

骨髓組織培養法による各種ビタミンの 骨髓巨核球機能に及ぼす影響

第 2 編

健康人並に再生不良性貧血患者骨髓巨核球機能に 及ぼすビタミンCの影響

岡山大学医学部平木内科 (主任: 平木 潔教授)

林 和 雄

[昭和 33 年 6 月 24 日受稿]

内 容 目 次

第1章 緒 言	第4章 総 括
第2章 実験方法	第5章 考 按
第3章 実験成績	第6章 結 論

第1章 緒 言

坏血病が新鮮な野菜を欠く食飼をつづける時おこるといふ Krammer (1720) の記載に端を発したビタミンC (以下 ビ. C と略す) の研究は, 1907 年 Holst-Fröhlich³¹⁾ が海狸に実験的坏血病をおこすことに成功し, 1908 年 Szent-Györgyi²⁴⁾ が始めてビ. C を結晶として抽出し, 更に 1933 年 Reichstein³²⁾ 等がその合成に成功するに及んで一段と進歩した。而してその臨床面への応用は, 1933 年 Schlunger³³⁾ が始めて成人及び小児坏血病のアスコルビン酸による治験例を発表して以来相次で同様な治験例が報告せられると同時に, ビ. C が造血臓器とも密接な関係を有することが Börger u. Schröder (1934)³⁴⁾, Börger u. Martin (1935)³⁵⁾, Schiff (1935)³⁶⁾, Cotti u. Laryzza (1936)³⁷⁾, Neuman (1936)³⁸⁾, 天笠山田及び巫 (1936)³⁹⁾, 青山 (1939)⁴⁰⁾, 神前 (1940)⁴¹⁾, 玉尾 (1943)⁴²⁾ 等の報告及び骨髓に於けるビ. C 代謝に関する説田等 (1940)⁴³⁾ の業績から明らかとなつた。

然しながら ビ. C の止血作用の本態に関しては諸説あり未だ決定の域に達していない。即ち Börger u. Schröder (1936) は血液凝固促進作用, 血管緊密化作用, 造血臓器に対する栓球産生の旺盛化, 血漿蛋白殊にアルブミン量増加等を原因としてあげているが, Cotti u. Laryzza は ビ. C 作用時に於て

は血漿蛋白, 栓球には一定の変化なく, 血液凝固に及ぼす影響こそビ. C の止血作用の特徴であると強調し, 玉尾はビ. C による血液凝固時間の変動はプロトロンビンの増減に基因すると述べ, 更に吉田 (1941)⁴⁴⁾ は膠質化学的变化から説明せんとするなど, 一般にビ. C による栓球数増加は軽視せられている。これに対して天笠等は特発性栓球減少性紫斑病患者にビ. C 投与実験を行つて, 血漿蛋白の増加顕著ならざるうちに栓球数の増加をきたして著しい止血効果があらわれることから, ビ. C の止血作用として栓球数を重視している。

扱て栓球の母細胞が骨髓巨核球であることは Wright (1906)⁴⁶⁾ 以来多数の研究者によつて一般に信じられてきたが, 最近の教室に於ける一連の研究²⁰⁾²¹⁾によつてこのことが一層明瞭となつた今日, 骨髓巨核球機能を無視して ビ. C の止血作用機転を論ずることは出来ない。然るに ビ. C の骨髓巨核球機能に及ぼす影響に関しては僅に Myosonyi の報告があるのみで, 而もそれは塗抹染色標本に於ける観察で, その機能を動態観察したものではない。

一方ビ. C が葉酸及びビ. B₁₂ と協力作用を有することはチロシン代謝に関する Woodruff の報告や, 大赤血球性貧血に於ける井上³⁾ の治験例からも明らかである。

ここに於て私は ビ. C の止血作用機転の本態の一面を解明せんと企図して, 健康人骨髓の体外組織培

養を行い、ビ.Cの添加が直接骨髓巨核球機能に及ぼす影響を観察し、併せてビ.Cと葉酸及びビ.B₁₂とを混合添加して該機能に及ぼすそれらビ.Cの協力作用を検討した。次いで現在の確な治療法がなく殆んど常に出血死が死因となる再生不良性貧血に対し、一時的でもその粒球数増加を来し予後を好転せしめ得るならばと考えてビ.Cの大量投与を試み、その粒球数の消長及び骨髓巨核球機能を追求し、いささか新知見を得たのでここに報告する。

第2章 実験方法

1) 健康人骨髓組織培養に対する添加実験

実験材料として健康成人男子の胸骨骨髓穿刺を行い、得られた穿刺液中の組織片を取り出しRinger氏液で末梢血を洗い流したものをを用いた。

培養並に観察方法は第1編に述べた如く行つた。

ビ.C添加実験 ビ.Cを夫々1.0 mg/cc, 0.1 mg/cc, 0.01 mg/cc 濃度にRinger氏液で希釈し、鶏胎圧搾液と等量に混和して添加した。対照としてビ.C溶液を100°C 30分間煮沸してビ.Cを破壊したものを0.01 mg/ccに希釈して用いた。

