

## 感光色素の骨髄に及ぼす影響

## 第 1 編

## 家兎骨髄体外組織培養特に組織増生に及ぼす影響

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

専攻生 岡 田 啓 成

〔昭和 33 年 4 月 23 日受稿〕

## 目 次

## 第 1 章 緒 言

## 第 2 章 実験材料並に実験方法

## 第 1 節 実験材料

## 第 1 項 実験動物

## 第 2 項 実験試薬

## 第 3 項 実験試薬の溶解濃度

## 第 2 節 実験方法

## 第 1 項 培養方法

## 第 2 項 組織増生の観察

## 第 3 章 実験成績

## 第 1 節 シアニン系色素添加

## 第 1 項 トリメチン型色素添加

## 第 2 項 三核型色素添加

## 第 2 節 スチリル型色素添加

## 第 3 節 アミノビニル型色素添加

## 第 4 章 総括並に考按

## 第 5 章 結 論

## 第 1 章 緒 言

感光色素は増感剤として写真工業に重要な役割を果しているが、その殆んどが Cyanin 系色素によつて占められている。Cyanin 系色素は 1856 年 Williams が始めて合成して以来、急激に発展し現在までその類似色素を含めて総数 5000 以上が合成されている。

感光色素の医学的応用は 1920 年 Neufeld<sup>133)</sup> が化学療法剤として取上げたのに始まり、次で Browning<sup>108)</sup> による抗トリパノゾマ作用の研究があるが、本格的な研究として発表したのは波多野<sup>69)</sup> で昭和 9 年先づ Illuminol R を Giemsa 染色液の代用品として組織細胞原虫の染色に利用し、更に Illuminol U II<sup>70)</sup> が強心利尿作用をもつ事を発見した。爾来基礎的研究の進展と共に各種の感光色素が取上げられ、その臨床的応用も極めて広範に亘っている。例えば骨結核、リンパ腺結核、火傷、凍傷、化膿性疾患、各種アレルギー性疾患、貧血、湿疹、脱毛症等の皮膚疾患に用いられ、更に神経痛、リウマチ性疾患に有効とされている。又類に効果を示したとも言われている。一方臨床的応用の裏付としての基礎

的研究も薬理学的研究を始めとして、網内系、内分泌系、酸化還元系、造血臓器に対する作用が研究されている。又組織呼吸、基礎代謝に及ぼす影響、ホルモン様作用、ビタミン様作用、コリンエステラーゼに対する作用等と多くの知見も発表せられており、その詳細は波多野<sup>74)</sup>、<sup>76)</sup>、<sup>77)</sup>、今永<sup>8)</sup>、島田<sup>51)</sup> 等の綜説に述べられている。

又第二次世界大戦後、米国に於ても Cyanin 系色素について、Brooker<sup>107)</sup>、Wright<sup>145)</sup>、Bueding<sup>110)</sup>、Hels<sup>126)</sup> 等により何れも抗菌性、抗原虫性に関する業績が報告されている。即ち米国に於ては化学療法剤としての研究が主体をなしているが、我国では最初波多野<sup>70)</sup> が太陽光線エネルギーを感光色素を媒体として生体に導入し体質の改善、疾病の予防及び治療をなさんとした創意に基き、その生体賦活作用に関する研究が多く見られる。又感光色素の血液学的検査も各氏により研究されているが、殆んどが末梢血液の変化に対する追求のみで僅かに磯江<sup>3)</sup>、亀田及び片山<sup>31)</sup> が骨髄に対する組織学的影響について断片的に報告しているのみである。

尚今日まで医学的に研究されてきた感光色素は主として Cyanin 系の一群で、之は環状第 3 級 Amin

及び環状 Ammonium 第 4 級塩の両核より成り、両窒素間に両核内及び核外を通じて共軛二重結合を有する一般式を持つており、Monomethin 型、Trimethin 型 (2,2' chinocyanin, 4,4' chinocyanin, Thiazolocynin, Thiocyanin, 混合型, その他), Pentamethin, Heptamethin 及び三核型に分たれる。更に Cyanin 系の他に Styryl 型, Anil 型, Aminovinyl 型, 及び複感光色素と称されるものがある。

さて翻つて 1907 年 Harrison<sup>124)</sup> により基礎が確立せられた組織培養法は、Carrel<sup>113)</sup>, Fischer<sup>119)</sup>, Burrows<sup>111)</sup>, 木村<sup>39)</sup> 等の研究によりその応用面も細胞学的, 薬理学的, 細菌免疫学的並に病理学的研究に拡大され、医学に於ける重要な研究方法となつてゐる。現今に於ては殆んど総ての組織が培養可能であるが、骨髄についても Carrel & Burrows<sup>113)</sup> 以来 Ingebrigsten<sup>128)</sup>, Foot<sup>120)121)</sup>, Erdmann<sup>115)116)</sup>, Grossmann<sup>123)</sup>, Bermann<sup>105)</sup>, 小松<sup>46)</sup>, Masy Margo<sup>131)</sup> Osgood & Brownlee<sup>138)</sup>, Weitzmann & Posern<sup>144)</sup>, 河島<sup>36)</sup>, Israëls<sup>129)</sup>, Fieschi & Astaldi<sup>118)</sup>, 原<sup>83)</sup>, Norris & Majnarich<sup>134)135)</sup> 等の業績が散見するが、平木内科教室に於ては骨髄に関する研究の一環として、培養術式の改良, 培養条件の検討, 続いて骨髄細胞の生体観察, 諸物質の影響等について系統的に基礎的研究が行われ、更に臨床的应用として各種血液疾患の診断並に治療に目覚ましい実績をあげつゝある。

諸種薬物の骨髄組織培養に及ぼす影響に関しては伊藤<sup>5)</sup>, 牧野<sup>90)91)</sup>, Norris<sup>134)135)</sup>, 小池<sup>43)</sup>, Hays<sup>125)</sup>, 紺野<sup>47)</sup> 等の研究があるが、教室に於ても岩崎<sup>10)</sup>, 久米田<sup>4)</sup>, 山本<sup>101)</sup>, 藤井<sup>86)</sup>, 橋本<sup>80)</sup> 等により各種ビタミン, アミノ酸, 鉄, 銅, コバルト, P<sub>32</sub>, ACTH, コーチゾン, 骨髄エキス等の研究が詳細になされ臨床的にも多大の貢献をしている。

