

低温に関する研究(第5報)

凍結が筋及び角膜の炭酸瓦斯排泄量に

及ぼす影響に就いて

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

先に著者は凍結が蛙筋に及ぼす障害を求めんとして凍結後の筋の攣縮高を測定した。

更に進んで凍結に依つて筋の新陳代謝が如何に変化するやを検せんとして炭酸瓦斯排泄量の測定を企てた。

一般に極度の低温に依つて組織は破壊され死滅するものと解されている。併し文献によれば C. Breedis 及び J. Furth は腫瘍生成細胞が -70°C に長時間置いた場合移植可能であつたと言ひ那須及び弘地は兎の子宮組織が液体空気に浸漬後移植並びに培養に成功せる事を報ず。之に対して Warburg, Poseuer, Negelein 等は癌組織が液体空気にて処理されたる後は糖分解の能力は保持されるが移植は不可能なる事を論ず。

又石川, Lambert, F. M. Haves は組織培養に於て凍結を受ければ組織の成長は著しく害される事を論ず。

更に凍結後の組織呼吸に就いては O. Warburg は鳥類の赤血球が凍結を受けたる後も組織呼吸ある事を報じ、又 Lipshutz 及び Vershnjakow は海猿の卵巣を -10°C 乃至 -14° に30分置き融解後は相当量の酸素消費をなすと言ふ。

野村は又二十日鼠の肺組織及家兎の胆嚢壁が10分間の凍結後著明なる酸素消費の減少する事を報ず。かく2-3の組織に就いて実験されているが、之等が凍結の場合組織の温度が明示されて居ない。既に筋の興奮性に関する著者及其他の実験にても一定温度以下の

凍結を受ければ刺戟に応じなかつた事より見ても、凍結後の呼吸に凍結時の温度が至大の関係を有するであらう事は想像される。本実験に於ては蛙の筋及角膜によりて之の点を追及せんとして一定温度に凍結後の炭酸瓦斯排泄量を測定した。

第2章 実験材料、実験方法

実験材料は凍結及瓦斯代謝測定に是非薄き筋を使用せねばならない。之の為に比較的小なる蛙の縫匠筋を使用した。

実験期間は5月下旬より10月下旬に亘り行つたがこの間夏期温度高き日を避けた。排泄の測定に就ては Parker 氏の Indikationsmethode を用ひた。この方法は三宅の実験がある故略することとする。

第3章 蛙筋の実験成績

縫匠筋別出に当つては可及的無傷に取り出し常に一側の筋を対照として Ringer 液中に貯へ他方を凍結した。之の際筋肉は2個又は3個を使用した。凍結の操作は前編に述べた為略す事とする。Ringer 液中にて一定温度に一定時間筋を凍結し融解後対照筋と共にそれぞれ炭酸ガス側定用の試験管に入れ振盪装置に掛ける。

1) 先づ -3°C , -6°C , -8°C , -15°C の各温度に10分間凍結した後の炭酸瓦斯排泄量を測定した。第1表上部は之等の成績を示す。

-3°C に10分間凍結の場合是对照筋と比較すれば4.4%乃至21.6%の減少で平均すれ

第1表 凍結と筋並に角膜 CO₂ 排泄量 (mg/分瓦)

	凍結温度	凍結時間	実験例	CO ₂ 排泄量(a)	対照(b)	$\frac{a-b}{b} \times 100$
蛙 縦 筋	-3°C	10分	5例平均	395 × 10 ⁻⁵ (a)	459 × 10 ⁻⁵	-14.4
	-6°	10	5	381	476	-19.9
	-8°	10	5	249	391	-35.9
	-6°	60	4	248	362	-31.1
	-8°	60	4	114	464	-74.6
	-6°	10後R氏液90分	4	115	424	-71.5
蛙 角 膜	-1°C	10	6	191 × 10 ⁻⁵	198 × 10 ⁻⁵	-2.9
	-3°C	10	6	146	175	-15.5
	-9°C	10	6	131	183	-25.5

ば減少14.4%の少となる。

-6°Cに凍結の筋は前者より炭酸瓦斯の排泄量減じ対照筋が平均0.00476mgなるに対し凍結筋は平均0.00381mgとなり平均19.9%の減少となる。

-8°Cにては減少率更に増加し平均35.9%となる。

-15°Cに凍結の際は炭酸ガス排泄は殆ど認められなかつた。

尙-3°Cを除く各場合凍結後の筋は軽度の濁濁を示していた。

2) -6°C, -8°Cに60分凍結の場合のCO₂形成量を測定, その成績第1表中部の如し。

3) -6°C 10分間凍結の筋をR氏液中に90分並に3時間放置後のCO₂排泄量を測定したるに(第1表中部)90分R氏液中に放置せる筋は68.7%乃至76.9%の減少を現はし平均71.5%の減少率となる。

R氏液に3時間放置の筋では炭酸ガス排泄量は認められなかつた。

第4章 蛙の角膜に就ての實驗

(I) ここに蛙の角膜を用ひたる理由は凍結が組織に及ぼす影響を見る場合均等に凍結作用が及ぶ事が必要である。其の為に被検組織が薄く且比較的強靱でなければならぬのと角膜は凍結に対して非常に抵抗力が大であると云ふ報告があるからである。即ち M. A.

