

Cytochrome C の骨髓造血機能に及ぼす影響に関する研究

第 2 編

骨髓組織培養による白血球系造血機能に及ぼす影響について
附 Cytochrome C の 2~3 の血液疾患への応用

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

巻 幟 正

〔昭和40年12月7日受稿〕

内 容 目 次

I 緒 言	C の影響
II 実験方法	1) 抗癌剤連日注射により低形成を来せる海 猿骨髓への Cytochrome C の影響
1. 実験材料	a) Mitomycin C 連日注射海猿への影響
2. 培養操作	b) Trenimon 連日注射海猿への影響
3. 観察方法	c) Carzinophilin 連日注射海猿への影響
III 実験成績	2) 各種疾患々々骨髓培養への Cytochrome C 添加
1. 正常骨髓白血球系造血に及ぼすCytochrome C の影響	附 Cytochrome C の臨床例への応用
1) 正常海猿骨髓培養への Cytochrome C 添 加	1) 再生不良性貧血患者への Cytochrome C の使用
2) 健康人骨髓培養への Cytochrome C 添加	2) 抗癌剤使用による白血球減少症患者への Cytochrome C の使用
3) 健康人骨髓培養への Cytochrome C 及び 抗癌剤の併用添加	IV 総 括
a) Mitomycin C との併用添加	V 考 按
b) Trenimon との併用添加	VI 結 論
c) Carzinophilin との併用添加	
2. 病的骨髓白血球系造血に及ぼすCytochrome	

I 緒 言

前編に於いて骨髓粒球系造血機能に及ぼす Cytochrome C (以下 Cyt. C と略す) の影響につき述べたが、本編に於いては白血球系造血に及ぼす影響に就き検討を試み、次いで臨床応用を行なった成績について述べる。

そもそも体外組織培養は1884年 Roux 次いで1907年 Harrison⁴⁷⁾ がこれを試みたのに始まり、その後1910年 Carrel and Burrows⁴⁸⁾ は固形培地を支持体として用い、固形メジウム法の基礎が確立された。骨髓組織培養については、1910年 Carrel and Burrows⁴⁸⁾ が幼若猫の骨髓組織を培養したのに始まり、

Maximow⁵⁰⁾ (1929), Fieschi and Astaldi⁵¹⁾ (1946), Woodard and Pomerat⁵²⁾ (1953)等は骨髓組織を血漿固形培地を用いて培養したが、これに対し Osgood and Muscovitz⁵³⁾ は1936年骨髓細胞を浮游液として培養する方法を考案し、その後1937年⁵⁴⁾にはワクチン瓶を使用して簡易化に成功している。

更に1948年 Norris and Majnarich⁵⁵⁾ は骨髓細胞浮游液を小試験管に入れ孵卵器中で静置培養し、Hays⁵⁶⁾はワクチン瓶を利用して Warburg 氏恒温槽中で振盪培養を行ないより簡便なものとし、骨髓に及ぼす各種物質の効果を検討した。

近年教室では独自の骨髓体外組織培養法を駆使して血液学の広範囲に亘る数多の業績を発表して来

た28)57)

さて Cyt. C の白血球系造血機能に及ぼす影響に関する研究は比較的少ないが、中尾ら¹⁷⁾はわれわれの教室により考案された上述の骨髓組織培養法を用い健康人、鉄欠乏性貧血及び Banti 症候群患者骨髓に Cyt. C を添加して増生帯の幅及び細胞数の増加するのを観察しているが、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能等白血球機能への影響についてはふれていない。そこで私は白血球機能の判定に最も有力な手段である遊走速度並びに墨粒貪喰能をも併せ、白血球系造血に及ぼす Cyt. C の影響に関する系統的観察を行なったので此処に報告する。

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メスにて均一な約 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) 骨髓低形成を惹起せる海狸骨髓：体重300g内外の健康雄海狸を三群に分ち、第一群には Mitomycin C (0.2mg/cc), 第二群には Trenimon (0.02mg/cc) 第三群には Carzinophilin (1,000 単位/cc) をそれぞれ 1ml づつ 5日間連日腹腔内注射した後、引続き各群を更に二群に分つて一群は Cyt. C 1.0mg/cc を 1ml づつ 5日間連日腹腔内注射して実験群とし、他の一群は 5日間生理的食塩水のみを 1ml づつ腹腔内注射して対照群とした。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) 各種疾患々々骨髓：教室に入院し診断の確定した各種疾患々々者につき、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 は 1.0mg/cc, 0.1mg/cc 0.01mg/cc の各濃度を使用し、対照には生理的食塩水を添加した。併用添加せる抗癌剤は Mitomycin C 0.2mg/cc, Trenimon 0.02mg/cc, Carzinophilin 1,000単位/cc の三種類を使用した。

2. 培養操作

培養術式は培養盤として平木式臨床組織培養盤 No. 1 (深さ 0.2mm) を使用した外、第 1 編に述べたと略同様の方法に従つた。ただし墨粒貪喰能を検する為には、滅菌したペリカン墨汁を生理的食塩水

で稀釈し、墨汁液柱 5mm で下に置いた白紙上の黒線が見え始める濃度とした墨汁一滴を上記の培地に添加した。

3. 観察方法

白血球系造血機能を観察するため、培養開始後 6 時間目に標本を取り出し、37°C の保温器内で観察を行なった。

1) 比較成長価：顕微鏡 (対眼レンズ 5 倍, 対物レンズ 4 倍) に Abbe 氏描画器を装置し原組織及び増生帯を描写し、その面積を Planimeter で測定した。組織増生面積の原組織面積に対する比率を比較成長価とした。

2) 好中球遊走速度：37°C の保温器内で顕微鏡 (対眼レンズ 10 倍, 対物レンズ 100 倍) と Abbe 氏描画器を用いて、比較的活潑な運動を示す海狸又は人好中球の 5 箇につき細胞中心部の移動を 30 秒毎に 2 分間描写して計測し、1 細胞の 1 分間の平均移動距離を好中球遊走速度 (μ/min) とした。

3) 好中球墨粒貪喰能：貪喰度は下記の如く 0—4 度に分け、好中球 100 箇につき総度数を計算し、好中球 1 箇の平均貪喰度を算出した。

0 度：全く墨粒を貪喰せざるもの

1 度：小墨粒を 1 乃至数箇貪喰するもの

2 度：中墨粒 1 乃至 3 箇貪喰。これに小墨粒数箇を混ざる程度迄のもの。小墨粒のみの時は全顆粒の $1/2$ 以下が墨を取れるもの。

3 度：中墨粒 4 乃至 5 箇以上。あるいは大墨粒 2 箇迄を有し、これに小墨粒数箇を混ざる程度迄のもの。あるいは小墨粒のみの時は全顆粒の $1/3$ 乃至 $2/3$ が墨を取れる場合。

4 度：大墨粒 3 箇以上。あるいは大墨粒 1 箇以上を有するもの。小墨粒のみの時は全顆粒の $2/3$ 以上が墨を取れる場合。

好中球 100 箇中 0 度のもの a 箇 1 度が b 箇, 2 度が c 箇, 3 度が d 箇, 4 度が e 箇とすると

$$\text{平均貪喰度} = (0 \times a + 0.5 \times b + 1 \times c + 2 \times d + 3 \times e) \times \frac{1}{100}$$

III 実験成績

1. 正常骨髓白血球系造血に及ぼす Cyt. C の影響
1) 正常海狸骨髓培養への Cyt. C 添加 (5 例平均)

(1) 比較成長価 (第 1 表, 第 1 図)

図に示す如く Cyt. C 0.1mg/cc 及び 1.0mg/cc 添

第1表 Cyt. C 添加正常海狸比較成長価

添加濃度 mg/cc	対 照	1.0	0.1	0.01
海狸番号				
No. 1	11.1	12.2	12.4	9.7
No. 2	12.2	13.6	13.5	10.7
No. 3	12.1	14.1	14.3	12.3
No. 4	13.5	14.8	15.2	11.9
No. 5	12.6	12.8	13.6	9.4
平均	12.3	13.5	13.8	10.8

