

Rauscher ウイルス性白血病における血色素に関する研究

第 2 編

Rauscher ウイルス性白血病マウスにおける血色素の変化について

岡山大学医学部平木内科教室 (主任 平木 潔教授)

福 家 隆

【昭和49年1月9日受稿】

目 次

I 緒 言

II 実験材料及び実験方法

- 1 実験材料
- 2 溶血液の作製
- 3 吸収曲線
- 4 アルカリ変性試験
- 5 澱粉ゲル電気泳動
- 6 末梢血のBetke染色

III 実験成績

- 1 末梢血液像及び病理組織学的所見
- 2 吸収曲線
- 3 アルカリ変性試験
- 4 澱粉ゲル電気泳動
- 5 末梢血のBetke染色

IV 総 括

V 考 按

VI 結 語

I 緒 言

Rauscher ウイルスは1926年 F. J. Rauscher¹⁾が Swiss 系の Shwartz 腹水腫瘍より分離した強力な白血病ウイルスで、極めて短期間に高率に赤白血病を惹起し、かつ多くの系統のハツカネズミが高度感受性を示す等の点から、白血病ウイルスによる病態像の検索のための実験系として極めて有用である。

当教室でも腫瘍とウイルスに関する基礎的研究の一環として Rauscher ウイルスをとり上げ種々の点から研究をすすめており、入野等²⁾は Rauscher 病を病理組織学的に Erythroreticulum cell leukemia と推論しているが、この赤血球系細胞の腫瘍性の性格については更に細胞化学的な面よりの検索が必要である。又腫瘍性赤血球の血色素に関する報告は未だ稀にみられるにすぎないが^{3), 4), 5), 6)} 血色素合成の変化より赤血球系細胞が異常な遺伝的支配下にあることが推定せられ、又腫瘍性赤血球の分化の

異常と血色素合成との関係について興味ある問題を提起する可能性があり以下の実験を行った。

II 実験材料及び実験方法

1 実験材料

ウイルス材料はアメリカ NIH の F. J. Rauscher より分譲をうけ、パリ大学白血病研究所で継代維持したものを同研究所長 Jean Bernard 教授よりさらに分譲され、爾来当教室で Cb 系マウスで継代維持させたものである。継代接種は Rauscher ウイルス性白血病発症 Cb 系マウス脾のリンゲル液10%浮遊液を3,000rpm及び9,000rpmそれぞれ20分間遠沈し、その上溝を millipore filter membrane で濾過した濾液を Cb 系成熟マウス腹腔内に0.3ml注射した。実験動物としては Cb 系マウスを用いた。Cb 系マウスは Houston の Baylor 大学より本学へ分されたもので milk agent を保有しない BALB/c マウスである。

Cb 系成熟マウスにウイルス接種後経時的に末梢

血液像を検査した後、末梢血及び脾の溶血液を作製した。

2 溶血液の作製 方法は第1編正常マウスの溶血液の作製と同じである。但し正常脾よりの溶血液は、1匹の正常マウス脾は微小であるので、10匹の正常マウスより脾をとり出し、それを細片に切り、血液を集め作製した。

3 吸収曲線

4 アルカリ変性試験

5 澱粉ゲル電気泳動

6 末梢血の Betke 染色

以上3.~6.の実験方法は第1編と同様である。

III 実験成績

1 Rauscher 白血病マウスの末梢血液像及び病理組織学的所見

末梢血液像はウイルス接種後4~5週で平均15~20万のピークに達する有核細胞数増多と赤芽球の出現ならびに網赤血球増多である(図1.)赤血球、血色素量は漸次低下し、貧血傾向を来した。赤血球は多染性強く、大小不同、奇形性を示し(図2)、種々の成熟度の赤芽球が見られ(図3)、いわゆる smudge cell が出現した。また赤芽球類似のきわめて特異な Rauscher 細胞も出現した。又 Rauscher 白血病マウスの病理組織学的所見としては肝、脾の著明な腫大が特徴的で脾腫は最高4.0gにも達した。組織学的に脾の正常構造は失われ、細網細胞、赤芽球系細胞の増殖浸潤が著明であった。肝の腫大もいちぢるしく最高6.0gに達するものもある。病気の進展とともに細網細胞及び赤芽球の浸潤が著明となり、両細胞のびまん性浸潤がおきかえられるに至る。肝脾のスタンプ標本でも種々の成熟段階の赤芽球及び

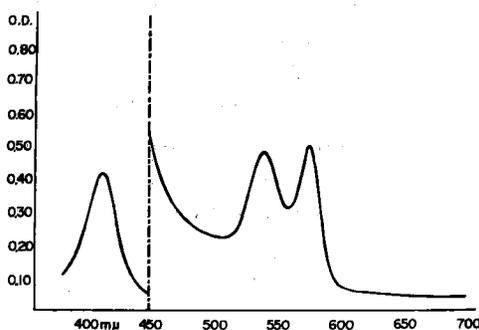


図5. Rauscher 白血病溶血液の吸収曲線
(450 μ 以下は試料を10倍稀釈して測定、)
(pH6.5, 0.1M phosphate Buffer 使用)

細網細胞が主体をなした(図4)。以上の点より Rauscher ウイルスの接種によって惹起される Rauscher 病はいわゆる赤白血病、肝脾腫型とも称すべき病像を呈し、腫瘍としての性格をもつものと考えられる。

