

白血病細胞の糖代謝に関する研究

第 2 編

白血病及び前白血病期マウスの脾の呼吸解糖値について

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

副 手 深 津 栄 一

[昭和42年6月28日受稿]

目 次

第1章 緒 言	第1節 正常 DBA 系マウス脾の呼吸解糖値
第2章 実験方法	第2節 DBA 系マウスの前白血病期における呼吸解糖値
第1節 実験動物	第3節 DBA 系マウスのリンパ性白血病期における脾の呼吸解糖値
第2節 実験材料の調整	第4節 糖呼吸について
第3節 浮 游 液	第5節 総 括
第4節 実験装置	第4章 考 按
第5節 測定開始までの時間	第5章 結 語
第6節 脾 重 量	
第7節 代謝係数	
第3章 実験成績	

第1章 緒 言

腫瘍細胞の糖質代謝については1924年 Warburg⁵¹⁾⁵²⁾により癌組織における旺盛な好気性並びに嫌気性解糖が明らかにされたが、この事実はそれ以来数多くの研究者により確認され、また数多くの癌の生化学的特性の中ですべての癌に共通している点で重要なものとされている。一方、白血病の本態に関しては Furth¹⁵⁾、緒方⁵⁶⁾等の提唱する腫瘍説が現在最も有力であるが、白血病腫瘍説という立場をとる以上、白血病細胞の代謝の研究は癌と関連して非常に興味ある問題である。また実験白血病は比較的その原発組織をとらえ易く、従つてその原発組織について白血病発生過程の代謝的特性を究明することは白血病のみならず、悪性腫瘍の自主的増殖の本態あるいは発癌のメカニズムの解明に有力な手がかりを与えるものとして早急に解決さるべき問題と考えられる。

白血病患者の末梢血液について酸素消費量を最初に測定したのは Grafe¹⁷⁾であり、ついで Daland and Isaacs¹¹⁾、Schmitz and Glover³⁰⁾、Glover, Daland and Schmitz¹⁶⁾、Schlossmann³⁸⁾、勝沼⁵⁸⁾、林⁶⁵⁾、津田⁶²⁾

等により呼吸解糖の亢進が報告されている。一方、Barron and Harrop³⁾、Bird⁴⁾、Renmele³³⁾等は白血病白血球と腫瘍の物質代謝の相似性を研究し、白血病細胞は腫瘍組織と類似する所はないと述べている。これらの成績はいずれも末梢血液についての成績であり、白血病細胞の増殖の場である骨髓、リンパ系組織等における白血病細胞は末梢血中に流出した白血病細胞とは異つた性格が認められるかも知れないという問題を残している。

骨髓の呼吸解糖作用については、Schretzenmayer and Bröcheler⁴¹⁾、Bock and Felix⁶⁾、津田⁶²⁾、永井⁶³⁾、真田⁶¹⁾等による健康人及び諸種疾患患者についての報告がある。教室真田は種々の白血病患者の骨髓穿刺液の呼吸解糖作用を測定し、急性骨髄性及び単球性白血病では呼吸、解糖共に亢進するが、リンパ性白血病では低下すると述べ、リンパ性白血病では骨髓を対照として比較することは不適當であると報告している。一方、血液疾患においてリンパ系組織であるリンパ腺、脾、胸腺等についての呼吸解糖能に関する研究は未だ数が少ない。ヒトのリンパ腺に関するものは Jackson²¹⁾らによる Malignant Lymphoma についての報告をみるにすぎない。ヒト

白血病と非常に類似しているマウス白血病では、Victor and Potter⁴³⁾⁻⁴⁹⁾, Hall and Furth¹⁰⁾, Burk et al⁹⁾ 等による報告がある。即ち Victor and Potter, Hall and Furth 等は自然発生及び移植リンパ性白血病マウスのリンパ腺について検討し、呼吸解糖能の亢進を報告している。しかし一方、Burk et al⁹⁾ はメチルコラントレン及びブレ線による誘発リンパ性白血病マウスのリンパ腺、脾の呼吸解糖能につき検索し、正常リンパ腺との間に差は認められなかつたと報告した。最近、教室岡田⁵⁰⁾ はマウスのリンパ性白血病につき、細胞学的、組織学的検索ならびに教室考案の組織培養法等によりその初発部位が脾であることを見出した。ここにおいて、著者は白血病細胞の糖質代謝ならびに白血病の発生或いはその進展過程の生化学的解明を目的として DBA 系マウスのメチルコラントレン誘発リンパ性白血病及びその前白血病期における脾の呼吸解糖作用を測定し、興味ある知見を得たので報告する。

第2章 実験方法

第1節 実験動物

本学マウスコロニー由来の生後2ヶ月の DBA 系マウスのメチルコラントレン背部皮膚塗布により誘発せしめたリンパ性白血病14例ならびに前白血病期マウス17例である。なお前白血病期とはメチルコラントレン塗布開始後32日より80日に亘る未だ末梢血液に白血性変化の認められない状態と規定する。リンパ性白血病の診断は末梢血液像、組織学的検索ならびに教室考案の組織培養法によつた。なお対照として生後5ヶ月の正常 DBA 系マウスを使用した。

第2節 実験材料の調整

マウスは頸骨脱臼により屠殺後直ちに開腹脾摘し、第1編に述べたと同様に脾切片を作製した。また脾スタンプ標本を作製し May-Giemsa 染色にて脾細胞像を観察した。

