

各種可欠アミノ酸の骨髓造血機能に及ぼす影響

第 3 編

ヒドロキシプロリンの赤血球系造血に及ぼす影響 並に再生不良性貧血への応用

岡山大学医学部平木内科教室 (主任・平木 潔 教授)

専攻生 李 敏 然

[昭和34年6月22日受稿]

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料並に実験方法

A) ヒドロキシプロリンの赤血球造血に及ぼす影響

- 1) 実験材料
- 2) 実験方法

B) ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血への応用

- 1) 実験患者

2) 実験方法

第3章 実験成績

A) ヒドロキシプロリンの赤血球造血に及ぼす影響

B) ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血への応用

第4章 総括並に考按

第5章 結 語

第1章 緒 言

私は第1編に於て各種可欠アミノ酸の白血球系造血に及ぼす影響を家兎骨髓体外組織培養法を用いて種々検討した結果ヒドロキシプロリンに驚嘆すべき強力な造血促進作用を認めた。そこで本編では本アミノ酸の赤血球系造血に及ぼす影響をみると企てた。既に教室岩崎²⁰⁾は必須アミノ酸の赤血球系造血に及ぼす影響について骨髓組織液体培養法を用いて検討している。その成績ではフェニールアラニン、トリプトファン、ヒスチチンに血色素生成促進作用を認めているが、可欠アミノ酸であるヒドロキシプロリンについては触れていない。そこで私は同じく家兎骨髓液体培養に対し本アミノ酸の添加実験を行った。

次いで本アミノ酸の骨髓造血機能刺激作用に注目して、本邦に多い再生不良性貧血の治療にこれを応用せんと試みた。即ち再生不良性貧血は未だその成因不明で、各種の治療法が行われているが仲々根治し得ない疾病であり、有力な治療法の出現が期待されている。その本症にヒドロキシプロリンが如何に作用するかは甚だ興味があり、私は先ず患者の骨髓組織培養に直接添加してその影響を観察して後、これを患者に非経口

的に大量投与した結果若干の興味ある知見を得たので茲に報告し、諸賢の御批判を仰ぐものである。

第2章 実験材料並に実験方法

A) ヒドロキシプロリンの赤血球造血に及ぼす影響

培養方法は教室久米田・岩崎の考案せる骨髓液体培養法を用い、ヒドロキシプロリンをリンゲル氏溶液に溶解してこれを添加した。

1) 実験材料

体重1.5kg内外の幼若家兎の大腿骨、脛骨、及び上腕骨骨髓を無菌的に取り出して用いた。

2) 実験方法

実験操作：無菌的に取り出した家兎骨髓を Gey 氏第一液に投入してホモゲナイザーにかけ、低速にて30秒乃至1分間に互つてホモグナイズして骨髓細胞の均等な浮游液を作り、これを遠心沈澱10分間(3000回転)行う。遠沈を終ると骨髓の脂肪分は表面に浮び上り骨髓細胞が底に沈澱する。その上澄を棄て、再び Gey 氏第一液にて洗滌した後遠沈を行う。而して沈澱した骨髓細胞を葡萄糖を含ませタイロッド氏液の中に入れて均等に混和して細胞浮游液を作り、これをワールブルグ検圧計用の特殊ボトルに1.8cc宛分注する。この

ポットルに1, 0.1, 0.01%のヒドロキシプロリンを含むリンゲル氏溶液を各々0.2cc添加し, 対照にはリンゲル氏溶液のみを0.2cc添加する。

観察方法: 培養開始前及び3, 6, 9時間後に夫々赤血球数, 網状赤血球数, 血色素量の測定を行った。

i) 赤血球の計算: 赤血球計算用メランチュールに細胞浮游液を吸い, ハイエム氏液に混じてビュルケル・チュルク氏計算盤にて計算した。

ii) 網状赤血球の計算: 1%プリリアントクレジール青で超生体染色を施し赤血球2000ヶを数えて%にて現わした。

iii) 血色素量の測定: $\frac{1}{5}$ モル第1 磷酸カリ溶液22 ccと $\frac{1}{5}$ モル第2 磷酸ソーダ3 ccを混和しこれを4倍に稀釈したものを6 ccに血球浮游液20cmmを十分に混和溶血せしめた後, 不溶解部を遠沈除去し, 次で20%フェリシアンカリ溶液1滴を加え, 10分後に5%シアニカリ1滴, 更に2分後にアンモニア1滴を夫々加えて10分以内に, 分光光度計で測定した。

B) ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血への応用

平木内科に入院し診断の確定した再生不良性貧血患者5例について治療前に胸骨骨髓組織培養を行い, ヒドロキシプロリンを直接添加し, 更に内3例の患者に1日150mg~300mgのヒドロキシプロリンを静注し1週間毎に血液像を追求した。

1) 実験患者: 5例の患者の血液像並に骨髓像は第4表及び第5表に示す如くで, 内1例は入院時と治療実施後の2回添加実験を試みた。

2) 実験方法

実験操作は第1編に述べたと全く同様であるが, ただ培養原組織に患者胸骨骨髓穿刺液中の骨髓組織片を取り出して用いた。

観察方法: 培養開始後3, 6, 12, 24時間目に夫々組織増生面積, 密度指数, 成熟好中球遊走速度を測定し, 添加群と対照群を比較した。

第3章 実験成績

A) ヒドロキシプロリンの赤血球造血に及ぼす影響

No. 1: ヒドロキシプロリン1%溶液を添加するに赤血球数は培養開始前の157,000より培養3時間後に183,000とやや増加の傾向を示し, 引続き6時間後も184,000と同じ値を示したが, 9時間後には161,000と著しく減少し培養前の値に近づいた。即ち赤血球増加率は最高17.2%を示した。網状赤血球は培養前の33%より3, 6, 9時間後に夫々38%, 41%, 38%と変化し, 最大増加率24.2%を示した。血色素量は培養前の

395mg/dlより3時間後447mg/dlと52mg/dlの増加を示し, 6時間後も同じ447mg/dlを示した。9時間後には逆に減少し290mg/dlと培養前より105mg/dlの減少を示した。

