

岡山醫學會雜誌第50年第8號(第583號)

昭和13年8月31日發行

OKAYAMA-IGAKKAI-ZASSHI

Jg. 50. Nr. 8. August 1938.

86.

612-115

甲 蟹 血 液 凝 固 二 就 テ

岡山醫科大學生理學教室(主任生沼教授)

河 合 忠

[昭和13年4月26日受稿]

Aus dem Physiologischen Institut der Medizinischen Fakultät Okayama.

(Vorstand: Prof. Dr. S. Oinuma)

Über den Gerinnungsvorgang des Mimulus-Blutes.

Von

Tadasi Kawai.

Eingegangen am 26. April 1937.

Über den Gerinnungsvorgang des Limulus-Blutes gibt es zwei Arten von Besprechung. D. h. 1) Der Gerinnungsvorgang des Limulus-Blutes ist die Fibrinogen-Gerinnung in gleicher Weise wie in Homoeothermen-Blut. 2) Es ist die Agglutination der Zellen.

Verfasser schliesst von seiner Beobachtung über das Limulus-Blut dass, Gerinnungsvorgang des Limulus-Blutes ist Fibrinogen-Gerinnung. (Autoreferat)

内 容 目 次

- 第1章 緒 言
- 第2章 實驗材料及ビ實驗方法
 - 第1節 實驗動物及ビ採血法
 - 第2節 血液凝固測定器
 - 第3節 實驗方法
- 第3章 諸種血液凝固防止劑ノ甲蟹血液ニ對スル作用
 - 第1節 實驗方法及ビ實驗成績
- 第4章 甲蟹血液凝固ニ及ボスThrombinノ作用
 - 第1節 Thrombin 製法
 - 第2節 實驗方法及ビ實驗成績
- 第5章 甲蟹血液中ノThrombokinasenニ就テ
 - 第1節 Thrombokinasen 製法
 - 第2節 實驗方法及ビ實驗成績
- 第6章 甲蟹血液中ノ有形成分ニ就テ
 - 第1節 暗視野裝置ニヨル顯微鏡の所見
 - 第2節 Giemsa 染色標本
- 第7章 血小板ノ有無ニ就テ
 - 第1節 實驗方法及ビ實驗成績
- 第8章 總括及ビ考察
- 第9章 結 論
- 文 獻

第1章 緒 言

甲蟹(Limulus)ノ動物學上ノ分類ハ未解決ニシテ或ハ硬殼類ナリトシ又蜘蛛類ナリトシ又ハ獨立セル1項目ニ入ルベキモノナリトセラル。而シテ其ノ血液凝固ノ過程ニ對シ爭論サレ未ダ一致セル所見ヲ得ルニ到ラス。即チLoebハ甲蟹ノ血液凝固ハ他ノ硬殼類ニ於ケルト同ジク血球ノ凝集ニ依ル者ナリトシ之ハ

脊椎動物ノ Agglutinationsthrombusニ相當スルト云ヒ、Fibrinogenハ證明セラズト云フ。Alaberg及ビClarkモ亦之ヲ支持シ血液凝固物カラ Fibrinヲ得ルコト不可能ナリトス。Schulzモ亦血液凝固ハ血球凝集現象ナリト云フ。併シ乍ラ Nolf等ハ Fibrinbildungハ細胞ヨリ起リ之ガ細胞相互ノ密着ヲ起スモノナリトシLoebニ反對セリ。斯ノ如クシテ甲蟹血液凝固ハ所謂 Fibrinogen-Gerinnungナルカ又ハ血球凝集ニ依ルモノナルカ現今解決セラザル所ナリ。茲ニ於テ余ハ血液凝固ノ本態ヲ究明セントシ本實驗ニ着手セリ。

