

原 著

Phytin-Allergy

第3報 Phytin-Allergy の病理組織学的及び血清学的研究

京都大学内科学第三講座 (指導 前川孫二郎教授)

橋 本 雍

(普掲受付: 1月14日, 1961)

緒 言

人間に於ける貧血の生成を, 免疫血液学的に理解し始める様になった最近の血液学に於て, 尚未だその原因乃至生成機序は解明されていない多くの問題を残している。

免疫に於ける因果性は, その抗原に於ける決定分子群の作用であるのと同じく, アレルギーの機構に於ける因果性に於て, 決定分子群が抗原に存在し, その1つは, 組織或いは臓器の細胞磷脂質(セファリン)であると, 前川教授は提唱され, 前川教授及びその門下によつて次々と実験的に証明された¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾。

赤血球系を指標としての, このアレルギーの実験は, 赤血球磷脂質に異種蛋白を附加したものを抗原として, 実験的にアレルギーを惹起し, ウサギの赤血球系, 即ち“Erythron”系にアレルギー性変化として, 非溶血性, 赤芽球形成機能低下の貧血の像をとる変化を, 前川, 服部, 熊谷等⁶⁾によつて実証せられた。

更に細胞磷脂質中の有効成分が, セファリンである事が確められた⁷⁾。この赤血球セファリンの更に詳細な分割を, Folch⁸⁾の脳セファリン分割化の方法に従つて分割し, アレルギーの決定分子群としての有効成分が, 第I分割にある事を見出した。このFolchの第I分割はInositolphosphatideである。それで第I報に報告した如く, このInositolの誘導体であるPhytinと, 人血清アルブミン及びグロブリンとを併せたものを抗原として, ウサギに実験的にアレルギーを惹起し, その変化をみた。

このPhytinと蛋白の結合については既に, Andry¹⁰⁾等によつて示唆されている事であり, Phytinの構造上よりも, 直に推定されるものである。又Phytinは鉄代謝に関係するとの報告がある¹¹⁾。特別な意味は分らないが, 有核赤血球をもつ鳥類, 爬虫類の或るものの赤血

球中に, Phytic acid としてPを含むものがある¹²⁾しかもガチヨウの赤血球のPhytate, Lipids 及び nucleoprotein のP間には, ゆつくりとした好気性の turnover を認めるという¹³⁾。又人に於て赤血球磷脂質のPと血清中のPとの間にも同様の turnover がある¹⁴⁾。これらの報告は, このPhytinと細胞磷脂質との間に, 何等かの密接な関係が存在している事を示唆する。

人に於ける溶血性貧血には, 先天性, 後天性, 又物理, 化学作用による場合等種々なる分類がなされている。

実験的に溶血性貧血を起させる実験は, Heteroimmune Sera を用いて, Muir, Mc Nee¹⁵⁾等によつて始められた。以後 Dameshek and Schwartz¹⁶⁾, Bessis and Frexia 及び Linke¹⁷⁾等によつて報告されている。又 Isoimmune Sera を用いての実験は Young¹⁸⁾等によつて行われた。

我々の“Phytin-Allergy”の実験は, 第1報, 第2報に報告した如く, 決定分子群として上記の様に細胞磷脂質より出発して, Phytin に至つたのであるが, “Phytin-Allergy”は溶血性貧血としてこの性格をもつものであり, これを確め, 貧血の性格と機構を精査する目的で, 組織学的及び免疫血清学的な追求を行つた。

実験第I部

病理組織学的研究

A 方法

第2報に於けると同じウサギを使用した爲簡単に述べる。

1) 実験動物, 第2報に報告したウサギ番号 No. A₁, A₂, A₃, A₄ を第1群とし, No. G₁, G₃, G₄ を第2群, No. G₅, G₇, G₁₂ を第3群とし, 対照として Phytin のみ連続5日注射した, 第2報に於ける, No. Y₁, Y₂, Y₃ 3匹を用いた。

2) 抗原 Na-Phytate 10mg/dl 1 ml. を2%人血清ア

ルブミン又は人 γ -グロブリン 2 ml. per kg を混合し、室温に1時間以上放置したものを抗原として用いた。

3) 感作及び再注射 第1群 No. A₁, A₂, A₃, A₄ にはアルブミン混合液を、第2群 No. G₁, G₃, G₄ 群は γ -グロブリン混合液を用いて上記抗原として、1日1回、連続4日、再注射は感作後30日後、連続3日行い、注射は凡て耳翼静脈内注射、更に45日後、第2回再注射として、上記抗原を連続3日注射、第3回再注射は、第2回注射後、約2カ月で同様連続3日再注射を施行し、注射1日後、No. A₁, A₄, G₃, G₄ を、又注射3日後、No. A₂, A₃, G₁ を腹部大動脈より出血致死せしめて屠殺し、これをヘマトキシリン・エオジン染色にて材料として用いた。

次に、第3群 No. G₅, G₇, G₁₂ は上記抗原を、連続4日注射し、感作後約3週間経て、連続3日耳翼静脈内に注射した。再注射3日後にて屠殺、第1群、第2群と同様の要領で検索の材料とした。

対照群 No. Y₁, Y₂, Y₃ は10mg/dl Na-Phytate 1 ml. を連続5日耳翼静脈内に注射し、注射後2日を経て、同様腹部大動脈より出血せしめて屠殺、これをヘマトキシリン・エオジン染色にて検索の材料とした。

尚これらの屠殺時期は、赤血球の動きよりみて、貧血の略々極期と思われる時期を選んで行つたもので、検索の対照とした臓器は、脾、肝、骨髓、肺、心、腎、の各臓器である。骨髓は大腿部のものを用了。

B 成績

1) 末梢血液所見及び骨髓穿刺所見は、第2報に報告した通りである。

2) 対照群 No. Y₁, Y₂, Y₃ では、略々正常にして変化なく、唯脾に於て No. Y₁ にヘモジデリンをとる細胞を認め、No. Y₂ ではヘモジデリンをとる細胞殆どなく、No. Y₃ にては脾洞周囲にヘモジデリンをとる細胞は少い。その他については変化は殆どない。

3) 脾臓に於ける変化

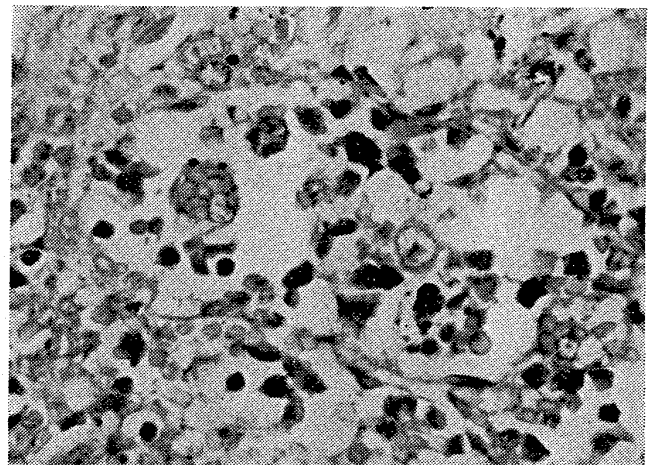
後天性溶血性貧血患者では増大したものが多いが、第1,第2,第3群及び対照群共に著変はない。硬度略々正常、淋巴濾胞の減少、萎縮もあまりみられない。脾嚢の肥厚もない。脾の梗塞も伴っていない。

髓索及び脾洞の変化

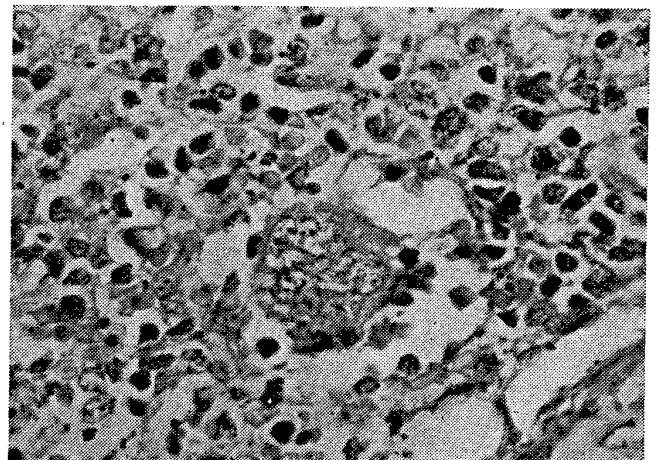
対照群を含めて、全般に形質細胞、好中球、好酸球等の増加は認められなかつた。髓索の網状細胞の増加は不明である。脾洞の内被細胞の増殖は No. G₄ にみられた。他のものはみられない。脾洞の拡大は第1群にては

