

Rauscher virus 性マウス白血病 における溶血性貧血に関する研究

第 1 編

血液、組織学的検索と赤血球寿命及び鉄代謝について

岡山大学医学部第二内科教室（主任：木村郁郎教授）

水 川 市 郎

（昭和54年 8 月23日受稿）

Key words: 溶血性貧血, 実験的 virus 性白血病,
赤血球寿命, 鉄代謝

結 言

Virus の感染により溶血性貧血が惹起される事実は以前より知られているが、実験的 virus 性白血病においても Brodsky et al.^{1,2)} は Rauscher 及び Rauscher 白血病と同様に赤血球系細胞の増殖を来す Friend 白血病, Wollmann et al.³⁾ は Murine erythroblastosis Virus の感染による溶血性貧血の合併を報告している。しかし、これらの赤血球系細胞の増殖を来す Virus 性白血病における溶血性貧血の合併の機序及び意義については未だ明確にされておらず、赤血球系細胞の動態とも関連し興味のある現象である。Brodsky et al.^{1,2)} は、Friend 白血病における溶血性貧血の合併は Virus の赤血球に対する直接作用によるものであり、この白血病における赤血球増殖は溶血性貧血に対する代償性反応であるとしているが、Ludwig et al.⁴⁾ は Friend 白血病における、異常な赤血球増殖は赤白血病によるものであるとし、病理組織学的には溶血性貧血を認めていない。したがって教室で宿主と腫瘍 Virus の相互に関する研究の一環としてとり上げられた赤血球細胞の異常増殖を来す Rauscher 白血病において、溶血性貧血の存在とその性格、さらに異常な赤血球系細胞の動態との関連を明らかにすることは、本白血病の病態を把握する上で重要であると考え以下の実験を行った。その結果、溶血性貧血の合併と腫瘍性赤血球増殖、および宿主因子との間には密接な関連が推定されたので報告する。

実験材料と実験方法

Virus: 材料はアメリカの N.I.H. の F.J. Rauscher より分譲を受け当教室で Cb 系マウスで継代維持させたものである。継代接種は白血病発症マウス脾のホモジネートの10%リンゲル液の浮遊液を 3,000 r.p.m., 9,000 r.p.m. でそれぞれ20分間遠沈し、その上清を腹腔内に0.3ml接種した。使用した Cb 系マウスは、アメリカ Houston の Baylor 大学 Kirschbaum Mouse Colony より本学へ分譲された Milkagent を保有しない BALB/C 系マウスである。継代各代共に白血病発生率は100%, 平均生存日数は58日で大部分は12週間以内に死亡した。

血液、病理組織学的検索

1) 末梢血液像と病理組織学的検討: 末梢血液像としては、赤血球数、色素量、網赤血球数、ヘマトクリット値、白血球（有核細胞）数、血小板数の算定、末梢血塗沫標本による細胞の分類を行い、病理組織学的には体重、脾重量の測定後各臓器のスタンブ標本、組織標本作製し Virus 接種後経時的に観察した。

2) Price-Jones 曲線: May-Giemsa 染色をした末梢血塗沫標本について Micrometer を用い、500個の赤血球の直径を測定し、同じ直径を示す赤血球の%を求め、これを縦軸にとり、直径を横軸にとって赤血球直径の分布曲線を作製した。

3) 赤血球浸透圧脆弱性試験: Butterworth et al.⁵⁾ による Micromethod を用い毛細管にとった血液

0.1mlを2.5mlのクエン酸ソーダ加生理食塩水と混ぜ3mlの0.1%~0.85%の食塩水に0.2mlずつ加え室温に30分間放置後、2,000 r.p.m. 10分間遠沈し各濃度の食塩水上清中の血色素濃度を光電比色計 (580m μ) により測定した。100%溶血は0.1%食塩水の上清、対照は正常マウス血液の0.85%食塩水の上清として透過率測定後、縦軸に溶血度、横軸に食塩水濃度をとって曲線をえがき、各食塩水濃度における溶血率を求めた。

4) 血清中 Bilirubin の定性及び定量：定性は Hijman Vanden Bergh 法、定量は Michaelson の変法で行った。

5) 血清中 Haptoglobin の定量：谷内ら⁶⁾の方法により Virus 接種後経時的に採取した血清に過量の血色素溶液を加え Cellulose Acetate 膜電気泳動法を行い血色素結合能として観察した。

赤血球寿命

Brodsky et al.⁸⁾の方法により血液6mlに Na₂⁵¹CrO₄を200 μ C加えて、37°Cで30分間静置した後アスコルビン酸を100mg加えた。この⁵¹Crが標識された血液0.3mlをマウスの尾静脈より静注後1, 4, 7, 10, 15, 20日目に眼窩静脈叢より16 μ lの血液をヘパリン処理ヘマトクリット用毛細管に採取し、放射能活性を Well-type Scintillation Counter により測定した。1日後の放射能活性 (cpm) を100%としてその後の放射能活性の%を算出しこれを半対数方眼紙に記入して、⁵¹Cr T_{1/2}により赤血球寿命を測定した。

