特集 巨赤芽球性貧血

薬剤による巨赤芽球性貧血*

藤 岡 成 徳**

緒 言

血液中の細胞成分である赤血球や白血球はおのの芽細胞が骨髄中で数回の細胞分裂を経ながら成熟し、形態的、機能的に完備した後に末梢血液中に出現する。したがって骨髄での一定の細胞分裂、その前段階としての DNA 複製は正常造血に必須の過程であり、これが障害されることにより貧血や白血球減少症などの血液疾患がおこる。芽細胞の DNA 複製には DNA 合成系酵素による核酸前駆物質の生合成を必要とし、ビタミン B₁₂ (VB₁₂) や葉酸がその生合成に関与している。VB₁₂ や葉酸が欠乏すると巨赤芽球性貧血¹⁾になるが、胃内因子の分泌異常による VB₁₂ の吸収障害によっておこる貧血は悪性貧血²⁾として知られている。巨赤芽球は DNA 合成が阻害されており、成熟障害や骨髄内崩壊がおこる。巨赤芽球（厳密には巨赤芽球様細胞 megaloblastoid cell と呼ぶべきものも含む）は抗白血病剤や抗てんかん剤などの投与時、ある種の中毒の場合にも骨髄中に出現することが報告されている。ここではこれら薬剤の核酸合成に対する作用機序と巨赤芽球産生の関係を VB₁₂ や葉酸欠乏による巨赤芽球の核酸代謝と対比させて考察してみたい。

I. 巨赤芽球の核酸代謝と VB₁₂, 葉酸

悪性貧血骨髄の巨赤芽球 (図 1) の cell cycle は ³H-thymidine を用いた autoradiography に

図 1 悪性貧血患者の巨赤芽球性骨髄像
(骨髄穿刺液の Wright 染色標本)

よって研究された。標識率は正常の骨髄芽球に比べて同程度かむしろ増加していたが^{3)~5)}、単位時間あたりの grain count は低下していたので⁶⁾、DNA 合成が亢進していると言うよりは、その障害による DNA 合成期 (S 期) の延長があると考えられた。autoradiography による標識と共に細胞の DNA 含量を Feulgen 染色で測定し、正常の赤芽球では S 期の DNA 含量をもつ細胞はすべて ³H-thymidine で標識されているのに悪性貧血骨髄では S 期の細胞で標識されないものが多く見いだされた⁴⁾⁵⁾。DNA 量が S 期の細胞、すなわち 2C から 4C にある細胞は DNA 合成期にあるはずで当然に ³H-thymidine を取り込むが、悪性貧血の巨赤芽球ではこれが認められないものがあるので、S 期で DNA 合成が停止したり、遅延したりしていることが明らかである。DNA 量の分布をみると、巨赤芽球で 4C の細胞が多く、G₂ 期の延長が認められている。染色体の構造にも ac-centric fragments や gaps などの異常が見いだされ⁴⁾⁷⁾、一般に染色体の収縮が不良で長さの長いものがあり⁸⁾、分裂異常を考えさせる配列

* Drug-induced megaloblastic anemia

** 国立東京第一病院内科、東京大学医学部第三内科

Seitoku Fujioka: National Tokyo First Hospital and The Third Dept. of Internal Medicine, University of Tokyo.

図 2 Thymidylate 生合成と葉酸誘導体および VB_{12} の関係³³⁾

を示す場合もある。これらの変化は VB_{12} 欠乏に由来するもので、 VB_{12} の注射によって速やかに正常に戻る事が確かめられている。このように VB_{12} の欠乏が赤芽球の DNA 合成を障害し、巨赤芽球を産生させると考えられるが、 VB_{12} は DNA 合成系のどの反応に関与するのであろうか。

methylfolate block 説 : Killmann や Metz, Herbert らによれば、正常骨髓の細胞を *in vitro* で培養し、培養液に放射性 deoxyuridine を加えると DNA 合成をしている細胞に摂取されるが、悪性貧血骨髓では転入がおこりにくい⁹⁾ ¹⁰⁾。培養液に VB_{12} を加えると一部転入が回復し、葉酸を加えることにより正常骨髓と同様に摂取されることが観察された。この実験から VB_{12} は葉酸を介して DNA 合成に関係していることが推定され、しかも deoxyuridine が悪性貧血骨髓で DNA に転入され難いことから、 N^5, N^{10} -methylene tetrahydrofolate を補酵素として deoxyuridyate から deoxythymidyate が合成される反応の部位が障害されていると考えられた(図 2 参照)。homocysteine から methionine の生合成には methyl- B_{12} が補酵素として関与しているので¹¹⁾¹²⁾、 VB_{12} の欠乏で tetrahydrofolate の産生が抑制され、 N^5 -methyl-tetrahydrofolate が蓄積する。したがって tetrahy-