第1図 Cyt. C 添加正常海狸比較成長価
(5例平均)



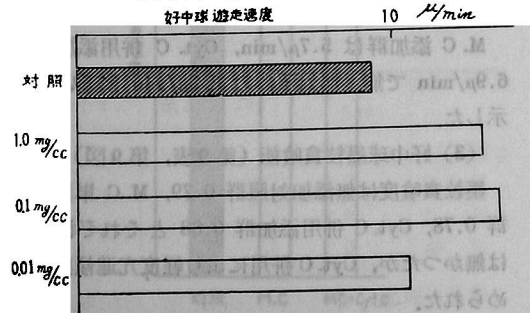
加群では対照群より組織増生稍亢進を示し、0.01mg/cc 添加群は軽度抑制された。

(2) 好中球遊走速度 (第2表, 第2図)

第2表 Cyt. C 添加正常海狸好中球遊走速度
(μ /min)

添加濃度 mg/cc	対 照	1.0	0.1	0.01
海狸番号				
No. 1	8.8	12.7	13.7	11.6
No. 2	9.1	12.3	13.1	10.1
No. 3	9.8	13.5	13.8	10.5
No. 4	10.1	13.2	13.5	10.2
No. 5	9.7	12.8	13.4	10.6
平均	9.5	12.9	13.5	10.6

第2図 Cyt. C 添加正常海狸好中球遊走速度
(5例平均)



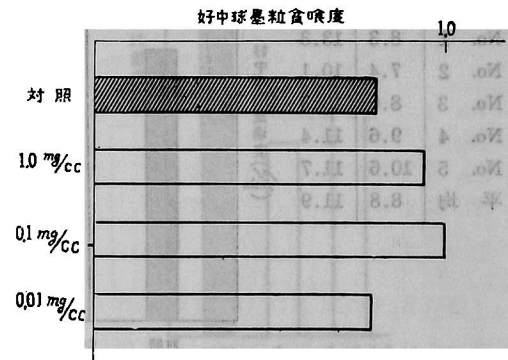
Cyt. C 0.1mg/cc 添加群は 13.5 μ /min で対照群の 9.5 μ /min に対し 1.4倍の高値を示した。Cyt. C 1.0 mg/cc 及び 0.01mg/cc 添加群でもそれぞれ 12.9 μ /min, 10.6 μ /min と対照群に比し亢進を示した。

(3) 好中球墨粒貪喰能 (第3表, 第3図)

第3表 Cyt. C 添加正常海狸好中球墨粒貪喰能

添加濃度 mg/cc	対 照	1.0	0.1	0.01
海狸番号				
No. 1	0.73	0.85	0.91	0.72
No. 2	0.78	0.88	0.94	0.76
No. 3	0.83	0.95	0.98	0.81
No. 4	0.91	1.03	1.09	0.89
No. 5	0.80	0.89	0.95	0.77
平均	0.81	0.94	0.99	0.79

第3図 Cyt. C 添加正常海狸好中球墨粒貪喰能
(5例平均)



Cyt. C 0.1mg/cc 添加群が最高値を示し、平均貪喰能は0.99であった。次いで Cyt. C 1.0mg/cc 添加群が0.94で対照群に比し稍亢進し、0.01mg/cc 添加群は0.79で対照群の0.81に比し有意の差がなかった。

以上の実験成績より正常海狸骨髓組織培養に於いて、Cyt. C 0.1mg/cc 添加群が他群に比し白血球系造血機能並びに好中球機能を最も著明に亢進さす事が判明したので以下の実験に於いては添加する Cyt. C の濃度は 0.1mg/cc を用いた。

2) 健康人骨髓培養への Cyt. C 添加

健康人として健康壮年男子3名, 女子2名につき胸骨骨髓組織培養を行ない、その平均値をとった。

(1) 比較成長価 (第4表, 第4図)

平均値は対照群 6.24, Cyt. C 添加群 9.49で対照群の1.52倍と著明な組織増生を示した。

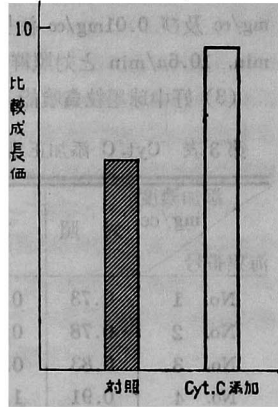
(2) 好中球遊走速度 (第5表, 第5図)

平均値は対照群 8.8 μ /min Cyt. C 添加群 11.9 μ /

第4表
Cyt. C 添加健康人比較成長価

	対照	Cyt. C 添加
No. 1	3.97	8.19
No. 2	7.05	9.85
No. 3	5.42	9.11
No. 4	5.47	8.71
No. 5	9.31	11.63
平均	6.24	9.49

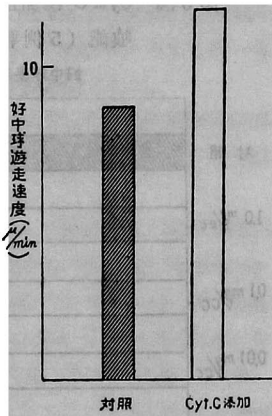
第4図 Cyt. C 添加健康人比較成長価(5例平均)



第5表
Cyt. C 添加健康人好中球遊走速度 (μ /min)

	対照	Cyt. C 添加
No. 1	8.3	13.3
No. 2	7.4	10.1
No. 3	8.0	13.3
No. 4	9.6	11.4
No. 5	10.6	11.7
平均	8.8	11.9

第5図 Cyt. C 添加健康人好中球遊走速度(5例平均)



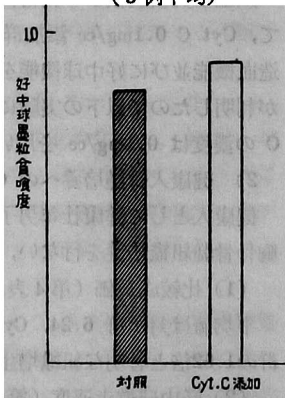
min で対照群の1.35倍と亢進した。

(3) 好中球墨粒貪喰能 (第6表, 第6図)

第6表
Cyt. C 添加健康人好中球墨粒貪喰能

	対照	Cyt. C 添加
No. 1	1.01	1.04
No. 2	0.95	0.85
No. 3	0.67	0.78
No. 4	0.72	0.94
No. 5	0.82	0.95
平均	0.83	0.91

第6図 Cyt. C 添加健康人好中球墨粒貪喰能(5例平均)



平均墨粒貪喰度は Cyt. C 添加群0.91で対照群の

0.83に比し軽度亢進を示した。

3) 健康人骨髓培養への Cyt. C 及び抗癌剤の併用添加 (各種抗癌剤につきそれぞれ3例ずつ実験を行った)

a) Mitomycin C との併用添加

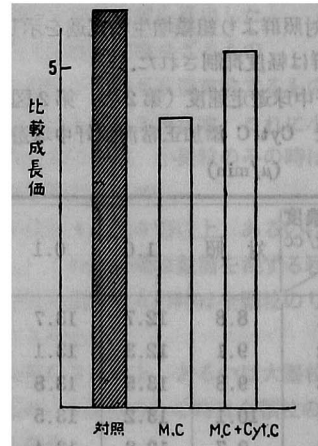
(1) 比較成長価 (第7表, 第7図)

第7表 Cyt. C 及び Mitomycin C 併用添加健康人比較成長価

	対照 (無添加)	M. C 添加	M. C. +Cyt. C
No. 1	7.05	5.83	5.93
No. 2	6.15	2.98	4.54
No. 3	4.56	4.16	5.46
平均	5.93	4.32	5.31

備考 M. C 添加: Mitomycin C 0.2mg/cc を添加
M. C+Cyt. C: Mitomycin C 0.2mg/cc 及び Cyt. C 0.1mg/cc を添加

