

ヒト赤血球のNa輸送能に関する研究

—形態異常を伴う諸種疾患赤血球における
Na輸送能の検討—

川崎医科大学 血液内科学教室 (指導教授: 八幡義人教授)

吉 本 正 博

(昭和56年2月12日受付)

Studies on sodium transport in human red cells with abnormal shapes in various disorders.

Masahiro Yoshimoto

Division of Hematology, Department of Internal
Medicine, Kawasaki Medical School.

(Accepted on Feb. 12, 1981)

ヒト赤血球のNa輸送能と血球形態変化との関係を見る目的で、諸種血液疾患及び赤血球形態異常を伴う諸疾患患者赤血球について、Na転入・転出能及び諸種ATPase活性を検討した。血球形態の異常を示すもののうち、遺伝性球状赤血球症, Spur cell anemiaではNa輸送能の亢進がみられたが、鉄欠乏性貧血ではNa輸送能の低下が認められた。また諸種薬剤により人工的に惹起したStomatocyteにおけるNa転入能は、同程度の形態変化を呈していたにもかかわらず、用いた薬剤によってかなりの差がみられ、形態変化とNa輸送能との間には、必ずしも相関はなく、むしろ異なる種々の機序で同様の形態変化を来たすものと考えられた。

To clarify the relationship between sodium transport and morphological change of red cells, sodium fluxes and ATPase activities were determined in hematologically abnormal red cells of the patients with various diseases. Sodium fluxes were increased particularly in hereditary spherocytosis and spur cell anemia. On the other hand, they were decreased in iron deficiency anemia. Although stomatocytic changes were induced by various drugs to the same extent, the extent of increment of sodium influx was not correlated with the extent of shape changes in those modified red cells. Consequently, it is suggested that different mechanisms in increased sodium fluxes may exist not only secondary to the changes of red cells.

序 論

体細胞の形態はその細胞内の代謝系の活性に大きく依存しているといえる。一方、細胞形態

の変化もまた、細胞内の代謝系に大きな影響を与えるであろうことは容易に想定される。一般に細胞形態は直接的にしる、間接的にしる、細胞膜の形態とその機能に深く関連しているこ

とは論をまたない。

ヒト赤血球は細胞内微細器官を有しないため細胞膜研究には最適のモデルの一つと考えられている。諸種疾患状態の下で赤血球は正常の biconcave disc 形より変形し、種々の病的形態異常を示すことは広く臨床的に知られている^{1)~7)}。その際、赤血球の形態異常に伴って、細胞内代謝異常・膜代謝の異常が認められている^{8)~11)}。膜代謝の研究には種々の方法論が開発され、臨床的応用が試みられているが、その手技の容易さ、成績のすぐれた再現性のゆえに、Na 輸送能がしばしば取り上げられている。

この Na 輸送能異常を指標とする膜代謝異常が赤血球形態の変化といかなる相関を有するかは興味あるところであり、特に遺伝性球状赤血球症の異常所見を前提として考える時、重要であろう。しかるに、諸種血液疾患および赤血球形態異常を伴うことで知られている諸疾患で、この Na 転入・転出能が、いかなる異常を示し、また、いかなる意義を有するかについて、十分な報告がないのが現状である。

そこで、本研究では、これらの諸種疾患患者赤血球につき、Na 転入・転出能を検討し、同一標品における諸種 ATPase 活性をも測定し、その病態の一部の解明に資することを試みた。

方 法

(1) Na 転入能の測定:

ヘパリン採血により得た全血を、クボタ KC 70型遠心器で 2,500 rpm・15分間遠心沈殿させ、buffy coat および血漿を除去した後、得られた赤血球をグルコース加 0.154 M Na/K PO₄ 緩衝等張食塩水にて3回洗浄し、赤血球浮遊液を作成した。

hematocrit を 30% に調製、その 1 ml に ²²Na 0.3 μCi を加えて 37°C・2時間孵置した。定時に 0.1 M Mg Cl₂ 液で孵置赤血球を3回洗浄し、外液中の余剰 ²²Na を十分に除去した後、赤血球中に取り込まれた ²²Na の放射活性をウエル型 γ-カウンターにて計測した。

(2) Na 転出能の測定:

上記の方法で得た赤血球浮遊液に ²²Na を 0.6 μCi 添加して 37°C・2時間孵置し、まず ²²Na を赤血球内に取り込ませる。2時間後、この赤血球を、²²Na を含まないグルコース加 0.154 M Na/K PO₄ 緩衝等張食塩水で3回洗浄し、外液中の ²²Na を十分に除いた後、同液に再浮遊した。このうち 1 ml を 0.1 M Mg Cl₂ で洗浄し、得られた赤血球を「孵置前」とした。残りの 1 ml は、グルコース加 0.154 M Na/K PO₄ 緩衝等張食塩水を加えて、hematocrit を約 5% にした後、37°C・2時間再孵置し、定時に 0.1 M Mg Cl₂ で洗浄し、同様に「孵置後」とした。それぞれの標品中の ²²Na 放射活性を測定し、次式にて Na 転出率を算定した¹²⁾。

$$\text{Na 転出率} = 1/2 \ln \frac{\text{孵置前の赤血球中 } ^{22}\text{Na 活性}}{\text{孵置後の赤血球中残存 } ^{22}\text{Na 活性}}$$

(3) ATPase 活性の測定:

ATPase 活性の測定は、Hanahan らの方法¹³⁾の変法を用いて行なった。ヘパリン採血で得られた全血を上述の方法で buffy coat と血漿を取り除いた後、得られた赤血球を生理的食塩水で3回洗浄した。hematocrit を 10% に調製した後、その赤血球浮遊液 1 ml (4°C) につき 0.1 mg のサポニンを添加して、室温に約 10 分間放置し溶血させた。この溶血液 0.1 ml に各 ATPase 測定用混合液 0.4 ml を加え、44°C・2時間孵置した。ATPase 測定用混合液の最終組成は以下のとおりである。

Total [Mg²⁺, Na⁺, K⁺]-ATPase 活性測定用としては、80 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4), 3.6 mM Mg Cl₂, 80 mM Na Cl, 33 mM KCl, 2.5 mM Na-ATP, 0.5 mM EDTA からなる混合液を用いた。また ouabain sensitive 活性の測定には、上記の混合液に、さらに 0.9 mM ouabain を加え、total [Mg²⁺, Ca²⁺]-ATPase 活性の測定には、上記の混合液から EDTA を除き、替りに 0.05 mM Ca Cl₂ を加えた混合液を用いた。

定時に、氷冷した 5% トリクロル酢酸 2 ml を加えることによって反応を停止し、3,000

rpm・10分間遠心沈殿後, その上澄1mlを取り出し, それに0.15% モリブデン酸アンモニウム1.4ml, 10%アスコルビン酸0.1mlを加えて, 1時間呈色反応を行ない, 660m μ で比色し, 無機リン酸を定量した.

(4) 密度勾配遠心分離法による幼若赤血球

の分離:

洗浄赤血球を15,000rpm 60分間遠心沈殿し, その上層部(top), 下層部(bottom)を分画採取し, Na 転入能を上記の方法で測定した.

(5) 諸種薬剤との孵置実験:

Stomatocyte 形成惹起物質を用い, 洗浄正

Table 1. Sodium influx and efflux in normal and abnormal red cells

Disorders	Sodium influx			Sodium efflux	
	cases	m moles/l RBC/hr	μ moles/ 10^{10} RBC/hr	cases	hr ⁻¹
Normal	58	1.42 \pm 0.16	1.29 \pm 0.14	27	0.24 \pm 0.05
Hereditary spherocytosis					
non-splenectomized	13	2.33 \pm 0.47	2.14 \pm 0.46	9	0.32 \pm 0.07
splenectomized	10	1.96 \pm 0.34	1.69 \pm 0.32	9	0.29 \pm 0.08
Iron deficiency anemia					
untreated	31	1.49 \pm 0.30	1.02 \pm 0.16	24	0.27 \pm 0.07
treated	14	1.43 \pm 0.15	1.19 \pm 0.13	13	0.27 \pm 0.06
Spur cell anemia	3	4.98 \pm 0.53			
Congenital dyserythropoietic anemia					
(type 1)	1	1.54	1.46	1	0.31
(type 2, HEMPAS)	1	2.02	1.94	1	0.33
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	2	1.34	1.33	2	0.33
Hereditary elliptocytosis (non-hemolysing)	2	1.17	0.98		
Erythroleukemia	1	1.98	1.78		
Erythrocytosis	2	1.77	1.50	2	0.22
Autoimmune hemolytic anemia	1	1.97	1.83	1	0.22
Megaloblastic anemia	2	1.26	1.09		
Aplastic anemia	1	1.14	1.07	1	0.24
Anemia due to hypothyroidisms	1	0.98	0.93	1	0.19
Anemia due to collagen diseases	5	1.40 \pm 0.23	1.24 \pm 0.19	3	0.23 \pm 0.03
Hepatic disorders	5	1.35 \pm 0.17	1.28 \pm 0.16	3	0.24 \pm 0.09
Acute leukemia	4	1.36 \pm 0.16	1.36 \pm 0.19	3	0.32 \pm 0.05
Chronic myelocytic leukemia	3	1.39 \pm 0.04	1.09 \pm 0.10	2	0.20
Multiple myeloma	3	1.27 \pm 0.12	1.13 \pm 0.20	1	0.15
Malignant lymphoma	3	1.40 \pm 0.26	1.29 \pm 0.12	2	0.29
Idiopathic thrombocytopenic purpura	3	1.36 \pm 0.19	1.19 \pm 0.15	2	0.23
Chronic lymphadenitis	2	1.84	1.60	1	0.18