第2章 實驗材料及ビ實驗方法

第1節 實驗動物及ビ採血法

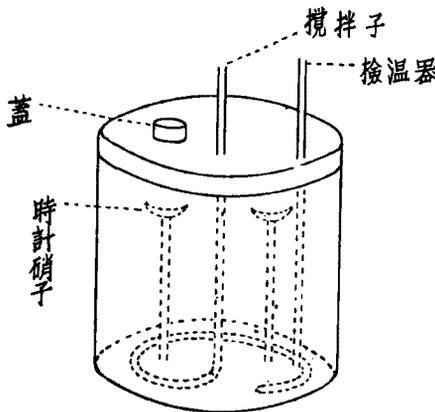
實驗動物ハ瀬戸内海沿岸ニ棲息セル Limulus longispinus(甲蟹)ヲ用ヒ採血時ニハ頭胸部ノ中央ニテ丁度心臟ノ上部ニ當リ甲殼ニ小サキ孔ヲ開ケ之ニ長サ2cm、直徑0.3cmノ硝子管ヲ挿入シ(此硝子管ノ内面ニハ豫メ「オリーブ」油ヲ塗布シ置ク)之ヲ圍心腔(Pericardialsinus)ニ達セシムル時ハ血液ハ此管ヨリ多量ニ流出スル故ニ之ヲ實驗ニ使用セリ。實驗ニ際シ血液不要ノ際ハ此硝子管ノ外口ヲ縮ニテ栓ヲ行フ時ハ直ニ止血ス。血液ヲ使用スル時ハ此縮栓ヲ除去シ最初流出スル血液5滴ヲ捨テタル後新鮮ナル血液ヲ使用セリ。斯クノ如クスル時ハ1匹ノ甲蟹ニテ度々實驗シ得ベシ。

第2節 血液凝固測定器

我が教室常用ノ測定器ニシテ本器ハ第1圖ニ示ス如ク Bürker氏ノ裝置ヲ原理トシテ作レルモノニシテ全部金屬性(亜鉛板)ノ圓柱形ノ箱ヨリ成リ

其ノ内ニ水又ハ氷ヲ入ル。器ノ上部ニハ蓋ヲ有シ高サ 13 cm, 直径 15 cm アリ外壁ハ全部黒色羅紗ヲ以テ 2 重ニ包ミ温度ノ放散及ビ傳導ヲ少クシ, 一定温度ノ保持ニ便ナラシメ, 器内ノ温度ハ蓋ニアル細小ノ孔ヨリ器内ニ浸シタル檢温器ノ示度ニヨリテ知ラレ更ニ蓋ニアル細小ノ孔ヨリ水中ニ浸シタル攪拌子ニ依リ時々器内ヲ靜ニ攪拌シ温度ヲ均等ナラシメル如ク作レリ。器底ヨリハ長サ 9 cm ノ 2 本ノ金屬棒ヲ立テ其ノ上端ニ時計硝子ヲ置クニ適セル凹陷ヲ有スル直径 4.5 cm ノ金屬板固定ス。此金屬板上ニハ之ト略ボ相等シキ大サノ時計硝子ヲ載セアリ。測定ニ際シテハ先ヅ本器内ニ氷及ビ水ヲ金屬板ニ接スル迄入レ, 充分攪拌シ適當ノ温度ニ加減シタル後實驗ヲ遂行セリ。

第 1 圖 血液凝固測定器



第 3 節 實驗方法

余ノ實驗ハ主トシテ夏季ニ行ヒシモノナルガ甲殼血液ノ凝固ハ甚ク速ニシテ甲殼背甲ニ處置セル硝子管ヨリ滴下スル血液ハ採血後數秒ニシテ凝固ヲ起スガ爲メ實驗ニ際シ甚ク不便ナリシヲ以テ Iimulus ヲ前以テ冷却スルト共ニ測定温度ヲ 1°C トシテ其ノ凝固ヲ遅延セシメタル後實驗セリ。

即チ甲殼ヲ 1°C ノ電氣恒温冷蔵庫内ニ 10 時間冷却シタル後其ノ血液ヲ使用セリ。測定ニ當リテハ測定器内ノ時計硝子ニ 1 滴ノ試薬ヲ入レタルモノ中ニ其ノ 3 倍量即チ 3 滴ノ血液ヲ入レ速ニ細キ硝子棒ニテ之ヲ 2 回攪拌シテ兩液ヲ充分混合セシメタル後直チニ覆蓋ス。尙ホ使用前ニハ時計硝子及ビ硝子棒ハ酒精及ビ「エーテル」ニテ清拭シタル後「オリーブ油」ヲ薄ク塗りテ置ク, 又血液凝固決定法トシテハ上記ノ如ク兩液ヲ混合シタル後ハ 10 秒互ニ細キ硝子棒ニ依リ血液ノ周邊部ヨリ中心ニ向ヒ之ヲ掻キ上ゲ凝固セル血液ノ附着スルカ否カニ依リテ凝固ヲ決定スルト共ニ之ヲ以テ凝固時間ト決定セリ。

