

骨 髄 に 関 す る 実 験 的 研 究

第 三 編

P^{32} による骨髓内循環状態の検索及び 主要全身骨々髄の燐代謝に就て

(本論文の要旨は昭和28年11月第七回日本内科学会中四国地方会に於て大藤助教授により発表された)

岡山大学医学部平木内科 (主任 平木 潔教授)

講 師 副 島 哲 郎

〔昭和29年3月17日受稿〕

内 容 目 次

緒 言

第一実験 骨髓内循環状態の検索

- a) P^{32} 標識赤血球の骨髓灌流
- b) 家兎大腿骨各部位に於ける I^{32}

緒 言

医学的実験分野に於ける放射性同位元素の応用には、純粹に tracer として之を用いる場合と、その同位元素に関する生化学的、生物学的代謝の研究に応用する場合とがある。 P^{32} は適当な半減期を有し、強い β 線を放射するので広く追跡実験に応用されているが、燐は又細胞活動のエネルギー代謝に関与する重大な因子でもあるので P^{32} を用いて或る組織の燐の動きを把握し、之により該組織の活動状況を察知することも可能である。

現教室の業績によれば骨髓内の血液循環状態は複雑且緩慢と考えられ、此の複雑な循環状態を検索する方法として、Stewart 氏法による最短循環時間の測定、5%葡萄糖或は1%サイアジンの骨髓灌流を行い栄養静脈血中の該濃度を曲線として表す方法等が用いられている。然し乍ら前者は最短循環時間を示すのみであり、特異な血管構造から最も重要と考えられる緩慢なる骨髓内血液(貯溜血)の動きを捉える為には後二者に大きな意義ありと考えられるが、之等は何れも液体であり、

の分布状態及びその時間的变化

第二実験 主要全身骨々髄の燐代謝に就て 総括並びに考按

結 論

有形成分たる血球の動きを視うには今一步の不満を感ずるのである。依て私は P^{32} を以て標識した血球を用い、正常状態に於ける骨髓内循環状態の検索を試みた。又之に関連して家兎骨髓の各部位に於ける P^{32} の分布状態及びその時間的变化をも検査した。

現全身骨中の何れに造血機能が旺盛であるかに就ては、従来成熟動物に於ては主として扁平骨並びに短骨が造血を営むと云われており、Neumann⁸¹⁾ (1868) 及び Bizozzero⁶²⁾ (1868) が始めて造血に対する骨髓の意義を認識して以来、Neumann⁸²⁾, Hunter⁷⁴⁾, Piney⁸³⁾, Askanazy⁶¹⁾ 等の赤色髄分布に関する研究があり、殊に Custer & Ahlfeld⁶⁴⁾ は各骨に於ける赤色髄、脂肪髄の比率の年令的推移をグラフとして表している。然し乍ら之等は何れも解剖学的所見による分布であり、総括的な機能的方面に就ては、その方法の困難な事からも満足すべき文献を見出せない。

茲に於て私は P^{32} を用いて主要全身骨々髄の機能を燐代謝の面から比較検討せんと試みたのである。

第 一 実 験

骨髓内循環状態の検索

a) P^{32} 標識赤血球の骨髓灌流

実験方法

成熟家兎の血液 2 cc より血球を分離し之に P^{32} 100 μ c を加え、10 分おきに振盪しつつ 37°C の孵卵器中に 2 時間保ち、生理的食塩水を以て 3 回洗滌、標識血球浮游液を作製した。該家兎を、第一編に述べた灌流実験の術式に従い大腿骨栄養動静脈を露出し、 P^{32} 標識血球浮游液 0.1 cc を栄養動脈より注入し、爾後 1 ～数分毎に栄養静脈より 0.1 cc 宛採血し、硫酸硝酸にて湿式灰化の後、磷酸マグネシウムアンモン法により沈澱せしめ、濾紙上に沈着させその放射能を Geiger-Müller 管で測定した。

又上述の方式により標識血球を灌流し、同様の時間的間隔で $\frac{1}{4}$ 注射針を装着した注射筒を以て栄養静脈より採血し、3 滴宛濾紙に吸着せしめ、レントゲンフィルムに密着し Radioautography を行つて 30 日後現像、各時間に於ける黒化の程度を比較した。