常赤血球について人工的に形態異常を伴う病的赤血球を作成した¹⁴⁾¹⁵⁾。すなわち、上記の方法で得た赤血球浮遊液にこれらの諸物質を諸種濃度にて添加し、一定時間の後、赤血球形態を位相差顕微鏡または走査電顕的に観察した。同時にこれらの諸物質処理赤血球について、²²Na 転入能を検討し、赤血球形態異常の程度と²²Na 転入能異常との相関性について検討した。

成 績

正常人および各種疾患患者赤血球のNa 転入能、転出能の測定成績は Table 1 に総括表示した。

(1) 赤血球 Na 転入能:

正常人 58 例における赤血球 Na 転入能は、 1.42 ± 0.16 m moles Na⁺/l RBC/hr ($1.29 \pm 0.14 \mu$ moles Na⁺/10¹⁰ RBC/hr) であった。遺伝性球状赤血球症では、未摘脾例 13 例で 2.33 ± 0.47 (2.14 ± 0.46) と著明な亢進を示した。一方、摘脾により (10 例)、Na 転入能は 1.96 ± 0.34 (1.69 ± 0.32) とやや軽減するが、なお正常成人のそれに比して明らかに有意の亢進を示した。この傾向は摘脾前と後の 2 回にわたって Na 転入能を測定しえた同一症例 (5 例) についても同様の傾向がみられた。その他の疾患については、spur cell anemia (3 例) で 4.98 ± 0.53 と著増を示し、さらに赤血球増多症 2 例の 1.77 (1.50)、慢性リンパ節炎 2 例の 1.84 (1.60) で、それぞれ亢進を認めた。ついで各 1 例ではあるが、自己免疫性溶血性貧血で 1.97 (1.83)、赤白血病 1.98 (1.78)、再生不良性貧血で 1.97 (2.09)、congenital dyserythropoietic anemia (CDA type II, HEMPAS) で 2.02 (1.94) と亢進を認めた。

Na 転入能の低下を示す疾患もいくつか認められた。鉄欠乏性貧血では Na 転入能を赤血球容積当りとして表現した場合には 1.49 ± 0.30 m moles Na⁺/l RBC/hr とほぼ正常の値を示すが、それを赤血球数当りで表わすと $1.02 \pm 0.16 \mu$ moles Na⁺/10¹⁰ RBC/hr と、正常対

照に比較して明らかに低下していた。この場合、鉄剤その他の投与により貧血が改善してくると、Na 転入能は改善を示した。また甲状腺機能低下症の 1 例で 0.98 (0.93) と低下を認めた。

今回 Na 転入能を検討したその他の原発性・続発性諸種血液疾患、諸種肝疾患などでは、Na 転入能に有意の異常を認めなかった。

(Fig. 1).

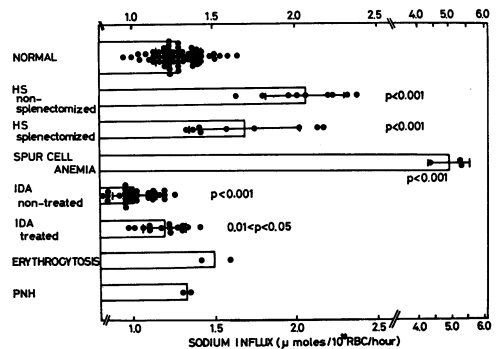


Fig. 1. Sodium influx in normal and abnormal human red cells.

