

実験的糖尿病発症に及ぼす脂質投与の影響

京都大学医学部外科学教室第2講座 (指導: 青柳安誠教授)

里 村 紀 作

(原稿受付 昭和34年1月29日)

EFFECT OF DIETARY FAT ON THE INCIDENCE OF EXPERIMENTAL DIABETES

by

KISAKU SATOMURA

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School

(Director: Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

In 1945 Houssay and his co-workers found that dietary factors influenced on the incidence of alloxan diabetes, and that dietary fats played an important role.

György and Rose (1949) have demonstrated that α -tocopherol acts to prevent the occurrence of liver necrosis and reduces the toxicity of alloxan.

Nieman supported Houssay's theory with the results of his study on butter fat and peanut oil.

On the other hand, undue opinion on fat metabolism and its influence on the body has long been prevalent.

Fats consisted of highly unsaturated fatty acids, eicosenoic acid, docosenoic acid and lower fatty acids are injurious to the organs more or less, while those consisted only of higher saturated fatty acids show favorable effects. Namely, there are some differences in the effects of various fats on the body according to their fatty acid composition.

The author postulated that there must be some differences in the incidence of alloxan diabetes among the rats fed various fats.

We have performed a series of experiments on these subjects and proved the following facts.

1) When rats were fed diets containing one of various fats, the growth rate of the rats fed sesame oil was the highest and that of those fed cod liver oil the lowest.

2) When diets containing one of various synthetic triglycerides (C_8 , 8, 10, 18, 18 and triolein) were given to the rats, we could hardly find any difference in the growth rate, but the growth rate of the rats fed tristearin was relatively low. Since melting point of tristearin is so much higher than others that its absorption in intestine is very low.

3) The incidence of alloxan diabetes of rats fed sesame oil was the lowest, and that of those fed fat free diet, butter fat or cod liver oil was relatively high.

4) On the other hand, groups fed one of C_6 , C_8 and C_{18} showed higher incidences of alloxan diabetes than those fed C_{10} , C_{16} or oleic. But the rats fed C_{18} diet showed nearly the same condition as the group fed fat free diet, because the absorption rate of C_{18} was very low.

5) There was proved no relationship between the growth rate and the incidence of alloxan diabetes among these rats.

6) By the study on blood sugar level after alloxan injection to the rats fed sesame oil, cod liver oil or fat free diet, it has been found that the latter two groups show higher values than the sesame oil group.

7) One of the most important causes of the different incidences of alloxan diabetes among rats fed various fats is considered as the difference in effects of the fats to the liver and liver function.

8) The reason of the difference in the incidence of alloxan diabetes between the rats fed sesame oil and those fed fat free diet is not in regenerative function of the β -cells of the both, but in the condition of the β -cells itself at the time of alloxan injection.

9) A rat may fall in pancreatic diabetes, when diabetogenic substances combine with the intracellular zinc of the β -cell. In this case the average number of β -cells in one islet are lower than 20~18.

目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料及研究方法

第1節 実験材料

- I) 使用動物
- II) 飼 料
- III) 使用脂質
 - a. 天然油脂
 - b. 合成単一グリセライド

第2節 研究方法

- I) Alloxanによる糖尿病発症率及び死亡率に関する実験
- II) 脂質の消化吸収についての実験方法
- III) 肝機能検査法
- IV) 膵組織学的検索
- V) Langerhans 氏島亜鉛の生体染色について
- VI) Dithizone の血中濃度の測定法

第3章 実験成績及び考按

第1節 各種脂酸と Alloxan 糖尿病発症との関連性についての実験成績

- 第1項 天然油脂を使用した実験成績
 - 1) 体重増加について
 - 2) 糖尿病発症状況
 - i) 無脂質食投与群
 - ii) ゴマ油投与群
 - iii) オリーブ油投与群
 - iv) ヤシ油投与群

v) バター脂投与群

vi) 肝油投与群

3) 第1項の小括

第2項 合成単一グリセライドによる実験成績

- 1) 体重増加について
- 2) 糖尿病発症状況
 - i) トリステアリン投与群
 - ii) トリカブリン投与群, トリパルミチン投与群及びトリオレイン投与群
 - iii) トリカブリン投与群
 - iv) トリカプロイン投与群

3) 合成トリグリセライドの消化吸収について

4) 第2項の小括

第2節 Alloxan糖尿病発症に及ぼす脂質投与の作用機転の解明

- 第1項 Alloxan 投与後の血糖曲線の変動
- 第2項 各種脂質含有食投与ラットの肝機能検査
- 第3項 Alloxan 投与ラットの Langerhans 氏島の組織学的所見
- 第4項 Langerhans 氏島 β 細胞内亜鉛の生体染色
- 第5項 血中 Dithizone 濃度の推移に関する実験成績

第4章 要約及び結語

第1章 緒 言

Dunn 等及び Bailey 等によつて Alloxan による糖尿病の発症が発見されて以来、糖尿病に関する実験的研究が種々行われ検討されて来た。而もその発症防止物質として各種ビタミン、天然有機物質、或は合成化学薬品等が追究されていて、実験的糖尿病の発症に防止的に働く物質の作用機転に関しては、Lazarow の Glutathione 説、或は岡本の亜鉛説等がある。即ち Lazarow は Langerhans 氏島の β 細胞はその機能的な関係から、Glutathione が他の臓器組織細胞よりも少なく、為に SH 基に対して酸化的に作用する Alloxan が生体に加えられると、 β 細胞が特に強く影響を受け、糖尿病を発症するのであらうと考えた。事実シスチン、グルタチオン等 SH 基を有する物質が Alloxan 糖尿病発症に防止的に作用することが認められている。また一方岡本は、生体内に於て組織化学的に証明し得る亜鉛が他の臓器よりも Langerhans 氏島、殊に β 細胞内に多い事実を発見して、これが糖尿病に重要な意義を有するものと考え、種々検討した結果、糖尿病亜鉛説を樹てた。即ち同氏及び門田は、亜鉛結合性物質である Dithizone, Oxine 等に糖尿病発症作用のあることを発見し、更に Alloxan 及び之等発症物質によつて起る糖尿病は、Anthranil 酸、Quinaldin 酸等の無害性亜鉛結合物質によつて防止されることを明らかにした。

さて試獣の食餌が Alloxan 糖尿病の発症に影響を及ぼすという事実については、1945年 Houssay 等が初めて報告し、その後更に飼料に含まれる脂質の種類が、糖尿病発症に重要な役割を有しており、油脂の沃素価によつて発症率が左右されると主張している。即ち不飽和脂肪酸を多く含む脂質ほど発症率が高く、飽和脂肪酸含有脂質食で飼育したラットの発症率はかなり低いと述べている。他方 György, Rose 等は脂溶性ビタミンである α -Tocopherol の働きを重視しており、特に Alloxan の toxic action の防止には、肝壊死に対すると同様 α -Tocopherol が有効であると報告している。又 Nieman は落花生油とバター脂を用いて、その含有食で飼育したラットの Alloxan に対する感受性に差を認め、Houssay 等の説を支持している。

われわれの教室では夙に脂質の生体内代謝過程及びその生体に及ぼす影響について研究して来たが、その研究成績を要約すれば、低級脂肪酸や高度不飽和脂肪酸（二重結合4個以上有する不飽和脂肪酸をこう呼称して

いる）、ドコセン酸、エイコセン酸等を含有する肝油、バター脂等は大小なり生体各臓器に支障を及ぼし高級飽和脂肪酸、オレイン酸、必須脂肪酸のみからなるトリグリセライドを含むゴマ油のような脂質は、生体に好影響をもたらすという結論に達している。私はこのように、脂質の種類によつて生体に及ぼす作用が、著しく異なる事実から、実験的糖尿病に対する試獣の素因についても、食餌中の投与脂質の種類による差が当然表われるものと考え次のような実験を施行した。即ちまづ5種類の天然油脂及び無脂質食投与ラットについて、Alloxan 糖尿病発症率を比較検討し、次いで合成単一グリセライドによる同様の実験を行い、脂質の生体に及ぼす影響についてのわれわれの考え方が如何に妥当なものであるかを、斯かる観点からも立証し得たと同時に、実験的糖尿病に及ぼす投与脂質の種類による差が如何ような作用機転を介して現われるものかを、Dithizone 法による Langerhans 氏島生体染色、及び肝機能検査によつて或程度まで明らかにすることができたと共に、岡本の亜鉛説を再確認し得たのである。

第2章 実験材料及び研究方法

第1節 実験材料

I) 使用動物

100g 前後の Wistar 系雄性ラット12~19匹を1群として、20°C恒温室に於て夫々の飼料で30日間飼育し実験に供した。なお試獣の食慾の如何は糖尿病発症に大きく関与すると考えられるので、全試獣は生後30日（体重約50g）からオリエンタル酵母工業社製固形飼料で飼育し、体重増加の様なもののみ使用し、100g 前後に達してから試験食を与えた。

II) 飼 料

飼料の組成は第1表に示す通りで、この組成は

第1表 飼料の組成

	無 脂 質 食	高 脂 質 食
小 麦 粉	60g	10g
トウモロコシ粉	52〃	25〃
カ ゼ イ ン	20〃	20〃
酵 母	5〃	5〃
混 合 塩	2〃	2〃
(Mc Collum)		
脂 質	—	30〃

各種ビタミン

第2表に示す

第2表 投与各種ビタミン量
各飼料 100g につき

Biotin	15μg
Folic acid	100μg
Thiamine HCl	600μg
Riboflavin	750μg
Ca-Pantothenate	1500μg
Pyridoxine HCl	750μg
Nicotinic acid	6mg
Choline chloride	100mg
Inositol	300mg
B ₁₂	0.2γ
C	33mg
K	0.4mg
A	540 i. u.
D ₂	45 i. u.
α-Tocopherol	0.2mg

Houssay 等のものに準じたが、1, 2の改変を加えた。特に留意した点はビタミンA及びD源としての肝油を排して、代りに Kramár 氏の調剤法に準じて調剤した Vitamin mixture を与えた(第2表)。

Ⅲ) 使用脂質

a. 天然油脂：ゴマ油、オリーブ油、ヤシ油、及びバター脂の5種。これ等脂質の脂酸組成については、教室の丹、戸部、及び牧が逆相ペーパークロマトグラフィを応用して分析し、その詳細は第3表に示す通りである。上記5種の油脂を選んだ理由は、バター脂及びヤシ油は低級脂酸を含み、肝油は高度不飽和脂酸ドコセン酸、エイコセン酸を含有するのに反して、ゴマ油、オリーブ油は高級飽和脂酸、オレイン酸、必須脂酸のみから成り、低級脂酸や高度不飽和酸を全く含有していないからである。

b. 合成単一グリセライド：第5表に示すようにト

リカプロイン、トリカプリリン、トリカブリン、トリパルミチン、トリステアリン、トリオレインの6種について検討した。前5者は Verkade 氏等に依り直接法で合成し、トリオレインのみは酸クロライド法によった。ここに直接合成法を表示すると(第4表)、その合成過程に於て亜鉛末を触媒として用いる事実は、岡本の糖尿病亜鉛説を併せ考えると甚だ興味深いものがある。

第2節 研究方法

I) Alloxanによる糖尿病発症率及び死亡率に関する実験

各試験飼料で30日間飼育し、12時間絶食後1% Alloxan 水溶液の調製直後のものを、体重1kg 当り 160mg の割合に腹腔内に注射し、その後3, 6, 9日目の尿糖を Benedict 氏法で検し、更に10日目、12時間絶食後の血糖値を Somogyi-Nelson 氏法で測定した。これらの結果尿糖が常に(+)以上、且つ血糖値 150mg/dl 以上のものを持続性糖尿病と判定し、またこの間の死亡数を比較した。

なお Alloxan は Merk 社製のものをを用い、その投与量の決定には第7表を参考としたが、この量は Houssay 等が用いた量と同じである。Benedict 氏法による尿糖濃度の判定は第6表に従った。又 Alloxan 投与後は全試験とも無脂質食を与えた。

