非細菌性発熱物質による白血球増多機序と副腎の関係

千葉大学医学部第二生理学教室（福田篤郎教授）*

宮　坂　　厚

ATSUSHI MIYASAKA

（昭和35年9月10日受付）

I 序　　言

細菌性内毒素の他一般に高分子物質の静脈内投与は発熱並びに特有な白血球変動を示し，長時間にわたる白血球(好中球)増多を招来することが古くより知られている。Steinberg及び Martin (1954)[1][2]はこれ等に関する文献を総括し，流血中白血球数変動と各組織の白血球状態を対比し，白血球増多は骨髄よりの多核白血球の動員によることを明らかにし，ここに各物質による白血球増多機序の考察を行なつた。氏等はこれ等誘発物質は初期の白血球減少期に主として肺で破壊される多核白血球より放出される液性因子（Explosion factor）によるであろうとし，特に副腎皮質との関係を論じ，同因子形成には皮質ステロイドを要しないことを強調した。氏等は多種の誘発物質について検討したと述べ，すべて同様であるが故に最も多数の実験を行なつた牛乳についての成績のみを記したという。

一方我が国に於ては主としてチフス・ワクチンに関する実験より，つとに小宮等[3]はそれが間脳に働き発熱を来すと同時に神経性経路を介し肝臓に働き氏等のいう neutropoetin を生成し，骨髄に働き白血球増多を来すとした。また近時福田・松本[4][5]はワクチン投与後の血清中には Atkins 及び Wood[6]等の指摘する体内性発熱因子と完全に分離しうる白血球増多因子（小宮等の neutropoetin に当る）の存在を認め，且つこの増多因子の形成には副腎皮質糖質ステロイドが決定的の役割を演ずることを明らかにした。ここに問題として取上げたことは白血球増多が液性因子の生成によることは何れの研究者も認めるところであるが，その形成に糖質ステロイドを要するか否かについては根本的相違の存することである。よつて著者は Steinberg 及び Martin の取上げた牛乳を主体に，それと関連するカゼイン，核酸ソーダ及び全く化学的に不活性と思われる墨汁を誘発物質とする際の白血球増多現象と副腎との関係を検討することとした。

II 実 験 方 法

実験動物には白色雄性家兎，体重 2.5 kg 前後のものを使用し，飼育にはオカラ・フスマ混合食を1日 300 g 与えた。

採血は予め電灯で充分加温し動脈血化した耳翼の静脈より行なつた。反覆採血に際しては，耳根部より耳先端に向い 1 cm 以上の間隔をおいて切創を加えた。白血球算定は白血球用 melangeur (EDK 製)，トーマ計算盤（EDK 製）により4回算定し，その平均値をとつた。直腸温測定時には，体動をさけるため大腿の間に抱き軽く四肢を片手にもち，水銀1分計を 6 cm 迄直腸内に入れ測定した。なお観察時間中動物は柵付のたなに放置し，束縛をさけた。

誘発物質として用いた各種物質の使用条件は以下の如くである。墨汁（開明墨汁）は生理的食塩水で10%とし，濾紙で3回濾過後，60°C 温水中で 30 分間重湯煎し，家兎体温に冷却し，10 cc/kg を静脈内に投与した。カゼイン（和光純薬製）は 0.1% 重曹水で 4% 溶液とし，それを 2.0 cc/kg 静注した。核酸ソーダ（RNA，和光純薬製）は実験日に 5% 溶液とし，その 0.5 cc/kg を静注した。チフス・ワクチン（千葉血清研究所製）は 0.1 cc/kg を静注した。

牛乳及びウサギ乳は可及的無菌的に採取したものを，採取後 30 分以内に使用した。何れも 3 cc/kg の量を静脈注射した。

III 成　　績

A. 各種誘発物質による白血球増多と副腎

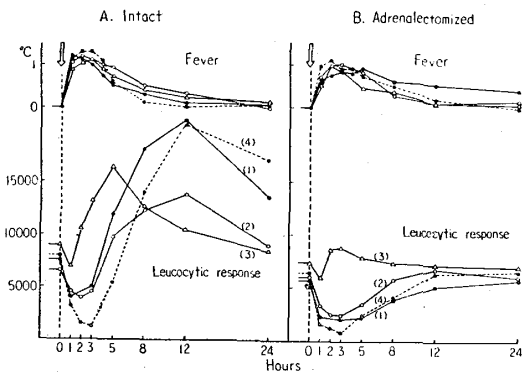
各種誘発物質投与は，初期発熱時には一時白血球数減少を来すも，次で顕著な白血球増多を招来することは周知の事実である。チフス・ワクチン投与によるこの白血球増多反応は既述の如く副腎皮質の存在を前提とするものであるが，その他の誘発物質に

