

## 60.

612.111.0.45:615-092.22

## 赤血球吸着「アドレナリン」ノ分離並ニ 血中「アドレナリン」量測定法ニ就テ

岡山醫科大學衛生學教室(主任緒方教授)

醫學士 岡村榮雄

[昭和14年4月22日受稿]

### 第1章 緒論並ニ文献

余ハ曩ニ家兎赤血球ガ生體内外ニ於テ血清漿内「ア」ヲ多量ニ吸着結合シ、血液内「ア」濃度ノ調節ニ重大ナル役割ヲ有スルコトヲ實證スルト共ニ赤血球ノ「ア」吸着ハ0.3—0.5%ノ血糖増加、Alkali並ニ體温ニ依リテ著シク促進セラレ、食鹽、酸、低温等ニヨリ阻害セラルルコトヲ發表セリ<sup>1)</sup>。又循環血ノ血清内ニ於テ速ニ消失セル「ア」ハ赤血球ニ吸着貯藏セラレ居ルヲ以テ、循環血ノ「ア」定量ニ當リテハ赤血球「ア」ヲ常ニ顧慮シ、之ヲ化學的完全且純粹ニ抽出セザル可カラズト主張セリ<sup>2)</sup>。偶々余ト殆ド時ヲ同ジウシテ Cahen<sup>3)</sup>モ亦赤血球ハ血清内「ア」ヲ少量ナガラ吸着スルヲ以テ、血中「ア」量ヲ測定スルニハ、赤血球ヲ低温生理的血清ニテ洗滌シ、其ノ洗滌液ト血清トノ混合液ヲ使用ス可キコトヲ推獎セリ。Gedroyc u. Koskowski<sup>4)</sup>等ハ「ア」ト接觸後ノ赤血球ヲ數回洗滌後、溶血セシメテ犬ニ注射セルニ、數10 mm Hgノ血壓上昇ヲ招クト云ヘリ。此處ニ於テ余ハ生體内外ニ於テ吸着結合セル赤血球「ア」ノ分離機轉ヲ追究スルコトニヨリ當今使用セラルル生物學的血中「ア」量測定法並ニ上述ノ Cahen 氏法ト余ノ提唱セル測定法トノ優劣ノ比較ヲ試ミタリ。現テ現今赤血球ノ「ア」吸着現象ニ關シテスラ殆ド顧ラレザル状態ナルヲ以テ、況ンヤ其ノ分離ニ關スル業續ハ予ノ寡聞不幸ニシテ未ダ之ニ遭遇セズ。茲ニ諸賢ノ御

教示ト御批判ヲ乞フ所以ナリ。

### 第2章 實驗材料並ニ方法

#### 第1節 材料

血液ハ總テ當教室ニテ1週間以上飼育セル正常家兎血液ヲ使用シ、臟器滲出液ヲ製スル臟器ハ血液ヲ提供セル家兎ヨリ採取セリ。食鹽、葡萄糖並ニ乳酸ハ「メルク」社製、「ア」ハ三共1,000倍「ア」溶液ヲ標準トシ、鹽酸ハ局方、副腎皮質製劑トシテハ武田ノ「インテレン」ヲ選ベリ。

#### 第2節 方法

##### 第1項 生體外ニテ吸着セル赤血球「ア」ノ分離方法

1. 吸着：生體外ニテ赤血球「ア」ヲ吸着セシムルニハ正常家兎ノ頸動脈血ヲ脱纖維シ、15分間(3,000回轉)遠心シテ赤血球ヲ沈澱セシメ血清ヲ分離ス。分離セル血清ニ0.3%ノ割ニ葡萄糖ヲ加ヘ、更ニ「ア」ヲ加ヘテ1:100000—1000000「ア」血清液ヲ作ル。其ノ一定量ト冷生理的食鹽水ヲ以テ3回洗滌セル前記沈澱赤血球ノ等量ヲ混ジ、38°C水槽内ニ10—30分浸漬加温シタル後、再ビ前記遠心シテ血清「ア」液ヲ分離シ保存ス。分離セル血清「ア」液内「ア」量ハ家兎別出小腸法並ニ家兎血壓法ニヨリ、又赤血球内「ア」量ハ沈澱血球1ccニ對シ1:100ノ水ヲ加ヘテ溶血セシメタル後、同法ニヨリ測定セリ(赤血球ノ「ア」吸着ニ關スル生體

外實驗参照)。

2. 分離：「ア」吸着赤血球 1 cc を余ノ考按セル遠心管 = 入レ、之 = 各種藥物ヲ添加セル種々ノ洗滌液 2 cc を加ヘテ良ク混和シ、一定溫度 = 10 分間放置シタル後同一遠心器 = ヨリ 15 分間遠心シ、洗滌液ヲ分離ス(第 1 回分離液)。斯クテ毎回 2 cc ノ洗滌液ヲ以テ洗滌シ、各洗滌液ヲ順次分離保存ス。5—7 回洗滌後赤血球 = 水ヲ加ヘテ全量ヲ 4 cc トナシ、完全 = 溶血セシム。分離液並 = 赤血球溶解液ハ何レモ魔法瓶ノ氷水中 = 保存シ、家兎小腸法 = 據リテ其ノ「ア」量ヲ測定ス。

赤血球溶解液中ノ「ア」量ヲ決定スル時 = 用フル對照赤血球溶解液ハ「ア」ト接觸セシメザル赤血球ヲ、各種洗滌液 = ヨリ夫々 5—7 回洗滌セル後 4 cc = 溶解セルモノナリ。

#### 第 2 項 生體內ニテ吸着セル赤血球「ア」ノ分離實驗方法

1. 吸着：正常健康家兎ノ靜脈内 = pro kg 0.05 mg 前後ノ「ア」ヲ注射シ、5—10 分後 = 頸動靜脈又ハ耳殼血管ヨリ所要量ノ血液ヲ採取(枸橼酸防腐固血又ハ脫纖維血)直チ = 其ノ 2 cc を余ノ遠心管 = 入レテ 15 分間(3,000 回轉)遠心シ、血清、漿ヲ分離ス。斯クテ得タル沈澱赤血球ハ、多量ノ「ア」ヲ吸着結合シ居レリ(前同、生體內實驗参照)。

2. 分離：上記ノ沈澱赤血球 = 各種洗滌液 2 cc を加ヘテ良ク混和シタル後再ビ同一遠心ヲ行ヒ洗滌液ヲ分離スレバ、第 1 回分離液ヲ得、以下同様 = シテ數回ノ分離液ヲ作り魔法瓶内ノ氷水中 = 保存ス。血液 2 cc 内ノ赤血球量ハ約 0.75—1.1 cc ナルヲ以テ上記ノ方法 = 依ルトキハ赤血球ハ約 2 倍量ノ洗滌液 = ヨリ洗滌セラルルコトナル。各分離液内「ア」量ハ家兎耳殼血管灌流法並 = 家兎別出小腸法 = ヨリ測定セリ。

#### 第 3 項 「ア」測定法

1. 家兎耳殼血管灌流法
2. 家兎別出小腸法
3. 家兎血壓法

其ノ詳細 = 關シテハ別著<sup>2)</sup> 参照セラレタシ。

本編實驗 = 於テハ著シク高度ノ「ア」感度(約 1:20 million 以上)ヲ有スル別出小腸標本ヲ得ル = 非ザレバ分離液内並 = 赤血球内殘存「ア」ヲ證明スルコト困難ナリ。家兎血壓法ハ吸着實驗 = 於テノミ使用セリ。分離實驗 = 最適ナルハ耳殼血管灌流法ナリ。枸橼酸凝固血液並 = 血漿内「ア」量ヲ測定スル必要アルトキハ血管灌流液 = 0.6% 枸橼酸含有 ロツク氏液ヲ使用セリ。

#### 第 4 項 分離液内ノ「ア」抽出法

分離液 5 cc = 對シ n/8 HCl 1—2 cc を加ヘ暫時加熱シ、更 = 5% 醋酸普達溶液(「メルク」社製) 1 cc を加ヘテ 2—3 分加熱シ、蛋白析出後冷却濾過ス。濾液ハ無色透明 = シテ pH = 4.5 前後ナリ。

コレヲ使用スル = ハ其ノ直前 n/25 NaOH = テ中和シ、更 = 適當量ノ食鹽ヲ加ヘテ等張液トナス。

### 第 3 章 生體外ニテ吸着セル赤血球「ア」ノ分離ニ就テ

#### 第 1 節 食鹽並 = 溫度ノ分離 = 及ボス影響

食鹽並 = 低溫ガ赤血球ノ「ア」吸着ヲ阻害スルコトハ既報<sup>1)</sup>ノ如クナルモ之等ガ分離 = 如何ナル影響ヲ與フル哉ヲ檢セン爲ニ、余ハ各種溫度ノ生理的食鹽水ヲ以テ「ア」吸着赤血球ヲ洗滌シ、洗滌液中 = 分離スル「ア」量ヲ測定セリ。

#### 實驗 I (Fig. 1. 参照)

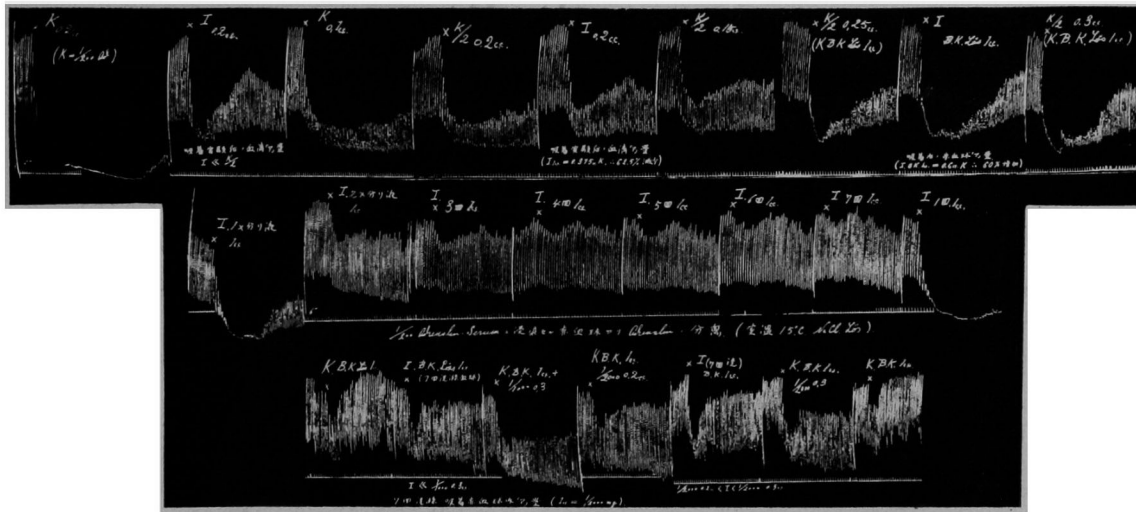
實驗日 10/12. 1938. Z. T. 15°C

家兎體重 2550. ♂ 「ア」注射量 0.127 mg.