第 3 章 諸種血液凝固防止劑ノ血液ニ及ボス影響

第 1 節 實驗方法並ニ實驗成績

5% 枸橼酸曹達(局方), 1% 蕃酸曹達(局方), 40% 硫酸「マグネシウム」(局方), 2% Novirudin, 1.5% Heparin (Kahlbaum 製), 0.1% Hirudin (Firma Sachsse & Co 製) 等ヲ使用シ之等ハ總テ甲殼血液ト等張ナル 3% 食鹽水ニ溶解セル後用ヒ血液ト試薬量トノ比ハ 3:1 トシタリ。其ノ結果ハ凝固ヲ起サザル時ヲ(一)トシ疑ハシキ時ヲ(±)トシ僅ニ凝固セル時ヲ(+)トシ凝固中等度ナル時ヲ(++)トシ更ニ強ク凝固セル時ヲ(+++)ナル記號ニテ表ス事トスレバ第 1 表ニ示ス如ク總テノ藥液ハ凝固ヲ防止セリ。尙ホ對照トシテハ藥液ヲ加ヘザル血液ノミト 3% 食鹽水ヲ加ヘタル者トニセリ。凝固ヲ示ス符號ノ右側ニ示ス數字ハ凝固迄ノ時間ヲ示ス。即チ之ニ依ルト Heparin ハ確實ナル凝固ヲ 1 回起シタルモ凝固迄ノ時間ハ對照ニ比シテ長キ時間ヲ要スル事ハ注意スベキ事ナリ。

第 1 表 諸種血液凝固防止薬ノ甲蟹血液ニ對スル作用

8/IV	晴	使 用 薬 液							對 照	
回数	室温	測定温度	Nat. oxal.	Nal. citr.	Mag. sulf.	Heparin	Hirudin	Novirud	血液ノミ	3%NaCl
1	28°C	1°C	(±) 2'0"	(-)	(-)	(±) 2'0"	(±) 2'30"	(-)	(卅) 15"	(卅) 1'30"
2	"	"	(-)	(-)	(-)	(-)	(±) 3'0"	(-)	(卅) 20"	(卅) 1'40"
3	"	"	(±) 2'30"	(±) 3'0"	(-)	(±) 2'20"	(-)	(-)	(卅) 20"	(卅) 1'30"
4	"	"	(-)	(-)		(+) 2'0"	(±) 3'0"	(-)	(卅) 15"	(卅) 1'0"
5	"	"	(-)	(-)		(-)	(-)	(-)		
6	"	"				(±) 2'30"	(-)			

第 4 章 血液凝固ニ及ボス Thrombin
ノ作用

ニナル様ニ 3% 食鹽水ニ溶解セシメ充分振盪シタル後其ノ上澄液ヲ實驗ニ使用セリ。

第 1 節 Thrombin 製法

Howellニ從ヒ豚ノ血液ヲ氷室ニ 24 時間放置シ其ノ血清ヲ集メ此血清ニ對シ約 20 倍量, 97% 酒精ヲ加ヘルト白色沈澱物生ズ。次ニ氷室ヨリ取り出シ此罐室温ニ放置スル事 7 日間ニシテ之ヲ濾過シ其ノ残渣ヲ室温ニテ乾燥セシメ之ヲ破碎シ 10%

第 2 節 實驗方法及ビ實驗成績

血液ト Thrombin 溶液量トノ比ハ 3 : 1 トシテ 3% 食鹽水ヲ使用セルニ Thrombin 溶液ハ甚ジク甲蟹液凝固ヲ促進セシメルヲ知ル(第 2 表参照)。凝固ヲ示ス符號ノ右側ノ數字ハ凝固迄ノ時間ヲ示スモノナリ。

第 2 表 Thrombin ノ甲蟹血液凝固ニ及ボス作用

月 日	回 數	室 温	測 定 温 度		對 照
10/1V		30°C	1°C	Thromb.	3% NaCl
"	1	"	"	(卅) 20"	(卅) 1'30"
"	2	28.5°C	"	(卅) 25"	(卅) 1'40"
"	3	"	"	(卅) 30"	(卅) 1'30"
"	4	"	"	(卅) 20"	(卅) 1'40"