2 溶血液の吸収曲線

Rauscher 白血病末梢血の溶血液の吸収曲線は OxyHb 型を呈し、 α band (576 μ)、 β band (541 μ) 及び γ band (Soret band) (414 μ) を示し正常マウスと同様であった(図5)。

3 アルカリ変性試験

図6のように変性曲線は直線にならず明らかに2個あるいはそれ以上の成分が存在していると考えられ、正常マウスと同様であった。

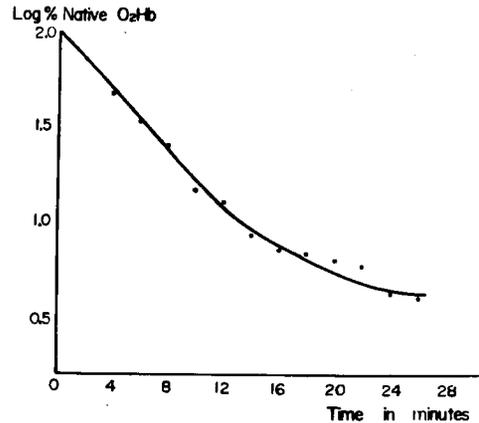


図6. Rauscher 白血病溶血液のアルカリ変性曲線
(20 $^{\circ}$ C, 0.06N NaOH 使用)

4 溶血液の澱粉ゲル電気泳動

白血病マウス末梢血の溶血液の泳動像を主分画より速く移動する2分画及び主分画より遅く移動する1分画計4分画を示し、成熟マウスと同様であった。又胎生早期の胎児溶血液に認められた異常分画(V分画)は認められなかった(図7)。しかしこれらの各分画のデントメトリーによる百分率の経時的変動については第1編と同様に陽極側より図7のように各分画をI, II, III, IV分画とすれば正常マウスではI分画5.9 \pm 1.8%, II分画14.4 \pm 2.5%, III分画50.6 \pm 5.0%, IV分画29.1 \pm 4.4%であるが、Stage 1(ウイルス接種後7週まで一白血病初期)ではI分画4.0 \pm 1.6%, II分画17.7 \pm 4.5%, III分画47.6 \pm 4.4%, IV分画30.8 \pm 5.6%であり(表1)、Stage 2(ウイルス接種後8週から20週まで一白血病早期及び進展期)ではI分画3.9 \pm 1.6%, II分画19.1 \pm

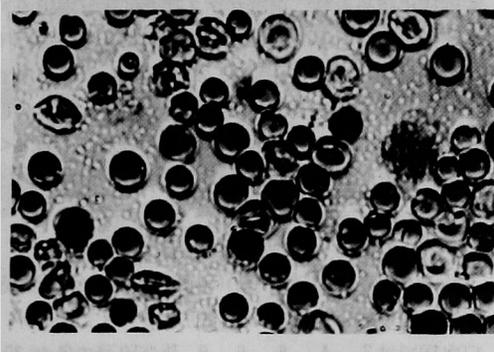


図1. Rauscher 白血病の網赤血球増多. 超生体染色
×1,000.

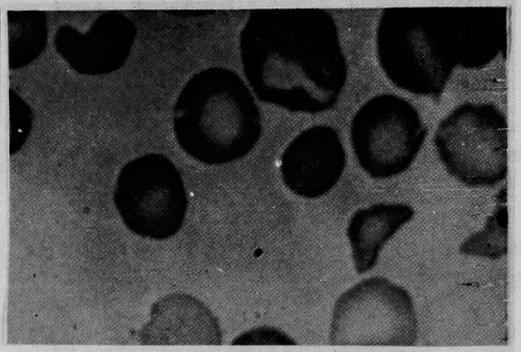


図2. Rauscher 白血病の末梢赤血球像.
May-Giemsa 染色×1,000.

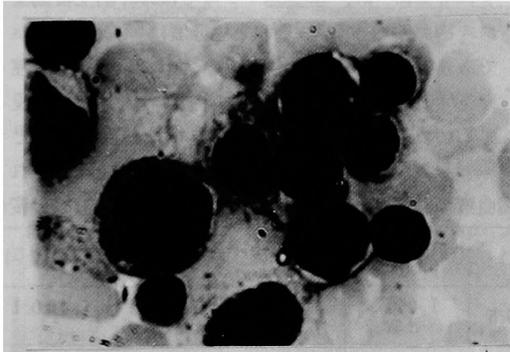


図3. Rauscher 白血病の末梢血液像. May-Giemsa
染色×1,000.

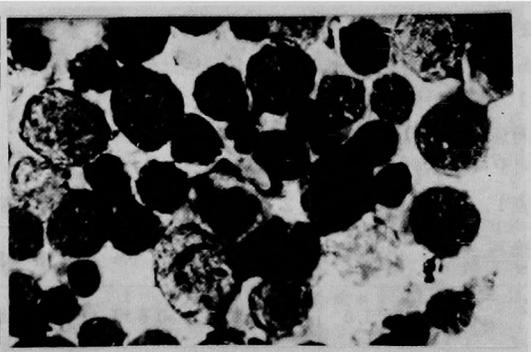


図4. Rauscher 白血病の脾スタンプ. May-Giemsa
染色×1,000.

