

温泉医学領域に於ける濾紙分析法の研究

(Ⅲ). 温泉入浴と血清蛋白分層の変動 (付, リポ蛋白).

岡山大学温泉研究所 (指導: 森永 寛 教授)

石 橋 丸 応

目 次

I. 血清蛋白分層並びにリポ蛋白分層の測定法について	ポ蛋白)
(1). 緒 言	(a). 健常成人の血清蛋白分層とリポ蛋白分層
(2). 濾紙電気泳動法に於ける基礎的条件の検討	(b). 健常家兎の血清蛋白分層
(a). 実験装置及び材料	(c). 関節リウマチ患者の血清蛋白分層
1. 緩衝液	(d). 小 括
2. 染色法	(3). 温泉入浴の血清蛋白分層に及ぼす影響 (付, リポ蛋白)
3. 濾紙	1. 実験材料と実験方法
4. 血清	(a). 単回浴の場合
(b). 実験方法	(b). 連続浴の場合
1. 濾紙	2. 実験成績
2. 緩衝液槽並びに電極槽	(a). 単回浴
3. 電極	(b). 連続浴
4. 試料のつけ方	3. 小 括
5. 泳動条件	(4). 実験的動脈粥状硬化症家兎の血清蛋白分層に及ぼす三朝温泉入浴の影響
6. 泳動後の濾紙の乾燥	1. 実験材料と実験方法
7. 染色及び脱色法	(a). 血清蛋白分層について
8. 定量法	1. 「コ」1回投与の場合
(c). 実験成績	2. 「コ」連日投与の場合
(3). 考 察	3. 「コ」連日投与と温泉入浴を行った場合
(4). 結 論	(b). 血清リポ蛋白分層について
Ⅱ. 温泉入浴と血清蛋白分層並びにリポ蛋白分層の変動について	1. 「コ」連日投与の場合
(1). 緒 言	2. 「コ」連日投与と温泉入浴を行った場合
(2). 健常人, 健常家兎, 関節リウマチ患者の血清蛋白分層について (付, リ	

2. 実験成績

(a). 血清蛋白分層について

1. 「コ」1回投与の場合
2. 「コ」連日投与の場合
3. 「コ」連日投与と入浴の場合

(b). 血清リポ蛋白分層について

3. 小 括

- (5). 結 論
- 主 要 文 献

I. 血清蛋白分層の測定法について (付, リポ蛋白).

(1). 緒 言

古来, 知られている血漿蛋白の分画法には塩析法, エタノール分画法, 超遠心法, 免疫学的分画法, 電気泳動法などがある。

硫酸ナトリウム, 硫酸アンモニウム等の中性塩類溶液中における血漿蛋白の溶解度の差を応用した塩析法は, しばしば臨床的に利用されて来たが, 温度, pH等の影響を受けやすく, 又, 各蛋白分層の溶解度の差があまりない場合には分析が困難で再現性が劣るのが欠点であろう。

又, エタノール分画法はエタノールの濃度, pH, イオン強度, 温度等によって血漿蛋白の分画を行う方法で多くの分層に分画出来, 多量の試料の分画には極めて有効な方法であるが, 簡単に臨床的応用の出来ないというらみがある。

其の他, ビウレット反応を利用する方法, 超遠心法, 免疫学的分画法も一長一短があり未だ一般的使用にまでは至っていない。

1937年, Tiselius¹⁾ が従来の装置を改良し巧妙な光学系により, コロイド溶液の各成分の分離定量を行いうるような電気泳動装置を考案して以来, この電気泳動法は蛋白化学の研究には医学, 化学方面で不可欠の測定法となった。

又, 一方 1861年 Friedrich Schonbein²⁾

が考案した毛管分析法に端を発した Paper chromatography は1944年, Consden, Gordon, Martin³⁾ の三氏によって創案され数年を経ずして微量分析法として医学, 薬学, 化学方面に応用され発達して来た。

1948年 Wieland³⁾ は amino acid を, また Tiselius (1950)³⁾ は電気泳動装置を用いて発見した蛋白分層の γ -globulin を濾紙に直流を通じて行う電気泳動法で分離し, Paper chromatography では得られない分離能率を示すことを報告して以来この濾紙電気泳動法は各方面の研究に応用されて来た。

現在では, Paper chromatography と共に濾紙電気泳動法は特殊な実験法というよりも, むしろ最も普通の方法の一つに数えられ, 各種実験に応用されつゝある。特に血清蛋白分層に関しての報告は数多く^{12), 13), 14), 15), 16), 17), 18)} 又, リポ蛋白^{4), 5), 6), 7)}, 多糖類⁷⁾ についての研究も多い。他方, 薬学方面ではアルカロイド^{8), 9)}, 糖類¹⁰⁾, ストレプトマイシン¹¹⁾ 等の分離についても報告されている。

本法の利点は装置が比較的簡単で試料が少なくていい事, 同時に数検体の実験が出来る事等であり臨床的検査には極めて便利な実験法で従来の Tiselius 法に代る方法として用い

られている。しかし血清蛋白の濾紙電気泳動法は染色によって夫々の分画の色素結合能より各分画の百分比を求めるので、染色の色素とか、染色のしかたとか、其の他 緩衝液、濾紙、泳動条件、泳動後の濾紙の乾燥等の種々の条件によってその成績が異って来る。

そこで著者は濾紙電気泳動法の基礎的条件の検討を行った。

(2). 濾紙電気泳動法に於ける基礎的条件の検討

(a). 実験装置及び材料

1. 緩衝液

緩衝液はいろいろなものを使用されているが著者は最もよく使用される次の二種類の緩衝液を用いた。

A. Veronal-Na 10.3g.

Veronal 18.4g.

蒸留水を加え溶解し1000ml. とする。

(pH 8.6 $\mu=0.05$)

B. m/20 Na_2HPO_4 16容

m/20 KH_2PO_4 1容

(pH 8.0)

比較実験には両者を使用した。一般的実験には Veronal 緩衝液を使用した。

2. 染色液

血清蛋白の染色には次の2種を使用した。

A. Bromophenol blue (B.P.B.) 0.5g.

昇 汞 10.0g.

氷 酢 酸 20.0ml.

蒸留水を加えて1000ml. とする。

B. Amidoschwarz 10B 2.0g.

メチルアルコール 900.0 ml.

氷 酢 酸 100.0 ml.

リボ蛋白の染色には Sudan black B を

使用し次の作り方によった。即ち、Sudan black B 0.1g. を 60% エチルアルコール 100 ml. に沸騰させて飽和にとかし、冷却後濾紙にて濾過し、濾液を更に60%エチルアルコールを加えて200ml. とした。

Sudan black B は60%エチルアルコールになかなか溶解し難いので、冷却器を附け水浴上で30分沸騰させた。

3. 濾 紙

主として東洋濾紙No. 51 (26cm×12.5cm) を使用した。比較検討のためには Schleicher & Schüll No. 2043a を使用した。

4. 血 清

健常人及び患者から原則として早朝空腹時に肘静脈から採血し放置して自然分離した血清を使用した。尚血清蛋白試料は出来るだけ早く実験に供するやうにした。やむを得ぬ場合は3~5°C. の氷室内に放置したが7日以上経過したものはない。

Fig. 1

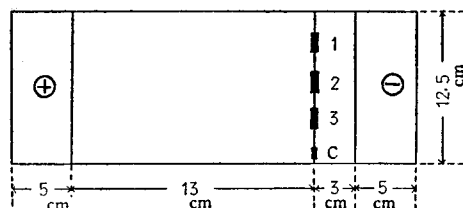
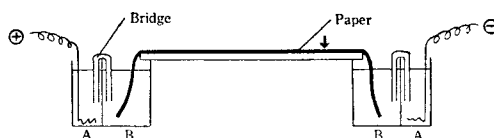


Fig. 2 Apparatus



(b). 実験方法

小林¹⁹⁾の方法に従ったが改良した点もあるので以下述べる。

1. 濾 紙

東洋濾紙 No. 51 (26cm×12.5cm.) の濾紙を使用し、すりきずがない事を確め、⊖極より8cmの所に線を引き1.5cmの幅に試料をつける。即ち3~4ヶの検体が泳動出来る。対照として血清に B. P. B. を加え青色に発色させたものを他にもう1ヶつけ泳動の速度の目安とした (Fig. 1 の C)。この青色の Spot は Albumin の位置を現わし、過剰の B. P. B. は紫色で Albumin より早く動くので判定出来る。

2. 緩衝液槽並びに電極槽

実験装置には硝子板法、懸垂法があるが、水平法である小林式濾紙電気泳動装置 (夏目製作所) を使用した。即ち Fig. 2 の如きもので A には 1% KCl 溶液 20~30ml. を入れ電極を挿入し B には緩衝液 70~100ml. を入れ A, B 間には硝子 U 字管で bridge にして連絡した。

U字管 bridge の作り方は次の通りにした。即ち 1% KCl 溶液に寒天を 3% の割合に加え加熱溶解後スポイドで気泡が出来ない様につめた。Fig. 2 の装置全体を泳動箱に入れ泳動した。

3. 電 極

電極は銀塩化銀電極を使用した。銀板から銀塩化銀電極を作るには、作ろうとする銀極を 5~10% KCl 溶液中に入れ⊕極とし⊖極には適当な銀線を使用して、10mA. 5時間通じると銀板の表面に黒褐色の塩化銀膜が出来る。以後実験の度毎に正負の極を反対にして使用した。

4. 試料のつけ方

マイクロメスピペット (夏目製作所) を用い血清蛋白濃度の如何にかかわらず蛋白分層測

定の場合 B. P. B. 染色では 0.01ml., Amido-schwarz 10B 染色では 0.005ml., リボ蛋白分層測定 の Sudan black B 染色では 0.02ml. 塗布した。又比較実験の場合には 0.005~0.02ml. を塗布した。0.005~0.01ml. 塗布するには、マイクロメスピペットの 0.02ml. の目盛まで血清を吸って 0.005~0.01ml. 塗布する方が流出がよく線状に塗布する事が出来る。又、0.02ml. 塗布する場合はピペットの 0.02ml. の目盛まで血清を吸い 0.01ml. 塗布し、更にもう一回 0.02ml. の目盛まで血清を吸い更に 0.01ml. 塗布した。即ち 0.01ml. 宛 2 回塗布した。試料のつけ方は泳動図がうまく出来るか否かに関係する。塗布後マイクロピペットは直に蒸留水で洗滌しておかないと毛細管がつまるおそれがある。

5. 泳動条件

東洋濾紙 No. 51 の 26 cm×12.5 cm の濾紙 1 枚について 8~9mA (200~350v) の定電流を使用した。この位の電流だと α_1 -gl. の分層が比較的良好に分離出来る。泳動時間は緩衝液の新しい間は 4~5 時間であった。緩衝液が古くなると Albumin の先端が 7~8cm になるやうに泳動するには 8 時間以上かかる場合がある。2~3 回で緩衝液を取換えねばならない場合もあるし、5~6 回使用出来る場合もあるが、3 回位の使用で取かえる方が無難であろう。

