

血液細胞の脂質代謝に関する研究

第 二 編

骨髓細胞の in vitro での脂質代謝

岡山大学医学部第二内科（主任：平木潔教授）

清 水 能 人

〔昭和50年12月1日受稿〕

目 次

I 緒 言	第3節 全血細胞による主要脂質分画への ¹⁴ Cの取り込み
II 実験材料ならびに実験方法	第4節 骨髓細胞による主要脂質分画への ¹⁴ Cの取り込み
第1節 実験材料	第5節 全血細胞による主要脂肪酸分画への ¹⁴ Cの取り込み
第2節 骨髓細胞・全血細胞作成法	第6節 骨髓細胞による主要脂肪酸分画への ¹⁴ Cの取り込み
第3節 血液細胞培養法	IV 考 按
第4節 脂質抽出法	V 結 論
III 実験成績	VI 文 献
第1節 全血細胞による総脂質への ¹⁴ Cの取り込み	
第2節 骨髓細胞による総脂質への ¹⁴ Cの取り込み	

緒 言

骨髓の形態学的・病理学的研究は数多く報告されているが、骨髓の脂質代謝に関する研究、特に脂質合成に関する報告はほとんど見られない。

骨髓は加齢、食事内容、造血能の変化等により、形態学的にも機能的にも多大の変化を呈する。たとえば、飢餓数日で骨髓脂質は他の貯蔵脂質より早期に減少し、飢餓回復と共に2、3日で飢餓前の状態に回復する¹⁾。一方加齢による影響としては、老年者では若年者に比し骨髓の赤色髓の減少、骨髓内有核細胞数の減少及び脂肪細胞の増加を認めるといふ²⁾。又、造血能の変化に関しては、第一編で詳細に述べたが、骨髓細胞の増殖時には、大量のEnergyを必要とし、そのEnergy源として脂質の利用消費があり、脂質代謝亢進を来しているものと考えた。

骨髓脂質は単に必要なspaceを充す役割を有するだけでなく、他の貯蔵脂質に比し、脂質の代謝回転ははるかに早く、かつ増大していると考えられてい

いる³⁾。

著者はこの様な特異的な役割を持つ骨髓脂質の特性の一つを明らかにする目的で、加齢、高脂血症、貧血などによる骨髓脂質代謝の変動を、家兎を使用して実験的に脂質合成及び脂肪酸合成の面より検討を加えた。同時に末梢血、全血での脂質合成につき検討を加え、脂質代謝の面で骨髓の末梢におよぼす影響も観察した。

II. 実験材料ならびに実験方法

第1節 実験材料

オリエンタル固形飼料にて約1ヶ月間飼育した家兎を使用した。生後3ヶ月前後のものを幼年群、生後3ヶ月前後のものを老年群とし、3kg前後の成熟した家兎を対照群とした。又、この成熟した家兎を浜田ら⁴⁾の方法に基づいて、2.5% Phenyl-hydrazine-chloride 溶液を6N-NaOHにて中和し、PH7として、家兎脊部皮下に0.3ml/kgの割合で7日間連続注射を行うと、急速に溶血性貧血を起したが、それ

を貧血群とした。高脂血症群としては、ラノリン、綿実油にて約30日間飼育した家兎を使用した。全例に著明な高cholesterol血症が認められた。上述の各条件下の家兎を12時間絶食の後、早期空腹時に体重1ml/kgのペントバルビタールを腹腔内へ投与した。

第2節 骨髓細胞、全血細胞作成法

シリコン処理を行なった注射器でHeparin加にて心穿刺を行い、約70ml前後を採血し、脱血を行った。直ちに家兎大腿骨骨髓を砕き、骨髓細胞を取り出しThomas法⁹⁾にて骨髓を細く砕き、生理的食塩水にて2回洗浄後、骨髓細胞浮遊液を作成した。心穿刺にて採血した全血細胞及び骨髓細胞浮遊液を後述の培養実験に供した。