Ⅱ) 脂質の消化吸収についての実験方法

各群1週間分の糞便を集め Van de Kamer 氏法でその中に含まれる総脂質量を測り、投与摂取脂質量より吸収率及びその量を算出した。

Ⅲ) 肝機能検査法

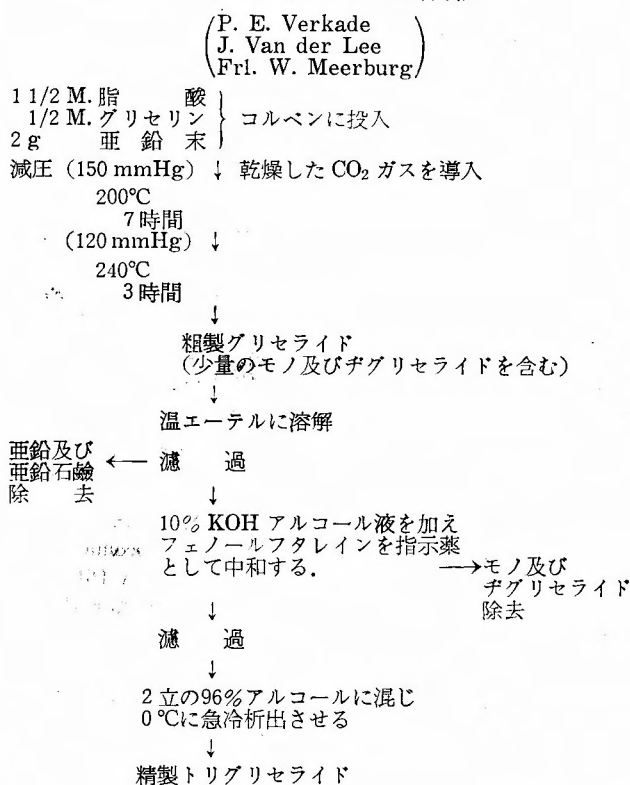
Wang 氏等に依り、Bromsulphalein Clearance 法を用いた。即ち V. jugularis から Bromsulphalein

第3表 Fatty Acid Composition of Fat and Oils Used

	Butyric (C ₄)	Caproic (C ₆)	Caprylic (C ₈)	Capric (C ₁₀)	Lauric (C ₁₂)	Myristic (C ₁₄)	Palmitic (C ₁₆)	Stearic (C ₁₈)	Arachidic (C ₂₀)	Oleic (C ₁₈ F ₁)	Linoleic (C ₁₈ F ₂)	Linolenic (C ₁₈ F ₃)	Eicosenoic (C ₂₀ F ₁)	Docosenoic (C ₂₂ F ₁)	High Unsat. (≥F ₂)	Jod. No.	Sap. No.	
Sesame Oil	—	—	—	—	—	+	+	+	—	##	##	+	—	—	—	117.5	189.0	Takemoto yushi Co.
Olive Oil	—	—	—	—	—	+	##	+	±	##	##	—	±	+	—	87.0	191.1	J. P. VI
*Coconut Oil	—	±	+	+	##	##	##	+	±	±	±	—	—	—	—	14.2	257.7	J. P. VI
Butter Fat	+	+	+	+	+	+	+	##	±	##	±	—	—	+	—	35.8	231.9	"Snow" mark
Cod Liver Oil	—	—	—	—	—	+	+	+	—	##	+	+	+	+	##	151.5	185.6	Hokkaido-Nyugyo Co. Ltd. "Megane" mark

* ヤシ油の組成のみは日本薬局法、及び油脂化学便覧による

第4表 単トリグリセライド合成法



第5表 Synthetic Triglycerides Used

		Sap. No.	Jod No.	M. P. °C	Materials and Synthetic Method
Tricaproin (C ₆)		435.5	0	(-25)	Synthesized by Direct Method (by Verkade's) (Fatty Acids and Glycerol Were Offered by Nihon-yushi Co.)
Tricaprylin (C ₈)		357.6	0	10	
Tricaprin (C ₁₀)		303.4	0	30	
Tripalmitin (C ₁₆)		208.5	0	β65.5 α56 γ45	
Tristearin (C ₁₈)		188.8	0	β71.5 α64 γ54.5	
Triolein (C ₁₈ F ₁)		157	89	(10.9) ~1.5	Synthesized by Acid-Chloride Method Offered by Sansuiso-yushi Co.

*.....各トリグリセライドの融点, ().....油脂化学便覧による

C₁₆, C₁₈ は投与時融解, 急冷し, α 及び γ 型を多く含む形で使用した.

・...オレイン酸の M. P.

5mg と Evan's Blue 0.9mg を注入, 正確に5分後心
穿刺によつて 0.5cc 採血し, 生理的食塩水で10倍に稀
釈し 3000r.p.m. 20分間遠沈, その上清を Beckmann
氏比色計で測定 (波長 575mμ), 全流血量を算定し,
ついで10% NaOH 液 0.01cc を加え再度測定して, 前

記読みとの差から Bromsulphalein の濃度を知り, 両
者から5分後の Bromsulphalein Clearance rate を
算出して比較した.

IV) 脾組織学的検索

ラッテを屠殺し, 脾を頭部, 体部, 尾部の3部分に

第6表 Benedict 氏法による尿糖濃度判定規準

記 号	液	沈 澱	糖の濃度
一	青 色	な し	
士	青 緑 色	な し	0.02%以下
十	青 緑 色	黄 緑 色	0.02~0.2%
卅	青 緑 色	赤 褐 色	0.2~0.5%
卅	緑 色	赤 褐 色	0.5~1.5%
卅	無 色	赤 色	1.5~2%以上

第7表 Alloxan 投与量と糖尿病発症率及び死亡率との関係

Alloxan 投 与 量	ラ ッ テ 数	糖 尿 病		死 亡	
		匹 数	%	匹 数	%
100mg/kg	6	2	(33)	0	(—)
150	7	4	(57)	1	(14)
200	6	6	(100)	4	(66)

分けて採取し、Bouin 氏液を水で2倍に稀釈した液で48時間固定し、パラフィン包埋、約5μの切片を作製し Gomori 氏染色を行い、この標本について Langerhans 氏島の所見をしらべるとともに、各部とも無選択に10個以上の Langerhans 氏島について、α, β細胞数を計算し、その平均値を比較した。

V) Langerhans 氏島亜鉛の生体染色について

西塚等に従って Dithizone を使用した。即ち0.2% アンモニア液10ccに100mgの Dithizone を投入、70°C 10分間攪拌溶解させ、濾過した液を体重1kg当り15ccの割合に股静脈から注入し、脾の小部分を切除直ちに鏡検した。

VI) Dithizone の血中濃度の測定法

上記 Dithizone のアンモニア溶液を、15cc/kg の割合に静注し心穿刺によつて 0.1cc 採血、生理的食塩水2.9ccを加え、3000r. p. m. 20分遠心沈澱を行い、上清2ccに更に1% ZnSO₄液0.05cc及び生理的食塩水1.95ccを加えて Beckmann 氏比色計で測り、これを時間的に反復して血中 Dithizone の消退曲線で表わした。

第3章 実験成績及び考按

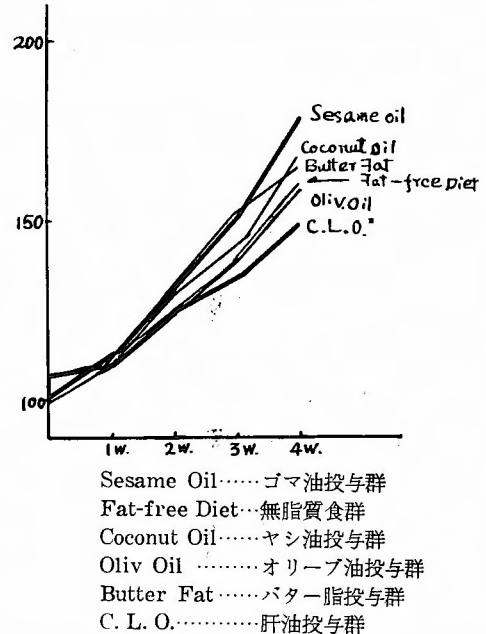
第1節 各種脂酸と Alloxan 糖尿病発症との関連性についての実験成績

第1項 天然油脂を使用した実験成績

(1) 体重増加について

体重は種々の因子によつて左右されるものであるが

第1図 各種天然脂質投与群の体重増加



一般に飼料の栄養価を示すとともに、又 Alloxan のような毒物に対しては試獣の一般状態が相当重要な意味を有するものと思われるので、注意して調べた。然るに第1図に示すように、ゴマ油投与群に於てはその増加が最大で、次いでヤシ油投与群、バター脂投与群、オリーブ油投与群、無脂質食群の順で、肝油投与群が最も低い増加を示した。

(2) 糖尿病発症状況

i) 無脂質食投与群 (第8表)

コントロールとして17匹について検討したが、No.4及びNo.7のラッテは夫々 Alloxan 投与後3日、及び4日目に死亡した。而もその何れにも尿糖は高度に証明されたが、血糖値は測定し得なかつた。この両者を合せて合計9匹のラッテが持続性糖尿病を発症したものと判定した。No.8のラッテの血糖値は、10日目150mg/dlであつたが、6日目から尿糖を証明し得ず、11日目再度測定した結果128mg/dlの値を得、非発症例として判定した。No.5, 6, 9のラッテは Polyuria, Polyphagia 等著明な糖尿病症状を呈していた。

本群の糖尿病発症率及び死亡率は、53%及び12%となり、この値は Rodriguez, Krehl が行つた実験の Natural high Carbohydrate 群についての成績とよく一致している。

ii) ゴマ油投与群 (第9表)

第8表 無脂質食投与群の発症状況

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox.inj	
				(day)					
1	100	165	65	—	—	—	82	92	
2	100	150	50	冊	+	+	96	192	D.*
3	100	155	55	冊	冊	冊	124	215	D.
4	95	140	45	冊			114	—	after 3day dead
5	135	210	75	冊	冊	冊	102	380	D.
6	120	180	60	冊	冊	冊	106	270	D.
7	110	185	75	冊			120	—	after 4day dead
8	120	180	60	±	—	—	132	150	
9	95	150	55	冊	冊	冊	88	299	D.
10	100	150	50	—	—	—	92	125	
11	105	150	45	+	+	—	120	144	
12	80	155	75	—	—	—	122	106	
13	100	160	60	冊	+	+	109	190	D.
14	90	150	60	—	±	—	85	140	
15	90	130	40	±	—	—	90	118	
16	90	160	70	+	—	—	112	120	
17	90	150	60	冊	冊	冊	101	168	D.

(mg/dl)

* D. 糖尿病発症例

第9表 ギマ油含有食投与群

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox.inj	
				(day)					
1	135	190	55	—	—	—	118	102	
2	120	185	65	±	—	—	101	133	
3	95	145	50	—	—	—	124	88	
4	95	160	65	(冊)			108	(186)	after 2day dead
5	100	200	100	—	—	—	110	98	
6	80	170	90	—	—	—	90	78	
7	80	170	90	—	±	—	98	121	
8	90	190	100	冊	冊	冊	96	220	D.
9	90	180	90	—	—	—	86	76	
10	100	165	65	—	—	—	104	114	
11	110	185	75	—	—	—	87	109	
12	105	180	75	+	—	—	104	137	
13	100	170	70	—	—	—	79	93	
14	100	170	70	—	—	—	128	93	
15	120	180	60	冊	+	+	93	158	D.
16	100	180	80	—	—	—	93	124	
17	100	190	90	—	—	—	89	137	

(mg/dl)

ギマ油投与群に於ては、17匹中糖尿病と判定されたものは3匹で、この中 No. 4 のラッテは2日後死亡した。本例は血糖値測定のために心穿刺を行い、その直

後死亡したものであつて、解剖の結果心タンポナーデの状態にあるのを認めた。

ギマ油投与群に於ては、発症例として判定した2匹

第10表 オリーブ油含有食投与群

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.	
1	95	150	55	—	—	—	120	122	
2	100	160	60	卅	卅	卅	96	164	D.
3	100	160	60	+	±	+	100	162	D.
4	95	145	50	—	—	—	112	123	
5	95	160	65	—	—	—	120	112	
6	90	150	60	+	—	—	95	131	
7	130	165	35	—	—	—	86	136	
8	110	140	30	—	—	—	120	116	
9	110	170	60	—	—	—	100	96	
10	100	170	70	—	—	—	102	134	
11	100	160	60	卅	卅	卅	115	182	D.
12	100	165	65	—	—	—	120	126	
13	80	160	80	—	—	—	89	88	
14	90	160	70	卅	卅	卅	103	206	D.
15	90	160	70	—	—	—	98	92	
16	90	160	70	卅	—	—	100	139	

(mg/dl)