鉄代謝

血清鉄は Bathophenanthroline 法⁹⁾により微量血清鉄定量キットを使用して測定した。正常及び Rauscher Virus を接種後1, 3, 4, 7日の各々のマウス尾静脈に ⁵⁹Fe-Citrate 1 μ Cを静注後5, 10, 30, 60分にそれぞれ眼窩静脈叢よりヘパリン処理ヘマトクリット用毛細管を用いて25 μ lを採血し、Well-type Scintillation Counter によりその放射能活性 (cpm) を測定し、各々の cpm を半対数方眼紙に記入して血清鉄消失時間 (⁵⁹Fe T_{1/2}) を求めた。又 ⁵⁹Fe 静注後24, 48時間に25 μ lの血液を採血、放射能活性 (cpm) を測定し ⁵⁹Fe 静注0時間の cpm に対する%を求め ⁵⁹Fe 赤血球内再出現率とした。⁵⁹Fe 臓器内摂取率は、⁵⁹Fe 静注6, 24, 48時間後断頭瀉血した後脾、肝、両側大腿骨、脛骨を摘出し cpm を測定、静注した ⁵⁹Fe の cpm に対する臓器全体の cpm 及び各臓器単位重量 (gm) 当たりの cpm の%を算出した。

以下の Virus 接種後経時的な実験成績の数値は対照、実験群共に3~5匹のマウスの成績の平均値

(± 1 標準偏差)である。

実験成績

血液、病理組織学的所見の内、末梢血液像については、赤血球数は Virus 接種7日後には軽度減少し、14日後よりは更に減少し、42日後には接種前の約1/2に減少、血色素量も14日後より漸次同様に減少したが、網赤血球数は接種7日後には軽度増加し、28日後より急激に増加、42日後には152 ± 20 %に達した。白血球 (有核細胞) 数は7日後には軽度減少したが、14日後より急激に増加し、42日後には166.333 ± 6.230 であった (図1)。末梢血塗抹標本による有核細胞の

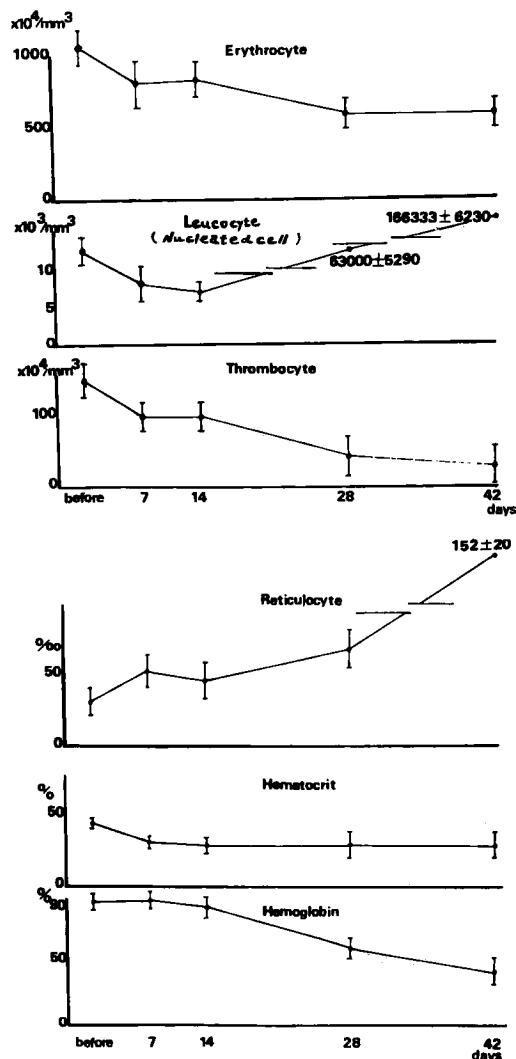


図1 Changes in Peripheral Blood Pictures in BALB/c Mice inoculated with Rauscher Leukemic Virus

分類では14日後には2～6%の赤芽球が出現するが、その後リンパ球の減少と共に赤芽球は著明に増加して42日後には約92%に達した(図2)。赤血球には多

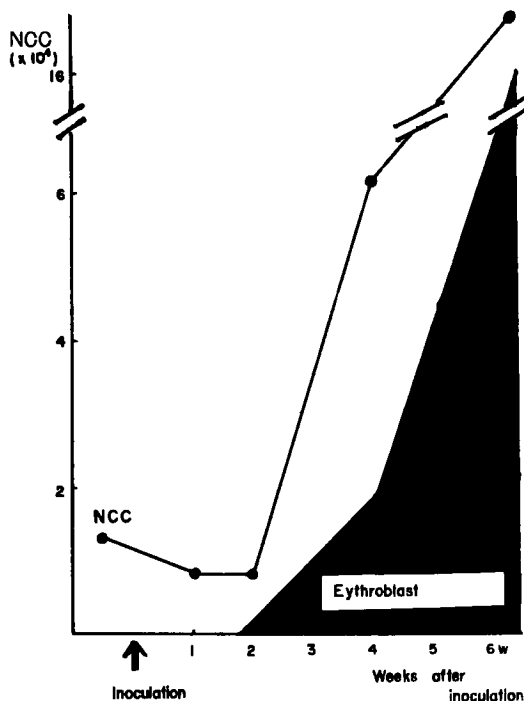


図2 Changes in Nucleated Count and Erythroblast in Peripheral Blood of Mice Inoculated with RLV

