

結核症の貧血に関する実験的研究

第一編

健康海猿の網赤血球成熟状態とその成熟物質について

岡山大学医学部第一病理学教室（指導：妹尾左知丸教授）

専攻生 西 風 潤

〔昭和33年8月5日受稿〕

緒 言

著者は結核症に於て見られる低色素性貧血¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾の発現についてその原因を究明すべく企図した。一般に慢性感染疾患に於ける低色素性貧血は網状織内皮細胞系（以下 RES と略称）の障害にあり、鉄が RES に固定されてヘモグロビン合成に用いられなくなる事に原因があるという Heilmeyer の概念⁹⁾¹⁰⁾が一般に受入れられている¹¹⁾。従つて RES の機能という事がこの様な貧血には大きな役割を演じているものと思われる。この機構を究明する目的で著者は妹尾その他による網赤血球（以下 RC と略称）の *in vitro* に於ける成熟現象¹²⁾を利用する事を考えた。妹尾等によれば RC の成熟は肝、脾その他の RES より出される成熟物質によつて司られ、RES の障害は成熟物質の減少を来し、RC の成熟遅延を来してその数が増加しこのような状態の進展によつて低色素性貧血が起り得るという（墨汁、コラルゴール注射をされた家兎に於ける網赤血球の成熟について¹³⁾）。著者は実験材料として海猿を選んだ¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。然し海猿の RC の成熟については現在まで何等の実験もなされていないので、本編に於て海猿の RC の試験管内成熟とそれに関連する現象の二、三について述べる。

実験材料並に方法

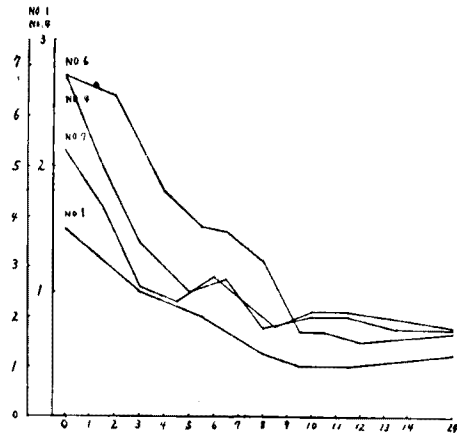
500 g 内外の健康雄海猿を野菜及びクローバーで飼養する。採血は心臓穿刺により約 2 cc を得、3.8% クエン酸ナトリウムを $1/4$ 容加え、二重試験管（外管直径 1.5 cm、高さ 11 cm、内管直径 1.1 cm、高さ 7.5 cm）の内管に 0.15 cc 宛分注、外管には 30% H_2O_2 を 1.5 cc 入れ、内管外底部を少ししめらせて少量の MnO_2 を附着し之を外管に挿入し速やかにゴム栓をしめる。外管内部に発生する酸素圧

により栓が飛ばぬように、栓を充分固定する。装置した二重試験管群を 37°C に孵卵器内に並置し、1 時間毎に 1 本宛試験管を開き、超生体染色法によりその赤血球を 5,000 乃至 10,000 個数え RC の含有率を調べる。超生体染色法：ナイール青膜上で次の如く行う。載物ガラスは石鹼、水洗、クロム硫酸、水洗、乾燥を経て常時無水アルコールに貯蔵し用に臨みよく洗濯し乾燥した清潔なガーゼで拭いて使用する。覆いガラスも同様にクロム硫酸、水洗、乾燥後常時無水アルコールにひたして貯蔵し同様に用に臨みガーゼで清拭したものを使用する。色素膜は 1% ナイル青純アルコール溶液を型の如く載物ガラス上に塗り乾燥させて作る。覆いガラス上に一定量（ごく少量）の血液をとり（載物ガラス上にとつてはいけない）之を膜上に伏せる。操作は全て清潔なるピンセット、毛細管ピペットで行う。ガラスの清拭は重要であり光に反射させて一点の埃も止めてはならない。伏せた血液は速かに覆いガラス下に拡がり、而も外部にはみ出してはならない。視野狭窄計を用いた顕微鏡一視野内にはば 60~80 位宛均等に赤血球が分布する如く習熟する。このようにして染色した RC を覆いガラスの端から端まで赤血球を数え之を繰返して 5,000~10,000 に及ぶ。赤血球生食浮遊液：3.8% クエン酸ナトリウムを加えた海猿血液 2 cc を遠心沈澱し血清をすてる。沈澱せる赤血球に生食を加え再び遠心沈澱する。数回繰返し最後に生食を加えて 2 cc とする。臓器抽出液：海猿の肝、脾を滅菌せる乳鉢に無菌的に取り、同様に滅菌せる鉢で充分細切した後、ホモゲナイザーを用いてすりつぶす。すりつぶした臓器 1 cc に生食 9 cc を加え室温で 30 分間放置する（その間、時々攪拌する）。この抽出液を軽く遠心沈澱した上清を臓器抽出液とする。網赤血球成熟時間に及ぼす