drofolate が不足し、thymidylate cycle の一連の反応が進行せず、deoxythymidyate の de novo 合成が低下する結果になる。実際に悪性貧血の症例で血漿中の N^5 -methyl-tetrahydrofolate が増加していることを示す報告もある¹³⁾¹⁴⁾。しかし、葉酸値が高値であったり、食餌中の十分な葉酸が吸収されて tetrahydrofolate に変わり得ると考えられるような悪性貧血でも巨赤芽球を示す例のあることから、 VB_{12} の作用を methylfolate block 説のみからでは説明し得ないように思われる。家族性におこった VB_{12} 反応性の巨赤芽球性貧血の骨髓で調べた最近の報告では deoxyuridine が正常に取り込まれているので¹⁵⁾この問題に関してはさらに詳細な検討が望まれる。

Ribonucleotide 還元酵素説 : Harvard 大学の Beck らは悪性貧血の巨赤芽球の model として VB_{12} 欠乏培地で培養された *Lactobacillus leichmannii* について研究した¹⁶⁾。この菌は VB_{12} 欠乏培地で DNA 合成が抑制され、増殖が阻止されるが、菌体に変化して長さや巾が大きくなる。この現象は正常赤芽球が悪性貧血で DNA 合成が障害されて巨赤芽球に変化すると類似している。この長大化した菌では ribonucleotides 含量は増加し、deoxyribonucleotides は極端に減少していた。 VB_{12} を加えることにより、

表 1 悪性貧血骨髄と *L. leichmannii* 酵素による ribonucleotides 還元に及ぼす coenzyme-B₁₂ の効果²²⁾

enzyme source	substrate dCDP formed (pmoles/mg protein/hour)					
		0	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
5'-deoxyadenosyl B ₁₂ concentration (M)						
bone marrow	CDP	64	56	70	78	72
<i>L. leichmannii</i>	CTP	29	1679	1903	2063	2051
<i>L. leichmannii</i>	CTP		1462	1974	1904	
plus bone marrow						
bone marrow	CTP	14	12	10	9	

これらの現象は正常化した。deoxyribonucleotides は DNA 合成の基質となる重要なもので、その生成に VB₁₂ が関与することが示された。ribonucleotide を還元して deoxyribonucleotide を生ずる反応を触媒する酵素 ribonucleotide reductase が *L. leichmannii* から抽出され、cell free system で coenzyme-B₁₂, reduced thioredoxin などの存在下に deoxyribonucleotide が生成されることが確認された¹⁷⁾¹⁸⁾。この酵素は ribonucleoside 三リン酸を還元し、相当する deoxyribonucleoside 三リン酸を生ずる¹⁹⁾。Escherichia coli からの ribonucleotide reductase は *L-leichmannii* のそれとは異なって coenzyme-B₁₂ は要求せず ribonucleoside 二リン酸のレベルで還元がおこる²⁰⁾²¹⁾。著者らは悪性貧血患者 3 名の骨髄から ribonucleotide reductase を抽出し、*L. leichmannii* 酵素を対照にして、種々の濃度の coenzyme-B₁₂ の酵素活性に及ぼす影響をしらべた(表 1)²²⁾²³⁾。その結果 coenzyme-B₁₂ は悪性貧血骨髄の ribonucleotide reductase の活性を増加させないことが確認された。人骨髄細胞の ribonucleotide 還元は二リン酸でおこり易くこの点でも *L. lichmannii* よりも *E. coli* の酵素系に似ている²⁴⁾。ラット肝癌²⁵⁾やマウス白血病脾²⁶⁾の ribonucleotide reductase も *E. coli* のそれに似ており、nucleotides による allosteric control の内容が互に異なる点があるのが主な相違点である。結局 VB₁₂ 欠乏培地で培養された *L. leichmannii* の DNA 合成阻害、長さの延長などの生化学的機序は ribonucleoti-

