

# 生体に於ける Hem 蛋白の分解に関する研究

## 第 2 編

### 肝臓の生理的食塩水抽出液による Pyridin-verdohaemichromogen 及び Globin-verdohaemichromogen 生成に 及ぼす脾臓の生理的食塩水抽出液の影響

岡山大学医学部第一内科教室 (主任: 小坂教授)  
(指導分担: 九州大学山岡教授)

三 上 純 一 郎

〔昭和 33 年 10 月 18 日受稿〕

生体で血色素から胆汁色素が生成されるのは、網内系に於てであるとの説が概念化されて、今日誰しも怪しむものはないが、その考えは必ずしも妥当でなく、教室に於ける多年の業績からすれば、胆汁色素生成の主要臓器は肝臓であり、又肝臓の内外を問わず主要過程にあずかるものは、実質細胞であると言つてよい。これについて Fischer と Lindner は、Pyridin-haematin と各種臓器組織との反応で青緑色色素が生成する過程に於て、その作用は肝組織に最も強く、肝組織と脾組織とを等量に混合したものは、それと同量の肝組織単独のものに劣ると述べている。又 Calvo-Criado 及び Ascher と Ebnöther 等は各種臓器抽出液による血色素の分解で、肝組織の抽出液では判然とした結果が得られ、脾組織の抽出液では余り判然としないが、両者を混合すれば肝組織の分解作用は更に賦活されると述べている。よつて海猿肝臓と脾臓の生理的食塩水抽出液 (以下抽出液と略) について、Pyridin-haematin や血色素を材料として更に検討を加えた。

Pyridin-verdohaemichromogen 若くは Globin-verdohaemichromogen の生成に及ぼす海猿脾臓抽出液の影響をみるに当り、先ずこの抽出液に Soerensen M/15 燐酸塩緩衝液を加えて pH 8 となし、38°C の孵卵器内に静置して 24 時間目に及び、Engel 法で反応液の Ether 抽出を行い、これについて水洗後可視部に於ける吸光曲線を描くと、630 m $\mu$  と 540 m $\mu$  及び 490 m $\mu$  に吸収極大を認め、波高は後二者が著明に高く、れを比較すると 630 m $\mu$  のものは痕跡に近かつた (第 1 図)。従つて海猿脾臓の抽出液のみからも、Globin-verdohaemichro-

mogen 生成の可能性があることになる。しかしこれは海猿の脾臓が余り小さい為乏血の状態にすることが困難であり、而も赤血球自体が血色素の自然分解産物としての Globin-verdohaemichromogen を含むことによるものであろう。この際反応液は当初より淡赤色で、経時的にも黒色調を呈せず、そのままの色調で褪色した。又 Ether 抽出液の Gmelin 反応は陰性であつた。

海猿脾臓の抽出液に Pyridin-haematin 溶液を加えて、pH 8 で 38°C の孵卵器内に静置の場合、18 時間目の反応液の Engel 法による Ether 抽出液は、可視部の吸光曲線に於て 655 m $\mu$  から 640 m $\mu$  に極く低い吸収極大を、又 530 m $\mu$  に高い吸収極大を示し、この他 500 m $\mu$  に痕跡的のものが認められた (第 2 図)。これ等を海猿脾臓の抽出液単独のもの 24 時間目のそれと比較すると、Pyridin-haematin 溶液添加の場合の 640 m $\mu$  と 500 m $\mu$  の吸収極大は短波長側に、又 530 m $\mu$  のものは長波長側に夫々 10 m $\mu$  の開きを示した。この際 640 m $\mu$  と 655 m $\mu$  の吸収極大は、夫々 Globin-verdohaemichromogen と Pyridin-verdohaemichromogen の存在を意味するものと思われたが、反応液の経時的な肉眼的変化も明らかでなく、Ether 抽出液の Gmelin 反応も判然としなかつた。

Pyridin-haematin 溶液の代りに血色素溶液を用いると、24 時間目反応液の Engel 法による Ether 抽出液は、その水洗後の可視部に於ける吸光曲線で、630 m $\mu$  と 540 m $\mu$  及び 490 m $\mu$  に吸収極大を示し、波高は 630 m $\mu$  < 490 m $\mu$  < 540 m $\mu$  で、490 m $\mu$  の波高が 540 m $\mu$  のそれに比して著しく低い他は、海