臓器抽出液の影響の測定法：海猿血液（3.8%クエン酸加）2ccに0.5ccの抽出液を加える。以後の網赤血球成熟時間の測定は前述の通りである。

実験結果並に考按

1. 健康海猿網赤血球の試験管内成熟について
健康海猿の心臓穿刺により得られた血液は、酸素加圧下に試験管内での形態学的変化は極めて僅かであり、溶血は殆んど起さず、赤血球は24時間後までは十分に観察可能である。測定した値は第1図、第1表に示した如くRCはほぼ算術級数的に時間を追って減少し8時間乃至10時間（平均9時間）で一定の値に達し以後は殆んど変化せず、凡ね誤差の範囲内の動揺に止まる。即ち約9時間解卵器内に置く



第1図 健康海猿網赤血球の試験管内成熟

第1表 健康海猿網赤血球の試験管内成熟

実験番号	海猿番号	赤血球数	血色素量 (ザリー)	全網赤血球数 (T)	老網赤血球数 (D)	成熟時間 (t)
No. 1	1105	534万	104%	1.5‰	0.4‰	9.5 h
No. 2	1112	575万	100%	17.0‰	7.0‰	9.5 h
No. 3	1119	632万	105%	4.5‰	1.6‰	9.0 h
No. 4	1123	557万	106%	2.7‰	0.7‰	8.0 h
No. 5	1125	567万	105%	9.0‰	2.3‰	9.5 h
No. 6	1129	521万	101%	6.8‰	1.7‰	9.5 h
No. 7	1209	595万	109%	5.3‰	1.8‰	8.5 h
No. 8	1223			19.0‰	10.1‰	8.5 h
No. 9	203	471万	97%	4.6‰	1.9‰	10.0 h
No. 10	206	485万	100%	24.1‰	15.0‰	8.5 h
No. 11	214	531万	101%	1.1‰	0.2‰	8.5 h
No. 12	217	528万	99%	4.5‰	2.1‰	10.0 h
No. 13	220	535万	99‰	6.9‰	3.4‰	9.0 h
合計				107.0	48.2	118.0
平均値				8.2‰	3.7‰	9.0 h

事により網赤血球数は最初の数の1/2乃至1/5に減少し、平均は約1/2.2弱である。従つて海猿の場合も網赤血球成熟時間は家兎の場合とほぼ同様に9時間位である。妹尾その他によるとその動物の赤血球寿命は次の式で計算される。

$$L = \frac{a}{a \cdot (r \cdot b / 100)} \cdot t / 24$$

或は $L = 1000t / 24 \cdot b \cdot r$ (単位、日)