#### 1. 吸着實驗

0.3% 葡萄糖添加血清ヲ以テ「ア」血清液(1:200000)ヲ作り、其ノ 2 cc ト生理的食鹽水 3 回洗滌血球 2 cc トヲ余ノ遠心管内 = テ良ク混和シ、38°C ノ溫槽中 = 浸漬シテ 30 分間加温後、再ビ「ア」血清ト血球トヲ同一遠心器 = ヨリ分離シ、夫々ノ「ア」量ヲ家兎小腸法 = ヨリ測定セリ。

Fig. 1.



上段…吸着實驗 (左及ビ中 I 吸着後ノ血清「ア」量, 右「ア」吸着後ノ赤血球「ア」量)  
 中段…「ア」吸着赤血球 1 cc ヲ 0°C 生理的食鹽水ニテ洗滌セルトキ各回溶液ノ「ア」量ヲ示ス  
 下段…0°C 生理的食鹽水ニテ 7 回洗滌ヲ經タル「ア」吸着赤血球 (I) ノ「ア」量ヲ示ス

A. 血清内「ア」量

Fig. 1 ノ上段 I = 示ス如ク赤血球ト接觸後ノ血清内「ア」量ハ, 對照(赤血球ト接觸セザルモノ)ノ半量以下ニ減少ス。即チ圖ニ見ル如ク I. 0.2 cc ハ K/2 0.15 cc = K 0.075 ト同強ナリ。從ツテ赤血球ト接觸後ノ血清 1 cc 内「ア」量ハ對照血清 0.375 cc = 相當スルヲ以テ, 吸着實驗ニヨリ血清内「ア」量ハ 62.5% 減少ヲ起セリ。

B. 赤血球内「ア」量

Fig. 1 ノ上段右側 I = 示ス如ク血球溶解液 1 cc 内ノ「ア」量ハ K/2 0.25 cc ヲリ稍々大ニシテ K/2 0.3 cc ト同一ナリ。從ツテ「ア」ト接觸後ノ赤血球 1 cc 内「ア」量ハ  $K/2 \times 0.3 \times 4 = K/2 \times 1.2 = K 0.6$  cc トナリ, 60% ノ「ア」量増加ヲ來セリ。

今吸着實驗後ノ血清内「ア」量ニ赤血球内「ア」量ヲ比較スルニ前者ニ於テ K 0.625 cc 即チ 62.5% ヲ減ジ後者ニ於テ K 0.60 cc 即チ 60% ノ増加ヲ來セルヲ以テ唯僅ニ 2.5% ノ實驗的誤差ヲ生ズルニ過ギズ, 依是觀之ベ余ノ吸着實驗ニ於テハ殆ド全ク「ア」ノ分解消失ヲ認メザルモノナリ。猶ホ之ニ關シテハ別者参照ヲ乞フ。

2. 分離實驗

上記「ア」吸着赤血球 2 cc = 0°C 生理的食鹽水 4 cc ヲ注加混合シ, 氷水中ニ 10 分間浸漬冷却シタル後, 室温(15°C)ニ於テ吸着實驗ニ於ケルト同一遠心器ニテ洗滌液ヲ分離ス。斯クテ赤血球ヲ 7—9 回洗滌シ, 洗滌液ヲ分離保存ス。

A. 分離液内「ア」量

上記分離洗滌液各 1 cc 内「ア」量ヲ測定スルニ Fig. 1 ノ中段ニ示ス如ク第 1 回洗滌分離液内「ア」量ハ最も多ク, 第 2 回ニ於テ急ニ減量シ, 以下順次減少ヲ來シ, 第 7 回分離液ニ於テハ殆ド「ア」ヲ證明セザルニ至ル。

B. 7 回洗滌赤血球内「ア」量

挿圖 1 ノ下段 I = 示ス如ク 7 回洗滌赤血球ノ溶解液 1 cc 内「ア」量ハ 1/2000 0.2 cc ヲリ稍々大ニシテ 1/2000 0.3 cc ヲリハ稍々小ナリ, 故ニ 1/2000 0.25 cc = 相當ス。血球溶解液ハ血球ヲ 4 倍ニ稀釋セルヲ以テ本赤血球 1 cc 内「ア」量ハ 1/2000 1.0 cc = K 0.1 cc = 相當ス。然ルニ分離實驗前ニ於ケル其ノ「ア」量ハ 1/200 0.6 cc = K 0.6 cc ナルニ依リ, 0°C 生理的食鹽水 7 回洗滌ニテ赤血球 ヲリ分離セ

ル「ア」量ハ K 0.5 cc = シテ、吸着「ア」量 = 對スル比ハ 5/6 ナリ。即チ本實驗 = 於テ赤血球ヨリ分離セル「ア」ハ吸着「ア」ノ約 83.3% = シテ猶ホ 16.7% ノ「ア」ヲ赤血球内 = 殘留セリ。

實驗成績： 表 I

表 I. 生理的食鹽水並ニ葡萄糖溶液ニヨル分離

實驗番號	實驗日	室溫 °C	分離溫度 °C	血清内「ア」濃度	血清ニ添加セテ葡萄糖	吸着實驗		分離實驗			赤血球吸着「ア」ノ分離率	赤血球 = 殘在セル「ア」量
						血清内「ア」ノ減少率	血球内「ア」ノ增加率	「ア」ヲ證明シ得ザル洗滌回数	5 回洗滌血球 1 cc 内「ア」量	7 回洗滌血球 1 cc 内「ア」量		
I	10/12	15°	0°	1/200 mg	0.3%	62.5%	60%	7 回	—	1/2000 1cc	83.3%	16.7%
II	"	15°	38°	"	"	"	"	9 回	—	1/2000 1.5cc	75.0%	25.0%
III	14/1	13°	0°	1/500 mg	"	65.0%	60(+)%	5 回	1/2500 0.9cc	—	70.0%	30.0%
IV	"	13°	38°	"	"	"	"	6 回	1/2500 1.0cc	—	66.6%	33.4%
(V)	10/12	15°	0°	1/200 mg	0.3%	62.5%	60%	8 回	—	1/2000 1.2cc	80.0%	20%

(V) ハ葡萄糖溶液ニヨル分離

即チ

1. 赤血球吸着「ア」ハ生理的食鹽水ノ洗滌ニヨリ赤血球ヨリ分離スルモ、其ノ分離度ハ洗滌液ノ溫度低キ程大ニシテ而モ早期ニ分離ス。即チ 0°C 食鹽水洗滌ニ於テハ 5—7 回洗滌ニテ「ア」ヲ認メザルニ至ルモ、38°C = 於テハ 6—9 回洗滌ヲ要ス。又 5—7 回洗滌ニ依リ赤血球ヨリ分離セル「ア」ハ 0°C = テ 70—83.3% 平均 76.6% ナルモ、38°C = テハ 66.6%—75% 平均 70.8% ナリ。

2. 生理的食鹽水ニヨル 7 回洗滌血球内ニ殘存セル「ア」ハ吸着「ア」量ノ 16.7—25% 平均 20.85% ナルモ、5 回洗滌血球内ノ夫レハ 30—33.4% 平均 31.7% ナリ。即チ吸着「ア」ノ分離ハ洗滌回数少キ程不良ニシテ、生理的食鹽水ヲ以テ 5—7 回赤血球ヲ洗滌スルモ吸着「ア」ヲ完全ニ分離スルコトハ不可能ナリ。

3. 赤血球ノ「ア」吸着率ハ「ア」濃度低キモノニ於テ良好ナリ。即チ 1:200.000 = テハ 62.5%、1:500.000 = テハ 65% ナリ。

實驗 II

各種濃度ノ血清「ア」液内ニ混和セル赤血球ヲ 0°C 並ニ 38°C 生理的食鹽水ニテ洗滌シ、其ノ分離「ア」量並ニ 5—7 回洗滌赤血球内ノ殘存「ア」量ヲ別出小腸法ニヨリ測定セリ。

4. 吸着實驗ニ於テ血清中ニ減少セル「ア」量ト赤血球中ニ増加セル「ア」量トノ差ハ僅ニ 2.5—5% = 過ギザルヲ以テ觀レバ、余ノ實驗操作ニ於テ「ア」ハ殆ド全ク分解消失ヲ起サズ。

第 2 節 低溫葡萄糖溶液ノ分離ニ及ボス影響  
余ハ囊ニ少量ノ血糖增加ガ赤血球ノ「ア」吸着<sup>1)</sup>ヲ促進スルコトヲ實證セルヲ以テ、之ガ吸着「ア」ノ分離ニ對スル影響ヲ觀察セン爲ニ 0°C = 冷却セル 1% 葡萄糖 0.8% 食鹽混合溶液ヲ以テ「ア」吸着赤血球ヲ洗滌セリ。

實驗成績： 表 I ノ (V) 參照

前節實驗 I ト同一赤血球ニ就キ實驗セルニ、本例ニ於テハ分離液ニ「ア」ヲ認メザルニ至ル洗滌回数ハ 8 回ニシテ、7 回洗滌血球中ニ殘存セル「ア」ハ吸着「ア」ノ 20% ナリ、從ツテ 7 回ノ洗滌ニヨリ赤血球ヨリ分離セル「ア」ハ吸着「ア」ノ 80% ナリ。

