

剔出肺臓の灌流実験による肺臓脂質代謝機能に関する研究

京都大学医学部外科学教室第2講座 (青柳安誠教授 指導)

大学院学生 仲 田 清 尙

EXPERIMENTAL STUDIES ON FAT METABOLISM IN THE LUNG

by

KIYOHISA NAKATA

From the 2nd Surgical Division of the Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. Yasumasa Aoyagi)

The purpose of this experiment is to determine whether the lung is able to dispose of fat.

Employing the resected lung and heart from both rabbits and cats, I injected a fat emulsion mixed with Ringer-Locke's solution into the pulmonary artery and measured the levels of lipase, total fatty acid, neutral fat, free fatty acid and lipid in the circulating fluid in the pulmonary vein and compared these values with those obtained by using infused fat emulsion and Ringer-Locke's solution separately.

The fat emulsion used, which can be infused intravenously, was produced by Dr. YORINORI HIKASA in our clinic and contains 15% cod liver oil. Theratio of the lipids contained was as follows : 85.5% neutral fat, 7.9% free fatty acid, 6.4% lecithin and 0.2% other lipids.

For the purpose of doing these experiments, I used a modification of FUJITA's apparatus.

The experimental results are as follows :

1. The lipase contained in the circulating fluid increased markedly. This increase is not based on the release of lipase contained naturally in the lung itself, because the level of the lipase contained in the resected lung infused with fat emulsion and that contained in the lung infused with Locke's solution alone were much the same. This fact indicates that lipase production in the lung is stimulated by the infusion of fat emulsion.

2. The total fatty acid decreased markedly in the circulating fluid although it did not increase very much in the lung.

3. The changes of the ratios of the lipids contained in the circulating fluid was as follows :

	Material	Neutral fat (mg %)	Free fatty acid (mg %)	Lipoid (mg %)
Rabbit	Infused fat solution	594.7	56.3	45.6
	Circulating fluid	250.2	111.1	78.9
	(+) (-)	-344.5	+ 54.8	+ 33.9
Cat	Infused fat solution	596.3	55.7	43.9
	Circulating fluid	49.1	194.8	117.3
	(+) (-)	-547.2	+139.1	+73.4

From these results (2 and 3), it would seem that the intravenously administered fat globules are taken, at first, fully by the so-called pulmonary alveolar phagocytes, and then the neutral fat is changed continuously and gradually into lipoid by the lipase produced in these cells, and then this lipoid is released into the blood again.

4. It is very interesting that such a process of producing lipase or changing neutral fat into fatty acids or making it into lipoid in the lung of the cat, which is carnivorus, occurred more strongly and smoothly than in that of the rabbit, which is granivorus.

5. Methionine expedited this activity in the lung, but the simultaneous use of methionine and vitamin B₁₂ facilitated this process more smoothly than the use of methionine only. Even in the lung of the rabbit, pulmonary organofat was not stored up, only when both drugs were simultaneously administered.

6. From the above results, we can affirm that the lung has an ability to dispose of fat and this ability is facilitated by the simultaneous administration of methionine and vitamin B₁₂.

緒 言

肺臓が胸管リンパの最初に流入する実質臓器であり、それがいわば門脈血の最初に流入する実質臓器である肝臓に相当するという生理学的並に解剖学的相似関係から、肺臓自身も脂質代謝と大きな関係を有するものであらうと推測して、従来から多くの人々がこれが解明に幾多の努力を払つて来た。而して肺臓には酵素作用に基く脂質、就中リポイドの分解乃至破壊作用があるともいわれ (Roger et Binet, Müller, Leites, 中村, 片山)。あるいはコレステリンエステル、リポイド磷の合成機能がある (林) ともいわれて、生化学的には未だ意見の一致をみず、また他方組織学的にも肺臓の脂質代謝機能に言及した報告が2~3ある (矢崎, 江崎, 木村, 近藤) にはあるが、何れも脂肪栓塞発生下に於ける実験成績であるために、その結果を以て直ちに生理的条件下の肺臓機能と見做すことは出来ないのである。

然るに教室の麻田は脂肪栓塞発生の恐れなく、安全に静脈内へも注入し得る教室創製の脂肪乳剤を応用して、肺臓の脂質代謝機能を組織顕微化学的に追究した結果、肺臓には中性脂肪を摂取し、これをリポイド化する機能の存在する事実を立証するに至つた。そこで私はこの事実を更に生化学的に検討すると同時に、ひいては我々の意図する脂質を乳化状態で直接静脈内へ注入して、非経口的栄養補給の目的を果たそうとする試みが、果して意義あるものかどうかという問題を解

決する1端として、本実験を施行した。

実験材料並に実験方法

I 実験材料

1. 脂肪乳剤

我々の脂肪乳剤は2μ以下の脂肪球からなる肝油乳剤で、従つて静脈内へ直接注入しても脂肪栓塞の発生をみない。その含有脂質成分比は第1表の如くで、実験には原則としてこの15%乳剤を使用した。

第1表 含有脂質の比率 (%)

中 性 脂 肪	游 離 脂 肪 酸	レ チ テ ィ ン
85.5	7.9	6.4

また本実験を施行するに当つては、他臓器からの影響を出来るだけ除去して、真の肺臓の脂質代謝機能を知る目的で剔出肺臓灌流実験を施行した。

灌流液としては脂肪乳剤加ロック氏液を使用する関係から、まずそれによつて脂肪球増大の危険性の有無を検討しておく必要があるが、かかる状態で灌流した肺臓に就て、組織顕微化学的に検討した結果は、毫も斯る危惧のないことがわかつた。

2. 実験動物

2kg前後の健常家兎を1定食餌で10日以上飼育し、24時間絶食せしめた後実験に供した。

何となれば麻田はこの時期が各臓器内に最も脂質の出現が少ないことを立証しているからである。又必要

に応じて試獣として猫（成熟）を用いた。

Ⅱ 実験方法

1. 肺臓灌流装置にその使用法

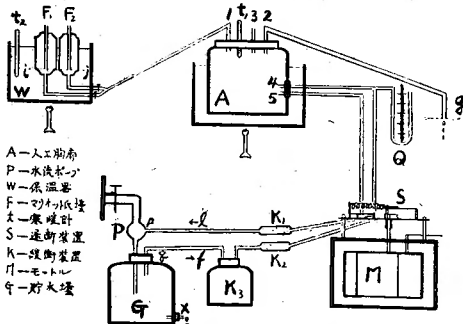
(i) 装置一般に関して

肺血管の灌流に際しては、外部からの陰圧で肺臓を適度に膨張させる時が、肺臓が萎縮している時はもとより、気管から陽圧を加えて肺臓を膨張させた時よりも、灌流液量が最も多量であり、而も生理的に近いという Lehmann u. Müller の実験成績に基いて、更に又本学内科学教室故藤田博士の創案された灌流装置をも参考として、新たに独自の考案を加えて設計作製した陰圧持続灌流装置を以て本実験を施行した。