L : 赤血球寿命

a : 1珩中の赤血球数

b : 赤血球1000に対する網赤血球数

r : 全網赤血球数に対する幼若網赤血球数の割合

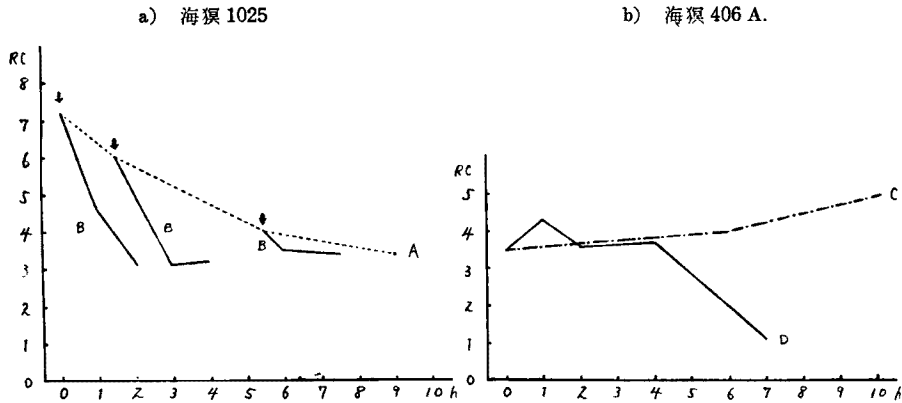
t : 幼若網赤血球の成熟時間 (単位、時間)
海猿に於て a=545万 (ザリーは101%) b=8.2, t=9, r=4.5/8.2 (海猿30匹の平均値はa=545万, Hb=101%, b=8.1であつたが、この成熟時間を測定せる13匹の平均値は b=8.2であつりほぼ等しいので8.2を採つた。以後本論文に於ける血液諸値の変動を示すグラフに於ては便宜上 a=550万, Hb=100%, RC=8‰を基線にしてある)である。従つて海猿赤血球の寿命は約83日となる。

2. 健康海猿網赤血球成熟物質について

妹尾¹⁷⁾, Plum¹⁸⁾はRCの成熟のためには血漿中に含まれている成熟物質が必要である事を示した。即ち Plum は臓器の Brei を用いて成熟物質を検

討し之は血清中には相当量あり、之等は赤血球中にも少し含まれ、又胃粘膜で不活性の状態にあり、之が RES に於て蓄えられ活性化される事を示した。之とは全く別に妹尾は各種臓器の生食抽出液を使用し、その成熟物質は RES に含まれる事を墨汁による RES 栓塞家兎における実験から明確に示し得た。即ち墨汁によりその活性を破壊された RES

には、もはやその能力が消失又は低下している事を示したが、著者もこの方法に準じ海猿臓器抽出液と海猿血液を用いその事を確認した。即ち肝、脾抽出液を上記血液に加えると RC は 1 時間半乃至 2 時間半で成熟する。之に反して生理的食塩水で洗滌した赤血球生食浮遊液は殆んど成熟しない。第 2 図 a, b 参照。



第 2 図 健康海猿網赤血球成熟に及ぼす健康海猿脾抽出液の影響

- A 曲線 …… 全血液を酸素加圧下に網赤血球数を数えたもの (通常の試験管内成熟過程)
- B 曲線 —— 矢印の時に全血液に脾抽出液を加え網赤血球を急速に成熟しめた
- C 曲線 - - - - 赤血球生食浮遊液を酸素加圧下に網赤血球数を数えたもの
- D 曲線 —— 赤血球生食浮遊液に脾抽出液を加え酸素加圧下に網赤血球数を数えたもの

この事は第四編に於て結核海猿の脾抽出液がその能力を低下している事と關聯して重要である。

結 論

著者は海猿に於ける結核性貧血の機構究明の一手段として妹尾等による家兎網赤血球試験管内成熟過程を利用する事を考え、まず海猿に於て妹尾等の家兎に於ける実験を追求し、次の如き結論に達した。

1. 海猿の血液も試験管内で家兎同様に成熟する。
2. 完全成熟には平均 9 時間を要し、平均 4.5/8.2 がこの方法で成熟する。
3. 之等の値から妹尾の方法により計算すると海猿の赤血球寿命は約 83 日となる。
4. 海猿脾の生理的食塩水抽出液は海猿の網赤血球の *in vitro* に於ける成熟を促進させる能力を有する。

