

Weil-Malherbe and Bone 法による 血清中 Catecholamine 定量法及びその 3, 4 の応用について

京都大学医学部外科学教室第2講座 (指導: 青柳安誠教授)

杉 谷 章

(昭和34年8月10日受付)

THE EXPERIMENTAL STUDY ON THE CONCENTRATION OF PLASMA CATECHOLAMINE IN VARIOUS STATES BY WEIL-MALHERBE AND BONE'S METHOD

by

AKIRA SUGITANI

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

SUMMARY

(1) In this research, the concentration of catecholamine (CA) in human or canine plasma was measured by WEIL-MALHERBE and BONE's ethylene diamine condensation method, which had been modified by me in following points. i) Batch method was used in alumina adsorption process instead of column method, ii) Filters of fluoromether was so selected that the fluorescence of adrenaline equaled to that of noradrenaline. And thus fluorescence measured by my method revealed the sum of absolute value of adrenaline and noradrenaline.

(2) The concentration of CA in normal human antecubital venous plasma was estimated in my method as 3.6 γ /L (1.1-5.8 γ /L).

(3) In extremities, intestine, spleen, and liver (canine), the concentration of CA in venous plasma of each organs was higher than in corresponding arterial plasma.

But in lung (canine) contrary, the concentration of CA in pulmonary venous plasma was lower than in pulmonary artery.

These facts reveal that, i) CA is excreted from sympathetic ending in various organs and ii) CA in blood is destroyed partially in the lung.

(4) The author assayed the changes of CA concentration in venous plasma in various clinical states as follows, i) In hypertensive attack of a pheochromocytoma patient, CA in venous plasma reached to 36.6 γ /L. ii) Changes of CA concentration in general anesthesia and lumbar anesthesia were inconstant. iii)

Fatal anoxia in dog by thoracotomy caused CA concentration to rise 3-5 times higher than preoperative level. iv) In electroconvulsive therapy, CA concentration in venous plasma increased 3 times higher than preshock level.

(5) When portal pressure was lowered by experimental constriction of inferior mesenteric artery and coeliac artery in non-splenectomized dog, the CA concentration in portal vein increased. Contrary, CA concentration in portal vein returned to normal value when portal pressure was raised to original level. But in splenectomized dog these reactions were not found. If portal vein was constricted in trunk, peripheral portal pressure was markedly raised, but portal pressure in the liver was reduced. In this constriction, changes of CA concentration in portal vein were inconstant both in splenectomized and non-splenectomized.

In this connection, it seems that spleen plays a part of role in keeping the portal pressure by secreting CA into portal vein.

(6) I assayed the portal pressure and portal CA before and after splenectomy in BANTI's diseases and hemolytic jaundices, but I could not find the significant changes of portal CA.

緒 言

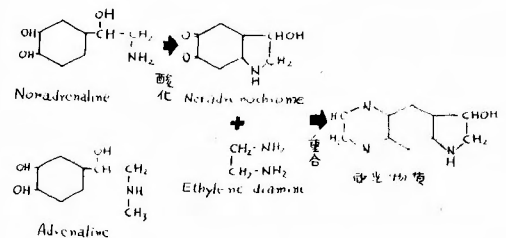
体液中よりの Catecholamine (以下 CA と略す) 量の測定は副腎機能の消長、自律神経活動の状況を知る上に極めて有用な方法である。併し此の測定は体液中 CA が特定の場合以外は極めて微量であるから、種々の方法が案出されたにかかわらず現在でも極めて困難だとされている。体液中 CA の定量の最初の試みは、種々の Bioassay によりはじめられた¹⁾。此の方法は面倒な上に不安定ではあるが、いまもたの一部に使用されている。此の欠点を除く為其後多数の化学的定量法が案出されて実用されたが、現在では Lund による Trihydroxyindol-法²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾と Weil-Malherbe and Bone による Ethylene diamine 縮合法⁶⁾⁷⁾⁸⁾が一般に認められている。また血清中 CA の測定にも此の二者の種々の変法が用いられている。^{9)~20)30)35)36)34)}私は種々比較検討の結果 Lund 法よりも更に感度の高い Weil-Malherbe and Bone 法を応用して而も少しく改良して血清中 CA の定量を試みた。

註；CA とは Catechol 核を有する Ethylmonoamine を総称したもので、その中でも特に Adrenaline と Noradrenaline の事を指す。

第1章 血清中 CA 定量法

(1) Weil-Malherbe and Bone 氏法の原法⁶⁾

この方法は血清中からアルミナ吸着法で CA を抽出し、これを Ethylene diamine と縮合させて螢光体を作りその螢光を比色する方法である(第1図)。この方法は次の様にして実施される。



第1図 Weil-Malherbe & Bone 氏-Ethylene diamine 縮合法の原理

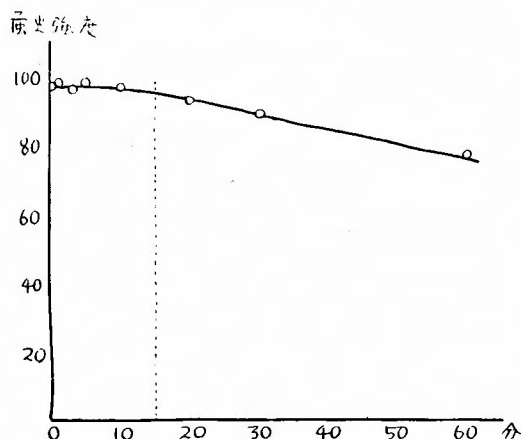
先ず 2% NaF, 3% Na₂S₂O₈ 混液 5cc を入れた注射器で 20cc まで採血し、それから血清を分離。これを pH8.4 に調整してクロマトグラフ用アルミナ柱を通し CA を吸着させ、柱を水洗後 0.2N 酢酸 5cc で洗ひ出して Eluate とする。次にこれに Ethylene diamine 0.7cc, 2M Ethylene diamine HCl 0.5cc を加え、50°C で 20分加熱した後、冷却して Isobutanol 10cc 及び NaCl 4g を加えて抽出。CA は Ethylene

diamine 縮合体を作り、これは Isobutanol 層に移るからこの蛍光を測定するのである。彼等は Adrenaline と Noradrenaline の作る蛍光体が、各々蛍光波長を異にする事から、蛍光計の2次フィルターを変えて両者を分離定量した。

(2) Weil-Malherbe and Bone 氏法の検討

i) 測定操作中のCAの分解

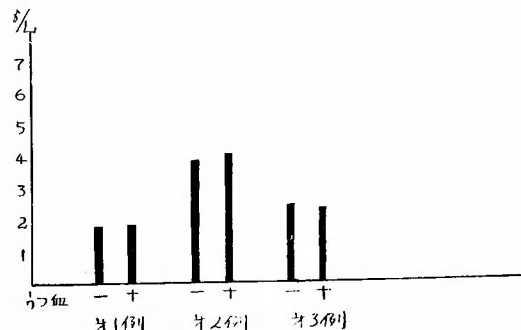
CAはアルカリ性の Medium 中では極めて酸化されやすい物質であるから、操作中の損失は常に考慮されねばならない。併し私の経験によると、採血後そのまま室温に放置しておいても約5時間まではCA量に変化は起らなかった。又アルミナ吸着操作はpH8.5で行うのであるが、これは図2の様にその時間が15分以内なら損失はほとんど無視出来る。



