

Cytochrome C の骨髓造血機能に及ぼす影響に関する研究

第 1 編

骨髓組織培養による栓球系造血機能に及ぼす影響について

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

巻 幅 正

〔昭和40年12月7日受稿〕

内 容 目 次

I 緒 言	e) Carzinophilin との併用添加
II 実験方法	2. 病的骨髓栓球系造血に及ぼす Cytochrome C の影響
1. 実験材料	1) 抗癌剤連日注射により低形成を来せる海
2. 培養操作	狢骨髓への Cytochrome C の影響
3. 観察方法	a) Mitomycin C 連日注射海狢への影響
III 実験成績	b) Trenimon 連日注射海狢への影響
1. 正常骨髓栓球系造血に及ぼす Cytochrome C の影響	c) Carzinophilin 連日注射海狢への影響
1) 正常海狢骨髓培養への Cytochrome C 添加	2) 各種疾患々者骨髓培養への Cytochrome C 添加
2) 健康人骨髓培養への Cytochrome C 添加	IV 総 括
3) 健康人骨髓培養への Cytochrome C 及び抗癌剤の併用添加	V 考 按
a) Mitomycin C との併用添加	VI 結 論
b) Trenimon との併用添加	

I 緒 言

1886年 Mac Munn¹⁾ は動物の筋肉組織中にミオヘマチンなる色素を発見したがその後特に研究されることもなく約40年が経過し、1925年にいたり Keilin²⁾ によつて本物質は再びとりあげられ動物のみならず植物及び微生物細胞にも広く見出されることが明らかとされた。同時にこの物質は生体内の細胞呼吸に重要な役割を果たしていることが明らかにされ、*Cytochrome* と命名され更に紫外線吸収帯の位置により a, b, c, c₁ の四種に分けられた。その中の *Cytochrome C* (以下 *Cyt. C* と略す) は最も容易に単離されるところから生化学的並びに臨床的研究は *Cyt. C* に於て最も進展した。即ち本物質の構造及び生化学的意義に関しては Keilin³⁾, Theorell⁴⁾ をはじめとする多くの業績があり、1956年奥貫、荻原等⁵⁾ による結晶化の成功以来臨床応用の段階を迎え、各種の

酸素欠乏状態に使用され、脳血管障害⁶⁾⁷⁾⁸⁾、心筋障害⁹⁾¹⁰⁾、CO中毒¹¹⁾¹²⁾¹³⁾等に優れた効果をおさめている。

しかし造血組織に対する影響に関しては従来極く少数の報告をみるに過ぎない。即ち稲津¹⁴⁾ はマウス及びウサギにおいて抗癌剤による白血球系細胞特に顆粒球の減少に対して *Cyt. C* が抑制的に働くことを報告した。清水ら¹⁵⁾ は抗癌剤による強度の栓球減少症に *Cyt. C* が有効であると報告したが何れも主として末梢白血球数及び栓球数の変化についてなされているにすぎない。只赤木等¹⁶⁾ は骨髓移植時に *Cyt. C* を併用すれば移植骨髓細胞の定着、発育を助長し、又抗癌剤及び外科手術併用時に *Cyt. C* を併用してその際の骨髓障害を防止し、又は障害骨髓の回復を早め得る報じ、又中尾¹⁷⁾ からは骨髓組織培養法により白血球造血機能に及ぼす *Cyt. C* の影響を観察しているが、栓球系造血についての系統的な研究は未だ見られない、就中栓球母細胞である骨髓巨

核球に及ぼす Cyt. C の作用機転に関しては全く不明である。

従来骨髓巨核球の機能に関しては組織切片標本及び塗抹標本による貪喰能及び栓球分離像の研究¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾があるが何れも静止像の観察に終止していた。しかるに教室の角南、粟井²⁵⁾は骨髓組織培養法により人巨核球に活潑な運動能の存在することを認め、更に巨核球の胞体から突起を形成しその尖端より栓球の分離されるのを確認し、本法が骨髓巨核球機能の判定に最も有力な手段であることを述べている²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾。なおこの骨髓組織培養法に就ては従来教室考案の組織培養法を用いて多数の系統的研究が行なわれ²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾、本法が骨髓の造血能をよく反映するものであることは一般に認められているところである。

とくに於て私は Cyt. C の骨髓造血機能に及ぼす影響をみるため骨髓組織培養法を応用した。

先づ本編に於ては巨核球機能を観察し、栓球系造血機能に及ぼす Cyt. C の影響に関し興味ある成績を得たので報告する。

II 実験方法

1. 実験材料

1) 正常海狸骨髓：体重 300g 内外の健康雄性海狸を実験の都度撲殺し、大腿骨より無菌的に骨髓を採取し、リンゲル氏液中にて眼科用グラーフェ氏刀にて均一な約 1mm³ の細片として培養材料とした。

2) 健康人骨髓：比較的若年者を選び胸骨骨髓穿刺によつて得た骨髓組織片をリンゲル氏液にて充分洗い、直ちに実験に用いた。

3) 骨髓低形成を起せる海狸骨髓：体重 300g 内外の健康雄性海狸を三群に分ち、第一群には Mitomycin C (0.2mg/cc)、第二群には Trenimon (0.02 mg/cc)、第三群には Carzinophilin (1,000 単位/cc) をそれぞれ 1ml づつ 5日間連日腹腔内投与した後、各群を更に二群に分つて、一群は Cyt. C 1mg/cc を 1ml づつ 5日間連日腹腔内投与して実験群とし、他の一群は 5日間生理的食塩水のみを 1ml 腹腔内投与して対照群とした。10日目に撲殺し正常海狸と同様にして骨髓を採取した。

