

唾液腺ホルモンの骨髓造血機能に及ぼす影響

— 骨髓体外組織培養法による —

第 2 編

家兎骨髓赤血球系及び海狸、健康人の骨髓巨核球機能に 及ぼす唾液腺ホルモンの影響

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木潔教授)

宇 垣 公 晟

[昭和 37 年 3 月 2 日受稿]

内 容 目 次

I. 緒 言	加の影響
II. 実験材料並びに実験方法	2. 骨髓巨核球機能に及ぼすパロチンの影響
1. 実験材料	i) 健康海狸骨髓巨核球機能に及ぼすパロチン 添加の影響
2. 実験方法	ii) 健康人骨髓巨核球機能に及ぼすパロチン添 加の影響
i) 家兎骨髓液体培養	IV 総 括
ii) 海狸及び健康人骨髓組織培養 (簡易法)	V 考 按
3. 観察方法	VI 結 論
III. 実験成績	
1. 健康家兎骨髓液体培養に及ぼすパロチン添	

I. 緒 言

前編に於いては唾液腺ホルモンの骨髓造血機能への影響を追求するために骨髓組織培養法を導入し、家兎及び健康人の骨髓組織培養を行ないパロチンを直接培地に添加し、その組織増生並びに白血球機能に及ぼす影響を種々の面から検討し、パロチンが著明に促進的作用を及ぼすこと窺い得たが、これは主として白血球系細胞に対する影響であり、赤血球系の造血機能が如何に影響されるかについては全く不明と言わざるを得ない。更に又、骨髓巨核球系に対するパロチンの影響も見逃されている。

さて、パロチンが赤血球系並びに骨髓巨核球系に対して如何なる影響を及ぼすかについての研究は、原¹⁾及び森田²⁾、吉村³⁾等の報告があるが、何れも生体内を介しての作用結果であり、直接骨髓組織に対する影響についての報告は未だ見当たらないようである。

抑々骨髓組織培養法により赤血球系造血を知らんとするには被覆培養法では到底不可能であり、こ

に液体培養法が利用されるに及んだわけである。この点1936年 Osgood & Brownlee⁴⁾が始めた細胞浮游液液体培養法は利用価値の高いものと考えられる。教室の久米田²⁴⁾、岩崎²¹⁾は本法を改良し、更に Norris & Majnarich³⁰⁾の細胞浮游液をワールブルグ恒温槽で振盪培養する変法を取り入れ、独自の方法を考案した。

一方、骨髓巨核球の機能に関しては組織切片標本及び塗抹染色標本による貪喰能及び栓球分離像の研究²⁾⁴⁾¹⁴⁾²²⁾²⁵⁾⁴⁵⁾⁶⁵⁾があるが何れも静止像の観察に終止していた。しかるに教室の角南、栗井⁴⁶⁾は骨髓組織培養法に依り、人巨核球に活潑な運動能の存在することを認め、更に巨核球の胞体から突起を形成し、その尖端より栓球の分離されるのを確認し、本法が骨髓巨核球機能の判定に最も有力な手段であることを述べている¹⁰⁾¹¹⁾¹³⁾。

そこで私は本編に於いては、骨髓組織培養 (液体培養法及び簡易培養法) を用いて唾液腺ホルモンの赤血球系造血機能並びに骨髓巨核球機能への影響を

検討し興味ある知見を得たのでここに報告する。

II. 実験材料並びに実験方法

1. 実験材料

i) 液体培養 体重 1.5 kg 内外の健康幼若家兔の大腿骨、脛骨及び上腕骨骨髓を用いた。

ii) 簡易培養 体重 300~400 g の健康 雄性海猿の右大腿骨を用いた。人では健康人胸骨骨髓穿刺により得た骨髓組織片を用いた。

2. 実験方法

i) 液体培養 教室の岩崎²¹⁾、久米田²⁴⁾の方法による。即ち家兎大腿骨、脛骨、及び上腕骨骨髓を無菌的に取り出し、Gey 氏第 1 液に入れる。低速にて約 15 分間ホモゲナイズし、3000 回転にて約 10 分間遠沈澱を行なう。遠沈後上清と共に脂肪分を捨て沈澱した骨髓細胞を葡萄糖を含ませタイロッド氏液の中に入れて細胞浮游液を作る。これをワールブルグの特殊ボツルに 1.9 cc 宛分注し、更に一定濃度のパロチン液 0.1 cc を分注し対照にはリンゲル氏液 0.1 cc を添加し、38°C のワールブルグ恒温槽で振盪培養を行なつた。