(2) 赤血球 Na 転出能:

正常成人 27 例につき、Na 転出率を検討したところ、 0.24 ± 0.05 /hr であったが、遺伝性球状赤血球症では、未摘脾例 9 例で 0.32 ± 0.07 、摘脾例 9 例で 0.29 ± 0.08 とともに高値を示し、発作性夜間血色素尿症 2 例でも 0.33 と高値を示した (Fig. 2)。

おおむね Na 転入能と転出率の間には正の相関を認めるが、鉄欠乏性貧血だけは、Na 転

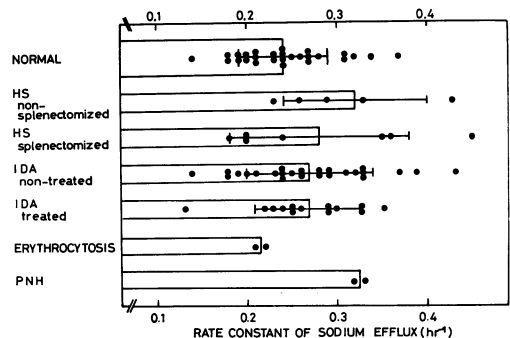


Fig. 2. Sodium efflux in normal and abnormal human red cells.

入能が低下しているにもかかわらず, Na 転出率の軽度亢進を認めた.

(3) 諸種赤血球 ATPase 活性:

ATPase 活性の正常値は, 正常成人 31 例赤血球で $[\text{Na}^+, \text{K}^+]\text{-ATPase}$ 3.39 ± 1.57 m moles Pi/1 RBC/hr ($3.05 \pm 1.43 \mu$ moles Pi/ 10^{10} RBC/hr), $[\text{Mg}^{2+}]\text{-ATPase}$ 3.35 ± 1.48 (3.02 ± 1.33), さらに正常成人 20 例で total $[\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}]\text{-ATPase}$ 19.71 ± 5.60 (17.74 ± 5.04) であった. 病的赤血球としては, 遺伝性球状赤血球症 未摘脾例 5 例では $[\text{Na}^+, \text{K}^+]\text{-ATPase}$ は 5.67 ± 1.42 (5.13 ± 1.42), $[\text{Mg}^{2+}]\text{-ATPase}$ 5.65 ± 1.01 (5.10 ± 1.00), total $[\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}]\text{-ATPase}$ 25.36 ± 4.38 (22.95 ± 3.84) といずれも活性の亢進を示した. 一方その摘脾例 9 例では $[\text{Na}^+, \text{K}^+]\text{-ATPase}$

3.62 ± 0.84 (3.12 ± 0.76) と本活性はほぼ正常化しているにもかかわらず, $[\text{Mg}^{2+}]\text{-ATPase}$ 5.79 ± 1.08 (4.99 ± 0.98), total $[\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}]\text{-ATPase}$ 25.63 ± 6.06 (22.06 ± 5.50) と活性の亢進が依然として見られ改善を示していない点は注目すべき点である. その他の諸種血液疾患, 肝疾患, 膠原病等の症例では, CDA type I の 1 例, CDA type II (HEMPAS) の 1 例を除き, これら赤血球 ATPase 活性は正常と有意の差を認めなかった (Table 2).

(4) Na 転入能に対する幼若赤血球の関与:

以上の諸成績に対する幼若赤血球の関与について, Na^+ の転入能を指標に検討した. 顕著な網状赤血球増多症を正常成人で得ることが困難なため, 鉄欠乏性貧血患者の鉄剤投与による

Table 2. Enzymatic activities of ATPases in red cell hemolysates of the patients with various diseases.

