動物臓器組織の体外電位測定に就て

岡山大学医学部細菌学教室主任（村上 栄 教授）

山本 穰　近祖康喜

赤沢 廣　金久禎記

〔昭和28年12月26日受稿〕

目　次

Ⅰ 緒　言
Ⅱ 実験材料及び実験方法
Ⅲ 実験成績
1. Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化
2. Glucose 添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化
3. 家兎血清添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化
4. 鶏胎児抽出液添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化
Ⅳ 総括及び結論
参考文献

Ⅰ 緒　言

1907年，Harrison[1]が生体外に於て，組織の培養が出来ることを報告して以来，組織培養の様式及び培養基については，幾多の研究が行はれ，又，その応用方面も広い分野をもつに至つた．而して，1938年には Ries[2]が，各種動物臓器，並びにその組織細胞の電位を測定したが，彼は固形培地に於て，又は試薬を用ひて，電位並びに pH を測定して居る．又，関は，試薬を用ひて組織の酸化還元電位を測定して居る．[3,4]

組織細胞は一時的には，生理的食塩水中に於ても生存することが出来るが，Ringer, Lock, Tyrode 液等の中に於ては発育することも可能である．[5] そこで余等は，Tyrode 液を使用し，尚，之に発育促進物質を添加した場合の動物臓器組織の呼吸，或は発育時に於ける電位測定を行つた．勿論，組織培養液に添加する物質の種類に従つて，異る電位を示すであらうことは当然予測出来る．今回は Tyrode 液，及び，之に Glucose，血清，鶏胎児抽出液を添加したものに，海猽の肝臓及び腎臓を培養した場合の電位を測定した成績を述べる．

Ⅱ 實驗材料及び實驗方法

実験材料は，海猽の肝臓並びに腎臓を，培養液は，pH7.6 の Tyrode 液を使用した．

実験装置は，著者発表の"電位測定による抗菌性物質の検定法"第Ⅰ編（第1図）と同様の装置にて測定した．

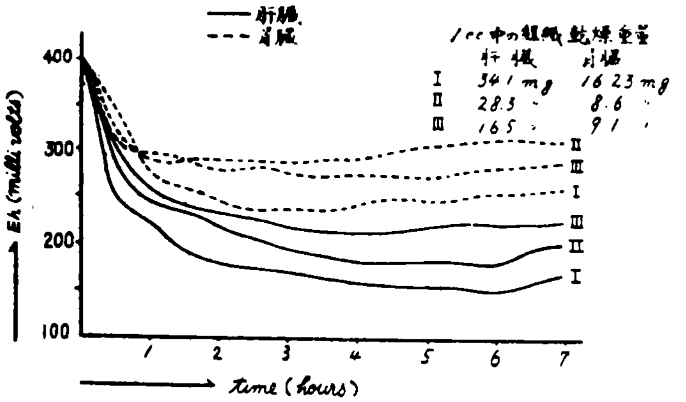
実験方法は，先づ，海猽の肝臓並びに腎臓を無菌的に取り出し，滅菌せる Ringer 液（pH7.6）にて冷却しながらよく洗ひ，これを尖刃にて薄い（厚さ 0.5mm.～1mm）切片とし，これを又，よく Ringer 液にて洗ひ，30cc の Tyrode 液内に投入し測定する．測定時間は，30分毎に測定した．組織の 1c.c. 中の重量は，測定後，組織を濾紙上に置き，130°C，30分にて乾燥，秤量し，1c.c. 中の重量を換算する．

Ⅲ 實驗成績

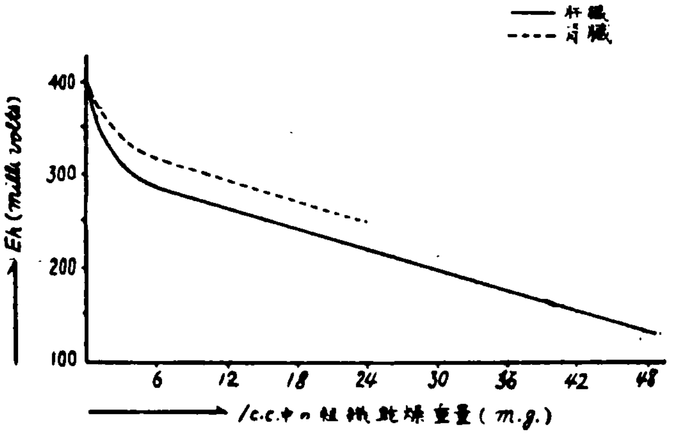
1. Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化

