

家兎皮下組織内における血色素の分解に関する研究

第 3 編

家兎皮下組織内に牛血色素液及び家兎抗牛血色素を注入
した際の血色素 heme 及び globin の変化に就て

岡山大学医学部第一内科教室（主任：小坂教授）

山 本 将 雄

〔昭和 34 年 5 月 8 日受稿〕

緒 言

第 2 編において牛血色素液に抗血清を作用させた際の生体内血色素の分解過程を heme 及び globin の両者において追求したが牛血色素液をそのままに使用せず、第 1 編と同様血球のままとして使用したため血球内血色素に及ぼす抗血清の影響及び溶血後の変化等複雑な因子が混入し当初の目的が十分果し得られたとは断じえられないものがあつた。然しながら血球として血色素液を用いる際は第 2 編にのべた通り血球の生体内破壊とそこに同時に存在する抗血清がその都度作用すること及び第 2 編に明らかにされた如く抗血清により一時変性された血色素 globin は再び回復されること等から、血色素より胆汁色素の生成される過程における globin の変化について興味ある成績をえたこととなる。既に教室正岡、山村（裕）らは試験管内において抗血清を反応経過に応じ作用させて heme の分解過程を追及し globin の意義を明らかにしている。そこで著者は血色素に先づ抗血清を作用させて血色素 globin に変性を起させた後の反応液を生体内に注入して血色素 heme 及び globin の変化を追及し当初の目的を明らかにすると共に前記実験成績及び教室正岡が行つた試験管内実験成績と比較検討して生体内に於て行われる血色素分解の複雑な過程を heme 及び globin の立場から考察し興味ある成績を得たので報告する。

実験材料並びに方法

実験材料

1. 抗牛血色素血清の調製法
第 1 編の通り行つた。

2. 注入用血色素液の調製法

第 1 編の通り行いその濃度 10 gr% のものを使用した。

3. 実験動物

第 1 編同様体重 2 kg 以上の成熟雄性家兎を使用した。

実験方法

上記方法にて調製した血色素液と抗牛血色素液とを同量に混じ 2 時間室温に放置し両者が十分反応するのをまつて遠心沈殿し、その沈渣を分離し、これを乳鉢にて摺り潰し、生理的食塩水を、棄却した上清液量だけ加えて懸濁液とし、この 1 cc 宛を家兎大腿内側皮下組織内に数ヶ所注入し第 1 編、第 2 編と同様経時にその部位を摘出し、一部を組織化学的検査に、他を凡て血色素 globin 測定にあてた。

実験成績

1. 血色素 globin の消長

組織内の注入牛血色素 globin の消長を経時に追及すると第 1 表の如くなる。即ち注入後 24 時間ではその値は著しく低いが経時に次第に上昇し、第 7 日で最高に達し、第 10 日に及び、第 14 日より低下の傾向を示した。

2. 組織学的観察

注入後 24 時間

肉眼的には暗紫赤色を呈し鏡検すると半流動性暗赤色で、血塊周辺部は淡赤色を呈し、中に組織球を少数認める。該部は Ralph 反応陽性、鉄反応では淡青色を呈した。

第 2 日

血塊周囲は僅かに淡桃色調を帯び Ralph 反応弱陽性、鉄反応では青染する。鏡検すると黄褐色顆粒

第1表 家兔皮下組織内血色素 globin の消長
抗原稀釀○

| 注射後 例 沈降素値 | 抗原稀釀○ | | | |
|------------------|--------|--------|--------|--------|
| | I | II | III | IV |
| 第1日 | 640 | 320 | 320 | |
| 2 | 10,240 | 2,560 | | 640 |
| 4 | 20,480 | | 320 | |
| 7 | 40,960 | 10,240 | | 40,960 |
| 10 | 40,960 | 10,240 | 20,480 | 40,960 |
| 14 | 10,240 | 5,120 | 20,480 | 20,480 |

抗血清抗体値 64,000倍

並に組織球を少數認める。鉄反応を行うと淡青染し、発煙硝酸で酸化すると淡緑色となる。錯酸亜鉛汎度反応では bilipurpurin の赤色螢光を又醋酸亜鉛 alkohol では黄褐色螢光を発す。これら所見により該顆粒は hemo-siderin と考えられる。

第4日

血塊周辺部の黄褐色調素は次第に増加し、この色素帶中に少數の黄色色素を見、鉄反応陰性、発煙硝酸で酸化すると緑変し bilirubin 色素と考えられる。

第7日

肉眼的には血塊は吸収され僅かに認めうる程度である。鏡検すると瀰漫性橙色で不定形斑状黄褐色色素を少數細胞外に散在的に認めた。この色素は鉄反応陰性で、発煙硝酸で酸化すると徐々に褪色し、ついには淡黄色又は無色に近くなる。又紫外線顕微鏡で観察すると、黄色の螢光を発し、bilifuscin と診定された。

第10日

吸収がはやく肉眼では殆んど不明で、皮下結合織を見ると前回に比してやや多数の不定形黄褐色色素を認め、前同様 bilifuscin と考えられた。

組織球内過程を見ると第2日目黄褐色顆粒を貪喰した組織球を少數認める。鉄反応を行うと淡青染し、醋酸亜鉛汎度反応では bili-purpurin の赤色螢光を又醋酸亜鉛 alcohol では黄褐色螢光を発す。これら所見により顆粒は hemosiderin と考えられる。爾後の変化は吸収が速かなためか組織球内の分解過程は明瞭でなかつた。

