

# 結核症における脂質代謝の研究

## 第2報 実験的結核動物における

### 高級脂肪酸の生化学的研究

金沢大学結核研究所臨床部（主任：卜部美代志教授）

高 野 徹 雄

上 原 時 雄

卜 部 美 代 志

（受付：昭和39年11月16日）

## 緒 言

結核病巣における脂質の存在は病理組織学的に Rosenthal が指摘して以来、多くの研究業績が報告されてきた。結核症が慢性炎症であり臨床経過が長期にわたってしかも複雑多岐の様相を呈することはよく知られているところであるが、この推移が単に結核菌の生体内増殖の程度によって決定されるものでなく結核アレルギーを含めての host-parasite relationship も密接に関与していると考えられている。従って結核症における物質代謝の究明には host と parasite 両面に及ぶ background factor の均一化が必要とされるのであるが、この点についての究明には幾多の困難が存在していた。

われわれは上記の因子を出来るかぎり単一化した一連の実験結核および切除結核病巣について組織化学的方法で検索した結果、脂質は結核病巣の病理組織学的所見と密接に関係することを観察した<sup>(1)</sup>。すなわち、実験結核の場合感染初期の肺病巣には脂質を証明し難いが、結核病変の進展と共に脂質は出現増加し、乾酪巣の周囲に最も著しくみとめられる。肝臓においても同様の所見を得ている。一方切除肺に関しての検索では脂質は空洞病巣ならびに濃縮空洞よ

りも被包乾酪巣に沈着する 경우가多く、ことに小葉大以下の被包乾酪巣には高度に沈着しており、脂肪沈着の程度は病巣の病理組織学的病変度とよく一致することをみとめた<sup>(2)</sup>。

結核菌は他の細菌群に比較して大量の脂質を有し、しかも結核菌に特有の生物活性を示すミコール酸、フチオン酸、ツベルクロスステアリン酸などを有することから結核菌体の脂質代謝は旺盛であり、特異の脂質代謝が予想されるのである<sup>(3)</sup>。病巣内結核結節は非特異性感染のごとき濃瘍を作ることなく乾酪化する点からみて組織自体も、血液淋巴など体液とともに結核特異の脂質代謝を営むものと考えられるのである。

ガスクロマトグラフィは Martin Jjames<sup>(4)</sup>により発表されて以来、各分野の研究に応用され、生化学的部門において脚光を浴びておりことに本法は脂質分析に関して定性定量両面において精度の高い検出方法として注目されている。われわれは結核症の脂質代謝の研究にあたり、とくにガスクロマトグラフィを応用することができたので、その分析所見と病理組織学的所見とを経過に従って比較検討し、若干知見を得たのでここに報告する。

## 実験資料および実験方法

実験動物および飼料

実験動物として体重 2～3 kg の成熟雄性ウサギを

使用し、全観察期間中固型飼料 CR-1。（日本配合飼料株式会社 CLEA 固型飼料） 1日100gmおよび水

200ml で飼育した。

結核菌感染方法

あらかじめ固型飼料 CR-1 で2週間以上飼育し, 生活条件が一定となったウサギに次のごとく結核菌を感染させた。結核モルモットより分離したヒト型結核菌 H<sub>2</sub> 株を馬鈴薯グリセリン培地で継代培養して3週間目のものを湿菌量 5 mg とり, 生食水 0.5ml で調製した浮遊液を用い, 耳静脈より注入した。

実験動物の処理

空腹とした実験ウサギを結核菌感染後1週目より5週まで毎週一定数右頸動脈から脱血死亡せしめて検索に供した。頸動脈より得た血液から二重蔭酸塩で分離した血漿と肺, 肝の一部とを生化学的検索に用い, 残余の肺, 肝を病理学的研究に用いた。

血漿の脂質抽出 (第1表参照)

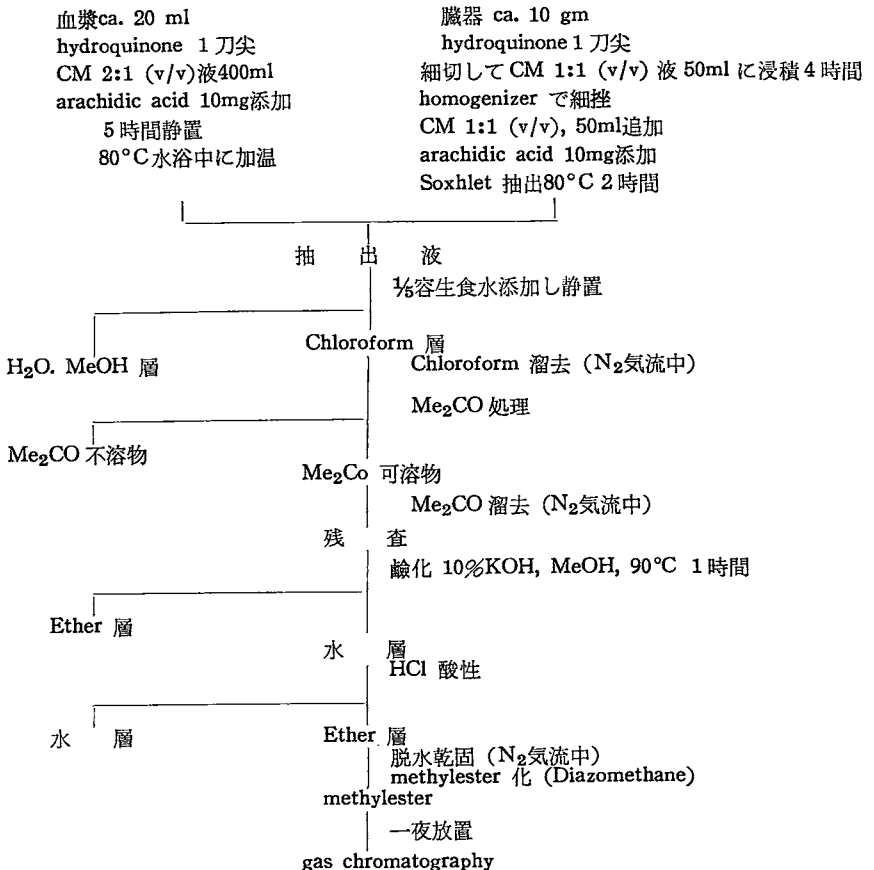
二重蔭酸塩で凝血防止した動脈血を秤量して, 遠心分離して血漿を得, 再度秤量する。分離した血漿に

20倍容量のクロロホルム-メタノール (以下CMと略記) (2 : 1 v/v), 酸化防止剤としてヒドロキノノン-1 刀尖および内部標準物質としてアラキジン酸を 0.5mg/ml に加え, 60°C 水浴中において沸騰寸前まで加温し, この混合液をすみやかに濾過し固型物を除去する (5)。

肺および肝の脂質抽出 (第1表参照)

組織標本用切片を切除した肺および肝をそれぞれ細切し, 濾紙で付着血液を充分清拭した後, 正確に 10mg を秤量した。これに CM 液 (1 : 1) 50ml およびヒドロキノノン-1 刀尖添加し, 臓器が固化した後, ホモジナイザーで均等化し, CM (1 : 1) 液を臓器の20倍容になるまで添加した。次に内部標準物質としてアラキジン酸を臓器 1 gm につき 1 mg の割に加え, 一夜放置後ソックスレー抽出装置で 80°C 2時間抽出した。

第1表 抽出方法



注 CM : chloroform-MeOH

## 脂肪酸の抽出

被検脂質を含む CM 混合液にその 1/6 容の生理食塩水を静に加え、水溶性不純物とメタノールとを CM 脂質混合液より分離する。クロロホルム層よりクロロホルムを溜去し総脂質を得る。次にアセトン処理でアセトン不溶物を除き、アセトン溜去後可溶性物質（中性脂肪）とコレステロールとを氷室中のデシケーター内に保存する。これに 10% KOHMeOH を加え 90°C 1 時間水溶液中で加温鹼化し、不鹼化物を除き、脂肪酸溶液を塩酸性とし、次でエーテルに移行させた。脂肪酸を含むエーテル溶液より N<sub>2</sub> 気流中でエーテルを溜去せしめて乾固した脂肪酸をデシケーターに保存した。