海猿脾臓の抽出液単独の場合と一織した(第3図)。この際も反応液の経時的な肉眼的所見の変化は明らかでなく、Ether抽出液のGmelin反応も判然としなかつた。

以上に於て Pyridin-verdohaemichromogen 若くは Globin-verdohaemichromogen の生成を示すと考えられる、655 m $\mu$  と 640 m $\mu$  乃至 630 m $\mu$  の吸光係数と、その母体に相当すると思われる 530 m $\mu$  並びに 540 m $\mu$  のそれとの比を求めてみると、何れの場合に於てもほぼ等しく、従つて時間的にいささか問題は残るが、海猿脾臓の抽出液を Pyridin-haematin や血色素に作用させても、抽出液単独の場合と殆んど異なるところがなく、その胆汁色素生成能は先ずないと言つてよいようである。

海猿脾臓及び肝臓抽出液の 10 cc 宛の混合液に、肝臓抽出液と生理的食塩水各 10 cc 混合のものを対照にして、Pyridin-haematin 溶液 5 cc を加えて pH 8 で 38°C の孵卵器内に静置し、経時的な反応液について Engel 法で Ether 抽出を行い、655 m $\mu$  の吸光係数を求めると、4 から 24 時間目の間に於て、対照では 4 時間値が最も高いのに混合液では 10 時間目で、その値も対照に於てやや大であつた(第4図)。

この際反応液の肉眼的変化は混合液に於て、当初赤色調のものが 30 分目頃より漸次暗色調を帯びた赤橙色に変わり、1 時間目頃よりは次第に綠色調を呈して来て、それと共に赤色調は黄橙色に變つた。そしてこの綠色調は 4 時間目頃に至つて始めて明瞭となり、更に増強して 10 乃至 12 時間目頃に最高に達し、対照が 4 時間目を最高にするのと比較すると、反応は著しく遅延して見えた。次いで綠色調は黄橙色の色調と共に褪色して行つて、24 時間目を経て 36 時間目頃には全くその色調を失ひ、中途よりの混濁の出現と相俟つて雲絮状黄白色の液と化した。

以上により海猿脾臓の抽出液は、肝臓抽出液による Pyridin-haematin からの Pyridin-verdohaemichromogen 生成に、生理的食塩水に比較して抑制的な影響を及ぼすが、これは生理的食塩水に比して脾臓抽出液が、膠質状の性質を帯びる為であろう。

Pyridin-haematin に海猿の脾臓及び肝臓の抽出液を共に作用させるに當つて、先ず脾臓抽出液の 10 cc を Pyridin-haematin 溶液 5 cc に加えて pH 8 で 38°C に孵卵器内に静置し、種々の時間を経たものに更に肝臓抽出液の 10 cc を加え、添加後の経時的な反応液について Engel 法で Ether 抽出

を行い、655 m $\mu$  の吸光係数を求めその消長を検討した。先ず海猿脾臓の抽出液を肝臓抽出液の 2 時間前に作用させたものでは、最高値到達は両者を同時に作用させた場合に等しくて 10 時間目であつたが、その値はかなり低く、これが 6, 12, 18 及び 24 時間前になると、最高値到達は 8, 4, 3 及び 2 時間目と短縮し、最高値も漸次増加して、18 時間前以後では肝臓抽出液と生理的食塩水等量混合に較べて、最高値はほぼ等しくそれへの到達時間はむしろ短縮した(第4図)。

この際反応液の肉眼的変化は 2, 6 及び 12 時間前のものでは、綠色調が明瞭になるのは 2 乃至 3 時間目で、最も強くなるのは夫々 9 乃至 11 時間目、8 乃至 10 時間目及び 4 乃至 6 時間目で、更に 18 及び 24 時間前のものになると、綠色調は既に 30 分乃至 1 時間目に明瞭に認められ、最も強くなるのは夫々 3 乃至 4 時間目と 2 乃至 3 時間目とであつた。ところで肝臓抽出液と生理的食塩水等量混合液の場合を対照とすると、綠色調の強さは 18 時間前のもののみが対照と殆んど等しく、その前後のものでは低下しており、その最強時の色調も亦対照では他を混えぬ明るい綠色であるに反し、予め海猿脾臓の抽出液を加えたものでは常に橙黄色の混在が認められ、その度合は 2, 6, 12, 24 及び 18 時間前の順に減少した。尚対照を除き最終反応時間まで綠色調は消失しなかつた。

以上により脾臓抽出液はこれを先行せしめると、先行時間が短い間はその後には於ける肝臓抽出液による Pyridin-haematin からの Pyridin-verdohaemichromogen 生成を、両抽出液の等量混合液の場合よりも抑制するが、先行時間が延長するに連れて Pyridin-verdohaemichromogen の生成は、その量に於てもまた速度に於ても促進され、遂には肝臓抽出液と生理的食塩水等量混合液の場合と、最高値で等しく速度に於てこれを凌加し、脾臓抽出液により肝臓抽出液による Pyridin-haematin からの Pyridin-verdohaemichromogen 生成が促進されたが、これは Pyridin と脾臓抽出液中の蛋白とが、担体としての位置を競合する為であろう。

