

原 著

細胞電気泳動に関する研究

— 人骨髄細胞の易動度の測定 —

小 野 隆 彦

信州大学医学部第一内科学教室 (主任: 戸塚忠政教授)

STUDIES ON CELL ELECTROPHORESIS

— ELECTROPHORETIC MOBILITY OF HUMAN BONE MARROW CELLS —

Takahiko ONO

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,

Shinshu University

(Director: Prof. T. TOZUKA)

Key words: cell electrophoresis, 易動度 (mobility), 表面荷電 (surface charge),
haemocytopherogram

緒 言

Abramson¹⁾²⁾に始まる細胞電気泳動の研究は、その後多数の研究者にひきつがれ、細胞表面の性状について、数々の興味ある知見が明らかになってきている。細胞表面は生理的な pH とイオン強度では陰性に荷電しており、従来これはリン脂質中のリン酸基、または細胞表面のシアル酸の carboxyl 基によるものと云われている³⁾⁴⁾。この細胞表面荷電により細胞を一つの電気的な場において泳動させ、表面荷電の量的測定が可能になって、癌細胞の泳動、血球の泳動等に関する研究が行なわれ、当教室の小松⁵⁾は肺癌で行ない、松沢⁶⁾はその他の悪性腫瘍患者についても実験し、赤血球の易動度は、癌患者血清に赤血球を incubate することにより低下することを報告した。

また、Rottino 等⁷⁾は癌患者血清中の赤血球の易動度低下因子は、血清の α_1 分画にあることをつきとめた。

Ruhenstroth-Bauer 等⁸⁾⁹⁾は、赤血球と同時に白血球や骨髄有核細胞も泳動し、それらをいわゆる haemocytopherogram (以下 H. C. G. と略す) に表わし、幼若細胞が易動度の高いことをみた。しかし彼等は泳動 medium として血清を用い、血清蛋白の影響

を無視しており、さらに骨髄細胞の易動度はすべて同一分画に属すると述べ、疾患による差はほとんどないとした。

当教室の田中¹⁰⁾¹¹⁾は泳動 medium に血清を使わず、ブドウ糖加緩衝液を用い、各種の血液の病的状態を測定し、さらに血小板も併せて泳動した。この実験でも赤血球は悪性腫瘍性疾患で易動度が低下することと、幼若血球や癌細胞は易動度が高いことをみたが、しかし疾患の経過につれての観察がなく、また骨髄の泳動は 1 例のみであって、他にも本邦では報告はないようである。

今回著者は各種の血液の病的状態における末梢血の血球および骨髄有核細胞の易動度を測定し、それらを比較検討した。また疾患によっては、治療前後の変化を追求し、さらに細胞の直径と易動度の関係も併せて検討した。

検査対象および実験方法

1) 対 象

対象は戸塚内科入院の急性骨髄性白血病 (AML) 3 例、慢性骨髄性白血病 (CML) 1 例、再生不良性貧血 3 例、リンパ肉腫 1 例、強皮症 1 例、肺癌 1 例、鉄欠乏性貧血 1 例の計 11 例について末梢血および骨髄中の

有核細胞について電気泳動を行ない、それぞれの細胞の易動度を測定した。なお一部の症例については治療前および治療後の易動度を比較検討し、またリンパ肉腫ではリンパ節細胞の泳動も行った。表1は対象症例の性別、年齢別、疾患名、骨髓有核細胞数、末梢血の白血球数(W)、血色素量(ゲリー) (Hb)、赤血球数(R)等を一括した。

2) 実験方法

胸骨より骨髓穿刺液を採取し、臨床検査に供した残りをを用い、5% EDTA. 2Na 水溶液 0.1cc, および生理食塩水を加え凝固を防ぎ、200 μ 15分間遠心分離し、buffy coat を吸い上げ、その後約10倍量の泳動用mediumを加え、再び200 μ 15分間遠心分離し、上清を捨て、沈渣を泳動装置に入れた。リンパ節は手術的に摘出したものをピンセット等で破壊し、細片として、その後は骨髓と同じ操作を行なった。末梢血は正中静脈より5% EDTA. 2Na 水溶液 0.1ccを加えて凝固を防ぎながら5cc注射器にて採取し、骨髓と同様な操作を行なった。以上の操作は室温で行なった。泳動mediumの組成はFurchgott等³⁾に準じ、5.4%ブドウ糖水溶液75容、1%食塩水溶液22.5容、 $1/15$ M KH_2PO_4 水溶液0.5容、 $1/15$ M Na_2HPO_4 水溶液2.0容からなり、pH 7.2、イオン強度0.043、20°Cでの粘度1.100cpである。比電導度は22°Cで $37.8 \times 10^2 \mu\Omega$ 、21°Cで $36.4 \times 10^2 \mu\Omega$ 、23°Cで $38.5 \times 10^2 \mu\Omega$ であり、泳動は $22.0 \pm 0.5^\circ C$ で行ない、泳動前の値で易動度を計算し、粘度補正はしなかった。泳動装置¹⁰⁾はZeissのcytopherometerを一部改造して、移動距離を写真

判定で行なえるようにした。それには顕微鏡倍率を400倍にし、Nikonのモータードライブ付オートタイマー、およびストロボをとりつけ、5秒間隔で電流方向をかえながら3枚の連続撮影を行ない、約4倍に引き伸ばし、焼きつけて移動距離を測定した。泳動電流は2mAを使用し、測定結果はH.C.G.に準じたグラフに示した。易動度単位は $\mu/sec/V/cm$ である。

易動度比較の方法として、各サンプルの細胞表面に附着した電解質と蛋白の洗われかたが必ずしも一緒にとれないので、同一サンプルの赤血球の易動度と比較して%で示した。測定赤血球の易動度の平均値を100とし、それに対する相対易動度を%で表わし(以下単に数字のみで示す)、H.C.G.を作って比較した。さらに細胞の大きさ易動度との関係を検討するため、有核細胞の直径を測り、易動度と対比した。

結 果

[I] 各種疾患における易動度

表1に示す諸疾患について総数461個の細胞について易動度を測定し検討を加えた。

1) 骨髄性白血病における易動度

AML 3例およびCML 1例計4例について、治療前ならびに治療後の末梢血ならびに骨髓の有核細胞の相対易動度を測定した。

症例1(AML):治療前の末梢血はW 31.4×10^4 (骨髓芽球 Mbl. 84.8%), Hb 54%, R 351×10^4 で、骨髓有核細胞数 125.5×10^4 (Mbl. 90.8%) である。

図1は治療前の末梢血のH.C.G.で相対易動度80~

表 1

症例	性	年令	病 名	骨髓有核細胞 ($\times 10^4$)	末 梢 血 液		
					白血球	血色素 (%)	赤血球 ($\times 10^4$)
1	♀	51	急性骨髄性白血病	125.5	314,000	54	351
2	♀	43	急性骨髄性白血病	24.8	50,700	48	200
3	♀	51	急性骨髄性白血病	51.15	73,700	86	472
4	♀	68	慢性骨髄性白血病	22.9	9,800	50	316
5	♂	17	再生不良性貧血	4.7	2,000	24	135
6	♂	70	再生不良性貧血	13.65	1,400	56	252
7	♂	51	再生不良性貧血	51.52	5,300	31	162
8	♀	55	肺 癌	20.7	3,200	68	310
9	♀	41	強 皮 症	15.15	5,700	77	387
10	♂	59	リンパ肉腫	5.5	4,000	70	308
11	♀	48	鉄欠乏性貧血	26.6	3,600	69	348