第2図 20 γ /dl. の N. A. 等量混合液を pH8.5 とし Magnetic-Stirrer ではげしくまぜながら時間おきに試料を採取して CA 量を定量。約 15 分 以内では CA 量に変化はない。

ii) 採血時の条件

人体では肘静脈から採血することが最も多いが、この時脈血帯により肘静脈の鬱血を起させると血管の交感神経緊張が変つて、CA 量に変化を来しはせぬかと



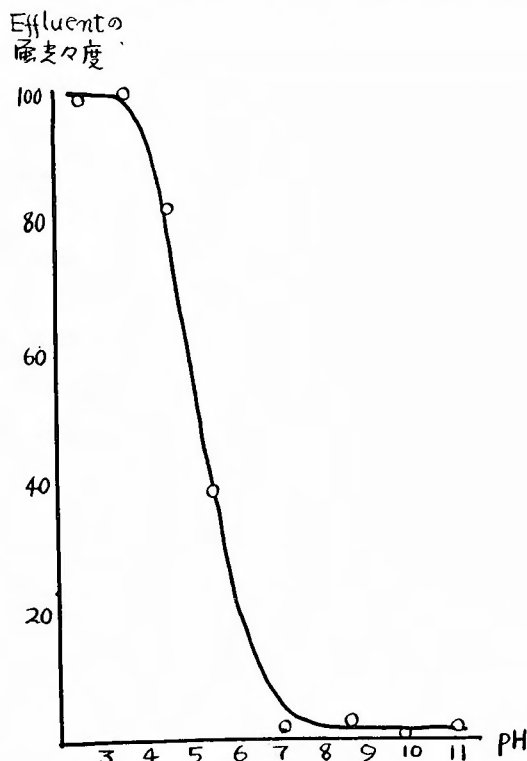
第3図 鬱血及非鬱血時の肘静脈内の CA 量。

いう疑問がおこる。併しこの点について検討の結果図3の様に鬱血、非鬱血時の血清中 CA にはほとんど変化は認められなかった。

採血時に溶血を起した血清中の CA は増加することが多い。これは血球に附着している CA が溶出する為であろう²¹⁾。

iii) アルミナへの吸着

原法ではカラム法によつてゐるが、これは面倒な上に試料をアルカリ性にして柱を通す時間が相当かかり、この間に CA の分解をおこすおそれが多分にある。そこで私はアルミナを血清中に直接投入してこの pH を 8.5 としてから振盪混和し、グラスフィルターで濾過して、残つたアルミナから CA を洗い出す方法をとつた。CA のこの方法による各 pH でのアルミナへの吸着率は図4の如くである。なお此処に使つたアルミナは Merck の Brockmann 処方のもを塩酸で煮



第4図 Noradrenaline の各 pH でのアルミナへの吸着率

沸、更に塩酸の消失するまで水洗、400°C で2時間加熱したものである。私はこの外に和光クロマトグラフ用アルミナ 200M 及び 300M も用いて回収率を検したが、何れも特に変りはなかった。

原法では吸着時の血清のpH調整に、pH-メーターを用いて正確に8.4としたが、私は単にpH-試験紙で(T-B紙)調整するのみとした。この程度で十分に吸着は安定であつた(図4参照)

iv) 重合及び Isobutanol 中への抽出

原法通りに行つた。ここに使ふ Ethylene diamine には和光印98%純エチレンジアミンを用い、これを数回再蒸溜して、氷室中で結晶を作る程度に純化して使用した。Ethylene diamine は不純なままでは盲螢光が強いので、この試薬の精製はこの方法の要点の一つである。

Ethylene diamine HCl はエタノールで再結晶してから用いた。

Isobutanol は再蒸溜をくりかえせば純水以下の盲螢光とすることが出来る。以上の試薬は何れも可及的盲螢光をへらして用いぬと測定は不成功に終る。

v) 螢光測定

八木式微量螢光計を使用。原法の如く2次フィルターにより Adrenaline と Noradrenaline の分離定量を行つてみようを試みたが、フィルターの波長特性と明るさが両立せず、誤差があまりに大きいことを認めたのでこれは行わなかつた。そして1次及び2次フィルターを適当にえらんで Adrenaline と Noradrenaline の螢光光度がそれぞれ等しい様にして、CA全体としての螢光を測定した時、それがすぐに Adrenaline と Noradrenaline の絶体値の和になる様にした。そしてその為にはビタミン定量用のUVV₁、及びUVO₁、フィルターを使えばいいことがわかつた。

vi) 標準液とブランク

標準液には三共製薬の注射用0.1%ノルアドレナリン液を当日2γ/ccにうすめて用いた。これは Noradrenaline の結晶から直接作つた標準液との再度の比較で十分正確であることを知つた。

ブランクは原法通りの Reagent-Blanc を用いた。

(3) 私の 変 法

以上述べた検討をもとにして私は表1の様な方法を採用した。

この方法によると、人血清中に加えたCAの回収率は表2及び図5の様であり、安定した値を示した。CAを先ず全血に加えてから直ちに血清を分離して同様な回収率曲線を作つてみると、その回収率は血清からの場合に比べて低く、かつ不安定である(図6)。これは加えたCAの一部が血球に吸着される為である

う。

表1 Weil-Malherbe and Bone 氏法に準じた血清中 Catecholamine 定量法 (杉谷)

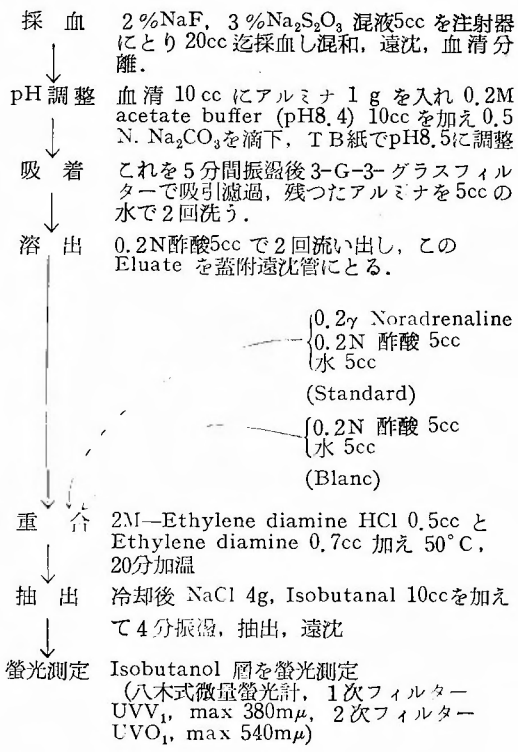
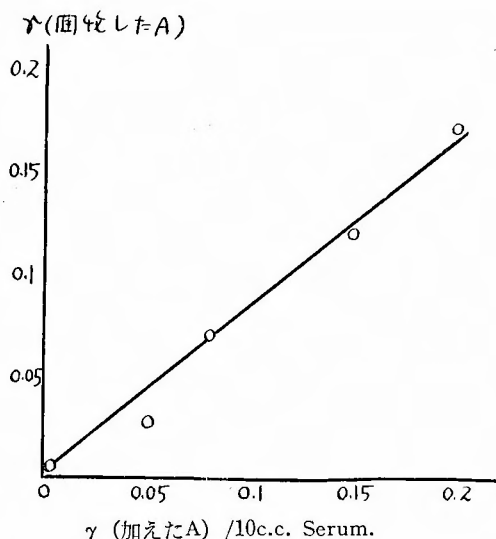


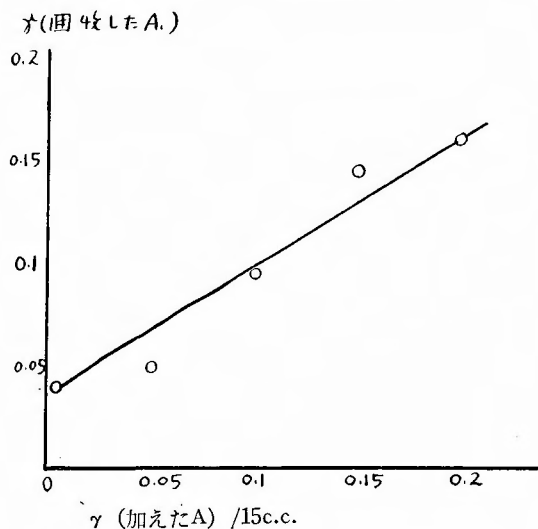
表2 人血清に加えた Adrenaline の回収率

例	人血清に 加えた γ/10cc	回収した γ	回収率 %
1	0.200	0.17	85
2	"	0.16	80
3	"	0.15	74
4	0.040	0.034	85
5	"	0.034	85
6	0.025	0.021	84
7	0.020	0.015	77

平均 82 ± 4 %



第5図 正常人血清に各濃度の Adrenaline を加えた時の回収曲線
直線を示し、此の図の回収率は80%



第6図 正常人全血に各濃度の Adrenaline を加えて得た回収曲線、回収率は60%

Weil-Malherbe and Bone 氏法の特異性に関しては種々の批判があつて、例えば Euler¹⁾ はこの方法で測定した血清中 C A 量は他の間接的な方法による計算値に比べて高すぎるといつているし、今泉、佐野²²⁾等はこの方法では Adrenaline と Noradrenaline の外に酸・中性 Catechols, DOPA 等も測定されているとしている。それでこの方法で測定した血清中 C A 量をそのまま Adrenaline と Noradrenaline のみの値であ