以上の操作は全て無菌的且迅速に行なわれた。

ii) 簡易培養 教室の考案せる培養法を用いた。本法による培養術式は次の如くである。予め滅菌した簡易培養用特製硝子棒(平木式)を用い(人の場合は深さ 0.6 mm、海猿では 0.4 mm を用い)中央円形部分に血清(健康人、海猿)を 1/3 皮下針付ツベ筒にて 1 滴添加し、硝子棒にて径 15 mm の円形に拡げる。その中央部に予めリンゲル氏液にて充分末梢血を洗い流した 0.5 mm³ 大の骨髓組織片(人、海猿)をおき、次にパロチン溶解液を 1 滴添加する。対照にはリンゲル氏液を 1 滴添加し、然る後に被覆硝子で覆い周囲をパラフィンで完全に密封し、これを 37°C の孵卵器内に静置培養した。以上の実験器具は全て乾熱滅菌せるものを用い、培養操作は無菌的に行なつた。

3. 観察方法

i) 液体培養 赤血球数、血色素量及び網状赤血球数について培養直前及び培養後 3、6、9 時間目に観察を行なつた。

a) 赤血球の計算 ワールブルグ恒温槽で振盪中の細胞浮游液を 0、3、6、9 時間毎に滅菌メランジュールに吸いハイエム氏液に混じて型の如く計算した。

b) 血色素量の測定 1/15 モル第 1 磷酸カリ溶

液 22 cc と 1/15 モル第 2 磷酸ソーダ 3 cc を混和し、これを 4 倍に稀釈したもの 6 cc に血球浮游液 20 cm³ を充分混和溶血せしめた後、不溶解部を遠沈除去し、次いで 20% フェリシアンカリ 1 滴、更に 2 分後にアンモニア 1 滴を、それぞれ加えて 10 分以内に分光光度計で測定した。

c) 網状赤血球の計算 1% ブリリアントクレジル青で染色を行ない、赤血球 2000 を数えて % にて現わした。

ii) 簡易培養

観察は全て培養後 18 時間目に 37°C の保温箱内に顕微鏡を入れて行なつた。そして培養原組織より増生帯中に遊出した骨髓巨核球の平均出現個数並びにその運動形態、栓球分離能を観察した。而して巨核球についてはその運動形態により次の如く 3 型に分つた³⁾。即ち A 型は胞体の軽度の変形を示すもの、B 型は偽足運動を行なうもの、C 型は触手状突起形成を認め、栓球分離を示すものでその各々の増生帯中出现巨核球数に対する百分率を求め、これを運動巨核球百分率とした。

III. 実験成考

1. 健康家兎骨髓液体培養に及ぼすパロチン添加の影響

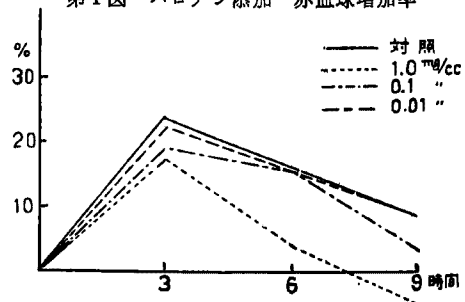
実験はいづれも 5 例について行ない以下その平均例を掲げる。なお、パロチンはリンゲル氏液を溶媒として添加時培地濃度がそれぞれ 1.0~0.01 mg/cc となるよう作製し添加した。

a) 赤血球増加率(表 1, 図 1)

第 1 表 パロチン添加 赤血球数×10³

mg/cc \ 時間	0	3	6	9
1.0	172	201	178	164
0.1	166	196	194	171
0.01	178	217	208	194
対 照	172	214	201	185

第 1 図 パロチン添加 赤血球増加率



図に示す如くパロチン（以下パと略す）0.01 mg/cc では対照と殆んど差を認めず、パ1.0 mg/cc の高濃度では抑制的影響を示し、培養後6, 9時間目では対照の17.6%, 8.9%に対し3.5%及び-4.7%と著しい低値を認めた。