4) 各種疾患々者骨髓：教室に入院し診断の確定した各種疾患々者につき、治療前に健康人と同様の操作により骨髓を採取した。

5) 添加薬剤：添加する Cyt. C 溶液は 1ml 中 1mg 0.1mg, 0.01mg の各濃度を使用し、対照群に

は生理的食塩水を添加した。併用添加せる抗癌剤の濃度は 1ml 中 Mitomycin C 0.2mg, Trenimon 0.02mg Carzinophilin 1000単位の三種類を使用した。

2. 培養操作

教室考案の臨床骨髓組織培養法に則り、平木式臨床組織培養盤 No. 2 (深さ 0.6mm) を使用した。健康海狸の心臓穿刺で採取した血液より分離した血清、或いは健康人血清を培養盤の中央部に 1/3 注射針にて 2 滴々下し、ガラス棒で円形に広げ、その中央にリンゲル氏液中より眼科用メスの先端ですくい上げた骨髓組織片を置き、更に VB₁₂ 溶液 (濃度 1007/cc) と Cyt. C 溶液並びに抗癌剤溶液を各 1 滴々下して混和し、カバーガラスで覆い周辺をパラフィンで密封して 37°C の孵卵器中に静置した。

3. 観察方法

培養開始後巨核球の機能が最も活性化する 18 時間目に標本を取り出し、保温器内で観察を行なつた。

1) 増生帯に出現せる巨核球総数を算定し、一群につき 5 枚の標本を用いて平均を求め、これを平均出現巨核球数とした。

2) 骨髓巨核球機能はその運動形態により、

変形運動型 (A 型)：胞体の軽度変形を認めるもの。
偽足運動型 (B 型)：胞体に偽足を認めるもの。
突起形成型 (C 型)：触手状突起形成を認め栓球分離を示すもの。

以上三型に分類し、各型について増生帯中に出現せる巨核球総数に対する百分率を求め、又その和をもつて全運動型巨核球百分率とした。^{1) (4)}

なお胞体の変形の全く認められず、正円形を示すものは静止型 (R 型) として運動型巨核球から除外した。

3) 5 例の健康海狸骨髓について同様の観察を行ないその平均値を算出した。

III 実験成績

1. 正常骨髓栓球系造血に及ぼす Cyt. C の影響

1) 正常海狸骨髓培養への Cyt. C 添加 (第 1 表、第 1 図)。

増生帯への平均出現巨核球数は、5 例平均にて Cyt. C 0.1mg/cc 添加群が 20.4 で最も増大し、0.01 mg/cc 添加群が 18.7 でこれに次ぎ、1.0mg/cc 添加群では対照群の 15.3 に比し有意の差を認めなかつた。

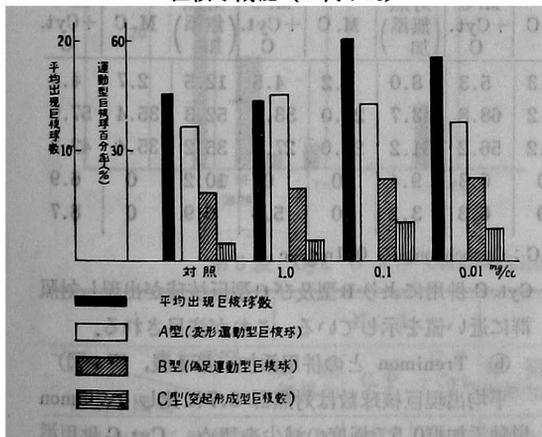
全運動型巨核球百分率は Cyt. C 添加群で何れも対照群より高値を示し、就中 0.1mg/cc 添加群が最大であり、特に C 型巨核球百分率に於いては対照群

第1表 Cytochrome C 添加による正常海猿骨髓巨核球機能

添加濃度mg/cc	No. 1				No. 2				No. 3			
	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01
巨核球機能												
平均出現巨核球数	13.4	13.0	9.2	13.2	14.0	16.2	24.7	18.5	19.0	17.5	18.0	17.7
全運動型巨核球百分率(%)	61.1	55.6	76.7	68.7	63.0	67.4	72.7	71.2	58.2	79.3	80.8	74.6
A型(%)	37.3	30.7	41.3	33.3	39.3	38.5	39.4	39.3	35.5	48.5	33.3	37.3
B型(%)	17.9	18.4	23.9	24.2	17.8	18.5	22.2	23.4	18.4	24.3	34.7	31.3
C型(%)	5.9	6.5	11.5	11.2	5.9	10.4	11.1	8.5	4.3	6.5	12.8	6.0