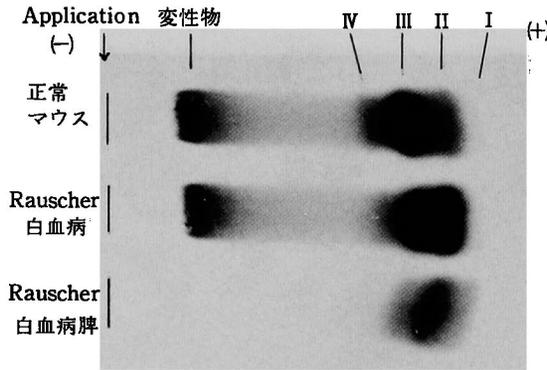


図7. マウスシアンメトヘモグロビンの澱粉ゲル電気泳動

(泳動時間4時間, Poulikの不連続緩衝系使用, ベンチジン染色施行)

3.4%, III分画45.9±3.9%, IV分画31.3±4.8%であり(表2)白血病の進展とともにII分画は漸次増加し, I及びIII分画は減少し推計学的検討でも正常に比し有意であり(I, II分画:P<0.001, III分画:0.01<P<0.05), IV分画は不変であった(IV分画:

表1. ウイルス接種後2~7週(Stage 1)における溶血液の澱粉ゲル電気泳動分画比及び末梢血液像の変化

接種後日数	I (%)	II (%)	III (%)	IV (%)	赤血球数 (×10 ⁴)	色素素(Sahli) (%)	有核細胞数	脾(g)
2週(3)※	6.1±1.0 ^{***}	12.4±1.3	50.6±5.4	30.9±6.5	1,050±57.2	77.7±6.1	7,166.7±2,044.6	0.4±0.1
3週(4)	4.8±1.5	15.6±4.7	46.9±3.7	32.9±2.7	1,022.5±4.3	63.3±4.7	107,187.5±58,770.6	0.9±0.4
4週(4)	3.3±1.3	21.9±4.5	50.2±3.1	23.8±4.6	946.3±142.4	57.5±3.0	135,250±55,018.9	1.1±0.3
5週(2)	3.4±0.5	18.0±0.6	43.9±1.6	34.8±1.5	435±115	32.5±7.5	63,000±29,750	3.6±0.6
6~7週(6)	3.1±1.1	18.9±2.3	45.3±2.7	32.8±3.5	858.3±3.9	50.3±6.9	151,666.7±48,147.9	2.0±0.7
2~7週(19)	4.0±1.6 (P<0.001)	17.7±4.5 (0.001<P<0.01)	47.6±4.4 (0.01<P<0.05)	30.8±5.6 (0.2<P<0.3)	897.1±213.2	57.0±13.7	106,723.7±69,028.0	1.5±1.0

正常マウス(成熟)	5.9±1.8	14.4±2.5	50.6±5.0	29.1±4.4
-----------	---------	----------	----------	----------

※ ()内はマウス数
※※ 平均±標準偏差

表2. ウイルス接種後8~20週(Stage 2)における溶血液の澱粉ゲル電気泳動分画比及び末梢血液像の変化

接種後日数	I (%)	II (%)	III (%)	IV (%)	赤血球数 (×10 ⁴)	色素素(Sahli) (%)	有核細胞数	脾(g)
8週(7)	4.8±1.0	19.8±2.7	46.4±4.2	29.2±2.0	987.1±202.8	61.6±8.9	174,857.1±43,701.7	1.8±0.4
9~10週(5)	1.8±0.7	19.5±2.4	46.7±3.8	31.9±3.1	972.0±178.0	62.6±6.7	111,946±89,365.9	0.9±0.6
14~20週(5)	4.6±1.1	17.6±4.5	44.5±3.1	33.5±7.2	758.0±130.8	47.0±8.5	135,200±56,176.2	3.1±1.3
8~20週(17)	3.9±1.6 (P<0.001)	19.1±3.4 (P<0.001)	45.9±3.9 (0.001<P<0.01)	31.3±4.8 (0.1<P<0.2)	915.3±204.0	57.6±10.7	144,690±69,137.8	2.0±1.1

P>0.1). この傾向は Rauscher 白血病脾溶血液でも同様に認められ, 正常マウス脾ではII分画40.0%であるが, 白血病の進展すなわち脾重量の増加に伴って漸次増加し, 白血病マウス脾では61.0±4.7%で推計学的にも有意であった(0.01<P<0.05). しかしI及びIII分画は正常に比し有意の差なく(0.1<P), IV分画は脾では全く認められなかった(図7)(表3).

5 末梢血の Betke 染色

Betke 染色における Betke 陽性赤血球は, 成熟赤血球1000に対しウイルス接種前は18~27であるが, 白血病では3, 4, 5, 6, 8及び10週で各々30, 97, 206, 316, 280, 270と漸次増加し, 進展期には271と増加した(図8, 9). これに対し正常成熟マウスでは18~27, 新生児マウスでは392, 胎生後期マウスでは400を示した. その染色態度はheterogenousであり濃淡があった. 又白血病における Betke 陽性赤血球の大きさを Betke 陰性赤血球の大きさと比較するために両赤血球の Price-Jones 曲線を描くと Betke 陽性赤血球の分布は Betke 陰性赤血球のそれ

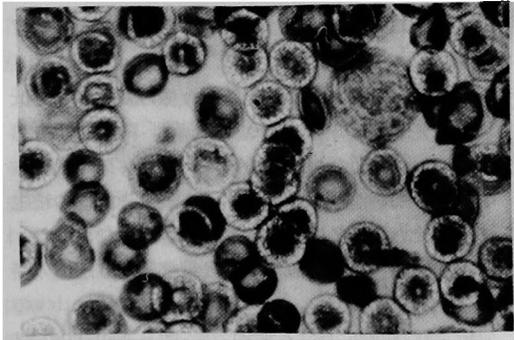


図8. Rauscher 白血病の Betke 染色×1,000.