人為呼吸装置としてはドンネル氏装置に改良を加え、而もモートルで運転し得るようにした。又人為的胸郭の役割を演ずる部分は約 400cc の容量を有する硝子製容器を使用した。

灌流装置には肺動脈、肺静脈及び気管を連結させる 3 本の小硝子管を設け、且つ寒暖計を気密に挿入して内部の温度を 1 定 ($38 \sim 39^{\circ}\text{C}$) に保持した。更に肺臓を持続的に呼吸させる目的で、呼吸時 -2cm 水柱、吸気時 -12cm 水柱の陰圧を負荷し、且つその週期は毎

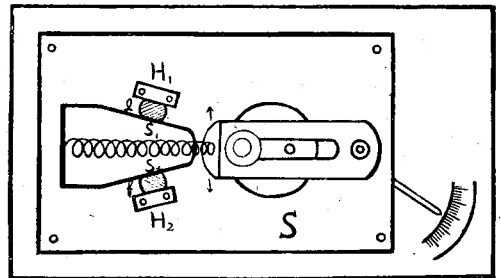
第 1 図 肺臓灌流装置全圖



分 32 回とし、灌流液 (37°C に加温、使用す) の液圧は第 1 図に示す如くマリOTT 氏堰中央の硝子管の下端と流出液を導出する硝子管の下端の高さとの差に相当するが、之を大体 8cm とした。斯る条件のもとで肺臓の灌流を行うと、萎縮肺に於ける場合と異り、その灌流液量は甚だ大で、毎分約 20cc を灌流し得て、而も約 30 分間は肺浮腫の発生をみず、充分研究の目的を達し得たのである。なお本装置では陰圧の変化は Q によつて明示され、水道径の開閉により陰圧の程度を適当に調節し得る。

陰圧装置に就いて詳述すると、 P は水道に連結した水流ポンプで、 G なる約 5 立の容積を有する硝子瓶に固定され、側管 p は 1 と連結する。 G の上端の口で水流ポンプ P を固定するゴム栓には尙 q なる 1 本の硝子管を気密に挿入し、之を f と連結する。1 及び f は数 mm の管径を有する柔軟なゴム管で、流通空気遮断装置 S を経て、第 1 図の 4, 5 の部分に至る。尙 1, f が S に至る迄の経路には、夫々 K_1 , K_2 , K_3 なる緩衝装

第 2 図 遮断装置圖



置を設けた。 S は 1, f が 4 及び 5 の部分に至る途中に於て、各々その内腔を通る空氣の流通を遮断し、人為的胸郭内の陰圧を変化させる装置である。即ち第 2 図の如く、4, 5 の部分に至る途中で、即ち S の部分で 1 は H_1 と S_1 の間を、 f は H_2 と S_2 の間を共にそれらの縦軸に直交して通過する。従つて今もし水道栓を開くと A 内の空氣は 1 を経て p から G 内へ移行し、 G 内の空氣は膨脹増大し、ために f を経て再び A 内に入るが、この際 M に電流を通ずると S は左右し、 S_1 は H_1 に、 S_2 は H_2 に夫々衝き当り、その結果、夫々直交するゴム管 1, f は交互に圧迫されて、空氣の流通が遮断され、 A 内の氣圧は当然週期的に変動する。そしてもしこの際 A 内の空氣の少量を抜き、その氣圧を 1 氣圧以下に僅か乍ら下げた状態で、前記の操作を行えば、 A 内の氣圧は 1 氣圧以下の状態で昇降し、それに伴い A 内に装置された肺臓は持続的に膨張、収縮を繰返し、気管に連結した小硝子管 3 を介して自由に外氣を呼吸することが出来る。斯くして剔出肺臓と雖も生理的に近い状態で呼吸運動を営み得るのである。

(ii) 心肺標本の作成

肺臓の剔出に當つては、家兎あるいは猫を無麻酔のもとに動物固定台上に固定した後、頸動脈を切断して放血、致死せしめ、然る後腹腔を開き横隔膜を穿刺して、肺臓を萎縮させた上、肋骨を切断、胸骨と共に胸廓前壁を切除。斯くして心臓を露出し、右心室を切開

して、硝子製カニユーレBを肺動脈中に挿入、これを結紮固定。次いで更に左心室を切開し、カニユーレBから37°Cに加温したロック氏液を除々に注入して、肺血管内の血液を充分駆逐した後、左心室から逆行性に比較的太い硝子製カニユーレCを左心房を経て、更に肺静脈の中迄挿入した上、これを結紮固定する。斯くして気管を適当の高さで切断、気管カニユーレDを挿入し、結紮固定した後、気管の後壁を剝離して、横隔膜の直上部で食道、静脈を切断すれば3個のカニユーレを装着した1個の心肺標本が得られる。斯くしてカニユーレDを3に、カニユーレBを1に、カニユーレCを2に夫々連結すればここに心肺標本の灌流装置装着が終了するから、これを人為胸郭A内に納め、人為胸腔を気密に密閉した後、前記の灌流操作を行えばよい。

2. 脂肪分解酵素価定量法

本測定には児玉桂三教授の方法を応用した。而して臓器脂肪分解酵素価測定に際しては87%グリセリン水で抽出し、その上澄液を酵素原液とした。

3. 総脂肪酸、中性脂肪、遊離脂肪酸定量法

本測定にはVan de Kammer A法及びB法を採用した。Van de Kammer B法に使用する苛性加里アルコールは容易に空気中の炭酸瓦斯を吸収し、変価するから、その取扱いは細心の注意を要する。而も夏季の測定成績は冬季に較べ稍々誤差の大となる傾向があるので、全て冬季の実験成績のみを採用した。

4. 血清リポイド燐測定法

血清をBloor氏液で溶解、酸化し、モリブデン酸アムモニウム液及びアミノナフトールスルホン酸液で呈色せしめ、光電比色計でその被検液の透過率を求める方法を採用した。

(註：本論文中心リポイドと記したのは所謂レチイン値をいう)

実験成績

I 脂肪乳剤未注入家兎の剔出肺臓灌流実験

1. 家兎の剔出肺臓灌流時に於ける脂肪分解酵素価の消長

さきに教室の麻田は、教室の創製した脂肪乳剤を家兎、マウス、猫等の静脈内へ注入すると、肺臓の所謂肺胞喰細胞が注入脂肪球を著明に摂取し、それら細胞内で中性脂肪は漸次リポイドに変じ、再び血中に放出されることを形態学的に立証し、而も斯る処理過程は脂質の経口的摂取時と analogisch なることを明らかにした。

私はこの麻田の行つた組織顕微化学的所見を生化学的立場から再検討する目的で、まず剔出肺臓を脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した際の灌流液中並に肺臓の臓器脂肪分解酵素価の消長を検索したのであるが、家兎の剔出肺臓を灌流装置に装着し、持続的に呼吸せしめ乍ら、まずロック氏液200ccで灌流し、血液を完全に駆逐した後、総脂肪酸濃度620mg/dlになるように予め調製した脂肪乳剤加ロック氏液で剔出肺臓の灌流を