さてこの感光色素に関し組織培養を応用しての研究は今永, 水民<sup>8)</sup> により鶏胎児の心筋結合母細胞並に虹彩上皮細胞について紫光, 虹波を用いて行われているが、素より骨髄については全く之を見ない。私は骨髄に対する検索の尚不十分なる点を更に追求する目的で教室の骨髄組織培養法を応用して Cyanin 系及び類似感光色素 8 種について骨髄に対する直接の作用を考察し、合せて化学構造と作用の関係を見るため以下の実験を企図した。

第 2 章 実験材料並に実験方法

第 1 節 実験材料

第 1 項 実験動物

体重 1.5 kg 内外の健康雄性家兔 24 匹 (No. 1~No. 24) の大腿骨々髓を無菌的に採取使用した。

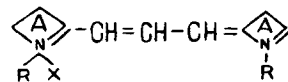
第 2 項 実験試薬

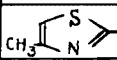
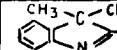
被検化合物は第 1 表の如き構造式を有する 8 種の感光色素で、日本感光色素研究所に於て合成されたもので、純度は元素分析をもつて確認してある。次に各色素の性状を記載する。

第 1 表. 実験に使用せる感光色素

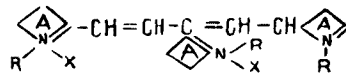
A. シアニン系色素

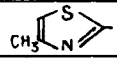
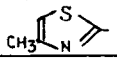
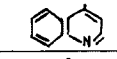
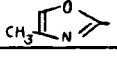
(1). トリメチン型色素



N K.	A	R	X	分子量
15		CH <sub>3</sub>	J	392.1
79		CH <sub>3</sub>	J	484.1

(2). 三核型色素

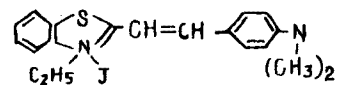


N K.	A	R	X	分子量
2		CH <sub>3</sub>	J	657.0
19		CH <sub>15</sub>	J	909.02
9		CH <sub>5</sub>	Cl	605.91
325		CH <sub>3</sub>	J	606.84

B. シアニン類似色素

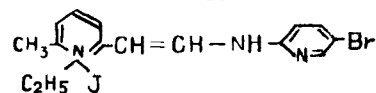
(1) スチリル型色素

NK. 91. 分子量. 436.1



(2). アミノピニル型色素

NK 243 分子量 446.13



NK. 15

3, 3'-4, 4'- Tetramethyl- trimethinthiazolocyanin-

## neiodide

鉄青色の針状結晶で水、アルコール、プロピレングリコールに溶けて赤色を呈する。エーテル、ベンゾールには不溶。融点 258°。吸収極大 590m $\mu$ 。

NK. 79

## 1,1'-3,3'-3'',3''-Hexamethyl-trimethinindocyanineiodide

鉄青色プリズム結晶。アルコールに易溶、水にはやゝ難溶性で赤色を呈する。対光性に強く相を美紅色に染める。融点 229°C。吸収極大 540m $\mu$ 。

NK. 2

## 3,3',3''-4,4',4''-Hexamethyl-8-(2''-thiazole)-2,2'-pentamethine-thiazolocyanine-3,3''-diiodide

別名を紫光, Illuminol RII と称す。毛状の青緑色針状結晶。水に易溶、アルコールにやゝ難溶、エーテル、ベンゾールに不溶。融点 283°C。感光極大 640 m $\mu$ 。

NK. 19

## 4,4',4''-trimethyl-3,3',3''-triheptyl-8-(2''-thiazol)-2,2'-pentamethinethiazolocyanin-3,3''-diiodide

別名をプラトニンと称し、輝緑色針状結晶。水にはやゝ難溶であるがエチルアルコール、プロピレングリコール、には易溶。吸収極大 590 m $\mu$ 。融点 202°C

NK. 9

## 1,1',1''-triethyl-10-lepidyl-4,4'-trimethine-quinocyanine-1,1''-chloride

銅赤色結晶で水、アルコールに易溶、エーテル、ベンゾールに不溶。アルコールには青緑色を呈しやゝ不安定な色素である。融点 260-1°C。

NK. 325

## 3,3',3''-4,4',4''-Hexamethyl-8(2''-oxazole)-2,2'-pentamethineoxazolocyanine-3,3''-diiodide

赤紫色粉末結晶。水、アルコールに易溶、融点 244°C, 感光極大 540 m $\mu$ 。

NK. 91

## 2-p-Dimethylaminostyryl-benzothiazole-ethyliodide

鉄青色針状結晶。水、アルコールに易溶、エーテル、ベンゾールに不溶、水に溶けて赤色を呈す。融点 265°C, 感光極大 600 m $\mu$ 。

NK. 243

## 2-(5'Bromopyridyl)-2'-aminovinyl-6-methylpy-

## ridin-ethiodide

別名を T<sub>7</sub> と称し黄色粉末結晶、温水に溶けて黄色を呈す。

## 第3項 実験試薬の溶解濃度

分子量を基準にとり滅菌リンゲル氏液にて 1×10<sup>-4</sup>, 1×10<sup>-5</sup> 及び 1×10<sup>-6</sup> Mol になるように溶解し、日光により変色するので実験の都度新調した。

## 第2節 実験方法

## 第1項 骨髄の被覆培養法

以下述べる培養に使用した器具、全ての操作は完全無菌的に実施した。

無菌的に取り出した骨髄片は凹窩載物ガラス上にグレーフェ氏刀で 1~2 mm の細片となし、リンゲル氏液にて洗滌後培養に供した。培地の支持体には同一家兎のヘパリン加血漿を用い、発育促進物質として孵化 9 日目の鶏胎児圧搾液を使用した。培養術式は 1) 被覆ガラス上に血漿 1 滴を直径 1.5 cm 位に薄く円形に拡げ、2) その上に骨髄細片を入れ、3) 鶏胎児圧搾液 1 滴を加え、4) 最後に被検色素溶液又はリンゲル氏液 1 滴を添加し混和す、5) 血漿の凝固の後凹窩載物ガラスに合わせパラフィンで封入し、6) 37~38°C の孵卵器に入れ組織の発育を待つ。

