

肺水分量の変動を中心とした急性肺水腫の 実験的研究

〔第 1 篇〕 肺水分量測定法について

京都大学結核研究所外科療法部（主任 教授 長石忠三）

岩 田 明

（受付 昭和33年11月 5 日）

【目 次】

緒 言

第 1 章 肺水分量測定法に関する文献的考察

第 2 章 肺水分量の測定方法

第 1 節 従来行われている方法、及びこれに対する著者の見解

第 2 節 著者の考案した方法（放射性同位元素 燐 P^{32} を使用せる方法）

第 1 項 実 験 材 料

第 2 項 基 礎 実 験

第 3 項 実 験 方 法

第 4 項 肺水分量の測定方法

第 3 章 本篇綜括並びに結論

緒 言

肺水腫は1752年に Maloet⁴⁷⁾ が心疾患と関連して最初に記載して以来、多数の学者により心疾患及び肺疾患等と関連して、その臨床的並びに病理学的研究がなされている。そして19世紀初に至り Laennec, Corvisart, Testa, Kreysing, Bruns, Stokes 及び Hope 等⁴⁸⁾により、一つの独立した疾患として認められるにいたつた。

その後、Adams²⁾, Aranjó⁵⁾, Gilligan²²⁾, Hickman²⁸⁾, Hilden²⁹⁾, Halmágyi³¹⁾, Paine⁵²⁾, Zamcheck⁷⁹⁾ 及び Zsótér⁸⁰⁾ 等により、「左心室が衰弱するか、或いは障害を起しており、そして右心室が健常であると、左右両心室の不均衡が生じ、その結果、肺毛細管圧の上昇を來たし、それが原因となつて肺血管からする血液成分の漏出を來たし、その結果、肺水腫の発生を

見る。」という所謂左心性後方障害説がその成因としてのべられてきた。

しかし、周知のようにこの後方障害説をめぐる旺んに論争が行われ、Altschule¹⁾⁷⁾, Beattie¹⁰⁾, Benson¹¹⁾, Drinker¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾, Hilden²⁹⁾, Haddy³⁰⁾, Richter⁵⁴⁾, Robin⁵⁵⁾, Sarnoff⁶¹⁾, Sanborn⁶³⁾, 及び Warren⁷¹⁾ 等は、肺水腫の成因に関する多くの説を呈出している。

今、ちなみに Altschule⁷⁾ のあげた成因を見てみると第 1 表の通りである。

しかし、これも肺水腫の発生条件と考えられ

第 1 表：肺水腫の成因に関与する因子
(Altschule)

I) 濾 出 増 加

A. 肺毛細管圧上昇

1. 心不全・僧帽弁疾患
2. 肺静脈収縮
 - a. 神 經 性
 - b. ヒスタミン?

B. 肺内滯過域の増加

1. 血 液 量 増 加
2. 血液分布の変化
 - a. 末梢血管収縮

C. 肺血流量増加

D. 血漿蛋白の減少

E. 肺毛細管透過性の亢進

1. 酸 素 欠 乏
2. ヒスタミン?
3. 毒 素

F. 気 管 支 痙 攣

II) 再吸収の減少

A. リンパ機能の障害

1. 体循環における静脈圧の上昇
2. リンパ管系の炎症性血栓症

III) 全細胞外液量の増加

る条件を列挙しているにとどまっているようであり、今尚、肺水腫に関する確固たる成因をあげ得ないのである。

これは肺水腫の成因の複雑性を物語るものではあるが、一面、肺水腫の実験的研究が確実な方法によつて行われていなかつたためでもある。

例えば、その代表的なものの一つとして肺水分量の測定があげられる。

即ち、現在まで種々な条件の下における肺組織の水分量の変動を観察し、これを肺水腫発生の一つの示標とする方法が一般に行われてきた。しかし、従来まで用いられて来た肺水分量測定法には多くの欠点が認められ、そのために、その得られた結果からする考え方、ひいては肺水腫の成因に対する考え方に多くの誤ちを与えたようである。そして、現在では肺水分量を肺水腫発生の示標として採用しえないとまで極言する研究者すら存するのである。

しかし、肺水腫の発来時には肺水分量の増加を来たすことは明白であるから、この測定方法を改善した場合には、非常に正確な実験方法となし得ることは明らかである。

そこで著者は、この点に着目して、放射性同位元素燐 P^{32} を用いる方法を考案し、併せて本法を用いて実験的肺水腫についてその成因を検討したのでこゝに報告する次第である。

