家兎骨髓体外液体培養に関する研究

第三編

家兎骨髓体外液体培養に及ぼす各種ビタミンの影響

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木 潔教授）

岩 崎 一 郎

〔昭和31年5月3日受稿〕

目 次

1. 序 論
2. 実験材料並に実験方法
 - 1) 実験材料
 - 2) 実験方法
 - A) 細胞浮游液の作成
 - B) 各種ビタミンの添加
 - C) 培養方法
 - D) 赤血球, 有核細胞, 網状赤血球及

び Hb 量の測定

3. 実験成績
 - 1) ビタミン B₁ の添加
 - 2) ビタミン B₂ の添加
 - 3) ビタミン B₁₂ の添加
 - 4) 葉酸の添加
4. 総括並に考按
5. 結 論

1. 序 論

1911年 Funk⁷⁾ によつて、米糠や酵母から分離された鳥類脚気の有効成分が Vitamine と命名されたが、その後微量栄養素の研究が盛んに行われ、脚気予防物質以外に色々栄養上必要な成分が発見されるに至り、Drummond⁶⁾ が之等のものを一般に Vitamin と称し、之に A, B, C……等の記号を付けることとし、この中で抗脚気性物質はビタミン B と名付けられた。以来今日迄幾多の研究がなされて、この所謂ビタミン B には抗脚気因子の他に多くの因子が含まれる事が明らかとなり、総合してビタミン B 群と呼ばれる様になつた。ビタミン B 群中には発育促進因子を有するものもあり、又ビタミン B₁₂, 葉酸の如く抗貧血性因子を有するもののある事も明らかとなつた。即ち、金重¹⁵⁾¹⁶⁾ はビタミン B₁ には白血球増加作用があると云い、赤枝¹⁾ もビタミン B 複合体各因子に白血球遊走速度を促進する作用があると述べ、又ビタミン B₁₂ の抗貧血性作用に就ては R. West⁴¹⁾, Rickes 等の研

究以来, Spies et al.³⁸⁾, 更に本邦にても井上¹²⁾, 竹内, 赤枝等の研究があり, Davis et al.⁵⁾ の臨床報告もある。葉酸に就ても Cameron et al.⁴⁾ の研究, Zuelzer⁴²⁾ の臨床実験等によつて抗貧血作用のある事が明らかとなつている。さて発育促進作用に就てはビタミン B 群以外にも各種ビタミンにみられるもので従来より各種ビタミンの組織増生に及ぼす影響の研究は数多く行われている。即ち、1924年内藤²⁷⁾ は鶏胎児心臓組織の発育に及ぼす水溶性ビタミン B の影響に就て発表を行つており、1926年には Biscelgie²⁾ が海猿の肝、脾臓組織に対するビタミン A 及び B の影響を観察し、1928年には Börnstein³⁾, Sroemann がビタミン欠乏食を以て飼養したラッテより得た血漿中にラッテの心臓組織を培養してビタミンの影響をみている。更に1931年細野⁹⁾, 成沢等は鶏胎児心臓組織をオリーブ油及びビタミン D を添加したメヂウム中に於て培養し、1932年岡本³⁴⁾ はビタミン B 欠乏家鶏の血漿を培地として鶏胎心臓心室組織、中脳組織を培養し、Nordmann³¹⁾ 及び Horger は海猿の肝上皮組

組織培養に対するビタミンDの作用に就て研究を行つており、1933年仲田²⁹⁾、高野等はビタミンA、B、C、Dを投与せる家兎血漿中に家兎の脾臓組織を培養し、1937年新田³⁰⁾は各種ビタミンに就て、そのFibroblasten培養に及ぼす影響を観察しており、1938年木村¹⁷⁾はビタミンB-Complex及びCに就て、1939年仲野²⁸⁾、沢井等はビタミンCに就て、鶏胎心臓及び脾臓組織に対する影響を実験している。1947年には栗山³¹⁾が副腎組織に対するビタミンB₁、B₂、Cの影響をみている。1936年にはOsgood³⁵⁾、Muscovitz、Brownlee等は人骨髓の体外液体培養に成功して、之に対するビタミン、その他諸物質の影響を研究しており、1948年にはNorris³²⁾³³⁾、Majnarichが家兎の骨髓液体培養を行い葉酸の之に対する影響をみており、本邦に於ても1950年牧野²⁵⁾²⁶⁾等がビタミンB₁、B₂、B₁₂及び葉酸の骨髓増生作用及び、それに対する諸物質の影響に就て家兎骨髓穿刺液液体培養に就て実験を行つている。この様にビタミンの組織培養に及ぼす影響は多数研究されているが骨髓組織培養に対する各種ビタミンの影響に関する研究は比較的少い様である。特に液体培養に関するものは数少く、牧野等の実験でも赤血球、網状赤血球、有核細胞の推移に就ては観察を行つているが、Hbの消長に関する観察は之を欠いている。私も家兎骨髓の液体培養を行い骨髓細胞増生に対する、人血清、アミノ酸等の影響を研究したが、更にビタミンの影響に就ても研究を行つた。各種ビタミン中でも特にビタミンB₁₂、葉酸等の如くビタミンB群中には明らかに抗貧血性作用を有するものがあるので、実験はB群中のB₁、B₂、B₁₂及び葉酸に就て行い、その骨髓における赤血球、有核細胞、網状赤血球及びHbの増減に対する影響を観察した。