第7図 Cyt. C 及び Mitomycin C 併用添加健康人比較成長価 (3例平均)



Mitomycin C (以下 M. C と略す) 添加群は 4.32 Cyt. C 併用添加群は 5.31 で M. C により抑制された組織増生が Cyt. C により回復傾向を示した。

(2) 好中球遊走速度 (第8表, 第8図)

M. C 添加群は 5.7 μ /min, Cyt. C 併用添加群は 6.9 μ /min で無添加対照群の 8.5 μ /min に近い値を示した。

(3) 好中球墨粒貪喰能 (第9表, 第9図)

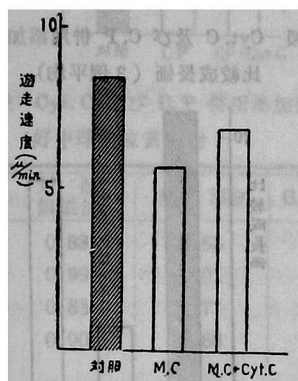
墨粒貪喰度は無添加対照群 0.79, M. C 単独添加群 0.78, Cyt. C 併用添加群 0.88 とそれぞれ大差は無かつたが, Cyt. C 併用により軽度亢進傾向が認められた。

第8表 Cyt. C 及び Mitomycin C 併用添加
健康人好中球遊走速度 (μ /min)

	対照 (無添加)	M. C 添加	M. C+Cyt. C
No. 1	8.7	4.2	5.7
No. 2	8.7	6.3	7.8
No. 3	8.0	6.6	7.3
平均	8.5	5.7	6.9

備考: 同上

第8図 Cyt. C 及び Mitomycin C 併用添加
健康人好中球遊走速度 (3例平均)

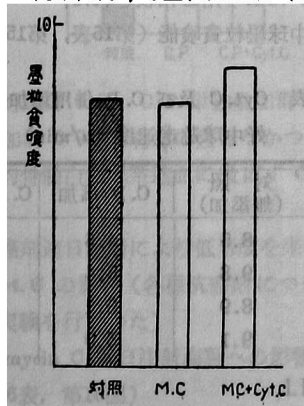


第9表 Cyt. C 及び Mitomycin C 併用添加
健康人好中球墨粒貪喰能

	対照 (無添加)	M. C 添加	M. C+Cyt. C
No. 1	0.83	0.72	0.73
No. 2	0.72	0.77	0.82
No. 3	0.84	0.86	1.08
平均	0.79	0.78	0.88

備考: 同上

第9図 Cyt. C 及び Mitomycin C 併用添加
健康人好中球墨粒貪喰能 (3例平均)



b) Trenimon との併用添加

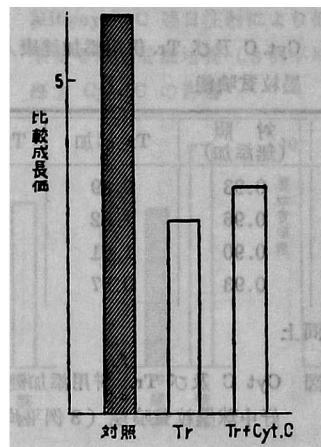
(1) 比較成長価 (第10表, 第10図)

第10表 Cyt. C 及び Trenimon 併用添加健康人
比較成長価

	対照 (無添加)	Tr 添加	Tr+Cyt. C
No. 1	6.67	2.76	3.10
No. 2	7.19	3.06	3.79
No. 3	4.26	2.81	3.35
平均	6.04	2.88	3.42

備考 Tr 添加: Trenimon 0.02mg/cc を添加
Tr+Cyt. C: Trenimon 0.02mg/cc 及び
Cyt. C 0.1mg/cc を添加

第10図 Cyt. C 及び Tr 併用添加健康人
比較成長価 (3例平均)



無添加対照群 6.04, Trenimon (以下 Tr. と略す) 単独添加群 2.88, Cyt. C 併用添加群 3.42 で Tr. により著明に抑制された組織増生が僅かながら Cyt. C により緩和されている。

(2) 好中球遊走速度 (第11表, 第11図)

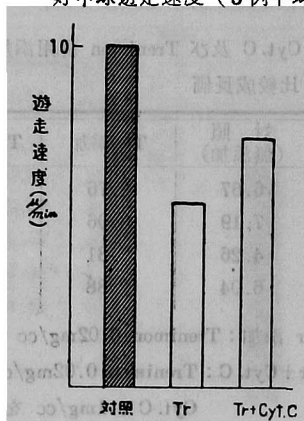
無添加対照群 10.1 μ /min, Tr. 単独添加群 5.5 μ /min, Cyt. C 併用添加群 7.4 μ /min で Tr. による抑

第11表 Cyt. C 及び Tr 併用添加健康人好中
球遊走速度 (μ /min)

	対照 (無添加)	Tr 添加	Tr+Cyt. C
No. 1	10.6	6.6	7.9
No. 2	9.4	4.7	6.0
No. 3	10.2	5.1	8.3
平均	10.1	5.5	7.4

備考: 同上

第11図 Cyt. C 及び Tr 併用添加健康人好中球遊走速度 (3例平均)



制が Cyt. C により明らかに緩和された。

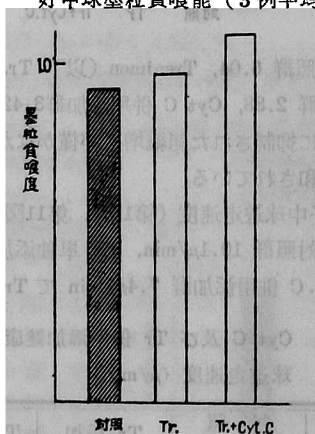
(3) 好中球墨粒貪喰能 (第12表, 第12図)

第12表 Cyt. C 及び Tr. 併用添加健康人好中球墨粒貪喰能

	対 照 (無添加)	Tr 添加	Tr+Cyt. C
No. 1	0.93	0.89	1.00
No. 2	0.96	1.02	1.16
No. 3	0.90	1.01	1.10
平均	0.93	0.97	1.09

備考: 同上

第12図 Cyt. C 及び Tr. 併用添加健康人好中球墨粒貪喰能 (3例平均)



墨粒貪喰能は無添加対照群 0.93, Tr. 単独添加群 0.97, Cyt. C 併用添加群 1.09 で Tr. による抑制も著明でなく三者の間に有意の差を認めなかつた。

c) Carzinophilin との併用添加

(1) 比較成長価 (第13表, 第13図)

第13表 Cyt. C 及び Carzinophilin 併用添加健康人比較成長価

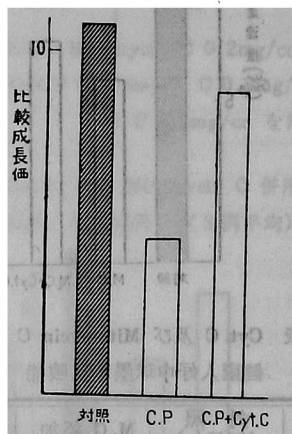
	対 照 (無添加)	C. P 添加	C. P+Cyt. C
No. 1	11.29	4.46	9.37
No. 2	12.25	5.75	10.03
No. 3	9.00	3.74	7.33
平均	10.85	4.65	8.91

備考 C. P 添加: Carzinophilin 1,000単位/ccを添加

C. P+Cyt. C: Carzinophilin 1,000単位/cc 及

び Cyt. C 0.1 mg/cc を添加

第13図 Cyt. C 及び C. P 併用添加健康人比較成長価 (3例平均)



無添加対照群 10.85 Carzinophilin (以下 C. P と略す) 単独添加群 4.65, Cyt. C 併用添加群 8.91 で C. P により著明に組織増生が抑制されたが, Cyt. C により無添加対照群の82%迄に抑制が緩和された。

(2) 好球遊走速度 (第14表, 第14図)

無添加対照群 9.1μ/min, C. P 単独添加群 5.0μ/min Cyt. C 併用添加群 8.6μ/min で C. P による抑制が Cyt. C により殆ど相殺された。

