

核酸の骨髓体外組織培養に及ぼす影響

第 3 編

健康家兎，健康人並びに再生不良性貧血
患者骨髓の赤血球系に及ぼす影響

岡山大学医学部平木内科（主任：平木 潔教授）

山 崎 良 平

〔昭和37年1月18日受稿〕

内 容 目 次

第1章 緒 言	第1節 健康家兎骨髓
第2章 実験材料並びに実験方法	第2節 健康人骨髓
第1節 実験材料	第3節 再生不良性貧血患者骨髓
第2節 実験方法	第4章 総括並びに考按
第3節 観察方法	第5章 結 語
第3章 実験成績	

第1章 緒 言

骨髓の赤血球系造血機能に及ぼす核酸の直接の影響を検討するにあたり，その培養方法として，赤血球，色素の数量的観察を行なうには液体培養法が最も優れている。

液体培養法については，1936年 Osgood 及び Brownlee が人骨髓細胞を特殊メヂウムを用いて細胞浮游液液体培養法を行ない，それに各種薬剤，血清を加えてそれらの化膿菌に対する影響を観察したのが最初である。次に Hays⁶⁸⁾，Norris⁷³⁾ 及び Majnarich 等は本法を更に改良し Xanthopterin，血清，pteridin の骨髓細胞増殖に及ぼす影響を検討している。本邦に於いても液体培養を用いた研究は多く，牧野³³⁾³⁴⁾，伊藤²⁾，下方¹⁷⁾ は各種ビタミンの影響に就いて観察し，小池はアミノ酸による色素量の消長を，桑原¹³⁾ は諸種薬品の影響を，紺野¹⁵⁾ は Hem の合成機転を研究している。教室に於いても岩崎³⁾，久米田¹²⁾ は Osgood の原法及び Norris の変法を参考にして改良を加え，岩崎は各種血液疾患々々血清，アミノ酸，ビタミン等の，同じく久米田は Co，Cu の影響を追求している。又宮下³⁵⁾ は骨髓抽出多糖体の添加実験を，谷²³⁾ は抗生物質の骨髓赤血球系への直接影響をみている。

私は第2編では臨床培養法を応用して核酸の健康人並びに再生不良性貧血患者骨髓の造血機能，就中白血球系及び栓球系に及ぼす核酸の直接添加の影響に就いて述べたが本編では液体培養法により赤血球系に及ぼす影響を観察したのでここに報告する。

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験材料

1.5 kg 前後の白色健康雄家兎の大腿骨，脛骨及び上腕骨骨髓を第1編と同様の方法にて取出し実験に供した。次に健康人並びに再生不良性貧血患者骨髓については胸骨穿刺を行なつて得られる骨髓穿刺液を用いた。

核酸塩リンゲル氏溶液は前編と同じものを用いた。

第2節 実験方法

先づ，教室の岩崎，久米田の方法にて，健康家兎骨髓を無菌的に取出し，Gey 氏第1液に入れ，それをホモゲナイズし3000回転10分間遠沈後に上清を捨て沈澱物をグルコースを含めぬタイロッド氏液に入れ細胞浮游液を作り，それをボトルに2 cc 宛分注してその上に各種濃度の核酸溶液を1 cc 宛加え，ワールブルグ恒温槽（38°C）の中で振盪培養した。一方，人骨髓は教室の瀬崎²⁰⁾の方法に従つて培養した。即ち，血清0.4 cc，骨髓細胞浮游液1.2 cc，

核酸溶液 0.8 cc を小試験管に加え、ローラーチューブ内にて回転培養を行なつた。

第3節 観察方法

赤血球数： ワールブルグ恒温槽並びにローラーチューブで培養中の細胞浮游液を一定時間毎に滅菌メランジュールに吸い、ハイエム氏液に混じてピュルカー計算盤で計算した。

血色素量： 1/15 モル第1 磷酸カリ溶液 22 cc と 1/15 モル第2 磷酸ソーダ溶液 3 cc を混和し、それを蒸留水にて4 倍に希釈したもの 4 cc に細胞浮游液 0.2 cc を充分に混和溶解せしめ、不溶解部分を遠心沈澱せしめ、次に20%フェリシアンカリ溶液 1

滴を加え、10分後5%シアンカリ溶液 1 滴、更に2分後アンモニア 1 滴を加え、その後10分以内にベックマン分光光度計にて測定した。

第3章 実験成績

第1節 健康家兎骨髓 (表1, 2 図1, 2, 3, 4)

1) RNA 溶液を添加した場合

10% RNA 溶液の添加では No. 29, No. 30 に於いて著明な赤血球数の増加を示したが、No. 28 では却つて対照に劣る値を示した。血色素増加量は全体的に対照に劣る傾向を認めた。2% RNA 溶液では全例に於いて赤血球増加率は明らかに対照より高値を