第3節 浮游液

浮游液は第1編に述べたと同様に作製した。なお、糖呼吸測定用には0.2%になるように glucose を添加した。

第4節 実験装置

第1編において述べた如く、呼吸解糖作用測定は Warburg 検圧計を用い、藤田⁶⁶⁾ の方法に従つて直接法で行つた。

第5節 測定開始までの時間

以上の操作は可及的無菌的に行い、マウス屠殺後検圧開始までの時間は約60分である。

第6節 脾重量

第1編に述べた方法と同じようにして検圧終了後脾乾燥重量を測定した。

第7節 代謝係数

呼吸値は脾乾燥重量 1mg につき1時間に消費した酸素量 (cmm) を正の数で表わし、好気性及び嫌気性解糖値も同様の条件で発生せる炭酸ガス量 (cmm) を示すものであり、次式によつてそれぞれ算出される。

$$\text{呼吸値 (Q}_{O_2}\text{)} = \frac{\text{消費せる酸素量 (cmm)}}{\text{乾燥重量 (mg)} \times \text{時間 (hr)}}$$

$$\text{好気性解糖値 (Q}_{M}^{O_2}\text{)} = \frac{\text{含酸素氣中解糖作用により発生せる炭酸量 (cmm)}}{\text{乾燥重量 (mg)} \times \text{時間 (hr)}}$$

$$\text{嫌気性解糖値 (Q}_{M}^{N_2}\text{)} = \frac{\text{窒素中解糖作用により発生せる炭酸量 (cmm)}}{\text{乾燥重量 (mg)} \times \text{時間 (hr)}}$$

第3章 実験成績

第1節 正常 DBA 系マウス脾の呼吸解糖値

10例についての成績は表1に示す如くである。呼

表1 正常 DBA 系マウス脾の呼吸解糖値

マウス番号	性	呼吸値	好気性解糖値	嫌気性解糖値
151	♂	8.9	2.9	6.1
152	♂	8.1	1.6	5.7
153	♂	7.4	1.8	5.5
154	♀	8.8	1.2	5.7
155	♀	7.0	1.4	6.6
156	♂	7.7	1.5	5.2
157	♂	7.9	1.1	6.3
158	♂	7.0	1.2	5.6
159	♀	7.0	1.2	5.7
160	♀	7.7	1.7	6.6
平均値 ±標準偏差		7.75±0.66	1.56±0.50	5.90±0.45

吸値(Q_{O₂}と略す)は最高8.9、高低7.0で、平均7.75±0.66(標準偏差、以下同じ)である。好気性解糖値(Q_M^{O₂}と略す)は最高2.9、最低1.2で平均1.56±0.50であり、嫌気性解糖値(Q_M^{N₂}と略す)は最高6.6、最低5.2で平均5.90±0.45である。個々の症例についての脾細胞像は表2に示す如くで、リンパ

表 2 正常 DBA 系マウスの末梢血液像及び脾細胞像

マウス番号	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	
性別	♂	♂	♂	♀	♀	♂	♂	♂	♀	♀	
体重 (g)	26	25	22	24	24	22	23	23	22	22	
脾重量 (mg)	100	90	100	80	90	70	70	70	70	90	
末梢血液像	血色素量 (%)	102	100	101	103	104	97	98	96	102	104
	赤血球数 (×10 ⁴)	1270	1271	1283	1325	1353	1257	1240	1315	1390	1315
	白血球数	16000	10250	16500	10250	23000	17600	8750	12000	10425	17250
血液像分類	桿状核球	1	6	4	3	4	2	3	4	2	2
	分葉核球	16	19	23	16	16	24	38	21	21	18
	リンパ球	81	73	68	78	80	70	57	71	74	79
	単核球	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0
	好酸球	2	2	3	2	0	3	2	4	3	1
	その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脾細胞像	赤芽球系	9.2	6.0	17.2	4.4	5.2	1.2	3.6	1.6	1.6	5.2
	好中球系	4.0	4.0	2.0	2.4	3.6	1.6	3.2	2.8	2.4	2.0
	リンパ芽球	0.8	1.6	0.8	0.8	1.2	0.8	1.6	2.0	0.4	0.8
	リンパ球	85.2	88.0	78.4	92.0	89.6	96.4	91.2	92.8	95.2	91.2
	単核球	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	好酸球	0.4	0	1.2	0	0	0	0	0.4	0	0
	好塩基球	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他	細網核細胞	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0	0.4	0.4	0.4	0.8
	巨核細胞	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	核分割像	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表 3 DBA 系マウスの前白血病期脾の呼吸解糖値

マウス番号	性別	呼吸値	好気性糖解糖値	嫌気性糖解糖値
201	♂	7.6	1.5	6.0
202	♀	6.4	2.0	5.3
203	♀	6.6	3.3	6.5
204	♀	7.2	2.9	5.3
205	♂	8.6	2.5	6.3
206	♂	8.4	1.8	6.4
207	♂	7.5	1.0	5.0
208	♀	8.0	3.1	8.8
209	♂	7.7	2.7	8.6
210	♂	7.5	4.2	8.0
211	♀	10.1	2.3	7.9
212	♂	9.0	2.9	8.2
213	♀	10.7	3.7	8.3
214	♀	10.4	2.0	6.5
215	♀	7.1	1.4	7.1
216	♂	6.9	2.3	5.1
217	♂	7.8	3.0	7.8
平均値 ±標準偏差		8.09±1.25	2.50±0.86	6.88±1.30

球が78.4~96.4%を占めている。

第2節 DBA 系マウスの前白血病期における脾の呼吸解糖値

メチルコラントレン (MC) 塗布後 82日~80日迄の17例につき測定した。その成績は表3に示す如くである。Q_{O₂} は最高10.7, 最低6.4, 平均8.09±1.25であり, 対照に比し幾分高値を示したが有意差は認められなかった。Q_{M^{O₂}} は最高4.2, 最低1.0, 平均2.50±0.86と対照の1.6倍であり, 両者間に有意差 (P<0.05) を認めた。Q_{M^{N₂}} は最高8.8, 最低5.0, 平均6.88±1.30であり対照に比し約1.2倍の高値を示し有意差 (P<0.05) を認めた。脾細胞像は表4の如くで, 対照同様大部分がリンパ球により占められているが一部の症例においてはリンパ芽球の増加がみられた。リンパ芽球が5%以上を占めていた No. 203, 209, 210, 213, 214, 217 の6症例については Q_{O₂} 平均8.45, Q_{M^{O₂}} 平均3.15, Q_{M^{N₂}} 平均

