

骨髓抽出多糖類物質の骨髓組織培養に及ぼす影響

第 2 編

貧血患者血清並びに骨髓機能抑制薬物添加 家兎骨髓組織培養に及ぼす影響

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

宮 下 謙 二

[昭和 33 年 7 月 3 日受稿]

内 容 目 次

- | | |
|--|---|
| <p>1 緒 言</p> <p>2 実験材料並びに実験方法</p> <p>1) 実験材料</p> <p>(1) 実験動物</p> <p>(2) 患者血清</p> <p>(3) 骨髓機能抑制薬物</p> <p>2) 実験方法</p> <p>3 実験成績</p> <p>1) 貧血患者血清と併用添加の場合</p> | <p>(1) 再生不良性貧血患者血清の場合</p> <p>(2) バンチ氏病患者血清の場合</p> <p>(3) 慢性骨髓性白血病患者血清の場合</p> <p>2) 骨髓抑制薬物と併用添加の場合</p> <p>(1) ナイトロミンの場合</p> <p>(2) カルチノフィリンの場合</p> <p>4 総括並びに考按</p> <p>5 結 論</p> |
|--|---|

1. 緒 言

諸種血液疾患々者における催貧血性因子の存在に関しては種々の研究実験が行われて来た。即ち再生不良性貧血患者については、1939年 Franke¹⁸⁾ が Leukotoxin の存在を認め、李⁹⁹⁾、浜西²⁴⁾、説田¹¹⁶⁾、117)、長谷川⁹⁰⁾、31)、教室池田⁴¹⁾等も本疾患々者血清中に催貧血性因子の存在することを認めている。更に教室池田⁴¹⁾は血清のみならず患者の脳脊髄液、尿中にもその存在することを認めている。然し乍ら、他方河北⁵⁰⁾は本疾患々者血清中には該因子は存在せず、脾エキス中のみ存在すると述べている。バンチ氏病に就いては友田教授¹¹⁵⁾により血清はじめ脾抽出液、脳脊髄液、尿中に該因子の存在が認められ、阿南²⁾、飯塚⁴⁰⁾等も之を認めて居り、又教室小林⁵⁶⁾も同様本疾患々者の血清、脾リングル及びアセトン抽出液、脳脊髄液、尿中に催貧血性因子の存在を認めて居る。慢性骨髓性白血病患者に就いては説田¹¹⁸⁾、李¹⁰⁰⁾等が該因子の存在を認めて居るが、長井、小西等⁷⁴⁾はそれを否定している。以上の如く血清中

催貧血性因子の存在については、その有無或いは作用機軸につき種々論ぜられて来たが、大藤助教授⁹²⁾はじめ教室先人達は骨髓体外組織培養に之等患者血清を添加し、培養骨髓の組織増生、細胞機能及び赤血球、色素の數量的消長を観察し、再生不良性貧血、バンチ氏病及び慢性骨髓性白血病 患者血清中には明らかに骨髓に直接働き骨髓造血機能を抑制する因子の存在する事を実証している。

又ナイトロミン、カルチノフィリンは共に抗腫瘍薬剤として広く治療面に応用されているが、その骨髓抑制作用は諸家により認められて居り、教室角南¹⁰⁸⁾、谷¹¹³⁾は之等薬物を骨髓組織培養に添加し、その骨髓抑制作用を明らかにしている。先に私は骨髓抽出多糖類物質の家兎骨髓組織培養に及ぼす影響を観察し、直接骨髓實質に働き、その機能亢進作用のあることを明らかにしたが、本編に於ては、本物質が上記諸種貧血患者血清内の催貧血性因子並びに骨髓抑制薬物の骨髓に対する作用に如何に影響するかを明らかにせんと企て以下の実験を試みた。

2. 実験材料並びに実験方法

1) 実験材料

(1) 実験動物

前編と同様 1.5 kg 前後の白色健康雄性家兎を使用した。

(2) 患者血清

当教室入院中の再生不良性貧血、パンチ氏病、慢性骨髓性白血病の各患者に於て早朝空腹時肘静脈より滅菌注射器にて採血して遠沈し、その上清を使用し、対照には患者と血液型を同じくする健康人男子より同様採血し得たる血清を用いた。

(3) 骨髓抑制薬物

ナイトロミンは吉富製薬の製品を生理的食塩水にて $10^{-3}/cc$ の割合に溶解し、カルチノフィリンは協和醗酵のものを $1000^{R.H}/cc$ の割合の生理的食塩水溶液となし実験に供した。

尚骨髓抽出多糖類物質(以下単に P. S.) 及び対照の生理的食塩水は前編に述べたと同一のものを使用した。

2) 実験方法

培養術式は前編に述べたと全く同様である。血清

添加の場合は被覆培養に於ては健康人血清及び生理的食塩水各 1 滴宛添加したものを対照として、之と患者血清及び生理的食塩水各 1 滴添加例、並びに患者血清及び 0.25% P. S. 溶液夫々 1 滴添加例の三者につき組織増生面積、偽好酸球遊走速度、細胞密度を観察し、液体培養に於ても同様の実験例につき赤血球、血色素の数量的消長を観察したが、この場合血清添加による溶血現象を防ぐため教室岩崎⁴⁰⁾の報告に倣い、血清添加は 1 滴 (0.04 cc) とし、生理的食塩水並びに 0.25% P. S. 溶液は夫々 5 滴ずつ添加し比較検討した。薬物添加の場合に於ても全く同様にして、血清に代えるに上記薬物溶液をもつてし、被覆培養には夫々 1 滴を、液体培養には各 5 滴を添加して観察を行つた。

3. 実験成績

1) 貧血患者血清と併用添加の場合

(1) 再生不良性貧血患者血清の場合 (第 1, 2, 3 表, 第 1, 2 図参照)

増生面積を見るに表に示す如く 5 例の患者血清添

第 1 表 再生不良性貧血患者血清と併用添加 (比較成長値)

家兎番号		培養時間						
		3	6	12	24	48	48時間の成長係数	48時間の密度指数
No. 28 (横田)	N	3.5	8.9	16.2	35.2	46.6	—	44
	H	1.0	4.4	10.5	24.5	30.5	0.65	43
	P. S.	1.9	5.2	14.6	29.6	40.5	0.87	43
No. 30 (佐藤)	N	3.4	6.5	12.2	15.9	24.4	—	43
	H	2.4	6.0	9.9	13.9	16.7	0.68	34
	P. S.	2.8	6.6	13.4	17.1	26.7	1.09	49
No. 36 (藤原)	N	2.4	4.9	11.2	22.3	44.6	—	34
	H	1.9	3.2	8.4	14.5	28.0	0.63	30
	P. S.	2.9	7.0	14.8	28.3	47.4	1.09	44
No. 38 (渡辺)	N	5.4	12.3	27.6	49.0	62.1	—	45
	H	4.4	8.4	21.6	32.4	42.5	0.68	36
	P. S.	5.1	10.2	24.1	50.8	68.0	1.10	43
No. 45 (河上)	N	9.1	17.2	33.5	45.0	62.7	—	37
	H	4.4	9.2	18.9	25.0	27.4	0.44	30
	P. S.	7.8	14.9	27.0	38.4	42.1	0.69	38
平均	N	5.8	10.0	22.1	33.5	48.0	—	40
	H	2.8	6.2	13.9	22.1	29.0	0.62	35
	P. S.	4.1	8.8	18.9	32.8	45.9	0.96	42