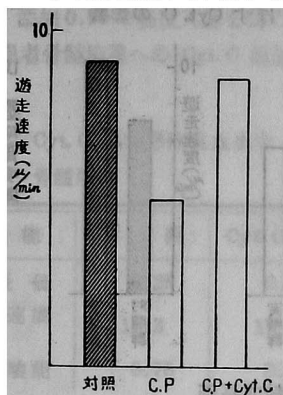
(3) 好中球墨粒貪喰能 (第15表, 第15図)

第14表 Cyt. C 及び C. P 併用添加健康人好中球遊走速度 (μ/min)

	対 照 (無添加)	C. P 添加	C. P+Cyt. C
No. 1	8.5	4.5	7.2
No. 2	9.8	5.4	10.1
No. 3	8.9	5.1	8.4
平均	9.1	5.0	8.6

備考: 同上

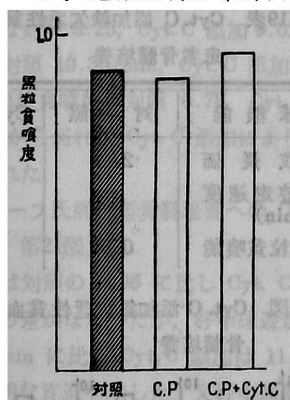
第14図 Cyt. C 及び C. P 併用添加健康人好中球遊走速度 (3例平均)



第15表 Cyt. C 及び C. P 併用添加健康人好中球墨粒貪喰能

	対 照 (無添加)	C. P 添加	C. P+Cyt. C
No. 1	0.88	0.85	0.90
No. 2	0.99	1.01	1.04
No. 3	0.83	0.77	0.91
平均	0.90	0.88	0.95

第15図 Cyt. C 及び C. P 併用添加健康人好中球墨粒貪喰能 (3例平均)



無添加対照群 0.90, C. P 単独添加群 0.88, Cyt. C 併用添加群 0.95 で有意の差はなかつた。

2. 病的骨髓白血球系造血に及ぼす 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 (各種抗癌剤につきそれぞれ3例づつ実験を行なった)

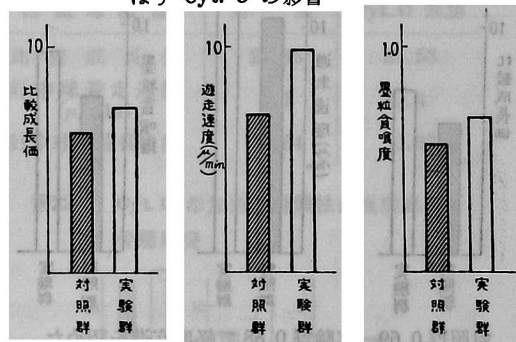
a) Mitomycin C 連日注射海狸への影響 (第16表, 第16図)

第16表 Mitomycin C 連日注射により低形成を来せる海狸骨髓培養に及ぼす Cyt. C の影響

	比較成長価		好中球遊走速度 (μ/min)		好中球墨粒貪喰能	
	対照群	実験群	対照群	実験群	対照群	実験群
No. 1	5.45	6.19	5.7	8.9	0.48	0.66
No. 2	6.73	7.58	7.7	11.3	0.67	0.74
No. 3	6.36	8.24	7.6	9.4	0.55	0.68
平均	6.18	7.34	7.0	9.9	0.57	0.69

備考 対照群: Mitomycin C (0.2mg/cc) 1ml 5日間連日腹腔内注射后, 生理的食塩水 1ml 5日間連日腹腔内注射海狸
実験群: Mitomycin C (0.2mg/cc) 1ml 5日間連日腹腔内注射後 Cyt. C (1mg/cc) 1ml 5日間連日腹腔内注射海狸

第16図 Mitomycin C 連日注射により低形成を来せる海狸骨髓培養 (3例平均) に及ぼす Cyt. C の影響



(1) 比較成長価

対照群 6.18 に比し実験群は 7.34 で軽度亢進を示した。

(2) 好中球遊走速度

対照群 7.0μ/min 実験群 9.9μ/min で 1.41 倍と著明な亢進を示した。

(3) 好中球墨粒貪喰能

対照群 0.57, 実験群 0.69 で稍亢進を認めた。

b) Trenimon 連日注射海狸への影響 (第17表, 第17図)

(1) 比較成長価

対照群 5.94 に比し実験群は 7.25 で 1.22 倍と亢進した。

(2) 好中球遊走速度

対照群 10.4μ/min に比し実験群は 13.1μ/min で明らかな亢進を認めた。

(3) 好中球墨粒貪喰能

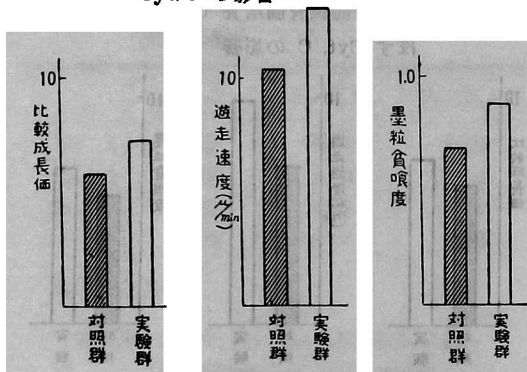
第17表 Trenimon 連日注射により低形成を来せる海猿骨髓培養に及ぼす Cyt. C の影響

	比較成長価		好中球遊走速度 (μ/min)		好中球墨粒貪喰能	
	対照群	実験群	対照群	実験群	対照群	実験群
No. 1	5.48	6.10	9.9	12.9	0.66	0.87
No. 2	6.33	8.81	10.7	13.3	0.74	0.90
No. 3	6.01	6.84	10.6	13.2	0.67	0.88
平均	5.94	7.25	10.4	13.1	0.69	0.88

備考 対照群：Trenimon (0.02mg/cc) 1 ml 5日間連日腹腔内注射後，生理的食塩水 1 ml 5日間連日腹腔内注射海猿

実験群：Trenimon (0.02mg/cc) 1 ml 5日間連日腹腔内注射後，Cyt. C (1 mg/cc) 1 ml 5日間連日腹腔内注射海猿

第17図 Trenimon 連日注射により低形成を来せる海猿骨髓培養 (3例平均) に及ぼす Cyt. C の影響



対照群 0.69, 実験群 0.88 で軽度亢進を認めた。

c) Carzinophilin 連日注射海猿への影響 (第18表, 第18図)

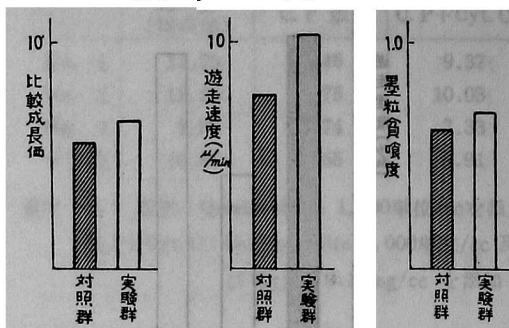
第18表 Carzinophilin 連日注射により低形成を来せる海猿骨髓培養に及ぼす Cyt. C の影響

	比較成長価		好中球遊走速度 (μ/min)		好中球墨粒貪喰能	
	対照群	実験群	対照群	実験群	対照群	実験群
No. 1	5.23	6.21	6.1	9.7	0.54	0.62
No. 2	5.56	7.31	8.5	10.4	0.64	0.71
No. 3	5.87	7.32	8.8	11.2	0.67	0.77
平均	5.55	6.61	7.8	10.4	0.62	0.70

備考 対照群：Carzinophilin (1,000単位/cc) 1 ml 5日間連日腹腔内注射後，生理的食塩水 1 ml 5日間連日腹腔内注射海猿

実験群：Carzinophilin (1,000単位/cc) 1 ml 5日間連日腹腔内注射後 Cyt. C (1 mg/cc) 1 ml 5日間連日腹腔内注射海猿

