

Adenosine triphosphate (ATP) の骨髓造血機能に 及ぼす影響に関する研究

第 3 編

骨髓組織培養に於ける赤血球系造血機能に及ぼす影響

岡山大学大学院医学研究科 (主任: 平木潔教授)

岡 本 迪 男

〔昭和 39 年 2 月 29 日受稿〕

内 容 目 次

第 1 章 緒 言
第 2 章 実験方法
第 3 章 実験成績
第 1 節 家 兎

第 2 節 健康人
第 3 節 再生不良性貧血患者
第 4 章 総括, 考按
第 5 章 結 論

第 1 章 緒 言

既に第 1, 2 編に於て ATP の白血球系及び栓球系骨髓造血機能に対する影響を教室考案の臨床組織培養法により検討した結果, ATP に造血機能促進作用のある事を認めたので, 本編に於ては骨髓赤血球系造血機能への影響につき下記の Roller tube 法を用いて添加実験を行つて研究した。

1884 年 Roux に始まる組織培養はその後種々の方向に発展したが, 骨髓組織の液体培養の歴史は浅く 1937 年 Osgood and Brownlee⁴⁹⁾ により初めて試みられた。

近年教室では久米田¹²⁾, 岩崎⁷⁾ が Warburg 検圧計用特殊 bottle を用いて家兎骨髓液体培養に於ける赤血球系造血機能に関する一連の実験を行つた。一方 Gey³⁷⁾ は現在用いられている廻転組織培養法即ち Roller tube 法の原型を作り, その後 Lewis⁴⁴⁾ 等により改良が加えられたが, 最近教室瀬崎²²⁾ はこれを骨髓組織の液体培養に導入するため, 家兎及び人骨髓を用いて基礎実験を行い, Roller tube 法による骨髓赤血球系造血機能の検討方法を確立した。従つて本実験は瀬崎の方法に準じて施行した。

赤血球系造血機能に対する各種薬剤の影響に関しては, 教室岩崎⁷⁾, 片岡¹⁰⁾ が各種ビタミンにつき, 岩崎⁷⁾, 李¹⁰⁾ が各種アミノ酸につき家兎骨髓を用いて Warburg 検圧計用特殊 bottle による添加実験

を行つたが ATP の添加実験は未だみられない。そこで私は Roller tube 法を用いて家兎, 健康人及び再生不良性貧血患者の骨髓細胞浮游液に対し ATP を直接添加し, 赤血球系細胞の増生, 血色素量の消長に与える影響を検討するため以下の実験を行い, 興味ある成績を得たので報告する。

第 2 章 実験方法

1. 実験材料

1) 家兎: 体重 2kg 内外の健康成熟雄性家兎の両大腿骨, 脛骨及び上腕骨より骨髓を無菌的に採取した。

2) 健康人: 比較的若年者を選び小宮式骨髓穿刺器を用いて骨髓を採取した。

3) 再生不良性貧血患者: 教室に入院して診断の確定した本症患者につき治療前に健康人と同様の方法により骨髓を採取した。

添加する ATP 溶液は, 培養直前に市販のアデホス・コーワをリンゲル氏液で 1ml 中 10mg, 5mg, 1mg の各濃度に希釈して使用し, 対照にはリンゲル氏液を添加した。尚, 予備実験に於て ATP 20mg 添加は抑制作用を示したので上記の濃度を用いた。

2. 培養操作

採取した骨髓を直ちに Gey 氏液に投入し 800

r. p. m にて30秒間 homogenizer にかけて均等な骨髓細胞浮游液を作り、これを150メッシュに通した後、1500 r. p. m. にて8分間遠沈する。管底に沈澱した骨髓細胞を再び Gey 氏液で洗滌して同様に遠沈し、骨髓細胞を Tyrode 氏第1液及び第2液を使用直前に等量混合した中に入れ均等に混和して血球浮游液を得る。これを外径 15 mm、長さ 150 mm の円形廻転管 (Roller tube) に 0.4 ml 宛分注し、更に各管に家兎又は健康人血清 0.4 ml 及び ATP 溶液 0.4 ml を加えてダブル栓で無菌的に密栓し、1時間20廻転、傾斜5度の廻転ドラムに入れる。

3. 観察方法

観察は培養開始後6, 12, 24時間目に行い、赤血球数及び色素量増加率、正染性赤芽球百分率を求めた。尚、各群毎に各時間に観察する円形廻転管を予め決定しておき、一度開栓して赤血球数及び色素量を測定した廻転管は培養を中止して塗抹標本材料とした。

1) 赤血球数：赤血球用メランジュール、Heyem 氏液及び Bürker-Türk 血球計算盤を用いて算出した。

2) 色素量：1/15 モル第1燐酸カリ溶液 22ml と 1/15 モル第2燐酸ソーダ 3ml を混合し、蒸留水にて4倍に稀釈したもの 4ml に、血球浮游液0.2ml をメスピペットで滴下して混和溶液させ遠沈して固形物を除去、次いで20%フェリシアンカリ 1滴、10分後に5%シアンカリ 1滴、更に2分後にアンモニア 1滴を加えて10分以内に分光光度計にかけて色素量を測定した。

3) 正染性赤芽球百分率：赤血球数、色素量を測定した残りの血球浮游液を 1000 r. p. m. 5分間遠沈して沈澱の May-Giemsa 染色標本を作り、全赤芽球中の正染性赤芽球百分率を算出した。