るとするのは危険であろう。併し以下述べる実験の様に同一個体で而も短時間内の変化を比較するか、或は十分大量の変化を来す様な場合には大体この変化は Adrenaline と Noradrenaline によるものと考えてよいようである。

第2章 動・静脈内 C A 量について

(1) 健康人静脈血清内 C A 量

Weil-Malherbe and Bone⁶⁾によると、正常病院勤務者54例について血清中総 C A 量は 3.39 ± 0.043 γ/L (但し Adrenaline に換算)、又は分離定量で⁷⁾⁸⁾ Adrenaline = 1.18 (♂) ~ 1.46 (♀) γ/L Noradrenaline = 5.29 (♂) ~ 5.16 (♀) γ/L である。

私の測定では28例平均 $3.6 \gamma/L$ ($1.1 \sim 5.8 \gamma/L$) であつた (表3)。

表3 正常人安静横臥時の静脈内 C A 量

例	γ/L	例	γ/L
1	2.6	15	2.9
2	3.2	16	2.2
3	1.6	17	2.5
4	2.8	18	1.8
5	1.1	19	4.8
6	2.8	20	2.3
7	2.2	21	2.2
8	3.8	22	1.8
9	2.5	23	3.9
10	3.8	24	1.4
11	5.8	25	4.5
12	4.7	26	2.7
13	5.5	27	2.2
14	5.2	28	1.1

平均 $3.6 \gamma/L$

これらの値は既に述べた様に、或人によると正常静脈血清中のものとしては過大であるという。例えば Price and Price⁹⁾ によると Trihydroxyindol 法で $0.35 \gamma/L$ (Adrenaline + Noradrenaline), 又 Lund²³⁾ によれば牛血清中 C A 量を $1.2 \sim 1.8 \gamma/L$ としている。

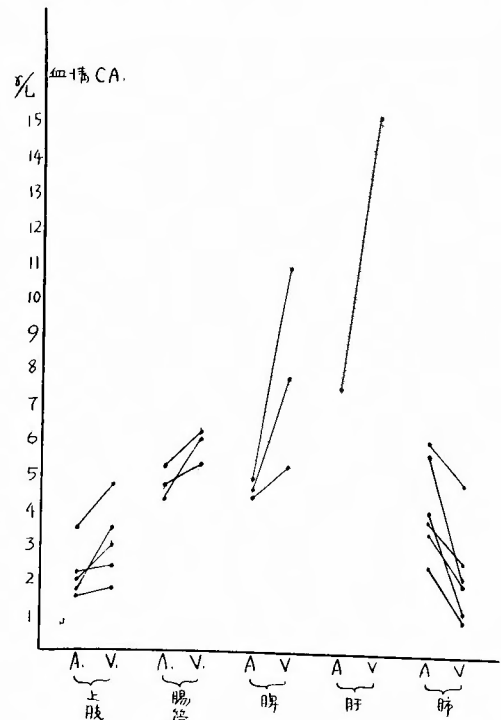
(2) 動・静脈間の血清 C A 量の差について

C A 濃度が動・静脈間で差があることは、Weil-Malherbe²¹⁾、阪本²⁴⁾、Price and Price⁹⁾ 等によつてすでに指摘されているが、これは Noradrenaline が末梢血管又は組織に分布する交感神経末梢から分泌さ

れているものであることを考えると当然のことである。私は、体静脈中にこの様にして増量した Noradrenaline は、再び動脈血として末梢に至る間のどこかで処理されていなければならないと考え、この事実を更にくわしく追試した。CAは流血中では保護物質が存在するために、著しく安定であるとされている¹⁾。

- 試料採取法；試料はすべて健常成犬である。
- a) 後肢 イソミタール麻酔下の股動脈と股静脈から同時に採血してCA量を比較。
 - b) 脾 同様麻酔下に開腹し、脾動・静脈より採血。
 - c) 腸管 b) 同様に腸間膜動・静脈より採血。
 - d) 肝 b) 同様開腹して門脈及び肝静脈(V. cava inferior からカテーテルを挿入して採取)から採血。即ちこの場合は門脈-肝静脈系についての比較である。
 - e) 肺 イソミタール麻酔下に気管内換管し、酸素で人工呼吸を行いながら開胸、中又は下肺葉動・静脈から採血。

実験結果 図7に示す様に肺以外のすべての臓器で



第7図 動・静脈間の血清中CA量の差

静脈血の方が動脈血よりもCA量は多い。ただ肺は唯一の例外臓器で、肺静脈血の方が肺動脈血よりもCAはいつでも少ない。このCAの減少は Noradrenaline の減少によるものである。なぜならば、図示のようにCAの肺における減少量は1.5~3.5γ/Lであるが、Adrenaline の血清中濃度はこれよりずっと少ない故、これが Adrenaline の減少のみによるものではあり得ないからである。

元来 Adrenaline は副腎から血中に分泌されて全身臓器に分布し、そこで消費される Hormone である。事実 Adrenaline は必ず動脈内濃度の方が静脈内に比し高いことが阪本²⁴⁾、Weil-Malherbe²⁵⁾等により認められている。併し Noradrenaline は副腎からも多少は分泌されていて血圧保持に役立つのはいるが、大部分は交感神経伝達物質としてその末梢から分泌されているのである。そして Noradrenaline はその分泌された局所で Amine oxidase により²⁵⁾ (この Amine oxidase については異論もあるが)²⁶⁾²⁷⁾ 一部分解されて一部は血中に遊出して来ると考えられている²⁸⁾。もし上に述べたように、肺に於て多量に処理されているものとすれば、ある臓器の交感神経活動によつて分泌された Noradrenaline が直ちに全身に行きわたることなく、ひとまず肺でうけとめられるから、全身血圧の Homeostasis は変化をみるのが少ないわけで、一応合目的性の存在とも考えられるのである。

第3章 Pheochromocytoma 患者及び種々の Stress を加えた場合の血清中CAについて

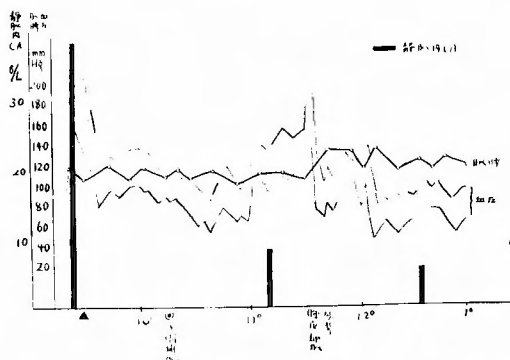
(1) Pheochromocytoma 患者における血清中CA量

Pheochromocytoma の組織中にCAが多量に含まれている事は Holton²⁹⁾ により発見され、このCAと患者の高血圧発作を主とする症状の発生機構の間の関係を確認したのは Engel & Euler³⁰⁾ である。其後 Linn³¹⁾ はこの患者の高血圧発作時の血清中にCAの増量を Trihydroxyindol 法により見出し、又 Euler et al³²⁾ は腫瘍静脈中から Bioassay でCAの増量を見出している。私は Pheochromocytoma の一例において、高血圧発作中に血清中CA増量を私の改良法によつて見出した。

症例 23才♀、昭和23年2月から発作性高血圧、糖尿、視力低下を訴えている患者。薬物試験及び尿中

CA 排出増加 (Adrenaline=1.5 γ /24h, Noradrenaline=約5000 γ /24h) で Pheochromocytoma と診断され、34年3月腫瘤 (125g) を摘出された。この腫瘤中には Adrenaline=8.0 γ /g, Noradrenaline=22,000 γ /g を含有し、組織的にも定型的 Pheochromocytoma であった。

この患者の手術時に血清中 CA を定量したのが図 8 である。手術開始前の高血圧発作は麻酔の為の気管内換管時に起つたもので、この時に著明な CA 増量 (36.6 γ /L) を来している。