著明ではなかつたが、G群即ち第2,第3群では拡大を示すものが多い。No. G₃, G₄, G₅, G₇ にこれを認め、No. G₄ は上述の如く内被細胞の増殖を認め、G₅ では赤芽球多く、No. G₇ では赤芽球、巨核球を認めた。血鉄症は一般にそう強くない。即ち第1群では No. A₁, A₂ に、第2群では No. G₃ に、No. G₁, G₄ は軽度に見られ、第3群では No. G₅, G₁₂ にみられる。赤髓の血液充満は、第1群では No. A₂, A₃ に、第2群では No. G₁, G₃ に、第3群では No. G₇ に認められ、No. G₇ では赤血球が著しく多い。赤血球貧食像は脾洞では分り易いが、脾索では赤血球が貧食細胞と群となる爲分りにくい。赤血球貧食像は、第1群では No. A₁, A₂, A₃ に、第2群では No. G₁ に、第3群では No. G₁₂ に強度にその変化をみた(写真1)。

写 真 1



写 真 2



巨核球をみる場合が多い。即ち第1群では No. A₂, A₃ に、第2群では No. G₁, G₃, G₄ に、No. G₄ では脾洞にみられた。更に第3群では No. G₇, G₁₂ の脾洞内に

巨核球を認めた(写真2)。

白髄では No. G₃ に於て白髄の増大がみられるのみであつて, PAS 染色等でみなかつた爲, ヒアリン沈着等は不分明であるが一般に変化は少い。

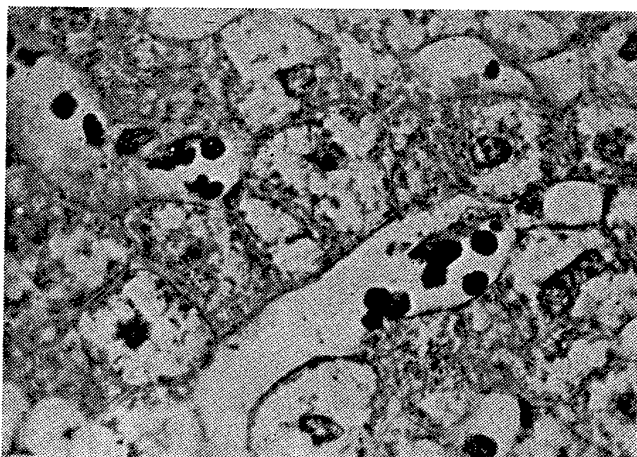
血管系の変化は著明ではない。梗塞も認められない。又瀕回の再注射を行つた第1群, 第2群共に動脈壁の肥厚, その他の変化を認めない。

捺染標本では, 第1群 No. A₁, A₂, A₃, A₄ 共に, 赤芽球, 骨髓球系の細胞が多くみられる。第2群 No. G₁ では赤芽球系の細胞多く No. G₃ では赤芽球系の細胞多く, 更に骨髓球系の細胞が多い。第3群の No. G₅ では赤芽球, 骨髓球巨核球系共に多し。併しそれらの所見は後述する肺, 肝の所見とあわせて考えると骨髓外造血を示すものと考えにくいものでむしろ抗原抗体反応による骨髓の衝撃によつて, 正常では骨髓洞に透過されない細胞が骨髓洞を経て循環血中に入った現象と考えるべきであらう。

4) 肝臓に於ける変化

溶血性貧血患者にみられる著明な変化は, Kupffer 星細胞の血鉄症及び赤血球貧食像である。これは全般にみられる変化である。併し “Phytin-Allergy” にては, この赤血球貧食像, 血鉄症は標本にては不分明である。肝 Sinusoid の拡大は, 第1群に於ては No. A₁ 稍と拡大し, No. A₃, A₄ 拡大, 第2群では No. G₃ 拡大し, No. G₁, G₄ 稍と拡大, No. G₄ には赤血球を多くみる。第3群では, No. G₁₂ の拡大のみで No. G₅, G₇ には拡大をみない。その Sinusoid に於ける細胞集団形成は, 第1群にては A₃ に赤芽球の集団 (Agglomerate) を (写真3, 4), 第2群では G₃ に種類不明の細胞集団があり, G₄ には巨核球がみられた。第3群では No. G₅ に巨核球,

写 真 3



写 真 4



好中球, 赤芽球, 骨髓球系の細胞集団を認めた。No. G₁₂ に赤血球集団を認める。

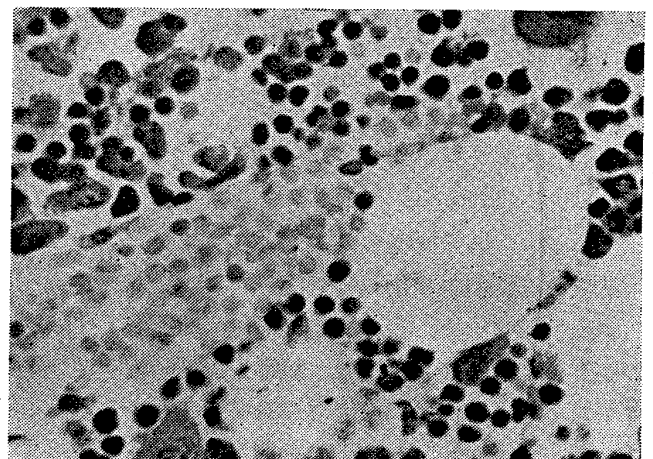
グリッソン氏鞘の肥厚は, 第1群, 第2群では No. A₄, A₁ に No. G₃ は軽度, No. G₄ は更に強く認められた。

変性像は No. A₁ には単球浸潤を認め, No. A₂ では中心性及び焦点性の変性像を認め, そこでは中心静脈腔が狭くなっている。No. A₃ では中心変性あり, 第2群 No. G₁ には中心変性をみる。第3群では No. G₅ に性格不明の壊死巣を認め, No. G₁₂ には中心壊死の像を認めた。

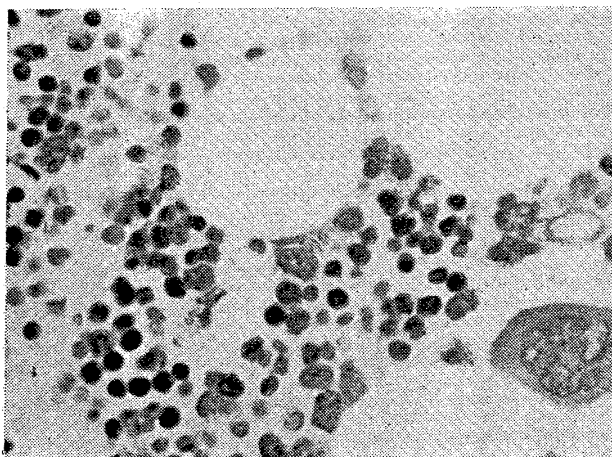
一般に肝肥大はなく, 鬱血の症状も認められなかつた。骨髓外造血, 胆汁栓塞等の変化は認められなかつた。脾と同様に, 上記の如く, 骨髓球系, 巨核球が Sinusoid に存在するのは, 抗原抗体反応による骨髓の衝撃の結果であつて, 骨髓外造血によるものと考えにくい。