Disorders	cases	$\text{Na}^+, \text{K}^+\text{-ATPase}$	$\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$	total
		m moles/1 RBC/hr (μ moles/ 10^{10} RBC/hr)	m moles/1 RBC/hr (μ moles/ 10^{10} RBC/hr)	$\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ m moles/1 RBC/hr (μ moles/ 10^{10} RBC/hr)
Normal control	31	3.39 ± 1.57 (3.05 ± 1.43)	3.35 ± 1.48 (3.02 ± 1.33)	19.71 ± 5.60 (17.74 ± 5.04)
Hereditary spherocytosis non-splenectomized	5	5.67 ± 1.42 (5.13 ± 1.42)	5.65 ± 1.01 (5.10 ± 1.00)	25.36 ± 4.38 (22.95 ± 3.84)
splenectomized	9	3.62 ± 0.84 (3.12 ± 0.76)	5.79 ± 1.08 (4.99 ± 0.98)	25.63 ± 6.06 (22.06 ± 5.50)
Iron deficiency anemia untreated	25	3.39 ± 1.44 (2.31 ± 0.95)	4.20 ± 1.65 (3.76 ± 2.05)	19.13 ± 5.78 (19.13 ± 5.78)
treated	19	3.66 ± 0.84 (2.91 ± 0.75)	4.01 ± 1.91 (3.08 ± 1.18)	18.35 ± 5.59 (14.35 ± 3.85)
Spur cell anemia	1	6.76	4.08	29.40
Congenital dyserythropoietic anemia (type 1)	1	6.04 (5.74)	6.42 (6.10)	29.16 (27.70)
(type 2, HEMPAS)	1	6.12 (5.88)	4.18 (4.01)	22.78 (19.65)
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	1	2.10 (2.00)	3.40 (3.24)	
Anemia due to collagen diseases	3	2.99 ± 2.04 (2.59 ± 1.73)	3.77 ± 1.74 (3.28 ± 1.46)	18.75 ± 6.05 (16.37 ± 5.18)
Hepatic disorders	2	3.01 (2.92)	3.49 (3.38)	22.34 (21.63)

Table 3. Alterations of sodium influx in red cells incubated with various stomatocytogenic agents.

Agents	Concentration	Stomatocyte (%)	Sodium influx (m moles/l RBC/hr)
Control		0	1.42 ± 0.16
Vinblastine	0.23 mM	82±5	3.69 ± 0.42
Primaquine	0.58 mM	68±5	2.63 ± 0.30
Lecithin	4.2 %	92±8	2.63 ± 0.32
Cholic acid	2.0 mM	94±7	1.99 ± 0.22
Colchicine	9.0 mM	82±8	1.46 ± 0.17

治療症例を使用した。方法の項に既述のごとく、遠心分離法により網状赤血球の多い赤血球分画 (top layer) と、比較的網状赤血球の少ない赤血球分画 (bottom layer) とを得、それに非分画全赤血球 (total) の3者について Na 転入能を検討した。第1例では、全赤血球浮遊液中の網状赤血球数は 5.2% と明瞭な増加を示していたが、Na 転入能は 1.43 m moles Na⁺/l RBC/hr と正常であった。この赤血球浮遊液より得た top layer では網状赤血球 11.1% で、Na 転入能は 1.75, また bottom layer では各々 2.8% 1.33 であった。第2例では、全赤血球浮遊液で網状赤血球 7.7% と上昇していたが、Na 転入能は 1.17 m moles Na⁺/l RBC/hr と正常であり、同様に得られた top layer では網状赤血球数高値にもかかわらず、転入能は 1.30 に止まり、bottom layer では 1.17 であった。したがって、本質的には幼若赤血球は、Na 転入能に大きな影響を与えないが、多少高値を与える傾向がうかがえる。

(5) 赤血球形態変化 (stomatocyte 形成) と Na 転入能:

正常成人赤血球を諸種物質と孵置することにより、種々の程度の stomatocyte 形成が認められるが、その際の Na 転入能を検討した (Table 3)。この場合 vinblastine では著明な stomatocyte 形成が認められ、同時に Na 転入能も著しく亢進していることから、この両者の間の相関性は高い。同様の傾向は primaquine, lecithin でも認められる。一方, cholic acid では当該赤血球の 96% が stomatocyte 形成を示すにもかかわらず、Na 転入能はわず

か亢進しているにすぎず、とくに colchicine では 82% の赤血球が stomatocyte 形成を示しているにもかかわらず、Na 転入能は全く正常であった。

考 察

赤血球形態異常と膜機能との関係は膜代謝を知る上で重要である。今回、諸種血液疾患、肝疾患および膠原病患者赤血球について、Na 転入能、転出能を ²²Na を用いて検討し、あわせて、この Na 輸送能と関係する諸種赤血球 ATPase 活性を測定し、その関連性について検討した。

まず溶血性貧血のうち、代表疾患として知られている遺伝性球状赤血球症 (HS) について検討した。この場合、脾臓の関与および網状赤血球数などの点より、本症を摘脾前の症例と摘脾後の症例とに分けて考える必要がある。摘脾前の HS 症例では、赤血球 Na 転入能および Na 転出能は著しく亢進していることがすでに報告されており、¹⁶⁾⁻¹⁹⁾膜 (Na⁺, K⁺)-ATPase 活性の高値²⁰⁾²¹⁾と共に、赤血球膜の代謝亢進状態にあることが認められている。しかし今回の研究で興味ある点は、摘脾後の症例では、[Na⁺, K⁺]-ATPase 活性がほぼ正常化し、網状赤血球数も全く正常化するにもかかわらず、赤血球 Na 転入能は、やや軽快するものの、相変わらず明らかに有意の亢進を呈した点と、やはり摘脾前に著しい亢進を示した [Mg²⁺]-ATPase 活性は、摘脾によってもほとんど全く変化せず、著明な活性亢進を示した点とである。