第3節 血液細胞培養法

血液細胞が接触するガラス器具その他はすべてシリコン加工を行う。100mlのErlenmyerflaskに検体(全血細胞、骨髓細胞浮遊液)5mlを入れ、各々の細胞数を測定し、骨髓細胞浮遊液にはさらにKrebs Ringer bicarbonate 溶液と自己血漿3mlずつを加えた。1-¹⁴C-Acetate Sodium生食溶液5 μ Ci(50mCi/mM)を各検体に添加し、O₂95%、CO₂5%の混合ガスで飽和させた後に密栓して37℃でゆるやかに振盪しながら4時間培養を行った。

第4節 脂質抽出法

4時間振盪培養後、Folchらの方法⁹⁾に基づき、Chloroform:methanol 2:1の混合液100mlを加え、24時間後濾過を行い、その濾液の溶媒と減圧蒸発させた後Björntorpの方法⁹⁾に従って脂質をケン化し、各脂質分画の脂肪酸を一括抽出する。非ケン化分画(主にcholesterol)および総脂質への¹⁴Cの取り込みを計測した。一方総脂肪酸分画はMetcalf⁶⁾の方法⁹⁾の変法(5%BF₃in Methanol 2mlを加え3分間90~95℃で加熱)でmethyl化する。Methyl化した脂肪酸は20% Diethylen glycol succinate on chromosorb Pを充填剤とした20feetのカラムを用い、カラム温度200℃、試料室温度310℃、熱伝導ディテクター温度250℃ヘリウムガス流速80ml/minのgas chromatographyにより各種脂肪酸に分ち、それぞれの脂肪酸への¹⁴Cの取り込みを計測した。なお、総脂質の一部をシリカゲル薄層クロマトグラフィーにて、遊離脂肪酸(以後NEFAと略す)、中性脂肪(以後TGと略す)、遊離cholesterol(以後F-Cと略す)エステル型cholesterol(以後E-Cと略す)などの主要脂質に分離し、これの¹⁴Cの取り込みを計

測した。Gaschromatographyによる各種脂肪酸の分取はガス排出口にシリコン加工した煙草フィルターを着装し、チャートを見ながら各脂肪酸のPeakの終る谷間で交換し、順次フィルターに吸着させる。かくして各々を直接POPOP-PP0トルエン系シンチレーダ10mlの入ったカウンティングバイアルに入れ、液体シンチレーションカウンターで測定した。

III. 実験成績

第1節 全血細胞による総脂質への¹⁴Cの取り込み(表1)

Table 1. Net Count of ¹⁴C Incorporation into Total Lipid by Whole Blood Cells

Group	Number of Samples	C. P. M. / 10 ⁶ Leucocytes
Control	(12)	110.1 ± 47.7
Young	(12)	137.6 ± 15.2
Old	(12)	118.5 ± 17.3*
Hyperlipemia	(13)	35.5 ± 12.5*
Anemia	(15)	493.1 ± 143.4*
Number of Samples C. P. M. / 10 ⁶ Leucocytes		
		Mean ± S. D.

**P<0.1 *P<0.01

1-¹⁴C-Acetate Naが全血細胞総脂質へ取り込まれる¹⁴Cを白血球10⁶個含有血液量当りのC. P. M.で表現すると、対照群では110.1 ± 47.7、幼年群137.6 ± 15.2、老年群118.5 ± 17.3であった。三者間で有意差は認められないが、相対的に幼年群に合成の亢進を認めた。貧血群では、493.1 ± 143.4と対照群にくらべ有意に増加を示した。逆に高脂血症群では35.5 ± 12.5と対照群に比し有意に低下が認められた。

第2節 骨髓細胞による総脂質への¹⁴Cの取り込み(表2)

Table 2. Net Count of ¹⁴C Incorporation into Total Lipid by Bone Marrow Cells

Group	Number of Samples	C. P. M. / 10 ⁶ B. M. Cells
Control	(12)	140.5 ± 56.7
Young	(12)	156.5 ± 28.1
Old	(12)	222.3 ± 27.1*
Hyperlipemia	(13)	104.5 ± 16.7**
Anemia	(15)	475.0 ± 153.3*
Number of Samples C. P. M. / 10 ⁶ B. M. Cells		
		Mean ± S. D.