ビ.Cと葉酸及びビ.Cとビ.B₁₂の混合添加実験：ビ.C 100 mg/cc 注射液及び葉酸 15 mg/cc 注射液をRinger氏液で夫々0.01 mg/cc, 0.015 mg/cc 濃度に希釈して、その等量を注射筒内で十分に混和したもの2滴を添加した。同様にビ.C 0.01 mg/cc とビ.B₁₂ 15 γ /cc 注射液を等量に混和して添加した。

2) 再生不良性貧血患者に対するビ.C大量投与実験

再生不良性貧血患者にビ.C 1,000 mg/cc を1日1回静脈内に注射して粒球数の消長を検査した。即ち実験第1日目は注射前、注射後1時間目及び2時間目に、実験第2日目からは早期空腹時ビ.C注射前にFonio氏法に拠り粒球検査を行つた。

一方ビ.Cを1日量1,000 mgで全量25,000 mgの静脈内注射を行い、注射前後2回教室考按の方法で骨髓組織培養を行つた。

第3章 実験成績

1) 健康人骨髓巨核球に対するビ.C添加実験 (第1表, 第1図)

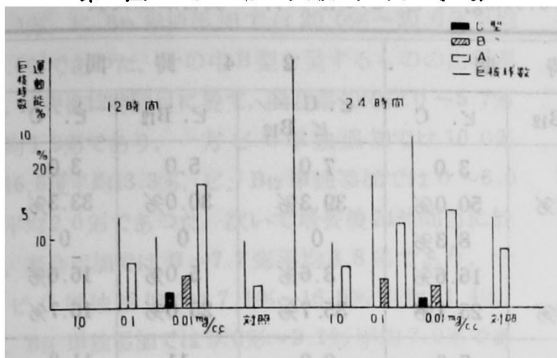
第1表 健康人骨髓巨核球に対するビ.C添加実験

		1 2 時 間			2 4 時 間		
		0.1mg/cc	0.01mg/cc	対 照	0.1mg/cc	0.01mg/cc	対 照
第 1 例	出現巨核球数	4.6	2.6	1.0	5.0	6.0	3.0
	全運動型巨核球百分率	8.7%	30.8%	0	12.0%	30.0%	13.3%
	C 型	0	0	0	0	0	0
	B 型	0	7.7%	0	0	3.3%	0
	A 型	8.7%	23.1%	0	12.0%	26.7%	13.3%
第 2 例	出現巨核球数	4.0	5.7	7.7	9.0	12.0	5.5
	全運動型巨核球百分率	0	35.3%	8.7%	18.5%	19.9%	9.1%
	C 型	0	5.9%	0	0	2.8%	0
	B 型	0	5.9%	0	7.4%	2.8%	0
	A 型	8.3%	23.5%	8.7%	11.1%	13.9%	9.1%
第 3 例	出現巨核球数	6.8	6.6	6.0	8.8	10.8	7.2
	全運動型巨核球百分率	2.9%	6.1%	0	18.1%	11.2%	2.7%
	C 型	0	0	0	0	0	0
	B 型	0	0	0	4.5%	1.9%	0
	A 型	2.9%	6.1%	0	13.6%	9.3%	2.7%

出現巨核球数：培養後12時間目に於て、添加群と対照との間に有意義の差をみとめなかつたが、培養後24時間目に於て、0.01 mg/cc 添加では明らかに対照に比して多数出現した。

巨核球機能：培養後12時間目に於て、0.1 mg/cc 添加で運動型を示す巨核球の出現率は2.9%~8.7% 平均6.6%、0.01 mg/cc 添加では6.1%~35.3% 平均24.1%であり、一方対照では0~8.7% 平均2.9%

第1図 ビ. C添加実験 (3例の平均)



を示した。

次いで培養後24時間目に於て0.1 mg/cc添加で12.0%~18.5%平均16.2%, 0.01 mg/cc添加では

11.2%~30.0%平均22.4%であり、一方対照では2.7%~13.3%平均8.4%であつた。その中B型を呈するものの出現率は、培養後12時間目に於て、0.01 mg/cc添加では2例に之を認め5.9%~7.7%であつたが、0.1 mg/cc添加及び対照では認められなかつた。次いで培養後24時間目に於て、0.1 mg/cc添加では2例に之を認め4.5%~7.4%平均4.0%, 0.01 mg/cc添加では全例に之を認め1.9%~3.3%平均2.7%であつたが、一方対照では全例に之を認められなかつた。

2) 健康人骨髓巨核球に対するビ. C 0.01 mg/cc 及び葉酸 0.015 mg/cc 混合添加実験 (第2表, 第2図)

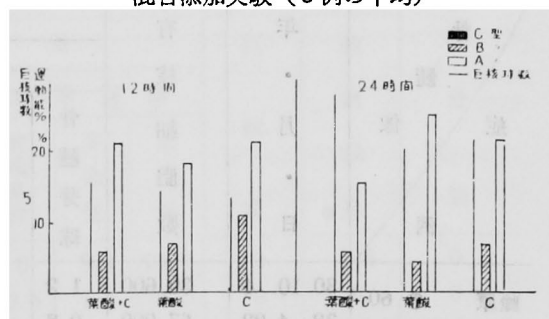
第2表 健康人骨髓巨核球に対するビ. C 0.01 mg/cc と葉酸 0.015 mg/cc 混合添加実験