第 8 図 Pheochromocytoma 摘出時の血清中 CA

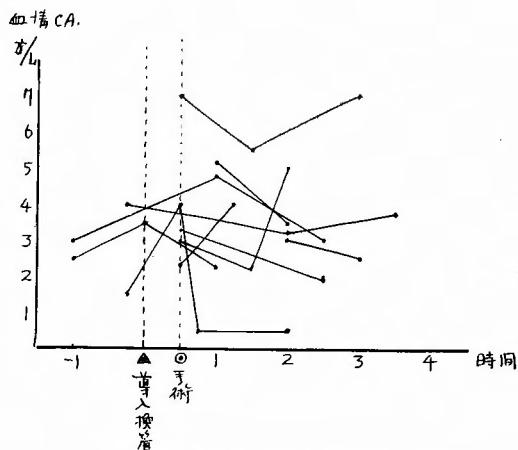
(2) 麻酔時の血清中 CA 量について

外科手術の際の麻酔が、血清中 CA に及ぼす影響はかなり複雑で、その深度、前処置にもよるが、手術操作にも関係がある。

a) 全身麻酔 症例は麻酔のみ 1 例、胆嚢摘出 1 例、部分的胃切除 8 例である。何れも経過順調で特に事故のなかった例のみである。麻酔の方式は何れも、手術前夜にラボナ 50mg 2 錠、当日手術前 2 時間にラボナ 2 錠、1 時間前に硫酸アトロピン 0.5mg + ドロムラン 3mg 皮下注射、ラボナル + サクシンで導入して気管内換管、維持はエーテル、笑気によりⅢ期 2 相に保持。

肘静脈内の血清中 CA 濃度は図示のようで (第 9 図)、麻酔導入後 1~2 時間は減少している例が多い。そして其後 3~4 時間目までに増加して来る例がある。この初期の減少は麻酔による自律神経緊張の低下によるもので、其後の増加は手術による出血、其他の Shock 傾向の影響と考えられないこともないが、これ等の変化は何れもあまりはつきりしたものではない。Miller³³⁾ は犬の Pentobarbital 麻酔時に血中 CA は 30% の減少を示すといっている。併し Hamm-

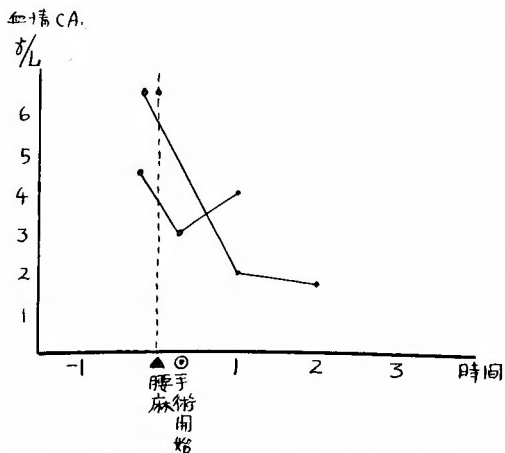
ond et al³⁴⁾ が麻酔、手術、外傷の血中 CA への影響を調べたところ、麻酔、又は特に Shock を起きなかつた大手術に於ては CA の変化に一般的な法則はなかつた。



第 9 図 全身麻酔時の血清 CA 量

b) 腰椎麻酔 56才の右副睪丸結核及び55才の左副睪丸結核の2例の摘出術時の腰椎麻酔について測定。2例共4%ナルコス0.3+0.3ccを術前1時間及び30分に注射したのみで、エフェドリン、其他の昇圧剤は一切用いながつた。ペルカミン-S 2.3ccを用い2例共膈高迄知覚麻痺を来した。

図10の様に腰麻前は CA 量は高値を示していて、麻酔後は直ちに減少した。1例では2時間後も減少した値のままで、値の1例は1時間後には上昇してほとんど麻酔前と同値となつた。



第10図 腰椎麻酔時血清中 CA 量

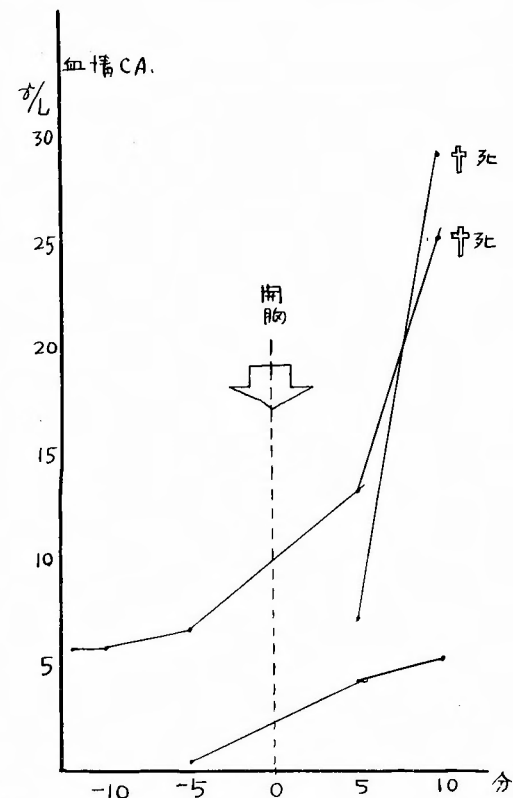
Hammond et al³⁴⁾ は痔核手術の腰麻でC A量がほとんど変化しなかつた1例をあげている。私の2例における血清中C Aの減少傾向は、如何なるものかはつきりしないが、恐らく腰麻による下半身の交感神経麻痺によるものではなかろうか。

(3) Anoxia 時の血清中 C A量

Anoxia 時に血圧上昇、頻脈等が現れる事は周知の事実である。而もこの時は副腎機能が亢進している事が Dunér³⁷⁾, Euler & Folkow³⁸⁾ 等によつて認められている。

実験 7~10kg の健康成犬をネンブタールで麻酔して、両側開胸。犬は換気量減少、酸素欠乏で10分前後で死亡する。この間に腹部大動脈から採血した。

結果 C A量は開胸前の3~5倍に増量した(第11図)。猫で、死に至るが如き窒息を起させると副腎髓質の分泌は数十倍に増加すると Euler & Folkow は述べているが、私の測定した血中C Aの増量中には Noradrenaline も含まれているから増加率に差があるであろう。



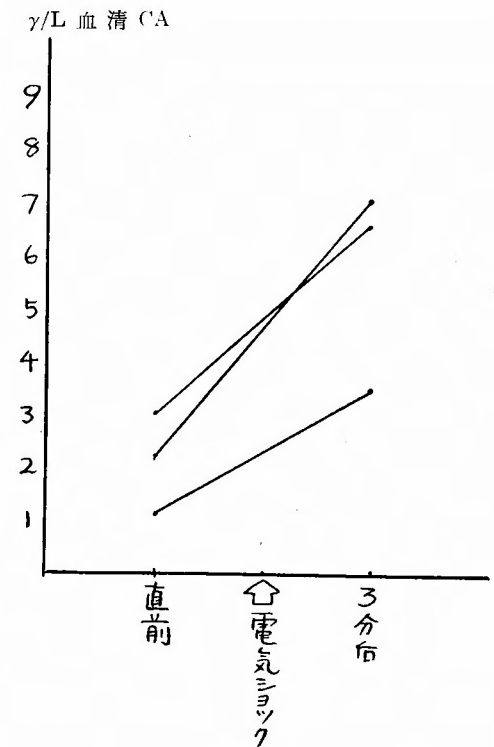
第11図 犬の Anoxia 時の血清中C A量

(4) 電気ショック療法時の血清中C A量

外来性の Stress が血清中C A量にいかなる影響を及ぼすのかを検査するために、その Stress の一つとして精神科の電気ショック療法時を選んだ。

即ち3例の慢性化した分裂症患者について検査した。前処置なしで、条件は 100V, 3sec, 電極は 両側頭、肘静脈から採血した。

3例共に血清中C Aの著明な増量をみた(第12図)。



第12図 電気ショック療法前後の血清中C A量

Weil-Malherbe²¹⁾ は、人において電気ショック時に血清中 Adrenaline の増加をみ、 Pekkarinen³⁹⁾ は家兎に電気ショックを行うと副腎の肥大することを認めている。また Sourkes et al⁴⁰⁾ も人の電気ショックで血清中C Aの増量をみている。

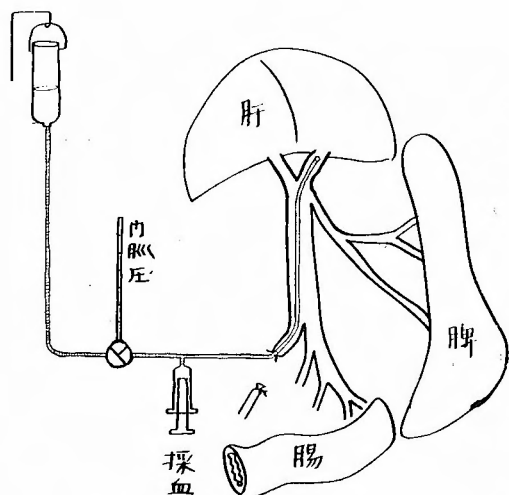
第4章 門脈内C A量と脾との関係

脾は門脈配下の臓器のうちで、交感神経のみで支配されている唯一のものであり、他の臓器に比べてC A含量は最も多い⁴¹⁾。そこで脾が門脈内に分泌するであろうC Aが、門脈圧と何等かの関係があるのではない