**P<0.1 *P<0.01

骨髓細胞による総脂質への¹⁴Cの取り込みを骨髓有核細胞10⁶個当りのC. P. M.で表現すると対照群では140.5 ± 56.7、幼年群156.5 ± 28.1、老年群222.3 ± 27.1で全血とは逆に老年群に取り込み増大を認めた。貧血群は全血同様475.0 ± 153.3と対照群の3倍強の著増を示した。一方、高脂血症群は対照群に比し若干の減少を認めた。

第3節 全血細胞による主要脂質分画への¹⁴Cの

取り込み(表3)

Table 3. Percentage of ¹⁴C Incorporation into Major Lipid Classes by Whole Blood Cells

	Number of Samples	PL	DG+FC	NEFA	TG	EC
Control	(12)	43.2±8.9	16.3±1.3	37.5±4.1	2.7±0.6	0.6±0.7
Young	(12)	37.6±6.2	15.1±1.4	43.3±6.3**	3.6±1.1**	0.3±0.1
Old	(12)	41.6±6.5	16.7±4.0	38.2±5.5	1.9±1.0**	1.8±1.4**
Hyperlipemia	(13)	49.2±6.4***	13.9±3.1**	33.2±6.3***	1.8±1.2**	1.8±1.6**
Anemia	(15)	24.6±4.9*	39.8±5.2*	31.8±6.7**	1.6±0.5*	0.4±0.1

***P<0.1 **P<0.05 *P<0.01 Mean±SD

全血細胞総脂質を薄層クロマトにて分離し主要脂質分画への¹⁴Cの取り込み百分率をみた。PLでは対照群、幼年群、老年群の三者間に有意差は認められなかったが、多少、老年群で高い百分率を示した。しかし、高脂血症群では49.2±6.4%と増加がみられ、他方貧血群では24.6±4.9%と著明な減少を認めた。ジグリセライド+遊離コレステロール分画(以後DG+FCと略す)においては、対照、幼年、老年群間に有意差を認めないが幼年群に取り込み百分率の低下をみた。高脂血症群では減少し、逆に貧血群では、39.8±5.2%と著明な増大を認めた。NEFAにおける¹⁴Cの取り込み百分率は、対照、幼年、老年群間では幼年群に43.3±6.3%と危険率5%以下で、対照群にくらべ増大した。一方、高脂血症群、貧血群は低下した。TGに関しては各群とも2%前後の取り込みしか認められなかったが、貧血群で有意に低下した。ECにおいては各群ともほとんど変化を認めなかった。

第4節 骨髓細胞による主要脂質分画への¹⁴Cの取り込み(表4)

Table 4. Percentage of ¹⁴C Incorporation into Major Lipid Classes by Bone Marrow Cells

	Number of Samples	PL	DG+FC	NEFA	TG	EC
Control	(12)	30.8±2.8	23.0±7.4	41.4±7.1	4.1±1.5	2.1±1.0
Young	(12)	31.8±4.8	26.0±3.7	36.2±1.8**	3.7±1.0	2.1±0.8
Old	(12)	35.0±7.3	21.1±5.6	38.0±6.3	3.3±1.2	2.0±0.6
Hyperlipemia	(13)	41.7±8.2*	8.8±3.3*	39.3±6.0	5.7±2.4	4.0±1.2*
Anemia	(15)	22.9±1.4*	32.1±4.2*	36.2±3.4***	3.8±1.6	0.8±0.4*

***P<0.1 **P<0.05 *P<0.01 Mean±SD

骨髓細胞による¹⁴Cの取り込み pattern は、全血細胞とかなり類似しているが、対照群の場合を比較して、DG+FC、TG、ECなどへの取り込み百分率は増大し、PLは減少、NEFAはあまり変化を認めなかった。