第18図 Carzinophilin 連日注射により低形成を来せる海猿骨髓培養 (3例平均) に及ぼす Cyt. C の影響



(1) 比較成長価

対照群 5.55 に比し実験群は 6.61 で明らかに亢進を示した。

(2) 好中球遊走速度

対照群 $7.8\mu/\text{mn}$ に比し実験群は $10.4\mu/\text{min}$ で 1.33倍と著明な亢進を認めた。

(3) 好中球墨粒貪喰能

対照群 0.62, 実験群 0.70 で僅かながら亢進を示した。

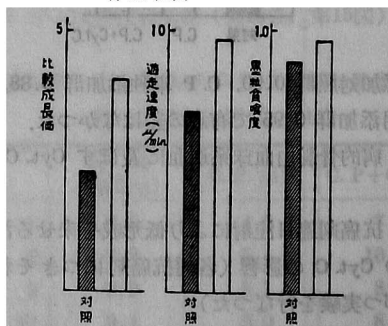
2) 各種疾患々者骨髓培養への Cyt. C 添加

a) 鉄欠乏性貧血患者骨髓培養への Cyt. C の添加 (第19表, 第19図)

第19表 Cyt. C 添加鉄欠乏性貧血患者骨髓培養

白血球機能	対 照	Cyt. C 添加
比較成長価	2.28	4.09
好中球遊走速度 (μ/min)	6.9	9.7
好中球墨粒貪喰能	0.89	0.96

第19図 Cyt. C 添加鉄欠乏性貧血患者骨髓培養



比較成長価は対照 2.28, Cyt. C 添加 4.09, 好中

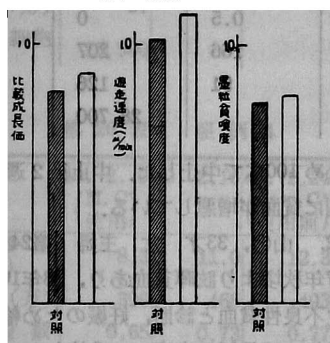
球遊走速度は対照 $6.9\mu/\text{min}$, Cyt. C 添加 $9.7\mu/\text{min}$ で共に著明な亢進を示した。好中球墨粒貪喰能も対照 0.89, Cyt. C 添加 0.96 で軽度亢進を認めた。

b) 悪性貧血患者骨髓培養への Cyt. C 添加 (第20表, 第20図)

第20表 Cyt. C 添加悪性貧血患者
骨髓培養

白血球機能	対 照	Cyt. C 添加
比較成長価	8.25	9.02
好中球遊走速度 (μ/min)	10.3	11.3
好中球墨粒貪喰能	0.78	0.81

第20図 Cyt. C 添加悪性貧血患者
骨髓培養



比較成長価は対照 8.25, Cyt. C 添加 9.02, 好中球遊走速度は対照 $10.3\mu/\text{min}$, Cyt. C 添加 $11.3\mu/\text{min}$, 好中球墨粒貪喰度は対照 0.78, Cyt. C 添加 0.81 で軽度ながら何れも Cyt. C 添加により白血球機能が促進された。

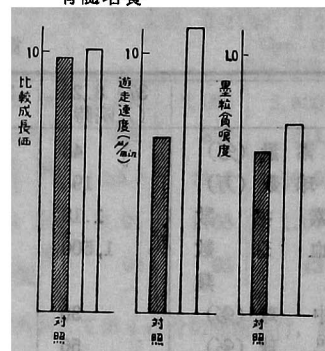
e) ウェルホーフ氏病患者骨髓培養への Cyt. C の添加 (第21表, 第21図)

比較成長価は対照の 9.86 に比し Cyt. C 添加は 10.18 で有意の差がなかつたが, 好中球遊走速度は対照の $6.8\mu/\text{min}$ に比し Cyt. C 添加は $11.1\mu/\text{min}$ で1.63倍と著明な亢進を示した。又好中球墨粒貪喰度は対照 0.63, Cyt. C 添加 0.74 で軽度亢進を認め

第21表 Cyt. C 添加ウェルホーフ氏病患者
骨髓培養

白血球機能	対 照	Cyt. C 添加
比較成長価	9.86	10.18
好中球遊走速度 (μ/min)	6.8	11.1
好中球墨粒貪喰能	0.63	0.74

第21図 Cyt. C 添加ウェルホーフ氏病患者
骨髓培養



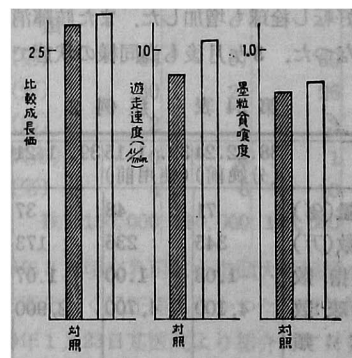
た。

d) 急性骨髓性白血病患者骨髓培養への Cyt. C の添加 (第22表, 第22図)

第22表 Cyt. C 添加急性骨髓性白血病患者
骨髓培養

白血球機能	対 照	Cyt. C 添加
比較成長価	27.45	28.53
好中球遊走速度 (μ/min)	9.1	10.4
好中球墨粒貪喰能	0.84	0.88

第22図 Cyt. C 添加急性骨髓性白血病患者
骨髓培養



比較成長価は対照 27.45, Cyt. C 添加 28.53, 好中球遊走速度は対照 $9.1\mu/\text{min}$, Cyt. C 添加 $10.4\mu/\text{min}$, 好中球墨粒貪喰度は対照 0.84, Cyt. C 添加 0.88 で, 三者共 Cyt. C 添加により僅少なから機能亢進が認められた。

附 Cytochrome C の2~3血液疾患への応用

第1編及び本編に於ける実験成績より Cyt. C が骨髓に対して何らかの好影響を与える事が推測されたので, 骨髓の全般的な機能低下症である再生不良

性貧血，並びに骨髓の白血球系造血機能障害である
抗癌剤使用後の白血球減少症に臨床応用を試みた。

1) 再生不良性貧血患者への Cyt. C の使用
症例 1. 村○, 55才 男 計理士 (第23表)

第 23 表 症 例 1

	37. 8. 22 (入院時)	37. 11. 5	38. 7. 31 (使用前)	38. 9. 4	38. 11. 7 (中 止)	38. 11. 26
血色素量 (%)	48	89	31	62	63	42
赤血球数 (万)	198	356	175	314	279	193
色素指数	1.18	1.24	0.88	0.98	1.13	1.09
白血球数	1,500	2,800	1,150	1,300	1,050	800
分 類						
好中球 (%)	30	48	40	64	34	44
淋巴球 (%)	56	48	54	30	58	54
好酸球 (%)	5	0	0	0	0	0
好塩基球 (%)	1	0	0	0	1	0
単球 (%)	8	4	6	6	7	2
栓球数	38,000	110,600	5,250	37,620	50,220	43,600
網状赤血球数 (%)	9	1	2	0.5	0	2
血清鉄 (γ%)	151	163	182	166	207	149
血清銅 (γ%)	171	69		91	126	152
骨髓有核細胞数	110,800		20,800		28,700	

昭和37年5月頃より心悸亢進，足背浮腫，全身倦怠感，貧血を来し当科に入院し再生不良性貧血として輸血，ACTH，Prednisolone 等による治療にて一時軽快退院した。退院後貧血増悪して37年12月再入院し，同様治療続行中38年夏に至り次第に貧血増強せるため，8月1日より Cyt. C 併用を行なった所，貧血は好転し栓球も増加した。また眩暈消失し気分良好となった。3ヶ月後も尚同様の状態で小康を得

ているため100本で中止した。中止後2週間で11月26日は既に貧血が増悪している。

症例 2. 山○, 33才 女 主婦 (第24表)