第11表 ヤシ油含有食投与群

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.	
1	100	160	60	+	+	+	90	184	D.
2	100	165	65	—	—	—	83	102	
3	100	160	60	—	—	—	70	61	
4	100	155	55	±	—	—	123	138	
5	100	180	80	—	—	—	123	117	
6	100	170	70	—	—	—	100	112	
7	90	180	90	—	—	—	92	136	
8	100	180	80	(卅)			100	—	after 2day dead
9	100	165	65	—	—	—	74	63	
10	100	170	70	卅	卅		98	(268)	after 6day dead
11	110	160	50	卅	—	—	86	120	
12	110	180	70	—	—	—	102	96	
13	100	160	60	卅	卅	卅	91	196	D.
14	100	180	80	—	±	—	103	138	
15	100	180	80	—	—	—	100	98	
16	100	160	60	±	—	—	100	118	

(mg/dl)

をも含めて、無脂質食群や他の脂質投与群に比べて一般状態が良く、Alloxan 投与後も、直後24時間～48時間を除けば、食欲や体重増加も投与前と殆んど差が認められず、2匹の発症例に於ても顕著な糖尿病症状は認められなかった。

本群の発症率は、6群中最も低いものであつて上記

事実を考慮すればゴマ油が Alloxan の作用に対して抑制的に働くことが考えられる。

iii) オリーブ油投与群 (第10表)

オリーブ油投与群の発症率は、ゴマ油投与群のそれと近似した値を得たが、前述のように Alloxan 投与前に於る体重増加も低く、又投与後の一般状態もゴマ

油投与群に比べて劣るようであつた。正確に計量していないが食餌の摂取量 (Alloxan 投与後の) も少なかった。

iv) ヤシ油投与群 (第11表)

表に示す通り16匹のラットを使用して検討したが、No.8のラットは Alloxan 投与後38時間で死亡した。而もその死亡前2%以上の高濃度の糖尿を排泄するのを認め、György, Rose が指摘しているように著明な Haemoglobinuria を認めた。No.10は心穿刺後死亡したものであるが、解剖所見では心に特別異常は認められず、高度の尿糖や全身衰弱の強かつたことを考え併せると、心穿刺による死亡ではないと考えてよい。本群の発症率は予想に反して低い値を得た。ヤシ油については György 及び Rose, Houssay, Rodriguez 等も検討を加えているが、私もこれ等先人と略々同様の成績を認めたことになる。

この脂質は低級脂肪酸を含有するものとして次項のバター脂と共に取上げたのであるが、バター脂投与群の発症率と相当の開きがあり、疑問を抱かせるものであるが、この問題に関しては後述する。

v) バター脂投与群 (第12表)

6群中最も高い死亡率 (21%) を認めた。No.6, 7, 15, 17の4匹は高度の Haemoglobinuria を認めた。

vi) 肝油投与群 (第13表)

6群中最も高い糖尿病発症率を認めた。No.7は心穿刺後死亡したが、本例も心穿刺による死亡でないことを認め得た。なおNo.4, 11の2匹は Alloxan 投与後11日目に死亡した。これを考慮すると死亡率もバター脂投与群より高くなる。

本群に於ては非発症例、発症例ともに一般状態が非常に悪く、22匹をもつて実験を始めたのであるが、うち5匹は30日間の飼育 (肝油含有食による) 途中で衰弱死亡したことからも、肝油の投与が生体に著しく不利な影響を及ぼすことは明らかである。

3) 第1項の小括

以上のように5種類の天然油脂含有食及び無脂質食飼育のラットについて、Alloxan投与の影響を観察したが、その糖尿病発症率及び死亡率をまとめると第14表のようになる。即ちゴマ油投与群に於て発症率が最も低く、肝油投与群に於て最も高い。このことは、Houssay 等或は Nieman が発表しているような、脂質の沃素価のみで Alloxan の作用に対する試獣の素因の差を説明しようとする考え方では理解し得ない。因みに私が使用したゴマ油の沃素価は117.5であり、肝油のそれは154.5、又バター脂のそれは35.8であつた (第3表参照)。

第12表 バター脂含有食投与群

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox.inj.	
1	120	190	70	—	—	—	96	88	
2	120	175	55	冊	冊	冊	102	200	D.
3	110	165	55	—	—	—	82	98	
4	100	160	60	冊			100	—	after 5day dead
5	100	160	60	士	—	—	85	102	
6	120	180	60	冊			100	(327)	after 5day dead
7	115	180	65	冊			100	(292)	after 4day dead
8	110	180	70	士	—	—	86	150	
9	110	165	55	冊	+	+	90	160	D.
10	90	160	70	+	—	—	101	128	
11	100	150	50	冊	+	冊	96	156	D.
12	100	160	60	+	—	—	120	138	
13	100	160	60	—	—	—	92	78	
14	100	160	60	冊	冊	冊	102	186	D.
15	90	160	70	冊	冊	冊	110	294	D.
16	80	150	70	—	—	—	110	110	
17	90	150	60	冊			108	—	after 24hr. dead
18	100	170	70	冊	—	—	102	147	
19	100	160	60	冊	冊	+	86	164	D.
							(mg/dl)		

第13表 肝油含有食投与群

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox.inj.	
				(day)					
1	130	200	70	—	—	—	88	90	
2	120	170	50	±	—	—	97	96	
3	120	155	35	冊	冊	冊	101	148	D.
4	120	150	30	冊	冊	冊	107	352	D.
5	140	190	50	—	—	—	85	84	
6	120	185	65	冊	冊	冊	97	396	D.
7	100	150	50	(冊)			104	(354)	after 2day dead
8	100	135	35	(冊)			100	—	after 24hr. dead
9	100	120	20	+	—	—	92	82	
10	100	130	30	(冊)			88	—	after 2day dead
11	90	165	75	冊	+	冊	82	255	D.
12	100	140	40	+	+	+	100	160	D.
13	100	150	50	冊	+	+	120	155	D.
14	100	130	30	±	—	—	100	149	
15	100	130	30	—	—	—	99	134	
16	100	120	20	—	—	—	118	127	
17	100	130	30	冊	冊	冊	124	286	D.

(mg/dl)

第14表 各種天然油脂投与と Alloxan 糖尿病発症率及び死亡率との関連性 (Alloxan 160mg/kg)

	ラッテ数	糖 尿 病		死 亡	
		匹数	%	匹数	%
無 脂 質 食	17	9	53	2	12
ゴ マ 油 食	17	3	18	1	6
オリーブ油食	16	4	25	0	—
ヤ シ 油 食	16	4	25	2	13
バ タ ー 脂 食	19	10	53	4	21
肝 油 食	17	10	65	3	17

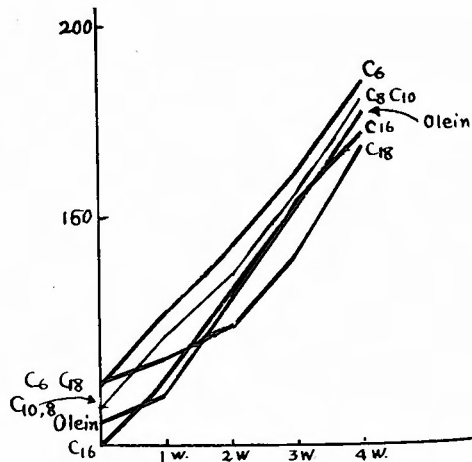
不飽和脂肪酸でもオレイン酸やリノール酸、リノレン酸のみを含むゴマ油と、高度不飽和脂肪酸やエイコセン酸、ドコセン酸を含む肝油では、生体には及ぼす影響に自ら差があることは理解に難くない。事実日笠等はペーパークロマトグラフィーを応用し、或は組織学的に、また生化学的に肝油やバター脂中に含まれる高度不飽和脂肪酸、ドコセン酸、エイコセン酸及び低級脂肪酸が摂取吸収されると、専ら肝へ移行し処理されるから、いわゆる間接的酸化型式をとる比率が大きく、肝臓に対する負担も大で、且つケトン体産生量も大であるのに反して、ゴマ油に含まれる高級飽和脂肪酸、オレイン酸、必須脂肪酸は肝のみならず全身の組織細胞内へ移行

処理されるもので、直接的酸化型式をとる比率が大で肝臓に対する負担も少なく、従つてケトン体産生量も極めて少ないことを立証している。Alloxan 糖尿病に関する素因についても脂質を斯く考えるとよく理解し得る。

第2項 合成単一グリセリドによる実験成績

第1項で述べたように、バター脂及びヤシ油はとも

第2図 各種合成単一グリセリド投与群の体重増加



第15表 Tristearin-Diet (C₁₈)

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.	
1	105	185	80	—	—	—	84	91	
2	95	170	75	—	—	—	125	104	
3	95	170	75	±	—	—	103	104	
4	100	170	70	±	—	—	103	88	
5	105	160	55	(冊)			96	(—)	48hrs. after allox. inj. dead
6	105	160	55	冊	冊		110	(276)	7days after allox. inj. dead
7	100	150	50	—	—	—	98	136	
8	100	165	65	—	—	—	100	118	
9	120	195	75	冊	冊		85	(186)	5days after allox. inj. dead
10	115	180	65	冊	—	—	92	148	
11	110	165	55	冊	—	—	95	145	
12	120	180	60	冊	(冊)		95	(312)	48hrs. after allox. inj. dead
13	100	170	70	±	±	—	101	146	
14	110	165	55	冊	+	—	120	142	
15	110	165	55	—	—	—	114	108	

(mg/dl)

第16表 Tripalmitin-Diet (C₁₆)

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.	
1	90	170	80	—	—	—	106	100	
2	95	180	85	—	—	—	96	101	
3	95	175	80	—	±	—	105	128	
4	95	185	90	—	—	—	112	118	
5	95	180	85	±	—	—	121	136	
6	95	165	70	+	—	—	98	98	
7	90	165	75	—	—	—	72	96	
8	90	170	80	—	—	—	89	94	
9	90	160	70	±	—	—	115	130	
10	90	160	70	—	—	—	108	96	
11	90	160	70	—	—	—	96	106	
12	90	170	80	—	—	—	102	110	

(mg/dl)

に低級脂酸を含むものとして検討したのであるが、両者の Alloxan 糖尿病発症率にかなり差が認められた。この疑点を解明し、且つ各脂酸の影響を一層明確にする目的で単一グリセライドを合成して、第1項同様の実験を行った。

(1) 体重増加について (第2図)

トリステアリン投与群を除いた他の5種の単一グリセライド投与群の体重増加は、各々略々同等であつた。ただトリステアリン投与群の体重増加が悪かつたが、これはトリステアリンの融点が高く、その吸収率が著しく悪い為で、このことは Deuel も指摘していると

ころである。

2) 糖尿病発症状況

i) トリステアリン投与群 (第15表)

本群はトリカプロイン投与群に次いで第2位の発症率を得た。本群中No.10, 11, 13, 14のラットは10日目の血糖値が150mg/dlに近く、また6日目まで尿糖を認めていたので、11日目再度測定した結果、夫々109, 136, 122, 128mg/dlの血糖値を得、非発症例として判定した。且つこの際何れも尿糖は証明し得なかつた。

本群の Alloxan 投与後の食慾や一般状態は、前項の無脂質食群のそれに極めて近似した様相を呈してい

第17表 Triolein-Diet

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar	
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.
				(day)				
1	100	180	80	—	—	—	92	83
2	100	190	90	±	—	—	108	139
3	100	185	85	—	—	—	104	83
4	95	180	85	+	—	—	83	69
5	95	185	90	—	—	—	89	102
6	90	170	80	—	—	—	100	104
7	90	165	75	—	—	—	96	95
8	100	185	85	—	—	—	92	95
9	105	190	85	+	—	—	68	110
10	95	180	85	—	—	—	98	96
11	90	160	70	—	—	—	92	79
12	90	165	75	—	—	—	112	105

(mg/dl)

第18表 Tricaprin-Diet (C₁₀)

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar	
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.
				(day)				
1	105	200	95	—	—	—	96	112
2	105	195	90	—	—	—	98	98
3	105	190	85	+	—	—	105	121
4	100	180	80	+	—	—	102	140
5	95	180	85	—	—	—	107	105
6	105	180	75	—	—	—	85	96
7	90	160	70	—	—	—	95	96
8	90	175	85	—	—	—	100	108
9	95	170	75	±	±	—	102	123
10	100	160	60	—	—	—	121	114
11	100	180	80	—	—	—	96	102
12	105	180	75	—	—	—	78	94
13	110	195	85	+	±	—	99	130
14	105	185	80	—	—	—	108	102

