

脾臓ト含水炭素新陳代謝

第二回報告. H. C. Hagedorn 及ビ B. Norman Jensen 兩氏微量血糖定量法ニ就テ

岡山醫科大學柿沼内科教室

野 間 新

1913年 Ivar Bang 氏ハ微量檢血糖法ヲ發表、後種々ノ點ニ改良ヲ加ヘ、其完成ヲ期セシガ、更ニ氏ハ晩年、之ト異ナル微量檢血糖法ヲ考案シ、前ノ舊法ニ對シ之ヲ新法ト稱セリ。而シテ該新法ハ其後 Berthold, Oppler, Svend Aage, Holboell 竝ニ堀内諸氏ニヨリテ追試改良ヲ施サレ、愈々完全ニ近ク、今ヤ廣ク、臨牀ニ、研究ニ江湖諸家ニ愛用セラレ、唯一ノ定量法タラントスルノ觀アリ。併シナガラ Bang 氏式小紙片ニ血液ヲ吸着セシムル方法ハ、全血液ノ檢査時ニ於テモ、充分ナル注意ヲ拂フニ非レバ、屢々蛋白除去ノ不完全ナルコトアルハ、周知ノ事ナレドモ、尙ホ血漿或ハ其他ノ體液等ノ如ク、小紙片ニ附着シテ後凝固セザルモノニアリテハ、Sublimatalkohol 溶液内ニ浸漬スルガ如キ操作ヲ施スニ非ザレバ、決シテ完全ニ蛋白除去ノ目的ヲ達スルコトヲ得ズ、從テ屢々鹽液内ニテ蛋白反應ヲ呈スルコトアリ。從來血漿内ノ殘餘窒素、血糖等ヲ Bang 氏法ニテ測定セル諸家ノ實驗報告ヲ見ルニ、試驗材料ヲ小紙片ニ附着シ、室内ニテ 1/2 乃至 1 時間乾燥シ、以テ鹽液内ニ入レテ後測定セル等ノ記載アレドモ、斯カル事位ニテハ、決シテ常ニ正確ナル蛋白除去ノ目的ヲ達スベカラズ。余モ第一回報告及ビ續出第三回報告試驗ノ必要上、血漿内糖定量ニ際シ、從來諸家ノ記載ノ如ク、種々工夫ヲ凝ラシタルモ、常ニ満足ナル成績ヲ得ル能ハザリキ、偶々余ハ H. C. Hagedorn 及ビ B. Norman Jensen 兩氏 (Kopenhagen, 1923) ノ考案ニ係ル、Ferricyanid ヲ以テスル微量檢血糖法ヲ用ヒ、其成績ノ確實ニシテ、且比較的簡單ナルコト、及ビ余ノ目的ニ適合スルコトヲ認メタリ。然レドモ和洋ノ文獻ヲ通覽スルニ、未ダ嘗テ本法ニ精細ナル追試批判ヲ試ミシ者アルヲ知ラズ、從テ研究上ニハ勿論、臨牀上ニモ之ヲ用フル者ナキガ如シ。茲ニ於テカ余ハ本法ヲ追試、之ニ少シク改良ヲ加ヘ、更ニ上記 Holboell 氏改良ニナル Bang 氏新法ト比較シ、其優劣ニツキ聊カ研究シタルヲ以テ、今其大略ヲ報告セントス。

Hagedorn 及ビ Jensen 兩氏法ノ概要.

本法ヲ今茲ニ述ブルハ煩雜ノ嫌アレドモ、余ハ原法ヲ多少變化シテ行ヒタルタメ、便宜上、順次略述セントス。

試薬、器具竝ニ實施ノ順序。

I. 試薬:

蛋白除去ニ用フル試薬。

1. 0.45% Zinksulfatösung: Merck 製 Zincum sulfuricum ナ用ヒタリ。
2. $\frac{n}{10}$ Natronlauge:

糖定量ニ用フル試薬。

1. Kaliumferricyanidlösung: 市井ニ販賣スル Kaliumferricyanid ナ求メ、先ヅ冷水ヲ以テ清洗シタル上、之ヲ熱湯中ニ溶解(飽和液ヲ可トス)シ、豫メ熱湯ニテ注意深ク清滌セル漏斗ニ注ギ、其ノ漏液ヲ冷水上ノ Porzellanschale ニ集メ、以テ生シタル微細結晶ヲ Nutsche ニカケ、此時生ズル漏液ハ再度上述ノ法ヲ繰返シテ再結晶チナス。斯クテ得タル微細結晶ハ 50°C ノ溫度ノ下ニ乾燥、以テ用ニ供セリ。斯クノ如クシテ作レルモノヲ、正確ニ 1.65 gr. 竝ニ純無水炭酸曹達 10.6 gr. ナ秤量、蒸留水ニ溶解 1000 cc トナシ、着色硝子罎ニ入レ、暗所ニ貯フ。

2. Kaliumjodid-Zinksulfat-Natriumchloridlösung:

Kaliumjodid	5.0	Zinksulfat	10.0
Natriumchlorid	50.0	Wasser	ad 200.0

而シテ Kaliumjodid 竝ニ Natriumchlorid ハ局方、Zinksulfat ハ Merck 製ヲ用ヒタリ。本試薬ハ原著者ノ云ヘルガ如ク、Kaliumjodid ハ容易ニ分解スルヲ以テ不安定ナレバ、豫メ Zinksulfat-Natriumchlorid ノ溶液ヲ作り、用ニ臨ミテ、之ヲ添加スルヲ可トス。

3. Essigsäurelösung:

Eisessig	3.0	Wasser	bis 1000.0
----------	-----	--------	------------

此際原著者ハ鐵ヲ含有セザル Kahlbaum 製ノ Eisessig ナ推賞セリ。余ハ局方 Eisessig モ亦鐵ヲ含有セズ、毫モ支障ナキヲ認メ、常ニ之ヲ用ヒタリ。

4. Stärkelösung: Kahlbaum 製 Stärke 1.0 gr. ナバ、豫メ作レル gesättigte Natriumchloridlösung ニ煮沸溶解セリ。

5. $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösung: Merck 製 Natriumthiosulfat 0.7 gr. ナ 500 cc ノ蒸留水ニ溶解シ、正確ニ Titelstellung チナス。而シテ此 Titelstellung ニ種々ノ法アリ。

- a) mit reinem Jod.
- b) mit Ferricyanid.
- c) mit Kaliumbijdodat nach C. Than.
- d) mit Kaliumpermanganat nach Volhard.

就中 a) ニヨリ、以テ其 Titel チ檢定スルコトハ最も正確ナリト信ズルモ、抑々 Natriumthiosulfatlösung ノ不安定ナルハ衆知ノ事實ニシテ、使用ニ際シ其都度本法ヲ用フルハ、正確ヲ期スベキモ、其煩又厭フベキナリ。況ヤ日常臨牀上之ヲ用フルニ於テオヤ。之ガ煩ヲ除カンガ爲メニ余ハ豫メ Natriumthiosulfatlösung 大量ヲ作り、其

Titelノ殆ド一定トナルヲ待チ、即チ約2週間後ニ至リテ、a) 及ビ b) 法ニヨリテ正確ニ其 Titelヲ定メ、其後用ニ臨ンテ b) 法ニヨリテ、之ガ Titelヲ補正スルヲ常トセリ。而シテ未ダ嘗テ不都合ヲ感ズルコトナキヲ得タリ

今茲ニ其方法ヲ記載センニ

a) 約6—7ccノ秤量罐ヲ取り、之ニ0.2—0.25 gr.ノ Kaliumjodidヲ入レ、之ニ約0.15 ccノ蒸留水ヲ加ヘ、全ク溶解スルヲ待チテ全部ノ重量ヲ測定、次テ之ニ純沃度約0.05 gr.ヲ加ヘタル後再ビ其重量ヲ測リ、以テ加入セル沃度ノ正確ナル重量ヲ知ルベシ。斯クテ得タル秤量罐ヲ Kjeldahl 用 Ellenmeyerkolben 内ニ入レ、沃度加里0.1 gr. 及ビ蒸留水20 ccヲ入レ、ヨク溶カシタルモノノ中ヘ器壁ニ沿ヒテ滑入セシメタル後、上記ノ $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösungヲ以テ滴定、本液ノ消費量ヨリ其 Titelヲ定ム。

例	$\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfat	純沃度
	39.435 cc	0.0264 gr.

