

諸種耳鼻咽喉科領域疾患及び無カタラーゼ血液症に おける Heinz 小体の臨床的並びに実験的研究

岡山大学医学部耳鼻咽喉科教室（主任：高原滋夫教授）

国 分 統

〔昭和34年3月27日受稿〕

目 次

I. 緒 言	1. 実験目的
II. 文献的考察	2. 測定方法及び測定材料
III. 耳鼻咽喉科疾患におけるハインツ小体	3. 測定成績
1. 測定方法及び測定材料	4. 考 案
2. 測定成績	5. 小 括
3. 考 案	V. 血液毒添加後の血中カタラーゼ定量
4. 小 括	VI. 総括と結び
IV. 動物実験	主要文献

I. 緒 言

R. Heinz は1890年フェニールヒドラジンの血液に対する作用を研究中、犬及び家兎にフェニールヒドラジンを注入し、24時間後にその赤血球内に現われる形態の変化を観察し、そこに現われた一種の超生体可染性顆粒に対してハインツ小体と命名し、初めて詳細な記載を発表した。

ハインツ小体を形成した赤血球は主として脾臓に捕捉されて漸次流血中を去るが、ある場合にはハインツ小体を含む赤血球は大小不同症、変形症等の溶血性貧血像を来することがあると知られている。兎に角赤血球におけるハインツ小体の出現は血色素分解を伴う赤血球の血球内破損を指示するものとして臨床的に興味ある小体と考えられるので、私は最近耳鼻咽喉科領域におけるハインツ小体について検討し、若干の成績を得たので報告する。

II. 文 献 的 考 察

Heinz の記載によるハインツ小体とは、円形、卵円形、或は鋸歯状で、非常に反射性であるため未染色でも容易に見る事が出来、又数は1個、或はそれ以上で赤血球壁内にあり、ブラウン運動をしたり、或は1箇所固定していたりする。普通この小体は赤血球内にあり、その中心を離れて辺縁に近く存在

するが、時として茎によつてぶらさがるかのように赤血球から突き出たり、しばしば赤血球外、即ち血漿中に遊出して観察される。その大きさは犬、兎、モルモットにおいては1乃至2 μ の直径があるといわれている。

ハインツ小体は0.6%食塩水の1%メチレン青溶液による超生体染色によつて特に鮮明に紫青色に染出されるので Blaukörper とも称えられた。Heinz はこの好色素性小球はフェニールヒドラジンによつて破壊された Protoplasma で、赤血球から発生すると解し、spektroskopisch にこの小球は Methämoglobin の線条を示すことを発表した。彼はまたフェニールヒドラジンの他に、次の物質においてもフェニールヒドラジンと同様の現象を赤血球に認めた。即ち Acetylphenylhydrazin, Diacetylphenylhydrazin, Acetyläthyl-phenylhydrazin, Monobenzoyl-phenylhydrazin 等である。Heinz の報告以後ハインツ小体に関する研究は血液学者の注目する所となり、種々の化学薬品の中毒において同様な赤血球内小体が観察された。例えば Dinitrobenzol, Nitrobenzol, Toluilendiamin 及び過塩素酸塩の如きである。然しながらこの期間の文献中にはハインツ小体そのものの表現に関して多くの混同が見られる。例えば、Schmauch は Pyrocin や Bothriozephalusextract を猫に注射して赤血球中好塩基性顆粒を

認め、この顆粒は Kernreste 即ち Jolly 小体、或は血小板と同じものであると考えた。又ハインツ小体は Köhl により 1890 年発見された Randkörper と間違われたりし、ある学者はハインツ小体の存在を疑い、又ある研究者はハインツ小体を核の崩壊物、或は核の誘導体と考えた。本小体に関する呼び方も Heinz-Ehrlich bodies, Heinz bluegranules (Heinz-scher Blaukörper), inclusionbodies (Innenkörper od. Innenkörperchen), hemoglobinemic innenbodies, hemoglobinemic inclusionbodies. 等様々の命名があるが発見者の名に因み Heinz 小体と呼んでいる。

1911 年 Pappenheim 等はハインツ小体の化学的組成につき、又同じ頃 Shling 等はハインツ小体の形成機構につき、夫々研究を試みた。ハインツ小体の形成機構には従来より色々の説明がある。最初 Heinz は本小体を赤血球の原形質の部分的壊死によるものとした。

Ehrlich は彼の所謂 hemoglobinämischer Innenkörper (血色素内包体) がハインツ小体そのものであるとし、この内包体の中にある Hämoglobin は安定して存在するか、或は変性ヘモグロビンとして存在しておると考えた。彼は固定標本での Jolly-Kernrestkörperchen (ジョリー氏小体) と超生体染色標本のハインツ小体と血小板とを区別している。即ち彼によると、ハインツ小体は超生体染色にて塩基性色素で染りうるし、固定標本では著明に Hämoglobin を含有して好酸性であるので、塩基性 Jollykörperchen (固定標本での) とは同一視出来ないと述べている。なお又彼は、ハインツ小体は出現してから Hämoglobin を含有せる Schistozysten (分裂球) となるが血小板は Hämoglobin を含有していないから血小板と同一のものでないともいつている。1902 年 Schwalbe と Solley はハインツ小体と血小板を同じものと見做した。即ち、正常赤血球細胞中にハインツ小体と同様な構造が存在し、之は Nukreotide であり、血漿中に遊離して血小板として存在していると考えた。1928 年 Wallbach, Gutstein 等はハインツ小体は正常赤血球成分をなす所謂 Innenkörperchen から誘導され、之が毒物により可視性となるものと考えた。1941 年 Heubner 及び Dustin は之らの小体は危害を加えられた赤血球の原形質から発生すると述べ、1942 年 Jung も又ハインツ小体が赤血球膜から生成される変性蛋白であることを支持している。Webster はハインツ小体が一般に成熟赤血球内に見られ、その成因は赤

血球の何らかの成分と毒性物との不可逆的反応によるか、或は前二者の中間代謝物との不可逆的な反応によると述べている。1954 年青木はハインツ小体を形成する芳香族アミノ及びニトロ化合物は何れも何等かの機構で酸化的に作用し、生体内で Methämoglobin を生成しうる薬品であると推定し、KCN, H_2O_2 を血液に作用させて実験をした結果、ハインツ小体形成という現象は血球膜蛋白質の酸化的変性が根本条件であると考えた。

次に動物実験、試験管内実験、或は臨床報告等でハインツ小体を形成する薬物として知られているものは上述したように、無機物では過塩素酸塩とヒドロキシラミン、有機物では芳香族アミノ及びニトロ化合物であるが、1940 年 Moeschlin は Sulfapyridin 中毒患者の赤血球内にハインツ小体を見出し、その後報告されたものは Guajacol, Dinitroglycol, Arsine, Cobalt, Paramino-benzoesäure, Acetanilide 等がある。近年では Webster 等により Stibine, Natrium nitrosum, Natrium nitricum 等が報告され、1953 年には S. Brenner 及び A. C. Allison は低濃度の Natriumazid 及び 2:4-Dichlorphenol を人間の血球に作用させてハインツ小体を形成させた事を報告している。その他臨床的には Antifebrin, Dinitrotoluen, Trinitrotoluen, クリオゲニン (Phenylsemicarbazide), Dimethyldiaminodiphenylsulfon, Colchicine, Anastil, Eklosin, Erythrol tetranitrate 等の中毒例にハインツ小体が見出されている。