血色素溶液 5 cc に肝臓の抽出液各 10 cc の混合液を加え、肝臓抽出液と生理的食塩水各 10 cc 混合の場合を対照にして pH 8 で 38°C に孵卵器内に静置し、2 乃至 30 時間目に亘る時間毎の反応液について、Engel 法により先ず Ether 次いで水洗後これよりの 0.5% 塩酸への抽出を行、675 m $\mu$  の吸光係数の経時的消長を求めると、対照に比して反応が著し

く促進され、最高値到達時間は対照の16時間目に比し10時間目で、その値も幾分増加の傾向にあつた(第5図)。

この際反応液の肉眼的変化は、反応開始よりの間もなく赤色の反応液が徐々に黒色調を帯びるようになり、2時間目には黒褐色を呈してかなり長く続いたが、20時間目頃よりは次第に褪色して行つて、遂には白濁した茶褐色のものとなつた。これらの経過は対照に比し少しばかり早いようであつたが、黒色調の強さは大体に等しかつた。

以上により海狸肝臓の抽出液に等量の生理的食塩水を加えた時よりも、等量の脾臓抽出を加えた場合の方が、血色素よりの Globin-verdohaemichromogen の生成は時間的にも量的にも促進されるが、血色素と海狸脾臓の抽出液との24時間の培養実験の結果からすれば、脾臓の抽出液による血色素よりの Globin-verdohaemichromogen 生成は一応否定されるから、脾臓の抽出液に豊富な基質や助酵素のない限り、脾臓の抽出液は血色素分子に何らかの影響を与え、肝臓抽出液による Globin-verdohaemichromogen への分解を促進するよう見える。血色素分子への影響は、血色素 Globin に対する可逆的程度の変性作用に依るものであろう。

血色素に海狸の脾臓及び肝臓の抽出液を共に作用せしめるに当り、先ず脾臓抽出液の10ccを血色素の5ccに加えてpH8で38°Cの孵卵器内に静置し、種々の時間を経たものに更に肝臓抽出液の10ccを加え、添加後の経時的な反応液について Engel 法による Ether 次いで水洗後これより0.5%塩酸抽出を行い、675 m $\mu$  の吸光係数を求めてその消長を検討した。先ず海狸脾臓抽出液を肝臓抽出液の12時間前に作用させたものでは、両者の混合液を作用させた場合の最高値到達時間の10時間目に比し12時間目で少々遅れ、その値も幾分低目であつたが、肝臓抽出液と生理的食塩水の等量混合の場合の16時間目よりは速かつた。脾臓抽出液の先行作用時間を16, 20, 24及び30時間前と延長するに連れて、最高値到達時間は10, 8及び6時間目と漸次短縮したが、最高値も漸次上昇して24時間前で同時作用の場合を凌いだ(第5図)。

この際反応液の肉眼的な変化は脾臓と肝臓抽出液等量を同時に作用せしめた場合と略々等しく、ただ黒色調の出現並びに長時間後の褪色が、やや促進されたかに見えた。

以上血色素に海狸脾臓及び肝臓の抽出液を作用さ

せて Globin-verdohaemichromogen を調製するに当り、海狸脾臓の抽出液を先行せしめると、両抽出液等量混合液の場合に比し、先行時間が比較的短い間は幾分反応抑制の傾向にあつたが、先行時間が永くなるに連れてその後には於ける肝臓抽出液による Globin-verdohaemichromogen 生成は、時間的に著しく促進され最高値にも一過性の凌加が認められ、その原因として従来の業績から考え得られることは、血色素 Globin の態度である。即ち血色素に於て担体 Globin が強く変性すれば、勿論 Globin-verdohaemichromogen への分解は起らないが、他方全く健全で酸素と可逆的に結合し得るような状態にあるよりも、幾分の変性で酸素との結合が非可逆的な状態にあると思われる場合の方が、Globin-verdohaemichromogen への分解が促進される事実がある。このことから、海狸脾臓の抽出液を加えてpH8で38°Cに永く静置することは、恐らく血色素の或程度の変性をひき起さずには済ままいし、それによつて分解が促進されることも推測に難くない。ただこの際反応液をpH8に永く置くことと、海狸脾臓の抽出液を加えることの何れが有利に作用するかについては、更に検討を必要とする問題である。