染性があり大小不同、奇型性が認められた。血小板数も7日後には軽度減少、14日後よりは更に減少し42日後には著明に減少した。脾スタンプ標本による有核細胞の分類を見ると赤芽球系細胞は7日後軽度増加し、2週後よりリンパ球の減少と共に赤芽球系細胞は急激に増加した(図3)。病理組織学的所見では、肝、脾の暗赤色の高度な腫大が特徴的であり特に脾重量(体重に対する脾重量の%)はVirusの接種7日後には軽度増加したが14日後よりは著しく増加し42日後には13.5%であった(図4)。組織標本では既報⁷⁾のように諸臓器、特に肝、脾では高度の細胞網細胞と赤芽球系細胞の浸潤増殖像が認められた。以上の末梢血液像と病理組織学的所見より Rauscher Virus の接種により惹起せられた病態像は肝、脾腫を伴った Erythro-reticulum Cell Leukemia であり、赤芽球細胞の増殖は腫瘍性の性格を有すると考えられた。

Price-Jones 曲線については Virus 接種後の経過に

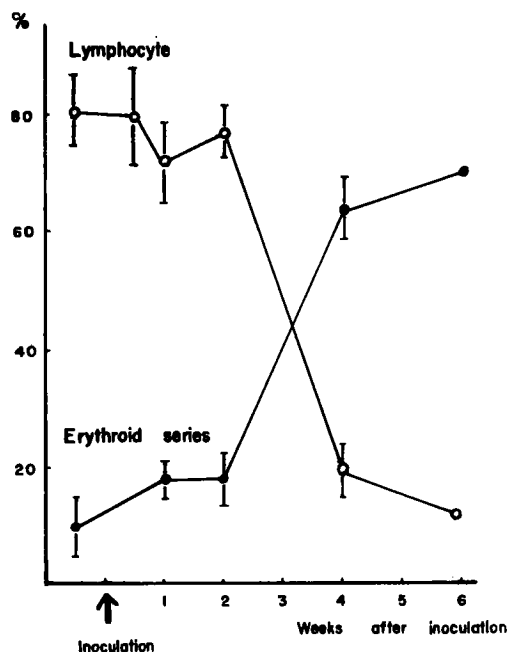


図3 Relative Ratio of Erythroid Series and Lymphocyte in Spleen of mice Infected with RLV

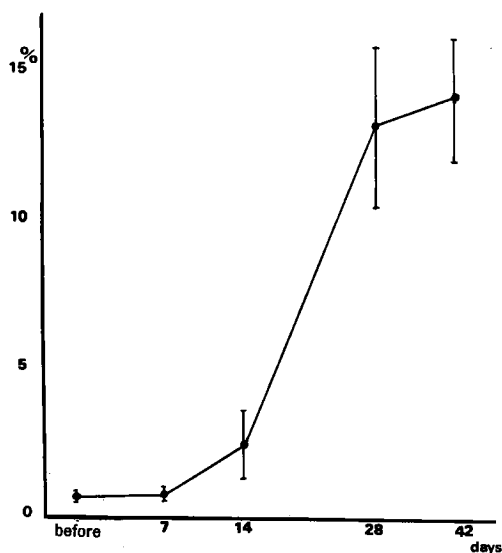


図4 Spleen/Body Weight Ratio in BALB/c Mice inoculated with Rauscher Leukemic Virus

伴い赤血球直径の分布範囲が左右特に右方に拡がり、正常マウスでは4～7μに分布し中心は5～5.5μであるのに対しVirus接種3日後では4.5～9μに分布し中心は5.5～7μ、10週後には3～9μに分布し中心は5.5～8μであった。又分布曲線は正常マウスでは

単一な峰を形成するのに対して Virus 接種 3 週以後は分布範囲に 4～5 個の峰が認められた (図 5, 図 6)。

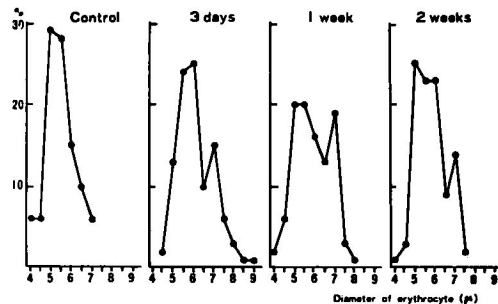


図 5
Distribution curve of erythrocyte diameter in R.V. leukemia (I)

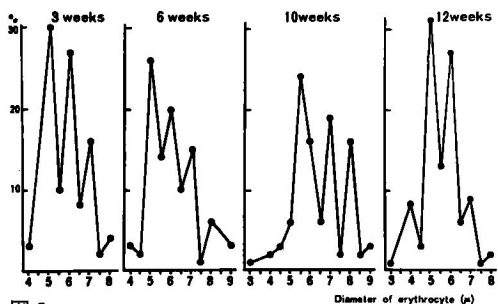


図 6
Distribution curve of erythrocyte diameter in R.V. leukemia (II)

赤血球抵抗試験では Virus 接種後の経過に伴い、50%溶血は正常では 0.45～0.48% であるが Virus を接種して 8 週後には 0.36%，12 週後には 0.31% と左偏位し抵抗は増大した。また、正常では溶血開始は 0.55～0.65%，溶血の完結は 0.21～0.23% であるが、4 週後には溶血開始は早くなり赤血球抵抗は減少するが完結は遅く、赤血球抵抗幅が増大し、12 週後の進展期では 0.9% で既に軽度の溶血が開始し、0.45% 附近より抵抗が増強して 0.1% で溶血が完結した。(図 7)。

