

「ベノクリーデス」ノ研究 (第7報)

家兎血清無機磷及ビ「カルシユーム」量ノ變動ニ就イテ

金澤醫科大學小兒科教室(泉教授指導)

横井秀雄

Hidco Yokoi

(昭和12年12月13日受附 特別掲載)

内 容 抄 錄

余ハ正常家兎ノ耳靜脈ヨリ「ベノクリーデス」ニヨリ「リンゲル」氏液及ビ2.5%, 5.0%ノ二種ノ葡萄糖加「リンゲル」氏液ノ各液ヲ一定速度ニテ恒温持続的ニ點滴注入シ, 其前中後ニ於ケル血清無機磷及「カルシユーム」量ヲ時間的に定量シ其ノ變量如何ヲ觀察セルニ各液共ニ其注入ニヨリテ無機磷「カルシユーム」量共ニ一時減少スルヲ觀タルモ, 注入終了後一定時間ノ經過ニヨリテ再び元値ニ恢復スルモノナル事ヲ知レリ.

目 次

緒 言	第1節 血清「カルシユーム」量ニ就イテ
第1章 實驗材料及ビ實驗方法	第2節 血清無機磷量ニ就イテ
第1節 注入法及ビ注入溶液	第3章 總括及ビ結論
第2節 血清無機磷測定法	主要文獻
第3節 血清「カルシユーム」測定法	
第2章 實驗成績	

緒 言

「ベノクリーデス」ノ研究トシテハ既ニ吾教室ノ梅田, 堀兩兄ニヨル「リンゲル」氏液及ビ葡萄糖加「リ」氏液ヲ家兎ニ注入セシ際ニ於ケル其ノ尿成分ノ變動特ニ糖尿ノ消長並ビニ血糖ノ増減或ハ血壓等ニ關スル各詳細ナル業績報告アリ. 次イデ山田氏ノ余ト共ニ行ヒタル家兎血液中ノ水分量, 含蛋白量及ビ其ノ食鹽量等ノ定量試験, 亦余ノ家兎赤血球ノ面積變動觀察及ビ血小板數及ビ血液凝固時間ニ關スル研究アリ. 更ニ最近山田氏ノ赤血球數, 血色素量及ビ白血球數ニ關スル研究等アリ. 本報ニ於テ余ハ前諸實驗ト略同様, 家兎靜脈内ニ二三溶液ヲ一定條件ノ下ニ注入シ此際血清中ニ於ケル「カルシユーム」量及ビ無機磷量ヲ定量シ注入前後ニ於ケル各量ノ變化消長ヲ觀察シ得タル二三實驗成績ヲ報告セントス.

第1章 實驗材料及ビ實驗方法

第1節 注入方法及ビ注入溶液

實驗動物ハ豆腐滓ニ略同量ノ甘藷ヲ混合セル飼料ヲ以ツテ養育セル健康成熟家兎ニシテ雌雄不問3疋前

後ノモノヲ撰ビタリ。注入器ハ吾教室ニ於イテ考案サレタル電氣式恒温點滴注入器ヲ使用セル事ハ前回實驗ニ同ジ。注入液ハ吾々小兒科領域ニ於イテ最近特ニ普遍的ニ實用サル、ニ至リシ「リングル」氏液（日本藥局方）、及ビ2.5%、5.0%葡萄糖加リ氏液ヲ用ヒタリ。本液ハ「リングル」氏液ヲ溶媒トシ葡萄糖（武田長兵衛商店製）ヲ溶質トシテ2.5%及ビ5.0%ニ溶解セルモノニシテ「リ」氏液ノ組成ハ日本藥局方ニ一致スルモノナリ。