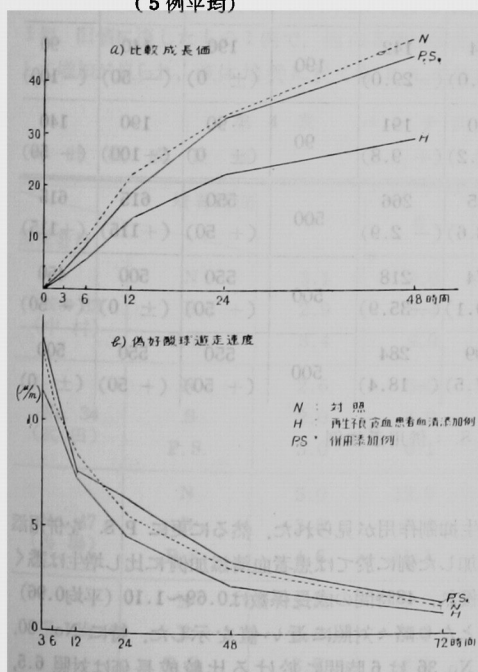
N : 対照 H : 再生不良性貧血患者血清添加例 P. S. : 併用添加例

第 2 表 再生不良性貧血症患者血清と併用添加 偽好酸球遊走速度 (μ/m)

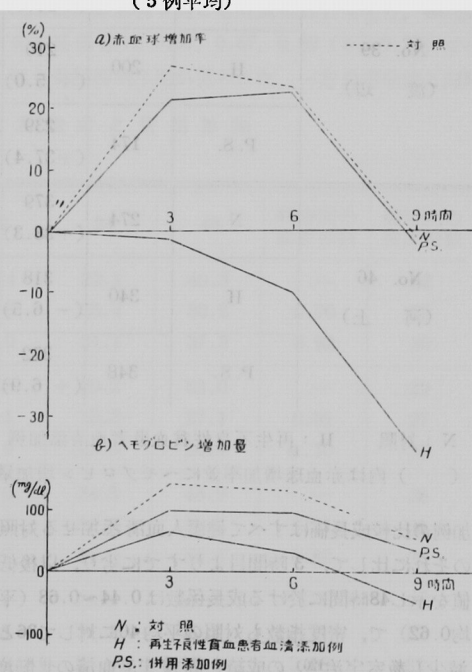
培養時間		3	6	12	24	48	72
家兎番号	N						
	H						
	P. S.						
No. 28 (横田)	N	13.80	13.66	10.60	7.80	3.11	1.60
	H	11.26	13.08	11.06	6.26	2.82	0.98
	P. S.	14.73	14.33	9.26	8.33	3.33	2.10
No. 30 (佐藤)	N	15.93	9.47	10.22	5.07	3.13	1.33
	H	14.13	12.47	8.00	4.12	2.63	1.11
	P. S.	17.80	11.73	8.00	4.32	2.56	1.24
No. 36 (藤原)	N	9.40	6.58	7.16	6.83	3.53	1.86
	H	7.66	7.66	7.53	6.58	3.43	1.82
	P. S.	9.75	8.75	8.66	7.90	4.70	2.38
No. 38 (渡辺)	N	15.38	14.12	8.73	4.33	2.61	1.06
	H	17.44	12.44	6.83	2.88	2.22	0.80
	P. S.	17.60	13.22	7.05	6.46	2.88	1.12
No. 45 (河上)	N	13.50	9.13	4.99	4.47	3.00	1.42
	H	6.20	5.97	3.05	2.79	0	0
	P. S.	13.66	11.33	5.13	4.83	3.17	1.44
平均	N	13.60	10.59	8.34	5.70	3.08	1.25
	H	11.36	10.32	7.29	4.53	2.25	0.94
	P. S.	14.70	11.88	7.62	6.37	3.33	1.46

N : 対照 H : 再生不良性貧血症患者血清添加例 P. S. : 併用添加例

第 1 図 再生不良性貧血症患者血清と併用添加 (5例平均)



第 2 図 再生不良性貧血症患者血清と併用添加 (5例平均)



第 3 表 再生不良性貧血患者血清と併用添加 赤血球数並にヘモグロビン量

家系番号	培養時間	赤血球数 (×10 ³)				ヘモグロビン量 (mg/dl)			
		0	3	6	9	0	3	6	9
No. 29 (横 田)	N	340	425 (+25.0)	438 (+28.8)	341 (± 0)	865	1100 (+235)	1080 (+215)	980 (+115)
	H	450	455 (+1.1)	407 (-9.6)	304 (-32.4)	865	980 (+115)	1080 (+215)	865 (± 0)
	P. S.	442	530 (+19.9)	507 (+14.7)	398 (-10.0)	865	1100 (+235)	1100 (+235)	1100 (+235)
No. 31 (佐 藤)	N	194	239 (+23.2)	244 (+25.8)	200 (+3.0)	395	615 (+220)	550 (+155)	345 (-50)
	H	183	193 (+5.5)	164 (-10.4)	125 (-31.7)	345	450 (+105)	345 (± 0)	240 (-105)
	P. S.	161	202 (+25.5)	211 (+31.1)	169 (+5.0)	395	500 (+105)	395 (± 0)	345 (-50)
No. 37 (藤 原)	N	180	209 (+16.1)	218 (+21.1)	185 (+2.8)	295	450 (+155)	345 (+50)	290 (-5)
	H	202	178 (-11.9)	148 (-26.7)	93 (-54.0)	290	395 (+105)	290 (± 0)	290 (± 0)
	P. S.	205	242 (+18.0)	241 (+17.6)	208 (+1.5)	290	395 (+105)	385 (+95)	355 (+65)
No. 39 (渡 辺)	N	167	219 (+31.0)	203 (+21.6)	156 (-6.6)	90	140 (+50)	190 (+100)	90 (± 0)
	H	200	210 (+5.0)	174 (-13.0)	142 (-29.0)	190	190 (± 0)	140 (-50)	90 (-100)
	P. S.	174	239 (+37.4)	230 (+32.2)	191 (+9.8)	90	90 (± 0)	190 (+100)	140 (+50)
No. 46 (河 上)	N	274	379 (+38.3)	325 (+18.6)	266 (-2.9)	500	550 (+50)	615 (+115)	615 (+115)
	H	340	318 (-6.5)	274 (-19.1)	218 (-35.9)	500	550 (+50)	500 (± 0)	450 (-50)
	P. S.	348	372 (+6.9)	409 (+17.5)	284 (-18.4)	500	550 (+50)	550 (+50)	500 (± 0)