6. 泳動後の濾紙の乾燥

泳動終了後、室温にて自然乾燥すると泳動図がにじむ場合があるので直ちに保持枠につけたまま蛋白分層測定の場合は 100~110°C で 20 分間乾燥し、リボ蛋白分層測定の場合は 60~70°C で 20 分間乾燥した。

7. 染色及び脱色法

蛋白染色は B. P. B., Amidoschwarz 10B 染色共20分間染色した。リポ蛋白の Sudan black B 染色では2時間の染色を行った。比較実験の場合は血清蛋白, リポ蛋白5分間~2時間の染色を行った。

蛋白の場合の脱色には1%酢酸溶液に染色濾紙を入れ静かにゆり動かし洗滌した。

B. P. B. 染色法では蛋白以外の部分が完全に白く抜けてしまうまで, Amidoschwarz 10B 染色法では僅か青色を呈する程度まで何回も酢酸溶液をかえて洗滌した。

リポ蛋白の Sudan Black B 染色法では50%メタノールで数回洗滌脱色しブランクにわづか Black の色が残る程度にした。

8. 定量法

蛋白の場合各蛋白分層の Al , α_1 , α_2 , β , γ -gl. を Densitometer で吸光度を求め、泳動曲線の最低点から基線上に垂線を下し各峰の吸光度を夫々合計し、その各々の比率を計算した。

又、比較実験のため濾紙を2mm. 宛移動して吸光度を求め、Section paper にプロットし別の厚紙に泳動曲線を写し取り曲線の最低点から基線上に垂線を下し各峰を切取り、その各々の重量を測定して比率を計算した。

リポ蛋白の場合 α_1 , $\beta + \gamma$ -gl. の分層を Densitometer で吸光度を求め Section paper に吸光度をプロットし最低点から基線に向って垂線を下し α_1 , $\beta + \gamma$ -gl. 峰の吸光度を夫々合計し比率を計算した。 β , γ -gl. の峰は明らかに

区別出来ない場合もあったので $\beta + \gamma$ -gl. 峰とした。

(C). 実験成績

1. 緩衝液の比較

電気泳動に使用される緩衝液は数種類あるが代表的な Veronal, 燐酸緩衝液について比較した。

試料の分離は Veronal 緩衝液が幾分よく、又泳動時間も短かくてよかった。定量成績は Table 6 (63頁) に示した通り大差はなかった。以後の実験には Veronal 緩衝液を使用した。

2. 泳動濾紙の加熱時間と染色条件の検討

染色によって夫々の分画の色素結合能によって各分画の比率を求めるので、その染色の条件によって定量値が異なる。

血清蛋白の場合：著者は染色時間を一定

Table 1 Heating-time and reproducibility of serum protein fractions (Amidoschwarz 10 B, dyeing time : 20 min.)

Heating time	Al	α_1	α_2	β	γ
0min.	50.2%	4.3%	7.7%	14.8%	23.0%
5	52.3	4.1	9.4	14.0	20.2
10	50.0	4.1	8.0	14.2	23.7
20	51.6	4.0	7.5	14.0	22.9
30	50.5	4.2	7.6	14.0	23.7

Table 2 Reproducibility of serum protein fractions (B. P. B. dyeing time : 20 min.)

No	Al	α_1	α_2	β	γ
1	54.0%	3.2%	5.7%	12.0%	25.1%
2	52.6	3.5	6.0	12.2	25.7
3	52.9	3.5	6.2	12.3	25.1
4	55.4	3.4	6.0	11.5	23.7
5	53.0	3.0	6.3	12.1	25.6
6	52.3	3.4	6.6	12.8	24.9
Average	53.4	3.3	6.0	12.2	25.1
(99% Confidence limit)	± 1.8	± 0.3	± 0.5	± 0.7	± 1.1

(20分間染色)にして乾燥時間を5, 10, 20, 30分にしたところ Amidoschwarz 10B 染色では Table 1 の如く加熱時間をかえても各分層の%は殆んど変化を示さなかった。

B. P. B. 染色法では5~10分では陳¹⁴⁾の報告の如く Albumin の染色が完全に行かず白くはげて定量不能になる場合が多かった。しかも Albumin が流れてにじんで困る場合があった。然しB. P. B. 染色法は Table 2に示した如く乾燥, 染色共に常に20分間に一定にすれば再現性もよく, Amidoschwarz 10B よりきれいに染色出来る。

乾燥時間を20分とし染色時間を10, 20, 30分間にした成績は Table 3の如くAmidoschwarz 10B では各分層の%には大きな差はなかった。

Table 3 Dyeing time and reproducibility of serum protein fractions (Amidoschwarz 10 B, heating time : 20min.)

Dyeing time	Al	α_1	α_2	β	γ
10 min.	53.8%	4.1%	7.2%	10.6%	24.3%
20	52.4	4.0	7.5	10.5	25.6
30	53.7	3.8	7.8	10.4	24.3

B. P. B. 染色で10分間では不充分で20, 30分ではあまり差が認められなかった。

Table 2に示した如くB. P. B. 染色法は乾燥時間染色時間を共に20分間した場合は再現性もよく、ブランクに色素が残らず泳動図がきれいで一応満足出来た。

B. P. B. 染色と Amidoschwarz 10B 染色の比較:

著者は同一人血清を同時に2本泳動して1本は Amidoschwarz 10B で他の1本は B. P. B. で染色し比較した結果は Table 5の

如くであった。

Table 5 Comparison of percentages of serum protein fractions in cases of dyeing by Amidoschwarz 10 B and Bromophenol blue.

No.	Dyeing	Al	α_1	α_2	β	γ
1	A. S.	55.7%	5.3%	10.8%	9.1%	19.1%
	B. P. B.	50.4	5.4	10.8	9.0	24.3
2	A. S.	53.3	6.7	10.9	9.8	19.3
	B. P. B.	48.2	6.9	11.2	9.5	24.2
3	A. S.	57.3	4.4	6.0	10.8	21.5
	B. P. B.	53.7	4.6	5.5	11.1	25.0

即ち, Albumin ではB. P. B. に比し Amidoschwarz 10B が高値を示し, γ -gl. は逆に B. P. B. に比し Amidoschwarz 10B が低値を示した。故に両者を混同して実験したり, 又途中で染色法を変更したりすることの出来ない事はいうまでもない。

リボ蛋白の Sudan black B 染色では60~70°Cで乾燥し Fig. 3, 4, 5に示した如く1~2時間染色が最良だったので以後2時間染色した。Sudan black B はエチルアルコールを溶媒としているので染色用器にふたをして染色しないとだんだんアルコールが飛び Sudan black B が析出して沈澱し染色を悪くする。

用時 Sudan black Bのアルコール溶液を新調し, けっして古い染色液を使用してはならない。50%又はそれ以下のアルコールで脱色したが, あまり何回も洗うと折角染色したリボ蛋白の部分の色素も除かれ易いので注意を要する。

3. 定量法の比較

次の場合の定量について比較した。即ち, (1). Densitometer で染色濾紙を1mm宛移動し各吸光度を求め Section paper にプロ

Fig.3 Sudan black B (dyeing for 2 hours).

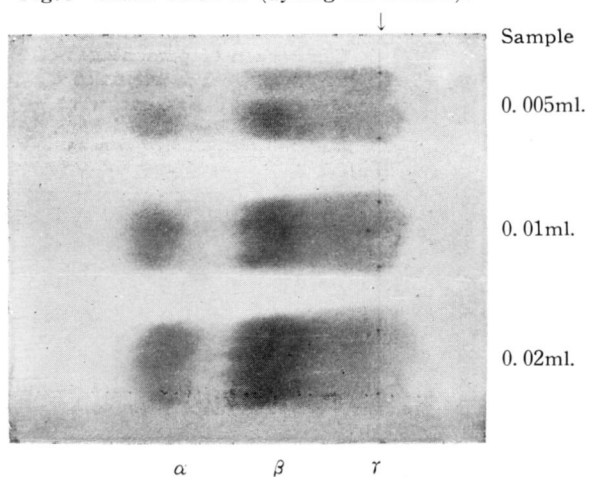


Fig.4 Sudan black B (dyeing for 1 hour).

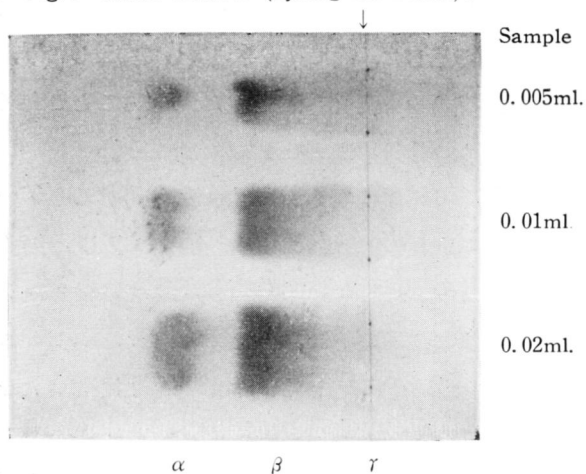
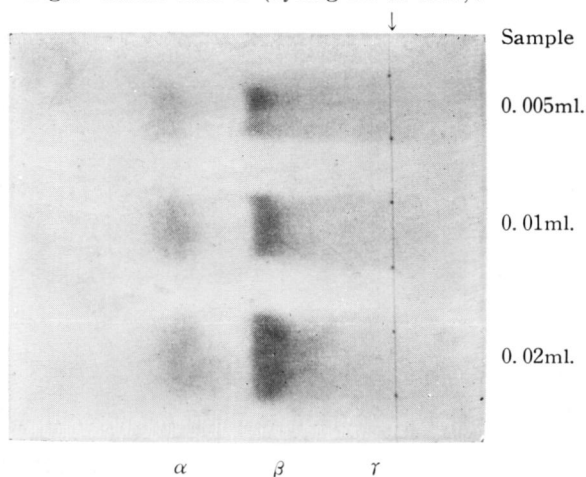


Fig.5 Sudan black B (dyeing for 30 min.).