かという点をたしかめるために次の様な実験を行った。

実験方法 (1) 試験は4~14kgの成犬。

Nembutal で静注麻酔して、脊位に固定、正中線で開腹し、適当な腸間膜静脈からビニール管を門脈根部迄入れて、これを門脈圧測定、採血用とする(第13図)。



第13図 犬の門脈圧測定と血液採取法

(2) 門脈圧を変化させる方法

i) *A. coeliaca* と *A. mesenterica inferior* の根部を剝離して2%キシロカインで十分周囲を麻痺させ、そこに糸をかけて開腹創外に出して創はいつたん閉じておく。そしてこの糸をひけば動脈狭窄を起し、門脈圧は下降する。またこの索引の工合で30mm H₂O~5mm H₂O まで自由に門脈圧を下げる事ができる。糸をゆるめると圧は直ちに旧に復する。この方法は門脈圧を変化させる以外には、他の影響はほとんど認められない。この際 *A. coeliaca* 或いは *A. mesenterica inferior* のいずれか一方のみを狭窄しても門脈圧はほとんど下らない。

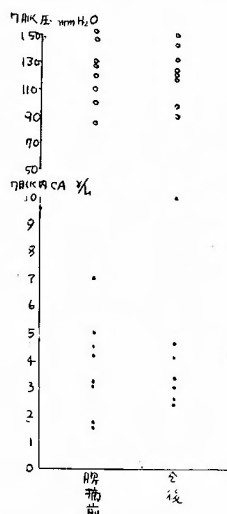
ii) 門脈で肝門部に同様に糸をかけると門脈圧は著明に上昇する。併しこの時は肝自身は反対に血流がへり、肝内門脈圧は下降しているわけである。

(3) 以上の門脈圧変化と狭窄の開放を約10分間において交互に実施して、圧変化のほぼまん中の時間で門脈血を採取してC A量を測定することとする。

実験結果

(1) 24例の Nembutal の麻酔下の開腹犬において

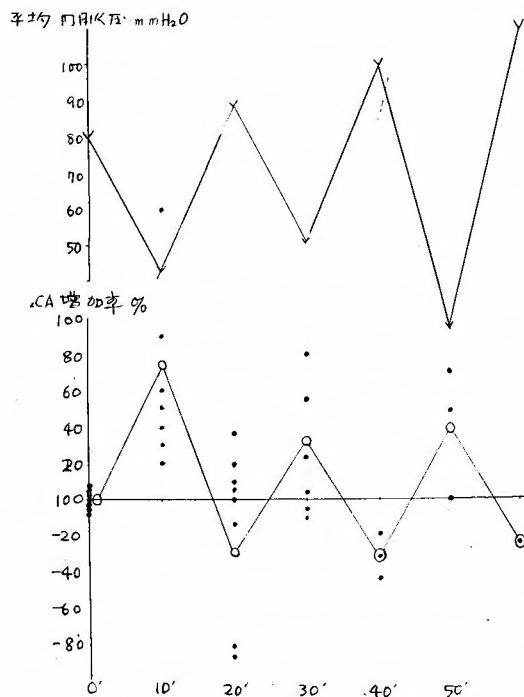
は、門脈圧は平均110mmH₂Oであつた。この中8例について脾摘を行つたが、門脈圧の変動に一定の変化はみられなかつた。又脾摘により門脈内C A量にも一定の傾向はみられなかつた(第14図)。脾摘と門脈圧



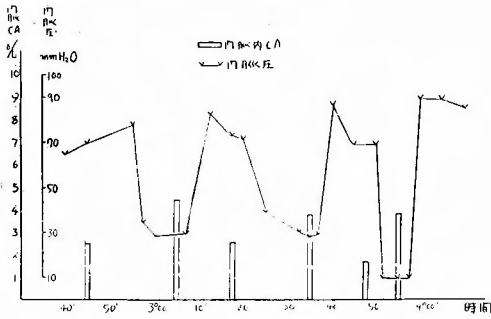
第14図 脾摘前後の門脈圧及び門脈内C A量

の関係については政所¹⁴⁾もほぼ同様のことを述べている。

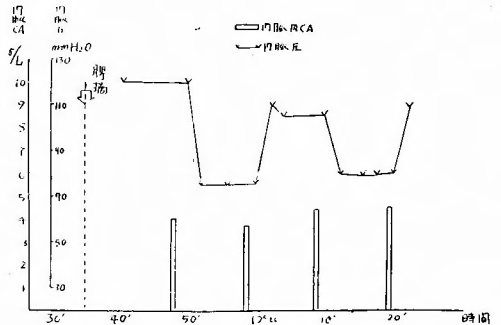
(2) 7例の非脾摘犬について *A. coeliaca* と *A. mesenterica inferior* の狭窄による門脈圧降下実験を行なつた。門脈圧が狭窄により下降すると門脈内C Aは全例において増量し、狭窄を外すと圧は旧に復してC A量は減少してもとの値となつた。そしてこの反応はくりかえして起すことが出来た(第15、16図)。



第15図 *A. Coeliaca* と *A. Mesent. inf.* の狭窄で門脈圧降下を来した時の門脈圧と門脈内C A (非脾摘犬)

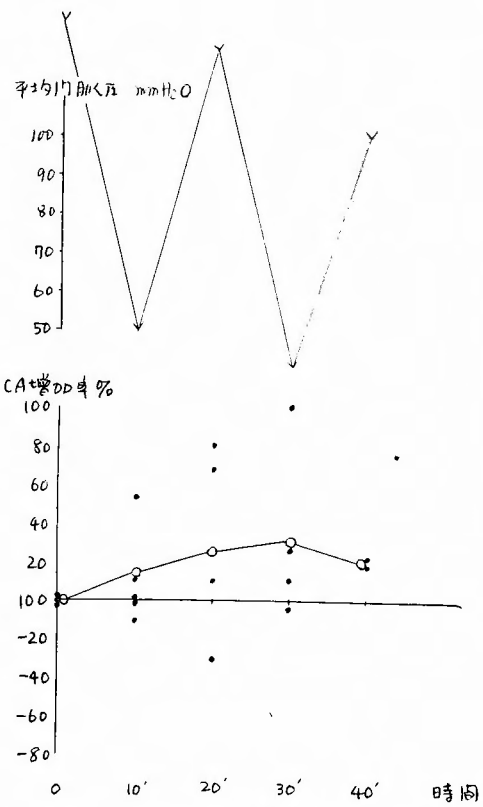


第16図 動脈の狭窄により門脈圧を降下させた時の門脈内C.A. 門脈圧下降でC.A.の増量を見る。(脾摘せず)(第15図の中の一例.)



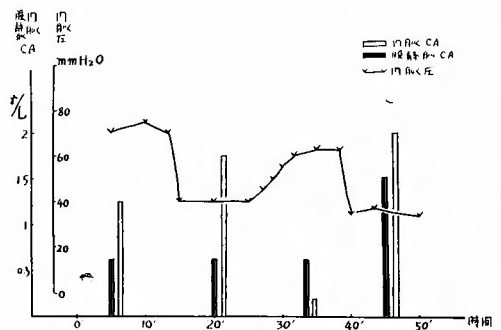
第18図 第15図同様の門脈圧変化を脾摘犬に行った。CA-反応なし。(第17図中の一例)

同様の実験を5例の脾摘犬について行くと脾が存する場合に起るC.A.量の変化は消失して一定の傾向を示さなくなった(第17, 18図)。

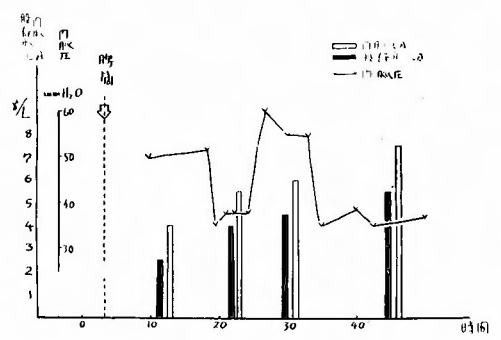


第17図 第15図同様、脾摘犬について。

門脈よりの採血と同時にV. femoralis から同時に採血してそのC.A.量を比較すると、脾の存在する時は門脈内C.A.量と股静脈内C.A.量は全く異なつた動きを示し、脾摘した例では平行して変化した(第19, 20図)