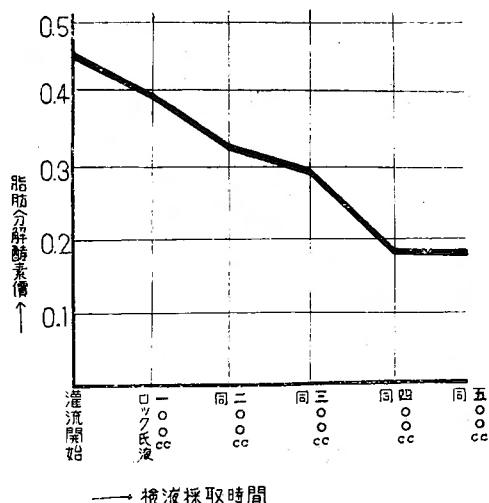
第2表 ロック氏液のみで灌流した際の排出液中の脂肪分解酵素価の消長

検液採取時	灌流開始時	ロック氏液 100cc	同 液 200cc	同 液 300cc	同 液 400cc	同 液 500cc
家 兎 1 号	0.433	0.382	0.304	0.279	0.159	0.202
家 兎 2 号	0.461	0.422	0.320	0.277	0.155	0.120
家 兎 3 号	0.453	0.320	0.340	0.335	0.220	0.215
平 均	0.449	0.394	0.321	0.297	0.178	0.179

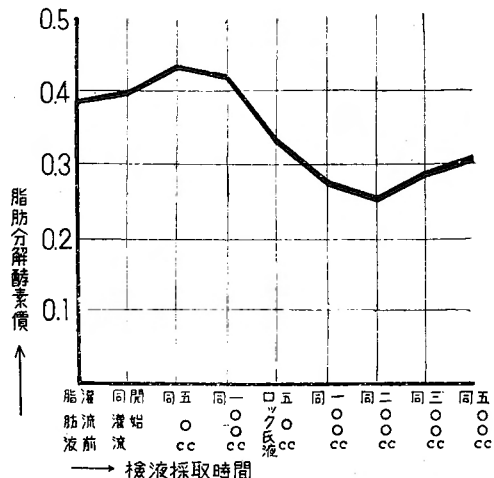
第3表 脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した際の排出液中の脂肪分解酵素価の消長

試 獣	脂肪液灌流前	同灌流開始	同 液 50cc	同 液 100cc	ロック氏液50cc	同 液 100cc	同 液 200cc	同 液 300cc	同 液 500cc
家 兎 1 号	0.350	0.465	0.882	0.860	0.550	0.395	0.380	0.360	0.280
家 兎 2 号	0.351	0.459	0.845	0.815	0.443	0.408	0.398	0.350	0.265
家 兎 3 号	0.250	0.242	0.310	0.290	0.270	0.265	0.255	0.255	0.250
平 均	0.389	0.397	0.429	0.419	0.327	0.277	0.254	0.286	0.302

第3図 ロック氏液のみで灌流した際の排出液中の脂肪分解酵素価の消長 (第2表参照)



第4図 脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した際の排出液中の脂肪分解酵素価の消長 (第3表参照)



して定量した。

実験成績竝に考察：脂肪乳剤加ロック氏液で剔出肺臓を灌流した際には第3表及び第4図に示す如く、対照のロック氏液のみによる灌流時 (第2表, 第3図) よりも明らかに灌流液中の脂肪分解酵素価は増加した。併し本実験結果からのみで果してこれが脂肪乳剤の灌流により肺臓自体で新たに産生されたものであるとは直ちに断言することは出来ない。

第4表 ロック氏液灌流後の肺臓脂肪分解酵素価

試 獣	肺臓脂肪分解酵素価
家 兎 1 号	0.952
家 兎 2 号	1.032
平 均	0.992

第5表 脂肪液灌流後の肺臓脂肪分解酵素価

試 獣	肺臓脂肪分解酵素価
家 兎 1 号	1.080
家 兎 2 号	1.010
平 均	1.045

そこで更に剔出肺臓灌流後の肺臓の臓器脂肪分解酵素価を測定した。然るに脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した際でも第5表に示すように、第4表に示した単にロック氏液のみで灌流した際と殆ど同一含量を示し、寧ろ平均値に於ては稍々増量するという結果を得た。

従つて以上の実験成績からして脂肪乳剤で灌流した際には元来肺臓自体に含有されていた脂肪分解酵素が流出して来るものではなくて、肺臓に於てその産生が促進されるものと考えてよい。

一方本学病理学教室森井学士は我々の脂肪乳剤を家兎の生体静脈内へ注入して、組織顕微化学的に肺臓に於ける脂肪分解酵素の変動を追究したが、その結果注入前に較べて、注入後は注入脂肪球を摂取してこれをリポイド化する肺胞食細胞中に、明らかに脂肪分解酵素の増量する事実を立証して居る。蓋し自分の生化学的実験成績とよく一致すると云える。

2. 家兎の剔出肺臓灌流時の脂肪固定作用

さきに Binet 等は脂肪に富んだ血液が肺臓を通過する間にその約15%が消失する事実を立証し、肺臓の脂質固定機能 (fonction lipopexique) と脂質分離機能 (fonction lipodirétique) の存在を提唱したが、麻田も既に組織顕微化学的に肺臓の肺胞食細胞が脂肪球を著明に摂取する機能のあることを明らかにした。

行つた。この際灌流液量 100cc 毎にその排出液 (肺静脈からの流出液) を採取し、排出液中の脂肪分解酵素価を測定した。なお臓器脂肪分解酵素価の測定に際しては灌流後未だ血管内に脂肪乳剤加ロック氏液が停滞するから、これを充分排除しておく目的で、更にロック氏液 500cc で灌流した後、肺臓切片を細切し、濾紙で充分に余分の水分を吸収し、その一定量を秤量、磨砕した後グリセリン水で抽出して、これを酵素原液と

第6表 脂肪乳剤加ロック氏液灌流実験に於ける灌流液並に排出液中の総脂肪酸量 (mg%)

試 獣	原灌流液	脂肪液灌流前	同灌流開始時	同50cc	同100cc	ロック氏液50cc	同100cc	同200cc	同300cc	同500cc
家 兎 1 号	629	30	104	329	322	106	83	76	42	37
家 兎 2 号	615	36	61	373	330	71	67	59	48	40
家 兎 3 号	614	35	59	330	341	82	76	58	47	41
平 均	619	33	73	344	331	93	75	64	45	39

そこで私は生化学的にこの脂肪固定作用を検討する
目的で、剔出肺臓を脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した
際の灌流液並に排出液中の総脂肪酸含有量及び肺臓の
臓器総脂肪酸量の測定を行つた。

