

高圧の赤血球に及ぼす作用に就ての研究

其 の 五

溶 血 反 応 に 就 て

生理学教室 (主任 林教授)

専攻生 大 和 人 士

[昭和 27 年 4 月 15 日受稿]

第一章 緒 言

高圧が生活組織、特に人赤血球 (R) の形質膜に如何なる作用を及ぼすやに関しては、既に赤血球沈降反応、赤血球の比重、荷電、カリウム含量等から種々考察を行つて来たのであるが、更に溶血反応を利用して、高圧の形質膜に及ぼす作用機序を窮明したいと思つた。この方面に関する研究は Ebbecke¹⁾ のみであつて、それも 1000-2000 Atm. の高圧の場合に R は溶血をおこし、又 *mechanische Ladierbarkeit* の低下を来すと仰つておられるにすぎない。

元来 R の透過性を定める方法としては (1) 細胞内部の可視状態の変化 (2) 酸素消費率の如き生理状態の変化 (3) 電気的の変化 (電導度, *Cataphoresis*) (4) 化学組成の変化 (5) ヘマトクリット法等色々あるが、溶血法が最も便利であるといわれる (Jacobs¹⁷⁾)。

溶血法による R 膜の抵抗測定法は大別して 2 とすることが出来る。

1 は 1873 年 Malassez に始まり Simmel³⁷⁾ に依り系統的に研究された血球計数法であつて、低張液中に残存する R 数を算定する方法である。他の一つは色素計量法 (仏派により *la méthode de l'échelle chromatique* と云われる) とよばれる方法であつて、低張液中で溶血せる R の遊離ヘモグロビン量を以て溶血の度を測る方法である。この方法は Hambürger¹⁸⁾¹⁴⁾ に依り系統的に研究されている。

以下私は后者の方法による実験を、主に *makroskopisch Kolorimetrisch* に行つた。

第二章 装置、材料並びに方法

肘静脈より採血せる人血液を、結晶化せる枸橼酸ソーダを有する試験管中に注入して 5% 枸橼酸ソーダ加血液となし、予め作製せる低張食塩水の 2 系列中にて稀釈して、その一を加圧用 (E)。他を対照用 (K) として、E を高圧ポンプ中にて加圧した後取出して、E、K 同時に遠心分離を行つて上澄中の Haemoglobin (Hb) による着色を比色法によつて、予め作つてある Hb-Skala と照合して溶血度を定めた。

初期の内は、加圧后取出した血液と K とに就て、溶血反応を試み、18 時間後の成績を以て判定していたのであるが、こうすると単なる *osmotische Resistenz* (Or) のみならず、使用せる NaCl による *lyotrope Wirkung* (Brinkmann⁶⁾)。更には細菌の感染に依る影響等を考へねばならぬことが分り、又 Hs 度 (溶血度) の判定上に不十分なる点を認めたので、上述の如く、予め低張食塩水に血液を加へたものをその儘加圧することに依り、溶血に及ぼす高圧の影響をより正確に判定することが出来る様になつた。

尚最初 E は 0.6% NaCl 液を蒸溜水にて遞減的に稀釈して 0.50-0.28% のものを 0.02% の間隔にて 12 作本り、その全部をポンプに入れて加圧していたが、全操作に 10 数分を要するため 0.28% の様な低張度の高度な材料では加圧に至らぬ内に 100% 溶血 (完全溶血) を生じ、加圧の影響が全く現はれぬことが分り、更に 0.42% 附近の如く中等度溶

血を起すものも、加圧操作完了迄に大部分の溶血を起し、所期の目的に副わぬことを知つた。

そこで溶血迄に可成りの時間を要し、且つその成績が比色法に依て正確に認め得る範囲として、0.40-0.42-0.44-0.46%の4つについて加圧を試みた。之は Hünter a. Pahigian¹⁹⁾の行つた溶血に及ぼす加熱の影響に関する実験成績に於ても適當の低張度の時、実験例と対照例との差が最も良く分ることからヒントを得たのである、Kは0.50-0.28%の12本全部について溶血反応を試みた。

尙低張食塩水に材料を加へてから加圧開始迄の時間は2-4分であつて、大部分は3-3.5分で完了した。

以下実験条件に就て若干記述する。

溶血反応(Hs)を論ずるに當つては、溶血剤の量、それに依りHsを受ける血液の量的關係が極めて大切である。又Hsを完了する迄の時間も問題となる(Ponder³⁰⁾。

1. 稀釈度に関しては、1:5(Grote¹²⁾)-1:500(Jacobs a. Parpart¹⁶⁾)等区々であつて、1:40-1:200の間が最適なりとされているが(Simmel³⁷⁾)、稀釈度より寧ろ使用する試験管の大いさ、厚さ、液量に依て比色しやすい稀釈を求むべきものであるから、私は液層の厚さ4.8mmの小ガラス管を用いた關係上15-25倍稀釈、特に后者を使用することにした。

2. 時間に関しては、Rと溶血剤間に完全な平衡状態を表わしてくる為には、低張Hsの場合少くとも20-30分を必要とし、数時間以上たつとAütolyse(Spontan-Hs)を生ずる為に結果が不正確となる、従つて30-180分を最適とされているが、私は40-60-120-150分(特に60と120分)を使用した。

3. 温度は室温を最適とするとされているので、之に従つた。

4. 溶血経過を表示する方法は色々あるが、グラフ式に表わすことに関しては、Arrhenius及Madsen²⁾が血液毒によるHs度の決定に使用し、后Snapper³⁸⁾が始めて抵抗の決定に

使用せる方式に従つた。即ちR浮遊液の一定量に蒸溜水を加へ(R浮遊液対蒸溜水の割合はR浮遊液対低張食塩水の稀釈率と同一とす)て完全Hsを起した液をHs度100の基準液とし、之を適當に薄めて色々のHs度の液を得た。例之基準液1:蒸溜水1をHs度50となす。而して低張食塩濃度(%)を横軸に、Hs度を縦軸にとつて図示することにした。Coülter⁹⁾によると15-80%Hs度は正確にきめうるが、それ以上になると比色法では決め難いので遠心分離をして沈渣中のRの存否を確めなければならぬという。

5. さてこの様にして求めたK、Eの値の差の有意性如何という問題が起つてくるが、一般臨床的方法では0.06-0.1NaCl%以上の差を以て有意と見做す様である。しかし方法に注意を払ひさえすればJacobs a. Parpart¹⁸⁾の云う如く0.0002Mol. NaCl即ち0.00117%の差を區別することが出来るのであるから、私の場合の如き0.002-0.02%の差(0.004-0.01%が最多)は有意としてよいと考へる。