## 脂肪酸のメチルエステル化

ニトロソメチル尿素 1.5gm と 40% KOH 4.5ml とを氷冷下に混合して、発生するジアゾメタンガスを重畳したエーテルに溶解させ、黄色のジアゾメタン溶液を得た。これに脂肪酸エーテル溶液を加え氷室内で一晩静置し余分のジアゾメタンエーテルを溜去して脂肪酸メチルエステルを得る<sup>(6)</sup>。この脂肪酸メチルエステルは秤量後ガスクロマトグラフィの試料とした。

## ガスクロマトグラフの操作条件

ガスクロマトグラフは島津製 GCIB（熱伝導型）を使用し、固定相液体としてポリエステルサクシネートを、キャリアガスとして He をそれぞれ用いた。操作条件は第 2 表に示すごとくで試料気化室をいくぶん高温にすることにより分離能が向上した。

## 第 2 表

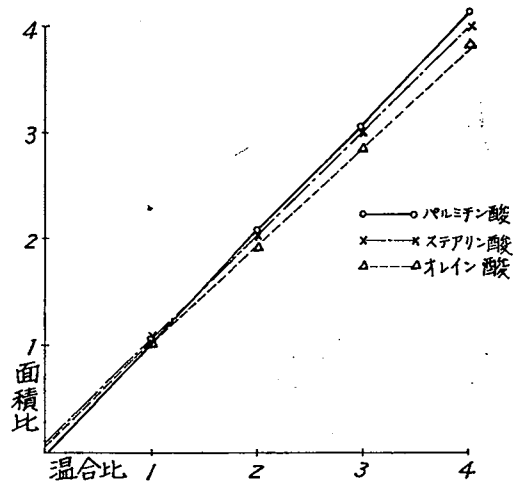
## Gaschromatographの操作条件

島津製 熱伝導型 COLUMN 6 mm × 3 m  
 固定相担体：Celite 22 (30~60 mesh)  
 固定相液体：Polyester Succinate 30% (w/w)  
 Carrier gas：He, Press：1.2kg/cm<sup>2</sup>  
 Flow Rate：140ml/min  
 Column Temp.：209°C  
 Detector Temp.：240°C  
 Sample Chamber Temp.：340°C  
 Bridge Current：160 mA  
 Range：2mV  
 Chart Speed：10 mm/min

## ガスクロマトグラムの再現性

ガスクロマトグラムを内部標準物質法を応用して定量するにあたってメチルエステル重量とガスクロマトグラム面積との関係より再現性を検討した。アラキジン酸メチルエステル 1 と パルミチン酸メチルエステル 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, とをそれぞれ混合させアセトン溶液として展開すると第 1 図のごとく試料重量と面積とは正比例することがわかった。さらにステアリン酸、オレイン酸についても同様の結果が得られた。従ってガスクロマトグラムでは試料重量と個々のピーク的面積との関係から定量し得ることが明らかにされた。

第 1 図 ガスクロマトグラムの面積と  
 注入量並に混合比との関係



## 脂肪酸メチルエステルの定性

操作条件を一定にし試料注入を適量とすることにより、ラウリン酸 (C12), ミリスチン酸 (C14), パルミチン酸 (C16), パルミトオレイン酸 (C16), ステアリン酸 (C18), オレイン酸 (C18-), リノール酸 (C18二), リノレイン酸 (C18三), アラキジン酸 (C20), は熱伝導型ガスクロマトグラムで分離されるので、各脂肪酸メチルエステルの市販標品について個々の保持時間を測定した。

第3表 脂肪酸エチルエステルの相対保持容量

被検脂肪酸メチルエステル	相 対 保 量
ラウリン酸メチルエステル	0.167
ミリスチン酸メチルエステル	0.306
パルミチン酸メチルエステル	0.549
パルミトオレイン酸メチルエステル	0.609
ステアリン酸メチルエステル	1.000
オレイン酸メチルエステル	1.095
リノール酸メチルエステル	1.258
リノレイン酸メチルエステル	1.570
アラキジン酸メチルエステル	1.828

注: ステアリン酸メチルエステルを1.0とする。

第3表はステアリン酸メチルエステルの保持容量を1.0とした場合の各脂肪酸メチルエステルの相対保持容量を表示したものである。

この値は田中, 高橋, の成績(7)と一致し, 混合試料についても同様に展開し, 各脂肪酸は一定の保持容量を示していることを確かめた。なお, われわれの行った分析の理論段数は第4表のごとくで優れた分離能を有していることがわかった。

第4表 分離脂肪酸による理論段数

	パルミチン酸メチルエステル	リノール酸メチルエステル	アラキジン酸メチルエステル
血 漿 脂 肪 酸	1.340	1.790	1,600
肺 脂 肪 酸	1.200	1.600	1,570
肝 脂 肪 酸	1.340	1.600	1,700
平 均	1.290	16.60	1,620

脂肪酸メチルエステルの定量

熱伝導型検出器を使用したので, その再現性は水素炎検出器を用いた場合より低いが, 予備実験において再現性が良好な範囲ではピークの面積比は脂肪酸メチルエステルの重量比とほぼ一致することを確かめ得た。(第1図参照)健康および結核ウサギの肺, 肝および血漿中にはアラキジン酸がほとんどみとめられなかったので, これを内部標準物質とした。すなわち, いずれの場合も抽出前に臓器 1gm 血漿 2ml にアラキジン酸 1mg を加えた。これにより臓器血漿中に含まれる脂肪酸の絶対量を測定することができるのであるが, 重量比は Chart を復写しそれぞれ切りとり秤量することにより求めた。

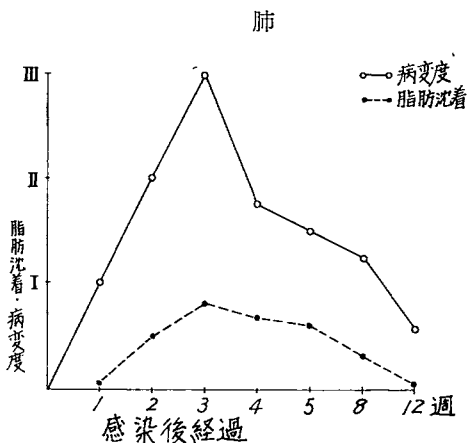
検 索 成 績

1. 結核ウサギの病理学的所見

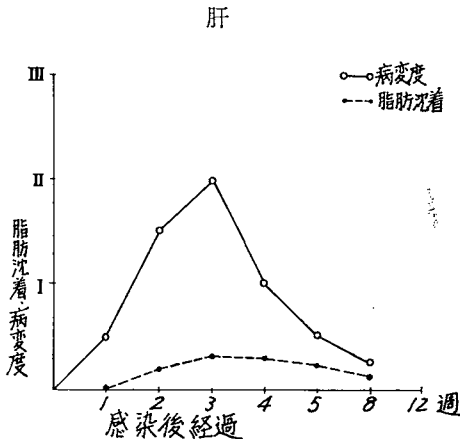
肺においては感染後1週間目から滲出性病変が肺胞, 気管支, 血管周囲にみとめられ, 結核

結節も経時的に増加する。乾酪変性は菌接種後2週間目より発現し, 3~4週に最も著明である。以後治癒傾向がみとめられるが感染後12週

第2図 結核ウサギの病理所見



第3図 結核ウサギの病理所見



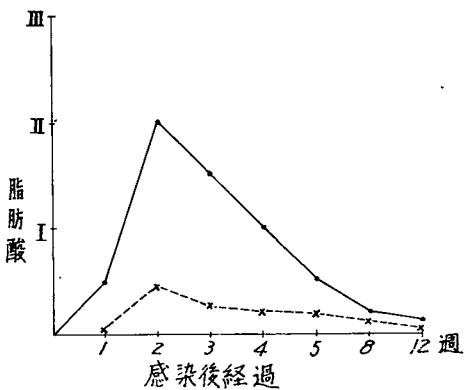
目においても結核結節は存在する。(第2図参照)

肝においては肺におけるより病変が遅れ感染後2週目から肝実質、Glisson氏鞘に結核結節がみとめられ、肝細胞は混濁腫張を呈するが乾酪変性は比較的軽い。病変は3週まで進行するが、その後急激に減少し12週目にはほとんど病巣がみとめられず治癒傾向を示す。(第3図参照)