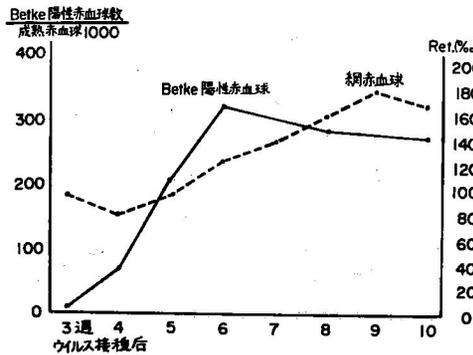


図9. Rauscher 白血病の Betke 陽性赤血球の経時的変化

にほぼ一致した (図10)

IV 総括

1 末梢血液像は有核細胞数増加, 赤芽球の出現, 網赤血球増加, 貧血, 赤血球の大小不同, 奇形性であった. 病理組織学的所見は肝脾腫と細網細胞及び赤芽球の著明な浸潤であった.

2 末梢血の溶血液の吸収曲線は OxyHb 型を呈し α band (576m μ), β band (541m μ) 及び γ band (Soret band) (414m μ) を示し, 正常マウスの吸収曲線と同様であった.

表3. Rauscher 白血病脾溶血液 (シアンメトヘモグロビン) の澱粉ゲル電気泳動分画比

脾 (g)	I (%)	II (%)	III (%)	IV (%)
1.4	17.6	53.9	28.6	0
2.5	13.0	60.6	26.4	0
2.5	12.0	62.5	24.6	0
3.0	19.3	67.1	13.5	0
平均±標準偏差	15.5±3.1 (0.2 < P < 0.3)	61.0±4.7 (0.01 < P < 0.05)	23.3±5.8 (0.05 < P < 0.1)	
正常脾 (シアンメトヘモグロビン)	9.6	40.0	43.3	7.4

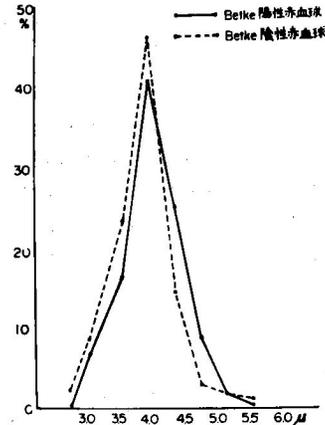


図10. Rauscher 白血病の Betke 染色における Price-Jones 曲線

3 アルカリ変性試験では2個あるいはそれ以上の成分を存在していることを示唆し, 正常マウスのアルカリ変性試験と同様であった.

4 溶血液の澱粉ゲル電気泳動では, 胎生後期及び成熟マウスと同様4分画を示し, 電気泳動上識別される異常血色素は存在しなかった.

しかし末梢血のヘモグロビンの各分画比は正常マウスにくらべて白血病の進展とともにII分画は漸次増加し, I及びIII分画は減少した. 脾溶血液でもII分画は増加したが, I及びIII分画は正常マウスと差なく, IV分画は全く認められなかった.

5 Betke 陽性赤血球は成熟赤血球1000に対しウイルス接種後漸増し進展期には271に達した.

V 考 按

血色素は Rauscher 白血病の赤血球系腫瘍細胞で合成されることが報告されており,¹⁾ しかも血色素合成は Erythron の分化の特徴的過程であるから, 赤血球系腫瘍細胞もある程度の分化の性質を持っていると考えられる.²⁾

したがって腫瘍性赤芽球における血色素合成の異常が腫瘍性赤芽球をふくむ末梢血の血色素に変化をきたす可能性がある。

さて最近数年間に蛋白質の合成過程に関する知見がいちじるしく豊富になってきた。すなわち蛋白質の生合成は遺伝的に規制されていることが判明し、Jacob & Mond が独創的な model⁶⁾ を提出したのを契機としてヘモグロビンの生合成もこの model をあてはめて説明しようとする多くの試みがなされている。^{7) 10)} しかしこの理論は細菌の研究から導かれたものであり、哺乳類の体細胞の分化に対しては殆んど不明であるが、この理論を多細胞動物の体細胞の場合にあてはめてみて今のところ何等の矛盾もきたさない。¹¹⁾

Rauscher 白血病の吸収曲線は正常マウスの吸収曲線と同様であり、アルカリ変性試験でも Rauscher 白血病溶血液は正常マウス溶血液と同様の態度を示したのは家鶏のウィルス性白血病と同様であった。³⁾