今本例實驗成績ヲ前節實驗 I ト比較スルトキハ明カニ葡萄糖ハ赤血球「ア」ノ分離ヲ阻害ス。

#### 第4章 生体内ニテ吸着セル赤血球「ア」ノ分離ニ就テ

正常家兎循環血内ニ於テ赤血球ハ靜脈注入セラレタル「ア」ヲ5—7分ニシテ殆ド完全ニ吸着結合スルコトハ既報ノ如クナリ。サレバ余ハ正常家兎靜脈内ニ每體重 kg 當量 0.05 mg ノ「ア」ノ注射ヲ行ヒ、7—8分後ニ頸動脈血ヲ採リ完全ニ脱纖維シタル後、其ノ一定量ヲ15分間強力遠心シテ赤血球ヲ沈澱セシメ、之ヲ種々ノ溶液ニテ洗滌シ、「ア」ノ分離状態ヲ觀察セリ。

##### 第1節 食鹽量ニ温度ノ分離ニ及ボス影響

##### 第1項 家兎剔出小腸法ニヨル實驗

Hoskins<sup>5)</sup>, Cannon<sup>6)</sup>, Stewart u. Rogoff<sup>7)</sup> 並ニ佐武<sup>8)</sup>, 小玉<sup>9)</sup>, 渡邊, 齋藤<sup>10)</sup> 等ニ從ヘバ血中「ア」ニ對スル家兎剔出小腸ノ反應ハ特異的ニシテ血液内ニ存スル微量ナル Pressor effect ノ影響ヲ

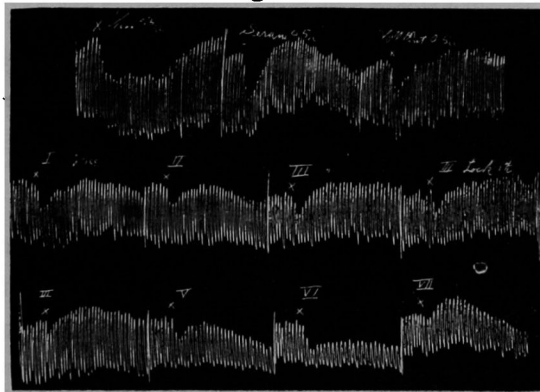
受クルコト少シト。然レ共家兎小腸片ノ「ア」感度ハ耳殻血管ノ如ク大ナラザルハ本法ノ缺點トスル所ニシテ、小腸法ヲ以テ毎常分離液中ノ「ア」量ヲ測定スルコトハ可成リニ至難ナリ。余ハ「ア」注射後7—8分ニ頸動脈ヨリ採取セル脱纖維血 5 cc 中ノ赤血球ヲ室溫生理的食鹽水 5 cc ヲ以テ數回洗滌シ、各分離上清 4.5 cc ニ、食鹽ノミハ普通量ヲ含有シ他ノ試藥ハ普通ノ4倍量ヲ含ムタイロウデ氏液 1.5 cc ヲ混ジテ 6 cc トナシ、1—2分、加温シタル後小腸室内ニ注入シ、小腸反應ヲ「キモグラフィオン」上ニ描寫セシメタリ。

##### 實驗 I

4. 6. 1938. Z. T. 18°C 家兎體重 2.35 kg 8「ア」注射量 0.117 mg 「ア」注射後 7分 15 cc 採血 脱纖維血 1 cc 内ノ赤血球量 0.4 cc

##### 實驗成績 :

Fig. 2.



生体内ニテ「ア」ヲ吸着セシメタル赤血球ヲ室溫食鹽水ニテ洗滌セルトキ、各回洗滌液ノ「ア」作用ヲ示ス。數字ハ洗滌回数ヲ表ハス

圖ニ示ス如ク血清 0.5 cc ヲ小腸ニ作用セシムルニ、其ノ直後ニ暫時小腸運動ハ抑制セラルルモ間モナク緊張ノ上昇ヲ來ス。完全血液 0.5 cc ヲ作用セシムルモ殆ド同様ナル反應ヲ呈スレ共小腸運動ノ抑制度並ニ緊張上昇度ハ血清ノ夫レニ比シ稍々微弱ナリ。

第1回分離液ノ小腸作用ハ血液 0.5 cc ノ夫レト殆ド同強ナルモ、第2, 第3回分離液ノ夫レハ稍々減弱シ第4回分離液ニ於テ最微弱トナル。然ルニ

第5回分離液ハ甚ダ強度ノ「ア」作用ヲ呈シ、第6回分離液ニ於テ最強トナル。然レ共第7回分離液ハ「ア」作用ヲ急ニ喪失ス。即チ生体内ニ於テ吸着セル赤血球「ア」ノ大半ハ第5—第6回洗滌ニ於テ洗滌液中ニ分離移行シ、其ノ最大分離ハ第6回洗滌ナリ。

本實驗ニ於テロツク氏液ニヨル第3回分離液ト生理的食鹽水ニヨルモノノ小腸作用ヲ比較スルニ前者ハ後者ニ比シ僅ニ小腸作用微弱ナリ(ロツク

氏液ト食鹽水ノ分離比較ニ關シテハ後述ス。

實驗 II

11. 6. 1938. Z. T. 26°C 家兎體重 2.20 kg.

6 注射「ア」量 0.11 mg 「ア」注射後 8 分 15 cc.  
採血 血液 1 cc 内ノ赤血球量ハ 0.45 cc ナリ。

實驗成績：

血清 0.5 cc 又ハ第 1 回, 第 3 回分離液ヲ小腸ニ作用セシムルニ著シキ緊張上昇ヲ來シ「ア」作用全ク缺如ス, 然ルニ第 4 回分離液ニ於テ僅微ナル「ア」様反應ヲ呈シ, 順次値ナガラ増強シ遂ニ第 9 回分離液ニ於テハ殆ド 1/1000 0.5 cc ト同強ノ「ア」反應ヲ呈ス。即チ本例ニ於ケル赤血球「ア」ノ最高分離ハ第 9 回洗滌ナリ (Fig. 7 ノ B 參照)。

以上ノ如ク, 生体内ニ於テ吸着セル赤血球「ア」ノ最大分離ハ, 赤血球ノ約 2 倍量ノ室溫生理的食鹽水ニテ洗滌スルトキ, 第 6—第 9 回洗滌ニ在リ。

第 2 項 家兎耳殼血管灌流法ニヨル實驗

實驗成績： 表 II

表 II. 食鹽竝ニ溫度ノ分離ニ及ボス影響

實驗番號	實驗日	室溫	家兎體重 kg	注射「ア」mg	採血量	血球量	分離溫度	對照實驗 血清漿 0.1 cc	「ア」溶液	本 實 驗											
										第 1 分離回	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回	第 6 回	第 7 回	第 8 回	第 9 回	第 10 回	第 12 回	
I	19/5	16°	2.15	0.107	5cc	0.45	0°	90	10 <sup>-8</sup>	97.7	98	93.5	420	130	120	84.4	74.3	—	—	—	
	1938								93.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	20/5								10 <sup>-7</sup>	52.1	50	116.6	240	270	132.5	113.4	97.0	92.5	—	—	
II	25/5	18°	2.20	0.110	"	0.50	0°	91.5	—	96.3	—	—	100.0	830	400	115	—	—	—	—	
	"								—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
平均		17.3°	2.23	0.111	5cc	0.46	0°	77.2	—	82.0	71.1	105	253.3	410	217.5	104.5	85.1	92.5	—	—	
III	72/5	19°	2.50	0.125	5cc	0.38	19°	58.5	10 <sup>-8</sup>	60	46	70.9	92	97.7	96.1	160	204	270	150	100	
	1938								18.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	28/5								10 <sup>-8</sup>	—	63.3	93.1	94	316.7	610	610	170	96.5	60	—	
V	25/5	18°	2.20	0.110	"	0.50	18°	91.5	—	94.5	—	—	98	425	720	200	—	—	—	—	
	"								—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
平均			2.317	0.117	5cc	0.48	18.7°	76.3	—	77.1	54.7	82	94.7	279.1	475.3	927	187	182.3	105	100	
VII	25/5	38°	2.20	0.110	5cc	0.50	38°	91.5	—	94.5	—	—	95	380	520	610	—	—	—	—	
	1938								—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
總平均						0.48		78.8		82.5	64.3	93.5	162.7	378.5	371.2	270.4	136.1	153.0	105	100	

・印ハ最高分離, 實驗成績ノ數字ハ滴數減少率ヲ示ス

1. 第1回分離液ノ滴數減少率ハ血清 0.1 cc ノ夫レヨリ僅ニ大ナルモ、第2回分離液ハ稍々小トナリ、第3回分離液ニ於テハ再ビ増大ス。而シテ第1—3回分離液間ニ於テハ過激ナル滴數減少率ノ差異ヲ認メザレ共第4回分離液以下ニ於テハ多クハ急激ナル滴數減少率ノ増大ヲ起シ遂ニ最高ニ達シ又急激ニ減少ス。即チ各回分離液ノ滴數減少率ノ變化ハ前項ノ家兎小腸法ニヨル測定成績ト一致ス。

2. 0°C 分離液ノ最高滴數減少率、換言スレバ最も多量ニ「ア」様物質ヲ含有スル分離液ハ第4—第5回分離液ニシテ、滴數減少率 270—830% 平均 510% ニ相當セリ。

3. 室温 (18—19°C) 分離液ノ夫レハ第6—9回分離液ニシテ 270—720% 平均 533% ナリ。本實驗ハ前項實驗ノ成績ト全ク一致ス。

4. 38°C 分離液ニ於テハ第7回以後ニ最も良ク分離ス。

5. 0°C 並ニ室温分離ニ於ケル第1—5回分離液ノ滴數減少率ヲ比較スルニ毎常前者ハ後者ニ比シ遙ニ大ナリ。

以之觀之バ生體內ニテ吸着セル赤血球「ア」ハ食鹽水ノ温度低キ程 (38°C 以下ニ於テハ) 早期ニ且

多量ニ食鹽水中ニ分離移行ス。然レ共吸着「ア」ヲ完全ニ赤血球ヨリ分離シ盡スコトハ殆ド不可能ニシテ 0°C 分離ニ於テハ第9回分離液、室温分離ニ於テハ第12回分離液ニ於テモ猶ホ「ア」様物質ヲ證明シ、前章實驗ト全ク一致ス。

6. 家兎脱纖維血液 1 cc 内ノ赤血球量ハ 0.38—0.55 cc 平均 0.48 cc ニシテ血液ノ約半量ナリ。分離液ノ血管收縮程度ト赤血球量トノ間ニハ一定ノ關係存在シ、赤血球量多キ程分離液中ノ血管收縮物量モ亦多量ナリ。即チ赤血球ヨリ分離スル「ア」ノ量ハ赤血球量ニ比例ス。

