

主 要 文 献

- 1) Du Bois-Raymond zit. nach W. Hoyer(1849).
- 2) Horvath : Verhandl. phys. med. ges. zu Warzb. Bd 4, (1873).
- 3) Hermann : Pflüg. Arch. Bd.4, (1871).
- 4) Jensen u. Fischer : Zentralbl. für Physiol. Bd. 23, (1909). Zeitschrift f. allg. Physiol. Bd. 11, (1910). Biochem. Zeitschrift Bd.20, (1909).
- 5) T. Moran : Proceed. of Roy. Soc. London Vol. 105, (1930), 107, (1931).
- 6) W. Hoyer : Pflüg. Arch. Bd. 169, (1917).
- 7) Brunow : Zeitschrift f. allg. Physiolog. Bd. 13, (1912).
- 8) Henbel : Pflüg. Arch. Bd. 45, (1889).
- 9) Boycott : Journal Physiology Bd.27, (1902). Bd. 34, (1906).
- 10) Garten Sulze : Zeitschr. f. Biology Bd. 60, (1913).
- 11) E. Hering : Pflüg Arch. Bd.99, (1903).
- 12) Belehradsek : Temperature and Living Matter (1935).
- 13) Maximow : Protoplasma Bd.7, (1929).
- 14) Rubner : Über die Wasserbindung in Kolloiden mit Besond. Rücksicht d. Muskels (1922).
- 15) H. Mollisch : Untersuchungen über das Gefrieren d. Pflanzen, Jena, (1897).
- 16) Müller Thürgau : zitt nach Maximow. Belehradsek
- 17) Lidforss : Bot. Zentralblatt 68 (1898).
- 18) Newton : zit. nach Maximow (1924).
- 19) Naegell : zit. nach Rubner (1879).
- 20) Plank : zit. nach T. Moran (1925).
- 21) J. -Lloyds : zit. nach E. C. Smith. (Proc. of the Roy. Soc. Lond. Vol. 105).
- 22) Stiles : Protoplasma Bd.9 (1230).
- 23) Luigi Bucciante : Arch. f. exp. Zellforsch. Bd.11 (1931).
- 24) Rosa : zit. nach Maximow (1921).

低 温 に 関 す る 研 究 (第 2 報)

二三下等動物の乾燥及低温に対する抵抗

岡山医科大学生理学教室 (主任 故 生沼教授)

医学士 竹 下 明 夫

[昭和 27 年 4 月 15 日受稿]

第 1 章 緒 言

変温動物及び植物の或種が凍結してその生命を失はない事は早くより知られた事である。

古い実験では Pictet は魚類に就いて -8° より -15° 迄には耐えると言ひ Dnmeril は蛙は -4° 乃至 -12° に耐えたと報告す。Preyer は蛙は体内温度が -2.5°C 以上であれば生き返ると言ふ。

Bachmetjaw は蝶は完全に固くなるまで凍結した後再生したと称し Bacteria に就て Pictet Macfadyen は -190° , -200° に耐え乾

燥せる種子にては -190° にても死滅せずと報ず。而して耐寒の度に於て相異があるのは種々不明の内外の条件あるも過冷却現象が最も有力な原因と思考される。即ち生体の氷点下遙か下方に体温が冷却されても凍結しない。又は体の表面は凍つて居ながら内部では過冷却の状にあるといふ事が考へられる。

Pütter は昆虫の体中で高度に起る過冷却は微細なる原形質の蜂窩組織をなせる事や空泡の存在の為に起るので原形質の絶対的の大きさが決定的の役を為す。之の点より微生物が極度の低温に耐える事が了解されると称して

いる。尙 Bachmetjaw は熱電堆に依り昆虫の体温測定を為し多数の実験の結果次の如く結論す。

1) 冷却の速度が過冷却を決定す。速度大なれば過冷却され難い。

2) 体液の生体に対する割合大なる程結氷点は零度に近い即ち過冷却され難い。

一方に又生体の原形質の化学的構成分子である脂肪、蛋白質、含水炭素、塩類は対凍結能や適応の源となると考へらる。就中植物細胞中の Hexose, Pentose 等比較的簡單なる糖の存在が特に之の作用ある事は Nilson-Leissner 及び Lidforss が提唱し秋季に於て松中の糖が増加する事を証明した。