まずPLでは対照群に比し老年群が多少高値を示したが有意性は認められなかった。しかし貧血群では10%前後に低下し、1%以下の危険率で有意であっ

た。逆に高脂血症群では10%前後の上昇を認めた。DG+FCは、高脂血症群著減、貧血群は逆に著増を示した。NEFAでは対照群にくらべ、全血と異なり幼年群、老年群とも低下を示した。しかし、高脂血症群では全血細胞と異なり、対照群とくらべほとんど変化を認めなかった。貧血群では36.2±3.4と減少が認められた。TGでは各群間にほとんど差異を認めなかった。ECでは高脂血症群の増大と貧血群への取り込み百分率の低下を認めた。

第5節 全血細胞による主要脂肪酸分画への¹⁴Cの取り込み(表5)

各種脂肪酸への¹⁴Cの取り込み百分率をみた。まず、ミリスチン酸より短鎖の脂肪酸(以後14:0と略す)への¹⁴Cの取り込みでは対照群に比し、幼年群、老年群に取り込み増大を認めたが、幼年群では危険率1%以下で有意に増大を認めた。高脂血症群では11.9±2.5%と減少し、貧血群では逆に25.1±6.9%と有意に増大した。パルミチン酸(以後16:0と略す)では幼年群、老年群に増大を示し、貧血群に

も増大を示した。しかし高脂血症群では軽度低下を認めた。ステアリン酸(以後18:0と略す)では貧血群、高脂血症群に減少が認められた。オレイン酸(以後18:1と略す)では高脂血症群が有意に低下した。アラキジン酸およびより長鎖の脂肪酸(以後20:0と略す)では高脂血症群で著増を示し、貧血群では著減を認めたが、対照群、幼年群、老年群間には有意差を認めなかった。

Table 5. Percentage of Recovered C. P. M. in Various Fatty Acide by Whole Blood Cells

	Number of Samples	14:0 ≤	16:0	18:0	18:1	20:0 ≥
Control	(12)	15.2±1.7	13.4±2.1	18.1±2.9	3.9±1.0	42.0±6.4
Young	(12)	18.6±1.8*	15.7±1.2*	17.7±1.6**	3.6±1.8	41.8±2.6
Old	(12)	15.3±1.7	14.8±2.6	17.6±2.4	3.5±0.9	43.4±5.6
Hyperlipemia	(13)	11.9±2.5*	11.3±1.0**	12.0±2.2*	1.2±0.9*	53.8±5.9*
Anemia	(15)	25.1±6.9*	18.2±5.3**	15.1±6.3	3.6±0.8	32.8±7.0*

***P<0.1 **P<0.05 *P<0.01 Mean±SD

Table 6. Percentage of Recouered C. P. M. in Various Fatty Acids by Bone Marrow Cells

	14:0 ≤	16:0	18:0	18:1	20:0 ≥
Control	13.7±4.2	13.2±3.4	14.8±0.9	5.8±1.4	44.2±8.4
Young	16.0±2.4*	15.9±2.3*	14.2±2.5	6.0±3.4	40.2±9.8
Old	14.3±3.1	16.1±5.8*	15.2±5.1	5.7±2.0	43.2±6.0
Hyperlipemia	11.6±1.5*	13.0±2.1	13.4±2.4	3.2±1.5*	50.6±6.4***
Anemia	16.4±2.4***	18.9±2.2*	17.3±3.2**	8.0±2.1**	34.8±3.2*

*P<0.2 ***P<0.1 **P<0.05 *P<0.01 Mean±SD

第6節 骨髓細胞による主要脂肪酸への¹⁴Cの取り込み(表6)

骨髓細胞も全血細胞とほぼ同様の取り込み pattern を示すが、全体的には18:0が低く、18:1が増加していた。まず14:0 ≤では幼年群,老年群が対照群に比し若干増加したが有意ではなかった。高脂血症群では減少,貧血群では増加を示したが全血細胞ほど顕著でなかった。16:0は幼年群,老年群,貧血群に増加がみられ,高脂血症群では変化はなかった。18:0では貧血群のみ増加した。18:1では高脂血症群で有意に低下,貧血群で増加を認めた。20:0 ≥では対照群,幼年群,老年群間に有意差はなく,高脂血症群では50.6±6.4%と増大し,貧血群では逆に34.8±3.2%と著明な減少を示した。