第2節 葡萄糖ノ分離ニ及ボス影響

Joachim u. Eberhard<sup>11)</sup> ハ葡萄糖溶液ト「ア」ノ混合液ヲ「マウス」尾根部皮下ニ連續注射スルトキハ皮膚壞死ヲ生ズルモ「ア」様作用ヲ有スル他物質ト混合スルカ、或ハ葡萄糖溶液ノミヲ注射スルモ該部ニ輕度ノ淺在性皮膚缺損ヲ生ズルニ過ギズ、即チ「ア」ハ葡萄糖ノ吸收ヲ阻害シ之ヲ蓄積セシムルニヨリ壞死ヲ招來スト云ヘリ。然ルニ Trendelenburg<sup>12)</sup> 等ニヨレバ「ア」ノ糖吸收抑制作用ハ極僅微ナルカ或ハ全ク缺如スト。Wright u. Mc Closkey<sup>13)</sup> 等ハ副交感神經ヲ切除セル犬後脚ニ「ア」ヲ皮下注射スレバ「ア」感度ノ亢進ニヨリ該

實驗成績： 表 III

表 III. 等張葡萄糖溶液ニヨル分離

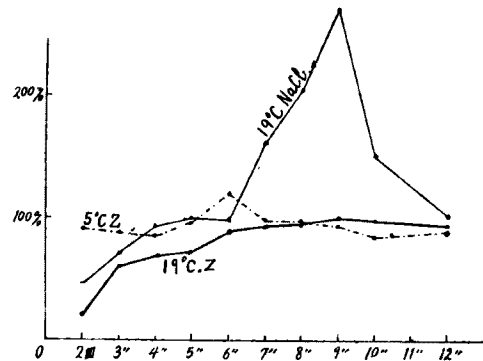
實驗	室溫	洗滌液溫度	採血法	血液 1cm 中ノ赤血球量	被檢液量	家兎耳殼血管灌流ニヨル滴數減少率											
						豫備實驗		本實驗成績									
						「ア」 <sub>10<sup>-8</sup></sub>	「ア」 <sub>10<sup>-7</sup></sub>	第2回	第3回	第4回	第5回	第6回	第7回	第8回	第9回	第10回	第12回
I		0°C	無處置全採血	0.44cm	2.0cm	42.6	92.6	91	88	86.6	96	120	98	98	92.3	84	89.5
						分離液ノ溶血度	—	—	±	±	+	+	+	+	+	+	
						赤血球ノ凝集	—	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
II	19°C	19°C	〃	0.38cm	2.0cm	18.6	94.0	20	60	68.8	72.0	89.0	96.0	95.5	100	98	91.1
						分離液ノ溶血度	—	±	±	+	+	+	+	+	+	+	
						赤血球ノ凝集	—	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±

部=壊死ヲ生ジ、特=冬期=實驗スルカ又ハ注射部位ヲ冷却スルトキハ壊死ノ程度大ナリト云ヘリ。余ハ囊=微量ノ血糖増加モ赤血球「ア」吸着現象ヲ著シク増進シ、血糖量0.4—0.5%ニ於テ最モ良ク「ア」ヲ吸着スルコトヲ確認セルト共ニ0.3—0.5%ノ葡萄糖ガ「ア」作用ヲ増強スルコトヲ家兔別出小腸法竝ニ血壓法ニ於テ確證セリ。亦「ア」ガ過血糖ヲ招起スルハ周知ニシテ「ア」ト葡萄糖トノ

間ニハ常ニ不可分密接ノ相離ヲ有スルハ明カナリ。此處ニ於テ葡萄糖ノ赤血球「ア」分離ニ關スル影響ヲ觀察セン爲ニ0°C竝ニ室溫(19°C)等張葡萄糖溶液(5.5%「メルク」社製)ヲ以テ前節實驗ト同操作ノ下ニ「ア」吸着赤血球ヲ數回洗滌シ各分離液2ccノ滴數減少率ヲ測定セリ。本實驗ニ於テハ第2回分離液以後ヲ灌流ニ使用セリ(表 III 竝ニ Fig. 3 參照)。

Fig. 3.

等張葡萄糖溶液竝ニ生理的食鹽水ニヨル分離比較



1. 各分離液ノ滴數減少率ハ表 III 竝ニ Fig. 3ニ明カナル如ク前節實驗ノ成績ト甚ダシク趣ヲ異ニシ、常ニ之ヨリ小ナルノミナラス、最小、最大減少率ノ差ガ僅微ナリ。即チ

2. 0°C 等張葡萄糖溶液ニテ「ア」吸着赤血球ヲ洗滌セル上清液2ccノ滴數減少率ハ第6回分離液ニ於テ最大ニシテ120%、最小ハ第10回分離液ニシテ84%ナリ、其ノ差僅ニ36%ニ過ギズ。

3. 室溫(19°C)分離ニ於ケル最大滴數減少率ハ100%ニシテ第9回分離液ナルモ、最小ハ20%ニシテ第2回分離液、其ノ差ハ80%ナリ。

4. 0°C 竝ニ室溫分離液ノ各回滴數減少率ヲ比較スルニ第8回分離液ニ至ル迄ハ毎回常ニ前者ニ

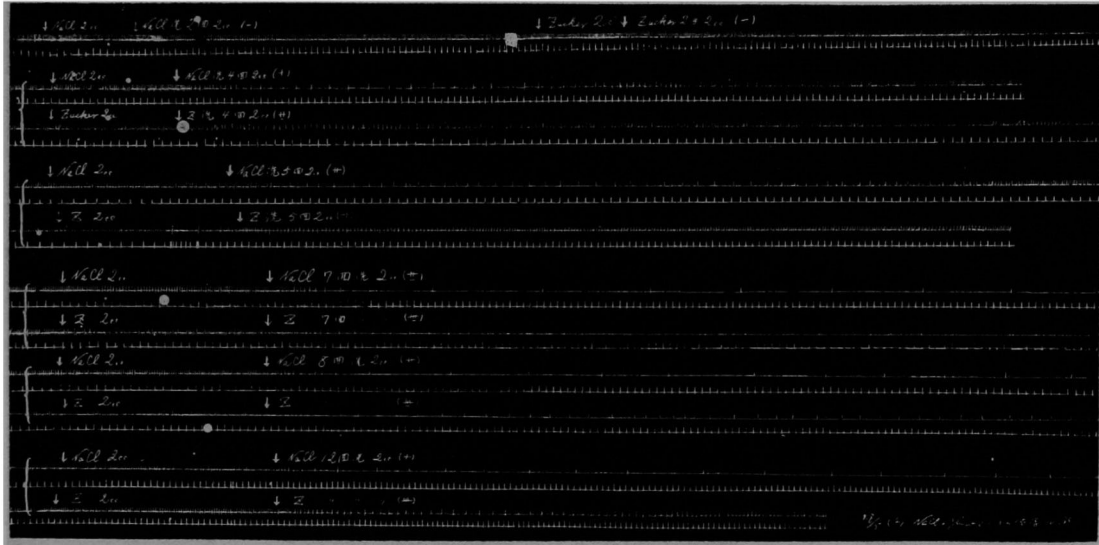
於テ大ナルモ第9回以後ニ於テハ反對ニ後者大ナル。以之觀之バ等張葡萄糖溶液分離ニ於テモ亦溫度低キ程早期ニ且稍々多量ニ分離スルモノノ如シ。但シ本實驗ニアリテハ動物ヲ異ニセルヲ以テ食鹽水ニヨル前實驗トハ多少趣ヲ異ニスベキコトヲ附記ス(Fig. 3. 竝ニ表 III)。

5. 然レ共室溫等張葡萄糖溶液竝ニ室溫生理的食鹽水ニヨル分離ヲ比較スルニ(同一血球ニ就キ實驗ス) Fig. 3 竝ニ 4ニ見ル如ク、2例共ニ毎回分離液ノ滴數減少率ハ著シク僅小ナリ。

依之觀之バ等張葡萄糖溶液ハ赤血球「ア」ノ分離ニ對シ抑制的ニ作用スルモノナラン。



Fig. 4.



圖中(+) (−)ハ分離液ノ溶血度ヲ示ス  
各挿圖ノ秒記ハ毎6秒ナリ

第3節 赤血球「ア」ノ分離ニ及ボス2,3物質ノ影響ニ就テ

余ハ別著赤血球ノ「ア」吸着實驗ニ於テ低温, 酸, 食鹽竝ニ其ノ他2,3物質ガ吸着ヲ阻害スルコトヲ觀察セリ。此處ニ於テ之等物質ガ分離ニ對シ如何ニ作用スル哉ヲ檢セントシテ以下實驗ヲ行ヘリ。既ニ食鹽及ビ低温ニ關シテハ上述セルヲ以テ其ノ他物質ノ影響ニ就テノミ記述スルコトトセリ。

第1項 酸及ビ「アルカリ」ノ影響

別報ノ如ク赤血球ノ「ア」吸着ハ酸ニヨリ著シク阻害セラルルニ反シ「アルカリ」ハ之ヲ著明ニ増進スルコトヲ確證セリ。然ルニ分離ニ對スル此兩者ノ作用ハ以下實驗ニ見ル如ク全く正反對トナルヲ認メタリ。

1. 「アルカリ」(Fig. 8 参照)