Payne は櫛歯に寄生する昆虫の数種の結氷点が時節により変り冬は低く夏は高い。Tower は馬鈴薯の甲虫は冬眠に入る前に於て体重の 27% を水分の消失により減じて低温に対抗する様準備すと報告している。更に一方生体凍結の際に當りて水分の脱出により組織の死滅が主として行はる事は諸家の等しく唱ふる処である。

Mollisch は植物に於ては氷結死は凍結による細胞原形質の水分缺乏の為に原形質固有の化学的結合が多くの場合非常に變化する為に死を來す。而も此の場合水は大部分が急速に細胞内容から奪ひ去られるのであるといふ。Pütter は水分脱出に対する抵抗大なる生物程対低温の抵抗大であると言ふ。

かくして近年組織凍結に就いての研究は低温の点を輕視して凍結に依る結果を乾燥の度合から計らうとする傾向にある。

蘚苔中に居る動物は対乾燥の点に於て極めて大なる能力を有する事は古くより知られている。又 Jong の実験により Trypanosoma が対低温に又大なる抵抗ある事が報されている。併し此の問題に於て実験的研究は尙残されたる方面多く又本邦に於て之を試みたる成績寥寥たる状態なる故に著者は此等の動物に就て対乾燥、対低温の能力について実験をなし若干の考察を行ひたるを以て報告する。

第2章 実験方法及び実験成績

1) Rotatoria, Nematode, Tardigrada に就いての実験。

之等の動物はその種極めて多く、分布も世界普く広がっている。之中、蘚苔植物中及び屋根の樋中の埃等に生棲するものは共通の性質を有して周囲が乾燥すれば他物に附着して仮死の状となり生存し、湿潤となれば水を吸収し活動を始めるもので Moosfauna の称がある。本実験は之の種につき実施した。個々の動物につき簡単に説明すれば次の通りである。

a) Tardigrada

Barentierchen クマムシの称あり、節足動物中緩歩類に入るとするも結局位置不定の節足動物である。体長 1mm を超過せず、形はほぼ紡錘形を呈し 4 対の短い脚を有し脚の末端には鉤爪を有して体壁は薄き硝子膜を以て保護せられたる表皮より成る。本実験で用いた動物はこの種の中の Macrobiotus Hüfelandi 及び Milnesium Tardigradum である。

b) Rotatoria

担輪虫類にして頭部に車輪の如く廻転する纖毛がある。之を動かし水を廻転し又這ふ如くして移動する湿潤の苔蘚上或は汚水中に自生し乾燥すれば他物に附着して風の為に遠隔の地に撒布せらる。

c) Nematode.

自生するものにして体長は三者中最大又最も活潑に活動する。

第1項 乾燥実験

(1) 実験は春季及秋季に行つた。材料として岡山市郊外某神社境内及其附近民家の樋の中にある蘚苔を採取した。蘚苔と共に採取した材料を約 3 時間水を以て湿潤とする。之を載物ガラス上に置き顕微鏡に依り活動状況を観察した。次に水を蒸発せしめて乾燥状態に移行する状況を観察した。約 3 時間乾燥状態に置いて之に水を注ぎ再び湿潤とし活動を再現する状況を観察した。

この結果は 3 種共に 50 分前後で乾燥によ

り不動状態となつた。其の間何れも藓苔等の保護物に逃れんと努力するのを認めた。又乾燥に当つては Rotatorien, Tardigraden は球形に近くなり Nematoden は大部分が螺旋形となり縮小した。

再活動する場合に当つても3種は大體同時間約60分にて活動を開始した。

(ロ) 乾燥に依る体積縮小の測定

前述の実験前後の動物体の長さ及幅を Mikrometer を以て測定した(第1表)

第 1 表

動物種類	実験例	体 長			体 幅		
		正常	乾燥	減少率	正常	乾燥	減少率
Rotatoria	5例平均	37	13	36	7	13	195
Nematoden	5	135	50	51	7	3	52
Tardigraden	5	54	21	38	24	17	70

実験成績によるに Tardigraden は体長にて38%, 幅は70%に縮小する。Rotatorien は球形に縮小する為体長は平均36%に縮小する。が幅は反つて増大し2倍にも達する。Nematoden は乾燥に当つて多くは螺旋形となる為の場合止むを得ず体長は前端と後端の距離を求めた。成績表に体長51%に縮小とあるが実際の長さは之より稍大である。