		1 2 時 間			2 4 時 間		
		ビ. C+葉酸	葉 酸	ビ. C	ビ. C+葉酸	葉 酸	ビ. C
第1例	出現巨核球数	9.5	10.0	7.5	17.8	11.3	11.8
	全運動型巨核球百分率	21.1%	27.5%	30.0%	25.4%	22.2%	38.3%
	B型	5.3%	10.0%	10.0%	4.2%	0	10.6%
	A型	15.8%	17.5%	20.0%	21.2%	22.2%	27.7%
第2例	出現巨核球数	6.6	5.6	4.8	9.6	8.6	7.4
	全運動型巨核球百分率	27.3%	25.0%	25.0%	14.6%	30.2%	21.6%
	B型	3.0%	10.7%	8.3%	4.2%	4.7%	2.7%
	A型	24.3%	14.3%	16.7%	10.4%	25.5%	18.9%
第3例	出現巨核球数	3.3	2.3	3.8	6.3	4.5	7.0
	全運動型巨核球百分率	30.7%	22.2%	40.0%	24.0%	33.3%	25.0%
	B型	7.7%	0	13.3%	8.0%	5.6%	7.1%
	A型	23.0%	22.2%	26.7%	16.0%	27.7%	17.9%

出現巨核球数：混合添加と単独添加群との間に有意の差を認めなかつた。

巨核球機能：培養後12時間目に於て、混合添加で運動型を示す巨核球の出現率は21.1%~30.7%平均26.3%であり、一方ビ. C 単独添加では25.0%~40.0%平均31.6%, 葉酸単独添加では22.2%~27.5%平均24.9%であつた。次いで培養後24時間目に於て、混合添加では14.6%~25.4%平均20.7%であり、一方ビ. C 単独添加では21.6%~38.3%平均28.3%, 葉酸単独添加では22.2%~33.3%平均28.5%であつた。その中B型を呈するものの出現率は、培養後12時間目に於て、混合添加では3.0%~7.7%平均5.3%であり、一方ビ. C 単独添加では8.3%~13.3%平均10.5%, 葉酸単独添加では0~10.7%平均6.9

第2図 ビ. C 0.01 mg/cc と葉酸 0.015 mg/cc 混合添加実験 (3例の平均)



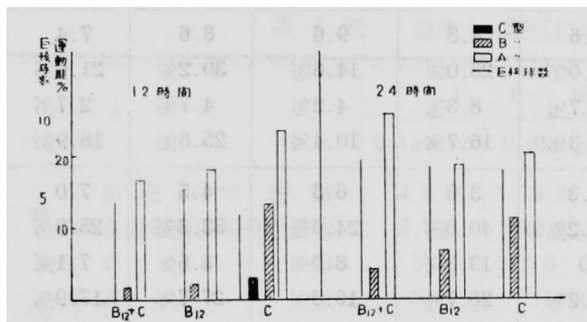
%であつた。次いで培養後24時間目に於て、混合添加では4.2%~8.0%平均5.5%であり、一方ビ. C 単独添加では2.7%~10.6%平均6.8%であつた。

3) 健康人骨髓巨核球に対するビ. C 0.01 mg/cc

第 3 表 健康人骨髓巨核球に対する ビ. C 0.01mg/cc と ビ. B₁₂ 15γ/cc 混合添加実験

		1 2 時 間			2 4 時 間		
		ビ. C + ビ. B ₁₂	ビ. B ₁₂	ビ. C	ビ. C + ビ. B ₁₂	ビ. B ₁₂	ビ. C
第 1 例	出現巨核球数	4.3	2.8	3.0	7.0	5.0	3.0
	全運動型巨核球百分率	23.5%	18.2%	50.0%	39.3%	30.0%	33.3%
	C 型	0	0	8.3%	0	0	0
	B 型	0	0	16.6%	3.6%	5.0%	16.6%
	A 型	23.5%	18.2%	25.1%	35.7%	25.0%	16.7%
第 2 例	出現巨核球数	8.8	12.5	7.5	9.8	11	11.8
	全運動型巨核球百分率	17.1%	20.0%	30.0%	28.2%	29.5%	38.3%
	C 型	0	0	0	0	0	0
	B 型	5.7%	6.0%	10.0%	7.7%	9.1%	10.6%
	A 型	11.4%	14.0%	20.0%	20.5%	20.4%	27.7%
第 3 例	出現巨核球数	3.3	3.3	3.8	6.8	6.3	7.0
	全運動型巨核球百分率	15.4%	23.1%	40.0%	22.2%	20.0%	25.0%
	C 型	0	0	0	0	0	0
	B 型	0	0	13.3%	0	8.0%	7.1%
	A 型	15.4%	23.1%	26.7%	22.2%	12.0%	17.9%