第 5 章 甲蟹血液中ノ Kephalin ノ
有無ニ就テ

蟹血液ノ「エーテル」浸出物が家兔血液凝固ヲ促進セシムルヤ否ヤヲ實驗セリ。即チ甲蟹血液ヲ第 2 章第 1 節ノ如クシテ Pericardial sinusニ挿入セル硝子管ヨリ血液 20ccヲ採取シ之ニ「エーテル」200ccヲ加ヘ約 3 時間振盪シタル後 1 晝夜室温ニ

第 1 節 Kephalin 製法

甲蟹血液中ノ Kephalin ノ有無ヲ檢スル爲メ甲

放置セル後其ノ「エーテル」ノ上澄液ヲ集メ之ヲ室温ニテ蒸發セシムル時ハ帶黃白色ノ沈渣極ク微量ヲ得ルヲ以テ之ヲ「オリーブ油」2 ccニ溶解セシ者ヲ實驗ニ使用セリ。

實驗ニ當リ試薬ト血液ノ量トノ比ハ 3:1 トシ(即チ3滴ト1滴ニセリ)速ニ兩液ヲ混合セシムル爲ニ細キ硝子棒デ10回攪拌セリ。此際甲蟹血液ノ「エーテル」浸出物ヲ作用セシ者ハ對照トシテ「オリーブ油」ヲ作用セル者ニ比シ血液凝固時間ハ促進スル(第3表參照)。

第2節 實驗方法及ビ實驗成績

第 3 表

月 日	回 數	室 温	測 定 温 度		對 照
8/XI	1	12°C	20°C	「エーテル」浸出物	「オリーブ油」
"	1	"	"	40"	1'0"
"	2	"	"	50"	1'20"
"	3	"	"	1'0"	1'20"
"	4	"	"	30"	50"
"	5	"	"	50"	1'20"

第6章 甲蟹血液有形成分ニ就テ

第1節 暗視野装置ニ於ケル顯微鏡的所見

甲蟹血液ノ1滴ヲ載物硝子上ニ滴下シ暗視野上ニ觀察スレバ血球ハ甚シク破壊性ニ富ミ最初Oval又ハRundニシテ顆粒ニ富メル血球中ノ顆粒ハ一部分細胞原形質ヨリ遊離シ載物硝子ノ底部ニ沈澱ス。併シ一定度迄顆粒ガ遊離スレバ夫レ以上血球ノ變化起ル事ナシ。此時血球ニハLoebノ云ヘル如ク核ヲ有スル白血球1種類ヲ認ムルノミニシテ血小板様ノ者ヲ認め得ズ。

第2節 Giemsa 染色標本

Giemsa 染色ニ於テハProtoplasmaハ淡黃色ニ染マリ細胞原形質ノ破壊セル者アリテ原形質ノ形ハ種々ナリ。細胞原形質外ニハ淡黃色ニ染色セル顆粒ヲ認ム。細胞核ハ紫色ニ染色シ其ノ一部分ニハ紅色ニ染色セル部分アリ。

第7章 血小板ノ有無ニ就テ

Bürkerノ方法ニ從ヒ直径3cmノ時計硝子ノ内面ニ「オリーブ油」ヲ薄ク塗リタル者ヲ氷ヲ入レタル血液凝固測定器内ニ置キ更ニ此測定器ヲ1°Cノ電氣恒温冷蔵庫中ニ入レ此時計硝子中ニ甲蟹ヲ1°Cニ10時間冷却セル者ノ血液3滴ヲ滴下シ血液凝固ヲ防止シタル後5分後ニ血漿ノ1滴ヲ載物硝子上ニ取り暗視野装置ニテ檢鏡スルト共ニGiemsa 染色標本ニ就テモ觀察セルニ唯一種類ノ白血球ノ外ハ血小板様ノ者ヲ認めザリキ。

