

抗骨髓血清による実験的貧血に関する研究

第 4 編

骨髓組織培養に於ける巨核球機能に就いて

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木 潔教授）

榎 原 秀 夫

〔昭和 34 年 2 月 14 日受稿〕

第 1 章 緒 言

第 1 編に於いて抗骨髓血清を注射した実験海猿の末梢血液像に、赤血球の減少と共に栓球の減少を認めたが、本編に於いては更に骨髓に於ける巨核球の変化を骨髓組織培養によつて追究した。先づ抗骨髓血清による栓球系の変化に関する文献を見るに、其の記載も比較的少く、其の業績も一様ではない。先づ Sulli²⁴⁾ は骨髓毒素によつて、巨核球の退行変性の起るのを認めている。Flexner⁵⁾ は抗海猿骨髓鶏鳥血清を海猿に注射し、海猿骨髓に巨核球の増加と共に、巨核球に変性現象（空胞化、破壊及び濃縮）を認めている。棚橋²⁵⁾ は抗骨髓血清の注射によつて、赤血球の減少に伴つて、栓球の著明な減少を認めている。関²⁰⁾ は抗骨髓血清注射によつて、赤血球の減少を認めたが、栓球は予期に反して減少を示さなかつたと述べている。酒井¹⁸⁾ は抗家兎骨髓海猿血清を家兎に注射し、赤血球の減少に伴つて、栓球は減少し 48~72 時間後増加を來したと報告している。

次に骨髓巨核球の機能に関し最近教室の角南、栗井²¹⁾²²⁾ は骨髓巨核球が偽足運動、突起形成を行い、触手状突起の尖端より栓球を分離する像を確認し、骨髓巨核球の運動能と栓球分離能が極めて密接不可分の関係にあることを認め、更に教室の佐々木¹⁹⁾ は従来の塗抹染色標本に於ける所謂巨核球の栓球分離像なるものは人工的産物に過ぎず、従つて骨髓組織培養法による生きた巨核球の運動を直接観察することが巨核球機能を判定する唯一の方法であると主張している。

私は抗骨髓血清注射によつて、海猿の末梢血液像に栓球減少を認めたが、更に簡易骨髓体外培養法を実施し、栓球生成能と密接な関係にある実験海猿骨

髓の巨核球出現数及び巨核球機能を観察し、若干の新所見を得たので茲に報告する。

第 2 章 実験材料並びに実験方法

1. 実験材料

健康なる体重 400 瓦前後の雄性海猿を対照海猿とし、同様に体重 400 瓦前後の健康な雄性海猿に抗海猿骨髓血清を注射し、実験海猿とした。

2. 実験方法

(1) 末梢血液検査法

赤血球数はビュルカーチュルク氏計算盤を使用し算定し、栓球数は Fonio 氏間接法によつた。

(2) 簡易骨髓組織被覆培養法

海猿の四肢骨より骨髓を無菌的に採り出し、約 1 mm³ 大の骨髓組織片に切り、滅菌リソルゲル氏液に入れて充分洗つて置く。次に深さ 0.6 mm の特製培養用載物硝子の中央円形部分に、予め準備した健康海猿の血清を 1/3 皮下針付ツベルクリン注射器にて 1 滴滴下し、硝子棒で 15 mm の円形に拡げる。次いで其の中心に、上述の組織片の一片を置き、更に上から同様にツベルクリン注射器にてビタミン B₁₂ 100 γ/cc 液を 1 滴滴下した後、被覆硝子で覆い、パラフィンで完全に密封した。斯くして出来た培養標本は 37°C 孵卵器内に裏返して静置し、巨核球が原組織より遊出し、巨核球機能の活潑な培養^{12, 24} 時間に亘り孵卵器より取り出し、37°C の保温箱内で明視野顕微鏡によつて観察した。観察するに當つて、巨核球細胞体に及ぼす光線及び熱線の影響を除くために、長時間連続的に強烈な光線を當てない様に留意した。

(3) 出現巨核球数及び巨核球機能の判定法

教室の角南²¹⁾、栗井¹¹⁾ 等の方法に拠つた。即ち出現巨核球数は細胞増生帯に出現した巨核球数を以て

表わし、巨核球機能に就いては、其の運動形態により、軽度の変形を示すA型、偽足運動を行うB型、突起を形成し、更に其の尖端にくびれを生じ栓球を分離するC型の3型に分類し、各々の全出現巨核球数に対する百分率を求めた。