既報セル如ク血清トロツク氏液等量混合液中ニ於テ赤血球ハ「ア」ヲ吸着スルモ, 血清ト生理的食鹽水混合液中ニ於テハ殆ド「ア」ヲ吸着セザルモノ

ニテ, 此時ロツク氏液ハ  $P_H = 7.3-7.4$  生理的食鹽水ハ  $P_H = 6.8-7.0$  ナリ。

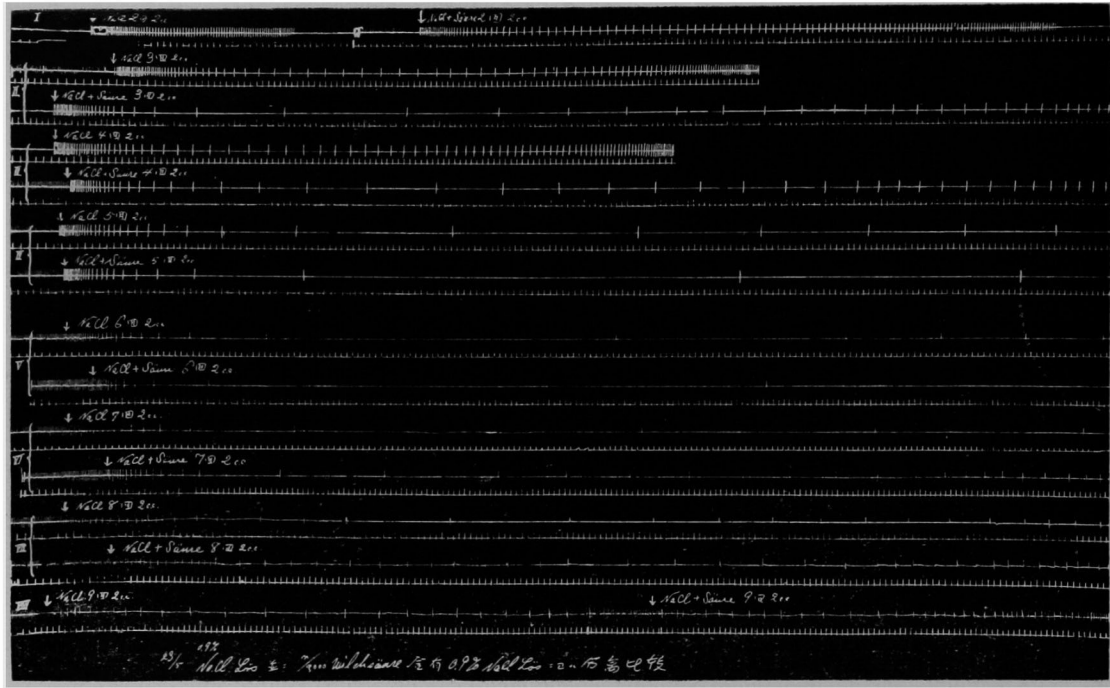
今生體內ニ於テ「ア」ヲ吸着セシメタル赤血球ヲロツク氏液竝ニ生理的食鹽水ニヨリ夫々洗滌シ, 各回洗滌液ノ血管作用ヲ比較スルニ Fig. 8.ニ示ス如シ。

即チロツク氏液洗滌ニヨル「ア」様物質ノ分離ハ生理的食鹽水ノ夫レヨリ毎回稍々不良ナリ。依之觀レバ  $P_H$  高キ液ハ赤血球「ア」ノ分離ニ對シ障的ニ作用ス。

2. 酸ノ影響 (Fig. 5. 参照)

生體內ニテ吸着セル赤血球「ア」ヲ室温ニ於テ, 生理的食鹽水竝ニ  $n/3000$  乳酸ヲ含有スル生理的食鹽水ノ二者ニテ洗滌シ, 各回分離液ノ血管作用ヲ比較シタルニ Fig. 5.ニ示ス如ク, 第6回分離液迄ハ後者ノ血管作用著シク強度ナルモ, 第7回分離液以後ニ於テハ反之シ前者強度ナリ。即チ酸ハ赤血球「ア」ノ分離ヲ著シク促進ス。

Fig. 5.



### 第2項 副腎皮質液ニ其ノ製劑ノ赤血球 「ア」分離ニ及ボス影響

副腎皮質ヲ内分泌臓器ナリト見做スモノ、又ハ解毒臓器ト見做スモノアリテ、其ノ生理作用ニ關シテハ全く不明ノ状態ニ存スト云フモ過言ナキ現狀ナリ。余ハ偶々副腎ノ血行系ヲ檢シタルニ動脈血ハ副腎ノ外側ヨリ入ルヲ認メ Kutschera<sup>14)</sup>ニヨレバ副腎ニ至ル動脈血ハ皮膜ヲ通シテ入り、皮質ヲ灌流シタル後髓質内ニ來リ、其ノ中央部ニ於テ大ナル副腎靜脈ニ集中セラレ之ヨリ外導セラルト。又菅原氏<sup>15)</sup>ノ研究ニヨレバ副腎皮質抽出液モ亦著明ナル Folin 氏「ア」反應ヲ呈スト。他方高等動物副腎ノ解剖的關係ヲ見ルニ髓質ハ常ニ皮質ニヨリテ圍繞セラルルハ周知ナリ。此處ニ於テ余ハ副腎皮質ガ赤血球「ア」ノ分離ニ對シ重大役割ヲ有ヘルニハ非ズ哉ト思考シ、下記ノ實驗ヲ行ヒタルニ、甚ダ興味アル成績ヲ得タリ (Fig. 6 参照)。

#### 1. 副腎皮質浸出液ノ分離ニ及ボス影響

正常家兎ニ型ノ如ク「ア」ヲ注射シテ赤血球ニ吸着セシメ7分後ニ 10 cc ヲ頸動脈ヨリ採取シタル後該家兎ヲ出血死ニ至ラシメ、直チニ副腎ヲ採リ、銳利ナル刀ニテ長軸ノ方向ニ切半シ、注意シテ皮質ヲ分離切斷ス。皮質片 0.2 g ヲ「トルヂオンスワグ」ニテ秤量シ、金剛砂ニテ10分間碎磨シ、ロツク氏液ヲ加ヘテ全量ヲ 100 cc トナス。所要量ヲ遠心シテ上清ヲ實驗ニ供セリ。

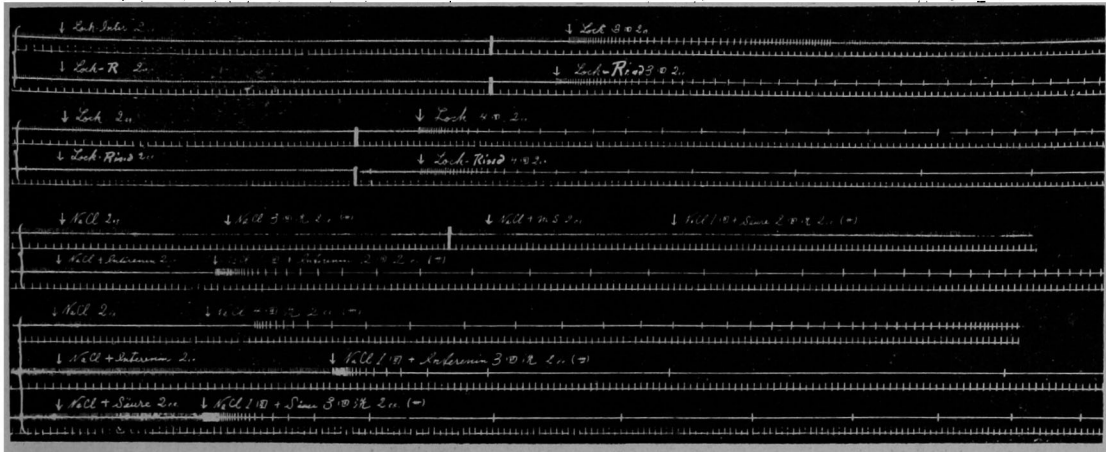
今ロツク氏液ノミニヨル分離液ト、上記皮質含有ロツク氏液ニヨル夫レトヲ比較スルニ Fig. 6ニ示ス如ク、後者ノ分離液中ノ「ア」様物質質量ハ前者ニ比シ著シク大ナリ。即チ副腎皮質ハ著明ニ赤血球「ア」ノ分離ヲ促進スルヲ認メタリ。

#### 2. 「インテレン」ノ分離ニ及ボス影響

「インテレン」ハ武田ニヨリ發賣セラレル副腎皮質製劑ニシテ、同製劑ハ皮質有效物質ヲ 10% 含有スト云フ。余ハ「インテレン」2 cc ニ生理的食鹽水ヲ加ヘテ 100 cc トナシ、實驗ニ使用セリ。

實驗成績：

Fig. 6.



圖中(廿)(卅)ハ溶血度ヲ示ス

生体内ニテ吸着セシメタル赤血球「ア」ノ分離ニ對シ、a. 「インテレン」加生理的食鹽水、b. 生理的食鹽水、c. n/3000 乳酸加生理的食鹽水、3者ノ作用ヲ比較實驗セルニ上圖ノ如ク、a. 平常ニb. c. ノ何レヨリモ「ア」分離良好ニシテb. ニ於テ最モ不良ナリ。即チ「インテレン」ハ「ア」分離ヲ著明ニ促進ス。

以上ノ如ク、少量ノ副腎皮質又ハ其ノ製劑ハ赤血球「ア」ノ分離ニ對シ特異的良好ニ作用ス。

第5章 對照實驗並ニ鑑別實驗

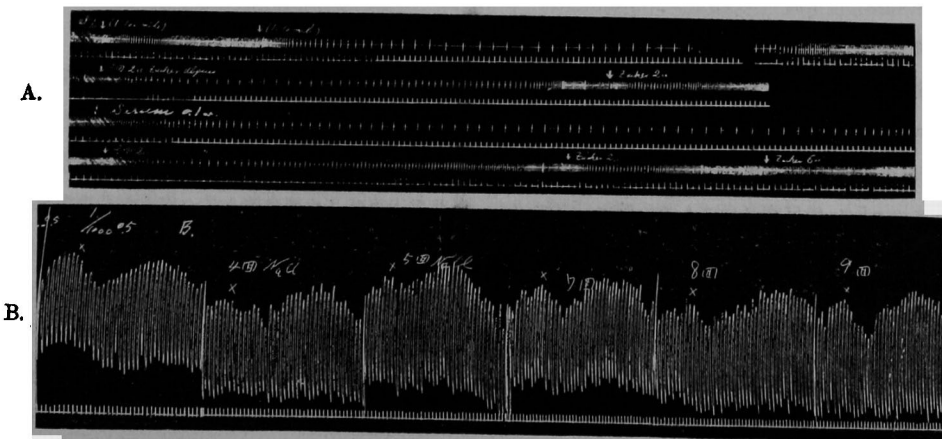
生体外ニテ吸着セシメタル赤血球「ア」ノ分離實

驗ニ於ケル分離液並ニ洗滌赤血球ノ溶解液中ニ存セル「ア」様物質ガ「ア」ナルハ疑フ餘地ナキ所ナレ共、生体内ニテ吸着セル赤血球「ア」ノ分離ニ於テ洗滌液中ニ移行セル「ア」様物質ヲ、以上ノ實驗ニヨリ直チ「ア」ナリト斷定スルハ聊カ早計ニ失シ輕舉ノ謬ヲ免レザル可シ。此處ニ於テ精細ナル鑑別實驗ト周到ナル對照實驗ヲ必要トスルハ自明ナリ。

第1節 對照實驗

第1項 分離液ノ血管並ニ小腸作用ト「ア」作用トノ比較

Fig. 7.



