

氏 名	藤 堂 彰 男 とう どう あき お
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 319 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 11 月 24 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	Proliferation and Differentiation of Hematopoietic Cells in Hematologic Disorders (血液疾患における造血細胞の増殖と分化)
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

巨赤芽球および白血病細胞における増殖と分化の本態については、未だ充分明らかではない。著者は細胞レベルにおける定量化に光明をもたらした H^3 標識核酸および蛋白前駆物質を指標とする radioautograph の方法により、巨赤芽球性貧血および白血病における細胞の増殖と分化を明らかにせんとして研究を行ない以下の知見を得た。

第Ⅰ報： VB_{12} 又は葉酸欠乏性の巨赤芽球性貧血患者および正常人の骨髓穿刺液より、ヘパリン加自家血清 33%+Tyrode 液67%にて、一定細胞数浮遊液を作り、 H^3 -thymidine ($1\mu\text{C}/\text{ml}$)、 H^3 -uridine ($5\mu\text{C}/\text{ml}$)、 H^3 -leucine ($5\mu\text{C}/\text{ml}$)、 H^3 -thymidine+colcemid ($1\mu\text{C}/\text{ml}$ および 1:1000)、を添加し、一定条件のもとに孵置後、塗抹標本、次いで、stripping 法による radioautograph を作製し、鏡検に供した。 H^3 -thymidine による標識率は S/T_g 比、また、平均感光銀粒子数(MGC)は DNA 合成速度を反映しているものと考えられるが、巨赤芽球系においては標識率、MGC 共に正常に比し、低値を示し、DNA 合成能の低下を示唆した。但し、正常においては最早標識されぬ成熟赤芽球および顆粒球において、巨赤芽球系では DNA 合成能の残存を認めた。また、colcemid+ H^3 -thymidine による stathmokinetic index により、巨赤芽球では G_2 の延長は認めないが T_g の延長、中でも S 期の延長が示唆された。

一方 H^3 -uridine および H^3 -leucine 標識による RNA、蛋白合成能は巨赤芽球系の方が正常より上昇していることが認められた。また、これらの異常は葉酸、特に VB_{12} 投与後には速やかに改善される事が認められた。

以上の実験から、葉酸又は VB_{12} 欠乏による巨赤芽球性貧血においては、赤芽球に増殖能の低下を伴った DNA 合成障害がある一方、RNA、蛋白合成は極めて活発に進むため、異常な分化および形態を伴った巨赤芽球性造血が行なわれるものと考えられる。

第Ⅱ報：各種病型白血病的骨髓および末梢血ならびに正常骨髓を第Ⅰ報におけると同様 H^3 -thymidine、 H^3 -uridine および H^3 -leucine と共に孵置し radioautograph を作製し、比較検討を行なった。 H^3 -

thymidine 標識率は急性白血病（骨髄性，リンパ性，単球性）では正常骨髄芽球に比し著しく低く，慢性骨髄性白血病では，やや低値を示した。しかし MGC は，これらの間で著明な差は認められなかった。さらに正常骨髄標本において，骨髄芽球の MGC は好塩基性赤芽球のそれにほぼ匹敵したが急性白血病細胞の MGC も同一標本上に存する好塩基性赤芽球のそれに比して劣らぬ事が認められた。急性白血病においては，同一標本上にて芽細胞の大きさに著明な差が認められ，少数存する大型細胞の標識率は高値を示し，大多数を占める小型細胞には，殆ど標識が認められなかった。また，末梢に比して，骨髓の方が大型細胞の占める率および標識率は高値を示した。また，抗白血病剤の投与前後にて検討した数例において，投与後標識率の低下を認めた。一方， H^3 -uridine, H^3 -leucine 転入による RNA, 蛋白合成能は急性白血病細胞は，正常骨髄芽球に比して劣らず，大型白血病細胞ではむしろ高値を示した。但し小型細胞では低値を示した。

