

# 骨髓体外組織培養による急性瀉血家兎 骨髓の態度に関する研究

## 第 1 編

急性瀉血が家兎大腿骨々髓の增生面積に及ぼす影響に就て

岡山大学医学部平木内科教室 (指導: 平木 潔教授)

専攻生 沼 本 徹 郎

[昭和 32 年 12 月 12 日受稿]

### 内 容 目 次

第 1 章 緒 言	第 5 項 急性瀉血 8 時間後家兎骨髓培養
第 2 章 実験材料並びに実験方法	第 6 項 急性瀉血 12 時間後家兎骨髓培養
第 1 節 実験材料	第 7 項 急性瀉血 24 時間後家兎骨髓培養
第 2 節 実験方法	第 8 項 急性瀉血 2 日後家兎骨髓培養
第 3 節 観察方法	第 9 項 急性瀉血 3 日後家兎骨髓培養
第 3 章 実験成績	第 10 項 急性瀉血 5 日後家兎骨髓培養
第 1 節 予備実験	第 11 項 急性瀉血 7 日後家兎骨髓培養
第 2 節 本 実 験	第 12 項 急性瀉血 10 日後家兎骨髓培養
第 1 項 急性瀉血直後家兎骨髓培養	第 13 項 急性瀉血 14 日後家兎骨髓培養
第 2 項 急性瀉血 1 時間後家兎骨髓培養	第 14 項 急性瀉血 28 日後家兎骨髓培養
第 3 項 急性瀉血 3 時間後家兎骨髓培養	第 4 章 総括並びに考按
第 4 項 急性瀉血 5 時間後家兎骨髓培養	第 5 章 結 論

### 第 1 章 緒 言

周知の如く骨髓は機能的には最も重要な造血臓器として絶えず血球の新生を行い、又総ての伝染及び中毒に際しては防禦機転をも営み、且質量的にも非常に大なる器官である。切て骨髓造血機転に関しては多年凡ゆる角度より追求が試みられ、諸家に依る不撓の努力の結果、幾多の業績が発表されている。即ち、骨髓に於ける造血作用は血球分裂、成熟及び遊出の三段階に分れるが、その機転には内分泌系の影響は勿論神経支配及びそれに基づく血管作用も加わり極めて複雑多岐である。血球分裂、成熟過程に就ては Askanazy<sup>4)</sup>、Schilling<sup>63)</sup>、Schulten<sup>64)</sup> の組織細胞学的分野に於ける研究を見、更には Arinkin<sup>2)</sup> に依る胸骨穿刺法が簡易化され尚 Arief<sup>1)</sup> が之を改良するに及んで容易に生体の骨髓を取材し得るに至り、末梢血液像と骨髓像とが比較検討された。即ち骨髓有核細胞数及び赤芽球数 (Segerdahl<sup>65)</sup>、Rohr<sup>60)</sup>、

Greif<sup>11)</sup>、位田<sup>25)</sup>、加登<sup>34)</sup>、服部<sup>18)</sup>、Michael<sup>46)</sup> 等)、核分割像 (Lindebaum<sup>43)</sup>、井上<sup>28)</sup> 等)、核移動 (Ar-neth<sup>3)</sup>、Rohr<sup>60)</sup> 等) 或は核型指数 (Schilling<sup>63)</sup>、森田<sup>51)</sup> 等) により骨髓造血機能を窺知せんと試みられた。又骨髓の細胞化学的研究、即ち骨髓内核酸量の消長 (菊池<sup>36)</sup>、壇本<sup>19)</sup> 等) 及び核酸染色が提唱され、多糖類細胞化学にても Mc. Manus, Hoch-kiss<sup>24)</sup> による過沃度酸 Schiff 法が行われ、教室上村<sup>33)</sup> も各種血液疾患に対し骨髓像及び核酸並びに多糖類の細胞内分布を観察してその消長を概観した。

翻つて骨髓の血球遊出機転に関しては輒近漸く解明の曙光が射し初めた観があり、之と極めて密接な関係を有する骨髓血管構造に関しては岩男<sup>31)</sup>、富塚<sup>78)</sup>、橋本<sup>14)</sup>、教室平木<sup>20)21)</sup>、大藤<sup>55)</sup> 等の研究によりその全貌が明らかにされてきた。大藤<sup>55)</sup> の研究に依れば長管状骨の骨髓靜脈系は管腔頗る広潤で主幹靜脈竇、集合竇、靜脈竇の三部より成り骨髓中広大な容積を占め、一種の血液貯溜槽たらしめるもの

と考察し、教室副島<sup>72)</sup>も家兎静脈内に P<sup>32</sup> を注射する事により骨髓は謂わば血液の貯溜池をなしていると考えた。

抑々体内血液には循環血液と貯溜血液とがあり、前者は平素敏活な循環を営み直接生活に参与するが、後者は特殊血管領域で極めて緩慢な血流を営み、所謂貯溜血液として停滞し生活に直接参与する事が少い。勿論、循環血液と貯溜血液との間に劇然たる区別の存するものでなく、生体の要求に応じて臨機に移行し、以て血行の調節に重要な役割りを果している。例えば急性出血時には貯溜血液が直ち循環に参与し、次いで周囲組織液が血管内に侵入し失われた循環血液量を補充する。

扱骨髄の血球遊出機転は血管作用、即ち動脈系の収縮、拡張に基く血流速度によつて調節せられる事は教室塩見<sup>70)</sup>、藤井(昌)<sup>8)</sup>、三由<sup>47)</sup>、副島<sup>72)</sup>等によつて明らかにせられており又教室橋<sup>77)</sup>は家兎の急性瀉血後 1~2 時間に於て栄養静脈中に赤血球数、網赤血球及び白血球数、偽好酸球数の著しい増加を認め、この場合の血球遊出は全身の循環速度亢進の部分現象に基くものと言っている。