急性骨髄性白血病 血液
赤血球平均易動度 1.296 ± 0.013
相対易動度 100

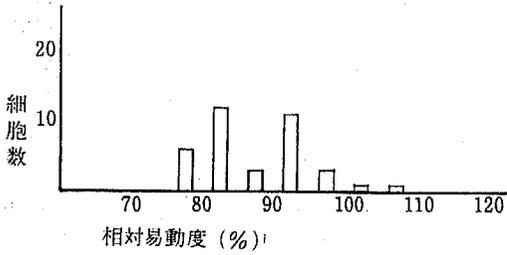


図1 症例1-1 (治療前)

85および90~95の分画に比較的高いピークがある2峰性を示しており、しかも95以上の分画の細胞もかなり多くみられ、易動度の大きい細胞が増加している事を示している。教室の田中¹⁰⁾によると95以上は泳動速度が異常に大きい有核細胞であり、幼若球であると考えられている。本例におけるこの大きい易動度を示す細胞の多くは末梢血中の Mbl. 84.8%であるという所見と併せて Mbl. であろうと推定し得るものと思われる。図2は治療前の骨髓の H. C. G. であるが、85~90に高いピークを有する急峻な山型を呈し、また100以上の細胞もかなり多くみられ、末梢血と同様に易動度の大きい細胞が増加していることを示している。

急性骨髄性白血病 骨髓1
赤血球平均易動度 1.422 ± 0.118
相対易動度 100

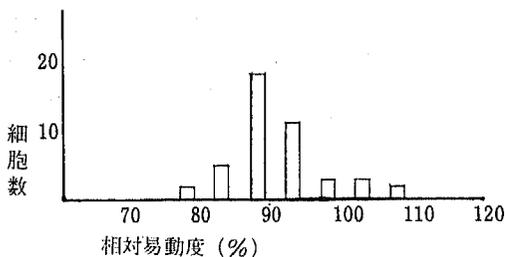


図2 症例1-2 (治療前)

図3は約5ヶ月間治療後、W 18.9×10^4 (Mbl. 76.5%), Hb 70%, R 364×10^4 , 骨髓有核細胞数 20.6×10^4 と改善した時点における骨髓の H. C. G. である。治療前にみられた85~90にピークを示した細胞は減少し、全体として分画は左方へ移動すると共に、治療前に比し比較的なだらかな低い山型のパターンとなっており、易動度の大きい細胞が減少していることを示し

ている。

急性骨髄性白血病 骨髓2
赤血球平均易動度 1.287 ± 0.082
相対易動度 100

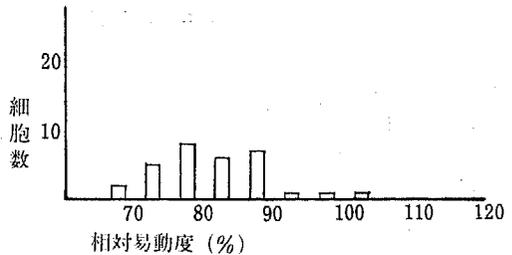


図3 症例1-3 (治療後)

症例2 (AML): 治療前の末梢血は W 5.07×10^4 (Mbl. 90.0%), Hb 48%, R 200×10^4 で骨髓有核細胞数 24.8×10^4 (Mbl. 97%) である。図4は治療前の末梢血の H. C. G. で相対易動度85~90にピークを示す急峻な山型を呈し、しかも95以上の分画の細胞も多くみられており、易動度の大きい細胞が増加していることを示している。

図5は治療前の骨髓の H. C. G. であり、小さいピー

急性骨髄性白血病 血液
赤血球平均易動度 1.404 ± 0.121
相対易動度 100

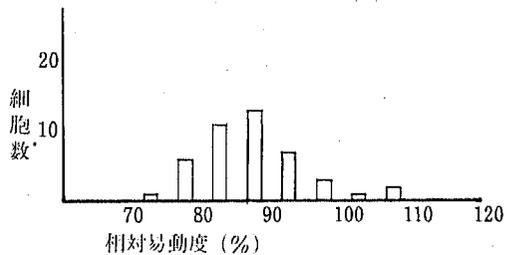


図4 症例2-1 (治療前)

急性骨髄性白血病 骨髓1
赤血球平均易動度 1.522 ± 0.059
相対易動度 100

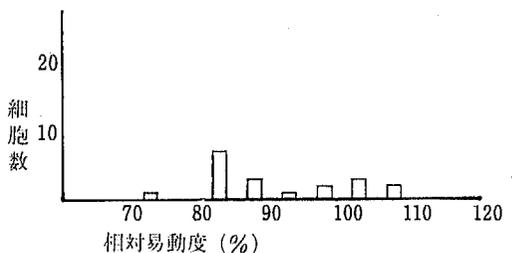


図5 症例2-2 (治療前)

クが80~85にあるが、相対易動度95~105までの細胞がばらつきはあるけれども比較的多数みられ、易動度の大きい細胞が多いことを示している。

図6は約4ヶ月間治療後 W 2,200 (Mbl. 52.5%), Hb 64%, R 448×10⁴, 骨髓有核細胞数 14.6×10⁴ (Mbl. 69.2%) と軽度改善した時点における骨髓の H. C. G. である。小さいピークが100~105にみられ、全体として低い平坦なパターンとなっているが易動度の大きい細胞はまだ多い。たゞ図5、図6共に測定した細胞数が少ないくらいがあるのが難点であるが、およそその傾向は現われているものと考えられる。

急性骨髄性白血病	骨髓 2
赤血球平均易動度	1.253±0.054
相対易動度	100

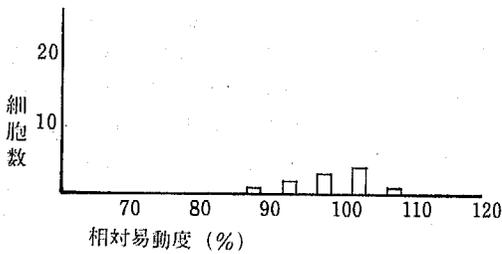


図 6 症例 2-3 (治療後)

症例 3 (AML) : 易動度測定時の末梢血は W 7.37×10⁴ (Mbl. 39.5%), Hb 86%, R 472×10⁴ で、骨髓有核細胞数 51.15×10⁴ (Mbl. 39.6%) である。

図7は治療2ヶ月後の末梢血の H. C. G. で、分画の分布は前述の2症例と趣を異にしており、小さいピークが70~75にみられ、全体として左寄りのパターンを示しており、95以上の細胞は2個みられるのみであり、大部分が75以下であって易動度の大きい細胞は増加していない。

急性骨髄性白血病	血液
赤血球平均易動度	1.314±0.037
相対易動度	100

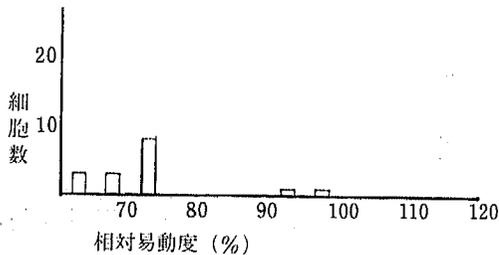


図 7 症例 3-1 (治療中)

図8は図7と同時期の骨髓の H. C. G. である。末梢血の H. C. G. に比し、90~95のやゝ大きい易動度を示す分画に小さなピークがあるが、全体としては低い平坦なパターンであり、95以上の細胞数より、90以下の細胞数の方がむしろ多くみられ、易動度の大きい細胞は特に増加していない。図7、図8にみられる易動度の大きい細胞が増加していないという所見は Mbl. が末梢血で36.5%、骨髓中で36.6%であり、症例1および症例2のそれに比し、比較的少ないという所見と関連あるものと推定し得るものと考えられる。