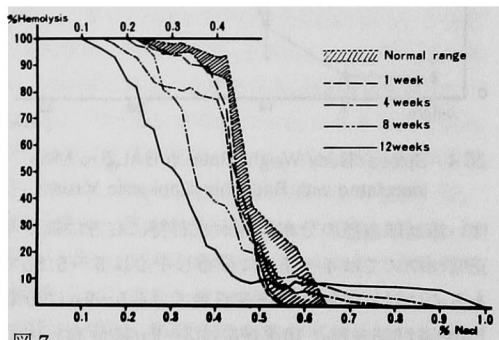


図 7
Osmotic fragility of erythrocyte in the Rauscher virus leukemia

白血病マウスの血清を採取中黄疸色を認めたので前述の方法により Bilirubin を検出し定量した結果、初期より直接、間接両ビリルビンが増加し、進展期には更に増量し正常マウス平均総 Bilirubin 0.02mg/dl (直接及び間接 Bilirubin 各々 0.01mg/dl) に対し 12 週後の白血病マウスでは総 Bilirubin 1.2mg/dl, (直接及び間接 Bilirubin は各々 0.5, 0.7mg/dl) であった。

血清中の Haptoglobin の変動は Virus 接種 3 日後には正常より軽度増加するが、1 週後には減少し、3 週後には再び増加の後、漸次減少し、7 週後には著明な減少が認められた (図 8)。

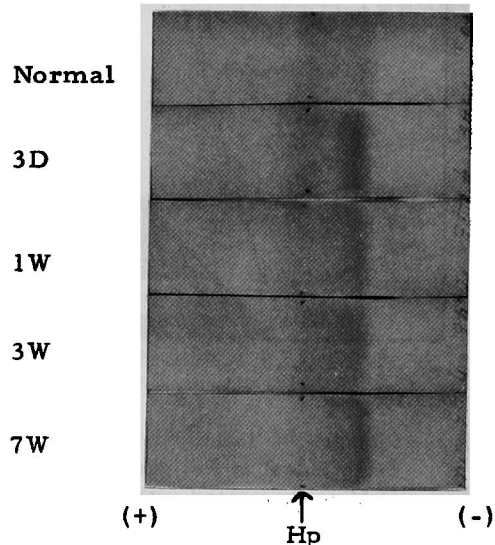


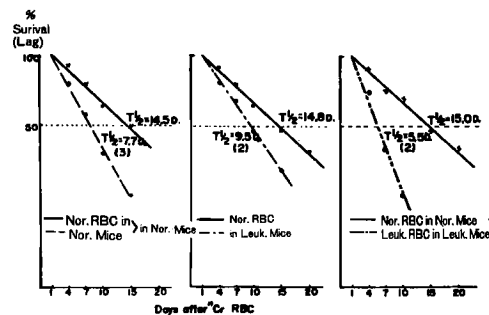
図 8 Serum Haptoglobin Electrophoresis of R.V infected Mice

赤血球寿命については ^{51}Cr を標識した白血病マウス赤血球の正常マウス体内での半減期は Virus 接種後の経過に伴い、正常赤血球の正常マウス内での 14.8 日に比べ、1 週間後の 12.2 日から、4～6 週後 9.0 日、11～12 週の 7.7 日と漸次短縮したが、正常赤血球も、Virus 接種後 11～12 週の進展期の白血病マウス内では 9.5 日であり対照の 14.8 日に比べ短縮した。さらに、白血病マウス赤血球の白血病マウス体内での寿命は 1 週後では 12.7 日であるが、4～6 週後 6.7 日、11～12 週後は 5.5 日であり、前述の 2 群に比べ最も短縮した。すなわち、Virus 接種後 11～12 週の進展期の白血病マウス赤血球寿命は正常および白血病マウス体内で著明に短縮するが正常赤血球も白血病マウス体内では寿命の短縮が認められた (表 1, 図 9)。

表1 Survival of ^{51}Cr -labeled Red Blood Cell (Normal and Rauscher Red cells) (average of 3mice)

Weeks after Type of study ~ infection	1w.	4w.~6w.	11w.~12w.
Rauscher RBC to normal mice	12.2D. (10.8~13.8)	9.0D. (8.5~9.2)	7.7D. (6.7~9.2)
Rauscher RBC to Rauscher mice	12.7D. (11.8~13.5)	6.7D. (6.6~6.8)	5.5 (5.0~5.7)
Normal RBC to Rauscher mice			9.5D. (9.4~9.5)
Normal RBC to R to normal mice		14.8D. (14.1~16.2)	

D : days () : range of days

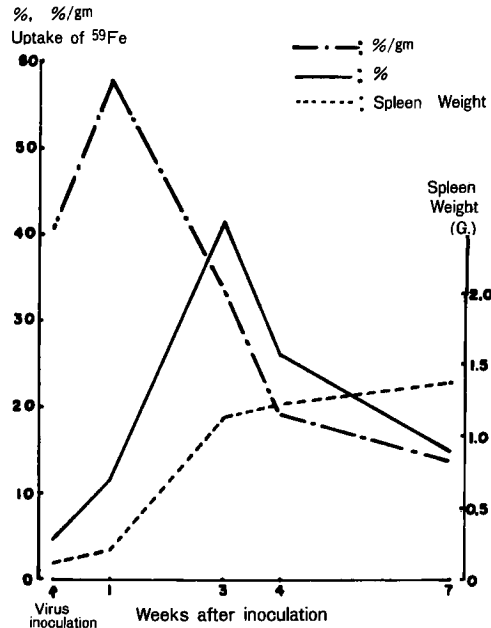
図9 Survival of ^{51}Cr -labeled Red Blood Cell in Normal and Rauscher Leukemia Mice