## 2. 結核ウサギの脂肪染色所見

Sudan III, Sudan IV および Sudan Black B 染色による脂肪染色所見として、肺においては気管支上皮細胞、肺胞壁、類上皮細胞および乾酪変性の周辺部に輪状に脂質が証明され、肺胞内の脱落細胞中にも軽度のみとめられた。この所見は結核菌感染後3週目に著明で、以後減弱する。肝においては結核菌接種後1週に肝実質および Glisson 氏鞘に脂質はわずかに証明され、2週以後結核結節の増加に伴い小円型細胞類上皮細胞にみとめられるが、肺病巣におけるよりも軽度である。(第4図参照)

第4図 結核病巣における脂肪酸染色所見



## 3. 健常ウサギの脂肪酸

健常ウサギ血漿、肺、肝におけるガスクロマトグラフによる脂肪酸分布は次のごとくである。第5図にみられるように血漿、肺、肝のいずれにおいても定性定量可能なものはミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトオレイン酸、ステ

アリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレイン酸の7種類に限定される。第5, 6, 7表に示すごとく検索組織の間にも動物相互の間にも若干差異がみられる。肺においてはパルミチン酸34.9%, 171.9mg%, オレイン酸28.2%, 139.1mg%, リノール酸17.0%, 83.6mg%, ステアリン酸8.3%, 40.9mg%パルミトオレイン酸4.2%, 20.7mg%, リノレイン酸36%, 18.1mg%, ミリスチン酸3.5%, 17.2mg%の順序となる。血漿においてはパルミチン酸29.2%, 55.5mg/dl, リノール酸28.8%, 54.6mg/dl, オレイン酸24.3%, 46.1mg/dl, ステアリン酸10.0%, 19.1mg/dl, リノレイン酸4.5%, 8.9mg/dl, パルミトオレイン酸1.8%, 3.4mg/dl, ミリスチン酸1.2%, 2.4mg/dl となり、肝においてはパルミチン酸35.5%, 243.4mg%, リノール酸23.9%, 163.4mg%, オレイン酸23.0%, 157.0mg%, ステアリン酸8.6%, 58.4mg%, リノレイン酸3.6%, 24.9mg%, ミリスチン酸15.2mg%である。肝、肺を比較すると前者は後者よりも約2倍量有しており、血漿においてははるかに少ない。血漿構成脂肪酸の中ではリノール酸が肺、肝におけるそれよりも多い点が注目される。

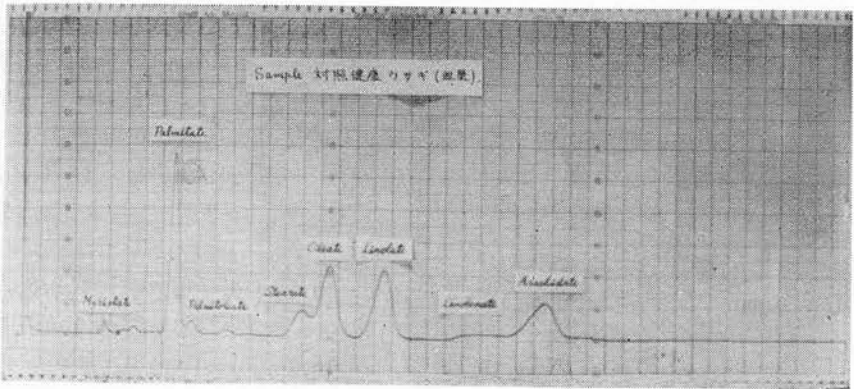
## 4. 結核ウサギの脂肪酸変動

結核菌感染後の血漿、肺、肝のいずれにおいても特異的に出現する脂肪酸はガスクロマトグラム上みとめられず、一方感染後とくに消失する脂肪酸もない。

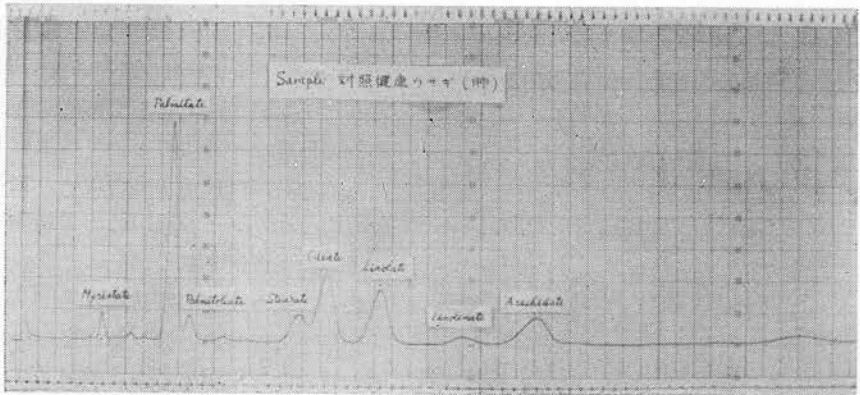
### A. 血漿における脂肪酸構成の変化

- (1) ミリスチン酸：感染後1週目から減少し、2週、3週後さらに低下して1.0mg/dlとなるが、しかし4週目から健常値を示している。
- (2) パルミチン酸：結核菌感染による「ツ」アレルギーが出現し始めるとパルミチン酸は増加してくる。2週目で41.8%, 58.7mg/dlに増加し、次で乾酪化の最も著明な3週では35.2%, 64.8mg/dlに上昇している。4週より病巣の組織学的所見に応じて減少し始め、5週ではほぼ正常値を呈する、パルミチン酸

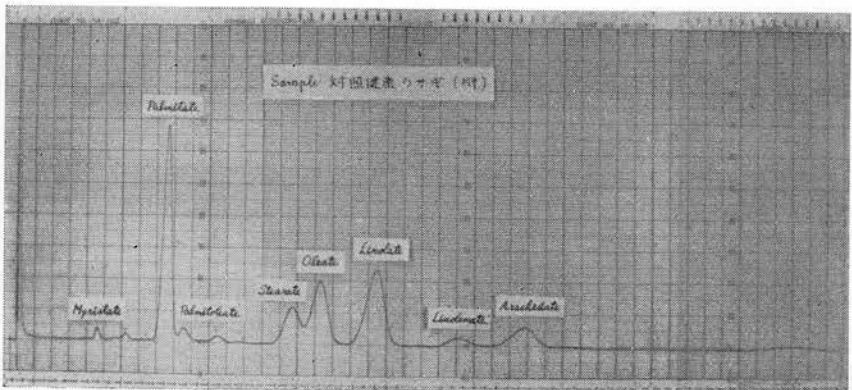
第 5 図 健康ウサギの中性脂肪を構成する脂肪酸のガスクロマトグラム  
血 漿



肺



肝



第5表 結核感染後、血漿における中性脂肪を構成する高級脂肪酸の変動 mg%

週	番号	ミリスチン酸	パルミチン酸	パルミト オレイン酸	ステアリン酸	オレイン酸	リノール酸	リノレイン酸
対照	1	3.1	58.2	3.8	19.2	49.2	49.5	8.3
	2	1.9	51.5	4.1	18.6	41.5	50.5	8.6
	3	2.2	58.5	3.1	19.8	42.0	54.2	9.1
	4	2.5	57.6	3.2	19.5	40.3	56.8	9.2
	5	2.6	53.1	3.5	19.0	51.2	58.1	9.0
	6	2.1	54.2	3.0	18.9	52.5	59.0	9.3
	平均	2.4	55.5	3.4	19.1	46.1	54.6	8.9
1	1	1.0	49.2	2.9	17.6	28.1	31.2	6.4
	2	1.9	53.2	3.8	18.7	32.5	36.8	6.6
	3	1.5	51.2	3.6	20.5	27.9	34.2	6.0
	4	0.9	48.2	3.7	23.1	35.1	33.5	6.3
	5	1.8	52.1	2.6	24.1	31.4	36.9	6.3
	6	1.1	50.5	3.1	18.9	30.4	36.0	6.8
	平均	1.3	50.7	3.2	20.4	30.9	34.7	6.4
2	1	0.7	59.5	1.8	21.5	20.8	30.3	6.8
	2	0.6	62.3	3.0	23.8	23.2	35.1	7.0
	3	0.9	61.2	2.9	21.2	19.2	31.2	7.0
	4	1.1	57.0	3.8	20.8	13.5	29.3	6.7
	5	1.0	56.8	1.9	18.9	18.6	27.5	6.4
	6	0.9	55.9	1.8	24.2	20.2	30.3	6.5
	平均	0.8	58.7	2.5	21.7	19.2	30.6	6.7
3	1	1.5	67.2	2.9	23.1	26.5	55.2	6.8
	2	1.2	70.2	3.9	25.2	27.1	54.9	6.5
	3	1.4	59.5	4.0	26.1	25.8	58.3	6.6
	4	1.3	64.5	4.1	24.0	25.0	56.2	7.8
	5	1.4	67.6	3.8	23.1	29.1	53.8	7.9
	6	1.2	59.8	3.5	22.8	25.9	56.1	7.4
	平均	1.3	64.8	3.7	24.0	26.6	55.7	7.1
4	1	1.8	46.7	3.7	19.8	32.6	48.5	7.2
	2	2.1	59.1	3.5	25.5	40.8	54.2	8.1
	3	2.5	47.2	3.6	21.2	38.5	51.8	5.6
	4	2.1	44.1	3.1	19.5	32.8	50.2	8.3
	5	2.5	45.9	4.0	20.2	34.6	49.3	6.9
	6	2.8	48.3	3.6	21.0	32.2	48.5	7.1
	平均	2.3	48.5	3.5	21.2	35.2	50.4	7.2
5	1	1.9	45.2	2.1	10.2	31.0	41.0	7.3
	2	1.8	51.0	2.5	15.9	30.2	40.8	6.9
	3	1.3	45.9	2.7	16.8	34.3	41.5	6.5
	4	1.0	46.2	2.6	17.2	36.2	40.2	6.8
	5	0.9	45.8	2.0	17.9	30.8	42.3	7.0
	6	1.5	46.3	2.8	16.3	31.5	41.5	6.5
	平均	1.4	46.7	2.4	15.7	32.3	41.2	6.8