2. 実験材料並に実験方法

- 1) 実験材料：体重1.5kg内外の幼若家兎の大腿骨、脛骨及び上腕骨骨髓を用いる。
- 2) 実験方法

A) 細胞浮游液の作成

第一編血清添加実験、第二編アミノ酸添加実験に於て行つたと同様にGey⁸⁾氏第一液を用いて、細胞浮游液を作る。

B) 各種ビタミンの添加

ビタミンB₁、B₂、B₁₂及び葉酸の種々の濃度のものを骨髓細胞浮游液に添加する。ビタミン溶液0.2ccに細胞浮游液1.8ccの添加割合とした。

C) 培養方法

ワールブルグ検圧計用の特殊bottleに細胞浮游液に各種ビタミンを添加したものを入れ、之をワールブルグ検圧計にかけて37°Cにて振盪培養を行う。

D) 赤血球、有核細胞、網状赤血球及びHb量測定

何れも培養開始前及び培養開始後3時間毎に9時間目迄測定を行う。測定方法は第一編血清添加実験、第二編アミノ酸添加実験に於て行つたと同様の方法に従つた。

対照としてはリンゲル液0.2ccを細胞浮游液1.8ccに加えたものを作り之の培養を行つた。

以上の実験操作はすべて無菌的に行うことは勿論である。

3. 実験成績

1) ビタミンB₁の添加

(実験番号Nr.103, 104, 106) (第1図及び第1表参照)

Nr.103：ビタミンB₁10γ添加の場合：赤血球数は培養前の172000より培養後3時間で189000、6時間、9時間値夫々192000、170000で6時間迄漸増の傾向を示したが、対照の培養前の176000より3時間毎に夫々197000、200000、183000と変化したのに比しややその増加率が劣る。有核細胞数に於ても培養前の46200より3時間毎に夫々43300、39600、30200と漸減して、対照の培養前の44500より3時間毎に43700、39200、35000と漸減したのと略々同様の傾向を示している。網状赤血球の増加も対照と大差ない。Hb量の変化

第1表 Vitamin B₁₂添加

培養時間	Nr. 103	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 ‰	Hb量 mg/dl	Nr. 106	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 ‰	Hb量 mg/dl
0	10γ添加	172	462	27	615	10γ添加	221	302	32	865
3		189	433	52	615		233	297	61	865
6		192	396	47	500		237	280	62	740
9st.		170	362	33	395		225	276	42	615
0	1γ添加	171	435	28	615	1γ添加	232	312	31	865
3		190	422	47	615		253	302	59	865
6		193	416	46	557		256	293	57	615
9		176	372	35	500		248	287	50	500
0	0.1γ添加	171	479	28	740	0.1γ添加	227	308	31	740
3		193	480	52	615		250	296	60	740
6		197	425	49	557		254	265	55	615
9		173	396	36	500		239	242	49	500
0	対照	176	445	31	865	対照	230	297	27	740
3		197	437	59	802		255	260	48	740
6		200	392	52	740		261	252	46	615
9		183	350	35	500		248	241	30	500
	Nr. 104									
0	10γ添加	197	432	17	740					
3		216	411	32	740					
6		220	387	29	615					
9		207	372	23	395					
0	1γ添加	200	417	16	740					
3		227	401	29	740					
6		229	376	27	500					
9		216	350	20	500					
0	0.1γ添加	203	402	16	740					
3		234	366	29	740					
6		236	378	23	500					
9		227	356	19	395					
0	対照	210	421	20	615					
3		235	413	39	615					
6		239	399	37	615					
9		230	387	31	290					

も対照と同様に培養の経過中全然その増加を認めず、時間の経過と共に減少して行つた。

1γ添加の場合：赤血球数増加率、網状赤血球の増加共に対照と大差を認めず、有核細胞数も対照と同様に増加する事なく減少の一途を辿つた。Hb量の増量も之を認めなかつた。

