

78.

612.39.2

「ビタミンC」缺乏ノ皮内試験知見補遺

岡山醫科大學生理學教室(主任生沼教授)

醫學士 益 澤 博

[昭和14年1月20日受稿]

第1章 緒 論

尿中「ビタミンC」量ノ測定ハ2:6. di-Chlor-phenolindophenol(以下2:6. D. ト略記ス)ノ滴定ニヨツテナサレルガ、1937年Rotterノ海狼ヲ用ヒテ生體自身ニ就キ „Skin-test“ヲ行ヒ、壞血病ニカカレル者ヨリモ健康ナル者ニ於テ2:6. D.ハ速ニ褪色スル事實ヲ認メタ。又彼ハ對照トシテ同時ニ皮内ニ注射シタルMethylenblauハ褪色シナイ點カラ此2:6. D.ノ褪色ハ還元ニ依テ起ルモノニシテ吸收サレテ褪色スルノデハナイ事ヲ示シタ。彼ハ更ニ人體ニ就テモ實驗シ、コノ還元ハAscorbic acidニヨリナサレル事ヲ認メ、而モ2:6. D.ノ褪色ニ要スル時間ハ生體内ノ「ビタミンC」量ニ關スルモノニシテ、即チ5分以内ニ褪色スル時ハ飽和セルモノ、5分乃至10分ノ時ハ平常ナルモノ、10分以上ノ時ハ生體ノ「ビタミンC」量ハ缺乏セルモノナリト結論ニ達シタ。其ノ後1938年Portnoy and Wilkinson亦海狼ヲ用ヒテ同様ノ實驗ヲナシ、尿中並ニ血液中ノ「ビタミンC」量ノ測定ヲ併セ行ヒ、生體ノ「ビタミンC」飽和ノ程度ニ應ジテ2:6. D.ノ褪色時間ノ相違スルヲ認メ、Rotterト略ボ同様ノ結論ニ達シタ。斯ノ如キ方法ニ依リ比較ノ簡單ニ組織内ニ於ケル「ビタミンC」量ノ大體ヲ知り得ル事ハ極メテ興味アル事實ナリ。茲ニ於テ余ハ海狼ヲ用ヒテ、曩ニ我ガ教室ノ小西、宮島ノ行ヒシ方法ニ依リ「ビタミン」缺乏食ヲ與ヘテ其ノ經過ヲ觀察シタルニ次ノ如キ結果ヲ得タリ、由テ報告ス。

第2章 實驗方法

1) 實驗動物トシテハ幼弱ナル海狼ヲ用ヒ、體重250g乃至300gノ間ノモノヲ主トシテ選ベリ。(コノ間ノモノハ壞血病ニ對シテ感受性強シト言ヘル。)之ヲA. B.ノ2群ニ分チ、A群ニテハ後述ノ基礎食ノミヲ與ヘ、B群ニテハ基礎食ニ蓮根汁ヲ毎日1cc宛與ヘタリ。

2) 試藥ノ作製ハPortnoy and Wilkinsonニ從ツテ2mg 12:6. D.ヲ4.9cc滅菌蒸留水ニ溶カセシモノヲ實驗ニ供セリ。

3) Skin-testノ實施ニ就テハ、特別ニ作製セルMikroschringeヲ用ヒ、豫メ刺毛セル海狼ノ上膊外側ノ部ニ於テ、上記試藥0.01ccヲ正確ニ且速ニ皮内ニ注射シ、Guaddelヲ作ル。コノ際注意シテ表在性ノ靜脈ノ存在セザル部位ヲ選ブ事ガ大切デアル。猶ホ少シク馴ルレバ左手ニテ海狼ヲ把持シテ、右手ニテ容易ニ注射シ得。即チ何等固定或ハ麻醉ノ必要ナシ。

