏胚、人等の赤血球に對する肺炎 virus の作用を電子顯微鏡で研究し、赤血球の表面には virus の襲ふ以前に多數の細孔が存在し、又赤血球表面に多くの損傷の存在することを報告して居るが、これは疑ひもなく血液塗抹標本を作る際に起つた赤血球の細胞質放出及赤血球の破壊を示すものと考へられる。以上三種の放出様式は一見著しく相違する。そして放出物質と種々異つて居る。然し、これ等は何れも赤血球が細胞質を放出すると云ふ根本的な點では一致し、只種々異なる放出物を形成する理由は、放出現象の緩急、赤血球の内部的條件、細胞の環境諸條件等に支配されるものと判斷される。上述せる赤血球の各種行動はカエルヘビ、イモリ、フナ等に於て略同様である。

〔II〕 體外に排出せる赤血球の變化（血液凝固其他）、體外に排出された赤血球は既述の細胞質放出現象其他の行動の外に更に次の如き變化を示す。

〔A〕 赤血球の形態變化 鏡下に於てオタマジャクシ尾部を切斷し、該部の出血中の血球を観察するとき 10~20 秒にして血管斷端に血液凝固による止血が見られる。この際、創口部に白血球（小リンパ球）が多數集合する傾向が認められるが、然しこれは小リンパ球が自動的に、選擇的に創口に集合するのではなく、赤血球に比して粘着性の大なるこの種白血球が血管壁にそひ緩かに洗れて居るにも不拘、赤血球は速かに流れ去るために血管斷端附近に多數の白血球が粘着殘留するのである。尙血液凝固が血小板の破壊によつて惹起されると云ふ從來の定説はこの場合は適用されない。即ち赤血球は異物及空氣への觸接と血漿の存在により細胞質放出に基く破壊（彌散性放出、血小板放出、類リンパ球への解體）等が見られるにも

不拘、血小板破壊の状態は認められないからである。この事は既報(千島 a. b. c)せる哺乳類、鳥類を始めそれ以下の脊椎動物に於ても等しく認められる所であり、血液凝固學説はこの點に關し形態學的に再検討されなければならない。次に血管外に排出せる血液中の赤血球は尾の斷端に密着し、10~20分の短時間にして紡錘形の結締織細胞様の形態に伸長變化する。この種の變化は生體內に於て各種器官の表面に溢出せる赤血球が其の部に附着して扁平化、紡錘狀化することが固定切片標本に就て判斷されるのとよく一致する興味ある事實である(千島 '48c)。

〔B〕赤血球核の轉位 血管外に排出直後の赤血球の核は生きた状態では認められないが、1-2分にして、明るい核が細胞の中央に現はれて来る。slide 上に排出された赤血球が乾燥するに隨ひ、圖 I, 24 に示す様に血球の medium が蒸發乾燥する方向と反對の方向への核移動が20秒内外の時間的經過の裡に行はれる。赤血球が圓陣を畫いて配列する場合には核は圓陣の中心へ集合する。核の位置は如斯く細胞に對する gel 化の作用(この場合は乾燥)によつてその位置を實驗的に變更せしめ得るものであることは注目すべき現象である。雞胚生殖腺中にある血管及血球の分化により形成される性索原基の細胞の核がその索中心へ集合して居る事實(千島、未發表記録近日發表豫定)と一致する事も興味深い問題である。

〔C〕赤血球の凝集と破碎(fragmentation) slide glass 上に排出された血液中の赤血球は血球の密在せる部分に於て Gr 型、Exp 型及 L 型放出により血液凝固を起し、又稍薄い血液層の部分に於ては數個の赤血球が凝集し、D 型放出により細胞質は放出されて1個の赤血球の面積に該當する廣さの部位に殆んど核のみとなつて、類リンパ球狀に變化した赤血球 2-3 個によつて占められ、これ等が多數密在して所謂リンパ球の集合状態を示すことは屢々認められる(圖 II ~ C, B, E)。又往々赤血球が核脱出により赤血球の無核細胞質が見られる。又 Slide glass 上に排出せる赤血球が往々、數個の細胞質塊に自ら破碎する状態が認められる。この細胞質塊は Giemsa 氏液には赤血球の細胞質と同様な染色性を示すものと、紫染する部分とがある。

要結 (1) カニル、ヘビ、イモリ、フナ等の赤血球は培養に際し、雞胚と等しく、絲狀突起形成、外縁不整、金平糖狀、帽子狀、ベル狀等の變形過程を経て球形化の傾向を示す。この過程中赤血球は外縁の波うち運動を示し、球形化赤血球は最も活潑な運動を示す。

(2) 赤血球はその培養時及び塗抹標本上に於て次の3種の様式によりその細胞質を放出する。(a) 赤血球の細胞壁を通して小顆粒狀細胞質の放出(Gr 型放出)。(b) 血液の血管外排出と同時に又は短時間後に赤血球が爆發的にその細胞質を放出して血液凝固に對して重要な役割を演ずる(Exp 型放出)。之れは更に瀰散性放出(D型)と類リンパ球、血小板、中性着好性白血球及單球等を放出するL型とに分けられる。然し血液培養に於ては、それは比較的徐々に行はれる。(c) 赤血球はその一側より透膜狀細胞質を膨出し、これは amoeba 狀運動を示し、Lewis の "pinocytosis" Zollinger の所謂 "potocytosis" に似る放出現象(Po 型放出)を示す。