図 3 抗白血病剤 Methotrexate, 5-Fluorouracil, Cytosine arabinoside の構造式

de reductase を介していることが認められたが、巨赤芽球に関しては説明できない。巨赤芽球のなかに DNA 前駆物質合成に直接関係する酵素で VB₁₂ requirement のものが存在するのかどうか現時点では不明である。

II. 抗白血病剤による巨赤芽球

methotrexate : 葉酸拮抗剤として知られる methotrexate(図 3) を使用中に巨赤芽球が出現し、大赤血球性貧血がおこり、過分葉核白血球が認められた症例が報告されている²⁷⁾。この場合、白血球や血小板も極度に減少した。methotrexate は葉酸を還元し活性型の tetrahydrofolate に変える酵素 dihydrofolate reductase と強固に結合して酵素作用を阻害することが知られているので²⁸⁾、この場合の巨赤芽球産生の機序は葉酸欠乏症と同様で、本来の意味の巨赤芽球と形態の区別はつき難いと考えられよう。葉酸欠乏の場合 thymidylase cycle を介して deoxy-thymidylate の de novo 合成の阻止や purine 生合成の阻害によって DNA 前駆物質の生合成が抑制され、赤芽球の DNA 合成が障害される。長期に少量の methotrexate を投与する時は特に巨赤芽球性貧血の発生に注意すべきであ

図 4 抗白血病剤 Hydroxyurea, 6-Mercaptopurine, Cyclophosphamide の構造式

る。しかし、経過中に細胞の dihydrofolate reductase が増加して副作用を抑えることが知られており²⁹⁾、白血病治療の際はこのため耐性が発現して他の薬剤に変えなければならなくなる場合がある。

5-Fluorouracil (5 FU) : 5 FU (図 3) 投与後 24 時間で M : E 比が増加し、後骨髄球の核が薄く細網様になり、仁が著明になる³⁰⁾。48 時間後に巨赤芽球が出現するが、この場合にも thymidylate synthetase 反応の部位で障害がおこるので³¹⁾³²⁾、葉酸欠乏による pyrimidine 合成の低下と同様に deoxythymidylate の de novo 合成が抑制される。5 FU により細胞の thymidine kinase 活性が上昇して salvage pathway による deoxythymidylate 合成が進むことは骨髄細胞でも知られている³³⁾。methyl-folate block 説によれば deoxythymidylate の de novo 合成障害は VB₁₂ 欠乏の場合に関与しているので、5 FU による巨赤芽球は悪性貧血の場合と同様な機序によって生じたと考えられるので興味深い。ただし 5 FU は RNA に転入して蛋白合成に影響するのでさらに複雑になる³⁴⁾。

cytosine arabinoside (ara-C) : ara-c (図 3) 投与により数日以内に巨赤芽球が骨髄に出現する³⁵⁾。巨赤芽球の数は投与量に関係しており、3mg/kg 連日投与で赤芽球の 20 から 30% が巨赤

芽球になり、30mg/kg では 70 から 80 % が巨赤芽球に変化する。赤芽球の中でもっとも著明に巨赤芽球になるのは成熟した正染色赤芽球で、非常に大きな染色質の loose な核が現われるが、幼若赤芽球では大きさも核の変化もそれ程に著しくはない。ara-C により巨後骨髄球や多核白血球が出現するのは悪性貧血の場合に似ている。位相差顕微鏡像では核は内部構造をもたず、悪性貧血の巨赤芽球とは内容が異なる。分裂異常や染色体異常もおこり、多核巨赤芽球が生じることも報告されている³⁶⁾。ara-C の抗腫瘍作用は deoxycytidine を与えることにより軽減するので³⁷⁾、deoxycytidine を合成する経路である ribonucleotide 還元が関与すると考えられたが、抽出された ribonucleotide reductase による cell free の実験では否定的である³⁸⁾。磷酸化された ara-C は DNA の polymerization を抑制する効果をもつ³⁹⁾。

Hydroxyurea : ribonucleotide reductase は VB₁₂ を補酵素とするか興味をもたれたが、先に述べたように *L. leichmannii* と異なって人の骨髄では関係しないことが分った²²⁾。この酵素に作用する抗白血病剤は hydroxyurea (図 4) であり⁴⁰⁾⁴¹⁾、面白いことには hydroxyurea 投与により巨赤芽球性骨髄が惹起された⁴²⁾。この薬剤は他に作用もするので、影響は単一ではないが、巨赤芽球産生機序を考える上で非常に示唆に富んでいる。