前述の方法にて，海猽の肝臓並びに腎臓の電位を測定したところ，第1図の如く，肝臓

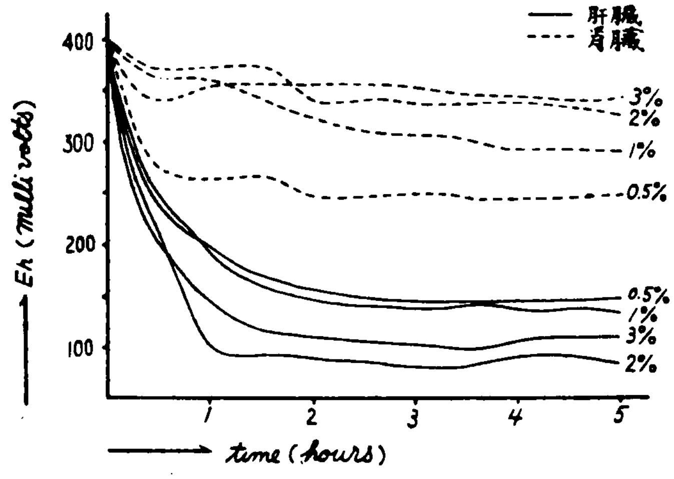
第1図　Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の電位—時間—曲線



第2図　海猽の肝臓並びに腎臓の 1c c. 中の組織乾燥重量による平均電位の比較



第3図　Glucose 添加 Tyrobe 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の電位—時間—曲線



(I) は起始電位 (+) 397m. v. より急速に下降し，2時間 (+) 185m. v. を示し，後除々に下降，6時間 (+) 150m. v. なるも，急に上昇，7時間 (+) 172m. v. を示した．これは，前述の方法にて 1c. c. 中の肝臓の重量を測定したところ，1c.c. 中 34. 1mg. である．

肝臓 (II)，(III) に於ても同様 1c.c. 中の肝臓の重量により電位曲線が次第に下降して居る．これは腎臓に於ても又同様の成績結果を得た．尚，実験を繰返して見たところ，3時間あたりより電位が略々安定して来ることを知つたので，3時間後の平均値を求め，第2図の如く，横軸に 1c.c. 中の臓器の重量を，縦軸に電位を取り，その図表上に先の値を求めると，大体第2図の如き曲線が得られる．肝臓は 1c.c. 中 50mg. までを求め，腎臓は 24mg. までを求めた．この図よりして，肝臓と腎臓の同重量に於ける電位を比較して見ると，28m. v. 海猽に於ては肝臓より腎臓の電位が高いことを示した．

2.　Glucose 添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化

第3図に示す如く，肝臓に対し3%の Glucose を添加したものは，起始電位 (+) 405m. v. より急速に下降し，1時間半 (+) 118m. v. を示し，後除々に下降，3時間半少し上昇して5時間 (+) 110m. v. を示した．1c.c. 中の組織重量は 45mg. である．又，2% Glucose を添加したものは，起始電位 (+) 408m. v. より急速に下降，1時間 (+) 100m. v. を示し，後除々に下降し，3%添加の電位—時間—曲線と同様に，3時間半少し上昇し，5時間 (+) 85m. v. を示す．而し，3% Glucose 添加の場合より低い電位を示すのは，1c.c. 中の組織の量が多いためと考へられる．これは，電位測定後に於て，組織の重量を秤量するためである．このため，3時間後の電位の平均値を求めて，前述の第2図に示す曲線に，その 1c.c. 中の重量に対する電位の平均値をあてはめて見ると，第1表に示す如く，