- は健常ウサギ, 結核ウサギのいずれの血漿中にも最も多く含まれているが, ことに2~3週に異常増加しており, 病理組織所見とよく平行関係を示すことが明らかとなった. したがって結核病巣の脂肪増加にパルミチン酸が大きな役目を果しているものと考えられる.
- (3) パルミトオレイン酸: 結核菌感染後2~3週この脂酸の構成比はわずかに低い経過を示すが, 定量的変化には有意性がみられない.
- (4) ステアリン酸: ステアリン酸の消長はC16飽和酸であるパルミチン酸のそれに一致している. まず感染後2~3週に漸次増加し, 3週目に最高値を示し, 12.9%, 24.0mg/dlとなるが, 以後次第に減少し, 4週以後には健常値を示す. すなわち, ステアリン酸の推移は結核菌感染3週目を頂点とする消長を示している.
- (5) オレイン酸: 飽和脂肪酸は結核病巣が最も激しい時期に増加し, 軽快とともに下降するが, オレイン酸の変化は逆の推移を示している. 健常値は24.3%, 46.1mg/dlであるが, 感染後2週目14.7%, 19.2mg/dl, 3週目14.5%, 26.6mg/dlへと減少し, その後4~5週に再上昇するが, 健常値には到達していない.
- (6) リノール酸: リノール酸は結核菌接種後まず減少する. 健常値は28.8%, 54.6mg/dlであるが感染後1週で23.0%, 34.7mg/dl, 2週で21.7%, 30.6mg/dlへと激減し, 3週で30.4%, 55.7mg/dlと正常範囲に復元しており, 4週以後は再びゆるやかに減少している. リノール酸は飽和酸とはもちろん, 不飽和酸のうちパルミトオレイン酸, オレイン酸とも異なる推移を示し結核菌感染初期において滲出性病変の顕著な時期にリノール酸の著減が観察され, リノール酸が結核病巣形成に関与していることを物語っている.
- (7) リノレイン酸: リノレイン酸もリノール酸のごとく感染後1週で減少し, 43.5%, 6.4mg/dlに低下するが, 2週に一度増加し, 3, 4週に再び減少している.

この経過はリノール酸の消長にやゝ類似しているが, リノール酸程顕著ではない.

#### B. 肺における脂肪酸構成の変化

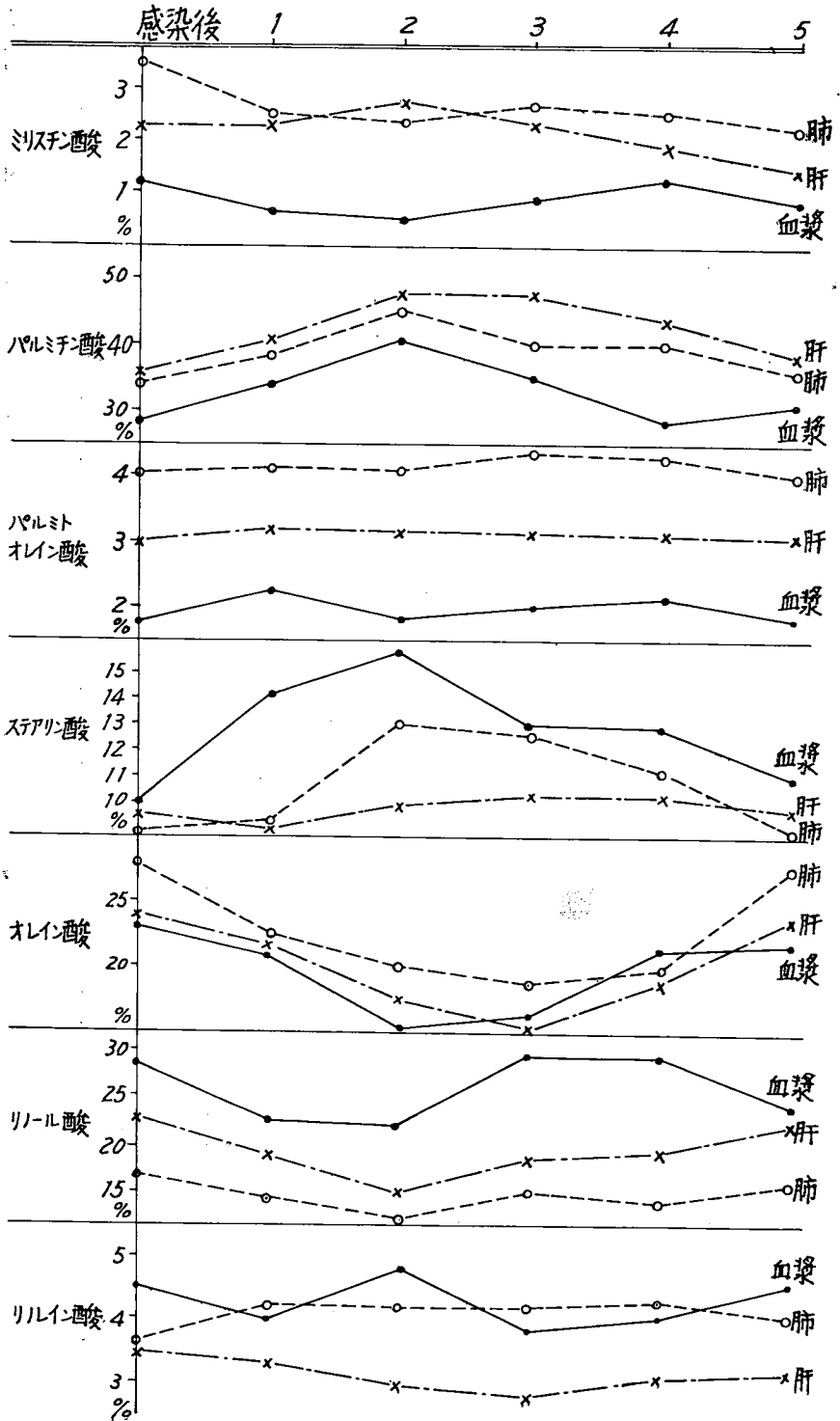
- (1) ミリスチン酸: 結核菌感染により減少し3週以後健常値に復元しているが, 有意の変化とすることはできない.
- (2) パルミチン酸: 肺におけるパルミチン酸は血漿におけると同様に結核性変化の著明となる2週目に顕著な増加を示している. 健常値は34.9%, 171.9mg%であるが, 感染後2週で46.6%, 219.9mg%と激増し血漿においては3週にさらに増加しているが, 肺においては3週後健常値に近い値を呈しており, 血漿におけるとは異っている. 肺におけるパルミチン酸の消長は結核病変最盛期よりもそれ以前で結核菌感染後2週目が最高値を示している. パルミチン酸は4週以降正常値へ近づくゆるやかな下降曲線を描き, 5週で健常値との間に有意の差を示さない.
- (3) パルミトオレイン酸: 血漿におけるごとく肺においても結核菌感染により著しい変動をみない.
- (4) ステアリン酸: 肺に含まれるステアリン酸の健常値は8.3%, 40.9mg%であるが, 感染1週から3週に互って肺病巣のステアリン酸は漸次増加し, 2週では10.6%, 58.8mg%を示し, 3週では12.9%, 56.3mg%となる. 4週に入ると減少傾向を示し, 5週目に引続き低下して健常値に近づく. ステアリン酸はパルミチン酸と同じく肺病巣において増加を示し3週に頂点に達している.
- (5) オレイン酸: 肺におけるオレイン酸の健常値は28.2%, 139.1mg%であるが, 結核菌感染後の肺病巣における変動は血漿におけると同様結核病巣の進展とともに激減する. すなわち感染後2週で19.8%, 93.0mg%まで下降し, 3週で18.7%, 79.9mg%と最低値を示し, 病理所見の改善に従って増加し, 5週目に27.3%, 135.7mg%に再上昇している.



