

氏 名	吉 田 彌 太 郎 よし だ や た ろう
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 328 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 43 年 1 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Quantitative Cytochemical Studies of Deoxyribonucleic Acid in Hemopoietic Cells (造血細胞の DNA 量に関する定量的細胞化学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 脇 坂 行 一 教 授 高 安 正 夫 教 授 深 瀬 政 市

論 文 内 容 の 要 旨

造血細胞の増殖に関する細胞回転論的研究は巨赤芽球性貧血や白血病等の血液疾患の病態生理の解明に重要である。デオキシリボ核酸 (DNA) が細胞の分裂・増殖に際して一定の量的変動を示す事実にかんがみ、著者は細胞レベルにおける DNA の顕微測光法的定量を用いて巨赤芽球性貧血および白血病における造血細胞の増殖の量的解析を試み、以下の知見を得た。

第1報：正常人5例およびビタミン B₁₂ (B₁₂) 欠乏にもとづく巨赤芽球性貧血患者一悪性貧血4例および Blind Loop Syndrome 1例一の骨髓塗抹標本に Feulgen 染色を行ない、Neutronics Research Co. 製 TV-Microspectrophotometer (京大病理) で骨髓細胞の DNA 量を測定した。巨赤芽球性骨髓の好塩基性・多染色巨赤芽球および巨大顆粒球系細胞では正常に比し Tetraploid (4C) 前後の DNA 量を有する細胞が多いが、B₁₂ 投与後にはこれら相対的に DNA 量の多い細胞は急速に減少し、代って Diploid (2C) と 4C の中間の DNA 量を有する細胞 (Intermediate cell) が増える。またあらかじめ in vitro で1時間 H³-thymidine (H³-TdR) を添加孵置した骨髓細胞浮遊液を用いて同一細胞につき DNA 定量と Autoradiography を連続して行なった成績では、巨赤芽球性骨髓細胞の DNA 合成の障碍 (Arrest) が証明され、かつこの障碍は B₁₂ 投与後には速かに除かれることが確認された。

以上の諸点より B₁₂ 欠乏による巨赤芽球性造血においては DNA 合成期 (S) の延長とそれにもとづく増殖能の低下が示唆され、その病態発生には DNA 合成の障碍が重要な役割を演じているものと推測される。

第2報：各種白血病症例および正常人の骨髓ならびに末梢血中の白血球につき前報同様に顕微測光法的 DNA の定量を行ない、細胞集団としての DNA 量分布をヒストグラムにて比較検討した。慢性骨髓性白血病細胞の DNA 量分布は正常顆粒球形成とほぼ同じく 2C と 4C の間に幅広く分布するが、急性白血病では分布の幅は狭く 2C 付近に著しく高い Peak を示す。一般に活潑な分裂・増殖を営む細胞集団では 2C と 4C の中間に分布する Intermediate cell は S 期、4C 付近に分布する細胞は DNA 合成後期

(G₂)にあると考えられるが、慢性骨髄性白血病ではこれら S ないし G₂ 期にある細胞の比率がほぼ正常であるのに反し、急性白血病ではその比率は著しく低い。また病型のいかんを問わず同一の白血病症例内では末梢血に比し骨髓の方がこの S ないし G₂ 期の細胞の比率が高い。これらの成績から慢性骨髄性白血病では正常顆粒球形成に近い分裂・増殖が行なわれているが、急性白血病にあっては白血病細胞の平均世代時間の延長していること（ことに DNA 合成前期 G₁）、もしくは DNA 合成も分裂も営まない細胞集団 (Non-DNA synthesizing, Non-proliferating population) の存在していることが示唆される。なお、急性白血病では DNA 量分布の Mode が正常 (2C) に比し右または左に偏した症例がみられたが、細胞学的な病型分類との間には必ずしも一定した関係は認められなかった。

第3報：急性白血病における細胞回転をさらに詳細に検討すべく、第1報に述べたごとく顕微測光法的 DNA 定量と H³-TdR による Autoradiography を同一標本で連続して行なう方法を用いて、急性白血病細胞の DNA 合成を検索した。本法は同一細胞で DNA 量と H³-TdR 標識態度を関連させることにより、S 期内の各時点での DNA 合成の様相を知ることが可能である。H³-TdR で標識される白血病細胞の DNA 量と銀粒子数の関係より推定して、S 期を通じて DNA 合成速度は一定ではなく S 期の midpoint 付近で合成は最も速く S 期の始めと終わりは緩慢であると思われる。またかくして得られた DNA 合成曲線は急性白血病でも慢性骨髄性白血病でもほぼ同じく S 期内で DNA 量は exponential に倍加してゆくこと、したがって白血病細胞においても DNA 合成の時間的推移は他の多くの細胞種で記載されているものと軌を一にすることが推定された。しかし急性白血病では慢性骨髄性白血病と異なり、同一 DNA 量を有する細胞群 (Cell cycle 上同一段階にある細胞群) の中においても銀粒子数に著しい差があり、DNA 合成速度の極めて速かなもの、より緩慢なものおよび少数の合成の Arrest を示すもの等が混在していると解される。なおこの他にも Non-DNA synthesizing, Non-proliferating population の存在も想定されるので、急性白血病細胞は形態的には比較的均一に見えても増殖能よりみれば単一の細胞集団とは考えがたい。核直径・DNA量・標識態度の関連より考察するに大部分の小型白血病細胞は Non-proliferating cell に相当すると思われるが、その本能や G₁ 細胞との異同など不明の点が多く、白血病化学療法と関連して今後の重要な課題といわねばならない。

以上の研究成績より DNA 合成の面から巨赤芽球性造血および白血病における細胞増殖の特徴の一端を明らかにしたものと考える。

論文審査の結果の要旨

著者は巨赤芽球性貧血および白血病における造血細胞の増殖様式を明らかにするため、細胞レベルにおける DNA の顕微測光法的定量および H³-thymidine (H³-TdR) による Autoradiography を用いて、細胞回転を研究した。その結果、B₁₂ 欠乏による巨赤芽球では、正常に比し 4C 前後の DNA 量を有する細胞が多く、また DNA 量からみると S 期にあると考えられる赤芽球でも H³-TdR で標識されない細胞があることから、巨赤芽球には DNA 合成の障害が存すること、またこれらの異常は B₁₂ 投与後速やかに正常化することを明らかにした。また慢性骨髄性白血病では S ないし G₂ 期にある細胞の比率が正常とほぼ同じで、正常顆粒球形成に近い分裂増殖が行なわれているが、急性白血病では DNA 量の分布が 2C

付近に高い峯を示し、白血病細胞の平均世代時間（ことに G_1 期）の延長、もしくは非分裂細胞集団の存在を示唆する所見を得た。さらに急性白血病では形態的に比較的均一に見えても DNA 合成からみた増殖能には種々の異なった程度のものであり、小型白血病細胞の多くは非分裂細胞集団に属すると推定した。

以上本論文は DNA 合成の面から、巨赤芽球性貧血および白血病における細胞増殖の特徴を明らかにしたもので、学術上有意義であり、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。