以上の如くハインツ小体形成と之を形成すべき薬品の化学的構成との間には一貫共通した関係は見出されない。青木は初期の研究中に報告された芳香族の薬品が一見して何れも何等かの機構で酸化的作用をもち、生体内で Methämoglobin を生成しうる薬品のように思われる点から、従来 Hämoglobin の分解反応にしばしば用いられた試薬として、フェニールヒドラジンの他に KCN, H_2O_2 , $Na_2S_2O_4$, L-アスコルビン酸等を用いて試験管内でハインツ小体の形成実験を行い、何れも陽性結果を得ており、そしてハインツ小体形成はそれぞれの薬品そのものの化学的特性に依存するものでなく、それら薬品が血球蛋白に酸化的変性を起しうるか否かという普遍的性質の有無によるものと考えた。又 Friedstein は該小体は生体内に限り、然も致死量以下の少量の血液毒に際してのみ形成せられると唱え、Pappenheim は血液毒を試験管内に加えて出来る顆粒は病的なも

ので Methylviolett で Violet に染められ、之は赤血球の hämoglobinämische Heinz-Ehrlichsche Degeneration で恐らく Protoplasmalipoid をもつた Hämoglobin の変化したものであらうと発表している。その後西谷、高橋両氏の試験管内血液毒添加により超生体可溶性顆粒を認め、之をハインツ小体であると論じ、更に最近直、河村両氏はハインツ小体試験管内形成を利用して疾病の重篤度を測定しうることを報告した。

兎に角流血中に多量のハインツ小体が存在することは赤血球に何らかの危害が働いていることを示すものであつて、それが存続する時は溶血性貧血の原因ともなりうると考えられている。

Ⅲ. 耳鼻咽喉科疾患におけるハインツ小体

1. 測定方法及び測定材料

ハインツ小体測定法には、吉田氏による試験管内形成法があるが、この方法は反応測定に少くとも24時間を要すること、無菌的に操作せねばならぬこと、食塩水による赤血球の洗滌を3回反復しなければならぬこと、静脈より採血するから幼児、重症患者には実施困難なこと等の不便があるので吉田、河村両氏は最近この改良法を創案しそれについて検討し、その操作の簡単で、然もその測定成績も前報とあまり差異のないことを報告している。私はこの改良法を用い実験を試みた。

先ず指頭採血により白血球計算用メランジュールの膨隆部のガラス玉を抜いたようなピペットの目盛1まで血液を吸引し、次いで目盛11まで試薬0.5 mg/dl 塩酸ヒドロキシルアミン生理的食塩水溶液を吸入し、直ちに小試験管内に吹き出し、振盪混和しながら暫時37°C の水槽中に入れて湯め、管外を拭うた後37°C のフラン器内に納め、水槽中に入れた時刻から1時間を経て取出し、再び軽く振盪混和しながら氷水中に入れ、短時間冷却した後、その1白金耳を載物ガラス上に取り、1%メチレン青の0.6%食塩水溶液1滴と混和して超生体染色し、手早く被蓋ガラスで封じ、10分後速かにハインツ小体を含む赤血球の%を測定し、之をハインツ小体試験管内形成反応値とした。実施にあたっては、原形質の完全に保持されている赤血球1,000個を観察し、その中でハインツ小体を含む赤血球数を数え、%を以て表わした。赤血球は美しい黄橙色を呈し、ハインツ小体は緑調を帯びた青色に染り、多くは赤血球の辺縁部に1個時に2乃至3個あり、光線を強く屈

折する小体として認められる。又同時に貧血度測定には簡便法として臨床上しばしば用いられているヘマトクリット値測定法を用いた。即ち、血液1ccに血液凝固阻止剤として3.8%クエン酸ソーダ0.2ccの割に混和し、ヘマトクリット測定用管に注入し、3,000回転30分遠沈して測定管に記してある目盛にて赤血球容積を読む。

測定材料として本実験に用いた血液については岡山大学医学部耳鼻咽喉科に入院中のものを使用した。健康者については、自他覚的に全く病的所見なく、又本測定検査前1年以内全く罹患したことなく、殊に胸部疾患の既往症のないものを選び、特に女性については月経中をさけた。

試薬としては塩酸ヒドロキシルアミンを用い、この試薬は平素乾燥器内に密閉して入れておき、用に臨んで4 mg/dl を化学天秤で測り、0.9%生理的食塩水で8倍に稀釈して0.5 mg/dl 溶液として使用した。

顕微鏡は油浸装置で対物レンズ100、対眼レンズ10×を用い、拡大等1,000倍とした。

2. 測定成績

健康者男女夫々20名のハインツ小体測定値は、平

1表 直接指頭採血法による健康者の測定値

男 性				女 性			
例	年齢	ヘマトクリット値%	本測定値%	例	年齢	ヘマトクリット値%	本測定値%
1	30	46	39	1	25	43	90
2	28	44	42	2	24	44	86
3	31	44	86	3	21	44	93
4	26	47	42	4	22	46	91
5	27	43	63	5	21	47	71
6	42	45	77	6	28	47	82
7	37	47	36	7	26	45	95
8	45	45	61	8	32	47	100
9	24	46	58	9	26	45	101
10	42	43	91	10	23	46	32
11	25	46	42	11	26	47	66
12	21	46	38	12	20	46	81
13	38	43	92	13	24	46	70
14	20	47	28	14	35	43	75
15	26	46	27	15	23	45	73
16	34	46	56	16	40	46	68
17	39	45	90	17	20	44	34
18	40	46	82	18	18	46	50
19	32	44	105	19	29	45	68
20	28	47	68	20	23	46	54
平 均 値			61	平 均 値			73

均して男性61%, 女性73%で両性の間に著明な差違を認めない。

次に耳鼻咽喉科疾患について、整理上私は4つに分類した。即ち、本測定値301%以上を最強度促進とし、300乃至201%を高度促進、200乃至151%を中等度促進、150乃至100%を軽度促進と考えた。

先ず慢性扁桃炎では殆んど健康者に近い値を示し、扁桃摘出後の測定値も健康者と差違がない。又ヘマトクリット値においても健康者の値の範囲内にある。

2表 慢性扁桃炎

例	年 性	術前ヘマトクリット値 %	術測定値 %	前値	退院時測定値 %
1	27 ♂	46	160	112	
2	22 ♀	45	120	91	
3	25 ♀	46	43	45	
4	25 ♂	47	42	40	
5	26 ♂	45	141	117	
6	24 ♀	46	86	91	
7	13 ♂	47	34	33	
平 均 値			89	76	

慢性副鼻腔炎では平均して中等度促進を認めたが、ヘマトクリット値はやはり健康者値と同じであつた。この患者に副鼻腔根治手術を行うと、その値においてかなりの低下を示した。

3表 慢性副鼻腔炎

例	年 性	術前ヘマトクリット値 %	術測定値 %	前値	退院時測定値 %
1	20 ♂	42	212	130	
2	17 ♂	44	163	102	
3	20 ♂	43	238	159	
4	20 ♀	44	180	116	
5	41 ♂	43	203	142	
6	18 ♂	45	160	121	
7	20 ♀	46	115	87	
8	19 ♂	47	74	66	
9	24 ♂	40	190	143	
平 均 値			171	118	