第 3 図 健康人骨髓巨核球に対する ビ. C 0.01 mg/cc と ビ. B₁₂ 15 γ/cc との混合添加実験 (3 例の平均)



及び ビ. B₁₂ 15 γ/cc 混合添加実験 (第 3 表, 第 3 図)

出現巨核球数：混合添加群と単独添加群との間に有意の差を認めなかつた。

巨核球機能：培養後12時間目に於て、混合添加で運動型を示す巨核球の出現率は15.4%~23.5%平均18.7%であり、一方ビ. C 単独添加では30.0%~50.0%平均36.9%、ビ. B₁₂ 単独添加では18.2%~23.1%平均20.4%であつた。次いで培養後24時間目に於て、混合添加では22.2%~39.3%平均29.9%で

第 4 表 再 生 不 良 性 貧

骨 髓 症 例	年 月 日	有 核 細胞 数	骨 髓 有 核										
			白 血 球										
			骨 髓 芽 球	好 中 球					好 酸 球				
				前 骨 髓 球	骨 髓 球	後 骨 髓 球	桿 狀 核	分 節 核 球	前 骨 髓 球	骨 髓 球	後 骨 髓 球	桿 狀 核	分 節 核 球
藤原 ♂ 60	30. 10. 4	30,600	1.2	1.6	6.0	6.8	11.6	8.4	0	0	0	0	0
	32. 4. 22	67,000	0.8	4.0	8.0	3.2	3.2	25.6	2.4				
渡辺 ♂ 28	31. 6. 15	54,300	1.0	1.0	5.0	6.8	8.4	3.8	2.4				
国本 ♂ 21	32. 1. 22	239,250	2.4	1.4	5.6	4.4	5.2	10.4	5.2				
川上(宏) ♂ 37	31. 12. 30	5,000	0	0.4	6.8	8.0	4.4	9.6	2.8				
河上(愛) ♀ 24	30. 5. 10	10,960	0	2.0	7.3	5.2	5.6	13.2	1.0				

あり、一方ビ. C 単独添加では25.0%~38.3%平均32.1%, ビ. B₁₂ 単独添加では20.0%~30.0%平均26.6%であつた。その中B型を呈するものの出現率は、培養後12時間目に於て、混合添加では0~5.7%平均1.9%であり、一方ビ. C 単独添加では10.0%~16.6%平均13.3%, ビ. B₁₂ 単独添加では0~6.0%平均2.0%であつた。次いで培養後24時間目に於て、混合添加では0~7.7%平均3.8%であり、一方ビ. C 単独添加では7.1%~16.6%平均11.4%, ビ. B₁₂ 単独添加では5.0%~9.1%平均7.0%であつた。C型を呈するものは、培養後12時間目に於て、ビ. C 単独添加の1例に8.3%の出現を認めたのみであつた。

4) 再生不良性貧血患者に対するビ. C 大量投与
実験(第4表, 第5表, 第6表, 第7表, 第4図)
第1例 藤原 ♂ 60j 入院 昭和30年10月1日
現病歴 昭和30年7月下旬両下肢に倦怠感を覚ゆ。

同年8月顔面蒼白となり9月頃より心悸亢進胸部圧迫感を来し、9月15日早期初めて歯齦出血に気付く。現在全身倦怠、心悸亢進、歯齦出血があるが、出血斑はない。入院時血液像は第4表及び第5表に示す通りである。

経過及び治療 輸血、ビ. B₁₂、葉酸、間脳照射、鶏骨髓生食等の増血治療を行つて第5表に示す如き血液像の著しい好転をみたが、粒球数には効果はみられなかつた。そこでビ. C 1,000 mg/日全量25,000 mg を静脈内に注射した。

粒球数: 第7表に示す如く注射後1時間目及び2時間目に於て粒球数は著明に増加し注射前の夫々1.9倍及び1.5倍に達した。実験中25日間の粒球数の消長は第4図に示す如く注射前の1.4~2.4倍の多きを算した。