第3章 実験成績

実験は家兎、健康人及び再生不良性貧血患者各5例につき行つた。

1. 家兎 (表1-6, 図1-3)

1) 赤血球増加率：各例共に赤血球数は培養開始後12時間で最高となり24時間ではそれよりやや減少するが、各濃度の ATP 添加により対照に比し各時間共に増加を認めた。図に示す如く、10mg 添加に於て増加傾向は最大で、増加率の全例平均値は12時間目に対照の18.8に対し28.6を示した。5mg 添加ではこれに次ぎ、1mg 添加では対照に比し僅かに

大であつた。

2) 色素量増加率：赤血球数と同じく12時間で最高となるが、ATP 添加により各時間共に増加傾向を認め、10mg 添加で最も著しく、平均値は12時間目に対照の16.1に対し34.1であつた。5mg, 1mg 添加がこれに次ぐ増加率を示した。

3) 正染性赤芽球百分率：ATP 添加により各時間共に対照に比し大であり、24時間に於ても更に上昇したが、10mg 添加で最も著しく、平均値は24時間目に対照の26.4に対し33.2であり、5mg, 1mg 添加

第1表 家 兎 (No. 1)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10		25.2	31.9	29.0
	5		17.4	22.8	20.5
	1		14.8	20.3	17.9
	対	照	14.0	18.7	17.2
血増色素量率 %	10		18.9	28.3	24.4
	5		13.6	24.4	21.7
	1		8.1	16.2	13.6
	対	照	5.4	14.9	7.4
正球染百分率赤芽 % (5)	10		14	24	34
	5		11	24	32
	1		10	21	29
	対	照	8	20	26

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第2表 家 兎 (No. 2)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10		28.6	35.6	30.6
	5		23.3	26.4	25.7
	1		19.5	25.4	21.1
	対	照	18.1	23.2	19.7
血増色素量率 %	10		35.0	45.0	42.5
	5		20.0	30.0	25.0
	1		13.7	22.5	18.8
	対	照	10.0	18.8	15.6
正球染百分率赤芽 % (7)	10		20	36	37
	5		18	30	35
	1		14	27	32
	対	照	13	25	30

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第3表 家 兎 (No. 3)

	培養経過 時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増 血加 球率 %	10		20.5	23.2	22.0
	5		16.9	21.3	19.8
	1		12.2	17.9	15.3
	対	照	10.9	13.3	12.7
血増 色加 素量 率 %	10		25.7	35.5	32.3
	5		12.9	25.7	21.0
	1		9.7	19.4	15.3
	対	照	8.1	16.2	12.9
正球 染百 性分 赤率 芽% (5)	10		17	23	26
	5		15	20	25
	1		12	18	24
	対	照	9	15	22

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第4表 家 兎 (No. 4)

	培養経過 時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増 血加 球率 %	10		23.8	26.8	24.1
	5		20.1	24.3	22.2
	1		15.9	19.7	16.4
	対	照	14.5	18.6	16.2
血増 色加 素量 率 %	10		18.4	28.9	27.6
	5		10.5	22.4	19.8
	1		7.9	18.4	15.8
	対	照	5.3	13.2	10.5
正球 染百 性分 赤率 芽% (6)	10		14	30	36
	5		14	27	32
	1		13	25	30
	対	照	11	23	29

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

がこれに次ぐ促進傾向を示した。

2. 健康人 (表7—12, 図4—6)

1) 赤血球増加率：各例共に赤血球数は培養開始後24時間に最高となるが、各濃度の ATP 添加により各時間共に対照に比し増加を認めた。図の如く10 mg 添加に於て増加傾向は最大で、全例平均値は24時間目に対照の11.7 に対し21.0を示した。5 mg 添加がこれに次ぎ、1 mg 添加では対照に比し僅かに大であった。

第5表 家 兎 (No. 5)

	培養経過 時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増 血加 球率 %	10		19.8	25.5	22.7
	5		17.4	23.5	22.1
	1		13.9	21.5	19.7
	対	照	11.5	20.1	18.2
血増 色加 素量 率 %	10		21.8	32.7	31.3
	5		15.6	28.1	25.0
	1		9.4	17.2	15.6
	対	照	6.3	17.2	12.5
正球 染百 性分 赤率 芽% (5)	10		15	26	33
	5		14	26	31
	1		13	24	28
	対	照	11	20	25

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第6表 家 兎 (平均)

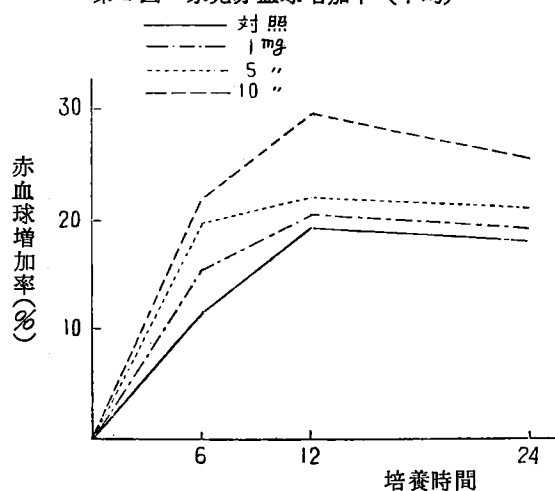
	培養経過 時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増 血加 球率 %	10		23.6	28.6	25.6
	5		19.0	23.7	22.2
	1		15.3	21.0	18.1
	対	照	13.8	18.8	16.9
血増 色加 素量 率 %	10		24.0	34.1	31.4
	5		14.5	26.1	22.5
	1		9.8	18.7	15.7
	対	照	7.0	16.1	11.8
正球 染百 性分 赤率 芽% (5.6)	10		16.0	27.4	33.2
	5		14.4	25.4	31.0
	1		12.4	23.0	28.6
	対	照	10.4	20.6	26.4