急性骨髄性白血病	骨髓
赤血球平均易動度	1.290±0.069
相対易動度	100

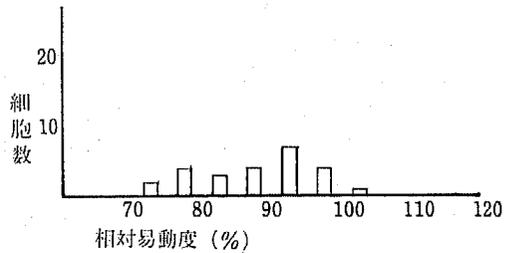


図 8 症例 3-2 (治療中)

症例 4 (CML) : 治療前の末梢血は W 9,800 (Mbl. 85.5%), Hb 50%, R 316×10⁴ で骨髓有核細胞数 22.9×10⁴ (Mbl. 20.4%) である。

図9は治療前の末梢血の H. C. G. で相対易動度は75~80にピークはあるが、低い比較的平坦なパターンを示し、65から110までの広い範囲にわたって分布を示しており、末梢血の Mbl. が85.5%と多いにもかかわらず、前述の AML 症例1および2の治療前の末梢血の H. C. G. と異なり、易動度95以上の細胞は比較的多くない。しかし治療前の骨髓の H. C. G. は図10に示す如

慢性骨髄性白血病	血液
赤血球平均易動度	1.372±0.066
相対易動度	100

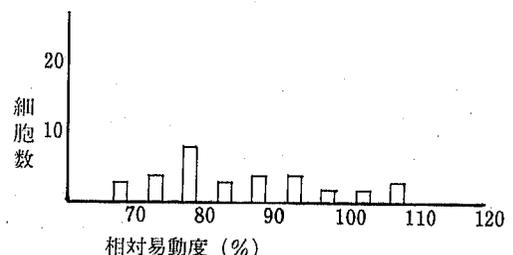


図 9 症例 4-1 (治療前)

く、95~100にピークがあり、また100以上の細胞が比較的多くみられ、易動度の大きい細胞が増加していることを示しており、末梢血とは異なったパターンを示しているのは注目すべき所見と考えられる。

慢性骨髄性白血病 骨髓 1
赤血球平均易動度 1.397±0.051
相 対 易 動 度 100

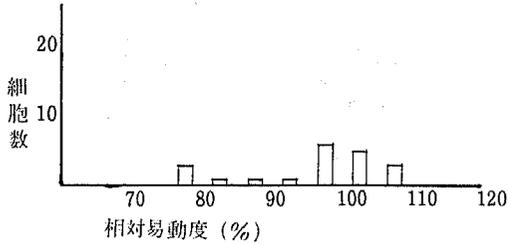


図10 症例 4-2 (治療前)

図11は約7ヶ月間治療後の W 8,000 (Mbl. 75%), Hb 64%, R 334×10⁴ で骨髓有核細胞数 20.5×10⁴ の時点における骨髓の H. C. G. である。ピークを示す分画は90~100にあり、100以上の細胞もかなり多くみられており、治療前後の H. C. G. で殆んど変わらない平坦なパターンを示している。しかも易動度の大きい細胞も同様に多くみられ、この所見は治療前後の末梢血液像および骨髓像に著変ないことと深い関連がありそうに思える。

慢性骨髄性白血病 骨髓 2
赤血球平均易動度 1.326±0.080
相 対 易 動 度 100

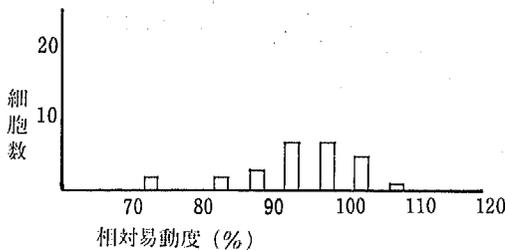


図11 症例 4-3 (治療後)

2) 再生不良性貧血における易動度

定型的再生不良性貧血2例、非定型的再生不良性貧血1例、計3例について治療前ならびに治療後の骨髓の有核細胞の易動度を測定した。末梢血については前者2例が白血球数が少なく易動度測定に供する細胞を得ることが困難であった等の理由で3例とも測定しな

かった。また後者は入院当初白血病もすぐには否定し得ない症例であったが、最終的に非定型的再生不良性貧血と診断したものである。

症例 5 (定型的再生不良性貧血): 治療前の末梢血は W 2,000 (リンパ球95%), Hb 24%, R 135×10⁴ で、骨髓有核細胞数 4.7×10⁴ (Mbl. 14.5%, 赤血球系 9.5%) である。

図12は治療前の骨髓の H. C. G. で相対易動度85~90の分画に小さなピークのある75~105の間に分布する低い傾斜のゆるやかな山型のパターンを示している。

再生不良性貧血 骨髓 1
赤血球平均易動度 1.229±0.141
相 対 易 動 度 100

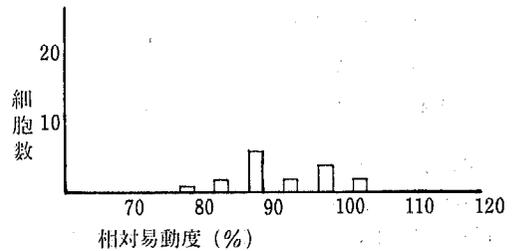


図12 症例 5-1 (治療前)

図13は約1ヶ月間治療後、W 6,700 (リンパ球86%), Hb 56%, R 265×10⁴ で、骨髓有核細胞数 13.65×10⁴ (Mbl. 12.0%, 赤血球系 47.2%) と中等度の改善をみた時点での H. C. G. であるが、65~115の間に広く分布し、特に高いピークを認めず、全体として平坦なパターンを示している。

再生不良性貧血 骨髓 2
赤血球平均易動度 1.191±0.080
相 対 易 動 度 100

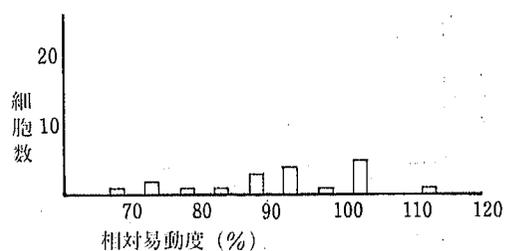


図13 症例 5-2 (治療後)

症例 6 (定型的再生不良性貧血): 治療前の末梢血は W 1400 (リンパ球 66.5%, 好中球 12.0%), Hb

56%, R 252×10^4 で、骨髓有核細胞数 13.65×10^4 (Mbl. 1.2%, 赤血球系 42.2%) で白血球系細胞も著明に減少している。

図14は治療前の骨髓の H. C. G. でその分画の分布は症例 5 とほぼ同様に明らかに高いピークのない平坦なパターンを示している。

再生不良性貧血 骨髓 1
赤血球平均易動度 1.279 ± 0.060
相対易動度 100

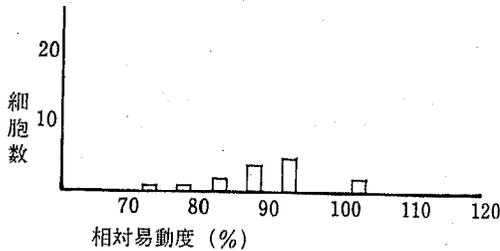


図14 症例 6-1 (治療前)