注入溫度ハ37°-38°Cニシテ注入速度ハ毎分毎瓶0.83ccニシテ余ノ用ヒシ點滴「イルリガートル」ニ於ケル1.0ccハ20滴ニ相當スルヲ以ツテ今3kgノ家兎ニ於ケル1分間ノ注入滴數ハ

$$20(\text{滴}) \times 0.83(\text{cc}) \times 3(\text{瓶}) = 50\text{滴ナリ}.$$

全注入量ハ毎瓶100ccトセリ。注入法ハ固定臺上ニ背位ニ四肢及頭部ヲ固定セル家兎ノ一側ノ耳靜脈ヨリ注射針ニテ前記注入量ヲ用ヒテ持續恒温點滴注入ヲ行ヘリ。

第2節 血清無機磷測定法

Bell-Doisy 氏ノ比色法ノ改良法タル Briggs 氏法多少變法ヲ加味セルモノナリ。先づ採血後血液充分凝固スルヲ待チ可及的溶血スルヲ避ク様注意シ強ク遠心シテ血清ヲ分離ス。

1. 蛋白除脱

被檢血清1.0ccヲ10.0ccノ「メスコルベン」ニトリ、蒸溜水3.0cc及ビ20%ノ三鹽素（トリクロール）酸醋酸液1.0ccヲ加ヘ全量ヲ5.0ccトナシ數分間強ク振盪シ約10分間放置シ、然ル後濾紙ヲ以ツテ濾過シ本濾液2.5ccヲ10cc「メスコルベン」ニ入レル。

2. 著色操作

本濾液ニ所定ノ「モリブデン」酸「アンモニヤ」液、「ハイドロキノン」液及ビ亞硫酸曹達液ヲ順次ニ各0.5c宛加ヘ更ニ水1.0ccヲ加ヘテ全量ヲ5.0ccトナス。本操作ニ於ケル化學反應ハ磷酸ヲ憐「モリブデン」酸ノ形ニ導キ之ヲ「ハイドロキノン」ニテ還元シテ青色ニ著色セシメル。本青色ノ濃度ハ磷量ニ正比例スルモノナリ。亞硫酸曹達ハ「ハイドロキノン」ニヨリテ起ル不純ノ綠色味ヲ除去スルタメナリ。

3. 比色法

磷ノ既知量ヲ含有セル標準液（磷酸基本液）ヲ10.0ccノ「メスチリンドル」ニトル。本量ハ時ニヨリ變動アルモ余ハ5ccヲトレリ。之ニ所定ノ試薬「モリブデン」酸「アンモニヤ」液、「ハイドロキノン」液、亞硫酸曹達液及三鹽素酸醋酸液ヲ夫々1.0cc宛入レ更ニ水1.0ccヲ加エテ全量ヲ10.0ccトナシ1晝夜放置シ比色計ニヨリ比色ス。而シテ此場合被檢血清中ノ磷量ノ多寡ニ應ジテ標準液ノ量ヲ加減スペキハ勿論ナリ。即チ標準液量ノ相異ナルモノヲ別々ニ「メスコルベン」中ニトリ、以上ノ如ク試薬ヲ加ヘテ被檢血清ト比較的近似ノ色調ヲ有スルモノト比色ヲ行フベキナリ。

今標準液5.0ccヲトリタル場合ニ

$$C = \frac{C_0 d_0}{d} = \frac{1.25}{2} \times 2 \times 5 \times \frac{d_0}{d} = 6.25 \frac{d_0}{d} \text{ mg/dl}$$

C_0 ；標準液ノP濃度 mg/dl
 C ；被檢血清 " "
 d_0 ；標準液ノ比色計目盛 mm
 d ；被檢血清ノ比色計目盛 mm

ニテ表ハサル。

尙本實驗ニテ使用セシ試薬ニ就キ二三説明ヲ加ヘンニ

(i) 標準液（磷酸基本液）

尿標準液、即チKH₂PO₄（酸性磷酸加里）ノ0.4394gヲ1立ノ水ニ溶解セルモノヲ25.50ccトリ水ヲ加ヘテ200ccトセルモノヲ使用セリ。本標準液ニ於ケルPノ濃度ハ1.25mg/dlニ相當セリ。

(ii) 「モリブデン」酸「アンモニヤ」液

結晶「モリブデン」酸「アンモニヤ」 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ 10g ヲ 1N 硫酸 200.0cc ニ溶解セシモノ。

(iii) 鹽性亞硫酸曹達液 (Na_2SO_3)