* 昭和35年度文部省科学研究費による。

ついては如何かを正常並びに副腎摘除ウサギについて比較検討した。ここに主目標としたのは白血球増多であり，且つそれは偽好酸球（好中球相当のもの）であるので，以下単に白血球と称するもその動きは偽好酸球と解されたい。

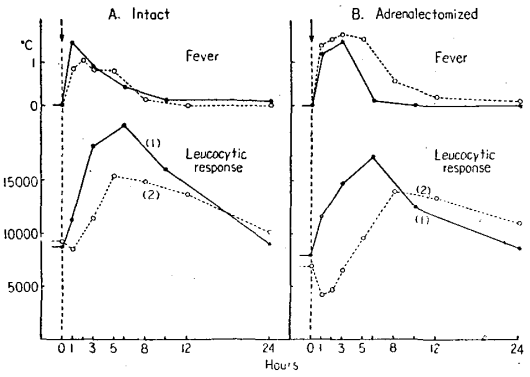
先ず墨汁，カゼイン，核酸ソーダ及び牛乳をそれぞれ正常ウサギに既述の量を投与し発熱及び白血球数の変動をみるに，図1Aに示す如くである。牛乳

図1.　各種発熱物質静注後の白血球数変動
（正常及び副腎摘除ウサギの比較）
(1)　墨　　汁：10%，10 cc/kg
(2)　カゼイン：4%，　2 cc/kg
(3)　核酸ソーダ：5%，0.5 cc/kg
(4)　チフス・ワクチン：0.1 cc/kg



による反応には後述の如く特異な点があるのでこれを別図（図2A）に示した。これらの物質が発熱と共に上記の白血球反応を来すことは多くの研究者により知られた如くであるが，図示の如く各物質で1℃ 強の発熱を来す量を投与して，その際の白血球数の変動の時間的消長を比較した。墨汁のそれはチフス・ワクチンにみられる典型的経過とほぼ同様で，多数例について比較すれば期間が多少短い。カゼインでは増多は遙かに軽微である。核酸ソーダは前2者に比して発熱が類似であるにもかかわらず，その白血球反応経過は非常にすみやかであり，短時間の白血球数減少に次いで約5時間で白血球数増多は最高値に達し，12時間後には殆んど前値に回復する。図2Aに示した牛乳の場合では初期の減少は殆んど観察されず（実際には投与後数分で急速な減少を示すもこれがすみやかに回復する），増多はほぼカゼインの場合に類似する。

図2.　乳汁静注の体温並びに白血球数に及ぼす影響
(1)　牛　　乳：3 cc/kg
(2)　ウサギ乳：3 cc/kg



以上の観察より同程度の発熱に伴う白血球数変動は誘発物質の種類によつてはかなり相違することが分る。ただし白血球反応は投与量によつても著しく支配され，少量投与では白血球変動の大きさよりもその2相性の変化がすみやかに終ることが特徴である。したがつて相違の殆んどはこの量的関係によつて説明されうるであろうが，牛乳の場合には初期減少経過の極めて短い割に増多期が長く，且つ増多程度の顕著なことが特異である。この間の事情は更らに以下の実験により明らかにされる。

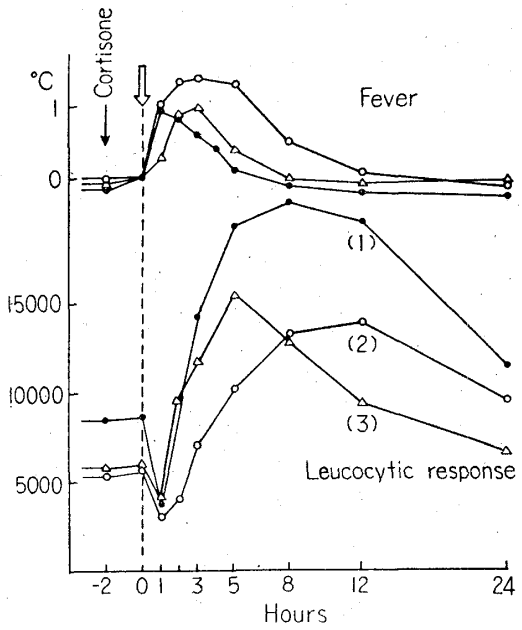
次に副腎摘除ウサギに於ける各誘発物質による白血球変動をみるに図1B，図2B にみられる如くである。牛乳を除く他の物質ではチフス・ワクチンの場合と同様その様相著しく変り，初期の減少は存続するも後期の増多が殆んどみられなくなる。この点牛乳は全く特異的であり副腎欠損の影響が殆んどない。従つてこれを別図に記載したわけである。なお核酸ソーダの場合も図に見られる如く白血球増多は極めて軽微とはなるが，一応その存在が常に経過の上に認められる。