Globin-verdohaemichromogen 生成に対する血色素と海狸脾臓、及び肝臓抽出液の相互関係を更に精しく知らんが為に、血色素溶液若くはこれと等量の生理的食塩水に海狸脾臓の抽出液を加えたもの、及び血色素溶液に脾臓抽出液と等しいだけの生理的食塩水を加えたものを、pH8で38°Cに24時間静置し、次いでこれ等に海狸肝臓抽出液の等量を加えて反応を持続せしめ、経時的に Engel 法により反応液の Ether 抽出液を水洗して630 m $\mu$  の吸光係数を求めると、その消長は生理的食塩水と脾臓抽出液及び肝臓抽出液の混合では終始痕跡的であるに反し、血色素溶液と肝臓抽出液及び生理的食塩水の混合では最高値はその13倍強、血色素溶液と脾臓及び肝臓の抽出液の混合では20倍となつて、その最高値到達時間も前二者に比して著しく短縮した(第1表)。従つて海狸脾臓の抽出液中には血色素に作用して、海狸肝臓の抽出液による血色素よりの Globin-verdohaemichromogen 生成を促進するものがあることが、更に明らかになつたと言える。

## 実 験 の 部

### 1. 実験材料

1.1. 肝臓の生理的食塩水抽出液（以下抽出液と略）の調製法.

第1編に述べた方法で20g%になるように調製した.

1.2. 脾臓抽出液の調製法.

健康な海猿の頸動脈より脱血して死に至らしめ、直ちに開腹して脾静脈を切離し、脾動脈より生理的食塩水を注入して可及的乏血させ、同様の処置を施したものの数個を集めて Warburg と Krebs の方法で切片を作り、次いで Fishmann と Le Veen の方法に従って再度生理的食塩水で洗滌し、後 Homogenizer で磨砕しつつ20g%になるよう生理的食塩水を加え、十分に振盪して一昼夜氷室に貯えた。その後これを3000回転20分間遠心して上清を得、これを脾臓の抽出液とした。

1.3. Pyridin-haematin 溶液の調製法.

第1編に述べた方法で10mg%になるように調製した。

1.4. 血色素溶液の調製法.

第1編に述べた方法で10g%になるように調製した。

### 2. 実験方法

2.1. 反応液からの Biliverdin の抽出法.

第1編に述べた Engel の方法に従った。

2.2. Bilirubinoid に対する定性反応.

第1編に述べた通りのものを行った。

2.3. 吸光曲線の描写法.

第1編に述べた通りを行った。

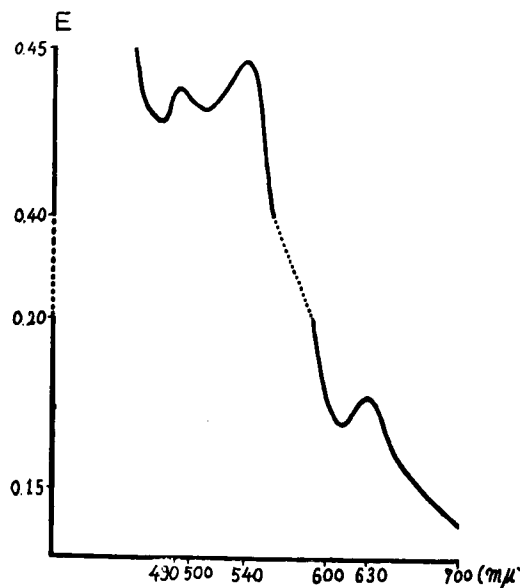
2.4. 反応液の調製並びに実験手技. 100 ccc 容り三角 Kolben に Pyridin-haematin 若くは血色素溶液を入れ、これに肝臓乃至脾臓の抽出液或は両者の混合液を加え、Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液の5ccでpH8となし、これ等数個を孵卵器内に静置して、経時的に色調の変化を肉眼的に観察すると共に、胆汁色素並びにその誘導体に対する定性試験を行い、更に反応液の Engel 法による Ether 次いでこれよりの塩酸抽出液について、夫々吸光係数を求めまた吸光曲線を描いた。尚実験操作は全て可及的無菌的に行い、蒸発による反応液量の減少は補正の上算定した。

3. 海猿脾臓の抽出液からの Globin-verdohaemichromogen 生成に関する実験.

海猿脾臓の抽出液 10 cc に Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc 及び生理的食塩水 5 cc を加え、38°C に孵卵器内に静置して経時的に反応液の肉眼的な観察を行い、24時間目の反応液について Engel 法により Ether で抽出、水洗後吸光曲線を求め（第1図）更に Gmelin 反応を行った。

Fig. 1 The absorption curve of the extracted-solution with ether by the Engel's method on the formation of globin-verdohaemichromogen from the guinea pig spleen extract-solution

20g% guinea pig spleen extract-solution  
10cc pH 8, temperature 38°C, installation  
for 24 hours



4. Pyridin-haematin と海猿脾臓の抽出液よりの Pyridin-verdohaemichromogen 生成に関する実験.

Pyridin-haematin 溶液 5 cc に海猿脾臓の抽出液 10 cc と、Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加え、pH 8 で 38°C に孵卵器内に静置して経時的に反応液の肉眼的な変化を観察し、それと共に18時間目の反応液について、Engel 法で Ether 抽出を行って可視部の吸光曲線を求め（第2図）更に Gmelin 反応をみた。

5. 血色素と海猿脾臓の抽出液よりの Globin-verdohaemichromogen 生成に関する実験.