本篇はその内、肺水分量の測定方法について論述する。

第1章 肺水分量測定法に関する文献的考察

肺水腫の実験的検討に当り、その発現の有無、程度を知る方法として、病理組織学的検索、肺の剖面による所見、細胞外液相量の測定、血清蛋白殊にアルブミンの測定、及び、肺循環系ことに肺毛細管圧（肺楔状圧）の測定等が用いられているが、病理組織学的所見、肺の剖面の肉眼的所見等は別として、他の殆んどが肺水腫の発現の有無或いはその程度と必ずしもその所見が平行するものではないようである。

又、第2表に示すような Jordan³⁶⁾ の用いた肺の剖面の肉眼的所見による分類も、著者の経

第2表：肺水腫の病理学的分類 (Jordan-DeLaney)

- 0度：鬱血及び間隙への液の漏出なきもの
- C度：肺の色が濃桃色乃至赤色に変わることにより示される鬱血を認め液の漏出なきもの
- 1度：気管枝には液を認めず、軽く圧することにより肺の剖面に液の圧出を見るもの
- 2度：肺剖面からの液の圧出を認め、弱圧により第2次気管枝から泡沫性の液の圧出の見られるもの
- 3度：肺を圧することなく主気管支への泡沫性の液の流出を見るもの
- 4度：肺を圧することなく気管へ多量の泡沫性の液の流出あるもの

験からすると、肺の剔出法や剖面の作り方によつて、或いは実験するものの主観によつて、ある程度の差異を生じてくるようであり、客観的な見方が不充分である欠点があるように思われる。

理論的に考えると、肺血管からする血液成分の漏出が漏出液の吸収排除を上まわつたときに肺水腫の発来を見るのであり、肺水腫の発生時には、肺胸腔を含めての肺組織内の水分量の増加を来たすことは明らかであり、肺水腫発来の示標として、諸家が肺水分量測定をもつてすることは当然であるといえよう。

結局は、肺水腫が肺の浮腫であり肺の水分量に変動を来たし、その結果として、呼吸困難より始つて血性泡沫性喀痰を排出するに至る種々の臨床症状を呈して来る疾患であるならば、其の実験的検索に当つてその水分量を測定することは重要であり、大きく採り上げられるべき方法であると考えるのである。

そこで今、本測定法に関する諸家の業績をながめてみよう。

体組織の水分量に関しては、Engels¹⁸⁾ (1904) 及び Scott⁵⁶⁾ (1917) などの記載があり、その変動についても種々の観察がなされている。又 Skelton⁵⁷⁾ (1927) は出血及び輸液後の各種臓器における水分量の変動について記載しているが、その中に肺水分量の変動に関する報告がみられる。

以来、肺水腫の実験的研究に関連した肺水分量測定について、諸家により多くの記載がなさ

れており、その方法についても種々の報告がある。これ等の方法には、それぞれ一長一短があるが、大体、次のように大別しうるようである。

先づ第一に実験資料の採取方法についてみると、

1. 肺内血液を除去する方法

即ち、肺の一部分を切除して、その剖面から約1分間、血液を滴下させ、その後、肺を秤量し乾燥する方法。(Eaton¹⁹⁾²⁰⁾、綿貫等⁷⁶⁾)

2. 全身的に脱血をはかり、これにより肺内血液を除去する方法。

即ち、今その代表的な例として Richter⁵⁴⁾ の大黒ネズミを用いた ANTU-肺水腫の実験を見てみると次のようである。即ち、まず腹腔を開き予め下大静脈を経て「ヘパリン」を注入し血液の凝固を防いだ後、これを切断して脱血し、出血がやんだ後、更に腹部大動脈をも切断して、これからも充分に脱血を行う。この場合、これら大動静脈よりの出血が殆んどなくなるまで脱血しても、大多数の場合、死亡することはないと Richter はのべている。この脱血操作の後、直ちに開胸して肺門部において結紮切除してこれを秤量するのである。

これら二つの方法は、いずれも肺内血液の水分量の変動を考慮に入れて、この影響を除く目的のもとに行われた方法である。

3. 脱血を行わない方法

即ち、開胸後、直ちに肺門部で結紮して肺を剔出(家兎のような小動物のとき)、或いは一部分を切除(犬などの比較的大きな動物のとき)して、これを血液を除去することなくそのまま秤量し乾燥する方法。

の三つに大別しうるようである。

肺水分量の測定に最も大きな誤差を与えるものは以上のべた三つの方法でも判かるように、肺の血液及びその水分の除去法如何によるのであるが、これについては更に後にのべることにする。