第8章 總括及ビ考察

以上ノ實驗成績ヨリシテ「枸橼酸ナトリウム」及ビ「蔞酸ナトリウム」ノ血液凝固防止作用ハ血液中ノCalciumヲ沈澱セシムルガ爲ナル可ク又Antiprothrombinト云ハルルHeparinモ亦作用スル事ハ甲蟹血液中ニハProthrombinノ存在スル事ヲ知ル。又Anti-

thrombin ナル Hirudin 及ピコレノ代用品ト稱セラルル Novirudin ニ依リテ凝固ノ防止セラルル事ハ血液中ニ Thrombin 存在スル事ヲ知ル。又第4章ニ於ケル如ク豚ヨリ製成セル Thrombin ヲ甲蟹血液ニ加ヘル時其ノ凝固ハ對照ニ比シ甚シク促進セラルル事ヲ知ル。此事ハ甲蟹ノ血液中ニ Fibrinogen ノ存在スル事ヲ想像シ得ベシ。甲蟹血液ノ「エーテル」浸出物質ガ家兎血液凝固ヲ促進セシムル爲メハ血液中ノ Thrombokinase ノ作用ニ依ルモノナル可ク以上ノ成績ヨリシテ甲蟹血液ハ一般血液凝固説ノ如ク其ノ血液中ノ Thrombokinase ガ Thrombogen ニ作用シ更ニ Thrombogen ニ Calcium ガ作用シテ Thrombin ニ成リ此 Thrombin ニ Fibrinogen ガ結合シテ Fibrin ヲ生ジ Fibrin-Gerinnung ヲ成ス者ナラン。Thrombogen ハ一般ニ血小板中ニ存在スルト云ハルルモ血小板無キ甲蟹ニテハ恐ラク白血球中ノ顆粒ハ血小板ノ作用ヲ營ムモノナラン。

今甲蟹血液凝固ノ甚シク速カナル理由ヲ考フルニ先ゾ考フ可キ事ハ血液凝固促進物質ナル Thrombokinase ノ多量ニ形成セラルル事及ビ Thrombogen ノ多量ニ含有セラルル事

必要ナル可シ。余ハ血液凝固測定ノ際豫備實驗トシテ既述ノ血液凝固防止劑ノ普通適當量ヲ作用セシメタルニ凝固防止作用表レザリシ爲メ本實驗ニテハ普通適當量ノ數倍ノ濃度ヲ有スル血液凝固防止劑ヲ使用シタル時始メテ凝固ヲ防止シ得タルナリ。斯カル理由ニヨリ甲蟹血液ハ體外ニ出ゾルト白血球ノ崩壞ニヨリ多量ノ凝固促進物質ガ形成サルルモノナルコトヲ推定シ得ベシ。尙ホ疑問トスル處ハ甲蟹ヲ 1°C ノ冷蔵庫中ニ 15 時間以上放置スル時ハ之ヲ取り出シタル直後デハ其ノ血液ハ凝固セザル事ナリ。

第9章 結論

甲蟹血液ノ凝固ハ一般血液ノ凝固ト同ジ機轉ニヨリテ纖維素ヲ Fibrinogen ヲ生ズルニヨリテ惹起セラルルモノナリ。唯其ノ機轉中 Thrombokinase ハ白血球ノ崩壞ニヨリテ生ズルモノト見ルノ外ナシ。

撰筆スルニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導ト御校閲トヲ賜ハリシ恩師生沼教授ニ滿腔ノ謝意ヲ表ス。

文 獻

- 1) *Alsberg und Clark*, J. of Biol. Chemistry, Vol. 5, S. 323, 1908.
- 2) *Loeb*, Folia Hämatologica, 1907, zit. nach J. of Biol. Chemistry, Vol. 5, S. 323, 1908.
- 3) *Loeb*, Beitrage zur Chem. Physiol. und Pathol., Bd. 5, S. 191.
- 4) *Loeb*, Chemische Zeitschrift, Bd. 16, S. 157, 1909.
- 5) *Schultz*, Handbuch der Vergleich. Phy., Bd. I, I. Hälfte, S. 686.
- 6) *Nolf*, Archiv intern. de physiologie, T. 7, 1907, zit. nach Handbuch der Vergleich. Phy., Bd. I, I. Hälfte, S. 686.
- 7) *Bürker*, Pflüger's Arch., Bd. 102, S. 36, 1904.
- 8) *Bürker*, Ebenda, Bd. 149, 1912.
- 9) *Howell*, Text book of physiology, Howell, 10th. edition, S. 464, 1928.