表 4 DBA 系マウスの前白血病期に於ける MC 塗布日数、脾重量、末梢血液像及び脾細胞像

マウス番号	MC 塗布日数	性別	体重	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217
血色素量 (%)	82	88	84	85	88	86	93	89	80	84	84	84	84	84	82	96	88	92	89	
赤血球数 (×10 ⁴)	(88)	(92)	(96)	(96)	(92)	(102)	(102)	(100)	(100)	(99)	(99)	(99)	(104)	(100)	(106)	(99)	(99)	(95)	(92)	
白血球数	950	1130	1063	1031	922	957	1060	1021	995	915	978	915	978	933	1141	1018	1121	1137	1137	
	(971)	(1153)	(1235)	(1165)	(1083)	(1275)	(1223)	(1223)	(1233)	(1201)	(1252)	(1270)	(1270)	(1270)	(1275)	(1077)	(1103)	(1179)	(1176)	
	8800	27000	11500	9150	24000	25000	6850	9350	18750	21400	9750	12500	28500	18500	14600	14600	18500	14600	24750	
	(24250)	(10600)	(16000)	(28400)	(16250)	(8870)	(11300)	(14125)	(21000)	(2100)	(12500)	(14500)	(11300)	(7900)	(10400)	(9900)	(10400)	(9900)	(11900)	
桿状核白血球分類	5	4	1	6	3	2	2	3	2	3	3	3	5	6	4	13	3	9	2	8
	(2)	(4)	(2)	(3)	(5)	(7)	(3)	(4)	(3)	(7)	(4)	(3)	(7)	(5)	(3)	(5)	(3)	(7)	(3)	(2)
	14	12	29	33	13	11	19	18	17	15	18	17	15	40	37	31	14	29	32	28
	(19)	(37)	(36)	(24)	(40)	(29)	(24)	(28)	(32)	(33)	(28)	(32)	(33)	(26)	(32)	(44)	(25)	(24)	(30)	(28)
	79	83	70	58	82	86	76	75	77	77	75	77	51	56	54	83	60	63	63	
	(78)	(57)	(62)	(72)	(55)	(63)	(70)	(63)	(63)	(58)	(63)	(63)	(58)	(65)	(63)	(49)	(69)	(68)	(65)	
	2	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1
	(1)	(2)	(0)	(1)	(0)	(1)	(0)	(3)	(1)	(1)	(3)	(1)	(1)	(1)	(1)	(0)	(0)	(1)	(1)	(0)
	0	0	0	2	1	2	2	3	3	3	2	3	2	2	2	1	0	2	3	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(2)	(1)	(1)	(2)	(1)	(1)	(3)	(1)	(2)	(3)	(0)	(1)	(1)
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
赤芽球系	7.2	23.6	6.0	18.4	18.4	19.2	6.8	2.4	19.2	15.2	13.6	29.2	18.8	18.8	8.8	18.8	18.8	11.6	11.2	
好リリン	3.2	2.4	7.2	6.4	4.8	2.4	2.4	4.4	4.8	5.6	3.2	8.4	13.6	7.6	3.2	13.6	7.6	2.8	11.2	
好リリン	3.2	4.0	7.2	3.2	4.0	2.4	1.2	2.0	21.2	5.6	0.8	7.2	9.6	3.2	14.8	9.6	3.2	1.2	5.6	
好リリン	85.6	69.2	79.2	72.0	72.4	76.0	89.2	90.8	53.2	73.2	82.0	54.8	57.2	69.6	72.8	57.2	69.6	84.0	71.2	
好リリン	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
好リリン	0	0	0	0	0	0	0	0	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
好リリン	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
好リリン	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
好リリン	0.8	0.8	0.4	0	0.4	0	0.4	0.4	0.8	0.4	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.8	0.8	0.4	0.8	
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

() は MC 塗布前

7.61となり、いずれも対照及び前白血病期の平均値より高値を示した。即ち前白血期間において脾にリンパ芽球が増加しつつある症例は対照に比し代謝殊に解糖値の亢進がみられる。脾における髓外造血としての赤芽球系、顆粒球系細胞と代謝との間には何ら関係は見出し得なかつた。

第3節 DBA系マウスのリンパ性白血病期における脾の呼吸解糖値

白血病マウス14例について脾の呼吸解糖値を測定した成績は表5の如くである。 Q_{O_2} は最高11.3、最低7.1、平均 8.64 ± 1.20 であり、対照ならびに前白血病期のそれより有意の差 ($P < 0.05$) をもつて高値を示した。 $Q_M^{O_2}$ は最高6.9、最低2.1、平均 4.41 ± 1.55 であり、対照に比し約3倍、前白血病期のそれとは約1.8倍の亢進を示した。 $Q_M^{N_2}$ は最高21.7、最低7.8、平均 11.81 ± 3.17 であり、対照に比し約2倍、前白血病のそれとは約1.8倍の亢進を示した(図2)。脾細胞像は表6の如くで、対照とは異りリンパ芽球の百分率が増加する。リンパ芽球百分率と代謝係数との間の関係は図1に示す如く Q_{O_2} 、 $Q_M^{N_2}$ との間には正の相関々係が認められたが、 $Q_M^{O_2}$ との間には何ら関係は見出し得なかつた。

第4節 糖呼吸について

1929年 Crabtree¹⁰⁾ が癌組織における糖呼吸は内発呼吸より低いと報告して以来、種々の癌組織についての成績が報告されている。DBA系マウスの正

表5 DBA系マウスのリンパ性白血病脾の呼吸解糖値

マウス番号	性	呼吸値	好気性解糖値	嫌気性解糖値
221	♀	7.7	6.9	11.3
222	♀	7.1	4.7	7.8
223	♂	8.6	2.8	9.1
224	♂	7.9	3.8	9.2
225	♂	7.8	4.2	10.4
226	♀	7.7	6.5	10.9
227	♀	9.2	2.1	10.3
228	♀	11.3	6.5	21.7
229	♂	9.8	4.1	11.8
230	♀	9.7	3.2	13.5
231	♂	8.0	3.3	12.0
232	♂	9.4	3.5	13.1
233	♀	8.5	3.5	13.0
234	♀	8.3	6.7	11.3
平均値 ±標準偏差		8.64 ± 1.20	4.41 ± 1.55	11.81 ± 3.17