0.1γ添加の場合：1γ添加時と同様に赤血

球、有核細胞、網状赤血球の数的推移は何れも対照と略々同程度の変化を認めるのみである。Hb量の増量も認めない。

Nr. 104, 106

何れの例でも Nr. 103 の場合と同様 10γ, 1γ, 0.1γ 添加の何れでも赤血球、有核細胞、網状赤血球、全て対照との間に有意の差を認めない。Hb量の増量も認められなかつた。

第1図 Vitamin B₁ 添加

赤血球増加率

有核細胞増加率

網状赤血球増加率

Hb 増加量

以上よりすればビタミン B₁ は何れの濃度のものの添加でも骨髓細胞増生に対して何等の影響を及ぼさないものの如くである。

2) ビタミン B₂ の添加

(実験番号 Nr. 111, 112, 113) (第2図及び第2表参照)

Nr. 111 :

100% 添加の場合 : 赤血球数は増加を示すことなく、培養前の191000より培養3時間後に172000と減少を示し、6時間後には更に169000、9時間後166000と減少して行つた。対照では培養前201000より3時間後238000、6時間後、9時間後夫々230000、214000と増加傾向を示している。有核細胞数の変化では対照例と大差をみない。網状赤血球の増加率は対照に比し劣っていた。Hb量では対照と

同じく増量認められず、培養3時間で125 mg/dl の減量を認めた。

10% 添加の場合 : 赤血球数増加は培養前の195000より3時間後204000と僅かに4.6%の増加をみるのみで対照の18.4%の増加に比し非常に劣る。6時間後でも210000で7.6%の増加率であるのに対照は14.4%の増加率を示している。有核細胞数の変化は対照との間に大差を認めない。網状赤血球は培養3時間後に60%の増加を示し、対照が培養前の約2倍に増加しているのに比しいささか劣つた値を

第2図 Vitamin B₂ 添加

赤血球増加率

有核細胞増加率

網状赤血球増加率

Hb 増加量

第2表 Vitamin B₂添加

培養時間	Nr. 111	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 %	Hb量 mg/dl	Nr. 113	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 %	Hb量 mg/dl
0	100γ添加	191	412	23	865	100γ添加	176	502	36	740
3		172	404	32	740		160	473	53	865
6		169	396	35	615		117	398	60	740
9st.		166	367	27	615		122	280	72	740
0	10γ添加	195	421	20	865	10γ添加	171	470	34	740
3		204	416	32	615		185	402	61	740
6		210	398	30	615		188	328	56	740
9		198	370	25	395		163	250	42	615
0	1γ添加	200	397	19	740	1γ添加	166	420	32	615
3		237	431	40	615		191	508	80	740
6		226	399	41	500		183	388	75	740
9		212	364	28	290		159	370	45	740
0	0.1γ添加	190	400	23	865	0.1γ添加	171	512	28	865
3		213	378	49	615		194	460	63	865
6		215	361	40	615		196	355	44	740
6		192	322	32	500		162	330	52	740
0	対照	201	433	21	865	対照	188	524	39	980
3		238	412	43	615		203	432	68	865
6		230	377	33	615		194	289	59	865
9		214	313	23	395		177	260	46	615
	Nr. 112									
0	100γ添加	250	362	19	740					
3		244	345	27	740					
6		212	331	31	615					
9		209	297	28	615					
0	10γ添加	262	403	19	740					
3		281	365	30	615					
6		282	328	28	615					
9		263	277	23	500					
0	1γ添加	247	371	17	740					
3		282	368	41	740					
6		278	324	39	740					
9		260	290	24	500					
0	0.1γ添加	265	396	16	865					
3		293	378	32	740					
6		299	356	23	740					
9		270	327	27	615					
0	対照	255	412	20	740					
3		291	387	32	615					
6		295	366	30	615					
9		282	315	24	500					

示している。Hb 量に於ては培養 3 時間後に 250mg/dl の減量をみており、対照も 250mg/dl の減少を示して全く同様の結果を得た。

17r 添加の場合：赤血球数は培養前 200000 を数え、3 時間後に 237000 と 18.5% の増加を示して対照の 18.4% の増加と略々等しく、6 時間値、9 時間値夫々 13.0%、6% の増加で対照の 14.4%、6.4% の増加と何れも略々等しい値を示した。有核細胞数に於ては対照が 43300 より 3 時間後に 41200 と減少を示しているのに対し、この例では B₂ 添加により 39700 より 3 時間後に 43100 と約 8.5% の増加を示している。網状赤血球に就ては対照との間に大差を認めない。Hb 量は培養 3 時間後に約 125mg/dl の減量を認めており、対照と同様増加をみなかつた。

0.17r 添加の場合：赤血球数は培養 3 時間後に 213000 を示して培養開始前の 190000 より約 12.1% の増加率を示す。之は対照の 18.4% の増加率に比しやや劣るものである。有核細胞は増加することなく、対照と同様に減少を示しており、減少率も略々対照に近い。網状赤血球の推移も対照との間に大差を認めなかつた。Hb 量は 0.17r 添加でも他の濃度の添加時と同様に増量を示すことなく 3 時間にして既に 250mg/dl の減量を示している。