文 献

- 1) 山崎正保：結核患者に於ける貧血の再吟味、結核、24卷9,10号、392頁 (昭24年2月)
- 2) 田村政司他 2：開腹せる腹部結核患者の血液像、最新医学、7卷12号94頁 (昭27年12月)
- 3) 成田充徳：肺結核患者の血液像に関する研究、成医会雑誌、65卷1号36頁 (昭25年5月)
- 4) 大坪淳二：肺結核に於ける貧血に関する研究、長崎医学会雑誌、30卷7号1001頁 (昭30年7月)
- 5) 日比野進他 1 血液学的諸検査について、特に肺結核症について、日本臨床結核、15卷4号255頁 (昭31年4月)
- 6) F. Kneller：Blood picture in tuberculosis. A brief survey and clinical review from 1886 to the present. Tubercle, 35—2, 31~38 (2, 1954)
- 7) H. Trautwein：Blutbild, Knochenmarksbild

- u. Bluteiweißbild. bei Tuberkulose. Beiter. Klin. Tub. 114-5, * 441-456 (10, 1955)
- 8) 平岡義敬他2 : 肺結核症の偽性貧血について. 臨床医学, 37巻7号595頁 (昭27年11月)
- 9) Heilmeyer, L. & Plötner, K. : Das innerEisen u. die Eisen mangel krankheiten. Fischer, Jena. 1937.
- 10) Bernhardt Herhaus : Über die Perorale Kobalt-Eisen behandlung der Infektanämien bei Lungentuberkulose. Tbk-Arzt. 6-2, 80-86 (1952)
- 11) 妹尾左知丸・貧血と鉄代謝. 最新医学, 10, 207 (1955)
- 12) Seno, S. et al. : Maturation of reticulocytes and related phenomena. I, II, III, IV, Mie Med. Journal vol. IV, Suppl. 1, 9-43 (1953)
- 13) Seno, S. et al. : Maturation of reticulocytes and related phenomena. III Maturation of reticulocytes in vitro : Observation anemic rabbits. Mie. Med. J. vol IV, Suppl. 1, 19-34 (1953)
- 14) 菅原備雄 : モルモットに於ける実験的結核症. 第1報, 2報. 抗酸菌病研究雑誌, 7巻, 2号97頁, 4号216頁 (昭26年)
- 15) 古本泰男 海猿の結核に対する感受性並びに感性予知法に関する研究. 神戸医科大学紀要, 8-3, 132-158 (昭31年12月)
- 16) Charles, H. Lack : Chronic tuberculous infection in experimental animals. Am Rev. Tuberc. 73-3, 378-389 (3, 1956)
- 17) Seno, S. et al. : Maturation of reticulocytes and related phenomena IV Maturing substance of reticulocytes Mie Medical J. vol IV, Suppl. 1, 35-43 (1953)
- 18) Plun, C. M. : Some investigations on the content of reticulocyte ripening substance in various organs. Acta. Med. Scandinav. 117, 437, 1944.

Experimental Studies on Tuberculous Anemia

Part 1. The Maturation of Reticulocytes in Normal Guinea Pigs and the Maturing Substances

By

Uruo NISHIKAZE

Department of Pathology Okayama University Medical School
(Director: Prof. Satimaru Seno)

For the purpose to reveal the mechanism of tuberculous anemia in guinea pig, the author decided to apply the method devised by Seno et al. for the observation of ripening process of rabbit reticulocyte *in vitro*. As the ripening process of the guinea-pig reticulocyte has not yet been clarified, the author tried first to reveal the ripening process of guinea-pig reticulocyte by means of this method for the basal experiment in the future observations and arrived at the following conclusion

1. Guinea-pig reticulocyte in the circulating blood has been proved to mature in test tube just as well as those of rabbit.
2. On the average, it requires 9 hours for the complete maturation and about 55% of the whole reticulocytes matures by this method.
3. By introducing these value into the formula proposed by Seno it has been calculated that the life span of erythrocyte of guinea pig is about 83 days.