(mg/dl)

た。

ii) トリカプリン、トリパルミチン投与群及びトリオレイン投与群 (第16, 17, 18表)

これ等3群のラッテに於ては発症例、死亡例とも認められなかつた。併し乍ら Alloxan 投与後の一般状態は、前項のゴマ油投与群に比べて稍々劣るものがあった。恐らく必須脂肪酸の不足如何による結果であろう。

iii) トリカプリリン投与群 (第19表)

本群12匹中No.3のラッテのみが発症例として判定された。このラッテは Alloxan 投与後11日目に死亡した。

iv) トリカプロリン投与群 (第20表)

6群中最高の発症率及び死亡率を認め、殊に発症例の全てが死亡し、且つ Alloxan 投与後死亡に致るまでの時日が短い点など興味ある事実である。György 等が、Alloxan の toxic action についての一つの指標として、投与後2日間の死亡数を採用しているが、これに準ずれば第1項、第2項を通じて最も抵抗力の弱いのが本群である。またこれ等死亡例は高度の Haemoglobinuria を呈しており、この事実は又バター脂投与群にも認められた。

3) 合成トリグリセライドの消化吸収について (第21表)

トリステアリンはトリパルミチン同様に高級飽和脂

第19表 Tricaprylin-Diet (C₈)

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.	
				(day)					
1	105	200	95	—	—	—	75	61	D.
2	105	200	95	—	—	—	96	89	
3	100	185	85	冊	冊	冊	85	194	
4	105	205	100	—	—	—	103	100	
5	95	160	65	—	—	—	85	99	
6	95	170	75	—	—	—	125	91	
7	100	185	85	+	—	—	116	142	
8	100	175	75	—	—	—	90	91	
9	105	175	70	—	—	—	85	86	
10	100	160	60	+	—	—	88	123	
11	95	180	85	—	—	—	100	104	
12	95	175	80	±	—	—	97	116	

(mg/dl)

第20表 Tricaproin-Diet (C₆)

No. of Rat	Body Weight			Urinary Sugar			Blood Sugar		
	Start	End	Gain	3	6	9	Start	After allox. inj.	
				(day)					
1	100	200	100	—	—	—	97	91	
2	110	205	95	—	—	—	104	91	
3	105	195	90	(冊)			91	(-)	
4	105	185	80	—	—	—	79	104	
5	100	160	60	—	—	—	108	93	
6	100	190	90	±	±	—	95	134	
7	100	170	70	—	—	—	95	84	
8	100	185	85	—	—	—	100	96	
9	100	185	85	(冊)			106	(-)	
10	105	180	75	(冊)			72	(-)	
11	105	185	80	—	—	—	87	86	
12	100	175	75	—	—	—	88	112	
13	105	180	75	—	—	—	92	124	
14	105	195	90	(冊)			70	(-)	
15	100	185	85	(冊)			96	(247)	

(mg/dl)

第21表 各種合成単ーグリセライドの消化吸収率, 吸収量, 摂取熱量, 体重増加量

	飼料摂取量 g/日/100g	脂質の吸収率	脂質吸収量	摂取熱量	体重増加 g/day
C ₆	8.0	98%	2.35g	39.6 Cal	2.73
C ₈	7.1	98	2.1	37.0	2.70
C ₁₀	6.5	98	1.9	31.9	2.67
C ₁₆	9.6	60~70	1.9	38.1	2.60
C ₁₈	9.7	10~15	0.3	29.3	2.13
Olein	6.5	98	1.9	31.9	2.73

酸であるにも拘らず、トリステアリン投与群の体重増加は低く、且つ Alloxan 糖尿病の発症率も稍々高い。この事実は第2章第2節Ⅱ項で述べた方法で行つた各グリセライドの消化吸収についての実験成績をみればよく理解し得る。即ち第21表に示すように他のグリセライド投与群のラッテは、体重 100g 当り日々 2g 前後の脂質を摂取吸収しているのに反して、トリステアリン (C₁₈) 投与群では僅か 0.3g であつて、これはむしろ無脂質食に近い飼料を摂取していると考えてもよい状態にあることになるからである。

また Mattil の実験成績が示すように、トリステアリンの融点は 71.5°C で極めて高く、為に消化吸収は上記のように低いが、50°C 以下の融点を有する他のグリセライドでは、いづれも良好な吸収状態であり、このことは私の実験成績からも明らかである。

因みに天然油脂中に含まれているステアリン酸は、単一グリセライドの形ではなく、パルミトオレオステアリン等のような混合グリセライドの形で存在するので、かゝる混合グリセライドの融点は、トリステアリンに比べると遙かに低いものであるから、生体に摂取された場合にはその吸収率は比較的良好である。

4) 第2節の小括 (第22表)

第22表 各種単一グリセライド投与と Alloxan 糖尿病発症及び死亡率との関連性 (160mg/kg)

	ラッテ数	糖 尿 病		死 亡	
		匹数	%	匹数	%
C ₁₈	15	4	27	4	27
C ₁₆	12	0	—	0	—
Olein	12	0	—	0	—
C ₁₀	14	0	—	0	—
C ₈	12	1	8	0	—
C ₆	15	5	33	5	33

合成単一グリセライド投与ラッテに於ては、天然油脂投与群に比べて糖尿病発症率は低かつたが、これは Alloxan 投与後前者にあつては既に食欲が衰えていたことも関与していると考えられる。併し乍らトリカブリン投与群、トリパルミチン投与群及びトリオレイン投与群では、明らかに Alloxan 糖尿病に対する感受性が低いと考えられ、低級脂酸特に C₆ 以下 (酪酸については検討し得なかつたが、カブロン酸以上に発症率が高くなるものと推定してよからう) のものをトリグリセライドの形で、試獣に与える時は Alloxan 糖尿病の発症率が高くなると共に、Alloxan の toxic action

に対しても抵抗力が弱くなるものと考えられる。

以上天然油脂 5 種及び合成単一グリセライド 6 種を使用しての実験成績を要約すると、直接的酸化型式をとる比率の大きい脂酸、即ち高級飽和脂酸、オレイン酸、必須脂酸は Alloxan の toxic action, diabetogenic action に対して抑制的に働き、他方間接的酸化型式をとる比率の大きい脂酸、即ち高度不飽和脂酸、ドコセン酸、エイコセン酸及び低級脂酸 (この場合特に C₈ 以下) は助長的に作用するとの結論に達した。

なお本実験に於ては飼料中に酵母及び各種ビタミン類を加へ試獣に与へたが、これ等ビタミン、酵母、特に脂質代謝に關係の深いビタミン B 複合体が不足或は欠除した時は、発症率、死亡率の差は更に著明になるものと考えられる。

第2節 Alloxan 糖尿病発症に及ぼす脂質投与の作用機転の解明

前節において、直接的酸化型式をとる比率の大きい脂酸は、Alloxan の diabetogenic action に対して抑制的に作用するのに対して、間接的酸化型式をとるものは、その発症にむしろ助長的に作用する事実を指摘したが、脂質の種類によつてかゝる差異の表われる理由を解明する為に次の実験を施行した。

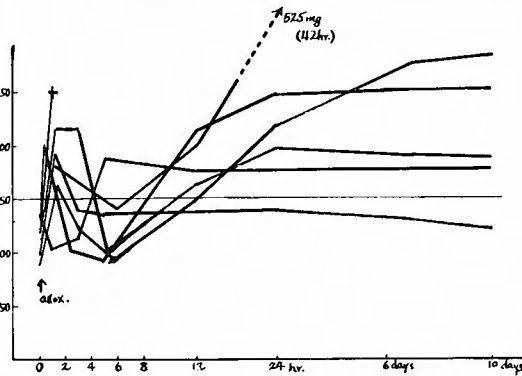
第1項 Alloxan 投与後の血糖曲線の変動

Alloxan 投与後の血糖曲線は、周知のように初期高血糖相、低血糖相、持続高血糖相の 3 相からなつている。

ゴマ油含有食投与ラッテ、肝油含有食投与ラッテ及び無脂質食飼育ラッテについて、Alloxan 投与後の血糖曲線を追究した結果は、図 3, 4, 5 に示すようになった。即ち糖尿病発症率の高い肝油投与ラッテ及び無脂質食投与ラッテでは初期過血糖相も亦高い値を得た。この初期過血糖相の成因については、Goldner, Gomori, Kirschbaum, Molander, Weil 等は副腎の関与していることを報告し、Houssay, Orias, Sara 等は肝の働きを重視している。

一方教室の松田、長瀬らのラッテ副腎に及ぼす脂質の影響を検討した成績では、充分量のゴマ油をラッテに投与すると無脂質食投与ラッテに較べてその副腎機能が稍々亢進しており、而も副腎に於ける不可欠脂酸の含量と密接な關係を有するらしいことが判明している。更に前節でも述べたように、肝に負担をかける脂質を投与する時ほど Alloxan による糖尿病発症率が高いという実験成績、あるいは Houssay 等の報告を併せ考えると、私は肝機能の如何が、Alloxan 糖尿病

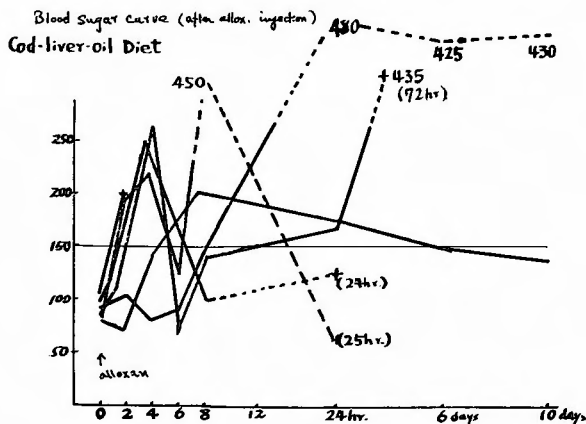
第3図 Blood Sugar Curve (after alloxan injection) Fat-free Diet Group
(Alloxan 160mg/kg intraperitoneal.)



第4図 Blood Sugar Curve (after alloxan injection) Sesame-oil Diet Group



第5図 Blood Sugar curve (after alloxan injection) Cod-liver-oil Diet Group



発症、或は初期過血糖相にも密接に関係してくるのでないかと推測するもので、その間の消息を明かにする為に次の実験を進めた。

第2項 各種脂質含有食投与ラットの肝機能検査

第2章第2節Ⅲ項でのべた方法で Bromsulphalein Clearance Test を行つた結果は、第23表の通りである。正常ラット21匹について本法を行つた結果Bromsulphalein 注射後5分の Clearanceは 90%或はそれ以上であり、Wang 等の成績を考慮しても90%以上が正常と考えられる。この判定規準に従えば、無脂質食、ゴマ油含有食、トリパルミチン含有食、トリカブリン含有食を投与したラットでは肝機能は正常であり肝油含有食或はトリカブリン含有食を投与したラットでは多少とも機能低下が認められる。この事実は教室松田晋が家兎に肝油及びゴマ油乳剤を連続投与した際、肝油投与例では脂肪肝或は脂肪浸潤を来し、ゴマ油投与例では逆にこれを抑制或は消退せしめるという研究成績ともよく一致し、また同氏が脂質投与の肝グリコーゲン量に及ぼす影響を観察した結果ともよく一致するものである。

以上のように脂質の肝に及ぼす影響が、Alloxanに対する個体の感受性にも亦大きく関与していることが明らかになった。Alloxanのような毒物に対して解毒器官の働きが大切なことは多言を要しないが、もし体内に注入された Alloxan が主として肝で分解、抱合されることによつて解毒排出されるならば、当然 Langerhans 氏島に達する Alloxan 量も少なく、従つてβ細胞の障害程度も軽くてすむ可能性は充分考え得るところである。こう考えて来ると、脂質の種類による個体の示す Alloxan に対する感受性の差異もよく説明し得るのである。併し乍ら無脂質食投与群とゴマ油含有食投与群に於ては、両群のラットとも肝機能が略々正常或はそれ以上であり乍ら、その糖尿病発症率にかなりの差異が認められる点は肝機能のみを問題にしては理解し得ない。