慢性化膿性中耳炎では、慢性副鼻腔炎と同様に中等度促進がみられ、中耳根治手術によりやはり低下するのを観察した。

4表 慢性中耳炎

例	年 性	術前ヘマトクリット値 %	術測定値 %	前値	退院時測定値 %
1	24 ♀	44	226	136	
2	19 ♂	41	215	147	
3	30 ♀	41	254	169	
4	27 ♂	45	172	108	
5	11 ♀	46	136	97	
6	20 ♀	45	168	104	
7	29 ♂	45	138	99	
8	27 ♀	45	146	89	
9	18 ♀	44	162	120	
10	30 ♂	43	203	148	
11	15 ♀	46	136	101	
12	46 ♂	45	138	92	
平 均 値			175	118	

良性腫瘍では軽度増加し、腫瘍摘出後は殆んど健康者の測定値内に復するのを認めた。又ヘマトクリット値も正常値内にあつた。

5表 良性腫瘍（鼻茸、乳嘴腫、嚢腫）

例	年 性	術前ヘマトクリット値 %	術測定値 %	前値	退院時測定値 %
1	24 ♂	43	147	93	
2	40 ♀	46	71	67	
3	54 ♀	46	110	91	
4	33 ♂	47	142	98	
5	20 ♂	39	104	80	
6	29 ♂	45	118	86	
平 均 値			115	86	

悪性腫瘍では何れも高度促進値を示し、ヘマトクリット値も健康者に比較してかなり低下を認めた。

6表 悪性腫瘍（上顎癌、喉頭癌、咽頭癌、食道癌）

例	年 性	術前ヘマトクリット値 %	術測定値 %	前値	退院時測定値 %
1	42 ♀	38	282	306	
2	52 ♂	36	324	320	
3	56 ♀	39	254	261	
4	63 ♂	38	230	198	
5	53 ♂	38	223	182	
6	53 ♀	36	256	234	
7	59 ♂	29	372	367	
8	53 ♀	40	184	178	
9	59 ♂	39	188	180	
平 均 値			257	247	

又根治手術後も殆んど測定値は不変で、中には増進の傾向さえ示すものもあつた。個々の癌について述べると、咽頭癌に最強度の促進を認め、次いで上顎癌、喉頭癌が高度促進し、食道癌に中等度促進を観察した。ヘマトクリット値もハインツ小体測定値の促進と平行して低下しているのを見た。

最後に無カタラーゼ血液症患者3名のハインツ小体測定値では、ヘマトクリット値より考えて、何れも著明な貧血もなくむしろ正常と思われるにも拘わらずハインツ小体形成の最強度促進を示した。

7表 無カタラーゼ血液症患者の測定値

患者氏名	年 令 性	ヘマト クリッ ト値%	A ‰	B ‰	C ‰
中 ○ ○ 子	20 ♀	42	402	0	246
中 ○ 薫	17 ♀	41	457	0	285
中 ○ ○ 子	12 ♀	41	485	0	308

【註】A・患者の指頭採血液を吉田、河村氏法で処理後超生体染色を行つた値。

B・患者血液1白金耳を1%メチレン青で超染した値。

C・患者血液1ccに過酸化水素溶液1cc(34mg)添加後37°Cフラスコ内に10分間入れた後超生体染色した値。

塩酸ヒドロキシルアミンの代りに過酸化水素溶液を使用した測定値では前者よりやや低下値を示した。なお高度促進を認めた。又試薬を何ら加えない場合には何れもハインツ小体は認められなかつた。

3. 考 案

ハインツ小体の試験管内形成促進反応は非特異性反応であつて、一般に同一疾患でもその程度に種々の段階があり、同一程度の疾患にしても、個人によつて受ける障害又は反応が一定していない。従つてこれ等複雑な生体内部の異常を鋭敏に反映する血液にも種々雑多な変化を起してくることは容易に推察しうる所である。

以上の測定成績を総合すると慢性炎症では軽度より中等度促進を認めしも、ヘマトクリット値においては殆んど正常値の範囲内にあり、又根治手術により術直後は反つて僅かな促進を示すが、日を経るにつれて緩慢ながら下降し健康者値近くまで低下するのを認めた。この結果を考えると疾病においては病巣より何らかの毒素が血液に作用して血球が脆弱となつておるが、その病巣の排除により、脆弱化された赤血球は速かに網内系により消化されて正常値へと恢復してゆくのであろう。

次に悪性腫瘍におけるハインツ小体測定値とヘマトクリット値とが平行して促進、低下を示したことより貧血という事がやはりハインツ小体形成に無関係でありえないという事を推定出来た。又根治手術によつて病巣を除去した後もハインツ小体測定値の著明な低下を示さず、中には促進さえみたものがあつたことは疾病の悪性であることを如実に示していると考えられる。

無カタラーゼ血液症においては検査した患者3名のハインツ小体形成が何れも著明な促進を示し、而も典型的な顆粒を赤血球内に観察したが(1図参照)、ヘマトクリット値は健康者値の範囲内にあり、両測定値に全く平行関係が認められなかつた。この点前述の悪性腫瘍と比較し反対の結果である点に興味を惹いた。即ち、ヘマトクリット値より考えて著明な貧血があるとは考えられないにも拘わらず、無カタラーゼ血液症では悪性腫瘍以上にハインツ小体形成が促進されており、又本測定を行つた無カタラーゼ血液症患者では平素全く健康者と何ら変りのない生活を営んでおる点等から、ハインツ小体形成機構には悪性腫瘍とは異なる何等かの因子、例えば血球内カタラーゼ量の減少ということ等が影響しているのではなからうか。文献的考察の所で述べたように1953年に S. Brenner 及び A. C. Allison は実験的に低濃度の Natriumazid や 2:4-Dichlorophenol により人血球にハインツ小体を形成せしめた。これらの試薬は Katalase の作用を抑制する。そしてこの Katalase の抑制は過酸化水素の蓄積へと導き、その結果 Hämoglobin の変性や他の細胞成分、殊に細胞膜や原形質リポイド及び蛋白成分の崩壊を招来し、これがためにハインツ小体が出現するのであろうと報告している。

人間の血液内に於けるカタラーゼの作用は一般に次のように考えられている。即ち、動植物組織における正常な代謝過程では過酸化水素 H_2O_2 が組織中に産生されるが、細胞内にこのカタラーゼ酵素が存在するために、之が H_2O_2 を H_2O と $\frac{1}{2} O_2$ に分解し、 H_2O_2 の破壊作用から組織細胞を防衛し、その保全を保つてゐると。以上の考え方からして、無カタラーゼ血液症患者血液に塩酸ヒドロキシルアミンを添加した際のハインツ小体の高度促進は血液毒により血球成分がカタラーゼを欠除するために盛んな酸化的反応をおこして起るものと推定される。又無カタラーゼ血液症患者の血液に過酸化水素溶液を作用させて、その測定値を検討したが、その測定値はな

お高度促進値を示し又ハインツ小体の形態、大きさも塩酸ヒドロキシルアミンによるものとはほぼ同様で差異を認めなかつたことより推察すると本小体形成機構は血球細胞成分の酸化によるものと考えられる。