添加濃度mg/cc	No. 4				No. 5				平均			
	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01
巨核球機能												
平均出現巨核球数	16.2	14.7	24.7	23.0	14.0	12.5	25.5	21.2	15.3	14.8	20.4	18.7
全運動型巨核球百分率(%)	65.0	79.6	69.7	70.0	59.9	76.0	81.4	74.3	61.5	71.6	76.2	69.7
A型(%)	46.1	55.9	47.5	44.0	26.2	54.0	52.9	44.8	36.9	45.5	42.9	37.7
B型(%)	13.8	20.3	15.2	19.0	28.6	18.0	16.7	18.1	19.3	19.9	22.5	23.2
C型(%)	5.1	3.4	7.0	7.0	5.1	4.0	11.8	11.4	5.3	6.2	10.8	8.8

第1図 Cyt. C 添加による正常海猿骨髓巨核球機能 (5例平均)



の5.3%に対し10.8%と2倍以上の高値を示した。

2) 健康人骨髓培養への Cyt. C 添加 (第2表, 第2図)

平均出現巨核球数は5例平均にて対照群の9.4に対し Cyt. C 1.0mg/cc 添加群は11.0, 0.1mg/cc 添加群は11.0, 0.01mg/cc 添加群は9.7と何れも増大した。

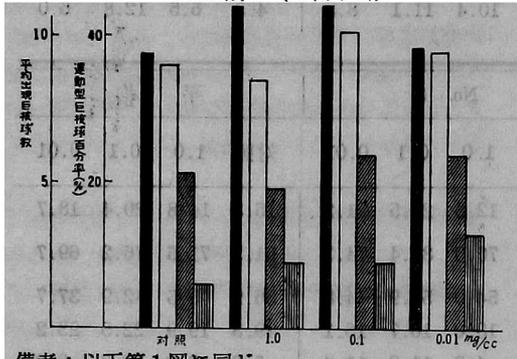
全運動型巨核球百分率は5例平均にて0.1mg/cc, 0.01mg/cc 両添加群に著明な増大を示し, 1.0mg/cc 添加群は稍低値であつた。又0.1mg/cc, 0.01mg/cc 両添加群ではB型, C型巨核球の出現促進が認められた。即ちC型巨核球百分率では, 対照群の6.1%に比し0.1mg/cc 添加群は8.8%, 0.01mg/cc 添加群は13.2%であつた。

第2表 Cyt. C 添加による健康人骨髓巨核球機能

添加濃度mg/cc	No. 1				No. 2				No. 3			
	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01
巨核球機能												
平均出現巨核球数	11.4	17.0	16.6	10.2	5.7	7.2	7.6	6.5	10.2	9.0	8.0	8.8
全運動型巨核球百分率(%)	54.1	64.7	65.0	63.4	65.2	74.9	84.1	73.0	62.7	57.8	75.0	79.5
A型(%)	30.6	30.9	28.9	36.6	43.5	25.0	39.4	34.6	29.4	28.9	37.5	38.6
B型(%)	13.3	27.9	22.9	17.1	13.0	30.5	31.6	19.2	33.3	20.0	32.5	27.3
C型(%)	10.2	5.9	13.2	9.7	8.7	19.4	13.1	19.2	0	8.9	5.0	13.6

添加濃度mg/cc	No. 4				No. 5				平均			
	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01	対照	1.0	0.1	0.01
巨核球機能												
平均出現巨核球数	12.2	17.0	17.6	16.4	7.6	4.8	5.0	6.6	9.4	11.0	11.0	9.7
全運動型巨核球百分率(%)	70.4	58.8	72.7	81.7	63.2	54.2	68.0	75.7	63.1	62.1	73.0	74.7
A型(%)	32.8	38.8	48.9	36.6	42.1	45.8	48.0	42.4	35.7	33.9	40.5	37.8
B型(%)	31.1	14.1	19.3	30.5	15.8	4.2	12.0	24.2	21.3	19.3	23.7	23.7
C型(%)	6.5	5.9	4.5	14.6	5.3	4.2	8.0	9.1	6.1	8.9	8.8	13.2

第2図 Cyt. C 添加による健康人骨髓巨核球機能 (5例平均)



備考：以下第1図に同じ

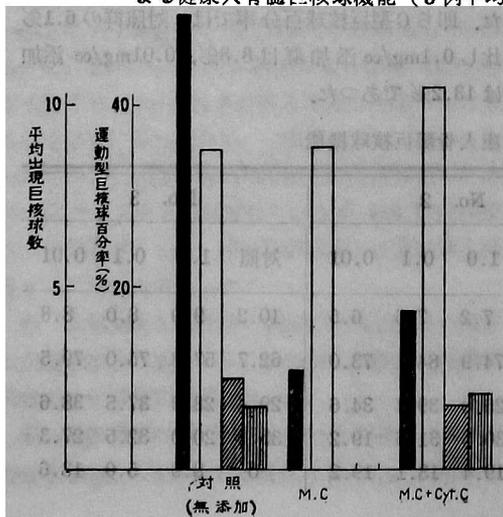
第3表 Cyt. C 及び mitomycin C 併用添加による健康人骨髓巨核球機能