実験成績並に考察：その結果は第6表に示すように
灌流液中の総脂肪酸量に較べると、排出液中のそれは
著明に減少して居り、而も脂肪乳剤加ロック氏液の灌
流を中止して、之に代つてロック氏液のみで更に灌流
を持続すると、排出液中の総脂肪酸量は速やかに減少
し、殆ど灌流前値に復した。而も肺臓の臓器総脂肪酸
含有量も第8表の如く脂肪乳剤加ロック氏液で灌流し
た際には第7表に示した単にロック氏液のみで灌流し
た場合に較べて明らかに増加したが、その程度は比較
的に少ない。

第7表 ロック氏液灌流後の肺臓臓器総脂肪酸量

試 獣	肺臓々器総脂肪酸量 (g%)
家 兎 1 号	1.427
家 兎 2 号	1.430
平 均	1.428

第8表 脂肪液灌流後の肺臓臓器総脂肪酸量

試 獣	肺臓々器総脂肪酸量 (g%)
家 兎 1 号	1.475
家 兎 2 号	1.560
平 均	1.517

この際脂肪乳剤加ロック氏液による肺臓灌流実験後
の臓器総脂肪酸量の測定に當つては、灌流中止後なお
肺臓血管内に停滞している脂質を充分ロック氏液で駆
逐して、その中に含有されている総脂肪酸量が脂肪乳
剤加ロック氏液灌流前の値に復した後に測定したこと
は論をまつまでもない。

以上の実験成績から灌流液中の脂質は肺臓血管内を
単に素通りするものではなく、麻田のいう如く少くとも
1時的に肺胞喰細胞により摂取されるものと考えざる
を得ない。

このことは教室の財津が脂肪乳剤を家兎の生体静脈
内へ注入した際、注入脂質は速やかに血中から消失す
るという事実とよく一致するものである。従つて本灌
流実験からも、充分に肺臓が脂質を摂取してこれを固
定する機能を有することが立証され得たものと考えて
よい。併しこの様にして肺臓に摂取された脂質が如何
様に処理されるものであるかという点に就ては以上だ
けでは未だ明確化され得たわけのものでない。

3. 家兎の剔出肺臓灌流時の灌流液中含有脂質成分
の変動

近時脂質の酸化にも、また脂質の他組織への移行に
際しても、一般に脂質が生体に利用されるためには、
必ず一旦リポイドの段階を経る事が必要であり、また
他方一般にいつて、特殊の組織を除けば各種組織の細
胞内には中性脂肪は比較的少量にしか存在せず、これ
に反して中性脂肪以外の他の脂質、就中磷脂質とヒョ
レステリンはその一定量が存在して、細胞の機能と密
接な關係に立つことが予想されるに至り、近來特に磷
脂質は脂質の中間代謝に密接な關係を有するものと思
えられるに至つた。従つてこれ等の諸報告と、以上私
の実証し得た、肺臓は脂質を摂取し固定する機能を有
すると共に肺臓に於ける脂肪分解酵素の產生を促すとい
う事実とは何等かの關聯性があるに非ずやと考え、
剔出肺臓灌流時の灌流液並に排出液中の脂質成分を
試験家兎を以て測定し、比較検討したのである。

実験成績並に考察：脂肪乳剤加ロック氏液で剔出肺
臓を灌流した際の灌流液並に排出液中の脂質成分
は第9表に示すようで、中性脂肪は著明に減少するの
に反して、游離脂肪酸、並にリポイドは著明に増加し
た。従つてさきに麻田の見出した肺臓は脂質を肺胞喰

第9表 灌流液及び排出液の脂肪体成分 (mg%)

検 液	中性脂肪	游離脂肪酸	リポイド
灌 流 液	594.7	56.3	45.0
排 出 液	250.2	111.1	78.9
増 減 量	-344.5	+ 54.8	+ 33.9

細胞によつて摂取し、これをそれら細胞内で中性脂肪からリポイドに変じ、再び血中に放出するという事実を生化学的立場からもよく立証し得たものである。

前報に於て述べたように剔出肺臓を脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した際、灌流液中の総脂肪酸量減少の割合に較べて、肺臓の臓器総脂肪酸量増加の割合が比較的少ないのは、この様に順次肺胞食細胞によつて摂取された中性脂肪が漸次リポイド化され、再び血中に放出されるという現象が持続的に行われているという以上のことから充分理解されるのである。

更にまた本実験成績は剔出肺臓を使用した関係上、他臓器からの影響を全く除去し得たという意味に於て、これはいわば肺臓独自の脂質代謝機能と見做してよい。

4. 小 括

(i) 剔出肺臓といえども灌流液中の脂質を著明に摂取し、1時的乍らこれを固定すると共に肺臓に於ける脂肪分解酵素の産生を促す。

(ii) 斯くして肺臓に摂取された中性脂肪はリポイド並に遊離脂肪酸に変化せられ、再び灌流液中に放出される。

Ⅱ 予め脂肪乳剤を家兎の生体静脈内へ注入した際の肺臓の臓器総脂肪酸量並に臓器脂肪分解酵素価の時間的推移

さきに麻田は組織顕微化学的に家兎の生体静脈内へ注入された脂質は30分以内に血管内から消失し、肺臓では注入直後から30分に亘り、肺胞食細胞が最多量に注入脂質を摂取し約4時間後には肺胞食細胞から全く消失すると報告している。併し剔出肺臓を灌流し、この間の状態を生化学的に斯く長時間に亘つて窺うことは肺水腫を招来して、不可能と思われるから、私はこの缺を補うため、予め脂肪乳剤を家兎の生体静脈内へ注入し、一定時間後にこれを放血、致死せしめ、肺臓に於ける注入脂質の処理状況を肺臓の臓器総脂肪酸量並に臓器脂肪分解酵素価の時間的推移から検討した。

即ち15%脂肪乳剤を体重毎缸当り1.5 ccの割合で家兎の生体静脈内へ注入した後、これを逐時的に放血、致死せしめ、その肺臓を剔出し、更に肺臓血管内の血液を完全に駆逐する意味でロック氏液600ccを以て灌流した後測定したのである。なお対照としては脂肪乳剤を注入することなく放血、致死せしめた家兎の剔出肺臓を同量のロック氏液で灌流したものに就いて測定

した。

実験成績並に考察：(第10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19表並に第5図参照)本実験成績を総括すれば第19表及び第5図に示されたように、家兎の生体静脈内へ注入された脂質は肺臓の所謂肺胞食細胞に著明に摂取される結果、肺臓の臓器総脂肪酸量は注入直後から著明に増加し始め、30分後には最大量に達し、その後は時間の経過と共に漸次減少して、6時間ではほぼ正常値に復し、6時間以後もこの正常値の範囲内を僅かに動揺するにとどまり、麻田の行つた組織顕微化学的所見とこの点でも亦よく一致した。