次に牛乳の特異例については次節で別に論ずることとして，ここではチフス・ワクチンの場合と同様副腎欠損時に増多反応の消失をみる墨汁，カゼイン，核酸ソーダについて，その機序の検討を行つた。先ず副腎摘除ウサギにこれ等誘発物質投与前に少量の Cortisone（1 mg/kg）を2時間前に皮下投与して，その効果をみた。勿論ここに用いた Cortisone 量はそれ自体白血球増多を来さない。結果は図3に示す如く，各物質投与ともその白血球増多反応が健常ウサギの場合と同様に再現される。

ここに墨汁，カゼイン及び核酸ソーダ投与による後期の白血球増多反応はチフス・ワクチンの場合と全く同様副腎皮質の糖質ステロイドの存在を前提として出現するものであることを確認し得た。

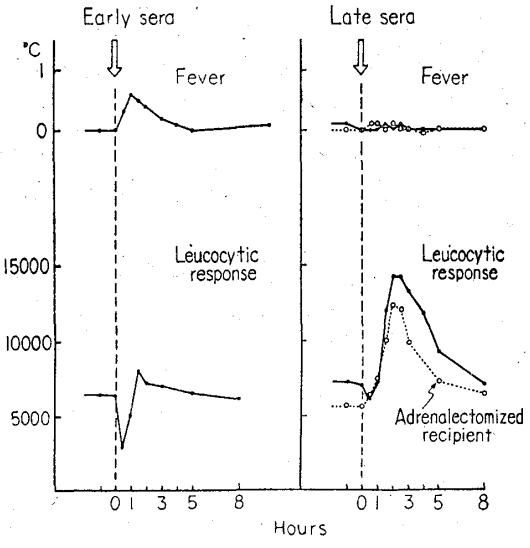
既報[4][5]の如くチフス・ワクチンの場合は糖質ス

図 3. 副腎摘除ウサギに Cortisone (1mg/kg) 前処置後の各種発熱物質静注効果
(1) 墨　　汁：10%，10 cc/kg
(2) カゼイン：4%，2 cc/kg
(3) 核酸ソーダ：5%，0.5 cc/kg



テロイドの存在を前提として血清中に白血球増多因子（福田・松本）が形成され，白血球増多を招来することが輸血清実験によつて示されている。よつて上記の場合の白血球増多も同様液性因子の発生によるものであるか否かを墨汁の場合について一応検討してみた。即ち墨汁投与後の白血球減少期（1.5 時間）及び白血球増多期（8 時間）に採血した血清を他の正常ウサギに静注（10 cc/頭）するに図 4 に示す如き白血球数の変動がみられた。即ち増多期の血清にはチフス・ワクチンの場合と同様増多因子の存在が認められ，発熱並びに初期減少を伴わない顕著な白血球増多が招来される。これに対し初期血清では発熱並びに白血球の初期減少及びそれに次ぐ極めて軽微且つ短期の増多が認められるに過ぎない。この時期の血清にはも早や墨汁による着色は全く認められないので，Atkins 及び Wood[6] のいう体内性発熱物質の形成によると考えられる。なお墨汁による発熱及び特有な白血球反応はここに使用した濃度では 2 cc/kg 以上を要し，その半量では反応が殆んど認められず，実験にはすべて 10 cc/kg を用いた。反応をひき起す量からいつても初期血清の効果は投与された墨汁そのものでないことが分る。

図 4. 墨汁静注後の血清を正常ウサギに静注した効果
初期血清：(1.5 時間後) 10 cc/頭
後期血清：(8 時間後) 10 cc/頭

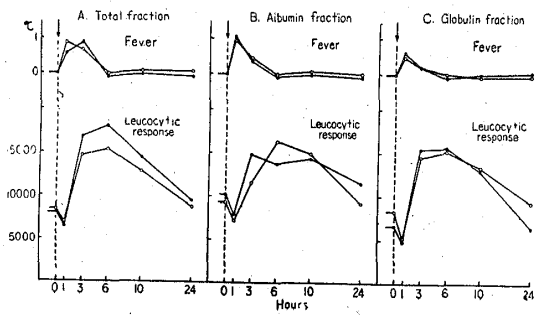


以上の実験により各種誘発物質の代表として Steinberg 及び Martin[2] によつて取上げられた牛乳は全く特異的なものであり，氏等が誘発物質はすべて副腎欠損時に於ても特有な白血球増多反応を示すとの結論も，ここにその根底が失われ，一般には副腎皮質存在の下に白血球増多因子の形成を行い，顕著な白血球数の増加を来すことを明らかにし得た。