図15は約1ヶ月間治療により末梢血の W 3,200 (リンパ球43%, 好中球46%), Hb 60%, R 270×10^4 で、骨髓有核細胞数 12×10^4 (Mbl. 0.4%, 赤血球系 38.4%) の血液像を示した時点での骨髓の H. C. G. であるが、治療前の H. C. G. と同様に特に高いピークのない平坦なパターンを呈している。また治療前後とも症例 5 のそれと類似したパターンを示したことは興味ある事実であり、定型的再生不良性貧血における骨髓の H. C. G. の特徴的所見であると推定し得るかも知れない。

再生不良性貧血 骨髓 2
赤血球平均易動度 1.250 ± 0.082
相対易動度 100

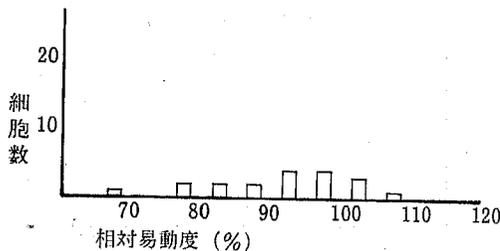


図15 症例 6-2 (治療後)

症例 7 (非定型的再生不良性貧血): 治療前の末梢血は W 5,300 (幼若球 18.0%), Hb 31%, R 162×10^4 で、骨髓有核細胞数 51.52×10^4 (前骨髓球 28.8%,

赤血球系 7.6%) である。

図16は治療前の骨髓の H. C. G. であり、相対易動度 85~90 の分画に高いピークを有する比較的急峻な山型を呈している。これは前述の 2 例とは明らかに異なっており、むしろ AML の症例における H. C. G. のそれに類似したパターンを示し、易動度の大きい細胞も多い。これは末梢血液像および骨髓像における幼若球の増多に関連あるものと推定される。

再生不良性貧血 骨髓
赤血球平均易動度 1.211 ± 0.025
相対易動度 100

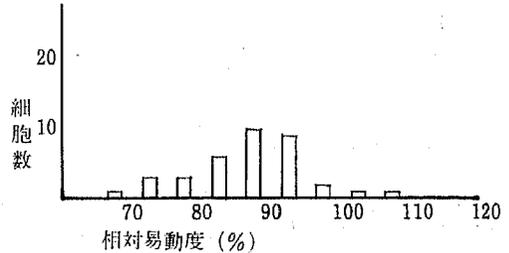


図16 症例 7 (治療前)

症例 8 (肺癌): 治療前の末梢血は W 3,200 (血液像正常), Hb 68%, R 310×10^4 で骨髓有核細胞数 20.7×10^4 (骨髓像ほぼ正常) である。

図17は治療前の骨髓の H. C. G. で相対易動度 90~95 の分画にやま高いピークを有し、80~105 の間に比較的狭い範囲に分布するところのゆるやかな山型を呈している。

肺 癌 骨髓
赤血球平均易動度 1.474 ± 0.051
相対易動度 100

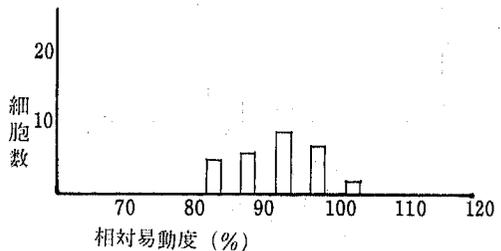


図17 症例 8 (治療前)

症例 9 (強皮症): 治療前の末梢血は W 5,700 (血液像正常), Hb 77%, R 387×10^4 で骨髓有核細胞数 15.15×10^4 (骨髓像正常) である。

図18は治療前の骨髓の H. C. G. で相対易動度 90~95

の分画に小さなピークがあり80~115の間に分布する比較的平坦なパターンを示している。なお症例8および症例9の2例は骨髓中の有核細胞の百分率がほぼ正常であることより、正常健康人の骨髓有核細胞のH.C.G.はこのパターンに類似したパターンを呈するであろうと推定することが可能であると考えられる。

強皮症 骨髓
赤血球平均易動度 1.464±0.045
相対易動度 100

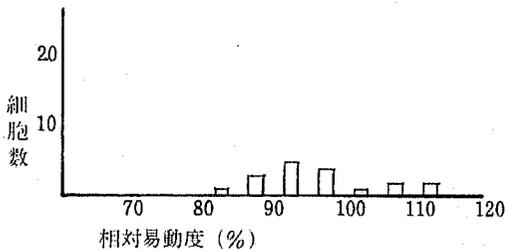


図18 症例9 (治療前)

症例10 (リンパ肉腫): Stage 3以上の症例であり、骨髓細胞の易動度の他に、左鎖骨上窩のリンパ節を摘出し、そのリンパ節中の有核細胞についても易動度を測定した。治療前の末梢血はW 4,000 (血液像ほぼ正常), Hb 70%, R 308×10^4 で骨髓有核細胞数 5.5×10^4 (骨髓像ほぼ正常) である。

図19は治療前の骨髓のH.C.G.で相対易動度90~95および95~100の分画に同じ高さの二つの低いピークを有し、80~105の間に分布する比較的なだらかな山型を呈している。

リンパ肉腫 骨髓
赤血球平均易動度 1.337±0.046
相対易動度 100

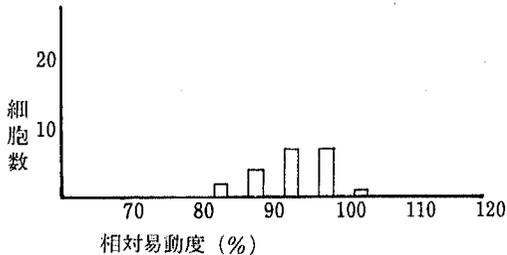


図19 症例10-1 (治療前)

なお本例のH.C.G.は症例8、症例9とほぼ同様のパターンを示しており、また骨髓像もほぼ正常である

点も類似している。

一方これに反して治療前のリンパ節細胞についてのH.C.G.では図20に示すごとく85~95の間の分画の細胞が大部分を占めており、しかも急峻な山型を呈しているのが特徴的であり、興味ある事実であると思われる。

リンパ肉腫 リンパ節
赤血球平均易動度 1.433±0.093
相対易動度 100

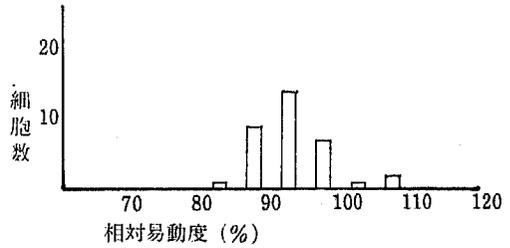


図20 症例10-2 (治療前)

症例11 (鉄欠乏性貧血): 治療前の末梢血はW 3,600 (血液像ほぼ正常), Hb 69%, R 348×10^4 で骨髓有核細胞数 26.6×10^4 (骨髓像正常) である。

図21は治療前の骨髓のH.C.G.であるが、相対易動度90~100の分画に比較的高いピークを有し、その左右の分画の細胞数は急激に少なくなり60~110の間に分布している。

鉄欠乏性貧血 骨髓 1
赤血球平均易動度 1.286±0.049
相対易動度 100

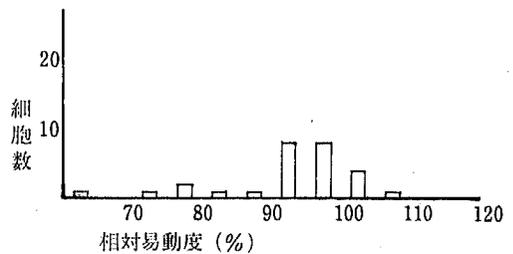


図21 症例11-1 (治療前)