第 1 表 家兎骨髓循環状態 II Radioautographyによる黒化度の推移

注射後	40"	1'30"	2'30"	3'30"	5'	6'	7'	9'	9'30"	10'30"	11'	12'	14'~60'
黒化度	—	卅	卅	卅	—	—	+	卅	+	卅	+	+	—

卅 著明な黒化 卅 中等度の黒化 + 辛うじて認め得る黒化

b) 家兎大腿骨各部位に於ける P^{32} の分布状態及びその時間的变化

実験方法

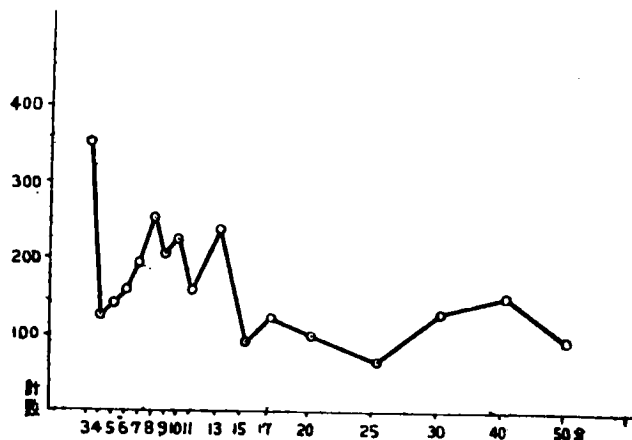
2 匹の家兎耳静脈に夫々体重 pro kg 100 μ c の P^{32} を投与し、2 分後及び 30 分後に殺して大腿骨々髓を上 $\frac{1}{3}$ 、中 $\frac{1}{3}$ 、下 $\frac{1}{3}$ に区分して採取し、湿式灰化後夫々の counts/min. /g tissue を測定した。

実験成績

大腿骨々髓に於ける P^{32} の分布は第 2 図に示す如く、投与後 2 分に於ては上 $\frac{1}{3}$ は 1544、中 $\frac{1}{3}$ は 948、下 $\frac{1}{3}$ は 584 と著明な差を以て上中下の順となる。次に注

実験成績

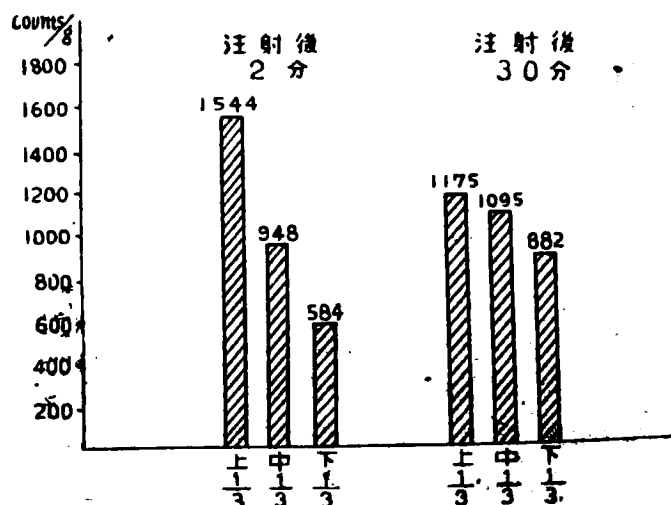
試料の counts/min. を曲線を以て表すと第 1 図の如く二峰性の曲線を得た。即ち注入

第 1 図 家兎骨髓循環状態 I
 P^{32} に依る標識赤血球の骨髓灌流

後第 1 回目の採血に当る 3 分後に第一の山を、10 分を中心とし 7～13 分に亘るかなり凹凸のある第二の山を現した。

又 Radioautograph に於ても第 1 表の如く注入後 2 分前後と 10 分前後に明瞭な黒化を見た。

第 2 図 家兎骨髓循環状態 III



射後 30 分に於ては三者が殆ど接近している。

第 二 実 験

主要全身骨々髄の磷代謝に就て

実験方法

成熟家兎各 6 匹宛の皮下、静脈、筋肉、腹腔内に夫々 100 μ c/kg の P^{32} を投与し 3, 6, 12, 24, 48, 72 時間後に主要全身骨即ち大腿骨、下腿骨、上腕骨、前腕骨、肩甲骨、寛骨、脊椎