N : 対照 H : 再生不良性貧血患者血清添加例 P. S. : 併用添加例

() 内は赤血球増加率並にヘモグロビン増加量

加例の比較成長価はすべて健康人血清添加せる対照のそれに比して、3時間目よりすでに劣り、以後低値を示し48時間に於ける成長係数は0.44~0.68(平均0.62)で、密度指数も対照の平均40に対して36と減少し教室宇治¹²⁰⁾の成績と同様患者血清の骨髓増

生抑制作用が見られた。然るに更に P. S. を併用添加した例に於ては患者血清添加例に比し増生は悉く優れ、48時間の成長係数は0.69~1.10(平均0.96)となり略々対照に近い値を示した。特に No. 30, No. 36 は6時間に於ける比較成長価は対照 6.5,

4.9に対し P. S. 添加例は 7.6, 7.0 と患者血清添加例はもとより、対照をも凌駕し、以後 12, 24, 48 時間と常に優位を保ち、又 No. 38 も 24 時間に至り対照を凌ぎ、48 時間に於ける成長係数は夫々 1.09, 1.09, 1.10 で細胞密度も優れた。これは P. S. の骨髓機能亢進作用が患者血清の骨髓抑制作用に打ち勝ち、更にそれ以上の骨髓機能促進作用を発現し、却つて対照をも凌駕する結果を招来したものと考えられる。細胞遊走速度は患者血清添加例にては初期より低下が見られ全例とも対照より劣るが、P. S. 併用添加例にては 4 例迄に患者血清添加例はもとより、対照のそれよりも亢進が見られ、遊走速度より見ても P. S. の骨髓機能亢進作用は患者血清の骨髓抑制作用に拮抗する事が明らかである。次いで赤血球数の増減に及ぼす影響を見るに第 3 表に示す如く、患者血清添加例は 3 時間目には 3 例軽度増加するも他の 2 例は減少し、以後全例に於て 6 時間には 10~20% 減少、9 時間には 30~50% の減少と逐時的に減少の一途を辿り教室岩崎⁴⁶⁾の成績と同様である。然るに更に P. S. を同時添加したる場合は全例に於て好影響が見られ、6 時間には 15~30% の増加、9 時間には 2 例に軽度減少を見たる他は増加を維持し、No. 31, No. 39 の 2 例は全経過を通じて常に対照よりも優位を示した。血色素量も患者血清添加例が 9 時間目に旧値に復したも 2 例、他 3 例に減少が見られたのに対し、P. S. 同時添加例は悉く優れ、減少 1 例、旧値に復したも 1 例で、他の 3 例は依然として増加が見られ、液体培養に於ても P. S. の効力

が窺われた。

(2) パンチ氏病患者血清の場合 (第 4 表, 第 3 図参照)

3 例の患者血清につき験するに 3 例とも患者血清添加例は組織増生、細胞遊走共に対照より劣り、48 時間の成長係数は夫々 0.70, 0.81, 0.71 で密度指数も劣り、教室小林⁶⁶⁾の報告と同様本症患者血清の骨髓抑制作用を見たが、P. S. 併用添加例では増生、遊走共に対照と略々同値を示し、48 時間の成長係数は夫々 0.92, 1.10, 0.89 で就中 No. 34 に於ては 3 時間にして比較成長係 3.0 で対照の 2.6 よりも優り、以後 6, 12, 24, 48 時間と常に対照より優位を保ちつづけた。又赤血球数、血色素量の変動を観察するに両者共患者血清添加例に於ては 6 時間目よりすでに減少の傾向が見られ、9 時間には著しい減少を示し、対照に比し甚だしく低値を示し全例に骨髓機能抑制が認められたのに反して、P. S. 併用添加例では全て対照に近づき好影響が見られ、パンチ氏病患者血清の場合にも P. S. の骨髓機能亢進作用が拮抗的に働らく事を知り得た。

(3) 慢性骨髓性白血病病患者血清の場合 (第 5 表, 第 4 図参照)

次いで慢性骨髓性白血病病患者血清と併用添加を行つた所、第 5 表, 第 4 図に示す如く、被覆培養に於ては比較成長係、偽好酸球遊走速度、細胞密度すべて患者血清添加例 3 例とも対照に比して劣り、48 時間の成長係数は 0.67, 0.67, 0.82 (平均 0.72) でやはり骨髓抑制作用が見られた。一方患者血清と同時

第 4 表 パンチ氏病患者血清と併用添加

a) 比較成長係

家兎番号		培養時間					48時間の成長係数	48時間の密度指数
		3	6	12	24	48		
No. 32 (中村)	N	3.1	9.0	19.4	32.1	40.3	—	32
	B	2.9	8.4	15.0	25.4	30.2	0.70	25
	P. S.	3.4	9.0	18.0	31.1	37.3	0.92	30
No. 34 (武田)	N	2.6	6.0	14.8	20.2	33.0	—	29
	B	2.0	4.9	12.1	15.3	27.1	0.81	27
	P. S.	3.0	6.1	17.9	23.5	36.4	1.10	30
No. 47 (馬場)	N	5.0	12.0	27.0	34.5	48.9	—	38
	B	3.8	8.4	17.4	22.5	34.7	0.71	30
	P. S.	4.6	11.1	25.7	31.0	43.3	0.89	36
平均	N	3.6	9.0	20.4	28.9	40.7	—	33
	B	2.9	7.2	14.8	21.1	30.7	0.75	27
	P. S.	3.7	8.8	20.5	28.8	39.0	0.96	32

b) 偽好酸球遊走速度 (μ/m)

家兎番号		培養時間					
		3	6	12	24	48	72
No. 32 (中村)	N	11.40	6.06	4.83	2.75	1.20	0.93
	B	10.41	5.06	3.66	1.20	0.50	0
	P. S.	11.53	9.33	5.73	2.77	1.30	1.00
No. 34 (武田)	N	16.60	12.43	8.86	6.44	3.20	2.53
	B	13.26	12.16	8.00	4.00	1.60	0.78
	P. S.	15.80	12.66	9.80	6.00	3.50	2.44
No. 47 (馬場)	N	11.30	9.23	7.62	5.00	2.66	1.75
	B	9.50	7.77	5.23	3.33	1.03	0.70
	P. S.	10.27	8.89	7.00	4.66	2.40	1.58
平均	N	13.10	9.24	7.10	4.73	2.35	1.74
	B	11.06	8.53	5.63	2.84	1.04	0.47
	P. S.	12.53	10.29	7.51	4.48	2.40	1.67

