

# Donaggio 反応における pH の問題と尿中 の二、三の酸の影響について

金沢大学医学部生理学教室(主任 斎藤教授)

櫻井 昭 光

Akimitu Sakurai

(昭和28年12月21日受附)

## 緒 論

Donaggio 反応が吾国に紹介されて以来、運動医学や臨床医学においてこの反応は広く実際に利用され、多くの業績が発表されているが、その反応自体の機転に関する基礎的研究は比較的乏しい。Donaggio 反応 (以下D反応と略す) の本態は、今日のところでは「メチレン青と「モリブデン酸アンモン」の沈澱反応に対する尿膠質の保護膠質作用と考えられているが、上記三者の反応機転に関しては詳細な知見を得ていない。

D 反応陽性物質については、同僚本田、下川等の研究<sup>1)2)</sup>によりそれが Mucoprotein であることが実証され、pH 4.3 附近に等電点を有することが明らかになった。従つてこの保護膠質作用が反応系の pH によつて左右されることは想像に難くない。又「モリブデン酸アンモン」は分子量 1000 を越える錯塩であつて、その水溶液中における複雑な解離状態、「メチレン青との結合機序に対しても溶液 pH が重大な影響を有することは容易に推測される。従來のD反応に関する文献を徴するに、pH に関する記載は少なくない。Donaggio<sup>3)</sup>及び Rendel<sup>4)</sup>はD反応実施時には尿を錯酸酸性とすることを指示しているが、その酸性度は反応値に関係なしと述べている。しかし佐藤<sup>5)</sup>、山添<sup>6)</sup>、多賀<sup>7)</sup>、斎藤<sup>8)</sup>等は何れも尿又は反応系の pH が低下するに従つて、反応値が低くなることを報告している。

一方、山添<sup>6)</sup>、斎藤<sup>8)</sup>は反応系の pH が 6.0 ~ 6.5 以上になると、色素沈澱の生成が抑制されることを指摘している。更に増山、細島<sup>9)</sup>及び斎藤<sup>8)</sup>は尿の代りに各種 pH の緩衝液を用いて反応を実施する際には、反応系の pH が 5.8 ~ 6.5 以上になると、「モリブデン酸アンモン (以下 MoA と略す) は「メチレン青 (以下 MB と略す) に対し急に沈澱能を示さなくなると報告している。更に斎藤<sup>8)</sup>はこの原因が MoA 溶液、MB 溶液何れの pH 変化にあるかを確かめるため、両者の pH を夫々単独に変えた場合の吸収スペクトル」を測定し、MB 溶液の曲線は pH によつて殆んど影響されないのに反し、MoA 溶液は pH 6.0 以上になると吸収スペクトル」の偏倚を現わす。この pH 値は丁度 MoA-MB 反応系の色素沈澱現象に異常を呈し始める所の pH に一致すると報告している。

以上紹介した研究に於ては何れも Donaggio-佐藤法、山添法等によつてD反応が実施されている。著者の研究室においてはD反応標準法がその反応値と陽性物質量が比例する点で基礎的研究には最適と認め、専らこれによつてゐる。本実験においても、この方法を用い、尿及び反応系等の pH が反応値に及ばず影響を精細に吟味した。

なお、従来より尿中の二、三の酸がD反応に影響すると報告されている。即ちかかる酸として、Donaggio<sup>3)</sup>、Rendel<sup>4)</sup>、増山<sup>10)</sup>、多賀<sup>7)</sup>は

乳酸を、増山<sup>9)</sup>、山添<sup>11)</sup>、及び佐藤<sup>12)</sup>は磷酸を挙げている。著者は乳酸、磷酸、枸橼酸のD反応における態度を検討すると共に、D反応値

1点当りの濃度を測定し、實際上尿のD反応値測定に際しこれらの酸が如何程の影響を有するかを明らかにした。

### 実験方法

D反応値測定はD反応標準法を簡易精密化した中山<sup>13)</sup>の光電比色法によつて測定した。但し4% MoA溶液は反応修正を行わずに用いた。そのpHは凡そ5.21である。

pHの測定は硝子電極法(精度pH 0.01)<sup>14)</sup>によつた。

吸収スペクトルはBeckman分光光度計DU型<sup>15)</sup>によつて測定した。

なお、試料には健康男子安静時の尿を用い、これが各種pH系列作製には、HCl及びNaOH溶液を用いて行つた。

### 実験成績

#### I 尿pHを変えた場合

同一尿各10ccに各種濃度のHCl及びNaOH溶液各1ccを加え、尿pHを約3~8間の各種pH系列に展開し、夫々についてD反応値を測定し、同時に最終の反応混合液(MoA, MB及び尿の混合液)のpHを測定した。

#### (1) 尿pHとD反応値との関係

第1表、第1図に示したように、尿pH 7以上ではD反応値は殆んど一定で而も最も高い値を示すが、尿pHの酸性度が増すに従つて漸次D反応値は減少の傾向を示す。この関係は実際にD反応値判定に用いた稀釈尿のpHについて

も全く同様であつた。(第1表、第1図dを参照)