Nr. 112

この例では何れの濃度の添加でも Nr. 111 と略々同様の結果を得た。即ち、100r 添加では赤血球数は増加する事なく反つて減少を示し、10r、0.17r 添加は対照より劣つた増加率を示し、17r 添加が略々対照と等しい増加率を示した。只 Nr. 111 に於ては 17r 添加時に有核細胞数がやや増加しているが、本例では増加を認めなかつた点が異なる。

Nr. 113

この例では 17r 添加時に Nr. 111 と同様に有核細胞の増加を認め、Nr. 111 と略々同じ成績を示しているが、網状赤血球の増加率が対照よりやや大である。

以上よりビタミン B₂ は高濃度の添加では赤血球増加をみず、適量添加時のみに略々対

照と同様の成績を示して、他の濃度ではやや対照より劣つた増加率を示すことが判明した。即ち、ビタミン B₂ は骨髓細胞増生に対して有意義な促進作用を有しない事が明らかとなった。

3) ビタミン B₁₂ の添加

(実験番号 Nr. 121, 123, 124, 125) (第 3 図及び第 3 表参照)

Nr. 121:

1.5r 添加の場合：赤血球数は培養前 202000 を数え、3 時間後に 214000、6 時間後、9 時間後夫々 182000、209000 で対照の 168000 よ

第 3 図 Vitamin B₁₂ 添加

第3表 Vitamin B₁₂添加

培養時間	Nr. 121	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 %	Hb量 mg/dl	Nr. 124	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 %	Hb量 mg/dl
0	1.5γ添加	202	403	44	980	1.5γ添加	171	326	27	740
3		214	438	55	615		181	314	39	500
6		182	368	59	802		179	295	42	395
9st.		209	292	46	740		172	281	29	395
0	0.15γ添加	157	308	43	923	0.15γ添加	176	345	32	865
3		214	324	58	500		242	367	41	615
6		193	346	57	500		247	360	45	615
9		185	446	49	395		220	321	35	290
0	0.015γ添加	185	458	41	802	0.015γ添加	192	312	21	740
3		187	440	56	500		199	306	30	500
6		183	308	64	615		197	278	35	395
9		152	436	51	557		161	266	28	290
0	0.0015γ添加	167	524	41	615	0.0015γ添加	187	411	30	740
3		180	321	53	190		201	378	35	500
6		164	350	54	395		196	320	37	290
9		145	300	43	395		170	292	31	190
0	対照	168	592	45	980	対照	178	361	29	740
3		186	331	52	865		205	352	39	615
6		191	346	52	740		212	348	42	615
9		153	350	43	740		182	340	27	395
	Nr. 123					Nr. 125				
0	1.5γ添加	316	672	36	980	1.5γ添加	197	402	21	865
3		327	609	49	615		208	398	29	615
6		321	601	52	615		206	376	31	500
9		319	578	40	500		200	352	23	500
0	0.15γ添加	298	598	37	865	0.15γ添加	188	400	21	865
3		392	616	52	500		265	412	29	740
6		370	615	50	500		257	425	33	740
9		333	623	42	290		239	440	24	395
0	0.015γ添加	307	628	27	740	0.015γ添加	192	412	20	740
3		312	611	38	500		200	407	27	500
6		310	569	40	500		187	396	34	500
9		305	572	37	395		175	390	25	395
0	0.0015γ添加	287	517	40	865	0.0015γ添加	200	496	22	740
3		295	485	49	290		222	420	27	500
6		292	460	53	290		208	407	27	395
9		278	421	45	90		176	391	23	190
0	対照	312	633	37	865	対照	197	472	22	865
3		354	587	49	740		215	463	27	740
6		366	569	43	500		226	465	28	740
9		317	512	35	500		198	470	20	500

り 186000, 191000, 153000 と変化したのに比し増加率やや劣る。有核細胞は対照が 3 時間後に大体 45 % の減少をみているのに反し, 8.7 % の増加を示す。網状赤血球の変化はやや対照より増加率大である。Hb 量の増量を認めない事は対照と同様である。

0.15 γ 添加の場合：赤血球数増加率は 3 時間値で 36.3 %, 6 時間値, 9 時間値夫々 22.9 %, 17.8 % と対照の 10.7 %, 16.0 %, 9 時間値の -9 % に比し著しく大なる値を示した。有核細胞に於ても 3 時間値 5.1 %, 6 時間値 11.0 %, 9 時間値 44.8 % の増加を認めている。網状赤血球の増加も対照より高値を示した。Hb 量のみは増量を認めていない。