從テ	1.0 cc	0.0006695
----	--------	-----------

然ル時ハ $\frac{0.0006695}{0.0006346} = 1.05516$

故ニ 1.05516 ナル數ヲ乘シタルモノガ眞ノ $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösungノ分量トナル。

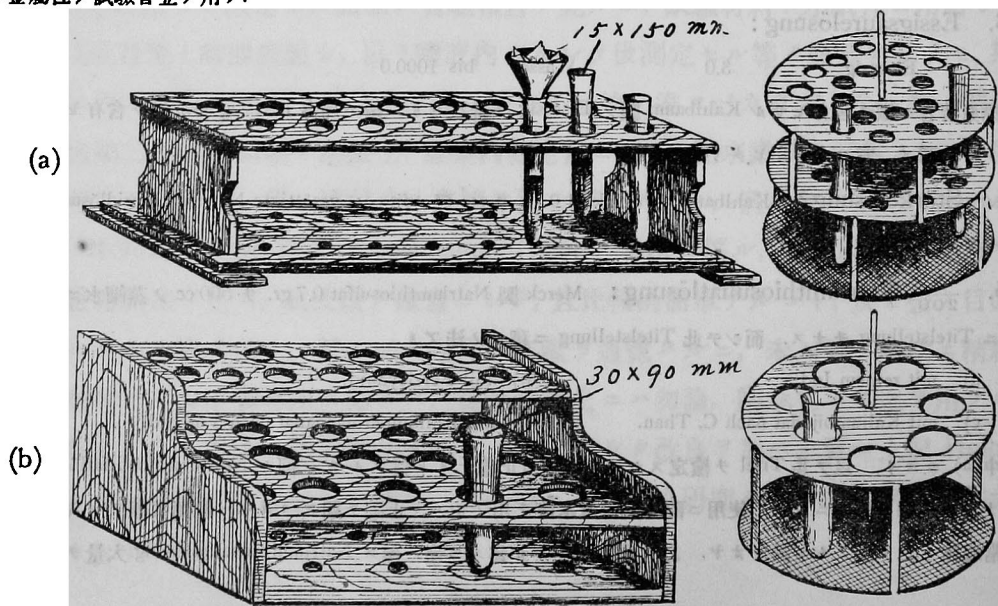
b)	$\frac{n}{200}$ Ferricyanidlösung	10.0 cc
	Kaliumjodid-Zinksulfat-Natriumchloridlösung	10.0 cc
	50% Essigsäurelösung	3.0 cc

之ヲ100 cc Ellenmeyerkolbenニ取リ普通ノ如ク滴定、以テ其 Titelヲ定ム。而シテ本法ハ其操作頗ル簡單ニシテ、終反應ハ最モ著明且安定ニシテ、結果モ亦正確ナルヲ認メタリ。

II. 器具:

1. 試験管竝ニ試験管立.

試験管ニ二種類ヲ要シ、a) 15×150 mm. b) 30×90 mm. 而シテ煮沸前竝ニ煮沸ノ際ニ、夫々圖ノ如キ木製竝ニ金屬性ノ試験管立ヲ用フ。



2. 2 cc—Pipette : $\frac{n}{10}$ Natronlauge 用
3. 10 cc—Pipette : 0.45% Zinksulfatlösung 用
4. Kapillarpipette : Hagedorn 氏等ハ之ニ $\frac{n}{10}$ 沃素酸加里液ヲ吸引シテ, 之ヲ 10 cc ノ蒸留水ニ混入シ, 酸並ニ沃度加里ヲ加ヘテ遊離沃度ヲ滴定, 2 cc $\frac{n}{200}$ 沃素酸加里液ヲ同様ニ處置シ, 比較加減シテ該 Kapillarpipette ヲ 0.1 cc トナス.
余ハ適宜 0.1 cc 内外ノ Kapillar pipette ヲ作り, 之ヲ嚴重ニ秤量シ, 次テ之ニ蒸留水ヲ吸引セシメ, 再ビ 15°C ニ於テ嚴重ニ秤量シ, 其差ヨリ該 Kapillarpipette ガ何 cc ナルカタ計算使用セリ.
5. 4 cm 直徑漏斗 : Hagedorn 氏等ハ蛋白ヲ沈澱シタル後, 之ヲ豫メ輕ク鎮メ, 且濕シタル綿ニテ濾過シタルガ, 斯クテハ實際ニ濾過ノタメニ時間ヲ要スルコト夥シカリシテ以テ, 余ハ常ニ清鮮ナル濾過紙ヲ用ヒタリ.
6. 6.05 cc—Pipette : 此 Pipette ハ必ズシモ 6.05 cc ナルヲ要セザルモ, 只ダ余ハ蛋白沈澱, 5) ニヨリ得タル漏液ノ半バヲ吸取ランガ爲メ, 便宜上, 特ニ之ヲ自ラ作レリ.
7. 2 cc—Pipette : Ferricyanidlösung 用
8. 3 cc—Pipette : Kaliumjodid-Zinksulfat-Natriumchloridlösung 用
9. 2 cc—Pipette : Essigsäurelösung 用
10. 2 cc—Mikrobürette : 滴定用