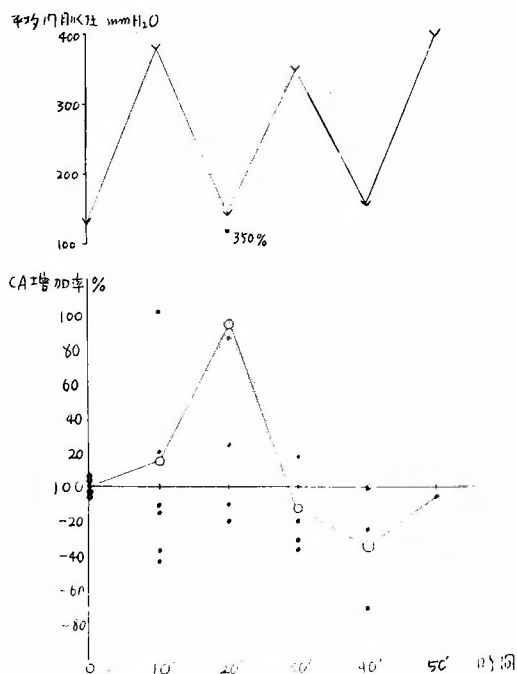


第19図 動脈狭窄(第15図同様)による門脈圧変化による門脈C.A.と股静脈C.A.の変化。脾摘行はず。門脈C.A.は門脈圧と逆に変化している。股静脈C.A.に変化なし。

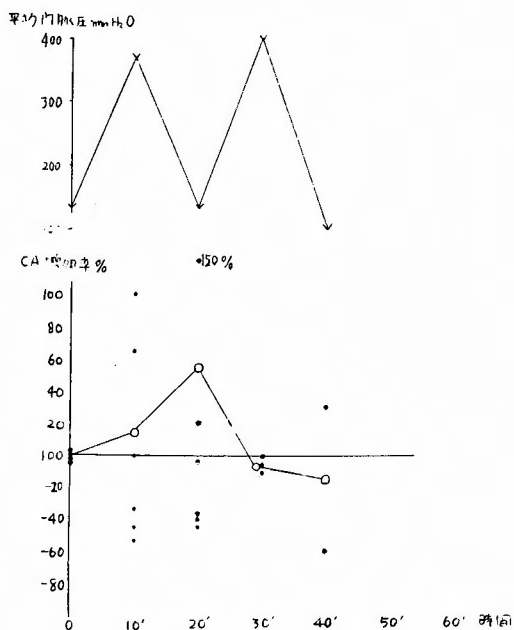


第20図 第19図に同じ(脾摘犬について)

(3) 6例の犬について門脈根部の狭窄により門脈圧変化を起させた。この時は門脈圧変化とCA量との間



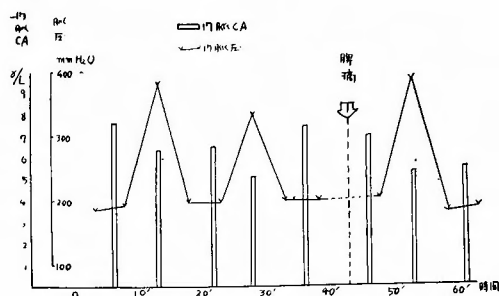
第21図 門脈狭窄で門脈圧を上昇させた時の門脈内CA。(脾摘せず)



第22図 第21図同様 (脾摘犬)

には特定の関係は見出せなかつた。

5例の脾摘を行つた犬についても同様なことを行つてみたが、やはり門脈内CAの変化は不規則、かつ不定であつた(第21, 22, 23図)。



第23図 門脈狭窄による門脈圧変化と門脈内CA。途中で脾摘を行う。CA反応不定

実験結果の考察

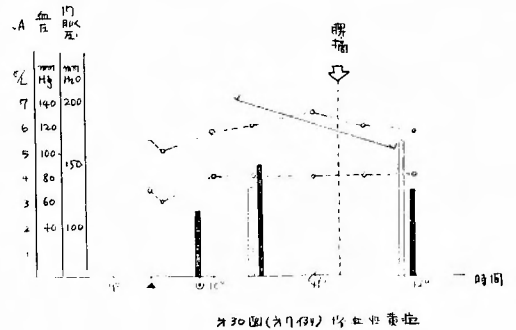
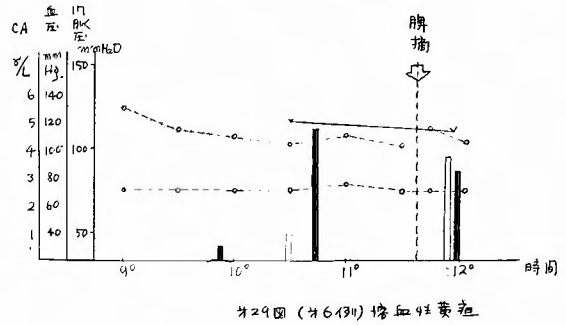
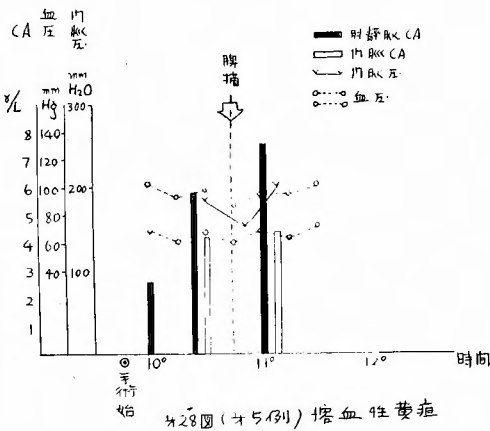
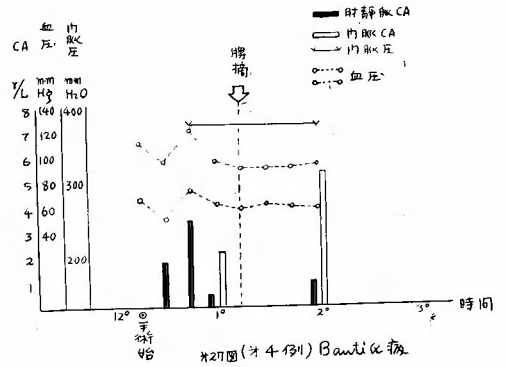
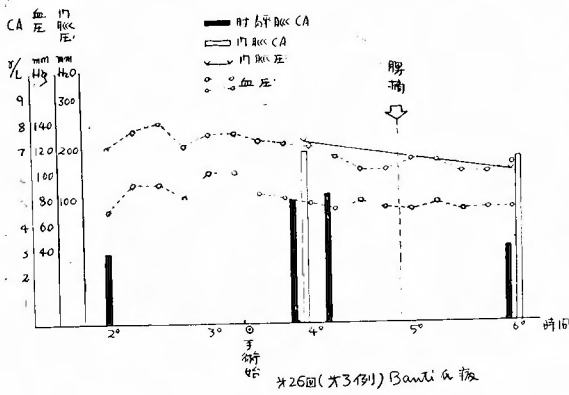
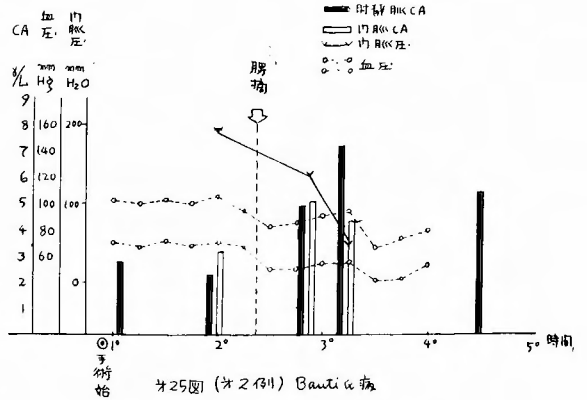
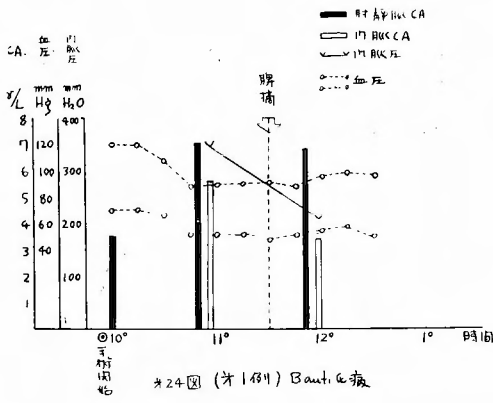
実験結果(2)によれば、脾は門脈圧を低下させるとCAを門脈内に分泌していることがわかる。そしてこの事実が実験操作により起つた全身循環系内のCAの変化によるものではないことは股静脈内CA量と門脈内CA量の比較実験(図19, 20)によつてもわかる。即ち門脈内CAは脾の存在する時に限り股静脈内CAとは異なつた変動(門脈圧と反比例した)を示すのであるから、これが脾に原因することはたしかである。