Rauscher 白血病溶血液の澱粉ゲル電気泳動において正常マウスと同様の4分画を示した。これは Rauscher ウイルスによっては赤芽球の構造遺伝子に突然変異をきたさず従って電気泳動上識別される異常血色素を惹起しなかったことを示している。同様にラッテ肝癌の乳酸脱水素酵素、¹²⁾G-6-P, リンゴ酸, α -グリセロリン酸の各脱水素酵素や GOT, GPT のアインザイムパターンからも癌細胞に変異酵素の出現は認めていないが、一方直良¹³⁾ は発癌物質と2つのオペロンを組合せて DNA の構造変化を伴わない表現形質の転換の可能性を説明している。事実家鶏のウィルス性白血病でも異常血色素の可能性を指摘しながらも電気泳動上識別される異常血色素は存在しなかった。³⁾ 同様な報告は組織培養で確立された Friend 白血病⁹⁾ Moloney 白血病⁷⁾ ヒトの腫瘍性の赤血球細胞の増殖を示す di Gugliermo's Syndrome^{14) 15) 16) 17)} 小児の慢性骨髄性白血病¹⁸⁾ 小児の急性骨髄性白血病¹⁹⁾ 及び小児の各種白血病²⁰⁾ でも見られた。

ひるがえって Huebner はすべての癌は C 型 RNA ウイルスによって起るという興味ある仮説を発表した。^{21) 22)} これによると宿主の制製遺伝子や抑制因子、さらに発癌物質は垂直伝播してくる oncogenes や, virogenes 機能の発現を制製しているとしている。更に Jacob & Mond の model⁶⁾ をあてはめるならば Rauscher 白血病において宿主の制製遺伝子や抑制因子の脱抑制が考えられ、このために血色素合成

の imbalance —Thalassemia 類似状態をきたす可能性がある。^{3) 23)}

Rauscher 白血病では末梢血液像の変化として低色素性貧血、成熟赤血球の大小不同、奇形、標的赤血球を示し、種々の成熟段階にある赤芽球が出現し塩基性の強い網状赤血球も出現するが赤血球の超生体染色で封入体又はハインツ小体は認めなかった。

⁵¹Cr 標識法による赤血球寿命の短縮等から溶血の存在が確認されており、⁵⁹Fe による Ferrokinetics の分析より、初期における無効造血、即ち Rauscher ウイルスによる脾における赤芽球系細胞の腫瘍性増殖があり、白血病進展期には溶血性貧血の合併による赤芽球系細胞の末梢血中への成熟促進が認められている。^{24) 25)} これらの所見はヒトの Thalassemia の所見と非常に類似し、^{26) 27) 28)} 又横路²⁹⁾ は Rauscher 白血病の末期に出現する Poikilocyte が Thalassemia の際に出現するものに類似しており一般に寿命が短く貧血の原因になることを指摘している。

Rauscher 白血病マウスの溶血液の電気泳動では正常マウスと同一の分画を示したが、正常マウスと比較して白血病の進展とともにII分画は漸次増加し、I, III分画は減少する傾向があり、これは正常マウスの胎生後期の分画比に一致する。ヒトの骨髄と同様の主要な赤血球造血の場であり、³⁰⁾ 更に Rauscher 白血病における腫瘍性赤血球増殖の指標とされる脾臓の溶血液でもこの傾向は更に明瞭に認められII分画の増加が赤血球系細胞の腫瘍性増殖と関連があることが示された。

ウイルス感染による赤血球さらに血色素合成の異常に関する報告については、まず家鶏の白血病で泳動上2つの分画の割合は同じであるがウイルスの感染した細胞の何等かの genotype の変化が細胞——ウイルスの関係を変化せしめることを推定し、³⁾ Moloney 白血病では赤血球抵抗の変化より fetal-type erythrocyte の増加を指摘している。⁷⁾ 又 Sundelin 及び Adams は Rauscher 白血病肝の結節性赤血球系腫瘍細胞の RNA 量が同程度にヘモグロビン合成を行っているフェニールヒドラジンによる再生骨髄細胞よりも有意に低く、Rauscher 白血病では RNA 代謝のパターンがウイルスによって変化を受けることによりヘモグロビン合成の過程の乱れをきたす可能性を推定している。⁵⁾ 著者の実験においてもフェニールヒドラジン貧血マウス(赤血球数 980×10^4 , Sahli 65%, Ret. 119%, ハインツ小体 70~80%) の溶血液の澱粉ゲル電気泳動では血色素の分画比は