又、肺切除を行う場合、何らかの方法によつて屠殺してから後、切除操作を行うものもあり、或いは生きたまゝで開胸して肺剔出を行うものもあるが、実験的肺水腫についての肺水分

量測定のためには、多くの場合、一定時間の経過後にペントバルビタールソーダ等の静脈内注射により屠殺してから、その後、肺を剔出する方法がとられるようである。しかし、この方法は余り適当とは思われない。これらについても後述する。

第二に、採取した肺の乾燥方法についてみると、

1) 102°C~104°C の乾熱器の中で24~36時間乾燥する方法。(Skelton⁵⁷⁾)

2) 60°C の乾燥器にて46時間放置した後、更に無水塩化カルシウムを入れた乾燥器の中で24時間乾燥する方法。(Eaton¹⁹⁾²⁰⁾)

3) 圧縮空気のもとで乾燥する方法。(Joffe³⁷⁾)

4) 95°C~105°C にて48時間乾燥する方法。(Wood and Moe⁷³⁾)

5) 97°C±1°C を保持出来る乾燥器の中で16時間加熱する方法。(Mendenhall, Ramorino 等⁴⁸⁾)

6) 出来るだけ真空に近い状態で16時間保つ方法。

7) Karl Fisher³⁸⁾ の試薬を用いてする方法。(Karl Fisher の滴定法)

8) 60°C の乾燥器で48時間、更に 120°C の乾熱器にて4時間放置して乾燥する方法。(矢野⁷⁷⁾) 等の方法が用いられているが、Mendenhall⁴⁸⁾ 及び Skelton⁵⁷⁾ 等は、この中の二・三の方法を比較したところ、殆んど有意の差は認められず、誤差の限界は0.3%、殆んど0.1~0.2% 以内であつたと述べている。そして亦、「重量が一定になるまで乾燥することが必要である。」といっているが、以上の何れの方法をとるにしても乾燥方法の要点はこの一言に尽き、これを厳守する限り乾燥方法による誤差は大きくないようである。

又、これとは別に、肺水分量の増減を示すのに肺重量と体重との割合をもつてしているもの(Richter⁵⁴⁾) もあることを附言しておく。

第2章 肺水分量の測定方法

第1節 従来行われている方法及び、これに対する著者の見解

肺水分量の測定に当り、Skelton⁵⁷⁾以来、諸種の方法が用いられていることは前述のごとくである。

即ち、その途中の操作は区々であるとしても、一定条件を負荷して後、一定時間（多くの場合、48時間）放置し、その後に薬物により屠殺し、開胸して肺を剔出する。そして、これを乾燥し、乾燥前後の重量比から水分量を計算しているのが一般に用いられる方法である。

今、これらに対する著者の見解を述べてみよう。

先づ、実験資料（即ち肺臓）の採取法について述べる。

第一に考えねばならないことは急性肺水腫は臨床的にみて時々刻々にその症状が変化を来すものであることである。

実験的にこれを見ても、同僚横山⁷⁸⁾の研究によると、肺血管よりする血液成分の漏出、及び漏出液の吸収は実験的な諸条件を負荷した後の時間的経過によつて著しく異つており、しかも肺水腫の準備状態においては、血液成分の漏出、及び吸収は可逆性の関係にあり、条件の負荷を中止すると速やかに血管からの漏出は減退し、吸収が盛んとなるのである。これらの事実から考えると、肺水腫の準備状態、さらに発生時に於ける肺水分量は時間的な経過と共に変動し、さらに負荷を中止すれば肺水分量は大きく変動するものと考えられる。

それであるから、従来の方法のように負荷終了後、一定時間、負荷を中止した状態に置いてから肺を剔出し、この変化をもつて負荷条件と肺水腫の発来因子との関係を検討することは誤りであることは明らかである。前述のような実験結果からみても当然、負荷終了直後の値をもつて検討すべきものであると考えるのである。

次に、実験資料の採取時、即ち肺臓の切除時に予め実験動物を屠殺することについても疑問がある。どのような方法によつても屠殺により体循環並びに肺循環に変動を来たすことは容易に考えられることであり、Altschule⁷⁹⁾、Cassen¹⁴⁾、Drinker¹⁷⁾、Hickman²⁸⁾、Hilden²⁹⁾、John, Paine⁵²⁾及びSarnoff⁶¹⁾等の報告にもあ