6-mercaptopurine (6 MP) : 6 MP (図 4) の投与中にも巨赤芽球性骨髄はおこり得る⁴³⁾。6 MP で完全寛解した 10 名の白血病患者の内 9 名に巨赤芽球が出現し、巨後骨髄球や過分葉核白血球も観察された。対照として methyl-glyoxal-bis-guanylylhydrazine (methyl-GAG) で治療した群には巨赤芽球は認められていないが、両薬剤の使用量が副作用の強さによって異なるので骨髄に与える影響も違うと考えられ、厳密な意味では比較は困難であろう。6 MP の作用機序についてはこれまで多くの研究がなされているが、inosine-1- 磷酸から guanine-1- 磷酸が合成される経路を阻害したり⁴⁴⁾、hypoxanthine と guanine phosphoribosyl transferase に作用した

りするらしい⁴⁵⁾。いずれにしても核酸前駆物質である purine 生合成を障害する結果になる。葉酸欠乏の場合、もっと前の段階で de novo purine 生合成が阻害されるので 6 MP でもその類似が求められよう。

cyclophosphamide : 種々知られているアルキル化剤の中で cyclophosphamide (図 4) による巨赤芽球の出現が報告されている⁴⁶⁾。アルキル化剤は DNA の二本鎖にまたがって結合し、細胞の分裂増殖を抑制するのが主要な作用と考えられている⁴⁷⁾。悪性貧血の巨赤芽球でも tetraploid の細胞が増し、染色体の異常や分裂異常像が見られるが、アルキル化剤による分裂や増殖の抑制によっても巨赤芽球になり得るのであろう。

このように作用機序の異なる各種の抗白血病剤の使用により骨髓中に巨赤芽球が出現する場合があるが、薬剤を使用しなくても白血病のような疾患に罹患しているだけで巨赤芽球が認められる例があるし、VB₁₂ や葉酸値が検討されていないと、その欠乏が合併している可能性もあるので注意を要する。

III. 抗痙攣剤による巨赤芽球性貧血

抗痙攣剤として primidone, diphenylhydantoin, phenobarbital (図 5) などを長期に投与されているてんかん患者の約 30% に骨髓中に巨赤芽球が出現すると言われている。この内で巨赤芽球性貧血をおこすのはそれ程多くはないが、重症な貧血になる場合がある。diphenylhydantoin, primidone が巨赤芽球性貧血をおこす頻度が高いが、phenobarbital のみの投与によっても惹起される例がある^{48)~54)}。これらの薬剤による貧血発生の正確な機構は不明な点が多いが、血清や赤血球内の葉酸値が非常に低下しており、葉酸の吸収との関係が研究されている^{55)~57)}。葉酸は食物中の folate-heptaglutamate が小腸の conjugase により分解を受けて吸収されるが、diphenylhydantoin によりこの作用が抑制される⁵⁸⁾⁵⁹⁾。dihydrofolic reductase や他の活性型葉酸に関係した酵素を阻害するという成績は得られていない。primidone は葉酸要求性

図 5 抗痙攣剤 Phenobarbital, Primidone, Diphenylhydantoin の構造式

の *C. fasciculata* の増殖を抑制する⁶⁰⁾。barbituric acid も *E. coli* mutant の増殖を抑制するが、この効果は uracil を加えることで正常に戻る⁶¹⁾。骨髓に対する作用は不明である。血清 VB₁₂ もやや低値の傾向にある⁶²⁾。抗痙攣剤による巨赤芽球性貧血は薬剤投与を中止すると一時的に回復するが、再発する場合がある。葉酸投与によって全例が回復し、VB₁₂ のみでも半数は造血がおこる。両者の投与によって巨赤芽球性貧血は治療される⁶³⁾。ただし、葉酸や VB₁₂ による治療で貧血は回復するが、てんかんの発作の回数が増加し、発作を調節するのが困難になることがある⁵³⁾⁶⁴⁾。

IV. その他の薬剤や中毒による巨赤芽球

感染症に対する化学療法剤で巨赤芽球性骨髓がおこることが知られている。特に Chloramphenicol による巨赤芽球の出現は臨床的に経験することが比較的が多いようである⁶⁵⁾。化学療法剤や抗痙攣剤は骨髓の機能低下をもたらす、再生不良性貧血をおこすことが知られており、巨赤芽球出現は骨髓低形成の前段階的な意味があるかも知れない。同じように再生不良性貧血をもたらすベンゾール中毒でも巨赤芽球の出現を見ることがある⁶⁶⁾。巨赤芽球と骨髓低形成の