20g/dl ヲ使用セリ。本液ハ空氣中ニ放置スレバ 亞硫酸ヲ失ヒテ無効トナルヲ以ツテ 施栓シ時々新シク再調製シテ使用スペキモノナリ。

(iv) 「ハイドロキノン」液

再製「ハイドロキノン」0.5g ヲ水 100cc ニ溶解セルモノニシテ之ニ 硫酸 1滴ヲ加ヘテ 酸性トナス。之ハ「ハイドロキノン」溶液ニ單ニ亞硫酸曹達ヲ溶和シテモ曹達液ガ鹽性ナルタメニ其ノ酸化ヲ防グ事が出來ヌ故酸性ニシテ置ク必要アリ。

第3節 血清「カルシユーム」測定法

Tisdall-Kramer 氏法ノ一變法ナリ、即チ血清ハ無機磷測定ノ場合ト同様ニシテ得タルモノヲ用ヒ、之ヲ特定遠心管 = 1.0cc トリ、水 2.0cc ヲ以ツテ稀釋セル後之ニ飽和蔥酸「アンモニヤ」液 1.0cc ヲ加ヘテ良ク混和シ一定時間(24時間)氷室中ニ施栓シ保存ス。本操作ハ血清中ノ Ca ヲ全部 CaC_2O_4 (蔥酸石灰) トシテ沈澱セシムルナリ。次ニ充分遠心シ上澄ヲ大部分捨テ次ニ沈澱物中ノ有機物ヲ除ク目的ヲ以ツテ 2% 「アンモニヤ」水ヲ略 4 cc 加ヘ手製ノ細長ナル「ピペット」ヲ以ツテ攪拌シ、更ニ遠心ス。斯ル洗滌ヲ繰返ス事 3 回ニシテ 1N 硫酸液 5.0cc ヲ加ヘ 75°C = 加溫シ蔥酸石灰結晶ヲ良ク溶解セシメ含有セラル、蔥酸ヲ N/100 過マンガン酸加里ニテ滴定シテ間接ニ Ca 量ヲ計出セリ。本試験ニ使用セシ試薬ハ

(i) 饱和蔥酸「アンモニヤ」液

再結晶シタルモノヲ用フ。

(ii) 定期硫酸液

28.0cc ノ濃硫酸(メルク)ヲ 97.0cc ノ蒸溜水ニ除々ニ加エタルモノ。

(iii) $\frac{1}{100}$ -N 過マンガン酸加里液

KMnO_4 ノ 0.32g ヲ 1 立ノ蒸溜水ニ溶解シ數時間重湯煎上ニ加溫シテ放冷シ數日經過セルモノ。

第2章 實驗成績

第1節 血清「カルシユーム」量ニ就イテ

(第1, 2, 3 表參照) 注入前即チ正常時ニ於ケル Ca 量ハ家兎ニヨリテ多少ノ相違アルモ

第1表 リンゲル氏液注入例

例 數	第 1 例		第 2 例		第 3 例	
家 兔 番 號	19 ♂		7 ♂		29 ♀	
體 重 kg	3.520		2.020		1.730	
時 間	カルシユーム量 mg/dl	磷 量 mg/dl	カルシユーム量 mg/dl	磷 量 mg/dl	カルシユーム量 mg/dl	磷 量 mg/dl
注入直前〔I〕	12.5	5.10	14.3	6.19	14.7	5.57
注入半〔II〕	11.0	3.87	13.0	5.93	12.9	5.78
注入終了〔III〕	10.5	4.44	13.4	5.70	12.8	5.68
終了後 2 時間〔IV〕	10.3	4.25	13.0	6.07	12.8	6.19

11乃至15mg/dlノ間ニ動搖シ、平均値ハ13.1mg/dlトナレリ。然ルニ注入半(注入開始後略1時間)ニ於ケルCa量ハ其ノ注入液ノ種類ノ如何ヲ問ハズ總テノ例ニ於テ減少セルヲ見タリ。而シテ其ノ減少量ハ最大2.4、最小0.1mg/dlニシテ平均1.4mg/dlナル數値ヲ示セリ。