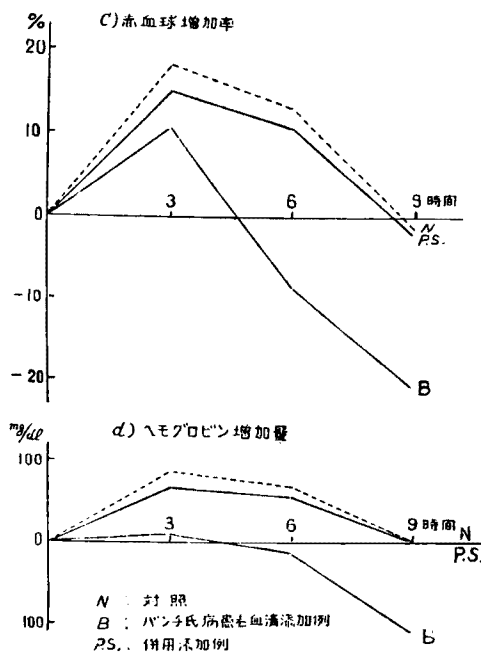
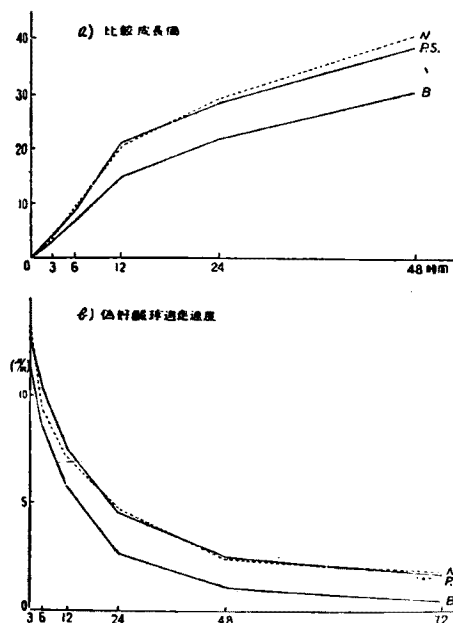
c) 赤血球数並にヘモグロビン量

家兎番号		培養時間	赤血球数 ($\times 10^3$)				ヘモグロビン量 (mg/dl)			
			0	3	6	9	0	3	6	9
No. 33 (中村)	N	229	252 (+10.0)	247 (+7.9)	211 (-7.9)	240	290 (+50)	395 (+155)	290 (+50)	
	B	227	247 (+8.8)	186 (-18.1)	163 (-28.2)	290	345 (+55)	290 (±0)	190 (-100)	
	P. S.	227	233 (+2.7)	222 (-2.2)	170 (-25.1)	290	345 (+55)	345 (+55)	290 (±0)	
No. 35 (武田)	N	173	223 (+29.0)	209 (+20.2)	179 (+3.5)	190	290 (+100)	240 (+50)	140 (-50)	
	B	142	163 (+14.8)	131 (-7.7)	106 (-25.4)	90	90 (±0)	90 (±0)	90 (±0)	
	P. S.	156	203 (+30.1)	179 (+14.7)	179 (+14.7)	190	290 (+100)	290 (+100)	240 (+50)	
No. 48 (馬場)	N	204	235 (+15.2)	228 (+11.3)	205 (±0)	290	395 (+105)	290 (±0)	290 (±0)	
	B	218	239 (+9.0)	219 (±0)	178 (-18.3)	240	200 (-40)	190 (-50)	90 (-150)	
	P. S.	220	248 (+12.7)	262 (+19.1)	231 (+5.0)	290	340 (+50)	290 (±0)	240 (-50)	

N : 対照 B : バンチ氏病患者血清添加例 P. S. : 併用添加例

() 内は赤血球増加率及びヘモグロビン増加量

第3図 パンチ氏病患者血清と併用添加 (3例平均)



に P. S. をも添加した例に於ては全例とも、比較成長係、偽好酸球遊走速度、細胞密度すべて対照に近い値を示し、48時間の成長係数は 0.86, 0.83, 0.99 (平均0.89) となり、患者血清の骨髓抑制作用が P. S. の骨髓機能亢進作用により打消された結果を得

た。又赤血球数、血色素量の変動は表の如き結果となり、患者血清添加例は対照に比し僅かの減少を見たのみで著るしい抑制作用は認められず、P. S. 併用添加例では僅かに対照を凌駕した。

第5表 慢性骨髓性白血病患者血清と併用添加

a) 比較成長係

家兎番号	培養時間	培養時間					48時間の成長係数	48時間の密度指数
		3	6	12	24	48		
No. 41 (河相)	N	2.6	8.0	13.7	21.9	34.2	—	41
	L	1.5	6.3	8.1	15.6	22.9	0.67	30
	P. S.	1.9	7.7	11.9	19.6	29.4	0.86	38
No. 43 (鎌田)	N	4.4	11.5	23.0	32.7	39.0	—	31
	L	2.6	7.4	14.0	18.4	26.0	0.67	26
	P. S.	3.2	9.5	20.8	26.2	32.2	0.83	39
No. 49 (手島)	N	5.6	12.4	22.0	33.8	41.4	—	39
	L	3.6	8.4	14.0	22.6	33.8	0.82	30
	P. S.	4.0	10.5	21.1	32.1	41.0	0.99	40
平均	N	4.2	10.6	19.6	29.5	38.2	—	37
	L	2.6	7.4	12.0	22.2	27.7	0.72	29
	P. S.	3.0	9.2	18.0	26.0	34.2	0.89	39

b) 偽好酸球遊走速度 (μ/m)

家兎番号		培養時間					
		3	6	12	24	48	72
No. 41 (河相)	N	10.00	9.33	8.67	3.20	1.53	0.65
	L	9.90	6.66	4.35	2.10	1.00	0.32
	P. S.	10.50	8.58	5.73	2.60	1.33	0.54
No. 43 (鎌田)	N	12.66	11.20	9.34	5.26	3.99	2.80
	L	10.08	9.58	8.90	2.66	2.00	1.24
	P. S.	12.16	10.00	8.33	4.44	3.83	2.67
No. 49 (手島)	N	12.50	10.33	9.42	5.50	2.50	1.98
	L	10.42	7.58	6.06	2.66	1.33	0.96
	P. S.	12.33	11.06	8.86	5.41	2.00	1.54
平均	N	11.72	10.29	9.14	4.65	2.67	1.81
	L	10.13	7.94	6.44	2.47	1.44	0.84
	P. S.	11.66	9.88	7.64	4.15	2.39	1.57