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

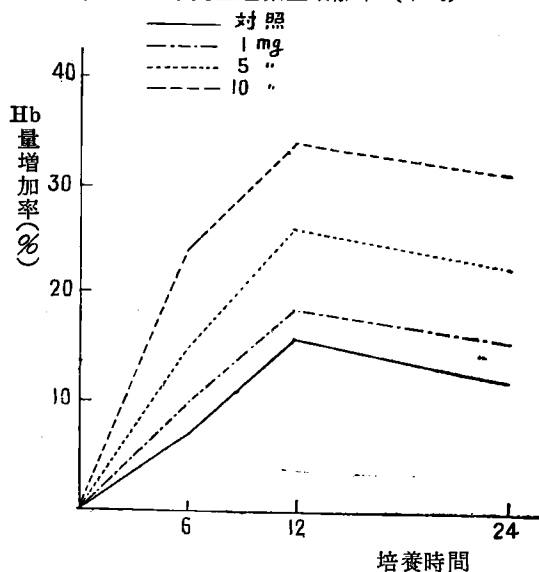
2) 血色素量増加率：24時間で最高となるが、ATP 添加により各時間共に増加傾向を認め、10 mg 添加で最も著しく、平均値は24時間目に対照の8.9 に対し19.3であった。5 mg, 1 mg 添加がこれに次ぐ増加率を示した。

3) 正染性赤芽球百分率：ATP 添加により各時間共に対照に比し大であり、10 mg 添加で最も著しく、平均値は24時間目に対照の27.0 に対し32.4であり、5 mg, 1 mg 添加がこれに次ぐ促進傾向を示した。

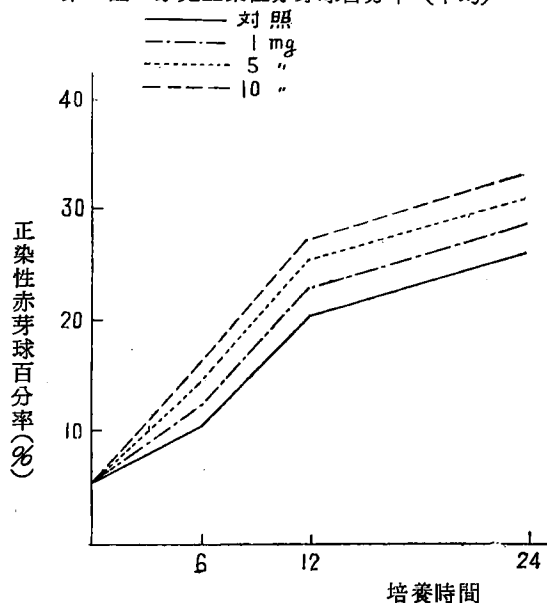
第1図 家兎赤血球増加率 (平均)



第2図 家兎血色素量増加率 (平均)



第3図 家兎正染性赤芽球百分率 (平均)



第7表 健康人 (No. 1)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血球率 %	10	対 照	13.3	16.4	19.8
	5		8.7	11.4	16.2
	1		5.2	7.3	10.9
	対 照		4.7	6.9	10.2
血増色素量率 %	10	対 照	16.6	23.8	25.0
	5		11.9	16.1	16.6
	1		9.5	13.1	14.3
	対 照		5.9	11.8	13.1
正球染百分率赤芽% (6)	10	対 照	14	15	25
	5		13	15	23
	1		11	14	22
	対 照		8	13	20

備考: () 内は培養前の正染性赤芽球百分率.

第8表 健康人 (No. 2)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血球率 %	10	対 照	21.1	23.9	25.0
	5		16.4	18.8	20.5
	1		12.5	16.7	18.2
	対 照		10.5	14.7	16.2
血増色素量率 %	10	対 照	14.2	17.4	19.6
	5		8.7	14.2	17.4
	1		6.5	8.7	13.1
	対 照		4.4	8.3	9.8
正球染百分率赤芽% (9)	10	対 照	24	31	42
	5		22	28	40
	1		16	25	37
	対 照		14	23	35

備考: () 内は培養前の正染性赤芽球百分率.

3. 再生不良性貧血患者 (表13-17, 図7-9)

1) 赤血球増加率: 本症患者の実験では症例により数値が大きく変動するので平均値を以て示すことは出来ないが, 全例共に赤血球数は ATP 添加により各時間共に対照に比し増加を認めた. 培養開始後12時間で最高となり24時間ではそれよりやや減少するが, 10 mg 添加に於て増加傾向は最大で, 著しい例では12時間目に対照の1.9に対し2.5を示した. 5 mg 添加がこれに次ぎ, 1 mg 添加では対照に比し僅かに大であつた.