5) 骨髓に於ける変化

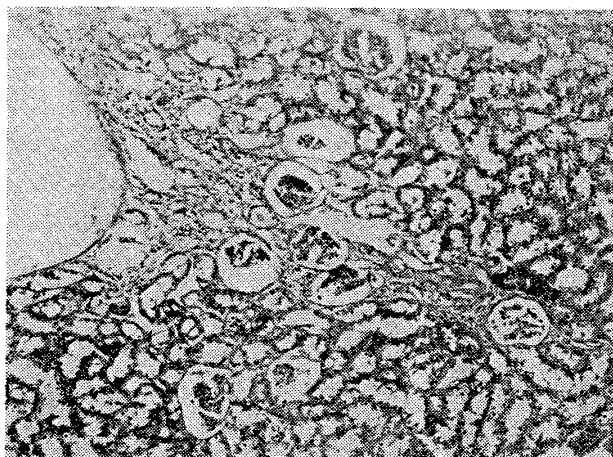
写 真 5



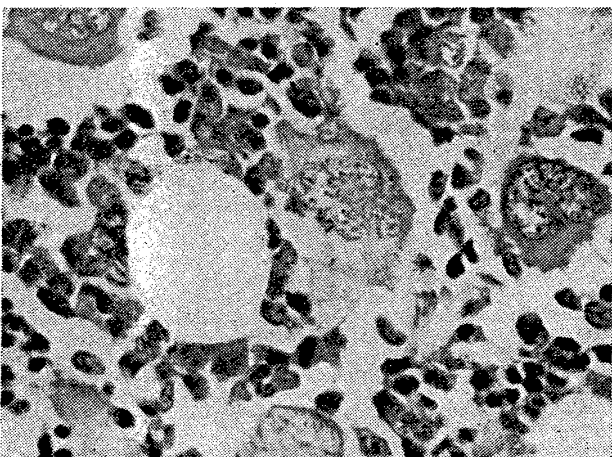
写 真 6



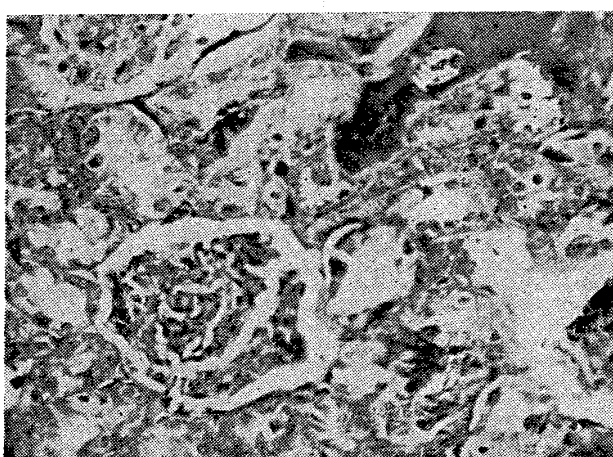
写 真 8



写 真 7



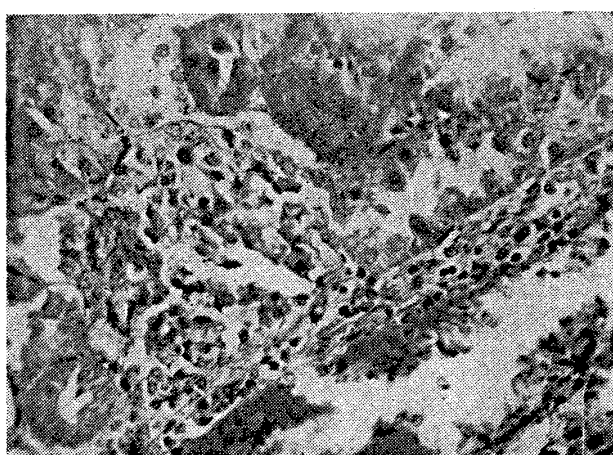
写 真 9



骨髓の材料として上記の如く、大腿骨のものを用いた。又骨髓像は第2報に於て、既に報告した通りである。即ち一般に赤血球系の造血亢進が認められる。

赤芽球系の増殖は、第1群 No. A₁ では軽度、No. A₂ ではあまり変化なく、穿刺部では細胞少く、No. A₃ では軽度、No. A₄ では中等度に増殖を認め、第2群では変化は少い。第3群では No. G₅, G₁₂ に強く、No. G₇ には軽度の増殖をみる(写真5, 6)。巨核球の増殖は第1群 No. A₁ に強く、No. A₄ では更に強い増殖あり、第2群では No. G₁, G₄ では軽度、No. G₃ で強く増殖があり、第3群 No. G₇ に軽度、No. G₁₂ には非常に強い増殖を認めた(写真7)。これは患者臨床例に於ける変化と少しく異なる。これら実験動物の末梢血では、特に白血球減少、栓球減少等も認められなかつた。臨床患者ではむしろ、巨核球の減少乃至消失をみるのは、これらの疾病が慢性にわたり、徐々に斯る変化を起したもので、我々の実験に於ける場合では、再注射により一時的に強い貧血を来す爲に巨核球の増殖を来したものであろう。

写 真 10



第1群 No. A₂ では洞周囲に赤芽球反応を示し、又 No. G₁ にも周囲に赤芽球反応、No. G₅ には洞邊緣鮮明にして赤芽球増殖を示す部位がある。

血鉄症は第2群 No. G₁, G₃ に強度にみられ、第3群 No. G₇ では強く No. G₁₂ に軽度ヘモジデリン貧食像

を認めた。

6) 腎臓に於ける変化

糸球体に於ける変化は、No. A₁ では梗塞痕 (写真8)。No. A₂ では硝子化した糸球体あり (写真9)、又血栓形成を認めるものあり、糸球体囊の癒着は軽度、周囲の白血球浸潤非常に強度、No. A₃ では糸球体囊の癒着強く、周囲の白血球浸潤甚だ強度 (写真10)、No. A₄ では糸球体の癒着軽度、周囲の細胞浸潤は強い。第2群 No. G₁ には殆ど変化なく、No. G₂ では糸球体囊の癒着強く、その囊腔にはフィブリンが充満、周囲の白血球浸潤はない。No. G₄ では糸球体囊の癒着強く、周囲の白血球浸潤はない。第3群では周囲の細胞浸潤なく、No. G₅ に軽度、No. G₇, G₁₂ に強く糸球体囊の癒着を認めた。

腎血管に於ける変化は、第1群 No. A₁ には静脈周囲炎あり、No. A₂ では静脈周囲炎及び静脈血栓を認め、動脈周囲炎あり (写真10)、No. A₄ では静脈周囲炎をみる。第2群では静脈周囲炎を No. G₁, G₄ にみるが、No. G₅ には認められない。第3群にては血管の変化は殆んどない。

細尿管の変化は、第1群 No. A₂ では硝子円柱、腎皮質の細尿管に出血像を認め、No. A₄ ではヘンレ氏係蹄は擴大し、その中に赤血球を認め、集合管の水腫性変性をみる。第2群 No. G₁ では集合管の水腫性変性を認める。又第3群 No. G₅ ではヘンレ氏係蹄の硝子円柱をみ、No. G₇ では主管にヘモジデリンを認める。これは細尿管よりのヘモグロビンの再吸収像と考えられる。No. G₁₂ では硝子円柱をみ、ヘンレ氏係蹄は擴大し、その中に赤血球をも認める。

一般に腎臓の変化は強いが、細尿管の変化は Phytin によるアレルギー性溶血性貧血の結果と考えられるが、腎血管の変化が、第3群に少いことは又、頻回再注射が少い結果であるかは、不明であつて、今後の検討を要する問題である。

7) 肺臓に於ける変化

一般に変化は少いが、肺毛細管に於ける巨核球の出現が認められる。即ち No. A₄ では巨核球及び赤芽球を認め、No. G₁ では裸核の巨核球を No. G₅ では巨核球があり、肺胞上皮の増殖をみる。No. G₅ では巨核球を認める。他の実験動物では変化は少い。肺の梗塞は凡てに認められなかった。

この肺臓の変化は既に述べた如く、抗原抗体反応による骨髓の衝撃により、巨核球が骨髓洞より出て末梢血中

にあらわれ、肺毛細管にひつかつたのであろう。

C 小 括

脾での主な変化は脾洞の擴大、赤髓の充盈、血鉄症を認め、赤血球貪食像 (Erythrophagocytosis) を認めるもの多く、又巨核球を認めるものは殆んど例にあつて、白髓での変化は、不明であるが、一般に変化は少い。捺染標本では特に赤芽球又骨髓球系細胞、巨核球等の細胞をみる。然しこれは肝、肺に於ける場合と同様、骨髓外造血を示すものではない。肝臓での主な変化は、Sinusoid の擴大するもの多く、種々なる血球系細胞の集団をみる。グリッソン氏鞘の増殖は約半数に認め、変性像も約半数にみる。血鉄症は殆んど全例にみる。