0.015 γ 添加の場合：赤血球数増加率は 3 時間値僅かに 1.0 % で, 6 時間, 9 時間では培養開始前の値よりも減少を示した。有核細胞も増加を示さない。網状赤血球増加率はやや対照より高値である。Hb 量の増量は認めない。

0.0015 γ 添加の場合：赤血球増加率は培養前の 167000 より 3 時間後 180000 と僅かに 7.7 % の増加で, 6 時間値, 9 時間値共に対照より劣る。有核細胞も減少を示して, その減少の程度は略々対照に近い。網状赤血球の増加は対照より高値である。Hb 量の増加は之でも認めていない。

Nr. 123 :

何れの濃度の添加でも網状赤血球の増加は対照よりやや高い増加率を示し, Hb 量の増量は認めない。赤血球数増加率は Nr. 121 と同様に 0.15 γ 添加では対照より勝り, 他の濃度では対照より劣る。有核細胞数の増加は 0.15 γ 添加では認めるも, 他の濃度の添加では認めなかつた。

Nr. 124, 125 .

Nr. 121, 123 と略々同様の成績を示す。即ち, 0.15 γ 添加時に赤血球数増加率対照に比し著しく高値となり, 有核細胞の増加も認める。Hb 量の増量は何れの例でも認めない。

以上よりビタミン B₁₂ は 0.15 γ 添加時に増血促進作用がみられるが, 他の濃度の添加で

は増血促進は認められぬ事が判る。

4) 葉酸の添加

(実験番号 Nr. 132, 133, 135, 136) (第 4 図及び第 4 表参照)

Nr. 132 .

1.5 mg 添加の場合：赤血球数は培養前 176000 のものが培養 3 時間後に 166000 と減少を示し, 以後 6 時間, 9 時間後何れも 162000, 128000 と減少して行つた。対照では 157000 より 3 時間毎に 183000, 172000, 168000 と増加を示している。有核細胞も増加することなく減少を示し, 網状赤血球も増加認められず, 3 時間後に既に約 30 % の減少を

第 4 図 葉 酸 添 加

赤血球増加率

有核細胞増加率

網状赤血球増加率

Hb 増加量

第4表 葉 酸 添 加

培養時間	Nr. 132	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 ‰	Hb量 mg/dl	Nr. 135	赤血球数 ×10 ³	有核細胞数 ×10 ²	網状赤血球 ‰	Hb量 mg/dl
0	1.5mg添加	176	342	38	865	1.5mg添加	231	332	32	740
3		166	322	27	802		215	216	27	500
6		162	346	12	500		203	208	28	290
9 st.		128	280	20	190		196	197	20	290
0	150γ添加	210	472	36	865	150γ添加	227	320	32	740
3		204	394	46	802		220	317	29	615
6		202	363	22	740		211	282	27	290
9		147	304	20	290		206	261	24	290
0	15γ添加	176	402	31	865	15γ添加	227	327	30	865
3		184	398	39	865		235	322	37	740
6		188	390	21	615		237	295	34	500
9		129	342	18	395		218	290	35	190
0	1.5γ添加	202	492	41	740	1.5γ添加	224	329	29	740
3		215	508	44	615		231	329	34	615
6		167	380	35	500		220	317	31	395
9		136	356	27	290		211	298	27	190
0	対 照	157	392	34	615	対 照	232	330	31	865
3		183	413	51	1040		281	327	37	865
6		172	402	39	290		290	324	37	500
9		168	403	30	190		267	317	35	190
	Nr. 133					Nr. 136				
0	1.5mg添加	180	353	41	740	1.5mg添加	200	452	17	865
3		172	350	28	615		186	421	13	615
6		169	345	23	190		161	366	10	395
9		130	291	28	190		157	297	15	290
0	150γ添加	184	347	39	740	150γ添加	198	492	21	865
3		182	342	37	615		195	471	19	615
6		177	336	37	500		177	422	17	395
9		142	301	34	395		171	306	13	395
0	15γ添加	178	350	40	740	15γ添加	202	477	20	740
3		190	346	46	740		210	470	22	740
6		194	322	38	615		217	452	17	615
9		181	296	34	395		196	360	17	290
0	1.5γ添加	182	361	37	740	1.5γ添加	205	500	19	740
3		202	364	40	615		212	497	22	615
6		198	297	32	500		203	421	18	500
9		190	290	29	190		196	376	16	190
0	対 照	185	364	40	615	対 照	211	452	19	865
3		226	372	49	615		243	450	23	865
6		227	369	47	290		245	457	21	395
9		215	365	37	190		238	421	19	290