第9表 健康人 (No. 3)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10		17.3	18.9	20.5
	5		13.4	15.1	16.4
	1		9.9	12.0	13.3
	対照		9.1	11.3	12.5
血増色素量率 %	10		12.5	13.5	14.2
	5		7.9	9.1	11.4
	1		4.0	6.8	7.9
	対照		3.4	5.1	6.8
正球染色百分率赤芽 % (8)	10		18	25	36
	5		15	22	33
	1		12	21	31
	対照		12	19	29

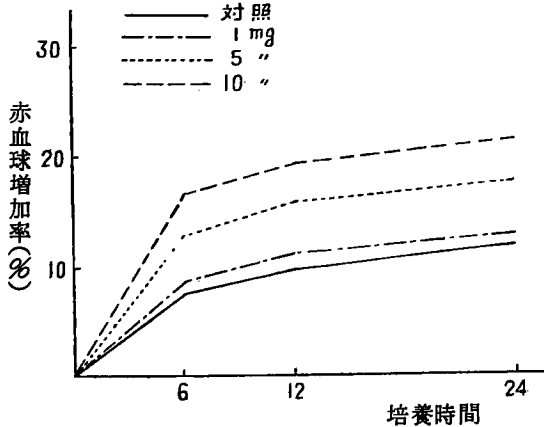
備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第10表 健康人 (No. 4)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10		13.9	17.6	18.3
	5		10.0	12.5	13.7
	1		6.1	7.9	9.8
	対照		5.8	7.5	9.2
血増色素量率 %	10		10.2	12.3	16.4
	5		7.3	8.1	10.2
	1		6.1	7.2	8.2
	対照		4.1	4.6	6.1
正球染色百分率赤芽 % (7)	10		17	21	27
	5		14	19	25
	1		12	18	25
	対照		10	16	24

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第4図 健康人赤血球増加率 (平均)



第11表 健康人 (No. 5)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10		15.5	19.9	21.2
	5		14.2	18.6	20.0
	1		7.9	9.3	11.4
	対照		7.1	8.8	10.5
血増色素量率 %	10		15.6	19.4	21.1
	5		12.2	13.9	15.6
	1		6.7	8.9	11.1
	対照		4.5	8.3	8.9
正球染色百分率赤芽 % (7)	10		18	25	32
	5		15	22	29
	1		12	20	28
	対照		11	18	27

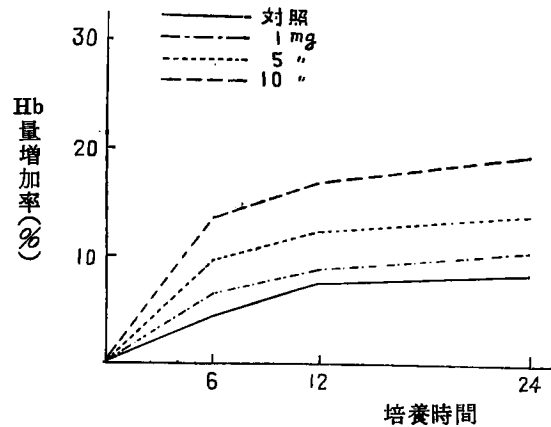
備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第12表 健康人 (平均)

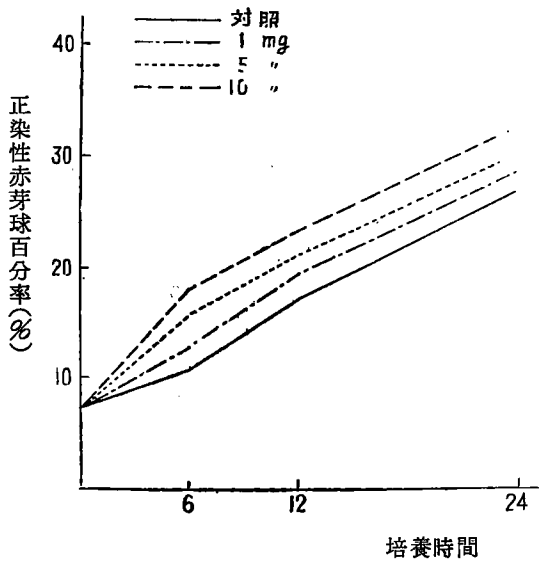
	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10		16.2	19.3	21.0
	5		12.5	15.3	17.4
	1		8.3	10.6	12.7
	対照		7.4	9.8	11.7
血増色素量率 %	10		13.8	17.3	19.3
	5		9.6	12.3	14.2
	1		6.6	8.9	10.9
	対照		4.5	7.7	8.9
正球染色百分率赤芽 % (7.4)	10		18.2	23.4	32.4
	5		15.8	21.2	30.0
	1		12.6	19.6	28.6
	対照		11.0	17.8	27.0

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第5図 健康人血色素量増加率 (平均)



第6図 健康人正染性赤芽球百分率 (平均)



2) 血色素量増加率: 12時間で最高となるが, ATP 添加により各例共に対照に比し増加を示し, 10 mg 添加でその傾向は最大で, 著しい例では12時間目に対照の3.0に対し12.8であつた. 5 mg, 1 mg 添加がこれに次ぐ増加傾向を示した.

3) 正染性赤芽球百分率: ATP 添加により各時間共に対照に比し大であり, 各例共に 10 mg 添加で最も増大し, 著しい例では24時間目に対照の7に対し14であつた. 5 mg 添加がこれに次ぎ 1 mg 添加では対照に比し僅かに大であつた.