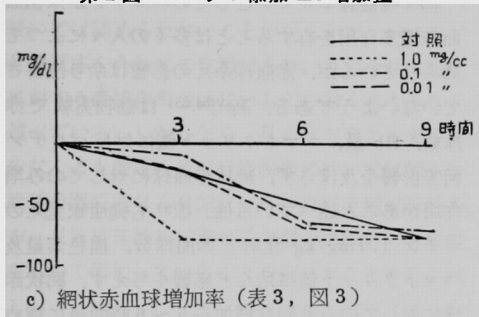
b) Hb 増加量 (表2, 図2)

この場合も対照と有意の差を認めず、唯パ1.0 mg/ca に於ては対照の3, 6, 9時間値が12%, -50%, -77%に対しそれぞれ-77%, -77%と低値を示した。

第2表 パロチン添加 Hb量 mg/dl

mg/cc	時間	0	3	6	9
1.0		395	90	90	90
0.1		290	280	100	90
0.01		395	290	110	90
対 照		395	290	190	90

第2図 パロチン添加 Hb 増加量

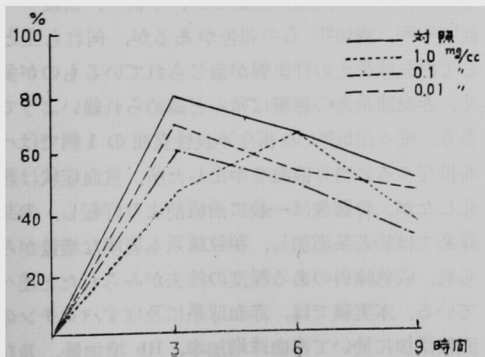


c) 網状赤血球増加率 (表3, 図3)

第3表 パロチン添加網状赤血球数 %

mg/cc	時間	0	3	6	9
1.0		37	54	62	50
0.1		30	48	45	39
0.01		44	75	68	64
対 照		39	70	65	59

第3図 パロチン添加 網状赤血球増加率



パ0.01 mg/cc 濃度に於いても対照と見るべき差を認めず、1.0 mg/cc に於いて稍々抑制的影響を認めた。

2. 骨髓巨核球機能に及ぼすパロチンの影響

i) 健康海狼骨髓巨核球機能に及ぼすパロチン添加の影響 (表4, 図4)

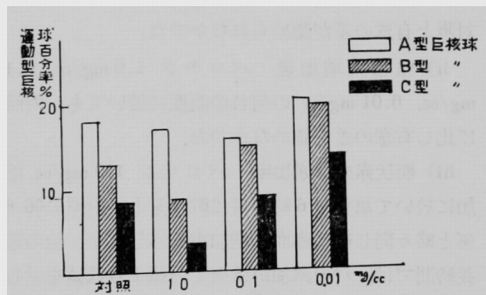
パロチン 1.0 mg/cc 添加では出現巨核球数 (以下, 出現「巨」と略す) は5.1個, 全運動巨核球百分率 (以下, 全運動「巨」と略す) は29.6%, その内A型17.4%, B型8.8%, C型3.4%であった。0.1 mg/cc 添加では, 出現「巨」は8.8個全運動「巨」は40.8%, その内A型16.2%, B型15.4%, C型9.2%であった。0.01 mg/cc では, 出現「巨」は10.2個, 全運動「巨」は55.0%, その内A型は20.6%, B型20.4%, C型14.0%であった。対照では, 出現「巨」は8.6個, 全運動「巨」は39.6%で, その内A型は18.4%, B型13.0%, C型8.2%であった。

第4表 パロチン添加による健康海狼骨髓巨核球機能(8例平均)

mg/cc	対 照	1.0	0.1	0.01
出現巨核球数	8.6	5.1	8.8	10.2
全運動「巨」	39.6	29.6	40.8	55.0
A 型	18.4	17.4	16.2	20.6
B 型	13.0	8.8	15.4	20.4
C 型	8.2	3.4	9.2	14.0

第4図 パロチン添加による

健康海狼骨髓巨核球機能 (8例平均)



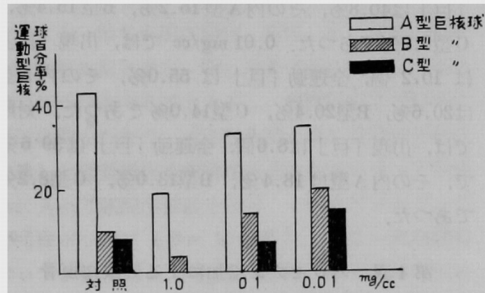
ii) 健康人骨髓巨核球機能に及ぼすパロチン添加の影響 (表5, 図5)