標本は被検化合物の 1×10<sup>-4</sup>, 1×10<sup>-5</sup>, 1×10<sup>-6</sup> Mol 溶液添加と対照のリンゲル氏液添加の都合 4 枚を 1 匹の家兎より作製した。

## 第2項 組織増生の観察

培養された骨髄片の周辺より時間の経過と共に細胞の遊出により所謂組織増生帯を生じ、この増生帯は逐時増大して行き 48 時間に及ぶが、72 時間では略々成長を停止するので、本実験では培養後 3, 6, 12, 24, 48, 72 時間の 6 回に亘り観察した。

増生面積の計測は標本を 37~38°C の恒温箱内の顕微鏡下に置き、Abbe の描画器を用いて箱外紙台上の白紙に原組織並に増生帯を写し、その輪廓をプランメータで測り実面積に換算した。全体の面積より原面積を減じたものを絶対成長値とし、之を原面積で除したものを比較成長値とした。尚色素溶液添加標本と対照の比較成長値の比率を求めて成長係数とした。

## 第3章 実験成績

## 第1節 シアン系色素添加

## 第1項 トリメチン型色素添加

1) NK. 15添加 (第2表, 第1図参照)

1×10<sup>-4</sup>Mol 溶液添加では No. 2 は既に3時間で成長は障碍され、比較成長価(以後成長価と略す)は対照 4.34 に対し 3.81 を示し 24 時間では成長係数(以後係数と略す)は 0.53 で約 1/2 の増生を遂げるのみで末期まで続く。No. 1, 3 でも同様の傾向が認められ、常に全経過を通じ細胞増生を抑制する。

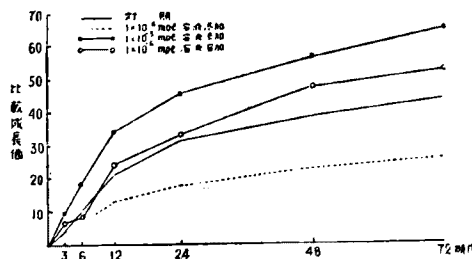
1×10<sup>-5</sup> Mol 溶液の影響は高濃度と反対に常に中等度の促進値を示し、72 時間の係数は 1.24~1.56 で NK 15 の至適濃度と推定される。

1×10<sup>-6</sup> Mol 溶液は No. 2, 3 では係数も 12, 24 時間で夫々 1.14, 1.14 及び 1.34, 1.26 と多少の亢進差を示すが、No. 1 では有意の変動は認められない。

第2表 NK.15 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長価						成長係数			
		対 照	稀 釈 度 (Mol)			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>	-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>
			1×10 <sup>-4</sup>	1×10 <sup>-5</sup>	1×10 <sup>-6</sup>						
1	3	4.19	2.54	4.82	4.18	0.61	1.15	1.00			
	6	9.26	3.63	7.24	6.19	0.39	0.78	0.67			
	12	14.37	5.45	11.97	10.56	0.38	0.83	0.73			
	24	19.34	8.85	14.98	14.17	0.46	0.77	0.73			
	48	20.55	17.85	26.69	16.58	0.87	1.30	0.87			
	72	26.24	17.85	41.01	24.40	0.78	1.56	0.93			
2	3	4.34	3.81	8.94	6.70	0.88	2.06	1.54			
	6	9.83	7.00	18.31	8.47	0.71	1.86	0.86			
	12	20.91	13.13	34.53	23.81	0.62	1.65	1.14			
	24	31.20	16.63	45.49	31.63	0.53	1.46	1.14			
	48	38.20	22.43	56.85	46.87	0.59	1.49	1.23			
	72	43.02	25.07	63.59	50.29	0.58	1.48	1.17			
3	3	3.34	9.16	16.89	10.92	2.74	5.06	3.27			
	6	15.70	20.38	37.78	24.98	1.21	2.41	1.56			
	12	26.48	25.97	44.75	35.59	0.98	1.69	1.34			
	24	33.08	28.52	53.30	41.74	0.86	1.61	1.26			
	48	47.83	30.74	60.85	48.76	0.64	1.27	1.02			
	72	54.89	36.11	68.20	56.33	0.66	1.24	1.03			

第1図 NK.15 添加



2) NK. 79 添加 (第3表, 第2図)

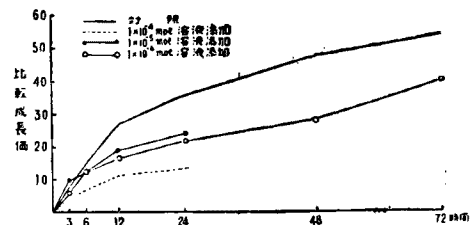
1×10<sup>-4</sup> Mol 溶液添加は極めて強い骨髄抑制を示し、初期より殆んど増生せず 12 時間の係数は 0.41, 0.27, 0.54 と対照の 1/2 乃至 1/3 で、12~24 時間で成長を停止する。

低濃度になるに従って程度は減少するが矢張抑制作用がみられる。即ち 1×10<sup>-5</sup> Mol 溶液は高濃度程ではないが可成り障碍を与え、1×10<sup>-6</sup> Mol 溶液では初期は対照と余り変らないが時間の経過と共に抑制効果が現われる。