正常マウスと同様であり Rauscher 白血病のような変化は認めなかった。

さきに Rauscher 白血病溶血液の電気泳動におけるヘモグロビン分画比の胎生後期分画比への類似性をのべたが、更に胎児性性格を有する Bethe 陽性赤血球の増加はともに癌は遺伝子発現のパターンの乱れによって生じた dis-differentiation の状態であることを示唆し興味深い。Morris 肝癌で A 型 (筋肉型) と B 型 (肝臓型) Aldolase が合成され、A 型及び B 型遺伝子がともに Switch on の状態にあり、吉田腹水肝癌 AH 130 においては A 型遺伝子のみ on の状態にあり、更に C 型 (脳型) Aldolase も産生する。²¹⁾ その他分岐鎖アミノ酸トランスアミナーゼでも肝癌細胞中に脳型酵素が出現し、²²⁾ 肝へキソキナーゼでも Morris 肝癌と吉田腹水肝癌で遺伝子発現が異なることが報告されている。²³⁾ この dis-differentiation の中には、adult の細胞が癌化して胎児性物質の生産を再開するか、または胎児型化する逆戻り現象も含まれる。最近 Abelev は原発性肝癌患者の血清中に胎児にのみ存在する蛋白の一つ、 α -feto-protein が含まれていることを発見した。²⁴⁾ 更にヒト白血病ないし悪性腫瘍における HbF の増加及びヘモグロビン合成の imbalance を指摘する報告がある。即ち小児の赤白血病、²⁵⁾ 小児の急性骨髄性白血病²⁶⁾ その他小児の各種白血病²⁷⁾ で HbF の増加、HbA₂ の減少、小児の慢性骨髄性白血病²⁸⁾ でも同様の傾向を認め Carbonic anhydrase 活性が低下し、ヘモグロビン及び赤血球内酵素が胎児型にかえることが報告されている。同様に大人の白血病、²⁹⁾ 気管支性の扁平上皮癌³⁰⁾ で HbF が増加すること、 α -Thalassemia に悪性胸腺腫の合併で HbF の増加及び Hb Bart's が出現し、³¹⁾ preleukemic と仮定されている、Refractory anemia でも HbF の増加、時に HbH 及び Hb Bart's の出現すること、³²⁾ 非典型的な慢性骨髄性白血病で赤血球中の封入体及び HbH を認め³³⁾ その他赤白血病³⁴⁾ とも同様のことが報告されている。

Rauscher 白血病の進展とともに Betke 陽性赤血球及び網赤血球の増加をきたすが、この増加の程度は一致せず両者の間には discrepancy が存在する。Moloney 白血病でも網赤血球と fetal erythrocyte の間には明らかな関係がないと指摘されているのと似ている。⁷⁾ さらに Rauscher 白血病の Bethe 染色において個々の赤血球の染色状態に濃淡があるが、ヒト β -Thalassemia、白血病及び赤白血病では Betke 染色において個々の赤血球における HbF 含量

は不同であり、³⁵⁾ preleukemic と仮定されている Refractory anemia でも同じことが報告されている。³⁶⁾

しかしヒトの場合、急性出血時及び Thalassemia で世代時間の短縮した幼若赤血球が増殖し、HbF 含有赤芽球の早期脱核を起し末梢血中に HbA 含有赤血球よりも大型の HbF 含有赤血球が現われるとのべている。⁴²⁾⁴³⁾ Rauscher 白血病でも先にのべたように赤血球系細胞の成熟促進が示唆されているが Betke 陽性赤血球は Betke 陰性赤血球と殆んど同じ大きさを示しこの点一致しない。(図10)

以上のように Rauscher 白血病における溶血液の澱粉ゲル電気泳動において、白血病の進展とともにマウスの胎生後期のパターンを示し、更に Betke 陽性赤血球が増加し Rauscher 白血病における血色素合成が胎児性変化をきたしたことを示唆し、共に赤血球系細胞の腫瘍性変化と関連することが推定された。しかし単に腫瘍性の変化をきたすだけでなく、先述した如く Rauscher 白血病の血液学的所見から Thalassemia 類似の状態をきたしたことも十分考えられる。すなわちヒト Thalassemia minor についての定義は必ずしも統一的なものはないが、Thalassemia はグロビンをつくるポリペプチド鎖の生成が遺伝的欠陥によって不良であるため異常血色素は出現しないが、ヘモグロビン分画比の変化をきたし、又(1)小球性低色素性貧血 (2)血清鉄の減少のないこと (3)赤血球滲透圧抵抗の増強 (4)溶血亢進の徴候のあることを特徴とする症候群であるとされており、Rauscher 白血病における前述のヘモグロビン分画比の変化、低色素性貧血、血清鉄の増加、赤血球抵抗の増強、溶血の存在、Betke 陽性赤血球の染色態度が homogeneous でないこと及び奇形赤血球の出現等は Thalassemia 症候群に類似する。

以上述べてきたところから腫瘍細胞の dis-differentiation としての胎児性変化と制御遺伝子や抑制因子の脱抑制による Thalassemia 類似状態の出現が考えられたが、Thalassemia 症候群にしばしば HbF が増加することから両者の間には関連があるかもしれない。

しかし Rauscher 白血病における Thalassemia 類似の状態を明白に決定するには、マウスヘモグロビンの各分画のポリペプチド鎖の決定、その構造遺伝子座位の決定及びそのアミノ酸配列順序の決定等マウスヘモグロビンの基礎的性格を明らかにするとともに molecular biology と viral oncology の結合した molecular oncology の面よりの検討が必

要である。

VI 結 語

Rauscher ウイルス性白血病の血色素の変化を検索し、溶血液の吸収曲線では OxyHb 型の吸収曲線を認め、アルカリ変性試験では2つ又はそれ以上の成分の存在を示唆し、溶血液の澱粉ゲル電気泳動では正常マウスに比較し白血病の進展とともにII分画が増加し、I及びIII分画は減少した。脾溶血液でもII分画が増加した。Betke 陽性赤血球はウイルス接種後漸増し、進展期には著明に増加した。

以上第1および第2編の結果より Rauscher 白血

病における赤血球系細胞の血色素合成の異常が明らかにされ胎児性変化と共に Thalassemia 類似状態が惹起されていることが推定された。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師平木潔教授に深甚の謝意を表します。又終始多大の御援助と御指導をいただいた平木内科入野昭三講師、瀬崎達雄講師に深謝いたします。