認めている。Hb量の増量も之を認めなかつた。

150r 添加の場合：赤血球数は210000より3時間後に204000、6時間、9時間後に夫々202000、147000と減少を示し、有核細胞も減少をみるのみであり、網状赤血球の増加も対照より劣っている。Hb量の増量も勿論認めなかつた。

15r 添加の場合：赤血球数は培養3時間後に184000と培養前の176000より約4.5%の増加を示すも、その増加率は対照より劣る。有核細胞数も増加を認めず、網状赤血球の増加も対照より劣る。Hb量の増量も認めない。

1.5r 添加の場合：赤血球数は培養前202000を算し、3時間後に215000と6.4%の増加を示すも6時間後には167000と著しい減少を示し、増加傾向は対照に比し著しく劣る。有核細胞の増加は3時間後に僅かに認めるが、6時間後には減少著しくなつた。網状赤血球の増加も対照より劣る。Hb量の増量は認めなかつた。

Nr. 133.

1.5mg, 150r 添加では赤血球の増加なく、有核細胞も減少を示し、網状赤血球も増加しない。Hb量の増加も認めなかつた。15r, 1.5r 添加で少々赤血球数の増加傾向を認めるも、増加率は対照より劣る。有核細胞、網状赤血球の変化は対照に似て而も何れも対照より劣つた値を示す。Hb量の増加は無かつた。

Nr. 135, 136:

何れもNr. 132, 133と略々同様の成績を示した。

以上よりすれば、葉酸には直接骨髓赤血球系細胞増生に促進的に作用する因子は無いのではないかと考えられる。

4. 総括並に考按

以上の実験成績を総括すると次つ如くである。

1) ビタミン B₁

何れの濃度のビタミン B₁ の添加も、骨髓

に対する直接増血作用は認められない。

2) ビタミン B₂

適当な濃度即ち 1r 添加で略々対照に等しい成績を示す程度で、他の濃度の添加では対照より劣つた成績を示し、特に高濃度の添加では溶血を惹起するものと考えられる。総体的にみて B₂ の直接増血作用は認められない。

3) ビタミン B₁₂

0.15r 添加で赤血球数の増加率対照に比し著明となり、而も有核細胞の増加も認め、網状赤血球の増加も対照以上の高値を示す。即ち、ビタミン B₁₂ は直接骨髓に作用して赤血球系細胞増生を促進せしむるものと考えられる。0.15r 以外の濃度の添加では対照よりやや劣つた成績を示す。

4) 葉 酸

1.5mg, 150r の添加は赤血球数の増加を来さず、15r, 1.5r 添加で僅かな増加率を示すのみである。網状赤血球の増加も著明でない。即ち、葉酸は直接その儘の形では、少くとも骨髓赤血球系に作用しないのではないかと思える。

5) Hb量に対しては何れのビタミンの添加でも増量を認めなかつた。

考 按:

序論に述べた仲田²⁹⁾、高野、新田³⁰⁾、木村¹⁷⁾等の実験によれば、何れも一定濃度でビタミンB₁は組織の発育を促進する事を認めており、角尾³⁹⁾、上条、金重等はビタミンB₁には白血球増加作用があると述べている。然し乍ら伊藤¹³⁾¹⁴⁾の家兎骨髓液体培養によれば、ビタミンB₁には骨髓細胞増生作用が無いとしており、教室田村⁴⁰⁾、久米田¹⁹⁾の実験でも、骨髓被覆培養でビタミン B₁ 0.005mg 添加で白血球増生は対照より少々大となる程度で、偽好酸球遊走速度はむしろ少々低下を示す如き結果を得ている。私の実験成績と之等の事実とを併せ考えるならばビタミン B₁ には赤、白両血球系に対して著明な骨髓直接増血作用を有しない事がわかる。尤も角尾³⁹⁾等はビタミン B₁ の白血球増加作用は中枢性のものであるとしているから、この点は組織培養添加

実験では何とも云えない。

ビタミン B₂ に関しては、井上¹²⁾、赤枝¹⁾はビタミン B₂ は白血球遊走速度を促進させることビタミン B₁ 以上であると述べているが、教室田村⁴⁰⁾等の骨髓被覆培養による実験では、白血球の増生、遊走速度に対して殆んど影響を認めていない。又、伊藤¹³⁾¹⁴⁾が家兎骨髓液体培養を行い、骨髓増生に対してビタミン B₂ は何等の影響を及ぼさないと述べており、私の実験成績に於ても骨髓赤血球系細胞増生には何等の影響を与えない点より、ビタミン B₂ にもビタミン B₁ 同様、骨髓赤、白両血球系に対する直接増血作用は無いものと考えられる。