Morawitz によると貧血性赤血球は高度の酸素の要求をもっているというから、著明な貧血を有する癌患者のハインツ小体形成の高度促進は何か酸化的変性を来すような血液毒が高度の酸素要求をもつ赤血球に作用して起ると考えられる。1954年に佐藤、小倉両氏は無カタラーゼ血液症に見られる進行性壊疽性顎炎と可成り近似の様相を呈する上顎癌患者10名の中3名にのみその流血中に著明なカタラーゼの減少を来しただけであり、必ずしも上顎癌患者にはカタラーゼの減少が認められないということを発表している。この事から癌血液においてはカタラーゼが必ずしもハインツ小体形成促進に大きく関与しているとは思えない。然し一方無カタラーゼ血液症では、一般のカタラーゼ値7乃至10(井上氏法)に対し、恒に0の値を示し、而も血色素量は殆んど正常値を示し著しい貧血の見られないのに癌血液と同程度若しくはそれ以上のハインツ小体形成促進を示した。これらの点からハインツ小体形成促進は貧血等により赤血球が脆弱化し酸化され易くなっているため起るとする他に血中カタラーゼ量の減少もハインツ小体形成促進に無関係でないということが考えられる。

4. 小 括

以上記載した実験成績を要約すれば次の通りである。

1) ハインツ小体試験管内形成反応は非特異性反応である。

2) 健康者のハインツ小体試験管内形成反応に於ける測定値は、平均男性61%, 女性73%で両性の間に著明な差違を認めなかつた。

3) ハインツ小体の測定値に於て、301%以上促進を最強度促進とし、300乃至201%を高度促進、200乃至151%を中等度促進、150乃至100%を軽度促進と分類した。

4) ハインツ小体形成反応では悪性腫瘍に高度促進がみられ、中でも咽頭癌に最強度促進を認め、次いで上顎癌、喉頭癌、食道癌の順に促進をみた。

5) 無カタラーゼ血液症においては、高度貧血など認められず正常と思われるにも拘わらず、ハインツ小体形成反応は特に最強度促進を示した。

6) 耳鼻咽喉科領域の良性腫瘍ではハインツ小体

形成反応は軽度促進を認めた。

7) 慢性炎症では、副鼻腔炎、中耳炎共に殆んどがハインツ小体形成の中等度促進を示し、扁桃炎では軽度促進せるものが多かつた。

8) ハインツ小体の測定値は生体内に生じた毒素又は毒素類似物質のために被つた赤血球の障害程度を示すものの如く、疾病の重篤度に比例するものでないように観察された。

9) ハインツ小体の測定値は、耳鼻咽喉科領域の悪性腫瘍で貧血が存在する時よりも、無カタラーゼ血液症の如く血中カタラーゼ量の減少に際して、より高度の促進値を示した。

10) ハインツ小体形成測定値は耳鼻咽喉科疾患の根治手術により病因消失後は徐々に正常値に復するが、悪性腫瘍では、根治手術後に於てもその測定値の低下が殆んどみられなかつた。

IV. 動 物 実 験

1. 実験目的

ハインツ小体の形成反応は上述のように無カタラーゼ血液症患者において最強度促進を認めた。しかれば、1) 血中カタラーゼ量の減少があればその血液に血液毒を注いだ場合、試験管内に於て、果してハインツ小体の形成促進が見られるであろうか。2) 同じく血中カタラーゼ量の減少している動物に血液毒を連続注射した場合、ハインツ小体は如何なる消長を示すだろうか。このような観点から、私は既に血中カタラーゼ量の測定されている若干の鳥類について、ハインツ小体を検討してみた。

2. 測定方法及び測定材料

先づ1)の実験については、鳩、家鴨、鶏の翼下静脈より採血し、家兎においては耳静脈より採血した。かく採血した血液を白血球計算用メランジュールの膨隆部のガラス玉を抜いたようなピペットの目盛1まで吸引し、次いで目盛11まで試薬0.5 mg/dl 塩酸ヒドロキシルアミンの生理的食塩水溶液を吸入し、直ちに小試験管内に吹き出し、振盪混和しながら暫次 37°C の水槽中に入れて温め、管外を拭うた後 37°C のフラン器中に納め、水槽中に入れた時刻から1時間を経て取出し、再び軽く振盪混和しながら氷水中に入れ、短時間冷却した後、その1白金耳を載物ガラス上に取り、1%メチレン青0.6%食塩水溶液1滴と混和して超生体染色し、手早く被蓋ガラスで封じ、10分後速かにハインツ小体を含む赤血球の%を測定した。2)の実験については、過酸化

水素溶液 7 mg, 塩酸ヒドロキシルアミン 7 mg の連続注射をしながら毎日測定を行つた。これには先づ過酸化水素の定量が必要であるが、之は検圧計を用いた藤田、児玉氏定量法に従つて既に測定された市販の過酸化水素があつたので之を用いた。この過酸化水素溶液は 1 cc 即ち 33.32 mg の濃度となるので、この溶液の 7 mg を使用した。塩酸ヒドロキシルアミン 7 mg は化学天秤で測定した。ハインツ小体の検出は前述同様である。

次に測定材料については成熟鳩、家鴨、鶏、家兎を使用した。これら動物の血中カタラーゼ量は 1955 年三原氏がワールブルグの検圧計を用いて測定をしており、彼の発表によると、血中カタラーゼ量の最も少ない動物は鷺鳥で、次いで鳩、家鴨で之等のカタラーゼは非常に僅少であり、鷺鳥の血中カタラーゼは鶏の $1/220$ であり、鳩は鶏の $1/150$ で、家鴨は鶏の凡そ $1/40$ である。又家兎血中カタラーゼ量と比較すると、家鴨、鳩、鷺鳥の血中カタラーゼ量は家兎のそれぞれ $1/80$, $1/300$, $1/420$ に相当する値となり、非常に微量であると報告している。

3. 測定成績

以上の動物についての測定成績を述べると、先づ各動物血液に何等血液毒を加えないでそのまま 1 % メチレン青の 0.6 % 食塩水溶液で超生体染色した場合には何れもハインツ小体は認められなかつた。

8 表 各動物血液を吉田、河村氏法にて処理後超生体染色を行つた値 (%)

	鳩 ♀ 体重 0.4kg	家鴨 ♀ 体重 1.5kg	鶏 ♀ 体重 0.8kg	家兎 ♀ 体重 2.2kg
I	201	140	98	132
II	204	146	110	121
III	231	137	113	128
平均値	212	141	107	127