血色素溶液 5 cc に海猿脾臓の抽出液 10 cc と、Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加え、38°C に孵卵器内に静置して経時的に反応液の肉眼的な変化を観察し、それと共に24時間目の反応液について

Fig. 2 The absorption curve of the extracted-solution with ether by the Engel's method on the formation of pyridin-verdohaemichromogen from the guinea pig spleen extract-solution and pyridin-haematin

20 g% guinea pig spleen extract-solution  
10 cc 10 mg% pyridin-haematin solution 5 cc  
pH 8, temperature 38°C, installation for 18 hours

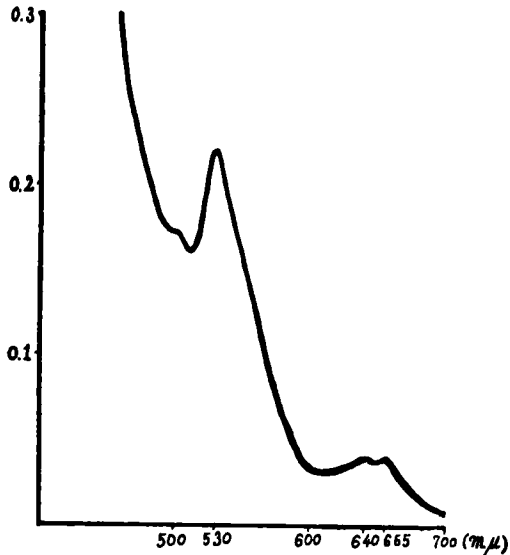
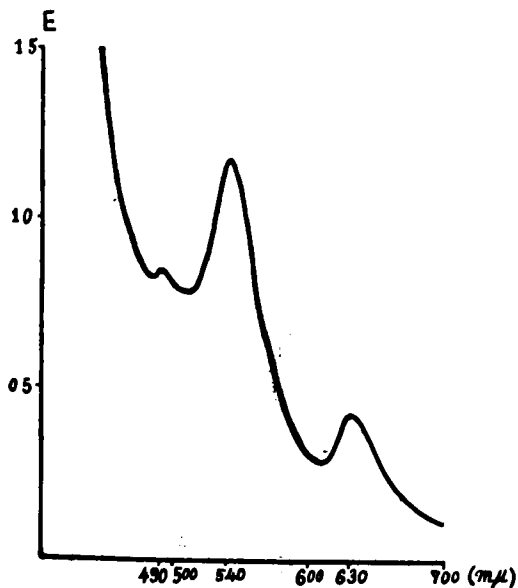


Fig. 3 The absorption curve of the extracted solution with ether by the Engel's method on the formation of globin-verdohaemichromogen from the guinea pig spleen extract-solution and haemoglobin

20 g% guinea pig spleen extract-solution  
10 cc 10 g% neat haemoglobin solution 5 cc  
pH 8, temperature 38°C, installation for 24 hours



Engel 法で Ether 抽出を行い、水洗後可視部の吸光曲線を求め (第3図) 更に Gmelin 反応をみた。

6. Pyridin-haematin と海猿肝臓及び脾臓の抽出混合液よりの Pyridin-verdohaemichromogen 生成に関する実験。

6.1. 海猿肝臓及び脾臓の抽出液の等量混合液を用いた場合。

Pyridin-haematin 溶液 5 cc に海猿の肝臓及び脾臓の抽出液各 10 cc と、Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加え、38°C に孵卵器内に静置して経時的に反応液の肉眼的な変化を観察し、それと共に