常、前白血病期、リンパ性白血病期の各脾についての成績は表7に示す如くである。正常脾5例についての糖呼吸は内発呼吸に比し3例において軽度上昇、2例に軽度低下を認める。しかし平均値では糖呼吸7.8、内発呼吸7.7で両者間に差は認められなかつた。前白血病期の脾5例では糖呼吸値は内発呼吸に比し3例は高値を、2例は低値を示したがその差は少ない。平均値では糖呼吸7.9、内発呼吸7.9で正

図1 脾スタンプ標本に於けるリンパ芽球百分率と代謝係数との関係

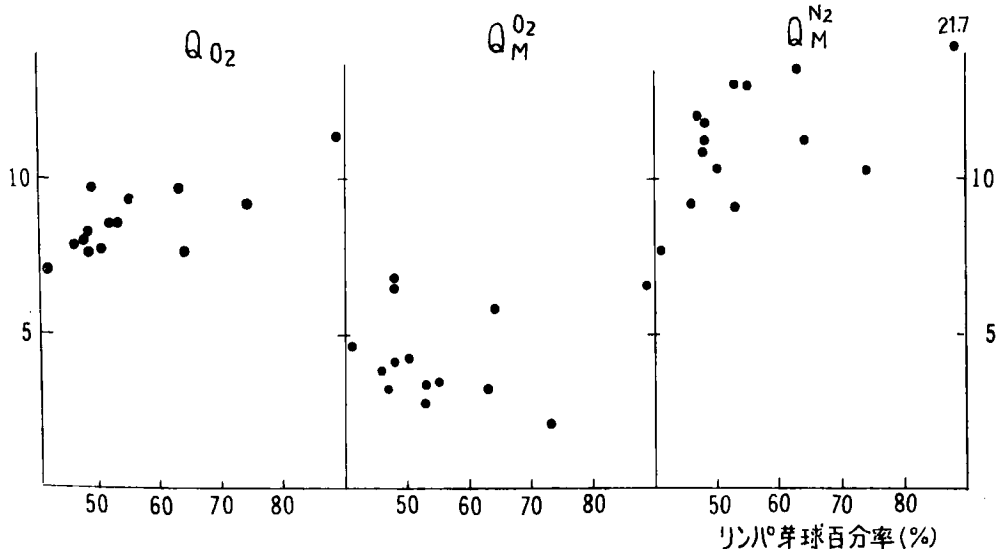


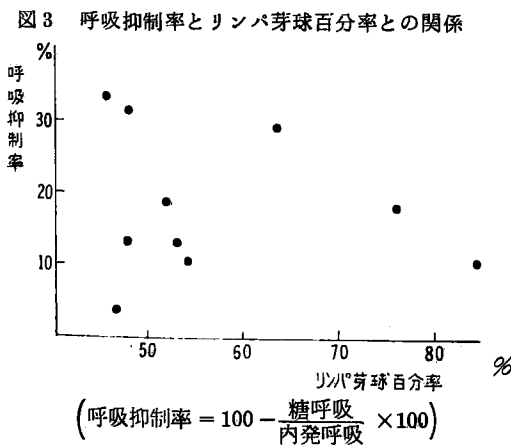
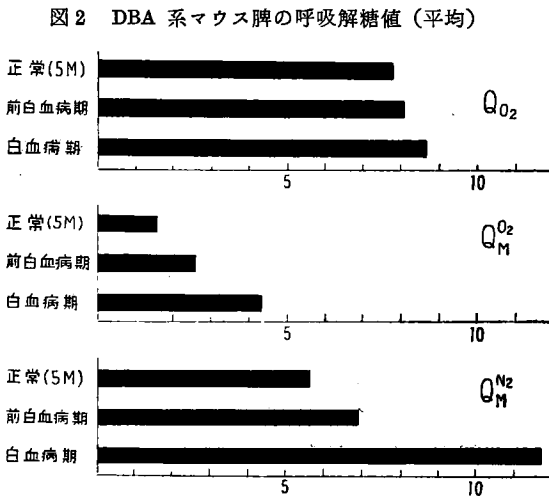
表 6 DBA 系マウスのリンパ性白血病病期に於ける MC 塗布日数、脾重量、末梢血液像及び脾細胞像

マウス番号	212	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234
MC 塗布後日数 (日)	78	89	110	88	89	121	121	71	86	80	88	102	104	115
性別	♀	♀	♂	♂	♂	♀	♀	♀	♂	♀	♂	♂	♀	♀
体重 (g)	25	23	24	22	24	20	23	16	19	19	24	23	24	21
脾重量 (mg)	570	300	400	385	420	320	540	800	470	470	450	640	440	350
血色素量 (%)	80 (98)	88 (108)	71 (99)	72 (98)	41 (99)	76 (99)	73 (102)	50 (98)	77 (93)	70 (98)	68 (99)	66 (108)	55 (100)	30 (95)
赤血球数 (×10 ⁴)	1156 (822)	922 (1365)	846 (1193)	791 (1183)	383 (1250)	833 (1266)	845 (1340)	625 (1225)	895 (1106)	778 (1185)	801 (1300)	787 (1345)	598 (1201)	365 (1285)
白血球数	297500 (17250)	243000 (9700)	31250 (10250)	67400 (11600)	48750 (12870)	87500 (6900)	72750 (11390)	598750 (7900)	247500 (12400)	124500 (7900)	106500 (5400)	131000 (15750)	286000 (8750)	55000 (8280)
桿状核リンパ	6 (2)	1 (2)	12 (3)	2 (5)	2 (6)	5 (6)	0 (3)	1 (1)	1 (6)	12 (5)	2 (4)	2 (7)	6 (4)	15 (2)
リンパ	13 (18)	1 (43)	7 (17)	6 (24)	9 (25)	18 (33)	4 (9)	2 (23)	1 (18)	4 (31)	3 (37)	0 (27)	10 (29)	14 (22)
単球	49 (0)	70 (0)	50 (0)	41 (0)	47 (0)	31 (0)	41 (0)	72 (0)	29 (0)	59 (0)	51 (0)	73 (0)	44 (0)	53 (0)
好酸	30 (76)	28 (54)	29 (77)	50 (88)	41 (68)	45 (60)	55 (86)	23 (74)	69 (74)	23 (62)	43 (59)	25 (63)	39 (63)	17 (76)
その他	0 (2)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	1 (0)
赤芽球	8.0	14.8	20.0	27.2	4.0	13.6	10.4	1.2	14.8	25.2	13.6	15.2	20.0	12.8
好中球	2.4	5.2	4.8	1.2	4.8	0.8	1.6	0.4	0.4	2.8	2.4	1.6	3.2	0.8
リンパ	64.0	41.2	52.8	46.0	49.6	48.0	73.6	89.6	48.4	62.8	46.8	54.4	52.4	47.6
単球	23.6	37.6	21.2	24.4	40.8	36.0	13.2	8.0	36.4	8.8	36.0	28.0	23.2	36.8
好酸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
好塩基	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脾細胞	1.6	0.8	0.4	0.4	30.8	0.4	0.8	0	0	0.4	1.2	0.8	0.4	0.8
その他	0.4	0.4	0.4	0.8	0	1.2	0.4	0.8	0	0	0	0	0.8	0.4
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