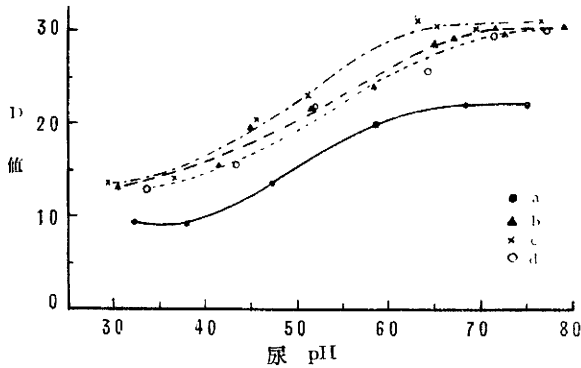
この4例の実験成績から、尿pH約7以上のD反応値は最高値を示し且つ略一定であることが判つたので、仮に尿pH 7.5のD反応値を100として、他の尿pHのD反応値を百分率で表わすと、尿pHとD反応値との関係は第2図のようにS字状曲線を成す。即ち尿pHの変化に伴うD反応値の変動は尿pH 4~6の間が最も大きく、尿pH 6.5以上及び尿pH 4以下の領域では小さい。

#### (2) 混合液pHとD反応値との関係

第1表 尿pHとD反応値

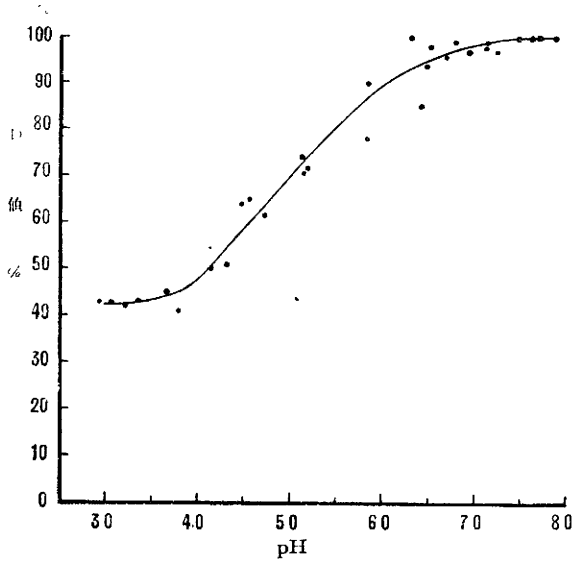
a	尿pH	3.23	3.80	4.74	5.87	6.84	7.48					
	混合液pH	4.86	5.01	5.10	5.16	5.19	5.21					
	D反応値	0.94	0.92	1.37	2.00	2.21	2.22					
b	尿pH	3.05	4.15	4.48	5.14	5.84	6.48	6.69	7.15	7.25	7.88	
	混合液pH	5.09	5.18	5.18	5.20	5.22	5.20	5.21	5.21	5.21	5.23	
	D反応値	1.32	1.54	1.97	2.16	2.39	2.87	2.94	3.04	2.97	3.06	
c	尿pH	2.94	3.67	4.56	5.12	6.30	6.51	6.94	7.62			
	混合液pH	4.98	5.08	5.13	5.18	5.18	5.19	5.19	5.20			
	D反応値	1.36	1.41	2.04	2.33	3.13	3.06	3.03	3.13			
d	稀釈尿pH	3.36	4.33	5.18	6.41	7.12	7.70					
	混合液pH	5.04	5.13	5.15	5.20	5.19	5.20					
	D反応値	1.32	1.55	2.18	2.58	2.97	3.04					

第 1 図

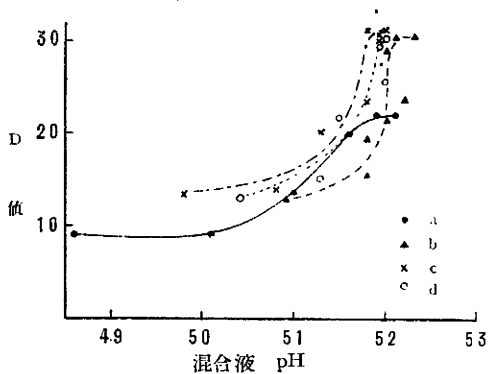


第2図 尿 pH と D 値

(尿 pH 7.5 の D 値を仮に 100 として % で表はした)



第 3 図



以上のように尿 pH と D 反応値との間に密接な関係があることが明らかになつたので、この場合の D 反応混合液の pH を測定し、D 反応値との関係を見ると、第 1 表、第 3 図のようになる。(第 1 図と同一符号の曲線は相対応し、同一試料の成績である。) 即ち混合液の pH は尿 pH を大幅に変化させたにも拘わらずすべて 5 附近に調整され、その変動範囲は僅かに pH 4.9~5.2 に止まる。而して D 反応値との関係は稍々不正形な S 字状曲線を成す。このように尿 pH の如何に拘わらず混合液の pH が狭い範囲に集合するのは、MoA 溶液の強い緩衝作用(これに関しては後述する)によるものである。