ビタミン B₁₂ は Red Vitamin と云われ、単に臨床的に抗貧血性因子 Antipernicious anemia factor として治療効果を持つだけでなく、生長促進作用、動物性蛋白因子 Animal protein factor としての作用を持ち、動物体内のメタボリズム等に関係していると云われている。West³⁶⁾⁴¹⁾、Rickes 等はアヂソン氏貧血患者にビタミン B₁₂ を筋注して網状赤血球、赤血球、Hb の増加を認めており、Spies et al.³⁸⁾は悪性貧血、栄養性大球性貧血等の患者にビタミン B₁₂ を与えて、之が最も重要な抗悪性貧血因子である事を認めている。Davis et al.⁵⁾も悪性貧血患者にビタミン B₁₂ を与えて効果のあることを発表し、Reisner et al.³⁶⁾も同様の報告をしている。本邦に於ても、伊藤¹³⁾¹⁴⁾、牧野²⁵⁾²⁶⁾等が家兎骨髓の液体培養を行い、骨髓細胞増生に対してビタミン B₁₂ が著しい促進作用を有することを数多くの実験によつて実証している。藤原¹⁰⁾¹¹⁾も鶏胎児に及ぼすビタミン B₁₂ の影響を観察し、之の鶏卵卵殻内注射により、ビタミン B₁₂ 負荷鶏胎児並に雛では Hb 量、赤血球数が増加すると述べており、倉田²⁰⁾等もビタミン B₁₂ が鶏胎児の増血を促進する事を認めている。楠²²⁾²³⁾²⁴⁾は幼若家兎にビタミン B₁₂ を注射して網状赤血球の増加、赤血球、白血球、血小板の増加を認めており、之に反して北川¹⁸⁾はレ絲障に於てビタミン B₁₂ の投与は白血球

の増加を示すも、赤血球数、網状赤血球、血小板、Hb には何等の影響を与えないと述べている。教室田村⁴⁰⁾等の実験によれば、骨髓被覆培養で白血球系細胞に対してビタミン B₁₂ 0.05 γ 添加は、白血球増生著明なものを認めている。私の実験成績でも 0.15 γ 添加は赤血球数の著明な増加を来し、明らかにビタミン B₁₂ には直接骨髓に作用して赤血球系細胞増生を促進する作用のあることを示している。

葉酸に就ては、増血作用のある事が認められており、楠²²⁾²³⁾²⁴⁾、伊藤¹³⁾¹⁴⁾、牧野²⁵⁾²⁶⁾等もこの事を実証している。然し乍ら、Norris³²⁾³³⁾、Majnarich が家兎の胸骨、肋骨より吸引して得た骨髓浮游液にキサントプテリン、葉酸、血清を加えて液体培養を行い、赤血球、有核細胞、網状赤血球の増加をみた結果では、キサントプテリン、血清では三者とも増加するが、葉酸では対照と差を認めていない。牧野も家兎骨髓液体培養を行い、胃粘膜エキスを葉酸と共に添加する場合には、葉酸単独添加時の約 2～6 倍の骨髓細胞増生の増強を認め、その粘膜エキスの有効因子は酵素であろうと述べており、伊藤は之等の実験の結果より、葉酸はキサントプテリンに分解しないと増血作用を示さないのではないかと考えている。私の実験に於ても、葉酸の添加は何れの濃度に於ても赤血球増加、網状赤血球の増加共に対照より劣り、少くとも葉酸がそのままの形で骨髓赤血球系細胞増生に対して促進作用を有しない事を示すものと考ええる。而して教室田村等の家兎骨髓体外被覆培養の成績によれば、葉酸の添加は著明な白血球増生を示し、偽好酸球遊走速度も稍々亢進を示している。この白血球増血作用はビタミン B₁₂ のそれよりも強く、白血球系増血には葉酸がその儘の形で働くのであらうと考えられる。斯の如くビタミン B₁₂ と葉酸の直接骨髓に対する増血作用は赤、白両血球系に対する関係が正反対である事は注目に値する所である。又、以上各種ビタミン共に Hb 量の増量を対照と同様に認めない点は、之等ビ

タミンには Hb 合成促進因子が含まれぬ為であらう。

5. 結 論

家兎骨髓体外液体培養を行い、之に及ぼすビタミンB群のビタミンB₁, B₂, B₁₂及び葉酸の影響を観察した結果、ビタミンB₁, B₂には骨髓赤血球系に対する直接増血作用が無い事が認められ、ビタミンB₁₂には直接骨髓に働いて特に赤血球系の増血を促す作用が認め

られた。一方、葉酸の赤血球系細胞に対する増血作用は、一度活性化されなければ生じない事が明らかとなり、之を教室田村の被覆培養実験と併せ考えれば、B₁₂と葉酸の直接骨髓に対する増血作用は、赤、白両血球系に対する関係が反対である事が認められた。又、Hb合成促進因子はビタミンB₁, B₂, B₁₂及び葉酸共に有しない事も明らかとなつた。