4) 壞血病ヲ來サシムル基礎食即チ「ビタミンC」缺乏食トシテハSchermannニ準據シ、小西ニ從ツテ燕麥ノ代リニ小麥、牛酪ノ代リニ肝油ヲ使用セリ。即チ小麥粉68%、脫脂乳粉30%、食鹽1%、肝油1%ノ處方ニシテ、余ハ小麥ノ代リニ「メリケン粉」ヲ用ヒ、之ニ麸ヲ約1%量加ヘタリ。脫脂乳粉トシテハ、青木製「デリゴール」ヲ用ヒ、120°Cニ1時間加熱セリ。尚ホ基礎食ト同時ニ水ヲ充分與ヘタリ。又蓮根汁ハ「サツカリ」ニテ甘味ヲツケテ與ヘシニ盛ニ好求ス。

海狼ハ瘰癧ニ對シテ抵抗弱キモノ故特ニ注意ヲ要ス。余ノ實驗ニ於テモ比較的溫暖ナル4月、5月、6月ニカケテ相當注意シテ行ヒシニモ不拘、實驗ノ初期ニ於テ12匹中3匹死亡セリ。

5) 豫備實驗トシテ作製セシ基礎食ニ就キ、豫メ其ノ水浸出液ニ就キ化學發光ヲ檢セルニ發光ハ認メザリキ(方法ハ拙著葉綠素ノ項參照)。

第3章 實驗成績

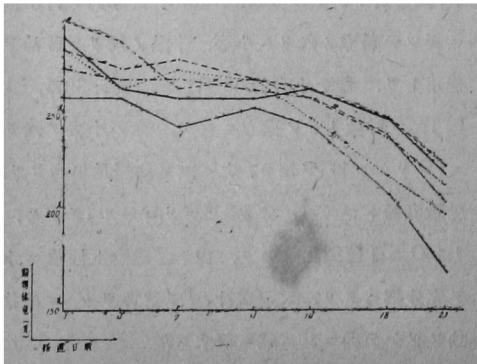
實驗ノ初期ニ於テ死亡セシモノヲ除キ、所期ノ實驗ヲ終了セシモノノミニ就テ報告ス。先ヅA) B)ノ2群ニ分テリ。

A) 群上述ノ實驗方法ニ基キ、之ハ基礎食ノミヲ與ヘシモノニシテ、3、4日目毎ニ其ノ體重トSkin-testトヲ行ヘリ。

第1表 A) 群(基礎食ノミヲ與ヘシモノ)
ニ於ケル體重(g)

實驗動物	1日	4日	7日	11日	14日	18日	21日	實驗中ノ體重減少率
1號	290g	265	260	260	265	250	220	24.1%
2號	280g	260	245	255	245	210	170	34.6%
3號	300g	290	265	270	265	250	225	25.0%
4號	285g	265	275	270	250	220	200	29.8%
5號	275g	270	270	266	260	240	215	21.8%
6號	285g	275	280	270	260	240	205	28.1%
平均								27.2%

第1圖 基礎食ノミヲ與ヘシA群海狼(6匹)ノ體重ノ變化

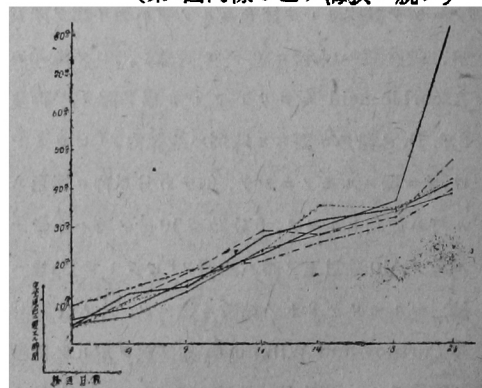


第1表並ニ第1圖ニ就テ考察スルニ、一般ニ體重ハ初期ニ於テ減少ヲ來スト雖モ、食餌ニ馴レルニ從ツテ一旦増加ノ傾向ヲ示シ、次デ急激ニ減少シテ行クヲ見ル。實驗ヲ行ヒシ21日間ニ體重減少6例平均27.2%ニ達セリ。

第2表 A) 群(基礎食ノミヲ與ヘシモノ)
ニ於ケル完全褪色ニ要スル時間(分)

實驗動物	1日	4日	7日	11日	14日	18日	21日
1號	5分	7	13	24	28	34	39
2號	6分	9	16	23	30	37	85
3號	4分	11	18	29	28	33	48
4號	5分	13	15	28	32	35	42
5號	10分	14	19	21	26	31	40
6號	4分	11	15	24	36	35	43
平均	5.7	10.8	16.0	24.8	30.0	34.2	49.5