()内は MC 塗布前

表 7 DBA 系マウス脾の内発呼吸と糖呼吸

		マウス番号						平均					
呼吸値 (Q _{O₂})		リングル重曹液 (内発呼吸)	171	172	173	174	175	7.7					
		リングル重曹液+0.2% glucose (糖呼吸)	8.0	8.0	7.2	7.9	8.0	7.8					
		マウス番号						平均					
呼吸値 (Q _{O₂})		リングル重曹液 (内発呼吸)	241	242	243	244	245	7.9					
		リングル重曹液+0.2% glucose (糖呼吸)	7.8	7.0	8.0	8.5	8.1	7.9					
		マウス番号						平均					
呼吸値 (Q _{O₂})		リングル重曹液 (内発呼吸)	223	226	227	228	229	230	231	232	233	234	9.04
		リングル重曹液+0.2% glucose (糖呼吸)	8.6	7.7	9.2	11.2	9.8	9.7	8.0	9.4	8.5	8.3	7.38



常脾におけると同様差は認められなかつた。一方、リンパ性白血病脾10例においては全例に糖呼吸の低下を認めた。内発呼吸に比し糖呼吸の低下の最大は No. 231 の 66.3% であり、最小は No. 234 の 97.4% である。内発呼吸平均 9.04 に対し、糖呼吸平均 7.38 で、糖添加による呼吸抑制率は平均 18.5% であつた。呼吸抑制率と脾のリンパ芽球百分率との間には相関々係は認められなかつた (図 3)。

第5節 総括

以上の成績を総括すると次の如くである (図 2)。

1) DBA 系マウスにおいて MC 誘発リンパ性白血病が発生する以前の前白血病期の脾の Q_{O₂} は対照との間に差が認められなかつたが、Q_M^{O₂} 及び Q_M^{N₂} は対照と比し有意の高

表 8 DBA 系マウス脾の諸種係数比

代謝係数	正 常	前白血病	白血病
Pasteur 効果絶対値 Q _M ^{N₂} - Q _M ^{O₂}	4.34	4.38	6.4
Meyerhof 酸化係数 (Q _M ^{N₂} - Q _M ^{O₂}) × 3/Q _{O₂}	1.68	1.62	2.22
Warburg 商 Q _M ^{O₂} /Q _{O₂}	0.20	0.31	0.51
呼吸解糖比 Q _M ^{N₂} /Q _{O₂}	0.76	0.85	1.37

値を示した。

2) DBA系マウスのMC誘発リンパ性白血病においては Q_{O_2} , $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ のすべてが対照より高値を示した。就中、解糖値は対照に比し著明に高く、 $Q_M^{O_2}$ は約3倍、 $Q_M^{N_2}$ は約2倍の増加を示した。

3) リンパ性白血病脾の細胞像と Q_{O_2} , $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ との間には、リンパ芽球百分率と Q_{O_2} , $Q_M^{N_2}$ との間に正の相関々係が認められた。

4) 正常、前白血病、リンパ性白血病マウスの各々の脾の内発呼吸と糖呼吸とを比較すると、正常及び前白血病マウス脾では差が認められなかつたが、リンパ性白血病マウスの脾では糖呼吸の低下が全例において認められた。

第4章 考 按

1924年 O. Warburg⁵²⁾ は癌の糖質代謝を呼吸解糖面より検索し、癌は異常に高い好気性ならびに嫌気性解糖能を有し、腫瘍組織と胎生組織、正常組織との間には代謝の根本的な差異があることをみ出した。即ち、腫瘍組織は低い Q_{O_2} と異常に高い $Q_M^{O_2}$ 及び $Q_M^{N_2}$ を有するに対し、胎生組織は高い Q_{O_2} 及び $Q_M^{N_2}$ と低い $Q_M^{O_2}$ を、正常組織は中等度の Q_{O_2} と低い $Q_M^{O_2}$ 及び $Q_M^{N_2}$ を有すると述べている。従つて盛んな増殖力を有する造血組織や白血球及びその腫瘍性変化とみられる白血病細胞等が如何なる代謝様式を有するかも興味ある問題となつてくる。