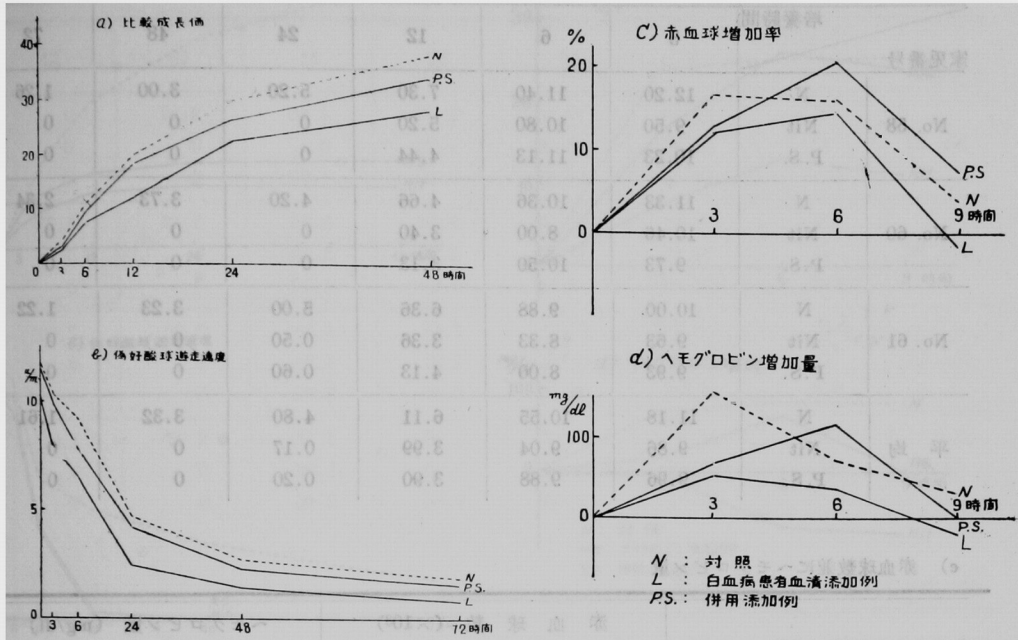
c) 赤血球数並にヘモグロビン量

家兎番号		培養時間	赤血球数 ($\times 10^3$)				ヘモグロビン量 (mg/dl)			
			0	3	6	9	0	3	6	9
No. 42 (河相)	N	235	282 (+20.0)	277 (+17.9)	247 (+5.1)	1100	1225 (+125)	1100 (± 0)	1100 (± 0)	
	L	340	394 (+15.9)	393 (+15.6)	350 (+2.9)	1100	1225 (+125)	1100 (± 0)	1100 (± 0)	
	P. S.	354	408 (+18.1)	425 (+20.1)	389 (+10.0)	1100	1225 (+125)	1225 (+125)	1100 (± 0)	
No. 44 (鎌田)	N	269	293 (+8.9)	306 (+13.8)	285 (+5.9)	500	615 (+115)	550 (+50)	500 (± 0)	
	L	295	304 (+3.1)	345 (+16.9)	289 (-2.0)	345	345 (± 0)	395 (+50)	345 (± 0)	
	P. S.	282	306 (+8.5)	332 (+17.7)	296 (+5.0)	500	550 (+50)	615 (+115)	550 (+50)	
No. 50 (手島)	N	333	376 (+12.9)	390 (+17.1)	334 (± 0)	865	1100 (+235)	980 (+115)	980 (+115)	
	L	246	285 (+15.9)	273 (+11.0)	234 (-4.8)	675	740 (+65)	740 (+65)	615 (-60)	
	P. S.	294	329 (+11.9)	367 (+24.8)	312 (+6.1)	1100	1150 (+50)	1225 (+125)	1100 (± 0)	

N: 対照 L: 白血病患者血清添加例 P. S.: 併用添加例

() 内は赤血球増加率及びヘモグロビン増加量

第4図 慢性骨髓性白血病患者血清と併用添加 (3例平均)



2) 骨髓抑制薬物と併用添加の場合

(1) ナイトロミンの場合 (第6表, 第5図参照)

組織増生, 細胞遊走速度を見るに表の如くナイトロミン添加例は比較成長係は 3, 6, 12 時間と常に対照より劣り, 時間の経過と共にその差は顕著となり24時間にして組織増生並びに細胞遊走停止し,

48時間に於ける成長係数は 0.27, 0.20, 0.22でナイトロミンの著しい骨髓抑制作用が見られた。P.S. 併用添加例では48時間の成長係数は0.36, 0.29, 0.32となり, ナイトロミン単独添加例に比すれば増生面積, 細胞遊走に若干の優位を見るが, 組織増生及び細胞遊走停止時間の延長は認められず, 対照と

第6表 ナイトロミンと併用添加

a) 比較成長係

家兔番号	培養時間	培養時間					48時間の成長係数	48時間の密度指数
		3	6	12	24	48		
No. 58	N	8.1	19.3	31.7	41.9	50.4	—	35
	Nit	5.9	8.9	12.3	13.5	13.5	0.27	33
	P.S.	8.3	13.4	16.2	18.0	18.0	0.36	32
No. 60	N	8.0	12.5	21.5	32.3	41.1	—	24
	Nit	3.2	5.5	6.5	8.1	8.1	0.20	20
	P.S.	5.1	6.9	10.1	12.0	12.0	0.29	20
No. 61	N	7.1	13.9	22.6	33.1	43.7	—	30
	Nit	3.5	6.2	8.4	9.8	9.8	0.22	20
	P.S.	5.7	9.1	12.2	14.0	14.0	0.32	26
平均	N	7.7	15.2	25.3	35.8	46.4	—	30
	Nit	4.2	6.7	9.1	10.5	10.5	0.23	21
	P.S.	6.4	9.8	12.8	14.7	14.7	0.32	26

b) 偽好酸球遊走速度 (μ/m)

家兎番号		培養時間					
		3	6	12	24	48	72
No. 58	N	12.20	11.40	7.30	5.20	3.00	1.26
	Nit	9.50	10.80	5.20	0	0	0
	P.S.	10.23	11.13	4.44	0	0	0
No. 60	N	11.33	10.36	4.66	4.20	3.73	2.34
	Nit	10.46	8.00	3.40	0	0	0
	P.S.	9.73	10.50	3.13	0	0	0
No. 61	N	10.00	9.88	6.36	5.00	3.23	1.22
	Nit	9.63	8.33	3.36	0.50	0	0
	P.S.	9.93	8.00	4.13	0.60	0	0
平均	N	11.18	10.55	6.11	4.80	3.32	1.61
	Nit	9.86	9.04	3.99	0.17	0	0
	P.S.	9.96	9.88	3.90	0.20	0	0