骨髓の主な変化は、赤芽球系細胞の増加、巨核球の軽度増加をみるものが多く、ヘモジデリン貪食像も約3分の1の例にみられる。

腎臓では糸球体囊癒着、糸球体周囲の白血球浸潤をみるもの多く。静脈周囲炎を示すものは、第1、第2群の殆んどである。細尿管では硝子円柱をみるもの多く、ヘンレ氏係蹄の擴大をみるものもある。

肺臓では約半数例に巨核球を認める。

実験第 II 部

免疫血清学的研究

1. 試験管内に於ける “Phytin-Allergy” の検討 A) 実験動物及び感作方法

1) 実験動物、第2報に報告したウサギ No. G₁₃, G₁₄, G₁₅ 及び追加として No. G₁₆, G₁₇, G₁₈, G₁₉, G₂₀ を用いた。

2) 抗原 第1部に於けると同一の抗原を使用した。即ち2%人 γ -グロブリン 2 ml. per kg と Na-Phytate 10mg を混和し、室温に1時間以上放置したものを用いた。

3) 感作方法 感作は No. G₁₃, G₁₄, G₁₅ は1日1回連続4日、上記の抗原を注射し、約20日後更に連続2日再注射、再注射後約1ヵ月後に第2回再注射を1日間隔で2回注射した。

No. G₁₆, G₁₇, G₁₈, G₁₉, G₂₀ は隔日に、連続6回上記抗原を注射して感作した。

注射は凡て、耳翼静脈内注射により行つた。

B. 各種反応の実験方法とその結果

1) 沈降反応

Phytin と正常血清とを重層すると白輪乃至白色沈澱を生ずる。正常ウサギ血清にて、この非特異性反応を検するに Na-Phytate の濃度約0.01mg/dlにて略々消失す

Table I Precipitation Reaction

Rabbit No.	Serum / Antigen	Before sensitization (undialysed)	17 days after 1st sensitization (undialysed)	13 days after 2nd Sensitization (undialysed)	26 days after 2nd sensitization (dialysed)	5 days after 3rd sensitization (G14, G15dialysed G13 undialysed)	Inhibition test using the same serums
G 13	0.2% human γ -globulin 0.1mg/dl Na-phytate	(—) × 8	× 2 × 16	× 8 × 16	× 8 (—)	× 8 × 8	
G 14	0.2% human γ -globulin 0.1mg/dl Na-phytate	(—) × 8	u* × 8	× 64 × 8	× 16 (—)	× 128 (—)	× 128
G 15	0.2% human γ -globulin 0.1 mg/dl Na-phytate	(—) × 8	× 4 × 8	× 16 × 16	× 16 (—)	× 128 (—)	× 128

* undiluted serum

Table II Precipitation Reaction

Rabbit No.	Serum / Antigen	Before sensitization (undialysed)	15 days after sensitization (undialysed)	21 days after sensitization (dialysed)	23 days after sensitization (dialysed)
G 16	0.2% human γ -Globulin 0.1 mg/dl Na-Phytate		× 8 × 8	× 4 u *	
G 17	0.2% human γ -Globulin 0.1 mg/dl Na-Phytate	(—) × 2	u* 4	× 4 u *	
G 18	0.2% human γ -Globulin 0.1 mg/dl Na-Phytate		u* × 8		× 4 (—)
G 19	0.2% human γ -Globulin 0.1 mg/dl Na-Phytate		× 2 × 16	× 4 (—)	
G 20	0.2% human γ -Globulin 0.1 mg/dl Na-Phytate		× 8 × 32	× 2 (—)	

* undiluted serum

る。Na-Phytate 濃度10mg/dl乃至 0.1mg/dlでは正常血清稀釋を8乃至12倍迄は反應は陽性となる。然しこの非特異性反應は、其の後種々の檢索により、血清をNo., 300のセロファンにて、外液を生理食塩水を用いて、一晝夜透析すれば消失する事を見出し、実験の途中よりこの方法を用いた。この事より恐らくこの非特異性反應は、血清中の或る種の塩類と Na-Phytate との反應によるものと考えられる。

イ) 沈降反應の方法 実験動物は上記ウサギを用い、血清を倍数稀釋して使用した。尚透析した血清の場合は、約 1.2乃至 1.3倍に増加するが、これを原液として、倍数稀釋して用いた。抗原として、人 γ -グロブリン及び

Na-Phytate を用い、対照として生理食塩水を用いた。その稀釋度は夫々に記した。判定は重層法にて行い、原則として37°C、2時間放置後、更に22時間氷室に放置して判定し、反應の強いものをとつた。

ロ) 成績は表 I 及び表 II に示した通りである。即ち Phytin に対する抗体は、この方法によつては、終始見出し得なかつた。しかも人 γ -グロブリンに対する抗体價は比較的値低であつて、第2回再注射にて始めて 128倍迄陽性となる程度であり、隔日連続6回注射法によつても、最高8倍迄陽性となるに過ぎない。No., G₁₃, G₁₄, G₁₅ 群に於て、再注射連続2回注射後13日より、26日後の方が抗体價が減少、又は同程度である。G₁₆~G₂₀ 群に

於て、感作後21日後が感作後15日に比し、抗体価の減少を示すものがあるのは、1つには透折によつて血清が-1.5倍迄も増加するものがある事等による原因が考えられる。Na-Phytate による阻止反応を、透折した同血清に等量の Na-Phytate (1 mg/dl)を加え、37°C 1時間 Incubator に放置後、上記同法にて検討してみたが、その結果は表に示す如く、阻止反応は陰性であつた。併しこれは更に方法を検討して、今後の追求を必要とする問題である。

2) 凝集反応

イ) 方法は上記実験ウサギを使用し、抗原として、2%人 γ -グロブリン液、2%人 γ -グロブリン4に対し、10mg/dl Na-Phytate 1の割合に混じたもの、及び10mg/dl Na-Phytate 液、この3種の原液を倍数稀釋し、抗原として使用した。この際使用した人 γ -グロブリン溶液は56°C30分間非働化し、正常ウサギ赤血球にて吸収したものを使用した。赤血球浮遊液は耳翼静脈より採血し、生理食塩水にて、3回洗滌後2%浮遊液として用いた。尚対照として正常ウサギ赤血球浮遊液を用いた。判定は先ず37°C 1時間放置後結果を確かめた後、更に氷室約5°Cにて2時間以上放置して判定した。

ロ) 実験成績 No., G₁₃, G₁₄, G₁₅ 群では、連続4日毎日注射後、11日て又再注射連続2日後10日ては凡て陰性であつた。

上記同様の方法にて、第2報に示した人 γ -グロブリンを、即ち担体をウシ血清に換えて行つた実験動物No.

101, 102に於て、再注射後13日に試みたが陰性であつた。これらは凡て倍数稀釋にて2⁸迄の系列について行つた。

3) Coombs 試験

イ) 実験方法 抗ウサギ血清モルモット血清は、正常ウサギ血清 0.5ml. 宛隔日連続10回モルモット皮下に注射し、2週間後抗体価の上昇著明でない爲、再び 0.5 ml. 宛隔日連続5回注射し、抗体価の上昇充分である事を確かめて実験に供した。

実験動物は上記のもので、対照として正常ウサギ赤血球浮遊液を用いた。判定は1時間37°Cに放置後結果を確かめ、氷室(約5°C)にて2時間以上放置後判定した。

ロ) 実験成績は No., G₁₃, G₁₄, G₁₅ 群に於ては、連続4回毎日抗原注射後、13日に検索したが、直接 Coombs 試験凡て陰性、14日間接 Coombs 試験は陰性、再注射連続2回注射後11日ては、直接及び間接 Coombs 試験は陰性、No., G₁₆, G₁₇, G₁₈, G₁₉, G₂₀ 群では、隔日6回注

射後21日の検索で直接 Coombs 試験は No., G₁₇, G₁₈, G₂₀ は陰性、No., G₁₆, G₁₉ に非常に微弱に24時間後にのみ陽性で、顕微鏡的にも明白に凝集を認めた。これは更に今後の検討を必要とするものと考えられる。