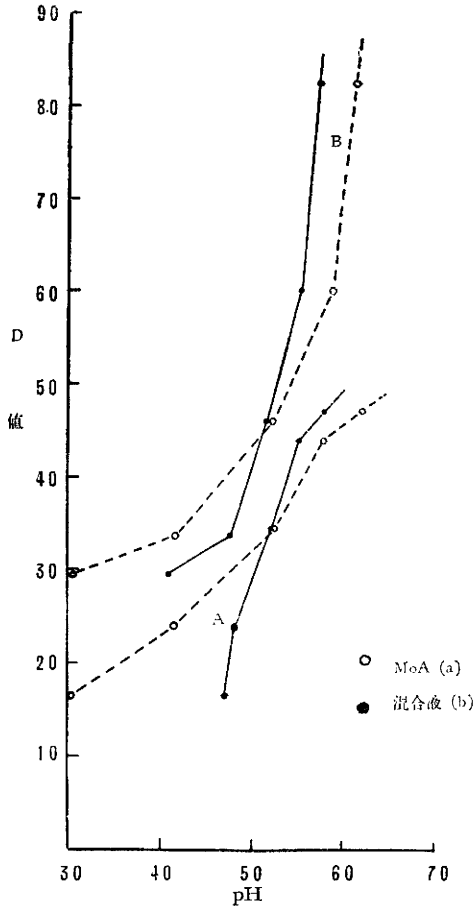
以上のように供試する尿の pH を変えた場合、得られる D 反応値に大きな相違を生ずることが分つた。この反応値の大きな相違が反応の最終混合液の pH のみに起因するものであろうかという疑問が生れる。これを確かめるために、次に供試尿の pH は一定とし、MoA 溶液の pH を色々に変えて上と同様に最終混合液の pH を変え、この際 D 反応値が如何なる影響を受けるかを検べることにした。

II MoA 溶液の pH を変えた場合

(1) MoA 溶液 pH と D 反応値との関係

同一尿について、夫々 HCl 及び NaOH 溶液で各種 pH に調製した 4% MoA 溶液を用いて D 反応を行つた。第 4 図の A 及び B は夫々 pH 6.16, 7.17 の尿を用いて行つた実験成績を圖に示したものであるが、MoA 溶液 pH の酸性度が増すに従つて D 反応値は低くなるが、MoA 溶液の pH が約 6 以上になると MB 沈澱境界が不明瞭となつて判定が困難となり、更に

第4図 MoA の pH を変えた時のD値の変動



pH 6.6 以上になると完全に MB の沈澱が抑制され、D 反応は不可能となる。(第4図 a 参照)

又D 反応混合液の pH についても全く同様の関係が見られる。この場合は pH 5.8 以上で MB 沈澱の境界が不明瞭となり、pH 6.5 以上になると全く MB 沈澱生成が抑制される。(第4図 b 参照)

このように反応時の混合溶液の pH がある程度大きくなると MB 沈澱能が抑制される。(後述)

以上の実験成績から反応混合液の pH は D 反応値に大きな影響を有することが分つた。しかし乍ら混合液の pH を同程度変えるにしても、その pH を変える方法によつて、即ち尿の pH を変えた場合と MoA 液の pH を変えた場合とで、D 反応値に与える影響は同一ではない。それは上掲第 1, 2 表の成績より pH 5.0~5.2 の領域における  $(dD/dpH) \times 1/a$  を算出し両者を比較することによつて明らかとなる。ここに a は混合液 pH 5.20 なる場合の D 反応値である。即ち予め供試尿の pH を変えた場合、上の値は 3.52 (4 例平均)、MoA 溶液の pH を変えた場合には 0.71 (2 例平均) となり、明らかに前者の方が大きい。換言すれば D 反応混合液の pH は勿論 D 反応値を左右するが、その外に

第 2 表 4% MoA の pH と D 反応値

A	MoA pH	3.03	4.17	5.21	5.83	6.21	7.23		
	混合液 pH	4.72	4.78	5.20	5.51	5.79	6.74		
	D 反応値	1.67	2.39	3.45	4.38	4.70	∞		
B	MoA pH	3.07	4.17	5.21	5.89	6.14	6.25	6.38	6.61
	混合液 pH	4.09	4.75	5.14	5.54	5.74	5.84	5.95	6.49
	D 反応値	2.95	3.39	4.63	6.00	(8.24)	(8.24)	(15.23)	∞

供試尿の pH も亦 D 反応値に特殊の影響を有することが分つた。この両者は別個に考察したい。

供試尿はその pH が大きいほど D 反応値は高く出る。これに含まれる反応陽性物質は Mu-

coprotein であつて、その等電点は pH 4.3 附近にあるから、尿 pH が大きくなる程その解離は強くなり、これに応じて保護膠質作用が増強されると推測できる。かかる尿に MB を加えてもその pH は変わらないが、更に MoA 溶液を

加えると混合液の pH は直ちに MoA 溶液のそれに近い所まで下る。しかし Mucoprotein の解離がこの混合液の新しい pH に対し平衡する以前に、Mucoprotein は MB と MoA の反応系と不可逆的に反応しその沈澱を阻止するものとする。即ち D 反応陽性物質の保護膠質能は、これと MoA を混合する以前の溶液の pH によつて著しく左右されるものとする。