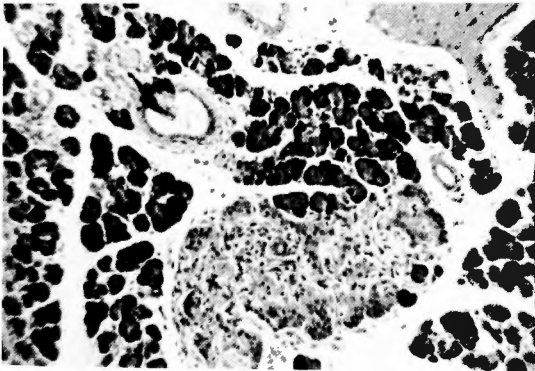
第3項 Alloxan 投与ラットの Langerhans 氏島の組織学的所見

肝機能で説明し得なかつた、ゴマ油投与群と無脂質食投与群の間に発症率の差異のある所以は、Alloxanによつて破壊されたβ細胞の再生力の差によつて起るものでなかろうかと考え、組織学的にこの点について検討した。なお第2章で採用した糖尿病の判定法が、組織学的所見と一致するかどうかもしらべた。如何となればたとい発症している試験獣であつても食餌の摂取量が少ない時には、高血糖或は糖尿を証明しないことが十分に考えられ、このこ

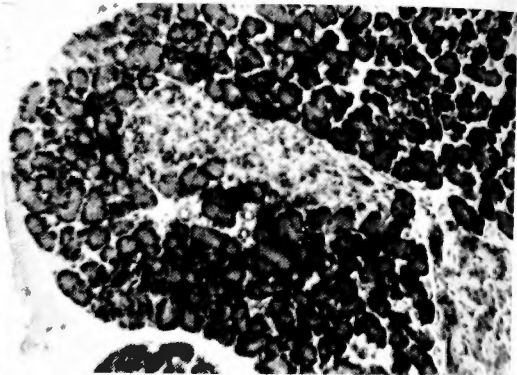
第23表 Bromsulphalein Clearance [5mg intraven. inj. (after 5 min.)]

	Fat free	C ₆	C ₁₀	C ₁₆	Ses. oil	Cod liv. oil
1	90.0%	80.0%	93.4%	96.8%	93.2%	86.0%
2	92.5	83.6	89.5	95.6	93.2	87.5
3	95.2	82.4		93.6	91.4	90.0
4		86.0				

第 6 図

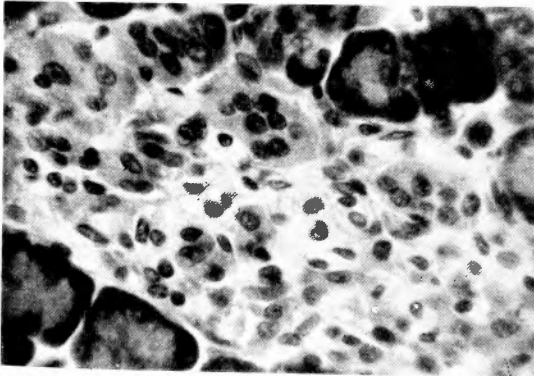


第 7 図

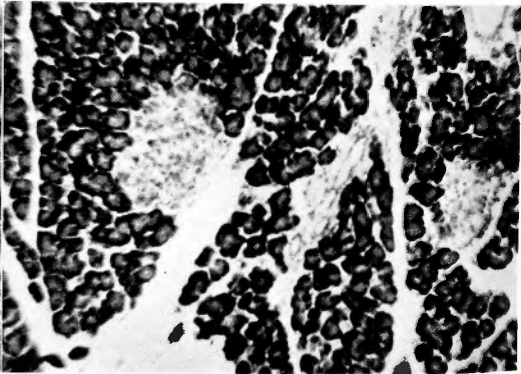


第6図～8図 ゴマ油食飼育ラッテ (No. 215) の Langerhans 氏島, Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射, 3日 (72時間) 後屠殺したもの。
α 細胞……濃い (赤) β 細胞……薄い (青)
α 細胞には殆んど変化を認めない。
β 細胞, 一部ピクノーゼ変形等を認める。
本例は非発症例として判定されたものである。

第 8 図

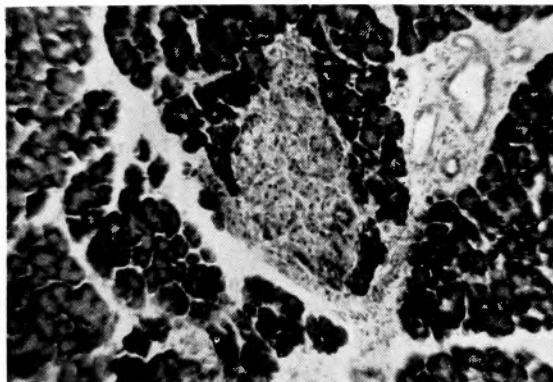


第 9 図

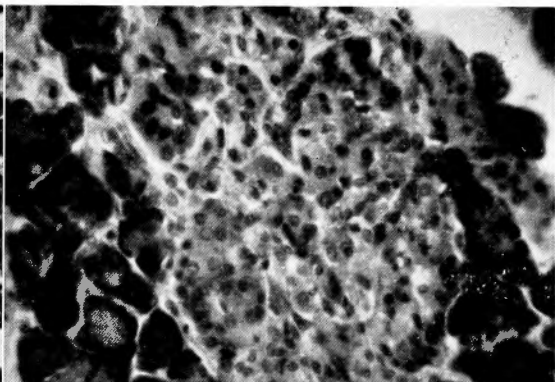


とは岡本, 竹中等も指摘しているからである。
まづ Alloxan 投与後3日 (72時間前後) に屠殺したラッテの Langerhans 氏島所見を, ゴマ油投与群, 無脂質食投与群各3匹宛について検した結果は, 第6～14, 15～23図及び第24表に示すようである。即ちこの時期に於ては無脂質食飼育ラッテのβ細胞核には, 高度のピクノーゼ, 核消失等の変化が認められ, 島の中央部は大部分均一性の物質で埋められたような像を呈している。他方, ゴマ油投与ラッテでもβ細胞の変化は認められるが, 無脂質食投与群のそれに比べて程度が軽く, 島中央部に於て相当数のβ細胞を認める。
更に Langerhans 氏島の細胞を数的に観察すれば, より明瞭に両群の間に差異のあることが明らかとなつた。即ち第24表に示すようにゴマ油投与ラッテのβ細胞

第 10 図

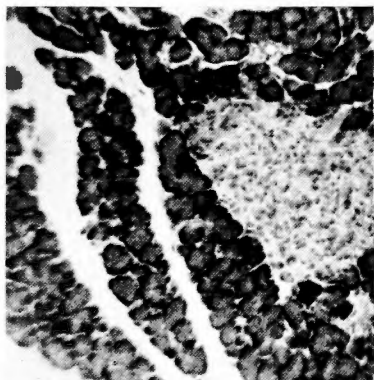


第 11 図

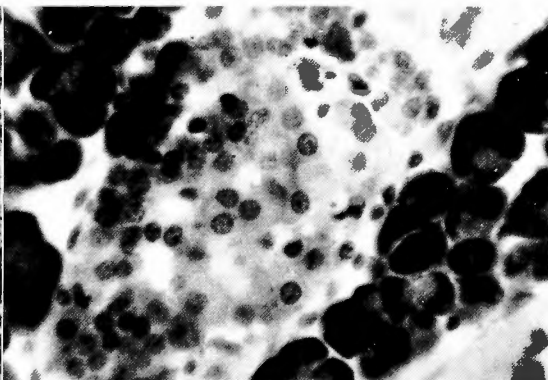


第9～11図 ゴマ油飼育ラッテ (No. 216) のラ氏島, Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射 3 日 (72時間) 後に屠殺したもの. 島の中央部にも α 細胞を認める. 発症例.

第 12 図



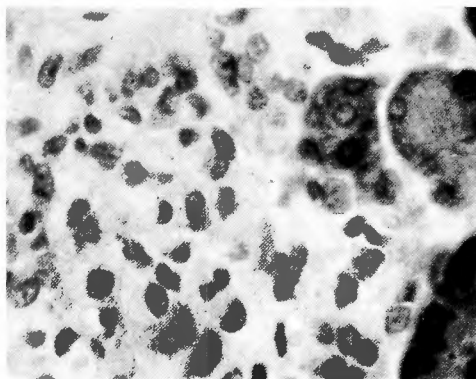
第 13 図



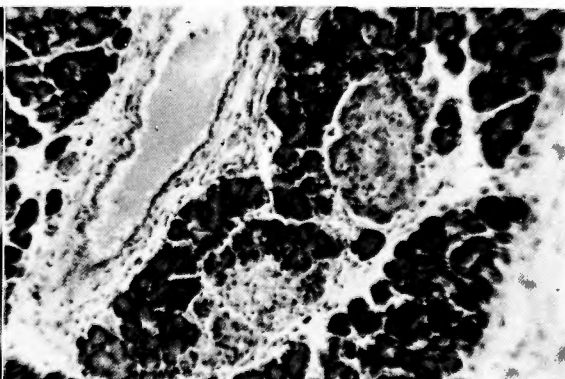
第12～14図 ゴマ油飼育ラッテ (No. 217) のラ氏島, Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射 3 日 (72時間) 後屠殺したもの.

第13図の中央部は極く淡くフロキシンの色を呈しているが, 周辺部の α -細胞程著明でない. β 細胞の変形, ビクノーゼ等を認めるが相当数比較的原形を残している. 非発症例.

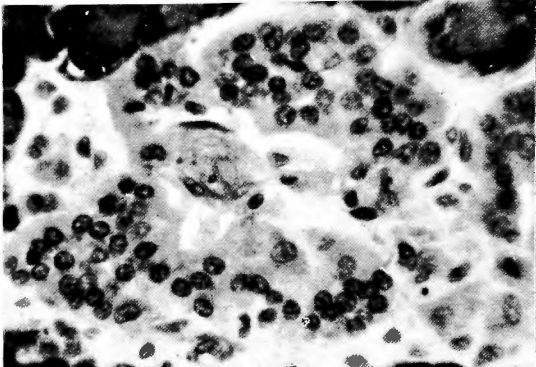
第 14 図



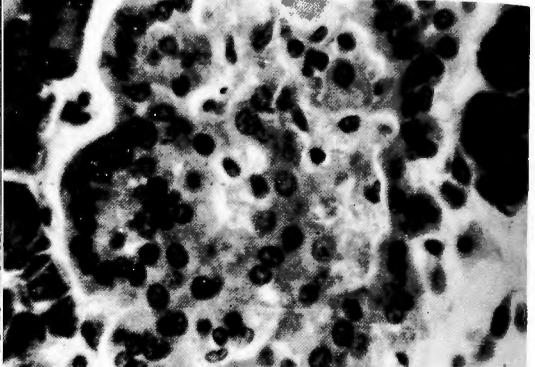
第 15 図



第 16 図

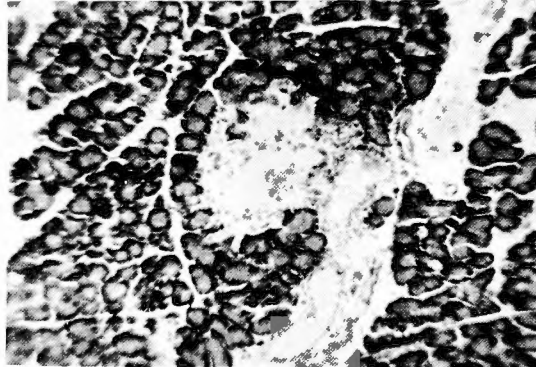


第 17 図

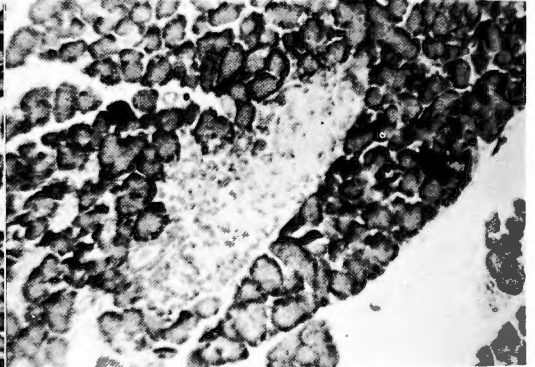


第15図～17図 無脂質食飼育ラッテ (No. 303) のラ氏島, Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射後67時間に死亡したもの。
ラ氏島の大部分は α 細胞で占められて居り, β 細胞は中央部に僅かに認められる。発症例(死亡)。