古来出血性貧血の恢復或は出血時の病体生理機能に関する報告は枚挙に遑なく、骨髓組織に就ても微に入り細を穿つて研究し尽された感が深い。而しながら之等は何れも死後細胞に就いて観察したものであつて夫々一顧の価値を認めるが、骨髓機能の全貌を物語るものとは遮断し得ない。茲に於て私は急性出血後の骨髓の態度を生態のまゝで観察せんと企てた。即ち家兎に急性出血を行い、出血時の骨髓の恢復機転を後述する教室考按の骨髓体外組織培養法を用いて時間的経過を追つて詳細に観察し得たので以下その成績を報告する。

## 第 2 章 実験材料並びに実験方法

### 第 1 節 実験材料

1) 実験動物：体重 2 kg 内外の成熟白色雄性家兎を約 2 週間一定の生活状態に馴致せしめた後用いた。

2) 培養組織：背位固定後、心臓穿刺により 1 分乃至 1 分 30 秒を費し、体重当り 20 cc の瀉血を行い、この際強力な吸引は避けた。瀉血後、後述の時期に瞬間的に撲殺して大腿骨を採取し、消毒殺菌した後骨柑子をもつて割り、取出した骨髓を予め滅菌シャーレにリングル氏液を充せる中に入れて入れる。

3) ヘパリン加血漿は実験 1 時間前に採取し前日

より絶食せしめた他家兎より、予めヘパリンを吸引せる注射器に心臓穿刺により約 15 cc の血液を採取後、3000 回転 15 分間の遠沈を行い、上清を滅菌試験管に採取する。

4) 鶏胎圧縮液は受精孵化鶏卵 9 日目のものを Fischer 圧搾器により圧搾し、得た粥状物を 3000 回転 15 分間遠沈してその上清を採取した。

以上操作はすべて可及的無菌的に行つた。

### 第 2 節 実験方法

培養方法は Carrel & Burrows<sup>6)</sup>、Fischer<sup>7)</sup> の被覆培養法を用いた。次にその概略を述べる。即ち a) 被覆硝子 (22×27 mm) 上にヘパリン加血漿をマント注射器 (1 cc) に吸引せるものを 1/2 針にて 1 滴滴下して、硝子中央に直径 1.5 cm なる様に拡げ、b) 一定小組織片 (1 mm<sup>3</sup> 程度のもの) をその中央に置き、c) 次に鶏胎児圧搾液を 1/2 針にて 1 滴滴下する。d) 次に凹窩載物硝子の凹窩の周囲にパラフィン対ワセリン (冬は 5 : 5、夏は 6 : 4) の混合物で枠を作り、裏返して先の被覆硝子に密着させる。e) そのまゝ 37°C の孵卵器中に入れ、10~20 分経過し血漿の凝固を見届けてから裏返して、周囲をパラフィンで封入する。f) 再び孵卵器内に入れ、時間毎に取出して観察する。

### 第 3 節 観察方法

観察はすべて培養後 3、6、12、24、48 時間目とした。

a) 増生面積の計測：37~38°C の保温箱内に顕微鏡を入れ、アッペの描画器を用いて新生組織を描画し、続いて増生の状態を逐時的に描画し、その面積をプランメーターで計測した。次で増生前後の差、即ち絶対成長価の原面積に対する比率を比較成長価とした。

b) 細胞密度の測定：接眼レンズ 5 倍、対物レンズ 100 倍にて増生帯の周辺部、中間部、中心部の 3 部に就て夫々一視野の細胞数を計算し、その和を密度指数 (d) とした。対照のそれに対する比率に 100 を乗じたものを密度係数 (D) とし、培養後 24 時間目の値をもつて現した。

## 第 3 章 実験成績

### 第 1 節 予備実験

健康家兎大腿骨々髄の被覆培養を行つた。健康家兎 10 例の比較成長価は第 1 表、第 1 図、密度指数は第 2 表に示す如くである。

以上の値を対照群平均値とした。

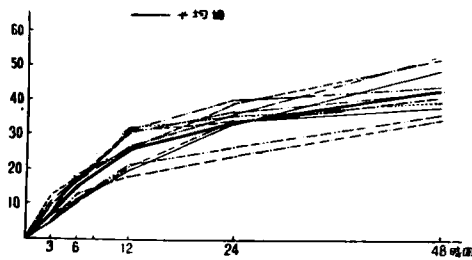
第1表 健康家兔骨髓培養比較成長値

家兔番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	5.28	11.28	19.85	33.83	49.60
No. 2	12.23	17.89	31.64	34.79	38.39
No. 3	5.92	12.87	18.24	24.68	35.34
No. 4	10.97	17.72	26.84	36.94	53.33
No. 5	9.98	16.85	32.12	40.23	44.72
No. 6	5.60	11.35	20.93	34.28	41.13
No. 7	6.49	11.53	21.46	27.00	36.86
No. 8	7.76	18.76	26.52	39.46	52.84
No. 9	7.52	17.40	31.38	37.02	43.58
No. 10	7.50	19.92	32.20	35.96	40.24
平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第2表 健康家兔細胞密度指数

家兔番号	d
No. 1	34
No. 2	28
No. 3	37
No. 4	32
No. 5	38
No. 6	40
No. 7	37
No. 8	34
No. 9	35
No. 10	29
平均	34.4