関係は注目さるべきであるが、まだ十分に解明されていない。

結 語

巨赤芽球性貧血は VB_{12} や葉酸の欠乏で通常はおこる。 VB_{12} や葉酸の生化学的機能と悪性貧血の巨赤芽球で認められる DNA 合成障害との関係について最近の知見を紹介した。抗白血病剤による巨赤芽球の出現機序を抗白血病剤の作用との関連で VB_{12} や葉酸欠乏の場合と比較した。抗座攣剤でも巨赤芽球性貧血になる例があり、その機序については葉酸の吸収障害が一つの原因と考えられている。

文 献

- 1) Wintrobe, M. M.: Clinical Hematology (6th ed) 502, 1968, Lea & Febiger, Philadelphia.
- 2) Castle, W. B.: Am. J. Med. Sci., **178**; 748, 1929.
- 3) Schmid, J. R., Moeschlin, S. & Haegi, V.: Acta Haematol., **32**; 65, 1964.
- 4) Menzies, R. C., Crossen, P. E., Fitzgerald, P. H. & Gunz, F. W.: Blood, **28**; 581, 1966.
- 5) Wickramasinghe, S. N., Cooper, E. H. & Chalmers, D. G.: Blood, **31**; 304, 1968.
- 6) Yoshida, Y., Toda, S., Shirakawa, S., Wakisaka, G. & Uchino, H.: Blood, **31**; 292, 1968.
- 7) Heath, C. W. Jr.: Blood, **31**; 800, 1966.
- 8) Powsner, E. R. & Berman, L.: Blood, **26**; 784, 1965.
- 9) Killmann, S. A.: Acta, Med. Scand., **175**; 483, 1964.
- 10) Metz, J., Kelly, Q., Swett, V. C. Waxman, S. & Herbert, V.: Brit. J. Haematol., **14**; 575, 1968.
- 11) Buchanan, J. M., Elford, H. L., Loughlin, R. E., McDougall, B. M. & Rosenthal, S.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **112**; 756; 1964.
- 12) Loughlin, R. E., Elford, H. L. & Buchanan, J. M.: J. Biol. Chem., **239**; 2888, 1964.
- 13) Herbert, V. & Zalusky, R.: J. Clin. Invest., **41**; 1263, 1962.
- 14) Waters, A. H. & Mollin, D. L.: Brit. J. Haematol., **9**; 319, 1963.
- 15) Lampkin, B. C., Pyesmany, A., Hyman, C. B., & Hammond, D.: Blood, **37**; 615, 1971.
- 16) Beck, W. S., Goulian, M. & Koshket, S.: Trans. Assoc. Am. Physiol., **78**; 343, 1965.
- 17) Blakley, R. L. & Barker, H. A.: Biochem. Biophys. Res. Commun., **16**; 391, 1964.
- 18) Beck, W. S. & Hardy, J.: Proc. Natl. Acad. Sci., **54**; 286, 1965.
- 19) Abrams, R.: J. Biol. Chem., **240**; PC 3697, 1965.
- 20) Holmgren, A., Reichard, P. & Thelander, L.: Proc Natl. Acad. Sci., **54**; 830, 1965.
- 21) Reichard, P.: J. Biol. Chem., **237**; 3513, 1962.
- 22) Fujioka, S. & Shilber, R.: Biochem. Biophys. Res. Commun., **35**; 759, 1969.
- 23) Fujioka, S. & Silber, R.: J. Lab. Clin. Med., **77**; 59, 1971.
- 24) 藤岡: 代謝, **8**; 90, 1971.
- 25) Moore, E. C. & Hurlbert, R. B.: J. Biol. Chem., **241**; 4802, 1966.
- 26) Fujioka, S. & Silber, R.: J. Biol. Chem., **245**; 1688, 1970.
- 27) Borrie, P. & Clark, P. A.: Brit. Med. J., **i**, 1339, 1966.
- 28) Werkheiser, W. C.: J. Biol. Chem., **236**; 3888, 1961.
- 29) Bertino, J. R., Huennekens, F. M. & Gabrio, M.: Clin. Res., **9**; 103, 1961.
- 30) Brennan, M. J., Vaitkevicius, V. K. & Rebuck, J. W.: Blood, **16**; 1535, 1960.
- 31) Cohen, S. S., Flaks, J. G., Barner, H. D. Loeb, M. R. & Lichtenstein, J.: Proc. Natl. Acad. Sci., **44**; 1004, 1958.
- 32) Bosch, L., Harbers, E. & Heidelberger, C.: Canc. Res., **18**; 335, 1958.
- 33) 藤岡, 小峰, 高久, 中尾: 医学のあゆみ, **64**; 400, 1968.
- 34) Horowitz, J. & Changaff, F.: Nature, **184**; 1213, 1959.
- 35) Talley, R. W. & Vaitkevicius, V. K.: Blood, **21**; 352, 1963.
- 36) Bell, W. R., Whang, J. J., Carbone, P. P., Brecher, G. & Block, J. B.: Blood, **27**; 771, 1966.
- 37) Chu, M. Y. & Fischer, G. A.: Biochem. Pharmacol., **11**; 423, 1962.
- 38) Moore, E. C. & Cohen, S. S.: J. Biol. Chem., **242**; 2116, 1967.
- 39) Furth, J. J. & Cohen, S. S.: Canc. Res., **28**; 2061, 1968.
- 40) Frenkel, E. P., Skinner, W. N. & Smiley, J. D.: Canc. Chemother. Rep., **40**; 19, 1964.