最初に白血球の酸素消費を測定したのは1911年 Grafel⁷⁾ であり、白血病の末梢血は酸素消費が亢進し、骨髄性白血病におけるそれはリンパ性白血病におけるより著明であると報告した。一方、血球の解糖能に関しては1913年 Rona³⁵⁾ らが白血球は赤血球に比して解糖が大きいと報告し、次いで Mac Lean²⁷⁾ らは白血球と赤血球の解糖能の比は100:1乃至1000:1であると述べた。Bakker²⁾ は家兎腹腔滲出液中の多核白血球の呼吸解糖能を測定し、 $Q_M^{O_2}$ 及び $Q_M^{N_2}$ は高くその代謝様式は腫瘍型に似ていると報告した。更に Fleischmann¹³⁾ らは滲出液中の白血球と流血中の白血球の代謝の相違につき検討し、両者の相違点は $Q_M^{O_2}$ の大小であつて、滲出液中の白血球の $Q_M^{O_2}$ の大なるは細胞の障害によるためであると述べた。Fujita¹⁴⁾ は白鼠の末梢白血球の呼吸解糖値を測定し、 Q_{O_2} 9.2, $Q_M^{O_2}$ 2.6, $Q_M^{N_2}$ 20.6なる成績を報告し正常白血球の代謝様式は胎生型であるとした。

Daland¹¹⁾ らは正常及び慢性骨髄性白血病の末梢血の酸素消費を測定し、正常では殆んど酸素消費は認められないに反し、白血病血液では成熟細胞が多くなればなる程酸素消費も増大すると述べた。一方、Barron³⁾ らは正常白血球及び感染症の際の白血球と白血病の末梢白血球との代謝の相違について検索し、両者間には本質的に差がなく、白血病では呼吸解糖能の正常とみなされる多数の細胞が血球生成の程度を調節する機能が障害される為に流血中に放出されている状態であり、末梢白血球の成熟細胞の多いものと幼若細胞の多いものとの間に酸素消費量の差はないとして Daland らの説に反対した。Rin³⁴⁾ も同様、正常及び白血病細胞共に $Q_M^{O_2}$ は認められず、両者共胎生型の代謝様式を示すと述べている。Bossas⁷⁾ は人白血病において骨髄性は腫瘍型に、リンパ性は胎生型に類似していると述べ、骨髄性白血病に出現する $Q_M^{O_2}$ は細胞の障害の結果であろうと述べた。1930年 peschel³⁰⁾ は人リンパ性白血病4例につき呼吸解糖能を測定して Q_{O_2} 5.8, $Q_M^{O_2}$ 0, $Q_M^{N_2}$ 11.0なる成績を得、リンパ球は正常幼若組織型の代謝様式を示すと述べ、 Q_{O_2} は生成された乳酸を消滅させるに十分であると述べた。Schlossmann³⁸⁾ も1例のリンパ性白血病について peschel と同じ成績を報告している。

Glover¹⁸⁾ らは正常及び白血病細胞につき呼吸解糖能と細胞の成熟度との関係につき検討し、 Q_{O_2} は骨髄性、リンパ性白血病共細胞が成熟する程高く、これに反し $Q_M^{O_2}$ は骨髄性白血病細胞では成熟細胞で低くて、リンパ性白血病細胞では成熟度との間に差がなかつた。 $Q_M^{N_2}$ は成熟度との間に全く差が認められないとし、従つて正常白血球及び主として成熟細胞よりなる骨髄性白血病細胞は腫瘍型を、主として幼若細胞よりなる骨髄性白血病細胞及びリンパ性白血病細胞は胎生型の代謝様式をとると報告した。同様の報告は本邦勝沼⁶⁸⁾ によつて報告せられてゐる。一方、Ponder³¹⁾ らは家兎腹腔滲出液を使用し、その白血球の成熟度による Q_{O_2} の変化を検索し幼若な白血球程 Q_{O_2} は大であると述べている。Soffer⁴⁰⁾ らによると白血病細胞は正常白血球より呼吸解糖共亢進するがその差は少なく細胞の成熟度とは無関係であると述べ、顆粒球系細胞は腫瘍型に、リンパ球系細胞は胎生型であるという。Keible²²⁾ らは健康人及び白血病患者の白血球につき呼吸解糖能を測定し、顆粒球系細胞は正常白血球、白血病細胞共に

Q_{O_2} , $Q_M^{N_2}$ は成熟型程高値を示し、リンパ性白血病では顆粒球系細胞に比しすべて低値を示し中でも $Q_M^{O_2}$ は 0 に近いと述べた。

最近 Bird⁴⁾ らは健康人並びに白血病患者白血球について呼吸作用、乳酸生成量及び糖消費量を測定し、正常白血球と顆粒球系白血球細胞の間には差は認められず、リンパ性白血病細胞は乳酸生成量、糖消費量共に顆粒球系細胞より僅少であると報告した。また Beck and Valentine⁵⁾ も glucose に ATP, DPN, Cytochrome C 等の種々の基質を含有した溶液中での酸素消費量及び乳酸生成量、糖消費量を健康人ならびに白血病患者白血球につき測定し、酸素消費量、乳酸生成量、糖消費量共に正常白血球が最大であり、リンパ性白血病細胞が最小であると報告している。

以上の如く末梢血液の白血球の代謝については顆粒球系細胞は腫瘍型に、リンパ系細胞は胎生型に類似するという報告が多いが、個々の白血病細胞についての成績は一定していない。

さて白血病細胞の新生される骨髓の呼吸解糖作用については、教室真田⁶⁾により人骨髓穿刺液を用いて健康人及び白血病につき詳細に検討された。即ち、 Q_{O_2} は急性骨髓性白血病、単球性白血病に於いて亢進し、慢性骨髓性白血病では健康人と大差なく、リンパ性白血病では低下を示した。 $Q_M^{O_2}$ は急性骨髓性白血病のみが亢進を示し、慢性骨髓性、リンパ性白血病等では低下する。 $Q_M^{N_2}$ は急性骨髓性白血病、単球性白血病では著明に亢進し、慢性骨髓性白血病、リンパ性白血病では健康人と有意差がなく、慢性リンパ性白血病では低下すると述べている。以上の如く急性骨髓性白血病、単球性白血病ではすべて代謝が亢進しているのに反し、リンパ性白血病ではすべて低下の傾向が認められている。しかしながら真田も指摘している如く、リンパ性白血病は対照とした正常骨髓組織との比較は不適當であり、正常リンパ系組織との比較がなされるべきである。