第1図 健康家兔骨髓比較成長値



第2節 本実験

背位固定後、体重当り 20cc の急性瀉血を行い、急性瀉血直後、1, 3, 5, 8, 12, 24時間、2, 3, 5, 7, 10, 14, 28日後の各々家兔3例に就て被覆培養を行い、組織の比較成長値、密度指数を計測し、3例の平均値を前記対照群平均値と比較検討した。合せて処置前後に耳静脈より採血し、白血球数、赤血球数及び色素量を算定した。

第1項 急性瀉血直後の家兔大腿骨髄  
増生面積

末梢血液像は第3表に示す如く白血球数は処置前と大差は見られなかつたが、色素量、赤血球数は減少した。骨髓の比較成長値は第4表、第2図に示す如く対照群平均より少々低下するが、密度指数は第5表に示す如くであり、密度係数は118であつた。

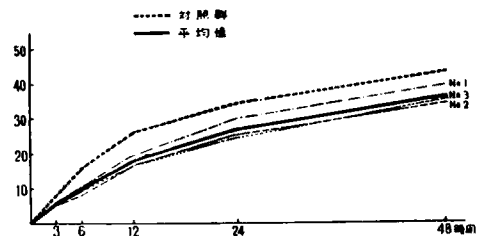
第3表 急性瀉血直後家兔の末梢血液像

家兔番号	検査時	白血球数	色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	5950	97	681
	処置後	6100	91	535
No. 2	処置前	6900	83	553
	処置後	7550	68	420
No. 3	処置前	6100	90	625
	処置後	6000	81	499

第4表 急性瀉血直後家兔骨髓比較成長値

家兔番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	5.26	10.51	19.52	30.14	39.76
No. 2	6.01	7.90	16.55	25.12	34.50
No. 3	5.36	9.75	16.67	24.91	35.69
平均	5.54	9.39	17.58	26.72	36.65
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第2図 急性瀉血直後家兔骨髓比較成長値



第5表 急性瀉血直後細胞密度指数

家兔番号	d
No. 1	38
No. 2	41
No. 3	43
平均	40.7
対照群平均	34.4

第2項 急性瀉血1時間後の家兔大腿骨髄  
增生面積

末梢血液像は第6表に示す如く白血球数は処置前より少々増加し、血色素量、赤血球数は瀉血直後より減少した。骨髓の比較成長価は第7表、第3図に示す如く瀉血直後より僅か高く、対照群より少々低下したが、密度指数は第8表に示す如くであり、密度係数は90であつた。

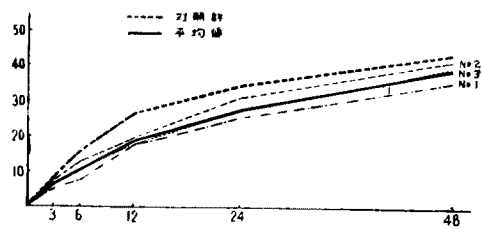
第6表 急性瀉血1時間後の家兔末梢血液像

家兔番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	7150	86	606
	処置後	9550	73	476
No. 2	処置前	9500	82	589
	処置後	9900	64	419
No. 3	処置前	8200	95	548
	処置後	10100	59	395

第7表 急性瀉血1時間後家兔骨髓比較成長価

家兔番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	5.09	7.13	17.40	25.34	35.78
No. 2	7.10	12.74	19.44	31.19	41.59
No. 3	6.56	10.14	17.59	27.26	39.65
平均	6.25	10.00	18.14	27.93	39.01
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第3図 急性瀉血1時間後家兔骨髓比較成長価



第8表 急性瀉血1時間後細胞密度指数

家兔番号	d
No. 1	33
No. 2	27
No. 3	30
平均	30.0
対照群平均	34.4

第3項 急性瀉血3時間後の家兔大腿骨髄  
增生面積

末梢血液像は第9表に示す如く白血球数は処置前より急激に増加し、血色素量、赤血球数は激減した。骨髓の比較成長価は第10表、第4図に示す如く対照群に比し甚だしく低下した。密度指数は第11表に示す如くであり、密度係数は97であつた。

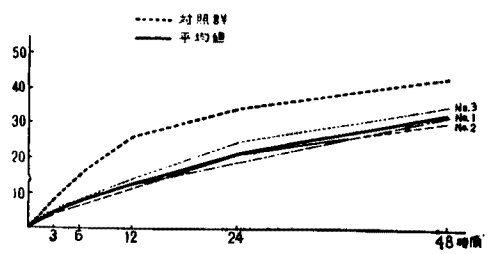
第9表 急性瀉血3時間後の家兔末梢血液像

家兔番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	7800	107	556
	処置後	15300	72	317
No. 2	処置前	6850	94	543
	処置後	10350	74	368
No. 3	処置前	7000	91	524
	処置後	11500	48	311

第10表 急性瀉血3時間後家兔骨髓比較成長価

家兔番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	3.94	7.43	12.41	19.10	32.99
No. 2	4.02	6.55	11.91	21.62	30.95
No. 3	5.32	8.01	14.28	25.0	35.43
平均	4.42	7.33	12.87	21.91	33.12
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第4図 急性瀉血3時間後家兔骨髓比較成長価



第11表 急性瀉血3時間後細胞密度指数

家兔番号	d
No. 1	29
No. 2	35
No. 3	36
平均	33.3
対照群平均	34.4

**第4項 急性瀉血5時間後の家兎大腿骨々髓  
増生面積**

末梢血液像は第12表に示す如く白血球数は処置前より極めて甚だしく増加したが、血色素量、赤血球数は漸次減少の一途を辿つた。骨髓の比較成長価は第13表、第5図に示す如く最低値を示したが、密度指数は第14表に示す如くであり、密度係数は90であつた。