るように、肺水腫が血液動態に相当の影響を受けることが認められている以上、その屠殺法がどのようなものであるにしても、実験資料の採取前に屠殺すべきではないと思う。

予め屠殺をすることにより、必ずしも肺水分量の増加、即ち肺水腫の程度が増強されはしないとしても、その真の変化を把握することは出来ないと考えられる。

次に、肺内血液の除去方法如何が肺水分量の測定法の正確さに大きく影響することは前述した通りであるが、こゝにこの方法を論じてみよう。

まず、肺の一部分を切除し、その剖面から血液を滴下させる Eaton¹⁹⁾²⁰⁾等の方法であるが、血液の水分量の変動が肺水分量に誤りを与えることに着目し、肺内血液を除外しようとする目的は正しいとしても、この操作により血液を完全に除去し得るものでもないし、又、血液のみを除去し得るものでもない。血液と共に血管外への漏出液も同時に游出せしめ、求める肺水分量に変化を来させしめることは容易に想像出来ることであり、適当な操作とはいえないであろう。

次に、前述したように Richter⁵⁴⁾が ANTU 肺水腫の実験に採用した脱血後に肺を剔出する方法についてである。この方法で最も疑問と考えられる点は、脱血という大きな操作が肺水分量にどの程度影響するかということである。

今、Eaton¹⁹⁾²⁰⁾が行なつた犬における出血時の肺水分量の変動を見てみると、肺水分量は出血によつて増加を来たしており、又、著者が案出した放射性同位元素磷 P^{32} を使用する方法を採用して測定した結果では、第2篇にのべるように、Eaton とは逆に減少を認めている。いずれが正しいかは後に論ずるとして、このように出血が肺水分量に相当の変化を与えることは事実である。それであるから、ANTU 肺水腫やアドレナリン肺水腫のように著明な肺水分量の増加を来たし、出血による影響がある程度無視し得る場合は別として、我々の研究対象である肺外科領域における肺水腫の研究には、まづ採用し得ないようである。

第3表：肺水分量測定値
(大黒ネズミ使用の Richter の方法)

負 荷 条 件		肺 水 分 量
正 常 値		78.19(%)
生理的食塩水 輸 液	100 cc/kg	82.58
	80 cc/kg	80.09
	70 cc/kg	80.04
	50 cc/kg	79.23
アドレナリン 静脈内注入	1.0 mg/kg	88.47
	0.5 mg/kg	84.99
	0.3 mg/kg	79.73
生理的食塩水 50 cc/kg アドレナリン 1.0 mg/kg 混注		89.33
生理的食塩水 30 cc/kg アドレナリン 1.0 mg/kg 混注		87.75
生理的食塩水 30 cc/kg アドレナリン 0.4 mg/kg 混注		85.41

尚、著者もこの操作のもとに肺水分量の測定を行い、大黒ネズミを用いてアドレナリン肺水腫を招来せしめて観察し、第3表のような成績を得た。この成績からみると、相当に高度な肺水分量の増加を来すアドレナリン肺水腫には、充分採用し得るようである。従つて、ある種類の実験的肺水腫の研究には採用し得る方法であることを附言しておく。

次に、以上のような操作をすることなく、即ち、負荷終了直後に実験動物を生存せしめたまま、補助呼吸のもとで開胸し、脱血操作を行わないで直ちに肺門部で結紮して肺を剔出し、或いは肺の一部を切除し、これを剖面よりの血液の滴下などの操作を行うことなしにそのまま秤量し、乾燥することにより求められた肺水分量の値が、負荷された条件と肺水腫の発来因子との関係を示すのに最も適したものであるかどうかである。

このようにして得た剔出肺の乾燥前後の重量比から求めた肺水分量を以つて、そのまま示標とするのには大きい疑問があるようである。例えば、出血及び輸血・輸液等のように、単に血行力学的動態に変化を与えるだけではなく、直接に血液中の水分量に変化を招くような条件を負荷するときには、肺内血液の水分量にも、当然、増減が認められる筈である。これを考慮に入れないならば、肺内血液量の増減或いは血液

水分量の変動等が肺水分量の変動として誤つて表わされる危険性が大きい。

要するに肺内血液量或いは血液水分量をどのように考慮し、どのようにこの影響を除去するかが肺水分量の測定法の最も大きい眼目であり、従来の方法はこの点に大きい欠点をもつようである。

次に資料の乾燥方法についてであるが、前述のように諸家により種々の方法が用いられており、その各々には一長一短があるが、重量が一定になるまで乾燥することがもつとも大切であり、これを守るかぎり、何れの方法によつても、Cook¹³⁾、Mendenhall⁴⁸⁾ 或いは Skelton⁵⁷⁾ 等の比較検討のように、有意の差は認められないようである。要するに、簡単で且つ完全に水分を除去し得る方法を探るべきであろう。