表1 健康家兎骨髓への添加

家兎番号	添加物	赤血球数 (×103) (増加率)				ヘモグロビン量 (mg/dl) (増加量)			
		0	3	6	9	0	3	6	9
No. 26	リングル氏液	212	225 (+ 6.1)	214 (+ 0.9)	257 (+21.2)	270	190 (- 80)	190 (- 86)	190 (- 80)
	10 % RNA	228	270 (+18.4)	254 (+11.4)	211 (- 7.4)	395	340 (- 55)	340 (- 55)	370 (- 25)
	2 % RNA	205	225 (+ 9.7)	212 (+ 3.1)	200 (- 2.4)	370	370 (0)	370 (0)	370 (0)
	1 % RNA	220	268 (+21.8)	312 (+41.8)	298 (+35.4)	290	300 (+ 10)	310 (+ 20)	240 (- 50)
	0.5% RNA	218	321 (+47.2)	282 (+29.3)	290 (+ 30)	342	170 (- 172)	190 (- 152)	190 (- 152)
No. 27	リングル氏液	172	186 (+ 8.1)	168 (- 2.3)	177 (+ 2.9)	190	190 (0)	190 (0)	190 (6)
	10 % RNA	194	190 (- 2.0)	204 (+ 4.9)	182 (- 6.1)	260	220 (- 40)	280 (+ 20)	280 (+ 20)
	2 % RNA	163	187 (+14.1)	204 (+25.1)	172 (+ 5.5)	260	190 (- 70)	190 (- 70)	240 (- 20)
	1 % RNA	178	192 (+ 7.7)	245 (+37.6)	201 (+12.8)	240	240 (0)	220 (- 20)	190 (- 50)
	0.5% RNA	162	189 (+16.6)	179 (+10.4)	178 (+ 9.8)	260	260 (0)	290 (+ 30)	240 (- 20)
No. 28	リングル氏液	213	285 (+ 338)	346 (+67.1)	340 (+59.6)	220	290 (+ 70)	260 (+ 40)	260 (+ 40)
	10 % RNA	244	252 (+ 3.2)	240 (- 1.2)	202 (-17.2)	290	310 (+ 20)	230 (- 60)	230 (- 60)
	2 % RNA	196	242 (+23.9)	220 (+12.2)	201 (+ 2.9)	190	230 (+ 40)	230 (+ 40)	230 (+ 40)
	1 % RNA	205	292 (+42.4)	226 (+10.6)	204 (- 0.5)	240	260 (+ 20)	290 (+ 50)	290 (+ 50)
	0.5% RNA	225	306 (+36.0)	431 (+90.7)	420 (+86.6)	220	290 (+ 70)	240 (+ 20)	220 (0)

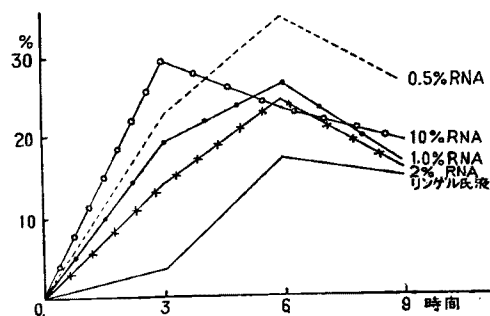
No. 29	リングル氏液	140	112 (-20)	170 (+21.4)	142 (+1.4)	240	290 (+50)	345 (+105)	190 (-50)
	10% RNA	138	264 (+91.3)	224 (+62.3)	184 (+33.3)	240	290 (+50)	300 (+60)	190 (-50)
	2% RNA	143	176 (+23.0)	260 (+81.8)	224 (+56.6)	240	90 (+50)	190 (-50)	300 (+60)
	1% RNA	162	172 (+6.1)	198 (+22.2)	174 (+7.4)	340	340 (0)	340 (0)	340 (0)
	0.5% RNA	139	152 (+9.3)	168 (+20.8)	142 (+2.1)	290	310 (+20)	300 (+10)	300 (+10)
No. 30	リングル氏液	114	100 (-12.2)	112 (-1.7)	162 (-10.4)	290	290 (0)	340 (+50)	340 (+50)
	10% RNA	101	140 (+38.6)	144 (+42.5)	146 (+44.5)	190	140 (-50)	240 (+50)	240 (+50)
	2% RNA	97	98 (+1.0)	98 (+1.0)	100 (+3.2)	72	96 (+18)	90 (+18)	90 (+18)
	1% RNA	95	108 (+13.6)	115 (+21.0)	120 (+26.2)	90	90 (0)	140 (+50)	90 (0)
	0.5% RNA	101	112 (+10.8)	125 (+23.7)	104 (+2.7)	240	220 (-20)	240 (0)	240 (0)

表2 健康家兎骨髓への添加

家兎番号	添加物	培養時間	赤血球数 (×10 ³) (増加率)				ヘモグロビン量 (mg/dl) (増加量)			
			0	3	6	9	0	3	6	9
No. 35	リングル氏液	84	98 (+16.6)	87 (+3.5)	72 (-14.2)	240	190 (-50)	170 (-70)	90 (-130)	
	10% DNA	102	112 (+9.8)	97 (-4.9)	88 (-13.7)	190	190 (0)	72 (-22)	190 (0)	
	2% DNA	84	85 (-1.1)	78 (-7.1)	62 (-26.1)	210	290 (+80)	140 (-70)	140 (-70)	
	0.5% DNA	104	152 (+46.1)	121 (+16.3)	120 (+15.3)	130	90 (-40)	108 (-22)	144 (+14)	
	0.1% DNA	74	827 (+10.8)	80 (+8.1)	72 (-2.7)	150	190 (+40)	190 (+40)	270 (+120)	
No. 36	リングル氏液	46	49 (+6.5)	50 (+8.7)	32 (-30.4)	180	190 (+10)	220 (+40)	90 (-90)	
	10% DNA	38	42 (+10.5)	36 (-5.2)	34 (-10.5)	220	240 (+20)	190 (-30)	180 (-40)	
	2% DNA	50	49 (-2.0)	42 (-16.0)	38 (-24.0)	150	270 (+120)	220 (+70)	190 (+40)	
	0.5% DNA	59	72 (+22.8)	69 (+16.9)	68 (+15.2)	230	180 (-50)	110 (-120)	110 (-120)	
	0.1% DNA	52	68 (+30.7)	42 (-19.2)	30 (-42.3)	395	270 (-125)	290 (-105)	250 (-145)	