リンパ性白血病についての呼吸解糖作用の測定はその対照の困難性より考えて末梢血液、骨髓等より、リンパ系組織例へばリンパ腺、脾等が適當と思われる。それにも拘らずリンパ性白血病についてリンパ系組織を対照とした研究は現在迄の所、人に関する Jackson²⁾ ら、マウスに関する Victor⁴³⁾⁻⁴⁹⁾ ら、Burk⁹⁾ ら等の成績がみられるにすぎない。Jackson らは lymphosarcoma, lymphatic leukemia, lymphocytoma, reticulum cell sarcoma 等を malignant

lymphoma として一括し正常リンパ腺を対照とし比較検討した。 Q_{O_2} は両者間に差は認められなかつたが $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ は共に正常より亢進することをみているが、臨床的観点よりの悪性度と $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ の値の間には相関々係は見出し得なかつたと述べている。Victor⁴⁴⁾ らは C68 系マウスの自然発生リンパ性白血病のリンパ腺につき呼吸解糖作用を測定し、 Q_{O_2} , $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ はすべて正常より亢進すると報告した。これに対し Burk⁹⁾ らは数例の RF 及び RF/AR マウスに MC 塗布とレ線照射を行いリンパ性白血病を誘発せしめそのリンパ腺、脾の呼吸解糖能につき検討したが、正常と白血病との間には差は認められなかつたとし、今後症例を重ねた検討が必要と述べている。一方著者が今回実験を行つた 14 例の MC 誘発リンパ性白血病 DBA 系マウス脾では Q_{O_2} 8.64, $Q_M^{O_2}$ 4.41, $Q_M^{N_2}$ 11.81 であり、Victor らのリンパ腺における成績同様呼吸解糖共正常マウスに比して亢進を示し、殊に解糖値の亢進は著明であつた。

また腫瘍組織の代謝の測定にはその構成細胞成分が重要な関係を有することはいうまでもないが、測定に使用した組織の細胞像と Q_{O_2} , $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ との関係について検討した報告は現在迄の所殆んどみられない。従つて、今回の実験においては、その関係についても検索を行つたが、脾の主要細胞成分は正常マウスではリンパ球が、リンパ性白血病ではリンパ芽球が大部分を占めている。代謝係数と脾スタンプ標本におけるリンパ芽球百分率との関係を見ると、 Q_{O_2} 及び $Q_M^{N_2}$ とリンパ芽球百分率の間には正の相関が認められたが、 $Q_M^{O_2}$ との間には何ら相関々係が認められなかつた。人リンパ性白血病の末梢血において $Q_M^{O_2}$ は 0 であるといわれているが、著者のマウスにおけるリンパ性白血病脾の $Q_M^{O_2}$ は著明に亢進する。このように末梢血におけるリンパ球と脾のリンパ系細胞との間の $Q_M^{O_2}$ の量的差異に関しては不明であるが、最近 Warburg⁵⁾ も指摘している如く $Q_M^{O_2}$ は甚だ多方面より影響をうけ易いものであり、 $Q_M^{O_2}$ とリンパ芽球百分率との間に相関々係が認められないことなどよりして Fleischmann らの如くこれは細胞の障害に基づく可能性も考えられるが、この点に関してはなお検討を要する問題である。

前白血病期におけるリンパ系組織の代謝に関する報告もマウスについて行つた Victor⁴⁹⁾ ら、Burk⁹⁾ らのものをみるにすぎない。Victor⁴³⁾ らは白血病好

発系である C₅₈ 系マウスの年令別の呼吸解糖能を測定した。即ち、C₅₈ 系マウスは生後 6~9 ヶ月に 90%前後の自然白血病発生率をみる系統であるが、その生後 6~8 週群と 6~9 ヶ月群で未だ白血病発生の認められない群とを比較検討し、生後 6~8 週群は Q_{O_2} 5.45, $Q_M^{O_2}$ 2.13, $Q_M^{N_2}$ 5.78 であるのに対し、前白血病期とみなした生後 6~9 ヶ月群のそれは Q_{O_2} 4.78, $Q_M^{O_2}$ 3.08, $Q_M^{N_2}$ 7.82 で推計学的に両者の間に有意の差が認められたという。一方、Burk⁹⁾らは RF, RF/AK の 2 系統のマウスに MC 塗布とレ線照射を行い白血病発生以前の時期のマウスのリンパ腺、脾と無処置マウスのそれとを比較検討したが、 Q_{O_2} , $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ はすべて両者間に差が認められなかつたとし、これは症例の少ないことより今後の検討が必要であると述べている。著者は第 1 編において MC 塗布による DBA 系マウス白血病発生率及び発生迄の期間等につき塗布後 4 ヶ月迄追求し、4 ヶ月における発生率は 71.8%, 期間は 8 週より 17 週、平均 11.2 週と報告した。従つて、著者は前白血病期を Burk らと同様 MC 塗布後 80 日迄の期間内で末梢血に白血性変化のないものと規定し、その条件にかなつた 17 例のマウスにつき検討した。その結果、前白血病期においては Q_{O_2} 8.09, $Q_M^{O_2}$ 2.50, $Q_M^{N_2}$ 6.88 であり、対照の Q_{O_2} 7.75, $Q_M^{O_2}$ 1.56, $Q_M^{N_2}$ 5.90 に比較して推計学的に $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ において有意の上昇を認めた。 Q_{O_2} については推計学的の有意差は認められなかつたが、Victor らの成績と反対にやや増加の傾向がみられた。Warburg の発癌説は体細胞が酸素欠乏状態に長くおかれると不可逆性の呼吸障害を起し、このような細胞は再び酸素供給の十分な状態におかれてもはや呼吸を行うことが出来ず変性または壊死に陥るが、このような細胞の中で一部のものは解糖によるエネルギー代謝が呼吸によるエネルギー代謝を代償して生き残ることができ、この細胞が癌細胞になるというものである。Victor らの成績は Warburg の仮説を支持するものであるが、著者の成績では Q_{O_2} はかえつて増加の傾向にあり、前白血病期及び白血病においても呼吸作用の障害は認められなかつた。