第2節 著者の考案せる方法（放射性同位元素磷 P³² を使用せる方法）

肺水分量を測定するのに際し、従来用いられて来た方法は、前述のように、すべてその時の肺内血液の水分量に考慮を払われていたものではなく、又、それを考慮に入れて試みられたと思われる方法も見受けられはするが、何れも満足すべきものではなく、その操作をすることにより反つて誤りを招く懸念のあるものであつた。

そこで著者は、循環血液量を測定するために放射性同位元素が用いられているのに着目し、これにより肺内血液量を測定し、体循環血液中の水分量を併せ考えることにより、これを除外して、計算上、肺胞腔を含む肺組織のみの水分量を測定する方法を試みたのである。この方法を用いるに当つては、体循環系の血液の水分量と肺内血液の水分量とが全く等しいものであることを前提にしなければならないのは勿論である。

このようにして求めた肺水分量が、従来行われて来た測定方法に比して、肺水腫或いはその準備状態の程度を知る上において、理論上、そして実験的観察即ち、病理組織学的所見等と比較検討した結果からしても、より適当なものであり、優れた方法と考えるものである。

第1項 実験材料

人工放射性同位元素をもつてする循環血液量の測定には、従来、標識血漿 (I^{131} 標識アルブミン) による方法 (Aust⁴⁾, Crispell¹²⁾) と標識赤血球による方法とがあるが、標識血漿を用いるものは、その作成操作が繁雑であるために余り用いられていない。又、標識赤血球によるものには、放射性鉄 (Fe^{55} , Fe^{59}) を用いる方法 (Hahn²⁴⁾²⁵⁾) が採られていたが、Hevesy 及び Zerahn 等²⁶⁾²⁷⁾ が試験管内で放射性同位元素 P^{32} をもつて赤血球を標識する方法を案出して以来、専らこの放射性同位元素 P^{32} が用いられるようになった。

著者も、実験の性質から考えて、標識血漿を用いる方法よりも放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球を用いる方法の方がより適当であると考え、この方法を用い、放射性同位元素 P^{32} の塩酸中の真性磷酸塩を使用した。

又、使用動物はすべて、性に関係なく、体重 2~3 kg の健常家兎を使用した。

第2項 基礎実験

放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球を用いる肺水分量の測定法において、最も大切なことはこの血球以外の液 (血球を洗滌した後にも猶残存せる血漿と、洗滌に用いた生理的食塩水) の中にある放射性同位元素 P^{32} の量を可及的に少なくすること、及び放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球が全循環血液中に均等になり、しかも放射性同位元素 P^{32} の組織への沈着が未だ認められない時に検体を採取することなどである。もし、血球外の液に相当量の放射性同位元素 P^{32} が存するならば、血液成分の漏出により招来される肺水腫の実験には用をなさない訳である。又、血中に注入した放射性同位元素 P^{32} が肺組織に沈着したならば、計算上の誤差を伴つて生じてくることは当然である。

放射性同位元素 P^{32} を赤血球に附着させること、即ち、放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球の作成法については、予め放射性同位元素 P^{32} 含有液を容れた容器に「ヘパリン」(或いは10%クエン酸ソーダ)を加えた注射器で採取

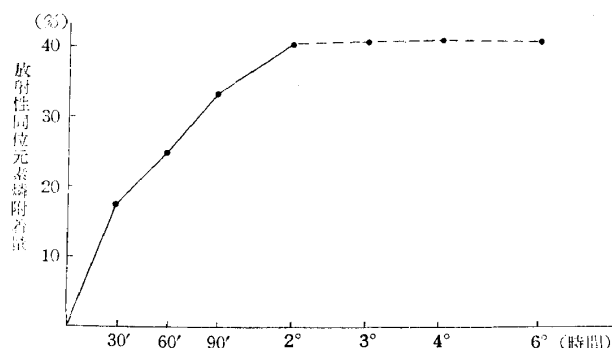
した実験動物の自家血液約 5 cc を移し、これを 37°C の孵卵器内で標識するのである。

この標識操作には、浜田³²⁾によれば

1. 37°C, 2時間, 20分毎に軽く振盪する方法。(Hevesy, Zerahn²⁶⁾²⁷⁾ の原法)
2. 2時間, 振盪器にて 37°C の孵卵器中で連続振盪する方法。
3. 振盪30分, 放置30分の操作を 37°C の孵卵器中で2回反復する方法。