4) 種々なる組合せによる試験管内溶血現象の追求。

イ) 実験方法 上記 No. G₁₅ の耳翼静脈より出血しめて得た赤血球をACD溶液にて3回洗滌後、No. G₁₅ の50%赤血球浮遊液を作る。対照として正常ウサギ赤血球浮遊液、及び No. G₁₅ 血清、正常ウサギ血清、抗人血清ウサギ血清を用いて、種々なる組合せにて、その溶血現象をみた。凡て赤血球浮遊液と血清は等量宛混合した。

ロ) 実験成績 判定は2時間室温放置後、結果を確かめた後、氷室(約5°C)中24時間放置後判定した。

先ず No., G₁₅ 赤血球、正常ウサギ赤血球と正常ウサギ血清の混合液に1mg/dl Phytin を、他の系列には 0.1 mg/dl Phytin を、三番目には1mg/dl Phytin と 0.2%人 γ -グロブリン溶液の混合液とを、夫々混合したものでは結果は陰性であつた。

次に No. G₁₅ 赤血球、正常ウサギ赤血球と、No., G₁ 血清の混合液に、等量の上記 Phytin 及び Phytin グロブリン混合液を加えた場合も陰性であつた。

最後に No. G₁₅ 正常ウサギ赤血球に、抗人血清ウサギ血清を混合し、Phytin 及び Phytin グロブリン混合液を加えた場合も凡て溶血をみず又凝集も見出せなかつた。

C 小 括

人 γ -グロブリンに対する沈降反応は、抗体価の上昇は急速でないが頻回の感作により強くなる。併し Phytin に対する沈降反応は凡て陰性である。又阻止反応も凡て陰性であるが、阻止反応を更に検討すべき問題は残っている。凝集反応に於ては、本報に於ける方法では陰性である。唯 Coombs 試験に於て一部弱陽性の結果を得たが、更に再検討の必要を認めるものである。又種々なる組合せによる溶血及び凝集反応をみたが凡て陰性であつた。

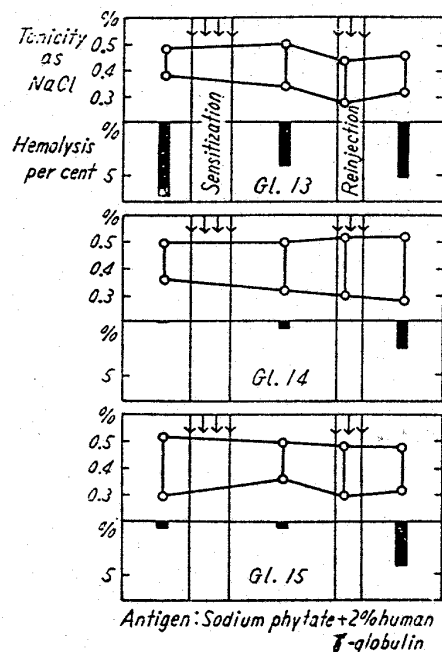
2. 各種赤血球抵抗の検討

A. 実験動物及び感作方法 第1章に於けるNo. G₁₃, G₁₄, G₁₅ を使用し、感作方法等は同様である。

B. 各種赤血球抵抗の実験方法とその結果

1) 機械的抵抗 方法は Michael²⁰⁾等に略々準じて行つた。即ちウサギ耳翼静脈より採血し、脱纖維素後血液 0.5ml. 宛50ml. の Erlenmyer のフラスコ2つにと

図1 Osmotic & Mechanical Fragility of R.B.C.



り、10個の硝子玉を予め入れ、これを1分間28回轉の速度で90分回轉す。この前後のヘマトクリット値を比較して判定する。2つのフラスコよりとつた夫々の値の平均値を結果とする。その結果は圖1 (Fig. 1) に示した。圖は表の平均値の回轉前後のヘマトクリット値の差を%にて現わしたものである。注射後、再注射後にも特に機械的抵抗は減弱したとは考えられない。尚溶血に赤血球のみでなくその血清も関係すると考えられる爲、第2回再注射後6日目に0.5mg/dl Na-Phytate 生理食塩水溶液を等量加えた血液に於て、即ち No. G.I., 対照ウサギは夫々ヘマトクリット値19, 24, 前者回轉90分後18.5回轉後、後者24, 回轉せず同時間放置後、前者20, 後者25, 結局減弱は極く軽度で意味がなかった。

2) 食塩水に対する滲透圧抵抗 方法は Giffin and Sanford²¹⁾に略々準じて行つた。判定は原則として室温2時間、氷室中24時間で行つたが、各時間での差異は殆んど認められなかった。

その結果は圖1 (Fig. 1) に示した。抵抗巾はむしろ増加するもの、又は減少するもの等あるも軽度であつて、特にこの結果より食塩水抵抗の減弱を証明することはできなかった。

C 小 括

赤血球の機械的抵抗、食塩水に対する滲透圧抵抗共に変化は殆んどみられない。

考 按

後天性溶血性貧血患者の主な病理組織学的所見としては、症候性の後天性溶血性貧血以外の場合は、主に脾臓に於てその変化をみる。

我々のいう“Phytin-Allergy”の場合の組織学的変化も亦、脾臓に於ける変化は強度であることを認めた。が他の臓器にも、溶血現象と関連せしむべき変化を種々認めた。

一般に脾臓の変化に於て、脾洞、赤髓に於ける変化は比較的によく観察しうるが、白髓に於ける変化は観察しにくい。

球形赤血球の場合は、赤血球が髓索内に抑留されるという観察が多い。Rappaport & Crosby²²⁾は開放性循環の立場から、球形赤血球は Stoma を通りにくいので髓索内の抑留がみられるという。併し閉鎖性循環の立場より考えると逆に考えなければならない。“Phytin-Allergy”の場合球形赤血球は認められない。

後天性溶血性貧血の場合にも球形赤血球増多を示すものがあり²²⁾²³⁾、これは後天性溶血性貧血の一時的な現象であるという。しかもこの球形赤血球症の強さは、脾索内の血液充満の強さと平行関係があるという。興味あることは球形赤血球症の強いものは脾索血液充満し、且つ赤血球の滲透圧抵抗の増大も又著明であり、球形赤血球がない場合、脾索血液充満は少く、脾洞に血液充満を認め滲透圧抵抗が正常である事をみている²²⁾。脾索の血液充満があるかないかは、球形赤血球症の有無によるにすぎない。併し脾索の血液充満が球形赤血球症に特異的なものでないといえる²²⁾。

“Phytin-Allergy”の場合には10例中4例に脾洞の擴大をみ、且つ赤髓の血液充満は10例中5例に認められている。併し球形赤血球も認められなく、滲透圧抵抗にはその増加を示すものは1例もなかった。この Rappaport & Crosby 等の分類に従えば“Phytin-Allergy”は動物実験であるが、脾洞が中等度乃至強度に鬱血し、脾索に比較的赤血球の少い群に属するといえる。

臨床患者脾の場合、脾洞の充満は血管結紮、心臓障碍、門脈鬱血に関係する事は考えられるが、“Phytin-Allergy”の実験に於ての脾洞の擴大は、心臓、肝臓に特にその原因を見出せないし又、屠殺方法が瀉血であるので、脾の鬱血を来したとは考えられない。

先天性溶血性貧血患者に、正常人赤血球を注入しても、赤血球寿命は短くならない²⁴⁾。正常人の場合 Gordon²⁵⁾ Singer²⁶⁾等によれば、摘脾によつても赤血球寿命に変化がない。然るに Emerson²⁷⁾によれば、後天性

溶血性貧血患者に、正常赤血球を輸血して摘脾した時、患者赤血球対正常赤血球の割合は脾の方が末梢血液より、遙に高いという。更に後天性溶血性患者赤血球が、発作でないとき球形赤血球でないが、その発作の場合に輸血された赤血球迄、急速に球形赤血球に変ずるという報告は多い。後天性溶血性貧血の場合には、特に脾が重大な役割を演ずるものであると考えられる。“Phytin-Allergy”の場合、脾臓に球形赤血球を認めていない事により、脾臓で実験動物の赤血球が球形赤血球に変じて溶血を起してくる事を全く否定はできないが、実験成績より考えにくい。