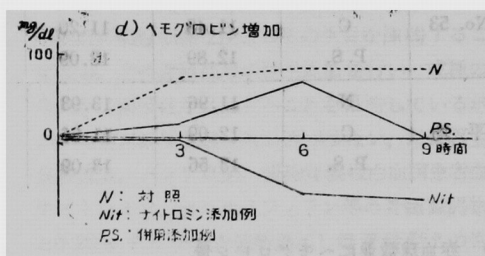
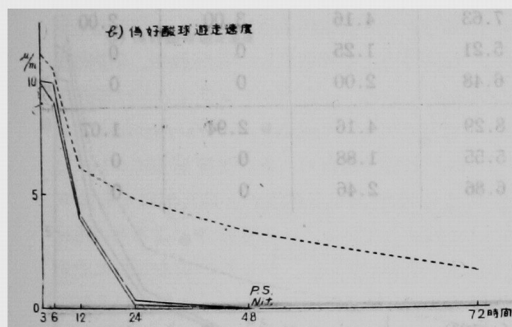
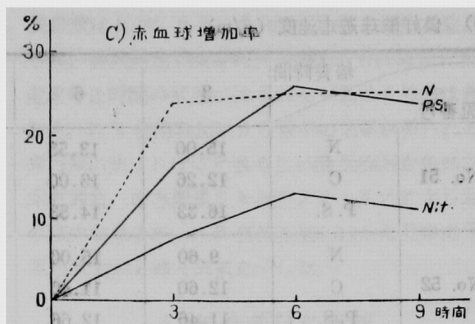
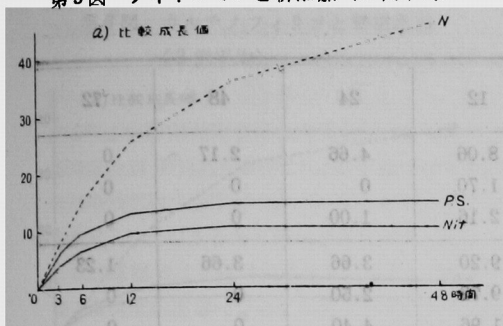
c) 赤血球数並にヘモグロビン量

家兎番号		赤血球数 ($\times 10^3$)				ヘモグロビン量 (mg/dl)			
		0	3	6	9	0	3	9	6
No. 62	N	221	245 (+10.9)	252 (+14.0)	243 (+10.0)	190	190 (± 0)	190 (± 0)	240 (+50)
	Nit	218	217 (± 0)	233 (+6.9)	217 (± 0)	190	190 (± 0)	90 (-100)	90 (-100)
	P.S.	168	183 (+8.9)	193 (+13.7)	180 (+11.9)	190	190 (± 0)	240 (+50)	190 (± 0)
No. 63	N	240	319 (+32.9)	312 (+30.0)	297 (+23.8)	395	500 (+105)	500 (+105)	445 (+50)
	Nit	235	241 (+2.6)	266 (+13.2)	251 (+6.8)	395	395 (± 0)	345 (-50)	345 (-50)
	P.S.	227	252 (+11.0)	292 (+28.6)	247 (+8.8)	395	395 (± 0)	500 (+105)	395 (± 0)
No. 64	N	170	217 (+27.6)	221 (+30.0)	241 (+41.7)	500	615 (+115)	615 (+115)	615 (+115)
	Nit	182	216 (+18.7)	215 (+18.0)	202 (+10.7)	500	500 (± 0)	445 (-55)	445 (-55)
	P.S.	170	216 (+16.3)	230 (+25.8)	255 (+50.0)	500	550 (+50)	550 (+50)	500 (± 0)

N : 対照 Nit. : ナイトロミン添加例 P.S. : 併用添加例

() 内は赤血球増加率及びヘモグロビン増加量

第5図 ナイトロミンと併添加 (3例平均)



の間には尚かなりの差が見られた。赤血球数、血色素量の変動は表に示す如くである。即ち赤血球数はナイトロミン添加例では3, 6, 9時間すべて対照に比して10~20%の増加率の低値をみたが、P.S.併用添加例では3時間に於ては対照より若干劣るも、6, 9時間に於ける増加率は対照のそれと略々同値を示した。これは最初の3時間にはナイトロミンの抑制作用のためP.S.の作用が未だ発現されず、6時間後にして初めてナイトロミンの抑制作用に打ち

勝ち、ナイトロミン無添加の場合と同様になり、9時間に至るも之の優位を保持したものと考えられる。血色素量もナイトロミン添加例が6, 9時間と減少を示したに対し、P.S.併用添加例は6時間で増加、9時間では旧値に復し、減少を示すものはなかつた。

(2) カルチノフィリンの場合 (第7表, 第6図参照)

カルチノフィリンの骨髓抑制作用も又顕著にして、第7表, 第6図に示す如くである。組織増生抑制は

第7表 カルチノフィリンと併用添加

a) 比較成長係

家兔番号		培養時間	培養時間					48時間の成長係数	48時間の密度指数
			3	6	12	24	48		
No. 51	N		4.5	12.0	23.3	35.6	42.1	—	37
	C		3.8	5.2	7.0	7.0	7.0	0.16	20
	P.S.		5.6	6.7	8.5	8.5	8.5	0.20	24
No. 52	N		3.6	7.4	14.8	27.0	34.0	—	38
	C		3.2	5.1	7.3	7.5	7.5	0.22	25
	P.S.		3.4	6.2	9.4	11.4	11.4	0.34	25
No. 53	N		6.0	11.7	21.1	33.3	40.0	—	28
	C		4.5	6.2	8.2	8.3	8.3	0.23	13
	P.S.		5.5	6.5	9.9	12.9	12.9	0.32	15
平均	N		4.4	10.4	19.7	32.0	38.7	—	34
	C		3.8	5.5	7.5	7.6	7.6	0.20	19
	P.S.		4.9	6.5	9.3	10.9	10.9	0.28	21

b) 偽好酸球遊走速度 (μ/m)

家兎番号		培養時間					
		3	6	12	24	48	72
No. 51	N	15.00	13.53	8.06	4.66	2.17	0
	C	12.26	13.00	1.70	0	0	0
	P. S.	16.33	14.53	2.16	1.00	0	0
No. 52	N	9.60	15.00	9.20	3.66	3.66	1.23
	C	12.60	11.40	9.73	2.50	0	0
	P. S.	11.46	12.66	11.96	4.40	0	0
No. 53	N	11.30	13.26	7.63	4.16	3.00	2.00
	C	11.43	11.20	5.21	1.25	0	0
	P. S.	12.89	12.09	6.48	2.00	0	0
平均	N	11.96	13.93	8.29	4.16	2.94	1.07
	C	12.09	11.86	5.55	1.88	0	0
	P. S.	13.56	13.09	6.86	2.46	0	0