の三種類の方法があり、その内、(3)の方法即ち、間歇振盪法が最もすぐれているとのことである。

第4表: 37°C に於ける赤血球の P^{32} 摂取率(浜田³²⁾)

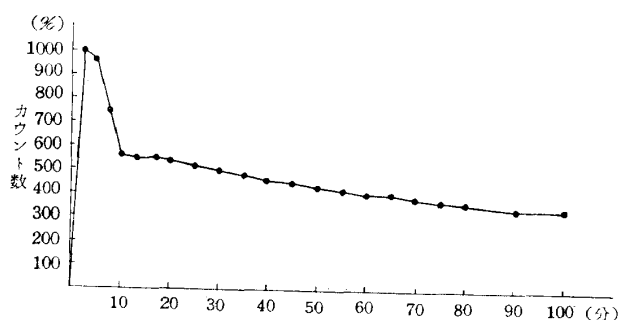


しかし、第4表から見てもわかるように、37°C にて2時間置くことにより標識は出来るものであり、その方法の何れを採るのがよいかということは、最初に用いた放射性同位元素 P^{32} が赤血球に附着する量の上に相異が生ずるためにいうのである。著者の実験においては、赤血球を標識する方法よりも、むしろ血球以外の液成分中に残る放射性同位元素 P^{32} の量の方が重要であり、それ故、後に述べるように洗滌法の方に注意を払わねばならないように思われる。

次に、放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球を血中に注入した後、肺及び血液を採取する時期が問題となるが、著者は、これを決定するために放射性同位元素 P^{32} の血中での減衰過程を検べた。即ち、一側の股静脈より放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球を注入し、他側の股動脈或いは頸動脈に直接、ガイガーミューラー計数管をあてて血中放射能を検べた結果、第5表のごとき減衰曲線が得られた。

即ち、カウント数は、注入後、きわめて短時

第5表：正常時の血中放射能減衰曲線



間内に最高値に達し、以後急激に下降し、次いで一定値を示した後、次第にゆつくり下降する。急激な下降の後の一定値を示す時期に肺及び血液を採取すべきであるから、注入後10～15分に採取するのが適当と思われる。この時期には全循環血液中に標識赤血球が行き亘っており、しかも、組織への沈着が見られないのであるが、これに次いで見られる緩徐なる下降は明らかに、尿中への排出及び各種臓器組織への沈着によるものである。

又、各種臓器組織への放射性同位元素 P^{32} の沈着は、主に肝、筋、骨髓であるが、尿中への排泄も相当量にみとめられるようである。しかし、肺水分量測定のために注入された放射性同位元素 P^{32} は、著者の方法による場合には、尿中への排泄は全く問題にならないのであり、組織への沈着が支障を来すのである。

そこで、著者は赤血球を放射性同位元素 P^{32} で標識した後、洗滌を繰り返して行なったものと不十分に行なったものの両者を用いて、これの注入後1時間の両者の肺内血液量を求めてみたところ、第6表に示すごとく、不充

第6表：標識赤血球の洗滌程度により招来される肺内血液量の算定上の誤差 (無負荷時)

	肺内血液量 (肺に対する重 量%にて示す)
洗滌充分なとき	45 ～ 55
洗滌不十分なとき	140
	115
	95
	134
	65

分に洗滌を行なったものによる方が肺内血液量が多い結果を示したのである。しかしこの両者の差は肺内血液量の差を示しているものではなく、放射性同位元素 P^{32} の肺組織への沈着がこのような誤差を生ぜしめたのであり、この結果から見ても、前に述べたように放射性同位元素 P^{32} を赤血球に附着させる操作の後、これを十分に反覆洗滌して(著者は4回行なっている。)赤血球に附着した以外の放射性同位元素 P^{32} を出来るだけ除去すべきであると考えられるのである。

第3項 実験方法

1. 先づ、放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球を作るのであるが、標識操作には Hevesy, Zerahn の方法の変法を用いた。

即ち、予め 30～50 μc の放射性同位元素 P^{32} の含有液(生理的食塩水溶液)を入れた容器に、「ヘパリン」を加えた注射器で採取した実験動物の自家血液約 5 cc を移し、これを 37°C の孵卵器内に置き、5～10分毎に軽く振盪する操作を2時間続けた後、遠心沈澱(2000～3000/分、20分間)し、上清を除去し、この上清と略々等量の生理的食塩水を加えて赤血球を洗滌し、これを4回反覆して標識赤血球を作成し終える。