第 18 図

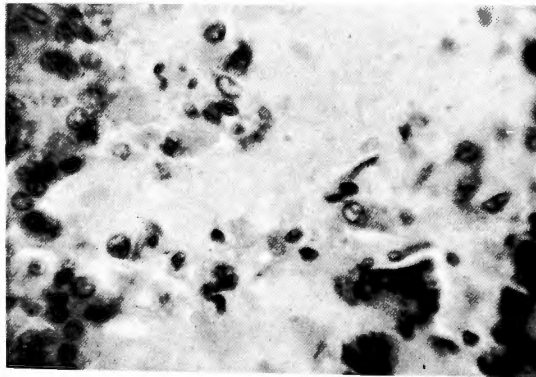


第 19 図

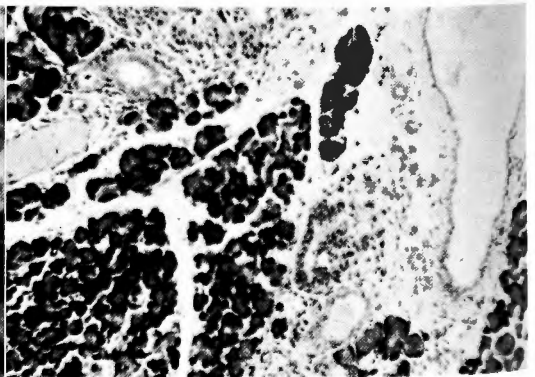


第18図～20図 無脂質食飼育ラッテ (No. 304) ラ氏島, Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射3日(72時間)後屠殺したもの。
 β 細胞は殆んど消失し, 島の中央部は染色性の悪い均一性物質で占められている。発症例。

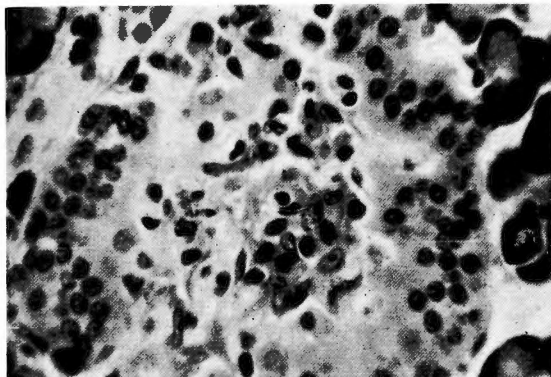
第 20 図



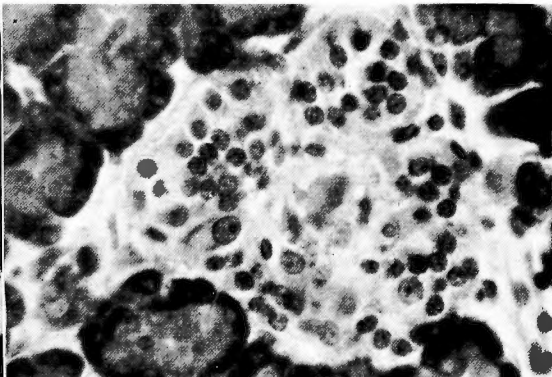
第 21 図



第 22 図



第 23 図



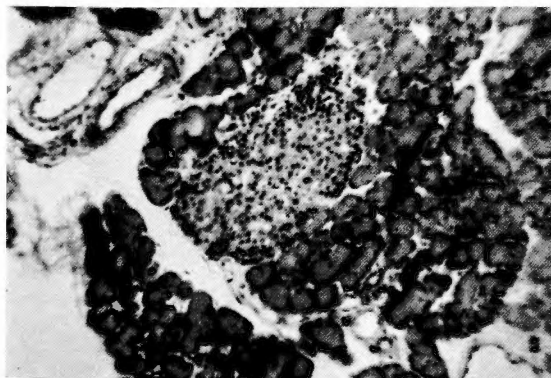
第21～23図 無脂質食飼育ラッテ (No. 305) のラ氏島。Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射72時間後死亡したもの。

島の主成分は α 細胞であり、 β 細胞は中央部に僅に残る。発症例 (死亡)。

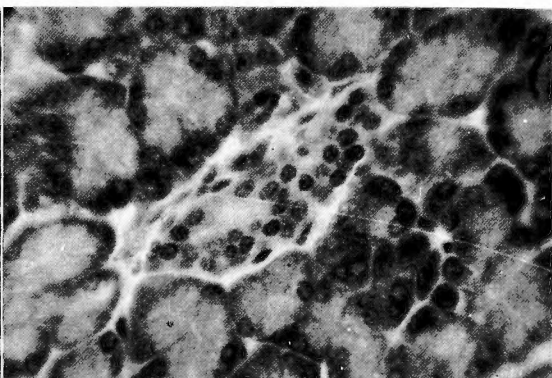
第24表 Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射 3 日後のラ氏島細胞構成

	No. of Rat	Body Weight		Urinary Sugar	Blood Sugar	Cell Composition in Islet	
		Before allox. inj.	3days. after allox. inj.			α -Cell	β -Cell
Sesame	215	200	195	(-)	104mg/dl	25.3	19.7
Oil	216	200	185	(+)	172	20.8	17.2
Diet	217	180	180	(-)	121	26.4	21.3
Fat Free	303	180	—	(+++)	67hrs. after allox. inj. dead	24.0	11.3
Diet	304	160	140	(+++)	326	19.3	12.0
	305	165	—	(+++)	72hrs. after allox. inj. dead	25.8	14.5

第 24 図



第 25 図

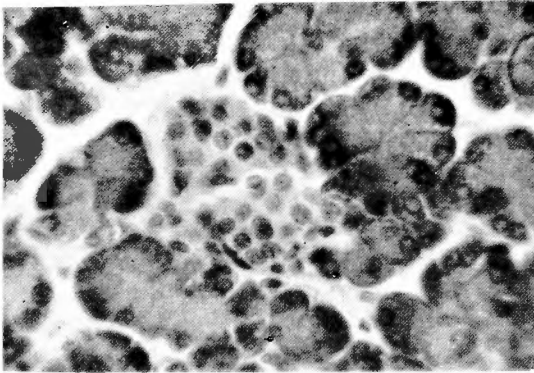


第24～26図 ゴマ油食飼育ラッテ (No. 218) のラ氏島。Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射10日後屠殺したもの。島の大部分は α 細胞で埋められている。発症例。

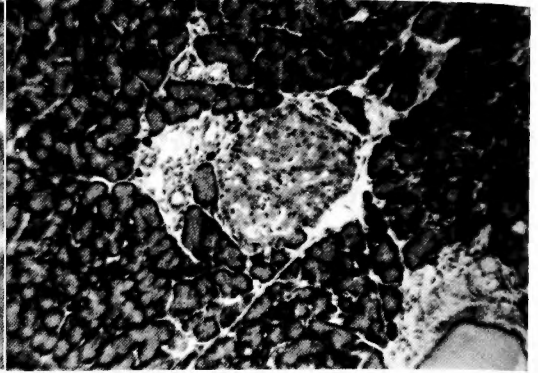
胞数は平均19.7, 17.2, 21.3であり、無脂質食投与群では11.3, 12.0, 14.5とかなりの差が認められ、岡本、竹中、泰井等が β 細胞数が18～20個以下になると発症するとしての考えともよく一致している。

次に Alloxan 投与後10日後に屠殺した両群各3匹宛について同様に検索した結果は第24～32, 33～41図及び第25表に示す通りである。この時期では残存した β 細胞の肥大が認められるが、その数的な関係は3日

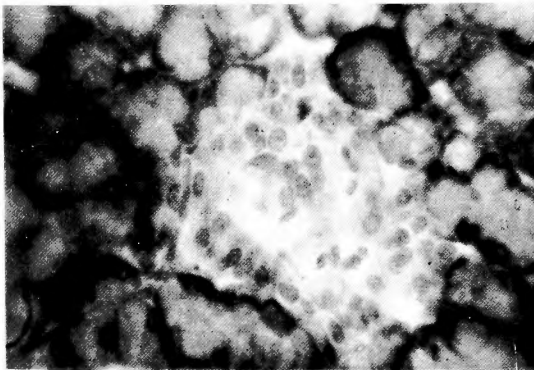
第 26 図



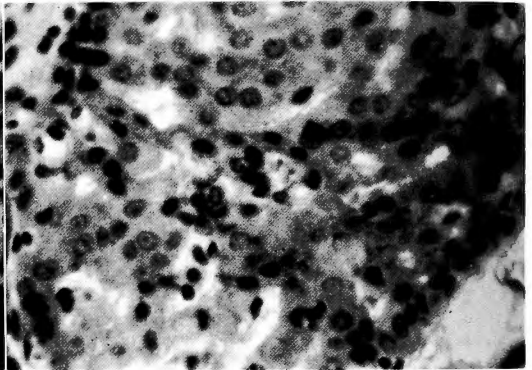
第 27 図



第 28 図

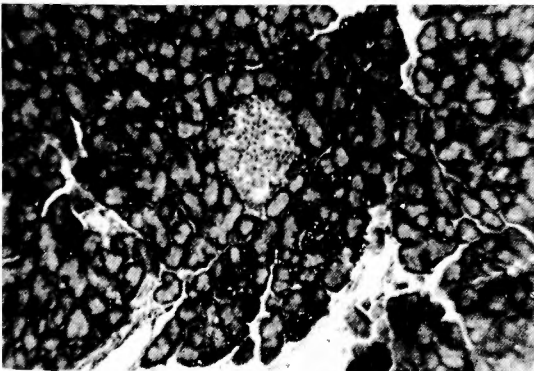


第 29 図

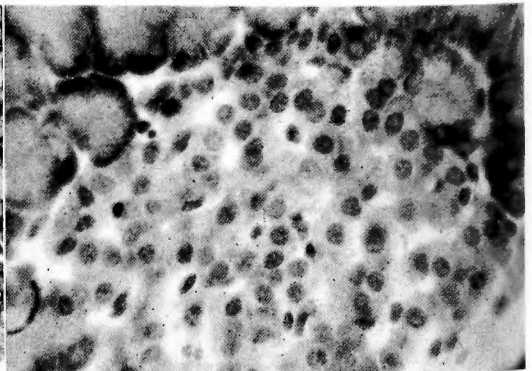


第27～29図 ゴマ油食飼育ラッテ (No. 219) のラ氏島。Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射10日後屠殺したもの。島の大部分は α 細胞によつて占められているが、処々に β 細胞を認め、その一部のものは肥大している。非発症例。

第 30 図



第 31 図

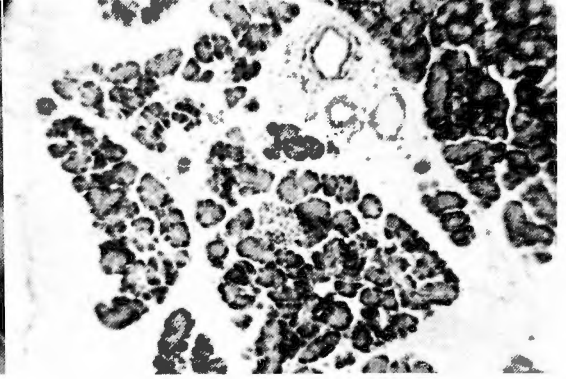


第30～32図 ゴマ油食飼育ラッテ (No. 220) のラ氏島。Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射後10日目に屠殺したもの。本例では、 α , β 細胞のいずれとも判定し難い不明型の細胞が少々多い。非発症例。