(イ) 乾燥時支持物ある場合と無き時の再活動率。

前述の乾燥実験に際して動物が何れも藓苔中に隠れんとしたる事より藓苔中にて之に附着し自然状態に近き状態にて乾燥したる場合と、単に載物ガラス上にて乾燥して三日間保ち其活動の能力を検した。之の結果は硝子上にて乾燥せる場合は再活動率は Rotatorien 47%, Nematoden 55%, Tardigraden 44% で約半数は死滅している。しかるに藓苔中にては成績良く72%乃至77%を示している。かくの如き相違は動物が自然の状態にて乾燥するが最もよく自衛の目的に叶ひ居るに對して硝子上にては不自然の状態にて扁平となり体壁は其為傷害を受け水分消失は著しくなりたる為と考へられる。

Baumann は Tardigraden が乾燥に際して桶

状とならず不整形をなすものは再生せずと言ふ。本実験では形の相違は認められなかつた。

第2項 凍結実験

(イ) 乾燥状態にて -65°, 24時間冷却の場合。

2種以上の動物の居る事を確めた藓苔を3日乃至7日間室内に放置して乾燥さす。之を薄い壁の小なる硝子管に入れ密閉して魔法瓶中にある多量の雪状炭酸中に埋没して24時間保つた。次で室温に戻した後水を注いで湿潤とし生活を再現する迄の時間を測る。之の結果は第2表に示す。表に記載した時間は復温後最も早く活動したものの時間である。3種共90分後には活動を開始していた。再生後の運動は正常と何等異状を認めなかつた。

第2表 乾燥状態にて -65°C, 24時間冷却

実験番号	実験日	乾燥日数	Rot.	Nemat.	Tardig.
1	5月10日	4日	76分	70分	
2	5月14日	7日		85分	95分
3	5月18日	7日	80分	75分	90分
4	6月1日	3日	70分	82分	85分
5	9月24日	3日		75分	110分
6	9月26日	5日	84分		

(ロ) 湿潤状態にて -65°C, 1時間冷却(急激冷却)の場合

湿潤に保ち動物の活動せるものを前記の方法により急激に冷却した。之の場合3種共常温に復したる後再生を示さなかつた(第3表)

第 3 表

-65°C, 1時間凍結(急激冷却法による)

実験番号	実験日	冷却後温めたる後の成績		
		Rotatorien	Nematoden	Tardigrad.
1	5月14日	全	部	死
2	5月29日	全	部	死
3	5月30日	全	部	死

(イ) 湿潤状態にて -65°C 1時間冷却(緩慢冷却の場合)。

初め氷にて30分充分冷却して後雪状炭酸に入れる。この場合は皆再生す。活動するま

での時間は比較的早く40分前後である。之の冷却を5時間行ひたる結果は Nematoden, Tardigraden は再生せるものを認めず, Rotatorien のみ少数生存して居た (第4表)

第4表 -65°C (緩慢なる冷却法による)

	実験番号	実験日	冷却後復温により蘇生する時間		
			Rotatorien	Nematoden	Tardigrad.
一時間凍結	1	5月14日	-	-	30分
	2	5月16日	40分	32分	-
	3	5月16日	35分	40分	40分
	4	5月18日	30分	35分	38分
五時間凍結	1	5月25日	40分	-	-
	2	5月29日	35分	-	-
	3	5月29日	58分	-	-
	4	9月20日	-	-	-

2) Trypanosoma に関する実験

第1項 実験材料, 実験方法

白鼠血中に寄生する Trypanosoma levisi を用ひた。即ち宿主たる白鼠の尾端を傷けて血液5滴を取り之を0.9% Ringer 液3cc に混和す。之より懸滴標本を作り検鏡し, Trypanosoma を観察するに多数が血球間を活潑に運動するを認める。之の Trypanosoma 浮游液の少量を薄き硝子製小試験管内に取り之の中に寒暖計を入れて置く。之の管を雪状炭酸中に置きて冷却し凍結す。この際 -60°C より -15°C に至る種々の温度に10秒間乃至3分間置きて後室温に戻して検鏡しその生活状態を測定した。

第2項 実験成績

実験の結果は第5表に示している。之の際 Trypanosoma の数の測定は数視野中に観察される凍結融解後の動物の数を測定し之を非凍結の対照となる浮游液に見らる数と比較した。又運動状態の観察は之を3種に區別し非凍結に殆んど等しく活潑なる運動をなしているものを(卅)と記載し、之より緩慢になつてゐるものを(卅)とし、極めて緩慢となつたものを(十)と記した。即ち -50°C に凍結に際して極めて少数の生存 Trypanoma を見した。凍結温度が高い程、凍結時間が短時間な