IV 考 按

Krauseら⁹⁾によれば正常骨髓の総脂質含有量は一定湿重量当り50%近い高値を示し,脳の13%をはるかに越え,正常臓器中最大の脂質含有組織である。又,動物を飢餓にすると,骨髓脂質は他の貯蔵脂質より早く減少し,再び食餌を与えるとより早く増加する¹⁾この事より骨髓脂質の代謝回転が他の貯蔵脂質のそれより,はるかに大きく,骨髓の状態により Labile に動き,機能面における特異的な役割の存在するとも考えられる。たとえば,糸賀らは²⁾血液疾患での骨髓脂肪酸構成の変化より,又,木畑ら¹⁰⁾¹¹⁾は,血液疾患での骨髓の脂肪酸合成の面より,それぞれ骨髓脂質代謝が生体にとって重大な役割を持つであろうと指摘している。

血液細胞は一定の寿命を有しており,老化により細胞の崩壊が起れば,他方ではそれを補充する為の細胞の新生がみられる。この Balance を司っているものは骨髓であり,貧血などによりその Balance がくずれた時,骨髓は直ちに反応し,その Balance を取りもどそうと働く。この反応には多量の Energy が必要と考えられ,その Energy 源としての骨髓脂質の存在は大きな重要性を持つものと思われる。このように骨髓細胞の機能面,構造面,Energy 面にとってきわめて密着した関係をもつ骨髓脂質代謝を主に合成面より,検討を加えたのである。

表1は全血細胞,骨髓細胞での総脂質への¹⁴Cの取り込みを検討したものであるが,末梢血全血細胞では幼年群が老年群よりも多少取り込み増大を示し骨髓細胞では逆に対照群にくらべ幼年群,老年群共に取り込み増加を示し,老年群がより高値を示した。なお,高脂血症群では対照群にくらべ末梢血,骨髓共に有意に合成低下が見られた。逆に貧血群では,末梢血,骨髓共に対照群にくらべ3倍以上の合成亢進を認めた。脂質代謝は単に合成面からだけではなく同時に分解による Energy の放出をも考慮すべきであるが,永井らの報告¹²⁾によれば急性貧血時には mitochondria の脂肪酸酸化能も亢進しており,分解面の亢進も示唆される。言い換えれば貧血群にみられる骨髓細胞表殖時には脂質の分解,合成両面の亢進を来しており,その Energy 源として脂質の利用,消費があり,脂質代謝の亢進を来したのと考えられる。又,同様の事を Krause らは⁹⁾ Phenylhydrazine 処理猫において骨髓の脂質含有量の低下がみら

れた事を報告しており、この場合にも、骨髄含有脂質が細胞新生の為の Energy 源として利用されるものと考え高脂血症群では逆に著明な合成低下を認めている。この場合、骨髄での十分な脂質化は認められなかったが、血清脂質の著増は認められている。脂質合成は、肝臓で活発に行なわれており、Acetyl CoA Carboxylase がその律速酵素とされている。¹⁹ この酵素はクエン酸、イソクエン酸により賦活化され、Acetyl CoA によって抑制される。したがって、糖質食、Insulin によって脂質合成は亢進し、飢餓、糖尿病、高脂肪食などの状態では脂質合成は低下している。同様の事が骨髄、全血細胞においても言え、高脂血症群における合成低下を来したものと言える。加齢による脂質合成の変化は、高脂血症群、貧血群ほど著明ではないが、若年群での骨髄での合成亢進は細胞の新生や増殖により、末梢血での合成亢進は末血中網状赤血球増加によるものではないかとも考えられる。又、老年群骨髄における合成亢進は、平木の報告¹⁰と同様の結果を示しており、骨髄における脂質代謝が蓄積の方向に傾いているのではないかと考えられる事は興味深い。