第2圖 A) 群ニ於ケル Skin-test (分)
(第1圖同様6匹ノ海狼ニ就テ)



第2表並ニ第2圖ニ就テ見ルニ、コノ間ノSkin-test成績ハ漸次完全褪色ニ要スル時間延長シ、實驗第1日ハ5分、6分、4分、5分、10分、4分、平均5.7分ナリシモノ、1週目ニハ13分、16分、18分、15分、19分、15分、平均10分トナリ、2週目ニハ28分、30分、28分、32分、26分、36分、平均30分トナリ、3週目ニハ39分、85分、48分、42分、40分、43分、平均49.5分トナリタリ。

コノ間ニ於ケル症狀トシテハ實驗第10日頃ヨ

リ何レモ毛髪ノ光澤減ジ、且容易ニ脱毛ヲ來スヤ
ウナリ、食慾モ又多少減退セリ。次デ第18日ニ
至リ第2號、第6號、其ノ他ノモノモ相前後シテ血
尿ヲ出スヲ認メタリ(第5號ノミハ之ヲ見ザリキ)。

解剖所見トシテハ、實驗第22日ニ出血死ニ至ラ
シメテ剖檢シタルニ、(第2號ハ21日夜死亡)其
ノ所見次ノ如シ。

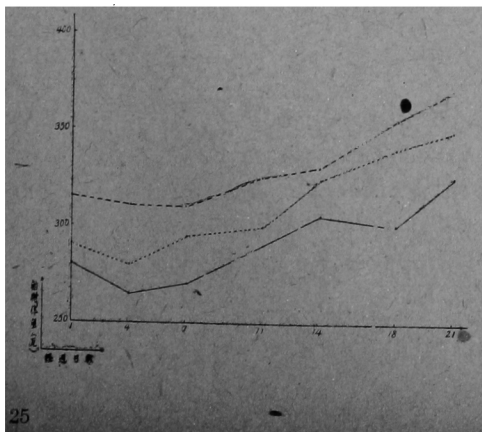
即チ肋軟骨ノ念珠様腫脹ハ第2號ニ於テ認メシ、
ノミナルモ、齒牙竝ニ齒齦出血ハ第2、4、6號ニ
於テ認メタリ。又肋膜、横隔膜、腸間膜ニ於ケル
粘膜炎下出血ハ第1、2、4、6號ニ於テ、前肢或ハ
後肢ニ於ケル皮下出血、内臓ノ出血竝ニ膝關節ノ
出血粗鬆化ハ總テノ者ニ認メシモ、關節ノ腫脹ハ
餘リ著明ナラザリキ。

B) 群。之ハ基礎食ヲ與ヘシ上ニ、毎日1cc宛
蓮根汁ヲ與ヘシモノニシテ、3、4日毎ニ其ノ體重
ト2:6.D.ニヨル Skin-test ヲ行ヒシニ其ノ成績
次ノ如シ。

第3表 B) 群(基礎食+蓮根汁1cc(毎日)
ヲ與ヘシモノ)ニ於ケル體重

實驗動物	1日	4日	7日	11日	14日	18日	21日	實驗ノ始 ト終ニ於 ケル體重 增加率
1號	280	265	270	290	305	300	325	16.1%
2號	315	310	310	325	330	355	370	17.5%
3號	290	280	295	300	325	340	350	20.7%
平均								18.1%

第3圖 基礎食+蓮根汁10ccヲ毎日與ヘ
シB群(3匹)ノ海猿ノ體重變化

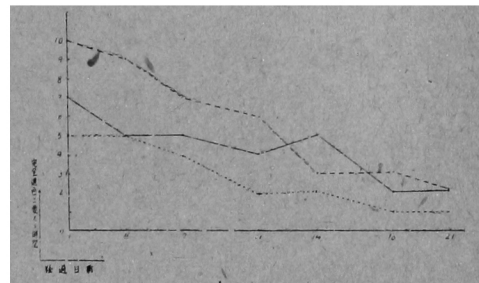


即チ第3表竝ニ第3圖ニ就テ見ルニ一般ニ體重
ハ最初減少ノ傾向ヲ示セルモ食餌ニ馴レルニ從ツ
テ漸次增加ヲ來スモノニシテ、3週後ニハ體重增
加率ハ16.1%, 17.5%, 20.7%ヲ示シ、平均18.1%
ニ達ス。