6. 成績の表示はNaClの%その儘を用ひ、最少抵抗(Min. R.)とはHb遊出の起らぬ無色の管の内の一管%の低いNaClの値、最大抵抗(Max. R.)とは完全Hsを起した一番%の高いNaClの値を示すこととした。又Min. R.とMax. R.との差を抵抗閾値(Resistenzbreite)として表はした。

血液は健康人及病人から採血し、実験期間は1948年11-12月及1949年7-12月迄であるが主に11、12月の成績を示すことにした。

第三章 成績

1. 300気圧で加圧した後取出した血液を以てするHs

第2例を除く11例の青壯年健康男子(21-32才)に就て行つたHsの成績は表1の如くである。

表1から分る様にEの方が何れもMin. R.値が大である。即ちEの方がKよりHsに対する抵抗を減じている。しかしMax. R.は

表 1

例	区 分	NaCl-Konzentration (%)											min. R.	max. R.	抵 抗 閾 値	
		0.52	0.50	0.48	0.46	0.44	0.42	0.40	0.38	0.36	0.32	0.28				0.24
1	E	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	0.44	0.32	0.12
	K	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	0.42	0.32	0.10
2	E	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0.40	?	-
	K	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	0.38	?	-
3	E	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	0.46	0.36	0.10
	K	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	0.42	0.36	0.06
4	E	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	0.44	0.32	0.12
	K	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.42	0.32	0.10
5	E	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	0.46	0.32	0.14
	K	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	0.42	0.32	0.10
6	E	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0.42	0.32	0.10
	K	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	0.41	0.32	0.09
7	E	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.50	0.38	0.12
	K	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	0.48	0.36	0.12
8	E	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.48	0.38	0.10
	K	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	0.47	0.38	0.09
9	E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?	0.48	-
	K	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?	0.48	-
10	E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.50	0.42	0.08
	K	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.48	0.40	0.08
11	E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.50	0.40	0.10
	K	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.48	0.40	0.08
12	F	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.50	0.40	0.10
	K	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0.48	0.40	0.08

備考 溶血度は - 溶血せず ± 不明 + 軽度溶血 ++ 中等度溶血 +++ 完全溶血

2例を除いてK, Eに間に差を認めることが出来なかつた。之は上述の如く80% Hs以上は肉眼では判定し難いことと、判定方法が后述のものと異なり不完全なる為と考へられる。表1は18時間後の成績であるが、その中間におけるHsを見てみると、Max. R. においてもEの方がKより若干溶血を起し易いことが分つた。

従つて、抵抗閾値は大部分がE > Kの關係となつた。

第2例は肺結核兼喉頭結核の患者であつて、本実験后2週間で死亡した48才の男であつ

て、E, Kの關係は健康例同様であるが、そのMax. R. が異常に高い為、実験の範圍ではその値を求めることが出来なかつた。

次に健康人の各例について F/K を求めてみると表2に示す様であつて、第9例のみは異常に抵抗が弱くMin. R. を求めることが出来なかつたので除外した。即ちMin. R. の平均値は1.049(標準偏差0.028)。Max. R. の平均値は1.011(標準偏差0.020)である。

以上の成績から見ると加圧Rの方がHsを起し易い様な観を与へるが、上述の様に判定方法の不備及び判定を長時間后になしている

表 2.

例	Min. R. E/K	M-E/K	(M-E/K) ² × 10 ⁶	Max. R. E/K	M-E/K	(M-E/K) ² × 10 ⁶
1	1.05	-0.001	1	1.00	-0.011	121
3	1.10	-0.051	2601	1.00	-0.011	121
4	1.05	-0.001	1	1.00	-0.011	121
5	1.10	-0.051	2601	1.00	-0.011	121
6	1.02	-0.029	841	1.00	-0.011	121
7	1.04	-0.009	81	1.06	-0.049	2401
8	1.01	-0.039	1521	1.00	-0.011	121
10	1.04	-0.009	81	1.05	-0.039	1521
11	1.04	-0.009	81	1.00	-0.011	121
12	1.04	-0.009	81	1.00	-0.011	121
M	1.049	計	7890	1.011	計	4890
n	10			10		
δ			0.028			0.022

M は算術平均 n は例数 δ は標準偏差を示す

ことから、単なる Or の成績とは云へず、lyotrope Wirkung, 細菌感染, Aütolyse 等の影響をも考へねばならない。

そこでポンベ内にて加圧しつつ行う Hs の実験を行った。

2. 血液を 300 気圧で加圧しつつ行える Hs.

- (1) 健康人血を以て行える Hs (表 3 (1),
- (2). 図 1, 2)

先づ健康人血を以て Hs 実験を行うことにしたが、この場合考へなければならぬことは、Hamburger¹³⁾¹⁴⁾ の云つた primäre Resistenzkurve と Sekundäre Resistenzkurve についての考察である、即ち前者はリンゲル等にて洗

滌 (2500 r. p. m. × 5 分で 2 回注滌) した血球による Hs であり、后者は血液その儘による Hs である。

表 3 及図 1, 2 から分る様に各例共程度の差はあるが、Eの方がKより Hs を起し易いことが分る。

そして加圧時間 (40 分-2.5 時間) の違ひによつては大した差異を認めることが出来ない。又 primäre Resis. と sekund. Resis. とに於ても本質的な違ひが認められない。

尙この場合の K の Min. R. は 0.46-0.50 NaCl %, Max. R. は 0.32-0.36 NaCl % で抵抗閾値 (Min. R. - Max. R.) は 0.18-0.16 NaCl % となつた。

表 3.