本 HS 症においては、一般に幼若赤血球の占

める割合が大きく、網状赤血球の関与が問題となる^{22)~24)}。そこで網状赤血球増多症を呈した他疾患における Na 転入能を検討したが、膜 Na 転入能は必ずしも本質的には網状赤血球増多の影響を受けているとは言えない。したがって、本 HS 症における Na 転入能の著しい亢進は、その末梢血での網状赤血球増多症に、その一部を負うとしても、本質的には赤血球の intrinsic な異常によると考えて良いと思われる。

以上、本 HS 症の Na 輸送に関しては、

(1) 本症赤血球自体に依存し、しかも摘脾により $[Na^+, K^+]$ -ATPase 活性は正常化するにもかかわらず改善しない Na 転入能、転出能の亢進、(2) $[Mg^{2+}]$ -ATPase 活性の恒常的高値などが今後の課題であろう。

鉄欠乏性貧血 (IDA) 患者赤血球の Na 輸送能についても興味ある知見を得た。IDA 患者赤血球の Na 転入能を検討する場合には、その表現単位が問題となる。即ち、IDA では Hb 合成障害を反映して平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球容量 (MCV) が共に低下しているので、成績の判定にあたっては、単位赤血球容積当り (/l RBC/hr) の他に単位赤血球数当り (/10¹⁰RBC/hr) の成績も考慮した。IDA 患者赤血球では、単位赤血球数当りの Na 転入能は有意の低下を示すが、単位赤血球容積当りでは正常対照とほぼ同程度となり有意の差を認めない。一方 IDA 患者赤血球の Na 転出能は軽度の亢進を示したが、本論文では Na 転出能を rate constant (hr^{-1}) として表現しており、Na 転入能の場合と同様に単位赤血球数当りとして表現するためには、これと単位赤血球数当りの血球内 Na 量との積を求める必要がある。IDA 患者赤血球の単位赤血球当りの血球内 Na 量は、MCV の低下に伴い減少しており、それと rate constant との積、即ち単位赤血球数当りの Na 転出能は、Na 転入能の場合と同様、正常対照に比し低下していた (正常 2.13 ± 0.37 , IDA 1.44 ± 0.22)。以上の事実は、IDA 赤血球では、膜量の減少に基づく膜

表面積の減少が存在する可能性、あるいは Hb、含鉄酵素等の赤血球内成分の異常が Na 輸送能に何らかの影響を及ぼす可能性を推測させる。

上記 2 疾患以外では、spur cell anemia 患者赤血球において、HS 症における成績をはるかに凌駕する赤血球 Na 転入能の著しい亢進を認めたが、膜脂質の Na 輸送能に及ぼす関与を推定させる重要な所見であると考えられる^{25)~28)}。

Congenital dyserythropoietic anemia Type II (HEMPAS) で Na 転入・転出能の亢進が認められたが、本症末梢血では多彩な奇形赤血球が見られており、今後さらに症例を加え検討してゆく必要があると考える。

次に、これら正常及び病的赤血球における膜 Na 輸送能と ATPase 活性との相関について検討した。一般に Na 転出は大部分能動輸送によるとされ、その Na の pumping-out 機序には $[Na^+, K^+]$ -ATPase 活性が重要な役割を演じていると考えられている^{29)~37)}。今回の成績をもとに、Na 転出能と $[Na^+, K^+]$ -ATPase 活性との相関をみたのが Fig. 3 である。HS 症末摘脾症例を主体に、全体として有意の正の相関を示している。Na 転入能と $[Na^+, K^+]$ -ATPase 活性との相関についても検討したが

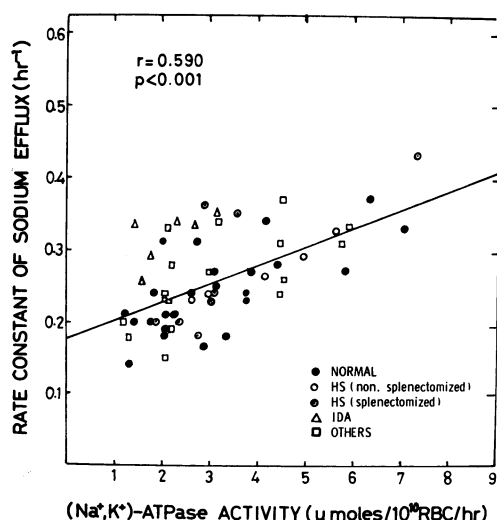


Fig. 3. Correlation between sodium efflux and $[Na^+, K^+]$ -ATPase activity in human red cells.