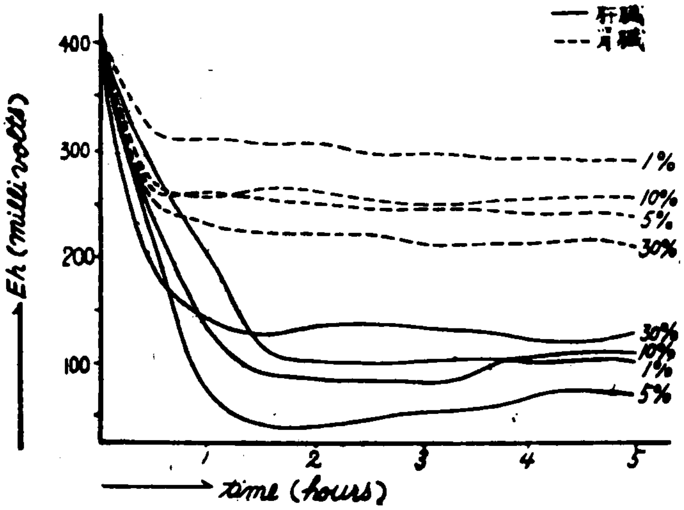
第1表　Glucose 添加せる場合と添加せざる場合との比較

添加せる濃度	肝 臓			腎 臓		
	1c.c.中の組織乾燥重量	添加せる場合の電位	添加せざる場合の電位	1c.c.中の組織乾燥重量	添加せる場合の電位	添加せざる場合の電位
3 %	45 mg.	(+) 105m.v.	(+) 142m.v.	8.6 mg.	(+) 342m.v.	(+) 305m.v.
2 %	45.7 〃	(+) 85 〃	(+) 140 〃	9.8 〃	(+) 332 〃	(+) 300 〃
1 %	38.6 〃	(+) 140 〃	(+) 162 〃	5.6 〃	(+) 300 〃	(+) 315 〃
0.5 %	36.6 〃	(+) 143 〃	(+) 170 〃	8 〃	(+) 246 〃	(+) 308 〃

Glucose 添加せざる場合の電位と，添加せざる場合の電位を比較して見ることが出来る．即ち，3%添加した場合は表に示す如く，37m.v. 添加せざるものより低い電位を示す．2%，1%，0.5 %の Glucose を添加したものも同様である．而し，腎臓に於ては，第3図及び第1表より見て，3%，2% Glucose を添加したものは，添加せざる場合の電位より高い電位曲線を示すが，1%，0.5 %添加したものは，添加せざる場合の電位より低い電位曲線を示す．

3．家兎血清添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化

第4図　家兎血清添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の電位—時間—曲線



第4図に示す如く，肝臓に対し30%の血清を添加した場合は，起始電位（+）398m. v. より急速に下降し，1時間半（+）127m. v. を示し，後一時少し上昇，又，後除々に下降し，5時間（+）130m. v. を示す．又，10%血清添加の場合は，起始電位（+）400m. v. より急速に下降し，2時間（+）85m. v. を示すが，後除々に上昇し，5時間（+）110m. v. を示し，30%添加の場合の電位より低い電位を示す．而し，1c.c. 中の組織の重量は 30 %，33.8mg. 10 %，47.5mg. であるため 10 %添加の場合の電位の方が低い．而し，前者と同様にして電位を比較して見ると，第2表に示す如く，30%添加のものは 50m. v.，10 %添加のものは 25m. v.，血清添加せざる場合の電位より低いことを示して居る．又，腎臓に於ても肝臓と同様の成績が見られる．