出現巨核球数: 培養後12時間目に於ては治療前2.8治療後4.6であり、培養後24時間目に於ては治療

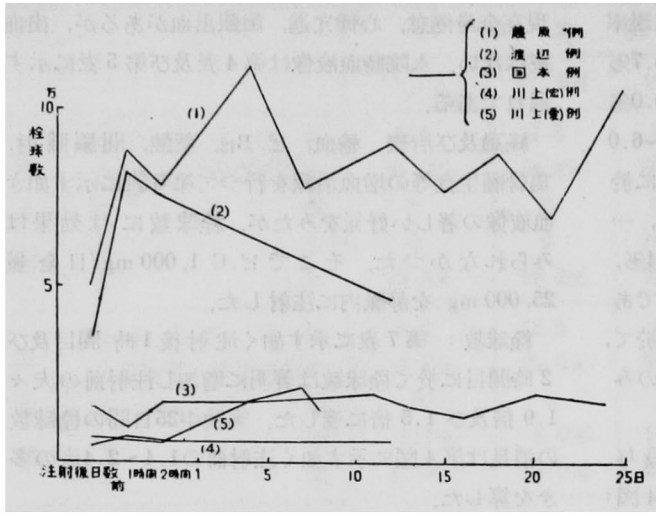
第5表 再生不良性貧血患者末梢血液像

症例	血液像	年・月・日	血色素量 (%)	赤血球数 (万)	色素指数	粒球数	白血球数	白血球百分率						網状赤血球 (%)	血清鉄量 (γ%)
								B	St	Seg	Ly	Eo	Mo		
藤原 ♂ 60		30.10.1	30	109	1.4	32,700	2,800	0	2	35	59	1	3	10	190
		32.4.4	75	320	1.1	35,000	5,500	0	2	40	49	4	5	13	113
渡辺 ♂ 28		31.6.10	45	245	0.9	24,500	2,200	0	8	10	76	3	3	3	142
国本 ♂ 21		32.1.21	44	177	1.2	99,120	3,700	0	4	36	50	3.5	6.5	25	160
川上(宏) ♂ 37		31.12.28	32	151	1.0	6,040	1,800	0	5	12	75	1	6	3	218
川上(愛) ♀ 24		30.5.10	18	58	1.5	25,800	2,850	0	7	52	32	2	7	3	160

血 患 者 骨 髓 像

細胞百分率											核	網	細	裂		
系				赤血球系											巨核	細
好塩基性	リンパ球	単球	形質細胞	原赤芽球	大赤芽球			正赤芽球								
0	36.6	2.0	3.6	0	0	3.6	0	0	9.4	12.6	0	3.6	0			
0.8	36.5	3.2	0	0	0	0.8	0	0.8	7.2	3.2	0	0	0			
0	28.4	0.4	1.2	0	3.4	2.2	0.4	5.0	21.0	5.0	0	0	0.4			
0	8.0	0	1.8	0.4	3.2	6.2	1.2	4.4	20.4	4.4	0.8	1.2	2.0			
0	64.4	0.8	0.4	0	0.4	0.4	0	0	1.6	0	0	0	0			
0	16.2	21.2	1.2	0	2.8	4.0	0	0.8	12.0	5.0	0	0	1.2			

第4図 再生不良性貧血患者に対するピ.C
大量投与による栓球数の消長



であつたが、C型を呈するものは治療後にのみ3.1%に出現した。次いで培養後24時間目に於て、治療前では16.6%治療後では44.1%であり、その中B型を呈するものの出現率は治療前では8.3%治療後では16.7%であつたが、C型を呈するものは治療後にのみ4.8%に出現した。

第2例 渡辺 〇 28j 入院 昭和31年6月10日

現病歴 昭和31年1月頃より心悸亢進を覚え、又人から顔面の蒼白なることを指摘された。同年3月22日貧血症の診断で某病院に入院、造血剤の投与を受けたが症状改善の徴なく、4月上旬より時々歯齦出血をみるにいたつた。現在歯齦出血、全身倦怠、心悸亢進、耳鳴、食欲不振を訴えている。

前2.4治療後6.0であつた。

巨核球機能：第6表に示す如く、培養後12時間目に於て、運動型を示す巨核球の出現率は治療前では28.6%治療後では37.5%であり、その中B型を呈するものの出現率は治療前では7.1%治療後では9.4%

入院時血液像は第4表及び第5表に示す通りである。

経過及び治療 輸血を主とし間脳照射、ピ. B₁₂投与、鶏骨髓生食等を行うも著しい症状の改善はみ

第6表 再生不良性貧血患者骨髓巨核球機能 (ピ.C大量投与前後)

	1 2 時 間		2 4 時 間	
	注 射 前	注 射 後	注 射 前	注 射 後
出現巨核球数	2.8	4.6	2.4	6.0
全運動型巨核球百分率	28.6%	37.5%	16.6%	44.1%
C 型	0%	3.1%	0%	4.8%
B 型	7.1%	9.4%	8.3%	16.7%
A 型	21.5%	25.0%	8.3%	23.6%
有核細胞数	67.000	265.800		
巨核球数	24	126		

第7表 再生不良性貧血患者に対するピ.C大量投与による栓球数の消長

例	患者名	注射後日数	前	1時間	2時間	4日	6日	12日	15日	18日	21日	25日	
第1例	藤原 〇60j	栓球数(千)	51.4	89.7	79.4	123.9	79.8	91.8	78.2	89.3	71.4	121.1	
第2例	渡辺 〇28j	栓球数(千)	36.4	83.6	77.5	48.4							
第3例	国本 〇21j	栓球数(千)	16.3	12.1	17.0	18.4	21.5	15.0					
第4例	川上(宏) 〇37j	栓球数(千)	8.0	7.9	6.9	6.0	7.9	7.7					
第5例	川上(愛) 24j	栓球数(千)	6.3	8.4	5.6	18.9	20.0	29.4	17.6	14.7	20.7	18.2	12.9