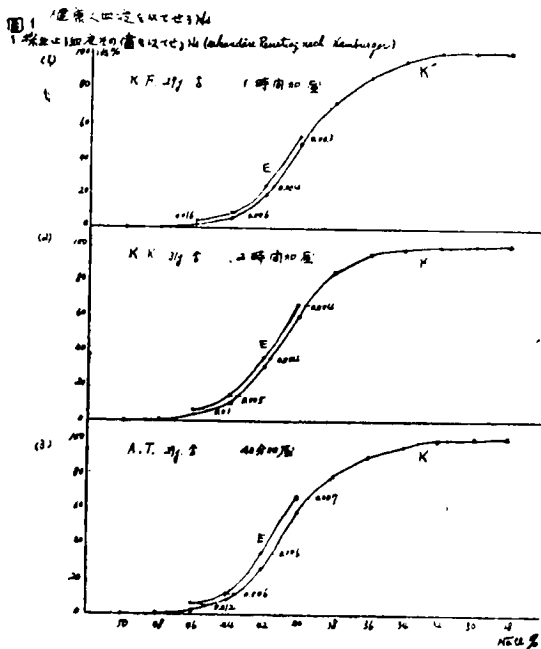
(1) 採血せる血液その儘を以てせる Hs. (Sekundäre Resistenz nach Hamdurger)

例	区 分	NaCl-Konzentration (%)												min. R.	max. R.	抵抗 閾値
		0.50	0.48	0.46	0.44	0.42	0.40	0.38	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28			
1	E			4	7	24	52		(60分)							
	K	0	0	2	5	18	49	71	85	95	100	100	100	0.48	0.32	0.16
2	E			6	14	36	66		(120分)							
	K	0	2	4	9	31	60	85	95	100	100	100	100	0.50	0.34	0.16
3	E			6	11.5	34	66		(40分)							
	K	0	0	4	7.5	25	58	78	89	95	100	100	100	0.48	0.32	0.16

(2) リンゲル液を以て洗滌せる血球による Hs. (primäre Resistenz nach Hamburger)

例	区 分	NaCl-Konzentration (%)												min. R.	max. R.	抵抗 閾値
		0.50	0.48	0.46	0.44	0.42	0.40	0.38	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28			
1	E			2	7	14	30		(40分)							
	K	0	0	0	5	11	25	48	74	92	97	100	100	0.46	0.30	0.16
2	E			3	7	24	55		(40分)							
	K	0	0	0	3	16	44	76	90	97	99	100	100	0.46	0.30	0.16
3	E			5	16	36	66		(60分)							
	K	0	1	3	10	29	56	80	97	100	100	100	100	0.50	0.34	0.16
4	E			12	42	78	92		(120分)							
	K	0	2	7	34	74	89	97	100	100	100	100	100	0.50	0.36	0.14
5	E			20	39	64	82		(150分)							
	K	3	6	15	30	58	76	89	97	100	100	100	100	0.50<	0.34	0.16<
6	E			12	32	66	84		(150分)							
	K	0	2	7	26	60	80	90	95	99	100	100	100	0.50	0.32	0.18

備考 1. E, K 欄の数字は Hs 度とす。E 中 (分) は加圧時間を示す。
 2. 例 5 の min. R. は 0.50 以上なれば閾値は 0.16 以上なるも本実験では不明なり。



(2) 患者の血液を以て行える Hs (表 4 (1), (2) 及図 3, 4)

次に種々の疾患に罹れる患者の血液に及ぼす加圧の影響を見る為に、胸部疾患及その他の疾患の二群に分つて行つてみると表 4 及図 3, 4 から分る様に、健康者の場合同様 E の方が K より Hs を起しやすいたことが分つた。そして E と K との関係は健康者と患者の場合

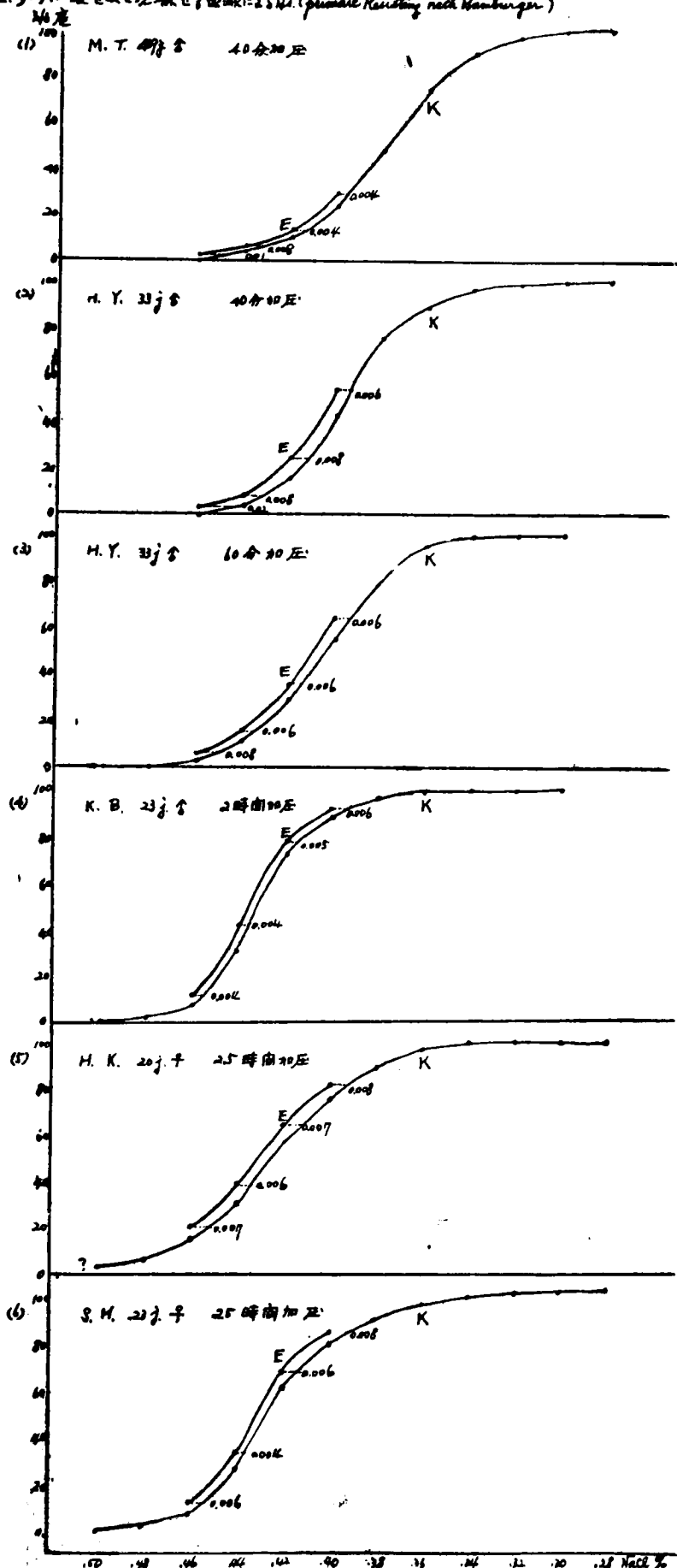
とで著しい差異を認めることが出来なかつた。尙 K の Min. R. は 0.48-0.52 (大部分は 0.50) NaCl % Max. R. は 0.28-0.38 NaCl % で、抵抗閾値は 0.18-0.22 NaCl % となっているから、健康者血に比して患者の方が抵抗が全般的に弱まつており、且閾値は稍々拡大しているのであるが、圧による影響の受け方には差異がないことは興味がある。

