

# 高圧の血球に及ぼす影響に関する研究

## 第三編

### 網状赤血球に及ぼす高圧の影響

岡山大学医学部第一生理学教室（主任：林香苗教授）

助手 宮 武 孝 明

〔昭和32年1月21日受稿〕

昭和31年11月10日於日本生理学会中，四国部会，口頭発表（徳島）

#### I 序 論

赤血球の分化の一過程に網状赤血球なるものが存在することは周知の事柄であり、而も網状赤血球の大部分は生体内に於ては遅速の差はあるが次第に成熟して普通の赤血球になることも事実である。

併し乍らこの網状赤血球の試験管内に於ける経過に就いては未だ定説がなく、或は増加すると云うもの<sup>1)</sup>あり、Peeppr<sup>2)</sup>、Heilmeyer<sup>3)</sup>、等は成熟し、減少すると云い、Nizet<sup>4)</sup>はグルコース添加に依る試験内成熟現象を報告し、妹尾<sup>5)</sup>は家兎の網状赤血球はその7/8が幼若赤血球であり、その成熟に要する時間は9時間までであると述べるが如く、全く相反する二説がある。

そこで著者は血液に関する研究の一部分として網状赤血球を含む血液に高圧を作用させた場合には、果して網状赤血球は試験管内に於て増加するか、或は減少するか、又網状物質夫れ自体は如何なる変化をうけるか等を調べるために次の如き実験を試みた。

#### II 材料及び方法

平常状態に於ける家兎の血中に存在する網状赤血球は非常に少ないので網状赤血球を観察するには不便である。併し貧血性血中の網状赤血球は非常に多いので実験に先立つて家兎に人工貧血を起させた。

先づ家兎の耳静脈或は心臓より毎日10～

20 cc 採血を続けると約5日目位から網状赤血球は急激に増加する。依つて6日目から実験を開始した。

即ち貧血家兎の耳静脈より凝血を防ぐため予め3.8%クエン酸ソーダ1ccを充たした5ccの注射筒によつて4cc採血した。

採血した一部で直ちに標本を作成し May-Giemsa 二重染色を型の如く施し、残りの血液を2分して一方に圧を作用させ（120分間）、他方を対照とした。一定時間後高圧ポンペより前者を取り出し、対照と同時に May-Giemsa 染色を施し、3組の標本を鏡し、網状物質の状態、及び網状赤血球の平常赤血球10,000に対する数を測定し、観察した。

作用させた圧力は水圧0.1トンから1.5トンに互る7階級である。

#### III 実験成績

著者の作成した標本を鏡したが、期待された網状物質の変化は認め難かつた。即ち高圧を作用させた網状赤血球内に於ける変化はその対照、或は採血時作成した標本と何等比す可き差を認めなかつた。

次に高圧下に於て試験管内にて網状赤血球の増減は如何と観るに、表に示す如き結果を得た。

即ち100気圧の場合には、平均して2時間後に於ける比が対照例の場合には0.96と幾分網状赤血球は減じているようであるが、圧作用による網状赤血球の比も加圧前に比べて0.95

Table Fluctuation of reticulocytes number being acted by pressure. (per mille)

Pressure	C	C'	N	E	D		E/N	D/N
100 atm.	7.5	6.5	73.6	73.6	74.3	1.00	1.00	1.00
	9.0	8.0	47.1	44.4	44.0	1.00	0.94	0.93
	8.0	7.0	169.2	161.2	159.7	1.00	0.95	0.94
						average	0.96	0.95
200 atm.	8.5	7.5	231.1	208.8	201.4	1.00	0.90	0.87
	5.0	4.5	79.6	78.6	78.1	1.00	0.99	0.97
	6.5	5.5	89.8	75.5	61.2	1.00	0.84	0.69
						average	0.91	0.84
300 atm.	10.0	9.0	147.3	137.8	111.2	1.00	0.94	0.75
	8.0	7.0	77.4	74.8	68.5	1.00	0.97	0.89
	6.5	5.7	74.0	69.5	77.1	1.00	0.94	1.00
						average	0.95	0.88
400 atm.	5.5	4.5	72.3	62.6	55.0	1.00	0.87	0.76
	9.5	8.5	144.2	135.6	130.4	1.00	0.64	0.90
	5.0	4.5	45.4	42.2	42.0	1.00	0.93	0.93
						average	0.91	0.86
500 atm.	7.0	6.0	144.2	135.6	110.8	1.00	0.94	0.77
	9.0	7.0	45.4	42.2	43.7	1.00	0.93	0.96
	9.0	8.0	47.1	44.4	44.1	1.00	0.94	0.94
						average	0.93	0.89
1000 atm.	7.8	6.8	74.0	69.5	73.1	1.00	0.94	0.99
	6.5	5.5	89.8	75.5	76.5	1.00	0.84	0.85
	8.5	7.5	231.1	208.8	213.8	1.00	0.90	0.93
						average	0.92	0.92
1500 atm.	8.0	7.0	77.4	74.9	77.1	1.00	0.97	1.00
	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—

atm. : atmospheric pressure.