## 1. 血管作用

「ア」ノ血管作用ハ「ア」濃度比ニ血管標本ノ「ア」感度ノ差異ニヨリ多少ノ差アルモ、「ア」液注射開始後約20秒ニテ血管收縮ヲ起シ、間モナク最高ニ達シ數分乃至10數分ニテ復歸ス。

分離液ノ血管作用モ亦之ト同様ナリ (Fig. 7. A 参照)。

## 2. 小腸作用

Fig. 7. B = 明カナル如ク、全ク「ア」作用ト分離液作用ハ同一反應ヲ呈ス。

## 第2項 血清比ニ赤血球溶解液ノ血管及ビ小腸作用ト「ア」作用ノ比較

## 1. 血管作用

a. 血清 0.1 cc 又ハ 0.05 cc ヲ生理食鹽水ニテ20倍ニ稀釋シ血管標本ニ注射スルニ、注射開始後15—20秒ニテ血管收縮スモ、夫レノ最高收縮ニ到ル時間ハ「ア」ニ比シ稍々長時間ヲ要シ、而モ最高收縮ノ持續長ク、血管收縮ノ復歸ハ可成ノ長時間ヲ要ス。即チ血清ノ血管作用ハ「ア」ノ夫レト稍々趣ヲ異ニス (Fig. 7. 参照)。

b. 赤血球ヲ10倍ノ水ニテ溶解シ、溶解液1cc = 1.8% 食鹽水1ccヲ混ジ(赤血球ハ20倍ニ稀釋サル) 血管ニ注射スルニ長時間持續性ノ血管收縮ヲ起ス。

## 2. 小腸作用

1. 血清ヲ10倍ニ稀釋シ別出家兎小腸ニ作用セシムルニ多クハ小腸ノ「トーマス」ノ上昇ヲ來スモ分離液比ニ「ア」溶液ニ於テハ「トーマス」ノ變化僅小ナルカ或ハ之ヲ缺如シ、唯小腸運動ヲ特異的ニ抑制ス (Fig. 2. 参照)。

2. 赤血球20倍溶解液ヲ小腸ニ作用セシムルトキハ多クハ「ア」様反應ヲ呈スルモ、時ニ「ヒスタミン」様反應ヲ呈スルコトアリ、(Fig. 1. ノ下段 K, B, K 参照)。

以上ヲ以テ觀レバ分離液ノ家兎耳殻血管比ニ家兎別出小腸ニ對スル作用ハ「ア」作用ニ一致シ、血清比ニ赤血球溶解液ノ作用ト稍々趣ヲ異ニス。即

チ分離液内「ア」様物質ハ「ア」ナラン。

## 第3項 食鹽、葡萄糖溶液比ニ溫度ノ家兎耳殻血管收縮ニ及ボス影響

Na「イオン」ガ末梢血管ニ收縮的ニ作用シ、低溫ガ血管ヲ強ク收縮セシムルハ周知ナリ、又等張葡萄糖溶液ノ粘張度ハロック氏液ヨリ稍々高度ナルヲ以テ、前述實驗ノ成績ニ對シ之等ノ影響ヲ考慮スルコトモ亦必要ナル可シ。此處ニ於テ余ハ夫々5箇ノ血管標本ニ於テ、38°Cニ加温セル生理的食鹽水比ニ等張葡萄糖溶液、又ハ室溫(18—20°C)生理的食鹽水各2ccヲ灌流シ、其ノ滴數減少率ヲ比較檢査セリ。

## 實驗成績：

	38°C NaCl-Lös	Z. T. NaCl-Lös.	38°C Glukose-Lös
滴數減少率	最大 9.0%	25.0%	11.0%
	最小 3.8%	15.0%	0.0%
	平均 6.2%	20.5%	5.14%

1. 血管標本ニヨリ滴數減少率ニ多少ノ差異アルモ、各例共ニ室溫食鹽水ハ加温セルモノヨリ稍々顯著シク血管收縮ヲ起ス。

2. 加温食鹽水ノ血管收縮作用ハ加温葡萄糖溶液ノ夫レヨリ稍々僅ニ強キカ或ハ殆ド同一ナリ。

3. 食鹽比ニ葡萄糖ハ血管ニ收縮的ニ作用スルモ、溫度ノ影響ニ比シ遙ニ小ナリ。

4. 第1—2節實驗成績ハ分離ニ使用セル食鹽葡萄糖又ハ溫度比ニ操作等ノ影響ニヨルモノニ非ズシテ洗滌ニヨリ赤血球ヨリ血管收縮物質ガ分離セラレシニ基クモノナリ。

## 第4項 溶血比ニ赤血球凝集ノ「ア」様物質分離ニ及ボス影響

我等ガ如何ニ細心ノ注意ト溫和ナル操作ニヨリ家兎赤血球ヲ生理食鹽水又ハ等張葡萄糖溶液ニテ洗滌スルモ、其ノ回ヲ重ネルニ從ヒ、輕度ノ溶血ヲ起シ、順次微黃赤色ヲ呈スルニ至ル。曾テ1927年 Pendelton<sup>16)</sup>ハ葡萄糖溶液ガ血球凝集作用ヲ有スルコトヲ發見シ、久保、吉田<sup>17)</sup>、日比野、前田<sup>18)</sup>等ハ之ヲ追試シ、該作用ハ等張葡萄糖溶液ニ

於テ最モ大ナルヲ觀タリ。余モ亦家兎赤血球ヲ等張葡萄糖液ニテ洗フトキハ第2回洗滌頃ヨリ強キ血球凝集反應現ハレ第3—5回ニ於テ最著明トナルヲ認メタリ。

實驗成績：

1. 室溫生理的食鹽水ニヨル「ア」様物質分離ト溶血トノ關係ヲ示セバ次表ノ如シ。

表 IV. 食鹽水ニヨル「ア」ノ分離ト分離液ノ溶血度

		洗 滌 回 數									
		2回	3回	4回	5回	6回	7回	8回	9回	10回	12回
I	滴數減少率(%)	63.3	93.1	94	316.7	610	610	170	96.5		
	分離液ノ溶血	—	±	+	+	++	++	++	++		
II	滴數減少率(%)	46.0	70.9	92.0	97.7	96.1	160	204	270	150	100
	分離液ノ溶血	—	—	+	++	++	++	++	++	++	++

2. 等張葡萄糖溶液ニヨル「ア」様物質分離ト溶血度ニ血球凝集トノ關係

(表 III 参照ノコト)

3. 室溫生理的食鹽水ト等張葡萄糖溶液ノ分離液ニ溶血比較

Fig. 4. 参照ノコト。

溶血度：分離液全ク無色透明ナルモノヲ(—) 僅微黃色ヲ(+), 微黃赤色(淡橙色)ヲ(++), 稍々赤色強キモノヲ(+++)トセリ。

赤血球凝集度ハ其ノ程度ニヨリ —, +, ++, +++ノ4種ニ區別セリ。

以上實驗ニヨリ明カナル如ク

1. 分離液ノ血管收縮程度即チ分離液内ノ「ア」様物質濃度ハ必ズシモ溶血又ハ赤血球凝集度ト一致セズ。

2. 等張葡萄糖溶液分離ニ於テハ生理的食鹽水分離ニ於ケルヨリモ常ニ溶血度高度ニシテ且著シキ血球凝集ヲ伴フニモ拘ラズ、分離液ノ滴數減少率ハ後者ヨリ遙ニ小ナリ。

依之觀之、赤血球「ア」ノ分離ニハ必ズシモ溶血又ハ血球凝集ヲ必要トセザルモノノ如シ。然レ共分離ノ初期ニ於テ順次洗滌回数ヲ重ネ、溶血度逐次強度トナルニ從ヒ「ア」様物質ノ分離度モ亦激増スルヲ以テ觀レバ、洗滌ニヨリ赤血球膜ノ滲透

性又ハ透過性ノ物理化學的變化ヲ起シ、爲ニ吸着固定セル「ア」ノ分離ヲ促スモノナラン。

第5項 「ア」注射前後ノ赤血球洗滌液内「ア」様物質濃度ノ比較

正常家兎ヲ固定後直チニ頸動脈血5ccヲ採取シ、次イデ型ノ如ク「ア」注射後8分ニ同血5ccヲ採取シ、兩者赤血球ヲ室溫生理的食鹽水ニテ洗滌シ、各回分離液ノ「ア」様物質濃度ヲ比較スルニ、「ア」注射後赤血球ノ洗滌液内ニハ毎常多量ノ「ア」様物質ヲ含有ス。

以之觀レバ洗滌液内「ア」様物質ハ赤血球ノ吸着セル「ア」分離移行セルコト明カナリ。

### 第2節 鑑別實驗

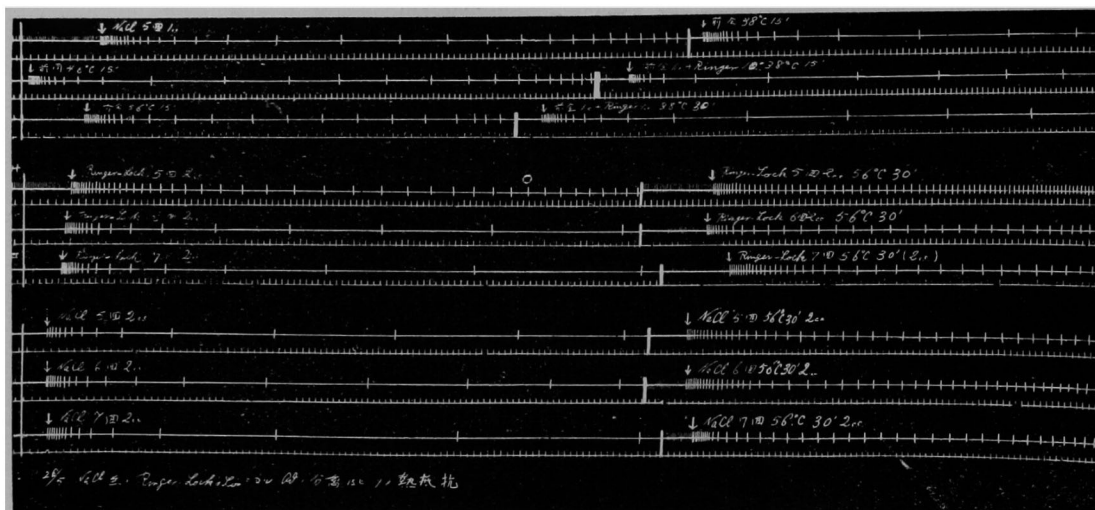
前節實驗ニヨリ分離液内ノ「ア」様物質ハ恐ラク「ア」ナルコト、而モ該物質ハ赤血球ノ理化學的變化ニヨリ赤血球ヨリ分離移行セルコト略ボ明カトナレルモ、猶ホ今日知ラレタル赤血球成分中末梢血管ニ收縮的ニ作用スル物質ハ「1—2」ニ止マラズシテ、之等物質トノ鑑別ヲ要スルハ勿論ナリ。

今其ノ主ナル物質ヲ列擧スレバ

- a. 鏷物質特ニ Kalium.
- b. 「ヒスタミン」様物質.
- c. 「アセチルコリン」.
- d. 「リポイド」特ニ「レチチン」等ナリ。

第1項 分離液内「ア」様物質ノ熱抵抗

Fig. 8.