次いで0.1%溶液添加では, 赤血球数は培養前の152,000より3時間後183,000, 6時間後184,000と漸増し, 9時間後には162,000と減少を示した。網状赤血球は培養前の35%より3時間後44%, 6時間後48%, 9時間後38%であつた。血色素量は培養前395mg/dlより, 3時間後は同じ値を, 6時間後は447mg/dlと52mg/dlの増加を示し, 9時間後は342mg/dlと逆に53mg/dlの減少を示した。

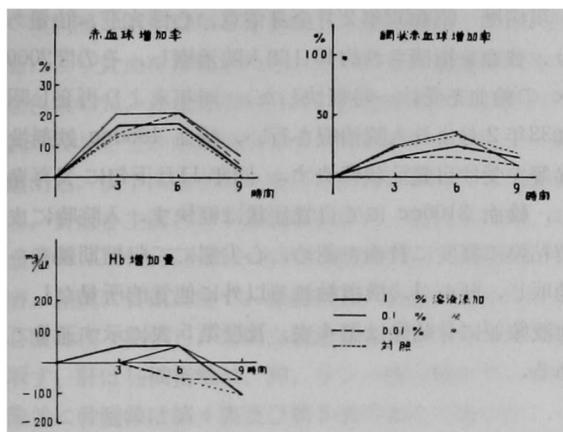
0.01%溶液添加では, 赤血球数は培養前の152,000より3時間後174,000, 6時間後183,000, 9時間後158,000と始め漸増し後減少した。網状赤血球は培養前33%, 3時間後38%, 6時間後39%, 9時間後36%であつた。血色素量は培養前500mg/dl, 3時間後も500mg/dl, 6時間後には447mg/dlと培養前より53mg/dl減少し, 9時間後も同じ値を示した。

対照にリンゲル氏液を加えたものでは, 赤血球数は培養前158,000, 3時間後179,000, 6時間後183,000と増加し, 9時間後161,000と減少を示した。網状赤血球は培養前より3時間毎に夫々32%, 40%, 43%,

第1表 ヒドロキシプロリン添加家兎骨髓液体培養 (No. 1)

	時間	赤血球数 $\times 10^8$	赤血球増加率 %	網状赤血球 %	網状赤血球増加率 %	Hb量 mg/dl	Hb増加量 mg/dl
1%溶液	0	157	0	33	0	395	0
	3	183	16.6	38	15.2	447	52
	6	184	17.2	41	24.2	447	52
	9	161	2.5	38	15.2	290	-105
0.1%溶液	0	152	0	35	0	395	0
	3	183	20.4	44	25.7	395	0
	6	184	21.0	48	37.2	447	52
	9	162	6.6	38	8.6	342	-53
0.01%溶液	0	152	0	33	0	500	0
	3	174	14.5	38	15.2	500	0
	6	183	20.4	39	18.2	447	-53
	9	158	3.9	36	9.1	447	-53
対照	0	158	0	32	0	500	0
	3	179	13.3	40	25.0	500	0
	6	183	15.8	43	34.4	447	-53
	9	161	1.9	38	18.8	395	-105

第1図 ヒドロキシプロリン添加家兎骨髓液体培養 (No. 1)



38%と変化し、色素量では培養前 500mg/dl より 3時間後同値を、6時間後は 447mg/dl と 53mg/dl 減少し、9時間後は更に 395mg/dl と 105mg/dl の減少を認めた。

以上添加例と対照とでは赤血球数は添加例でやや増加の傾向を、網状赤血球はむしろ減少傾向を示したが、色素量は対照では培養後はすべて培養前より低下するに反して添加例では高濃度程増加の傾向を示した。

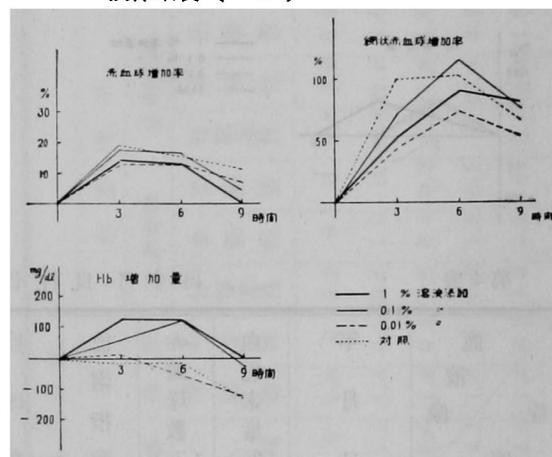
No. 2 : 添加例と対照とでは赤血球増加率ではNo. 1

第2表 ヒドロキシプロリン添加家兎骨髓液体培養 (No. 2)

	時間	赤血球数 × 10 ⁸	赤血球増加率 %	網状赤血球 %	網状赤血球増加率 %	Hb量 mg/dl	Hb増加量 mg/dl
1%溶液	0	172	0	42	0	740	0
	3	196	14.0	64	52.4	865	125
	6	194	12.8	80	90.5	865	125
	9	172	0	76	81.0	740	0
0.1%溶液	0	175	0	38	0	740	0
	3	206	17.7	65	71.0	801	61
	6	203	16.0	82	115.8	865	125
	9	183	4.6	67	76.3	727	-23
0.01%溶液	0	207	0	34	0	740	0
	3	234	13.0	49	44.2	752	12
	6	234	13.0	61	74.4	678	-62
	9	221	6.8	52	52.9	615	-125
対照	0	198	0	36	0	752	0
	3	236	19.2	72	100.0	740	-12
	6	228	15.2	73	105.7	740	-12
	9	220	11.1	60	66.7	615	-137

に反して対照の方が大であり、網状赤血球数増加率でも対照の方が大なる値を示したが、色素増加量ではNo. 1 と略々同様の傾向を認め、添加例では増加量が 125mg/dl に達した。

第2図 ヒドロキシプロリン添加家兎骨髓液体培養 (No. 2)