総括並びに考按

教室正岡によれば試験管内において血色素に予め抗血色素 globin 血清を作用させて血色素 globin

の変性を起させた後、*l*-ascorbin 酸及び分子酸素を作用させた場合には血色素の胆汁色素への分解が起らぬという。正岡はこれらの結果を教室永井が行った加熱、alkali による血色素 globin 変性時の実験成績と併せて、血色素 globin が上記反応過程に入る前に著しく変性を受けると、以後の反応は進行しないものと結論し、血色素 globin の担体としての意義を明かにした。

著者は正岡が行つたと同様の実験を生体内において行い、その過程を追及したのであるが、注入血色素 globin の沈降値は注入後著しく低下しているが、第2日より次第に回復し、第7日において最高値を示した。即ち抗血清により変性を受けた血色素 globin は組織内では再び回復する。この成績は第2編でえた成績と同様である。

次にその際の血色素 heme の分解過程を組織化学的に追及すると、第2日では少量の hemosiderin 顆粒を、第4日では更に bilirubin を、第7日では bilifuscin を認めたが、吸収が速かなためか、第2、3編に認めたような hematoidin 結晶を認める時期を失し、第7日で既に血塊を殆んど認めていない。一方対照として血色素のみ注入の場合についても検討したが、吸収が速かなためか、この際は明瞭な血色素より hemosiderin (これは第1編で検討した通り choleglobin 乃至その類似の中間代謝物質に相当する) をへて、bilirubin 更には bilifuscin への分解過程を追及出来なかつた。従つて血色素に予め抗血色素血清を作用させ、反応の完了をまつて、皮下組織に注入した場合、血色素 heme の分解は可成り順調に進行し、血球のまま注入した際と変わらない。即ち血色素のみ注入した対照例が、吸収の速かなため、一定の結果をえられなかつたので、血色素 globin の変性に伴う反応の抑制を確認出来なかつたが、皮下組織中では血色素 globin の変性の回復と共に速かに bilirubin 更には bilifuscin へと分解されることとなり、試験管内実験とは著しく異なる。

又皮下組織中の globin の消長は既述の如くその沈降値の回復と共に、血塊を殆んど認めず、bilirubin、更には bilifuscin の色素塊のみを認める。第10、14日においても、その値を高度に維持しているところから、血色素の分解に伴い、globin は分離し、その吸収の困難なため長く組織中に残存することがうかがわれる。即ち血色素 heme は globin の変性の回復と共に速かに分解されて逐次

吸収され、globin のみ残存することとなる。この際変性を受けた血色素が注入された場合、血色素 heme は globin より遊離し、heme は組織中の他の蛋白と結合して分解し、或はそのまま速かに吸収される場合も一応想定する必要があるが、教室の西信が家兎の皮下組織中へ hematin を注入した際の観察では、上記の観察と同様に bilirubin への分解過程を証明しているが、注入第4日において hemosiderin を、第5日において bilirubin を証明し、反応は却つて遅延しており、従つて斯様な迂遠な過程が起るとは考えられない。斯くて第1編で考察した如く、血色素より組織内で生成された bilirubin はその吸収程度からいつても globin と結合したものでなく、間接 bilirubin が bilirubin-globin であるとの説は受け入れられない。

結論

家兎の大脛内側皮下組織中に牛血色素に予め抗血色素血清を2時間作用させたものを注入して、血色

素 globin の消長を血清学的に、血色素 heme の分解過程を組織化学的に追及し、次の結果を得た。

1. 抗血色素血清により変性を受けた血色素 globin は組織内注入後次第に変性より回復する。
2. 血色素 globin の変性より回復するにつれて、heme は hemosiderin より bilirubin 更に bilifuscin に分解されるが、血色素 globin の変性に伴い heme が遊離して分解される過程は認められない。
3. 血色素 globin は heme の分解の進むにつれて分離し、組織中に長くとどまるが、heme の分解物質は比較的速かに吸収される。

主要文献

- 1) 正岡：医学研究，23卷9号，1709，(昭28)
- 2) 永井：医学研究，22卷8号，1121，(昭27)
- 3) 西信・医学研究，25卷7号，1273，(昭30)
- 4) 人見：医学研究，23卷3号，398，(昭28)
- 11) N. Fiessinger, A. Gajdos & M. Polonowski : C. V. Soc. biol. 135, 1572, (1941)
- 12) R. Lemberg : Hemacina Compounds and Bile Pigments, Interscience, New York. (1949)

Studies on the Process of Hemoglobin Decomposition in the Subcutaneous Tissue of Rabbit

Part 3. Changes of the heme and the globin after the injection of bovine hemo globin and anti-bovine hemoglobin serum of rabbit into the rabbit-subcutaneous tissue

By

Masao Yamamoto

1st Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyoko Kosaka)

By injecting the bovine hemoglobin (previously mixed with anti-hemoglobin serum and left standing for two hours) into the subcutaneous tissue on the inner side of the rabbit femur, the author studied changes of the globin serologically and also pursued histochemically

the course taken by the decomposition of the heme. The following are the results.

1. The globin degenerated by anti-hemoglobin serum returns to the normalcy gradually after the injection into the tissue.

2. As the degeneration of the globin recovers, the heme is broken up from hemosiderin to bilirubin and then to bilifuscin, but no processes such as the liberation of heme accompanying the degeneration of the globin and subsequent decomposition of it can be recognized.

3. The globin is liberated as the decomposition of the heme proceeds and it is held in the tissue for a long time, but the decomposed product of the heme are absorbed rather quickly.