この推測の正否は暫くおくとしても、供試尿の pH が反応値に強く影響することは、実際に D 反応を用いる場合注意を要する。反応混合液の pH は MoA 溶液の調製の際注意して pH を調整すればその強い緩衝作用によつて略々一定に保つことは困難でないが、供試尿の pH を一々一定に調整することはなかなか繁雑であり、簡略に行えばここに誤差を導入する可能性が生ずる。D 反応標準法においては試薬混合の順を尿 + MB + MoA と定めているが、これを尿 + MoA + MB に変更すれば尿 Mucoprotein の解離は予め MoA 溶液との混合により成立する略一定の pH と平衡する余裕が与えられ、然る後 MB - MoA 系に作用する順序になるから、その保護膠質能が尿の pH により変動する危険は少なくなる筈である。即ち原尿 pH の D 反応値に及ぼす影響とこれによる誤差を小さくすることが出来るものと考えられる。この推測は実証せられ、近く別報で発表する。

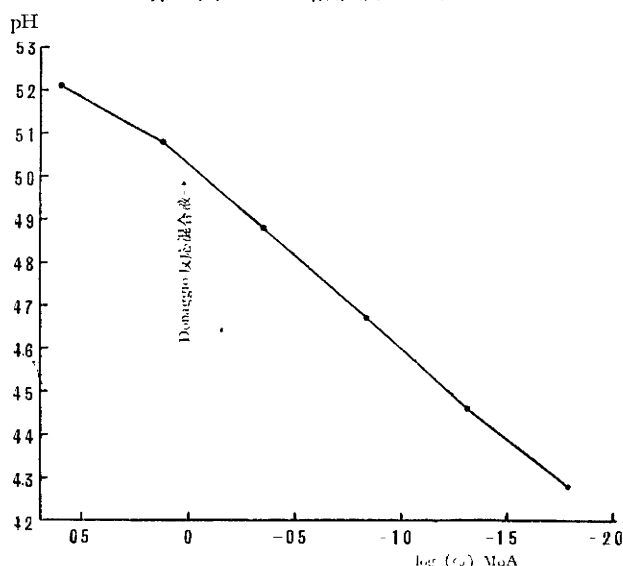
## (2) MoA 溶液の性状

以上の実験中、使用している 4% MoA 溶液の pH が 5.21 であるにも拘わらず、D 反応時 pH が 5.1 附近に低くなり、又尿 pH の如何に拘わらず、反応時 pH が 5.2 附近に近づく傾向のあることを前に述べたが、MoA 溶液の稀釈と pH の関係及び緩衝能を明らかにする必要がある。これらについて二、三検討を加えるため

第3表 MoA の濃度と pH

稀 釈 倍 数	濃 度 %	pH
原 液	4%MoA	5.21
3 倍 稀 釈	1.33 %	5.08
9 倍 稀 釈	0.44 %	4.88
27 倍 稀 釈	0.148%	4.67
81 倍 稀 釈	0.049%	4.46
243 倍 稀 釈	0.016%	4.28

第5図 MoA 溶液濃度と pH

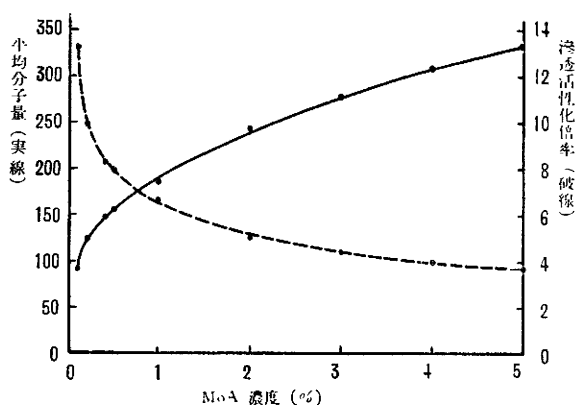


に、次のような実験を行った。

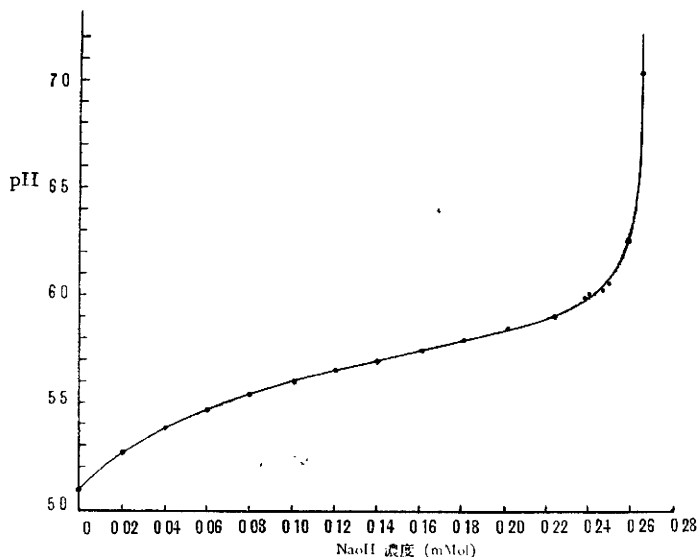
### (i) MoA 溶液の稀釈による pH 及び解離状態の変動

実際に D 反応を行う際には、その混合液中では 4% MoA 溶液は 1/4 に稀釈される訳である。この時の pH 及び更に稀釈した際の pH の変動を見るために、4% MoA 溶液から 1:3 の稀釈系列を作り(即ち 4% MoA 溶液を原液として、この 3 倍、9 倍、27 倍、81 倍、243 倍の稀釈液を作つた)、夫々の pH を測定すると第 3 表、第 5 図のように、上述の稀釈範囲内では稀釈に伴つて pH が漸次酸性度を増すという奇異な現象を確認した。この曲線から 1% MoA 溶液の pH を求めると 5.03 となり、上述の D 反応混