4．鶏胎児抽出液添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の時間電位変化

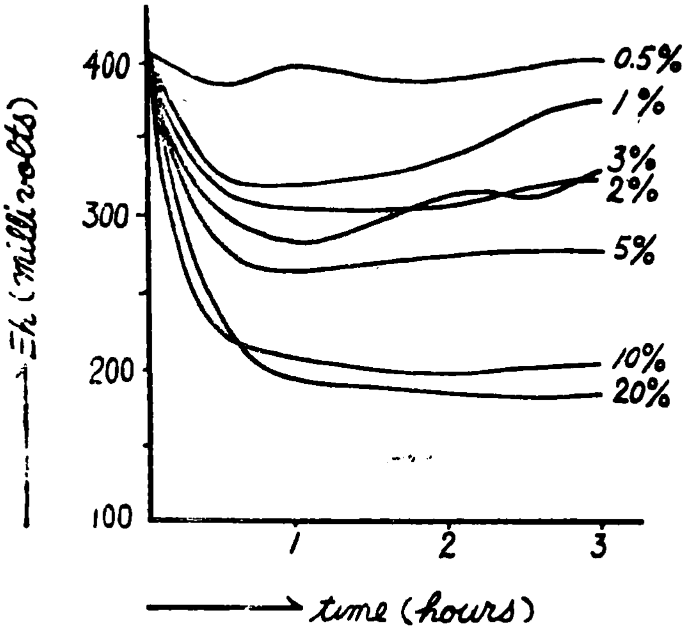
鶏胎児抽出液は，孵化鶏卵を細菌培養恒温器（37.5°C）の内に入れ，10日経過した鶏卵より，無菌的に鶏胎児を取り出し，冷却せる無菌的 Ringer 液（pH 7.6）内にて良く洗

第2表　家兎血清添加せる場合と添加せざる場合との比較

添加せる濃度	肝 臓			腎 臓		
	1c.c.中の組織乾燥重量	添加せる場合の電位	添加せざる場合の電位	1c.c.中の組織乾燥重量	添加せる場合の電位	添加せざる場合の電位
30 %	33.8 mg.	(+) 130m.v.	(+) 180m.v.	16.1 mg.	(+) 217m.v.	(+) 245m.v.
10 %	47.5 〃	(+) 108 〃	(+) 133 〃	11 〃	(+) 251 〃	(+) 297 〃
5 %	51 〃	(+) 75 〃	(+) 120 〃	11.8 〃	(+) 247 〃	(+) 293 〃
1 %	43.5 〃	(+) 103 〃	(+) 146 〃	6.1 〃	(+) 296 〃	(+) 315 〃

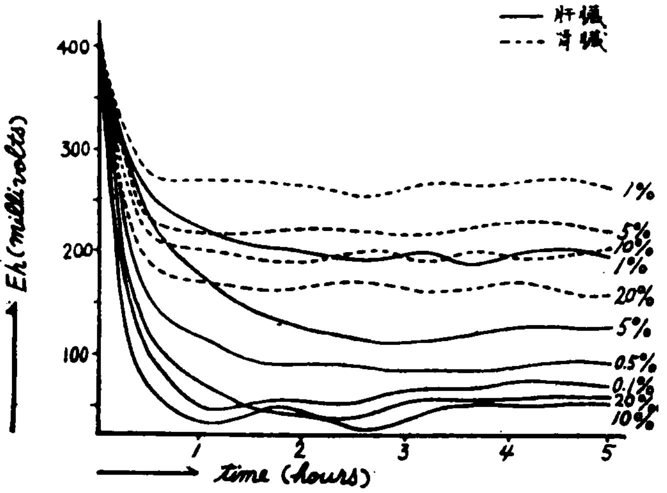
ひ，Homogenizer（2分間）にて冷却しながら破壊し，遠心沈澱（2,500回転，15分間）にて細胞を沈澱させ，上清，即ち抽出液を取り，魔法壜の内に保存する.[6]

第5図　Tyrode 液に鶏胎児乳剤を添加した場合の電位－時間－曲線



第5図は Tyrode 液（30c c.）内に，恒温器に入れて10日経過した鶏卵の鶏胎児乳剤を添加した電位—時間—曲線を示す．乳剤にして Tyrode 液に添加するまでの時間は1時間，操作は総べて氷上にて冷却しながら行つた．この図に示す如く，乳剤の添加濃度により，電位は下降することを示した。

第6図　鶏胎児抽出液添加 Tyrode 液内に於ける海猽の肝臓並びに腎臓の電位—時間—曲線



第6図は，鶏胎児抽出液を添加して海猽の肝臓，腎臓の電位—時間—曲線を示したものである．肝臓に於ては，20％抽出液を添加した場合，起始電位（+）406m.v. より急速に下降し，1時間（+）35m.v. を示し，後徐々に上昇して，5時間（+）67m.v. を示す．10％添加の場合は，起始電位（+）411m.v. より急速に下降，後徐々に下降して，2時間半（+）30m.v. を示し，後徐々に上昇，5時間で（+）58m.v. を示し，20％添加のものより低い電位を示す．而し，前者と同様にして電位を比較して見ると，第3表に示す如く，20％添加の場合は 87m.v.，10％添加の場合は 78m.v.，抽出液添加せざる場合の電位より低い電位を示す．5％，1％，0.5％，0.1％添加した場合も同様であり，又，腎臓に於ても20％，10％，5％，1％共に同様の成績を示した.