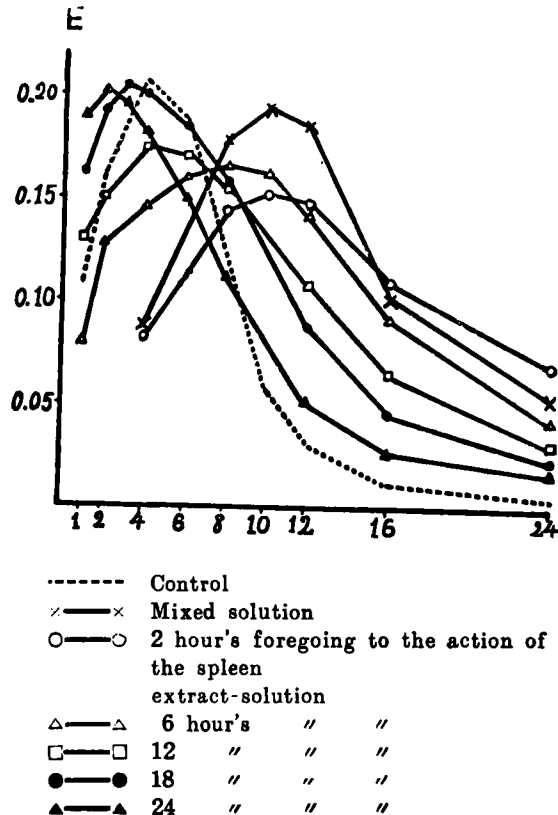
Fig. 4 The vicissitude of the extinction coefficient at 655 mμ of the extracted solution with ether by the Engel's method on the formation of pyridin-verdohaemichromogen from the guinea pig liver and spleen extract-solution and pyridin-haematin

Control

20 g% guinea pig liver extract-solution  
10 cc physiologic saline 10 cc 10 mg% pyridin-haematin solution 5 cc pH 8, installation at 38°C

Mixed solution

20 g% guinea pig spleen extract-solution  
10 cc 20 g% guinea pig liver extract-solution  
10 cc 10 mg% pyridin-haematin solution 5 cc



4, 8, 10, 12, 16及び24時間目の反応液について Engel 法で Ether 抽出を行い, 655 m $\mu$  の吸光係数の消長を求めた (第4図). 尚対照には海狸肝臓の抽出液 10 cc と生理的食塩水 10 cc との混合液を用いた.

6.2. 海狸肝臓の抽出液を種々の時間後に加えた場合.

Pyridin-haematin 溶液 5 cc に先ず海狸脾臓の抽出液 10 cc と, Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを 38°C に孵卵器内に静置, 2 時間後更に海狸肝臓の抽出液 10 cc を添加し, 経時的に反応液の肉眼的な変化を観察すると共に, 海狸肝臓の抽出液の添加から 4, 8, 10, 12 及び 24 時間目の反応液について Engel 法で Ether 抽出を行い, 655 m $\mu$  の吸光係数を求めた. 次いで海狸肝臓の抽出液の添加を 6, 12, 18 及び 24 時間後に行い, 添加から 1 乃至 24 時間目に亘る反応液の Ether 抽出液について, 655 m $\mu$  の吸光係数を求めその消長を検討した (第4図).

7. 血色素と海狸肝臓及び脾臓の抽出混合液よりの Globin-verdohaemichromogen 生成に関する実験.

7.1. 海狸肝臓及び脾臓の抽出液の等量混合液を用いた場合.

血色素溶液 5 cc に海狸の肝臓及び脾臓の抽出液各 10 cc と, Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加え, 38°C に孵器内に静置して経時的に反応液の肉眼的な変化を観察し, それと共に 2, 4, 8, 10, 12, 16, 24 及び 30 時間目の反応液について Engel 法で先ず Ether 抽出を行い, 水洗後これから再び 0.5% の塩酸に抽出して, 675 m $\mu$  の吸光係数を求めた (第5図). 尚対照には海狸肝臓の抽出液 10 cc 生理的食塩水 10 cc との混合液を用いた.

7.2. 海狸肝臓の抽出液を種々の時間後に加えた場合.

血色素溶液 5 cc に先ず海狸脾臓の抽出液 10 cc と, Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加えて 38°C に孵卵器内に静置, その後 12, 16, 20, 24 及び 30 時間して海狸肝臓の抽出液 10 cc を添加し, 経時的に反応液の肉眼的な変化を観察すると共に, 海狸肝臓の抽出液の添加から 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 24 及び 30 時間目の反応液につき, Engel 法で先ず Ether 抽出を行い, 水洗後これから 0.5% の塩酸に抽出して, 675 m $\mu$  の吸光係数を求めた (第5図).

8. 血色素と海狸肝臓及び脾臓の抽出液相互よりの Globin-verdohaemichromogen 生成に関する実験.