赤血球内の Na 濃度を恒常状態に保つために Na 転入能と転出能とは概して正の相関を示す傾向にあり、したがって、Na 転入能と $[Na^+, K^+]$ -ATPase 活性との間にもおおむね正の相関が認められた。ただし、既述のごとく、HS 症摘脾例では $[Na^+, K^+]$ -ATPase 活性はほぼ正常でありながら、膜 Na 転入能は亢進しており、別の機序の存在を示唆させる。

現在までに、赤血球形態変化を惹起する薬剤がいくつか知られている。このうち同一の形態変化を惹起するものとして stomatocyte 化を引き起こす諸種薬剤を用い、あらかじめ正常赤血球から人工的に作成した異常形態赤血球における Na 転入能を検討した。この場合、vinb-

lastine, primaquine などで生じた stomatocyte の場合には、同時に膜 Na 転入能の亢進がみられた一方、cholic acid, cholchicine の場合には、赤血球形態変化が顕著でありながら、膜 Na 転入能はほぼ正常でほとんど亢進しておらず、形態変化と膜 Na 輸送能との間に一義的な代謝的相関は認められない。これらの惹起薬剤が各々特異な作用機序を有することを考慮すると、むしろ種々異なる機序で、同様の赤血球形態変化を来たす可能性が考えられる。

稿を終わるにあたり、終始御懇切な御指導、御校閲を賜った川崎医科大学内科八幡義人教授に深甚なる謝意を捧げます。

文 献

- 1) Lessin, L. S. and Bessis, M.: Morphology of the erythron. In "Hematology" (Williams, W. J., Beutler, E., Erslev, A. J. and Rundles, R. W., eds.) New York, McGraw-Hill Book Co., 1977, p. 103—134
- 2) Parker, J. C. and Welt, L. G.: Pathological alterations of cation movements in red blood cells. Arch. Intern. Med., 129: 320—332, 1972
- 3) Nathan, D. G. and Welt, L. G.: Erythrocyte ion transport defects and hemolytic anemia; "Hydrocytosis" and "Desiccycytosis". Seminars Hematol. 7: 381—408, 1970
- 4) Weed, R. I., La Celle, P. L. and Merrill, E. W.: Metabolic dependence of red cell deformability. J. clin. Invest. 48: 795—809, 1969
- 5) Jandl, J. H.: Leaky red cells (An analytical review). Blood 26: 367—382, 1965
- 6) Miller, D. R.: The hereditary hemolytic anemias; Membrane and enzyme defects. Ped. Clin. N. Amer. 19: 865—887, 1972
- 7) 八幡義人: ヒト赤血球膜; その正常と病態(続). 臨床血液 17: 1049—1070, 1976
- 8) Eckel, R. E., Rizzo, S. C., Lodish, H. and Bergren, A. B.: Potassium transport and control of glycolysis in human erythrocytes. Amer. J. Physiol. 210: 737—743, 1966
- 9) Whittam, R. and Ager, M. E.: The coccexion between active cation transport and metabolism in erythrocytes. Biochem. J. 97: 214—227, 1965
- 10) Mohler, D. N.: ATP metabolism in hereditary spherocytosis. J. clin. Invest. 44: 1417—1424, 1965
- 11) Parker, J. C. and Hoffman, J. F.: The role of membrane phosphoglycerate kinase in the control of glycolytic rate by active cation transport in human red blood cells. J. gen. Physiol. 50: 893—916, 1967
- 12) Garrahan, P. J. and Glynn, I. M.: The behaviour of the sodium pump in red cells in the absence of external potassium. J. Physiol. 192: 159—174, 1967
- 13) Hanahan, D. J. and Ekholm, J. E.: The expression of optimum ATPase activities in human erythrocytes; A comparison of different lytic procedures. Arch. Biochem. Biophys. 187: 170—179, 1978