III. 實施ノ順序 :

蛋白除去 : 豫メ 2 cc Natronlauge 及ビ 10 cc Zinksulfatlösung ヲ 15×150 mm 試験管ニ取り, 之ニ Kapillarpipette ニテ被檢血液ヲ入ル. 此際 Kapillarpipette ハ 2 回該混合液ニテ洗フ.

次テ此試験管ヲ金屬性試験管立 (圖示) ニ立テ, 沸騰セル Wasserbad ニ入ルルコト 3 分間ニシテ引出シ, 上述漏斗及ビ濾紙ヲ用ヒテ, 豫メ備ヘタル 15×150 mm 試験管内ニ濾過ス.

糖定量 : 上記濾液ヲ 6.05 cc ノ自家製ノ Pipette ニテ 30×90 mm 試験管ニ取り, 尙ホ該 Pipette ニテ同量ノ蒸留水ヲ右試験管内ニ入レ, 之ニ Ferricyanidlösung 各 2 cc ヲ加ヘテ, 金屬性試験管立ニ立テテ沸騰セル Wasserbad ニ入ルルコト 15 分間, 之ヲ出シテ冷却後, 3 cc Kaliumjodid-Zinksulfat-Natriumchloridlösung ヲ加ヘ Essigsäurelösung ニテ酸性トナシ, Stärkelösung 2 滴ヲ加ヘテ, Titel ノ定マレル $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösung ニテ滴定ス.

計算 : 余ハ上記試験ハ常ニ 2 本ノ試験管ニツキテナシ, 使用セル Natriumthiosulfatlösung ヲ平均シ, 別記計算表ヨリ知レル糖量ヨリ對照試験ニテ得タル其レヲ引去リ, 之ヲ 100 cc 血液中糖量ニ換算, 以テソノ%數ヲ算出セリ.

第 一 表 (Hagedorn u. Jensen 氏ニ據ル)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.0	0.385	0.382	0.379	0.376	0.373	0.370	0.367	0.364	0.361	0.358
0.1	0.355	0.352	0.350	0.348	0.345	0.343	0.341	0.338	0.336	0.333
0.2	0.331	0.329	0.327	0.325	0.323	0.321	0.318	0.316	0.314	0.312
0.3	0.310	0.308	0.306	0.304	0.302	0.300	0.298	0.296	0.294	0.292
0.4	0.290	0.288	0.286	0.284	0.282	0.280	0.278	0.276	0.274	0.272
0.5	0.270	0.268	0.266	0.264	0.262	0.260	0.259	0.257	0.255	0.253
0.6	0.251	0.249	0.247	0.245	0.243	0.241	0.240	0.238	0.236	0.234
0.7	0.232	0.230	0.228	0.226	0.224	0.222	0.221	0.219	0.217	0.215
0.8	0.213	0.211	0.209	0.208	0.206	0.204	0.202	0.200	0.199	0.197
0.9	0.195	0.193	0.191	0.190	0.188	0.186	0.184	0.182	0.181	0.179
1.0	0.177	0.175	0.173	0.172	0.170	0.168	0.166	0.164	0.163	0.161
1.1	0.159	0.157	0.155	0.154	0.152	0.150	0.148	0.146	0.145	0.143
1.2	0.141	0.139	0.138	0.136	0.134	0.132	0.131	0.129	0.127	0.125
1.3	0.124	0.122	0.120	0.119	0.117	0.115	0.113	0.111	0.110	0.108
1.4	0.106	0.104	0.102	0.101	0.099	0.097	0.095	0.093	0.092	0.090
1.5	0.088	0.086	0.084	0.083	0.081	0.079	0.077	0.075	0.074	0.072
1.6	0.070	0.068	0.066	0.065	0.063	0.061	0.059	0.057	0.056	0.054
1.7	0.052	0.050	0.048	0.047	0.045	0.043	0.041	0.039	0.038	0.036
1.8	0.034	0.032	0.031	0.029	0.027	0.025	0.024	0.022	0.020	0.019
1.9	0.017	0.015	0.014	0.012	0.010	0.008	0.007	0.005	0.003	0.002

本法ノ定量成績正確度.