第13表 再生不良性貧血患者 (No. 1)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10	対照	3.2	5.6	4.1
	5	対照	3.0	5.2	3.9
	1	対照	2.8	5.1	3.2
	対照	対照	2.5	4.7	2.9
血増色素量率 %	10	対照	8.9	13.4	12.2
	5	対照	5.6	7.8	6.7
	1	対照	3.3	6.7	4.4
	対照	対照	2.2	6.7	3.3
正球染百分率赤芽(5)	10	対照	10	12	14
	5	対照	8	10	11
	1	対照	7	9	9
	対照	対照	6	7	7

備考: () 内は培養前の正染性赤芽球百分率.

第14表 再生不良性貧血患者 (No. 2)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10	対照	3.8	5.9	4.6
	5	対照	3.4	5.3	4.1
	1	対照	2.9	4.9	3.0
	対照	対照	2.8	4.7	2.5
血増色素量率 %	10	対照	9.8	12.8	11.8
	5	対照	6.7	9.8	7.7
	1	対照	3.6	4.9	3.6
	対照	対照	1.9	3.0	1.0
正球染百分率赤芽(5)	10	対照	10	13	14
	5	対照	8	12	12
	1	対照	7	11	10
	対照	対照	7	10	9

備考: () 内は培養前の正染性赤芽球百分率.

第15表 再生不良性貧血患者 (No. 3)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10	対照	3.1	5.6	4.9
	5	対照	2.6	5.0	2.8
	1	対照	2.3	4.8	2.0
	対照	対照	2.1	4.5	1.8
血増色素量率 %	10	対照	9.3	12.4	11.6
	5	対照	5.4	8.5	7.0
	1	対照	3.9	4.7	4.7
	対照	対照	2.3	3.9	1.6
正球染百分率赤芽(4)	10	対照	7	9	9
	5	対照	7	7	8
	1	対照	6	7	7
	対照	対照	4	6	5

備考: () 内は培養前の正染性赤芽球百分率.

第4章 総括, 考按

以上の実験成績を総括すれば次の如くである.

1) 家兎: 円形廻転管中の赤血球及び血色素量増加率, 正染性赤芽球百分率は ATP 10 mg 添加群に於て最大を示した. 5 mg 添加群がこれに次ぎ, 1 mg 添加では対照に比し僅かに大であつた.

2) 健康人: 赤血球及び血色素量増加率, 正染性赤芽球百分率は10 mg 添加群に於て最大で, 5 mg 添加群がこれに次ぎ, 1 mg 添加では対照より僅かに

第16表 再生不良性貧血患者 (No. 4)

	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10	対	5.0	7.7	7.3
	5	照	4.2	7.3	6.5
	1		3.8	6.8	6.3
	対 照		3.5	6.8	5.2
血増色素加量率 %	10	対	11.8	15.8	13.2
	5	照	7.9	10.5	7.9
	1		5.3	9.2	7.9
	対 照		1.3	5.3	4.0
正球染百分率赤芽 % (8)	10	対	16	16	17
	5	照	14	15	15
	1		13	14	13
	対 照		11	12	12

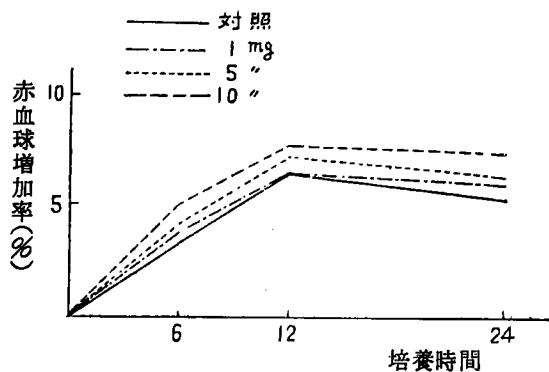
備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

第17表 再生不良性貧血患者 (No. 5)

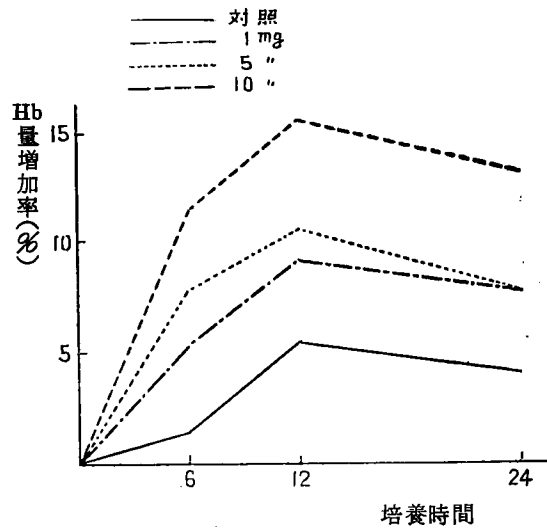
	培養経過時間		6	12	24
	添加濃度 mg/ml				
赤増血加球率 %	10	対	2.1	2.5	2.2
	5	照	1.8	2.5	1.8
	1		1.4	2.2	1.3
	対 照		1.3	1.9	1.0
血増色素加量率 %	10	対	9.6	11.8	11.0
	5	照	5.9	7.4	5.9
	1		3.7	6.6	4.4
	対 照		2.9	5.1	1.5
正球染百分率赤芽 % (7)	10	対	14	15	15
	5	照	11	12	14
	1		10	12	11
	対 照		7	11	10