鉄代謝については血清鉄量は Virus 接種 1 週後より増加しその後は減少するが、4 週、7 週共に正常値より増加した。 ^{59}Fe $T_{1/2}$ は 1 週後明らかに短縮するがその後も対照に比べ軽度短縮を示した。 ^{59}Fe 赤血球内再出現率も 1 週後には 24、48 時間値共に正常に比べ明らかに低率であるが、4 週後には 24 時間値は正常に近くなり、7 週後には 24 時間値は 102.2 % であった (表 2)。臓器内 ^{59}Fe 摂取率は脾では Virus

表2 Plasma Fe, Blood Clearance and Reappearance of ^{59}Fe in Mice infected with Rauscher Leuk. Virus.

Time after inoculation	Plasma Fe ($\mu\text{g}\%$)	^{59}Fe $T_{1/2}$ (min)	^{59}Fe reappearance (%)	
			24hr	48hr
Control	229.6	62.6	69.2	97.3
1 w	559.8	39.0	28.2	29.3
4 w	466.0	51.8	59.7	67.0
7 w	311.7	45.0	102.2	87.9

接種 1 週後脾重量は軽度増加するにすぎないが、 ^{59}Fe 静注後 24 時間値の % と %/gm 摂取率は共に明らかに増加し、1 週より 3 週迄は脾重量の増加に伴い % 摂取率はさらに上昇するが、%/gm 摂取率は急激に低下し、その後は両者共に漸次減少した (図 10)。脾における ^{59}Fe 静注後 6 および 48 時間値の変動も 24 時間値の場合とはほぼ同様の傾向を示した。肝においては 6、24、48 時間共に % 摂取率が 3、4 週後軽度上昇するのみであり、%/gm 摂取率は 7 週後軽度低下した。

図10 24hr Uptake of ^{59}Fe Spleen and Spleen Weight Following Inoculation with Rauscher Virus.

(表 3) 骨髄では 6、24 時間値共に virus 接種後の経過に伴い急激に減少し、4 および 7 週後では 6、24、48 時間値の総てにおいて減少が認められた (表 4)。

表3 Uptake of ^{59}Fe in Spleen and Liver Mice after Infection with R.L. Virus.

Time after inoculation	6 hr		24 hr		48 hr		(Mean) Weight (mg)
	%	%/gm	%	%/gm	%	%/gm	
Control	7.8	68.9	4.6	40.9	1.8	11.6	118.5
1 w	9.7	54.7	11.5	57.7	6.3	26.7	200.2
3 w	39.8	33.5	41.6	35.0	—	—	113.51
4 w	30.1	28.1	25.9	19.2	9.9	11.7	122.50
7 w	29.8	21.3	15.0	13.6	12.5	7.9	1379.9

Time after inoculation	6 hr		24 hr		48 hr		(Mean) Weight (mg)
	%	%/gm	%	%/gm	%	%/gm	
Control	11.8	11.7	13.8	13.3	12.5	13.9	1000.1
1 w	11.2	12.0	12.6	13.2	13.8	12.5	1003.7
3 w	15.4	10.0	17.5	13.0	—	—	1391.3
4 w	20.8	13.6	17.0	10.8	11.4	7.2	1600.2
7 w	14.0	7.1	14.5	7.5	13.3	5.0	2222.3

表4 Uptake of ^{59}Fe in Femur and Tibia in Mice after Infection with Rauscher Virus.

Time after inoculation	6 hr	24 hr	48 hr
Control	1.9	1.2	0.6
1 w	1.8	1.0	0.6
3 w	0.7	1.0	—
4 w	0.4	0.4	0.3
7 w	0.3	0.3	0.2

総括および考按

1: 溶血性貧血の証明

末梢血液像では、赤血球数は白血病の初期には軽度減少するが、その後は高度に減少し、これに伴って網赤血球数は著明に増加し、赤血球に多染性、大小不同、奇型性等が認められた。Price-Jones 曲線では多峰性に分布範囲が拡大し、小赤血球群が存在し、赤血球抵抗試験でも抵抗幅が拡がり網赤血球の増加による赤血球抵抗の増強と減弱が認められた。その他、直接、間接 Bilirubin が増加し、Haptoglobin が減少した事より溶血性貧血の存在が推定され、さらに赤血球寿命の測定では白血病マウス赤血球寿命は著明に短縮し、鉄代謝の観察でも進展期には ^{59}Fe Tl/2 の短縮と ^{59}Fe 赤血球内再出現率が著明に増加した事より、溶血性貧血の存在は明らかである。Brodsky et al. は前述のように Rauscher 白血病においても赤血球寿命と鉄代謝の成績より溶血性貧血の合併を認めているが、Virus 感染後初期のみの観察である。本実験では、上述の結果より、溶血性貧血は初期は軽度であるが、白血病の進展と共に漸次増加し、両者に密接な関連があることが観察された。