ットし吸光度曲線を描き、各峰の最低点から基線に向って垂線を下し、各峰の吸光度の和を求め、各蛋白分層の比率を計算して求める方法。

(2). 濾紙を2mm 宛移動し、(1)の場合と同様に Section paper に吸光度曲線を描き、これを均一な少し厚目の紙に写し取り、更に各峰を切り取り、天秤にてその重さを測定し各蛋白分層の比率を計算する方法。

以上、2通りの方法を5例について比較した所 Table 7 の如き結果を得た。

(1)の場合に比し(2)の重量法は手数がはぶけその差も少く便利であると考え。勿論、急激な吸光度の変化のある峰は適宜 1mm 宛測定すれば誤差はわずかである。

4. 再現性

定量成績の再現性は、電流、電圧、泳動時間、温度、湿度、濾紙の歪、緩衝液等によって影響される。血清蛋白分層の場合：同一血清を前述の濾紙 1 枚に 3 本宛泳動し合計 6 本を作り、B. P. B. で染色し定量した結果は Table 2 に示す通り良好であった。

リボ蛋白の定量の再現性は Table 4 の如くで一応満足することが出来、諸家の報告とも大体一致した。誤差の原因は Densitometer の機械的誤差もあり

Table 4 Reproducibility of serum lipo-protein fractions.

No.	α	$\beta + \gamma$
1	21.2%	78.8%
2	23.0	77.0
3	21.5	78.5
4	19.0	81.0
5	20.3	79.7
6	18.7	81.3
Average	20.6	79.4
99% Confidence limit	± 2.6	± 2.6

Table 7 Comparison of determination methods of serum protein fractions.

No		Al	α_1	α_2	β	γ
1	(1)	35.5%	6.7%	8.3%	9.9%	41.6%
	(2)	33.9	6.5	8.2	9.6	41.8
2	(1)	50.2		9.8	12.9	27.1
	(2)	49.0		10.1	13.2	27.7
3	(1)	52.5	5.2	6.6	13.9	21.8
	(2)	53.0	5.1	6.8	13.0	22.1
4	(1)	49.3	6.7	6.4	17.4	20.2
	(2)	50.5	6.7	6.2	17.0	19.6
5	(1)	43.1	3.4	6.9	10.3	36.3
	(2)	42.5	3.3	7.0	10.5	36.7

(1).....Dimention-method.

(2).....Weight-method

Densitometer の改良が望まれる。連続的に泳動図を15~20本以上定量する場合は

Fig.6 B. P. B. (dyeing for 20 min.).

Al α_1 α_2 β γ ↓

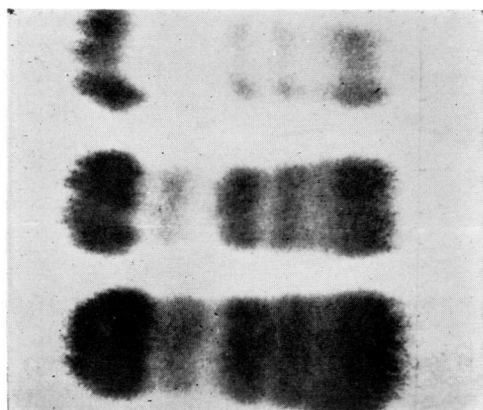
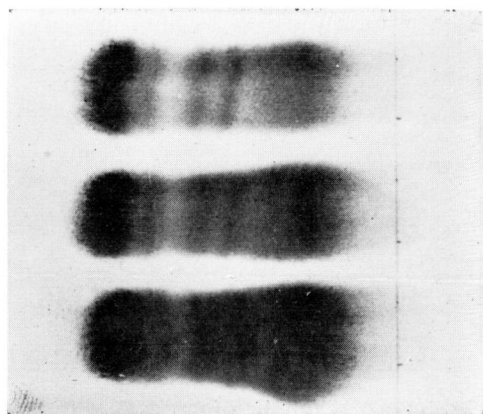


Fig.7 Amidoschwarz 10B (dyeing for 10 min.).

Al α_1 α_2 β γ ↓



Densitometer の光電池をしばらく休ませ冷却する必要がある。光電池が熱して来ると吸

光度に差が出て来る。又、泳動図を半透明にするパラフィンは常に同溶解点のものを使用しないと再現性が悪くなる。

5. 血清試料のつけ方の検討

血清蛋白分層の場合: Fig. 6, 7

の如く、同一血清を0.005, 0.01, 0.02ml 宛つけ同時に泳動及び同時に染色した結果、Amidoschwarz 10B 染色では0.005ml, B. P. B. 染色では0.01ml が最適で分離が明瞭であった。

リボ蛋白の場合: Fig. 3 に示し

た如く同一血清を0.005, 0.01, 0.02ml. 宛つけ同時に泳動, 染色した場合0.02ml. が最適であった。

家兎血清蛋白泳動の場合

B. P. B. 染色すると0.01ml. では β_2 -gl. 分画が明瞭に出ない。又、Globulin 全体が一般にうすく光度計で測定する際に吸光度が少なすぎるので0.015ml. の血清を試

料として塗布した。

6. 泳動距離の検討

泳動距離を左右する因子として電流、電圧、緩衝液の種類とその新旧、濾紙の種類等があげられる。

泳動距離を長くすればする程、分離はよくなるが Albumin が10cm 以上になると⊕極の方に長く尾を引き泳動図が悪くなる。それで著者は Albumin が7～8 cmの位置になる様泳動した。

予め、B. P. B. を血清に加え青色となし Albumin 泳動の標識とした。この標識の青色は100～110°C. で乾燥すると泳動終了時に於ける位置より約1cm～1.5cm ⊖極側へ逆もどりするので8～9 cmに青色が泳動して来るまで通電した。

リボ蛋白の場合は蛋白の場合より短かく泳動した方が泳動図がきれいに出来る。著者は Albumin が5.5 cm～6.5 cm 位の泳動にした。

7. 東洋濾紙 No. 51 と Schleicher & Schüll No. 2043a との比較

同一血清を東洋濾紙 No. 51 と Schleicher & Schüll No. 2043a (以下 S. S. と略す) とに各々泳動し、同一条件で B. P. B. 染色を行い定量した成績は Table 8 に示した通りで

Table 8 Percentages of serum protein fractions obtained on different filter paper.

Name of filter paper	Al	α_1	α_2	β	γ
T. 51	53.7%	4.9%	7.3%	12.1%	22.0%
S. S. 2043a	59.0	4.3	7.7	11.3	17.7
T. 51	43.5	7.3	11.3	16.1	21.8
S. S. 2043a	50.4	7.1	10.2	14.8	17.5
T. 51	51.0	4.2	8.1	13.0	13.7
S. S. 2043a	58.3	4.7	8.3	10.8	17.9

T. 51: Tōyō filter paper No. 51

S. S. 2043a: Schleicher & Schüll No. 2043a.

あった。

Albumin では東洋濾紙 No. 51 に比し S. S. が高値を示し γ -gl. では逆に低値を示した。これは Sommerfelt²⁰⁾ の言う様に濾紙の蛋白吸着度の差によるものと考えられる。

(3). 考 察

血清蛋白並びに血清リボ蛋白の濾紙電気泳動法は前に述べた基礎的条件の検討により、泳動後の濾紙の加熱乾燥時間、染色法、緩衝液、濾紙の種類、泳動条件等を一定にすれば一般臨床化学検査にはきわめていゝ方法である。

一般に血清蛋白分層染色法として Amidoschwarz 10B^{3), 4)} による方法が用いられているが、B. P. B. による染色法でも加熱乾燥時間、染色時間を各々20分にすれば再現性もけっして Amidoschwarz 10B 染色法におとらない。かえって B. P. B. の方がブランクは完全に脱色出来る。

P. G. Moinat 等²¹⁾ は Schleicher & Schüll No. 2043a と Whatman No. 1 及び Whatman No. 3 MM との血清蛋白の比較定量成績を報告し前者が、Albumin は高値を示したと述べている。著者は東洋濾紙 No. 51 と Schleicher & Schüll No. 2043a を比較したところ、東洋濾紙 No. 51 は後者に比し Albumin は低値、 γ -gl. は高値を示した。即ち Schleicher & Schüll 2043a は蛋白吸着度が少く東洋濾紙 No. 51 は大きいと考えられる。

著者の得た健常人の血清蛋白分層定量値(後述)は陳等の報告とは似た値であったが、内外諸家の成績と異なったことの原因の一部は使用した濾紙の相違によるものと考えられる。Sommerfelt²⁰⁾ の云うやうに濾紙上を最初に動く Albumin がまず濾紙に飽和状態

になるまで吸着されて、これに続く Globulin の各分層がほとんど吸着されずにその上に泳動されるので Albumin 値は絶対値より少い値を示し、Globulin 値は反対に大きな値を示す。特に γ -gl. は増加が著しい。即ち濾紙の種類によって蛋白吸着度に差がある関係上著者の値が異ったものと推定される。

基礎的条件の検討の結果から次のことがらに注意して実験を行う事が必要であらう。

Table 6 Comparison of serum protein fractions on veronal- and phosphate buffer solution.

No.	Buffer	Al	α_1	α_2	β	γ
1	Veronal Phosphate	46.0%	4.0%	8.3%	12.5%	29.1%
		46.4	4.1	8.2	12.0	29.3
2	Veronal Phosphate	50.3	3.2	9.2	11.8	25.5
		49.3	3.4	9.3	12.0	26.0
3	Veronal Phosphate	49.0	3.3	9.6	12.9	25.2
		49.9	3.1	9.8	12.8	24.4

1. 緩衝液

緩衝液は Veronal 緩衝液と磷酸緩衝液を比較したが (Table 6) 小島等¹³⁾が報告しているやうに分離泳動速度の点からして Veronal 緩衝液が最適と思われる。ただし他の緩衝液に比し高価である。

緩衝液は 2～3 回泳動毎に全部交換した方が無難である。緩衝液が減少しただけ追加しても泳動はよくならない。緩衝液が古くなれば 10 時間以上泳動しても泳動距離が短くそれ以上なかなか動かない。又、泳動図が乱れる場合もある。

Veronal 緩衝液を作る場合、Veronal (Barbital) は冷水に溶解し難いので 70～80°C. 位の温水に溶解し冷却後 Veronal-Na を加え溶解する。

2. 濾紙、染色法

濾紙は出来得れば蛋白吸着度の少い Schleicher & Schüll No. 2043a 又は Whatman No. 1 等を使用した方がよい。勿論、同一濾紙を使用すれば東洋濾紙でも十分使用出来るし再現性もよい。泳動前にすりきずがないかどうか濾紙をよくしらべないと、このすりきずによって泳動図が乱れ定量不可能になる場合がある。

B. P. B., Amidochwarz 10B の原末は各々同一製造会社のものを使用し、実験の中途で変更してはならない。製造会社によって蛋白結合の度合及び色調等が異なる場合がある。濾紙の乾燥時間、染色時間は 20 分又はそれ以上の一定時間にすべきである。

Sudan black B によるリポ蛋白染色の場合注意すべき事は Sudan black B 粉末をアルコールに煮沸溶解させ更にアルコールで 2 倍に希釈して使用し、使用の都度新調すべきで古くなって沈澱を生じたものは使用不可である。