2. 次いで一定の負荷条件を実験動物に負荷し、負荷終了の10～15分前に放射性同位元素 P^{32} 標識赤血球を静脈内に注入する。

3. 負荷終了後、直ちに末梢動脈より約 5cc の血液を凝血を防止して採取し、同時に補助呼吸の下で開胸、肺門部で結紮して肺を剔出する。

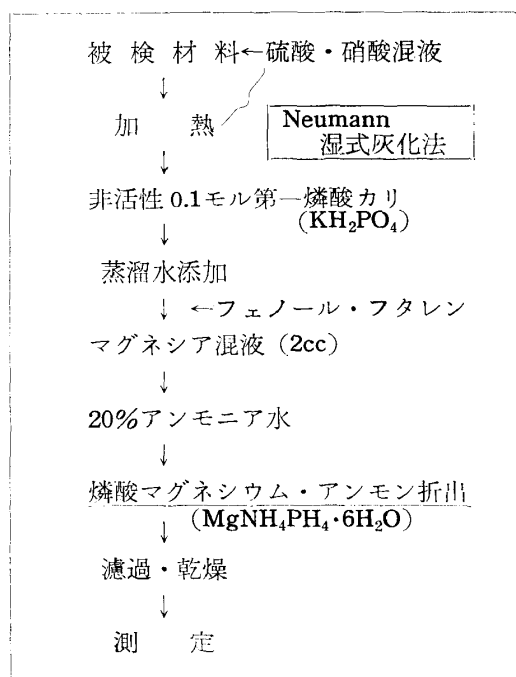
この際、著者の観察においても同様の結果を得たが、矢野⁷⁾は左右の各肺の肺水分量には多少の差異が認められるといっており、又、肺水腫が全肺葉の全体に亘り一様に招来されるものではない点とを併せ考えて、左右肺の何れか一方を決め、一側肺全葉を剔出して用いるべきである。

4. 次に、採取した血液と、剔出した肺の各々を、既知の重量のシャーレに入れて秤量した

後、70~80°C の乾燥器に入れて48時間乾燥し、乾燥後の両者の重量を測定する。この著者の用いた乾燥法は、他の方法に比して最も簡単なものであるが、この操作後の重量を、更に96時間乾燥した後の重量と比較した結果、全く差異が認められず、70~80°C で48時間以上の乾燥をすることは全く無意味であるのみでなく、乾燥時間の延長により資料中の放射能の減少を来すことになるのである。

5. このようにして得た肺及び血液の乾燥物の放射能を測定するのであるが、これの測定法は、菊池教授等³⁹⁾による「生物学的試料中の放射性燐の測定法」を用いた。

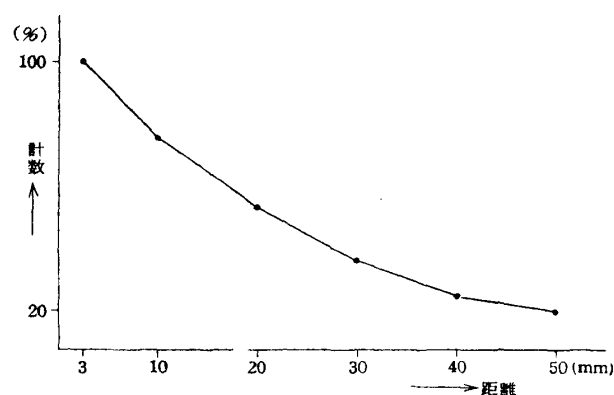
第7表：生物学的試料中の放射性燐の測定法



即ち、第7表のように、濃硫酸と濃硝酸を等容量に混合した所謂硫酸硝酸混液を加えつゝ加熱し、液が透明になり、更に加熱を続けることにより黒変しなくなるまで操作を行う Neumann の湿式灰化法により完全に灰化し、次に非活性

0.1モル第一燐酸カリの一定量*を加え、更にマグネシア混液**を加え、これをフェノールフタレンを指示薬として20%アンモニア水にて中和して燐酸マグネシウム・アンモンの沈澱を生ぜしめる。この沈澱が完全に析出し終つてから濾過して乾燥し、ガイガー計数器にてカウント数を測定する。この際、GM管と試料との距離の計数との関係は第8表のごとくであるので、出来るだけ距離を小さくするのがよい。

第8表：GM管と試料との距離と計数の関係(菊池³⁹⁾)