第3章 実験成績

I. 骨髄組織培養を行つた海猿の栓球数の推移

表 1 正常海猿末梢血に於ける赤血球数及び栓球数の推移

実験 月日	No. 33		実験 月日	No. 34		実験 月日	No. 35		実験 月日	No. 36	
	赤血球数 (万)	栓球数 (万)									
27/IX	505	22,22	27/IX	425	14,45	27/IX	468	24,336	28/IX	516	20,64
28/IX	483	23,184	28/IX	475	16,15	28/IX	483	23,184	30/IX	496	22,816
30/IX	504	22,176	30/IX	515	18,54	30/IX	525	22,050	3/X	528	21,12
3/X	453	19,479	3/X	519	25,95	3/X	492	20,664	5/X	488	23,912
5/X	486	17,496	5/X	484	24,20	5/X	504	21,168			
7/X	460	18,400	7/X	518	19,684						
9/X	458	21,984	9/X	510	22,44						
12/X	495	24,75	12/X	470	19,74						
19/X	503	24,144	18/X	483	19,32						
20/X	505	23,23									
21/X	493	22,678									
24/X	495	25,74									

2) 実験海猿

第1編に於いて述べた始く、抗骨髓血清の注射によつて、栓球数は減少した。実験海猿 No. 8 では抗骨髓血清注射に依つて、赤血球の軽度の減少に拘らず、栓球数は初め減少せず、僅か増加したが、第3回の抗骨髓血清の注射によつて、初めて減少し8日目には既に注射前の栓球数に恢復している。No. 16もNo. 8 と同様に抗骨髓血清注射によつて、初め増加し第2回の注射によつて初めて軽度に減少した。No. 19 は第1回の注射後減少し、遂次増加し第2回の注射以後栓球数は軽度の増減を示し、第3回の抗骨髓血清の注射以後61.6%激減した。No. 21 は初め減少した後、遂次増加し、第2回の抗骨髓血清注射によつて再び減少した後、3日目既に注射前の栓球数に戻つた。No. 39 は抗骨髓血清注射によつて、赤血球の減少と平行して、栓球数は減少し、第2回の注射以後大きく減少し第3回注射以後同様に引き続き減少している。

実験海猿の栓球数動搖の程度を観察するに、実験海猿 No. 8 では最大栓球数 365,000、最小栓球数は 149,700、最大動搖閾は 215,300、実験海猿 No. 16

1) 正常海猿

正常海猿の栓球数の生理的動搖は No. 33 では最大栓球数 257,400、最小栓球数 174,960、最大動搖閾は 82,440、No. 34 では最大栓球数 259,500、最小栓球数 144,500、最大動搖閾は 115,000、No. 35 では最大栓球数 243,360、最小栓球数 206,640、最大動搖閾は 32,720 で、平均最大動搖閾は 66,720 であつた（表1）。

実験 月日	No. 33		実験 月日	No. 34		実験 月日	No. 35		実験 月日	No. 36	
	赤血球数 (万)	栓球数 (万)									
27/IX	505	22,22	27/IX	425	14,45	27/IX	468	24,336	28/IX	516	20,64
28/IX	483	23,184	28/IX	475	16,15	28/IX	483	23,184	30/IX	496	22,816
30/IX	504	22,176	30/IX	515	18,54	30/IX	525	22,050	3/X	528	21,12
3/X	453	19,479	3/X	519	25,95	3/X	492	20,664	5/X	488	23,912
5/X	486	17,496	5/X	484	24,20	5/X	504	21,168			
7/X	460	18,400	7/X	518	19,684						
9/X	458	21,984	9/X	510	22,44						
12/X	495	24,75	12/X	470	19,74						
19/X	503	24,144	18/X	483	19,32						
20/X	505	23,23									
21/X	493	22,678									
24/X	495	25,74									

では最大栓球数 234,500、最小栓球数 153,720、最大動搖閾は 80,780、実験海猿 No. 19 では最大栓球数 238,000、最小栓球数 82,280、最大動搖閾は 155,720、実験海猿 No. 21 では最大栓球数 239,500、最小栓球数 116,380、最大動搖閾は 123,120、同じく実験海猿 No. 39 では最大栓球数 542,490、最小栓球数 108,680、最大動搖閾は 実に 433,810 で、実験海猿群の平均の最大動搖閾は 201,746 で、正常海猿の平均最大動搖閾 66,720 に対し約 3 倍余も大きく動搖した（表2）。