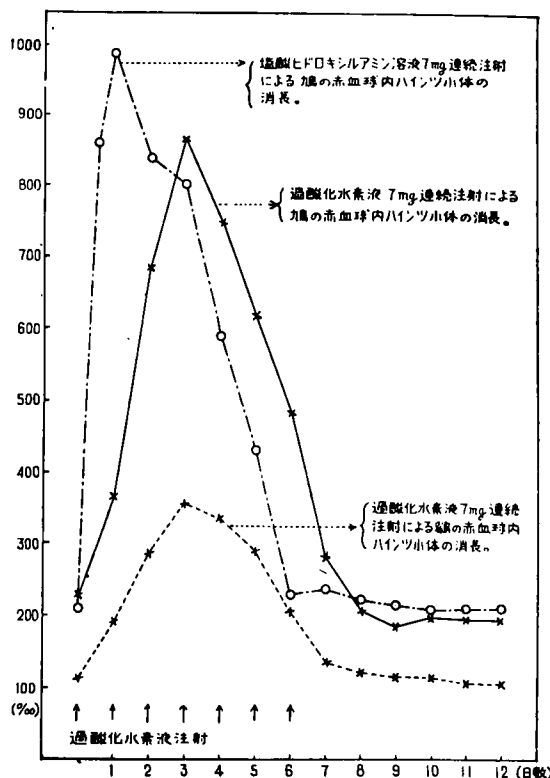
次に各動物血液に試薬 0.5 mg/dl 塩酸ヒドロキシルアミンを作用せしめ、上記 1) の測定法に基いて検討した場合には、鳩に著明な促進を認め、次いで家鴨に促進がみられ、鶏、家兎には左程著しい促進は観察されなかつた。又各動物血液 1 cc を試験管にとり、之に上述定量された過酸化水素溶液 1 cc を添加後、速かに 37°C のフラン器内に入れ、10 分後に検査をしたものでは鳩に高度な促進を示し、次いで家鴨、家兎で、鶏では殆んど促進がみられなかつた。

9 表 各動物血液 1cc に 3.8% チトラート 0.1cc 及び H_2O_2 1cc (34mg) 添加後 37°C 10 分間フラン器に入れた後超染した値 (%)

	鳩 ♀ 体重 0.4kg	家鴨 ♀ 体重 1.5kg	鶏 ♀ 体重 0.8kg	家兎 ♀ 体重 2.2kg
I	160	162	27	132
II	174	153	28	127
III	182	149	31	124
平均値	172	155	29	128

動物実験：最後に血中カタラーゼ量の最も僅少な鳩と血中カタラーゼ量が鳩の約 154 倍も持っている鶏について、既に濃度の測定されている過酸化水素溶液の連続注射を行いつつ毎日両鳥の血中ハインツ小体の消長について検討してみた。その結果、鳩では第 1 回の注射後 24 時間で 334%, 第 2 回注射後 24 時間で 688%, 第 3 回注射後 24 時間で 871% で最も高度促進を示し、1 週間注射を連続せるも 4 日目にはそれ以上促進を示さず、以後ハインツ小体を形成せる赤血球は流血中を次第に去り、注射後 7 日目には殆んど鳩の正常値近くまでに低下をみた。鶏に同

第 10 表 過酸化水素液 0.2 cc (7 mg) 連続注射による鳩・鶏の赤血球ハインツ小体の消長。



様過酸化水素溶液を連続注射を行いながら毎日測定した成績では、24時間後では181%、48時間で285%、72時間で355%で以後減少を辿り、7日目には同様に鶏の正常値に復した。次に塩酸ヒドロキシルアミン7mgの連続注射を鳩に施行しながら毎日測定した結果では、注射後12時間で測定血液の80%にハインツ小体を有する赤血球を認め、24時間後には殆んど100%に近く赤血球内に観察されたが、以後次第に流血中を去り、注射後7日目には正常値近くに復した。

4. 考 案

血液中カタラーゼ量の少い成熟鳩、家鴨と血液中カタラーゼ量の多い鶏及び家兎を用いハインツ小体の形成並びに消長について検討を加えてみた。測定結果よりみると、やはり血液中カタラーゼ量の僅少な鳩において顕著な促進を示し、カタラーゼ量の多い鶏、家兎にはハインツ小体の形成促進がそれほど著明に現われなかつた。又過酸化水素溶液によるハインツ小体の測定では、特に血中カタラーゼ量に影響される所大で、鳩では高度促進を示し、鶏では極めて僅かの形成しかみられなかつた。又過酸化水素によるハインツ小体の形態は塩酸ヒドロキシルアミンによる小体と比較するに前者による小体は後者による小体よりもやや小さく、数は塩酸ヒドロキシルアミンの時に2~3個に対し過酸化水素では3~4個ほどで、染色度は同程度に紫青色に染つており、全体としては同様な小体であると思われた(2, 3, 4, 5図参照)。

このような測定結果から推測するに血中カタラーゼの減少はカタラーゼによる血球の保護作用が少ないため血液毒が血球に作用すると直ちに血球が酸化変性を蒙り易い状態に導かれるのではないか。之に反し血中カタラーゼ量の多い動物では先づ血液毒によるカタラーゼの作用抑制が起り二次的に血球細胞成分の酸化変性が起るのではなからうか。次に鳩、鶏に過酸化水素7mgの連続注射による測定結果をみるに血中カタラーゼの多少が大いに関与していることを示した。即ち、鳩では血液毒により著しく血球が障害されるのを見るが、鶏ではその血球は著しい抵抗を血液毒に示した。

しかし乍ら鳩における血球障害も無限に続くものではなく、或る程度までは急速に障害されるが、ある限界に達するとそれ以後は血液毒に対して抵抗を示すことが分つた。三原氏の報告によると鳩は血中カタラーゼ量は少いが肝臓、小腸、腎臓、脾臓等に

は正常量にカタラーゼを含有していると報告していることから以上の実験に現われた鳩赤血球の抵抗も幾分理解出来るのではなからうか。即ち、血液毒に対しかかる臓器のカタラーゼが防禦態勢として現われ、それによる解毒作用が行われるのであろうか。又彼は鳩、家鴨等の特定の臓器内にはカタラーゼが多量に存在していることから無カタラーゼ血液症患者においてもその血中カタラーゼ量は僅少で0に近いけれどもそれ等臓器内には、やはり正常にカタラーゼが含有されておるのではなからうかと推測しているが、無カタラーゼ血液症患者が特別疾病に罹患し易いということもなく、平素健康者と殆んど同じような生活を続けておることも以上の実験結果からみてある程度了解されると思う。

鳩に塩酸ヒドロキシルアミンの連続注射した場合の測定成績を過酸化水素の連続注射の場合と比較すると、ハインツ小体の形成促進が前者に急速に現われ、出現率も著明で又正常に恢復する程度も急激であつた。これは両試薬の血液に対する毒作用が同じ濃度では前者の方が強いのであろうか。しかし生体自体の有する解毒作用は以上の実験に於て注射を連続しながらもハインツ小体形成反応の下降してくる点よりみて毒作用の強弱如何に拘わらずほぼ同程度の反応を示すことを知り得た。

5. 小 括

無カタラーゼ血液症と同様に、その血液に過酸化水素を添加した際、黒変し、気泡湧出を示さなくかつ、血中カタラーゼ量の僅少な鳩、家鴨とこれらの動物と反対に血中カタラーゼ量の多い鶏、家兎についてハインツ小体の出現状態を検討し、次の結果を得た。