第10表 脂肪乳剤未注入家兎肺臓組織

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1 号	1.427	0.952
家 兎 2 号	1.430	1.032
平 均	1.428	0.992

第11表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織 (直後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1 号	1.637	1.036
家 兎 2 号	1.667	1.068
平 均	1.652	1.052

第12表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織 (30分後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1 号	1.730	1.141
家 兎 2 号	1.810	1.127
平 均	1.770	1.134

第13表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織 (1時間後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1 号	1.702	1.260
家 兎 2 号	1.742	1.252
平 均	1.722	1.256

第14表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織 (2時間後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1 号	1.701	1.251
家 兎 2 号	1.697	1.289
平 均	1.699	1.270

第15表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織(3時間後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1号	1.602	1.100
家 兎 2号	1.560	1.092
平 均	1.581	1.096

第16表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織(7時間後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1号	1.399	1.016
家 兎 2号	1.455	1.020
平 均	1.427	1.018

第17表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織(12時間後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 1号	1.395	1.100
家 兎 2号	1.365	1.124
平 均	1.380	1.112

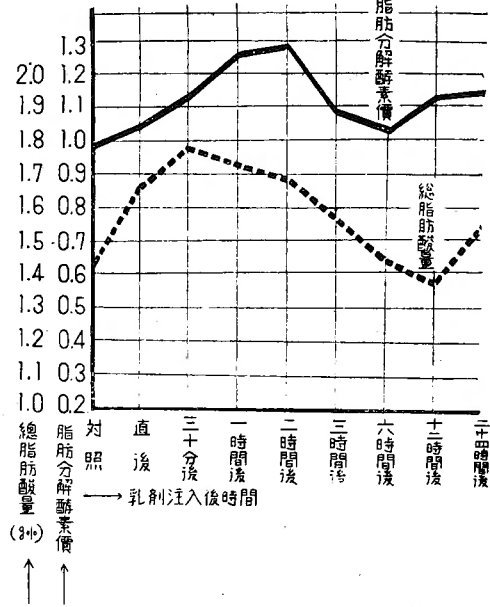
第18表 脂肪乳剤注入家兎肺臓組織(24時間後)

試 獣	臓器総脂肪酸量 (g%)	臓器脂肪分解酵素価
家 兎 2号	1.560	1.101
家 兎 2号	1.504	1.143
平 均	1.534	1.123

他方肺臓の臓器脂肪分解酵素価も注入直後から著明に増加し始め、臓器総脂肪酸量の減少し始める注入後2時間に於て最大値を示し、その後は時間の経過と共に漸次減少して、注入後6時間には大体正常値に復するが、24時間を経てもなお正常値以上の値を示した。

この事実は肺臓の所謂肺胞喰細胞によつて注入脂質が著明に摂取せられ、それに伴い肺臓の臓器脂肪分解酵素の産生が促され、前述のように、注入脂肪体の主成分である中性脂肪は遊離脂肪酸或はリポイドへと変化するものと解すべきであろう。斯くしてリポイドは再び肺臓から血中に放出される結果、肺臓の臓器総脂

第5図 脂肪乳剤注入家兎肺臓臓器総脂肪酸量並に脂肪分解酵素価 第19表参照)



肪酸量の減少をまねくが、併し肺臓の臓器脂肪分解酵素価は注入後24時間に於てもなお正常値より高い値を示している点から、注入脂質の肺臓に於ける処理過程は大体24時間以内に終了するものの、なお完全に注入脂質が処理しつくされるものではなくて、ごく一部分は24時間後に於てもなお処理されつつあることを物語るものであろう。

Ⅲ 脂肪乳剤未注入猫の剔出肺臓灌流実験

前記のように草食動物である家兎に於ても肺臓の脂質処理機能の存在することを生化学的に実証し得たのであるが、然らば肉食動物に於ける猫では果してどうであろうか。既に麻田は組織顕微化学的に脂質を多量に平時から摂取する肉食動物である猫の肺臓に於ける脂質処理機能が草食動物である家兎のそれに較べてきわめて旺盛であることを立証した。そこで猫の剔出肺臓を脂肪乳剤加ロック氏液で灌流し、この事実を生化

第 19 表 脂肪乳剤注入家兎肺臓臓器脂肪量並に脂肪分解酵素価 (第10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 表参照)

	対 照	注 入 直 後	注 入 30分後	注入1時間後	注入2時間後	注入3時間後	注入6時間後	注入12時間後	注入24時間後
総脂肪酸量(g%)	1.428	1.652	1.770	1.722	1.699	1.581	1.427	1.380	1.534
脂肪分解酵素 価	0.992	1.052	1.134	1.256	1.270	1.096	1.018	1.112	1.123

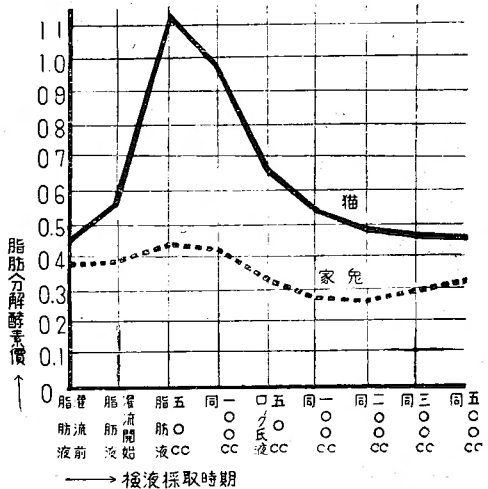
学的立場から再検討した。本灌流実験に際しても、比較する関係上家兎の場合と同様に灌流液はその総脂肪酸含有濃度を620 mg/dlとなる様に予め脂肪乳剤をロック氏液で稀釈したものを使用した。

実験成績竝に考察：猫の別出肺臓を脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した際の灌流液竝に排出液中の脂質成分は第20表に示すように、灌流後は中性脂肪が著明に減少するのに対して、遊離脂肪酸及びリポイドは著明に増加した。

第20表 猫肺臓灌流時の脂肪体成分 (平均値)

検 液	中性脂肪 (mg%)	遊離脂肪酸 (mg%)	リポイド (mg%)
灌 流 液	596.3	55.7	43.9
排 出 液	49.1	194.8	117.3

第6図 猫及び家兎肺臓脂肪液灌流実験に於ける脂肪分解酵素の比較 (第21表参照)



この結果を家兎に於て認められた成績と比較すると、第22表の如く中性脂肪の減少度、遊離脂肪酸並にリポイドの増加程度は猫に於て遙に顯著である。又別出肺臓灌流時の排出液中の脂肪分解酵素価の消長は第21表の如くであるが、これを家兎のそれに較べると、第6図に示す如く、その増加の程度は猫の方が遙に顯