図22は約1ヶ月間治療後のものでW 4,600 (血液像正常), Hb 72%, R 365×10^4 で、骨髓有核細胞数 12.0×10^4 (骨髓像正常) となった時点での骨髓のH.C.G.であるが、明瞭なピークを示す分画はみられず、60~120の間に分布する低く平坦なパターンを示している。

鉄欠乏性貧血 骨髓 2
 赤血球平均易動度 1.279±0.077
 相対易動度 100

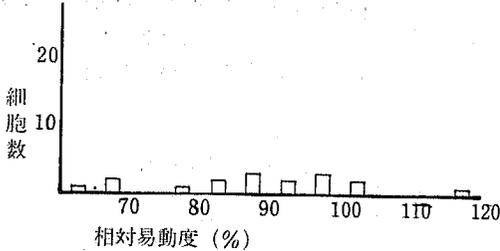


図22 症例11-2 (治療後)

〔Ⅱ〕細胞の直径と易動度との関係

細胞の大きさと易動度との関係を知る目的で、表1に示す各疾患の末梢血または骨髓中の有核細胞数461個について、各々の細胞の大きさを示す重要な指標となる直径とその易動度(単位は $\mu/\text{sec}/\text{V}/\text{cm}$)をそれぞれ測定した。各疾患別に末梢血または骨髓について、各細胞を直径の大きさによりA群(10 μ 以上)、B群(8 μ 以上10 μ 未満)、C群(8 μ 未満)の3群にわけ縦軸に直径、横軸に易動度をとってプロットし、更に各群における平均易動度をそれぞれ算出して細胞の直径と易動度との関係を対比し検討した。

1) 骨髓性白血病

図23はAMLの3例(症例1, 2, 3)の末梢血について直径の大きさと易動度との関係を示したものである。A群では易動度0.758から1.198までの範囲に分

布し、その平均易動度は 1.024 ± 0.139 である。B群では易動度0.848~1.450の範囲にあり、その平均易動度は 1.164 ± 0.144 である。C群では易動度0.865~1.350の範囲にあり、その平均易動度は 1.197 ± 0.114 であり、各群における易動度からみた細胞の分布はA群ではその範囲がやまやまくかつ易動度が比較的小さいところにあるが、B、C群では殆んど同様の分布を示している。また各群の平均易動度はA群が最も小さくB群、C群の順に大きくなっており、一見負の相関があるようにみえる。

図24は図23に示したものと同一例の骨髓細胞について直径の大きさと易動度との関係を示したものである。A群では易動度0.850~1.513の範囲にあり平均易動度 1.185 ± 0.190 である。B群では易動度0.880~1.648の範囲に分布し、平均易動度 1.295 ± 0.274 である。C群では易動度0.964~1.580であり、平均易動度 1.302 ± 0.257 である。この例は各群共に殆んど同じ分布範囲と、ほぼ同じ分布状況を示し、またそれぞれの平均易動度の間にも有意の差がみられず、従って細胞の大きさと易動度との間には相関が認められない。

CML(症例4)の末梢血については図25の如くA群では易動度1.090~1.480の範囲に分布し、その平均易動度は 1.285 ± 0.191 である。B群では易動度0.925~1.502の範囲にあり平均易動度 1.121 ± 0.149 である。C群は易動度0.895~1.475の範囲に分布し、平均易動度 1.163 ± 0.164 である。本例では特にA群において細胞数が少ないのが難点であるが、3群とも分布範囲お

直径と易動度の対比
 急性骨髓性白血病 血液

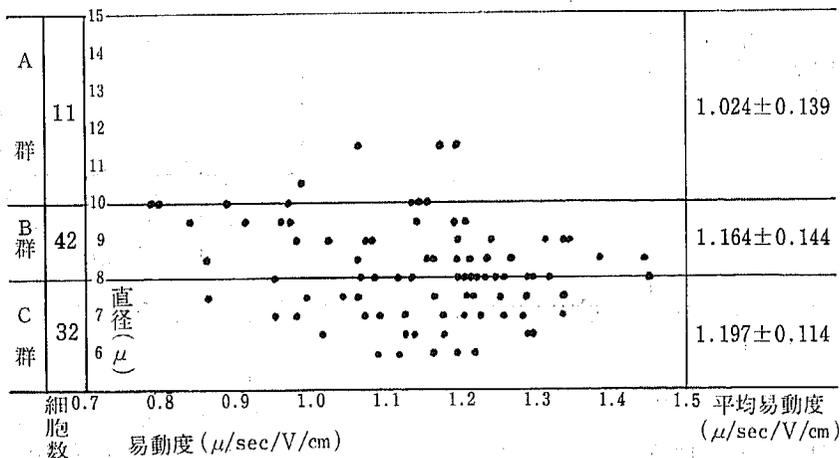


図23 (症例1, 2, 3)

直径と易動度の対比
急性骨髄性白血病 骨髓

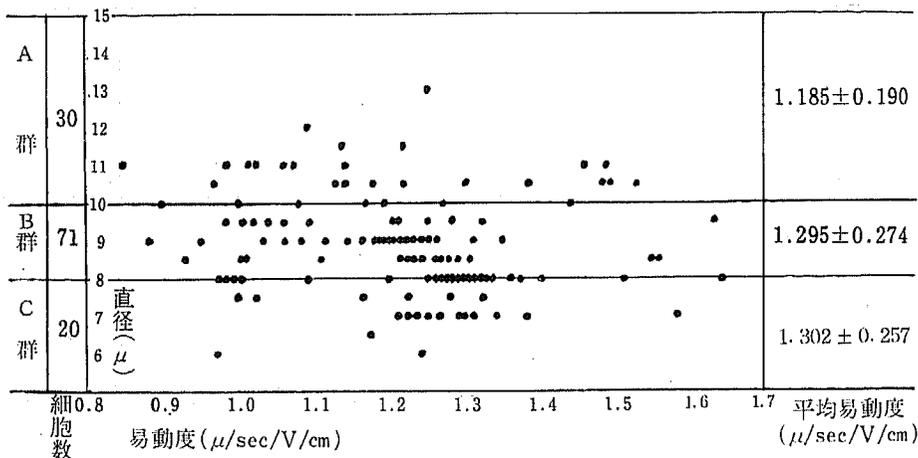


図 24 (症例 1, 2, 3)

直径と易動度の対比
慢性骨髄性白血病 血液

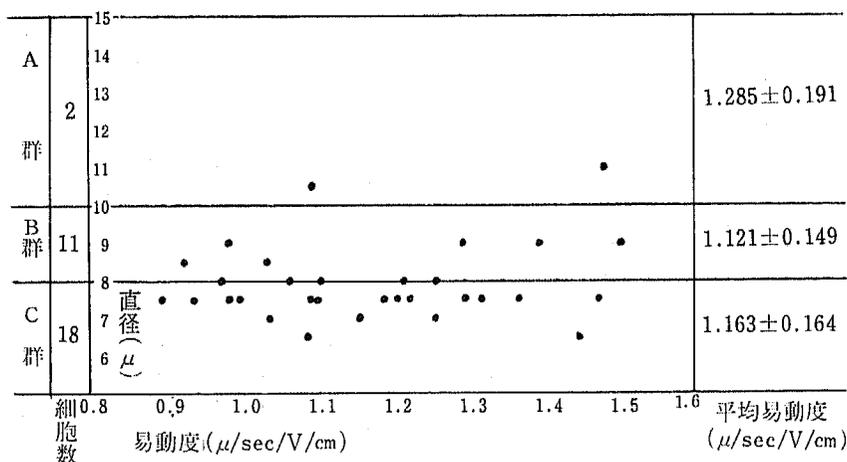


図 25 (症例 4)