1) 鳩、家鴨、鶏、家兎から採取した血液に試薬を加えずに1%メチレン青の0.6%食塩水溶液にて超生体染色した場合、ハインツ小体の形成は何れも認められなかつた。

2) 上記4動物の血液に塩酸ヒドロキシルアミンを作用させた場合、鳩に於てはハインツ小体の形成が著明に促進したが、之に反し鶏では軽度促進を示した。

3) 上記4動物血液に試験管内で過酸化水素溶液を作用させた場合、ハインツ小体形成の著しい促進を示した動物はやはり鳩で、鶏では極めて僅かの形成しか示さなかつた。

4) 鳩、鶏に過酸化水素溶液7mg連続注射をしつつ毎日測定した場合、鳩では注射開始後4日目に

赤血球内ハインツ小体形成が測定血液の約90%に達したが、鶏ではほぼ35%位にしか認められなかつた。

5) 鳩に塩酸ヒドロキシルアミン7mg 連続注射をしつつ毎日ハインツ小体の測定を行つた場合には、初回注射後24時間で既に測定赤血球の100%近くにハインツ小体を認めた。

6) 鳩、鶏血液に対する塩酸ヒドロキシルアミンと過酸化水素のハインツ小体形成並びにハインツ小体の消長においては著明な差違を認めないが、塩酸ヒドロキシルアミンの方がやや毒作用が強く現われた。

7) 連続注射によるハインツ小体含有赤血球の消失は速かて鳩では注射後7日目ではほぼ正常値に復した。

V. 血液毒添加後の血中カタラーゼ定量

1) 実験目的

以上の実験成績より血液毒塩酸ヒドロキシルアミンと血中カタラーゼとが関係があるように思えたので私は血液毒添加後の血中カタラーゼ量を測定し、血液毒の血中カタラーゼの作用抑制について検討してみた。

2) 測定方法及び測定材料

測定方法は次のように井上氏法に従つた。測定材料は健康者肘静脈血を用いた。

Katalase 定 量 (井上氏法)

I. KMnO_4 -titer 決定

1. 蒸留水 20 cc ($70^\circ\sim 80^\circ\text{C}$) 宛
2. $1/10$ N 蔞酸 5 cc 宛
3. 20%硫酸 2 cc 宛
4. これを $70^\circ\sim 80^\circ\text{C}$ の Incubator へ 5 分
5. $1/10$ N- KMnO_4 をビュレットに入れ、上の液を滴定

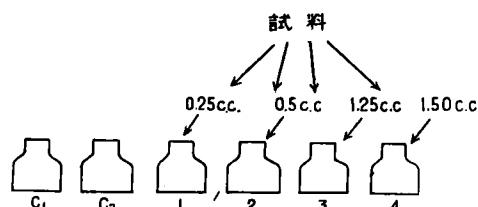
II. 試料. 耳朶より 20 mg 採血, 20 cc Aq. dest. に混合

III. Katalase 反応操作

蒸留水 20 cc 宛

1,000倍 H_2O_2 水 5 cc 宛

38°C - 30分保持



IV. Titration

試料瓶に20%硫酸 2 cc宛入れる。

滴定値を $C_1, C_2, E_1, E_2, E_3, E_4$ とする

$$C_1 + C_2 = C$$

$$\frac{E_1 + E_2 + E_3 + E_4}{2} = E$$

$$C - E = b$$

$$\therefore K = 0.3402 \frac{25.0}{a} b$$

(a は I. に於ける KMnO_4 の中間値)

血液毒添加には試料瓶 1, 2, 3, 4 に 5 mg/dl 塩酸ヒドロキシルアミン 0.1 cc (0.005 mg), 0.2 cc (0.01 mg), 0.5 cc (0.025 mg), 0.6 cc (0.03 mg) とした。これは吉田、河村氏法ハインツ小体の試験

管内形成促進反応に於ける血液に対する塩酸ヒドロキシルアミンの重量比がほぼ $1/60$ になるので、本反応においてもこの重量比を以て、上のような量を添加した。

3) 測定成績

	健 康 者	血液毒添加後
KMnO ₄ -titer	a=5.1	a=5.2
血 液	20mg	20mg
Titration	$\left. \begin{matrix} E_1=0.32 \\ E_2=0.15 \\ E_3=0.1 \\ E_4=0.05 \end{matrix} \right\} E=0.27$	$\left. \begin{matrix} E_1=1.0 \\ E_2=0.7 \\ E_3=1.7 \\ E_4=1.4 \end{matrix} \right\} E=2.4$
	$\left. \begin{matrix} C_1=2.7 \\ C_2=2.6 \end{matrix} \right\} C=5.3$	$\left. \begin{matrix} C_1=2.5 \\ C_2=2.5 \end{matrix} \right\} C=5.0$
C - E	b=5.03	b=2.6
K	8.49	4.25

4) 考案及び小括

以上の実験成績より血液毒たる塩酸ヒドロキシルアミンは顕著に血中カタラーゼの作用を抑制するという事を確認し得た。

前述の如く、無カタラーゼ血液症又はそれに近似の動物に於ては H₂O₂、塩酸ヒドロキシルアミンの如き血液毒に対し、正常人又はカタラーゼ正常値の鶏、家兎に比し、著しいハインツ小体形成の促進を来す事実、及びこの塩酸ヒドロキシルアミンにより血中カタラーゼ活性の抑制されるという事実より考え、ハインツ小体の形成とカタラーゼ酵素の活性度との間には密接な関係があると窺える。

VI. 総 括 と 結 び

私は、耳鼻咽喉科領域におけるハインツ小体の臨床的並びに実験的観察を行い、次のような成績をえた。

1) 健康者におけるハインツ小体測定値は平均して男性61%, 女性73%であつた。

2) ハインツ小体形成促進は、生体内に生じた毒素又は毒素類似物質により被つた赤血球の障害程度を示すものと考えられる。

3) 慢性副鼻腔炎、中耳炎では殆んど中等度促進を示したが、慢性扁桃炎では軽度促進を認めるのみで、何れもヘマトクリット値には特別低下をみなかった。

4) 耳鼻咽喉科領域の癌患者においてはハインツ小体形成の高度促進を認め、同時にヘマトクリット値も平行して下降を示した。

5) 無カタラーゼ血液症にては、ヘマトクリット値が正常値内にあるにも拘わらずハインツ小体形成

は特に最強度の促進を示した。

6) ハインツ小体の形成促進は根治手術により病因消失後には徐々に下降して正常値に復するが、悪性腫瘍では腫瘍摘出後も殆んど下降を示さなかつた。

7) ハインツ小体の測定成績では、貧血が存在する時よりも、血中カタラーゼの減少している場合において、より高度にハインツ小体形成促進を認めた。

8) 鳩、家鴨、鶏、家兎血液に塩酸ヒドロキシルアミンを作用させた場合、ハインツ小体の形成が特に促進を示した動物は鳩で、之に反し鶏では著しい促進を認めなかつた。

9) 上記4動物の血液に夫々過酸化水素溶液を作用させた場合、ハインツ小体の形成は鳩に顕著で、次いで家鴨、家兎、鶏の順で、鶏では極めて僅かの形成であつた。

10) 鳩、鶏に過酸化水素溶液を連続注射しつつ毎日その血液を検査した場合、鳩に著明にハインツ小体の形成が見られ、鶏ではほぼ35%にしか認められなかつた。

11) 鳩に塩酸ヒドロキシルアミン溶液を連続注射しつつ測定した場合では、前述の過酸化水素連続注射の場合と比較し、それよりも速かに測定血液の100%近くにハインツ小体の形成を認めた。

12) 過酸化水素及び塩酸ヒドロキシルアミンの連続注射をしつつ毎日ハインツ小体を測定した場合、ハインツ小体含有赤血球の消失は注射開始後4日目に初まりほぼ7日目には正常値に復した。