第 6 図



第7図 4% MoA 液 1cc に対する NaOH 濃度 (mMol)



混合液の pH が 5.1 付近にある理も了解される。

これに関連し MoA の各種濃度溶液の滲透圧を測定 (氷点降下度より) すると、稀釈に従って解離が加速度的に促進するを認める。第 6 図は MoA 濃度を横軸に、縦軸には溶質平均分子量及びこれを以て MoA の分子量 (1236) を除した滲透活性化倍率とでもいうべき数値をとつて、その関係を図示したものである。

#### (ii) MoA の滴定曲線

各種濃度の NaOH 溶液 2cc に 1 万倍 MB 及び 4% MoA 溶液を夫々 1cc ずつ加えた時の

混合液 pH を測定すると、第 7 図のように pH が変動する。即ち滴定曲線は pH 5.6 付近に彎曲点を有する S 字状曲線をなし、pH 5.1~6.0 では強い緩衝能を有するが、pH 6.0 以上では急に減少する。いま pH 5.1~6.0 の間の平均緩衝能をこの滴定曲線について計算すると、66.6 mEq (ミリ当量) となる。即ち 1% MoA 1l の pH を 1 だけ変動させるに 66.6 mEq の強酸又は強塩基を要する。然るに D 反応においてこれと混合する尿の緩衝能は島<sup>10)</sup>の測定より平均値を求めると 15.2 mEq である。これを 1/2 以下に稀釈するから、D 反応液に加えらるる尿の緩衝能は平均 7.6 mEq 又はそれ以下となり、MoA のそれに比較して著しく小さい。多くの場合 D 反応に用いられる尿は予め更に稀釈されているから、その pH の如何を問はず MoA と混合すれば混合液の pH は MoA 溶液の pH 5.1 に近い値をとることが理解される。MB の 10000 倍溶液は緩衝能が極めて弱く MoA や尿のそれに比較

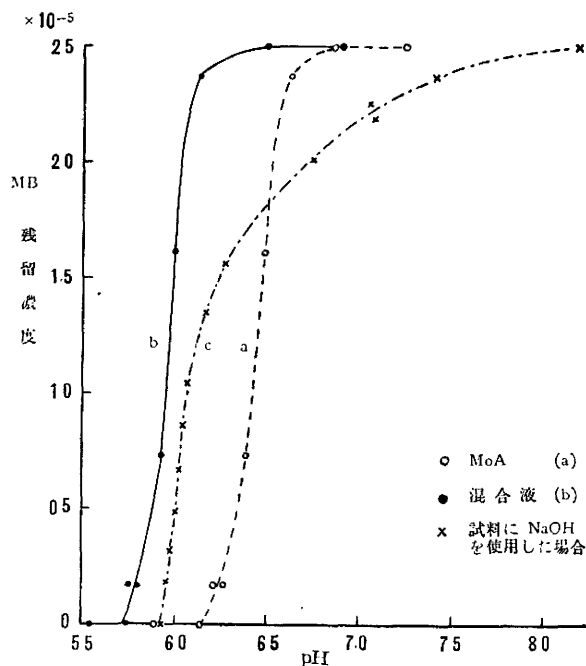
すれば無視し得るし、且つ MB に対して MoA は極めて過剰に加えられているから、MB や沈澱物の有無は考慮する必要はない。

(3) MoA 溶液 pH と MB 沈澱能について MoA 溶液の pH を変えて D 反応を行う際に、その混合液 pH が或る程度大きくなると、MB 沈澱能が減少することを述べたが、この pH と MB 沈澱能との関係を明らかにするために、次のような実験を行った。

#### (i) MoA 溶液の pH を変えた場合

試料として尿の代りに水 1cc でおきかえ、各

第 8 図



種 pH の MoA 溶液を用いて D 反応と同様の操作を行った後の反応混合液 pH と MB 残留濃度を測定した。その成績を第 8 図に示した。即ち MoA 溶液の pH が 6.21 以上になると MB に対する沈澱能が急激に抑制され始め、pH が 6.89 以上では MB に対する沈澱能が全く失われる。(第 8 図 a 参照)

その際の混合液の pH は MoA 溶液 pH よりも酸性側に変動するので、第 8 図 b のように MB の沈澱が抑制され始める pH は 5.75 以上となり、a と殆んど平行的な経過をとり、反応混合液 pH 6.49 で完全に MB の沈澱が抑制される。この成績は II (1) における成績と全く一致する。

#### (ii) NaOH 溶液を試料とした場合

MoA 溶液の pH を変えないで試料に尿の代りに各種濃度の NaOH 溶液 1cc を用いた場合の反応混合液 pH と MB 残留濃度を測定した。その成績を第 8 図 c に示した。即ち反応混合液 pH 5.91 まで MB は完全に沈澱されるが、pH 5.95 以上になると MB の沈澱が抑制され始