備考：() 内は培養前の正染性赤芽球百分率。

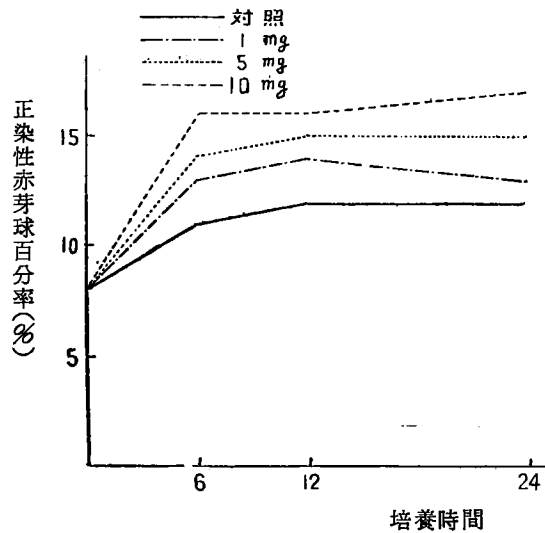
第7図 再生不良性貧血患者赤血球増加率 (No. 4)



第8図 再生不良性貧血患者血色素量増加率 (No. 4)



第9図 再生不良性貧血患者正染性赤芽球百分率 (No. 4)



大であつた。

3) 再生不良性貧血患者：健康人と同様に 10mg, 5mg, 1mg の順序に効果を認めたが，促進傾向は家兎，健康人に比して全般に低下を示した。

さて，1906年 Carnot et Deflandre³⁰⁾ が瀉血貧血家兎の血清を正常家兎に注射して末梢血の赤血球数と骨髓赤芽球比率の増加を観察し，循環血液中に造血促進物質の存在を想定したが，この erythropoietin は現在では実在性が認められ，Jacobson 等⁴²⁾ 及び Naets⁴⁷⁾ は本因子の産生に腎が重要な関係を有すると考え，又，本因子に相当するものとして種々の物質が報告されているが作用機序は未解決である。

既に1929年に Lohmann⁴⁵⁾ により筋肉から ATP

が分離され、Baddiley²⁷⁾により1948年にその構造が確認されたにも拘らず、ATPの研究が赤血球との関連に於て行われたのは比較的最近で、1950年 Pirwitz⁵⁰⁾は Warburg 装置を用いて血漿及び血清中に赤血球の呼吸機能を著明に促進する物質の存在を認め、これが ATP であることを明らかにした。

赤血球は、生体内に於て酸素と炭酸ガスの運搬に関与する代謝と共に赤血球自身の生命の維持、即ち細胞膜の透過性及び赤血球形態を正常に保つためのエネルギーを得る代謝を併せ有するが、これに必要なエネルギーは主として解糖過程で産生され、その高エネルギー化合物の一つが磷酸結合体 ATP であると現在考えられている。

我国では吉川ら^{48), 56), 58)}は、赤血球が変形した長期保存血にアデニンとイノシンを添加 incubate して ATP 量の上昇と共に一部の赤血球が新鮮赤血球に類似した形態を示すことを観察し、更に一連の実験により赤血球膜には ATP と反応する収縮性蛋白が存在し、赤血球の形態はこれにより保持されるが、ATPは赤血球の外部からは作用せず膜の内面から作用すると論じている。赤血球の膜は単に物理的な表面構造ではなく、細胞の機能的な要素の一つであり、細胞のエネルギー代謝によつて一定の機能的状態に維持される、という概念は既に1948年 Ponder⁵¹⁾の著書にあり、従つて最近造血因子は骨髄に作用し、造血組織からの赤血球の遊出と共に赤血球の産生と成熟を促進するものと信じられている。

一方、ATP を単独で動物又は人に注射して末梢白血球数の増加と白血球遊走能の亢進を認めた文献は我国に於ても散見するが、赤血球系に対する同様の実験は殆んど無く、培養による添加実験はこれを見る事が出来ない。本編に述べた実験では ATP を骨髄組織培養に添加することにより培養管中の赤血球数、血色素量及び正染性赤芽球比率の増加を来したが、これは即ち ATP が骨髄造血組織に作用し、造血機能を促進する事を示唆するものである。

再生不良性貧血患者では、ATP 添加群における赤血球増加その他は家兎及び健康人に比較して全般に劣り、添加の効果は小であつたが、これは本症の骨髄造血組織における ATP 反応物質の減少を意味するものであり、高度の汎骨髄癆型の骨髄に ATP を添加しても無効に終るのは同様の理由からであろう。

一般に貧血の場合、赤血球中の有機磷が増加傾向

を示すことは Maizels⁴⁶⁾等が報告しているが、この増加に就て Farmer⁹⁵⁾は貧血時の赤血球が正常の酸塩基平衡を維持するための反応の一部であるとした。更に赤血球中の ATP は極めて不安定であり、Rottino⁵³⁾は諸種貧血患者では赤血球に含まれる ATP が増量することを観察した。従つて貧血患者の骨髄に於ては ATP 反応物質の減少が起ると同時に ATP の需要の増大が存在し、これに対して ATP を添加或いは投与することは意義を有すると考えられる。しかし、再生不良性貧血の赤血球系造血機能に対する ATP の効果に関する報告はみられず、僅かに臨床例として伊藤ら⁶⁾は本症患者に ATP を連日静脈内投与し、赤白血球数、血色素量の増加と共に臨床所見の改善を認めているが、教室でも同様の症例を経験している。又、他の薬剤即ち V. B₁₂、葉酸、鉄剤、核酸、アミノ酸製剤、銅蛋白、副腎皮質ホルモン、ACTH 等が試みられ、教室岩崎及び有森⁸⁾は ACTH 及び副腎皮質ホルモン併用療法を提唱し、更に骨髄移植、摘脾、間脳照射等も行われて一応の効果を認めているが未だ決定的効果を期待出来るのが現状である。