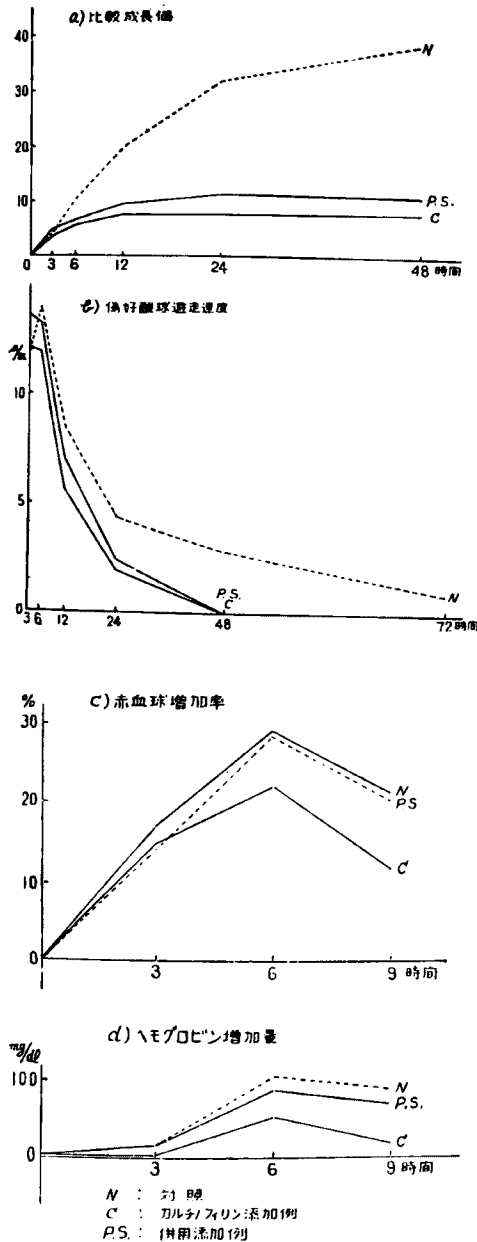
c) 赤血球数並にヘモグロビン量

家兎番号		培養時間	赤血球数 ($\times 10^3$)				ヘモグロビン量 (mg/dl)			
			0	3	6	9	0	3	6	9
No. 54	N	200	236 (+18.0)	280 (+40.0)	237 (+18.5)	290	290 (± 0)	395 (+105)	395 (+105)	
	C	165	201 (+27.8)	203 (+29.1)	190 (+15.2)	190	190 (± 0)	240 (+50)	190 (± 0)	
	P. S.	163	217 (+33.1)	232 (+42.3)	211 (+29.4)	190	240 (+50)	290 (+100)	240 (+50)	
No. 56	N	142	162 (+14.1)	178 (+25.4)	190 (+26.7)	90	140 (+50)	190 (+100)	190 (+100)	
	C	148	161 (+8.8)	181 (+22.3)	185 (+25.0)	90	90 (± 0)	140 (+50)	140 (+50)	
	P. S.	130	142 (+9.2)	160 (+23.1)	164 (+26.2)	90	90 (± 0)	190 (+100)	190 (+100)	
No. 57	N	212	233 (+9.9)	254 (+19.8)	244 (+15.1)	290	290 (± 0)	395 (+105)	340 (+50)	
	C	190	203 (+6.8)	219 (+15.3)	189 (± 0)	290	290 (± 0)	340 (+50)	290 (± 0)	
	P. S.	195	211 (+8.2)	234 (+20.0)	215 (+10.3)	290	290 (± 0)	340 (+50)	340 (+50)	

N : 対照 C カリチノフィリン添加例 P. S. 併用添加例

() 内は赤血球増加率及びヘモグロビン増加量

第6図 カルチノフィリンと併用添加
(3例平均)



3時間目より見られ、以後依然として抑制状態を続け、No. 51 は12時間にして増生停止し、No. 52、No. 53 も又24時間で増生停止し、48時間の成長係数は夫々 0.16, 0.22, 0.23 で細胞遊走も障害を受け、No. 51 は24時間、No. 52、No. 53 は48時間にして遊走停止している。P. S. 併用添加例は48時間の成

長係数は0.20, 0.34, 0.32と若干の増生亢進が見られ、細胞遊走速度も軽度亢進し、No. 51には細胞遊走停止時間の延長が見られたが他の2例には著変なく、P. S. 併用添加により若干の効果が得られるが、尚対照に比すれば依然著しい機能抑制を免れない。赤血球数、血色素量もカルチノフィリンにより若干の減少を見るが、P. S. 併用添加にはかなりの効果が見られ対照と略々同値を示した。

4. 総括並びに考按

山田¹²²⁾は鶏胎心筋組織の結締織細胞培養に於て硫酸銅が組織細胞を侵害しその生長を障碍することを確め、之に諸種種類の併用添加を行い、或種の糖の共存は銅侵害を軽減することを報告しているが、かかる併用添加実験はその例が少ない。私は再生不良性貧血、パンチ氏病、慢性骨髓性白血病患者血清、ナイトロミン、カルチノフィリン等の骨髓障碍物質と0.25% P. S. 溶液を同時添加し培養骨髓への影響を観察するに、上記物質単独添加には骨髓抑制作用著明なるに反し、P. S. 溶液併用添加により、すべての例に於て単独添加より著しい組織増生、細胞遊走速度の亢進並びに赤血球数、血色素量の増加がみられ、時には対照を凌駕した例もあり、かかる好影響は特に貧血患者血清と併用添加の場合に於て著明であつた。以上の結果を按ずるに、

再生不良性貧血患者血清と併用添加の場合：再生不良性貧血患者血清の培養家兎及び人骨髓に及ぼす影響は教室大藤助教⁹²⁾はじめ宇治¹²⁰⁾、岩崎⁴⁶⁾等により詳細に研究されて居り、氏等によれば患者血清添加例の48時間に於ける成長係数は $1/2 \sim 1/3$ で、細胞遊走速度、墨粒貪喰能も著るしく低下し、又中性紅生体染色は早期染色、早期褪色を示し細胞機能の低下が認められ、又赤血球数、血色素量共に対照に比し著しい減少が認められ、本症患者血清中には直接骨髓に働き赤白両血球系の増生を抑制し、同時に細胞機能を低下せしめる催貧血性因子の存在することが明らかに認められたと云う。私の実験に於ても患者血清添加例は組織増生、細胞遊走速度、赤血球数、血色素量すべてに於て上記諸氏の報告と略々同一の傾向が認められた。而るに更に P. S. 同時添加例に於ては成長係数、偽好酸球遊走速度はすべて対照と略々同値を示し、赤血球数、血色素量も対照の値に近づきかなりの増量が認められた。これは同時に添加した P. S. が骨髓実質に働き骨髓機能を賦活し、患者血清中の催貧血性因子に拮抗的に働き、その

骨髄抑制作用を抑制せしめた結果によるものと考えられる。No. 30, No. 36, No. 38 に於ては対照をも凌駕する値を示したが、これは催貧血性因子の骨髄抑制作用に打ち勝ち、更に骨髄実質機能亢進を招来したことを如実に示すものである。

パンチ氏病患者血清と併用添加の場合： 教室小林⁹⁰⁾は家兎骨髄培養に本症患者血清添加を行い、48時間の成長係数は0.62~0.70で、偽好酸球遊走速度も低下をみたと述べ、又教室岩崎⁴⁶⁾は液体培養に添加し赤血球数、血色素量の減少を認め、共に本症患者血清中に催貧血性因子の存在を確認して居る。私の実験例に於ても患者血清添加例は両氏の成績と略々一致した値を示したが、之と同時に P. S. 併用添加した例に於ては48時間の成長係数0.96で患者血清単独添加例の0.75より優れ又偽好酸球遊走速度も対照2.35 μ /m、患者血清添加例1.04 μ /m に対し P. S. 併用添加例は2.40 μ /m で対照と略々一致した。液体培養に於ても同様好影響がみられ対照に近い値を示した。即ち再生不良性貧血患者血清添加の場合に於けると全く同様 P. S. の骨髄機能賦活作用がパンチ氏病患者血清中の催貧血性因子の骨髄機能抑制作用に打ち勝ち拮抗的に作用したのと考えられる。