られず、32年1月ポリタミン大量投与により血液所見の改善が認められたが、核球数は増加しなかつたので、同年3月22日より、ビ.C 1,000 mg/日 全量 12,000 mg を連日静脈内に注射した。

核球数：第7表に示す如く注射後1後間目及び2時間目に於て、核球数は著明に増加し注射前の夫々2.3倍及び2.1倍に達した。実験中12日間の核球数の消長は第4図に示す通りで注射第12日目では注射前の1.3倍であつた。

第3例 国本 ♂ 21j 入院 昭和32年1月19日
現病歴 昭和31年12月顔面蒼白となり、同時に2回に亘つて鼻出血を来した。12月20日頃より歯齦出血及び全身に散在性に出血斑を生じた。

入院時血液像は第4表及び第5表に示す通りである。

経過及び治療 輸血を主としカチーフ、アドナ、チョコラ B₁₂、モリアミン S 等の投与を行うも諸症状の改善がみられなかつた。4月9日よりビ.C 1,000 mg/日 全量 8,000 mg を連日静脈内に注射した。

核球数：第7表及び第4図に示す如く著しい変動はみられなかつた。

第4例 川上 ♂ 37j 入院 昭和31年12月7日
現病歴 昭和30年2月網膜出血、昭和31年2月～7月3回に亘り両側の眼底出血を来したが約1ヶ月で治癒した。昭和31年11月顔面蒼白となり心悸亢進呼吸困難を自覚し、同月下旬には歯齦出血をみたが鼻出血、及び出血斑はみられなかつた。

入院時血液像は第4表及び第5表に示す通りである。

経過及び治療 輸血を主とし葉酸、ビ. B₁₂、アドナ等の投与を行うも諸症状の改善はみられず、核球数も増加しなかつたので4月9日よりビ.C 1,000 mg/日 全量 11,000 mg を連日静脈内に注射した。

核球数：第7表及び第4図に示す如く殆んど変動はみられなかつた。

第5例 川上 ♀ 24j 入院 昭和30年5月10日
現病歴 昭和29年10月全身倦怠、顔面及び下肢の浮腫時に一銭銅貨大の斑点の出現に気付いた。昭和30年3月心悸亢進、眩暈、顔面蒼白を来し同年4月末右眼の視力減退、鼻出血、歯齦出血を惹起するにいたつた。

入院時血液像は第4表及び第5表に示す通りである。

経過及び治療 輸血を主としビ. B₁₂、葉酸、高蛋白療法、間脳照射、人骨髄の胸骨内注入等の治療を行つたが、諸症状の改善はみられず、核球数は4月13日 6,300 に減少したのでビ.C 1,000 mg/日 全量 26,000 mg を連日静脈内に注射した。

核球数：第7表及び第4図に示す如く著しい増加はみられなかつた。

第4章 総 括

1) 健康人骨髄巨核球に対する ビ.C 添加実験 (第1表, 第1図)

出現巨核球数：培養後24時間目に於て0.01 mg/cc 添加では対照に比して多数出現した他は著しい差を示さなかつた。

巨核球機能：培養後12時間目に於て、0.01 mg/cc 添加では3例中2例にB型、1例にC型の出現をみる著しい巨核球機能の亢進を示したが、0.1 mg/cc 添加及び対照ではこれ等両型はみとめられなかつた。0.1 mg/cc 添加では対照に比して軽度の機能亢進を示した。次いで培養後24時間目に於て0.01 mg/cc 添加では全例にB型の出現が認められ、第2例にはC型が2.8%に出現した。0.1 mg/cc 添加では2例にB型の出現が認められた。之に対して対照では全例A型を少数認めたのみである。

2) 健康人骨髄巨核球に対する ビ.C 0.01 mg/cc 及び葉酸 0.015 mg/cc 混合添加実験 (第2表, 第2図)

出現巨核球数：培養全経過を通じて混合添加と単独添加群との間に著しい差は認められなかつた。

巨核球機能：培養後12時間目に於て混合添加ではビ.C 単独添加に比して却つて巨核球機能は低下し、B型を呈するものの出現率は全例において単独添加の約1/2であつた。混合添加と葉酸単独添加との間には有意義の差が認められなかつた。次いで培養後24時間目に於て、混合添加は単独添加群に比して何れも巨核球機能の低下を示した。

3) 健康人骨髄巨核球に対する ビ.C 0.01 mg/cc 及びビ. B₁₂ 15 γ/cc 混合添加実験 (第3表, 第3図)

出現巨核球数：培養全経過を通じて混合添加と単独添加群との間に有意義の差を認めなかつた。

巨核球機能：培養後12時間目に於て、混合添加ではビ.C 単独添加に比して著しい巨核球機能の低下を認め、B型を呈するものの出現率はビ.C 単独添加の約1/7にすぎず、ビ.C 単独添加に出現したC型

は全伊に認められなかつた。混合添加とビ. B₁₂ 単独添加との間には有意義の差は認められなかつた。次いで培養後24時間目に於て運動型を呈するものの出現率は混合添加と単独添加群との間に大差を認めなかつたが、B型を呈するものの出現率は混合添加では単独添加群に比して著しく低率で巨核球機能の減退を示した。