それでは、Phytin と人血清蛋白との結合によつて感作されたウサギ赤血球が、再注射によつて、赤血球に如何なる変化を来して貧血を起すのであるか。

先づ血管内で溶血するか、又は脾臓及び網内系にとられて貧食されるかどうかを考えてみるに、第2報で報告した如く、末梢血液所見及び骨髓像からは溶血性貧血が考えられ、血管内溶血をみる検索に於て、血漿ヘモグロビン値には、一時上昇を示すものもあり、又尿にヘモジデリンを証明し得たウサギもある。全般にその変化は強くない。一方感作赤血球と、人血清蛋白と Phytin 及びウサギ血清等の組合せを行つて試験管内溶血現象をみたが、特に対照に比し強い溶血現象を認めていない。この事から“Phytin-Allergy”の場合、血管内に於て、溶血現象が起つてはいるが、これを試験管内反應に於ては証明し得ていないと云える。しかし Ponder²⁸⁾も指摘している様に生体内溶血と試験管内溶血とでは何故か差異があり、その真因は未だ不明とされている。

次に脾臓及び網内系にとられて、貧食されるかを考えてみるに、組織学的所見に於て、10例中5例に於て、しかも1例に於て強度に、赤血球貧食像を脾洞に於て認めた。脾索に於ては赤血球貧食像を確認しにくい。例えば赤血球が、一見細胞内に認められても、それが単に重っているのみである可能性が強い。この事は既に述べられている事である²²⁾。又この実験に於ては、脾洞、赤髓にヘモジデリンの認められたものは、10例中7例にあつた。これらの事より、むしろ“Phytin-Allergy”の溶血現象は抗体素因化された赤血球が血管内溶血と同時に喰細胞により貧食される事を示唆するものであろう。

末梢血液像に於て有核赤血球の出現は予後悪い²⁹⁾との報告はある。が骨髓外造血がなければ有核赤血球の存在は特に悪い予後を示さぬと云う²²⁾。“Phytin-Allergy”に於ても第2報に示した如く、有核赤血球の発現頻度は

高いものであるに拘らず、約1週間乃至10日で赤血球数は舊値に復する。併し組織学的に捺染標本で赤芽球の認められるもの、10例中8例、骨髓球系幼若細胞の認められるもの10例中7例、巨核球の認められるもの、10例中7例であつた。この巨核球出現の7例中3例は脾内にみられたものである。

これらの事実より“Phytin-Allergy”の実験に於ける貧血は、骨髓外造血の存在を主張し得ない。抗原抗体反應による骨髓への衝撃の結果、骨髓洞の透過性が亢進したものと考えるべきであらう。又予後的に云つて、再注射後一時的に貧血を来しても、再び赤血球数が舊値に戻ると云う事実は、上記の Rappaport & Crosby の意見と一致する。

溶血性貧血患者の脾洞周囲の、内被細胞の増殖を Rappaport & Crosby は50%に認めると云うが、この実験に於ては唯一例に於て認めたのみである。

Jandl³⁰⁾等によれば、後天性溶血性貧血患者の摘脾した脾臓よりの血液塗抹標本では、赤血球の凝集生成が強いと云う事を強調している。又 Wagley³¹⁾等によれば、後天性溶血性貧血患者の脾臓で、正常人赤血球を incubate すれば Coombs 試験は陽性に出る。末梢赤血球と脾臓内赤血球との Coombs 試験を比較した場合、後者がより強く反應すると云う。組織学的に Rappaport & Crosby の報告中2例に於て、血管内での赤血球凝集を認めているし、島峰³²⁾は本邦に於ける溶血性貧22例の剖検例中2例に血管内凝集をみているが、“Phytin-Allergy”では組織に於て血管内凝集反應を認めることは出来なかつた。

Dacie³³⁾によれば、摘脾後、輸血正常赤血球が11.5日から26日とその赤血球寿命が延長したに拘らず、摘脾後も抗体産生が進行している患者があり、脾が抗体産生の場所としてよりも、むしろ明らかに溶血の臓器の性質をもつ例があると述べている。脾臓がこの様に、溶血現象に於て、重要な関係をもつ事はその他種々の報告がある。これらの方法による検討を“Phytin-Allergy”では行っていないが、尚、この“Phytin-Allergy”に於ける脾臓の役割については重大なものと考えられ、今後の検討を行つて解明したい。

肝臓に於ける変化は、溶血性貧血患者に於ては著明な血鉄症及び赤血球貧食像を、肝細胞及び星細胞に於てみる²²⁾という。併し“Phytin-Allergy”に於ける肝臓に於ては、血鉄症は不明である。恐らくは起らないのであろう。Sinusoid の擴大と、そこの赤血球の agglomerate

は多くの例でみられる。巨核球骨髓系細胞がみられるのは抗原抗体反応により骨髓に衝撃をうけて骨髓洞の透過性が亢進した爲であろう。これと同様の变化は、抗ラット赤血球ウサギ血清を、ラットに投與して起した実験的溶血性貧血に於ける肝臓に見られる。しかもこれを骨髓外造血像と理解している³³⁾。

小葉中心部の壊死は、溶血性患者に於ても屢々みられ、強い鬱血をみるという²²⁾。この肝細胞にみられる変性変化は、島峰³⁴⁾によれば、Altmann, Büchner の低酸素血症にみられる所見と一致する。即ち小葉中心部の空胞形成、脂肪滲潤或は壊死の形をとる。小葉中心部に变化の強いのは、肝毛細管内血液の酸素張力が、周辺部から中心に向つて下る勾配を持つてゐる事により、説明されるという。“Phytin-Allergy”に於ける壊死像は、この低酸素血症により説明されにくい。即ち特に肝肥大又は鬱血を著明に示す事は少いに拘らず、壊死像は屢々認めるのである。この発生機序については尚不明である。

グリッソン氏鞘の線維症は溶血性变化の際に認める²²⁾と云われている所見である。吾々の実験に於ても、約半数に軽度に見出している。その他溶血性貧血患者にみられるという胆汁栓塞像、星細胞の赤血球貧食像等は不明であつて、殆んど認められない。第2報で示した様に血中ヘモグロビンの上昇も、あまり著明でない所見と関連するのであろう。又尿中ウロビリノーゲンの増加も特に認めない。

腎臓に於ける細尿管の変化は溶血によるためと解し得るが、頻回再注射にみられた静脈周囲炎の変化は、直接溶血に関連するものか、それとも人血清の抗原抗体反応の結果であるか判明しがたい。

一般に急性の Lederer-Brill 型、発作性血色素尿であつても、溶血性貧血患者の剖検例に於ても、腎臓の変化は少い。Rappaport & Crosby²²⁾によれば、唯鉄反応陽性の顆粒が、細尿管上皮細胞にみられ、ヘモグロビン円柱が溶血発作時に死亡した1例に認められた。同様の变化は外傷時にもみられ、Crush Syndrome 等の名で呼ばれているものである。

“Phytin-Allergy”に於ける腎臓の静脈周囲炎は Longscope³⁵⁾によつて始められた異種蛋白を頻回に静脈注射した実験結果に於ける、間質性炎と酷似すると考えられる。即ち腎臓に於ける血管の変化が、頻回に注射を繰返した。第1群、及び第2群に変化の強い事、第3群に変化の殆んどない事実は、これを物語るのであらう。

糸球体に血栓をみるもの、ヘンレ氏係蹄内に赤血球をみるもの、主管にヘモグデリンを認めるもの等あり、約半数の家兎に於て、再注射後尿中ヘモグデリンを証明し得たのは、溶血現象と関連するものと解される。尚尿中の蛋白は、第2報に述べた如く、一部の例にのみ陽性であつた。骨髓に於ける変化は、溶血性变化にみられる赤芽球系の増殖が著明である。併し中にはこの増殖の著明でないものがみられる事は、後天性溶血性貧血患者の場合にもみられるというのと同様である。しかもこの Rappaport & Crosby の例では、低形成性の13例中2例では、特に骨髓系及び巨核球系の減少も著明であつた。“Phytin-Allergy”に於ては赤芽球増殖は洞周辺に赤芽球反応として現われる事があり、後天性溶血性貧血患者に殆んど例にみられるとされる赤血球貧食像はみられなかつた。又血鉄症も常に存在するといわれるが、Dacie³⁶⁾によれば、鉄はヘモグロビン再生に利用されるため、血鉄症はむしろ少いという。この実験では約半数にみられるのみであつた。