第5表 Trypanosoma levisi の冷却

冷却温度 °C	冷却時間 (秒)	生存数 %	運動状態
-60°	10	-	-
-50°	10	5%	+
"	20	-	-
"	30	-	-
-40°	10	8%	+
"	15	3%	+
"	20	-	-
-30°	10	15%	+
"	20	4%	+
"	30	-	-
-25°	10	42%	卅
"	20	33%	+
"	30	17%	+
"	60	5%	+
-20°	10	61%	卅
"	30	26%	卅
"	60	20%	+
"	180	13%	+
-15°	30	100%	卅
"	180	83%	卅

る程多数の生存動物が測定された。

第3章 考 按

蘚苔中に生棲する之等の動物は1702年既に Leewenhock が latentes Leben と名付けて研究し1886年 Zacharias によつて Anabiose として論及された。之の動物の興味を持たれた事は生活と死の問題で生活の停止が想像され Preyer, Verworn, Kochs が之の考へを持つた。近年之の説は Baumann, Richter, Rahm 等の実験により全然否定され乾燥状態にても極めて僅少な新陳代謝が営まれていることが証明された。1902年 Rahm は之等3動物は数ヶ月の乾燥を経たるものは液体空気の低温に生存し得るが湿潤なる場合に於て急激なる冷却に際して Tardigrada と Nematode は死滅し Rotatoria のみ生存すと報告す。著者の実験にては3日乃至7日間乾燥したので充分なる乾燥では無く半湿潤の状である。それでも尙 -65°C の低温に24時間耐えることが認められた。

Trypanosoma levisi に就て De Jong は

-190°Cの温度に耐え、-20°C内至-30°Cの温度で、80-60分間に死滅するのが-190°Cで2時間を要すと報告する。此の奇現象に就き Tammann によれば Trypanosoma に取りて-20°Cが結氷に最適なる温度なる為この湿度にては損害を最大に受ける為であると云ふ。

生活物質は一般状態に於て膠質である。此の場合水の分子は最も重要なる成分となり動物により其分量はほぼ一定して少量の変化も生活現象の減退となる。併し下等動物に於て其の変化に対する抵抗は大であるものがあり、生活現象を殆んど停止するが水分供給により膨張し生き返る。故に生物に2種の水分を区別し得る。

1) 生命活動に必要で之を取り去れば、latentes Leben に入る水。

2) 之を取り去る事に依り死を来す水で、此の中2)の水分量は生物により大きく異り或る物は20%の脱水に耐えられず或る物は殆ど大部分の消失によりても latentes Leben を営みて生存する。水分含量と低温抵抗能に就て J. Luget は動植物を2種の群に分けている。

1) 乾燥に耐え乾燥状態にて低温傷害に耐えるもの：Sporen, 種子, 苔蘚類, Protozoen, Cyste, 動物として Rotatorien, Tardigraden Nematoden.

2) 充分に水分を含有しながら低温に傷害されないもの：Virus, Bakterien, Trypanosoma 及び或 Protozoen,

著者の実験に用いた動物の場合は乾燥によりて体表面は水分を消失し又体液の濃度は増加を来した為之が緒言に述べた如く過冷却の好条件になり大なる温度降下に耐える結果と

なつたのであらうか。

著者は今迄の実験を基礎として次の様に考へる。先づ生物の生存には細胞内に於ける特種なる機械的構造を必要と考へる。而して此構造は細胞内水分の凍結によりて水の容積増加の為に破壊される。徐々なる凍結による徐々なる容積増加は弾性によりて破壊を免れ得るも急劇なる凍結による急劇なる容積増加は直に破壊を来し得るものであらう。

生物により凍死に陥る温度を異にすることは細胞液の分子濃度の異なるにもよるのであらうが、亦細胞内構造物の弾性の大小にも関係するものと考へられる。「スピロヘンタ」の如きは此種弾性が頗る大なるものと思はれる。乾燥状態に於て仮死状態に陥る生物に於ては乾燥状態に於て水分を失ひ冷却するも凍結すべき水なく従て構造を破壊せざるものと見ることが出来よう。