添加薬剤	No. 1			No. 2			No. 3			平均		
	対照 (無添加)	M. C	M. C + Cyt. C	対照 (無添加)	M. C	M. C + Cyt. C	対照 (無添加)	M. C	M. C + Cyt. C	対照 (無添加)	M. C	M. C + Cyt. C
巨核球機能												
平均出現巨核球数	10.5	2.5	3.5	19.0	4.3	5.3	8.0	1.2	4.5	12.5	2.7	4.4
全運動型巨核球百分率(%)	71.4	40.0	71.4	42.1	46.2	68.8	43.7	20.0	33.3	52.3	35.4	57.9
A型(%)	42.8	40.0	42.8	31.6	46.2	56.2	31.2	20.0	27.8	35.2	35.4	42.3
B型(%)	14.3	0	14.3	7.0	0	6.3	9.4	0	0	10.2	0	6.9
C型(%)	14.3	0	14.3	3.5	0	6.3	3.1	0	5.5	6.9	0	8.7

備考 M. C : Mitomycin C 0.2mg/cc

Cyt. C : Cytochrome C 0.1mg/cc

第3図 Cyt. C 及び Mitomycin C 併用添加による健康人骨髓巨核球機能 (3例平均)



3) 健康人骨髓培養への Cyt. C 及び抗癌剤の併用添加

③ Mitomycin C との併用添加 (第3表, 第3図)

平均出現巨核球数は無添加対照群の12.5に比し, Mitomycin C 単独添加群は2.7と著明に減少を示したが, Cyt. C との併用添加群では4.4で軽度乍ら減少抑制傾向を示した。

全運動型巨核球百分率は対照群52.3%, Mitomycin C 単独添加群35.4%, Mitomycin C 及び Cyt. C の併用添加群は57.9%であった。特に Mitomycin C 単独添加群は何れの例も B型及びC型巨核球が全く認められず著明な粒球系造血の抑制が認められるが,

Cyt. C 併用によりB型及びC型巨核球が出現し対照群に近い値を示している, これが注目される。

④ Trenimon との併用添加 (第4表, 第4図)

平均出現巨核球数は対照群 8.7に比し Trenimon 単独添加群0.5で極度の減少を認め, Cyt. C 併用添加群でも 1.3 で極く軽度の減少抑制傾向が認められるに過ぎない。

全運動型巨核球百分率に於いては, Trenimon 単独添加群, Cyt. C 併用添加群共にB型及びC型巨核球の出現を見ないが, 後者はA型巨核球が前者に比し増加しており, Trenimon 添加による巨核球機能の低下が Cyt. C の併用添加により軽微乍ら抑制せられた。

⑤ Carzinophilin との併用添加 (第5表, 第5図)

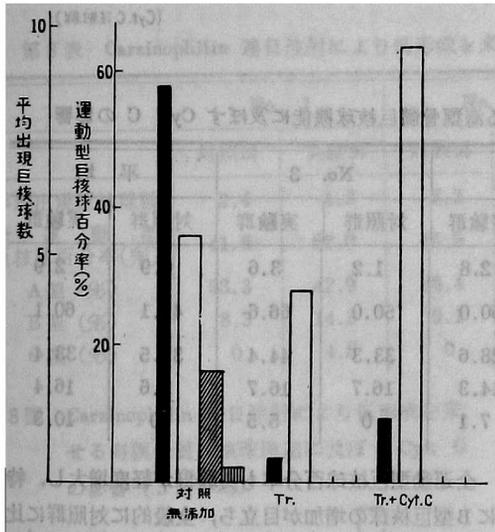
平均出現巨核球数は対照群の16.4に比し Carzinc-

第4表 Cyt. C 及び Trenimon 併用添加による健康人骨髓巨核球機能

添加薬剤	No. 1			No. 2			No. 3			平均		
	対照 無添加	Tr.	Tr. +Cyt. C	対照 無添加	Tr.	Tr. +Cyt. C	対照 無添加	Tr.	Tr. +Cyt. C	対照 無添加	Tr.	Tr. +Cyt. C
巨核球機能												
平均出現巨核球数	7.2	0.4	1.0	8.6	0.6	2.0	10.2	0.4	1.0	8.7	0.5	1.3
全運動型 巨核球百分率(%)	52.8	50.0	66.7	55.7	33.3	50.0	54.8	0	75.0	54.4	27.8	63.9
A型(%)	33.3	50.0	66.7	34.9	33.3	50.0	39.2	0	75.0	35.8	27.8	63.9
B型(%)	16.7	0	0	18.5	0	0	13.7	0	0	16.3	0	0
C型(%)	2.8	0	0	2.3	0	0	1.9	0	0	2.3	0	0

備考 Tr. : Trenimon 0.02mg/cc

第4図 Cyt. C 及び Trenimon 併用添加による健康人骨髓巨核球機能 (3例平均)



philin 単独添加群は4.5と著明に減少しているが, Carzinophilin 及び Cyt. C 併用添加群は8.5とその減少度は著しく緩和された。

全運動型巨核球百分率に於いては, 対照群61.7%に比し Carzinophilin 単独添加群で48.2%に低下したが Cyt. C 併用添加群では50.4%まで回復している。

2. 病的骨髓粒球系造血に及ぼす Cyt. C の影響

1) 抗癌剤連日注射により低形成を来せる海狸骨髓への Cyt. C の影響

② Mitomycin C 連日注射海狸への影響 (3例平均) (第6表, 第6図)

平均出現巨核球数は対照群 (Mitomycin C 0.2mg/cc を1ml づつ5日間腹腔内注射した後, 更に食塩水を1ml づつ5日間腹腔内注射した群), 実験群 (Mitomycin C 0.2mg/cc を1ml づつ5日間腹腔内注射した後, 更に Cyt. C 1mg/cc を1ml づつ5日