2: 溶血性貧血の機序

先ず末梢血液像で Virus 接種後短期間で貧血が認められた点について Brodsky et al. はこの時期に既に赤血球寿命が短縮している事より赤血球に対する Virus の直接作用により溶血性貧血が惹起されたとしている。本実験でも、Virus 接種 1 週間後には赤血球寿命は軽度短縮し血清鉄は上昇しており初期においてはその機序は存在しうと考えられるが、同時に、本実験では初期の貧血と共に白血球、血小板の減少があり、中西ら¹⁰⁾はさらに骨髓組織培養の成績より本白血病の発症前の骨髓造血機能の低形成の存在を認め、また後述する鉄代謝の結果よりも、初期の貧血には無効赤血球造血も関与していると考えられ、さらに赤血球寿命の成績より生体側因子の関与も証明されたので Rauscher 白血病における溶血性貧血の原因を前述の赤血球に対する Virus の直接作用のみでは説明する事は出来ない。Price-Jones 曲線と赤血球抵抗試験の結果からは溶血性貧血における赤血球側因子の存在が考えられるが、赤血球抵抗試験すなわち赤血球滲透圧の異常については、Friend 白血病では Reilly¹¹⁾ が各種濃度の食塩水の滲透圧に対する赤血球の抵抗の減弱すなわち脆弱性の増加を認め、Rauscher 白血病でも Brodsky et al.¹²⁾ が同様

の所見を認めている。その原因については、赤血球に対する Virus の直接作用や Friend 白血病マウスにおける Virus 又は、細胞特異抗原に対する免疫学的反応による組織障害と同様な機序による赤血球障害性免疫反応等が推定されるが、後述する赤血球細胞の動態の面より腫瘍性赤血球系細胞に由来する異常赤血球によることも考えられる。さらに本実験において赤芽球を含む赤血球細胞の増殖に伴い末梢血塗抹標本で大小不同、奇型性を示す赤血球が増加し抵抗性の減弱を認めた事は増殖した赤血球幼若細胞の成熟障害、または異常による可能性が推定される。次いで、赤血球寿命については、Brodsky et al. は前述のように ^{51}Cr 標識赤血球と ^{59}Fe 静注法を用い、Friend 及び Rauscher 白血病の初期における赤血球寿命の短縮を報告している。本実験では Rauscher Virus 接種後白血病の進展に伴い、白血病マウス赤血球寿命は白血病マウス、さらに正常マウス体内で明らかに短縮したが、一方彼等の成績には無いが正常赤血球の寿命も白血病マウス体内で短縮した事より Rauscher 白血病における赤血球寿命の短縮、すなわち溶血性貧血の原因には赤血球自体の因子と共に白血病マウス体内における宿主側因子の関与が考えられる。前者については前述の Price-Jones 曲線における小赤血球群、脆弱性の増加した赤血球の存在の他、福家¹⁵⁾は本白血病における赤血球の血色素合成異常を明らかにしている。後者の宿主側因子については網内系機能の点より見ると、脾臓を摘出した Friend 及び Frythroblastosis Virus 感染マウスにおける赤血球寿命は脾臓を摘出しなかった場合に比べ明瞭な相異が認められていない。しかし、この点については第 2 編において本白血病マウスにおける網内系機能を観察し、脾に代わる網内系組織の赤血球貧食機能の亢進との間に密接な関連のある事を証明出来たので報告する。また、溶血性貧血に対する宿主側因子としての赤血球抗体の存在の可能性については第 2 編でも考察するが瀬崎ら¹⁶⁾は Rauscher Virus の感染の初期より体液性抗体の産生は抑制されており血清中の赤血球自己抗体の関与は証明されなかった事を報告している。最後に鉄代謝の成績から溶血性貧血の原因を本白血病における赤血球系細胞の動態の面より見ると、まず白血病の初期には血清中の ^{59}Fe Tl/2 の短縮と ^{59}Fe 赤血球内再出現率の低下が認められ、脾では ^{59}Fe % と %/gm 摂取率は増加しており前述の末梢血、骨髓所見による正常造血能の低下、脾における病理組織学的所見等より腫

瘍性の無効赤血球造血の存在が推定される。次いで、進展期には血清鉄は軽度増加しているが、 ^{59}Fe T1/2 は軽度短縮しており、 ^{59}Fe 赤血球内再出現率は著明に上昇した。この成績は脾では赤血球系細胞の他網内系細胞の増殖による重量の増加に伴い、 ^{59}Fe %/gm 摂取率は減少し、%摂取率は3週後最も増加した後減少したが尚対照に比べ明らかに増加しており脾における赤血球造血機能の亢進が末梢血中へ反映されたと考えられる。白血病初期の赤血球無効造血について Brodsky et al. は本実験と同様 ^{59}Fe T1/2 の短縮と ^{59}Fe 赤血球内再出現率の低下を認めているが、Virus の感染による赤血球造血能の抑制による現象として、後には両者が正常に回復した事より赤血病に見られる様な無効造血の存在は認めていない。しかし、 ^{59}Fe T1/2 と ^{59}Fe 赤血球内再出現率の回復は溶血性貧血に対する正常赤血球造血機能の反応の他、後述の腫瘍性赤血球幼若細胞の成熟等により修飾されている可能性があり、彼等の初期における鉄代謝の成績のみから無効赤血球造血の存在を否定することは出来ない。進展期における鉄代謝の成績で示される脾の赤血球造血機能の亢進についても、正常赤血球造血機能の溶血性貧血に対する反応とするよりも、病理組織学的に見られる脾における高度な腫瘍性の赤芽球系細胞の増殖との関連が推定せられ、末梢血中への反映はこの腫瘍性赤芽球系細胞の末梢血中への流出、又は成熟による末梢血中への出現による事が考えられる。文献上でも Rauscher Virus および Friend Virus の標的細胞は赤血球系の初期の細胞であり、これらの細胞は赤血球へと成熟し血色素合成が認められる事が試験管内、および生体内の実験で報告されている。¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾ したがって腫瘍性赤芽球系細胞より成熟し、末梢血に出現した赤血球群の存在が本白血病の進展に伴い促進された溶血性貧血の赤血球側因子として関与している可能性が示唆される。