II. 骨髄組織培養に於ける巨核球機能

1) 正常海猿

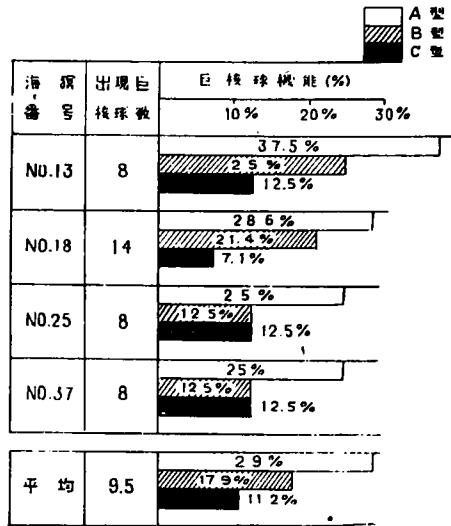
巨核球は培養後 12, 24 時間目に観察し、其の最高値を以つて出現巨核球数とした。先づ正常海猿の出現巨核球数及び巨核球機能を検査した。正常海猿 No. 13 の出現巨核球数は 8 ヶ、巨核球機能は A 型 37.5%, B 型 25%, C 型 12.5% で、No. 18 の出現巨核球数は 14 ヶ、巨核球機能は A 型 28.6%, B 型 21.4%, C 型 7.1%, No. 25 の出現巨核球数は 8 ヶ、巨核球機能は A 型 25%, B 型 12.5%, C 型 12.5%, No. 37 の出現巨核球数は 8 ヶ、巨核球機能は A 型 25%, B 型 12.5%, C 型 12.5% であつた。

表 2 抗骨髓血清を注射した海猿の赤血球数並びに栓球数の推移

実験月日	No. 8	No. 16		No. 19		No. 21		No. 39	
		赤血球数 (万)	栓球数 (万)	実験月日	赤血球数 (万)	栓球数 (万)	実験月日	赤血球数 (万)	栓球数 (万)
21/II	610	18/IV	515	20, 6	4/V	513	4/V	12/X	31, 02
25/II	520	20/IV 1.0cc 注射	469	23, 45	9/V 1.0cc 注射	523	21, 443	18/X	512 44, 032
4/III	600	22/IV	490	22, 05	10/V	474	17, 064	19/X 1.0cc 注射	507 54, 249
18/III 1.5 cc 注射	565	26/IV 1.0cc 注射	549	15, 372	11/V	474	20, 856	20/X 1.5cc 注射	445 48, 06
20/III	580	27/IV 1.0cc 注射	473	21, 758	13/V	462	23, 562	21/X	430 16, 34
22/III 1.5 cc 注射	589	28/IV	470	20, 21	18/V 1.0cc 注射	443	19, 935	23/X	468 18, 72
23/III	482	24, 1			19/V	476	23, 8	24/X pm1 1.0cc 注射	506 20, 24
25/III 1.5 cc 注射	530	18, 6			20/V	504	22, 68	24/X	492 19, 68
28/III	499	14, 97			25/V	462	17, 094	25/X	413 10, 868
1/IV	472	25, 488			3/VI	494	21, 342		
					7/VI 1.0cc 注射	444	9, 768		
					8/VI	484	8, 228		