第 6 表 結核感染後、肺における中性脂肪を構成する高級脂肪酸の変動

		mg%						
週	番号	ミリスチン酸	パルミチン酸	パルミト オレイン酸	ステアリン酸	オレイン酸	リノール酸	リノレイン酸
対照	1	17.1	179.1	21.0	39.5	115.3	89.1	18.7
	2	15.3	167.2	19.3	29.2	129.2	88.6	15.2
	3	14.9	185.9	22.0	39.3	152.8	83.7	21.3
	4	18.5	182.3	18.6	41.2	143.6	78.5	21.0
	5	19.2	139.6	23.1	40.5	150.2	82.9	15.2
	6	18.5	127.5	20.5	46.2	143.7	19.6	17.2
	平均	17.2	171.9	20.7	40.9	139.1	83.6	18.1
1	1	12.5	180.1	20.0	42.5	118.3	72.0	19.1
	2	13.5	186.3	18.6	44.2	107.2	71.3	17.5
	3	11.6	192.8	19.2	43.1	122.0	69.5	18.9
	4	12.4	193.0	19.3	48.3	112.1	71.0	22.5
	5	10.8	190.1	21.2	49.2	109.3	68.3	21.8
	6	10.9	185.8	22.8	48.8	115.6	73.2	19.8
	平均	11.9	188.0	20.1	46.0	114.2	70.4	19.9
2	1	10.4	208.1	18.1	57.6	94.5	53.5	16.2
	2	8.9	219.2	19.5	60.5	102.6	59.5	17.8
	3	11.0	215.2	20.5	61.3	98.5	52.1	19.2
	4	10.7	221.5	20.2	58.9	81.9	59.2	18.5
	5	13.2	230.1	18.9	56.7	83.7	60.8	18.4
	6	17.1	275.6	19.8	58.2	99.8	60.2	19.8
	平均	11.9	219.9	19.6	58.8	93.0	57.5	18.4
3	1	15.9	178.5	19.6	52.5	73.5	67.5	17.8
	2	14.8	169.2	18.4	51.8	79.2	60.9	19.5
	3	16.0	173.9	18.1	54.5	80.2	63.2	18.6
	4	12.4	168.4	19.1	59.6	86.3	64.1	18.1
	5	12.1	170.2	17.3	66.2	79.6	62.9	17.9
	6	15.3	185.8	19.3	53.2	80.7	63.8	18.0
	平均	14.4	174.0	18.7	56.3	79.9	63.7	18.3
4	1	14.7	182.0	19.5	49.5	85.7	63.7	17.9
	2	16.2	181.5	18.7	50.2	86.9	62.9	18.3
	3	15.3	183.7	17.9	17.9	47.3	62.9	17.6
	4	12.8	170.3	19.1	49.6	86.2	60.8	17.8
	5	12.1	171.6	18.3	51.3	89.0	63.7	18.5
	6	13.6	175.2	19.8	52.5	91.2	62.5	18.9
	平均	14.1	177.4	18.8	50.0	89.3	62.6	18.0
5	1	15.3	179.6	20.1	40.1	119.5	82.3	17.7
	2	14.9	187.2	20.8	40.3	136.2	88.0	14.4
	3	16.0	183.9	21.4	38.6	141.3	79.0	19.6
	4	15.6	184.2	20.7	39.7	138.9	80.3	19.3
	5	15.3	179.4	18.2	39.8	140.1	84.7	20.5
	6	14.8	190.4	19.5	39.4	138.5	86.4	19.9
	平均	15.3	184.1	20.1	39.6	135.7	83.4	18.5

第6図 結核感染後中性脂肪を構成する高級脂肪酸百分比の変動



(6) リノール酸：肺組織における脂肪酸の構成比の特長はリノール酸が血漿肝におけるより低いことである。その正常値は17.0%，83.6mg%にすぎない。また血漿においてはリノール酸がオレイン酸より多く含まれているのであるが、肺、肝においては逆の関係になっている。二重結合を有するリノール酸の消長は結核感染後2週目に最低を示す。すなわち1週で15.0%，70.4mg%，2週目に12.2%，57.5mg%へと低下し、3週でやや上昇し4.9%，63.7mg%となっている。4週以後健常値に達し、5週で16.7%，83.4mg%を示す。肺病巣におけるリノール酸の消長はオレイン酸のそれと同様に飽和脂肪酸がほぼ病理所見と比例して増加しているに対して病巣激変期に減少する所見を示している。肺病巣のリノール酸は後述する肝病巣と同様に血漿におけるごとく著明な再上昇を示さないことに注目している点である。

(7) リノレイン酸：肺組織のリノレイン酸の健常値は3.6%，18.1mg%を示し、結核菌感染直後に一時上昇するが、2週以後は健常値を維持している。この推移も血漿の場合と異なる消長を示し、血漿では感染2週で健常値より減少するが、肺病巣における消長はきわめて緩やかな増加曲線を示す。

### C. 肝における脂肪酸構成の変化

(1) ミリスチン酸：肝組織における健常値は2.2%，15.2mg%である。結核菌感染後1週2週で漸減し、3週で最高値となり1.8%，16.8mg%を示す。4週より再び減少し、5週では健常値に一致するようになる。肝病巣におけるミリスチン酸の変動は結核動物の血漿および肺病巣におけるそれが1，2週より著明に上昇する推移とは異なるところがある。

(2) パルミチン酸：肝病巣においてもパルミチン酸は最も多く含まれている。その変動も結核動物の血漿、および肺病巣におけると同様病理所見の出現し始める頃の感染後2週目を頂点とする曲線を描き、健常値は35.5%，

243.4mg%であるが2週目47%，277.9mg%と増加する。3週目で45.8%，270.8mg%となり、4週以後漸減し、5週で全く正常値に一致するようになっている。すなわち肺病巣におけるそれと似ているが、4週以後の減少は最もゆるやかである。

(3) パルミトオレイン酸：肝病巣におけるパルミトオレイン酸の消長は健常値の30.7%，20.7mg%に比べ著しい変動を示さず、肺病巣、血漿におけると同様結核感染に基く有意の所見がみられない。

(4) ステアリン酸：血漿肺病巣におけるステアリン酸は結核菌感染後2～3週目に最高値を示すが、肝病巣における変化はそれと異なり、軽微な上昇のみがみられるに過ぎない。血漿、肺病巣との間にはステアリン酸の変動に差異のあることが観察された。すなわち、肝のステアリン酸の健常値は8.5%，58.4mg%であるが、感染後2週で10%，62.9mg%，3週で10.5%，62.2mg%となり、血漿、肺病巣のそれに比べ軽度の増加である。4週以後減少し正常値に近接する。