3: 本実験に於ける溶血性貧血の意義

Rauscher 白血病の病態像について本実験では前述の血液、病理組織学的所見、および赤血球の動態、その他の成績より Erythro-reticulum Cell Leukemia で赤血球系細胞は腫瘍性の性格を有する事は明らかであり、他の病型の白血病の発生は認められなかった。しかし、Brodsky et al. は本白血病は Lymphoid Leukemia であり赤血球系細胞の増殖は前白血病期の溶血性貧血に対する非腫瘍性の反応であるとし、この様な溶血性貧血を惹起せしめる Virus が感染性のある宿主の白血球化を可能にするであろうと述べて

いる。文献的にも、本白血病の病態像については報告者により一定していないが、Ludwig et al.⁴⁾ は Erythro Leukemia であると述べ Mirand²³⁾ は本白血病における赤血球増殖は人の de Guglielmós Syndrome であるとしている。Morse²⁹⁾ にも Rauscher Virus の変種により惹起された病態は前白血病様 Sideroblastic Anemia や de Gugliermo 症候群の研究に有用であるとしている。また Boiron は Erythro Leukemia であるとしているが赤血球系細胞の増殖の後に骨髄性白血病を認めており、人における Erythro Leukemia の経過と同様である。しかし、Dunn²⁵⁾ は Rauscher Virus に対する反応は多様である事を強調しており、この原因については宿主側因子、Virus の濃度、2種類の Virus の混在の可能性等が指摘されているが、一方 Mirand²⁶⁾、Sassa et al.²⁷⁾ は Rauscher Virus が造血幹細胞に働いて赤芽球系細胞を分化せしめる可能性を指摘している。このような Pluripotential な腫瘍性幹細胞の存在を想定すれば、前述の各種条件により、各種病型の白血病の発生が認められるであろう。我々の実験の特徴は赤血球系細胞の腫瘍性増殖に伴う溶血性貧血の合併であり、溶血性貧血は腫瘍性赤血球系細胞の動態と密接に関連して認められた。最近 Friedl, Rauscher 等の腫瘍性 Virus により溶血性貧血を含む自己免疫性病変が惹起される事が報告され、注目されているがその機序については明確にされていない。本実験においても、免疫学的機序については証明されなかった。

結 論

Rauscher 白血病に溶血性貧血が合併して存在し、白血病の初期には軽度であるが進展期には増強した。溶血性貧血の合併は赤血球側因子と赤血球外の宿主因子の両者によるものであった。前者については、Virus による赤血球に対する直接作用の他、Virus により惹起された腫瘍性赤芽球系細胞が成熟して末梢血中へ動員された異常赤血球による事が考えられ、宿主側因子により溶血がさらに促進される機序が推定された。

謝 辞

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を贈った恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表します。また終始多大の御支援と御指導をいただいた国立岡山病院瀬崎達雄先生に深謝いたします。

(本論文の要旨は1970年第10回国際癌学会、1971年第30

(回日本癌学会, 1971年第33回日本血液学会において発表した。)