昭和37年秋頃より眩暈貧血あり，38年10月当科へ入院再生不良性貧血と診断，妊娠のため輸血のみで治療を行ない12月26日安産にて分娩した。その後輸血を中止して経過を観察していたが貧血が増強するため，39年1月17日より Cyt. C 1日 15mg を使用した。数日で耳鳴，眩暈は略々消失したが，貧血は依然増強するため赤血球浮游液を6日間併用した所貧血の軽度改善を認めた。

第 24 表 症 例 2

	38. 12. 24 (分娩前)	39. 1. 15 (使用前)	39. 1. 21 (使用中)	39. 2. 4 (使用中)
血色素量 (%)	71	48	37	51
赤血球数 (万)	345	236	173	224
色素指数	1.03	1.00	1.07	1.10
白血球数	4,100	4,700	2,900	3,100
分 類				
好中球 (%)	59	38	44	36
淋巴球 (%)	36	54	45	52
好酸球 (%)	1	3	0	1
好塩基球 (%)	0	0	0	0
単球 (%)	4	5	11	11
栓球数	20,700	75,500	76,000	49,300
出血時間	8'30"	3'30"	5'30"	5'
血清鉄 (γ%)	247		305	226
血清銅 (γ%)	137		228	126
骨髓有核細胞数	112,000	122,000		

症例 3. 山○, 34才 男 銀行員 (第25表)

昭和38年5月耳鳴を訴え，某病院で貧血を指摘され当科へ紹介されて入院した。入院時血液像は第25表の如くで再生不良性貧血と診断し，ACTH 及び Prednisolone 併用療法を行ない，かなり有効であったが一層の緩解を求めるため1月17日より Cyt. C 1日 15mg を併用したが自覚症状及び血液像に何ら変動は認められなかつた。

2) 抗癌剤使用による白血球減少症患者への Cyt. C の使用

症例 4. 和○, 63才 男 守衛 (第26表)

昭和38年秋より排便障害あり，39年2月より血便に気付き，39年8月某病院にて直腸指診で直腸癌と診断され，40年2月2日，日立造船因島病院外科へ

第 25 表 症例 3

	38. 6. 8 (入院時)	39. 1. 19 (使用前)	39. 1. 24 (中止)	39. 2. 14
血色素量(%)	41	55	58	71
赤血球数(万)	173	226	208	230
色素指数	1.20	1.20	1.41	1.54
白血球数	3,000	4,500	5,400	5,200
分 類				
好中球(%)	25	55	52	59
淋巴球(%)	70	40	40	35
好酸球(%)	1	0	2	0
好塩基球(%)	0	0	1	0
単球(%)	4	5	5	6
栓球数	17,300	38,420	39,200	34,500
出血時間	9'	10'30"	10'30"	10'
血清鉄(%)	320			299
血清銅(%)	57			80
骨髓有核細胞数	19,500			92,500

第 26 表 症例 4

	40. 2. 9 (M. C 使用)	40. 2. 16	40. 2. 24 (Cyt. C 使用前)	40. 3. 2 (Cyt. C 使用後)
血色素量(g/dl)	8.3	11.0	12.3	9.1
赤血球数(万)	399	468	493	430
色素指数	0.65	0.73	0.77	0.69
白血球数	8,400	7,000	4,000	7,500
分 類				
好中球(%)	72	60	56	72
淋巴球(%)	20	39	38	22
好酸球(%)	2	0	0	0
好塩基球(%)	0	0	0	0
単球(%)	6	1	6	6
栓球数	160,000	180,000	160,000	150,000
血沈値(mm/1時間)	25	26	42	45

入院、2月9日人工肛門造設術、3月2日根治手術施行、その間2月9日より Mitomycin C 1日 2mg 15日間使用にて白血球数 4,000 となつたため2月24日より Cyt. C 1日 15mg 7日間使用した所白血球数は 7,500 と増加した。

症例 5. 稲○ 54才 男 工員 (第27表)

昭和39年11月17日右肩胛部打撲、某整形外科医院でX線撮影にて肋骨に異常を認めなかつたが、11月20日より 38°C の発熱あり再び胸部 X線撮影の結果右第4肋骨骨折を認めた。病的骨折の疑いにて経過を観察していたが、悪性腫瘍の予想の下に40年1月

第 27 表 症例 5

	40. 3. 5	40. 3. 11	40. 3. 26 (Cyt. C 使用前)	40. 4. 10 (Cyt. C 使用後)
白血球数	4,000	2,000	3,800	5,800
赤血球数(万)	401	350	311	321
血色素量(g/dl)	12.9	11.5	10.6	10.9
色素指数	1.01	1.03	1.06	1.06
血沈値(mm/1時間)	90	65	43	22

13日日本学外科にて第4肋骨切除術施行、諸検査の結果胃癌よりの転移と判明した。術後より Co⁶⁰ 300γ 照射24回、Mitomycin C 40mg、Endoxan 2300mg を3月5日迄使用、3月11日白血球数 2,000 に減少、3月26日尚白血球数 3,800 にて全身倦怠感著明、そこで Cyt. C を1日 15mg で15日間使用したところ4月10日には白血球数は 5,800 と増加した。

症例 6. 那○, 48才 女 主婦 (第28表)

第 28 表 症例 6

	40. 2. 5 (M. C 使用)	40. 2. 15	40. 2. 26 (Cyt. C 使用前)	40. 3. 8 (Cyt. C 使用後)
血色素量(g/dl)	14.6	10.3	11.0	14.2
赤血球数(万)	456	294	328	347
色素指数	1.00	1.00	1.05	1.27
白血球数	6,900	5,200	3,300	5,000
分 類				
好中球(%)	64	67	60	67
淋巴球(%)	30	21	26	30
好酸球(%)	2	4	3	0
好塩基球(%)	0	2	1	0
単球(%)	4	6	10	3
栓球数	150,000	150,000	140,000	140,000

昭和39年8月頃左乳房に小指頭大の腫瘍を触知、大きさに変化なく又圧痛もなかつたので放置していたが、40年1月23日某医院より紹介にて日立造船因島病院外科へ入院、1月31日乳癌にて根治手術施行、2月5日より Mitomycin C を1日 2mg で20日間使用、白血球数は 3,300 と減少したので、2月26日より Cyt. C を1日 15mg で10日間使用したところ白血球数は 5,000 と増加したが栓球数には変動が見られなかつた。

症例 7. 富○, 41才 女 主婦 (第29表)

昭和37年某医院で胃癌と診断され昭和38年8月26日日本学外科にて胃全摘術施行、9月30日退院以後自宅療養をしていた、昭和39年7月頃より腹部膨満感、

第 29 表 症 例 7

	39. 9. 20 入院時	40. 2. 3 (M. C 使用)	40. 2. 10	40. 2. 18 (Cyt. C 使用前)	40. 3. 5 (Cyt. C 使用後)
赤血球数(万)	385	365	303	255	257
血色素量(g/dl)	9.8	13.1	11.2	9.8	9.9
白血球数	4,800	4,800	4,500	3,000	3,100
分 類					
好中球(%)	79	70	65	56	60
淋巴球(%)	12	28	31	40	32
好酸球(%)	3	1	1	0	0
好塩基球(%)	0	0	0	0	0
単 球(%)	6	1	3	4	8
栓 球 数	150,000	140,000	130,000	120,000	100,000

食欲不振全身いそう著明となり、9月20日日立造船因島病院内科へ入院癌性腹膜炎と診断され、オロチン酸クロロキンを1日200mg 静注にて約3ヶ月間使用した所腹水の減少、右悻肋下部腫瘤の縮小を見、一次小康を得たが昭和40年1月初旬より再び腹水貯溜腸管通過障害を来たしたので2月4日より Mitomycin C 2mg で2月18日迄 30mg 使用、白血球数は3,800と減少したので Cyt. C を1日15mg で15日間使用したが白血球数の増加は認められなかつた。尚本患者は全身衰弱甚だしく、4月7日死亡した。

以上再生不良性貧血に対しては3例中1例が有効であつた。抗癌剤使用後の白血球減少症に対しては4例中3例が有効であつた。

IV 総 括

以上の実験成績を総括すれば次の如くである。

1. 正常骨髓白血球系造血に及ぼす Cyt. C の影響

1) 正常海狸骨髓培養へ Cyt. C を添加するに白血球系造血の亢進を認めた。即ち比較成長価、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能共に Cyt. C 0.1mg/cc 添加群が最大で1.0mg/cc 添加群がこれに次ぎ、0.01mg/cc 添加群は対照と有意の差がなかつた。

2) 健康人骨髓培養へ Cyt. C を添加するに、やはり白血球系造血の亢進が認められた。即ち比較成長価、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能共に Cyt. C 添加群が増大した。

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比較成長価及び好中球遊走速度共に著明に低下したが、Cyt.