第3表 NK.79 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長価						成長係数			
		対 照	稀 釈 度 (Mol)			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>	-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>
			1×10 <sup>-4</sup>	1×10 <sup>-5</sup>	1×10 <sup>-6</sup>						
4	3	8.05	5.39	9.00	7.84	0.67	1.12	0.97			
	6	15.42	7.60	13.83	13.32	0.49	0.90	0.86			
	12	26.83	10.90	19.09	17.84	0.41	0.71	0.66			
	24	35.09	13.54	23.60	23.46	0.39	0.69	0.67			
	48	47.05			27.47			0.58			
	72	53.18			39.38			0.77			
5	3	5.89	2.50	4.90	6.65	0.42	0.83	1.13			
	6	10.40	3.62	8.13	11.27	0.35	0.78	1.08			
	12	16.10	4.33	9.81	16.77	0.27	0.61	1.04			
	24	18.77			19.74			1.05			
	48	31.74			24.15			0.76			
	72	38.60			32.47			0.84			
6	3	3.95	3.90	3.61	5.87	0.99	0.91	1.48			
	6	7.04	6.12	6.20	9.18	0.87	0.88	1.30			
	12	14.97	7.35	9.67	15.09	0.54	0.65	1.01			
	24	28.35	8.24	11.85	26.62	0.29	0.42	0.90			
	48	33.10									
	72	33.10									

第2図 NK.79 添加



第2項 三核色素添加

1) NK. 2 添加 (第4表, 第3図)

1×10<sup>-4</sup> Mol 添加は No. 8 に於ては対照より僅か

に低い成長値を示しつつ増生するが、48, 72時間の係数は夫々0.99, 0.92で有意の差とは言えない、No.7では初期より僅少の亢進差を保つて増生を続け、No.9も同様の發育態度を示す。従つて全般的に見て少くとも骨髄に対し抑制的に働くものでないと考えられる。

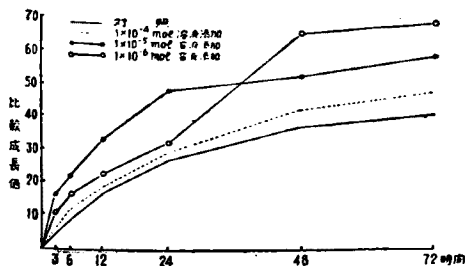
$1 \times 10^{-5}$  Mol 溶液添加は No.8 では対照に対し意義ある変動はないが、他の2例では可成りの促進値を示し特に No.7 に見る如く3, 6, 12時間の係数は3.34, 2.26, 1.94で初期の増生は著明である。

$1 \times 10^{-6}$  Mol 溶液 No.7, 9に見る如く  $1 \times 10^{-5}$  Mol 溶液よりやゝ刺激性が少く後半に至つて顕著な

第4表 NK. 2 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長値						成長係数			
		対 照	稀 釈 度 (Mol)			-4	-5	-6	-4	-5	-6
			$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$						
3	3	4.74	6.47	15.73	10.15	1.36	3.34	2.12			
	6	9.38	11.92	22.29	16.42	1.26	2.36	1.75			
	12	16.88	17.66	32.73	22.72	1.05	1.94	1.34			
	24	26.62	28.63	47.73	31.99	1.07	1.79	1.20			
	48	37.53	42.21	51.83	65.54	1.12	1.38	1.75			
7	3	6.66	3.25	3.93	6.68	0.49	0.59	1.00			
	6	9.15	9.88	10.77	17.32	1.08	1.18	1.89			
	12	16.15	15.03	15.48	31.77	0.93	0.96	1.97			
	24	25.48	21.02	22.09	35.08	0.82	0.87	1.38			
	48	30.49	29.82	35.42	44.73	0.99	1.16	1.41			
8	3	4.70	6.50	10.60	7.42	1.38	2.26	1.58			
	6	21.51	26.32	34.00	24.76	1.22	1.59	1.15			
	12	36.77	35.88	40.40	34.74	0.96	1.10	0.94			
	24	48.01	52.57	60.13	55.42	1.09	1.25	1.15			
	48	56.32	60.60	66.72	78.73	1.08	1.18	1.40			
9	3	6.00	67.60	76.70	84.01	1.13	1.28	1.40			
	6	21.51	26.32	34.00	24.76	1.22	1.59	1.15			
	12	36.77	35.88	40.40	34.74	0.96	1.10	0.94			
	24	48.01	52.57	60.13	55.42	1.09	1.25	1.15			
	48	56.32	60.60	66.72	78.73	1.08	1.18	1.40			

第3図 NK. 2 添加



増生を逐げる傾向が弱られる。成長値も中間濃度に比し全般的に優位を示している。

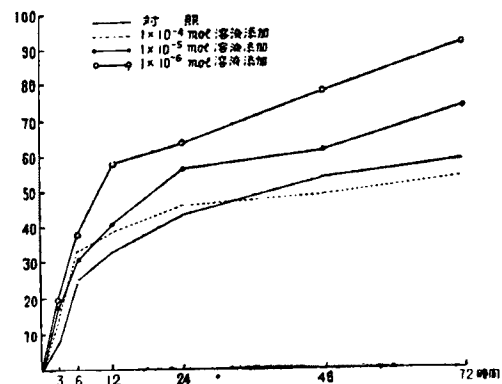
2) NK. 19 添加 (第5表, 第4図)

$1 \times 10^{-4}$  Mol 溶液は No.12 では6, 12時間で一過性の抑制を示し係数は0.64, 0.74であるが、24, 48時間の成長値は24.96, 35.23, で対照と大差がない。他の2例では略々対照と等しい發育を行い有意の差がないと認められる。

第5表 NK.19 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長値						成長係数			
		対 照	稀 釈 度 (Mol)			-4	-5	-6	-4	-5	-6
			$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$						
10	3	9.65	15.06	16.70	18.15	1.56	1.73	1.88			
	6	25.09	33.46	32.46	37.53	1.35	1.29	1.50			
	12	33.24	39.36	40.09	58.47	1.18	1.21	1.76			
	24	43.69	46.00	56.76	63.54	1.05	1.29	1.45			
	48	54.22	49.24	61.00	78.23	0.91	1.13	1.44			
11	3	8.16	9.22	11.66	19.61	1.13	1.43	2.40			
	6	15.60	13.41	18.11	30.02	0.85	1.16	1.92			
	12	27.02	27.99	22.44	38.72	1.04	0.83	1.42			
	24	36.04	36.18	32.29	43.14	1.00	0.90	1.20			
	48	40.81	40.14	39.57	56.66	0.98	0.97	1.39			
12	3	3.61	4.39	5.54	12.60	1.22	1.53	3.49			
	6	7.92	5.03	8.94	19.52	0.64	1.13	2.46			
	12	16.36	12.23	21.23	24.01	0.75	1.30	1.47			
	24	28.11	24.96	27.21	40.63	0.89	0.97	1.45			
	48	39.25	35.23	40.15	60.05	0.90	1.02	1.53			
72	47.05	39.01	52.52	87.05	0.83	1.12	1.81				