(本論文の要旨は昭和42年第26回、昭和43年第27回、昭和44年第28回日本癌学会総会、昭和42年第29回、昭和43年第30回日本血液学会総会、昭和43年第10回臨床血液学会総会及び昭和45年第21回電気泳動学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Rauscher, F. J. : A Virus-Induced Disease of Mice Characterized by Erythrocytopoiesis and Lymphoid Leukemia. *J. Nat. Cancer Inst.*, **29**: 515~532, 1962.
- 2) 入野昭三, 大里尚司, 駄場崎 浩, 平木潔: Rauscher ウイルスと Rauscher 病 第1報 Rauscher 病における末梢血液像の経時的変化と Rauscher 細胞の出現. *医学と生物学*, **72**: 305~309, 1966.
- 3) Ambs, E. & Thorell, B. : On the Type of Hemoglobin in the Neoplastic Cell of Virus-Induced Fowl Erythroleukemia. *J. Nat. Cancer Inst.*, **25**: 685~695, 1960.
- 4) Cowles, J., Saikkonen, J. & Thorell, B. : On the Presence of Hemoglobin in Erythroleukemia Cells. *Blood*, **13**: 1176~1184, 1958.
- 5) Sundelin, P. & Adams, L. R. : DNA, RNA and Hemoglobin Cytophotometry of Maturing Erythroid Cells from Liver Nodules in Rauscher Virus Infected Mice. *Int. J. Cancer*, **2**: 544~550, 1967.
- 6) Scher, W., Holland, J. G. & Friend, C. : Hemoglobin Synthesis in Murine Virus-induced Leukemic Cells In Vitro. I. Partial Purification and Identification of Hemoglobins. *Blood*, **37**: 428~437, 1971.
- 7) Vernick, S. H., Lloyd, B. J., Perk, K. and Sims, H. : Further Studies on the Erythrocytic Host Response in Moloney Murine Leukemia. *Cancer Research*, **28**: 1631~1636, 1968.
- 8) Jacob, F. and Mond, J. : Genetic Regulatory Mechanism in the Synthesis of Proteins. *J. Mol. Biol.*, **3**: 318~356, 1961.
- 9) Motulski, A. G. : Controller Genes in Synthesis of Human Hemoglobin. *Nature*, **194**: 607~609, 1962.
- 10) Zuckerkandl, E. : Controller-Gene Disease: The Operon Model as applied to β -Thalassemia, Familial Fetal Hemoglobinemia and the Normal Switch from the Production of Fetal Hemoglobin to that of Adult Hemoglobin. *J. Mol. Biol.*, **8**: 128~147, 1964.
- 11) Flickinger, R. A. : Cell Differentiation: Some Aspects of the Problem. *Science*, **141**: 608~614, 1963.
- 12) 大橋望彦: ガン細胞のアイソザイム. 蛋白質核酸酵素, **9**: 1143~1152, 1964.
- 13) 直良博人: ガンの生物学. 科学, **34**: 209~214, 1964.
- 14) Scott, R. B., Ellison, R. R. & Ley, A. B. : A Clinical Study of Twenty Cases of