- 41) Krakoff, I.H., Brown, N.C. & Reichard, P.: *Canc. Res.*, **28**; 1559, 1968.
- 42) Frenkel, E. P. & Arthur, C.: *Canc. Res.* **27**; 1016, 1967.
- 43) Levin, R.H., Brittin, G.M. & Freireich, E. J.: *Blood*, **21**; 689, 1963.
- 44) Bennett, L.L. Jr., Simpson, L., Golden, J. & Banker J. L.: *Canc. Res.*, **23**; 1574, 1963.
- 45) Atkinson, M. R. & Murray, A. W.: *Biochem. J.*, **94**; 64, 1965.
- 46) Berndt, H. & Hiller, I.: *Klin, Wschr.*, **43**; 333, 1965.
- 47) Yamamoto, N. & Naito, T.: *Science*, **150**; 1603, 1965.
- 48) Mannheimer, E., Pakesch, F., Reimer, E. E. & Vetter, H.: *Medsche Klin.*, **47**; 1397, 1952.
- 49) Girdwood, R.H. & Lenman, J. A. A.: *Brit. Med. J.*, i, 146, 1956.
- 50) Benians, R. C. & Hunter, R.A.: *J. Ment Sci.*, **103**; 606, 1957.
- 51) Christenson, W.N., Ulmann, J. E. & Roseman, D. M.: *J. Am. Med. Ass.*, **163**; 940, 1957.
- 52) Newman, M. J. D. & Sumner, D.W.: *Blood*, **12**; 183, 1957.
- 53) Chanarin, I., Laidlaw, J., Loughridge, L. W. & Mollin, D. L.: *Brit. Med. J.*, i, 1099, 1960.
- 54) Penny, J. L.: *Archs. Intern. Med.*, **111**; 744, 1963.
- 55) Meynell, M. J.: *Lancet*, i, 487, 1966.
- 56) Dahlke, M. B. & Mertens-Roesler, E.: *Blood*, **30**; 341, 1967.
- 57) Hepner, G. W.: *Brit. J. Haemat.*, **16**; 241, 1969.
- 58) Hoffbrand, A. V. & Necheles, T. H.: *Lancet*, ii, 528, 1968.
- 59) Rosenberg, I.H., Godwin, H. A., Streiff, R. R. & Castle, W. B.: *Lancet*, ii, 530, 1968.
- 60) Baker, H., Frank, O., Hutner, S. H., Aaronson, S., Ziffer, H. & Sobotka, H.: *Experientia*, **18**; 224, 1962.
- 61) Woods, D. D.: *Biochem. J.*, **36**; 3, 1942.
- 62) Malpas, J. S., Spray, G. H. & Witts, L. J.: *Brit. Med. J.*, i, 955, 1966.
- 63) Druskin, M. S., Wallen, M. H. & Bonagura, L.: *New. Engl. J. Med.*, **267**; 483, 1962.
- 64) Reynolds, E. H.: *Lancet*, i, 1086, 1967.
- 65) Rich. M. L., Ritterhoff, R. J. & Hoffman, R. J.: *Ann. Int. Med.*, **33**; 1459, 1950.
- 66) 藤岡, 他: 第 9 回日本臨床血液学会総会抄録, 48, 1967.