第4図 NK. 19 添加



1×10<sup>-5</sup> Mol 溶液添加では No. 10 に於て常に増生促進作用が窺われるが、他の2例では有意の差が認め難い。

1×10<sup>-6</sup> Mol 溶液の影響は極めて顕著で No. 12 では3, 6時間の成長価は既に12.60, 19.52と対照の約2.5~3.5倍の発育を遂げ、48, 72時間の係数も1.53, 1.81で末期に至るまで上昇的な成長を続ける。No. 10, 11も類似の増生態度を示し、係数も大凡1.20~2.40の間にある。即ち低濃度に於ける骨髄促進作用は著明で相当な期待が持てる。

3) NK. 9 添加 (第6表, 第5図)

1×10<sup>-4</sup> Mol 溶液添加では3例とも後半に於て成長価は対照より劣り48, 72時間で成長を殆んど停

止し、抑制作用が窺われる。

1×10<sup>-5</sup> Mol 溶液添加は No. 14 の如く有意の差の見出し難い例もあるが、軽度の促進傾向があるようである。

1×10<sup>-6</sup> Mol 溶液は増生促進作用があり、72時間の係数は1.56, 1.46, 1.44を示す。

4) NK. 325 添加 (第7表, 第6図)

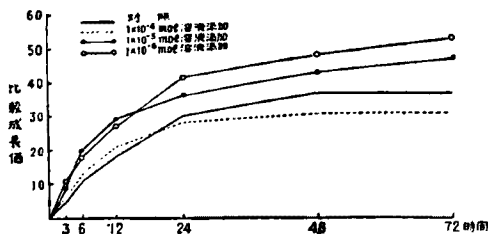
1×10<sup>-4</sup> Mol 溶液添加では No. 18 に於て常に僅少の増生抑制が見られるが、他の2例では著明な影響がなく寧ろ有意の差はないと考えられる。

1×10<sup>-6</sup> Mol 溶液添加では No. 16, 17 に於て僅かの促進傾向が認められるが著明とは云い難い。

第6表 NK. 9 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長価						成長係数			
		対 照	稀 釈 度 (Mol)			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>	-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>
			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>						
			1×10 <sup>-4</sup>	1×10 <sup>-5</sup>	1×10 <sup>-6</sup>						
13	3	3.94	5.34	8.02	6.21	1.35	2.04	1.58			
6	6.95	8.90	13.97	12.63	1.28	2.01	1.82				
12	11.60	16.25	27.06	22.41	1.40	2.33	1.93				
24	24.35	19.20	47.49	41.55	0.79	1.95	1.71				
48	42.48	27.38	54.87	67.30	0.64	1.29	1.58				
72	44.69	27.38	60.52	69.82	0.61	1.35	1.56				
14	3	4.49	4.21	4.09	4.92	0.94	0.91	1.10			
6	7.94	8.30	7.41	7.95	1.05	0.94	1.00				
12	15.91	14.42	12.50	12.57	0.91	0.78	0.79				
24	33.71	31.52	26.20	31.94	0.94	0.78	0.95				
48	45.66	38.58	52.62	56.03	0.84	1.15	1.23				
72	47.62	39.48	63.62	69.71	0.83	1.34	1.46				
15	3	5.76	7.12	9.31	9.50	1.24	1.62	1.65			
6	11.10	13.38	19.96	18.44	1.21	1.80	1.66				
12	18.75	21.32	28.23	27.07	1.14	1.56	1.44				
24	30.46	28.33	36.25	41.21	0.93	1.18	1.35				
48	36.33	30.35	42.11	47.05	0.84	1.13	1.30				
72			46.18	52.16		1.27	1.44				

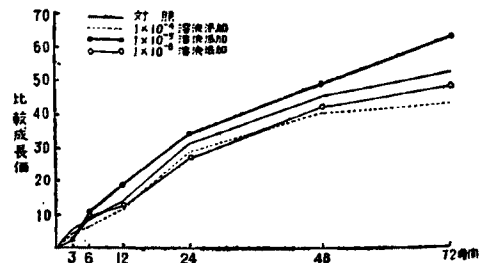
第5図 NK. 9 添加



第7表 NK.325 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長価						成長係数			
		対 照	稀 釈 度 (Mol)			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>	-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>
			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>						
			1×10 <sup>-4</sup>	1×10 <sup>-5</sup>	1×10 <sup>-6</sup>						
16	3	8.05	7.29	12.64	8.06	0.90	1.57	1.00			
6	11.86	15.35	20.24	13.94	1.29	1.70	1.09				
12	15.88	23.55	31.27	21.74	1.48	1.96	1.16				
24	24.35	27.88	41.21	31.46	1.10	1.68	1.29				
48	42.13	40.12	47.05	45.30	0.95	1.11	1.07				
72	45.69	44.27	52.61	49.41	0.96	1.15	1.08				
17	3	3.95	5.42	6.48	6.44	1.37	1.64	1.63			
6	6.09	7.28	9.17	8.44	1.19	1.50	1.38				
12	8.84	9.10	11.61	11.31	1.02	1.31	1.27				
24	11.75	11.34	14.87	14.65	0.96	1.26	1.24				
48	18.95	15.97	22.89	21.09	0.84	1.20	1.11				
72	18.95	15.97	22.89	21.09	0.84	1.20	1.11				
18	3	5.46	5.23	4.88	4.92	0.95	1.06	0.90			
6	9.11	6.63	10.92	9.26	0.72	1.20	1.01				
12	13.94	11.85	19.74	13.12	0.85	1.42	0.95				
24	31.97	29.91	34.75	29.05	0.93	1.09	0.91				
48	44.73	39.91	48.33	41.66	0.89	1.08	0.93				
72	52.41	42.61	62.35	47.16	0.81	1.19	0.90				

第6図 NK. 325 添加



$1 \times 10^{-5}$  Mol 溶液は No. 18では6, 12時間の成長価は10.92, 19.74 (係数は1.20, 1.42) を示し増生促進が見られるが, その後の発育は対照と余り変わらない, 他の2例も略々同様の傾向が認められる, NK. 325は著明な影響を与えないが,  $1 \times 10^{-5}$  Mol が骨髄増生に対する至適濃度と推定される.