第5表 Cyt. C 及び Carzinophilin 併用添加による健康人骨髓巨核球機能

添加薬剤	No. 1			No. 2			No. 3			平均		
	対照 無添加	C. P	C. P +Cyt. C									
巨核球機能												
平均出現巨核球数	15.3	3.7	9.7	17.0	4.7	7.3	16.8	5.2	8.4	16.4	4.5	8.5
全運動型 巨核球百分率(%)	58.7	63.6	65.5	54.9	42.8	45.4	71.3	38.5	40.4	61.7	48.2	50.4
A型(%)	34.8	45.4	31.0	35.3	35.7	36.3	35.7	30.8	30.9	35.3	37.3	32.7
B型(%)	15.2	9.1	20.7	15.7	7.1	9.1	28.5	7.7	9.5	19.8	7.9	13.1
C型(%)	8.7	9.1	13.8	3.9	0	0	7.1	0	0	6.6	3.0	4.6

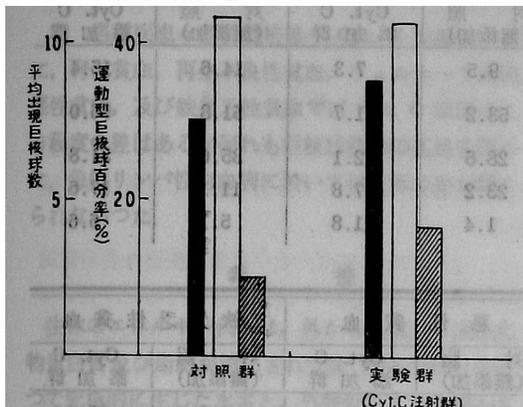
備考 C. P. : Carzinophilin1, 000単位/cc

間腹腔内注射した群) の両群共に非常に低値を示したが, 対照群の0.9に比し実験群は2.9と対照群の3.2倍を保った。

全運動型巨核球百分率は対照群の41.1%に対し実

験群は60.1%と著明に増大し, 特に対照群は何れの例にもC型巨核球の出現を見なかつたが, 実験群に於いては何れの例にもC型巨核球の出現が認められ, 明らかに実験群に巨核球機能の回復が認められた,

第7図 Trenimon 連日注射により低形成を来せる海猿骨髓巨核球機能に及ぼす Cyt. C の影響 (3例平均)



群 (Carzinophilin 1,000単位/cc を 1ml づつ 5日間腹腔内注射した後, 更に Cyt. C 1mg/cc を 1ml づつ 5日間腹腔内注射した群) 共に低値を示したが, 対照群の 2.4 に比し実験群は 4.4と対照群の約 1.8 倍であつた。

全運動型巨核球百分率に於いては対照群の 44.5% に比し実験群は 60.5% で著明な増大が認められた。特に対照群は何れの例にも C 型巨核球の出現を見なかつたが, 実験群に於いては僅かながら C 型巨核球の出現が認められ, 明らかに実験群に巨核球機能の回復が認められた。

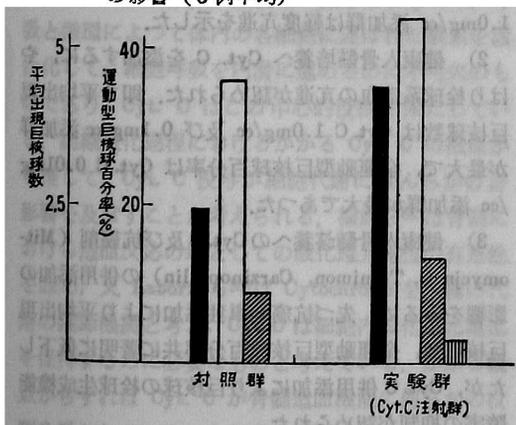
2) 各種疾患々者骨髓培養への Cyt. C 添加 (第 9 表, 第 9 図)

① 腎性貧血

第8表 Carzinophilin 連日注射により低形成を来せる海猿骨髓巨核球機能に及ぼす Cyt. C の影響

	No. 1		No. 2		No. 3		平均	
	対照群	実験群	対照群	実験群	対照群	実験群	対照群	実験群
平均出現巨核球数	2.4	4.2	2.2	3.8	2.6	5.2	2.4	4.4
全運動型巨核球百分率(%)	41.6	62.0	45.5	57.9	46.2	61.5	44.5	60.5
A 型 (%)	33.3	42.9	36.4	47.4	38.5	42.3	36.1	44.2
B 型 (%)	8.3	14.3	9.1	10.5	7.7	15.4	8.4	13.4
C 型 (%)	0	4.8	0	0	0	3.8	0	2.9

第8図 Carzinophilin 連日注射により低形成を来せる海猿骨髓巨核球機能に及ぼす Cyt. C の影響 (3例平均)



平均出現巨核球数は対照群の 8.0 に対し Cyt. C 添加群は 11.1 と著明に増加し, 全運動型巨核球百分率も対照群の 66.7% に対し 71.8% と軽度増加を示したが, B 型及び C 型巨核球百分率には有意の差が認められなかつた。

② 再生不良性貧血

平均出現巨核球数は対照群より減少したが全運動型巨核球百分率は対照群の 53.2% に比し Oyt. C 添加群は 71.7% と増大し特に C 型巨核球の出現が著明であつた。