この事実から考えると、脾は門脈圧低下をCAの分泌で防いでいると想像することができるのである。

又実験結果(3)よりすれば、門脈圧上昇に対して脾は特定の反応を示さない様にみえる。併しこの場合には、門脈圧が上昇して脾はその影響をうけているが、肝自身は反対に門脈圧低下として感じているわけであり、この点で門脈圧下降の実験とは異なつてゐる。これが脾のCA分泌の不定な原因かもしれない。併しここではその断定は出来ない。

第5章 人における肥大脾摘出時の門脈内CA量の変化について

前述の実験で、健康成犬では脾摘により門脈圧及び門脈内CA量に変化の起らぬこと、及び門脈圧下降に対して脾はCAを分泌していることを知つた。然らば人の病的肥大脾の摘出時には門脈内CAはどの様な変化を示しているのだろうか。私は4例のBanti氏病と3例の溶血性黄疸について脾摘前後の門脈圧と門脈内CAの関係を検討した。なお対照として胃切除術の4例について、術中の門脈内CA量を測定した。



症例は表 4 の如くである。何れの症例についてもラボナル、サクシン導入、エーテル、笑気維持で麻酔が行われ、門腹直直ちに腸間膜静脈からカテーテルを門脈根部に入れて門脈圧測定及び採血用とした。

表 4

症例	診断	腹肝脾(水硬g)	脾摘前の	
			門脈圧	門脈CA
1 43才	Banti氏病	—	750	350 ^{mm} _{H₂O} 5.6γ/L
2 37才♀	"	++	590	190 " 3.1 "
3 46才♀	"	—+	1130	210 " 6.8 "
4 36才♂	"	+++	860	375 " 2.2 "
5 22才♂	溶血性黄疸	—	—	180 " 4.2 "
6 20才♀	"	—	380	115 " 1.0 "
7 31才♂	"	—	480	200 " 3.5 "
8 51才♀	胃潰瘍	—	—	3.1 " }
9 45才♀	"	—	—	2.0 " }
10 34才♂	"	—	—	1.8 " }
11 48才♂	"	—	—	4.0 " }

平均
2.8γ/L

結 果

脾腫のある場合は、対照 4 例に比べて門脈内 C A 量の多いことがあるが、常にそうであるかどうかはこれだけでは断定出来ない。又門脈圧と C A 量の関係に対する脾摘の影響は不定であつた。元来第 4 章の実験における脾の C A 分泌は、健全な腫が門脈圧の降下に対して行うものであるから Banti 氏病脾のような病的な脾ではその分泌態度がいかに変化するかは今後更に検討を要する問題である。また上計の症例においての門脈内 C A 量の変動には他の臓器特に腸管の分泌する C A を考慮に入れねばならないであろう。

第 6 章 考 案

微量の血清中 C A 量を測定出来るほど感度の高い化学的方法は、いまのところ Lund 法と Weil-Malherbe and Bone 法の二つしかないが、このほかに Shaw⁴²⁾ Raab⁴³⁾ 等は血清中 C A をアルカリ還元比色法で定量した。併しこれもほかの種々の比色法⁴⁴⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾と共に特異性の点で難点があつて現在では広く認められていない。また Lund 法は私の経験によると Weil-Malherbe and Bone 法に比べて特異性は高いが感度が十分でなく、そして致命的な欠点として C A を酸化して Trihydroxyindol とする時の反応が不安定だという

ことがある⁴⁷⁾。そこで私は後者を既述のように改変して血清中 C A 量の定量に応用したのである。

第 2 章に述べたように in vitro の C A が肺に於てよく処理されるという事実は Noradrenaline の体循環内での消長という点からみて極めて興味ある事実である。而もこの事実はまた誰も指摘したものはなく、私によつて初めて見出された肺と Noradrenaline との関係である。

第 3 章において、私は C A 量の変動が著明であると思われる場合をえらんで測定してみたが、Pheochromocytoma の場合は Weil-Malherbe and Bone 氏法による血中 C A 量測定としては世界で最初の一例である。又急激な Stress を受けた場合の血清中 C A の変動を知る為に Anoxia、電気ショック療法時にも測定したが、この場合は C A 量の増加を来した。併しこれは主として Adrenaline の増加によるもので、Noradrenaline の増加は 2 次的であることがすでにたしかめられているのである。また腰推及び全身麻酔時の血清中 C A には一定の変化を得ることが出来なかつたが、これは更にこまかく条件を検討すれば興味ある事実をつかめるにちがいない。

第 4 章で述べた門脈内 C A と脾との関係については、脾は門脈圧低下に対する調節作用として C A を分泌すると考えた。そしてこの事実と病的脾腫、又は門脈圧亢進と何か関連がないかと考えて第 5 章の測定を行つたのであるが、これは断定を下しうような成績をうる事が出来なかつた。Streicher⁴⁸⁾によると、犬を瀉血して門脈圧を下げた場合、脾摘犬では非脾摘犬に比べてその回復がおそいし、この瀉血による同時性の全身血圧下降も、やはり脾摘犬ではおそいといひ、彼はしかもその理由については何も述べていないが、これは脾の C A 分泌と関係しているのではなからうかと思われる。この点は更に検討を重ねる必要があらう。

総括及び結論

1) 私は血清中 C A を定量する為に Weil-Malherbe and Bone 氏法を次の点で改変した。i) C A のアルミナ吸着には、カラム法をやめてアルミナを直接血清中に投入し、グラスフィルターで濾過する方法をとつた。ii) 蛍光計のフィルマーを選んで Adrenaline と Noradrenaline の発する蛍光を 1:1 とする様にして、これにより標準液を Adrenaline 又は Noradrenaline の何れを用いても、求めた総 C A 量

は Adrenaline と Noradrenaline の絶対値の和になるようにした。

2) この方法による健常人肘静脈内血清 C A 量は $3.6\gamma/L$ ($1.1\sim 5.8\gamma/L$) である。

3) 健常成犬の後肢、腸管、脾、肝についてこれらに分布する動・静脈の C A 量を測定すると、何れも静脈側に C A が多い。併し肺のみではこの関係は逆で、静脈側は動脈側よりも少ない。これは交感神経末梢で分泌された Noradrenaline が肺で何等かの形で処理されているからであろう。

4) この方法により種々の場合の血清中 C A 量を測定した。i) Pheochromocytoma 患者の高血圧発作時には $36.6\gamma/L$ に増加していた。

ii) 人の麻酔による血清中 C A 量の変動は不定であつた。iii) 犬の Anoxia 時には正常の $3\sim 5$ 倍に増加していた。iv) 精神分裂症患者の電気ショック療法時には施行前の約 3 倍に増加した。v) 犬について、門脈圧を A. coeliaca と A. mesenterica inferior の狭窄により下降させると門脈内 C A は増加し、狭窄を外して圧を旧に復させると C A 量も減少した。この反応は脾摘により消失した。又門脈圧を門脈根部の狭窄で上昇させても門脈 C A 量に一定の変化は起らず、脾摘によつても変化はなかつた。vi) 人の病的脾腫摘出前後の門脈圧及び門脈内 C A 量を測定したが、脾摘の影響は複雑で、脾の C A 分泌という観点のみから結論を出すことは出来なかつた。