骨々髄を採取し、湿式灰化、磷酸マグネシウムアンモン法による沈澱の後、counts/min/g. tissue を測定した。

実験成績

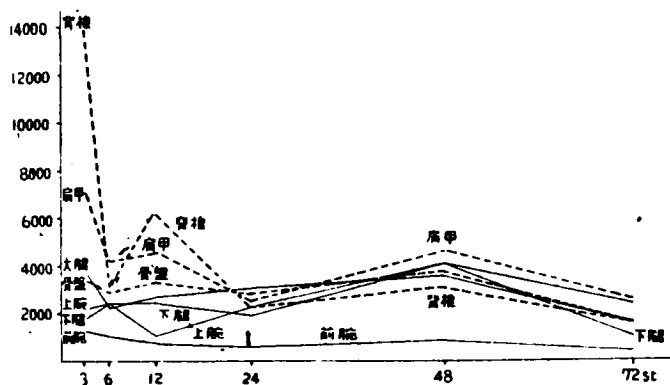
先づ皮下投与の場合は第 3 図に示す如く、3 時間に於て脊椎が抜群の高値を示し肩甲之に次ぎ、続いて大腿、寛骨の順を占め、6 時間に於て肩甲、脊椎、寛骨の順、12 時間で脊椎肩甲、寛骨の順を示し、48~72 時間では各骨の差が無くなる。但し前腕のみは終始低値を占め、且殆ど動揺を見ない。

次に静脈内投与の場合は、第 4 図の如く各骨共 3 時間に於て最高値を示し、寛骨、上腕、脊椎、肩甲の順を占め、6 時間では一般に 3 時間に比し急激な計数の減少を見せるが、独り肩甲のみは非常な高値であり、之に続いて脊椎、寛骨と短骨群が上位を占め、12~48 時間に於ても相当の差を以て短骨群が高値を示すが、長骨中上腕骨のみが短骨群に比肩する高値を示すのが注目される。前腕骨が最低値を占め且終始動揺の少いことは皮下投与の場合と同様である。

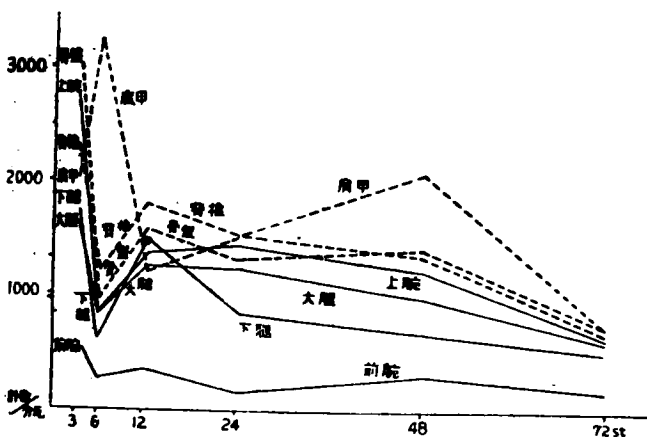
筋肉内投与に於ては第 5 図の如く 3 時間に於て既に肩甲、寛骨、脊椎の短骨群に高値を見、6~12 時間に於ても依然短骨群上位を占め、24 時間に於て全般に最高値となるが順位は脊椎、肩甲、上腕、寛骨、以下長骨となつて、茲に於ても短骨群が高値であると共に、上腕の進出が注目される。48 時間に於て脊椎、肩甲は 24 時間と殆ど同様の高値を保持するが、他は減少して寛骨、上腕、大腿、下腿、前腕の順となり、72 時間では各骨の差は僅少となる。