よび分布状況に特に差がなく、また平均易動度の間にも有意差がみられない。

図26は前記 CML 例の骨髓細胞についてのものであるが、A群では易動度0.766~1.535の範囲にあり、その平均易動度は1.313±0.157である。B群では易動度0.966~1.386の範囲にあり、その平均易動度は1.204±0.121である。C群は細胞数が1個しかないので他群との比較は不適當ではあるがはっきりした一定の傾向はみられない。

2) 再生不良性貧血

図27は再生不良性貧血の3例(症例5, 6, 7)の骨髓細胞についての対比であるがA群では易動度0.825~1.380の範囲にありその平均易動度は1.096±0.218である。B群は易動度0.760~1.364の範囲にあり、平均易動度1.095±0.223である。C群は易動度0.940~1.302の範囲にあり、平均易動度は1.158±0.137である。3群共に細胞の分布の範囲、状況および平均易動度はほぼ同様であって明らかな差異を示していない。

直径と易動度の対比
慢性骨髄性白血病 骨髓

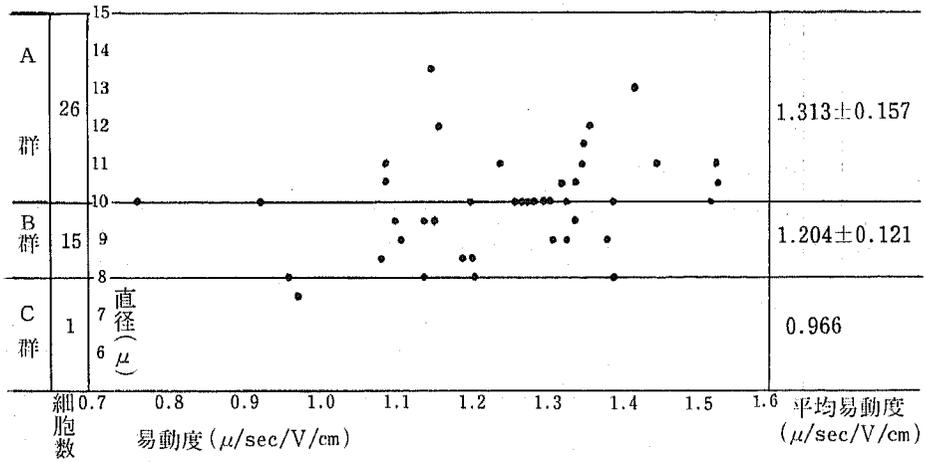


図 26 (症例 4)

直径と易動度の対比
再生不良性貧血 骨髓

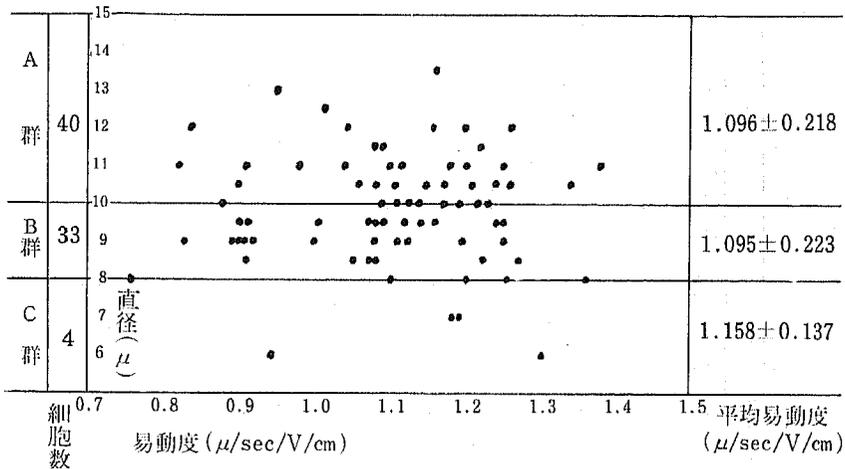


図 27 (症例 5, 6, 7)

図28は肺癌(症例8), 強皮症(症例9), リンパ肉腫(症例10), 鉄欠乏性貧血(症例11)の計4例の骨髓細胞の直径の大きさと易動度とを対比したものであるがA群では易動度0.795~1.618の範囲に分布し, その平均易動度は1.327±0.227である。B群は易動度0.890~1.464の範囲にあり, その平均易動度は1.306±0.191である。C群では易動度0.750~1.650の範囲にあり, その平均易動度は1.269±0.268である。分布範囲はC群が最大でA群, B群の順であり, 平均易動

度はA群>B群>C群の順になっている。

図29はリンパ肉腫(症例10)のリンパ節細胞についての直径の大きさと易動度の対比であるがA群は易動度1.210~1.420の範囲にあり, その平均易動度は1.301±0.070である。B群では易動度1.260~1.512の範囲にあり, その平均易動度は1.347±0.063である。C群では易動度1.224~1.475の範囲にあり, その平均易動度は1.303±0.081である。測定した細胞数が少ないのが難点であるが, 3群における細胞の分布の範

直径と易動度の対比
肺癌, 強皮症, リンパ肉腫, 鉄欠乏性贫血 骨髓

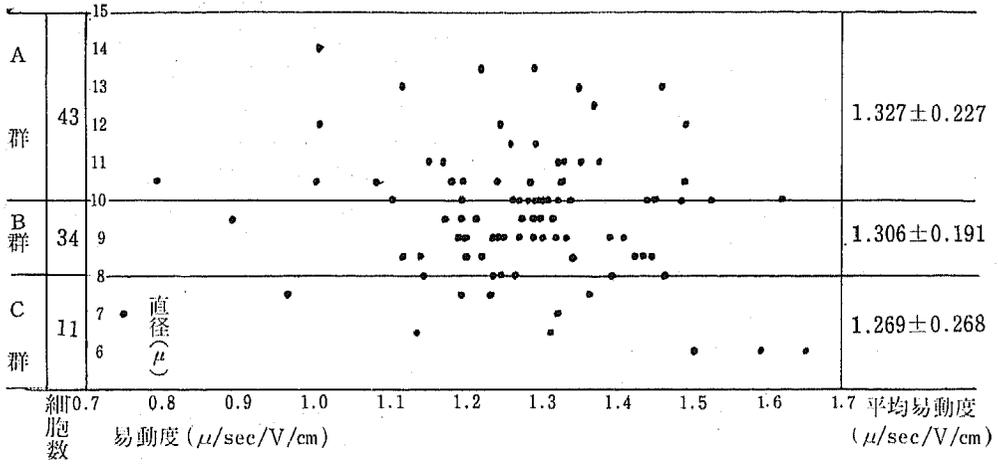


図 28 (症例 8, 9, 10, 11)

直径と易動度の対比
リンパ肉腫 リンパ節

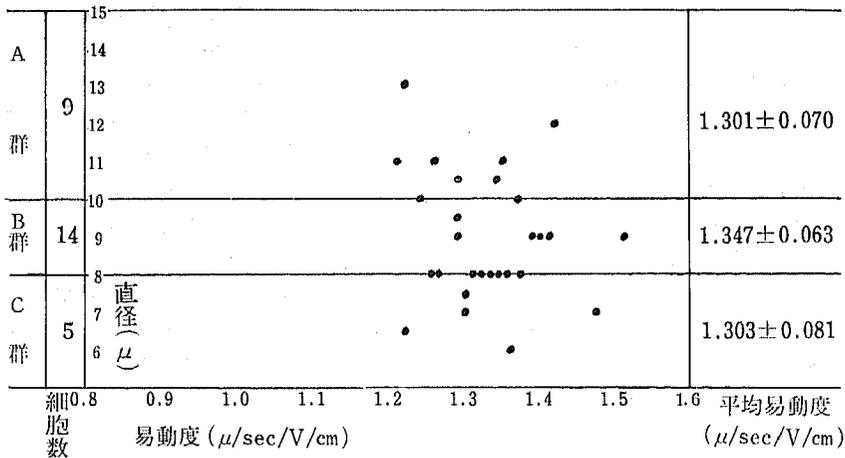


図 29 (症例 10)