4) 再生不良性貧血患者に対するビ. C大量投与実験(第6表, 第7表, 第4図)

粒球数: 第1回注射後2時間目に粒球数の増加が認められた2例は、何れも連日注射により粒球数の増加を示し、1例は治療前の2倍以上に増加した。第1回注射後2時間以内に粒球数に変動のみられなかつた3例は、何れも連日注射により粒球数の増加を示さなかつた。

出現巨核球数: 治療後に於て増加が認められた。

巨核球機能: 培養後12時間目及び24時間目に於て、A, B, Cの各型は何れも治療後高率に出現して巨核球機能の亢進を示した。

第6章 考 按

1) ビ. C添加の健康人骨髓巨核球機能に及ぼす影響について

ビ. Cが粒球数の消長に及ぼす影響に関しては古くから多くの研究がある。即ち粒球減少性諸疾患に対するビ. C投与は、その粒球数を増加するとすものに Viel (1935)⁴⁷⁾, Börger u. Schröder (1934)³⁴⁾, Engelkes (1935)⁸⁾, Börger u. Martin (1935)³⁵⁾, Cotti-Laryza (1936)³⁷⁾, 小林 (1936)⁴⁹⁾, 天笠等 (1936)³⁹⁾, 勝田 (1936)⁵⁰⁾, 寺沢 (1937)⁵¹⁾, 河村 (1937)⁵²⁾, Thiel (1938)⁵³⁾, 神前 (1940)⁴¹⁾, 西 (1942)⁵⁴⁾等があり、河村は特発性粒球減少性紫斑病の5例にビ. Cを投与してその2例は速やかに正常値に復し、1例は僅に増加し、2例は無効であつたと報告し、Börger u. Martin は特発性粒球減少性紫斑病、仮性出血性素質、骨髓性白血病、肝硬変症等の諸疾患にビ. Cを投与して粒球数の増加を認めている。これに対して Schlack (1935)⁵⁵⁾, Sunedai u. Gianonii (1935)⁶⁶⁾, 進藤 (1940)⁵⁷⁾, 池内⁵⁸⁾等はビ. C投与による粒球数の増加を認めなかつたと全く反対の結果を發表している。健康人に対するビ. Cの投与では Börger u. Martin は粒球減少症に比して其の増加は著明でないとして述べ、小野 (1940)⁵⁹⁾は正常海猿に種々なる量のビ. Cを非経口的に投与すると、投与量の増加と共に骨髓は益々

強度の刺激を受け粒球数も増加するのを認め、更にビ. Cの絶対的欠乏症では粒球数は減少するのべている。以上の諸家の成績よりビ. Cが粒球産生と何等かの関係を有することは明らかである。

一方ビ. Cの止血作用機転を粒球産生旺盛化に求めんとするものに Börger u. Martin, 天笠等があるが、更に進んで骨髓巨核球機能の面から解明せんとしたものは僅に Myosonyii があるにすぎない。然るに教室の一連の研究により粒球が骨髓巨核球の突起形成によつて生ずることが確認された現在、ビ. Cの止血作用機転を論ずるに當つて骨髓巨核球機能を観察することは甚だ興味あることと考え、私は健康人骨髓細胞培養に対しビ. Cの添加実験を行つた。その結果ビ. Cの適量添加殊に0.01 mg/cc添加により著しい巨核球機能の亢進を示した。この事実はビ. Cの投与による粒球数の増加が本ビ. Cの直接作用によつて惹起された骨髓巨核球の粒球産生能の亢進に基因するものであり、ビ. Cの止血作用に巨核球の機能亢進が重要な役割を演じていることを示唆するものである。

2) ビ. Cと葉酸、ビ. Cとビ. B₁₂の混合添加による骨髓巨核球機能について

Woodruff のビ. Cの欠乏時に於けるチロジン代謝に関する研究や、肝臓に於ける葉酸の合成がビ. Cの存在によつて促進されるという事実、又葉酸がその活性型である Citovorm Factor に転化する際にビ. Cの存在を必要とするという実験的結果からビ. Cと葉酸の協力作用が推定せられる。井上 (1952)³⁾は斯る見地から大赤血球性貧血の9例にビ. Cと葉酸の併用を試みたが、血液学的所見には両者の協力作用は認められなかつたと述べている。

ビ. Cとビ. B₁₂の関連性についても Dietrich は雛の成長に両者の併用が有効であると述べている。臨床的にも井上は大赤血球性貧血の数例にビ. Cとビ. B₁₂の併用投与を行つて有効であつたと述べている。

私は前編に於て葉酸とビ. B₁₂が骨髓巨核球に対して刺激的に作用することを報告した。ビ. Cが骨髓巨核球機能を亢進することはすでに述べたが、更に骨髓巨核球機能に対するビ. Cと葉酸、ビ. Cとビ. B₁₂の協力作用をみるため、それぞれ混合添加実験を行つたが、却つて両者の混合添加群に於ける巨核球機能は何れも単独添加群のそれに劣り、ビ. Cと葉酸、及びビ. Cとビ. B₁₂の両者は何れも骨髓巨核球機能に対する直接作用に於て何等協力的に働