血色素溶液 5 cc に海狸脾臓の抽出液 10 cc と Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加えたもの,

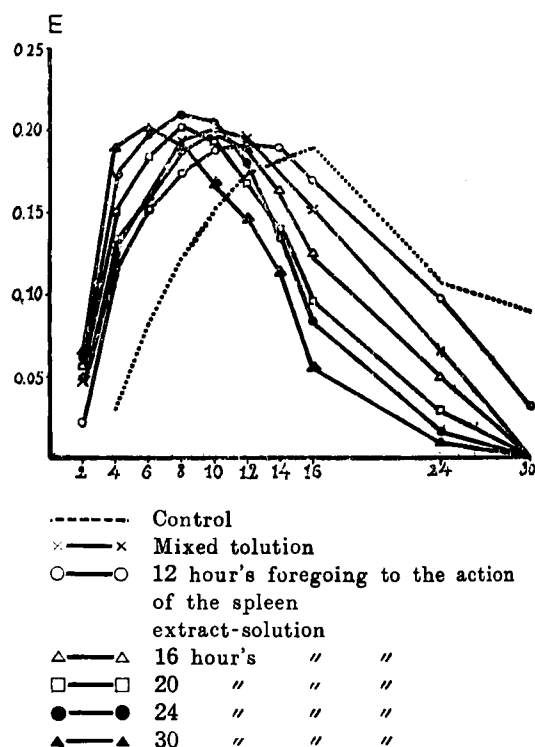
Fig. 5 The vicissitude of the extinction coefficient at 675 m $\mu$  of the extracted solution with HCl by the Engel's method on the formation of globin-verdohaemichromogen from the guinea pig spleen and liver extract-solution and haemoglobin

Control

20 g% guinea pig liver extract-solution  
10 cc physiologic saline 10 cc 10 g% neat haemoglobin solution 5 cc pH 8, installation at 38°C.

Mixed solution

20 g% guinea pig spleen extract-solution  
10 cc 20 g% guinea pig liver extract-solution  
10 cc 10 g% neat haemoglobin solution  
5 cc pH 8, installation at 38°C



血色素溶液 5 cc に生理的食塩水 10 cc と Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加えたもの, 及び生理的食塩水 5 cc に海狸脾臓の抽出液 10 cc と Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液 5 cc とを加えたもの等を, それぞれ 24 時間 pH 8 で 38°C 孵卵器内に静置し, 次いでこれ等各々に海狸肝臓の抽出液 10 cc を加えて反応を持続せしめ, その後 4, 8, 12 及び 16 時間目の反応液について Engel 法で Ether 抽出を行い, 水洗後 630 m $\mu$  に於ける吸光係数を求め, その消長を比較検討した (第1表).

Table 1 The formation of globin-verdohaemichromogen with the mutual action of the guinea pig spleen and liver extract-solutions and haemoglobin

Reagent 1	Reagent 2	Reagent 3
20g% guinea pig spleen extract-solution 10cc	physiologic saline 10cc	20g% guinea pig spleen extract-solution 10cc
10g% neat haemoglobin solution 5cc	10g% neat haemoglobin solution pH 8, temperature 38°C, installation for 24 hours	physiologic saline 5cc
pH 8, temperature 38°C, installation for 24 hours	+	+
+	20g% guinea pig liver extract-solution 10cc	20g% guinea pig liver extract-solution 10cc
20g% guinea pig liver extract-solution 10cc	pH 8, installation at 38°C	pH 8, installation at 38°C
pH 8, installation at 38°C		

Reagent	Reactions time (hour)	4	8	12	16
1		0.648*	0.932	0.786	0.425
2		0.462	0.517	0.558	0.584
3		0.034	0.041	0.046	0.044

\* The number shows the extinct coefficient of 630m $\mu$  of the extracted solution with ether by the Engel's method

結 論

Pyridin-haematin もしくは血色素に海猿肝臓の生理的食塩水抽出液（以下抽出液と略）を加え、Soerensen M/15 磷酸塩緩衝液で pH 8 にして 38°C に静置し、Pyridin-verdohaemichromogen 或は Globin-verdohaemichromogen が生成される過程に於て、海猿脾臓抽出液の影響を見以下の所見を得た。

1. 脾臓の抽出液からも24時間後には、分光化学的に痕跡の Globin-verdohaemichromogen が証明されたが、これに Pyridin-haematin 溶液もしくは血色素溶液を加えても、特に Pyridin-verdohaemichromogen 乃至は Globin-verdohaemichromogen が増加するとは思われなかつた。

2. Pyridin-haematin からの Pyridin-verdohaemichromogen 生成は、脾臓と肝臓の両抽出液の等量混合液を以てするよりも、肝臓抽出液と生理的食塩水等量混合液の方が遙かに有利であつた。

3. Pyridin-haematin からの Pyridin-verdohaemichromogen 調製に際して脾臓抽出液を先行せしめると、その後の肝臓抽出液による Globin-verdohaemichromogen 生成は、最初両抽出液の等量混合液の場合よりも劣つたが、先行時間の延長と共に肝臓抽出液と生理的食塩水等量混合液の場合よりも更に時間的に促進され、最高値も等しくなつた。

4. 血色素からの Globin-verdohaemichromogen 生成は、肝臓抽出液と生理的食塩水の等量混合液を以てするよりも、肝臓と脾臓抽出液の等量混合液の