3. 2 の各群について、 E/K を求めてみると表 5 の如くである。之を各 NaCl % 毎に眺めて見ると、その他の疾患を除いて大体同一の比となっている。尤も 0.46 NaCl % は Hs 度が小なるため僅かの差も比では大となる為、可成りの差が認められる。即ち上述の如く加圧の影響は健康血でも患者血でも同一の傾向を示すと述べたことを立証している。

4. 更に図 1, 2, 3, 4 から E に使用せる NaCl % における Hs 度と同一の Hs を起す K の NaCl % を求め、之を E-K として表はして見ると、表 6, 図 5 の様になる。即ち各群に於ける個々の値には可成りの差違を認めるが、平均値 M については 0.46 NaCl % を除けば、各群共殆んど全く同程度 (0.006

図2. 健康人血球を以てせるH₂

2.9-gal 液を以て洗滌せし血球に於ける (pH 7.4 (pH 7.4 nach Hamburger))



-0.007% NaCl) 'と云つてよいことが分る。尙0.46%の場合も(1)を除くとよく似た値となつてゐる。以上の結果を綜合すると、Kに於ては差違が認められる健康人血と患者血とに於ても、又健康人血では血球その儘の場合とリンゲルにて洗つた場合とに於ても、圧の影響は何れも同一の傾向、即ち圧を加へられたRの方がKに比し低張食塩水によるH₂を起し易いということが出来る。

尙Kに於て患者血が健康血より抵抗が若干弱く、閾値が大であることは赤沈の促進と何等かの関係があるのかも分らないが本論では触れないことにする。

第四章 考 察

R膜の溶血抵抗測定法の内、色素計量法の研究に初めて塩類を使用したのは仏人 Chanel (1880) であるが、之とは別に独人 Hofmeier (1882), 和蘭人 Hamburger (1883) がこの方法によつて、各独立して研究を行ひ、就中 Hamburger は系統的研究を進めて Min. R. の概念を確立した。Max. R. の概念は1887年に至つて Mosso によつて確立された (Simmel³⁷⁾)

しかし低張溶血の本態及溶血剤の作用機序即ち侵襲点及Rがそれによつて溶血を起す起し方等は未だ不明であつて、尙全く仮説の域

表 4. 患者の血液を以てせるHs (1) 胸部疾患々者の場合

例	区 分	NaCl-Konzentration (%)												min. R.	max. R.	抵抗 閾値	
		0.50	0.48	0.46	0.44	0.42	0.40	0.38	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28				
1	E			20	40	58	72		(1時間)								
	K	0	1	15	34	42	68	82	91	96	99	100	100	0.50	0.30	0.20	
2	E			16	27	45	68		(1時間)								
	K	0	4	11	22	37	60	80	86	90	96	98	99	0.50	0.28	<0.22<	
3	E			11	23	39	60		(2時間)								
	K	0	2	7	17	23	53	72	86	93	97	100	100	0.50	0.30	0.20	
4	E			11	21	35	58		(2.5時間)								
	K	0	1	6	17	29	50	74	90	94	95	99	100	0.50	0.28	0.22	
5	E			25	58	87	97										
	K	0	2	21	54	83	95	100	100	100	100	100	100	0.50	0.38	0.12	

備考 例1 21才♀ 肺浸潤 赤沈26×60 平均値 28.0
 // 2 42才♂ 肺結核 // 65×87 // 54.3
 // 3 40才♂ 肺浸潤 // 15×34 // 16.0
 // 4 37才♂ 肺結核 // 86×108 // 70.0
 // 5 23才♀ 気管支炎 // 16×38 // 17.5

表 4. 患者の血液を以てせる Hs (2) その他の疾患々者の場合

例	区 分	NaCl-Konzentration (%)												min. R.	max. R.	抵抗 閾値	
		0.50	0.48	0.46	0.44	0.42	0.40	0.38	0.36	0.34	0.32	0.30	0.28				
1	E			5	15	32	60		(2時間)								
	K	0	1	2	13	29	56	85	92	98	100	100	100	0.50	0.32	0.18	
2	E			14	44	76	94		(2時間)								
	K	0	2	9	38	68	90	96	98	99	100	100	100	0.52	0.32	0.20	
3	E			4	10	25	44		(2時間)								
	K	0	1	2	7	21	40	61	80	90	99	100	100	0.50	0.30	0.20	
4	E			6	12	23	42		(2.5時間)								
	K	0	0	2	7	18	36	60	80	92	97	100	100	0.48	0.30	0.18	

備考 例1 53才♂ 五十肩兼左坐骨神経痛 WaR (-)
 // 2 24才♂ 蛔虫症 赤沈 2×5 平均値 2.3
 // 3 41才♂ 下腿潰瘍兼汗疱疹 WaR (-)
 // 4 47才♂ 胃潰瘍 赤沈 43×80 平均値 41.5