I. Merck 製最純葡萄糖ヨリ作レル 0.300; 0.200; 0.100 g/d ノ各溶液竝ニ

II. 此等溶液ト等量正常家兔空腹時尿酸鹽加血液トノ混合液ニ就キ, 夫々定量, 以テ其正確度ヲ檢シタリ. ソノ結果ハ第二表ニ示スガ如シ.

而シテ此際用ヒタル

 $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösung ノ Titel ハ 1.052

Kapillarpipette ハ 0.140 (cc)

被檢液ヲ加入セザル對照試驗 (Blindversuch) ニ要シタル $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösung 使用量 2 回ノ平均ハ

1.860 cc ナリキ.

第 二 表

被 檢 液	糖 量 berechnet (%)	nach Hagedorn u. Jensen		誤 差
		$\frac{n}{200}$ Natr. thio. 使用量 (cc)	糖 gemessen (%)	
葡 萄 糖 液	0.300	0.743 0.728 平均 0.7355	0.301	+ 0.001
葡 萄 糖 液	0.200	1.107 1.155 平均 1.131	0.194	- 0.006
葡 萄 糖 液	0.100	1.480 1.450 平均 1.465	0.105	+ 0.005
蔞 酸 鹽 加 血 液		1.500 1.490 平均 1.495	0.096	
蔞 酸 鹽 加 血 液 葡 萄 糖 液 混 和	0.198	1.132 1.116 平均 1.124	0.196	- 0.002
同 上	0.148	1.344 1.300 平均 1.322	0.144	- 0.004
同 上	0.098	1.490 1.474 平均 1.482	0.100	+ 0.002

最後ノ例ニ就キテ, 簡單ニ本法ニヨル定量計算法ヲ記サン.

對照竝ニ本試驗ニ使用シタル $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfat ノ平均量 1.860 及ビ 1.482 cc ニ夫々ツノ Titel 1.052 ヲ乘ジ, 1.955 及ビ 1.559 cc ヲ求メ, 之ヲ別表(第一表)ニ照シテ糖量 0.0075, 0.0772 ヲ得.

從テ 0.0772—0.007=0.0697 但シ之ハ余ノ術式ニ從ヘバ, 用ヒタル血液半量ノ糖量ニ相當ス. 而モ使用セル Kapillarpipette ハ 0.140 cc ナリ以テ該血液含糖量ハ $0.0697 \times \frac{1.00}{0.70} = 0.0995$ 即チ 0.100% ナリ.

而シテ本法ノ定量成績誤差ハ 5.0% ヲ出アズ, 殊ニ 0.2% 以上ノ含糖液ニテハ誤差ヲ來スコト少シ. 但シ此際 Natriumthiosulfatlösung ノ Titel 竝ニ Kapillarpipette ハ最モ確實ナルヲ要ス.

本法竝ニ Holboell 氏改良 Bang 氏新法ニヨル定量成績比較.

本法竝ニ Bang 氏法ニヨリテ, 糖尿病患者ニシテ, 食餌療法施行中ノモノニ, 米飯 70 gr. ヲ與ヘテ食後 30 分ノ血糖量及ビ脾臓剔出後第 4 日飢餓家兎空腹時血糖量ヲ定量, 其成績ヲ比較セリ (第三表参照).

而シテ此際用ヒタル

$\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösung ノ Titel \wedge 0.832

Kapillarpipette \wedge 0.107 cc

ニシテ,

Hagedorn u. Jensen 氏法ニ於テ, 血液ヲ用ヒザル對照試驗ニ要シタル $\frac{n}{200}$ Natriumthiosulfatlösung 量 2 回ノ平均 \wedge 2.350 cc Bang 氏法ノソレニ要シタル 3 回ノ平均 \wedge 4.280 cc ナリキ.