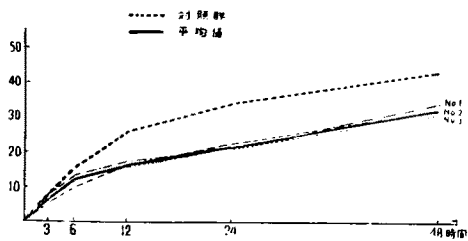
第12表 急性瀉血5時間後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	5950	80	528
	処置後	15400	55	312
No. 2	処置前	8900	90	601
	処置後	17000	68	412
No. 3	処置前	6400	89	495
	処置後	12100	52	285

第13表 急性瀉血5時間後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	7.78	13.29	17.38	20.99	34.51
No. 2	5.56	9.90	16.12	22.70	32.71
No. 3	6.13	12.38	15.98	21.34	31.56
平均	6.49	11.86	16.49	21.68	32.93
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第5図 急性瀉血5時間後家兎骨髓比較成長価



第14表 急性瀉血5時間後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	33
No. 2	29
No. 3	31
平均	31.0
対照群平均	34.4

**第5項 急性瀉血8時間後の家兎大腿骨々髓  
増生面積**

末梢血液像は第15表に示す如く白血球数は処置前より増加したが瀉血5時間後よりは減少を示し、血色素量並びに赤血球数は尚減少した。骨髓の比較成長価は第16表、第6図に示す如く対照群より未だ低下は認められたが、瀉血5時間後よりは増大し、密度指数は第17表に示す如くであり、密度係数は91であつた。

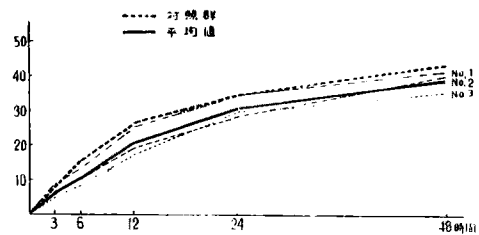
第15表 急性瀉血8時間後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	9300	89	604
	処置後	12200	61	392
No. 2	処置前	8800	86	522
	処置後	10900	50	313
No. 3	処置前	7500	90	615
	処置後	9350	67	420

第16表 急性瀉血8時間後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	8.76	13.33	25.21	34.88	41.74
No. 2	6.79	10.03	19.49	28.36	40.25
No. 3	5.22	8.83	17.79	29.90	35.30
平均	6.92	10.73	20.83	31.05	39.10
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第6図 急性瀉血8時間後家兎骨髓比較成長価



第17表 急性瀉血8時間後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	29
No. 2	30
No. 3	35
平均	31.3
対照群平均	34.4

**第6項 急性瀉血12時間後の家兎大腿骨々髓增生面積**

末梢血液像は第18表に示す如く白血球数は処置前に復帰したが、血色素量、赤血球数の減少は著明であつた。骨髓の比較成長価は第19表、第7図に示す如く対照群より稍々増加が認められたが密度指数は第20表に示す如くであり、密度係数は95であつた。

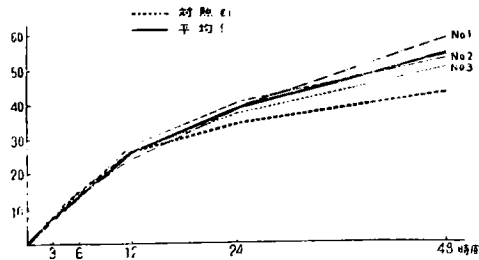
第18表 急性瀉血12時間後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (f)
No. 1	処置前	8300	77	477
	処置後	10500	48	331
No. 2	処置前	9750	85	513
	処置後	11700	56	321
No. 3	処置前	8800	83	556
	処置後	9700	57	401

第19表 急性瀉血12時間後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	7.14	14.93	24.52	39.08	59.44
No. 2	9.03	15.28	28.36	40.51	53.68
No. 3	9.01	13.87	26.35	37.25	50.79
平均	8.39	14.69	26.41	38.95	54.64
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第7図 急性瀉血12時間後家兎骨髓比較成長価



第20表 急性瀉血12時間後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	30
No. 2	33
No. 3	32
平均	31.7
対照群平均	34.4

**第7項 急性瀉血24時間後の家兎大腿骨々髓增生面積**

末梢血液像は第21表に示す如く白血球数は処置前に比し再び大なる増加を示したが、血色素量、赤血球数は益々極減した。骨髓の比較成長価は第22表、第8図に示す如く培養48時間値は対照群に比し約1.80倍に増大したが、密度指数は第23表に示す如くであり、密度係数は93であつた。

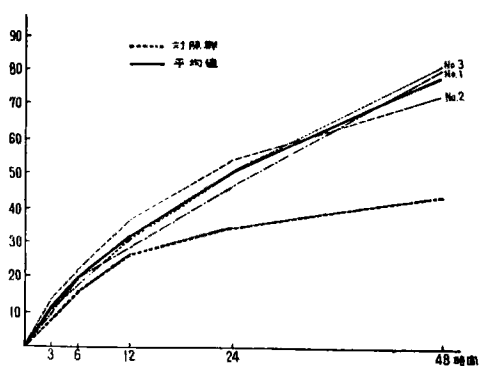
第21表 急性瀉血24時間後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (f)
No. 1	処置前	8050	79	591
	処置後	13400	48	334
No. 2	処置前	8100	73	516
	処置後	14500	49	289
No. 3	処置前	7050	78	468
	処置後	14700	47	253

第22表 急性瀉血24時間後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	9.89	19.41	28.12	46.66	80.42
No. 2	13.23	21.70	36.11	54.09	73.09
No. 3	10.49	17.36	30.52	50.16	82.12
平均	11.20	19.49	31.58	50.30	78.54
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第8図 急性瀉血24時間後家兎骨髓比較成長価