注入終了直後ニ於ケルCa量ハ大部分ノ例ニ於テ尙正常時(注入直前時)ノ値ヨリ減少セルヲ見タリ。更ニ注入終了後2時間ニ於ケル本量ヲ見ルニ各例共ニ注入前ノ値ニ比シテ僅カニ尙減少セルモノ大部分ニシテ中ニ多少増加セリト思ハルモノ2例アリ。大體ニ於テ正常値ニ近ク回復セルヲ見タリ。

第2表 2.5%葡萄糖加「リンゲル」氏液注入例

例 數	第1例		第2例		第3例	
家兎番號	5 ♀		16 ♂		15 ♂	
體重 kg	2.210		2.190		2.000	
時 間	カルシユーム量 mg/dl	磷量 mg/dl	カルシューム量 mg/dl	磷量 mg/dl	カルシユーム量 mg/dl	磷量 mg/dl
注入直前[I]	11.0	5.45	12.4	5.79	12.0	5.82
注入半[II]	9.1	4.54	11.0	4.54	11.9	5.51
注入終了[III]	11.0	5.29	11.5	4.58	12.2	5.39
終了後2時間[IV]	11.2	6.06	11.5	5.55	12.3	6.05

注入液ノ種類ノ如何トCa量トノ間ノ關係ヲ見ルニ殆ンド其間ニ相違ハ認メラレザルモ只葡萄糖ヲ加ヘタル液ヲ注入セル場合ニハ表ニ示サル如ク注入中一時減少セルCa量ハ徐々ニ増加ノ傾向ヲ示シ、注入終了後2時間ニハ注入前ノ値ニ近ク回復セルニ反シ「リンゲル」氏液ノミヲ注入セル場合ニハ回復ハ更ニ徐々ニシテ多少其ノ時間ハ遅延セルモノノ如シ。

第3表 5.0%葡萄糖加「リンゲル」氏液注入例

例 數	第1例		第2例		第3例	
家兎番號	10 ♂		26 ♂		14 ♂	
體重 kg	1.820		2.360		2.350	
時 間	カルシユーム量 mg/dl	磷量 mg/dl	カルシユーム量 mg/dl	磷量 mg/dl	カルシユーム量 mg/dl	磷量 mg/dl
注入直前[I]	12.6	5.96	13.6	5.88	14.6	4.98
注入半[II]	11.2	5.30	12.8	4.65	12.2	3.31
注入終了[III]	12.4	5.68	13.2	5.34	12.6	3.90
終了後2時間[IV]	12.6	6.00	13.5	5.83	13.4	4.98

第2節 血清無機磷量ニ就イテ

(第1, 2, 3表参照)注入直前ニ測定セル磷量ヲ見ルニ5.0—6.0mg/dlニシテ平均5.64mg/dlナル數値ヲ得タリ。血清中ノ無機磷量ハ一般ニ年齢、性固體別、或ハ其他ノ種々ナル内外的

條件ニヨリテ良ク左右セラレ、其ノ値ハ一定セザルモノナル事ハ既ニ周知ノ事項ナリ。

本實驗ニ於テハ注入中ノ燐量ト注入直前ニ測定セル燐量トヲ比較スルニ只1例ノ例外ヲ除ク他總テノ例ニ於テ一様ニ最大1.67、最小0.26mg/dl、平均0.95mg/dlノ減少セルヲ見タリ。而カモ其ノ1例ノ例外ト雖モ僅カ=0.21mg/dlノ增加ヲ見タルニ遇ギザルヨリ見ルモ注入中ニ於テハ明カニ燐量減少セルモノト言フベシ。

注入終了直後ニ於テハ尚注入前ノ値ニ比シ減少セルハ明カニ見エタルモ多少回復セントスル傾向ハ認メラレタリ。注入終了後2時間ニ於テハ大部分ノ例ニ於テ注入前ノ値ニ近ク復歸シ中ニ僅カニ増加セルモノ4例ヲ見タリ。

次ニ注入液ノ種類ト燐量トノ關係ヲ見ルニ殆ンド相違ヲ認メザルモ「カルシユーム」量ノ場合ニ於ケルト同様只葡萄糖ヲ加ヘタル液ノ場合ニハ表ニ示セル如ク總テノ例ニ於テ例外ナク注入中ハ減少シ、其後徐々ニ回復シ注入終了後2時間ニ於テハ殆ンド注入前ノ燐量ニ近ク回復セルニ反シ「リングル」氏液ノミヲ注入セル場合ニハ比較的ニ量ノ増減不規則ニシテ1例ニ於テハ注入後反ツテ増加セル結果ヲ得タルモノアリ。