1. 室温生理の食鹽水ニテ生体内「ア」吸着赤血球ヲ5回洗滌シ、該洗滌液1ccヲ38—46—56°Cニ夫々15分間加熱シタル後、其ノ血管作用ヲ檢スルニ圖ノ上段ニ見ル如ク56°C15分ニテ減弱シ始ム。之ハ血清又ハ血液内ニ添加セル「ア」ノ熱抵抗ト一致ス (Fig. 8. 上段参照)。

2. ロック氏液分離液ハ56°C30分ニテ殆ド血管收縮作用ヲ消失ス (Fig. 8. 中段参照)。

3. 生理的食鹽水分離液ニ於テモ同様ナリ。

以上ノ如ク分離液内「ア」様物質ハ中性又ハ「弱アルカリ性」溶液内ニ於テ56°C30分ニテ其ノ作用ヲ殆ド消滅スルモノニシテ、既報セル如ク血清ニ加ヘラレタル純粹「ア」並ニ末梢循環血中ニ存スル分泌「ア」ノ熱抵抗ト全く一致ス。

#### 第2項 分離液内「ア」様物質ノ酸抵抗

第2章既載ノ方法ニヨリ、分離液内「ア」様物質ヲ抽出シ又ハ分離液ニ鹽酸ヲ少量加ヘテ其ノ $pH=4$ 以下トナシ、100°C熱湯中ニ3—5分間加熱シタル後、其ノ血管作用ヲ檢スルニ僅ニ減弱スルノミナリ。然ルニ抽出液ノ $pH=6$ 以上ナルトキハ「ア」作用全く消失ス。即チ本物質ハ抗酸性ナリ。

#### 第3項 血液無機物質ノ血管作用

「ア」注射後ノ血液2ccヲ時計皿ニ入レ、「ガス」

火焰上ニテ乾燥焼灼シ、黑色ノ灰トナシタル後、之ニ3ccノ水ヲ加ヘテ良ク碎磨混合シ、遠心セラル上清ニ食鹽水ヲ0.85%ノ割合ニ混ジタル後之ヲ血管ニ作用セシムルモ殆ド血管收縮ヲ惹起セズ。

以上ニヨリ分離液中ノ有效成分ハ無機鹽類ニ非ザルコト明カナルト共ニ、夫レガ「ア」ナルコトヲ示ス。即チ「ヒスタミン」、「アセチルコリン」ナラザルコトハ分離液ノ小腸作用ガ「ア」ニ類似スルニヨリ區別スルコトヲ得可ク、又「リポイド」ナラザルハ其ノ熱抵抗ヲ異ニスルコトニヨリ明カナリ。

依之觀之バ分離液内ノ有效成分ハ赤血球ヨリ分離セラレタル「アドレナリン」ナリ。

## 第6章 總括並ニ考按

1. 生体内及ビ生体外ニ於テ吸着セル赤血球「ア」ハ赤血球ヲ生理的食鹽水ヲテ洗滌スルコトニヨリ其ノ大部分ヲ分離スルコトヲ得ルモ、之ヲ完全ニ分離シ盡スコトハ殆ド不可能ナリ、猶ホ分離ニ當リ溫度ノ影響ハ大ニシテ38°C以内ニ於テハ洗滌液ノ溫度低キ程早期ニ且多量ニ「ア」ヲ赤血球ヨリ分離スルコトヲ得。

a. 生体外ニテ吸着セル赤血球ヲ0°C食鹽水ニヨリ洗滌スルトキハ第1回洗滌ニ依リ其ノ大部分

ヲ分離スルモ、猶ホ5—7回洗滌ニテハ之ヲ完全ニ分離スルコト能ハズシテ、吸着「ア」ノ16.7—30%ハ赤血球内ニ残留スルモノナリ。洗滌液ノ温度高キトキハ一層分離ハ遅延シ且血球内ニ残留スル「ア」モ25—33.4%ニ増加ス。

b. 生体内ニテ吸着セル赤血球ヲ0°C生理食鹽水ニテ洗滌スルトキ最も良ク「ア」分離ヲ起スハ第4—5回洗滌ナルモ、室温(18—20°C)ニ於テハ第6—9回洗滌、38°Cニ於テハ第7回洗滌以降ニシテ而モ9—12回洗滌ヲ行フモ吸着「ア」ヲ完全ニ分離シ盡スコト能ハズ。

2. 葡萄糖ハ吸着セル赤血球「ア」ノ分離ニ對シ食鹽ニ比シ遙ニ抑制的ニ作用ス。

3. 赤血球「ア」ノ分離ニ當リ、洗滌液ノ $P_H$ 高キモノニ於テハ $P_H$ 低キモノヨリ不良ニ作用ス。即チ「アルカリ性」溶液ハ赤血球「ア」ノ分離ヲ阻害ス。

4. 酸ハ少量ニ於テモ赤血球「ア」ノ分離ニ對シ促進的ニ作用ス。

5. 副腎皮質浸出液又ハ其ノ製劑タル「インテレン」ハ少量ニ於テ著明ニ且特異的ニ赤血球「ア」ノ分離ヲ助長ス。

6. 分離液内ノ有効物質ハ、洗滌又ハ洗滌液内ノ試薬或ハ温度ノ變化等ニヨリ、赤血球ノ物理化學的乃至生物學的性狀ノ變化ヲ起ス爲ニ、吸着セラレタル「ア」ガ赤血球ヨリ分離セラレタルモノニシテ、赤血球ノ無機物質又ハ其ノ他ノ有形物質ニ非ズ。サレバ本有効物質ハ酸ニ安定ナルモ、中性又ハ「弱アルカリ性」溶液内ニ於テハ甚シク熱ニ不安定ニシテ56°30分Cニテ殆ド破壊ス。

7. 家兔血液1cc内ノ赤血球量ハ0.38—0.55cc平均0.46ccニシテ大約血液ノ半量ナリ。而シテ分離液内「ア」量ト赤血球量トハ互ニ正比例ス。

家兔赤血球ハ少量ノ血糖増加ニヨリ生体内外ニ於テ迅速著明ニ「ア」ヲ吸着結合スルモ、其ノ結合ハ可成リ強固ニシテ一定ノ試薬ヲ使用スルニ非ザレバ、之ヲ單ニ數回ノ洗滌ニヨツテ分離盡スコトハ不可能ナリ。特ニ生体内ニテ吸着セル赤血球

「ア」ノ結合ハ強固ナルモノノ如シ。少ク共吸着「ア」ノ一部ハ赤血球内部ニ侵入セルモノナラン。其ノ分離機轉ハ洗滌、温度ノ變化又ハ洗滌液内試薬ニヨリ赤血液ノ物理化學的性狀ニ變化ヲ來ス爲ニ吸着セル「ア」ヲ洗滌液中ニ分離スルニ至ルモノナラン。酸、低温、食鹽、特ニ副腎皮質Hormon等ノ如ク赤血球ノ「ア」吸着ヲ阻害スル者ハ分離ニ於テ反對ニ之ヲ助長シ、葡萄糖、「アルカリ」體温ノ如キモノハ分離ニ不良ニ作用ス。殊ニ副腎皮質ガ赤血球ノ吸着「ア」ヲ特異的著明ニ分離スルコトハ、副腎血液灌流竝ニ皮質ト髓質ト解剖的關係ト併セ考フルト甚ダシク興味アル事實ニシテ今日ノ疑問タル副腎皮質ノ生理竝ニ「ア」母質問題ノ解決ニ對シ少ク共1新知見ヲ添フモノナラント思考ス。

要之ニ今日ノ生物學的血中「ア」量測定法ハ赤血球ノ「ア」吸着ヲ全く考慮セズ、血液其ノ儘或ハ血清漿ノミヲ用フル方法ニシテ全く正鵠ナルモノニ非ザルヤ明カナリ、又Cahen氏ノ推獎セル血漿ト血球洗滌液ノ混合ヲ以テ測定セントスル方法モ亦吸着「ア」ノ分離機轉ヲ究メザル法ナルヲ以テ未ダ完全ナラズ、正當ナル血液内「ア」量ハ血液ヨリ「ア」ヲ完全且純粹ニ化學的抽出ヲ行フカ、或ハ血清漿ト赤血球溶解液ノ混合ニ於テノミ測定シ得ラルルモノナリ。然レ共生体内ニ於ケル赤血球ハ「ア」ノ外數多ノ物質ヲモ吸着シ居ルモノノ如キヲ以テ、血球溶解液ト血清漿ノ混合使用法ハ「ア」ノ測定不可能ナルコト多キヲ以テ、前者ニヨル測定法コソ正鵠ナルモノト思考ス。