肺臓に於ては、唯巨核球赤血球をその毛細血管に認められるのみで輸血後によくみられるという血球凝集、血栓等の変化もなく脾肝と同じく抗原抗体反応による骨髓刺戟症状の1つと考えられる。

赤血球崩壊の機序を考えてみるに、直接的な物理的、化学作用を除いて、凝集素、溶血素の役割は非常に重要であつて、“Phytin-Allergy”に於ても何等かの形で存在しているのであらうと思われる。赤血球磷脂質、就中そのセファリンを用いて惹起した貧血、即ち“Erythron-Allergy”に於ては種々なる可能性の検討の結果、感作ウサギ赤血球の凝集反応は、抗原ウシ血清の64倍稀釋程度迄陽性である³⁷⁾という。

溶血性貧血に於ては、その大多数に Coombs 試験は陽性に出るものとされる。しかもこの Coombs 試験は特発性後天性溶血性貧血のみでなく、症候性後天性溶血性貧血にもみられ、更に非定型性肺炎、Favism 細菌感染、薬剤によつてすら陽性を示す³⁸⁾。又頻度は比較的少いが、先天性溶血性貧血に於てもみられるという³⁸⁾。Coombs 試験が陰性のものでも、種々の酵素、例えばトリプシン、パパイニン等にて処置した赤血球を用いると陽性に出るものもあるという事実はよく知られている。この事は溶血性貧血殊に後天性溶血性貧血に於ける抗体が完全なものであつて、生理食塩水にては凝集が起らない。併し稀に完全抗体が存在するものがあつて、直接に凝集反応を起すものがあり、前もつて患者血清を56°Cにて不活性に

しても抑制される事がない。しかも少しく酸性にした場合、僅かながら凝集は強くなる³⁹⁾。Storti⁴⁰⁾、Young¹⁹⁾等によれば、抗体に包まれた赤血球は、その代謝に異常があるという。我々の実験に於て、凝集反應をみる時葡萄糖液を少量添加した場合も検討したが常に陰性であった。又この代謝異常は赤血球寿命にも関係する³⁹⁾という。又寒冷抗体は不完全抗体であるが完全なものもあり、或る条件下では溶血を起すという。

以上の事より“Phytin-Allergy”の凝集反應結果をみる時、一時的な凝集反應、Coombs 試験又は簡単な組合せによる溶血現象は見出し得なかつた。併し補体結合反應、條件を種々に変更した場合、又何等かの形で生体内等で直接に凝集又は溶血として見出す事は、可能な事ではなからうかと考えられる。今後の研究にまたなければならぬ。

赤血球抵抗に関する研究は、特に溶血性貧血の際の抵抗については多くの報告がある。普通先天性溶血性貧血の場合、滲透圧抵抗は低張液に対する抵抗は減弱する。これはその球形である爲、破裂する迄赤血球膜が伸展されるのに非常に少しの液を必要とするに過ぎない事による⁴¹⁾と説明されている。後天性溶血性貧血の場合は、急性期を除きあまり変化しないものから種々である。実験的に溶血血清注射によつて抵抗は減弱される⁴²⁾。又 Lecithin より変化する Lysolecithin は強力な溶血を起すもので赤血球の腫張を来す⁴³⁾という。Emerson²⁷⁾、Young²⁴⁾等は先天性溶血性貧血の患者に、正常人血球を輸血した時、脾内の患者血球は、末梢循環血中の患者血球より滲透圧抵抗が著明に減弱し、正常赤血球は末梢のものも脾内のものも滲透圧抵抗は正常であるという。“Phytin-Allergy”の場合、赤血球の滲透圧抵抗は凡て陰性で、その貧血の極期に於ても陰性であつた。この事から“Phytin-Allergy”の貧血が滲透圧のみによつて溶血をするとは考えにくい。

機械的抵抗は、後天性溶血性貧血で、滲透圧抵抗が正常であつても減弱を示す場合がある。Stats⁴⁴⁾によれば、溶血は赤血球の凝集塊の異常な機械的減弱によるという。Dacie³²⁾によれば、溶血には抗体の温度域と補体結合能との3つの要素があるという。前者の例としてレイノー氏病がある。

“Phytin-Allergy”の実験に於て、夏と冬に於ける差は殆んどなく、唯気候不順なる時には、赤血球の変動は強く、又ウサギの健康状態が悪くなる爲、著しい場合は、人 γ -グロブリン 即ち抗原に対する抗体價も低値と

なる。補体結合反應は施行していないが、Forssman 型異性抗原であるかどうかも決定しておかなくてはならないと考えている。

後天性溶血性貧血を、実験的に検討した報告は古くは Muir, McNee¹⁵⁾ (1911)がある。最近では Dameshek, Schwartz¹⁶⁾ (1938), Bessis, Frexius¹⁷⁾ (1947) があり、前者は溶血血清注射による貧血症状が非常に後天性溶血性貧血に類似すると強調し、この事から後天性溶血性貧血は抗体による疾病であると結論している。後者は抗血清を経口的に投與して溶血を起し、継続的に投與しても慢性貧血を起し得ない事より、投與血清に対する抗体の産生を考えている。他の多くの実験はこれに準じたものが多い。同種抗体を用いた実験では、Young¹⁹⁾等のものがある。

Granick⁴⁵⁾によれば、人赤血球の新鮮材料の 0.4%が脂質で、この90%以上が Stroma に存在し、脂質の83%がセファリン、21%がレシチン、20%がコレステロール等であるという。磷脂質は蛋白と共に赤血球膜形成に重要なものである。この磷脂質中のセファリン附着体として得た“Erythron-Allergy”に於ける貧血は、一過性乍ら形成低下性貧血の像を示すが、セファリン第一分劃である Inositol-Phosphatide に類似を求め、Inositol の誘導体である Phytin を用いた場合、その貧血像はむしろ溶血性貧血の像を呈するのは何故であるか。現在の研究段階では分らない。第4報に於て石川が述べる様に、感作時と再注射時の抗原に於て Phytin と Phosphatide, Phosphatide と Phytin との交叉反應をみるに、前者は貧血を起さず、後者は貧血を起す。又 Phytin による“Erythron-Allergy”の脱感作は可能であり、又、“Phytin-Allergy”を Phytin によつて脱感作する事も可能である。この事より Phytin は併合免疫 (Kombinations-immunisierung: Sachs) といえるのであろうが、この“Phytin-Allergy”の貧血の機構の解明には今後種々の実験結果によらねばならないであろう。

以上の事実より“Phytin-Allergy”の組織学的検討の結果は溶血性貧血を示したものと考えられる。“Phytin-Allergy”は我々の方法による凝集反應、溶血反應が陰性である新しい型の、実験的アレルギー性溶血性貧血であるといえる。又機械的抵抗、滲透圧抵抗が殆んど変化しない性質のものである。

前川のアレルギーの定義¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾によれば、アレルギーに於ける決定分子群は免疫の場合のように、抗原に初めから備つているという可能性は少く、むしろ抗原が

抗体製産者の体内に入ってから、これに附加されることの可能性の方がより考え易い。このアレルギーに於ける決定分子群として、“Erythron-Allergy”に於けるセファリン特に Inositol-Phosphatide を見出した。これを更に Phytin に置き換えた事になる。それ故、この“Phytin-Allergy”はアレルギー性溶血性貧血とでも云うべき貧血である。

結 論

1. Na-Phytate 10mg及び2%人γ-グロブリン2ml per kg. を抗原として、ウサギに実験的溶血性貧血を起し、その貧血極期の病理組織学的検討を行い、脾臓、肝臓、骨髓、腎臓、肺臓等に、溶血性貧血による変化を認め、第1報、第2報に報告した“Phytin-Allergy”の組織学的性質を明らかにした。

2. 赤血球の機械的抵抗、滲透圧抵抗は“Phytin-Allergy”に於ては殆ど著変なく、貧血を起す主な原因とは考えられない。

3. 免疫血清学的検討を“Phytin-Allergy”に於て行つたが、結果は検索した方法では陰性があり、“Phytin-Allergy”に於ける貧血の機構を血清学的に説明する事は出来なかつた。