B. 牛乳中の白血球増多因子について

ここに牛乳の特異性を明らかにすべく，以下の実験を試みた。先ず新鮮牛乳或はウサギ乳の他，粉乳を試みるにほぼ同様な結果がえられることを知つたので，材料の得易い点，脱脂操作を要さぬ点から粉乳につき，副腎欠損状態に於てもなお白血球増多を来しうる因子を検討した。粉乳（雪印インスタントスキムミルク）はそのカゼイン及び添加物（乳糖，カルシウム，ビタミン）を除いた後使用した。即ち先ず 20% 粉乳に食塩を飽和に加え，冷蔵庫に一夜放置し翌日遠心濾過し，この上清 8 cc に相当するものを透析後静脈内に投与した。本上清は透析並びに 60°C，30 分処理で効果を失せず，図 5 A にみる如

図 5. 乳精蛋白分劃静注効果



く，発熱並びに白血球増多を示す。100℃，30分加熱後遠沈濾過したものでは軽微な発熱を来すのみで，白血球増多はみられなくなる。次に乳精に相当する上記上清に等量の硫安（pH 7.4）を加え5時間振盪混和し，冷蔵庫に一夜放置し沈澱及び上清に分けて，セロファンチューブにより流水（約18℃）で数時間透析し，次いで0.9% NaCl で1夜（冷蔵庫）平衡せしめ，原上清8ccに相当する量をそれぞれ投与した。結果は図5B, Cに示す如くであり，何れの場合も発熱及び白血球増多をみるも，発熱はBのアルブミン分劃に，白血球増多の絶対量はCのグロブリン分劃により顕著に見られる。しかし両分劃の差は絶対的のものではなく，既報[7]のチフス・ワクチン投与後に血清中に出現する白血球増多因子は発熱作用を示さず，明白にグロブリン（γ）分劃に局在するのと趣きを異にする。牛乳中に存し副腎欠損動物にも白血球増多を来す因子は，非透析性であるが，血清蛋白との特異的関連は認められなかつた。

IV 考　察

本研究により著者は，Steinberg 及び Martin (1954) が各種の白血球増多誘発物質（発熱物質ともいえる）による白血球増多現象は副腎皮質の存否とは無関係であるという一般論的結論を否定し，氏等の観察が主として牛乳（投与量記載なし）投与によつたが故に，特異例についてのものであることを結論する。牛乳の主成分であるカゼインの他，核酸ソーダ或は墨汁といつた種々な高分子物質投与による白血球増多は，何れも皮質糖質ステロイドの存在を前提として，血清中の白血球増多因子の形成を介して出現するのである。この関係は福田・松本[4][5]によつてチフス・ワクチンによる白血球増多機序として指摘されたものと全く同様である。おそらくSteinberg 等によつて挙げられた各種物質についても同様であろう。ただ牛乳にはその乳精成分に副腎皮質の介在を要せずして白血球増多を来す非透析性の物質が存在するのであり，これは全く特異な現象と思われる。その成分については今後の検討を待ちたいが，アポクリン腺からの分泌液のことであるからMenkin の滲出液性白血球増多因子類似の物質が含まれていても別に不思議はないとも思われる。

V 結　論

非細菌性の発熱性物質として牛乳，カゼイン，核酸ソーダ，墨汁を用い発熱後に招来される白血球増多の機序を検討し以下の成績を得た。

1. 牛乳を除いては何れも副腎皮質糖質ステロイドの存在を前提として，血清中に白血球増多因子が形成せられ，流血中の白血球増多をみる。

2. 牛乳中には白血球増多因子類似の非透析性の作用物質が認められるも，それはカゼインではなく，乳精蛋白に結合する。

稿を終るに当り，終始御懇篤な御指導と御校閲を賜わつた恩師福田篤郎教授に深く感謝致します。尚併せて教室員諸兄の御援助に厚く御礼申上げます。

文　献

1) **Steinberg, B. & Martin, R. A.:** Plasma factor increasing circulatory leucocytes; Amer. J. Physiol., **161**, 14, 1950.
2) **Steinberg, B. & Martin, R. A.:** Hematopoietic responses to provocatives; A. M. A. Arch. Pathol., **57**, 227, 1954.
3) **小宮悦造：** 造血促進物質の命名について；熊本医会誌，**12**, 2355, 1936.
4) **Fukuda, T. & Matsumoto, O.:** Endogenous factors concerning the febrile and the leucocytotic response to bacterial endotoxin in relation to the adrenal cortex; Jap. J. Physiol., **9**, 274, 1959.
5) **松本　修：** チフス ワクチンによる白血球増多反応と副腎皮質；日生理誌，**21**, 825, 1959.
6) **Atkins, E. & Wood, W. B.:** Studies on the pathogenesis of fever; J. Exp. Med., **102**, 499, 1955.
7) **宮坂　厚：** 白血球増多とその催起因子について；千葉医会誌，**36**, 858, 1960.