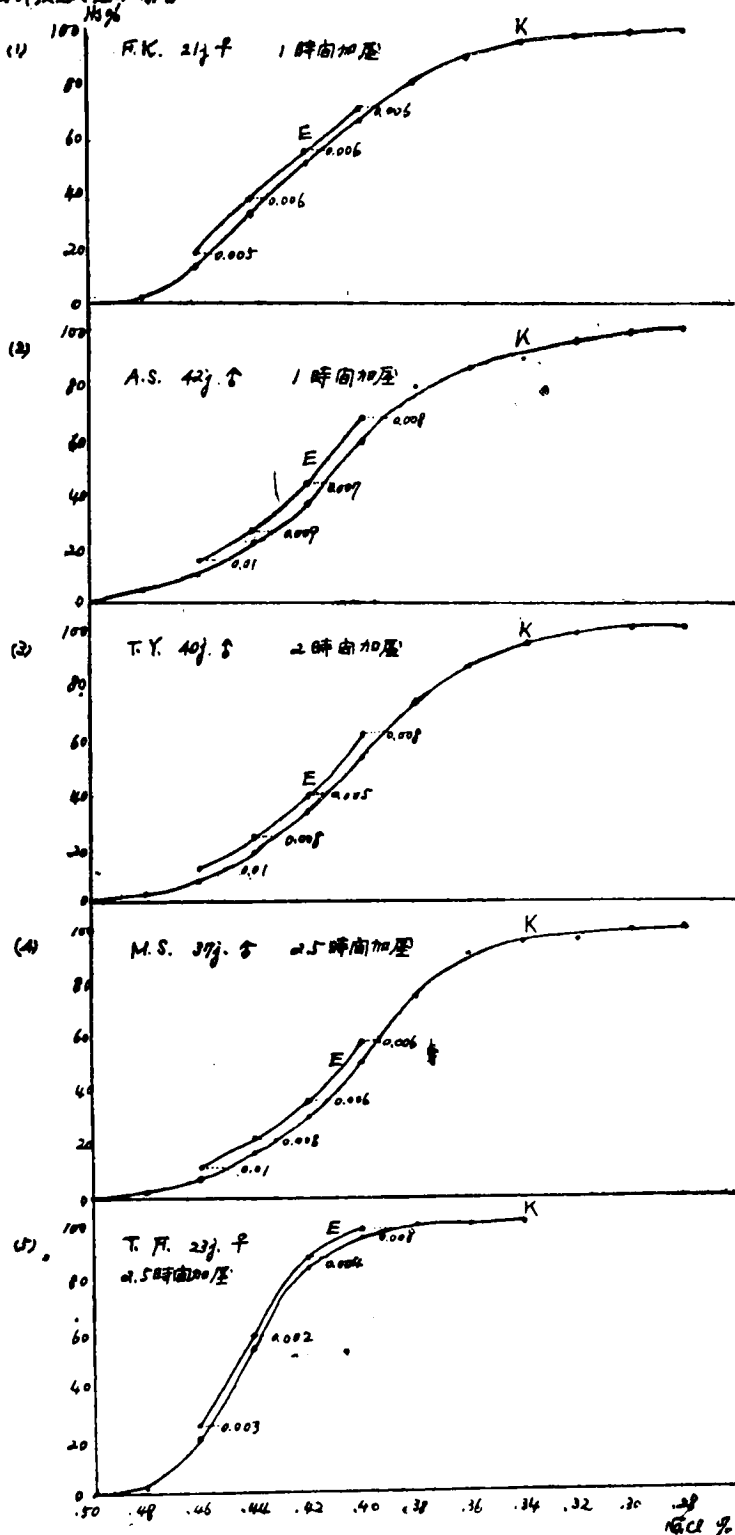
を脱しないが、低張溶血が滲透圧の差によつておこるものとする、Rのカリウムが加圧によつてR外に出やすくなる事実(別報その三)から考へて加圧Rの透過性はたかまつたと考へられるわけであつて、此の点では低張食塩水による溶血反応は起りにくくならなければならぬことになる。

しかるに、加圧の爲にRが低張食塩水によ

るHsを起しやすいことから、圧というのが形質膜に作用する機序を考へて見たいのであるが、その前に先づR膜の構造について一瞥を与へ、次にHsの本態及機序に関する諸説に対して考察を加へ最後に圧との關係に及びたい。

Hsを論ずる時考へなければならぬことは、Hsを起す場合個々のRは云はば悉無律

圖3. 患者の血液を以て(14. sekundäre Resistenz nach Hamburger)
1. 肺病疾患を患つた場合



(Alles od. Nichts Gesetz) に従ふということであつて、30% Hs という場合は全 R 数の 30% に当る R が完全に Hs して残りの 70% の R は Hs を起していないということである。この場合総ての R が 30% の Hb を失う

可能性 (Barón⁴⁾, Orahovát²⁷⁾, Rűsznyák²⁴⁾, Brooks⁷⁾ の唱へた partielle Liberation 説) も考へられるが, Handovsky¹⁵⁾, Saslow³⁵⁾, Parpart²⁸⁾ の実験によつて否定されている。従つて加圧によつて Hs がよく起るといふことは圧の爲に低張食塩水によつて破壊される R がますということになる。

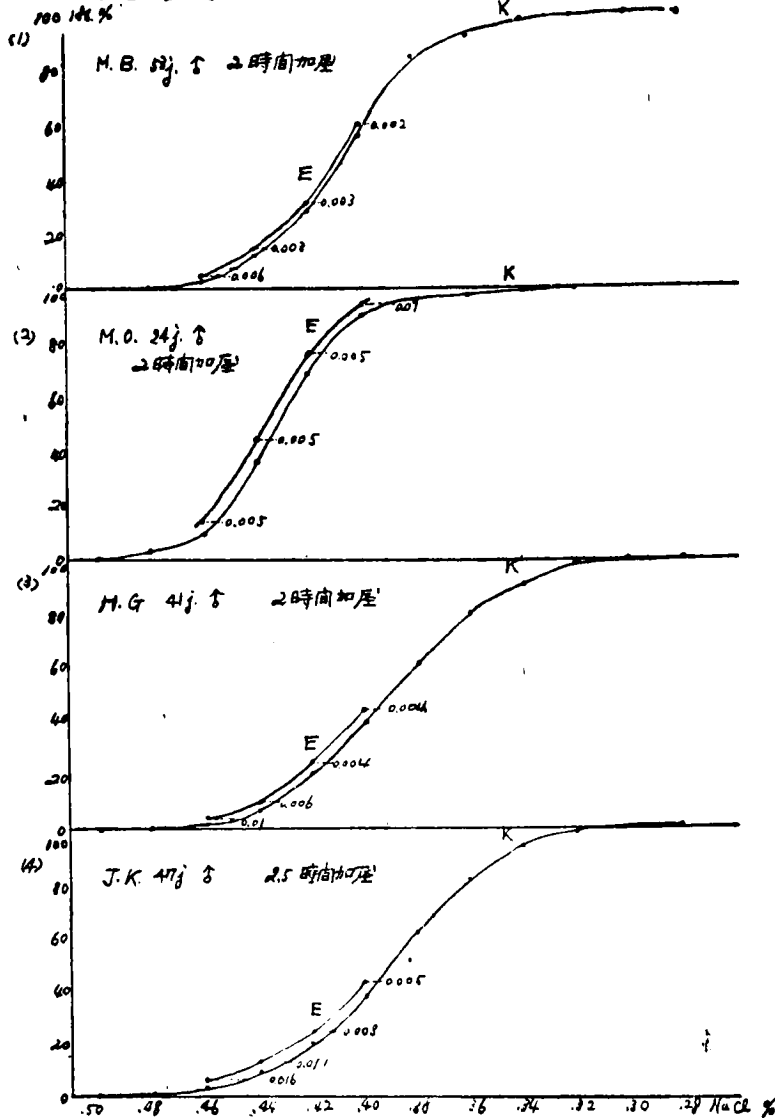
次に考へねばならぬことは、人及動物の R は osm. Resistenz に対して heterovitales System (Handovsky) 即ち Population を示すことであつて、R の中には、その抵抗には種々の段階を示すものがあつて一様でなく、一般に幼弱 R は老 R より抵抗がつよいとされている (Hamburger¹³⁾)。従つて圧がどの段階の R にも一様に作用するか、或は老 R 又は幼弱 R のめに強く作用するかと問題となる。