以上の正常海猿の平均出現巨核球数は9.5、平均巨核球機能はA型29%，B型17.9%，C型11.2%であつた（図1）。

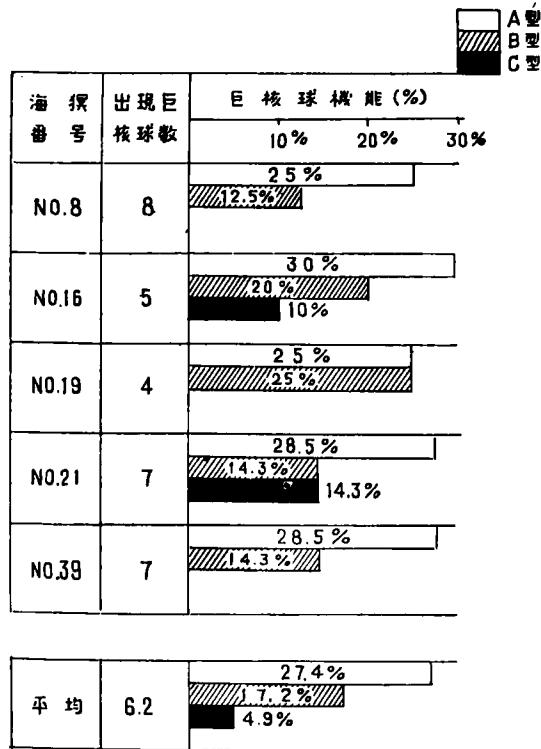
図1 正常海猿の巨核球機能



2) 実験海猿

抗骨髓血清を注射した実験海猿群では、次の結果を示した。即ち実験海猿 No. 8 の出現巨核球数は8ヶ、巨核球機能はA型25%，B型12.5%，No. 16 の出現巨核球数は5ヶ、巨核球機能はA型30%，B型20%，C型10%，実験海猿 No. 19 の出現巨核球数は

図2 抗骨髓血清を注射した海猿の巨核球機能



4ヶ、巨核球機能はA型25%、B型25%、No.21では其の出現巨核球数は7ヶ、巨核球機能はA型28.5%、B型14.3%、C型14.3%、No.39では出現巨核球数は7ヶ、A型28.5%、B型14.3%であつた。実験海猿群の平均出現巨核球数は6.2、平均巨核球機能はA型27.4%、B型17.2%、C型4.9%であつた。以上の様に実験海猿群の平均出現巨核球数は6.2ヶで、正常海猿の平均9.5ヶより少く、巨核球機能に於いても、A及びB型は両群に著明な差は見られなかつたが、C型が実験海猿では4.9%で正常海猿の11.2%に比し特に低下している(図2)。其の外、実験海猿No.19及びNo.39の骨髓組織培養標本中に類円形の静止型巨核球中に胞体の一部が歛損し、変性に陥りつつあるのを認めた。

第4章 総括及び考按

以上の実験成績を総括すれば次の通りである。

1. 抗骨髓血清の注射によつて、実験海猿の栓球数は正常海猿の生理的動搖の範囲を超え明らかに著明に減少した。
2. 実験海猿の出現巨核球数は4～8平均6.2ヶで、正常海猿の8～14ヶ、平均9.5ヶより稍々少かつた。巨核球機能に関しては、実験海猿のA型は25～30%，平均27.4%，正常海猿のA型は25～37.5%平均29%，実験海猿のB型12.5～25%，平均17.2%，正常海猿のB型は12.5～25%，平均17.9%，実験海猿のC型は0～14.3%，平均4.9%，正常海猿のC型は7.1～12.5%平均11.2%であつた。以上の様に実験海猿の出現巨核球数は正常海猿より稍々少く、実験海猿の巨核球機能はA、B両型共に正常海猿に比し著明な差は見られなかつたが、C型は正常海猿のC型より明らかに少く、殊に実験海猿No.8、19、39ではC型は認められなかつた。以上の所見より、抗骨髓血清を注射した海猿骨髓の巨核球機能は正常海猿に比し、明らかに低下している。

さて抗骨髓血清を注射した海猿の栓球、巨核球に関する文献は緒言にも述べた如く極めて少數である。Sulli²⁴⁾は骨髓毒素によつて、赤血球及び巨核球の退行変性の起るのを認め、Flexner⁵⁾は海猿骨髓を以つて鶯鳥を免疫して得た抗血清を海猿に注射し、巨核球の増加とその変性現象(空胞化、破壊、濃縮)を認めている。又栓球に関しても抗骨髓血清の注射によつて減少すると主張するもの、或は減少を見なかつたとするものがあつて、従来の業績は必ずしも一致していない。私の実験に於いて、抗骨髓血清を