慢性骨髄性白血病患者血清と併用添加の場合： 本症患者血清中の催貧血性因子に関しては李¹⁰⁰⁾、説田¹¹⁶⁾等は、その家兎静注による末梢血所見よりして該因子の存在を明らかにして居り、一方長井、小西⁷⁴⁾、Haller²³⁾等は家鶏骨髄培養に本症患者血清乃至血清を使用し骨髄性細胞の发育、遊走機能亢進作用ありと述べて居るが大藤助教授⁹²⁾は骨髄組織培養に血清添加を行い、骨髄組織増生、細胞遊走速度、墨粒貪喰能、中性紅生体染色能の観察並びに赤血球数、血色素量の時間的消長を検討し、前記諸氏の実験に見られた如き促進因子の存在を否定し、本症血清中にも特に白血球系に作用する骨髄障碍因子のあることを明らかにして居る。私の添加実験例に於ても被覆培養に於ては著るしく組織増生、細胞遊走速度の低下を認めたが、液体培養に於ては著明なる変化は見出さなかつた。而るに P. S. 同時併用添加するに組織増生、細胞遊走速度共に血清単独添加例に比して優れ、対照に近づき、赤血球数、血色素量にも増加が認められたが、これは P. S. の共存により本症患者血清による骨髄抑制作用が軽減された為と考えられる。

骨髄抑制薬物と併用添加の場合： ナイトロミン、

カルチノフィリンは共に白血病、悪性腫瘍の治療に用いられ病的幼若細胞、組織の破壊作用が認められている。ナイトロミンの骨髄に及ぼす作用に就いては、玉置等¹¹²⁾は白血病治療時病的幼若白血球の空胞形成、核濃縮を認めて居り、西村⁷⁹⁾は白血病患者にナイトロミンを長く注射すると成熟好中球の遊走速度、墨粒貪喰能は低下するとひ云い、又島内等¹⁰⁴⁾はナイトロミンを家兎に投与し骨髄顆粒球系細胞のミトコンドリアの著減ひいては造血組織の酸素消費の低下を見ている。教室角南¹⁰⁸⁾は各濃度のナイトロミンを骨髄組織培養に添加しその影響を観察し、濃度の異なる程著るしい骨髄抑制、細胞機能低下を認めている。一方カルチノフィリンは秦³²⁾等により分離された *Streptomyces Sacrhahiroi* より抽出された抗生物質で、その抗腫瘍性については古賀により実験的に証明され、臨床的にも島田¹⁰⁹⁾等が之を確認している。その後諸家によるその臨床使用経験の報告が見られ、かなりの白血球特に幼若白血球の減少が認められているが、本物質の骨髄に及ぼす影響については教室谷¹¹³⁾が骨髄組織培養に添加実験を行い、組織増生、細胞遊走速度、墨粒貪喰能、中性紅生体染色能並びに血色素量赤血球数の消長につき観察し、その骨髄機能抑制作用のあることを認めている。私もナイトロミン、カルチノフィリンを添加し骨髄組織培養を行った所、48時間の成長係数は夫々0.23、0.20 で以後増生停止し、偽好酸球の遊走も24~48時間にして停止し、赤血球数、血色素量の増加も対照より劣り、明らかに骨髄抑制作用が認められた。然るに P. S. 併用添加した場合には48時間の成長係数は夫々0.32、0.38 となり、赤血球数、血色素量の変化も対照と略々同値を示し、P. S. の骨髄機能賦活作用は骨髄抑制薬物に対しても拮抗的に作用することを確認した。而し乍らこの場合、P. S. の共存は骨髄抑制薬物の赤血球数、血色素量の減少作用に対してはかなりの拮抗的効果が見られたのに、一方組織増生、細胞機能の抑制に対しては著効が見られなかつたが、之は之等薬物の作用が白血球系に対して、より強い抑制作用を有し、P. S. の骨髄刺激作用をもつてもなほそれを完全に打ち消し得なかつたものと考えられる。

以上骨髄抽出多類物質の骨髄機能亢進作用は諸物質の骨髄抑制作用に対して拮抗的に作用することが明らかとなつたが、かかる作用は骨髄障碍因子を有する貧血性疾患々々血清と併用時に特に著明である。之はナイトロミン、カルチノフィリン等の骨髄抑制

作用が貧血性疾患々者血清中の催貧血性因子のそれ
に比し強度である為と思われる。

5. 結 論

家兎骨髄被覆培養並びに液体培養に於て、諸種貧
血患者血清及び骨髄抑制薬物と骨髄抽出多糖類物質
との併用添加実験を行いその影響を観察し次の結論
を得た。

1. 骨髄抽出多糖類物質の骨髄機能亢進作用は再
生不良性貧血患者、パンチ氏病患者及び慢性骨髄性
白血病患者各血清の骨髄障害作用に対し拮抗的に作
用し、場合によつては正常以上に機能を賦活せしめ

る。

2. ナイトロミン、カルチノフィリンとの併用添
加に於ても同様、その骨髄抑制作用に対して拮抗的
に作用するが、前記血清の場合に比らべるとその拮
抗力は稍々弱い。

撰筆するに臨み終始御懇篤なる御指導御校閲を賜
わ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。

(本論文の要旨は日本血液学会第19回総会に於い
て発表した。)

(引用文献は巻尾に一括掲載)

The Effect of Polysaccharides Extracted from the Calf Bone Marrow on the Bone-Marrow Tissue Culture

Part 2. The Effect of Polysaccharides with addition of Sera from Anemic Patients and Bone Marrow Inhibitory Agents on the Bone Marrow Tissue Culture of Rabbits.

By

Kenji MIYASHITA

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

The author studied the effects of the addition of the polysaccharides extracted from the bone marrow in combination with sera of various anemic patients and inhibitory agents of bone marrow on the bone-marrow tissue culture both in fluid medium and in cover-slip method; and obtained the following results:

1. The acceleration of the bone marrow function by polysaccharides extracted from the bone marrow acts antagonistically the action of the anemia inducing factors in sera of aplastic anemia, Banti's disease, and chronic myelogenous leukemia, and in cases it reactivates the bone-marrow function above that of the normal.

2. Even in the case of combination with Carzinophilin or nitromine, such an accelerative action of polysaccharides, antagonistically against the action of these inhibitory agents on the bone marrow, reactivates the bone-marrow function, but in this instance the antagonistic power is relatively less than that in the case of the above.