(3) 血液凝固現象は血小板の崩壊に基くものではなく、主として赤血球の急速な細胞質放出現象に基因する。

(4) 赤血球の細胞質放出現象はその核とは無關係に行はれ、然も放出細胞質中には核質の分化凝集により核の新生の行はれる可能性が大きい。

(5) 赤血球の細胞質放出現象は次の諸要因と密接な關係を有する。(a) 赤血球の環境變化、就中、血管より血液の排出とこれによる血球の流動停止。(b) 血球の異物及空氣の觸接。(c) 赤血球に對する機械的作用。(d) slide glass に塗抹せる血液層の厚薄。(e) 血液の排出後時間的經過。(f) 血球の周圍に液體 medium (血清等) の存在。

(6) オタマジヤクシの尾部切斷による出血部の赤血球は極めて短時間内に切斷部に密着、紡錘形に變形する。又赤血球の核は slide glass 上に於て乾燥の進行方向と反對側へ轉位することがある。

文献 天野重安 '48, 血液學の基礎(東京); 千島喜久男 '48a, 科學, 18, 3; —, '48b 畜産の研究, 2, 7;

- , '48 c, 解剖學會講演 (名古屋); —, '48 d, 動物學會講演 (岐阜); —, '49 a 動雜 58; —, '49 b 59; —, '49 c, 日本畜産學會講演 (東京); —, '49 d, 日本獸醫學會講演 (東京); —, '49 e, 遺傳; —, '49 g, 動雜發表豫定; Clark, E. R., E. L. Clark 及 P. Rex, '36 Amer. J. Anat. 59. 123 —. Heinmets, '48, J. Bact., 55, 6; Howell, W. H. 及 D. B. Donahue, '37, J. Exp. Med. 65, 2; Jordan, H. E., '36, Amer. J. Anat. 59, 247—; —, '38, J. Morph. 63, 1; Lewis, W. H., '31, Carnegie Inst. of Wash. Year Book. 30; 佐藤警根 '38, 科學. 13. 9; 佐藤忠雄 '31, Zeitschr. f. vergl. Physiol. 14, 4; Speidel, C. C. '48, 科學. 13. 69; Swingle, P. F., '37 Amer. J. Physiol. 120, 1; 丹下正治, 千島喜久男, 醫學と生物學. 12. 2; 梅谷與七郎 '49, 科學 19. 5; Zollinger, H. M., '48, Amer. J. Path. 24, 3.

Résumé

Relation between the Behaviour of the Blood Cells and the Formation of the Leucocytes in Some of Lower Vertebrates in vitro and on Blood Smear Preparations.

KIKUO CHISHIMA (Dept. Agr. of Gifu Univ.)

- (1) The erythrocytes in frog, tadpole, newt, snake and crucian show the following behaviours in scattered portions of the cultured blood cells, such as the formation of cilium-flagellum or pseudopodium-like processes, and they change their forms into irregular outline, sugar-plum-shape, bell-shape or constricted forms and at last they transform into spherical erythrocytes (spherocytes).
Through these transforming processes the erythrocytes show the continuous rhythmic, undulating movement of their cell-surface and sometimes the nuclear-surface also exhibits such a movement.
- (2) Erythrocytes extrude their cytoplasm to their exterior during the culture or on the blood smear preparation in the following four manners. That is (a) Gradual extrusion of cytoplasm, containing minute granules, through their cell walls in vitro. (b) Explosive extrusion of cytoplasm immediately after the blood have poured out from the blood vessel. This type of extrusion has close connection with the blood coagulation. (c) The differentiation of extruded cytoplasm into small lymphocytoid cells, blood platelets, neutrophilic leucocytes or monocytes according to the circumstances of extruded cytoplasm or age of erythrocytes. (d) From certain area of differentiating erythrocytes surface protrudes a thin, clear veil-like cytoplasm, which exhibits the amoeboid movement (undulating membrane type). This type of extrusion closely resembles to the "pinocytosis" (described by Lewis) and the "potocytosis" (described by Zollinger).
- (3) The blood coagulation takes place chiefly by cytoplasm-extrusion of erythrocytes but it is not due to the destruction of thromocytes as it has been believed.
- (4) Cytoplasm-extrusion of differentiating erythrocytes seems to have no direct relation to their nuclei, yet, it is most probable that the nuclei of blood platelets and leucocytes arise newly by the differentiation and condensation of nuclear substances contained in the extruded cytoplasm.
- (5) The "cytoplasm-extrusion of differentiating erythrocyte" has close connection with the following factors: (a) change of environmental condition of blood cells, i. e., the stop of blood current induced by pouring out the blood from the blood vessel, (b) contact of erythrocytes to foreign substances such as air, fluid medium, or slideglass, etc., (c) mechanical action against the erythrocyte, (d) thickness of blood layer smeared on slide glass, (e) time elapsed after the blood poured out from blood vessel.
- (6) Erythrocytes often change their forms and positions of nuclei in a few minutes after they were smeared on slide glass.