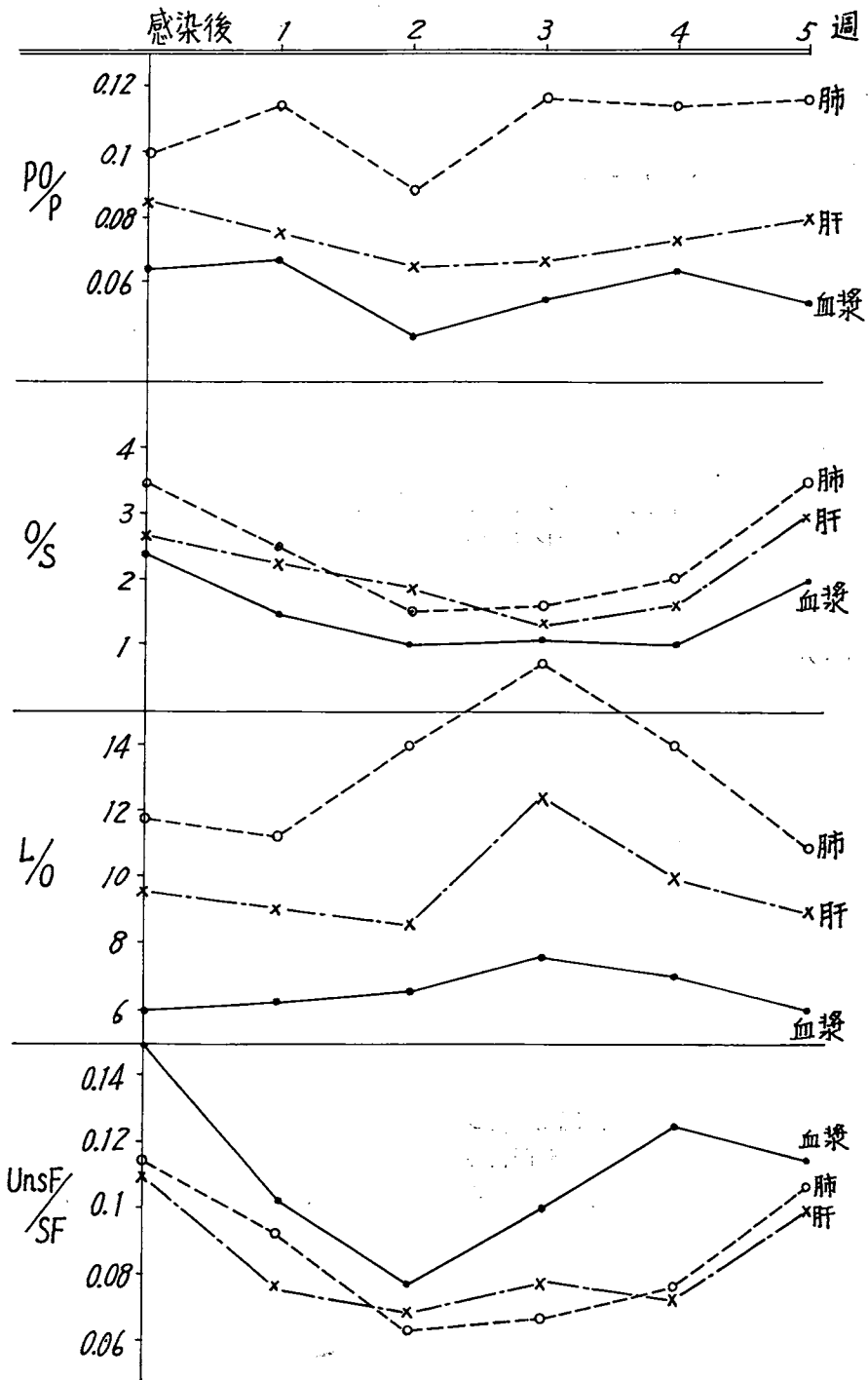
(5) オレイン酸：肝病巣におけるオレイン酸の変動も肺病巣および血漿におけると同様に結核菌感染後低下し、結核病巣が最も進展する3週目に最低値を示す。すなわち肝組織のオレイン酸の健常値は22.8%，157mg%であるが結核感染2週後17.8%，112.8mg%，3週後15.0%，88.9mg%と減少している。4週目に再び増加し、5週で正常値を保つ。この変動は血漿におけるとともに肺病巣におけるよりはるかに激しい。

(6) リノール酸：肝組織におけるリノール酸の健常値は23.9%，163.4mg%ある。結核感染後1～2週で低下し始め16.0%，100.8mg%となり、3～4週で29%，114.4mg%，19.0%，112.3mg%であるが、5週よりほぼ正常値に復帰している。肝病巣のリノール酸の消長は2，3，4週に健常値より低い値を示しているが、各脂肪酸の比率においては3，4週で幾分上昇の傾向がうかがわれる。従って血漿におけるがごとき複雑な消長を示さず、肺

第7表 結核感染後, 肝における中性脂肪酸を構成する高級脂肪酸の変動 mg%

週	番号	ミリスチン酸	パルミチン酸	パルミト オレイン酸	ステアリン酸	オレイン酸	リノール酸	リノレイン酸
対照	1	18.3	235.1	21.3	60.3	160.5	162.5	28.5
	2	17.6	248.5	20.0	58.3	158.1	160.9	24.1
	3	11.5	242.6	22.5	57.4	156.3	160.1	26.5
	4	17.2	256.3	18.9	56.8	158.7	164.5	23.1
	5	13.0	238.9	17.9	59.2	157.5	168.9	20.9
	6	14.1	239.1	23.8	58.8	154.8	164.9	26.8
	平均	15.2	243.4	20.7	58.4	157.0	163.4	24.9
1	1	17.2	278.7	20.7	53.6	142.0	132.5	27.5
	2	16.8	253.6	21.2	66.8	138.5	128.7	26.3
	3	15.9	256.7	22.0	59.7	137.6	119.5	22.5
	4	14.3	259.8	21.3	58.5	139.0	108.3	21.7
	5	15.8	263.0	19.6	59.2	140.1	126.2	23.1
	6	16.0	279.0	19.8	61.3	135.2	130.5	20.2
	平均	16.0	265.2	20.7	61.5	138.7	134.2	23.5
2	1	17.0	290.5	18.6	63.1	115.6	112.1	19.5
	2	17.2	295.3	21.0	62.2	108.2	98.2	18.8
	3	16.5	205.2	19.3	62.5	109.3	97.5	18.6
	4	16.1	289.1	22.0	63.8	112.0	99.1	19.5
	5	15.8	295.2	19.3	62.9	105.9	101.1	21.1
	6	16.8	292.3	18.9	63.0	121.3	97.2	19.8
	平均	16.5	277.9	19.8	62.9	112.8	100.8	19.5
3	1	17.5	281.0	21.0	62.0	89.3	121.5	19.6
	2	17.0	279.6	20.0	59.0	87.1	109.5	19.8
	3	16.9	276.8	17.2	64.5	88.5	106.2	18.5
	4	17.1	270.1	16.8	61.8	87.8	108.3	18.3
	5	15.9	259.2	17.5	63.2	89.6	118.6	17.9
	6	16.9	258.6	20.1	62.9	91.5	122.8	18.3
	平均	16.8	270.8	18.9	62.2	88.9	114.4	18.9
4	1	16.8	257.8	17.5	59.6	106.5	102.5	20.1
	2	17.1	255.6	18.7	60.3	93.5	116.5	18.7
	3	14.5	259.3	17.9	61.6	118.9	110.3	19.5
	4	15.2	256.2	18.1	60.7	98.5	99.5	19.1
	5	14.0	256.9	20.1	58.3	120.2	125.9	17.6
	6	13.8	243.6	19.6	64.5	107.9	119.5	18.4
	平均	15.2	256.9	18.6	60.0	107.5	112.3	18.9
5	1	13.9	239.6	20.7	56.1	165.5	149.2	21.5
	2	14.4	247.3	19.5	57.5	160.2	156.3	22.0
	3	17.6	249.4	19.8	59.3	159.5	157.0	20.1
	4	17.9	242.6	17.9	60.7	164.9	148.1	23.0
	5	11.8	245.7	18.8	60.9	163.7	152.7	18.3
	6	13.6	243.8	20.4	61.2	164.4	153.4	19.4
	平均	14.8	244.7	19.5	59.2	163.0	152.7	20.7

第 7 図 結核菌感染による高級脂肪酸の構成比率の変動



病巣におけると類似した成績となっている。

- (7) リノレイン酸: 血漿, 肺病巣におけるリノレイン酸の消長は特長ある成績を示しているが, 肝病巣における消長も前二者におけるいずれとも合致しない型式を示す。肝組織におけるリノレイン酸の健常値は3.6%, 24.9mg%であるが, 感染後2, 3, 4週でそれぞれ31%, 19.5mg%, 31%, 18.9mg%, 30%, 18.9mg%で正常値に到達していない。