第22表 猫及び家兎肺臓脂肪液灌流実験に於ける脂肪体成分の比較

試 獣	検 液	中性脂肪 (mg%)	遊離脂肪酸 (mg%)	リポイド (mg%)
家 兎	灌流量	594.7	56.3	45.0
	排出液	250.2	111.1	78.9
	増減量	-344.5	+ 54.8	+ 33.9
猫	灌流液	596.3	55.7	43.9
	排出液	49.1	194.8	117.3
	増減量	-547.2	+139.1	+ 73.4

著である。

以上要するに肉食動物の肺臓は草食動物に較べると脂質の処理力は非常に強力で、麻田のいう如く、もしも1度に多量の脂質が血管内に流入して来た時はまず肺臓がこれに順応して脂質を摂取し、強力な処理能力を以てその消化に当り、肝臓や脾臓には荷重をかけないようになっているものと思われる。この様に動物の種類によつて肺臓の脂質処理能力に著しい差があるという上述の成績は、各種動物の日常の食餌を考えれば、全く合目的性があつて、真に当然のことである。従つて脂質代謝の研究に當つては動物の選択が重要であると云つてよい。即ち麻田の行つた組織顕微化学的検索成績とこの点でもよく一致した。

Ⅳ 所謂抗脂肝性物質の肺臓脂質代謝に及ぼす影響

1931年 Alan が抗脂肝性作用物質 (Lipotropic substance) の意義を提唱して以来、レチテイン、コリン、カゼイン等の抗脂肝性作用物質が相次いで発見され、1940年 Tucker, Eckstein はカゼインのもつ抗脂肝性作用はメチオニンに基くことを明らかにした。又他方 Burns, Mc Kibbin 等はビタミン B₁₂ にも同様抗脂肝性作用のあることを立証し、これらビタミンB複合体、コリン、メチオニン及びこれらを含む蛋白質が新脂性を有することは疑う余地のない事実となつた。そこで私は斯る抗脂肝性作用物質が脂質代謝上如何なる作用機転を有するかという点に就いて、肺臓の脂質代

第21表 猫肺臓脂肪液灌流実験 (平均値)

検液採取時期	脂肪液 灌流前	脂肪液 灌流開始	脂肪液 50cc	同 100cc	ロック氏 液 50cc	同 100cc	同 200cc	同 300cc	同 500cc
總脂肪酸量(mg%)	15	39	230	241	94	68	57	41	37
脂肪分解酵素価	0.452	0.571	1.125	0.989	0.685	0.542	0.495	0.479	0.470

謝の面から検討すると共に、その他1~2の脂質代謝と密接な関係があるといわれる物質との関係をも併せて検討した。

1. 副腎皮質ホルモンの影響

Sinclair は腸粘膜中で吸収されて来たグリセリンと脂肪酸が再び中性脂肪に合成される際に腸粘膜の上皮細胞の磷脂質が仲介となる、即ち腸粘膜中に於て脂肪酸と磷脂質と脂肪のような機序によつて、中性脂肪合成の途中に一旦磷脂質の段階を経るとする所謂磷脂質仲介説なるものを唱えたが、その後 Verzár は脂肪が吸収される場合に副腎皮質ホルモンの存在のもとに脂肪酸エステル化されて磷脂質となることを主張するに至つた。

それで副腎皮質ホルモンと肺臓のリポイド化機能との間に何等かの関係性が存在しないかとの思惟のもとに、副腎皮質ホルモンであるというリンデックス、コーチゾン及びアドレナール・コルテックス等を以て肺臓灌流実験によりこの関係を検討した。

(i) リンデックスの影響

市販リンデックス注射液 0.5 cc を予め総脂肪酸濃度 620 mg/dl の割合になる様に調製した脂肪乳剤加ロック氏液に添加して、家兎の剔出肺臓を灌流し、灌流液並に排出液中の脂質成分を定量した。

実験成績：実験成績は第23表に示す如くで、単なる脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した際と比較したのが第24表である。即ちリンデックスを脂肪乳剤加ロック氏液に添加し灌流した場合には、肺臓の中性脂肪処理作

第23表 リンデックス加脂肪液灌流実験

試 験	検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪酸 (mg %)	リポイド (mg %)
	灌流液	594.7	56.3	45.0
家兎1号	排出液 増減量	351.3 -243.4	125.1 + 68.8	92.3 + 47.3
家兎2号	排出液 増減量	332.1 -262.6	111.7 + 55.4	107.1 + 62.1

第24表 リンデックス添加時、無添加時の比較

検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪酸 (mg %)	リポイド (mg %)
無添加液灌流時 排出液	250.2	111.1	78.9
添加液灌流時 の 排 出 液	341.7	118.4	79.7

用は寧ろ稍々低下するかの様な結果を得た。併し乍ら游離脂肪酸並にリポイドには両者の間に著変は認めず、要するにリンデックスの添加によつて肺臓のリポイド化機能が亢進する傾向は少くとも認め得なかつた。

(ii) コーチゾン、アドレナール・コルテックスの影響

コーチゾンを脂肪乳剤加ロック氏液と混じて剔出肺臓を灌流すると脂肪栓をまねく危険があるため、止むなく予めコーチゾン 2.5mg 宛を家兎の皮下に7日間に亘り連続注射した後試獣を屠殺し、その剔出肺臓を予め総脂肪酸濃度を 620mg/dl に調製した脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した。

実験成績：実験成績は第25表に示す如くで、コーチゾンの皮下注射を行わず単に脂肪乳剤加ロック氏液で灌流した場合に較べると第26表の如く、コーチゾンの投与の有無に拘らず肺臓の脂質処理能力には全く差異

第25表 コーチゾン投与後脂肪液灌流実験

試 験	検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪酸 (mg %)	リポイド (mg %)
	灌流液	594.7	56.3	45.0
家兎1号	排出液 増減量	267.7 -327.0	106.2 + 49.9	80.1 + 35.1
家兎2号	排出液 増減量	246.9 -347.8	110.8 + 54.5	76.5 + 31.5

第26表 コーチゾン投与時、非投与時の比較

検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪酸 (mg %)	リポイド (mg %)
非投与家兎灌流時の排出液	250.2	111.1	78.9
投与家兎灌流時の排出液	257.3	108.5	78.3

を認め得なかつた。

前記のようにコーチゾンは脂肪乳剤加ロック氏液と混じて剔出肺臓を灌流することが不可能なため、更に私はこの点を追究する目的で牛の副腎皮質綜合エキスの10%アルコール溶液であるアドレナール・コルテックス (Upjohn 製) を脂肪乳剤加ロック氏液に添加、家兎の剔出肺臓を灌流したが、コーチゾン投与時と同様の成績を得たに過ぎない。

(iii) 考 察

以上のように健康家兎に副腎皮質ホルモンを負荷しても、その中性脂肪をリポイド化する機能を促進せし

めることは出来なかつた。併しもし既に副腎皮質機能の不全状態にある動物、例えば副腎皮質摘出家兎の剔出肺臓に就て斯る実験を行えば、あるいは肺臓の脂質代謝機能の低下を認め、更に斯る条件下のものに副腎皮質ホルモンを負荷すると、こゝに初めて低下していた肺臓の脂質代謝機能が正常に回復することが認められるかも知れぬが、この点に就ては今後の研究に俟つ可きである。