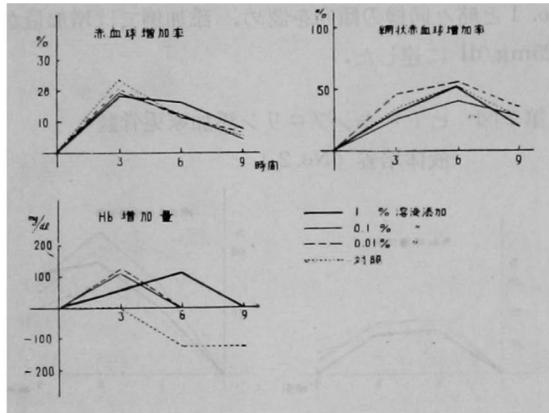


No. 3 : 赤血球、網状赤血球数の変化では添加例と対照の間に有意の差を認めなかつたが、色素増加量ではNo. 1, No. 2 と同様に添加例では夫々増加の傾向を認め、増加量が 125mg/dl に達したが、対照は減少の傾向を示した。

第3表 ヒドロキシプロリン添加家兎骨髓液体培養 (No. 3)

	時間	赤血球数 × 10 ⁸	赤血球増加率 %	網状赤血球 %	網状赤血球増加率 %	Hb量 mg/dl	Hb増加量 mg/dl
1%溶液	0	255	0	43	0	865	0
	3	302	18.4	56	30.2	922	57
	6	296	16.1	65	51.2	980	115
	9	275	7.8	51	18.6	865	0
0.1%溶液	0	263	0	52	0	865	0
	3	314	19.4	66	26.9	980	115
	6	296	12.5	73	40.4	865	0
	9	275	4.6	66	26.9	865	0
0.01%溶液	0	246	0	41	0	740	0
	3	297	20.7	60	46.4	865	125
	6	274	11.4	64	56.2	740	0
	9	262	6.5	55	34.2	740	0
対照	0	228	0	42	0	740	0
	3	282	23.7	52	33.4	740	0
	6	254	11.4	64	52.4	615	-125
	9	240	5.3	53	26.2	615	-125

第3図 ヒドロキシプロリン添加家兎骨髓液体培養 (No. 3)



第4表 再生不良性貧血患者末梢血液像

症例	血液像	年 月 日	血色素量 (%)	赤血球数 (万)	色素指数	粒球数	白血球数	白血球百分率						網状赤血球 (%)
								B	St	Seg	Ly	Eo	Mo	
宮崎 ♂ 56		34. 2. 5	78	394	0.99	98,500	4,350	2	10	54	13	7	14	5
森山 ♀ 60		{33. 5.13	40	155	1.27	15,500	4,600	1	5	45	46	0	3	8
		{34. 5. 4	63	191	1.66	32,400	2,400	1	8	28	56	2	5	12
妹尾 ♀ 21		33.11.18	13	49	1.32	8,200	3,000	0	2	57	38	0	2	12
阿部 ♂ 11		{33. 9.15	23	88	1.3	17,600	4,150	0	1	13	86	0	0	20
		{34. 2.17	66	336	0.99	16,800	2,950	0	4	5	86	1	4	5
湯山 ♂ 37		33. 9. 8	33	142	1.16	18,400	3,200	1	2	23	66	4	4	7

治療前に骨髓組織培養を行い、ヒドロキシプロリン 0.1, 0.01, 0.001%溶液を夫々直接添加するに、(第6表, 第4図) 比較成長価では培養後24時間目に於て対照 37.27 に対し、0.001, 0.01, 0.1%添加では夫々 34.69, 59.41, 61.50 と高濃度になる程大なる値を示した。一方密度指数は培養12時間後に於て矢張り高濃度添加例程対照に比し高値を示した。骨髓内成熟好中球の遊走速度は添加例と対照の間に有意の差を認めなかつた。

治療としてヒドロキシプロリン 150mg を毎日静注するに第7表, 第5図に示す如く、血色素量, 赤血球数, 白血球数, 粒球数いづれも投与前より増加し、計33日間投与後血液像は略正常に回復した。

治療後の骨髓組織培養に対するヒドロキシプロリン添加実績では第8表, 第6図に示す如く対照と添加例との間に全く差を認めなかつた。

第2例 森山 ♀ 60才

現病歴 約1年前より心悸亢進, 眩暈を来し、潜血陽性で、皮下出血斑を認めることがあつた。約40日前

B) ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血への応用

第1例 宮崎 ♂ 56才

現病歴 昭和32年2月全身倦怠, 心悸亢進, 眩暈あり、貧血を指摘され約40日間入院治療し、その間2000cc の輸血を受け一時軽快した。同年末より再発し昭和33年2月より入院治療を行い、輸血 1850cc 鉄剤投与等を受け自覚症状軽快す。同年11月下旬に又再発し、輸血 3100cc にて自覚症状は軽快す。入院時に皮膚粘膜に軽度に貧血を認め、心尖部に於て収縮期雑音を聴取し、肝を 1.5横指触れる以外に他覚的所見なし。血液像並に骨髓像は第4表, 及び第5表に示す通りである。

に医師を訪れ高度の貧血と赤沈値の促進を指摘され、当科に入院す。入院時、皮膚粘膜は貧血高度で、心臓は全弁口に於て収縮期雑音を聴取す。血液像並に骨髓像は第4表及び第5表の如くであつた。入院後反覆輸血(計4400cc)と同時に V. B₁₂50γ, プレドニゾン 10mg 毎日抗与を行い、血液像が若干回復したので7月24日退院した。以後外来にて輸血を引続き行つていたが、昭和34年5月4日の血液像では第4表の如くで再び疾状の悪化を示した。

そこで骨髓組織培養を行い、これにヒドロキシプロリンを添加するに、比較成長価は第9表, 第7図に示す如くで、培養24時間後に対照の69.00に対して0.1, 0.01, 0.001%添加では夫々88.01, 97.80, 72.58と著明な増大を示した。一方密度指数並に好中球遊走速度には添加例と対照の間に有意の差を認めなかつた。治療として輸血に替えてヒドロキシプロリン 150mg~300mg を毎日静注した結果は第10表, 第8図に示す如く、合計 5.4g 投与により白血球数は漸次増加したが、赤血球数に変化なく、血色素量はむしろ漸減の傾