③ ウェルホーフ氏病

平均出現巨核球数は対照群 14.6 Cyt. C 添加群 15.4, 全運動型巨核球百分率は対照群 51.8% Cyt. C 添加群で 56.0% と何れも有意の差はなかつた。

④ 急性リンパ性白血病

平均出現巨核球数, 並びに全運動型巨核球百分率共に対照群と Cyt. C 添加群とに甚しい差は見出し得なかつた。両者共に C 型巨核球の出現が認められなかつた。

⑤ 悪性貧血

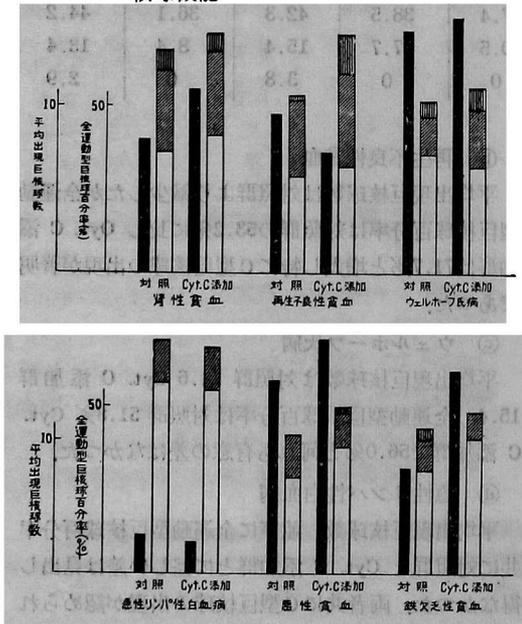
平均出現巨核球数は対照群の 14.4 に対し Cyt. C 添加群は 17.4 と増加し, 全運動型巨核球百分率も対照群の 42.4% に対し, 50.0% と軽度増加, 即ち Cyt. C 添加群に巨核球機能の亢進を見た。

第9表 Cyt. C 添加による各種疾患々者骨髓巨核球機能

	腎 性 貧 血		再生不良性貧血		ウエルホーフ氏病	
	対 照 (無添加)	Cyt. C 添 加 群	対 照 (無添加)	Cyt. C 添 加 群	対 照 (無添加)	Cyt. C 添 加 群
平均出現巨核球数	8.0	11.1	9.5	7.3	14.6	15.4
全運動型 巨核球百分率(%)	66.7	71.8	53.2	71.7	51.8	56.0
A型(%)	36.2	40.8	28.6	32.1	35.6	31.8
B型(%)	24.4	25.1	23.2	27.8	11.1	17.6
C型(%)	6.1	5.9	1.4	11.8	5.1	6.6

	急性リンパ性白血病		悪 性 貧 血		鉄 欠 乏 性 貧 血	
	対 照 (無添加)	Cyt. C 添 加 群	対 照 (無添加)	Cyt. C 添 加 群	対 照 (無添加)	Cyt. C 添 加 群
平均出現巨核球数	3.1	2.4	14.4	17.4	8.0	15.2
全運動型 巨核球百分率(%)	69.9	68.0	42.4	50.0	43.7	49.1
A型(%)	57.1	55.0	29.4	38.1	31.2	40.9
B型(%)	12.8	13.0	13.0	10.5	9.4	8.2
C型(%)	0	0	0	1.4	3.1	0

第9図 Cyt. C 添加による各種疾患々者骨髓巨核球機能



① 鉄欠乏性貧血

平均出現巨核球数は対照群の8.0に対し Cyt. C 添加群は15.2と著明に増加し、全運動型巨核球百分率に於いても対照群の43.7%に比し49.1%で軽度亢進を認めた。

IV 総 括

以上の実験成績を総括すれば次の如くである。

1. 正常骨髓栓球系造血に及ぼす Cyt. C の影響
 - 1) 正常海狸骨髓培養へ Cyt. C を添加するに、栓球系造血の亢進を認めた。即ち平均出現巨核球数及び全運動型巨核球百分率共に Cyt. C 0.1mg/cc 添加群が最大で、0.01mg/cc 添加群がこれに次ぎ、1.0mg/cc 添加群は軽度亢進を示した。
 - 2) 健康人骨髓培養へ Cyt. C を添加するに、やはり栓球系造血の亢進が認められた。即ち平均出現巨核球数は Cyt. C 1.0mg/cc 及び 0.1mg/cc 添加群が最大で、全運動型巨核球百分率は Cyt. C 0.01mg/cc 添加群が最大であつた。
 - 3) 健康人骨髓培養への Cyt. C 及び抗癌剤 (Mitomycin C, Trenimon, Carzinophilin) の併用添加の影響をみるに、先づ抗癌剤単独添加により平均出現巨核球数、全運動型巨核球百分率共に著明に低下したが、Cyt. C 併用添加により巨核球の栓球生成機能障害の抑制が認められた。
2. 病的骨髓栓球系造血に及ぼす Cyt. C の影響
 - 1) 抗癌剤 (Mitomycin C, Trenimon, Carzinophilin) 連日注射により低形成を来せる海狸骨髓への Cyt. C の影響を観察した。即ち抗癌剤連日注射により巨核球機能は著明に低下したが、引き続き Cyt.