この方法によると、燐化合物のみを分離して乾燥状態で測定するのであるから、水や燐酸塩以外の塩類によるβ線の吸収を除くことが出来、測定の効率が良いのである。

第4項 肺水分量の測定方法

以上の操作により、乾燥前後の肺及び血液の重量と、その各々のカウント数が求められるが、前述のように、肺内血液の水分量と末梢循環血液の水分量とが同じであること、及び放射性同位元素燐 P^{32} 標識赤血球が循環血液中に一樣に行き回り、又肺組織への放射性同位元素燐 P^{32} の沈着がないことを前提条件として、これらの間に第9表のごとき関係が得られる。

即ち、肺内血液量と肺内血液固形物質量を求め、この値を剔出肺の乾燥前後の値から減じ、

* 試料中に初めから存在する燐をキャリアの KH_2PO_4 に換算した量との和が 21.48 mg/cm^3 を超えないようにすることが望ましい。これは、自己吸収を無視出来るようにするためである。

** マグネシア混液の作り方(石橋)

結晶塩化マグネシウム 50gr と塩化アンモニウム 100gr を溶かし、数滴のフェノールフタレン溶液を指示薬として加えた後、溶液が明瞭に赤色を呈するまで濃アンモニアを加える。2~3日放置した後、溶液を濾過し、濾液にフェノール・フタレンが脱色するまで稀塩酸を加える。溶液を1/に稀釈し溶液のPHを5~6に調整する。この目的のためにはp-ニトロフェノール(0.2水溶液)数滴を指示薬として加え、溶液が淡黄色を示す程度とすればよいのである。

肺内血液を計算上で除外した肺の水分量を求めるのである。

第3章 本篇総括並びに結論

肺水腫の実験的研究に当り、その指標の一つとして従来より行われて来た肺水分量測定には、その方法に、適当でないと思われる点があり、このためにその実験結果に信用がおけず、そのため一部の学者は本法を全く考慮に入っていないようである。

しかし、水腫肺の水分量は理論的に考えて増加するのは当然であり、本測定法の欠点を改良すれば、すぐれた指標になり得ることは明らかである。そこで著者は、この改良を企て、まづ文献的にその欠点をしらべたが、これを要約すれば次の通りである。

1. もつとも大きい欠点として取り上げるべきものに肺内血液量及び肺内血液の水分量の変動を考慮に入っていないか、或いはこれらの変動に対する処置が不完全であることが挙げられる。

2. 次に、その他の欠点としてあげられるものに、実験動物の屠殺法がある。即ち、従来まではその大多数において、資料の採取前に動物を屠殺しているが、これは不可である。

3. 資料の乾燥法には、その方法の種類によつて差異を認めない。

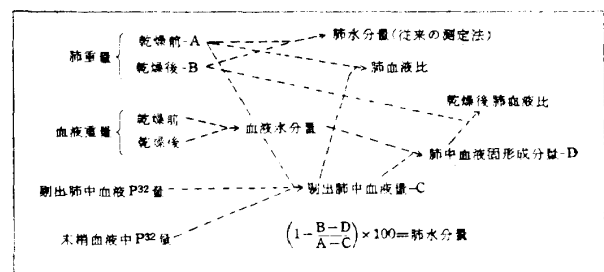
以上の内でもつとも大きい欠点は、1. の肺内血液の処理法であることより、著者は放射性同位元素燐 P^{32} を用いる方法を案出し、この欠点を除き得たが、その方法を要約すれば、次の通りである。

1. 実験動物に負荷条件を負荷し、負荷終了前10～15分に、放射性同位元素燐 P^{32} 標識赤血球を静脈内に注入し、負荷終了直後、補助呼吸の下で開胸して、採血をすると同時に一側肺を剔出する。即ち、動物を屠殺しないで、資料採取時には出来得る限り生理的な状態に動物をおいておくようにするのである。

2. 資料（肺及び血液）の乾燥法は、70～80℃C, 48時間法を用いた。

3. 以上の操作により、剔出肺及び採取血液の乾燥前後の重量、並びにその両者のカウント数を測定し、第9表のごとくにして肺内血液量

第9表：放射性同位元素燐 P^{32} 使用による肺水分量測定法



を計算上で除外し、肺内血液を除いた肺水分量を求めるのである。

以上の方法を従来より行われて来た測定方法と比較するとき、即ち、病理組織学的所見等と照合してみると、はるかに優つており、この方法により求めた肺水分量が、従来よりもまして、肺水腫の実験的検討をする際に、すぐれた指標の一つとしうるように思われるが、これについては第2篇に詳述する。

(文献はまとめて第2篇の末尾に掲載する。)