方が遙かに有利で、この点 Pyridin-haematin の場合と反対であつた。

5. 血色素からの Globin-verdohaemichromogen 調製に際して脾臓抽出液を先行せしめると、その後の肝臓抽出液による Globin-verdohaemichromogen の生成は、最初両抽出液の等量混合液の場合に少々劣つたが、先行時間が延長するにつれて著しく促進され、時間的には勿論一時的ながら量的にもこれを凌加した。

6. 脾臓の抽出液に血色素溶液もしくはこれと等量の生理的食塩水を加えるか、又は脾臓の抽出液と等量の生理的食塩水に血色素溶液を加えて、24時間後これ等に肝臓抽出液の同一量を作用せしめると、その後に於ける Globin-verdohaemichromogen の生成は、脾臓と肝臓の抽出液及び生理的食塩水の混合では痕跡的であり、肝臓の抽出液と血色素溶液及び生理的食塩水混合ではこれに13倍し、脾臓と肝臓抽出液及び血色素溶液の混合では20倍となつて、その最高収量到達時間も後者になる程著しく短縮した。

7. 海猿脾臓の抽出液は、これを予め Pyridin-haematin もしくは血色素に長時間作用させると、その後の海猿肝臓の抽出液による Pyridin-verdohaemichromogen 乃至 Globin-verdohaemichromogen の生成は促進され、その影響は血色素に対して大であつた。

**Studies on the Analysis of Hem-Albumin in Vivo**  
**Part II Studies on the influences of the spleen extract with**  
**physiologic saline to the formation pyridin-verdohaemi**  
**chromogen and globinverdohaemichromogen by**  
**the liver extract with physiologic saline**

By

Junichiro MIKAMI M. D.

The 1st. Department of Internal Medicine, Okayama University, Medical School  
 (Chief: Prof. Dr. K. Kosaka)  
 (Director: Prof. Dr. K. Yamaoka)

**Conclusions**

The influences of the extracted solution of the guinea pig spleen were observed on the process of pyridin-verdohaemichromogen or globin-verdohaemichromogen formation, after the extracted solution of the guinea pig liver with physiologic saline (abbr. the extracted solution) was added to pyridin-haematin or haemoglobin and adjusted to the pH 8 with soerensen M/15 phosphate buffer solution and then installed at 33°C.

The results were as follows.

1. Trace of globin-verdohaemichromogen was spectrophotometrically proved from the extracted solution of spleen after 24 hours, but the increasion of pyridinverdohaemichromogen or globin-verdohaemichromogen was not observed on the addition of pyridin-haematin solution of haemoglobin solution into it.
2. The formatin of pyridin-verdohaemichromogen from pyridin-haematin was more effective on the use of the mixed solution of the liver extract and physiologic saline in same dosis than it was on the use of the mixed solution of the spleen and liver reextracts.
3. As the extracted solution of spleen was used first on the preparation of pyridin-verdohaemichromohen from pyridin-haematin, the globin-verdohaemichromogen formation with the extracted solution of liver was inferior to the use of the above reextracted mixture, but it was more promoted hourly on this occasion than on the use of the mixed solution of the foregoing hours, and the maximum value was also same.
4. The formation of globin-verdohaemichromogen from haemoglobin was more effective on the use of the mixed solution of the liver extract and physiologic saline in same dosis. This was opposite to the occasion of pyridin-haematin.
5. As the extracted solution of spleen was used first on the preparation of globin-verdohaemichromogen from haemoglobin, the globin-verdohaemichromogen formation with the extracted solution of liver was rather inferior to the use of the mixed solution of the above reextracted solution in same dosis at first, but it was remarkably promoted with prolongation of the foregoing hours and was exceeded hourly and also temporarilly in dosis.
6. Adding haemoglobin solution or physiologic saline into the extracted solution of spleen in same dosis or adding haemoglobin solution into the same dosis of physiologic saline solution with the dosis of spleen extract and being acted with the same dosis of liver extract to the above solutions after 24 hours, the formation of globin-verdohaemichromogen was trace on the use of the mixture of the extracted solution of liver and spleen and physiologic saline, was 13 times as much as the above on the use of the mixture of the liver extract, haemoglobin solution and physiologic saline, and was 20 times as much as the first on the use of the mixture of the extracted solution of spleen and liver and haemoglobin solution, and the times



obtaining of the maximum dosis were remakably shortened in the above examined order.

7. The formation of pyridin-verdohaemichromogen and globin-verdohaemichromogen with the extracted solution of the guinea pig liver, as the extracted solution of guinea pig spleen was previously acted by pyridin-haematin or haemoglobin for a long time was promoted and it's influence was great to haemoglobin.

---