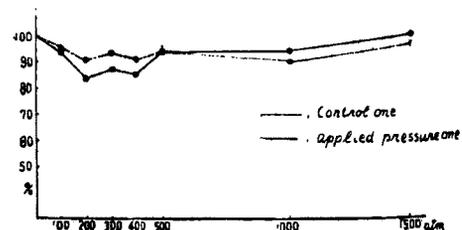
N. : number of reticulocytes of blood in normal conditions.

E. : number of reticulocytes of control blood after two hours.

D. : number of reticulocytes of blood acted pressure.

と大凡同じ減少状況を示す。次いで200, 300, 400気圧の場合には三者共平均比が幾分対照例よりも低下している様であるが、これだけを以て、加圧することが網状赤血球の試験管内に於ける成熟が促進されたという確実な証拠とするには不十分である。500気圧に於ても同様の事がいえる。以上四者とも対照例との平均差は0.04~0.07であり、先づ圧の作用を認むるには至らない。1000気圧では前記圧の場合とは反対に圧を作用させた方が対照例の平均よりも上である。1500気圧に於ても同

Fig. 1 Fluctuation of reticulocytes number applied pressure.



様で、その値は加圧前の値に近くなっている。1500気圧に於ては往々溶血現象が起るので、

実験例は一つしかない。

以上総合してみると、結局網状赤血球に対しては高圧の作用がないのではなからうか、と考える。

#### IV 考 察

成人に於ける赤血球が骨髓内の網内系細胞より分化し、前赤血球、好塩基性赤芽球、多染性赤芽球、正常赤芽球、網状赤血球、成熟赤血球の順序に成熟することは周知の事である。この赤血球分化過程に於ける最終段階なる成熟現象に就き、妹尾は網状赤血球が適当なる条件下では試験管内に於ても成熟して、その数の減少することを実証した。次いで上記成熟に関係する物質の存在を想定して、該物質の追求に多くの実験を試みたが化学的性質に関しては確定的結論に至っていない。

併し乍ら網状赤血球内の網状物質の化学的並に形態学的性質に関しては多くの実験から次の如く考えている。即ち網状物質は糸状蛋白質に RNA、呼吸酵素が結合して二価の Ca 又は Mg を介して之にリポイドが配位している。この様な糸状のもの吸収の弱い部分と強い部分とその相同の部位で結合凝集すると可視的な網状物質になるものと、考えている。

茲に網状赤血球の網状物質が妹尾の云う如く蛋白質糸状体に呼吸酵素が組合さつていざれば、高圧は蛋白質、或は酵素に何らかの影響を与えるのであるから<sup>6)</sup>、或は蛋白質変性が起り網状物質は消えるかも知れないと考えた。さすれば網状赤血球は成熟赤血球となり、高圧は網状赤血球の成熟現象を促進せしむる一因子となり得る。

著者の採つた方法は大体に於て妹尾等が採つた方法と同じであるが、超生体染色法や生体染色法に依ると網状赤血球の判別が幾分不確実になること、又該血球算定上一組の標本を完全に算定するには一時間を要する、その間に於ける標本内での変化を考慮に入れ、同時に二組の固定標本を作成することにした。

又妹尾等はメイ・ギムザ染色法の場合には

染色前にエーテル蒸気を1分間作用させたが、著者はエーテル蒸気を使用しない場合と何ら異なる処を認めなかつたので、普通の型通りのメイ・ギムザ染色法を採用した。

網状赤血球算定方法は赤血球 1,000個に対する網状赤血球数を算定し、これを5~10回繰返し、その平均をとつた。

実験成績を考察すると前項で述べた如く、これだけを以て高圧が網状赤血球の成熟に影響を及ぼしたとは認め難い。寧ろ高圧は成熟現象には関与しなかつたと考える方が妥当である様に考える。

翻つて諸家の実験に於ける高圧の蛋白質、酵素に及ぼす影響を見るに、Barbu<sup>7)</sup>の蛋白質凝集率低下に使用された圧は 10,000kg/cm<sup>2</sup> であり、Matthews<sup>17)</sup>の酵素活性低下の場合は 5,000~6,000kg/cm<sup>2</sup> であり、Tongur<sup>13)14)15)16)</sup>の酵素変性逆転の場合は 2,000kg/cm<sup>2</sup>、2時間、或は 6,000~7,000kg/cm<sup>2</sup> の高圧を使用している。これらの圧に比べると著者の使用圧が最高で 1,500 気圧であつた事は、圧刺戟が蛋白質、酵素への作用域に達しなかつたのではなからうかと考える。又蛋白質変性に及ぼす高圧の実験には温度、pH、時間が問題となり、諸家の実験には 61°C<sup>14)</sup>、70°C<sup>15)</sup>、20時間、70時間等が用いられている。妹尾に依れば人間では17時間で網状赤血球は成熟するため、これらの温度(加圧装置の関係で温度を30度以上に高めることは不可能である。)、pH(血液の pH は略々一定している。)、時間等を自由に変更出来なかつた。