13) 以上の諸結果から考案すれば、ハインツ小体の形成機序には血中カタラーゼの存否如何が影響しているようである。即ち血液毒或は血液毒類似物によつて血中水素イオン濃度の変化を惹起し、これがためカタラーゼの作用が抑制又は不活性化され、次第に血球成分の酸化変性から本小体の形成へと導かれるものように考えられる。

擧筆するに当り、終始御懇篤な御指導並びに御校閲を賜つた恩師高原滋夫教授に深甚な謝意を表し、併せて有益な御助言を頂いた水河忠敬博士に衷心より感謝致します。尚種々御援助下さつた教室員各位に厚く御礼申し上げます。

(本論文の要旨は日本耳鼻咽喉科学会中国地方会第76例会並びに第77例会において発表されている)

主 要 文 献

- 1) Heinz : Virchow Arch. 122, 100 (1890).
- 2) Huber : Virchow Arch. 126, 240 (1891).
- 3) Ehrlich u. Lindenthal : Z. Klin. Med. 30, 472 (1896).
- 4) Schwalbe, E. u. Solley, J. B. : Virchow Arch. 168, 399 (1902).
- 5) Friedstein : Fol. Haemat. Arch. 12, 239 (1911).
- 6) Schmauch : Virchow Arch. 156, 201 (1899).
- 7) Pappenheim : Fol. Haemat. Arch. 12, 289 (1911).
- 8) Gutstein u. Wallbach : Virchow Arch. 263 u. 267 (1928).
- 9) Schilling : Virchow Arch. 234, 548 (1921).
- 10) Schilling : Fol. Haemat. 14, 95 (1912).
- 11) Heubner, S. H. : Fol. Haemat. 67, 323 (1943).
- 12) Moeschlin, S. : Fol. Haemat. 65, 345 (1941).
- 13) Warburg, O., Kubowitz, F. u. Christian, W. : Biochem. Ztschr., 242, 170 (1931).
- 14) Kiess M. u. Seipelt, L. Arch. f. exper. path. u. pharmakol., 200, 648 (1943).
- 15) Webster, S. H. : Blood, 4, 479 (1949).
- 16) S. Brenner and A. C. Allison : Separatum Experientia, Vol. 9, 10, p. 381 (1953).
- 17) 吉屋 : 口腔病学会雑誌, 19, 1, 18 (1952).
- 18) 高橋 : 児科雑誌, 345, 336 (1926).
- 19) 西谷 : 乳児誌, 4, 407 (昭和3年).
- 20) 河村 : 京府医大誌, 47巻, 327 (昭和25年).
- 21) 下村 : 京府医大誌, 51巻, 201 (昭和27年).
- 22) 錦石, 吉田, 下村 : 日血会誌, 13巻, 190 (昭和25).
- 23) 吉田, 貫野 : 日血会誌, 26巻 (昭和28).
- 24) 吉田, 橋本 : 日内分泌会誌, 29巻 (昭和28年).
- 25) 高原 : 耳鼻咽喉科, 2巻, 21号 (1953).
- 26) 宮本 : 岡山医学会雑誌, 64, 4, 817 (昭和27年).
- 27) 佐藤, 小倉 : 耳鼻咽喉科, 26, 12 (昭和29年).
- 28) 伊藤 : 岡山医学会雑誌, 64, 1, p. 29 (昭和27年).
- 29) 山本道夫, 他7名 : 岡山医学会雑誌, 69, 1, p. 103 (昭和32年).
- 30) 三原 : 日血会誌, 16, 4, p. 67 (昭和28年).

Clinical and Experimental Studies on Heinz Bodies in Various Diseases in the Field of Oto-Laryngology and Acatalasemia

By

Osamu Kokubu

Department of Oto-Rhino-Laryngology Okayama University Medical School
(Director: Prof. Shigeo Takahara)

In his clinical and experimental observations on Heinz bodies in various diseases in the field of oto-rhino-laryngology and acatalasemia the author obtained the following results.

1. The mean estimated value of Heinz bodies in normal persons has been 61% in male and 73% in female.

2. In chronic sinusitis and chronic otitis media an intermediate acceleration in Heinz body formation can be seen and only a mild acceleration in chronic tonsillitis. However, no significant fall in the hematocrit value can be recognized in any of these cases.

3. In the patients with cancer in the field of oto-rhino-laryngology the advanced acceleration in the Heinz body formation can be recognized, at the same time the hematocrit value reveals a considerable fall in a reverse proportion to the acceleration.

4. In acatalasemia despite the hematocrit value being within the normal range, the formation of Heinz bodies reveals the highest acceleration.

5. The increment in Heinz bodies in the patients gradually begins to fall after the operative removal of lesions and returns to the normal level, while in the case of malignant tumor it hardly declines even after the removal of tumor.

6. In the estimation of Heinz bodies, the higher acceleration can be recognized in the case where catalase in blood is decreased rather than in the case of anemia.

7. when HCl-hydroxylamine is made to act on pigeons and ducks, having an extremely small amount of catalase in blood, and hens and rabbits supposedly to have normal amount of blood catalase, pigeons show the most marked increment in the Heinz body formation, while on the other hand no significant acceleration can be recognized in hens.

8. When hydrogen peroxide (H_2O_2) solution is made to act on the blood of the four animals mentioned above, the acceleration in the Heinz body formation is most striking in pigeons followed by ducks, rabbits, and hens in that order, showing an extremely mild formation of Heinz bodies in hens.

9. In the daily examinations of the blood in the pigeons and hens injected continuously with H_2O_2 , the pigeons reveal a marked increment in Heinz bodies, showing about 87 per cent of the blood, while hens an increase of only about 35 per cent of the blood tested.

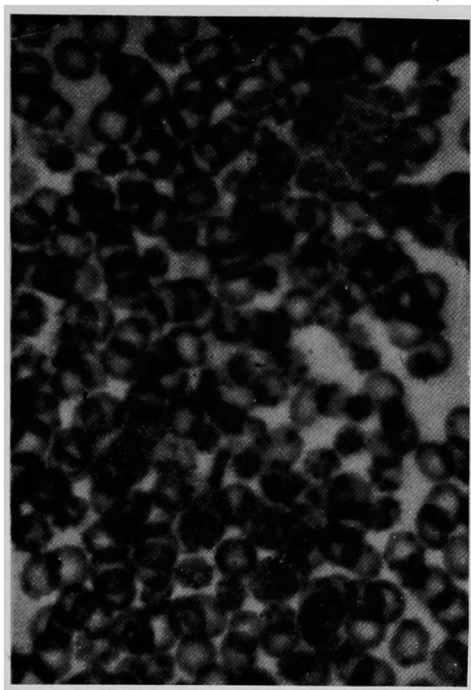
10. In the daily examinations of the blood of the pigeons given successive injections of HCl-hydroxylamine the Heinz body formation can be observed far more promptly than in the case of H_2O_2 -injections in almost 100 per cent of the blood tested.

11. In the daily estimation of Heinz bodies in the blood of the animals receiving successive injections of H_2O_2 -solution or HCl-hydroxylamine, the decrease in Heinz bodies contained in erythrocytes commences on the fourth day after the start of injection and returns to the normal level on about the seventh day.