次に腹腔内投与にては第 6 図の如く当初より短骨群が上位を占めるが、

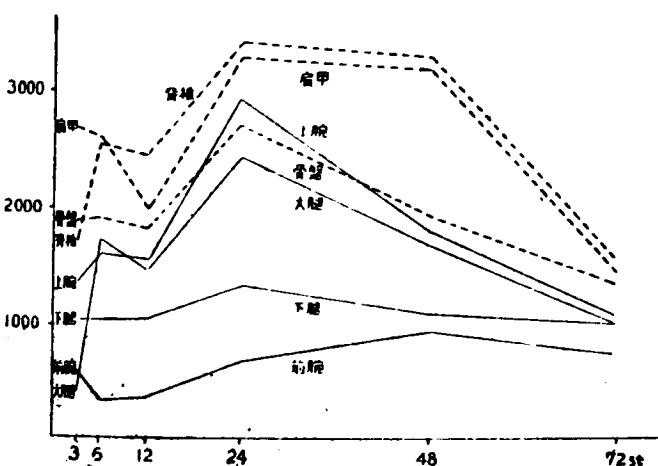
第 3 図 家兎骨髄の磷代謝 I 皮下投与



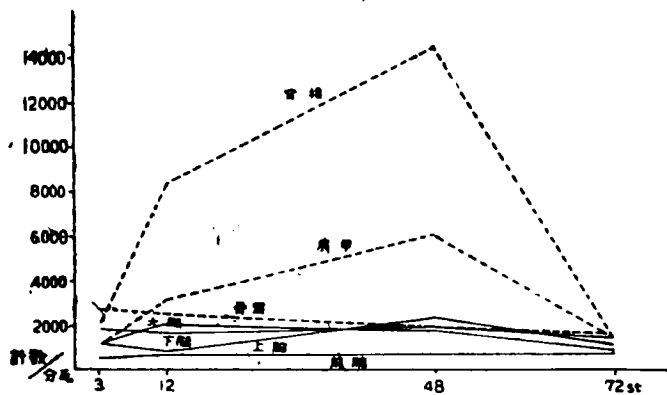
第 4 図 家兎骨髄の磷代謝 II 静脈内投与



第 5 図 家兎骨髄の磷代謝 III 筋肉内投与



第6図 家兎骨髓の磷代謝 IV腹腔内投与



12時間にて脊椎は著明に上昇し、次で肩甲、寛骨、以下長骨の順となり、48時間に於て脊椎は更に著明に増加、肩甲も亦増加を示すが、茲に於ても上腕の短骨群への進出を見る。而して72時間には各骨の差が全く無くなる。

総括並に考按

以上の実験成績を総括すれば次の通りである。

1) P^{32} 標識血球浮游液を家兎大腿骨栄養動脈に注入し、時間おきに栄養静脈より一定量採血してその放射能の消長をみるに、注入後2~3分に現れる第一の山と、10分前後を中心とする第二の山を有する二峰性の曲線を得た。又、Radioautographyに於ても黒化度の推移に於て同様の結果を得た。

2) P^{32} を家兎耳静脈内に注射し、2分後及び30分後に大腿々髓を上、中、下に区分して採取し、夫々の P^{32} の分布を観るに、注射後2分では著明な差を以て上、中、下の順となり、30分後では三者が殆ど接近している。

3) 家兎に P^{32} を皮下、静脈、筋肉、腹腔内投与して主要全身骨々髓に於ける磷代謝をみるに、何れの投与方法に於ても脊椎、肩甲、寛骨の短骨群に旺盛であり、長管骨では一般に之に比して低いが上腕は時に短骨群に匹敵する値を示すことがあり、前腕骨は常に最も低値を示す。

扱、教室大藤¹³⁾の研究によれば骨髓の血管構造殊にその静脈系は、極めて複雑多岐で且広大な容積を有し、従つて骨髓内血流は極め

て緩慢で、又その循環路も単一ではなく複雑なものと考えられる。平木、塩月¹⁴⁾は5%葡萄糖を家兎大腿骨栄養動脈より注入し、時間おきに栄養静脈血の血糖量を測定して10~15分に最高濃度に達する事を認め、又1%サイアジンをを用いて同様の方法で略々同様の結果を得、骨髓内血流の緩慢なる事を実証している。

一方、教室橘、柴田³³⁾はG. N. Stewart氏法により、家兎の内側大腿骨回旋動脈より3%食塩水を注入後栄養動脈に設置した電極の抵抗が減少し始める瞬間迄の時間、即ち最短循環時間を測定し、平均7.5秒と云う値を得ている。

而して今回私の行つた P^{32} 標識血球による方法は、之等の方法の有力な裏付となると共に更に一步を進め、生理的循環状態を一層端的に把握し得たと信ずる。即ち標識血球浮游液注入後2~3分にして既に最高の値を示す第一の山は注入圧により稍々極端に表現された最短循環路を示し、10分前後に現れる第二の山こそ緩慢な血流に基く主循環路に相当するものと解され、謂わば貯溜血の動きを示すものと言えよう。