向を示した。

第3例 妹尾 ♀ 21才

現病歴 昭和32年8月初旬より顔面蒼白となり、医師により貧血を指摘された。同年10月に血液像検査で血色素42%，赤血球 226×10^4 ，白血球4,850と云われ鉄剤投与を受けたが軽快せず。昭和33年8月頃より歯齦出血，皮下出血を時々来していた。10月21日月経過多，貧血を主訴として某病院を訪れ，血色素12%，赤血球 66×10^4 と云われ，当科に紹介さる。入院時，皮膚，粘膜に貧血高度で，脈膊頻数，歯齦出血を認め，心臓は稍々拡張し，著明な収縮期雑音を全弁口にて聴取す。肝は $\frac{1}{2}$ 横指触れ，脾，リンパ腺は触れず，血液像並に骨髓像は第4表及び第5表の如くであつた。

治療並に経過 入院後直ちに毎日200ccの輸血を行い，貧血並に出血傾向は著明に軽快した。昭和34年1月23日血液像は略々正常に復し退院した。

本患者骨髓組織培養にヒドロキシシロリンを添加した結果は第11表，第9図に示す如くで，比較成長価は培養後6時間で既に添加例は対照に比し著明な増大を示し，24時間後には対照の6.38に対し0.1，0.01，0.001%添加で夫々26.94，26.67，23.37と約4倍に増大した。一方密度指数，好中球遊走速度も比較成長価と同様添加例で大なる値を示した。

第4例 阿部 ♂ 11才

現病歴 約3年前流感に罹患し仲々治癒しないので本学小児科を訪れ，貧血を指摘されて輸血を受けたことがある。退院後コバルト剤の内服を行つていたが，最近になつて顔面蒼白心悸亢進，耳鳴等が強くなり当科に入院す。入院時，皮膚，粘膜は貧血高度で，心尖部に収縮期雑音を聴取す。肝，脾，リンパ腺を触れず，下腿に2~3の点状出血を認めた。血液像並に骨髓像は第4表及び第5表に示す。

治療並に経過 輸血毎日100cc，V. B₁₂ 50 γ ，プレドニゾン 10mgの投与を続け血液像は好転したが，輸血を中止すると貧血が再び起り，病勢は一進一退であつた。

昭和34年2月17日に骨髓組織培養を行い，ヒドロキシシロリンを添加したが，その結果は第12表，第10図に示す如くで，比較成長価密度指数，好中球遊走速度共に添加例と対照との間に有意の差なく，培養所見は極度の骨髓機能低下を示した。

本患者にヒドロキシシロリン1日300mgを毎日静注したところ白血球数は稍々増加を示したが血色素量，赤血球数は減少の一途を辿つて全く無効であつた。

(第13表，第11図)

再生不良性貧血症患者の骨髓像

第5表

症 例	年 月 日	有 核 細 胞 数	骨 髓 有 核 細 胞 百 分 率																					
			白 血 球 系						赤 血 球 系						巨 核 球		細 網 細 胞							
			好 中 球	好 酸 球	リ ン 巴 球	単 球	形 質 細 胞	原 赤 芽 球	大 赤 芽 球	正 赤 芽 球	核 分 割 像	巨 核 球	細 網 細 胞	核 分 裂	他									
宮崎 ♂ 56	34. 2. 10	104,000	1.6	13.2	5.4	16.0	13.8	11.2	0.8	1.4	0.4	0.4	7.0	0.4	0.4	0.6	0	0.4	0	0.6	0	0.4		
森山 ♀ 60	33. 5. 13	220,000	0.2	5.6	5.8	5.8	13.4	5.4	0.6	1.6	0.6	0.4	1.0	0.4	1.0	0.2	10.6	1.0	4.4	21.8	2.0	1.0	0.2	0.6
妹尾 ♀ 21	33. 11. 21	271,000	1.0	10.0	6.0	7.2	14.0	5.4	0.2	0.2	1.4	0.2	0.8	0.4	0.4	3.6	4.4	4.2	17.8	1.0	1.0	0.2	0.2	0.6
阿部 ♀ 11	33. 9. 15	61,000	0.4	4.4	4.8	10.4	11.6	7.8	0	0.2	0	0	0.4	0.4	0.8	1.8	0.2	0	25.4	4.6	0	0.4	0	0
湯山 ♂ 37	33. 9. 8	6,600	0.4	6.0	6.4	9.4	8.8	6.8	0	0	0	0	0.4	0.4	0.2	1.8	0.8	0	3.8	15.4	1.8	0	0	0.8

第6表 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者骨髓培養への添加（宮崎例，入院時）

a) 比較成長価

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12	24
対 照	11.68	16.00	34.59	37.27
0.1	16.25	25.25	55.00	61.50
0.01	15.57	20.82	49.78	59.41
0.001	11.43	15.06	32.18	43.69

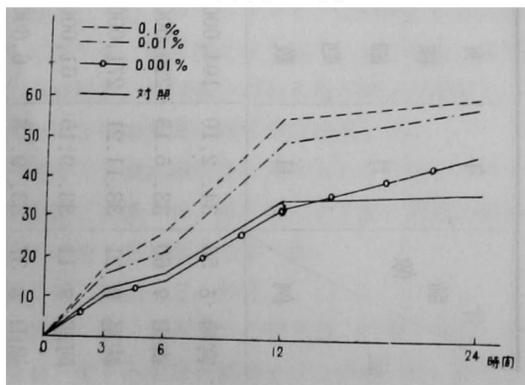
b) 密度指数

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12
対 照	7 2	8 0	5 5
0.1	8 3	6 2	7 6
0.01	7 9	8 2	6 1
0.001	6 4	6 6	8 2

c) 好中球遊走速度 (μ/min.)