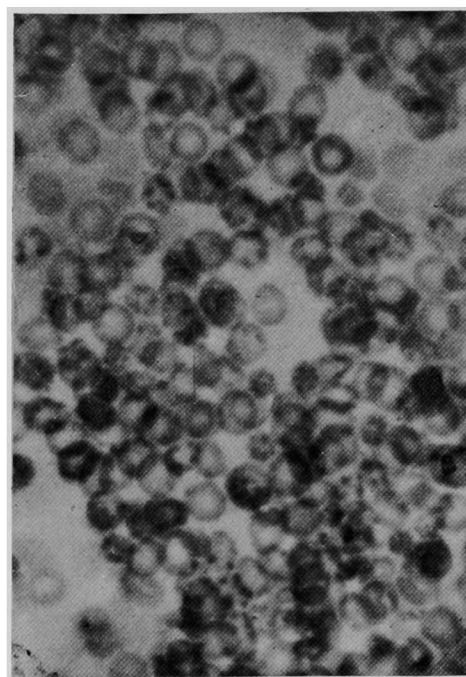
12. Judging from these results, it seems that the presence or the absence of catalase in blood is closely associated with the mechanism of the Heinz body formation. In other words, it is assumed that blood toxin or blood toxin-like substance induces the change in the blood pH, and because of this the catalase activity is either inhibited or inactivated, and it is gradually led from oxidative degeneration of blood components to the formation of Heinz bodies.

国 分 論 文 附 図

第 1 図

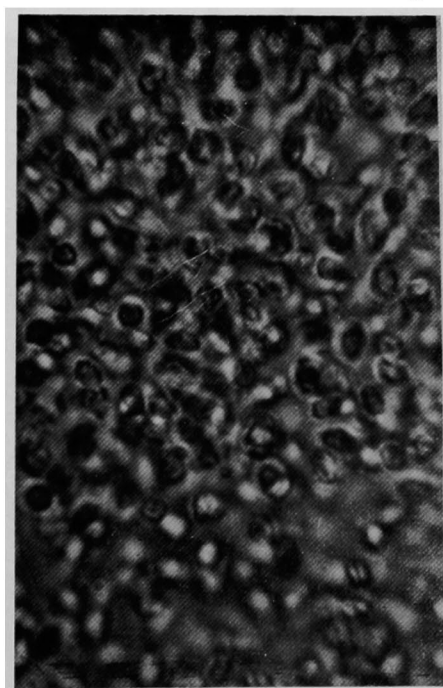


塩酸ヒドロキシルアミンによる無カタラーゼ血液症の血球内ハインツ小体。



過酸化水素による無カタラーゼ血液症の血球内ハインツ小体。

第 2 図



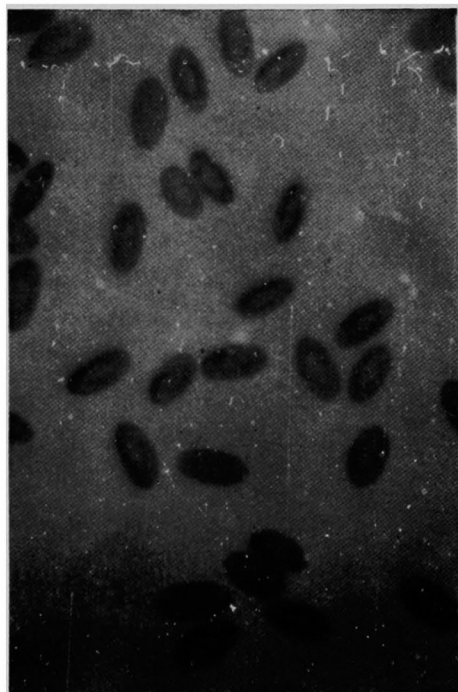
塩酸ヒドロキシルアミンによる家鴨の血球内ハインツ小体。



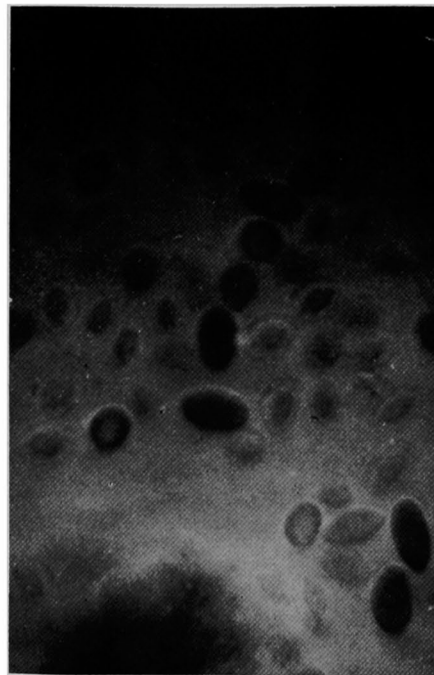
過酸化水素による家鴨の血球内ハインツ小体。

国 分 論 文 附 図

第 3 図

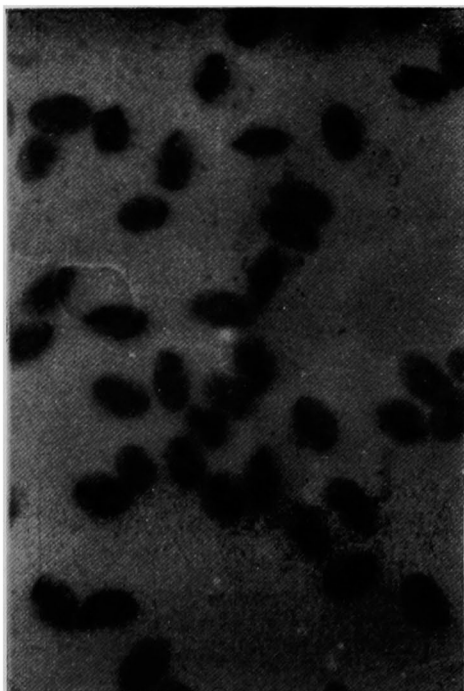


塩酸ヒドロキシルアミンによる鳩血球内ハインツ小体.



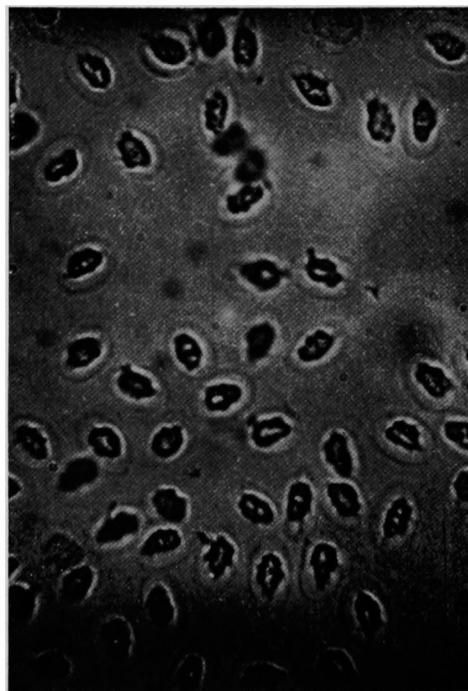
過酸化水素による鳩血球内ハインツ小体.

第 4 図



過酸化水素による鶏血球内ハインツ小体.

第 5 図



過酸化水素による家兎血球内ハインツ小体.