第3章 總括及ビ結論

家兎靜脈内ニ「リングル」氏液或ハ2.5%及ビ5.0%葡萄糖加「リングル」氏液ヲ持続的ニ恒温、点滴注入セシ場合、血清無機燐及ビCa量ハ兩者共ニ時間的に略平行ニ注入ト共ニ減少シ注入終了後ハ徐々ニ元値ニ回復シ來リ、終了後約2時間ニシテ注入前ノ値ニ復歸スルヲ認メタリ。然シテ葡萄糖加「リングル」氏液ニアリテハ單ナル「リングル」氏液ノ場合ニ比シテ減少量ノ復歸ノ多少速キヲ思ハシメタリ。

擱筆スルニ臨ミ始終御懇篤ナル御教示ト御核閱ノ勞ヲ賜ハリシ恩師泉先生ニ深ク感謝ス。

主要文獻

- 1) Bell, R. D., and Doisy, E. A., Rapid Colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. J. Biol. Chem., 1920, Vol. 44, 55.
- 2) Briggs, A. P., A modification of the Bell-Doisy phosphate methode. J. Biol. Chem. 1922, Vol. 53, 53, 13.
- 3) Horsley, J. S., and Horsley, G. W., Continuous intravenous injection of dextrose in Ringer solution, its technick and indication. Arch. Surg. 22:87, Jan. 1931.
- 4) Hendon, G. A., Venoclysis. Journ. of Amer med. Assoc. 195:1175, (oct. 18), 1930.
- 5) Hendon, G. A., Experience with Venoclysis. Amm. Surg. 91:753, (may). 1930.
- 6) 小金井良一, 生化學的微量定量法. 大正13年7月, 第1版.
- 7) Kramer, B. and Tisdall, F. F., The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium, and magne sium in small amount of blood. Journ. of biol. chem. 1921, 48, 223.
- 8) 大野あき子, 實驗的佝僂病家兎ニ於ケル血清中ノ及無機燐量ニ就イテ. 児科雑誌, 第343號.
- 9) Selig, A., Über d. Wirkung d. Ringer u. Kochsalzlösung infusion auf d. Kreislauf. Zeitschrift. f. Exp Pathol. u. Thrap. 9, 417, 1911.
- 10) 佐野保, 児科領域ニ於ケル「ベノクリージス」ノ應用. 「東西醫學」第3週年記念号, 「臨床最新知識」第2輯.
- 11) 高畠哲五郎, 生物化學分析, 昭和2年5月.
- 12) 梅田, 塚, 「ベノクリージス」ニ關スル實驗的研究. 第1報, 十全會雜誌, 40, 3, 811, 昭和10年.
- 13) 梅田助松, 同上, 第2報, 十全會雜誌, 40, 12, 4760, 昭和10年.
- 14) 山田義孝, 「ベノクリージス」ノ研究. 第5報, 「リングル」氏液及葡萄糖加「リングル」氏液注入ニ因ル家兎赤血球, 血色素量及白血球ノ數の變動ニ就イテ. 十全會雜誌, 41, 11, 3146, 昭和11年.
- 15) 横井, 山田, 「ベノクリージス」ノ研究. 第3報, 「リングル」氏液其他二三溶液ヲ注入スル際ニ於ケル家兎血液濃度ノ變化ニ就イテ. 十全會雜誌, 40, 21, 4772, 昭和10年.
- 16) 横井秀雄, 「ベノクリージス」ノ研究. 第4報, 「プラニーメーター」ニヨル家兎赤血球ノ面積移動ノ觀察. 十全會雜誌, 41, 7, 2071, 昭和11年.
- 17) 同人, 「ベノクリージス」ノ研究. 第6報, 家兎血小板數及血液凝固時間ノ變動及注入時ニ於ケル家兎體溫ニ就イテ. 十全會雜誌, 41, 12, 3391, 昭和11年.