注射した海猿の末梢血の栓球は殆んど例外なく減少している。栓球数と巨核球との関係に就いても Wright³¹⁾は種々の疾患殊に悪性貧血、放射線障害、Benzol中毒等の場合に、栓球数は骨髓巨核球数に比例して減少すると述べ、Naegeli¹³⁾は栓球数は巨核球数とは無関係で、巨核球機能と平行すると主張している。最近教室の角南²¹⁾²²⁾、栗井¹⁾²²⁾等は骨髓組織培養法により、骨髓巨核球を観察し、其の触手状突起の尖端は栓球様に膨大し、栓球を分離すると述べている。又教室の佐々木¹⁹⁾は従来骨髓巨核球機能の判定に利用されて来た所謂「栓球分離像」なるものは単に骨髓穿刺液中の栓球が巨核球周囲に附着せるもので、眞の巨核球の栓球分離能とは無関係であることを認めると共に、骨髓組織培養法により生きた巨核球の運動及び栓球分離を直接観察することが巨核球機能を判定する唯一の方法であると報告している。

次に教室の岸¹⁰⁾は海猿の抗栓球血清を海猿に注射し、其の結果末梢血に於いて白血球数の推移には一定の傾向を認めなかつたが、好酸球增多を認めた外、赤血球数、血色素量の減少と共に栓球数は著しく減少し、其の骨髓組織培養に於いては巨核球機能の低下、殊にC型の減少が著明であつたと述べており、私の抗骨髓血清を注射して起した実験的貧血に見られた骨髓巨核球機能の低下の所見によく類似した結果を示している。このことは抗骨髓血清が抗栓球血清をも含有している点より見て、当然の結果と考えられる。

又教室の佐々木¹⁹⁾は再生不良性貧血患者血清を骨髓組織培養に添加し、巨核球数及び巨核球機能に及ぼす結果を観察し、本症患者骨髓組織培養に於ける所見に極度に類似していたと述べ、再生不良性貧血患者血清中に催貧血性物質と共に存在する催栓球減少性物質は直接骨髓巨核球に作用し、巨核球機能を著明に低下させると結論している。

抗骨髓血清を注射し、実験的貧血を起した海猿骨髓に於ける巨核球機能の低下を認めた私の実験所見も亦再生不良性貧血に類似しているが、それと異なる点は再生不良性貧血ではC型を殆んど見ないが私の実験的貧血ではC型の減少を認め、骨髓巨核球機能の犯され方が比較的軽度であることである。それ故に私の実験的貧血に於いては犯され方が一過性で、恢復を來すことに關係があると考えられる。

更に私の実験に於いては抗骨髓血清と云う細胞毒素が骨髓巨核球を直接侵襲し、骨髓の出現巨核球数

の減少、巨核球機能低下、殊にC型の減少によつて末梢血液像に栓球減少症を来し、抗栓球血清による実験的栓球減少症に類似した結果を示したものと云える。

第5章 結 論

抗骨髓血清を注射した海猿の末梢血の栓球数を算定すると共に、更に骨髓組織被覆培養を実施し其の巨核球機能を測定した結果次の如き結論を得た。

1. 抗骨髓血清の注射に依つて、実験海猿の栓球数は正常海猿の生理的動搖域を超えて、明らかに減少した。

2. 抗骨髓血清の注射によつて、実験海猿骨髓の出現巨核球数の減少と同時に巨核球機能の低下、殊に触手状突起形成を示して栓球分離を嘗む巨核球の減少を認め、其の結果末梢血液像に於いて栓球減少症を起すものと考える。

第6章 全編の総括

抗骨髓血清を注射した実験海猿に就き、其の末梢血液像、骨髓像に及ぼす影響を追及し、更に簡易骨髓組織培養及び骨髓液体培養を実施し、抗骨髓血清の赤血球系、白血球系並びに栓球系造血に及ぼす影響を観察し、次の結果を得た。

抗骨髓血清注射により実験海猿の末梢血に一過性の高色素性貧血を認めると共に、赤血球不同症、赤芽球、多染性赤血球、並びに塩基性斑点を有する赤血球等の出現を認め、一部の実験海猿に網状赤血球の増加を見た。骨髓像の赤芽球系の変化として、多くの実験海猿に赤芽球の生成障礙、並びに一部の実験海猿に赤芽球の成熟障礙を來した。実験海猿の骨

髓浮游液の赤血球増生能は低下したが、血色素增加率は実験海猿群と正常海猿群との間に著明な差異を認めなかつた。以上の様に抗骨髓血清は海猿骨髓に作用し、其の赤芽球の増生能に対し抑制的に作用することが明らかになつた。

抗骨髓血清による末梢血に於ける白血球数は赤血球数、栓球数の推移と異なり一定の傾向を示さなかつたが、最初減少した後遂次増加するものが稍々多く、白血球百分率では偽好酸球減少、淋巴球增多を示すものが比較的多く、又好酸球增多を示すものが多かつた。