擧筆するに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜つた恩師平木教授並に大藤助教授に深甚なる謝意を表す。

主 要 文 献

- 1) 赤枝尚・ビタミン, 3, 41, 1950.
- 2) Biscelgie: Zeitschr. f. wiss. Biol. Abt. Roux' Arch., 108, 708, 1926.
- 3) Börnstein, K.: Biochem. Zeitschr., 200, 176, 1928.
- 4) Cameron, D. G., S. T. E. Callender, G. M. Watson, L. J. Witts: Nature, 164, 188, 1949.
- 5) Davis, W., R. M. Christian, D. M. Ervin, L. E. Young: Blood, 4, 1361, 1949.
- 6) Drummond: Biochem. J., 14, 660, 1920.
- 7) Funk: J. Physiol., 43, 395, 1911.
- 8) Gey, G. O., M. K. Gey: Am. J. Cancer, 27, 45, 1936.
- 9) 細野七郎, 成沢茂: 日本病理学会誌, 21, 121, 1931.
- 10) 藤原春雄: 大阪医科大学雑誌, 13, 123, 158, 1952.
- 11) 藤原春雄・大阪医科大学雑誌, 14, 4, 1953.
- 12) 井上硬, 竹内哲夫, 赤枝尚: ビタミン, 3, 103, 1950.
- 13) 伊藤真次, 牧野秀夫・ビタミン, 4, 203, 1951.
- 14) 伊藤真次: ビタミン, 5, 28, 1952.
- 15) 金重晃: ビタミン, 3, 34, 1950.
- 16) 金重晃: 昭和医学会雑誌, 11, 99, 104, 1951.
- 17) 木村徹: 熊本医学会雑誌, 14, 2094, 1938.
- 18) 北川文子: 京都府立医科大学雑誌, 53, 477, 480, 1954.
- 19) 久米田克哉, 田村甫, 大藤真: 日本血液学会雑誌, 17, 215, 1954.
- 20) 倉田誠, 池田弘洋: 日本血液学会雑誌, 15, 229, 1952.
- 21) 栗山穰: ビタミン, 1, 363, 1947.
- 22) 楠五郎雄, 倉田誠・ビタミン, 4, 66, 1951.
- 23) 楠五郎雄, 倉田誠: 福岡医学会雑誌, 42, 101, 189, 1951.
- 24) 楠五郎雄, 倉田誠: 日本内科学会雑誌, 40, 217, 1951.
- 25) 牧野秀夫・ビタミン, 3, 43, 1950.
- 26) 牧野秀夫: ビタミン, 4, 447, 450, 1950.
- 27) 内藤賢次: 実験医学雑誌, 8, 319, 1938.
- 28) 仲野専一, 沢井郁二郎: 日本微生物学病理学雑誌, 33, 279, 1939.
- 29) 仲田順造, 高野清恒: 大阪医学会雑誌, 33, 3431, 1934.
- 30) 新田文吾: 日本薬物学会雑誌, 24, 239, 1937.
- 31) Nordmann u. Horger: Arch. f. exp. Zellforsch., 8, 430, 1933.
- 32) Norris, E. R., J. J. Majnarich: Am. J. physiol., 152, 175, 1948.
- 33) Norris, E. R., J. J. Majnarich: Am. J. physiol., 153, 483, 492, 496, 1948.
- 34) 岡本健次: 東京医学会雑誌, 46, 2385, 1932.
- 35) Osgood, E. D., Brownlee: J. Am. Med. Assoc., 108, 1793, 1937.
- 36) Reisner, F. H., R. West: Proc. Soc. exp. Biol. Med., 7, 651, 1949.
- 37) 下方清治: ビタミン, 6, 36, 1953.
- 38) Spies, T. D., R. E. Stone, G. Lopez, F. Milanes, R. L. Toca, T. Arambura: Lancet, 255, 519, 1948.
- 39) 角尾滋, 上条一也, 金重晃・ビタミン, 3, 165, 1950.
- 40) 田村甫: 未刊.
- 41) West, R.: Science, 107, 398, 1948.
- 42) Zuelzer: J. Am. Med. Assoc., 134, 988, 1947.

Dept. of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director . Prof. K. Hiraki)

Bone Marrow Culture in Fluid Medium

by

Ichiro Iwasaki

III. The influences of vitamins

Vitamin B₁ and B₂ did not show the direct influences on the bone marrow.

Vitamin B₁₂ acted directly on the bone marrow, and there became the extreme increase of erythrocytes.

Contrally, though there are many reports that folic acid causes the increase of erythrocytes, the author did not find its direct influence on the bone marrow. It means that only after activated folic acid can show its accelerating-power on the bone marrow.

Hemoglobinsynthesis was not found by addition of any vitamins.