間、状況はほとんど同様であり、また平均易動度の大きさは、B群>C群>A群であって、3群間にはまったく一定の傾向がないと考える。

考 按

細胞電気泳動は1930年代に Abramson¹⁾²⁾が赤血球について、初めて泳動して以来、今迄に赤血球、白血球、血小板、さらには癌細胞等にも応用され、最近では細胞抗体の存在部位として免疫関係の場でも取り上

げられてきている。Ruhensroth-Bauer³⁾は medium に血清を用いて行ない、正常な骨髓細胞は末梢血の成熟顆粒球に比べて20~30%の易動度の増加がみられ、また桿状核と分葉核は同じ易動度をもち、また骨髓細胞で健康人と白血病の H. C. G. には差異がないと述べている。またある種の疾患では末梢血の H. C. G. に易動度の大きい分画が現われるのは健康な状態が障害されているのであろうと述べている。しかしこの場合の易動度の変化が細胞自体の変化によるものか、あ

るいは血清の変化によるものか、またはこの両者の変化によるものか問題が残る。

教室の小松¹²⁾は血清蛋白が細胞の易動度に影響をおよぼすことを報告している。従って medium¹⁰⁾に血清を使用するよりも一定の緩衝液中で泳動する方がその細胞自体の固有の易動度を一層純粋に知ることが出来るものと考えられる。

そこで今回著者は前記実験方法の項で述べたような一定の緩衝液中での細胞電気泳動を行ない、各種疾患における骨髓有核細胞または末梢血有核細胞について、それぞれの易動度を測定し、各々の症例の赤血球に対する相対易動度を求めて H. C. G. を作りそのパターンの分析、末梢血細胞と骨髓細胞との H. C. G. の比較およびその治療による変化について検討した。また細胞の大きさ易動度との関連の有無を知る目的で直径と易動度との関係についても検討した。従来これらの点に関する報告は殆んどみられない。

正常健康人における末梢血の泳動では、易動度の大きい方から赤血球、リンパ球、顆粒球、血小板の順に分布する H. C. G. を示すが Rueff 等¹³⁾は末梢血の H. C. G. で、AML は正常の易動度の顆粒球は消失し、正常赤血球の易動度に近い分画に正常ではみられない分画がみられ、赤血球およびリンパ球の分画には変化はないとし、また CML でも正常の易動度の顆粒球の分画は消失し、正常の易動度の赤血球とリンパ球との分画の間に異常な細胞の分画が現われたと述べている。またリンパ性白血病では正常の易動度のリンパ球の分画はほとんど消失し、正常赤血球の易動度の分画に近いところに新たな分画がみられると報告している。

一方 Mehrischi と Thomson¹⁴⁾のように正常な小リンパ球は慢性リンパ性白血病の細胞と同じ易動度を示すと報告するものもあり、Cook と Jakobson¹⁵⁾のようにマウスの実験で正常リンパ球よりも小さい易動度を示す白血病性リンパ球があると述べているものもある。

著者の測定結果では骨髓性白血病の骨髓細胞の H. C. G. については AML の治療前のパターンは図 2 および図 3 に示す如く相対易動度 90 前後に高いピークのある急峻な山型のパターンであるが、治療により割合に平坦な型をとることを認めた。また CML では治療前も割合に平坦な山型を示し、治療によっても余り大きな変化を示さなかった。

また末梢血については、AML の治療前では相対易動度 85~95 の細胞が多いが、その緩解期と CML では

相対易動度 80 以下のおそい細胞もかなり出現することがみとめられた。

また図 2、図 3 に示した症例 1 の AML について骨髓像と易動度の比較をしてみると治療前の骨髓像で Mbl. は 90.8%、治療後の Mbl. は 89.6% でほとんど変わらないにもかかわらず、H. C. G. では治療後のものに易動度のおそい分画の細胞が増加した。これは Rueff 等¹³⁾が白血病細胞では細胞膜が成熟し、電荷密度が減少して核も成熟してくるが、しかし細胞膜の変化と核の成熟度はかならずしも平行しないと述べており、本例の H. C. G. の所見もこのことを裏づけるものと考えられ、核の成熟がまだ不十分なのに細胞膜の成熟がより早期に始まっていることを示唆しているものと思われた。

Rueff 等¹³⁾は骨髓性白血病細胞について、末梢血では易動度の大きい細胞の標準偏差が小さく、骨髓では易動度の大きい細胞の標準偏差が大であるとしたことは、すべての骨髓の幼若細胞を単一の易動度の細胞群として扱ったためであって、これは細胞の成熟過程の異常に起因するものと推定される。著者は、急性骨髓性白血病の場合、一般に相対易動度 80~110 の易動度の大きい骨髓細胞が増加するが、中でも各症例によって形態学的には殆んど同一と思われても細胞成熟過程の異常があるために、ある易動度の細胞の数が増加しているものと考えられ極めて興味ある注目すべき所見であると考えている。

一方、症例 4 の CML の H. C. G. が割合に平坦なパターンを示したことは、本例が治療による変化も少ないこと、ならびに臨床所見の慢性状態と併せ考えると、本例のような CML にみられる白血病細胞の悪性度が低いということを反映している成績とも考えられた。

しかし、増殖している細胞の種類と易動度のげんみつな対比は、1 例の CML だけでは結論がつけられず、また腫瘍細胞のみとり出して泳動しなければ確実な結果が出ないので、悪性度と易動度の関係は、さらに追求を要すると思われた。Purdum 等¹⁶⁾はマウス肉腫で悪性度が高いほど陰性電荷が強いことをみており、また Ruhstroth-Bauer 等は盛んな増殖を示す細胞はそうでない細胞よりもはやい易動度をもつと述べており、細胞の悪性度と易動度とは密接な関係があるものと考えられた。

次に、白血病以外の症例についての骨髓の H. C. G. では余り大きな異常を認めなかった。

肺癌、強皮症の H. C. G. では相対易動度 90~100 にピークを有する山型を示す点が共通しており、正常健康人の骨髄の H. C. G. に関する報告は余りないが、これらの症例は末梢血液像および骨髄像に特に異常所見がみられなかった点より、健康人の骨髄のパターンもほぼこれに近いものと推察された。

再生不良性貧血の 3 症例のうち、定型的な 2 例では明らかに高いピークのない低いパターンを呈し、非定型的な 1 例では 85~90 にピークのあるやゝ急峻な山型を呈していた。

前 2 者が平坦な山型を示したことは測定細胞数が少なかったことも関係していると思われるが、本来ピークを示すべき細胞が減少した結果と考えられ、骨髄における形成不全を示している所見と思われる。後者の 1 例は幼若球もかなり多く前骨髄球 28.8% で、骨髄有核細胞数も多く、AML の骨髄の H. C. G. のパターンに類似しており、将来骨髄性白血病へ移行する可能性のあることが示唆された。

リンパ節細胞の泳動に関しては、健康者リンパ節細胞は赤血球の易動度と同じ位のはやい細胞群と、血液中のリンパ球の易動度と同じおそい細胞群の 2 峰性を示すと云われている。またリンパ肉腫のリンパ節細胞でも症例により、はやい方またはおそい方の分画が優位に出るといわれ、著者の症例は前者に属していた。