**第8項 急性瀉血2日後の家兎大腿骨々髓增生面積**

末梢血液像は第24表に示す如く白血球数は処置前より著明に増加したが、血色素量の減少は不変であ

第23表 急性瀉血24時間後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	33
No. 2	31
No. 3	29
平均	31.0
対照群平均	34.4

り、赤血球数は少々増加の兆を示した。骨髓の比較成長価は第25表、第9図に示す如く培養48時間値は対照群に比し約2.03倍の増大を認めたが、密度指数は第26表に示す如くであり、密度係数は99であつた。

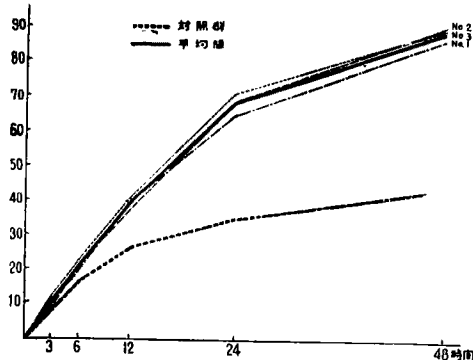
第24表 急性瀉血2日後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量(%)	赤血球数(万)
No. 1	処置前	8200	75	492
	処置後	17500	46	335
No. 2	処置前	7850	94	518
	処置後	18200	64	356
No. 3	処置前	7300	89	548
	処置後	16600	48	363

第25表 急性瀉血2日後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	10.16	19.12	39.93	64.68	86.55
No. 2	9.40	21.27	37.20	68.42	90.15
No. 3	12.40	22.56	40.35	71.03	89.27
平均	10.85	20.98	39.16	68.04	88.66
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第9図 急性瀉血2日後家兎骨髓比較成長価



第26表 急性瀉血2日後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	30
No. 2	36
No. 3	33
平均	33.0
対照群平均	34.0

第9項 急性瀉血3日後の家兎大腿骨々髓増生面積

末梢血液像は第27表に示す如く白血球数は処置前

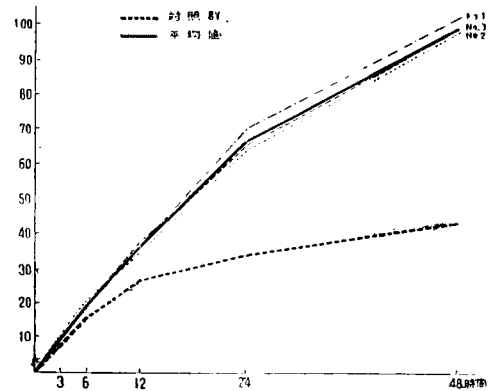
第27表 急性瀉血3日後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量(%)	赤血球数(万)
No. 1	処置前	6050	76	468
	処置後	14100	64	312
No. 2	処置前	8550	97	560
	処置後	15300	68	365
No. 3	処置前	5500	74	574
	処置後	14800	60	383

第28表 急性瀉血3日後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	9.28	18.74	36.12	70.46	102.60
No. 2	9.65	19.12	37.20	65.17	98.20
No. 3	9.96	20.77	34.95	64.01	98.39
平均	9.63	19.54	36.09	66.55	99.73
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第10図 急性瀉血3日後家兎骨髓比較成長価



第29表 急性瀉血3日後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	42
No. 2	45
No. 3	40
平均	42.3
対照群平均	34.4

より最も大なる増加を示し、血色素量、赤血球数も亦増加し始めた。骨髓の比較成長価は第28表、第10図に示す如く培養48時間値は対照群に比し約2.29倍の増大を認め、密度指数も第29表に示す如くであり、密度係数は127であつた。

第10項 急性瀉血5日後の家兎大腿骨々髓 增生面積

末瀉血液像は第30表に示す如く白血球数は処置前より増加するも瀉血2、3日後に比較し少々減少し、血色素量、赤血球数は少々増加した。骨髓の比較成長価は第31表、第11図に示す如く培養48時間値は対照群に比し約2.38倍と最も増大し、密度指数も第32表に示す如くであり、密度係数は106であつた。

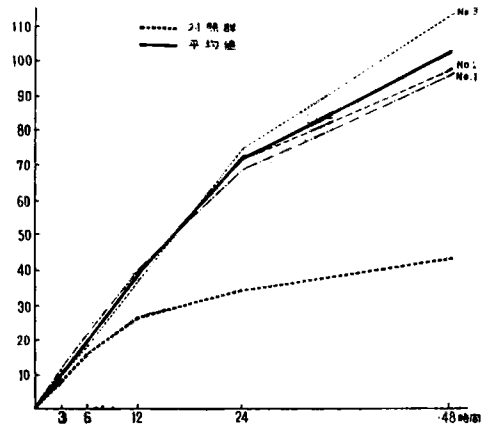
第30表 急性瀉血5日後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	7900	81	536
	処置後	13200	65	323
No. 2	処置前	8300	80	461
	処置後	12500	60	314
No. 3	処置前	6900	76	585
	処置後	11300	64	356

第31表 急性瀉血5日後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	11.23	21.31	40.10	69.52	97.43
No. 2	10.11	20.16	39.91	72.01	98.39
No. 3	9.80	18.51	37.83	75.50	114.84
平均	10.38	19.99	39.28	72.38	103.55
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第11図 急性瀉血5日後家兎骨髓比較成長価



第32表 急性瀉血5日後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	34
No. 2	34
No. 3	38
平均	35.3
対照群平均	34.4

第11項 急性瀉血7日後の家兎大腿骨々髓 增生面積

末梢血液像は第33表に示す如く白血球数は処置前より僅か増加していたが、血色素量、赤血球数も増加して来た。骨髓の比較成長価は第34表、第12図に示す如く培養48時間値は対照群に比し約1.85倍の増大が認められたが、密度指数は第35表に示す如くであり、密度係数は95であつた。