#### D. 結核ウサギ脂肪酸の構成比率

上記成績から結核ウサギにおいては感染後の経過に従って脂肪酸の変動が観察され, 一般に病巣進展時期に一致して飽和脂肪酸が増加し不飽和脂肪酸が減少ないし複雑に変動することがみとめられた。そこで各脂肪酸の構成比率を検討するに, 構成比としてパルミトオレイン酸/パルミチン酸 (po/p) オレイン酸/ステアリン酸 (o/s), リノール/オレイン酸 (L/o) および不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸 (unsF/sF) をあげた。

- (1) po/p: 血漿においては感染後2週に低下し, 3週より次第に増加しており, 肺病巣においては類似の経過を示しているが, 肝病巣においては感染後2, 3週に最低を示すゆるい曲線を描いている。この成績より血漿, 肺病巣における po/p の変動は著明で病巣進展

期にパルミチン酸の増加がみとめられ, 肝の病巣においては結核菌感染によるパルミチン酸の増加は軽いことが知られる。

- (2) o/s 血漿肺, 肝いずれにおいても結核病巣の進展とともに低下している。すなわち, o/s は感染後2, 3, 4週に最低値を示し, その推移も三者間に著差がみられず, 特異性が観察されない。
- (3) L/o, C/g 不飽和脂肪酸のリノール酸とオレイン酸の比の変化は血漿と肝病巣においてほぼ同一の経過をとるが, 肺病巣においては若干異っている。血漿肝病巣におけるリノール酸の減少はオレイン酸のそれより著明であり, 3週目に最も著しい。一方, 肺病巣においては二者におけるよりその傾向が乏しい。
- (4) unsF/sF 血漿肝, 肺の三者において著明な差異はみられない。しかし結核病巣の進展による不飽和脂肪酸の減少は3週まで一様にみられるが, 治癒傾向の出現期になると血漿におけるものが先づ最初に上昇曲線を描き, 肺, 肝病巣におけるものとは明らかに差異を示した。従って治癒機転に關与する飽和脂肪酸が先づ血漿中に動員されるものと考えられる。

## 考 察

近年の科学の進歩は分析技術の向上をもたらし, 脂質研究も急速な発展をとげている。脂質は生体のあらゆる臓器組織に脂質単独あるいは複合脂質として存在し生体における重要な作用を営んでいることが判明してきた。現在脂質の生化学的意義と研究方法の開拓とにより研究対象は基礎的分野にとどまらず医学全般にわたるようになってきている<sup>(8)(9)</sup>。結核についても脂質および複合脂質は結核特有の所見である乾酪化および空洞形成の誘起物質として第一義的に考えられており, その臨床生化学的究明は特に注視すべき問題とされている<sup>(10)(11)</sup>。

従来脂質研究の最初の難関は抽出方法にあった。総脂質は Bloor 氏法によりエーテル・アル

コール等量液 (v/v) で反復抽出されていた。しかし Folch 等はクロロホルム・メタノール 2:1 混合液 (v/v) で抽出すれば組織を低温で均質化するだけで脂質が抽出されることを報告した<sup>(12)</sup>。われわれの研究対象とする肺, 肝については収量増加のため, さらに 80°C 2 時間 soxhlet 装置で抽出することとし, 血漿については沸騰寸前まで加温すれば充分であった。さらに Folch の旧法では Fluff の発生が避けられないので改良法に準拠することにした<sup>(5)</sup>。

抽出された脂質の測定方法については幾多の報告をみており, 例えば Holman<sup>(13)</sup> および Brice<sup>(14)</sup> 等の不飽和脂肪酸分析定量法, 野田・井上<sup>(15)</sup>ならびに黒野<sup>(16)(17)</sup> のヒドロキサ

ム酸誘導体によるペーパークロマトグラフ法, Herb-Riemenschneider<sup>(18)</sup>の高度不飽和脂肪酸分析定量法, Gee<sup>(19)</sup>の高度不飽和脂肪酸の酵素的分析, Wiese-Hansen<sup>(20)</sup>の血清中不飽和脂肪酸の微量分析, Holman-Haryes<sup>(21)</sup>の血漿および組織中不飽和脂肪酸の分析, Pikar Nijhof<sup>(22)</sup>の血清中脂肪酸の微量分析等が報告され、臨床的にも応用され始めているが、未だ完成の域に達しているものではない。ガスクロマトグラフィは James Martin<sup>(4)</sup><sup>(23)</sup><sup>(24)</sup><sup>(25)</sup>によって発表されて以来医学の分野にも応用され始めているが、結核病巣の脂質研究に応用したことについては現在までその報告に接していない。われわれの研究対象である実験的ウサギ結核については被検試料が少量であるため、従来の分析方法では定量は勿論、定性についてもはなはだ不十分であった。従って脂質を構成する脂肪酸の変動 turnover に言及することは困難視されていたのであるが、ガスクロマトグラフィによれば微量の試料で正確に分析し得るので、この点われわれの研究にはなはだ好適の方法と考えられた<sup>(26)</sup>。脂肪酸のガスクロマトグラフィ分析には脂肪酸のメチルエステルを得る必要があるが、この際反応が定量的に行なわれ、この反応に際して不飽和脂肪酸の二重結合が変化をうけぬこと、さらに操作が短時間内に完了することが必要条件と考えられている。われわれはデアゾメタンのエーテル溶液で脂肪酸を処理することによりメチルエステルを得ているが、Stoffel<sup>(27)</sup>の interesterification microsublimation による方法が微量試料を処理し得る点で優れている。現在ガスクロマトグラフィの検出器には種々考案されているが、われわれは熱伝導型を使用した。今回のわれわれの検索は主として高級脂肪酸についてであるが、低级脂肪酸に関しては試料がさらに微量となるため、イオン化検出器による必要がある。ガスクロマトグラフィで重要な部分として固定相があるが、高級脂肪酸分析の固定相液体は種々報告されている<sup>(28)</sup><sup>(29)</sup><sup>(30)</sup>。Reoplex 400, ethylene glycol polyester 等が主なものであり、polyesterでは succinate ester と adipate-

ester とが多く使用され、われわれは succinate-ester を使用した。

ガスクロマトグラフィを応用した医学分野における脂質研究としてわが国においては高血圧性疾患、副腎皮質ホルモン障害、肝疾患、胆嚢疾患等につきそれぞれ<sup>(34)</sup><sup>(35)</sup><sup>(36)</sup><sup>(37)</sup>報告がなされている。

われわれは結核病巣内脂質の病理ならびに組織化学的所見としては結核病巣の進展に伴い脂質が増加し、それが乾酪巣の周囲に著明であり、切除肺病巣についても空洞壁より被包乾酪巣に沈着する 경우가多く、脂肪沈着は病巣の病理組織学的安定性の程度とよく平行することを明らかにした。結核病巣の脂質についての生化学的研究において Patnodo<sup>(38)</sup>等はウサギの肺の glyceride fatty acid が H<sub>37</sub>Rv 感染で 60%, H<sub>37</sub>Ra 感染で 70% に減少するが、肝のそれらは著変がないと報告している。井上<sup>(39)</sup>は結核イヌの肺、肝中の総脂質量ならびに必要な脂肪酸含量を測定し、対照正常イヌに比較し肺病巣部において減量していることを認めている。市吉<sup>(40)</sup>はウシ型結核菌によるウサギ結核肺では総脂質が病巣作製初期の乾酪性肺炎に続いて生ずる結節形成の時期には著明に減少し、乾酪変性を囲む結核性肉芽層の形成肥厚と共に急速に増加の傾向を示すと述べ、若干異なる見解を發表している。われわれの成績においては総脂質は結核感染直後より減少するが、結核結節の出現期にはやゝ増加に移行する結果を示している。

ガスクロマトグラフィによる結核ウサギの血漿、肺、肝における脂肪酸の変動を追求した結果では血漿においてはパルミチン酸、ステアリン酸が結核病変の進展に平行し、オレイン酸、リノール酸は逆の pattern を呈する。肺においては血漿におけると同様の傾向がみられるが、リノール酸の変動が一層注目され、肝の場合にも同じ重要性を示している。従って結核感染の場合、総脂質が最初減少し次で増加するのは主として飽和脂肪酸のパルミチン酸、ステアリン酸の変動によるものである。不飽和脂肪酸のオレイン酸、リノール酸は一般に減少の傾向を示している、すなわち病理組織学的に脂肪染色陽