1-¹⁴C-acetate の主要脂質分画への取り込みについては、全血細胞も骨髄細胞も類似した百分率を示した。対照群、幼年群、老年群の三群間では有意の差異は認められなかったが、対照群に比し幼年群、老年群ともに NEFA の取り込み低下が認められ、老年群では PL、幼年群では FC+DG への相対的な増加が認められた。これは後述の貧血群でより顕著であるが、対照群よりもこの三群が脂質合成の亢進を来している点からも、NEFA の Energy 化が促進されそれによる脂質の利用増大が行われている事が示唆される。他方、高脂血症群においては、PL の増加と DG+FC の低下がみられ、骨髄においてその傾向は顕著であった。この点に関して Cholesterol 合成面より考えてみた。肝・骨髄などでは Cholesterol を大量に投与するとその合成が抑制され、この現象は Negative feed back control として知られている。¹⁹ 本実験のラノリン投与家兔においても対群群の 10 倍以上の高 Cholesterol 血症を来しておりその全血、骨髄の合成低下とあいまって非常に合目的と考えられる。抑制部位は Cholesterol の合成系全体の速度を決定する律速段階の hydroxymethyl glutaryl (HMG) CoA reductase の作用部位であり、その他 squalene 等の中間代謝物でも抑制効果を有するものが有ると言われている。¹⁰ 他方、貧血群において FC

+DG への取り込み増大を示したが、これは前述の HMG-CoA reductase 活性亢進を示すものであるが、Cholesterol は細胞の膜保護物質として重要なものであり、骨髄における細胞の新生にあたり多量の Cholesterol を必要とする結果ではないかと考えられるが、早急な結論は避けたい。なお血清 Cholesterol 上昇に寄与するものは肝臓であり、骨髄の Cholesterol 合成はほとんど血清 Cholesterol に影響をあたえないという報告¹⁰もあり、今後くわしく検討を加える必要がある。

飽和脂肪酸の合成は malonyl CoA Path way により acetyl CoA carboxylase と脂肪酸合成酵素よりなり、主として大部分は 16:0 が合成される de novo 合成経路と、Elongation system の両面より成ると言われている。¹⁷ Elongation system は二種類あると言われ、一つは Wakil¹⁷らにより、ネズミ肝の mitochondrial に発見され、長鎖の Acyl CoA を Primer として、Acetyl CoA が縮合され、NADH, NADPH を Cofactor と言われている。一方は, Nugteren によれば,¹⁸ ネズミ肝 microsome にもあり malonyl CoA が縮合し NADPH を Cofactor とするとされている。同様の system は末梢血液細胞、特に白血球血小板などや、骨髄有核細胞にも存在すると考えられる。全血細胞においては、高脂血症群に 14:0 ≤ 及び 16:0 の取り込み低下と 20:0 ≤ の取り込み亢進が見られ、逆に貧血群では 14:0 ≤, 16:0 の亢進と 20:0 ≥ の低下がみられた。一方、老年群、幼年群を対照群と比較した場合、全血ではあまり変化は認められないが、骨髄においては両群共 14:0 ≤ 16:0 の軽度亢進が認められたが、20:0 ≥ では対照群との間に有意差を見出し得なかった。これらの結果については種々の興味ある考察が可能である。永井ら¹¹の言う様に骨髄細胞の脂肪酸酸化能が幼年群で亢進し、老年群で低下しているものであれば、幼年群では細胞新生の Energy 源として脂肪酸が代謝され、他方、老年群では脂質蓄積方向へ働いているものであると推論される。¹⁰ 高脂血症群では、de novo 合成低下と Elongation の相対的亢進が全血、骨髄で認められた。解糖に際しつは Glucose 1 分子が 2 分子の pyruvate となる段階で 8 分子の ATP を生じ、さらに Acetyl CoA が citric acid cycle に入って完全に CO₂ と H₂O に分解されると 30 分子の ATP を産生すると言われており、この ATP が de novo 合成に利用されるものであるが、高脂血症や糖尿病などにおいては何らかの代謝障害により citric