Bashenova は兔の角膜を -3°C 乃至 -20°C の低温に凍結し組織培養の結果 -3°C 乃至 10°C の場合は培養に成功した。Bucciante は鶏胚の組織培養に於て角膜は -25°C の低温に耐えると云ふ。

後藤は兔の生体中にて之を -7°C ~ -8°C に凍結すれば潮紅を呈し 1~2 日後には消退するも -10°C 乃至 -14°C に及べば強度の浮腫壞疽を来したと云ふ。又高良は Warburg の方法を用ひて角膜の新陳代謝は主として上皮層殊に内皮層の部分に行はれ上皮層は強大なる抵抗力生活力を有する事を認めている。

(II) 実験成績

実験は4月初旬より5月下旬に亘り行つた。数匹の〔とのさまがへる〕より鋭利なる鋏を以て角膜を剔出し左右の別によつて2組に分け, R. 氏液に浸し附着物を除く, 之を木綿針にて連ね2つの標本を作り其の一個は対照としてR. 氏液中に浸し置く。

凍結は-3°C, -6°C, -9°C, -13°C の各温度に10分間行ひたり。融解後濾紙にて水分を軽く吸ひ取り試験管に入れて対照筋と共にCO₂の発生量を測定した。第1表下部は之等の成績を示している。

-1°C に10分間凍結の場合是对照と比較すれば殆ど認むべき変化を示さず, 一例にては反つて増加の成績を示せる事あり。平均2.9%の減少となる。

-3°C 凍結の角膜は明かにCO₂産生の減少が見られ平均15.5%の減少率を現はす。

-9°C にては更に減じて平均 0.00183mg の排泄となり平均 25.5% の減少率である。

-13°C, -15°C に 10 分間凍結の場合は CO₂ の発生は認められなかつた。

第 5 章 總括竝に考按

以上の実験成績を総括せば次の如し。

Parker 氏法に依り蛙の縫匠筋の炭酸瓦斯排泄量を測定するに、

1) -3°C, -6°C, -8°C の各温度に 10 分間凍結後の炭酸排泄量は対照筋に比してそれぞれ平均 14.4%, 19.9%, 35.9% の減少を見る。

著者の前実験に於て同筋は -3°C 10 分間凍結後は全く興奮性を消失するか或は極めて僅かの電気刺激に対する反応を呈するのみである。しかるに CO₂ の排泄量は尙大部分を保持する。

-6°C, -8°C に凍結の場合は勿論興奮性は消失するが CO₂ の排泄量が認めらる。

2) -6°C, -8°C に 60 分凍結後はそれぞれ平均 31.1%, 74.6% の減少を示す。之は同温度の 10 分間凍結に比すれば減少率に於て著明の増加である。

1) 及び 2) の事実より凍結の温度が低い程、又作用時間が永い程筋の受ける障害が大で呼吸量が小となる事が分る。

3) -6°C に 10 分間凍結後之を 90 分 R 氏液中に放置したる場合 CO₂ 排泄量は急速に減じて平均 71.5% の減少となり又 3 時間後 CO₂ の排泄量は認められなかつた。之れは凍結に依る細胞構造の機械的破壊の結果残存して呼吸せる部分が急速に死滅する事を示すと考へらる。Lipschutz もこの点同様の傾向ある事を指摘している。

主 要

- 1) G. H. Parker : Journal of gen. Physiology Vol. 7, P. 641, (1925).
- 2) 三宅幹夫 : 岡医雑, 第 48 年, 第 2 号, (昭和 11 年).
- 3) 後藤要太郎 : 日本眼科学雑誌, 38 卷, 2180.
- 4) 高良武春 : 日本眼科学雑誌, 39 卷, 1429.
- 5) 野村憲太郎 : Cytologia 4 卷, 3 号, 257, (昭和 8 年).
- 6) 那須省三部, 弘地義男 : 日本病理学会会誌, 25 卷, 298, (昭和 10 年).
- 7) A. Lipschutz, S. Verhnjakov : Pflüg. Arch.

4) -15°C に凍結の場合 CO₂ の排泄は認められなかつた。

次に角膜に就いては、

5) -1°C, -3°C, -9°C に 10 分間凍結後はそれぞれ 2.9%, 15.5%, 25.5% を減少し、同時間 -13°C, -15°C に凍結後は CO₂ の排泄量は認められなかつた。

さて今日組織の凍結に依る損傷の原因に就いては尙不明な点乃至は仮説に属する事が多い。凍結に際して温度が零度に極めて近ければ結氷は細胞内に起らず主として淋巴腔、細胞間隙等に生ずる。温度が降下するにつれて細胞内に生じ更に進んで極めて微細な構造をも破壊する。随つて又 Protein の化学的変化をもひき起す事となる。

之を筋肉の場合に就いてみれば凍結により先ず攀縮高が減じ凍結温度が低下するに随つて興奮性が消失し次で呼吸量も減じて終に零となり全く生活現象を停止する結果となるのである。

第 6 章 結 論

1) Parker 氏法により 10 分間凍結後の筋の炭酸瓦斯排泄量を測定したるに凍結により興奮不能となりたる時も尙多量の炭酸瓦斯排泄をなし温度を下降して -8°C まで凍結の場合之を証明した。

2) 角膜にても -9°C 迄凍結の時之を証明した。

3) 凍結後の炭酸瓦斯排泄量は凍結温度低い程又凍結時間永い程小となる。

4) 凍結後の筋は時間経過と共に比較的速かに炭酸瓦斯排泄量を減少する。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師生沼教授に深謝の意を表す。

文 献

- Bd. 223, S. 70, (1930).
- 8) Warburg, Poseuer, Negelein : Biochem. Z. Vol. 152, P. 309, (1924).
- 9) O. Warburg : Z. Physiolog. Chem. 70, 413, (1910).
- 10) M. A. Bashenova : Physiological Reviews 133, (1938).
- 11) C. Breedis, J. Furth : 科学, 9 卷, 166 頁ヨリ引用
- 12) Buccianto : Arch. f. experim. Zellforsch. Bd. 11, (1931).