3. 泳動条件

電流、電圧は東洋濾紙 No. 51 の 12.5 cm × 26.0 cm. 1 枚について 5～9mA, 150～300v. の範囲がよい。著者の実験ではこの濾紙 1 枚につき 8～9mA, 200～300v. が最適で緩衝液から濾紙面までの距離は 2～3 cm. であった。

電流、電圧をあげれば、それだけ泳動時間が少くて済むので 25mA, 350v. で試みたところ 2, 3 ケの分層に分離しただけで各分層が得られなかった。

P. G. Moinat 等²¹⁾の研究によれば電圧、泳動温度によって定量成績が異なると述べて

いるので一定の電流電圧で行い、なるべく一定の温度で実験すべきである。

(4). 結 論

血清蛋白分層並びに血清リポ蛋白の濾紙電気泳動法の基礎的条件の検討を行い次の結果を得た。

(1). B. P. B. による血清蛋白分層染色法は加熱時間、染色時間を各々20分とすれば Amidochwarz 10B 法にけっしておとらない良好な成績を得た。リポ蛋白の Sudan black B 染色法は2時間染色が最適であった。

(2). 血清蛋白分層測定の場合、試料の塗布は人血清では0.01 ml. (B. P. B.) 又は0.005 ml. (Amidochwarz 10B) が最適で、家兎血清は0.015 ml. (B. P. B.) の使用が良かった。リポ蛋白を測定する際には0.02ml. (Sudan black B 染色) が最適であった。

(3). 東洋濾紙 No. 51 と Schleicher & Schüll No. 2043a の濾紙の比較を行ったところ、東洋濾紙では Albumin-低値, γ -globulin-高値を示した。

(4). 緩衝液は Veronal 緩衝液が良好で

あった。

(5). 同一血清を6回反復泳動した場合の再現性 (99%信頼限界) は、

蛋白分層 (B. P. B. 染色法) では

Albumin	53.4% ± 1.8%
α_1 -globulin	3.3% ± 0.3%
α_2 -globulin	6.0% ± 0.5%
β -globulin	12.2% ± 0.7%
γ -globulin	25.1% ± 1.1%

リポ蛋白分層では

α	20.6% ± 2.6%
$\beta + \gamma$	79.4% ± 2.6%

であった。

(6). 泳動距離は蛋白分層の場合は Albumin が7~8 cm の位置まで泳動した方が定量値の再現性がよく、又リポ蛋白分層の場合は蛋白の場合より短かく5.5 cm~6.5 cm 位が適当であることを認めた。

(7). 電流、電圧は東洋濾紙 No. 51 の12.5 cm×26.0 cm, 緩衝液から濾紙面までの距離2~3 cm. で1枚について8 mA~9 mA (200v~300v.) が最適で α_1 -globulin の分離が良好であった。

II. 温泉入浴と血清蛋白分層並びにリポ蛋白分層の変動について

(1). 緒 言

第1章に於て著者は濾紙電気泳動法による血清蛋白分層並びにリポ蛋白分層の測定について基礎的諸条件の検討を行ったので、前章記述の諸注意に従い健康人、健康白色家兎、関節リウマチ患者の血清蛋白分層、リポ蛋白分層を測定し、次いで放射能温泉入浴による各分層の変動を、更に実験的動脈粥状硬化症に於ける此等分層は温泉連浴によって如何なる

変動を受けるかを追求した。

(2). 健康人、健康家兎、関節リウマチ患者の血清蛋白分層について (付、リポ蛋白)

(a). 健康成人の血清蛋白分層とリポ蛋白分層

早朝空腹時に肘静脈から採血し、静置後分離した血清を用いた。前章記述の如く血清の濾紙電気泳動を行い血清蛋白分層は B. P. B. 染色、リポ蛋白分層は Sudan black B で

染色し定量した。その成績を Table 9, 10 に示す。著者の得た健常成人10例の血清蛋白分層の平均値は、陳等¹⁴⁾の成績と略々同じであったが、その他の報告²³⁾と比較すると

(Table 11) Albumin-分層はやゝ低く、 γ -globulin 分層は逆にやゝ高値を示し、他の分層(α_1 , α_2 -及び β -globulin-分層)は略々同一であった。諸家の報告と異った成績を得

Table 9 Analysis of normal human serum protein fractions by paper electrophoresis

Name	Sex.	Al	α_1	α_2	β	γ
T. O.	♂	52.5%	5.5%	6.6%	13.9%	21.8%
Y. Y.	♂	50.5	4.3	7.9	11.8	25.5
K. I.	♀	51.0	2.5	9.9	13.0	23.6
M. I.	♂	47.4		11.7	12.7	28.2
S. O.	♀	49.3	6.7	6.4	17.4	20.2
E. M.	♂	57.3	4.6	5.5	11.1	25.1
A. Y.	♂	48.1	4.1	9.0	10.7	28.1
H. A.	♂	50.3	3.1	12.2	10.7	23.7
H. K.	♀	51.8	5.3	10.0	10.9	22.0
T. M.	♀	53.8	3.8	7.7	11.5	23.2
Average		50.8 ±2.2	4.0 ±1.7	8.7 ±2.3	12.4 ±2.1	24.1 ±2.9

Table 10 Analysis of normal human serum lipo-protein fractions by paper electrophoresis.

Name	Sex.	α	$\beta + \gamma$	$\beta + \gamma / \alpha$
M. I.	♂	20.0%	80.0%	4.00
K. M.	♀	26.2	73.8	2.82
A. I.	♀	24.6	75.4	3.07
K. A.	♂	16.0	84.0	5.25
A. Y.	♂	21.2	78.8	3.72
S. T.	♀	27.0	73.0	2.70
T. K.	♂	14.6	85.4	5.85
S. O.	♀	15.0	85.0	5.67
K. M.	♂	19.3	80.7	4.18
Y. Y.	♂	13.8	86.2	6.25
Average		19.7 ±5.0	80.3 ±5.0	4.35 ±0.94

Table 11 Comparison of results of normal human serum protein fractions measured by the author by means of paper electrophoresis with another reports (*G. Riva: Das Serumeiweissbild, 270, 1957.²³⁾).

Author	Buffer	Dyeing	Albumin	Globulin			
				α_1	α_2	β	γ
Ishibashi	Veronal pH8.6 $\mu=0.05$	0.05% B. P. B.	50.8%	4.0%	8.7%	12.4%	24.1%
Tin ¹⁴⁾	"	"	49.4		8.7	16.2	25.6
*Körver		Azocarmin	57.8	4.5	8.2	9.6	19.9
*Köiw & Mitarb.	Veronal pH8.8 $\mu=0.05$	1% B. P. B.	72.9	1.4	3.5	8.6	13.6
*Riva	Veronal pH8.9 $\mu=0.1$	Amidoschwarz 10B	65.2±4.35 (58.0-71.9)	4.1±1.14 (3.1-6.6)	6.7±1.28 (5.2-9.1)	9.8±1.64 (6.1-12.0)	14.1±2.92 (10.3-18.4)
*Plückthun & Götting	Veronal pH8.6 $\mu=0.05$	Azocarmin B	59.0±2.45 (55.1-63.4)	4.2±0.67 (2.9-5.1)	8.0±1.14 (5.5-10.6)	10.6±1.85 (8.9-14.1)	18.2±2.54 (14.3-23.3)
*Grassmann & Hannig	Veronal pH8.6	Amidoschwarz 10B	61.3	4.1	8.1	11.0	15.5
*Esser & Mitarb.			59.0	4.3	7.7	12.5	16.5
*Pieper & Molinski		Amidoschwarz 10B	49.9±2.5	4.1±0.8	8.9±1.2	12.7±1.21	21.9±2.0
*Mackay & Mitarb	Veronal pH8.6 $\mu=0.1$	Amidoschwarz 10B	57.4 (51.5-65.9)	4.2 (2.4-6.0)	8.5 (6.8-11.2)	14.0 (11.6-17.8)	15.9 (11.0-21.5)
*Sonnet		Amidoschwarz 10B	61.7±3.1	4.9±0.7	8.1±1.4	10.1±1.1	15.2±1.9

た原因として緩衝液、濾紙、染色液等の異なることが考えられる(第1章, 59, 62頁, Table 5, 8 参照). リポ蛋白分層については諸家の報告と大差を見なかった(Table 12).

Table 12 Comparison of results of normal human serum lipo-protein fractions measured by the author by means of paper electrophoresis with another reports.

Author	α	β	γ
M. Ishibashi	19.7%	80.3%	
E. Afpuhn ¹⁹⁾	25.0	75.0	
E. Klein, & F.H. Franken ¹⁹⁾	20.0	49.0%	31.0%
P. H. Gross, & H. Weicker ¹⁹⁾	20.2	48.2	31.6

(b). 健常家兎の血清蛋白分層

早朝空腹時に耳翼辺縁静脈から採血し、静置後分離した血清についてその蛋白分層を測定した。10例の成績は Table 13 に示したが、血清 Albumin 分層に関しては、小林¹⁶⁾、村井の値より高く Geinitz²⁴⁾、Arbomp²⁵⁾、Scheiffarth²⁶⁾ より低く、 γ -globulin 分層は、小林、村井の値より低かったが、Arbomp、Scheiffarth より高く、Geinitz と略々同一であつた (Table 14).

(c). 関節リウマチ患者の血清蛋白分層

慢性多発性関節リウマチ12例につき、早朝空腹時採血しその血清蛋白分層を測定した。その成績を Table 15 に示した。健常人に比べ、Albumin 分層、 β -globulin 分層は低値で γ -globulin 分層、 α_2 -globulin 分層は高値を示したが、 α_1 -globulin 分層では差が認められなかった (Fig 8).