acid cycleの機能低下が起り、ATP及びH⁺の供給不足となり、malonyl CoA pathwayがElongationに比し強く高脂血症の場合に障害を受けたものと考えられる。一方貧血群ではde novo合成の亢進と、Elongationの相対的低下を認めたが、絶対値の上ではElongationも亢進している。これは細胞の新生において、citric acid cycleが十分に回転しEnergy源としてのATPを充分供給しているものであるが、特に14:0, 16:0などEnergy化しやすい脂肪酸の相対的、絶対的な増加が貧血群で見られた事は骨髓細胞の新生、増殖のEnergy源としてこれら脂肪酸を利用しているものと考えられる。

最後に18:1についてであるが、これは18:0→18:1のモノ不飽和化により出来るものであるが、貧血群においては亢進、高脂血症群では骨髓細胞において低下が認められた。このモノ不飽和化の過程は、Block¹⁹ Imai²⁰らによれば、分子状酵素とNADPH₂を要する酸素添加反応によるものとされ、飢餓、糖尿病などにおける肝でのモノ不飽和化能の低下が指摘されており、本実験におけるラノリン高脂血症家兔骨髓細胞においても、その脂質合成の低下とあいまって、何らかの代謝異常によるNADPH₂の供給不足によるモノ不飽和化能の低下が考えられる。他方、貧血群においては18:1の相対的かつ絶対的な増加を来たした。この点に関して一概に論ずる事は出来ないが、citric acid cycleが活発に回転しATP, NADPH₂を充分に産出し、供給され、このモノ不飽和化をも含め脂肪酸合成全体の亢進を来たしたのとも考えられよう。

この様に骨髓は生体の変化により形態学的、病理学的に変化すると同時に、骨髓における代謝、特に脂質代謝にも変化を来していると論じたが、脂質代謝は動物間、種族間の差が有り、一概に人にあてはめる事はできないものであり今後よりいっそうの検討が望まれる。

V 結 論

骨髓細胞ならびに全血細胞を用いてin vitroにおける1-¹⁴C-acetateをtracerとして脂質合成、脂肪酸合成の動態を検討し以下の結論を得た。

- 1) 骨髓細胞・全血細胞の脂質合成は貧血、高脂血症、加齢など生体の変化に応じて変化が認められた。
- 2) 骨髓細胞にもde novo合成とElongationの存在が想定された。
- 3) 幼年群、老年群の骨髓細胞でde novo合成の亢進が顕著に認められた。
- 4) 高脂血症群では脂質合成の低下ならびにde novo合成の低下が認められ、貧血群では逆に脂質合成の亢進、de novo合成の亢進を認めた。
- 5) 高脂血症群において18:1への¹⁴Cの取り込み百分率の低下と、貧血群での18:1への相対的かつ絶対的な取り込み増加を認めた。

本論文の要旨は第15回日本老年医学会総会にて発表したものである。

稿を終るに当たり、御校閲、御教示いただいた平木潔教授に深甚なる謝意を表す。又、直接御指導いただいた木畑正義講師に深謝する。

文 献

- 1) 永井諄爾：骨髓脂質について、第7回日本脂質生化学研究、6:4, 1966.
- 2) 三輪史朗：血液学における加齢の問題、医学のあゆみ、62:367, 1967.
- 3) 糸賀敬、隅田達男：各種血液疾患における骨髓脂肪構成脂酸、臨床病理、13:486, 1965
- 4) 浜田全三郎：ヘモクロビン合成系の作り方、蛋白・核酸・酵素、3:743, 1963.
- 5) Thomas. E. D. : Invitro studies of erythropoiesis effect of normal serum on Heme synthesis and oxygen consumption by bone marrow, Blood, 10:600, 1955.
- 6) Folch, J., Mhoes & G. H. Sloane-stanky: A simple method of isolation and purification of total lipid from animal tissue, J. Biol. Chem., 226:497, 1956.
- 7) Björntorp, P : Polyunsaturated fatty acids in man, Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12. (suppl. 52): 1, 1960.
- 8) Metcalfe, L. D. & A. A. schmitz : The rapid preparation of fatty acid methylesters for gaschromatographie analysis. Anal. Chem. 33:363, 1961.