C注射により Mitemycin C, Trenimon, 及び Carzinophilin の何れの場合にも巨核球機能の回復傾向が認められた。

2) 各種疾患々者骨髓培養へ Cyt. C を添加するに、腎性貧血、再生不良性貧血、ウェルホーフ氏病、悪性貧血、及び鉄欠乏性貧血では Cyt. C 添加により程度の差はあるが何れも巨核球機能の亢進を認めた。急性リンパ性白血病に於いては有意の差が認められなかつた。

V 考 按

生体のエネルギー代謝は、外から摂取した炭水化物蛋白質及び脂肪が消化されて後 TCA Cycle を通つて究極的に生じた水素と、外呼吸によつて導入された酸素が結合してエネルギーと水を生ずる過程によつて営まれるのであるが、Cytochrome 系は脱水素酵素系、黄色酵素系等の酸化還元酵素によつて上述の水素が活性化される際、発生する電子を酸素にまで運搬してこれを活性化し、この酸素と水素の結合によつて水が生成するまでの過程をつかさどっている。

Cytochrome 系には a, b, c 及び C₁ があるが、これは電子の転移順序を示すもので多くは b→C₁→C→a の順である。Cyt. C は Cytochrome 系の中心をなすもので蛋白とヘムより成るが、ヘム部分の Fe の 2価⇄3価となる可逆変化により電子伝達を行なう。つまり Cytochrome 系は生体内の酸化還元反応をつかさどる酵素系の重要な一環をなすもので、呼吸と循環によつて体内の各細胞に運ばれた酸素を活性化して、細胞呼吸を円滑に進めるのに不可欠のものであり、Cyt. C はこの中心的役割を果たしている。組織酸化過程におけるかかる Cyt. C の機能から推して、Cyt. C 投与が細胞代謝になんらかの好影響を及ぼすことが考えられる。福武ら³²⁾は骨髓における造血反応の場としての酸化還元電位の有意性を認め、又 Laborit ら³³⁾は Cytochrome を一種の代謝の調節機関と考え、Cyt. C は細胞内酸化還元電位を保持するのに必要なものと考えている。かかる観点からすれば Cyt. C が骨髓造血機能に何らかの役割を果たしていることが充分推測される。

そもそも生体運動の直接エネルギーは、ATP によると現在考えられており、Cytochrome 系を主心とする一連の呼吸酵素が、解糖系の最終段階である TCA Cycle の回転によつて生じた水素と、酸素を結合させ、その間のエネルギー差を利用して ATP と

いうエネルギー蓄積体を作るのである。ところで血小板と ATP の関係については、森田ら³⁴⁾は血小板のアミノ酸組成の研究により TCA Cycle の存在を推定し、他方では血液凝固時の血餅収縮の過程には栓球中に異常に大量に含まれる ATP が関与すると述べている。従つて Cyt. C と運動型巨核球とは密接な関係があると思われる。

所で栓球系造血に対する Cyt. C の効果については清水ら¹⁵⁾赤木ら¹⁶⁾数人の報告をみるにすぎず、しかも大部分は末梢血栓球数の動態をみたのみで巨核球自体の機能に就いてはふれていない。即ち清水らは抗癌剤投与による強度の栓球減少症に Cyt. C が有効であつたと報告し、赤木らは骨髓移植時に Cyt. C を併用すれば移植骨髓細胞の定着、発育を助長し又抗癌剤及び外科手術併用時に Cyt. C を併用してその際の骨髓障害を防止し、又は障害骨髓の回復を速め得ると報告している。

さて巨核球の機能としての運動能に関しては角南ら²⁶⁾は独自の骨髓組織培養法を用いて骨髓巨核球の機能観察方法を確立した。又従来骨髓組織培養による栓球系に対する各種薬剤の影響に関しては、教室林³⁵⁾は VC、葉酸が、西下³⁶⁾は ACTH、副腎皮質ホルモンが、岡本³⁷⁾は ATP が巨核球機能をそれぞれ亢進させると報告したが Cyt. C に就いては未だ検討されていない。そこで私はこれに従つて Cyt. C を骨髓培養に添加して骨髓巨核球の態度を観察したのであるが、正常海猿、健康人及び各種病的骨髓の何れの骨髓組織培養に於いても Cyt. C 添加により、増生帯への巨核球出現が或程度促進され、同時に運動型巨核球の増加した事実は、栓球系造血に対する Cyt. C の直接的亢進作用を実証するものである。

次に細胞外液に添加された Cyt. C 分子が、果たして細胞膜を通過し得るか否かの問題に対しては決定的な確証はないが、Beinert ら³⁸⁾は放射性 Cyt. C を用いた動物実験から正常状態では原形質膜を通過しないとしており、Feinen¹⁰⁾、Werth³⁹⁾、Laborit ら³³⁾及び Zappe⁴⁰⁾も同じ見解を述べている。

しかるに一方では Wissig⁴¹⁾は Ferritin 溶液をネズミに注射し、30分後の心毛細管内皮細胞の電顕観察において、明らかに細胞内に、一部は細胞基底膜に多くの Ferritin を認めている。Ferritin は分子量 500,000 の高分子物質であるが、これに比して Cyt. C は Hemoglobin の様に 4 分子が 1 単位を構成すると考えられるが 13,000×4 即ち約 52,000 の分子量にすぎない。しかし Brachet⁴²⁾は分子量 13,000 の