文 献

1. Brodsky, I., Kahn, S.B., Ross, E.M., Petikou, G. and Braverman, S.D.: Prelymphoid leukemia phase of Rauscher virus infection. *J. Natl. Cancer Inst.* **38**, 779-787, 1967.
2. Brodsky, I., Dennis, L.H. and Kahn, S.B. Erythropoiesis in Friend leukemia: Red blood cell survival and ferrokinetics. *Cancer Res.* **26**, 1887-1892, 1966.
3. Wollmann, R.L., Pang, E.J., Evans, A.E. and Kirsten, W.H.: Virus-induced hemolytic anemia in mice. *Cancer Res.* **30**, 1003-1010, 1970.
4. Ludwig, F.C., Bostick, W.L. and Epling, M.L.: Quantitative analysis of Friend Disease in two inbred strains of mice with emphasis on bone marrow response. *Cancer Res.* **24**, 1308-1317, 1964.
5. Butterworth, S.T.G.: A micromethod for estimating osmotic fragility of erythrocytes. *J. Clin. Pathol.* **17**, 96-97, 1964.
6. 谷内 昭, 三原藤正, 森田益津, 中島光男: Cellulose acetate 電気泳動法による血清 Haptoglobin の定量法, 生物物理化学, **12**, 59-62, 1969.
7. 入野昭三, 大里尚司, 三村 一, 水川市郎, 騎馬崎浩, 平木 潔: Rauscher ウイルスと Rauscher 病 第2報 Rauscher 病の病理組織学的並びに組織化学的検索. 医学と生物学, **72**, 310-315, 1966.
8. Brodsky, I., Dennis, L., Kahn, S.B. and Brady, L.W.: Normal mouse erythropoiesis; The role of the spleen in mouse erythropoiesis. *Cancer Res.* **26**, 198-201, 1966.
9. 大場 寛, 西村桂子: 血清鉄量用キットについて, 臨床病理, **15**, 525-527, 1967.
10. 中西紀男, 円藤徳郎, 板戸純也, 三河内弘, 高橋 功, 喜多嶋康一: Rauscher 白血病発症前に認められた骨髓低形成. 医学と生物学, **92**, 235-238, 1967.
11. Reilly, C.A. and Schloss, G.T. The Erythrocyte as virus carrier in Friend and Rauscher virus leukemias. *Cancer Res.* **31**, 1841-846, 1971.
12. Brodsky, I. and Kahn, S.B.: Effect of a leukemia virus on erythropoiesis. *J. Natl. Cancer Inst.* **42**, 39-49, 1969.
13. Gillespie, A.V. and Rowson, K.E.K.: The influence of sex upon the development of Friend virus leukemia. *Int. J. Cancer* **3**, 867-875, 1968.
14. 瀬崎達雄: 血液疾患におけるハプトグロビン, 臨床血液, **14**, 495-501, 1973.
15. 福家達雄: Rauscher ウイルス性白血病における血色素に関する研究, 第二編, Rauscher ウイルス性白血病マウスにおける血色素の変化について, 岡山医誌, **86**, 11-21, 1974.
16. 瀬崎達雄, 岡 暁, 宇野潤一郎, 水川市郎, 入野昭三, 平木 潔: Rauscher virus 性白血病における溶血性貧血の免疫学的研究, 日本癌学会総会記事 (第30回), p. 121, 1971.
17. Pluznik, D.H., Sacks, L. and Reshitzky, P.: The Mechanism of leukemogenesis by the Rauscher leukemia Virus. *Natl. Cancer Inst. Monograph* **22**, 3-14, 1966.
18. Friend, C., Patwleia, M.C. and de Harven, E.: Erythrocytic maturation *in vitro* of Murine (Friend) Virus. *Natl. Cancer Inst. Monograph.* **22**, 505-522, 1966.
19. Rossi, G.B. and Friend, C.: Erythrocytic maturation of (Friend). Virus-induced leukemic cells in spleen clones. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **58**, 1373-1380, 1967.
20. Sundelin, P. and Adams, L.R.: DNA, RNA, and hemoglobin cytophotometry of maturing erythroid cells from liver nodules in Rauscher virus infected mice. *Int. J. Cancer* **2**, 544-550, 1967.
21. Miyoshi, I., Tsudota, T., Irino, S. and Hiraki, K.: Establishment of erythroid cell lines from the spleen of mice with Rauscher leukemia. *Gann* **59**, 439-441, 1968.

22. Brodsky, I. and Kahn, S.B.: Effect of a leukemia virus on erythropoiesis. *J. Natl. Cancer. Inst.* **42**, 39-49, 1969.
23. Mirand, E.A., Marshall, G.J., Rauscher, F.J. and Grace, J.T.: An analysis of the biphasic response in Rauscher virus disease. *Exp. Med. Surg.* **23**, 323-331, 1965.
24. Boiron, M., Laxy, J.P., Lasnert, J., Oppenheim, S. and Bernard, J.: Pathogenesis of Rauscher leukemia. *J. Natl. Cancer Inst.* **35**, 865-884, 1965.
25. Dunn, T.B. and Green, A.W.: Morphology of BALB/c mice inoculated with Rauscher virus. *J. Natl. Cancer Inst.* **36**, 987-1001, 1966.
26. Mirand, E.A., Steeves, R.A., Lange, R.D. and Grace, J.T.: Virus-induced polycythemia in mice; Erythropoiesis without erythropoietin. *Soc. Exp. Biol. Med.* **128**, 844-849, 1968.
27. Sasa, S., Takaku, F. and Nakao, K.: Regulation of erythropoiesis in the Friend leukemia mouse. *Blood* **31**, 758-765, 1968.
28. 葛巻 暹, 小林 博: 腫瘍性ウイルスと自己免疫病. 医学のあゆみ, **91**, 699-704, 1974.
29. Morse, B., Dennis, G., Torphy, F.N. and Lo Bue, J.: Erythrokinetics of a viral-induced Murine Erythroblastosis. *Blood* **51**, 623-632, 1978.

Hemolytic anemia in Rauscher virus-induced leukemia

1. Studies on hematology, histology, red cell survival and ferrokinetics

Ichiro MIZUKAWA

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

Hemolytic anemia was associated with Rauscher leukemia. Anemia was observed slightly in the early stages of leukemia and developed progressively during the later stages. The mechanism of hemolytic anemia can be explained as being due to both intracorpuseular defects and extracorpuseular factors. The former, *i.e.*, intracorpuseular defect, consists of intracorpuseular defects caused by direct effects of Rauscher leukemia virus on red blood cell and also "abnormal" erythrocytes which migrate into peripheral blood from the spleen. These "abnormal" erythrocytes were produced by the maturation of malignant erythoid cells induced by Rauscher leukemia virus. The latter, *i.e.*, extracorpuseular factor, will be described part two of this article.