める。又 MB を完全に沈澱しなくなる pH は MoA 溶液の pH を変えた場合と異なり、混合液 pH 8.18 で、(i) の実験成績より稍々鹼性側に偏位する。

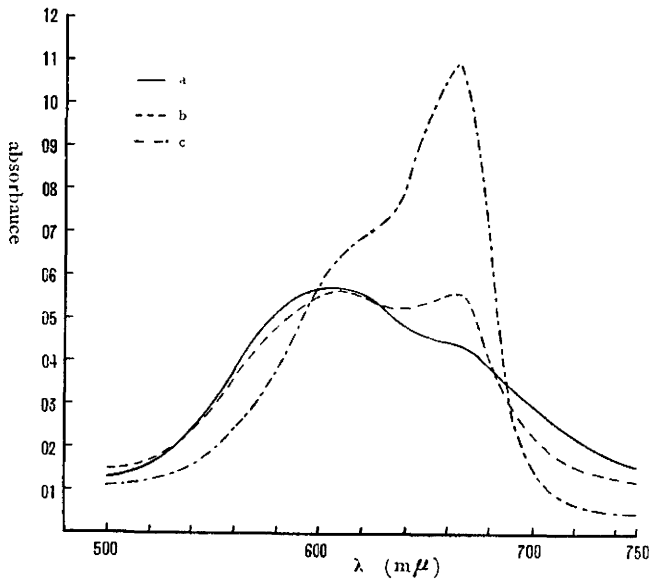
#### (4) D 反応時 pH と吸収スペクトル

D 反応を実施する際、MB に MoA 溶液を加えると MB 本来の青色は青紫の色調を帯びた青色に変化することに気付く。これは MB と MoA の結合によるものであろう。上記の実験で Medium の pH が或る程度大きくなると MB は MoA によつて沈澱されなくなるが、この際液の色調は MB 本来の青色を呈している。そこでこの際には MB が MoA と結合せず遊離して溶液中に存在するものと推測し、これを Beckman 分光光度計によつて確かめることにした。

即ち各種 pH の D 反応混合液を作り、各々について「吸収スペクトル」を求めるべき所であるが、着色が濃厚に過ぎるためこれを 50 倍に稀釈した液について測定を行わねばならなかつた。そのため MoA の濃度はもとの混合液で 1% であつたものが 0.02% に低下し、混合液の pH が著しく低下する結果となつた。故にこの稀釈液で得られた pH と「吸収スペクトル」の関係がそのままもとの反応混合液についても成立するかどうかは疑問であるが、Medium の pH によつて MB と MoA の結合が著しい影響を受けることは推知できる成績を得た。

水 48cc に尿 1cc, 10000 倍 MB 0.5cc 及び各種 pH の 4% MoA (NaOH により pH を調整する) 0.5cc を加えたものを試料とした。得られた「吸収スペクトル」の代表的なものを第 9 図に示す。a は普通の反応混合液を稀釈したものの「吸収スペクトル」であつて、その pH は 4.62, 600~620m $\mu$  の領域に緩やかな極大を認める。MB 溶液の「吸収スペクトル」は c と同じであるからこの混合液中には遊離の MB は存在せ

第9図 MoA の pH を変えた場合の D 反応混合液の吸収スペクトル



す、上の極大は MoA と MB の結合物によつて生ずるものと考えられる。これより pH を増すに従つて遊離 MB に対応する 665m $\mu$  の山が次第に著明に現われるようになり、pH 4.86 では吸収スペクトルは b となる。即ち MB の一部は MoA と結合し、残部は遊離の状態にあることを物語っている。これは pH が更に大きくなつて 4.96 になると曲線は c となり、これは MB 単独の吸収スペクトルと全く一致する。試料中の MB は全部遊離状態に止るものと考えられる。

これと全く同じ実験を尿の代りに水を用いて実施したが成績は第9図と全く一致した。従つて D 反応陽性物質は MoA と MB の結合に対しては何ら影響せず、むしろ両者の結合物の凝集を阻止して反応を陽転せしめるものと考えるのが妥当であろう。

これらの実験成績より MoA と MB の結合能が Medium のある比較的狭い pH 領域において pH 増大と共に著しく減弱することを知つた。この所見は前節の所見と質的には符合するが、この pH 領域は又実験条件ことに稀釈度に

よつて著明に変動することが分つた。

### III 尿中の有機酸及び磷酸と D 反応

尿中に排泄される弱酸の中、乳酸、枸橼酸及び磷酸の3種について D 反応におけるこれらの態度を検討し、且つそれらの D 反応値 1 点当りの濃度を決定した。

乳酸、枸橼酸及び磷酸を苛性ソーダで中和し、夫々 0.49M, 0.67M 及び 0.74M の pH 5.6 なる溶液を調製し、これを用いて実験した。先ず、中山<sup>13)</sup>が尿について求めたと同様の D 反応値と MB 残留濃度との関係を夫々について求める必要がある。