(d). 小 括

著者は健常成人、健常家兎の血清蛋白分層を第1章記載の注意に従い測定した。慢性多発性関節リウマチ患者に於ては Albumin-分

Table 13 Analysis of serum protein fractions of normal rabbits

No.	Al	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
1	58.6%	6.7%	15.1%	5.2%	4.2%	10.2%
2	63.0	7.4	6.4	5.6	5.6	12.0
3	60.8	7.0	9.9	7.4	4.5	10.4
4	61.0	8.3	7.4	12.0	3.2	8.1
5	56.4	8.6	8.3	6.6	5.1	15.1
6	60.0	8.6	7.2	6.9	5.5	11.8
7	51.0	10.8	8.1	11.3		18.8
8	56.5	5.5	3.6	7.4	6.7	20.3
9	60.6	5.4	6.5	6.9	5.6	15.0
10	56.2	5.8	8.7	7.0	4.3	18.0
Average	58.4 ±3.5	7.4 ±1.7	8.1 ±3.0	7.6 ±2.3	4.5 ±1.2	14.0 ±4.1

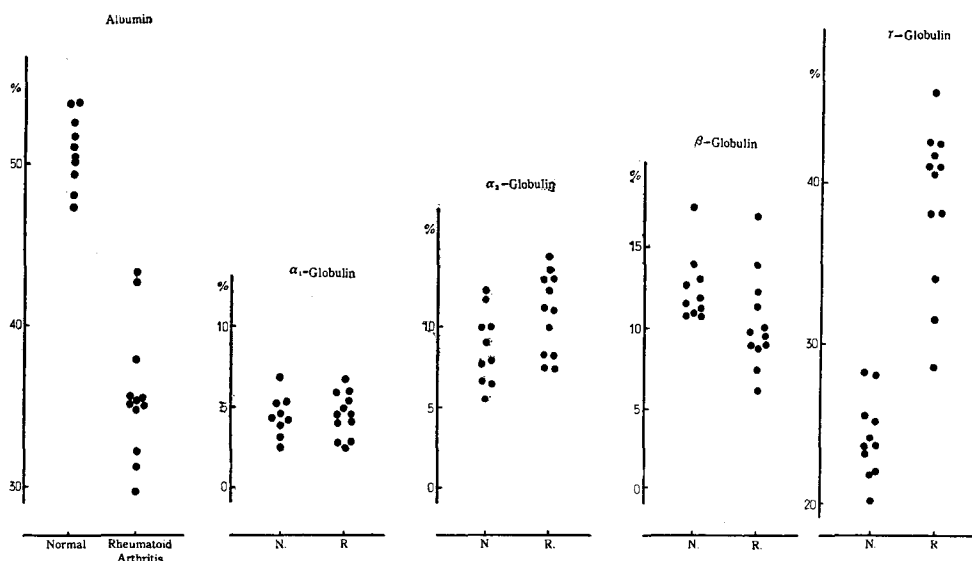
Table 14 Comparison of result of serum protein fractions of normal rabbits by paper electrophoresis

Author	Al	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
M. Ishibashi	58.4% 51.0-63.0	7.4% 5.4-10.8	8.1% 3.6-15.1	7.6% 5.2-12.0	4.5% 3.2-6.7	14.0% 8.1-20.3
Kobayashi & Murai ¹⁶⁾	36.9-52.9	5.9-9.1	7.1-8.2	6.3-9.8	5.6-12.2	17.1-27.8
W. Geinitz ²⁴⁾	63.2 57.6-69.3	6.5 4.8-7.5	5.9 4.8-8.5	10.7 9.3-13.9		13.7 9.5-19.7
S. Arbomp, J. Finne & G. Berg ¹⁹⁾	62.0-72.0	6.0-10.0	3.0-6.0	7.0-10.0	2.0-3.0	8.0-13.0
F. Scheiffarth u. G. Berg ²⁶⁾	62.2-72.6	5.8-10.1	2.2-6.0	4.3-10.5	1.9-3.3	6.1-12.7

Table 15 Analysis of serum protein fractions of rheumatoid arthritis by paper electrophoresis.

Name	Sex.	Al	α_1	α_2	β	γ
Nishimoto	♀	34.8 %	5.3 %	12.2 %	9.7 %	38.0 %
Kuramoto	♂	32.2	5.0	12.9	9.4	40.5
Hamada	♀	34.5	4.4	11.2	8.9	41.0
Yoshiga	♂	35.5	4.0	13.5	8.9	38.1
Kashiwazaki	♂	29.6	4.6	13.0	7.3	45.5
Tanaka	♀	31.2	5.9	14.3	6.1	42.5
Ozaki	♂	35.5	6.7	8.3	9.9	41.6
Mototune	♂	42.7	3.8	8.2	13.8	31.5
Ogahara	♀	35.3	3.5	7.5	11.3	42.4
Yamada	♀	37.9	3.8	7.4	19.9	34.0
Minato	♂	43.3	6.0	10.0	12.2	28.5
Hyrano	♂	35.2	4.1	11.0	8.7	41.0
Average		35.6 ±3.6	4.7 ±0.9	10.8 ±2.2	10.2 ±2.6	38.7 ±4.5

Fig. 8 Comparison of serum protein fractions of rheumatoid arthritis with normal human subjects.



層, β -globulin- 分層は健常人にくらべ低値を呈するもの多く, γ -globulin 分層, α_2 -globulin- 分層は高値を示すものが多いことを認めた。

(3). 温泉入浴の血清蛋白分層に及ぼす影響 (付. リボ蛋白)

温泉治療に際し, 生体が温泉水の物理的化

学的因子による影響を与えられうることは周知のところであり, 蛋白代謝に及ぼす影響の著しいことは所謂湯中り症状発現の際, 血清高田反応, 血沈等の変動からも知られるところである²⁸⁾. 扨て, 温泉浴の蛋白代謝に及ぼす影響に関しては, 主として血清蛋白量, 各種の血清反応等によって検索せられている

が、著者は温泉浴による血清蛋白分層の変動を追求した。

1. 実験材料と実験方法

使用した温泉は岡大研究所泉で、含重曹食塩放射能泉に属する。

(a). 単回浴の場合

健常成人 5 例について早朝空腹時採血後 42～43°C. 10 分間の温泉入浴を行い、浴後 5, 60, 120 分に肘静脈より採血し、血清蛋白分層、血清リポ蛋白分層を測定した。

(b). 連続浴の場合

当所入院患者 10 例（主として関節リウマチ症例）につき、温泉浴開始前と、開始後は 1 週間毎に早朝空腹時に採血し、4 週間にわたって血清蛋白分層、血清リポ蛋白分層の測定を行った。温泉浴以外の治療は可及的施行せず、入浴は 1 日 2～3 回、42～43°C. 5～10 分間とした。

2. 実験成績

(a). 単回浴：血清蛋白分層の変動は Table 16 に示した如くで Albumin-分層は浴後 5 分値が入浴前にくらべ増加は 5 例中 3 例、1 時間では増加 2 例、2 時間値では増減相半ばした。γ-globulin-分層は、浴後 5 分値が入浴前にくらべ増加したもの、減少したもの各 2 例宛で、1 時間値、2 時間値とも増加したものは 3 例宛であった。α₂-, β-globulin-分層では著変を見なかった。

以上要するに健常成人に於ては三朝温泉単回入浴によって血清蛋白分層には著しい変動が認められなかったといえる。

リポ蛋白分層の変動は Table 17 に示したが α-分層は入浴によって浴後 5～60 分にわたり増加する傾向を認めたが、120 分値では略々浴前値に復した。β+γ-分層は α-分層と逆の変動を示した。即ち温泉浴によって β+

Table 16 Changes of human serum protein-fractions following a single bath.

Name	Sex.	Fraction	Before	5	60	120 minutes
K. M.	♂	Al	51.3%	55.6%	54.6%	52.7%
		α ₁	3.7	3.6	3.8	4.5
		α ₂	10.2	8.8	7.7	9.1
		β	10.9	10.8	10.6	10.8
		γ	23.9	21.2	22.3	22.9
T. Y.	♀	Al+α ₁	50.2	55.7	53.8	53.4
		α ₂	9.8	8.9	10.4	10.1
		β	12.9	12.8	12.8	11.5
		γ	27.1	23.1	23.0	25.0
Y. Y.	♂	Al	50.5	49.0	48.9	49.9
		α ₁	4.3	3.7	4.6	3.9
		α ₂	7.9	7.2	8.6	7.0
		β	11.8	15.1	10.8	12.4
		γ	25.5	25.0	27.1	26.8
M. I.	♂	Al+α ₁	47.4	44.9	44.5	42.5
		α ₂	11.7	12.7	12.0	13.7
		β	12.7	12.5	13.5	13.3
		γ	28.2	29.9	30.0	30.5
S. T.	♀	Al	50.3	52.0	50.9	50.1
		α ₁	3.6	3.4	3.9	3.2
		α ₂	8.0	8.4	7.4	8.6
		β	12.9	9.4	10.6	10.7
		γ	25.2	26.8	27.2	27.4

Table 17 Changes of serum lipo-protein fractions following a single bath

Name	Sex	Fraction	Before	5	60	120 minutes
S. T.	♀	α	20.0 %	23.2 %	22.7 %	19.4 %
		$\beta + \gamma$	80.0	76.8	77.3	80.6
		$\beta + \gamma / \alpha$	4.0	3.31	3.4	4.16
K. M.	♂	α	23.1	31.7	32.3	25.8
		$\beta + \gamma$	76.9	68.3	67.7	74.2
		$\beta + \gamma / \alpha$	3.32	2.16	2.1	2.88
T. Y.	♀	α	24.6	25.8	25.2	24.8
		$\beta + \gamma$	75.4	74.2	74.8	75.2
		$\beta + \gamma / \alpha$	3.07	2.88	2.96	3.03
Y. Y.	♂	α	16.0	19.9	18.0	17.7
		$\beta + \gamma$	84.0	80.1	82.0	82.3
		$\beta + \gamma / \alpha$	5.25	4.02	4.65	4.65
M. I.	♂	α	14.6	14.6	15.0	14.1
		$\beta + \gamma$	85.4	85.4	85.0	85.9
		$\beta + \gamma / \alpha$	5.85	5.85	5.66	6.09

r/α 比は減少する傾向を認めた。

(b). 連続入浴：血清蛋白分層の変動は Table 18に示した。

Albumin-分層：1週間目では10例中3例増加し，減少1例，不変6例であった。2週間では2例増加し，減少1例，不変7例であった。3週間では4例増加し，減少1例，不変5例であった。4週間では7例中4例増加し，1例減少，2例不変であった。

α_1 -globulin-分層：1週間後10例中2例増加し，3例減少，5例不変，第2週は増加2例，減少2例，不変6例で，3週は増加4例，減少2例，不変4例であった。4週では7例中3例増加，2例減少，2例不変であった。

α_2 -globulin-分層：1週で10例中減少2例，増加2例，不変6例，2週では減少2例，増加1例，不変7例，第3週では減少3例，増加2例，不変5例で，第4週では7例中減少3例，増加2例，不変2例であった。

β -globulin-分層：1週では10例中増加3例，減少4例，不変3例であった。2週では増加3例，不変3例，減少4例で3週では増

加3例，減少4例，不変3例であった。4週では7例中増加2例，減少4例，不変1例であった。

γ -globulin-分層：1週では10例中2例増加し，4例減少，不変4例であった。2週では増加1例，減少4例，不変5例であった。3週では増加2例，減少5例，不変3例であった。第4週では7例中増加1例，減少4例，不変2例であった。

これ等をまとめると Table 19の如くなる。温泉治療開始前と4週間後の値とを比較すると Albumin-分層は前に比し症例の57%に於て増加， α_1 -globulin-分層は43%に増加， α_2 -globulin-分層は減少した症例が43%， β -globulin-分層は減少したものが57%， γ -globulin-分層は減少したものは全症例の57%であった。即ち三朝温泉連続入浴によって Albumin-分層は増加， β -, γ -globulin-分層は減少の傾向が認められた。

入院患者5例について行ったリポ蛋白の変動は Table 20に示した通り α -, $\beta + \gamma$ -分層とも個々に於てはわづかの変動であった。

Table 18 Changes of human serum protein-fractions following a series of baths.