さて R 膜の構造に関しては溶解説 (膜説) (Overton) と孔説とに二大別出来る、前者にくみする者の中にも膜は決して均一なものでなく、特別の Ultrastructure を為すとする者が多くなつてゐる (Schmidt, Bear a. Ponder³⁶⁾)。Pascucci²⁹⁾ も R 膜は蛋白、レチン、コレステリンの三者が混在して超顕微鏡的のものにせよ孔を有すといふ。

同様に Nathansohn²⁶⁾ も膜のモザイク構造を示し、Mond²⁴⁾ は R 膜の表面では支持 Stroma の網眼中に蛋白相とリポイド相が claycylinder の孔中の小さな黄血塩膜と似た配置をとるとなし、Jacobs¹⁷⁾ も之に賛成して、不均等な膜組成を説へている、近

図4. 患者の血液を以てしたHs. (sekundäre Resistenz nach Hamburger)

2. その他の疾患患者の場合



年の研究はかゝる考への妥当性を証している様であつて、勝²⁰⁾はR膜はSolとGelの共存互変型なりといひ、丹野³⁹⁾、小林²¹⁾の電子顕微鏡を用いた溶血現象に基く考察からは膜面粒子の排列がGelに近いSolの状態にある時のみ外部からの影響によりR膜の構造は攪乱されるのであつて、R膜は決して均等ではなく、内外にならぶ2種の粒子からなり、一は蛋白、他はリポイドからなるという。

而してR膜の厚さは 33\AA ($10\text{\AA}=1\text{m}\mu$, $1\text{\AA}=10^{-8}\text{c.m.}$) (Danielli¹⁰⁾)であり、その孔の大きさは約 $0.6-0.7\text{m}\mu$ (丹野³⁹⁾)であるから、電子顕微鏡を以てしても(その分解能が $3\text{m}\mu$

として)今の所認めることが出来ない。Abramson, Furchgott, 及 Ponder¹⁾によると、HbがRから出る為には、 250\AA の孔が10-50ケあつて、その全面積はR表面の1万分の1から2千分の1あれば十分なことになる。従つてHsを起すには、一般に考へられている様にR膜の破裂することを要しない。この事は高圧によるHsの作用機序を考へる場合に大切なことであつて、R膜がUltrastructureに於て均一でないことは、其他の高圧実験からも既に推定し得た所である。

尙Rそのものゝ構造に関してはSemisolid体説とballoon-like Structure説(膜を有す)があるが、Ponder³¹⁾は后者を支持していることを附言しておく。

上述R膜の構造に関する考察を基礎にしてHsの本態及機序に思いを廻らしてみると、一応HsはKoeppé²²⁾の云う様に溶血剤の如何を問わ

ず、半透性壁の破壊にあるということが出来るが細別すると

- (1) Rの形態の変化
- (2) R膜孔の大きさの変化
- (3) Rの物理化学的構造の変化

を考へねばならず、又そのHsに至る機序は、Rが全体として膨れて破裂するという考へとAbramsonの"Key spot"説の様にRの一小部分からHbが脱出すればよいという考へがある。

先づRの形態の変化であるが、低張溶血の時は始めRは厚さを増加し、次いで幅をまし (Ponder a. Millar³⁵⁾, Waller⁴⁰⁾) 球となり、次第に大きくなつて破裂するという。又Rの形態とOsmotische Resistenzとの関係につい

表 5.

(1)健康人血その儘の場合 (表3 (1))

例	値	NaCl-Konzentration (%)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	E/K	2.0	1.4	1.3	1.1
2	//	1.5	1.6	1.2	1.1
3	//	1.5	1.5	1.4	1.1
M		1.67	1.50	1.30	1.10

(2)健康人血をリンゲル液で洗滌せる場合
(表3 (2))

例	値	NaCl-Konzentration (%)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	E/K	∞	1.4	1.3	1.2
2	//	∞	2.3	1.5	1.3
3	//	1.7	1.6	1.2	1.2
4	//	1.7	1.2	1.1	1.0
5	//	1.3	1.3	1.1	1.1
6	//	1.7	1.2	1.1	1.1
M		1.60	1.50	1.22	1.15

備考 0.46% NaCl の M の計算には例 1, 2 を除く

(3)胸部疾患々者血その儘の場合 (表4 (1))

例	値	NaCl-Konzentration (%)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	E/K	1.3	1.2	1.4	1.1
2	//	1.5	1.2	1.2	1.1
3	//	1.6	1.4	1.7	1.1
4	//	1.8	1.2	1.2	1.2
5	//	1.2	1.1	1.0	1.0
M		1.48	1.22	1.30	1.10

(4) その他疾患々者血その儘の場合
(表4 (2))

例	値	NaCl-Konzentration (%)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	E/K	2.5	1.2	1.1	1.1
2	//	1.6	1.2	1.1	1.0
3	//	2.0	1.4	1.2	1.1
4	//	3.0	1.7	1.3	1.2
M		2.28	1.38	1.18	1.10

表 6. 全-Hs 度を起すに要する K, E の NaCl % の差

(1)健康人血その儘の場合

例	E-K	NaCl % (E)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	NaCl%	0.016	0.006	0.004	0.003
2	//	0.01	0.005	0.004	0.004
3	//	0.012	0.006	0.006	0.007
M		0.013	0.006	0.005	0.005

(2)リンゲル洗滌健康人血の場合

例	E-K	NaCl % (E)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	NaCl%	0.01	0.008	0.004	0.004
2	//	0.02	0.008	0.008	0.006
3	//	0.008	0.006	0.006	0.006
4	//	0.004	0.004	0.005	0.006
5	//	0.007	0.006	0.007	0.008
6	//	0.006	0.004	0.006	0.008
M		0.009	0.006	0.006	0.006