末梢血に骨髓球、後骨髓球の如き幼若顆粒球の出現すること多く、同時に各種白血球細胞の退行変性を認めた。

骨髓像の顆粒球系の変化としては実験海猿の一部に顆粒球の生成及び成熟障礙を認めると共に、偽好酸球の著明な左方核形推移を示した。一方組織培養では実験海猿骨髓の比較成長価及び細胞密度指数は共に対照より低下し、白血球系細胞増生の悪いことを示した。又実験海猿骨髓の偽好酸球の遊走速度、平均染色度、及び墨粒貪喰度も何れも対照に比し、軽度に低下し、偽好酸球の各機能の低下を示した。

次に末梢血の栓球数も抗骨髓血清の注射によつて減少し、骨髓組織培養に於いても巨核球機能の低下を認めた。

終りに終始御懇意な御指導と御校閲を賜つた恩師平木教授並びに角南講師に深謝致します。

(尚本稿の要旨は第21回日本血液学会に於いて発表した。)

文 献

- 1) 栗井：岡山医学会雑誌，70，5，昭33。
- 2) Bordet : Ann. de l'Inst. Pasteur, Thom, 12, 1898.
- 3) Bunting : Univ. Penna. Med. Bull., 16, 1903.
- 4) Delezenne : Virchow's Archiv, 204, 1911.
- 5) Flexner : Univ. Penna. Med. Bull., 15, 1902.
- 6) 原：東京医学会雑誌，50，5，昭11。
- 7) 平木：日本医事新報，1592号，97，昭29。
- 8) 平木：岡山医学会雑誌，67，2号，別巻，昭30。
- 9) 平木、大藤：岡山医学会雑誌，68，4号，別巻，昭31。
- 10) 岸：未刊。
- 11) 小宮、古庄：臨床血球図説，昭32。
- 12) 前川、服部、熊谷：日本血液学会雑誌，13，5号，昭25。
- 13) Naegeli : Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 1931.
- 14) 中村：岡山医学会雑誌，70，5号，昭33。
- 15) 大藤：最新医学，11，3号，昭31。
- 16) Rohr : das Menschliche Knochenmark. 1949.
- 17) 佐藤：血液学，昭15。
- 18) 酒井：児科雑誌，425号，昭10。
- 19) 佐々木：岡山医学会雑誌，70，9号，昭33。
- 20) 関：日本内科学会雑誌，29，3号，昭16。

- 21) 角南：岡山医学会雑誌，68，8号，昭31。
 22) 角南，栗井：日本血液学会雑誌，19，81，昭31。
 23) 杉山：血液及び組織の新研究とその方法，昭19。
 24) Sulli : Riforma medica, 11/12, Anno. 18, Zit,
 n, Werzberg.
 25) 棚橋：日本血液学会雑誌，3，1号，昭14。
 26) 田村：岡山医学会雑誌，70，7号，昭33。
 27) 宇治：日本血液学会雑誌，361，20号，昭32。
 28) 八代：児科雑誌，362号，昭5。
 29) 岩崎：岡山医学会雑誌，68，9号，昭31。
 30) Werzberg : Virchow's Archiv, 204, 272, 1911.
 31) Wright : Virchow's Archiv, 186, 55, 1906.
-

Studies on the Experimental Anemia induced by the Anti-Serum
 of the Bone Marrow.

Part 4. The Function of Megakaryocytes in the Bone-Marrow
 Tissue Culture

By

Hideo Sakakibara

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

The author calculated the number of platelets in the peripheral blood of the guinea pigs given the intraperitoneal injection of bone-marrow anti-serum and determined the function of megakaryocytes by performing the tissue culture of the bone marrow from these test animals. The following are the results of the present experiment:

1. By the intraperitoneal injection of the bone-marrow antiserum the number of platelets in the peripheral blood of the test guinea pigs decreases beyond the physiologically normal limit.
 2. The intraperitoneal injection of the anti-serum of bone marrow brings about a decrease in the number of megakaryocyte appearance in the bone marrow culture of the test animals as well as the diminution of megakaryocyte function, especially the decrease in the number of megakaryocytes carrying on the separation of platelets by projecting tentacles, and it is believed that this phenomenon is chiefly responsible for the decrease of platelet number in the peripheral blood. .
-