パロチン 1.0 mg/cc 添加では, 出現「巨」は3.4個, 全運動「巨」は21.2%, その内A型は18.4%, B型は2.8%, C型は0%であった。0.1 mg/cc 添加では, 出現「巨」は10.0個, 全運動「巨」は53.6%, その内A型は32.8% B型は13.6%, C型は7.2%で

第5表 パロチン添加による健康人骨髓巨核球機能(5例平均)

mg/cc	対 照	1.0	0.1	0.01
出現巨核球数	8.8	3.4	10.0	10.6
全運動「巨」	61.0	21.2	53.6	64.8
A 型	43.0	18.4	32.8	34.3
B 型	10.0	2.8	13.6	16.5
C 型	8.0	0	7.2	14.0

第5図 パロチン添加による健康人骨髓巨核球機能(5例平均)



あつた。0.01 mg/cc 添加では出現「巨」は10.6個、全運動「巨」は64.8%、その内A型は34.3%、B型は16.5%、C型は14.0%であつた。

IV. 総 括

1. 健康家兎骨髓液体培養に及ぼすパロチン添加の影響

i) 赤血球増加率 パロチン 1.0 mg/cc 添加では3, 6, 9時間と対照に比し少々抑制的影響を及ぼしたが、0.1 mg/cc, 0.01 mg/cc 添加では何れも対照と有意の差が認められなかつた。

ii) 血色素増加量 パロチン 1.0 mg/cc, 0.1 mg/cc, 0.01 mg/cc の何れの濃度に於いても、対照に比し有意の差を認めなかつた。

iii) 網状赤血球増加率 パロチン 1.0 mg/cc 添加に於いて培養後6時間目に67.5%と、対照の66.6%と略々同じ網状赤血球増加率を示したが、他の培養時間では、パの添加群は全て対照より低値を示し、対照と有意の差を認めなかつた。

2. 健康海猿骨髓巨核球機能に及ぼすパロチン添加の影響

パロチン 0.01 mg/cc 添加では出現「巨」が対照の8.6個に対し10.2個と少々高値を示したに過ぎないが、全運動「巨」は対照の39.6%に対し55.0%と著しい高値を示し、その内A型は対照の18.4%に對

し20.6%と大差ないが、B型は対照の13.0%に対し20.4%、C型は対照の8.2%に対し14.0%と著しい差を示した。1.0 mg/cc 添加では対照より抑制的効果を認め、0.1 mg/cc 添加では対照と有意の差を示さなかつた。

3. 健康人骨髓巨核球機能に及ぼすパロチン添加の影響

パロチン 0.01 mg/cc 添加では出現「巨」、及び全運動「巨」に於いて対照と大差を認められないが、A型は対照の43.0%に対し34.0%と少々低値を示した一方、B型は対照の10.0%に比し16.5%、C型は対照の8.0%に対し14.0%と著しい差を認めた。パロチン 1.0 mg/cc 添加では海猿に於けると同様対照に比し抑制的影響を示し、特にB型、C型の出現率が著しく低下した。

V. 考 按

抑々唾液腺ホルモンとしてのパロチンが末梢血白血球增多作用を有することは多くの人々によつて認められているが、赤血球系の影響は余り注目されていないようである。高岡⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾は動物実験で赤血球数、Hb量、ヘマトクリット値に対しパロチンが何等影響を及ぼさず、網状赤血球に対してのみ増加作用があると述べている他、原⁽⁹⁾も健康家兎へのパロチン 1.0 mg/kg 注射で赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値に殆んど影響を与えず、網状赤血球に対してのみ著明な増加を5~6時間後に認め、10時間以上持続したと述べている。又、滝沢⁽⁶¹⁾は白鼠で過唾液腺症(顎下腺のみ摘出)、及び無唾液腺症にパロチンを注射せるものと、無唾液腺症(耳下腺、顎下腺摘出)とを比較し、前二者に骨髓組織標本中の白血球系細胞及び巨核球の増加を認めたが、赤血球系細胞の差は特に認め難いと述べている。一方臨床的には、再生不良性貧血及びパンチ氏病に対するパロチンの効果が注目され、小宮⁽²³⁾、田坂⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾、高岡⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁶⁾、森田⁽²⁷⁾らの報告があるが、何れも主として白血球系の好影響が論じられているものが多く、赤血球系の影響は殆んど認められ難いようである。唯々田坂⁽⁶⁰⁾の再生不良性貧血の1例ではパを投与するに当り輸血を中止した所、貧血症状は悪化した。骨髓像は一般に治療前より好転し、赤芽球系では幼若系増加し、顆粒球系も著明な増量がみられ、成熟障害のある程度の除去がみられたと述べている。本実験では、赤血球系に及ぼすパロチンの直接添加に於いて赤血球増加率、Hb増加量、及び