#### (1) D 反応値と MB 残留濃度との関係

##### (i) 乳酸及び枸橼酸

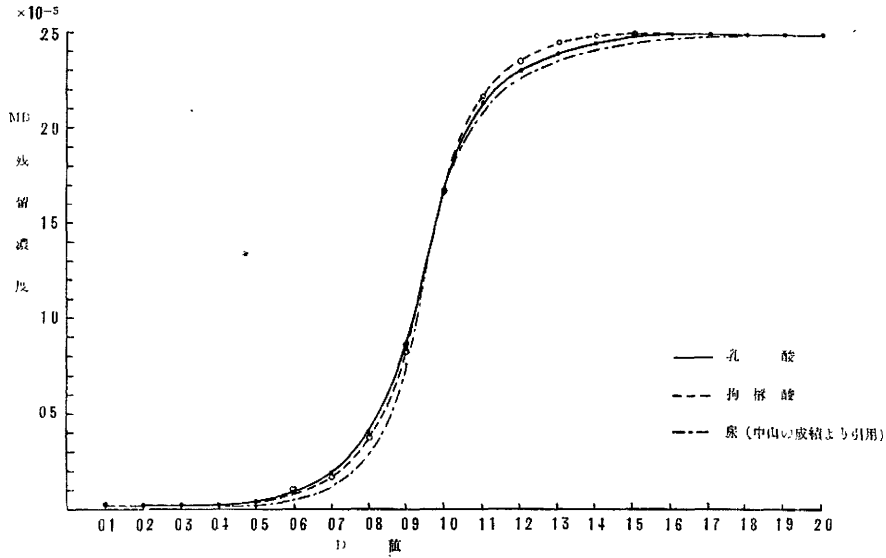
中山<sup>13)</sup>の方法に従つて D 反応値略々 2 点を示す濃度の溶液を作り、これを更に 0.1 点間隔に稀釈して夫々について所定の操作を行い、上澄に残留する MB 濃度を測定した。その成績は第10図に示したようになり、中山が尿について求めた曲線と略々一致した S 字状曲線を得た。以後の乳酸及び枸橼酸の D 反応時にはこの曲線より D 反応値を測定した。

##### (ii) 磷酸

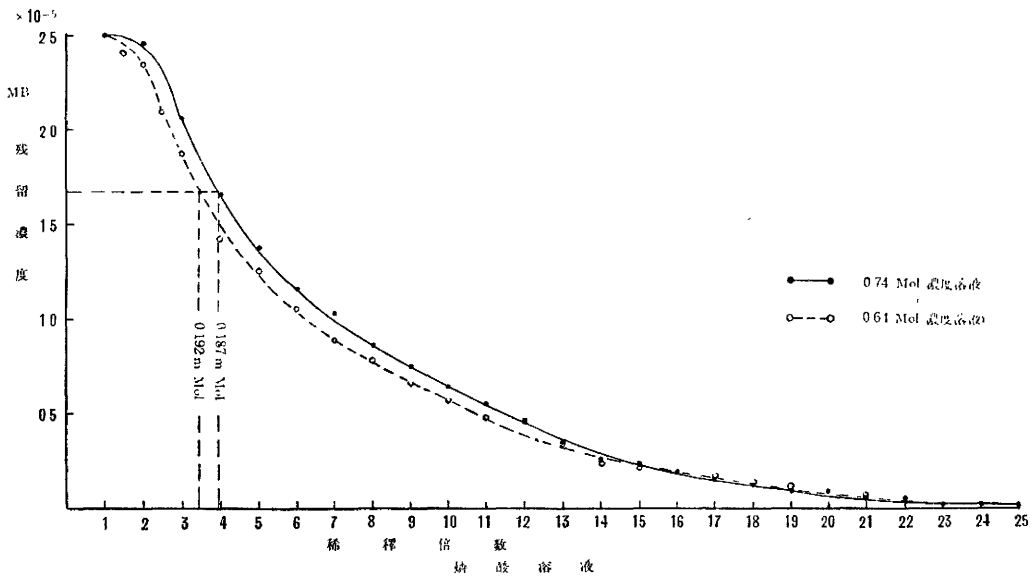
前二者と異なつて、その上澄の MB 沈澱境界が甚だ不明瞭であるので、前記の方法は適用出来ない。そこで第11図に示したように 1 点間隔の稀釈系列を作り、夫々について所定の操作を行つた。その際には 0.74M 濃度の磷酸溶液を約23倍以上に稀釈しないと上澄の MB は完全に沈澱しない。その原因探究のために各反応液について pH を測定した。pH 5.6 に補正した磷酸溶液は稀釈に伴つて漸次 pH が滴性側に変動するが、D 反応混合液 pH は D 反応値 1 点に相当する所で pH 約 6.0 で、それ以下の稀釈液は



第 1 0 図



第 1 1 図



漸次 pH が酸性側に変動している。而して反応混合液 pH が 5.9 の所でもなお MB 残留濃度は約  $1.0 \times 10^{-5}$  の多量であることから、単に pH だけの原因によるものではないと考えられる。

(2) D 反応値 1 点当りの濃度

上記の方法により D 反応値 1 点当りの濃度を求めると、乳酸は  $0.158 \text{ m Mol/cc}$ 、枸橼酸は  $0.057 \text{ m Mol/cc}$  となる。