第33表 急性瀉血7日後の家兎末梢血液像

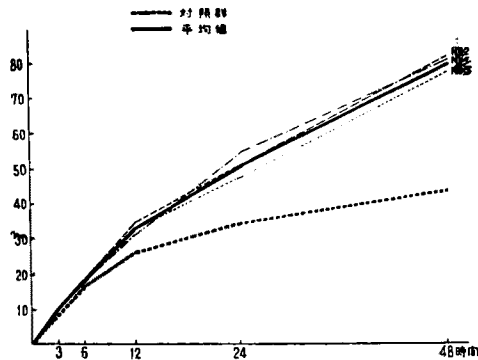
家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	7000	91	572
	処置後	9150	80	496
No. 2	処置前	5700	85	548
	処置後	8200	71	435
No. 3	処置前	8150	80	513
	処置後	10300	69	415



第34表 急性瀉血7日後家兎骨髓比較成長値

経過時間	3	6	12	24	48
家兎番号					
No. 1	9.28	17.74	31.12	54.41	81.59
No. 2	9.83	16.78	34.69	50.15	81.85
No. 3	9.36	17.25	32.39	47.35	78.25
平均	9.49	17.26	32.73	50.64	80.56
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第12図 急性瀉血7日後家兎骨髓比較成長値



第35表 急性瀉血7日後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	29
No. 2	31
No. 3	35
平均	31.7
対照群平均	34.4

第12項 急性瀉血10日後の家兎大腿骨々髓増生面積

末梢血液像は第36表に示す如く白血球数は処置前

第36表 急性瀉血10日後の家兎末梢血液像

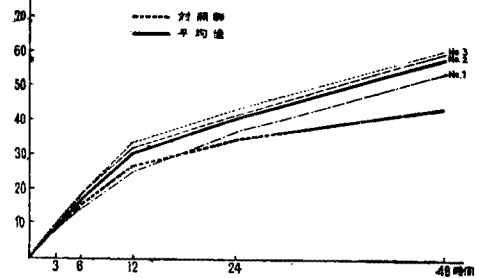
家兎番号	検査時	白血球数	血色素量(%)	赤血球数(万)
No. 1	処置前	7050	86	471
	処置後	8100	78	414
No. 2	処置前	8200	79	551
	処置後	8900	77	554
No. 3	処置前	7350	75	585
	処置後	8850	71	519

に比し稍々増加し、血色素量、赤血球数も処置前より僅か低下していた。骨髓の比較成長値は第37表、第13図に示す如く培養48時間値は対照群に比し約1.33倍の増大を示したが、密度指数は第38表に示す如くであり、密度係数は119であつた。

第37表 急性瀉血10日後家兎骨髓比較成長値

経過時間	3	6	12	24	48
家兎番号					
No. 1	7.74	14.06	25.0	36.70	53.83
No. 2	7.82	18.17	32.14	41.25	59.38
No. 3	8.91	18.10	33.21	43.25	60.18
平均	8.16	16.78	30.12	40.40	57.79
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第13図 急性瀉血10日後家兎骨髓比較成長値



第38表 急性瀉血10日後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	34
No. 2	43
No. 3	40
平均	39.0
対照群平均	34.4

第13項 急性瀉血14日後の家兎大腿骨々髓増生面積

末梢血液像は第39表に示す如く白血球数は殆ど処置前に復帰し、血色素量、赤血球数も亦共に略々処置前に復した。骨髓の比較成長値は第40表、第14図に示す如く培養48時間値は対照群に比し約1.25倍であつたが、密度指数は第41表に示す如くであり、密度係数122であつた。

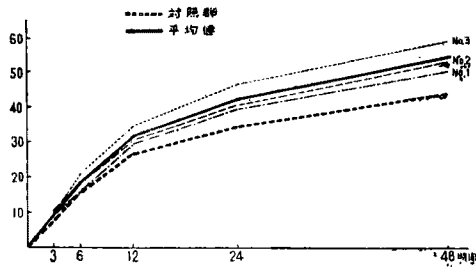
第39表 急性瀉血14日後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	7600	92	613
	処置後	8950	89	545
No. 2	処置前	6750	76	552
	処置後	7800	68	523
No. 3	処置前	8150	87	529
	処置後	8850	86	551

第40表 急性瀉血14日後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	8.93	15.65	29.36	39.36	50.28
No. 2	10.01	18.23	30.03	40.37	53.56
No. 3	8.07	20.15	34.89	46.52	59.20
平均	9.00	18.01	31.43	42.08	54.35
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第14図 急性瀉血14日後家兎骨髓比較成長価



第41表 急性瀉血14日後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	41
No. 2	38
No. 3	40
平均	39.7
対照群平均	34.4

第14項 急性瀉血28日後の家兎大腿骨々髓增生面積

末梢血液像は第42表に示す如く、白血球数、血色素量、赤血球数共に処置前と変らなかつた。骨髓の比較成長価は第43表、第15図に示す如く対照群に比し低下し、密度指数も第44表に示す如くであり、密

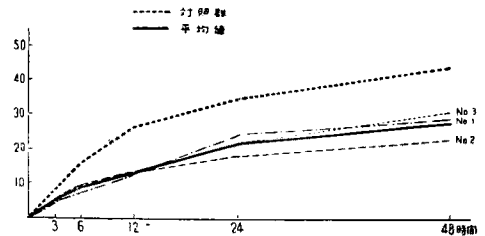
第42表 急性瀉血28日後の家兎末梢血液像

家兎番号	検査時	白血球数	血色素量 (%)	赤血球数 (万)
No. 1	処置前	7900	87	556
	処置後	8150	85	513
No. 2	処置前	8650	78	564
	処置後	8550	75	541
No. 3	処置前	9300	89	545
	処置後	8950	83	576