擱筆スルニ當リ御懇篤ナル御校閲ト御指導ヲ給ハリシ恩師緒方教授竝ニ生理教室主任生沼教授ニ深謝ス。

本論文ノ要旨ハ昭和11年4月第18回大日本生理學會ニ於テ發表セリ。

## 文 獻

- 1) 岡村, 近日發表 (赤血球ノ「ア」吸着現象, 第1, 第2編). 2) 岡村, 岡醫雜, 第50年, 第12號, 2325頁, 昭和13年. 3) *Cahen*, C. r. Soc. Biol., 127, 221, 1938. 4) *Gedroye* u. *Koskowski*, C. r. Soc. Biol., 165, 409, 1930. 5) *Hoskins*, J. of Pharm. exp. Therap., 3, 93, 1911-12. 6) *Cannon* Am. J. of Physiol., 23, 64, 1911. 7) *Stewart* u. *Rogoff*, J. of Pharm. exp. Therap., 9, 393, 1917. 8) *Satake*, Tohoku J. of exp. Med. 9) *Kodama*, Tohoku J. of exp. Med., 4, 166, 1924-25. 10) *Watanabe* u. *Saito*, Ebenda, 7, 1, 1926. 11) *Joachim*, Eberhard. Klin. Wschr., 34, 1209, 1935. 12) *Trendelenburg*, Die Hormone, Bd. 1, 1929. 13) *Wright* u. *McCloskey*, J. of Labo. and Clin. Med., 22, 377, 1937. 14) *Kutschera*, Frankf. Zeitschr. f. Patho., 28, 233, 1932. 15) *Sugawara*, Tohoku J. of exp. Med., 11, 410, 1928. 16) *Pendleton*, J. of Labo. and Clin. Med., 12, 4, 1927. 17) 久保, 吉田, 北海道醫學雜誌, 第6年, 780頁, 昭和3年. 18) 日比野, 前田, 金澤醫大十全會誌, 第40卷, 第9號, 3814頁, 昭和10年.

---

*Aus dem Hygienischen Institut der Medizinischen Fakultät Okayama  
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).*

**Über die Isolierung des adsorbierten Adrenalins aus  
den Blutkörperchen und die Adrenalinbestimmung  
im Blute.**

Von

Dr. Nagawo Okamura.

*Eingegangen am 27. März 1939.*

Vor einiger Zeit konnte ich die interessante Tatsache feststellen, dass im Kaninchen das Blutadrenalin durch die roten Blutkörperchen in vivo und in vitro unerwartet stark adsorbiert wird, dass ferner diese Adrenalinadsorption durch geringen Traubenzucker-(0.3 - 0.5%) oder Alkali-Zusatz oder Körpertemperatur befördert, dagegen durch NaCl, Säure, Kälte, insbesondere aber durch Nebennierenrindensubstanz sehr stark gehemmt wird. Daher wies ich darauf hin, dass bei der Prüfung des Adrenalins im Blut es nötig ist, erstens einen chemisch reinen Adrenalinextrakt aus Blutkörperchen und Vollblut anzuwenden und zweitens die Adsorptionswirkung der Blutkörperchen zu berücksichtigen. Fast gleichzeitig veröffentlichte Cahen eine Technik, bei der zur Blutadrenalinbestimmung eine Mischlösung von Plasma und gespültem Abguss von roten Blutkörperchen angewendet wird, weil dasselbe das Adrenalin adsorbiert. Daraufhin stellte ich Untersuchungen an über den Isolierungsmechanismus des Blutkörperchenadrenalins, unter vergleichender Berücksichtigung meines Vorschlags und der Cahen'schen Technik. Es seien darüber folgende nähere Angaben gemacht.



**I. Isolierung des in vitro adsorbierten Blutkörperchenadrenalins.**

a) Adsorption: 10–20 ccm defibriniertes Arterienblut von normalen Kaninchen wurden abzentrifugiert (15 Minuten lang, 3000). Zu dem getrennten Serum setzt man geringe Mengen Traubenzucker und Adrenalin (1 : 0.1 – 1 Million) zu.

Mit kalter physiologischer Kochsalzlösung wurden die Blutkörperchen des Tieres durch Zentrifuge 3 Mal gewaschen. Dann wurde eine bestimmte Menge des Adrenalin-Serums und eine gleiche Menge der gewaschenen Blutkörperchen gemischt und im Wasserbad von 38°C 10–30 Minuten lang erwärmt. Darauf wurden Serum und Blutkörperchen durch die gleiche Zentrifuge wieder abgetrennt. Dabei isolierte Blutkörperchen wurden durch eine 3-fache Menge dest. Wassers vollständig aufgelöst.

b) Isolierung: 1 ccm Blutkörperchen, die das Adrenalin adsorbiert hatten, wurden mit 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt: die verschiedenen Reagentien wurden hinzugefügt und diese Mischung 10 Minuten lang stehen gelassen, um die Wirkung dieser Medikamente auf das adsorbierte Adrenalin zu untersuchen. Durch die gleiche Zentrifugierung wurde die Lösung von den Blutkörperchen getrennt und in gleicher Weise einige Male abgespült. Nach 5–7-maligem Waschen wurden die Blutkörperchen schliesslich durch Aq. dest. aufgelöst.

Die Adrenalinmenge wurde mit dieser Lösung durch die Kaninchendünndarmmethode von Kodama, die Ohrgefässmethode von Pissemiski und ausser dem durch Blutdruckmethode in der Carotis bestimmt.

c) Resultat: Durch rote Blutkörperchen wird das dem Serum hinzugefügte Adrenalin zu ca. 40–65% adsorbiert; dabei findet man in dieser Mischung keine Zersetzung des Adrenalins. In der ersten isolierten Lösung findet man die grösste Adrenalinmenge. Die Adrenalinmenge vermindert sich nach und nach durch Waschen, doch lässt sich noch in der 5.-7. isolierten Lösung eine Adrenalinwirkung nachweisen. In zum fünften bis siebten Male gewaschenen Blutkörperchen findet man noch 20–30% des adsorbierten Adrenalins.

Niedrige Temperatur, Säure und NaCl befördern die Isolierung des Blutkörperchenadrenalins.

**II. Isolierung des in vivo adsorbierten Blutkörperchenadrenalins.**

a) Adsorption: Das Adrenalin (0.05 mg pro Kilo) wurde normalen Kaninchen intravenös injiziert. Nach 5–7. Minuten wurde das Blut in Citratlösung oder das defibriniertes Blut entnommen und sofort abzentrifugiert.

b) Isolierung: 1 ccm zentrifugierte Blutkörperchen wurden mit 2 ccm Kochsalzlösung abzentrifugiert und dabei die verschiedenen Medikamente der Waschlösung hinzugefügt.

Die Adrenalinmenge in der Waschlösung und in der haemolysierten Blutlösung wurde mit der Pissemiski'schen und mit der Kodama'schen Methode bestimmt.

c) Resultat: In normalen Blutkörperchen lässt sich durch die oben genannte Versuchsweise nur eine geringe Adrenalinwirkung feststellen; dagegen findet man nach Adrenalininjektion bei den Blutkörperchen des Versuchstiers eine stark positive Adrena-

linwirkung. Die Adrenalinwirkung der isolierten Lösung zeigt sich am stärksten in der 4-7 Mal gewaschenen Lösung. Durch Kälte, Säure, NaCl und insbesondere Nebennierenrindensubstanz wird die Isolierung des Adrenalins aus den Blutkörperchen stark befördert, dagegen wirkt Traubenzucker und Alkali-Zusatz umgekehrt; die Isolierung wird bei diesem sehr gehemmt. In der gespülten Lösung findet man ausser dem Adrenalin auch noch Gefässkontraktionssubstanz, aber diese Substanz ist labil gegen Säure und ist viel thermostabiler als Adrenalin, da sie nach einer 30 Minuten langen Erhitzung auf 56°C noch wirksam bleibt.

#### Zusammenfassung.

Das Adrenalin wird sowie in vitro als auch in vivo stark durch Blutkörperchen fest adsorbiert. Dieses gebundene Adrenalin wird durch einigemales Waschen nicht abgetrennt, es wird jedoch durch öfteres Waschen oder durch Medikamentenzusatz teilweise wieder abgetrennt. Es ist sehr interessant, dass die Nebennierenrindensubstanz auf die Isolierung des Blutkörperchenadrenalins spezifisch wirkt. (Autoreferat)

## 61.

612.014.462.9 : 612.45 : 612.111

### 赤血球ノ「アドレナリン」吸着ニ 關スル生體外實驗

岡山醫科大學衛生學教室 (主任緒方教授)

醫學士 岡村榮雄

[昭和14年4月22日受稿]

#### 第1章 緒論並ニ文獻

1895年 Oliver u. Schaefer<sup>1)</sup> 兩氏ニヨリ副腎中ニ血壓上昇性物質ノ存在確認セラレ、次イデ Fränkel<sup>2)</sup> (1896), Langlois<sup>3)</sup> (1897) ニ依リ副腎内ノ當該物質化學的ニ抽出セラルルニ至リ、遂ニ1901年我が高峰博士<sup>4)</sup>ハ之ヲ純粹ナル結晶トシテ折出セシムルニ成功シ、同氏ニヨリ „Adrenalin“ト命名セラレタルハ周知ナリ。爾來學徒ノ興味翕然トシテ副腎髓質「ホルモン」タル Adrenalinノ檢索ニ集リ、Friedmann<sup>5)</sup>, Abel<sup>6)</sup> 等ニヨリ「アドレナリン」ハ化學的ニ「ブレンツカテヒン」ノ誘導體

ナル。1-methylamino-aethanol-brenzkatechinトシテ學界ニ承認セラルルニ至レリ。他方 Stolz<sup>7)</sup>, Dakin<sup>8)</sup> 兩氏ハ1905年時ヲ同ジウシテ「アドレナリン」ノ化學的合成ニ成功セリ。斯クテ「アドレナリン」ハ之ヲ化學的ニ證明シ得、且人工的ニ合成シ得キ最初ノ「ホルモン」トシテ彌ガウヘニモ學徒ノ興味ヲ唆レリ。サレバ「アドレナリン」ノ研究ハ愈々微ニ入り細ニ涉リ、廣範ナル檢索ノ歩ハ餘ス所ナク、之等業績、文獻ノ數モ夥シク、實ニ汗牛充棟モ及バザル現狀ナリ。然リ而シテ「アドレナリン」ノ化學的性状審ニ究明セラレテ既ニ久シク、