第3表　鶏胎児抽出液添加せる場合と添加せざる場合との比較

添加せる濃度	肝臓			腎臓		
	1c.c.中の組織乾燥重量	添加せる場合の電位	添加せざる場合の電位	1c.c.中の組織乾燥重量	添加せる場合の電位	添加せざる場合の電位
20 ％	43 mg.	(+) 63m.v.	(+) 150m.v.	21 mg.	(+) 160m.v.	(+) 259m.v.
10 ％	49.6 〃	(+) 50 〃	(+) 128 〃	16.8 〃	(+) 190 〃	(+) 277 〃
5 ％	41 〃	(+) 90 〃	(+) 155 〃	5.8 〃	(+) 225 〃	(+) 315 〃
1 ％	20.5 〃	(+) 188 〃	(+) 226 〃	8.4 〃	(+) 260 〃	(+) 305 〃
0.5％	50.2 〃	(+) 81 〃	(+) 125 〃			
0.1％	49 〃	(+) 80 〃	(+) 129 〃			

Ⅳ　総括及び結論

以上の実験成績より，海猽の肝臓は腎臓より活動力が盛んと考へられる．これは第1，2図より見て，1c.c. 中の組織重量が同様の場合の電位は，肝臓の方が腎臓の電位より28m. v. 低い．この成績から見て，臓器別の電位を比較して見ることが出来ると考へられる．而して，Tyrode 液内に於ては，ある程度，組織細胞は成長することが出来ると考へられているが，この場合の増殖は，細胞自己の栄養分を使用して行はれる細胞の残生と考へられて居る.[6] 而し，Tyrode 液内に，組織発育促進物質を添加した場合に於ては，本来の増殖が見られる．本実験に於て，Tyrode 液に Glucose を添加した場合は，肝臓は組織細胞の代謝が旺盛となり，Tyrode 液の場合に比し，より電位が下降する．而し，腎臓に於ては，高張な Glucose の場合は，電位が添加せざる場合の電位より上昇する．即ち，Glucose 3%，2%に於ては，添加せざる場合の電位より高く，又，1%，0.5%の場合は，低い電位を示す．次に第4図，第2表に示す如く，血清を添加した場合は，肝臓並びに腎臓の組織共に代謝が盛んになり，血清を添加しない場合に比し電位はより低下する．又，鶏胎児抽出液を添加した場合は，第6図及び第3表の如く，添加せざる場合の電位より低い電位を示し，而も，血清添加の場合より更に低い電位を示した．即ち，鶏胎児抽出液は，組織培養に対し組織の発育促進物質として，極めて有効なものであることが窺はれる

結　　論

1）酸化還元時間電位測定により，動物組織の機能を検することが出来ることを知つた．

2）海猽の肝臓の電位は，腎臓の電位より28m. v. 低い．

3）Glucose，血清，鶏胎児抽出液は，海猽の肝臓並びに腎臓の電位を下降せしめる．而して，電位下降効果は，Glucose＜血清＜鶏胎児抽出液の順である．但し，Glucose は，高濃度にては腎臓組織の電位を反つて上昇せしめる．

（本論文の要旨は1954年4月，第27回日本細菌学会総会に於て演述した）

参　考　文　献

1) Harrison, Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 4, 140, 1907.
2) E. Ries., Grundriss der Histophysiologie, 63, 1938.
3) 関　正次；組織検査法と物化学，48.
4) 楠原良雄・日組録，1. 昭和25年.
5) 木村　廉　組織培養之研究，11.
6) 木村　廉　組織培養，5.