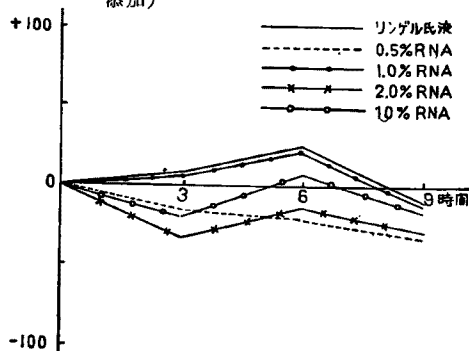
No. 37	リンゲル氏液	126	130 (+ 3.1)	131 (+ 3.9)	110 (- 9.5)	18	180 (+ 162)	130 (+ 112)	90 (+ 72)
	10 % DNA	82	96 (+17.1)	72 (-12.1)	69 (-15.9)	374	374 (0)	230 (- 144)	190 (- 184)
	2 % DNA	101	156 (+54.4)	142 (+40.5)	112 (+10.8)	180	150 (- 30)	170 (- 10)	230 (+ 50)
	0.5% DNA	98	128 (+30.6)	102 (+15.3)	100 (+10.8)	130	90 (- 40)	230 (+ 100)	18 (- 112)
	0.1% DNA	104	142 (+36.5)	120 (+15.3)	92 (-11.5)	270	280 (+ 10)	270 (0)	210 (- 60)
No. 38	リンゲル氏液	93	98 (+ 5.3)	88 (- 5.3)	49 (-41.2)	170	180 (+ 10)	150 (- 20)	100 (- 70)
	10 % DNA	115	107 (- 6.9)	67 (-41.7)	95 (-17.3)	140	130 (- 10)	30 (- 110)	45 (- 95)
	2 % DNA	126	140 (+11.1)	102 (-19.0)	86 (-31.7)	270	290 (+ 20)	180 (- 90)	190 (- 80)
	0.5% DNA	77	131 (+70.1)	112 (+45.4)	108 (+40.1)	72	90 (+ 22)	72 (- 0)	90 (+ 8)
	0.1% DNA	102	112 (+ 9.8)	100 (- 1.9)	86 (-15.6)	490	500 (+ 10)	230 (- 260)	270 (- 220)
No. 39	リンゲル氏液	90	93 (+ 3.3)	94 (+ 4.4)	71 (-21.1)	170	200 (+ 30)	250 (+80)	190 (+ 20)
	10 % DNA	140	132 (- 5.7)	131 (- 6.4)	111 (-20.7)	290	180 (- 110)	240 (- 50)	18 (- 272)
	2 % DNA	123	132 (+ 7.3)	107 (-12.1)	98 (-20.3)	100	180 (+ 80)	180 (+ 80)	230 (+ 130)
	0.5% DNA	127	164 (+29.1)	110 (-15.4)	108 (-15.0)	290	374 (+ 184)	422 (+ 132)	396 (+ 106)
	0.1% DNA	121	130 (+ 7.4)	120 (- 8.2)	86 (-28.9)	411	411 (0)	176 (- 241)	9 (- 402)

図 1. 赤血球増加率 (健康家兎骨髄への添加)



示した。血色素増加量は対照と有意の差を認めなかつた。1% RNA 溶液の添加では著明な赤血球数の増加をもたらし、培養後 3, 6, 9 時間に於ける赤血

図 2. 血色素増加量 (健康家兎骨髄への添加)



球増加率は平均それぞれ+18.3%, +26.5%, +16.2%を示した。一方対照は+3.4%, +17.0%, +14.9%であつた。血色素増加量は対照と有意の差

図 3. 赤血球増加率 (健康家兎骨髓への添加)

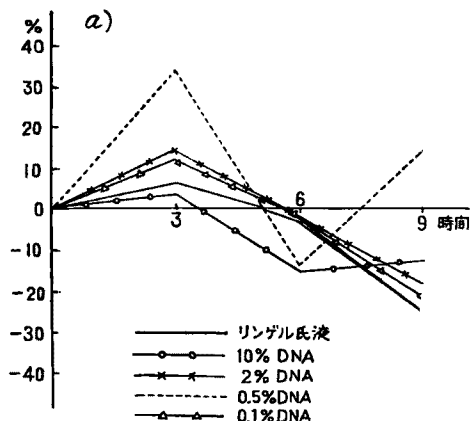
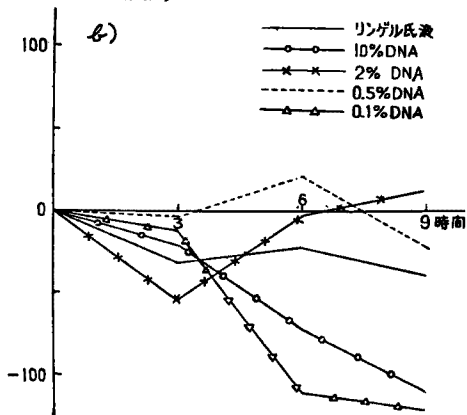


図 4. 血色素増加量 (健康家兎骨髓への添加)



を認めなかつた。0.5% RNA 溶液でも赤血球増加率は培養後 3, 6, 9 時間にて平均それぞれ +23.9%, +34.9%, +26.2% と著しい増加を示した。血色素量は対照と同程度の消長を示した。

2) DNA 溶液を添加した場合

10% DNA 溶液添加では赤血球増加率は対照と有意の差を認めなかつたが、血色素増加量は却つて対照より低い傾向を示した。2% DNA 溶液では赤血球増加率、血色素増加量共に対照と有意の差を認めなかつた。0.5% DNA 溶液では全例に於いて赤血球数の増加を示し、特に No. 38 では培養後 3, 6, 9 時間に於ける赤血球増加率はそれぞれ +70.1%, +45.4%, +40.1% を示した。一方、対照は +5.3%, -5.3%, -41.2% であつた。血色素量への影響は対照と有意の差を認めなかつた。0.1% DNA 溶液の添加では赤血球増加率は僅かに対照より高値を示したが、血色素増加量は対照より低値を示した。

第 2 節 健康人骨髓 (表 3, 4 図 5, 6, 7, 8)