参 考 文 献

- 1) Euler, U. S. v.: Noradrenaline. Charles C Thomas Publisher, 1956.
- 2) Lund, A.: Fluorimetric Determination of Adrenaline in Blood. I. Isolation of the Fluorescent Oxidation Product of Adrenaline. Act. Pharmacol. et Toxicol., **5**, 75, 1949.
- 3) Lund, A.: Fluorimetric Determination of Adrenaline in Blood. II. The Chemical Constitution of Adrenolutine (The Fluorescent Oxidation Product of Adrenaline). Act. Pharmacol. et Toxicol., **5**, 121, 1949.
- 4) Lund, A.: Fluorimetric Determination of Adrenaline in Blood. III. A New Sensitive and Specific Method. Acta Pharmacol. et Toxicol., **5**, 231, 1949.
- 5) Lund, A.: Simultaneous Fluorimetric Determination of Adrenaline in Blood. Act. Pharmacol. et Toxicol., **6**, 137, 1950.
- 6) Weil-Malherbe, H. and Bone, A. D.: The Clinical Estimation of Adrenaline-like Substances in Blood. Biochem. J., **51**, 311, 1952.
- 7) Weil-Malherbe, H. and Bone, A. D.: The Adrenergic Amines of Human Blood. Lancet, **264**, 974, 1953.
- 8) Weil-Malherbe, H. and Bone, A. D.: On the Occurrence of Adrenaline and Noradrenaline in Blood. Biochem. J., **58**, 132, 1954.
- 9) Pekkariinnen, A.: Studies on the Chemical Determination, Occurrence and Metabolism of Adrenaline in the Animal Organism. Acta Physiol. Scandinav., **16**, Suppl. 54, 1948.
- 10) Crawford, T. B. B. & Outshoorn, A. S.: The Quantitative Separation of Adrenaline and Noradrenaline in Biological Fluids and Tissue Extracts. Brit. J. Pharmacol., **6**, 8~19, 1951.
- 11) Schmitterl w, C. G.: The Nature and Occurrence of Pressor and Depressor Substances in Extracts from Blood Vessels. Act. Physiol. Scandinav., **16**, Suppl. 56, 1948.
- 12) Whitehorn, J. C.: A Chemical Method for Estimation of Epinephrine in Blood. J. Biol. Chem., **168**, 633~643, 1935.
- 13) Sobel, C. & Henry, R. J.: Determination of Catecholamines. (Adrenaline and Noradrenaline) in Urine and Tissue. Am. J. Cl. in. Path., **27**, 240, 1957.
- 14) 政所修治: 門脈圧の変動に関する実験的研究, 医学研究, **28**, 7, 234, 1958.
- 15) Pitkänen: Studies on the Determination and Excretion of Adrenaline and Noradrenaline in the Urine. Act. Physiol. Scandinav., **38**, Suppl. 130, 1956.
- 16) Goldenberg, M. et al.: Chemical Screening Methods for the Diagnosis of Pheochromocytoma. Am. J. Med., **16**, 310, 1954.
- 17) Moulton & Willoughby: A Short Screening Test for Pheochromocytoma. Lancet, **269**, 16, 1955.
- 18) Johnson, R. B.: An Improved Method for the Chemical Determination of Urinary Catechol Amines. J. Lab. & Clin. Med., **51**, 956, 1958.
- 19) Price, H. L. & Price, M. L.: The Chemical Estimation of Epinephrine and Norepinephrine in Human and Canine Plasma, Critique of Trihydroxyindol Method. J. Lab. & Clin. Med., **50**, 769, 1957.
- 20) Euler, U. S. v. & Floding, I.: Diagnosis of Pheochromocytoma by Fluorimetric Estimation of Adrenaline and Noradrenaline. Scandinav. J. Clin. Lab. Invest., **8**, 4, 1956.

- 21) Weil-Malherbe, H. : The Concentration of Adrenaline in Human Plasma and Its Relation to Mental Activity. *J. Mental Sci.*, **101**, 733, 1955.
- 22) 今治礼治, 佐野馨 : カテコラミン定量法の進歩, 内分泌会誌, **33**, 937, 1958.
- 23) Lund, A. : Adrenaline and Noradrenaline, Pressence in Organism, Secretion and Elimination. Köpeuhamn, Mnnksgaard, 1951.
(1)より引用)
- 24) 阪本健二 : 未発表
- 25) Guyton, A. C. and Gillespie, W. M. : Constant Infusion of Epinephrine, Rate of Epinephrine Secretion and Destruction in the Body. *Am. J. Physiol.*, **165**, 319, 1951.
- 26) Imazumi, R., and Kawamoto, K. : Studies on the Adrenalinedehydrogenase in Blood (I.) *Med. J. Osaka Univ.*, **3**, 269, 1952.
- 27) Imazumi, R., Kawamoto, K., Kita, T., and Sato, H. : Studies on the Adrenaline-dehydrogenase in Blood (II) . *Med. J. Osaka Univ.*, **3**, 279, 1952.
- 28) Celander, O., and Folkow, B. : A Comparison of the Sympathetic vasomotor fibre control of the vessels within the Skin and the Muscles. *Acta Physiol. Scandinav.*, **29**, 241, 1953.
- 29) Holton, P. : Noradrenaline in Adrenal Medullary Tumours. *Nature.*, **163**, 217, 1949.
- 30) Engel, A. and Euler, N. S. v. : Diagnostic Value of Increased Urinary output of Noradrenaline and Adrenaline in Pheochromocytoma, *Lancet*, **259**, 387, 1950.
- 31) Lund, A. : Adrenaline and Noradrenaline in Blood and Urine in Cases of Pheochromocytoma. *Scandinav. J. Clin. and Lab. Invest.*, **4**, 263, 1952.
- 32) Euler, U. A. v. et al. : Report of a Case of Pheochromocytoma with Special Regard to Preoperative Diagnostic Problems, *Acta Medica. Scandinav.*, **153**, 127, 1955.
- 33) Miller. : *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **87**, 487, 1954.
- 34) Hammond, W. G., Aronow, L., Moore, F. D. : Studies in Surgical Endocrinology. III. Plasma Concentration of Epinephrine and Norepinephrine in Anesthesia, Trauma and Surgery as Measured by a Modification of the Method of Weil-Malherbe and Bone., *Ann. Surgery*, **144**, 715, 1956.
- 35) Persky, H. and Roston, S. : The Quantitative Determination of Adrenaline and Noradrenaline in Mixtures. *Science*, **118**, 381, 1953.
- 36) Manger et al. . A Method for Quantitative Estimation of Epinephrine and Norepinephrine. *Proc. Staff. Meeting. Mayo Clinic*, **28**, 526, 1953.
- 37) Dunér : (1)より引用
- 38) Eurlé, U. S. v. und Folkow, B. : Einfluss verschiedeuer afferenter Nervenreiz auf die Zusammensetzung der Nebennierenmarkinkretes bei der Katze. *Arch. experim. Path. und Pharmacol.*, **219**, 242, 1953.
- 39) Pekkarinen, A., Hakala, H., and Hyppönen, K. : On the Effects of Electric Shock on the Adrenals of the Rabbit. *Acta Endocrinol.*, **10**, 167, 1952.
- 40) Sourks, T. L., Sloane, R. B., and Drujan, B. D. : Pyrocatechol Amine (Catecholamine) Metabolism and Effects of Electroconvulsive Therapy., *A. M. A. Archives of Neurol. & Psychiat.*
- 41) Euler, U. S. v., and Purkhold, A. : Effect of Sympathetic Denervation on the Noradrenaline Content of the Spleen, Kidney, and Salivary Gland in the Sheep, *Ata. Physiol. Scandinav.*, **24**, 214, 1951.
- 42) Shaw, F. H. The Estimation of Adrenaline. *Biochem. J.*, **32**, 16~25, 1938.
- 43) Raab, W. : Adrenaline and Related Substances in Blood and Tissue. *Biochem. J.*, **37**, 470~473, 1943.
- 44) Euler, U. S. v. & Hamburg, U. : Colorimetric Estimation of Noradrenaline in the Presence of Adrenaline. *Science*, **110**, 561, 1949.
- 45) 尾崎敏行 : ノルアドレナリン及びアドレナリン混合物についてのtt色定量法並に副腎エクスへの応用, *The Tohoku J. of Exper. Med.* **61**, 1, 昭29.
- 46) Ghosh, N. C. : Colorimetric Determination of Epinephrine in Blood and Adrenal Gland. *J. Biol. Chem.*, **192**, 867, 1951.
- 47) 杉谷, 由良 : 未発表
- 48) Streicher, H. J. : Pathophysiologische Grundlage der Splenektomie. *Langenbeck's Archiv für klin. Chirurgie und deutsche Zeitsch. Chirurgie*, **289**, 614, 1958.