第2節 スチリル型色素添加

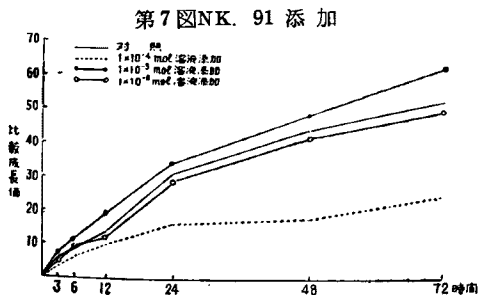
(第8表, 第7図)

スチリル型色素では NK. 91 を取上げた.

$1 \times 10^{-4}$  Mol 溶液添加では No. 20 の如く対照と同程度の発育をするものもあるが, No. 19, 21は48, 72時間の係数0.46, 0.50及び0.39, 0.44と中末期に強く抑制を受け殆んど増生しない.

第8表 NK. 91 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長価			成長係数			
		対 照	稀 積 度 (Mol)			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>
			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>			
19	3	7.40	7.69	8.25	10.82	1.04	1.11	1.46
	6	14.83	14.37	14.67	18.71	0.97	0.98	1.26
	12	28.73	22.67	25.63	24.55	0.79	0.89	0.85
	24	48.69	27.09	39.24	60.08	0.56	0.81	1.23
	48	59.05	27.09	50.79	74.92	0.46	0.85	1.27
	72	77.08	38.53	60.12	83.53	0.50	0.78	1.08
20	3	5.51	7.34	12.58	6.39	1.33	2.28	1.16
	6	8.74	12.20	16.87	8.50	1.40	1.93	0.97
	12	12.09	16.44	25.82	12.25	1.31	2.00	1.01
	24	19.19	18.11	34.26	15.24	0.94	1.78	0.79
	48	25.44	25.18	42.11	24.64	0.99	1.65	0.97
	72	31.46	28.79	49.18	33.72	0.91	1.58	1.07
21	3	5.46	3.88	5.79	4.92	0.71	1.06	0.90
	6	9.11	6.58	10.92	9.26	0.92	1.20	1.01
	12	13.94	10.50	19.74	13.12	0.75	1.42	0.95
	24	31.97	16.18	34.75	29.05	0.51	1.09	0.91
	48	44.73	17.50	48.33	41.66	0.39	1.08	0.93
	72	52.41	23.29	62.35	49.51	0.44	1.19	0.90



$1 \times 10^{-5}$  Mol 及び  $1 \times 10^{-6}$  Mol 溶液では殆んど有意の差は見られないが, No. 19の  $1 \times 10^{-6}$  Mol, No. 20の  $1 \times 10^{-5}$  Mol の如く増生促進作用を示すものもあり作用が一定しないが, 少くとも抑制的には働かないようである.

第3節 アミノビニル型色素添加

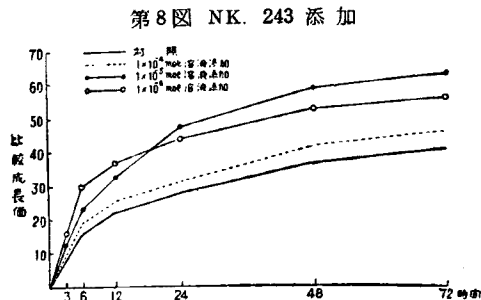
(第9表, 第8図)

アミノビニル型色素では NK. 243 の影響を検討した.

$1 \times 10^{-4}$  Mol 溶液は骨髄増生に殆んど影響を与えないが, No. 23の如く12, 48, 72時間の成長価が23.90, 40.83, 55.16 (対照は17.05, 31.42, 39.15) と著明な促進を示すものもある.

第9表 NK. 243 添加

家 兔 番 号	培 養 時 間	比較成長価			成長係数			
		対 照	稀 積 度 (Mol)			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>
			-4 1×10 <sup>-4</sup>	-5 1×10 <sup>-5</sup>	-6 1×10 <sup>-6</sup>			
22	3	4.34	4.66	6.50	7.16	1.07	1.49	1.65
	6	8.12	8.60	18.22	11.60	1.05	2.24	1.43
	12	18.96	18.69	23.82	20.80	0.99	1.26	1.10
	24	26.08	26.83	38.15	32.70	1.02	1.46	1.20
	48	34.95	32.66	54.34	41.17	0.93	1.56	1.17
	72	39.83	40.26	65.81	53.41	1.01	1.52	1.34
23	3	7.50	10.90	14.3	9.5	1.45	1.90	1.27
	6	13.10	20.20	23.1	15.9	1.54	1.76	1.21
	12	17.05	23.9	30.9	24.4	1.34	1.81	1.43
	24	23.06	28.41	41.0	32.0	1.23	1.98	1.39
	48	31.42	40.83	59.6	40.09	1.30	1.90	1.28
	72	39.15	55.16	61.87	51.4	1.40	1.59	1.31
24	3	7.91	10.1	10.2	14.89	1.27	1.29	1.89
	6	16.0	19.0	23.4	29.57	1.16	1.46	1.85
	12	22.14	25.5	32.2	36.71	1.15	1.45	1.66
	24	28.36	31.3	47.01	44.08	1.10	1.66	1.55
	48	36.44	41.1	58.07	52.39	1.13	1.59	1.44
	72	40.29	45.54	62.31	54.82	1.12	1.55	1.36