又磷酸については、第 11 図の成績から、D 反応値 1 点に相当する MB 残留濃度  $1.67 \times 10^{-5}$  の

第4表 尿中の酸の含有濃度とD反応値  
1点当りの濃度との比較

種 類	正常尿中の濃度	D反応値1点 当りの濃度
乳 酸	安静時 3~5mg/dl 運動時最大量 1811mg/dl (自転車エルゴメーター)	1420mg/dl
枸 櫞 酸	35.6~ 77.8mg/dl	1197mg/dl
磷 酸 (Pとして計算)	64.6~216.4mg/dl	1833mg/dl

磷酸濃度を求めると、約 0.19m Mol/cc である。

以上の成績からD反応値1点当りの酸濃度を実際に尿中に排泄される濃度と比較すると第4表のようになり、激作業時の乳酸排泄量が稍、D反応値に關与する丈で、他の酸の排泄は全く無視してもよい。又乳酸が多量に排泄される場合は、一般にD反応値は甚だ高値を示すことが多いから、多くの場合乳酸も尿のD反応値に大した意味がない。(尿中の乳

酸量は下川<sup>17)</sup>、枸櫞酸及び磷酸量は竹屋<sup>18)</sup>によつた)

### 総 括

Donaggio 反応機序における pH の役割を標準法を用いて検討し、併せて尿中に排泄される二、三の弱酸のD反応値を測定し、次の成績を得た。

1) MoA 溶液(4%)は稀釈するほど pH が低くなる。又1%溶液について緩衝価を測定し、pH 5~6の領域における平均緩衝価は66.6 mEqであつた。これは尿の緩衝価より著しく高いから、D反応混合液の pH は主として MoA 溶液の pH できまる。

2) D反応混合液の pH が低いほど反応値は低い。MoA と MB の結合能は pH 6.0 以上では著明に阻害され、6.6 以上では消失する。

3) 反応混合液を稀釈して吸収スペクトル]をとり検討した結果、MoA と MB の結合は Medium の pH によつて2)と同様の変動を示すことを明かにした。

4) 反応混合液の pH は同一なる場合、混合前の尿 pH の大なるほどD値は高い。これは尿中の反応陽性物質たる Mucoprotein の電離が大なるほど反応は陽転させる能力が強いことを示す。

5) 以上の如くD反応の機序に対し pH は大きな影響を与える。即ち一つは MoA と MB の結合能に対し、他は尿の pH が尿膠質の保護作用に対するものである。D反応実施に当りこれらに由来する誤差を小さくするには、

i) 試薬 4% MoA の pH を厳密に一定に調整しこれによつて反応混合液の pH を恒常に保つこと。

ii) 供試尿の pH を上の試薬の4倍稀釈液の pH と等しくして混合液の pH の恒常性をはかると共に、尿膠質に及ぼす pH の影響を一定に保つことが望ましい。しかし供試尿の pH を一々正確に調整することは繁雑であるから、試薬混合の順序を変更することにより或る程度この条件を充すことができよう。

6) 尿中に排泄される乳酸、枸櫞酸及び磷酸は高濃度ではD反応陽性であるが、尿に出現する程度の濃度ではD反応値に殆んど影響しない。各々につき1点当りの濃度を測定した。

欄筆に臨み、始終御懇篤なる御指導と御校閲を賜わりたる恩師齋藤教授に深甚なる謝意を表すると共に、下川・中山両助手の御援助を深謝致します。

### 文 献

1) 本田良行：体力科学，1，(5) 161 (昭26)

2) 下川末夫：医学と生物学，27，(3) 116 (昭

- 28) 3) **Donaggio** : II International Sportarzte Kongress, Berlin **81**, (1936)
- 4) **Rendel** : Arbeit. physiol. **10**, 521 (1939)
- 5) 佐藤徳郎 : 体育研究, **8**, (5.6) 496 (昭16)
- 6) 山添三郎 : 医学と生物学, **3**, (11) 384 (昭18)
- 7) 多賀理男 : 長崎医学会雑誌, **22**, (4) 776 (昭19)
- 8) 斎藤紀一 : 体力科学, **3**, (1) 36 (昭28)
- 9) 増山元三郎・細島千代子 : 医学と生物学, **1**, (11) 517 (昭17)
- 10) 増山元三郎・細島千代子 : 医学と生物学, **2**, (1) 45 (昭17)
- 11) 山添三郎 : 医学と生物学, **15**, (1) 5 (昭24)
- 12) 佐藤徳郎 : 医学と生物学, **11**, (6) 379 (昭22)
- 13) 中山達夫 : 総合医学, **10**, (5) 255 (昭28)
- 14) 斎藤幸一郎 : 十全医学会雑誌, **55**, (9) 1098 (昭28)
- 15) 長倉三郎 : 化学の領域, **6**, (7) 臨時増刊, 69 (昭27)
- 16) 島寛一 : 日本生理学雑誌, **4**, (4) 248 (昭14)
- 17) 下川末夫 : 体力科学, **2**, (5) 183 (昭28)
- 18) 竹屋晃 : 医学と生物学, **15**, (6) 360 (昭24)