而して曲線にかなりの凹凸を示すことは、主循環路も単一ではなく、錯綜せる静脈竇網、の示す様にかなり複雑なことを示唆するものであろう。

又之に関連して行つた次の実験に於て、耳静脈内に P^{32} を注射後2分では大腿骨々髓の各部分に著明な P^{32} の分布の差を認め、30分後には殆ど接近しているのを認めたことは、之亦骨髓内循環の緩慢性を証明するものであり、更に又灌流曲線の特異性を裏付けるものでもあり、骨髓は脾臓と同じくその血管構造からも判るように謂わば血液の貯溜池をなしている事が判る。

扱赤色骨髓の分布に関して、Neumann⁸²⁾ (1882)は成人の手足の小骨、脛骨、腓骨、橈骨、尺骨に脂肪髓を認め、他方上腕骨、大腿骨には近位骨端部に小量の赤色髓が存する

ことを見出し、而して骨髄の脂肪化は四肢骨の末梢から軀幹に向つて進行すると結論し、求心性脂肪化の法則を提唱した。更に再生の場合は之と逆に遠心性の赤色髄再生が行われ、その順序は上腕骨、大腿骨、前腕骨、下腿骨、次で末梢の諸小骨であると云う。

又 Hunter⁷⁴⁾ は成人に於て赤色髄は長骨の両端と、肋骨、頭蓋骨に限局されると述べている。

Piney⁸³⁾ によれば、16才～18才の間では赤色髄は長骨の両端に限局されると信ぜられ、成人長管骨の骨髄分布は略々25才に於て達せられるが他の骨に於ては更に早く最終的分布に達する。但し脊椎の骨髄は一生を通じて赤色髄であり、肉眼的に脂肪の認められた唯一の例は83才の女であつたと云う。

Rastelli⁸⁴⁾ の人体に於ける骨髄分布模型図によれば赤色髄は主として脊椎、肋骨の大部分、及び寛骨の一部分に存し、上腕骨、大腿骨、脛骨の骨端部に次ぎ、前腕その他には極く少い。但し茲には頭蓋骨、肩甲骨に関しては記載がない。

又 Custer and Ahlfield⁶⁴⁾ は100例の人体に就て、脛骨、大腿骨、肋骨、胸骨、脊椎の各骨髄に於ける赤色髄と脂肪髄の比率の年令的推移をグラフとして表している。之によれば25才頃には脛骨、大腿骨の骨体部には赤色髄は殆ど無く、肋骨は約70%、胸骨は約70%、脊椎は75%の赤色髄を有し、殊に胸骨、脊椎はその後の年令に於ても著しい減少はない。而して骨髄刺戟に反応して赤色髄の再生する能力は脊椎が最も強く、次で胸骨、肋骨、大腿骨で脛骨は最も反応性が弱いと云う。

Askanazy⁶¹⁾ は成人の大多数に於て大腿骨、上腕骨の近位骨端部と、骨体部にも多少赤色髄があると云い、脊椎骨、肋骨等の軀幹骨には脂肪髄は無いと述べている。

以上諸家の所見を綜合するに多少の相違はあるが赤色髄は長管骨（四肢骨）に少く、短骨（軀幹骨）に多いことは概ね一致した意見である。

さて緒言にも述べた如く、磷は細胞活動のエネルギー代謝に関与する重大因子であるので、或る組織の磷の動きを把握することによつて組織細胞の活動状態を察知することが出来る。

即ち動物に与えられた F^{32} は細胞間液の P と交換が進行し更に組織細胞の P と置換が行われる。従つて骨髄に於ても核酸代謝の旺盛な部位、即ち造血機能の旺盛な部位に於ては P の置換が高度に行われる筈である。従つて私の実験成績は、各投与方法によつて時間的な差異はあるにしても、脊椎、肩甲、寛骨の短骨群の造血機能の旺盛であることを示すものであり、上述諸家の解剖学的所見に加えて機能的な面から之を有力に裏付けたのであるが、更に又就中脊椎は特に機能の高い事、及び長骨の中では上腕骨が意外に相当の高機能を保有する事を示唆した。