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12
対 照	10.73	11.33	4.13
0.1	12.00	9.46	6.13
0.01	7.86	7.20	4.46
0.001	8.53	7.13	4.73

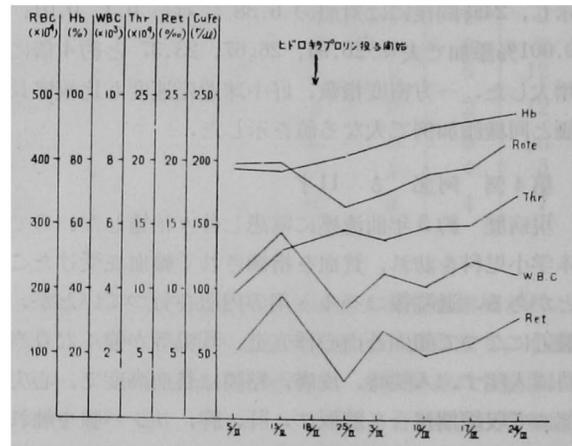
第4図 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者骨髓培養への添加（宮崎例，入院時）比較成長価



第7表 再生不良性貧血患者へのヒドロキシプロリン大量投与 宮崎例，末梢血液像の変動

年月日	血液像	赤血球数 (万)	血色素量 (%)	色素指数	粒球数	白血球数	網赤血球 (%)
34. 2. 5		394	78	0.99	98500	4350	5
2.15		396	77	0.97	138600	5800	9
2.25		327	82		147000	3400	3
3. 3		349	86	1.23	139600	4600	7
3.10		379	90	1.2	151600	4200	5
3.17		390	93	1.2	150000	4900	6
3.24		426	93	1.1	174600	4500	8

第5図 再生不良性貧血患者へのヒドロキシプロリン大量投与 宮崎例，末梢血液像の変動



第8表 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者
骨髓培養への添加（宮崎例，治療後）

a) 比較成長価

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12
対 照	11.33	30.06	48.20
0.1	11.12	18.84	35.91
0.01	8.84	23.00	44.86
0.001	8.52	20.11	46.82

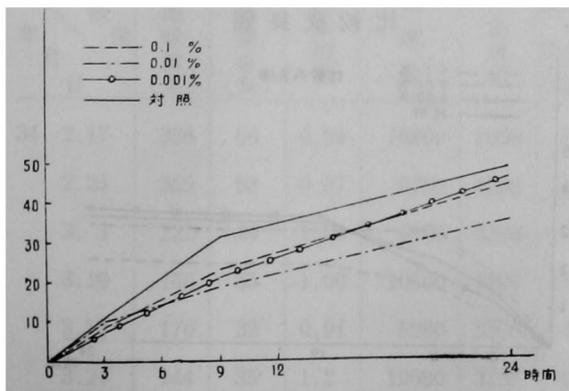
b) 密度指数

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12
対 照	32	38	36
0.1	24	27	30
0.01	34	32	34
0.001	52	51	56

c) 好中球遊走速度 ($\mu/\text{min.}$)

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12
対 照	6.53	9.06	2.13
0.1	8.06	6.06	4.53
0.01	7.20	3.33	2.13
0.001	9.60	4.80	0.80

第6図 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者
骨髓培養への添加（宮崎例，治療後）
比較成長価



第9表 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者骨
髓培養への添加（森山例）

a) 比較成長価

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12	24
対 照	3.90	9.55	21.69	69.00
0.1	6.50	16.20	31.00	88.01
0.01	8.12	20.60	37.00	97.80
0.001	5.57	11.39	25.30	72.58

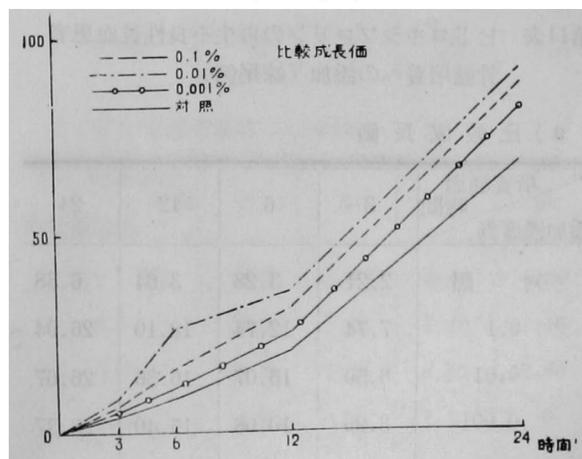
b) 密度指数

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12	24
対 照	76	60	90	98
0.1	71	63	96	89
0.01	136	96	115	96
0.001	72	122	100	86

c) 好中球遊走速度 (μ/min)

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12	24
対 照	8.20	8.66	8.60	7.46
0.1	5.25	9.46	9.33	4.00
0.01	8.53	5.46	6.13	4.80
0.001	6.93	8.00	7.87	4.33

第7図 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者
骨髓培養への添加（森山例）
比較成長価

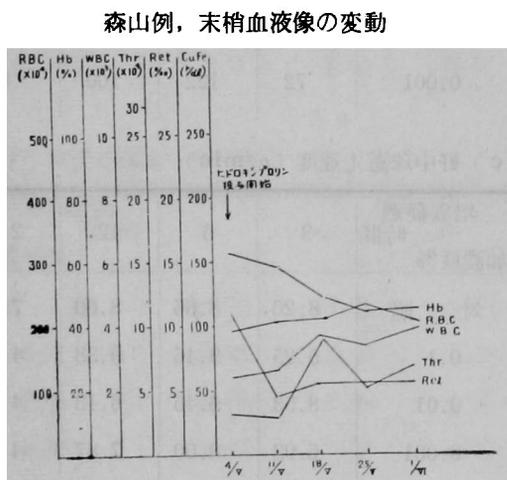


第10表 再生不良性貧血患者へのヒドロキシプロリン大量投与

森山例, 末梢血液像の変動

年月日	血液像	赤血球数(万)	血色素量(%)	色素指数	栓球数	白血球数	網赤血球状球(%)
34. 5. 4		191	63	1.66	32400	2400	12
5.11		205	58	1.41	30800	2600	4
5.18		212	49	1.15	84200	3700	6
5.25		242	45	1.05	58000	3400	6
6. 1		204	46	1.21	72000	4000	6

第8図 再生不良性貧血患者へのヒドロキシプロリン大量投与



第11表 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者骨髓培養への添加(妹尾例)

a) 比較成長価

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12	24
対 照	2.21	3.28	3.64	6.38
0.1	7.74	12.74	18.10	26.94
0.01	6.50	15.07	16.35	26.67
0.001	3.90	10.06	15.40	23.37