C 併用添加により低下の緩和傾向が認められた。好中球墨粒貪喰能に於いても軽微ながら同様な傾向が認められた。

2. 病的骨髓白血球系造血に及ぼす 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比較成長価、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能は著明に低下したが、引続き Cyt. C を注射する事により上記白血球造血機能の回復傾向が認められた。

2) 各種疾患々々骨髓培養へ Cyt. C を添加するに、鉄欠乏性貧血では比較成長価、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能共に著明に亢進した。

悪性貧血及びウェルホーフ氏病では特に好中球遊走速度が増大し、比較成長価、好中球墨粒貪喰能の亢進は軽度であつた。急性骨髓性白血病では三者共機能亢進は軽微であつた。

V 考 按

生体運動の直接エネルギーは ATP の高エネルギー磷酸結合が他物質に転移して磷酸エステルをつくり、これが他物質と結合すると共に磷酸を放つ際の自由エネルギーが転化されるによると考えられているが、白血球の運動能も同様な機序により維持されると云えよう。榎本⁵⁸⁾は健康人好中球の運動能及び貪喰能が ATP 添加により促進されることを観察し、又千田⁵⁹⁾は人の白血球浮游液に ATP を添加し好中球の遊走速度亢進を認め、白血球の運動のエネルギーは ATP であり、ATP によつて共転せられた Mechano-chemical system が存在すると結論している。一方教室の岡本³⁷⁾は骨髓組織培養に ATP を添加し

て、その組織増生面積の増加、細胞密度の増大、及び好中球遊走速度の亢進を認めている。ところで Cyt. C と ATP との関係であるが、前編で述べた如く Cyt. 系を中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 を生産すると考えられている。従つて Cyt. 系の中心をなす Cyt. C が白血球機能を促進さす事は充分推測される。本実験では海猿及び人の骨髓組織培養に Cyt. C を直接添加して、細胞増生の亢進及び白血球機能即ち遊走速度並びに墨粒貪喰能の亢進を認めたが、これは Cyt. C が骨髓の白血球系造血機能並びに白血球機能を促進さすことを示唆するものである。

次に抗癌剤に対する Cyt. C の態度であるが、近年化学療法的发展に伴い癌の治療において骨髓障害による白血球減少が問題になり、治療の継続が困難となることがしばしばである。その対策の一つとして白血球増多物質の研究がなされているが、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特に顆粒球の減少に対し Cyt. C が抑制的に作用したと報じている。

本実験では人骨髓培養への抗癌剤及び Cyt. C の併用添加、並びに抗癌剤連日注射により低形成を惹起させ、引続き Cyt. C を注射した海猿骨髓培養に於いて抗癌剤単独使用せる対照群に比し、Cyt. C を用いた実験群に比較成長価の増大、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能の亢進を認めたが、これは前記稲津¹⁴⁾の報告を骨髓細胞機能の面より実証したものと考えられる。

又 Cyt. C はヘム蛋白で構造の一部に Fe-Porphyrine 核を有しておりそれが血液に影響を及ぼす可能性が考えられる。中尾ら¹⁷⁾は各種血液疾患々々の骨髓組織培養に添加して、鉄欠乏性貧血では著明な増生帯の増加並びに細胞数の増加を認めているが、再生不良性貧血及び白血病では対照に比し差のないことを指摘し、臨床例に法いても無効であつたと報じている。

しかし川上¹⁸⁾は再生不良性貧血患者 2 例に使用し有効であつたと述べている。本実験における骨髓培養添加実験で鉄欠乏性貧血で著明な比較成長価の増大及び好中球機能の亢進が認められ、白血病では軽微であつたことは上記中尾ら¹⁷⁾の報告と一致する。

臨床応用面に於いては抗癌剤使用による白血球減少症に対して或程度有効であつた。これは Cyt. C が骨髓白血球系造血機能を促進さす事を臨床面からも裏づけるものであると考える。

VI 結 論

私は骨髓組織培養法を用いて Cyt. C の骨髓白血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) 正常海猿、健康人並びに各種疾患々々の骨髓組織培養による Cyt. C 添加実験を行なつた結果、Cyt. C 添加により比較成長価、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能は何れも対照群に比し増大を認めた。従つて Cyt. C はその至適濃度において骨髓白血球系造血機能を促進さすものと考えられる。

2) 健康人骨髓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惹起させ、引続き Cyt. C を投与した海猿骨髓培養に於いて、抗癌剤を単独使用せる対照群に比し比較成長価、好中球遊走速度及び好中球墨粒貪喰能の増大を認めた。又臨床応用に於いて抗癌剤使用による白血球減少症に Cyt. C を投与して有効であつた。即ち Cyt. C は抗癌剤の白血球系骨髓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。

擧筆するに当た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

- 1) Mac Munn, C. A.: *Phil. Trans.*, 177, 267, 1886.
- 2) Keilin, D.: *On Cytochrome, A Respiratory Pigment, Common to animals, yeast, and Higher Plants. Proc. Roy. Soc., B*, 98, 312, 1925.
- 3) Keilin, D.: *Cytochrome and intracellular respiration. Ergeb. Enzymforsch.*, 2, 239, 1933.
- 4) Theorell, H.: *Heme-linked groups and mode of action of some hemoproteins. Advances in En-*