私は既に第1, 2編において本症患者の骨髄組織培養に対する ATP 添加が白血球系及び粒球系造血機能を促進することを知り、本編で更に赤血球系にも効果を認めたので、三系に亘る機能低下症である本症に対し、ATP 投与を上述の諸療法と共に試用すべき一方法と考える次第である。

第5章 結 論

骨髄赤血球系造血機能に及ぼす ATP の影響をみるため、家兎、健康人並びに再生不良性貧血患者骨髄の Roller tube 法による ATP 添加培養を行い、その赤血球数、血色素量、正染性赤芽球百分率の消長を観察して次の結果を得た。

即ち、赤血球数、血色素量及び正染性赤芽球百分率は家兎、健康人、再生不良性貧血患者の三者共に至適濃度の ATP 添加により増加を示した。従つて ATP は骨髄赤血球系造血機能を亢進せしめるものと考えられる。

撰筆するに当り御懇篤なる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。

(本論文の要旨は第24回日本血液学会総会に於て発表した)

文

- 1) 榎本巧：白血球の運動並びに貪食能の維持について。大阪大学医学雑誌, 11, 1199, 1959; 11, 1209, 1959.
- 2) 初芝澄雄他：白血球遊走速度及び白血球数に及ぼす ATP の影響並びにその臨床的応用。関東地区 ATP 研究会報告集, ATP 研究会, 1961.
- 3) 林 和雄：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。岡山医学会誌, 70, 2957, 1958.
- 4) 平木 潔：汎骨髓病症（再生不良性貧血）の診断と治療。日本医事新報, 1592, 97, 1954.
- 5) 位田 保：骨髓穿刺による人類骨髓巨大細胞の研究。日血会誌, 2, 371, 1938.
- 6) 伊藤宗元他：Adenosin 3 磷酸 (ATP) の血液学的作用と効果。臨床内科小児科, 15, 703, 1960.
- 7) 岩崎一郎：家兎骨髓体外液体培養に関する研究。岡山医学会誌, 68, 1315, 1956.
- 8) 岩崎一郎, 有森茂他：ACTH, 副腎皮質ホルモンの骨髓造血機能に及ぼす影響並びに再生不良性貧血の治療。診断と治療, 50, 1966, 1962.
- 9) 神谷宣郎：細胞, 東京, 丸善, 1953.
- 10) 片岡良司：骨髓組織培養に対する各種ビタミン添加の影響。岡山医学会誌, 71, 6797, 1959.
- 11) 加藤憲三：Caeruloplasmin の家兎末梢血液及び骨髓に及ぼす影響について。昭和医学会雑誌, 20, 120, 1961.
- 12) 久米田克也：家兎骨髓組織液体培養法による鉄, 銅及びコバルトの増血作用に関する研究。岡山医学会誌, 70, 2191, 1958.
- 13) 栗原 操：骨髓巨核細胞並びに血小板に於ける二三の知見。日血会誌, 7, 263, 1943.
- 14) 前原義雄：組織体外培養法による血小板の成因に関する実験的研究。臨床病理血液学雑誌, 1, 65, 1932.
- 15) 森田久男他：血小板の代謝。最新医学, 10, 81, 1955.
- 16) 西下秀雄：骨髓組織培養法による各種ホルモンの骨髓巨核球機能に及ぼす影響に関する研究。岡山医学会誌, 71, 2343, 1959.
- 17) 大藤真他：再生不良性貧血の診断及び治療について——骨髓組織培養法による。日本臨床, 14, 869, 1956.

献

- 18) 大山晴夫：各種薬剤の白血球機能に及ぼす影響に就ての実験的研究。大阪医科大学雑誌, 19, 285, 1959.
- 19) 李敏然：各種可欠アミノ酸の骨髓造血機能に及ぼす影響。岡山医学会誌, 71, 5067, 1959.
- 20) 佐々木邦朗：骨髓組織培養法による諸種血液疾患々者巨核球機能に関する研究。岡山医学会誌, 70, 3345, 1958.
- 21) 千田信行：白血球の運動形態。最新医学, 9, 1518, 1954; 11, 72, 1956.
- 22) 瀬崎達雄：抗白血病剤の骨髓造血機能に及ぼす影響に関する研究。岡山医学会誌, 75, 461, 1963.
- 23) 角南 宏, 粟井弘二：骨髓巨核球の機能について（運動, 栓球分離, 貪食）。日血会誌, 19, 2, 81, 1956.
- 24) 武内武男他：血液珠に血球フォスファターゼの細胞化学的証明方法に関する研究。東京医事新誌, 68, 8, 11, 1951.
- 25) 武内武男他：血球のアデノシン 3 磷酸分解酵素の細胞化学的研究。医学生物学, 24, 6, 226, 1952.
- 26) 田村 宏：白血球の運動生態に関する研究。大阪大学医学雑誌, 11, 1221, 1959.
- 27) Baddiley, J. et al.: Synthesis of adenosine triphosphate. Nature, 161, 761, 1948.
- 28) Bettex-Galland, M. and Lüscher, E. F.: Extraction of an actomyosin-like protein from human thrombocytes. Nature, 184, 276, 1959.
- 29) Bizzozero, J.: Über die neuen Formbestandteilen des Blutes und ihren Spielen bei Thrombosen und Gerinnungen. Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. u. kl. Med., 90, 261, 1882.
- 30) Carnot, P. et Deflandre, C.: Sur l'activité hemopoietique du serum au cours de la régénération du sang. Compt. rend. Acad. Sci., 143, 384, 432, 1906.
- 31) Carrel, A. and Burrows, M. T.: Cultivations of adult tissues and organs outside of the body. J. A. M. A., 55, 1379, 1910.
- 32) Carrel, A. and Burrows, M. T.: An addition to the technique of the cultivation of tissues in vitro. J. exp. Med., 14, 244, 1911.