第Ⅲ報：白血病細胞の増殖様式を更に詳細に観察するため， H^3 -thymidine の in vivo 標識を行なった。急性骨髄性白血病（AML），赤白血病（単球性）（EL）各一例，慢性骨髄性白血病（CML）一例および対照として，手術不能未治療胃癌一例につき H^3 -thymidine 5mc 一回静注後，経時的に頻回骨髓および末梢血の radioautograph（dipping 法）を作製し，分裂像標識率及び MGC 半減時間より細胞周期の測定を行なった。正常骨髄芽球（ $T_a=30$, $G_2=2$, $S=16$, $M=1$, $G_1=11$ 各時間），幼若単球（ $T_a=42$ 時間），前赤芽球（ $T_a=20$, $G_2=2$, $S=15$, $M=1$, $G_1=2$ 各時間）に比し，CML 骨髄芽球（ $T_a=108$, $G_2=3$, $S=20$, $M=1$, $G_1=84$, 各時間），AML 骨髄芽球（ $T_a=84$, $G_2=3$, $S=20$, $M=1$, $G_1=60$ 各時間），EL 単芽球（ $T_a=66$, $G_2=3$, $S=17$, $M=1$, $G_1=45$ 各時間）EL 巨赤芽球様細胞（ $T_a=60$, $G_2=3$, $S=20$, $M=1$, $G_1=36$ 各時間）と後者では T_a が正常の 2～3 倍を示したが，急性白血病細胞では初回標識率から想像される程，著明な T_a の延長（正常の 10～30 倍）は認められず，また， S , G_2 , M 各時間はいずれの細胞種間にも著明な差は認められなかった。正常造血および CML においては H^3 -thymidine 静注後 3～6 時間後には非増殖細胞である後骨髄球あるいは，正染性赤芽球に標識が現われるが，急性白血病では，その様な形態的变化をとらえる事は出来なかった。

しかし，急性白血病の骨髓標識率の時間的推移を細胞直径により，大，中，小型に分類して観察すると，初回標識率において，高値を示した大型細胞の標識率は時間と共に減少するのに反して，当初殆んど標識されなかった小型細胞の標識率は時間と共に増加を認め，この事から大型ないし中型細胞の分裂により，中型ないし小型細胞への移行が示唆された。また，正常骨髄芽球，前赤芽球および CML 骨髄芽球では，骨髓初回標識率と， S/T_a 比がほぼ一致するのに反して，急性白血病細胞では骨髓初回標識率（AML 2.4%，EL 6.1%）に対して S/T_a 比（AML 24%，EL 26%）と両者間に著しい差を認めた。この事は急性白血病では形態的には区別が困難であるが，非分裂細胞が多数を占める為と考えられ，計算により，non-dividing compartment は AML 90%，EL 77%であった。

以上Ⅱ，Ⅲ報の成績により，急性白血病においては白血病細胞は分化能の欠如と関連して，機能的には単一の細胞集団ではなく，少数の dividing compartment（大型細胞）と大多数の non-dividing compartment（小型細胞）より成り，大型細胞では DNA, RNA, 蛋白合成が旺盛で，dividing compartment の主役をなすが分裂後小型化して，一部は non-dividing compartment に入り成熟し得ないまま，

蓄積すると考えられる。また, dividing compartment は化学療法により, compartment size の減少を来すが, non-dividing compartment は反応し難いことも考えられ, この点が今後の白血病化学療法上の重要な課題と考えられる。

以上の成績より巨赤芽球および白血病細胞の増殖と分化の一端を明らかにし得たものとする。

論文審査の結果の要旨

巨赤芽球および白血病細胞の増殖と分化の本態については, まだじゅうぶん明らかでない。著者はこの点を明らかにするため, H^3 -thymidine, H^3 -uridine, H^3 -leucine を用いて radioautography により, DNA, RNA, 蛋白合成の面から, これら細胞の回転を研究した。その結果, 巨赤芽球性貧血では, 赤芽球は増殖能の低下を伴った DNA 合成障害がある一方, RNA, 蛋白合成は活発に進み, 異常な分化および形態を伴った巨赤芽球性造血が行なわれ, これらの異常は B_{12} または葉酸ことに B_{12} の投与により正常化されることを明らかにした。また急性白血病においては, in vitro および in vivo の標識実験による細胞周期の測定成績から, 白血病細胞は分化能の欠如と関連して, 機能的には単一の細胞集団ではなく, 少数の大型細胞より成る dividing compartment と大多数の小型細胞より成る non-dividing compartment があり, 大型細胞では DNA, RNA, 蛋白合成がおうせいで dividing compartment の主役をなすが, 分裂後小型化して一部は non-dividing compartment に入り, 成熟し得ないまま蓄積すると結論した。

本論文は巨赤芽球および白血病細胞の増殖と分化の特徴の一端を明らかにしたもので, 巨赤芽球性貧血および白血病の病態生理の解明ならびに治療に対しても有益な資料を提供するものであり, 医学博士の学位論文として価値あるものと認める。