結 論

以上私は F^{32} を tracer として骨髄の血液循環状態を検討し、又骨髄の磷代謝を測定して次の結論を得た。

1) 家兎大腿骨々髄の循環路には循環時間2～3分の最短循環路と、10分前後を中心とする主循環路があることを認め、血流の緩慢且複雑なることを確認した。

2) 骨髄の磷代謝より観て、成熟家兎に於ては造血機能は短骨群、就中脊椎に旺盛であり、長骨では上腕骨が相当の高機能を有することを知つた。

拙筆に当り懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師平木教授、共に研究室に在つて自ら御指導を頂いた大藤助教授に深甚の謝意を表す。

文 献

- 1) 浅井：東京医学会雑誌，54巻，929頁，昭15。
- 2) 井上他3名：熊本医学会雑誌，15巻，509頁，

昭14。

- 3) 井上他2名：熊本医学会雑誌，17巻，235頁，

- 昭16. 24巻, 228頁, 昭23.
- 4) 井上・血液討議会報告第1輯, 258頁, 1948.
- 5) 井上・血液討議会報告第3輯, 61頁, 1950.
- 6) 今井: 日本内分泌学会雑誌, 12巻, 973頁, 昭11.
- 7) 岩間・日新医学, 40巻, 265頁, 昭28.
- 8) 上原: 岡山医学会雑誌, 62年別巻, 1頁, 昭25.
- 9) 岡: 実験医学雑誌, 15巻, 1151頁, 1263頁, 昭6. 16巻, 121頁, 150頁, 211頁, 昭7.
- 10) 大野: 実験医学雑誌, 11巻, 1201頁, 1221頁, 1224頁, 昭2. 12巻, 113頁, 953頁, 970頁, 昭3.
- 11) 小野: 実験医学雑誌, 10巻, 629頁, 1013頁, 1039頁, 大15.
- 12) 大藤: 日新医学, 40巻, 14頁, 79頁, 昭28.
- 13) 大藤: 総合医学, 10巻, 238頁, 昭28.
- 14) 沖中 自律神経系研究とその臨床的応用の一面 (単行本), 1950.
- 15) 勝沼 日本内科学会雑誌, 23巻, 1頁, 昭10.
- 16) 笠原・岡山医学会雑誌投稿中.
- 17) 北山: 鉤虫症の臨床 (単行本), 昭26.
- 18) 北山: 臨床の進歩, 4巻, 82頁, 1950.
- 19) 小林: 実験消化器病学, 7巻, 1077頁, 昭7.
- 20) 小宮 血球の神経性調節 (単行本), 昭27.
- 21) 小宮・熊本医学会雑誌, 12巻, 2355頁, 昭11.
- 22) 小宮・日本消化機病学会雑誌, 37巻, 443頁, 昭13.
- 23) 小宮他2名・熊本医学会雑誌, 4巻, 121頁, 昭3.
- 24) 小森: 日本血液学会雑誌, 7巻, 35頁, 50頁, 62頁, 昭18.
- 25) 酒井: 児科雑誌, 430号, 389頁, 昭11.
- 26) 佐藤: 実験血液病学, 大10.
- 27) 佐久間: 岡山医学会雑誌投稿中.
- 28) 下坂: 日本内分泌学会雑誌, 17巻, 102頁, 昭16.
- 29) 須賀: 日本内科学会雑誌, 42巻, 1頁, 昭28.
- 30) 高橋, 阿南・京城医学専門学校紀要, 8巻, 235頁, 昭13.
- 31) 竹山: 京都府立医科大学雑誌, 16巻, 895頁, 昭11.
- 32) 多田耀: 実験医学雑誌, 5巻, 99頁, 大10.
- 33) 橋, 柴田: 医学と生物学 投稿中.
- 34) 内藤: 岡山医学会雑誌, 64巻, 300頁, 304頁, 307頁, 310頁, 昭27.
- 35) 永野・東京医学会雑誌, 39巻, 230頁, 大14.
- 36) 中島(勝): 千葉医学会雑誌, 6巻, 1045頁, 昭3.
- 37) 中島(孝): 日本血液学会雑誌, 14巻, 51頁, 昭26.
- 38) 中村・熊本医学会雑誌, 4巻, 313頁, 昭3.
- 39) 西川, 岡本: 日本血液学会雑誌, 12巻, 141頁, 昭24.
- 40) 林田: 熊本医学会雑誌, 11巻, 1295頁, 1433頁, 1463頁, 昭10. 12巻, 135頁, 昭11.
- 41) 平岡・日新医学, 26巻, 731頁, 昭12.
- 42) 平木他2名: 岡山医学会雑誌, 60年, 106頁, 昭23.
- 43) 平木, 大森・岡山医学会雑誌, 別巻, 4号, 14頁, 昭26.
- 44) 平木, 藤井: 東京医事新誌, 69巻, 297頁, 昭27.
- 45) 平木, 塩月・医学と生物学, 22巻, 159頁, 昭26.
- 46) 藤井: 未発表.
- 47) 藤田・岡山医学会雑誌, 63巻, 433頁, 440頁, 447頁, 453頁, 昭28.
- 48) 米谷: 岡山医学会雑誌 投稿中.
- 49) 馬島: 好生館医事研究会雑誌, 37巻, 33頁, 昭6.
- 50) 馬島: 好生館医事研究会雑誌, 34巻, 2号, 1頁, 昭3.
- 51) 宮川: 病理学雑誌, 1巻, 9頁, 昭17.
- 52) 宮川: 実験医学雑誌, 6巻, 29頁, 大11.
- 53) 宮川: 実験医学雑誌, 7巻, 51頁, 大12.
- 54) 宮川: 治療及び処方, 17巻, 1頁, 673頁, 昭11.
- 55) 宮崎 日本血液学会雑誌, 12巻, 201頁, 昭24.
- 56) 宮崎 日本血液学会雑誌, 13巻, 24頁, 92頁, 昭25.
- 57) 村田: 実験医学雑誌, 27巻, 519頁, 669頁, 昭18.
- 58) 森川・東京医学会雑誌, 52巻, 95頁, 昭13.
- 59) 吉峰 京城医学専門学校紀要, 11巻, 414頁, 483頁, 543頁, 昭16.
- 60) 吉峰: 日本血液学会雑誌, 5巻, 498頁, 昭16.
- 61) Askanazy: zit. n. Rohr.
- 62) Bizzozero: cit. from. Piney.
- 63) Custer: Journ. of Lab. & Clin. Med., Vol. 17, p. 951, 1932.
- 64) Custer & Ahlfeld: Journ. of Lab. & Clin. Med., Vol. 17, p. 960, 1932.
- 65) Denecke: Verh. d. deutsch. gesell. f. inn. Med. Kong., 47, s. 243, 1935.
- 66) Drinker C, Drinker K, & Lund: Amer. Journ. of Physiol., Vol. 62, p. 1, 1922.
- 67) Drinker C & Drinker K: Amer. Journ. of Physiol., Vol. 40, p. 514, 1916.
- 68) Drummond: Brit. Med. Journ., No. 1, p. 1085, 1895.