Name	Sex	Weeks	Al	α_1	α_2	β	γ
Tanaka	♀	0	43.8 %	4.9 %	7.8 %	11.3 %	32.2 %
		1	47.1	4.0	4.7	14.3	29.9
		2	43.1	4.0	3.2	19.7	30.0
		3	45.6	3.3	5.7	15.0	30.4
		4	46.2	3.2	6.3	12.1	32.2
Mikami	♂	0	60.0	4.0	12.3	7.3	16.4
		1	53.5	3.1	8.6	10.2	24.6
		2	47.0	3.1	5.6	17.6	26.7
		3	51.2	3.2	8.6	12.2	24.8
		4	50.3	3.2	6.5	15.8	24.3
Waka	♂	0	42.7	3.1	7.7	15.6	30.9
		1	43.1	4.2	9.0	13.0	30.7
		2	42.9	3.9	7.9	14.2	31.1
		3	44.3	4.0	9.5	11.9	30.3
		4	45.2	4.0	6.6	13.0	31.2
Kenmotsu	♂	0	46.3	4.6	10.3	17.3	21.5
		1	47.3	4.1	9.7	12.4	26.5
		2	48.5	4.9	9.4	15.8	21.4
		3	48.2	5.0	10.2	12.3	24.3
		4	52.1	5.4	11.0	11.3	20.2
Kataoka	♂	0	55.5	4.0	10.0	12.2	18.3
		1	55.3	3.9	10.2	12.2	18.4
		2	55.0	4.1	10.3	12.4	18.2
		3	55.3	5.0	10.3	12.3	17.9
Mototune	♂	0	42.7	3.8	8.2	13.8	31.5
		1	44.5	4.0	8.8	16.3	26.4
		2	44.2	3.8	8.6	16.3	27.1
		3	47.0	4.5	6.9	16.4	25.2
Kashiwazaki	♂	0	29.6	4.6	13.2	7.3	45.5
		1	30.1	5.0	12.2	7.7	45.0
		2	30.0	4.8	13.0	7.0	45.2
		3	30.2	4.4	12.8	7.0	45.6
Tanaka, H.	♀	0	31.2	5.9	14.3	6.1	42.5
		1	32.0	5.8	14.1	6.2	42.0
		2	31.8	5.6	13.9	6.3	42.4
		3	33.4	6.1	13.8	6.3	39.3
		4	32.3	5.6	16.1	6.0	40.0
Fukumoto	♂	0	40.9	4.1	5.3	17.8	31.9
		1	50.0	5.2	7.9	11.6	25.3
		2	52.3	5.4	8.0	10.8	23.5
		3	50.2	5.0	8.3	10.3	26.2
		4	53.8	5.3	8.1	10.7	22.1
Irie	♂	0	44.4	3.2	6.6	13.9	31.9
		1	53.0	3.4	6.9	12.3	24.4
		2	49.9	3.3	6.4	13.0	27.4
		3	54.2	3.4	6.8	12.7	22.9
		4	54.9	3.4	6.8	12.5	23.1

3. 小 括

含食塩重曹放射能泉たる研究所泉単回入浴によって 健康人の血清蛋白は著しい変動を示さなかった. 血清リポ蛋白の $\beta+\gamma/\alpha$ 比は減少する傾向を認めた.

関節リウマチ患者に於ては研究所泉連浴によって 血清蛋白分層の Albumin は増加 γ -globulin は減少の傾向が窺われた.

Table 19 Changes of serum protein-fractions following a series of baths

Fraction		1	2	3	4 Weeks
Albumin	+	30%	20%	40%	57%
	-	10 "	10 "	10 "	14 "
	±	60 "	70 "	50 "	28 "
α_1 -gl.	+	20 "	20 "	40 "	43 "
	-	30 "	20 "	20 "	28 "
	±	50 "	60 "	40 "	28 "
α_2 -gl.	+	20 "	10 "	20 "	28 "
	-	20 "	20 "	30 "	43 "
	±	60 "	70 "	50 "	28 "
β -gl.	+	30 "	30 "	30 "	28 "
	-	40 "	40 "	40 "	57 "
	±	30 "	30 "	30 "	14 "
γ -gl.	+	20 "	10 "	20 "	14 "
	-	40 "	40 "	50 "	57 "
	±	40 "	50 "	30 "	28 "

+: Increase

-: Decrease

±: Unchanged

Table 20 Changes of serum lipo-protein fractions following a series of baths.

Name	Sex	Fraction	Before	1	2	3	4 Weeks
Tanaka	♀	α	19.8	21.6	20.2	18.9	
		$\beta+\gamma$	80.2	78.4	79.8	81.1	
		$\beta+\gamma/\alpha$	4.02	3.61	3.94	4.29	
Mikami	♂	α	20.1	18.8	21.0	20.7	20.3
		$\beta+\gamma$	79.9	81.2	79.0	79.3	79.7
		$\beta+\gamma/\alpha$	3.98	4.31	3.76	3.82	3.92
Kenmotsu	♂	α	14.4	16.3	15.1	14.9	
		$\beta+\gamma$	85.6	83.7	84.9	85.1	
		$\beta+\gamma/\alpha$	5.95	5.13	5.61	5.68	
Waka	♂	α	24.3	23.7	24.0	23.4	
		$\beta+\gamma$	75.7	76.3	76.0	76.6	
		$\beta+\gamma/\alpha$	3.12	3.22	3.17	3.27	
Kataoka	♂	α	16.7	19.1	16.6	18.8	
		$\beta+\gamma$	83.3	80.9	83.4	81.2	
		$\beta+\gamma/\alpha$	4.98	4.23	5.02	4.32	

(4). 実験的動脈粥状硬化症家兎の血清蛋

白分層に及ぼす三朝温泉入浴の影響

近来, 平均寿命の延長に伴い退行性, 老人性変化と考えられている高血圧症乃至動脈硬化症の治療, 更には予防についての関心が高まって来た. Anitschkow の実験報告以来, 動脈硬化とコレステロール (以下「コ」と略記) 代謝と密接な関係にあることが多数報

告²⁹⁾されるに至った. 高「コ」血症をもって直ちに動脈硬化の原因とすることは不適であるという意見を述べる人もあるが, 高「コ」血症は恐らくは動脈硬化の一因であると考えられる学者も多いようである.^{30), 35)} さらに最近 Cohn の分割, 濾紙電気泳動法, 超遠心法などの発達にともない, リポ蛋白の重要性が強調され³⁴⁾, かつ動脈硬化の原因としてリポ蛋

白の役割³⁶⁾が注目されるに及び、動脈硬化と脂質代謝異常を巡る諸問題は著しく人の注目を惹くに至った。

吾々も数年来、高血圧症や動脈硬化症の温泉による治療乃至予防効果に関する研究³¹⁾をすすめているが、当研究所松本³²⁾は、三朝温泉入浴が高血圧症例の血圧を下げ、血清「コ」値を低下させること、更に温泉入浴は実験的動脈粥状硬化症の発生を抑制することを報告した。依って著者は実験的動脈粥状硬化症の際に於ける血清蛋白分層、リポ蛋白分層の変化、更に此等分層に及ぼす温泉浴の影響を検索した。

1. 実験材料と実験方法

(a). 血清蛋白分層について

1). 「コ」1回投与の場合

正常雄性家兎(体重3kg内外)を使用し、早朝空腹時に採血後、体重毎kg. 結晶「コ」0.2gをオカラに混ぜて投与した。完全に食べ終わって後、1, 3, 5乃至7或いは12時間目に採血し、血清蛋白分層を測定した。

2). 「コ」連日投与の場合

家兎に結晶「コ」を体重毎kg. 0.15gをオカラに混ぜ4週間に亘って毎日投与し、投与前、投与後1, 2, 3, 4週間目に採血して血清蛋白分層を測定した(「コ」連日投与群)。対照として「コ」を投与せず、オカラのみで飼育した家兎の血清蛋白分層の経日的変動を調べた(対照群)。

3). 「コ」連日投与と温泉入浴を行った場合

上述の如く「コ」を連日投与しながら「コ」投与の日から毎日、研究所泉浴(42~43°C., 1日1回, 5分間)を行い、「コ」連日投与群

と全様採血し血清蛋白分層をしらべた(「コ」投与入浴群)。「コ」を投与せずオカラのみで飼育しつつ連日温泉浴を行ったものを入浴対照群とした。

(b). 血清リポ蛋白分層について

1). 「コ」連日投与群

家兎に結晶「コ」を体重毎kg. 0.2~0.07gをオカラに混ぜ6週間に亘って毎日投与し、投与前、投与後1週毎に採血を行い血清リポ蛋白分層を測定した。

2). 「コ」連日投与と温泉入浴を行った場合(温泉入浴群)

1と全様、結晶「コ」を投与開始と全時に研究所泉浴(42~43°C., 1日1回, 10分間)を毎日行い、リポ蛋白分層を測定した。リポ蛋白分層の測定は第1章記述の条件に従い $\beta + \gamma / \alpha$ 比を算定した。

2. 実験成績

(a). 血清蛋白分層について

1). 「コ」1回投与の場合

Fig. 9 The changes of serum protein-fractions following cholesterol feeding in rabbits.

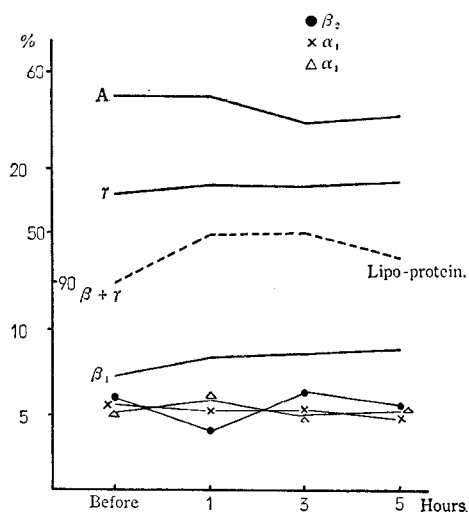


Table 21 Changes of serum protein-fractions following cholesterol feeding.