網状赤血球増加率の何れに於いても著明なる影響が認められず、却つて高濃度では抑制的影響がみられた。即ち私の行なつた本実験では、パロチンの赤血球系に対する直接影響は認め難かつた。

次にパロチンの骨髓巨核球機能への直接的影響を実験的に検討した報告は未だ他に見当たらないが臨床的に吉村⁵⁷⁾が健康人及び所謂バンチ氏病の患者に対しパロチンの注射による血小板数の増加を来したと報告し、しかしてこの血小板増加は森田氏分類による巨核球型より血小板生成能の旺盛なものが増加していることによると述べている。その他血小板に関しては、田坂⁶⁰⁾が本態性血小板減少性紫斑病1例にパロチンを投与し血小板の増加を認めたと報告、米山⁶⁸⁾も同病の1例にパロチンが著効を示し、外科的処置を行わず血小板の明らかな上昇を認めたと報告しているが、山中は家兎に於いてパロチンの静注、筋注共にプロトロンビン時間の短縮、血小板数の増加を認めたが、かかる機転は試験管内に於いては認められないことが明らかで、パロチンの生体反応を介しての作用であり、且つそれは巨核球に対する直接作用ではないもの如く考えられると述べている。しかし乍ら、私の行なつた本実験では少なくとも健康人及び健康海猿に於いては明らかに栓球分離旺盛なるC型巨核球の出現率増加を認め、なお、又巨核球機能亢進せるB型の出現率も有意の差をもつて増加していることを認めたことから、パ

ロチンは生体内に於いても直接骨髓巨核球に働らき、巨核球機能を亢進せしめる作用のあることが推定される。

VI. 結 論

1) 骨髓造血機能の中、赤血球系へのパロチンの影響を検討せんがため、健康家兎の体外骨髓組織培養を行ない、そのメヂュームにパロチンを直接添加して赤血球数、血色素量、網状赤血球数の増減を動的に観察した。その結果、パロチンは赤血球数、血色素量、及び網状赤血球数の何れに対しても対照と有意の差を認めず、赤血球系への直接影響は認め難かつた。

2) 骨髓造血機能の中、骨髓巨核球機能へのパロチンの影響をみるために健康人及び健康海猿の骨髓組織培養(簡易法)を行ない、そのメヂュームにパロチンを直接添加した。

その結果、健康人及び健康海猿共に、パロチンの至適濃度では巨核球機能を直接亢進せしめた。

擱筆するに当り、終始御懇篤な御指導及び御校閲を賜つた恩師平木教授並びに大藤助教授に深甚なる謝意を表す。

(本文の要旨は第20回、第21回日本血液学会総会及び第4回唾液腺シンポジウムに於いて発表した)

The Influences of Salivary Gland Hormone on the Hematopoiesis
of Bone Marrow

Part 2. Influences of the Salivary Gland Hormone on the Erythrocyte
Series of Normal Rabbits, and the Megakaryocyte Function
of Normal Guinea Pigs and Normal Persons

by

Masaaki Ugaki

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

1. In order to clarify the influences of the salivary gland hormone on the hematopoietic function of bone marrow, especially on the erythrocyte series, the author studied changes in the erythrocyte count, hemoglobin content and reticulocyte count in the rabbit fluid medium tissue culture to which Parotin was added directly, and the following results were obtained. As for the influences of Parotin on the erythrocyte count, hemoglobin content and reticulocyte count in the tissue culture, no significant difference could be observed as compared with the control.

2. When Parotin was added directly to the bone-marrow tissue culture of normal guinea pigs, the megakaryocyte function was accelerated, and likewise in the bone-marrow tissue culture of normal persons, Parotin enhanced the megakaryocyte function.