- 69) Duverney : 竹山による。
70) Foà, Piero : Kongressz. f. d. ges. inn. Med., Bd. **83**, s. 542, 1936.
71) Fraser : Brit. Med. Journ., No. **1**, p. 1172, 1894.
72) Hedinger : Berl. klin. Wochenschr., Nr. **46**, s. 2121, 1913.
73) Hunt : Lancet, No. **1**, p. 282, 1896.
74) Hunter : cit. from Piney.
75) Klieneberger u. Carl : Die Blut-Morphologie der Laboratoriums-Tiere, (Leipzig) 1912.
76) Leake C : Journ. of Pharmacol. a. Exp. Therap., Vol. **22**, p. 109, 1924.
77) Leake C : Journ. of Pharmacol. a. Exp. Therap., Vol. **22**, p. 401, 1924.
78) Leake C & Leake E : do, Vol. **22**, p. 75, 1924.
79) Luschka : 竹山による。
80) Mann : Lancet, No. **1**, p. 599, 1894.
81) Neumann : Zbl. f. d. Med. Wiss., Jg. **16**, s. 689, 1868.
82) Neumann : do, Jg. **20**, s. 321, 1882.
83) Piney : Brit. Med. Journ., No. **2**, p. 792, 1922.
84) Rastelli : Zit. n. Rohr.
85) Rohr : Das Menschliche Knochenmark, 1949.
86) Schoen u. Berchtold : Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. **105**, s. 63, 1925.
87) Stockman : Brit. Med. Journ., No. **1**, p. 965, p. 1025, p. 1085, 1895.
88) Thalhimer : Journ. of Lab. & Clin. Med., Vol. **10**, p. 129, 1925.
89) Yoffey et al. : Brit. Med. Journ., No. **1**, p. 660, 1951.
-