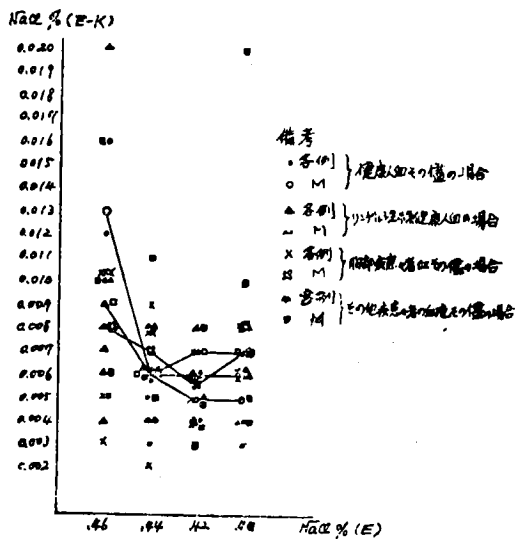
(3)胸部疾患々者の血液その儘の場合

例	E-K	NaCl % (E)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	NaCl%	0.005	0.006	0.006	0.006
2	//	0.01	0.009	0.007	0.008
3	//	0.01	0.008	0.005	0.008
4	//	0.01	0.008	0.006	0.006
5	//	0.003	0.002	0.004	0.008
M		0.008	0.007	0.006	0.007

(4) その他疾患々者の血液その儘の場合

例	E-K	NaCl % (E)			
		0.46	0.44	0.42	0.40
1	NaCl%	0.006	0.003	0.003	0.02
2	//	0.005	0.005	0.005	0.01
3	//	0.01	0.006	0.004	0.004
4	//	0.016	0.011	0.008	0.005
M		0.009	0.006	0.007	0.007

図5. 全血凝縮を起すR, EのNaCl%の差



て、Nägeli は溶血性貧血の際 R の抵抗が低いのは球形の R 即ち Sphaerocyten (Naegeli²⁵⁾) という bikonvex の球形に近いものが多いためと云っている、尙病的ではないが、正常 R の形とは異なっているものに Ovalozyten (Ellipzyteu) があり、之は球形の R より抵抗が大である。即ち R の抵抗はその形が球形より離れば離れる程高いといえる (Simmel²⁷⁾)。翻つて加圧によつて R の直径が小となり、而も容積に変化のないことは別報した通りであるから、加圧による球化ということが加圧により Hs が起こり易い説明の一つになる。しかし后述のことから R 膜の不均等構造に及ぼす圧の影響による R 膜の膨出の発現の容易なること、更に孔の増加することも之に劣らぬ重要な因子と考へられる。

次に leakage 説ともいわれる一連の学派がある。Abramson¹⁾ の Key spot 説もそれであつて、均等でない R 膜の弱い点に対する作用により Hs が起るとなすものであつて、Jacobs a. Parpart¹⁹⁾ も R 膜の蛋白孔が大となると、そこから Hb が "leak out" するという。近時電子顕微鏡による研究 (丹野²⁰⁾, 小林²¹⁾) によると、Hs を起す R のこわれ方に 2 通りあり、一は球形が益々膨れて破裂する場合であり、他は R 膜に局所的膨出を生じ、こゝが破れて Hb を遊離する場合である。高压のこれ迄の実験は何れも圧が R 膜の不均等構

造に作用するらしいことを示しているから、圧による Hs も leakage 説を妥当とする如く思える。

Ponder a. Marsland³²⁾ も Hs は膜の透過性が一般に増した為か、膜に孔が現われた為であるかについては解決を与へてはいないが、Hb は R から洩れる (leak out) するのであつて、裂ける (burst) するのではないらしいといつている。

この Hb の脱出口は電子顕微鏡的にも明かに認められるということは、前述の 250Å の孔が 10-50 あればよいということの妥当性を証している様に思はれる。

尙 May²³⁾ は Osm. Resis の変化を R のコロイド状の変化に帰したが R 膜が Sol と Gel との共存互変型だとすれば、一応圧がこの Sol と Gel との共存割合に影響したためとも考へられぬことはないが推測の域を脱しない。

Ashby³⁾ は Hs と R の無機塩との関係について研究し、R のカリウム量と Osm. Resis とは逆比例し、ナトリウムにはかゝることなしという。又 R のカリウムが減るとその滲透圧が下り Osm. Resis が上昇すると考へている。加圧によつて R からカリウムが出て行く事実は一見本研究の結果と矛盾する様であるが、高压の場合には R の容積に変化のないことから脱出するカリウムと交代に何等かの等価カチオンが R 内に入る為に上述の滲透圧の変化は起きないと考へられる。しかも尙 Hs が起り易いことは R のカチオンの移動からは説明されない。

尙加圧時間を 40 分から 2.5 時間に亘つて変化して見ても、時間の差による影響は著しくない。このことは、この程度の低張食塩水による Hs が大体 1 時間前後で終了することから考へて当然と考へられる。

最後に本実験中に得た K の抵抗値を諸家のそれに比すると、下表の如く健康人及病人の如何を問わず何れも正常値の範囲にあることが分り、私の検査した疾病の範囲では Hs 値に大した変化を認めることが出来なかつた。

著者	年号	min. R.	max. R.
Chauffard et Rendu ⁽⁸⁾	1907	0.46—0.38% NaCl	0.16—0.08% NaCl
May ⁽²³⁾	1913, 1914	0.46—0.48 //	0.28—0.32 //
Simmel ⁽³⁸⁾	1933	0.42—0.50 //	0.24—0.32 //
Brieger ⁽⁵⁾	1920	0.50 // //	0.38 //

第五章 結 論

高圧による赤血球の溶血抵抗を0.40—0.46%の低張食塩水を用いて検した結果次の成績を得た。

1. 300気圧で40—150分の加圧では加圧例の方が対照例に比し溶血度高く、同程度のHsを惹起する食塩水の濃度は対照側より食塩%で0.002—0.02 (0.005—0.009を最多とす) 高く、抵抗の比 (R/Kの値) では1.10—2.28 (1.1—1.6を最多とす) 倍となつている。

又加圧時間の違ひは成績に影響を与へない。

2. 健康人血と病人血との何れを用ひた場合にも、亦リンゲル液で洗つたものも、その儘のRでも加圧による影響は同一の傾向即ち

Hs 度に於て E > K を示した。

3. カリウム透過、荷電の場合と同様に高圧はR膜の不均等な Ultrastructure に対して一様でない影響を及ぼし、その Sol-Gel の状態に変化を与へ、低張溶血時におけるRの局部的膨出を容易ならしめることが、加圧RがHsを起し易い原因と考へられる。