1) RNA 溶液の添加した場合

5% RNA 溶液の添加で赤血球数は 3 例中 2 例に於いて減少の傾向を認め、対照は 3 例共増加傾向を示した。血色素量は対照が全例に於いて次第に減少傾向を示したのに対し 5% RNA 溶液の添加では No. 13 で僅かに増加した。2% RNA 溶液では培養 6, 12, 24 時間に於いて赤血球増加率は平均 +16.0, +15%, -3% を示し、一方対照は +6.3%, +2.3%, -3.6% であつた。血色素量は対照と同様全般的に減少傾向を示したが対照よりその程度は軽かつた。1% RNA 溶液の添加で赤血球増加率並びに血色素増加量共に対照と有意の差を認めなかつた。

2) DNA 溶液を添加した場合

5% DNA 溶液添加で赤血球増加率は対照より悪く No. 12 に於いて培養後 6, 12, 24 時間の増加率は -13%, -16%, -20% であつた。血色素量は対照が全例に於いて減少傾向を示したのに対し 5% DNA 溶液では No. 11 にのみ増加を示した。次に 2%

表 3 健康人骨髓への添加

症例	添加物	培養時間	赤血球数 (X10 ⁹) (増加率)				ヘモグロビン量 (mg/dl) (増加量)			
			0	6	12	24	0	6	12	24
第11例	リンゲル氏液		143.5	148 (+3)	119 (-10)	114 (-20)	260	210 (-50)	190 (-70)	190 (-70)
	5% RNA		133.5	140 (+4)	138 (+3)	129 (-3)	290	190 (-100)	110 (-180)	90 (-200)
	2% RNA		168.5	179 (+10)	172 (+6)	163 (-1)	260	220 (-40)	260 (±0)	210 (-50)
	1% RNA		134.5	142 (+5)	137 (+1)	126.5 (-6)	342	310 (-32)	210 (-132)	210 (-132)

第12例	リングル氏液	169	179 (+ 6)	177 (+ 4)	165 (- 2)	240	210 (- 30)	190 (- 50)	190 (- 50)
	5% RNA	192	181 (- 5)	171 (-10)	166 (-13)	240	260 (+ 50)	240 (± 0)	220 (- 20)
	2% RNA	172	194 (+12)	178.5 (+ 3)	165 (- 4)	290	310 (+ 20)	230 (- 60)	240 (- 50)
	1% RNA	165	178 (+ 8)	178 (+ 8)	170 (- 3)	260	190 (- 70)	190 (- 70)	190 (- 70)
第13例	リングル氏液	126.5	140 (+10)	143 (+13)	141 (+11)	190	110 (- 80)	110 (- 80)	110 (- 80)
	5% RNA	135	135 (± 0)	135 (± 0)	114 (-14)	260	290 (+ 30)	290 (+ 30)	290 (+ 30)
	2% RNA	119	150 (+26)	156 (+31)	110.5 (- 7)	220	220 (± 0)	220 (± 0)	190 (- 70)
	1% RNA	160	134 (+ 3)	128 (- 1)	123 (- 5)	290	240 (- 50)	260 (- 30)	210 (- 80)

表 4 健康人骨髓への添加

症 例	添加物	赤血球数 (×10 ³) (増加率)				ヘモグロビン量 (mg/dl) (増加量)			
		0	6	12	24	0	6	12	24
第11例	リングル氏液	143.5	148 (+ 3)	119 (-10)	114 (-20)	260	210 (-50)	190 (-70)	190 (-70)
	5% DNA	110.5	120.5 (+ 9)	112 (+ 1)	105 (- 4)	240	270 (+30)	260 (+20)	190 (-50)
	2% DNA	154.5	165 (+ 6)	160 (+ 2)	148 (- 4)	210	190 (-20)	200 (-10)	190 (-20)
	1% DNA	138	137.5 (-0.3)	141.5 (+ 2)	130 (- 6)	240	210 (-30)	190 (-50)	160 (-80)
第12例	リングル氏液	169	179 (+ 6)	177 (+ 4)	165 (- 2)	240	210 (-30)	190 (-50)	190 (-50)
	5% DNA	194	167 (-13)	161 (-16)	155 (-20)	270	210 (-60)	190 (-80)	190 (-80)
	2% DNA	202	235 (+16)	235.5 (+17)	222 (+ 9)	310	290 (-20)	260 (-50)	210 (-100)
	1% DNA	177	189.5 (+ 7)	181 (+ 2)	171 (- 4)	240	290 (+50)	300 (+60)	240 (± 0)
第13例	リングル氏液	126.5	140 (+10)	143 (+13)	141 (+11)	190	110 (-80)	110 (-80)	110 (-80)
	5% DNA	135	135 (± 0)	135 (± 0)	115 (-14)	240	260 (+20)	220 (-20)	190 (-50)
	2% DNA	128	147 (+15)	149 (+16)	145 (+13)	240	290 (+50)	210 (-30)	210 (-30)
	1% DNA	124	139 (+12)	136 (+ 7)	119 (+ 4)	220	220 (± 0)	190 (-30)	190 (-30)

図 5. 赤血球増加率 (健康人骨髄への添加)

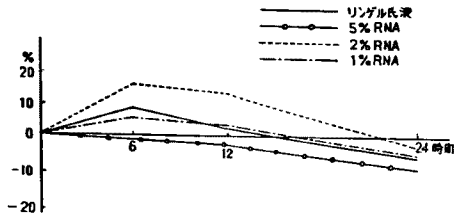


図 6. 血色素増加量 (健康人骨髄への添加)

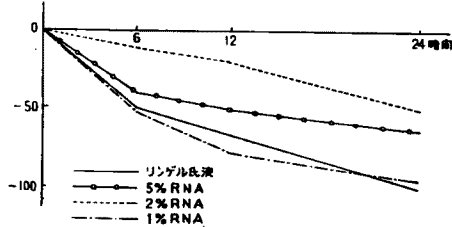


図 7. 赤血球増加率 (健康人骨髄への添加)