ず、むしろ単独添加の方が有効であることを知つた。

3) ビ. C 大量投与による再生不良性貧血患者に於ける粒球数の消長及び骨髄巨核球機能について

本症の治療には従来種々の薬剤が用いられているが、的確なものはなく若干の例で有効であつたものが色々報告されている。即ち小宮 (1948)⁶³、Gendel (1947)⁶⁴、宮島等 (1953)^{65,66,67} は葉酸の大量長時の使用により有効であつた例を報告し、勝沼 (1956)⁶⁸ は21例の本症にビ. B₁₂ を使用してその効果は葉酸に劣ると述べ、小宮 (1957)⁶⁹、墨等 (1955)⁷⁰ はコーチゾン、ACTH が本症の急性並びに慢性症に有効であつたと述べている。更に大藤等は本症患者骨髄培養に ACTH、コーチゾン、ビ. B₁₂、葉酸、骨髄エキスを添加してそれら薬物が本症骨髄組織の成長及び細胞機能に良い影響を与えたと報じている。骨髄の進行性機能低下による全血球減少性貧血である本症にビ. C が有効に作用するかも知れないことは充分想像せられるが、本症に対してビ. C を投与した報告は神前の無効例があるにすぎない。然しながら従来のビ. C の使用量はどれも少量で、1,000 mg/日以上的大量投与は岡野 (1954)⁷²、柴垣 (1953)⁷³ 等の子宮出血或は外科領域に於ける出血への使用例の報告があるが、粒球数の消長に関しては何等ふれていない。

そこで私は本症に対しビ. C 1,000 mg を連日非経口的に投与した結果、5例中有効2例、無効3例で、有効例はどれも第1回注射後2時間以内に著しい粒球数の増加を認めた。更に有効例に於ける実験前後の骨髄巨核球機能を比較検討し、実験後の著しい巨核球機能の亢進を認め、ビ. C が本症の巨核球に刺戟的に作用して粒球数を増加させるものであ

ることを確認した。而して無効3例は実験前の粒球数が2万以下であり、有効2例のそれはどれも3万以上であつたことは、ビ. C の本症に対する効果の限界を示すものである。即ちビ. C が作用するには或る程度の骨髄巨核球の残存を必要とするものであり、完全な形成不全に対しては作用すべき骨髄巨核球が存在しないので無効であると考えられる。

第6章 結 論

私はビ. C の止血作用機転の本能を解明せんと企図して健康人骨髄の体外組織培養を行い、ビ. C の添加が直接骨髄巨核球機能に及ぼす影響を観察し、併せてビ. C と葉酸及びビ. B₁₂ との混合添加が該機能に及ぼす、協力作用を検討した。次いで再生不良性貧血に対してビ. C の大量投与を試み、粒球数の消長及び骨髄巨核球機能を追求し次の結果を得た。

1) ビ. C 0.01 mg/cc 添加により骨髄巨核球機能は著しく亢進した。

2) ビ. C と葉酸及びビ. B₁₂ の混合添加では骨髄巨核球機能はそれ等の単独添加に比してむしろ低下し、両者の間に何等協力作用を認めなかつた。

3) 再生不良性貧血患者に対しビ. C を毎日1,000 mg 静注するに、5例中2例に於て著明な粒球数の増加を認め、その骨髄巨核球機能も著しく亢進した。

擱筆するに当り御懇篤なる御校閲を賜りし恩師平木教授並に角南講師に深甚の謝意を表す。

(本論文の要旨は第19回日本血液学会総会に於いて発表した)

(文 献 後 掲)

The Influences of Various Vitamins on the Megakaryocytes in Bone-Marrow Tissue Culture

Part 2. The Effect of Vitamin C on the Function of the Bone Marrow Megakaryocyte in Normal Persons and in Hypoplastic Anemia

By

Kazuo Hayashi

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

With a view to clarify the hemostatic mechanism of vitamin C the author conducted the bone marrow tissue culture of normal persons and observed the effect of direct addition of vitamin C on the megakaryocyte function; and also studied the co-operative action of vitamin C and folic acid or B₁₂ when added in such combinations on the same function of megakaryocytes. Next, by adding a large quantity of vitamin C to the bone marrow tissue culture of hypoplastic anemia the author pursued the fluctuation in the thrombocyte count and the change in the megakaryocyte function. The results are as follows:

1. The megakaryocyte function was markedly increased by the addition of vitamin C 0.01 mg/c. c.
 2. In the case of addition of vitamin C and folic acid or B₁₂ combined, the effect on the megakaryocyte function was rather less than when each of these substances was added singly, thus showing no co-operative action between these substances.
 3. When vitamin C 1,000 mg was daily injected continuously to the patients with hypoplastic anemia, in two out of the five patients the thrombocyte count markedly increased and the megakaryocyte function was also strikingly enhanced.
-