第4章 結 論

1) 蘚苔類中に生棲する Rotatoria, Nematode, Tardigrada は大なる乾燥に耐える能力を有している。

2) 之等の動物は乾燥によつてその体積を著明に減少する。

3) 数日間室温に放置して乾燥状態にあるものは-65°Cの温度に24時間の冷却後生活を再現する。湿润状にあるものは耐寒力弱く之の温度に1時間の冷却により死滅する。

4) Trypanosoma lewisi にて-50°Cの温度に10秒間の凍結を行つて後生存せるものを認めた。

5) 動物の耐寒力と耐乾燥力とは密接なる関係がある様に思はれる。

主 要 文 献

- 1) Max Verworn : Allg. Physiologie, 7 Auflage.
- 2) W. Kochs : Biol. Zentralbl. Bd. 10 1890.
- 3) Bachmetjew : zit. nach M. Payne (Quart. Review of Biol. Vol. 1, 1929).
- 4) Macfadyen : Proceed. of the Roy. Soc. Vol. 66, 1900.
- 5) Jensen P u. H. W. Fischer : Zeitsch. für

allg. Physiol. Bd. 11, 1911.

6) A. Pütter : Handbuch d. norm. u. path. Physiol. I Bd.

7) Pictet : zit. nach A. Pütter

8) Jong D. A : Arch. neerland de physiol. de l'homme et des anim. Bd 7. 1922.

9) Preyer : zit. nach. Max Verworn.

- 10) J. Belehdadek : Protoplasma monographien
Temperature and living matter 1935.
- 11) A. Pütter : Vergleichende Physiologie 1911.
- 12) Mollisch : Untersuchungen über das Erfrieren
der Pflanzen 1897.
- 13) Payne : Quaritary Review of Biol. Vol 1, 1926.
- 14) Rahm : Zeitschr. für allg. Physiol. Bd 20, 1923.
- 15) Richter : Handbuch d. Zoologie III Bd. 1926.
- 16) Traumann : zit. nach J. Belehdadek.
- 17) J. Luget : Temperature, Its Instrument and
Control in Science and Industry 1939.
- 18) Rahm : Biol. Zent. blatt Bd 15, 1926.
- 19) Lidforss : zit. nach Gunner Nilson-Leissner,
1907.
- 20) Baumann : Zeitschr. für wissenschaft. Zoo-
logie, 118 Bd.
- 21) Gunner Nilsson-Leissner : The Quarit. Re-
view of Biol. Vol4, 1929.
- 22) 飯島 : 動物学提要.

低温に関する研究(第3報)

凍結の筋分界電流に及ぼす影響に就て

岡山医科大学生理学教室(主任 故 生沼教授)

医学士 竹下 明夫

[昭和27年4月15日受稿]

第1章 緒言

先に著者は蛙の縫匠筋を凍結し之を一定温度に10分間保つて融解後の筋の興奮性に就いて実験を行つた。その際凍結温度が -3.0°C 以上ならば攣縮高は減少するが興奮性は保持される事を経験した。

併しながら組織中に結氷が生ずる事により、又筋の生物電気上に何等かの変化無きやと考へ凍結の筋分界電流に及ぼす影響に就ての実験を企てた。生物電気の凍結による影響に関する文献は未だ見当たらない。

第2章 実験方法

実験材料は冬眠中を土中より掘り出した「とのさまがへる」(*Rana nigromaculata*)の縫匠筋を用ひた。実験期間は昭和16年11月初旬より翌年1月に及んだ。負傷面は筋の恥骨端附着部より筋長の $\frac{1}{8}$ 部を鋭き鋏にて切断して創つた。

分解電流測定には Cambridge 製の Potentio-

meter 及び示針検流計(感度 7.1×10^{-6} Volt)を用ひ補償法によつた。凍結は温度 -1°C より -3°C の各場合に10分間凍結した。その方法は既に第1報に述べた為省略する。冷却を開始してより融解後再び分界電流測定までに大凡45分を要した。この凍結前と後に於ける筋の分界電流を測定した。

第3章 実験成績

第1節 正常分界電流電動力及びその時間的測定

対照実験として凍結の操作と同じ時間中、正常の筋は幾何の電動力の低下を来すかを驗しなければならぬ。その為正常筋の電動力及び其の時間的経過を測定した。凍結の操作が45分内外であるから45分後の電動力を特に測定した中の9例の実験を行つた結果、負傷面作製直後は57.2mV乃至40.6mV平均47.6mVの電圧を生じたるものが45分間に於ける電圧低下の度は85%乃至65%、平均して78%に減じている。Pauli 及び Matula の