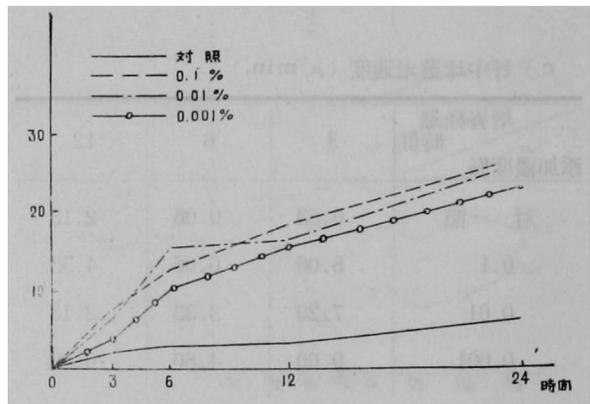
b) 密度指数

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12	24
対 照	6	10	12	10
0.1	54	53	50	52
0.01	21	57	52	55

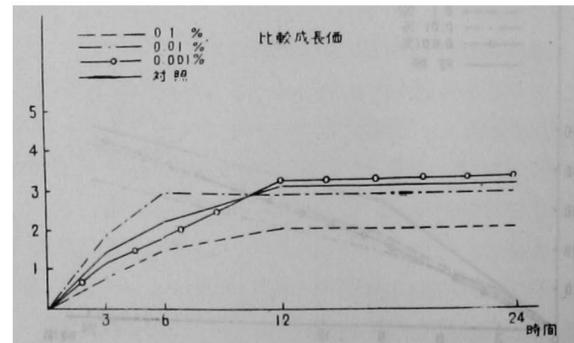
c) 好中球遊走速度(μ/min.)

培養経過時間 添加濃度%	3	6	12	24
対 照	6.4	3.6	1.6	0
0.1	14.4	12.4	8.0	5.0
0.01	6.0	5.6	7.8	4.2

第9図 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者骨髓培養への添加(妹尾例) 比較成長価



第10図 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者骨髓培養への添加(阿部例) 比較成長価



第12表 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者
骨髄培養への添加(阿部例)

a) 比較成長価

培養経過 時間	3	6	12
対 照	1.43	2.26	3.14
0.1	0.81	1.52	2.00
0.01	1.90	3.00	3.45
0.001	1.33	1.75	3.25

b) 密度指数

培養経過 時間	3	6	12	24
対 照	24	67	60	62
0.1	8	11	10	12
0.01	28	42	40	43
0.001	17	24	25	24

c) 好中球遊走速度 (μ/min.)

培養経過 時間	3	6	12
対 照	8.8	4.4	1.6
0.1	9.8	0.8	0
0.01	11.6	3.6	0
0.001	1.6	0	0

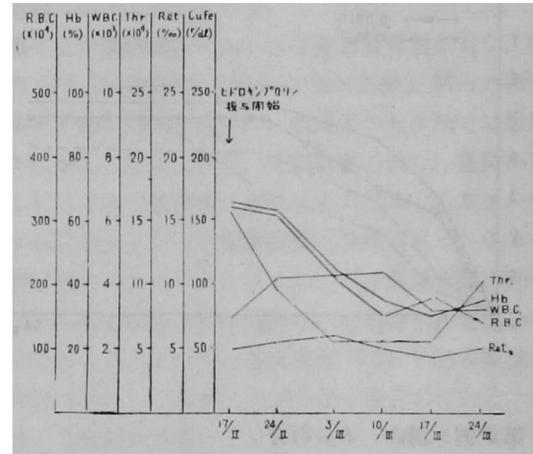
第13表 再生不良性貧血患者へのヒドロキシプロリン
大量投与

阿部例, 末梢血液像の変動

年 月 日	血液 像	赤 血 球 数 (万)	血 色 素 量 (%)	色 素 指 数	粒 球 数	白 血 球 数	網 赤 血 球 状 球 (%)
34. 2.17		336	66	0.99	16800	2950	5
2.24		325	63	0.97	9750	4250	6
3. 3		222	44	1.00	6600	4300	7
3.10		150	35	1.00	10500	4400	5
3.17		176	32	0.91	5280	3200	4
3.24		144	35	1.2	10080	3200	5

第11図 再生不良性貧血患者へのヒドロキシプロリン
大量投与

阿部例, 末梢血液像の変動



第14表 ヒドロキシプロリンの再生不良性貧血患者
骨髄培養への添加(湯山例)

a) 比較成長価

培養経過 時間	3	6	12	24
対 照	2.92	4.38	5.34	5.34
0.1	0.93	2.73	4.13	4.13
0.01	0.73	2.16	3.16	7.40
0.001	2.57	3.14	5.02	5.02

b) 密度指数

培養経過 時間	3	6	12	24
対 照	40	50	91	90
0.1	13	16	20	22
0.01	21	36	62	80
0.001	37	85	151	105

c) 好中球遊走速度 (μ/min.)

培養経過 時間	3	6	12	24
対 照	2.34	7.80	2.40	0.60
0.1	12.00	7.20	5.40	4.40
0.01	18.20	7.20	6.50	2.60
0.001	14.40	8.20	2.40	0

の変化では対照はすべて低下を示すのに対して添加例では高濃度に於てそれぞれ100mg/dl前後の増加を認めた。

教室 岩崎²⁰⁾は各種必須アミノ酸の家兎骨髓液体培養に及ぼす影響を検討しているが、その成績によると、フェニールアクリン 3.8mg 添加、並にトリプトファン 0.92mg 添加では血色素増加量は 400~500mg/dl を示し、次いでヒスチジン 1.8mg 並にバリン 4.4mg 添加例では 200mg/dl 前後の血色素増加量を示している。ヒドロキシプロリンはこれ等アミノ酸に比してその作用は甚だ劣るもので、赤血球系に対しては白血球系に働く程著明な増血促進作用は認められなかつた。

以上ヒドロキシプロリンの骨髓組織培養に対する添加実験で、白血球系造血には著明な促進作用を示し、赤血球系では若干血色素生成に対し促進的に作用することを知つたので、この骨髓刺激作用を臨床面に応用せんと考え、先ず本邦に頻度の高い再生不良性貧血に用いた。