この外、加圧によつてRが球化することも重要な因子である。

4. 加圧によつてRからカリウムが余計流出する事はR膜透過性の亢進を意味するから、その点では普通、滲透圧の差によつて起るとされている低張溶血が加圧によつて起り易くなるという事実を説明する事が出来ない。

(本研究に當つて終始御指導、御校閲を賜つた林教授及び西田助教授に対して深甚の謝意を表す。)

文 献

1) Abramson, Furchgott & Ponder : J. of gen. Physiol. **22**, 545, 1939.
 2) Arrhenius & Madsen : Z. f. physik. Chemie **44**, 7, 1903.
 3) Ashby : Am. J. of Physiol. **48**, 239 ; 250 ; 585, 1924.
 4) Barón : Pflüger's Archiv. **220**, 243; 251, 1928.
 5) Brieger : Dtsch. Arch. klin. Med. **133**, 397, 1920.
 6) Brinkmann : Biochem. Z. **95**, 101, 1919.
 7) Brooks : J. of gen. Physiol. **1**, 61, 1920.
 8) Chauffard et Rendu : Press méd. Nr. **44**, 345, 1907.
 9) Coulter : J. of gen. Physiol. **10**, 541, 1927.
 10) Danielli : ibid. **19**, 19, 1936.
 11) Ebbecke : Pflüger's Archiv **238**, 453, 1937.
 12) Grote : Z. klin. Med. **86**, 266, 1918.
 13) Hamburger : Biochem. Z. **129**, 163, 1922.
 14) do : Abderhalden's Handb. d. biol. Arbeitsmethode Abt. **IV**, Teil **3**, 263, 1924.
 15) Handovsky : Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **69**, 412, 1912.
 16) Hunter & Pahigian : J. of cell. & comp. Physiol. **15**, 387, 1940.
 17) Jacobs : Erg. d. Biol. **7**, 1, 1931.
 18) Jacobs & Parpart : Biol. Bull. **60**, 95, 1931.
 19) do : ibid. **62**, 313, 1932.
 20) 勝 : 日生理誌, 第**12**卷, 学2, 1950.
 21) 小林, 齊藤, 高橋, 三嘴 : 日生理誌, 第**12**卷, 学55, 1950.
 22) Köppe : Pflüger's Archiv. **99**, 33, 1903.
 23) May : Thèse de Paris **1914** (37. Simmel ヲリ引用).
 24) Mond : Pflüger's Archiv. **217**, 618, 1927.
 25) Naegeli : Blutkrh. u. Blutdiagnostik **5** Aufl., 295, 1931.
 26) Nathansohn : Jb. f. wiss. Bot. **39**, 607, 1904 (17. Jacobs ヲリ引用).
 27) Orhovat : J. Physiol. **61**, 436, 1926.
 28) Parpart : Biol. Bull. **61**, 500, 1931.

- 29) Pascucci : Beit. z. Chem. Phy. u. Path. 6, 543; 552, 1905.
- 30) Ponder : Proc. Roy. Soc. B. XCII, 285, 1921.
- 31) do: ibid. XCVII, 138, 1925.
- 32) Ponder a. Marsland : J. of gen. Phy. 19, 35, 1936.
- 33) Ponder a. Millar : Quart. J. of exp. Physiol. 15, 1, 1925.
- 34) Ruzsnyák : Biochem. Z. 36, 394, 1911.
- 35) Saslow: Quart. J. of exp. Physiol. 19, 329 1929.
- 36) Schmitt, Bear a. Ponder : J. of cell. a. comp. Physiol. 9, 89, 1937. ibid. 11, 309, 1938.
- 37) Simmel : Handb. d. allg. Haematologie Bd I, 1 Hälfte, 495, 1933.
- 38) Snapper : Biochem. Z. 43, 256, 1912.
- 39) 丹野 : 日生理誌, 第 12 卷, 学 1, 1950.
- 40) Waller : J. of Physiol. 70, XLII-XLIII, 1930.

高 圧 の 生 活 組 織 に 及 ぼ す 影 響

小水生動物 (メダカ) の生態の変化並に酸素消費量に就て

(附) 蛙 筋 肉 の 酸 素 消 費 量 に 就 て

生理学教室 (主任 林教授)

専攻生 大 和 人 士

[昭和 27 年 4 月 15 日受稿]

第一章 緒 言

高圧が生活組織に及ぼす作用に関しては、P. Regnard 以来生物及別出組織について種々行われているが、就中 U. Ebbecke の行つた一聯の実験はこの方面の発展に資する所大である。しかし高圧がある場合には刺戟作用を、又ある場合には麻酔作用を及ぼす機構の窮明に関しては未だ充分とは云へない。私は「メダカ」を使用して Regnard¹²⁾, Ebbecke⁵⁾⁶⁾ が魚について得た加圧の影響を追試すると共に、その作用機序に関する考察を行ひ、同時に行つた蛙筋の酸素消費量についての実験から筋肉に及ぼす圧作用の影響に就て些か知見を得たので報告する。

尙ほ本実験は 1948 年 12 月より 1949 年 3 月に亘つて行つたものである。

第二章 装置, 材料並びに方法

実験に使用した「メダカ」は当大学附近の小

川にて捕獲した体長約 1.5-1.8cm (体重 0.13-0.20gr.) のものであつて、最初はその体重を考慮することなく手当り次第に高圧ポンベ内で加圧して (E), 対照 (K) と比較した。

「メダカ」の生態に及ぼす影響は、K が死亡しない時間だけ加圧した場合の生死、軀幹の屈曲の有無及び方向、鰓、浮袋の出血、恢復状況等に就て観察した。

次にその酸素消費量 (O_2 -Verb.) は水中 O_2 の滴定に使用される Winkler 法によつた。(方法の詳細は Müller¹¹⁾, 佐藤¹³⁾ 参照) 私は予め O_2 を飽和せしめた水道水 (「メダカ」の場合) 或は等張 (0.65%) リンゲル液 (蛙筋の場合) に K, E を一定時間放置した後、その中の O_2 量を求め最初の O_2 量との差を以て K, E の O_2 -Verb. とし体重宛 (pro gr.) に換算した。Winkler 法に使用する N/100 チオ硫酸ソーダ 1 c.c. は O_2 の 0.08mg ($0^\circ C$, 760mmHg で 0.056 c.c.) に相当しているの