性となるのは飽和脂肪酸に由来するものと推定されるわけで、組織学的所見からは不飽和脂肪酸の変動は把握されないものと考えられる。従って病理組織学的に脂質がよく染色される時期に総脂肪の定量は減少している現象が観察されることになる。

結核病巣の脂肪酸の変動を観察するにあたりわれわれはリノール酸の態度に最も注目したい。リノール酸は病巣発現直前に減少し、治癒傾向が出現する直前に増加する二相性の曲線を描くが、このような pattern は他の脂肪酸の変動と比較して特異的であり、リノール酸は病巣出現および消退にはなほだ敏感な脂肪酸であると考えている。さらに被検対象である血漿、肺、肝の三者間におけるリノール酸の消長が異なり、肺結核病巣に治癒傾向の観察される時期に血漿中リノール酸値が肺、肝におけるよりはるかに再上昇していることは生体における脂肪酸動員の一端を示すものであり、結核菌感染における host-parasite relationship よりみても興味ある所見と考えられる。

現在のところ炭素数14以上の脂肪酸は投与型式のいかににかかわらず大部分淋巴中に出現するが、一方炭素数12以下の脂肪酸はきわめて少量が運搬されるので大部分は門脈に移行することが明らかにされている<sup>(41)(42)</sup>。高級脂肪酸は淋巴より循環血液へ運搬される途中において代謝的变化をうけることが少ないが、循環血液に入ると多くの内因性脂質と混合するので複雑な様相を呈することになる。一般に血液中の脂

## 結

結核病巣における物質代謝研究の一環として脂質の変動をとりあげ、結核ウサギについて血漿、肺、肝を構成する中性脂肪の高級脂肪酸の変動をガスクロマトグラフィを応用して追求し次の結果を得た。

(1) 血漿、肺、肝の中性脂肪を構成する高級脂肪酸はミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトオレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレイン酸である。結核感染によってこれらの臓器に特異な脂肪酸の出

質は大部分 triglyceride となり安定剤として燐脂質および蛋白質を含んでいるが、脂肪酸が血液で運搬されていく先は勿論脂肪を必要とする種々の臓器であり、あるいは蓄積する臓器組織であるが、生体の生理的变化に応じて種々に変化するものと考えられる。さらに貯蔵脂質の変化のみならず、脂質を貯える臓器より利用する臓器へ運搬する mobilization も重要な問題である。肺結核の脂質代謝を生化学的に究明するには幾多の困難な問題があり、とくに本研究においては turnover については触れることが出来なかったが、今後開拓されるべき重要課題と考えられている。

われわれは実験結核においてガスクロマトグラフィを応用して病理学的所見と中性脂肪を構成する脂肪酸の変動とを比較観察したのであるが、すでに述べたごとく血漿、肺、肝のいずれにおいても結核病巣の進展と共にパルミチン酸、ステアリン酸の増加、オレイン酸、リノール酸の減量が招来されることを観察した。これ等の変動は他臓器からの mobilization によることも推定されるが、肝、肺、血漿の三者に変動していることから不飽和脂肪酸よりの転換も充分考慮されるものと思われる。結核病巣における乾酪化の際に飽和脂肪酸の増加する所見が観察されたのであるが、乾酪化を惹起する因子としてむしろ不飽和脂肪酸ことにオレイン酸、リノール酸の減量に意義を求めたい。勿論脂肪酸の変動以外にも蛋白質、酵素の生化学的変動も考察すべきは云うまでもない。

## 論

現をみなかった。

- (2) 結核感染により結核病巣の組織学的所見の著しい時期に中性脂肪全体としては減少しているが、血漿、肺、肝のいずれにおいても高級飽和脂肪酸の増加がみとめられ、一方高級不飽和脂肪酸の減少がみとめられる。
- (3) 結核感染による脂肪酸の変動中血漿、肺、肝相互間においては著しい差異はみとめられないが、ミリスチン酸、リノール酸、リノレイン酸の増減にそれぞれ時期的なずれが



みられ、とくにリノール酸の変動に意義が考えられる。

(4) 脂肪酸相互の ratio 中パルミトオレイン酸／パルミチン酸は血漿、肺病巣において感染後2週に低下し、オレイン酸／ステアリン酸は血漿、肺、肝病巣のいずれにおいても病

理所見の著明な時期に下降している。リノール酸／オレイン酸は血漿、肺、肝において高度病変期に最高値を示し、とくに肺病巣において顕著である。不飽和脂肪酸／飽和脂肪酸は感染後3週を最低とする変化を示す。

## 文 献

- 1) 高田英之：金大結研年報, 17(2), 327, 1959.
- 2) 卜部美代志他：金大結研年報, 16(中), 339, 1958.
- 3) 山村雄一：最新医学, 14, 2062, 1959.
- 4) James, A. T. and Martion, A. J. P. : Biochem. J., 50, 679, 1952.
- 5) Folch, J. et al. : J. Biol. Chem., 226, 497, 1957.
- 6) Arndt, E. G. : Org. Anal., 1, 197, 1953.
- 7) 田中 圭, 高橋善弥太：日本内科雑誌, 50, 790, 1961.
- 8) Mead, J. F. and Howton, D. R. : Radioisotope of Fatty Acid Metabolism. Dergamon Press, 1960.  
(志村憲助, 鹿山光訳, 共立出版KK)
- 9) 服部信：医学のあゆみ, 26, 602, 1958.
- 10) 山村雄一：九大結研紀要, 4, 50, 1958.
- 11) 山村雄一：結核研究の進歩, 25, 1, 1959.
- 12) Folch, J. et al. : J. Bil. Chem., 55, 833, 1951.
- 13) Holaman, R. T. : Measurement of polyunsaturated Fatty Acid. Methode of Biochemical Analysis, Interscience, 1957.
- 14) Brice, B. A. et al. : J. Am. Oil. Chemi. Soci., 29, 297, 1952.
- 15) 野田万次郎：最新医学, 14, 205, 1959.
- 16) 黒野吾市, 他：薬学雑誌, 73, 605, 1953.
- 17) 黒野吾市, 他：薬学雑誌, 73, 1211, 1953.
- 18) Herb, S. F. and Riemenschneider, R. W. : Anal. Chem., 25, 953, 1953.
- 19) Gee, M. J. : Anal. Chem., 31, 299, 1959.
- 20) Wiese, H. F. and Hansen, A. E. : J. Biol. Chem., 202, 417, 1953.
- 21) Holman, R. J. and Haryes, H. : Anal. Chem., 30, 1422, 1958.
- 22) Pikar, N. A. and Nijhof, J. : Biochem. J., 70, 52, 1958.
- 23) Martin, A. J. P. and James, A. T. : Biochem. J., 63, 138, 1956.
- 24) Martin, A. J. P. and James, A. T. : Biochem. J., 63, 144, 1956.
- 25) James, A. F. and Webb, J. : Biochem. J., 66, 515, 1957.
- 26) 雨宮良三：ガスクロマトグラフィ, 共立出版 K.K., 1961.
- 27) Stoffel, W. et al. : Anal. Chem., 31, 307, 1957.
- 28) 佐藤良造, 他：化学の領域, 44, 1, 1961.
- 29) 辛島詢逸：化学の領域, 44, 39, 1961.
- 30) 佐藤省三：最新医学, 18, 2413, 1963.
- 31) Schrade, W. et al. : Dtsch. Med. Wschr., 1621, 781, 1961.
- 32) James, A. T. : Lancet, Apb. 705, 1957.
- 33) Böttcher, C. J. F. et al. : Lancet, 26, 1162, 1960.
- 34) 日笠頼則, 他：最新医学, 18, 921, 1963.
- 35) 高橋善弥太：綜合臨床, 11, 1592, 1962.
- 36) 菊池三郎：最新医学, 18, 2430, 1963.
- 37) 池川信夫：最新医学, 18, 2455, 1963.
- 38) Patnode, R. A. and Hujins, P. C. : Am. Rev. Tuberc., 75, 83, 1957.
- 39) 井上章：長崎医誌, 35, 825, 1959.
- 40) 市吉陽：阪大医誌, 10, 1155, 1958.
- 41) Kiyasu, J. Y. et al. : J. Biol. Chem., 219, 735, 1956.
- 42) Chaikoff, J. L. et al. : J. Biol. Chem., 190, 431, 1951.