再生不良性貧血は近年夏に増加の傾向にあり、死亡率も高いところからその治療法の発見確立は血液学会の重大課題となつている。再生不良性貧血に対する治療法として従来唱へられている主なるものを列挙すれば、反復輸血、葉酸、ビタミンB₁₂、コバルト製剤、ACTH、コーチゾンその他副腎皮質ホルモン、パロチン、健康人骨髓注入療法、X線刺激療法、動物生鮮骨髓の嚙食等々である。最近教室では幼若家兎赤血球骨髓の筋膜下埋没療法³¹⁾、骨髓抽出多糖類物質注射、超短波間脳照射³²⁾、剔脾の有効な例³³⁾を報告しているが、更にポリタミン大量点滴静注の有効な一例を経験して、私はそれによりヒントを得てポリタミン中に含まれる可欠アミノ酸の増血作用を検討せるに至つたのである。

本症患者に投与するに先だつて患者骨髓組織培養にヒドロキシプロリンを直接添加してその影響を観察したが、本症患者骨髓組織培養に関しては既に教室宇治⁴⁰⁾が詳細にこれを報告している。それによれば本症患者の骨髓は組織培養上、赤血球系、白血球系共に造血機能低下を示し、被覆培養法に於てその組織増生面積は健康人に比し劣り、病型により教室分類¹²⁾によるI型即ち骨髓内血球抑留型は可成り健康人に近い値を示すが、V型即ち汎骨髓癆型では全く増生が見られないものである。又II型(成熟抑制型)、III型(生成障害型)、IV型(混合型)はいずれも両者の中間である。而して本症では原組織は一般に健康人骨髓に比し

て脂肪細胞が多く、屢々増生帯中に迄押し出されて特有の所見を呈するものであり、骨髓内白血球機能(遊走速度、墨粒貪喰能、生体染色)のいずれの面に於ても著明な低下を認めている。

斯かる骨髓機能低下を示す本症患者骨髓に対し、教室宮下³⁰⁾は骨髓抽出多糖体の添加実験を試みた結果6例中4例に効果が見られ、無効だつた2例では組織増生は殆んど認められず、骨髓機能の著しい荒廃を示しており、汎骨髓癆型に属するものと考えられた。他の4例は多少なりとも骨髓機能が保持されているI~IV型に属するもので、かかるものでは直接骨髓に働らき、その造血機能を再生恢復せしめる作用を有するものであると述べている。事実教室岡野³¹⁾は骨髓抽出多糖体を静注して有効であつた例を報告している。この様に骨髓組織培養により骨髓機能を促進する物質を追求することは臨床上甚だ有意義なもので、私も患者骨髓にヒドロキシプロリンを添加したが、その結果は5例中3例に有効であつた。此の場合無効な2例は組織培養で全く組織増生の認められない汎骨髓癆型のもので、他の3例は骨髓内血球抑留型~生成障害型で増生の可成り見られる例であつた。この点は宮下の成績と可成り類似した結果を示した。結局骨髓機能全く廃絶の域に達した汎骨髓癆型ではヒドロキシプロリンの骨髓機能刺激作用に対して最早や反応し得なかつた為と考えられる。軽度の機能障害ならばその造血機能を再生し、血球成熟、生成を促進せしめるものである。そこで本症患者3例にヒドロキシプロリンの大量投与実験を試みた。

アミノ酸の単独大量投与について従来の文献を考案するに、周知の如く蛋白形成に際しては各種アミノ酸が適当な割合に存在することが必要で1種類のアミノ酸を投与しても蛋白形成には余り利用されないで、他の代謝経路に入り、又は尿中に排泄される率が多い。而も単独アミノ酸大量投与は屢々有害であり、セリン、シスチンの大量投与時腎壊死の来ることが知られている。然し乍らアミノ酸は種々の生理作用を有し、かかる特殊作用を期待して諸種疾患の治療に応用されている。この際にアミノ酸の非経口的投与が要求されるが、1913年 Henrique & Anderson¹⁸⁾により始めて蛋白水解物が山羊に投与され、これを人体に應用したのは1939年 Elman⁶⁾が最初であり、本邦では1938年 古武²⁰⁾が白鼠を用いてカゼイン分解産物を静注したのが最初の動物実験であり、次いで1947年市原は紫斑病にカゼイン酸分解物を用い、本邦で最初の人体実験を報告している。その後布施等の臨床成績が出るに

及んで、この方面の研究が盛んに行われる様になつた。現在迄に必須アミノ酸ではメチオニンが肝疾患に、トリプトファンが古武門下により諸種貧血治療に用いられた。一方可欠アミノ酸ではグリシンは筋無力症、進行性筋チストロフィーに、グルタミン酸は智能改善に、ヒスチジンは胃・十二指腸潰瘍の治療に、シスチンは白血球減少症に夫々応用されて効果を認められている。

私の再生不良性貧血患者に対するヒドロキシプロリンの大量毎日 150mg~300mg 静注を行つた実験結果では3例共に白血球数は増加を示したが、赤血球数、血色素量では1例を除き無効であつた。尚副作用と思われるものは予め行つた動物実験でも、人体投与の際にも全く認められなかつた。

扱て斯かる場合の単独アミノ酸の作用機序について考察するに、例えばグリシンはクレアチンが体内で形成される際にその母体となるもので、クレアチン尿を認める進行性筋チストロフィーではグリシン投与後クレアチン生成が増加し本症に有効であると云われている。又ヒスチチンは核蛋白の一成分と考えられる点、発育成長期、外傷、潰瘍、炎症の回復期等に於ては需要の充まることが当然考えられる。シスチンの白血球増加作用については単に骨髓刺戟作用として説明されているが、ヒドロキシプロリンについても添加実験によりシスチンに勝る骨髓刺戟作用を認めたと、これが白血球を構成する蛋白の合成になつたためと考える事は困難であろう。何故なら培養液中に本アミノ酸を添加して直後より強力な促進作用を示したが、この点時間的に考えて無理である。

本アミノ酸の作用機序に関連して、再生不良性貧血に有効なことから逆に本症に於て本アミノ酸が欠乏することが本症成因の一つとも考えられるが、これを証明するにはヒドロキシプロリン並にプロリンを除去し