- Erythroleukemia (di Guglielmo's Syndrome). Amer. J. Med., **37**: 162~171, 1964.
- 15) Sheets, R. F., Dreverts, C. C. & Hamilton, H. E. : Erythroleukemia (di Guglielmo Syndrome). Arch. Internal med., **111**: 295~306, 1963.
 - 16) Horton, B. F., Chernoff, A. I. & Meadows, R. W. : The Hemoglobin Profile and Erythroleukemia. Cancer, **26**: 904~910, 1970.
 - 17) Aksoy, M. & Erdem, S. : Decrease in the Concentration of Hemoglobin A₂ during Erythroleukemia. Nature, **196**: 522~523, 1967.
 - 18) Weatherall, D. J., Edwards, J. A. & Donohoe, W. T. A. : Haemoglobin and Red Cell Enzyme Changes in Juvenile Myeloid Leukaemia. Brit. Med. J., **16**: 679~681, 1968.
 - 19) Shuster, S., Jones, J. H. & Kilpatrick, G. S. : Leukemia and Foetal Haemoglobin : A Case Study. Brit. Med. J., **26**: 1556~1558, 1960.
 - 20) Cavdar, A., Arcasoy, A. & Gözdaş, oğlu, S. : Hemoglobin Analysis in Leukemia. (A study of A₂, Abnormal and Fetal Hemoglobin) Acta Med. Turcica, **5**: 19~26, 1968.
 - 21) Aaronson, S. T., Hartley, J. W. & Tadaro, G. J. : Mouse Leukemia Virus: "Spontaneous" Release by Mouse Embryo Celles after Longterm in Vitro Cultivation. Proc. N. A. S., **64**: 87~94, 1969.
 - 22) Huebner, R. J. & Tadaro, G. J. : Oncogenes of RNA Tumor Viruses as Determinants of Cancer. Proc. N. A. S., **64**: 1087~1094, 1969.
 - 23) Weatherall, D. J. : The Thalassemia Syndromes, PP201~205, Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1965.
 - 24) 入野昭三 : 第10回日本癌学会シンポジウム実験白血病 Rauscher ウイルスによるマウス白血病発症. 医学のあゆみ, **76**: 507, 昭和46年
 - 25) Brodski, I. & Kahn, S. B. : Effect of a Leukemia Virus on Erythropoiesis. J. Nat. Cancer Inst., **42**: 39~49, 1969.
 - 26) McCurdy, P. R. : Erythrokinetics in Abnormal Hemoglobin Syndromes. Blood, **20**: 686~699, 1962.
 - 27) Ohta, Y. : An Investigation of Abnormal Hemoglobins in Southern Japan. 2. Second Case of Thalassemia Minor Discovered in Fukuoka, Kyushu, Japan. Ja J. Human Genet., **9**: 10~17, 1964.
 - 28) 山田英雄, 長瀬弘明 : 日本人 Thalassemia について—— β thalassemia minor の一家系の検討と本邦人 Thalassemia 報告例の文献的考察——最新医学, **24**: 2283~2294, 昭和44年
 - 29) 横路謙次郎 : 実験白血病 : Rauscher 病の病理発生並びに細胞学的研究. 日本血液学会雑誌, **28**: 848~859~昭和40年
 - 30) Brodsky, I., Dennis, L. H., Kahn, S. B. & Brady, L. W. : Normal Mouse Erythropoiesis I. The Role of the Spleen in Mouse Erythropoiesis. Cancer Research, **26**: 198~201, 1966.
 - 31) Matsushima, T., Kawade, S., Shibuya, M. & Sugimura, T. : Aldolase Isozymes in Rat Tumor Cells. Biochem. Biophys. Res. Commun., **30**: 565~570, 1968.
 - 32) 小川紘一, 市原 明 : ネズミ腹水腫瘍細胞の分岐鎖アミノ酸トランスアミナーゼ, 医化学シンポジウム, **7**: 167~170, 1967.
 - 33) Sato, S., Matsushima, T. & Sugimura, T. : Hexokinase Isozyme Pattern of Experimental Hepatomas of Rats. Cancer Research, **29**: 1437~1446, 1969.
 - 34) Abelev, G. I. : Production of Embryonal Serum α -globulin by Hepatomas : Review of Experimental and Clinical Data. Cancer Research, **29**: 1344~1350, 1968.
 - 35) Beaven, G. H., Ellis, M. J. & White, J. C. : Studies on Human Foetal Haemogl-

- obin . II. Foetal Haemoglobin Levels in Healthy Children and Adults and in Certain Haematological Disorders . Brit . J . Haemat . , 6 : 201~222, 1960.
- 36) Nyman , M . , Skölling , R . & Steiner , H . : Acquired Macrocytic Anemia and Hemoglobinopathy —A Paraneoplastic Manifestation ? Ame . J . Med . , 48 : 792~797, 1970.
 - 37) Imamura , T . , Ohta , Y . & Hanada , M . : The Occurrence of Hemoglobins Bart's and F Associated With Carbonic Anhydrase Deficiency In A Patient With Alpha-Thalassemia And Malignant Thymoma . Blood , 32 : 71~82, 1968.
 - 38) Rochant , H . , Dreyfus , B . , Bouguerra , M . & Tont-Hat , H . : Refractory Anemias , Preleukemic Conditions , and Fetal Erythropoiesis . Blood , 39 : 721~726, 1972.
 - 39) Beaven , G . H . , Stevens , B . L . , Dance , N . & White , J . C . : Occurrence of Haemoglobin H in Leukaemia . Nature , 199 : 1297~1298, 1963.
 - 40) Necheles , T . F . & Dameshek , W . : The Di Guglielmo Syndrome : Studies in Hemoglobin Synthesis . Blood , 29 : 550~553, 1967.
 - 41) White , J . C . , Ellis , M . , Coleman , P . N . , Beaven , G . H . , Gratzner , W . B . , Shooter , E . M . & Skinner , E . R . : An Unstable Haemoglobin Associated with Some Cases of Leukaemia . Brit . J . Haemat . , 6 : 171~177, 1960.
 - 42) Fujiki , N . : Thalassemia Syndrome Found in Japan . 日本血液学会雑誌 , 31 : 861~890, 昭和43年.
 - 43) 永井清保, 石津久在衛門, 垣下栄三: 胎児ヘモグロビン産生と赤芽球動態に関する研究. 日本血液学会雑誌 , 34 : 1 ~ 9, 昭和46年.

Studies on Hemoglobin in Rauscher Leukemia

II. Studies on the Changes of Hemoglobin in Rauscher Leukemia Mouse

by

Takashi Fuke

Department of Internal Medicine,
Okayama University Medical School.
(Director : Prof . K. Hiraki)

In the study of the changes in hemoglobin of Rauscher leukemia an OxyHb type of absorption curve was observed in the absorption curve of hemolysate, the existence of two or more components was suggested, and compared with the normal mouse, the 2nd component was observed to increase with the advance of leukemia in starch-gel electrophoresis of hemolysate, while the 1st and 3rd components were observed to decrease. In spleen hemolysate, too, the 2nd component was observed to increase. Betke-positive erythrocytes were observed to increase in number after virus inoculation and amount to 271 to 1,000 mature erythrocytes at an advanced stage.

From the above-mentioned observations the conclusion was arrived at that the fetus change in a form of dis-differentiation of tumor cells caused by Rauscher virus and Thalassemia-like condition caused by the derepression of regulator genes and repressors would appear.