併し乍ら Grant<sup>8)</sup>は高圧が蛋白質の化学的構造に変化を与えること、又 Johnson<sup>11)</sup> Jacobson<sup>12)</sup>の 400 kg/cm<sup>2</sup>~750 kg/cm<sup>2</sup> 圧で蛋白質の熱変性が減少、又は凝集率阻止、変性遅延が起るといふ事から、著者の実験に於て圧が高くなるにつれて幾分網状赤血球がその対照より増しているが如き観を認め得られる事柄は、或は高圧が網状赤血球の網状物質の融解を阻止する方向に作用するのではないか、といふ事を考えさせられる。勿論 2,000 気圧下では赤血球は破壊されるので実験は不

可能に近いが、若し可能ならば恐らく網状物質も変性をうけて成熟現象は抑制されるものと想像する。

### V 結 論

家兎に瀉血貧血を起させ、血液中の網状赤血球を増加させ、その血液に高圧を作用させて網状赤血球の成熟現象が如何なる影響を受けるかに就いて実験を行い、次の如き結論を得た。

1) ギムザ染色による網状赤血球に於てはその形態上に特に著しい変化は認められなかつ

た。

2) 網状赤血球数は高圧を作用させた場合、その対照との比に於て、100~1,500気圧迄の範囲では著しい差は認められなかつた。

3) 只 1,000~1,500 気圧に於てはわづかに対照側の網状赤血球の比が大となる傾向がある如く考えられる。併し、この原因は如何なるものであるかは想像の域を出ない。

4) 結局網状赤血球自体に高圧を作用させ、その成熟現象を解明せんとする方法は不可能に近い事であることを知つた。

拙筆するに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師林香苗教授に対し深く感謝の意を表す。

### 主 要 文 献

- 1) 渡辺漸, 和田直和等: 日本病理学会誌, 41, 総会号, 78 (1952)
- 2) Papper, O. H. P.: Arch. Int. Med. 30, 801 (1922)
- 3) Heilmayer, L. and Westhäuser, L.: Ztschr. Klin. Med. 121, 361 (1932)
- 4) Nized, A. and Robscheit-Robins, F. S.: Blood, 5, 648 (1950)
- 5) 妹尾左知丸: 細胞化学シンポジウム, 1 (1953)
- 6) M. Joly: Progress in Biophysical and biophysical Chemistry, Vol. 5, 168-222 (1955)
- 7) Barbu, E., Basset, J., Björnholm, S. and Macheboeuf, M.: Bull. Soc. Chem. Biol. (not yet published)
- 8) Grant, E. A., Dow, R. B. and Franks, W. R.: Science, 94, 615 (1941)
- 9) Curl, A. L. and Jansen, E. F.: J. Biol. Chem. 184, 45 (1950)
- 10) Fraser, D. and Johnson, F. H.: J. Biol. Chem. 190, 417 (1951)
- 11) Johnson, F. H. and Campbell, D. H.: J. cell. comp. Physiol. 26, 43 (1945)
- 12) Jacobsen, C. F.: C. R. Trav. Lab. Carlsberg. Soc. Chem. 25, 325 (1947)
- 13) Tongur, V. S.: Biokhimiya, 17, 495 (1952)
- 14) Tongur, V. S.: Kolloid Zhur. 11, 274 (1949)
- 15) Tongur, V. S. and Kasalochkin, V. I.: Doklady Akad. Nauk, SSSR. 74, 553 (1950)
- 16) Tongur, V. S. and Kaz'mina, N. A.: Biokhimiya, 15, 212 (1950)
- 17) Matthews, J. E., Dow, R. B. and Anderson, A. K.: J. Biol. Chem. 135, 697 (1940)

Studies on effects of high hydrostatic pressure on blood cells.

Part III. On reticulocytes.

By

Takaaki Miyatake

(1st Dep. of Physiol. School of Med. Okayama Univ.  
Director: Prof. K. Hayasi, M. D.)

Effects of high hydrostatic pressure on rabbit reticulocytes themselves and their maturation phenomenon were examined.

The results as follows:

- 1) There are no morphologically unusual forms on compressed reticulocytes stained by the May-Giemsa's method.
- 2) Remarkable difference on the rate of the reticulocyte number is not proved between the normal and the compressed blood (100-1500 atm. pressure)
- 3) The rate of the reticulocyte number has a tendency to be low under the pressure of about 1000-1500 atm. pressure.

After all, the author has not been able to prove effects of the high hydrostatic pressure on reticulocyte maturation phenomenon is unable by these methods.

---