第 三 表

	nach Hagedorn u. Jensen			nach Bang			Bang トノ差
	血液使用量 (cc)	$\frac{n}{200}$ Natr. thio. 使用量 (cc)	糖 量 (%)	血液使用量 (mg)	$\frac{n}{200}$ Natr. thio. 使用量 (cc)	糖 量 (g/d)	
糖尿病患者 血 液	0.0535	1.805		96	3.380	0.147	+ 0.003
	0.0535	1.795		90	3.423	0.149	
				99	3.355	0.146	
		平均1.800	0.150			平均0.147	
脾剔出飢餓 家兎血液	0.0535	2.005		99	3.690	0.094	+ 0.002
	0.0535	1.980		105	3.653	0.094	
				107	3.625	0.096	
		平均1.9925	0.097			平均0.095	

上掲ノ表ニ就テ見ルニ, 本法ト Holboell 氏改良 Bang 氏新法トノ定量成績ノ差ハ僅々 2.0% ヲ超エズ.

總 括.

以上ノ實驗成績ヨリ考フルニ, 本法ハ先ヅ Torsionswage ヲ用フルコトナクシテ定量ノ目的ヲ達スルコトヲ得.

又本法ノ終反應ハ著明ニシテ, 一旦脱色ゼバ再ビ着色スルコトナシ.

又 Bang 氏法ニテ定量不可能ナリシ尿酸曹達又ハ加里ニテ非凝固性ニナシタル血液中糖量ヲモ測定シ得.

本法ハ速ニ定量ノ目的ヲ達スベク, 且 Hagedorn 氏等ニ從ヘバ, 一度 Natronlauge

及ビ Zinksulfatlösung ノ中ニ混ジテ, 4日ノ後, 之ヲ定量シテ取テ支障ヲ認メズト云フ. 余モ亦1-2日中ニハ更ニ不都合ナキヲ確カメタリ.

而シテ定量成績ハ Bang 氏法ト比較シテ, ヨク一致シ, 而モ相當確實ナルヲ認メタリ.

要之, 本法ハ其操作比較の簡單ニシテ, 成績モ亦相當確實ナル微量檢血糖法ノ一ナリト信ズ.

欄筆スルニ當リ, 恩師師沼教授ノ御指導御校閱ノ勞ヲ感謝ス. (14. 7. 9. 原稿受領)

文 獻

- 1) Bang, Mikromethoden zur Blutuntersuchung. 1922.
- 2) Hagedorn H. C. u. B. Norman Jensen, Bioch. Zeitsch. Bd. 135, S. 146, 1923.
- 3) Hagedorn H. C. u. B. Norman Jensen, Bioch. Zeitsch. Bd. 137, S. 92, 1923.
- 4) Holboell, Bioch. Zeitsch. Bd. 113, S. 200, 1921.
- 5) 堀内樂, 東京醫學會雜誌, 第38卷第1號. 大正13年.
- 6) Treadwell, Analyt. Chem. II Band, S. 544, 1913.

Kurze Inhaltsangabe.

Milz und Kohlehydratstoffwechsel.

II. Mitteilung: Über die Mikrobestimmung des Blutzuckers nach H. C. Hagedorn und B. Norman Jensen.

Von **Dr. med. A. Noma.**

Aus der med. Universitätsklinik von Prof. Dr. K. Kakinuma, zu Okayama.

Eingegangen am 9. Juli 1925.

Unter den Mikromethoden für die Blutzuckerbestimmung ist bekanntlich die Bang'sche Methode eine der allgemein angewandten. Manchmal, besonders z B, bei der Bearbeitung des Blutplasmas ist es aber schwer oder sogar fast unmöglich, absolut sichere Enteiweissung nach Bang ohne grosser Sorgfalt zu erreichen, wenn man nicht etwa Sublimatalkohollösung zur Hilfe nimmt. In dieser Hinsicht scheint die Ferricyanid-methode von Hagedorn Jensen vorteilhafter zu sein. Ausserdem ist die Methode relativ einfach und auch ohne Gebrauch von speziellen Einrichtungen ausführbar. Die erworbenen Resultate sind doch ziemlich genau und mit denen nach der Bang'schen Methode gut übereinstimmend. (*Autoreferat.*)