- zymology, 7, 265, 1947.
- 5) Okunuki, K., Hagihara, B., Horio, T.: Crystalline Cytochrome C. *Nature*, 173, 629, 1956.
 - 6) 相沢豊三 他: Cytochrome の脳血管障害に対する影響. *内科*, 8, 958, 1961.
 - 7) 相沢豊三: Cytochrome C の臨床応用に関する研究, 脳血管障害における応用. *日本医事新報*, No. 1998, 10, 1962.
 - 8) 後藤平 他: 脳血管障害に対する Cytochrome C の臨床的応用について. *最新医学*, 16, 2541, 1961.
 - 9) 小林太刀夫: 心疾患における応用. *日本医事新報*, No. 1998, 14, 1962.
 - 10) Feinen, F. J.: Die Wirkung von Cytochrome C bei der Narkose und verschiedenen Sauerstoffmangelzuständen. *Dtsch. Med. Wschr.*, 80, 146, 1955.
 - 11) Klar, E.: *Med. Mschr.*, 3, 433, 1949.
 - 12) Fedtke, H. and Ammon, R.: Klinische Erfahrungen Mit Cytochrom C. *Klin. Wschr.*, 26, 603, 1948.
 - 13) Stelter, R.: Zur Therapie der akuten Kohlenoxydvergiftung mit Cytochrom C. *Die Medizinische* 1, 351, 1953.
 - 14) 稲津佳彦: 所謂白血球增多物質の薬理学的研究, 殊に制癌薬の副作用防止に関する検索. *東京医大誌*, 19, 1927, 1961.
 - 15) 清水直太郎 他: 制癌剤による血液障害の対策 特に栓球減少に対するテトクロンの効果. *産婦人科の世界*, 15, 1145, 1963.
 - 16) 赤木正信他: 未発表
 - 17) 中尾憑, 新谷和夫: Cytochrome C に関する血液学的研究. *日血誌*, 25, 5, 78, 1962.
 - 18) Albrecht, M.: Studien zur Thrombocytenbildung an Megakaryocyten in menschlichen Knochenmarkkulturen. *Acta Haemat.*, 17, 160, 1957.
 - 19) Bessis, M.: Imprime avec le Periodique Revue d'Hematologie, 2, 162, 1956.
 - 20) 位田保: 骨髓穿刺による人類骨髓巨大細胞の研究. *日血会誌*, 2, 371, 1938.
 - 21) Izak, G., Nelken, D.: Studies on Thrombopoiesis. *Blood*, 12, 507, 1957.
 - 22) 栗原操: 骨髓巨核細胞並びに血小板に於ける二, 三の知見. *日血会誌*, 7, 263, 1943.
 - 23) Pisciotta, A. V. et al: Studies on platelets, X, morphologic characteristics of megakaryocytes by phase contrast microscopy in normals and in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 8, 703, 1953.
 - 24) Wright, J. H.: Die Entstehung der Blutplättchen. *Virchows Arch.*, 186, 55, 1906.
 - 25) 角南宏, 栗井弘二: 骨髓巨核球の機能について (運動, 栓球分離, 貪喰). *日血会誌*, 19, 2, 81, 1956.
 - 26) 平木潔, 大藤真: 映画による血球の動態観察並びにその臨床応用, 主として骨髓培養による. *日血会誌*, 19, 406, 1956.
 - 27) 平木潔: 剔脾により治癒せる特発性栓球減少症の三例特に催栓球減少性因子及び巨核球機能 (運動並びに栓球分離) の生体観察. *診断と治療*, 44, 1956.
 - 28) Hiraki, K., Ofuji, T., Kobayashi, T., Sunami, H. and Awai, K.: Observations both in idiopathic thrombocytopenic purpura and normal adult. *Acta Med. Okayama*, 10, 2, 57, 1956.
 - 29) 平木潔: 骨髓に関する研究 (第二報). *東京医事新誌*, 71(7), 9, 1954.
 - 30) 平木潔: 白血病について. *癌の臨床*, 3(5), 613, 1957.
 - 31) 平木潔, 角南宏: 白血病の診断殊に臨床組織培養法による. *総合臨床*, 10, 1871, 1961.
 - 32) 福武勝博, 高橋進: 骨髓の生理に関する理化学的研究. *血液学討議会報告*, 第5編, 永井書店, 1953.
 - 33) Laborit, H. et al: Le Cytochrome C, frienateur Metabolique, Etude experimentale et clinique. *Preese Medicale*, 66, 597, 1958.
 - 34) 森田久男 他: 血小板の代謝. *最新医学*, 10, 81, 1955.
 - 35) 林和雄: 骨髓組織培養法による各種ビタミンの骨髓巨核球機能に及ぼす影響. *岡山医会誌*, 70, 2957, 1958.
 - 36) 西下秀男: 骨髓組織培養法による各種ホルモンの骨髓巨核球機能に及ぼす影響に関する研究. *岡山医会誌*, 71, 2343, 1959.
 - 37) 岡本迪男: ATPの骨髓造血機能に及ぼす影響に関する研究. *岡山医会誌*, 76, 105, 1964.
 - 38) Beinert, H. et al: Studies on the incorporation of injected cytochrome C into tissue cells. *J. Biol. Chem.*, 186, 167, 1950.

- 39) Werth, G.: Betrachtungen zur therapeutischen Verwendung des Cytochrome C. *Dtsch. Med. Wschr.*, 81, 249, 1956.
- 40) Zappe, E.: Die Behandlung kindlicher Sauerstoff-Mangelzustände mit Cytochrome C. *Arch. für Kinderheilkunde*, 156, 248, 1958.
- 41) Wissig, S. L.: An electron microscope study of the permeability of capillaries in muscle. *Anat. Rec.*, 130, 467, 1958.
- 42) Brachet, J.: *Biochemical Cytology*. Academic Press, Inc, 1957.
- 43) Beraud, T. et al: Variations du taux du cytochrome C dans les états d'anémie chez le lapin. *Schweiz. med. Wschr.*, 85, 174, 1955.
- 44) Proger, S. and Dekaneas, D.: The use of Cytochrome C in Combating Tissue Anoxia. *Science*, 104, 389, 1946.
- 45) Casta, G.: *Boll. soc. ital. Patol.*, 1, 232, 1950.
- 46) 村野匡也: Cytochrome C の生体作用に関する薬理学的研究. *日薬誌*, 57, 617, 1961.
- 47) Harrison, R. G.: Observation on the living developing nerve fibre. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 4, 140, 1907.
- 48) Carrel, A. and Burrows, M. T.: Cultivations of adult tissues and organs outside of the body. *J. A. M. A.*, 55, 1379, 1910.
- 49) Carrel, A. and Burrows, M. T.: An addition to the technique of the cultivation of tissues in vitro. *J. exp. Med.*, 14, 244, 1911.
- 50) Maximow, A.: *Über die Entwicklung Argrophiler und Kollagener Fasern in Kulturen von erwachsenem Säugtiergewebe*. *Ztschr. f. Mikr. Anat. Forsch.*, 17, 625, 1929.
- 51) Fieschi, A., Astaldi, G.: *La Cultura in vitro del Midollo Osseo*. Pavia, Tipografia del Libro, 1946.
- 52) Woodard, W. C., Pomerat, C. M.: The Development of patent Blood Vessels from adult Human Rib Marrow in Tissue Culture. *Anat. Rec.*, 117, 663, 1953.
- 53) Osgood, E. E., Muscovitz, A. N.: Culture of Human Marrow. *J. A. M. A.*, 106, 1888, 1936.
- 54) Osgood, E. E., Brownlee, I. E.: Culture of Human Marrow. *J. A. M. A.*, 108, 1793, 1937.
- 55) Norris, E. R., Majnarich, J. J.: Effect of Pteridines and Blood Sera on Human Bone Marrow cells in Vitro. *Am. J. Physiol.*, 153, 496, 1948.
- 56) Hays, E. E.: A Method for Studying the Effect of various Substances upon Red Cell Maturation in vitro. *Am. J. Med. Sci.*, 216, 528, 1948.
- 57) Hiraki, K., Ofuji, T. and Sunami, H.: The method of tissue culture (mainly of the bone marrow) and a simple method of observing living tissue. *Acta Med. Okayama*, 10, 3, 99, 1956.
- 58) 榎本巧: 白血球の運動並びに貪食能の維持について. *大阪大学医学雑誌*, 11, 1199, 1959.
- 59) 千田信行: 白血球の運動機構について. *最新医学*, 11, 72, 1956.
- 60) 川上保雄: 第2回チメクローム研究会, 1962.

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

Part 2

Effects of Cytochrome C On Leukopoietic Functions By Means
of Bone Marrow Tissue Culture

Supplement: Clinical Application of Cytochrome C to Some
Hematological Disorder

By

Tadashi Makihata

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

By means of bone marrow tissue culture the author investigated the effects of cytochrome C on leukopoietic function and obtained the following results:

1) When cytochrome C was added directly to the bone marrow tissue culture of normal guinea pigs, normal persons and patients with various diseases the growth rate of outgrowth, the wandering velocity and carbon particle phagocytosis of neutrophils were increased as compared with those of the control added with saline.

As the result, it has been seen that by adding an optimal amount of cytochrome C the leukopoietic functions of bone marrow were accelerated.

2) When cytochrome C was added with carcinostatic substances to the bone marrow tissue culture of normal persons, the growth rate of outgrowth, the wandering velocity and the carbon-particle phagocytosis of neutrophils were increased as compared with those of the control added with only carcinostatic substances. The similar results were obtained in the case of bone marrow tissue culture of guinea pigs of which bone marrow had been made hypoplastic by repeated administration of carcinostatic substances and then injected with the repeated administration of cytochrome C.

On the other hand, in its clinical applications, the repeated administration of cytochrome C were effective on some cases of leukopenia induced with carcinostatic substances.

As it has been demonstrated that cytochrome C has some relieving effects on the disturbance of leukopoietic functions of bone marrow successively injected with carcinostatic substances.