2. メチオニンの影響

従来中性脂肪は磷脂質として体内を運搬されまた利用されるといわれて来たが、この中性脂肪から磷脂質への合成は抗脂肝性作用物質の作用によつて肝臓及び腸粘膜で行われ、もし抗脂肝性作用物質が欠乏すると肝臓に於ける中性脂肪から磷脂質の生成が障碍されてその結果肝実質細胞中に中性脂肪が沈着するとされて来た。而もコリンは斯る肝臓の中性脂肪の磷脂質形成に重要な働きを有し、このコリンの合成に必要なメチル基を転移するものがメチオニンであつて、メチオニンの抗脂肝性因子としての意義もこゝにあるとされて来た。そこで果して斯る事実が、既述の肺臓のもつ中性脂肪をリポイド化する機能に於ても見出されるであろうか。この点を検討したのである。

本実験に際しては、1-メチオニン10mgを予め総脂肪酸濃度620mg/dlに調製した脂肪乳剤加ロック氏液100ccの割合に添加したものを以て、家兎の剔出肺臓を灌流した。

実験成績：その際の灌流液並に排出液中の脂質成分は第27表に示すように、家兎剔出肺臓の灌流により、中性脂肪は著明に減少するのに反して、游離脂肪酸並にリポイドは著明に増加した。これを単に脂肪乳剤加ロック氏液のみで灌流した際のそれと比較したのが第28表であるが、メチオニンの添加により中性脂肪の減少度と游離脂肪酸並にリポイドの増加量が一層顯著になることがよく理解される。

第27表 メチオニン加脂肪液灌流実験

試 獣	検 液	中性脂肪 (mg%)	游離脂肪 酸(mg%)	リポイド (mg%)
	灌流液	594.7	56.3	45.0
家兎1号	排出液	79.1	159.4	147.7
	増減量	-515.6	+103.1	+102.7
家兎2号	排出液	81.3	132.2	130.6
	増減量	-513.4	+75.9	+85.6

即ちこの点からしてもメチオニンは肺臓の脂質を摂取、固定する機能を著しく促進せしめると共に、又中性脂肪を游離脂肪酸あるいはリポイドへと変化せしめる機能を著しく促進せしめるといふ得るのである。斯るメチオニンが肺臓の脂質処理機能を著しく促進し、円滑化せしめることは、又次の様な実験でも認められた。即ち家兎を屠殺し、肺臓を剔出するに先立つて、

第28表 メチオニン添加時、無添加時の比較

検 液	中性脂肪 (mg%)	游離脂肪酸 (mg%)	リポイド (mg%)
無添加液灌流 時の 排 出 液	250.2	111.1	78.9
添加液灌流時 の 排 出 液	80.2	145.8	139.1

第29表 メチオニン連続投與家兎肺臓灌流実験(平均値)

検 液	中性脂肪 (mg%)	游離脂肪酸 (mg%)	リポイド (mg%)
灌流排出液	208.4	144.6	141.0

生前数日間に亘りメチオニンを皮下投与した家兎の剔出肺臓を単に脂肪乳剤加ロック氏液のみで灌流した際にも、予めメチオニンの皮下投与を行わなかつた場合に較べるとやはり肺臓の脂質処理機能は第29表に示したように著しく亢進する。

考察：以上の実験に於てもメチオニンは肺臓の脂質摂取機能を著しく亢進せしめ、同時に中性脂肪のリポイド化を著しく促進せしめる事実を知つた。而して教室の麻田の如くメチオニンは肺臓は勿論のこと肝臓、脾臓等の網内系細胞群の脂質処理機能をも亢進せしめ、これを円滑且つ速やかに処理せしめる結果、脂質処理能力の弱い家兎もメチオニンの併用によつて、あたかもその脂質処理機能は肉食動物化するが如く思われる。

更に毎日体重1kg当り15%脂肪乳剤1.5ccの割合で、家兎の生体静脈内へ1-メチオニン5mg併用のもとに長期に亘り連続注入を行うと、単に脂肪乳剤のみを長期に亘り使用した際のような肺臓の臓器脂質の異常増加は認められず、生体に於てもよく注入脂質が肺臓で順調に処理されつゝあると考えてよい結果を得た。

3. ビタミンB₁₂の影響

最近に至り Shive, Shaefer, Salmon, Bennett 等の研究により、ビタミンB₁₂並に葉酸も生体内で活性の

あるメチル基を合成する作用があつて、メチオニン、コリンの代用をすることができ、抗脂肝性作用物質としての意義が提唱されるに至つた。従つてこれらの物質の肺臓脂質処理機能に及ぼす影響をも実験により検討した。

即ちビタミン B₁₂ 1γ を総脂肪酸濃度が 620mg/dl になる様に予め調製した脂肪乳剤加ロック氏液 100 cc の割合に混じり剔出肺臓を灌流した。

実験成績竝に考察：その実験成績は第30表に示すように、単に脂肪乳剤加ロック氏液のみで灌流した場合

第30表 VB₁₂ 加脂肪液灌流実験

試 獣	検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪 酸(mg %)	リポイド (mg %)
	灌流液	594.7	56.3	45.0
家兎 1 号	排出液	423.2	111.0	79.5
	増減量	-171.5	+ 54.7	+ 34.5
家兎 2 号	排出液	320.1	120.4	84.0
	増減量	-274.6	+ 64.1	+ 39.0

と有意の差を認め得ず、ビタミン B₁₂ のみの単独使用では肺臓脂質処理機能促進作用は全く認め得なかつた。

4. 葉酸の影響

葉酸 15mg を総脂酸濃度 620 mg/dl に予め調製した脂肪乳剤加ロック氏液 100cc の割合に添加し、之を以て家兎の剔出肺臓を灌流した。

実験成績竝に考察：その実験成績は第31表に示すよ

第31表 葉酸加脂肪液灌流実験

試 獣	検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪 酸(mg %)	リポイド (mg %)
	灌流液	594.7	56.3	45.0
家兎 1 号	排出液	214.2	118.1	81.0
	増減量	-380.5	+ 61.8	+ 36.0
家兎 2 号	排出液	221.7	109.6	77.3
	増減量	-373.0	+ 53.3	+ 32.3

第32表 葉酸添加時、無添加時の比較

検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪 酸(mg %)	リポイド (mg %)
無添加液灌流 時の排出液	250.2	111.1	78.9
添加液灌流時 の排出液	217.9	113.8	79.1

うで、単に脂肪乳剤加ロック氏液のみで灌流した際のそれと比較したのが第32表である。即ち葉酸を添加した場合と添加しなかつた場合との間には有意の差を全く認め得ず、葉酸の肺臓脂質処理機能の充進作用は全く立証されなかつたのである。