鉄欠乏性貧血の症例では骨髄の 1 回目の H. C. G. は 90~100 にピークをもつ山型のパターンを示し、骨髄に病的所見のみられなかった肺癌および強皮症の症例に似ている点より、健康者のパターンに近いものと思われた。

次に各種疾患における H. C. G. のパターンの変化に細胞の大きさの変化が影響しているか否かを知る目的で、細胞の直径の大きさと易動度の大きさとの関係について検討を加えた。この問題に関する報告は、これまでに殆んど行なわれておらず、Patinkin 等¹⁷⁾が白血球について、medium の浸透圧を変化させることにより、白血球の大きさを変化させて易動度を測定したところ細胞の大きさと易動度との間には相関がなかったと述べているにすぎない。他方、赤血球については以前より細胞の大きさと易動度には相関がないと云われている。

今回の実験において、AML 3 例の末梢血では図 23 に示すように平均易動度の大きさは A 群 < B 群 < C 群の順であるが B 群と C 群にははっきりした差がみられず、細胞の大きさと易動度との間には一定の関連性は

みられなかった。同一例の骨髄細胞での平均易動度の大きさは図 24 に示すように A 群 < B 群 < C 群の順であったが、3 群間にははっきりした差は認められず、細胞の大きさと易動度との間には一定の傾向は認められなかった。

CML の例においては平均易動度の大きさは図 25、図 26 に示したごとく末梢血では A 群 > C 群 > B 群の順であり、骨髄では A 群 > B 群 > C 群の順であるが両者共に大きさと易動度には明瞭な差を認めなかった。

再生不良性貧血の 3 例での骨髄細胞の平均易動度の大きさは図 27 に示したごとく、C 群 > A 群 > B 群の順であり各群間でまったく関係がみられなかった。

さらに図 28 の肺癌 1 例、強皮症 1 例、リンパ肉腫 1 例、鉄欠乏性貧血 1 例の計 4 例の骨髄では平均易動度の大きさは A 群 > B 群 > C 群の順であるが、A 群と B 群でははっきりした差がみられず、3 群間に一定の関連性がみられなかった。

以上、各疾患について細胞の大きさと易動度の関連性を検討したが、各症例ともに一定の関連性は認められなかった。

結 語

各種疾患 (AML 3 例、CML 1 例、再生不良性貧血 3 例、肺癌 1 例、強皮症 1 例、リンパ肉腫 1 例、鉄欠乏性貧血 1 例) について主として骨髄細胞および末梢血細胞の電気泳動を行ない次の結果を得た。

① 急性骨髄性白血病の治療前の末梢血および骨髄の haemocytopherogram では相対易動度 85~95 の分画にピークのある急峻な山型のパターンを示し、治療による緩解につれてパターンはなだらかとなり、易動度の大きい細胞が減少する。慢性骨髄性白血病では末梢血、骨髄共に haemocytopherogram は比較的なだらかなパターンを示し、治療による変化が少ない。

② 再生不良性貧血の骨髄の haemocytopherogram ではピークのはっきりしない平坦なパターンを示し、治療によってもほとんど変化しない。

③ 肺癌、リンパ肉腫、強皮症の骨髄の haemocytopherogram のパターンは、相対易動度 90 前後にピークのあるなだらかな低い山型を呈した。健康人の骨髄の haemocytopherogram は、ほぼこれに近いものと思われる。

④ リンパ肉腫のリンパ節細胞では 1 例しかできなかったが相対易動度 85~95 の細胞が多数出現した。

⑤ 細胞の直径の大きさと易動度との間には一定の

関連性は認められなかった。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師戸塚忠政教授に深甚なる謝意を表すると共に、種々御助言、御教示を頂きました草間昌三助教授、半田健次郎講師、田中貴博士並びに試料採取に御協力を頂きました方々に感謝の意を表します。

本文の要旨は昭和47年5月20日、第23回電気泳動学会総会において発表した。

文 献

- 1) Abramson, H. A. : Modification of the Northrop-Kunitz microcataphoresis cell, *J. Gen. Physiol.*, 12 : 469-472, 1929
- 2) Abramson, H. A., Gorin, M. H. and Moyer, L. S. : The polar groups of protein and amino acid surfaces in liquids, *Chemical Reviews.*, 24 : 345-366, 1939
- 3) Furchgott, R. F. and Ponder, E. : Electrophoretic studies on human red blood cells, *J. Gen. Physiol.*, 24 : 447-457, 1941
- 4) Eyler, E. H., Madoff, M. A., Brody, O. V. and Oncley, J. L. : The contribution of sialic acid to the surface charge of the erythrocyte, *J. Biol. Chem.*, 237 : 1992-2000, 1962
- 5) 小松正裕 : 赤血球電気泳動にかんする研究 (Ⅱ), 癌血清および癌性滲出液の赤血球易動度に及ぼす影響, *日本内科学会雑誌*, 53 (12) : 15-21, 1965
- 6) 松沢良昭 : 赤血球電気泳動にかんする研究 (第1報), 各種疾患における測定, *信州医誌*, 16 : 897-904, 1967
- 7) Rottino, A., Angers, J. and Dool, A. : Demonstration that red blood cell slowing factor found in cancer serum by microelectrophoresis is an α_1 component. *Proc. Exp. Biol & Med.*, 111 : 699-701, 1962
- 8) Ruhstroth-Bauer, G., Straub, E., Sachtleben, P. und Fuhrmann, G. F. : Die elektrophoretische Beweglichkeit von Blutzellen beim Gesunden und bei Kranken, *Münch. Med. Wschr.*, 15 : 794-797, 1961
- 9) Ruhstroth-Bauer, G., Rueff, F., Straub, E., Kübler, W. und Fuhrmann, G. F. : Die zell-

elektrophoretische Bestimmung des Neuraminsäuregehaltes der Membranen der weissen Blutzellen vor und nach Austritt aus dem Knochenmark, *Naturwiss.*, 48 : 670-671, 1961

- 10) 田中 貴 : 細胞電気泳動に関する研究 (第1報), 自動撮影装置による人血球易動度の測定, *信州医誌*, 18 : 450-458, 1969
- 11) 田中 貴 : 細胞電気泳動に関する研究 (第2報), 自動撮影装置による人の滲出細胞および癌細胞の易動度の測定, *信州医誌*, 18 : 459-468, 1969
- 12) 小松正裕 : 赤血球電気泳動に関する研究 (Ⅲ), 赤血球易動度と血清蛋白, *信州医誌*, 15 : 94-103, 1966
- 13) Rueff, F., Fuhrmann, G. F. und Ruhstroth-Bauer, G. : Die Zellektrophorese in der klinischen Diagnostik, *Münch. Med. Wschr.*, 24 : 1242-1250, 1963
- 14) Mehrishi, J. N. and Thomson, A. E. R. : Relationship between pH and electrophoretic mobility for lymphocytic leukaemia, *Nature.*, 219 : 1080-1081, 1968
- 15) Cook, G. M. W. and Jacobson, W. : The electrophoretic mobility of normal and leukaemic cells of mice, *Biochem. J.*, 107 : 549-557, 1968
- 16) Purdom, L., Ambrose, E. J. and Klein, G. : A correlation between electrical surface charge and some biological characteristics during the stepwise progression of a mouse sarcoma, *Nature.*, 181 : 1586-1587, 1958
- 17) Patinkin, D. and Doljanski, F. : The effect of volume expansion on the electrophoretic mobility of cells, *J. Cell. Comp. Physiol.*, 66 : 343-349, 1965

(1973. 9. 10 受稿)