- 14) Yawata, Y. and Matsumoto, N.: A possible role of cyclic nucleotides on the shape and the membrane functions of mature human red cells. *Acta Haematol. Jap.* 39 : 597—612, 1976
- 15) 八幡義人, 是沢俊輔, 山田治, 柴田進: 赤血球形態変化と膜機能; Stomatocyte, echinocyte 形成と cyclic nucleotides. 厚生省特定疾患溶血性貧血調査研究班. 昭50 研究報告書. 1976, p. 319—325
- 16) Harris, E. J. and Pranker, T. A.: The rate of sodium extrusion from human erythrocytes. *J. Physiol. (London)* 212 : 470—486, 1953
- 17) Bertles, J. F.: Sodium transport across the surface membrane of red blood cells in hereditary spherocytosis. *J. clin. Invest.* 36 : 816—824, 1957
- 18) Jacob, J. S. and Jandl, J. H.: Increased cell membrane permeability in the pathogenesis of hereditary spherocytosis. *J. clin. Invest.* 43 : 1704—1720, 1964
- 19) Wiley, J. S.: Inheritance of an increased sodium pump in human red cells. *Nature* 221 : 1222—1224, 1964
- 20) Nakao, K., Kurashina, S. and Nakao, M.: Adenosine triphosphatase activity of erythrocyte membrane in hereditary spherocytosis. *Life Science* 6 : 595—600, 1967
- 21) Wiley, J. S.: Co-ordinated increase of sodium leak and sodium pump in hereditary spherocytosis. *Brit. J. Med.* 22 : 529—542, 1972
- 22) Bernstein, R. E.: Alterations in metabolic energetics and cation transport during aging of red cells. *J. clin. Invest.* 38 : 1572—1586, 1959
- 23) Joyce, C. R. B.: Uptake of potassium and sodium by parts of packed human blood cell column. *Quart. J. Ext. Physiol.* 43 : 299—309, 1958
- 24) Chapman, R. G.: Red cell life span after splenectomy in hereditary spherocytosis. *J. clin. Invest.* 47 : 2263—2267, 1968
- 25) Giraud, F. and Claret, M. and Garay, R.: Interactions of cholesterol with the sodium pump in red blood cells. *Nature* 264 : 646—648, 1976
- 26) Shohet, S. B., Nathan, D. G., Livermore, B. M., et al: Abnormal red blood cell cation flux in familial hemolytic anemia associated with abnormal membrane lipids. *Blood* 36 : 838, 1970
- 27) Cooper, R. A., Diloy-Puray, M., Lando, P. and Greenberg, M. S.: An analysis of lipoproteins, bile acids and red cell membranes associated with target cells and spur cells in patients with liver disease. *J. clin. Invest.* 51 : 3182—3192, 1972
- 28) Vanderkooi, J., Fischkoff, S., Chance, B. and Cooper, R. A. - Fluorescent probe analysis of the lipid architecture of natural and experimental cholesterol-rich membranes. *Biochemistry* 13 : 1589—1595, 1974
- 29) Bonting, S. L. and Caravaggio, L. L.: Studies on sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase; V. Correlation of enzyme activity with cation flux in six tissues. *Arch. Biochem. Biophys.* 101 : 37—46, 1963
- 30) Tosteson, D. C. and Hoffman, J. F.: Regulation of cell volume by active cation transport in high and low potassium sheep red cells. *J. gen. Physiol.* 44 : 169—194, 1960
- 31) Tosteson, D. C. Moulton, R. H. and Blaustein, M.: An enzymatic basis for the difference in active cation transport in two genetic types of sheep red cells. *Fed. Proc.* 19 : 128, 1960
- 32) Albers, R. W.: Biochemical aspects of active transport. *Ann. Rev. Biochem.* 36 : 727—756, 1967
- 33) Dunham, P. B. and Gunn, R. B.: Adenosine triphosphatase and active cation transport in red blood cell membranes. *Arch. intern. Med.* 129 : 241—247, 1972
- 34) Glynn, I. M.: Membrane adenosine triphosphatase and cation transport. *Brit. med. Bull.*

- 24 : 165—169, 1969
- 35) Skou, J. C.: Enzymatic basis for active transport of Na^+ and K^+ across cell membrane. *Physiol. Rev.* 45 : 596—617, 1965
- 36) Whittam, R. and Wheeler, K. P.: Transport across cell membranes. *Ann. Rev. Physiol.* 32 : 21—60, 1970
- 37) Cavieres, J. D.: The sodium pump in human red cells. In "Membrane transport in red cell" (Ellery, J. C. & Lew, V. L., eds) London, Academic Press, 1977, p. 1—37