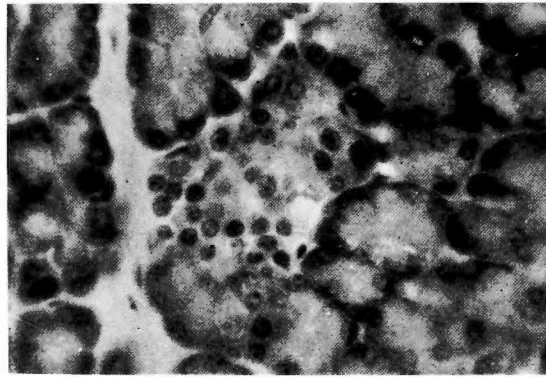
第 32 図



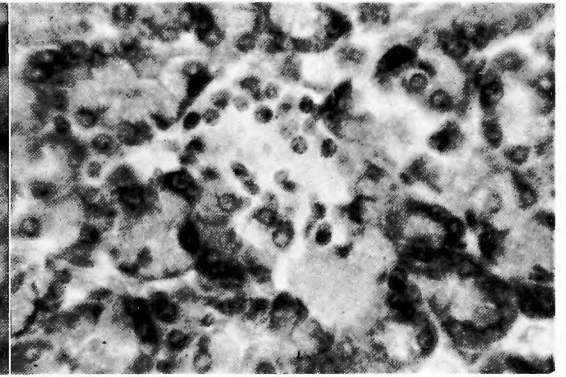
第 33 図



第 34 図

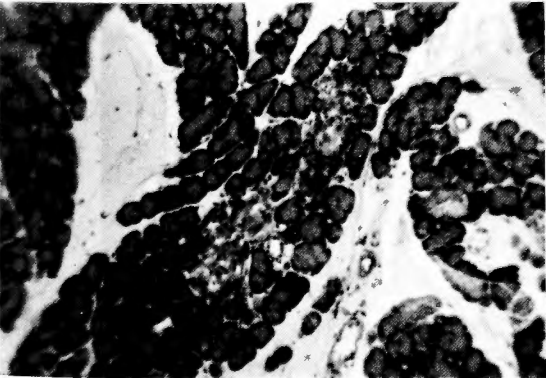


第 35 図

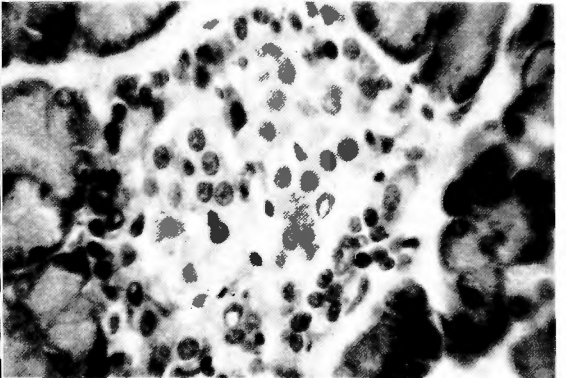


第33～35図 無脂質食飼育ラッテ (No. 306) のラ氏島。Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射10日後屠殺したもの。島は殆んど α 細胞から成っている。発症例。

第 36 図

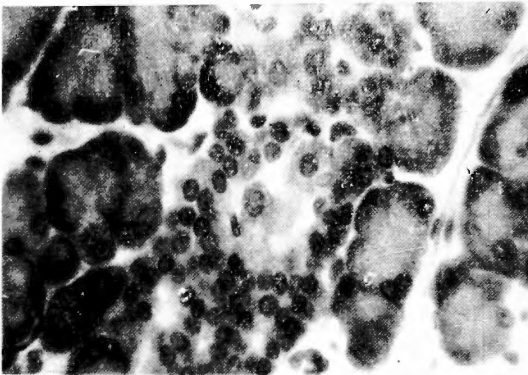


第 37 図

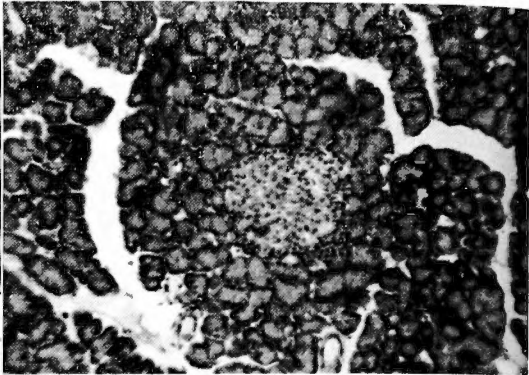


第36～38図 無脂質食飼育ラッテ (No. 307) のラ氏島。Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射10日後屠殺供試した。島の中央部に少々肥大した β 細胞を認める。非発症例。

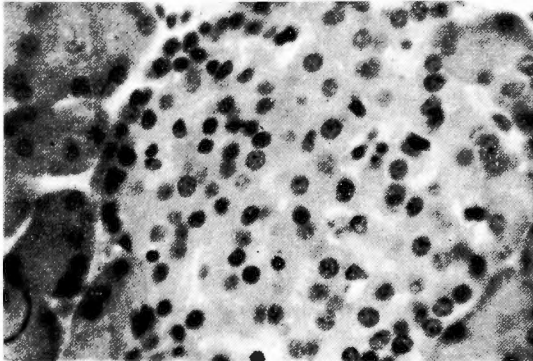
第 38 図



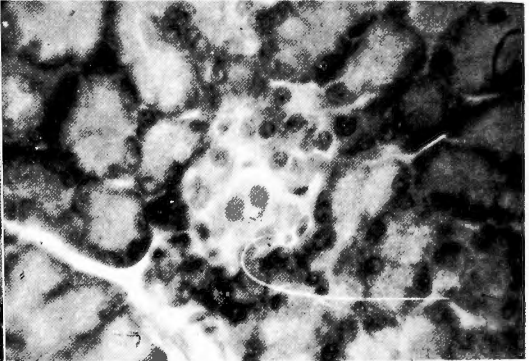
第 39 図



第 40 図



第 41 図



第39～41図 無脂質食飼育ラッテ (No. 308) のラ氏島. Alloxan投与 (160mg/kg 腹腔内) 10日後屠殺したもの. 相当数のβ細胞を認める. 非発症例.

第25表 Alloxan 160mg/kg 腹腔内注射10日後のラ氏島細胞構成及び尿糖, 血糖との関係

	No. of Rat	Body Weight		Urinary Sugar	Blood sugar	Cell Composition in Islet	
		Before allox. inj.	10days after allox. inj.			α-Cell	β-Cell
Sesame	218	170	150	±	154	19.3	17.3
Oil	219	185	175	—	103	23.2	21.3
Diet	220	200	200	—	140	18.8	19.7
Fat Free	306	160	125	+	170	18.1	14.1
Diet	307	170	165	—	148	26.3	18.2
	308	180	170	—	136	20.1	18.6

後 (Alloxan 投与) の所見と大した差異は認められない. この事実から発症を左右する因子として, β細胞の再生はまづ関与していないものと考えてよからう. なおLangerhans 氏島の新生は先人によればもつと遅れて行われるものとされている.

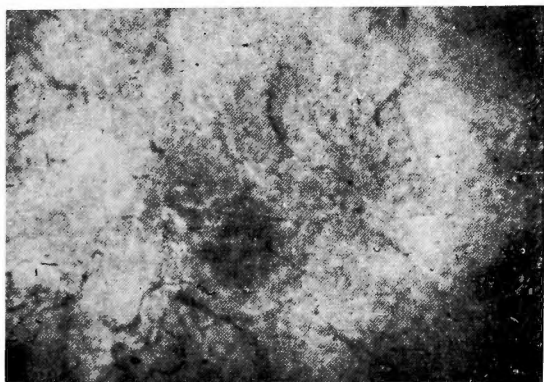
第 4 項 Langerhans 氏島β細胞内亜鉛の生体染色

前項までの成績を総括すると, 脂質特にゴマ油投与ラッテと無脂質食飼育ラッテの Alloxan に対する感受性の差は, そのβ細胞自体に原因を求めなければならない.

1949年岡本は門田と共に Dithizone が Alloxan 同様に糖尿病発症性物質であることを発見した.

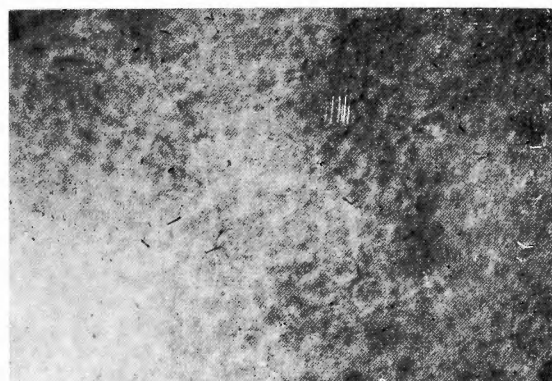
Dithizone は Langerhans 氏島に至り亜鉛と反応

第 42 図



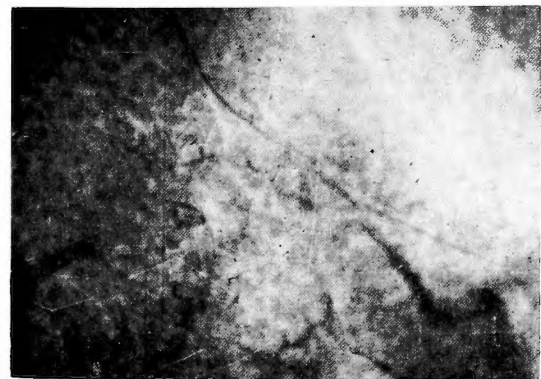
Dithizone 液 15cc/kg 静注 1 分後，無脂質食飼育ラッテ豚ラ氏島 (No. 511) 生体染色。中央部に薄くイチゴ色に染りかけたラ氏島を認める。

第 43 図



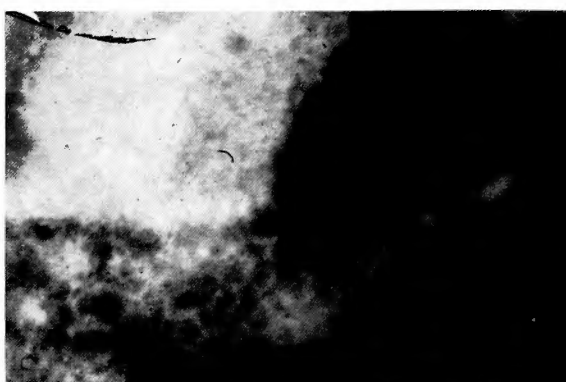
ゴマ油食飼育ラッテのラ氏島 (No. 611)。右辺に淡く，小さいイチゴ色に染つたラ氏島を認める。本例ではイチゴ色よりも黄色が強く，Dithizone 液の色に近い。

第 44 図



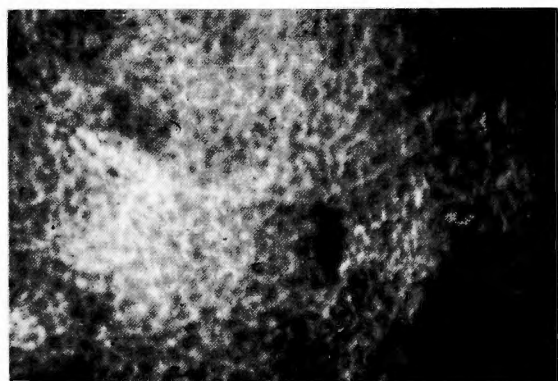
肝油食飼育ラッテのラ氏島 (No. 721)。上の 2 例に比し血管に Dithizone 液の色が強い。

第 45 図



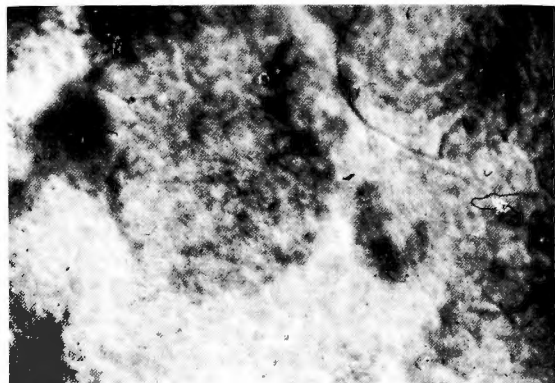
Dithizone 液注射後 5 分。無脂質食飼育ラッテ (No. 511)。かなり明瞭にラ氏島を認め得る。

第 46 図



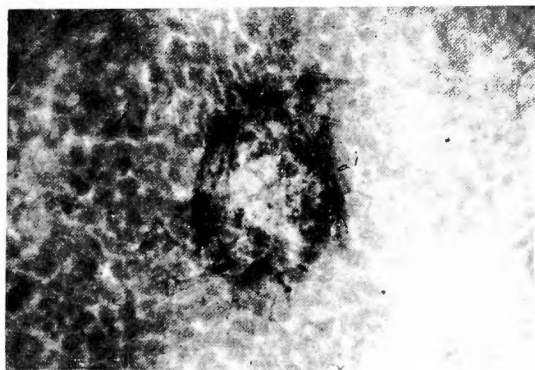
ゴマ油食飼育ラッテ (No. 611)。1 分後と同様 Dithizone 液と同じ色調に均一性に染つたラ氏島を認める。