- 33) Donné: Cours de Microscopie, Paris, 1844.
- 34) Engelhardt, W. A. and Ljubinowa, M. N.: Myosine and adenosine triphosphatase. *Nature*, 144, 668, 1939.
- 35) Farmer, S. N. and Maizels, M.: Organic anions of human erythrocytes. *Biochem. J.*, 33, 280, 1939.
- 36) Fukushima, K., Senda, N. et al.: Movement and energy metabolism of leucocytes. *Med. J. Osaka Univ.*, 5, 231, 1954.
- 37) Gey, G. O.: An improved technique for massive tissue culture. *Am. J. Cancer*, 17, 752, 1933.
- 38) Coldacre, R. J. and Lorch, I. J.: Folding and unfolding of protein molecules in relation to cytoplasmic streaming, amoeboid movement and osmotic work. *Nature*, 166, 497, 1950.
- 39) Harrison, R. G.: Observation on the living developing nerve fibre. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 4, 140, 1907.
- 40) Hiraki, K., Ofuji, T., Kobayashi, T., Sunami, H. and Awai, K.: Observations both in idiopathic thrombocytopenic purpura and normal adult. *Acta Med. Okayama*, 10, 2, 57, 1956.
- 41) Hiraki, K., Ofuji, T. and Sunami, H.: The method of tissue culture (mainly of the bone marrow) and a simple method of observing living tissue. *Acta Med. Okayama*, 10, 3, 99, 1956.
- 42) Jacobson, L. O., Goldwasser, E., Fried, W. and Plzak, L. F.: Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature*, 179, 633, 1957.
- 43) Kriszat, G.: The effect of ATP on amoeba. *Ark. Zool.*, 1, 81, 1949.
- 44) Lewis, M. R. and Lewis, W. H.: The cultivation of tissues in salt solutions. *J. A. M. A.*, 56, 1795, 1911.
- 45) Lohmann, K.: Über das Vorkommen und den Umsatz von Pyrophosphat in Zellen. *Biochem. Ztschr.*, 202, 466, 1929.
- 46) Maizels, M.: The anion and cation contents of normal and anemic blood. *Biochem. J.*, 30, 821, 1936.
- 47) Naets, J. P.: The kidney and erythropoiesis, *Nature*, 182, 1516, 1958.
- 48) Nakao, M., Nakao, J., Tachibana, M., and Yoshikawa, H.: Shape transformation of erythrocyte ghosts on addition of adenosine triphosphate to the medium. *J. Biochem.*, 47, 694, 1960.
- 49) Osgood, E. E. and Brownlee, I.: Culture of human marrow. *J. A. M. A.*, 108, 1793, 1937.
- 50) Pirwitz, J. und Haaf: Adenosintriphosphorsäure als atemungssteigernder Faktor im menschlichen Serum. *Arch. exp. Path. u. Pharmak.*, 210, 374, 1950.
- 51) Ponder, E.: Hemolysis and Related Phenomena, New York, Grune & Stratton, 1948.
- 52) Rich, A. R., Wintrobe, M. M. and Lewis, M. R.: The differentiation of myeloblast from lymphoblasts by their manner of locomotion. *Bull. Johns Hopkins Hospital*, 65, 291, 1939.
- 53) Rottino, A., Hoffman, G. T., and Albaum, H. G.: Adenine nucleotide content of red blood cells of normal individuals and of patients suffering from Hodgkin's disease and other diseases. *Blood*, 7, 836, 1952.
- 54) Szent-Györgyi, A.: Chemistry of Muscular Construction, New York, Academic Press, 1947.
- 55) Szent-Györgyi, A.: Nature of Life—a study on muscle, New York, Academic Press, 1948.
- 56) Tachibana, M., Nakao, M., Miyamoto, K., Sekiguchi, T. and Yoshikawa, H.: Preparation of P³²-labelled adenosine triphosphate by human erythrocytes. *J. Biochem.*, 46, 711, 1959.
- 57) Wright, J. H.: Die Entstehung der Blutplättchen. *Virchows Arch.* 186, 55, 1906.
- 58) Yoshikawa, H., Nakao, M., Miyamoto, K. and Tachibana, M.: Phosphorus metabolism in human erythrocytes. *J. Biochem.*, 47, 635, 1960.

Influences of ATP on Hematopoietic Functions
of Bone Marrow

3. Influences of ATP on Erythropoietic Functions of Rabbit,
Normal Human and Hypoplastic Marrow

By

Michio OKAMOTO

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

Author's abstract

For the purpose of observing the influences of ATP on the bone marrow erythropoiesis, a roller tube culture method was used to cultivate bone marrow cell suspensions from normal rabbits, normal persons and patients with hypoplastic anemia. ATP solutions at various concentrations were added directly to the culture media and observations were carried out.

As a result, it has been shown that addition of ATP resulted in an increase of erythrocytes, increase of hemoglobin content and increasing percentage of orthochromic erythroblasts.