No.	Time	Al	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
1	Before	56.9%	5.5%	3.2%	7.4%	6.7%	20.3%
	1	56.6	5.1	3.6	8.2	4.1	22.4
	3	54.9	4.8	3.5	9.0	4.1	23.7
	5	55.2	5.1	3.3	9.3	5.4	21.7
2	Before	60.6	5.4	6.5	6.9	5.6	15.0
	1	60.4	4.9	7.6	8.3	3.2	15.7
	3	58.7	5.2	6.0	7.9	8.2	14.0
	5	59.3	4.1	6.7	8.3	4.9	16.7
3	Before	57.3	4.8	6.4	14.9		16.6
	3	55.6	5.0	6.2	13.9		19.3
	7	53.3	4.7	5.9	15.3		20.8
	12 Hours	54.1	5.1	6.6	15.3		18.9

3羽について行った実験の結果を Table 21, Fig. 9 に示す。即ち Albumin-分層は「コ」投与後1時間目からすでに減少をはじめ、3～7時間で最低となり、5～12時間で漸次回復の傾向をみた。Globulin-分層では α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 -分層は殆んど変動せず、 γ -分層は何れの症例に於ても増加を示した。

2). 「コ」連日投与の場合

「コ」連日投与群: 3羽について行った実験の結果を Table 22, Fig. 10 に示す。「コ」投与前 63.0～56.2%であった Albumin-分層は漸次減少、第4週目に於ては51.1～48.0%に迄減少した。Globulin-分層では α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 -分層にも多少の動揺が認められたが、 γ -分層の増量は著しく、投与前 10.4～18.0%であったのが18.5～24.1%となった。

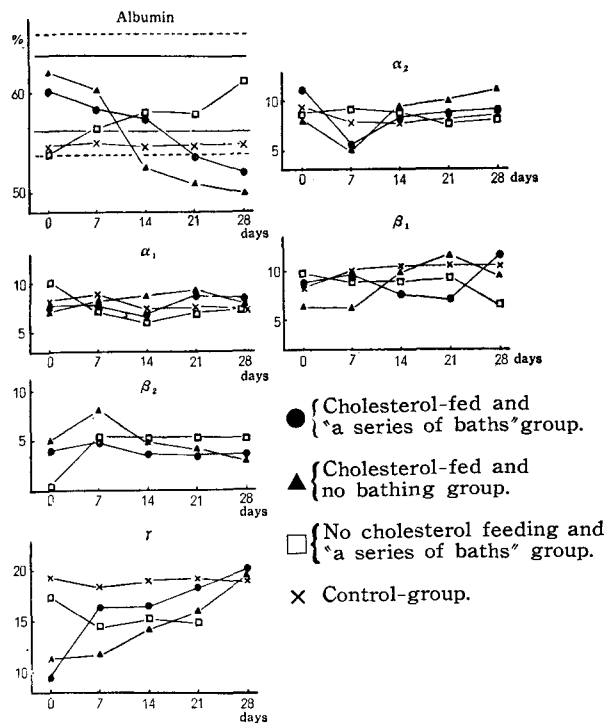
対照群の2羽では、血清蛋白のどの分層にも変動は認められなかった。即ち、4週間程度の期間内では血清蛋白分層は殆んど経日の

に変化しないことを知った。

3). 「コ」投与入浴群

3羽について行った成績を Table 22, Fig. 10 に示す。Albumin-分層は実験開始時 58.6～56.8%であり、第4週後には51.7～50.7%となったが、その減少は「コ」連日投与群よりも

Fig. 10 The changes of serum protein-fractions following radioactive thermal bathing in cholesterol-fed rabbits.



軽度であった。Globulin-分層では α_1 -, β_1 -, 分層では変動少く, β_2 -分層は第1~2週に軽度増加したが, 第4週では浴前値に復した。 γ -分層は何れの症例でも増加を示し,

15.3~14.0%から21.9~19.0%となった。入浴対照群では2羽共にAlbumin-分層は増加, α_2 -, β_1 -, β_2 -Globulin-分層に変化なく, α_1 -分層は漸次減少, γ -Globulin-分層

Table 22 Changes of serum protein-fractions following radioactive thermal bath in cholesterol-fed rabbits.

Cholesterol-fed and a series of baths group.

No.	Weeks	Al	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
1	0	58.6 %	6.7 %	8.5 %	7.0 %	4.2 %	15.0 %
	1	60.5	4.5	10.8	5.7	6.2	12.3
	2	61.5	4.5	8.6	7.7	4.0	13.7
	3	54.2	8.8	8.3	7.8	4.2	16.7
	4	50.7	9.0	8.0	9.3	4.0	19.0
2	0	56.8	5.3	7.4	12.0	3.2	15.3
	1	51.1	5.3	6.4	12.9	3.9	20.4
	2	53.3	8.7	8.0	7.5	3.4	19.1
	3	52.8	8.6	8.8	6.5	2.9	20.0
	4	51.2	5.6	7.1	13.8	3.0	19.3
3	0	58.0	4.8	8.5	10.7	4.0	14.0
	1	56.8	5.1	9.3	8.2	4.4	16.2
	2	55.3	4.3	10.1	7.8	6.6	15.9
	3	55.0	6.0	9.5	7.0	2.8	19.7
	4	51.7	4.5	6.3	10.8	4.8	21.9

Cholesterol-fed and no bathing group.

No.	Weeks	Al	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
1	0	63.0 %	7.4 %	6.4 %	5.6 %	5.6 %	12.0 %
	1	63.0	7.6	5.7	6.7	5.1	11.9
	2	52.5	9.1	8.6	12.1	6.5	11.2
	3	51.3	8.8	9.0	12.3	4.2	14.4
	4	51.1	8.5	8.2	10.0	3.7	18.5
2	0	60.8	7.0	9.9	7.4	4.5	10.4
	1	58.0	9.0	5.0	5.7	10.8	11.5
	2	52.7	8.5	10.0	7.8	3.2	17.8
	3	50.6	9.7	11.3	7.7	3.0	17.7
	4	48.8	7.4	10.0	9.2	3.8	20.8
3	0	56.2	5.8	8.7	7.0	4.3	18.0
	1	56.0	5.7	9.0	7.1	4.0	18.2
	2	55.0	5.3	8.9	6.7	5.3	18.8
	3	51.1	5.7	9.3	7.8	4.6	21.5
	4	48.0	5.6	8.5	8.2	5.6	24.1

No cholesterol feeding and a series of baths group.

No.	Weeks	Al	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
1	0	57.0 %	9.6 %	9.0 %	8.2 %	5.2 %	11.0 %
	1	61.3	8.3	8.1	6.4	5.3	10.6
	2	62.4	7.0	7.7	6.3	4.9	11.7
	3	61.9	7.7	7.2	7.3	5.1	10.8
	4	61.6	7.7	8.1	6.6	5.2	10.8
2	0	51.0	10.8	8.1	8.0	3.3	18.8
	1	53.4	6.8	10.1	8.0	3.2	18.5
	2	55.4	6.2	9.4	7.8	3.4	18.7
	3	54.0	6.9	8.9	8.2	3.2	18.8

Control group						
No.	Weeks	AI	α_1	α_2	$\beta_1 + \beta_2$	r
1	0	54.7 %	6.7 %	12.2 %	7.2 %	19.2 %
	1	55.0	8.6	8.3	10.3	17.8
	2	54.5	5.8	10.3	11.4	18.0
	3	54.5	5.9	9.7	11.2	18.7
	4	54.8	6.1	9.9	10.8	18.4
2	0	54.5	9.4	6.2	10.2	19.7
	1	55.1	9.0	7.0	9.6	19.3
	2	54.7	9.1	6.3	10.0	19.9
	3	54.6	9.1	6.5	10.4	19.4
	4	54.7	9.5	6.3	10.1	19.4

には認むべき変化がなかった。

(b). 血清リポ蛋白分層について

「コ」連日投与群並に温泉入浴群の各5羽の成績は Table 23, 24, Fig. 13 の如くであった。平均値でみると、温泉入浴群では第2, 3週に於て「コ」投与群に比し $\beta + r$ -分層の増加が大であったが、それ以後は漸次減少し、温泉入浴によって $\beta + r/\alpha$ 比の正常化が惹起されるものと考えられた。

3. 小 括

動物に「コ」を投与することによって動脈硬

化症を発生せしめうることは緒言²⁹⁾に述べたところである。而して動脈硬化症の場合、血清蛋白分層に於てAlbumin-分層が減少し、 r -globulin-分層が増大すること、更にリポ蛋白分層に於ては $\beta + r/\alpha$ 比の増大が認められることは諸家³³⁾の報告によっても明らかである。

著者は先人に倣い、「コ」投与によって家兎に実験的動脈粥状硬化症を発生せしめ、血清蛋白分層に於てはAlbuminの減少、 r -globulinの増加を、リポ蛋白分層に於ては、 β

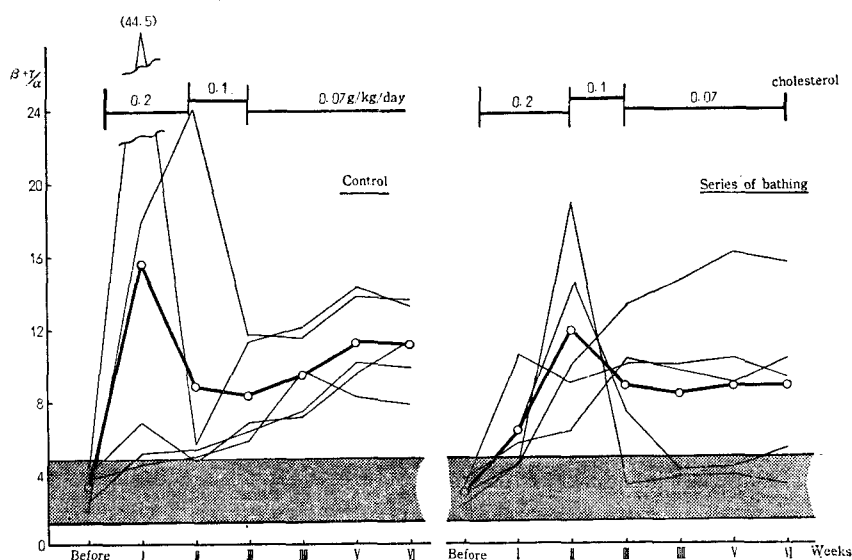
Table 23 Serum lipo-protein-fractions before and after radioactive thermal bath in cholesterol-fed rabbits.