第43表 急性瀉血28日後家兎骨髓比較成長価

家兎番号	経過時間				
	3	6	12	24	48
No. 1	4.19	7.01	12.14	24.33	28.48
No. 2	5.19	9.08	13.08	17.58	22.39
No. 3	5.10	9.25	12.96	21.35	30.56
平均	4.83	8.45	12.73	21.09	27.14
対照群平均	7.93	15.56	26.12	34.42	43.60

第15図 急性瀉血28日後家兎骨髓比較成長価



第44表 急性瀉血28日後細胞密度指数

家兎番号	d
No. 1	31
No. 2	28
No. 3	27
平均	28.7
対照群平均	34.4

度係数は86であつた。

第4章 総括並びに考按

総括：以上の実験成績を総括すれば次の如くである。

- 1) 末梢血液所見
  - i) 血色素量は瀉血直後より減少し、減少極期に

入るのは瀉血 5～8 時間後である。血色素量増加は瀉血 3～5 日後より始まり、略々恢復するのは瀉血 14 日後である。

ii) 赤血球数は瀉血直後より減少し、減少極期に入るのは血色素量と同じく瀉血 5～8 時間後であるが、増加の始まるのは血色素量増加より僅か早く瀉血 2～3 日後であり、略々恢復するのは瀉血 10～14 日後である。

iii) 白血球増多は特異な所見が見られた、即ち第 1 回白血球増多は瀉血 1 時間後より見られ、3～5 時間後に頂点に達し、第 2 回目の白血球増多は瀉血 24 時間後に始まり 2～3 日後に頂点に達し 7～10 日後に消失した。而して第 2 回目白血球増多の方が第 1 回目白血球増多より増加率大であつた。

2) 骨髄増生面積：健康家兎 10 例の大腿骨々髄比較成長価並びに密度指数を対照群平均として本実験と比較検討した。瀉血家兎骨髄増生面積は対照（健康家兎）に比して瀉血直後より減少し、瀉血 1 時間後には直後より稍々増大するが爾後再び減少し、瀉血 5 時間後に於て最も低値を示した。瀉血 8 時間後より増加を始め培養 48 時間値が瀉血 12 時間後には 1.23 倍、24 時間後には 1.80 倍、瀉血 2 日後には 2.03 倍、3 日後には 2.29 倍、5 日後には 2.38 倍と増大したが、瀉血 5 日後を最大の山として以後は減少し、瀉血 7 日後には対照群に比し 1.85 倍、10 日後には 1.33 倍、14 日後には 1.25 倍と対照群に近似した値となつた。

考按：出血後の末梢血液像に関しては緒言にも触れたる如く従来幾多の研究業績があり、赤血球数に就ては瀉血直後より減少するが最低値を示すものではなく、血液稀釈が起つて初めて最低値となるものでその減少極期は数時間乃至 1～2 日後である。白血球数に就ては出血後白血球増多症の起る事は古くより諸家の認むる所であり Lyon<sup>27)</sup>、Antekonenko<sup>27)</sup>、Rieder<sup>27)</sup>、Wille-brand<sup>27)</sup>、井戸・鈴木<sup>26)</sup>、八木<sup>84)</sup>、松村<sup>44)</sup>、藤井(俊)<sup>9)</sup>等は瀉血後 1 時間より数時間の間に白血球増多の起る事を認めているが、此の際井戸・鈴木<sup>26)</sup>は経過中に 2 回の増多症、即ち初回は瀉血後 1～2 時間に始まり 3～5 時間に頂点に達し 7～8 時間で消失し、次回は瀉血後 30～45 時間に始まり 42～68 時間にしてその頂点に達し 5～8 日で全く消失する事を認めている。私の成績に於ても略々先人の成績に一致した。

瀉血後骨髄が再生反応を示して脂肪髄が赤色髄に変わり、核分裂像が増強する事は Segerdahl<sup>65)</sup>、富

塚<sup>78)</sup>等が認むる所である。古く Lindenbaum<sup>43)</sup>は瀉血家兎骨髄組織像のヘモトプラスト、骨髓球、赤芽球の核分裂を算定し瀉血後 30 分、1 時間、2 時間では著明でなく 4 日目に最高を示す事を指摘し、岡<sup>77)</sup>は有核細胞、殊に赤血球系細胞が激増して 5 日目に最高に達すと言っている。森本<sup>60)</sup>も亦再生の最高は瀉血 5 日前後である事を指摘した。