第4表 B) 群(基礎食+蓮根汁1cc(毎日)
ヲ與ヘシモノ)ニ於ケル完全褪色
ニ要スル時間(分)

動物實驗	1日	4日	7日	11日	14日	18日	21日
1號	7	5	5	4	5	2	2
2號	10	9	7	6	3	3	2
3號	5	5	4	2	2	1	1
平均	7.3	6.3	5.3	4	3.3	2	1.7

第4圖 B) 群ニ於ケル Skin-test (分)
(第3日同様3匹ノ海猿ニ就テ)



又第4表竝ニ第4圖ニ示ス如クノ間ニ於ケル
Skin-test ハ漸次完全褪色ニ要スル時間短縮シ、
實驗第1日ニ於テ、7分、10分、5分、平均7.3分
ナリシモノ、1週目ニハ、5分、7分、4分、平均
5.3分トナリ、2週目ニハ5分、3分、2分、平均
3.3分ニ短縮シ、3週目ニハ2分、2分、1分、平
均1.7分ニ短縮ヲ來セリ。其ノ解剖所見トシテ
ハ何等壞血病ヲ疑ハシムルガ如キモノヲ認メズ。

第4章 考按竝ニ總括

我教室ノ小西ハ先ニ各種植物其ノ他ニ就キ含有
スル Ascorbic acid ヲ沃度法ヲ用ヒテ定量シタ
ルニ、蓮根(Nelumbo nucifera, Gaertnノ根莖)
ノ沃度消費量大ニシテ、且動物試験ニ於テ毎日

0.5 cc フル事ニヨル抗壞血病ノ效力ヲ認メ、
0.75 乃至 1.0 cc ニテハ著明ナル效果アリト述ベテ
キル。次デ宮島コノ法ヲ踏襲シ良好ナル成績ヲ得
タリ。茲ニ於テ余モ又コノ法ヲ採用シ所期ノ實驗
ヲ行ヘリ。尙ホ「サツカリン」中ニ抗壞血病ノ效果
ナキ事ハ既ニ小西ノ述ベシ所ナリ。故ニ甘味ナキ
蓮根汁ニ少量之ヲ加フル事ニヨリ潤滑ニ實驗ヲ行
フヲ得タリ。

倂而 Rotter, Portnoy and Wilkinson ニ依レ
バ何レモ Skin-test ニ於テ 5 分乃至 10 分以内ニ
2:6. D. ノ褪色スル時ハ生體ノ「ビタミン C」量ハ
平常ナルモノナリト言ヘリ。余ノ實驗ニ於テ、實
驗第 1 日ニ測定セル Skin-test ノ成績ヲ見ルニ
A), B) 2 群中何レモ 4 分乃至 10 分ノ間ニ完全褪
色ヲ見タリ。即チ「ビタミン C」量ハ略ボ平常ナル
モノナリト云フヲ得ベシ。

更ニ實驗ノ成績ヲ通覽スルニ、

A) 群ニ於テハ各例何レモ體重ノ減少著シク且
剖檢ノ結果著明ナル壞血病ノ症狀ヲ證シ得タルト
同時ニ、Skin-test ニ於テモ日ヲ追フテ順次完全
褪色ニ要スル時間延長スルヲ見ル。即チ順次生體
ノ「ビタミン C」量ハ減少シテ行クト見ルヲ得ベ
シ。

然ルニ、B) 群ニ於テハ體重ハ日ニ日ニ増加シ、
勿論壞血病症狀ハ全ク無ク。常ニ活潑ニ、食物ノ
攝取又旺盛ニシテ、盛ニ發育ヲ續ケタリ。尙ホ
Skin-test ニ於テモ漸次完全褪色ニ要スル時間短
縮シ、遂ニ 21 日目ニハ 1.7 分ニ達シタリ。即チ