$1 \times 10^{-5}$  Mol 及び  $1 \times 10^{-6}$  Mol 溶液は共に初期より促進的に作用するが、 $1 \times 10^{-5}$  Mol 溶液がやゝ優ると考えられる。特に No. 23 の  $1 \times 10^{-5}$  Mol 溶液添加では 12, 48, 72 時間の係数は 1.81, 1.90, 1.59 と末期に至るまで増生を促進し対照の約 2 倍の发育をする事は驚異的である。

即ち NK. 243 は比較的刺激性が少く上記各濃度では全く抑制作用は窺われず、且つ有効量の幅が広く極めて優秀な骨髓賦活作用を示す。

#### 第 4 章 総括並に考按

本編に於ける成績を総括すれば第 10 表の如くである。

組織培養の方法には一般に被覆法、瓶法、液体培養法、回転管内培養法が行われている。被覆法は特に細胞の成熟、増生を数量的に測定出来る長所があるので、本編に於ては大藤、互理、角南<sup>17)18)20)25)26)</sup> 27) の方法に従つて骨髓組織培養に対する感光色素の添加実験を行った。

波多野、樗木<sup>71)</sup> によれば本色素は細胞に親和性が強く特に心筋、肝細胞に著明とされているが、私の実験成績が示す如く骨髓細胞にも極めて強い親和性を有している。即ち前述 3 濃度に於て抑制的に働くのは NK. 79, 余り顕著な影響を示さないのは NK. 91, 325 であり、NK. 243, 19, 9, 2, 15 には促進作用がある事が判明した。

波多野<sup>73)</sup> は組織呼吸に対する影響より感光色素は一般に高濃度で機能を抑制し、低濃度では促進すると述べているが、私の実験からもかゝる事が云い得る。又促進作用の認められる NK. 243, 19, 9, 2, 15 の至適濃度は夫々  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,

$1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  Mol と考えられる。かゝる低濃度で顕著な促進作用を現わす事実からみると本剤が微量で作用するホルモン、ビタミン、酵素とも良く類似する特徴を有すと云うべきであろう。

NK. 243 は T<sub>7</sub> とも称し、西島<sup>66)</sup>、井原<sup>6)</sup> は夫々発毛促進作用、創傷治癒作用を証明している。又山本<sup>100)</sup> は家兎に注射し赤血球は一過性に増加するが白血球には変動がないと報告し、神吉<sup>76)79)</sup> はマウスの白血球遊走速度を亢進せしめると述べている。私の実験からも T<sub>7</sub> は極めて優秀な細胞賦活作用を有し、骨髓に対しても直接に増生を促し全く抑制効果のない事を確認した。

NK. 19 (プラトニン) は非常に優秀な生物学的作用をもつ事が実証されている。例えば今永<sup>7)</sup>、荒川<sup>9)</sup> の外科的応用ではルミン、紫光に優る効果を示し、香西<sup>44)</sup>、西川<sup>68)</sup> は夫々創傷、BCG 潰瘍に治効のある事を報告している。又三上、下村<sup>94)</sup> は網内系の機能亢進を、磯江<sup>3)</sup> はナイトロミン注射による白血球減少を防止し骨髓機能を促進する事を、更に佐野<sup>49)</sup> は PAS 分解産物 MAP の白血球減少を防止する事を認めている。かゝる生体賦活作用の機序に関しては荒川<sup>9)</sup> も述べているように最も特異な作用は網内系の機能亢進で他の種々な作用も之と並行すると考えられている。私の実験から NK. 19 は直接骨髓に働いて機能を促進する作用を持つ事が確認でき、本剤の秀れた治療的効果の作用機序として重要である事を知った。

又本剤は村上<sup>96)</sup>、波多野<sup>78)</sup>、鈴江<sup>57)</sup> 等により消毒剤として取上げられ、三上、下村<sup>94)</sup> も大量では却つて機能を減退さすと述べているが、私の実験で

第 10 表 感光色素の骨髓増生に及ぼす影響

稀釈度 NK.	$1 \times 10^{-4}$ Mol	$1 \times 10^{-5}$ Mol	$1 \times 10^{-6}$ Mol
15	全経過を通じ抑制	常に中等度促進	影響なし
79	極めて強く抑制、12~24時間で成長停止	強く抑制、12~24時間で成長停止	僅かに抑制傾向あり
2	影響なし	軽度促進	著明促進
19	影響なし	軽度促進	著明促進
9	影響なきか稍々抑制傾向を示すものあり	軽度促進傾向あり	著明促進
325	影響なきか稍々抑制傾向を示すものあり	軽度促進	軽度促進
91	強く抑制 (特に中末期)	影響なきか稍々促進傾向を示すものあり	影響なきか稍々促進傾向を示すものあり
243	影響なきか多少促進傾向を示すものあり	著明促進 (至適濃度)	著明促進



も高濃度になるに従つて効果も劣り No. 12 の  $1 \times 10^{-4}$  Mol 溶液添加では一過性に増生抑制を受ける傾向が窺われる。之は同系統のシアニン系色素の研究にも全般的に見られる所である。

多数の感光色素の中現在まで臨床上実用化されているのは主としてルミン、紫光であるが、之等の血液及び造血臓器に対する作用に関しては次の如き業績がある。

(1) 正常及び病的状態に於て赤血球、白血球の増加を来す。(杉本<sup>52</sup>、横井<sup>53</sup>、波多野<sup>75</sup>、丸野<sup>92,93</sup>、鳥井<sup>62</sup>、福永<sup>84</sup>、加勢田<sup>99</sup>、小林<sup>45</sup>)

(2) Hb は増減不定(丸野、波多野)又は影響なし。(鳥井<sup>62</sup>、福永<sup>84</sup>)

(3) 白血球百分比では好中球、単球の増加を来す。(鳥井<sup>62</sup>、波多野<sup>72</sup>)

(4) 白血球貪喰能の促進を来す。(島田<sup>50</sup>、今永<sup>9</sup>、津田<sup>59</sup>、福永<sup>84,85</sup>、鳥井<sup>62</sup>)