5. メチオニン、ビタミン B₁₂ 併用の影響

周知の如くメチオニンの活性メチル基は生体内で合成されず、メチオニンやコリンの形で体外から供給されなければならぬとされていたが、その後 Du Vigneaud 等はビタミン B₁₂ 及び葉酸が存在すれば、腸内細菌の助けなしに活性メチル基が生体内で合成されることを明らかにしたが、Tukes, Weiss 等は更にビタミン B₁₂ を投与するとコリン、メチオニンの投与量が少なくても充分な効果が期待し得る事実を立証し、メチオニンとビタミン B₁₂ の併用がその抗脂肝性作用を更に増強せしめるといわれるようになった。それ故にまたこの間の事情をも検討したのである。

即ち 1-メチオニン 10mg、ビタミン B₁₂ 1γ を総脂肪酸濃度 620 mg/dl に予め調製した脂肪乳剤加ロック氏液 100cc の割合に混じり、剔出肺臓を灌流した。

実験成績竝に考察：その実験成績は第33表に示す如く、剔出肺臓の灌流により中性脂肪は著明に減少し、これに反して游離脂肪酸竝にリポイドは著明に増加し、メチオニンのみを添加した場合に較べて、更に一層中性脂肪のリポイド化機能の促進する事実を知つた。即ちビタミン B₁₂ は単独使用に際してはその効果を前記の如く認め得なかつたが、メチオニンと併用することによりメチオニンの肺臓の脂質処理促進作用を更に増強せしめる事実を知つたのである。

第33表 メチオニン、VB₁₂ 加脂肪液灌流
(平均値)

検 液	中性脂肪 (mg %)	游離脂肪 酸(mg %)	リポイド (mg %)
添加液灌流 時排出液	59.9	171.6	165.7

6. 小 括

- (i) メチオニンは肺臓の脂質処理機能を著しく促進せしめる。即ち肺臓の肺胞食細胞の脂質摂取作用を充進させると共に、それら細胞内に於て中性脂肪をリポイドへと変化せしめる機能を増進させる。
- (ii) ビタミン B₁₂ 竝に葉酸の単独使用では、前記のような肺臓の脂質処理機能促進作用は認められない。
- (iii) メチオニンとビタミン B₁₂ を併用すればメチ

オニオン単独使用時よりも更に肺臓の脂質処理機能は一層促進される。

V 総括竝に結論

腸管から吸収された脂質の大部分がリンパに入り長い経過を有する胸管をわざわざ上昇して静脈内へ注ぎ、これが直ちに肺臓を通過するという生理学的、解剖学的事実から、肺臓が脂質代謝機能を有するのではあるまいかということは当然考えられるところであり、Roger et Binet が肺臓の脂質代謝機能を高唱して以来、あるいは之に賛成し、あるいは之に反対する学者が続出し、現在尙決定的な結論は得られていない。

私は自家考案の別出肺臓を持続的に呼吸させながら灌流し得る装置を使用して、我々の教室創製の脂肪乳剤を用い家兎、或は猫の別出肺臓を灌流した結果、新たに肺臓が脂質代謝上重要な役割を演じていることを生化学的に、而も端的に立証することができた。更に抗脂肝性作用物質の作用機転を肺臓の脂質代謝面から討究し、次のような結論に達した。

(1) 灌流液中に添加された脂質は、別出肺臓の灌流によつて、肺胞食細胞から摂取され、それら細胞内で脂肪分解酵素の作用下に中性脂肪はリポイドに変じ、再び灌流液中に放出される。而して生体静脈内に注入された脂肪乳剤も漸次同様の過程を経てリポイド化し、再び血中に放出されるもののようである。

(2) 斯る肺臓の脂肪処理能力は草食動物である家兎に較べて、肉食動物である猫に於て遙かに強力、且つ迅速である。

(3) メチオニンは肝臓のみならず、肺臓に於ても中性脂肪のリポイド化機能を著しく促進するが、更にビタミンB₁₂と併用すると一段とその作用が強力となる。

(4) この生化学的所見はさきに行つた麻田の組織顕微化学的所見とあらゆる点に於てよく一致した。

(5) 以上の実験結果から我々の脂肪乳剤もメチオニン及びビタミンB₁₂の併用下で使用すれば、脂質処理能力の弱い家兎でも、よくその連続注入にも耐え得て、そ

の栄養学的効果は充分期待し得るものと考えてよい。

本研究は文部省科学試験研究費の援助を受けた。記して謝意を表する。また終始御教示を得た教室日笠順則講師に感謝の意を捧げる。

参 考 文 献

- 1) 麻田, 日本外科宝函, **22**, 77, **22**, 217, 1953.
- 2) Burns, J. Nutrition, **44**, 487, 1951. 3) 朴, 朝鮮医誌, **23**, 83, 1933. 4) Chaikoff, J. Biol. Chem., **123**, 587, 1938. 5) du Vigneaud, J. Biol. Chem., **134**, 787, 1940. 6) 江崎, 日本内分泌会誌, **11**, 518, 1936. 7) Fischer, J. Biol. Chem., **150**, 47, 1943. 8) 藤田, 実験消化器病学, **12**, 797, 1937. 9) Hikasa, The Review of Physical Chem. of Japan, **22**, 1952. 10) 日笠, 日本外科学会雑誌, **51**, 395, 1951. 11) 林, 京府医大誌, **19**, 301, **19**, 404, **21**, 875, 1937. 12) 井上, 臨床の進歩, **1**, 154, 1949. 13) Itoh, The Journal of Biochem., **30**, 2. 14) 片山, 日新医学, **24**, 950, 1935. 15) 近藤, 京都医誌, **36**, 715, 1939. 16) Kimura, Tohoku J. Exp. Med., **30**, 315, 1937. 17) 森井, 日本病理学会 (第42回) 発表, 1953. 18) 中村, 福岡医学雑誌, **20**, 647, 1927. 19) 大森, 日新医学, **12**, 487. 20) Roger, C. R. Soc. Biol., **87**, 24, 1922. 21) 齊藤, 光電比色計による臨床化学検査, 南山堂. 22) Sinclair, J. Biol. Chem., **82**, 117, 1929, **115**, 211, 1936, **121**, 361, 1937. 23) Stetten, J. Biol. Chem., **138**, 437, 1941. 24) Tucker, J. Biol. Chem., **121**, 479, 1937. 25) Van de Kammer, J. Biol. Chem., **177**, 347, 1949. 26) Verzar, Biochem. Z., **276**, 11, 1953; **285**, 356; **288**, 356, 1936. 27) 矢崎, 新大病理研究報告, **49**, 1937. 28) 安田, 日生化会報, **17**, 1, 1942. 29) 柳澤, 結核, **11**, 9, 896, 1933. 30) 財津, 日本外科宝函, **23**, 2, 151, 1954.