- 9) Krause, R. F. : Changes induced by anemia in the bone marrow lipids of cats. *J. Biol. Chem.* **149** : 395, 1943.
- 10) 木畑正義, 尾崎幸成, 藤井靖久, 水川士郎 : 血液細胞による脂質合成について, *高令医学*, **7** : 43, 1969
- 11) 木畑正義, 岩崎一郎, 藤井靖久 : ^{14}C -Acetateの全血細胞への取り込みより見た脂質代謝の研究, *日老医誌*, **4** : 177, 1967.
- 12) 永井清保, 今中水穂 : 貧血と骨髄, エネルギーと核酸, *総合臨床*, **11** : 947, 1962.
- 13) Numa, S., Bortz, W. M. and Lynen, F., In Weber, G., (Editor). : *Advence in Enzyme Regulation Vol III Pergamon Press. Oxford and New York*, 407, 1965.
- 14) 平木潔 : 老年者の骨髄造血機能の特長について, *日老医誌*, **8** : 47, 1969.
- 15) 武内望 : コレステロール吸収と feed back control代謝, **3** : 15, 1966.
- 16) 武内望 : コレステロール代謝とその調節, *内科*, **33** : 781, 1974.
- 17) Wakil, S. J. : Mechanism of fatty acid synthesis, *J. Lipid. Res.* **2** : 1, 1961.
- 18) Nugteren, D, H. : The enzymic chainelongation of fatty acids by rat liner microsom, *Biochim. Biophys. Acta*, **166** : 280, 1965
- 19) Bloomfield, D. K. and Bloch. K. : The formation of 9-unsaturated fatty acids, *J. Biol. Chem.* **235** : 337, 1960.
- 20) Imai, Y. : Studies on the lipogenesis in animal tissues under pathological condition I. The formation of unsaturated fatty acids in diabetic and fasted rats. *J. Biochem.* **49** : 642, 1961.

Studies on lipid metabolism in blood cells
Part I. Lipid metabolism in blood cells of anemic rabbits
(mainly erythrocytes)

by

Yoshito SHIMIZU

The Second Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

The present study was designed to investigate lipid metabolism in whole blood cells, bone marrow cells and reticulocytes. In order to do this, the in vitro incorporation of ^{14}C -acetate Na into gross lipid fractions, major lipid fractions and total fatty acids were studied and were compared with serum lipids levels and fatty acid composition. The experimental animals used were rabbits which were made anemic by the injection daily for 7 days of 0.3ml, per kilo of body weight of acetylphenylhydrazine.

Results were as follows.

1) Serum lipid levels were significantly higher in the treated group than in the control, though there was no difference in the composition of serum fatty acids between them. The lipemia after acute hemorrhage may be release from bone marrow. In the composition of serum fatty acids of bone marrow cells and whole blood cells, the percentage of linoleic acid was decreased in the treated group. This decrease may be connected with reticulocytosis in hemolytic anemia.

2) ^{14}C -incorporation by blood cells of the treated group into total lipid was significantly increased than control.

3) In the percentage distribution of ^{14}C into major lipid classes of the treated group, it was found that ^{14}C was significantly incorporated into free cholesterol and decreased into none esterified fatty acid than in control.

4) In regard to the study on the distribution of ^{14}C -acetate in individual fatty acid separated by gaschromatography, the percentage of the radioactivity recovered in myristic acid and palmitic acid was significantly increased but was decreased in 20 0 carbon and more longer chain fatty acids in whole blood cells of the trated group.

5) The reticulocytes (but not mature erythrocytes) are capable of synthesizing lipids has been demonstrated by the incorporation of ^{14}C -acetate into the lipids of rabbit reticulocytes. Reticulocytes have ability of lipids synthesis in de novo and elongation system.