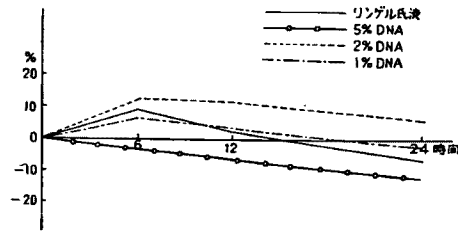
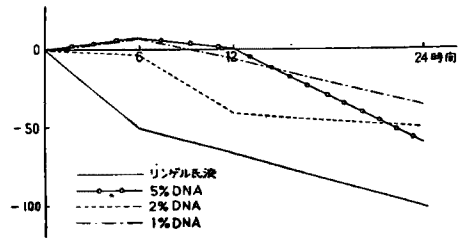


図 8. 血色素増加量 (健康人骨髄への添加)



DNA 溶液添加で赤血球増加率は対照より高値を示し、培養後 6, 12, 24 時間で平均 +12%, +11.6%, +6% を示した。一方対照は +6.3%, +2.3%, -3.6% であつた。血色素量は対照と同様減少傾向を示した。1% DNA 溶液の添加で赤血球数の増加は対照と有意の差を認めなかつた。血色素量は培養後 6, 12, 24 時間に於いて増加量は平均 +6.6, -6.6, -36.6 を示し、一方対照は -50, -66.6, -100 であつた。

-46% と対照の -4.6%, -6.3% よりもむしろ減少を示した。血色素量は対照が増加傾向を示さなかつたのに対し、5% RNA 添加では僅かに増加傾向を示した。2% RNA 溶液で赤血球増加率は対照より高値を示し、培養後 6, 12, 24 時間に於いてそれぞれ平均 +4%, 0%, -21% と培養後 6 時間で僅かに赤血球の増加を示した。血色素量は 5% RNA 溶液と同様その減少傾向は対照より軽度であつた。1% RNA 溶液で赤血球数は培養後 12 時間目迄は対照と同程度の減少を示したが 24 時間で対照は -36% に対し、1% RNA 溶液添加では -16% と減少傾向は軽度であつた。血色素量は培養後より漸次低下し、対照より減少が目立つた。

第 3 節 再生不良性貧血患者骨髄 (表 5, 6 図 9, 10, 11, 12)

1) RNA 溶液を添加した場合

5% RNA 溶液添加で赤血球増加率は培養後 6, 12, 24 時間に於いてそれぞれ平均 -27%, -36%,

表 5 再生不良性貧血患者骨髄への添加

症 例	添加物	赤血球数 (×10 ⁹) (増加率)				ヘモグロビン量 (mg/dl) (増加量)			
		0	6	12	24	0	6	12	24
福 田	リンゲル氏液	101.5	92 (-9)	93 (-8)	59.3 (-41)	190	210 (+20)	210 (+20)	90 (-100)
	5% RNA	116	82 (-29)	62 (-46)	60 (-48)	260	260 (±0)	290 (+30)	260 (±0)
	2% RNA	119	122.5 (+3)	101.5 (-6)	86.5 (-27)	310	340 (+30)	310 (±0)	340 (+30)
	1% RNA	94.5	96 (+6)	92 (-2)	94 (-0.5)	395	340 (-55)	340 (-55)	230 (-165)

河 本	リングル氏液	158	155 (-1)	115 (-26)	92 (-41)	200	150 (-50)	120 (-80)	90 (-110)
	5% RNA	138.5	99 (-27)	96 (-30)	80 (-42)	200	240 (+40)	210 (+10)	190 (-10)
	2% RNA	153.5	132 (-14)	120 (-21)	117.5 (-23)	210	190 (-20)	200 (-10)	190 (-20)
	1% RNA	118	98 (-17)	86 (-27)	76 (-53)	240	210 (-30)	190 (-50)	190 (-50)
大 元	リングル氏液	47.7	45.7 (-4)	55 (+15)	34.7 (-27)	260	290 (+30)	260 (±0)	240 (-20)
	5% RNA	48	36 (-25)	34 (-29)	29 (-39)	220	190 (-30)	190 (-30)	190 (-30)
	2% RNA	41.5	47 (+15)	53 (+27)	36 (-13)	190	190 (±0)	110 (-80)	110 (-80)
	1% RNA	56.5	61 (+8)	51 (-9)	48 (-15)	110	130 (+20)	90 (-20)	90 (-20)

表 6 再生不良性貧血患者骨髓への添加

症 例	添加物	赤血球数 (×10 ³) (増加率)				ヘモグロビン量 (mg/dl)(増加量)			
		培養時間							
		0	6	12	24	0	6	12	24
福 田	リングル氏液	101.5	92 (-9)	93 (-8)	59.3 (-41)	190	210 (+20)	210 (+20)	90 (-100)
	5% DNA	99	78 (-21)	65 (-34)	65 (-34)	290	310 (+20)	240 (-50)	240 (-50)
	2% DNA	108	91 (-16)	74 (-31)	85 (-21)	290	300 (+10)	300 (+10)	246 (-50)
	1% DNA	80.5	65 (-19)	90.5 (+12)	79 (-0.6)	220	260 (+40)	240 (+26)	240 (+20)
河 本	リングル氏液	158	155 (-1)	115 (-26)	92 (-41)	200	150 (-50)	120 (-80)	90 (-110)
	5% DNA	114	89 (-21)	67.5 (-41)	57 (-50)	190	190 (±0)	190 (±0)	90 (-100)
	2% DNA	149	170.5 (+14)	152.5 (+2)	94 (-37)	190	230 (+40)	210 (+20)	190 (±0)
	1% DNA	97	106 (+9)	89 (-8)	72 (-25)	210	190 (-20)	190 (-20)	190 (-20)
大 元	リングル氏液	47.7	45.7 (-4)	55 (+15)	34.7 (-27)	260	290 (+30)	260 (±0)	240 (-20)
	5% DNA	70.5	66 (-6)	59 (-16)	59 (-16)	210	190 (-20)	110 (-100)	110 (-100)
	2% DNA	43	53 (+23)	23 (-46)	33 (-23)	190	240 (+50)	210 (+20)	190 (±0)
	1% DNA	52	60 (+15)	50 (+3)	46 (-11)	210	190 (-20)	90 (-120)	96 (-120)