(5) 実験的貧血に効果を示す。(津田<sup>59</sup>、片山<sup>90</sup>、谷村<sup>58</sup>、尾崎<sup>16</sup>、鳥井<sup>63,64</sup>、福永<sup>85</sup>)

ルミン、紫光は前記の如く赤、白血球増多作用を有し、サルバルサン中毒<sup>4</sup>、放射線、ナイトロミンによる白血球減少にも卓効を奏すると言う。片山<sup>90</sup>、飛田<sup>65</sup>はルミンの白血球増多は中枢性支配のもとに催白血球増多物質が産生せられ、骨髄を刺戟するに因ると報告しているが、私の実験から紫光、ルミン-cl は明らかにそのまゝの形で骨髄に直接作用して機能を促進せしめ赤、白血球の増多を来す事が実証された。

ルミンは Kryptocyanin OA complex と称し、Kryptocyanin OA<sub>1</sub>, OA<sub>2</sub>, OA<sub>3</sub>, OA<sub>4</sub> より構成され、OA<sub>1</sub> が約 92% を占め、その作用は主として OA<sub>1</sub> によると云われる。NK. 9 は OA<sub>1</sub> の Chinorin 核の Jod を cl に置換したものである。香西<sup>44</sup> の創傷治療に対する効果の比較ではルミンが最も優り、次いで紫光、プラトニンであつた。吉松<sup>102</sup> の家兔週期性波動呼吸の出現に及ぼす研究でもルミン>紫光>ルミン-cl の成績であつた。この成績は私の実験と傾向を一にしたものゝ如く、骨髄に対する促進作用は明らかに NK. 2 は NK. 9 より優り、NK. 9 は高濃度では抑制的傾向が窺われる。

NK. 15 に関する研究は従来余り行われておらず、久原<sup>70</sup> がアミラーゼの糖化作用を亢進せしめる事を、寺尾<sup>14</sup>、村上、丸田<sup>15</sup> が犬鉤虫卵の染色に利用出来る事を報告している。私の実験では同じトリメチン型の NK. 79 が著しく骨髄増生を抑制する

に反し、NK. 15 は  $1 \times 10^{-5}$  Mol 溶液添加で常に發育を促進する。然し低濃度で影響なく、高濃度で抑制する事は本色の有效量の範囲が狭い事を物語つている。

NK. 91 は先に教室(山口<sup>99</sup>)が Candida 症の治療に取上げた色素である。私の実験では  $1 \times 10^{-4}$  Mol 溶液で相当の骨髄増生抑制作用を示したが、試験管内で Candida albicans に強力な抗菌性を認める本色であるから当然と思われる。然し乍ら  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$  Mol 溶液で抑制傾向の見られない事は本剤が臨床的にも Candida 症の優秀な治療剤である事を示している。

NK. 325, NK. 79 は従来医学的には全く研究の行われていない色素である。NK. 325 は NK. 2 と同様三核型に属し、母核が前者の Thiazol 核に対し Oxazol 核であるが、骨髄に対する作用は NK. 2 に相当劣るようである。NK. 79 は極めて染色性が強く絹の染色剤として工業上用いられているが、毒性も強く機能賦活の目的では使用出来ないと考えられる。

以上骨髄に対する直接の作用はアミノビニル型色素 NK. 243 が最も優秀で、次で三核型であり、トリメチン型、ステリル型は劣るようである。三核型では環状窒素に結合するハロゲンが Jod が cl に優り、アルキル基の差異では Heptyl 基が最も秀れ、次いで Methyl 基、Ethyl 基と推定される。母核では Thiazol 核、Chinolin 核は明かに Oxazol 核より優れた作用を示す。Methin 系列では pentamethin は di 或は trimethin より優り、Trimethin では Indocyanin は Thiazolocyanin より遙かに毒性が少い。之等の成績は荒川<sup>11</sup> の網内系に対する化学構造式の差異による多数の感光色素の作用の検討結果と略々一致する。

## 第5章 結 論

家兔骨髄の被覆培養法を応用して、8種の感光色素の添加実験を行い、骨髄増生に及ぼす影響を検討した。

1) 骨髄増生を最も著明に促進するのは NK. 243 で、次で NK. 19, 2, 9, 15 の順と考えられる。NK. 325, 91 は著明な影響を与えないが、NK. 79 は強い抑制作用を有す。

2) 色素の型ではアミノビニル型、三核型が優秀な促進作用を示す。Cyanin 系では母核としては Thiazol 核、Chinolin 核が優り、Methin 系列では

Heptamethin, アルキル基では Heptyl 基が最も秀れた骨髄増生の促進を示す。環状窒素に結合するハロゲンでは Jod は cl に優る。

3) 感光色素にはそのまゝの形で直接骨髄に作用して骨髄実質の機能を促進し増血作用を招来するものがある事が判明した。

(文献第3編に一括)

撰筆するに臨み終始御懇篤なる御指導を賜った恩師平木教授並に大藤助教授に深甚なる謝意を表す。本論文の要旨は第18回日本血液学会に於て発表した。

## Effects of Photosensitizing Dyes on Bone Marrow

### Part 1. Effects of Photosensitizing Dyes on the Growth of Bone Marrow Tissue

By

Keisei Okada

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

By adding 8 different photosensitizing dyes to bone marrow tissue culture (cover slips method), direct effects of these dyes on the growth rate of bone marrow tissue have been studied.

1. Of these photosensitizing dyes NK 243 belonging to the aminovynil series promotes the growth of bone marrow tissue most markedly.
2. Photosensitizing dyes such as NK 19, 2, 9, and 15 help to promote the growth of bone marrow tissue moderately.
3. NK 325 and 91 do not act directly on the bone marrow growth.
4. Trimethinecyanine dye, NK 79, inhibits the tissue growth markedly.
5. Correlationship between the chemical structures of dyes and the growth rate of tissue has been studied. As for the type of dye, there are dyes in the aminovynil series and in the cyanine series, that promote the tissue growth. As for the radical nucleus in several dyes belonging to the cyanine series, thiazol and chinolin nucleus, and heptyl radical in the alkyl group act as to promote the growth of bone marrow. In the halogen series iodine radical promotes the tissue growth more markedly than chlor radical.