「ビタミン C」ハ全ク飽和ノ状態ニアリト云フヲ得
ベク、Rotter 並ニ Portnoy and Wilkinson 等
ノ成績ト相一致スル所ナリ。

次ニ 2:6. D. ニ就テ考察スルニ、之ヲ無色ノ
Leukoverbindung ニ變化セシメル物質トシテハ
Glutathion, Cystein, Pyro-Gallol, Reduktion,
Adrenalin 等ガ舉ゲラレテキル。且 Tillmans
Harris, Ray 等ニヨレバ該指示薬ニヨル定量數値
ハ其ノ生物試験ト一致スト云フ。依テコノ Skin-
test ガ全ク「ビタミン C」量測定ナリトハ考ヘラレ
ザルモ。上述ノ成績ガ物語ル如ク Skin-test ニ依
リ其ノ完全褪色ノ時間ハ大體ニ於テ生體ノ「ビタ
ミン C」量ニ比例スル事ヲ認メ得ベシ。

第 5 章 結 論

以上ニ依リ次ノ如ク結論シ得。

2:6. di-Chlorphenolindophenol ニヨル Skin-
test ニ於テ、其ノ完全褪色ニ要スル時間ハ該個體
ノ「ビタミン C」量ニ比例スルモノニシテ、其ノ時
間ノ短縮ハ「ビタミン C」飽和ノ状態ヲ、又時間ノ
延長ハ缺乏ノ状態ヲ、又約 4 分乃至 10 分ノ間ノ
モノハ平常ノ状態ヲ示スモノナリ。

尙ホコノ方法ハ「ビタミン C」測定ニ際シテ臨牀
上ノ應用ニ適スルモノト思惟ス。

摺筆スルニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導ト御
校閲ヲ賜リタル恩師生沼教授ニ深謝ス。

獻

Vitamin-forsch., P. 270, 1935. 7) Schermann,
Amer. Chem. Soc., Vol. 44, P. 165, 1922. 8)
Tillmann und Hirsch, Biochem. Z., Bd. 250,
S. 321. 9) Harries and Ray, Biochem. J., Vol.
27, 1933.

文

1) Rotter, H., Nature, Vol. 139, P. 717, 1937.
2) Portnoy and Wilkinson, Brit. Med. Journ.
1938, P. 328. 3) 小西, 岡醫雜, 第 48 年, 第 6 號
(第 557 號), 1936. 4) 宮島, 未發表. 5) 益澤,
未發表, 葉綠素. 6) Bomschow, Method. d.

*From the Institute of Physiology, Okayama Medical College
(Director : Prof. Dr. S. Oinuma).*

, Contributions for the Intradermal Test of Vitamin C Deficiency.

By

Hiromu Masuzawa.

Received for publication 20 January 1939.

In the year 1937, Rotter had suggested a skin-test for the estimation of the vitamin C nutrition of the body; in the year 1938 Portnoy and Wilkinson examined with some further and obtained similar results.

Now, a small quantity of 2-6-di-chlorphenolindophenol was injected into the sole of each guinea-pig; the time of the complete decoloration of the dyes was observed, and also the weight of the body was noted, both through the whole experiment.

The feeding method was thus; Group I was feeded by the fundamental diets, that is vitamin C free diets, and group II was more added by the extract of the rhizome of *Nelumbo nucifera*, Gaertn.

For summary, the weight of the body, in group I decreased distinctly; reversely in group II increased remarkably. From the point of view of the skin-test, in group I, the time of the complete decoloration prolonged remarkably, but in group II shortened more than the first.

So, conclusively: 1) Prolongation of the decoloration time in the skin-test, using 2-6-di-chlorphenolindophenol, appears to run parallel to the degree of the vitamin C content of tissues, though the other reducing substances in the skin, such as glutathione, may be concerned in decoloration phenomenon.

2) A decoloration time of less than 4 minutes indicates "Saturation", that of more than 10 minutes "Deficiency", while decoloration time of 5 - 10 minutes shows "Normal" content of vitamin C of the body.

This simple reaction may be of value as a advantage clinical test for vitamin C deficiency. (*Autoreference*)