％ DNA 溶液添加では培養 6 時間後、+14％、+23％と赤血球数の増加を示した。色素増加量は培養 6, 12, 24 時間でそれぞれ平均+33.3, +16.6, -20 を培養 6, 12, 24 時間でそれぞれ平均+33.3, +16.6, -20 を示し、対照の±0, -20, -76 よりは著明な増加を認めた。1 ％ DNA 溶液添加で赤血球増加率は培養後 6, 12, 24 時間で平均+1 ％, +2 ％, -12.2 ％と対照より高値を示し、僅かであるが 12 時間迄は増加がみられた。色素量増加は対照と有意の差を認めなかつた。

第 4 章 総 按 並 び に 考 按

以上の実験成績を総括すると次の如くである。

1) 健康家兎骨髓への影響

先づ、RNA の添加では 0.5 ％, 1 ％ 溶液で赤血球増加率は対照の約 2 倍の値を示し、他の濃度でも対照より僅かに増加を示した。色素量の増加はどの濃度添加でも対照と有意の差を認めなかつた。次に DNA の添加では 0.5 ％ 溶液で赤血球の増加を示したが、他の濃度では対照と有意の差を認めなかつた。色素量は全ての濃度に於いて対照と有意の差を認めなかつた。

2) 健康人骨髓への影響

先づ、RNA 添加では 5 ％ 溶液で赤血球増加は対照より劣つたが、2 ％ 溶液添加では対照に比し僅かに赤血球数の増加を認めた。色素量は全般的に減少傾向を示したが、その中 2 ％, 5 ％ 溶液では対照よりその減少傾向が少なかつた。次に DNA 添加では 2 ％ 溶液で対照に比し僅かに赤血球数の増加を認め、他の濃度では対照より増加傾向を示さなかつた。色素量は DNA 溶液添加で対照より減少傾向が僅かであり、しかも 5 ％, 2 ％ 溶液では培養初期にむしろ増加傾向が認められた。

3) 再生不良性貧血患者骨髓への影響

RNA に就いて、2 ％ 溶液添加では培養初期僅かに赤血球数の増加を認めた。一方、対照は全経過を通じて赤血球数の増加傾向は全く認めなかつた。色素量は 5 ％, 2 ％ 溶液添加で、培養初期に僅かに増加を示したが対照は色素量の増量を全く認めなかつた。次に DNA に就いて、赤血球数は対照が減少一方であつたのに対し、1 ％, 及び 2 ％ 溶液では僅かに増加傾向を認めた。色素量は 2 ％ 溶液で対照より増量を示し、他の濃度では対照と有意の差を認めなかつた。

以上の実験成績が示す如く、健康人並びに再生不

良性貧血患者骨髓に対しては健康家兎骨髓への添加実験成績と比較して赤血球数の増加率が低かつたのはその実験方法に原因するものと考えられる。即ち、人骨髓穿刺にて採るために、穿刺に際し末梢血が混入し、健康家兎骨髓を直接取り出しホモゲナイズした場合と比較して赤芽球数が少ないためと推測される。

さて、骨髓造血機能と核酸の關係に就いては既に第 1 編で述べたが、特に赤血球系造血と核酸の關係に就いて森³⁶⁾、上村⁴⁾、長瀬²⁶⁾等の文献を挙げることにする。

既に、森は RNA が骨髓細胞の内特に前赤芽球、好塩基性赤芽球等の未熟細胞に多量に集積している事を指摘している。又、教室上村は正常並びに諸種実験的貧血時の家兎骨髓の核酸染色を行ない、瀉血家兎では骨髓内細胞に正常家兎に比し多量の RNA, DNA を証明し、特に赤芽球系にその増加が顕著であり、一方再生不良性貧血患者では骨髓内赤血球系核酸量が健康人に比し非常に少ない事を証明している。又、教室の長瀬は各種実験的貧血家兎骨髓の核酸磷の推移に就いて定量的並びに P³² を用いて時間的に克明に追求を試み、網状赤血球数と骨髓核酸磷の消長が平行關係にあると結論している。

核酸を生体に与えた場合の赤血球系に及ぼす影響について、林田²⁸⁾は家兎に核酸ソーダを毎 kg, 5 mg を静注し、末梢血及び骨髓の赤血球系に何等変化を認めなかつた。又、Doan⁵⁴⁾等も家兎に核酸ソーダ 1 g を注射し赤血球系には何等影響を認めていない。私は体外組織培養法を用いて核酸が白血球系に及ぼす程著しいものではないが、骨髓赤血球系に対し僅かながら刺戟作用のあることを認めた。林田、Doan 等の実験で何等影響を認めなかつたのは注射した核酸量が私の実験と比較して非常に少ないためと考えられる。

次に再生不良性貧血患者骨髓の液体培養に就いては教室宇治⁶⁾の詳しく研究しているところで、本症では健康人骨髓に比して培養液中の赤血球の崩壊が著明で血球の形成を凌駕し、培養初期より赤血球の減少傾向がみられると報告しているが、私の実験に於いても健康人より赤血球の減少が著明であつた。しかし、核酸溶液添加によりその減少をある程度おさえる事が出来たことは本症骨髓に対して添加した核酸がその赤血球系造血を促したためと考えられる。