Ribonuclease が腹水癌細胞中に浸透する所見を見ている。かかる分子量に関する知見からは、高分子物質である Cyt. C も細胞膜を通過し得ると考えられる。又 Beraud ら⁴³⁾は毒物の投与、持続的な O₂ 欠乏などの病的状態にある時には、投与した Cyt. C は原形質膜を通過するとしている。何れにしろ臨床的に⁶⁷⁾⁸⁾⁹⁾ 又実験的に⁴⁴⁾⁴⁵⁾ 各種の酸素欠乏状態に使用され優れた効果をおさめている事実より推して、酸素欠乏状態にある場合には、投与された Cyt. C は原形質膜を通過して作用を発揮すると考えられる。

村野ら⁴⁶⁾は Cyt. C は正常な臓器機能には明らかな影響を与えず、異常状態に対し、これを修復ないし正常化するものであると報じている。即ちこれは組織に何らかの障害が起つた場合、細胞中より Cyt. C が脱落し細胞呼吸が阻害されるが、外部より Cyt. C を投与すればこの障害は回復される事を示唆するものである。私の実験系に於いてこれをみるに、正常海狸及び健康人骨髄の体外組織培養という異常状態に対し、Cyt. C を外部から添加する事により骨髄組織のエネルギー代謝が円滑に行なわれ、骨髄栓球系造血機能に対し Cyt. C が促進的に作用する事を示唆するものであろう。一方各種疾患（腎性貧血、再生不良性貧血、ウェルホーフ氏病、悪性貧血及び鉄欠乏性貧血）患者骨髄培養に Cyt. C を添加して骨髄栓球系造血機能の亢進を見たことも何らかの関連を有するものと考えられる。又一方抗癌剤（Mitomycin C, Trenimon 及び Carzinophilin）連日注射により低形成を起せる海狸に引続き Cyt. C を注射し骨髄培養を行なつた場合、及び健康人骨髄培養に抗癌剤と Cyt. C の併用添加せる場合に於いて、巨

核球機能の回復傾向乃至機能低下抑制の傾向を認めたと、これは上記清水ら¹⁵⁾赤木ら¹⁶⁾の報告を裏づけるものである。即ち Cyt. C は抗癌剤の骨髄栓球系造血機能抑制を或程度防止し得ると考えられる。

VI 結 論

以上私は骨髄組織培養法を用いて Cyt. C の骨髄栓球系造血機能に及ぼす影響について追求し次の結論を得た。

1) 正常海狸、健康人並びに各種疾患々者の骨髄組織培養による Cyt. C 添加実験を行ない、Cyt. C 添加により増生帯への巨核球出現数は増大し、巨核球の栓球生成能は亢進した。従つて Cyt. C はその至適濃度において骨髄栓球系造血機能を促進さすものと考えられる。

2) 健康人骨髄培養への抗癌剤並びに Cyt. C の併用添加実験、及び抗癌剤連日投与により低形成を起させ引続き Cyt. C を投与した海狸骨髄培養に於いて、抗癌剤単独使用せる対照群に比し増生帯への巨核球出現数の増大、及び巨核球の栓球生成能の亢進を認めた。即ち Cyt. C は抗癌剤の栓球系骨髄障害に対して或程度抑制的効果があるものと考えられる。

拙筆するに当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜わつた恩師平木教授大藤助教授並びに喜多島講師に深謝致します。

（本論文の要旨は日本内科学会中国四国地方会第19回総会に於いて発表した）

（文献は第2編に一括記載）

Studies On the Effects of Cytochrome C On the Hematopoiesis
of Bone Marrow

Part 1

Effects of Cytochrome C On the Thrombopoietic Function
By Means of Bone Marrow Tissue Culture

By

Tadashi Makihata

Dept. of Internal Medicine, Okayama Univ. Medical School
(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

By means of bone marrow tissue culture method devised by Hiraki, the author investigated the effects cytochrome C on the thrombopoietic function in bone marrow and obtained the following results.

1) Cytochrome C diluted in several concentrations was added to the bone marrow tissue culture of normal guinea pigs, normal persons and patients with various diseases. Average number of megakaryocytes in the growth zone and its thrombopoietic function were examined.

As a result, it has been seen that the thrombopoietic functions of normal bone marrow added with an optimal amount of cytochrome C were moderately accelerated both in guinea pigs and human beings as compared with that of control added with saline.

2) The cytochrome C and each of three kinds of carcinostatic substances; mitomycin C, trenimon, and carzinophyllin were added to the bone marrow tissue culture of normal persons the effects of these drugs on the thrombopoietic functions in the bone marrow were investigated. On the other hand, the bone marrow of guinea pigs of which bone marrow had been rendered to hypoplastic by repeated administration of the above described carcinostatic substances and then treated with repeated administration of cytochrome C were cultured. The thrombopoietic functions of megakaryocytes in these bone marrow tissue culture treated with cytochrome C were maintained moderately high as compared with the control treated with carcinostatic substances and saline only.

From these results it could be concluded that cytochrome C has the accelerating effects on the thrombopoietic function of normal bone marrow as well as the protecting effects on the thrombopoiesis from the myelodegenerative especially thrombopoiesisinhibiting action of several carcinostatic substances.