4. “Phytin-Allergy”は実験的溶血性貧血であるが、これは前川のアレルギー理論より、アレルギー性溶血性貧血である事に言及した。

擧筆するに当り終始御懇篤なる御指導をと御校閲を賜つた恩師前川教授に深甚の謝意を表すると共に、たえず御指導、御鞭撻を頂いた熊谷講師に深謝す。また御助言、御協力を頂いた森脇、石川、国分学兄に深謝します。

本論文の要旨は、昭和33年10月第7回日本アレルギー学会総会、及び昭和34年4月第21回日本血液学会総会に於て発表した。尚1958年バリーに於て国際アレルギー学会に前川教授により発表された。

文 献

- 1) Maekawa, M.: Erster internationaler Allergiekongress, S. Karger, 13 (1951) also reported at the First International Congress of Cardiology in Paris Sep., 3 (9), (1950).
- 2) Maekawa, M.: Acta Schol. med. Univ. Kioto., 28, 175 (1951).
- 3) Maekawa, M.: Révue Belge de Pathologie et de méd. Expér. 24, 455 (1955), Communication Présentée au Ve Congrès International d'Hématologie, Paris, Septembre, (1954).
- 4) Maekawa, M.: Acta Schol. med. Univ. Kioto, 32, 195 (1955).
- 5) 前川孫二郎：血液討議会報告, 1, 214 (昭23).
- 6) 前川, 服部, 熊谷：日血誌, 13, 263 (昭25).
- 7) 北沢：日血誌, 16, 334 (昭28).
- 8) Folch, J.: J. Biol. Chem., 146, 35 (1942), 177, 497. (1949).
- 9) 前川, 田中, 高木, 大西豊, 白崎：生化学, 28, 123 (1956).
- 10) Andry R., Barré R., Courtors J.E., Storck J.: Ann. Pharm. fr. 12 (7~8), (1954).
- 11) Steinkamp, R., Dubach, R., and Moore, C. V.: Arch. Int. Med., 95, 181 (1955).
- 12) Rapoport, S., and Guest, G.M.: J. Biol. Chem., 138, 269 (1941).
- 13) Rapoport, S., Leva, E. And Guest, G.M.: J. Biol. Chem., 139, 633 (1941a).
- 14) Chaikoff, I.L., and Zilversmit, D.B.: Advances Biolog. & med. Physics, 1, 321 (1948).
- 15) Muir, R., McNee, J.W.: J. Path. Bact., 16, 410 (1911~12).
- 16) Dameshek, W., and Schwartz, S.O.: New Engl. J. Med., 218, 75 (1938 a).
- 17) Bessis, M. and Frexia, P.: Rév. Hémat., 2, 114 (1947).
- 18) Linke, A.: Verh. dtsch. Ges. Inn. Med., 58, 724 (1952).
- 19) Young, L.E., Izzo, M.J., Altman, K.I. and Swisher, S.N., Blood, 11, 977 (1956).
- 20) Michael, S.R., Vural I.L., Bassen, F.A., Schaefer, L.: Blood, 6, 1074 (1951).
- 21) Giffin, H.Z. and Sanford, A.H.: J. Lab. & Clin. Med., 4, 465 (1918).
- 22) Rappaport, H., Crosby, W.H.: Am. J. Path., 33, 429 (1957).
- 23) Lubarsch, O.: Handb. spez. path. Anat. Histol., 1/2 (1927).
- 24) Dacie, J.V., Mollison, P.L.: Lancet, 1943/1, 550.
- 25) Gordon, A.S., Klinberg, W.: Am. J. Physiol., 118, 757 (1937).
- 26) Singer, K., Weisz, L.: Am. J. med. Sci., 210, 301 (1945).
- 27) Emerson, C.P., Shen, S.C., Hanit, H., Castle W.B.: J. clin. Invest., 26, 1180 (1947).
- 28) Ponder, E.: Hemolysis and Related Phenomena, London, J. & A Churchill, (1948).
- 29) Schwarz, S.O., and Strausburg, F.: J.A. M.A. 154, 1339 (1954).
- 30) Jandl, J.H., Richardsen, J.A., and Castle, W.B.: J. Clin. Invest., 36, 1428 (1957).
- 31) Wagley, P.F., Shen S.C., Gardner, F.H., and

- Castle, W.B.: J. Lab. & Clin. Med., 33, 1197 (1948).
- 32) Dacie, J.V.: Proc. Royal Soc. Med., 51, 699 (1958).
- 33) Polani, P.E.: J. Path. & Bact., 67, 431 (1954).
- 34) 島峰: 医学の動向第21集, 金原 (1958).
- 35) 島峰: 日血誌, 22, 354 (昭34).
- 36) Longscope: J. exp. Med., 18, 678 (1913), 22, 793 (1915).
- 37) 国分昌: 未発表.
- 38) Dacie, J.V.: The Haemolytic Anemias, New York, Grune Stratton, (1954).
- 39) Wintrobe, M.M.: Clinical Haematology, Lea & Febriger, (1956).
- 40) Storti, E., Vaccari, F., Baldini, E.: Experientia, 12, 108 (1956).
- 41) Haden, R.L.: Am. J. med. Sci. 188, 441, (1934).
- 42) Dameshek, W., Schwartz, S.O., and Gross, S.: Am. J. med. Sci., 196, 769 (1958).
- 43) Wilbur, K.M., and Collier, H.B.: J. Cell and Comp. Physiol., 22, 233 (1943).
- 44) Young, Platzer, Erwin, Izzo: Blood, 6, 1099 (1951).
- 45) Stats, D.: J. Clin. Invest., 24, 33 (1945).
- 46) Granick, S.: Blood, 4, 404 (1949).
-

Phytin-Allergy. The 3rd Report. Histopathological and Serological Studies on the Phytin-Allergy

Yasushi Hashimoto

The 3rd Medical Clinic (Director: Prof. Magojiro Maekawa),
Medical Faculty, Kyoto University

Experimental hemolytic anemia was induced by injecting the mixture of 10 mg sodium phytate and 2% human γ -globulin at the rate of 2 ml per kg into the sensitized rabbits and histopathological changes were investigated in the spleen, the liver, the bone marrow, the kidney and the lung at the time of the most marked anemia. These changes suggested that the allergic anemia might be a hemolytic anemia.

Mechanical and osmotic fragilities of erythrocytes did not show any marked changes after the reinjection, and these findings suggested that the anemias would not be caused from these changes.

No remarkable immunohematological changes on Phytin-Allergy were observed and the mechanism of anemia on "Phytin-Allergy" could not be demonstrated serologically.

Studies on Air-borne Fungi as Asthmogenic Allergens

**Terumi Takahashi, Sumiko Tanie, Yoshiaki Tachibana
and Yasuo Kawakami**

First Department of Internal Medicine, Showa Medical School

The authors studied the seasonal variations of the spore counts of air-borne fungi in the Tokyo area by the culture plate method and the incidence of mold sensitivity in asthmatics by skin tests. The most frequently found air-borne fungi were *Oospora*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* and *Aspergillus*, but as regards the *Oospora* species identification was uncertain.

Cladosporium and *Penicillium* were abundant in the period from late autumn to winter. Contrary to the above-mentioned molds, *Alternaria* was abundant in the period from Spring to Summer. *Aspergillus* increased slightly in Spring and late Autumn.

In the asthmatics, the incidences of positive skin reactions to four mold extracts prepared by the Hollister-Stier Laboratories were: 7.4 percent against *Aspergillus* and *Cladosporium*, 12.3 percent against *Trichoderma*, and 14.8 percent against *penicillium*. However, 29.6 percent of the asthmatics showed a positive reaction to the skin tests with one or more of the tested mold extracts, and all of these reactions appeared in patients with house dust sensitivity, which corresponded to 37.5 percent of the latter.

The positive skin reactions to eight mold and three bacterial extracts prepared by us were also not so frequent and in 0 to 15.3 percent of the asthmatics.

The Incidences of Asthma and Urticaria in Rural Populations of Japan and the Results of Clinical Analysis

**Tatsushi Ishizaki, Hidenari Araki, Satoshi Sasaki, Hiroo Kojima, Tokuji
Hazama, Rinjiro Seo, Masayoshi Akisada and Seiki Otsuka**

Department of Physical Therapy and Internal Medicine (Director: Prof. Yoshio Oshima)
School of Medicine, University of Tokyo

Clinical mass survey in the rural population was carried out on allergic diseases, mainly bron-