No.	Fraction	Before	I	II	III	IV	V	VI Weeks
1	α	21.5	14.8	13.7	8.8	9.4	10.0	1.8
	$\beta + r$	78.5	85.2	86.3	91.2	90.6	90.0	98.2
	$\beta + r/\alpha$	36.5	5.75	6.3	10.4	9.65	9.0	10.4
2	α	23.0	8.7	10.0	9.0	9.2	8.8	9.8
	$\beta + r$	77.0	91.3	90.0	91.0	90.8	91.2	90.2
	$\beta + r/\alpha$	33.4	10.5	9.0	10.1	9.87	10.4	9.2
3	α	31.0	18.0	5.0	22.5	21.2	20.6	22.4
	$\beta + r$	69.0	82.0	95.0	77.5	78.8	79.4	77.6
	$\beta + r/\alpha$	2.22	4.55	19.0	3.44	3.72	3.85	3.46
4	α	26.5	18.0	9.0	7.0	6.4	5.8	6.0
	$\beta + r$	73.5	82.0	91.0	93.0	93.6	94.2	94.0
	$\beta + r/\alpha$	2.78	4.55	10.1	13.3	14.6	16.2	15.7
5	α	25.0	14.3	6.4	12.0	19.3	18.6	15.0
	$\beta + r$	75.0	85.7	93.6	88.0	80.7	81.4	85.0
	$\beta + r/\alpha$	3.0	6.0	14.6	7.34	4.18	4.37	5.66
Average	α	25.4	14.76	8.82	11.86	13.1	12.76	12.4
	$\beta + r$	74.6	82.24	91.18	88.14	86.9	87.24	87.6
	$\beta + r/\alpha$	2.998	6.270	11.82	8.916	8.404	8.764	8.884

Table 24 Serum lipo-protein-fractions before and after cholesterol feeding.

No.	Fraction	Before	I	II	III	IV	V	VI Weeks
6	α	34.5	5.3	4.0	8.1	7.7	6.6	7.0
	$\beta + \gamma$	65.5	94.7	96.0	91.9	92.3	93.4	93.0
	$\beta + \gamma / \alpha$	1.9	17.8	24.0	11.3	12.0	14.1	13.3
7	α	21.5	18.6	16.7	14.8	9.3	11.0	11.3
	$\beta + \gamma$	78.5	81.4	83.3	85.2	90.7	89.0	88.7
	$\beta + \gamma / \alpha$	3.65	4.37	4.99	5.76	9.7	58.1	7.85
8	α	29.6	16.5	16.5	14.0	11.8	8.9	9.3
	$\beta + \gamma$	70.4	83.5	83.5	86.0	88.2	91.1	90.7
	$\beta + \gamma / \alpha$	2.38	5.06	5.06	6.14	7.48	10.2	9.75
9	α	19.5	2.2	15.5	8.0	8.0	6.8	7.0
	$\beta + \gamma$	80.5	97.8	84.5	92.0	92.0	93.2	93.0
	$\beta + \gamma / \alpha$	4.12	44.5	5.45	11.5	11.5	13.7	13.3
10	α	21.0	13.0	17.0	13.0	12.1	9.4	8.2
	$\beta + \gamma$	79.0	87.0	83.0	87.0	87.9	90.6	91.8
	$\beta + \gamma / \alpha$	3.76	6.7	4.88	6.7	7.25	9.64	11.2
Average	α	25.22	11.12	13.94	11.58	9.78	8.54	8.56
	$\beta + \gamma$	74.78	88.88	86.06	88.42	90.22	91.46	91.44
	$\beta + \gamma / \alpha$	3.162	15.686	8.872	8.28	9.596	11.148	11.08

Fig. 11 Changes of serum lipo-protein-fractions following cholesterol-feeding and "a series of baths"



$\beta + \gamma / \alpha$ 比の増大を証明した。

扱て、温泉連浴のみによって血清蛋白の Albumin-分層の増加、 γ -globulin-分層の減少が認められる成績を得たが、「コ」連日投与によって惹起された動脈硬化症家兔の血清

蛋白分層並にリポ蛋白分層に於ける上述の変化が入浴群では明らかに抑制されたのは、温泉連浴による作用と考えて大過ないものと思われる。即ち、温泉浴は、実験的動脈硬化症家兔の蛋白代謝、脂質代謝を調整し、硬状粥

化症の発生に対し抑制的に作用するものと考
えられる。

(5). 結 論

著者は第1章記載の注意に従い、健康成人、健康成熟家兎、慢性多発性関節リウマチ患者の血清蛋白分層の測定を行った。

1. 関節リウマチ患者に於ては健康人 compared 血清蛋白分層の Albumin, β -globulin の

減少, α_2 -globulin, γ -globulin の増加が認められた。

2. 温泉入浴は血清蛋白分層の Albumin の増加, γ -globulin の減少を, リポ蛋白分層の $\beta + \gamma / \alpha$ 比の減少を来すことを認めた。

3. 温泉入浴は「コ」投与家兎の蛋白代謝, 脂質代謝を調整し, 実験的動脈粥状硬化症の発生を抑制することを証明した。

(本研究には文部省科学研究費の補助を受けた。記して謝意を表する。)

摺筆するに臨み御指導、御校閲を賜わった恩師森永教授に深甚なる謝意を表する。又、御協力、御援助をいただいた本研究所職員の方々、並びに終始御鞭撻を賜わった岡大附属病院薬局長前田謙一先生に厚く御礼申上げる。

(本研究の一部は昭和32年4月第22回日本温泉気候学会総会、昭和34年4月第24回日本温泉気候学会総会に於て発表した。)

文 献

- 1). 平井秀松, 島尾和男: 電気泳動法. 共立出版, 東京, 20頁, 1956.
- 2). E. Lederer & M. Lederer: Chromatography, London, Elsevier Publishing Company, 1957.
- 3). M. Lederer: Paper electrophoresis, London, Elsevier Publishing Company, 1957.
- 4). G. E. W. Wolstenholme & E. C. P. Millar: Paper electrophoresis, 183~196. London, J. and A. Churchill Ltd. 1956.
- 5). E. Afpuhn: Klin. Wschr., 33: 884. 1955.
- 6). E. Klein & F. H. Franken: Deut. med. Wschr. 80. 44. 1955.
- 7). 五味淵秀夫: 日大医誌, 15(12)154. 1956.
- 8). 森五彦: 薬誌, 73: 805, 1953.
- 9). 刈米達夫, 橋本庸平. 薬誌, 71: 436. 1951.
- 10). L. Gross: Nature, 172: 908, 1953.
- 11). M. C. Foster & G. C. Ashton: Nature, 172: 958. 1953.
- 12). 渡部東馬: 日医大誌, 25(2)1, 1958.
- 13). 小島津彦: 日大医学誌. 15 (12)110, 1956.
- 14). 陳武州, 葛西森夫, 山口逸郎: 臨床病理, 4(1) 52, 1956,
- 15). 坂本清, 齊藤絹子: 農化, 32(4)275, 1958.
- 16). 小林茂三郎: 最新医学, 10: 2181, 1955.
- 17). S. Sommerfelt: Scand. J. Clin. & Lab. Invest., 5: 106, 1953.
- 18). J. Goa: ibid, 4:310, 1952.
- 19). 小林茂三郎, 森五彦: 濾紙電気泳動法の実験, 南江堂, 東京, 1956.
- 20). S. Sommerfelt: Scand. J. Clin. & Lab. Invest., 5: 299, 1953.
- 21). Pierre G. Moinat & Elizabeth F. Tuller: Anal. Chem. 29 (11) 1655. 1957.
- 22). L. Gasbarrini P. Vanni: La Clinica Termale, 10 (4): 213, 1957.
- 23). G. E. W. Wolstenholme & Elaine C. P. Millar: Paper electrophoresis, 58~78. London, J. and A Churchill Ltd. 1956.
- 23). G. Riva: Das Serumeiweissbild: 270, 1957.
- 24). W. Geinitz: Klin. Wschr., 32: 1108, 1954.
- 25). S. Arbowp: Ann. inct. Pasteur, 87: 169. 1954. 19)より引用.

- 26). F. Scheiffarth und G. Berg: Z. ges. exp. Med., 119: 550, 1952.
- 27). 増田昇: 臨牀内科小児科, 12(7)671, 昭32., 13(1)61, 昭33.
- 28). H. Vogt und W. Amelung: Einführung in die Balneologie und Klimatologie, 1952.
- 29). L. N. Katz and J. Stamler: Experimental Atherosclerosis, 1953.
- 30). H. E. Ungerleider: Am. J. Med., 6: 60, 1949.
- 31). 森永寛外3名: 日温気会誌: 20 (4) 335, 昭32., 21 (4) 323, 昭33.
- 32). 松本欣之: 岡大温研報: (22) 1, 昭33., (23) 38, 昭33., (24) 1, 昭34.
- 33). 藤田平治郎: 綜合医学, 13 (7) 46, 昭31., 日血会誌: 18 (3) 232, 昭30.
- 34). 大島研三外6名: 内分泌と代謝, 1 (1) 125, 昭33.
- 35). Q. B. Dming et al: Am. J. Med., 26: 882, 1958.
- 36). 鈴木正道: 日大医学雑誌, 17 (6) 1120, 昭33.

Studies on Paper-analysis in the Field of Balneology.

(3) The Changes of the Serum Protein Fractions and Lipoprotein Fractions Following the Bathing in Radioactive Hot Spring

Maruo ISHIBASHI

Division of Internal Medicine, Balneological Institute,
Okayama University.

(Director: Prof. Dr. H. MORINAGA)

I. Some fundamental conditions and procedures on filter-paper electrophoresis were investigated. The electrophoretic apparatus of Natsume Seisakusho and Tōyō No. 51 filter-paper were used. Electrophoresis was carried out under the current of 0.25 mA/cm. in 300 Volt during 5 hours, using veronal buffer pH 8.6 ($\mu=0.05$). In measuring of serum protein fractions, the adequate volume of the materials loaded is in the range of 0.005~0.01 ml. and in the case of lipoprotein, 0.02 ml. of serum is used. Paper-strip was stained with bromophenol blue or sudan black B, then making it transparent with heat-solved paraffin and photometered by Nataume's densitometer. The reproducibility of the above-mentioned method with a confidence of 99% was as follows:

Serum protein fractions		Serum lipoprotein fractions	
Albumin	53.4 $\pm$ 1.8%	α	20.6 $\pm$ 2.6%
α_1 -Globulin	3.3 $\pm$ 0.3	$\beta + \gamma$	79.4 $\pm$ 2.6
α_2 -Globulin	6.0 $\pm$ 0.5		
β -Globulin	12.2 $\pm$ 0.7		
γ -Globulin	25.1 $\pm$ 1.1		

II. Changes in serum protein fractions and lipoprotein fractions following the radioactive hot spring bathing were as follows:

- 1). In rabbits, the albumin-fraction of serum protein increased after a series of baths in radioactive hot spring, and the β - and γ -globulin-fractions decreased.
- 2). By cholesterol-feeding, the albumin-fraction of serum protein of rabbits decreased and the β - and γ -globulin-fractions increased significantly but when a

series of baths was carried out in cholesterol-fed rabbits the decrease in the albumin-fraction was slighter than the former.

3). α -globulin-fraction of serum lipoprotein increased after single bathing in radioactive hot spring and $(\beta+\gamma)$ -globulin-fractions showed an inverse change, but the changes of lipoprotein-fractions following a series of baths were not remarkable.

4). By cholesterol-feeding, the ratio of lipoprotein-fractions $(\beta+\gamma/\alpha)$ increased, but the ratio tended to decrease following a series of baths in radioactive hot spring.