第5章 結 語

液体培養法を応用して健康家兎，健康人並びに再生不良性貧血患者骨髓を培養し，これに各種濃度の核酸溶液を直接添加し，その赤血球系造血に及ぼす影響を観察し，次の結果を得た。

1) 健康家兎骨髓に対して，RNA 並びに DNA の至適濃度溶液の添加は赤血球系造血を明らかに亢

進させた。

2) 健康人骨髓に対して，RNA 並びに DNA の至適濃度溶液の添加は赤血球系造血を軽度亢進させた。

3) 再生不良性貧血患者骨髓に対しても RNA 並びに DNA の至適濃度溶液の添加は赤血球系造血を軽度亢進させた。

全 編 の 総 括

核酸の骨髓造血機能に及ぼす影響を検討するため，骨髓体外組織培養法を応用して骨髓の白血球系，粒球系並びに赤血球系に及ぼす核酸の直接影響を究明した。

白血球系に及ぼす影響について，先づ健康家兎骨髓を被覆法を用いて培養したところ，RNA 並びに DNA 溶液の添加は白血球系造血機能を亢進せしめた。即ち，最適濃度の RNA 溶液添加で，増生面積は対照（リンゲル氏液添加）の約 2.5 倍を示し，細胞密度も軽度に増加した。偽好酸球機能の中，墨喰能は対照の約 2 倍の高値を示し，遊走速度も軽度亢進を示した。次に DNA 溶液では最適濃度溶液の添加で増生面積は対照の約 1.5 倍，細胞密度は約 2 倍の値を示した。偽好酸球機能の中，墨粒貪喰能は対照の約 3 倍の高値を示したが，遊走速度は対照と有意の差を認めなかつた。更に臨床培養法を応用して健康人並びに再生不良性貧血患者骨髓を培養し，核酸溶液のみの添加を試みた。その結果，組織増生は勿論のこと細胞密度，遊走速度に対して，対照（リンゲル氏液添加）より著しい好影響を認めた。特に再生不良性貧血患者骨髓に対し，核酸と V. B₁₂ の混合溶液添加は核酸溶液の単独添加より好影響を認めた事は今後，該疾患の研究並びに治療面に関して何等かの示唆を与えるものと考えらる。

粒球系に及ぼす影響については巨核球機能と粒球分離能が平行関係にある事実に基き，核酸の巨核球機能に及ぼす核酸の直接添加の影響を観察した。健康人骨髓に対しては最適濃度の RNA 溶液添加は粒球分離を呈する巨核球の出現を可成り多数に認めたが，対照（リンゲル氏液添加）は全くそれを認めな

かつた。DNA 溶液添加でも軽度の巨核球機能亢進を認めた。再生不良性貧血患者骨髓に対しては最適濃度の RNA 並びに DNA 溶液添加で軽度の巨核球機能亢進を促し，又 V. B₁₂ との混合溶液添加では RNA 並びに DNA 溶液単独添加より機能亢進を示した。

次に液体培養法を用いて赤血球系に及ぼす影響を検討した。健康家兎骨髓に対しては最適濃度の RNA 並びに DNA 溶液の添加で明らかに赤血球数の増加を促し，特に RNA 溶液添加では対照（リンゲル氏液添加）の約 2 倍の増加率を示した。健康人並びに再生不良性貧血患者骨髓に対しても最適濃度の RNA 並びに DNA 溶液添加で軽度の赤血球数の増加を認めた。就中，再生不良性貧血患者骨髓に対し，対照は培養後時間の経過と共に赤血球数は減少を示したが RNA 並びに DNA 溶液添加では培養初期において赤血球数の増加傾向を認めた。色素量は健康人並びに再生不良性貧血患者骨髓に対し，RNA 並びに DNA の最適濃度溶液添加は色素形成に多少刺激的に作用した。