た総合アミノ酸製剤で実験的に本症を起し得るか否か、又はプロリンよりヒドロキシプロリンへの変化を阻害するか、何れかに成功した上でなければ、結論が得られない。現在の所ではヒドロキシプロリンはその強力な骨髓刺戟作用により本症に有効であつたと解釈すべきものとする。日野¹⁷⁾は本症患者の尿遊離アミノ酸を追求し、健康者に比しアミノ酸斑数少く且つ発色度も稀薄な傾向にあるがパターンは健康者と余り相違がない。本症患者に特異的と思われる斑点を認める事は不可能であると報告している。而し当本症とアミノ酸代謝の関係については追求さるべき多くの問題を残している。

第5章 結 語

ヒドロキシプロリンの赤血球系造血に及ぼす影響を家兎骨髓液体培養法を用いて検討し、更に再生不良性貧血患者の治療に応用し次の結果を得た。

1) 家兎骨髓液体培養にヒドロキシプロリンを直接に添加するに、赤血球数並に網状赤血球数の変化は対照と有意の差を認めず、血色素量の変化では対照はすべて低下を示すのに対して、添加例では高濃度に於て若干増加を示した。

2) 再生不良性貧血患者5例について、その胸骨骨髓組織培養を行い、ヒドロキシプロリンを直接添加するに、3例に於て増生面積の増大を認めた。無効であつた2例は汎骨髓癆型であつた。

3) 再生不良性貧血患者5例中3例にヒドロキシプロリンを 150mg~300mg 毎日静注するに、全例白血球数の増加を示したが、赤血球数、血色素量は1例に於て増加し、他は無効であつた。

欄筆するに当り終始御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師平木教授並に角南講師に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Albanese : Science, 98, 286, 1943.
- 2) Ahlborg : Skand. Arch. Physiolog., 81, 250, 1939.
- 3) Comandon : Compt. rend. Soc. Biol., 82, 1171, 1919.
- 4) Davidson & Lawrie : Biochem. J. 43, Proc. 29, 1948.
- 5) Elman & Weiner : J.A.M.A. 112, 796, 1939.
- 6) Fontes et al : Compt. rend. Soc. Biol., 106, 219, 1931.
- 7) 福井他 : 日血会誌, 14, 195, 昭26.
- 8) 藤森 : 岡山医会誌, 69, 2433, 昭32.
- 9) 布施・王子 : 日本臨床, 7, 昭24.
- 10) Hays : Amer. J. Med. Sci., 216, 528, 1948.
- 11) Hiraki et al : Acta med. Okayama, 10, 99-150, 1956.
- 12) 平木 : 日本医事新報, 1592, 4581, 昭29.
- 13) 平木・大藤 : 岡山医会誌, 68, 別巻, 昭31.
- 14) 本間 : 北海道医学雑誌, 25, 313, 1950.
- 15) Henderson : Anat. Record., 38, 71, 1928.

- 16) 日野：日内会誌, 45, 601, 昭31.
 17) 日野・中村：東邦医学会誌, 2, 17, 昭.
 18) Henrique & Anderson : Zschr. Physiol. Chem., 88, 357, 1913.
 19) 市川：日新医学, 36, 331, 394, 昭24.
 20) 岩崎：岡山医学会誌, 68, 1337, 昭31.
 21) 井上：日血会誌, 14, 193, 昭26.
 22) 系井：日血会誌, 13, 303, 昭25.
 23) Jones : Zit. n. E. V. Philipsborn,
 24) Jolly : Compt. rend. Soc., Biol., 74, 504, 1913.
 25) 古武：大阪医学会誌, 37, 1593, 昭13.
 26) 小池：血液討議会報告第5輯, 71, 1953.
 27) 片岡：未刊.
 28) 喜多島他：未刊.
 29) McCucheon : Amer. J. Physiol., 66, 180, 1923.
 30) 宮下：岡山医学会誌, 70, 3229, 昭33.
 31) 岡野：岡山医学会誌, 67, 165, 昭31.
 32) Philipsborn : Fol. Haemat., 43, 142, 1931.
 33) Rose : Fed. Proc., 8, 546, 1949.
 34) Sabin : Bull. Johns Hopkins Hospital, 34, 277, 1923.
 35) 榊原：日血会誌, 11, 88, 昭23.
 36) 坂野：日血会誌, 2, 777, 昭13.
 37) 杉山・森：十全会誌, 33, 616, 34, 1370, 昭3.
 28) 田村：医学と生物学, 30, 150, 昭29.
 39) 谷：岡山医学会誌, 71, 717, 昭34.
 40) 宇治：岡山医学会誌, 71, 1395, 昭34.
 41) Walker : Biochem. J., 52, 679, 1952.
 42) 吉川他：Metabolic Pathway, 医学書院, 東京, 1959.
 43) 山本：岡山医学会誌, 68, 753, 昭31.
 44) 吉田・王子：臨床の進歩, 8, 1, 1955.

Influences of Various Non Essential Amino Acids on the Hematopoiesis

Part 3. Influences of hydroxyproline on the erythropoiesis and application of this substance in hypoplastic anemia

By

Lee Bin Zen

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director : Prof. Kiyoshi Hiraki)

The author studied influences of hydroxyproline on erythropoiesis by means of rabbit bone-marrow tissue culture and also used this substance in the treatment of hypoplastic anemia; and obtained the following results.

1. In loading hydroxyproline directly to rabbit bone marrow tissue culture (fluid medium), no significant change can be recognized in the number of erythrocytes and reticulocytes. As for the change in hemoglobin (Hb) content with addition of this substance, Hb decreases in the control whereas it increases slightly when added in a high concentration.

2. In the tissue culture of the bone marrow (cover slip method) obtained from sternum of 5 cases of hypoplastic anemia loaded with hydroxyproline, the tissue growth has been accelerated in three cases. The two unaffected cases turned out to be of panmyelophthisis type.

3. Of 5 cases with hypoplastic anemia to three cases daily intravenous injection of 150-300 mg hydroxyproline was given. As the result all of them showed an increase the leucocyte count, but the erythrocyte count and Hb increased only in one case and it proved to be ineffective in other two cases.