一方、教室浅野⁶⁴⁾らは DBA 系マウスに MC 塗布を行い、血清乳酸脱水素酵素 (LDH) の変動を白血病発生迄追求し、白血病期には LDH の著明な上昇を認めると共に、前白血病期においても LDH 活性の軽度上昇がみられたと報告している。このように前白血病期に既に血清 LDH 活性の上昇がみられ

たことは解糖系代謝の亢進が血清に反映されたものと考えられ、著者の成績とよく一致して興味深い。

Pasteur 効果絶体値及び Pasteur 効果の定量的表現である Meyerhof 酸化係数は正常、前白血病では略等しいが、白血病では増加している。また Warburg⁵¹⁾⁵²⁾は解糖能力が高いということは癌に特有な性質ではなく成長組織の一般的性質であり、胎生組織と癌組織との根本的な差異は Warburg 商 ($Q_M^{O_2}/Q_{O_2}$) にあつて、正常組織は一般に低く (0.1~0), 悪性腫瘍では異常に高い (3.1~3.9) ことより区別されると述べている。著者の成績では正常 0.2, 前白血病 0.31, 白血病 0.51 であり、前白血病では正常に比し約 1.5 倍、白血病では約 2.5 倍の増加を示したが、Warburg のような高い値はみられなかつた。また呼吸解糖比 ($Q_M^{N_2}/Q_{O_2}$) は Warburg によると悪性腫瘍では 8.57, 胎生組織では 1.67 と述べ、真田は骨髓穿刺液において急性骨髄性白血病では 2.57, 急性リンパ性白血病では 2.48 と報告している。著者の成績では白血病において 1.37 と Warburg, 真田の成績より低く胎生組織に近い値であるが正常に比較すると約 2 倍の増加を示した。

1929 年 Crabtree¹⁶⁾は 5 炭糖を癌組織で代謝されないかという目的で、対照として glucose を加えたものと基質を全然含まないものについて呼吸作用を測定し、癌組織において 1 例の例外もなく糖呼吸は内発呼吸より低いことを見出した。その後 Kun²⁰⁾らも Ehrlich 腹水癌細胞において同様の現象を観察し、以後各種の癌組織についてこの現象が認められている。この糖の添加による呼吸の低下を Crabtree 効果と呼ぶが、Seehlich³⁷⁾らは骨髄性及びリンパ性白血病の末梢白血球において Crabtree 効果を認めたが、正常白血球では認められなかつたと報告している。即ち骨髄性では 35%, リンパ性では 37% の呼吸低下を示した。また Victor⁴⁴⁾らも C₅₈ 系マウスのリンパ性白血病のリンパ腺において 23 例中 22 例に糖呼吸の低下 (平均 19%) を認めている。著者の成績では正常及び前白血病では糖呼吸と内発呼吸は略等しいが、白血病では全例において Crabtree 効果が認められた。一般に Crabtree 効果は癌細胞に共通の現象とされており、従つて MC により誘発されたマウス白血病の脾に認められるリンパ芽球は癌細胞の一種とみなすことが出来よう。

第 5 章 結 語

DBA 系マウスにつき、正常 (生後 5 ヶ月)、前白

血病 (MC 誘発リンパ性白血病発生以前の時期) 及び MC 誘発リンパ性白血病 マウスの脾の呼吸解糖作用を測定し次の結果を得た。

1) 正常脾では Q_{O_2} 7.75, $Q_M^{O_2}$ 1.56, $Q_M^{N_2}$ 5.90 であつた。

2) 前白血病期の脾に於いては Q_{O_2} は正常より増加の傾向を示したが、推計学的には有意差は認められなかつた。しかし解糖値 ($Q_M^{O_2}$ 及び $Q_M^{N_2}$) は正常より有意の差をもつて高値を示した。またこの時期において脾リンパ芽球百分率の増加がみられた。

3) リンパ性白血病においては Q_{O_2} , $Q_M^{O_2}$, $Q_M^{N_2}$ すべて正常より高値を示したが、特に解糖値の亢進が

著明であつた。脾リンパ芽球百分率と Q_{O_2} , $Q_M^{N_2}$ との間には正の相関々係が認められた。

4) 白血病マウスでは全例において糖呼吸が内発呼吸より低く、即ち Crabtree 効果が認められた。

摺筆するに当り、終始御懇切なる御指導と御校閲をいただいた恩師平木教授に深く感謝いたします。また直接御指導いただいた浅野講師に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は第25回日本血液学会総会及び第22回日本癌学会総会において発表した。

Studies on Glucose Metabolism of Leukemic Cell

Part 2. The Respiration and Glycolysis of the Spleen in Normal, Preleukemic and Leukemic Mice of DBA Strain

By

Eiichi FUKATSU

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

The respiration and glycolysis of the spleen in 10 normal mice, 17 mice of preleukemic stage and 14 induced lymphatic leukemia mice by painting with methylcholanthrene, was studied. In addition, the effect of glucose on the rates of the oxygen consumption was studied.

1) In 10 normal mice of strain DBA, Q_{O_2} was 7.75, $Q_M^{O_2}$, 1.56 and $Q_M^{N_2}$, 5.90.

2) The rate of the oxygen consumption was a little greater in the mice of the preleukemic stage than in normal mice, but there was no difference statistically between both groups. The rates of the aerobic and anaerobic glycolysis were higher in mice of the preleukemic stage than in normal mice statistically.

The percentages of lymphoblast in the spleen was higher in the mice of the preleukemic stage than in normal mice.

3) The rates of the oxygen consumption, aerobic glycolysis and anaerobic glycolysis were higher in the induced lymphatic leukemia mice than in normal and preleukemic mice. There was a parallel relation between the percentage of lymphoblast in the spleen, and the oxygen consumption and anaerobic glycolysis of the spleen in induced lymphatic leukemia.

4) The oxygen consumption rate of the spleen of all mice with induced lymphatic leukemia was decreased by addition of glucose in a concentration of 0.2 p. c. in Ringer's solution. Namely, Crabtree's effect was found in the spleen with the induced lymphatic leukemia. On the other hand, there is no Crabtree's effect in the spleen of normal and preleukemic mice.