擱筆するに臨み終始御懇篤なる御指導御校閲を賜わつた恩師平木深教授並びに角南講師に深甚なる謝意を表す。

（本論文の要旨は日本血液学会第 20 及び 21 回総会に於いて発表した）。

参 考 文 献

1) 天野：日新医学，36，579，昭24。

2) 伊藤：ビタミン，5，94，452，昭21。

3) 岩崎：岡山医会誌，68，1315，昭31。

4) 上村：岡山医会誌，66，643，昭29。

- 5) 宇垣：未発刊。
- 6) 宇治：岡山医学会誌，71，1418，昭34。
- 7) 大藤：最新医学，10，2642，昭30；11，433，652，昭31。
- 8) 大藤他：東京医事新誌，73，403，昭31。
- 9) 菊地他：最新医学，6，822，昭26。
- 10) 菊地：総合臨床，30，960，昭29。
- 11) 岸川：九州血液研究同好会誌，6，37，昭31。
- 12) 久米田：岡山医学会誌，70，2191，昭33。
- 13) 桑原：日血会誌，14，264，昭26。
- 14) 古賀：京都医学会誌，37，1550，1940。
- 15) 紺野：生化学，26，260，昭29。
- 16) 佐々木：岡山医学会誌，70，3345，昭33。
- 17) 下方：ビタミン，6，36，昭28。
- 18) 角南：岡山医学会誌，68，1170，昭31。
- 19) 角南他：日血会誌，19，81，1956。
- 20) 瀬崎：未発刊。
- 21) 高橋：日消化器病会誌，52，41，昭30。
- 22) 谷：十全会雑誌，41，3514，昭11。
- 23) 谷：岡山医学会誌，71，718，昭34。
- 24) 田村：岡山医学会誌，70，2629，昭33。
- 25) 長瀬：岡山医学会誌，67，31，昭30。
- 26) 西下：岡山医学会誌，71，2369，昭34。
- 27) 林他：日本病理学会誌，42，総会号，417，昭29。
- 28) 林：岡山医学会誌，70，4007，昭23。
- 29) 林田：熊本医学会誌，11，10，昭10，11。
- 30) 服部他：最新医学，16，2362，昭36。
- 31) 平木：最新医学，14，138，昭34。
- 32) 平木：日血会誌，22，711，昭34。
- 33) 牧野：ビタミン，4，450，昭26。
- 34) 牧野：ビタミン，3，43，昭25。
- 35) 宮下：岡山医学会誌，71，2369，昭34。
- 36) 森：日血会誌，16，20，昭28。
- 37) 李：岡山医学会誌，71，5067，昭34。
- 38) 亘理：岡山医学会誌，71，5955，昭34。
- 39) Abrams：Arch. Bioch.，30，90，1915。
- 40) Ahlström et al：Arkiv. Kemi. Mineral gesl.，19，13，1945。
- 41) Altmann：Arch. Anat. Physiol. Abst.，524，1889。
- 42) Ames et al：J. A. M. A.，29，472，1897。
- 43) Andreason & Aclesen：Acta physiol. Scand.，10，258，1945。
- 44) Brown et al：J. Biol. Chem.，180，333，1949。
- 45) Carrel and Burrows：J. A. M. A.，55，1379，1910。
- 46) Carrel and Burrows：J. Exp. Med.，13，387，1911。
- 47) Carrel and Baker：J. Exp. Med.，44，387，1926。
- 48) Carrel and Baker：J. Exp. Med.，44，503，1926。
- 49) Cabot. & Wood：Clin. Exam. of the Be.，81，1897。
- 50) Caspersson et al：Chromosoma，2，132，1941。
- 51) Caspersson et al：Sym. Src. Exp. Biol.，1，127，1947。
- 52) Coliez et al：Prease. Med.，63，36，1137，1955。
- 53) Davidson et al：J. Path. Bact.，60，1，1948。
- 54) Doan et aln et al：J. Exp. Med.，47，403，1928。
- 55) Fischer：Natur，London，144，113，1939。
- 56) Fischer：Gewebezüchtung 2nd Ed.，München，1927。
- 57) Habetin：Wien，Arch. Inn. Med.，7，329，1923。
- 58) Hays：Am. J. Med. 216，528，1948。
- 59) Harrison：Proc. Soc. Exp. Biol. Med.，4，140，1907。
- 60) Haurowitz：Quart. Rev. Biol.，24，93，1949。
- 61) Israëls：J. Path. u Bact.，50，145，1940。
- 62) Jacobi：Z. Exp. Path. u Therap.，22，266，1921。
- 63) Katsuta et al：Japan. J. Exp. Med.，22，173，189，195，1952。
- 64) Kornberg et al：Bioch. Biophys. Acta，21，197，1956。
- 65) Kossel：Ber. d Chem.，27，2215，1894。
- 66) Kutsky：Proc. Soc. Exp. Biol. Med.，83，390，1953。
- 67) Lajtha & Callender：Blood，6，1234，1951。
- 68) Lawrance：J. Cell & Comp. Physiol.，35，387，1950。
- 69) Levene et al：Nucleic Acid，Chemicol Catalog Co.，New York，1931。
- 70) Levine：Ber. d Chem.，42，335，1909。
- 71) Lutwakmann：Bioch. J. 49，300，1951。

- 72) Martin et al: J. Lab-Clin. Med., 36, 916, 1950.
73) Norris et al: Am. J. Physiol., 152, 175, 1948.
74) Norikoff & Potter: J. Biol. Chem., 173, 233, 1948.
75) Ochoa et al: Proc. of Intern Sym. on Enzyme Chem., 44, Maruzen Tokyo, 1958.
76) Osgood and Brownlee: J. A. M. A. 107, 123, 1936.
77) Osgood and Brownlee: J. A. M. A. 108, 1793, 1936.
78) Rich et al: Bull. Johns. Hopkins Hospital, 65, 29, 1939.
79) Richardson: Biochem. J., 30, 2184, 1939.
80) Rosenow: Acta Haematologia, 1, 5, 1951.
81) Rowx: 日微会誌, 19, 966, 大14.
82) Schmiedeberg: Arch. Exp. Path., 43, 57, 1900.
83) Schwietzer: Biochem. Ztoch., 338, 291, 1956.
84) Spiegelmann et al: Arch. Biol. Chem., 13, 387, 1948.
85) Tenant et al: Cancer Res., 2, 218, 1942.
86) Thorell: Acta. Med. Scand., 127, 534, 1944.
87) Wells: Med. News., New York, Oct., 17, 1896.
88) Wright: Virchow's Arch. Bd., 186, 55, 1906.
89) White: J. Path. Bact., 59, 223, 1947.
90) Ziegler: Allg. Path., 1, 314, 1896.

Effect of Nucleic Acids on Bone-Marrow Tissue Culture

Part 3. Effect of nucleic acids on the erythrocyte series of bone marrow in normal rabbits, normal persons, and patients with aplastic anemia

By

Ryohei Yamasaki

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

By means of clinical culture method, the author added RNA and DNA at various directly to the media in which was cultured the bone marrow of normal rabbit, normal person, and aplastic anemia, with the purpose to see the effect of these nucleic acids on the erythropoiesis, and obtained the following results, .

1. The addition of RNA and DNA at optimal concentration to the bone marrow tissue culture of normal rabbit clearly accelerated erythropoiesis.
 2. The addition of RNA and DNA at optimal concentration revealed a slight accelerating effect of erythropoiesis of normal human bone marrow in tissue culture.
 3. In the case of the bone marrow tissue of aplastic anemia patient, likewise the addition of RNA and DNA at optimal concentration showed a slight accelerating effect of erythropoiesis.
-