然しながら之等先人の業績は総て死滅せる細胞を対象とした観測である。

扱て組織或は細胞が体外に於ても一定時間残生し得る事は蛙の心臓が体外に於て暫らく搏動し得る事実によつても明らかである。体外に取り出された組織に一定の養分を与えて之を發育し長期間存続せしめ得べく、斯かる考えの下に組織培養が考案された。單なる生理的食塩水のみでも体外に於て組織の生命を維持し得る事は、その端緒となつた Roux<sup>61)</sup>、Harrison<sup>13)</sup>の実験によつて明らかであるが、更にそのメヂウムに改良を加えて、組織の發育の段階に迄進歩した。即ち Carrel & Burrows<sup>6)</sup> (1910) は凝固メヂウムを組織の支持体として用うる事を考え、更に Carrel<sup>5)</sup>はその上に發育促進物質として胎児エキスを添加する事を創めた。之が現在用いられている固形培地で、之は支持体と發育促進物質とから成り、前者は組織を固定し發育増殖の基盤となるもので現在は同種の纖維素、即ち凝固血漿が最も良く用いられ、後者には鶏卵胎児圧搾液が好んで使用せられている。骨髄組織培養に関する研究に就ては、既に教室平木<sup>22)23)</sup>、大藤<sup>56)</sup>が詳細に発表してきた。又、教室中村<sup>52)</sup>は慢性瀉血貧血家兎の骨髄組織培養を行い、末梢血に於ては著明な貧血があるにも不拘、骨髄の比較成長価は非常に大である事から慢性瀉血貧血は骨髄の細胞増生高度に亢進している事を認めた。そこで私は急性瀉血家兎の骨髄培養を行い出血時の骨髄の態度を観察したが、組織培養により急性出血時の骨髄の恢復機転を見たのは私以外に未だ之を見ない。急性出血時の比較成長価は瀉血直後より減少するが、瀉血 1 時間後では瀉血直後より僅か増大した。之は井戸・鈴木<sup>26)</sup>が白血球増多の發生論に於て考察した所の第 1 期増多の時期であつて、骨髄に貯藏された比較的幼弱な而も殆んど完成された白血球が Pfeffer の所謂 Chemotaxis によつて遊出された時期と考えられる。又、教室橋<sup>77)</sup>も大腿骨栄養静脈血、股動脈血を対比観察する事により瀉血後 1～2 時間に骨髄静脈竇内貯溜血球の放出を認めたが、斯く両者の謂う貯溜された血球の 1 時的放出の刺戟により

偽好酸球遊走速度が亢進し、比較成長価が瀉血1時間後に僅か増大したものと考えられる。爲に密度係数は瀉血直後118であつたのが、瀉血1時間後には90と減少した。次で瀉血3時間後より比較成長価は再び減少し、5時間後が最低である。瀉血8時間後より比較成長価は増大を始め、瀉血12時間後より比較成長価は対照より上昇してくるが、この場合は密度の減少を見ないので骨髓の機能が亢進したものと考えられる。井戸-鈴木<sup>26)</sup>は末梢血に於て1~2日後に見られる白血球第2期増多を新生白血球に依るものと思つたが、私の実験は骨髓組織培養によつて氏等の実験に強い裏付けを与え得たものである。引き続き瀉血24時間後の家兎骨髓では培養48時間値の比較成長価が対照群の1.80倍、2日後では2.03倍、3日後では2.29倍、5日後では2.37倍となり瀉血3~5日後は比較成長価最大であつた。以後は瀉血7日後に1.84倍、10日後1.32倍、14日後1.24倍となり比較成長価は次第に健康家兎骨髓の比較成長価に近似してきた。即ち骨髓増生の機能亢進最大は瀉血後3~5日であつた事は前述の先人の論と一致するものである。

## 第5章 結 論

私は上述の実験成績を総括考按の結果次の結論を得た。

1) 家兎に体重当り 20 cc の急性瀉血を行い、その推移を瀉血直後、1, 3, 5, 8, 12, 24時間、

2, 3, 5, 7, 10, 14, 28日後と時間的に観察すると末梢血所見では血色素量、赤血球数共に瀉血直後より減少し、減少極期に入るのは瀉血5~8時間後であるが、増加の時期は赤血球増加は2~3日後、血色素量増加は3~5日後と赤血球増加の方が僅かに早く、恢復は共に瀉血10~14日後である。白血球では2回の増多が認められ、第1回白血球増多は瀉血1時間後より見られ、3~5時間後で頂点に達し、第2回目白血球増多は瀉血24時間後より始まり2~3日後を頂点として10~14日後で消失した。

2) 前述の時期に家兎大腿骨々髓の体外組織培養を行い、組織の比較成長価並びに密度を計測し健康家兎の夫と比較した所、瀉血直後比較成長価は健康家兎に比し減少するが、瀉血1時間後では瀉血直後より僅かに増大する。之は骨髓静脈竇内貯溜血球動員の偽好酸球遊走速度に及ぼす影響に基くものと考えられる。瀉血5時間後を最低として12時間後より反つて対照より増大し、瀉血3~5日後が骨髓増生の機能亢進最大であつた。

3) 瀉血10~14日後に略々健康家兎の増生面積に一致した。

擱筆に臨み終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜わりし恩師平木教授並びに大藤助教授に深甚の謝意を表す。

(本論文の要旨は昭和32年日本血液学会第19回総会に於て発表した。)

(文 献 後 掲)

## Studies on the Bone Marrow of the Rabbit in Acute Bleeding Anemia way of Bone Marrow Tissue Culture

### Part 1.

## A Study on the Effect of Acute Bleeding Anemia on the Growth Area of Femur Bone-Marrow Culture of Rabbits

By

Tetsuro Numamoto

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

The author investigated from various angles behaviours of bone marrow of rabbits in acute bleeding anemia by bone marrow tissue culture.

After acute bleeding of 20 cc./kg. of each rabbit, the recovery mechanism in the bone marrow has been compared with that of the normal rabbits by measuring the relative growth rate and the index of cellular density of the bone marrow in hanging drop culture at intervals of 1, 3, 5, 8, 12 and 24 hours as well as 2, 3, 5, 7, 10, 14 and 28 days after bleeding. It has been found that the growth area begins to decrease immediately after bleeding and shows the minimum value 5 hours after bleeding, but 12 hours afterwards it starts increasing and relative growth rate 24 hours after bleeding has increased 1.80 times that of the control; 2 days later 2.03 times; 3 days afterwards 2.29 times; 5 days later 2.37 times; and the maximum of acceleration of bone marrow mechanism has been found around 3—5 days after bleeding.

The growth rate, which thus reaches the maximum 5 days after bleeding, begins to decrease thereafter and becomes nearly equal with that of the normal rabbits around 10—14 days afterwards.

---