第 47 図



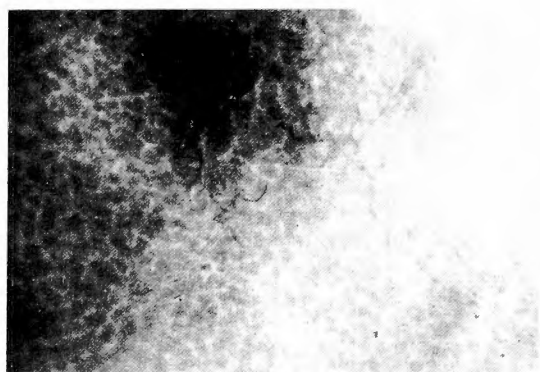
肝油食飼育ラッテ (No. 721)。前 2 例に比して尚血中の Dithizone 液の色調を認め得る。

第 48 図



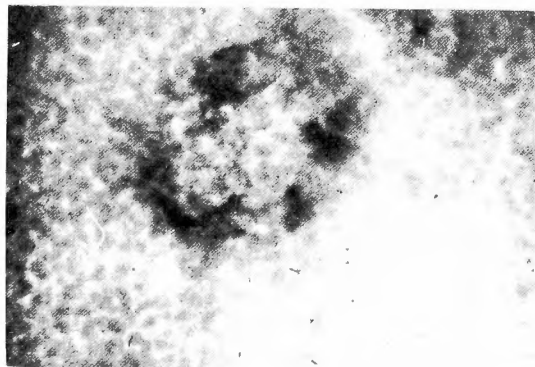
Dithizone 液静注後 20 分。無脂質食飼育ラッテ (No. 512) ラ氏島。著明なイチゴ色を呈する部分を認め、島の中央部近くにも点々と染つているのがよく判る。

第 49 図



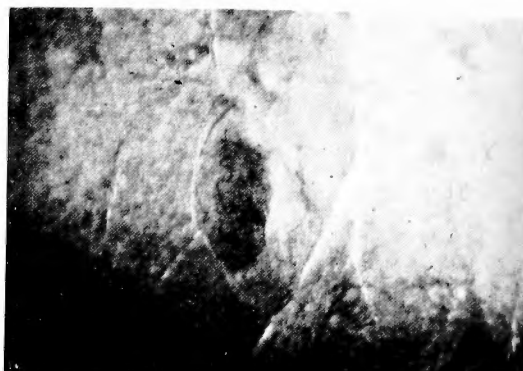
ゴマ油食飼育ラッテ (No. 612)。上辺にラ氏島と思われる部分を認めるが、イチゴ色ではなく橙色、即ち Dithizone 液の色が強く、且均一性で微細構造不明。

第 50 図



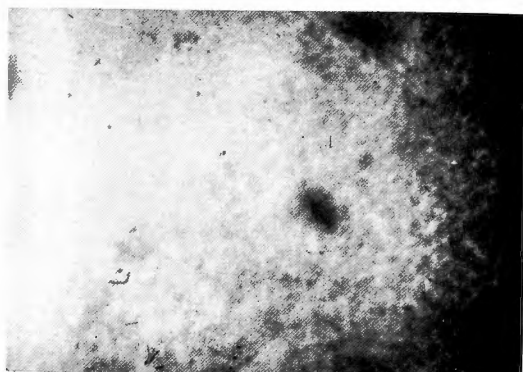
肝油食飼育ラッテ (No. 722)。2 個のラ氏島が接近した部分。イチゴ色の部分著明。

第 51 図



Dithizone 液注入後 45 分。無脂質食ラッテ (No. 513)。少々褪色して来たが尚イチゴ色を認める。

第 52 図



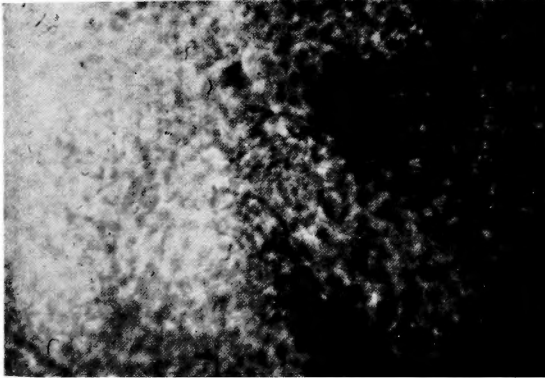
ゴマ油食飼育ラッテ (No. 613)。イチゴ色が淡い黄褐色の色調を帯びている。着色面積も狭い。

第 53 図



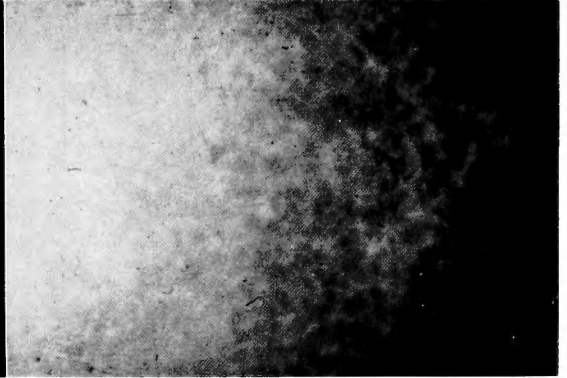
肝油食飼育ラッテ (No. 723)。無脂質食飼育ラッテの所見に近似している。

第 54 図



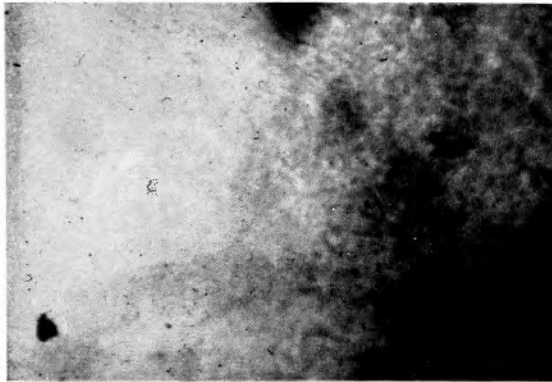
Dithizone 液静注 1 時間。無脂質食飼育ラット (No. 513)。茶褐色に稍タイチゴ色を帯びた色。全体として色が淡くなつて来ている。

第 55 図

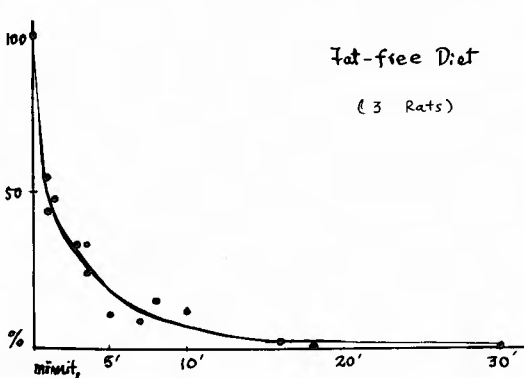


ゴマ油食飼育ラット (No. 613)。相当広範囲探さなければラ氏島らしいものが見当らない。

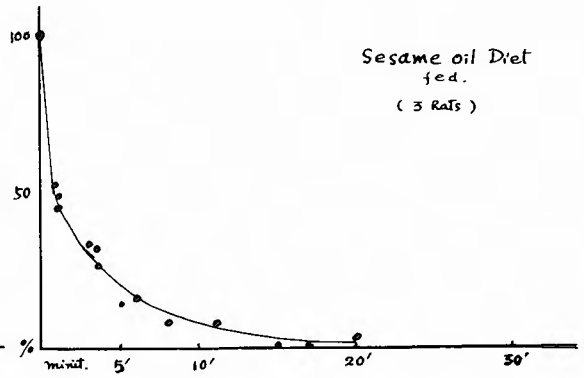
第 56 図



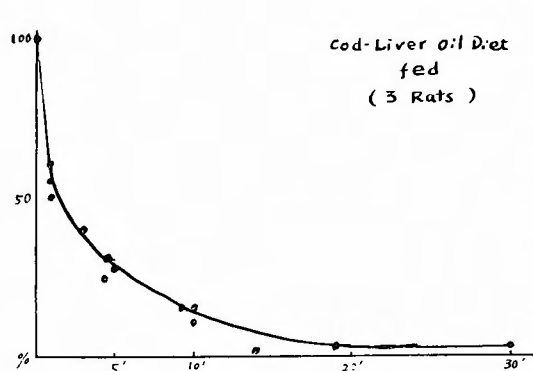
肝油食飼育ラット (No. 723)。色調、濃度は無脂質食のものに近いが、着色面積が少々狭いようである。



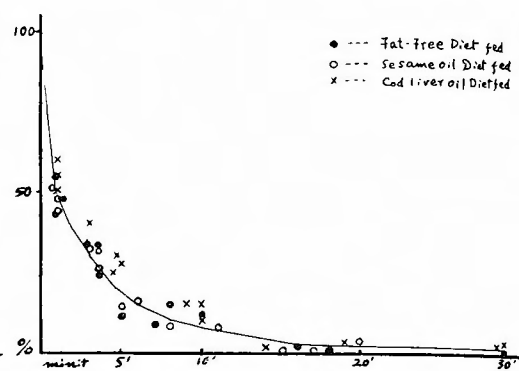
第57図 Blood Concentration of Dithizone at Various Times after Injection



第58図 Blood Concentration of Dithizone at Various Times after Injection



第59図 Blood Concentration of Dithizone at Various Times after Injection



第60図 Blood Concentration of Dithizone at Various Times after injection

して紫紅色を呈して直接に鏡検し得られる特性がある。西塚等は之を応用して種々研究しているが、この方法に従つて、無脂質食投与群、ゴマ油食、肝油食投与ラッテについて Langerhans 氏島の亜鉛の生体染色を試みた。

なお亜鉛は生体内に於て他の組織細胞に比べて特にβ細胞内に相当多量に存在することは、岡本が既に証明しているところである。

さて Dithizone 液静注 1 分後では、無脂質食飼育ラッテとゴマ油投与ラッテとの間にはまづ差異は認められないが、肝油投与ラッテに於ては血中に Dithizone 液の黄赤色の色調が前 2 者に比べて稍々強い (第42～44図)。

5 分後 (第45～47図) では、無脂質食及び肝油含有食投与ラッテの Langerhans 氏島がかなり明瞭に紫紅色乃至赤色を呈して来るが、ゴマ油含有飼育ラッテのみは、Dithizone 液そのものの色調を呈しているに過ぎず、紫紅色乃至赤色としては認められない。又この時期に於ても肝油食飼育ラッテのみは、血中に尚 Dithizone 液の色が稍々濃く認められる。

20 分後 (第48～50図)、無脂質食及び肝油食飼育ラッテの Langerhans 氏島では、判然と赤色乃至紫紅色を呈する部分が処々に、特に Langerhans 氏島の周辺部に著明に認められるようになるのに反して、ゴマ油投与ラッテでは島全体が均一性に Dithizone 液そのものの色を呈しているにすぎない程度である。

45 分後 (第51～53図) では 3 者とも黄褐色の色調を帯び、淡くなつて来るが、ゴマ油投与ラッテでは、この褪色の程度が強く、着色部分も極めて小範囲である。

而して 1 時間後の所見に於ても (第54図～56図)、ゴマ油食ラッテではかなりの範囲を検べないと赤黄褐色

の部分、即ち Langerhans 氏島が認められず、褪色の度合が他の 2 者に比べて著しく速いようである。無脂質食及び肝油食投与ラッテでは、なお相当数の赤色を淡く留めた茶褐色に染つている島を認める。

以上のようにゴマ油含有食飼育ラッテの Langerhans 氏島は、Dithizone による染色性が低く、無脂質食、肝油食飼育ラッテのそれは強く染る傾向を認めた。この事實はゴマ油食飼育ラッテに於ては、(1) Langerhans 氏島のβ細胞内に到達する Dithizone 量が少ないか、更にまた (2) Dithizone とβ細胞内亜鉛との結合が行われ難いかの何れかによるものと考えられる。併し少なくとも本実験を施行することによつて、無脂質食群とゴマ油含有食投与群との間に認められた Alloxan 糖尿病感受性の差異は Langerhans 氏島細胞にその原因が潜んでいるものと考えざるを得ないのである。

第5項 血中 Dithizone 濃度の推移に関する実験成績

そこで前項と同様に Dithizone 液を体重 1kg 当り 15cc の割合に静注した後、時間的に心穿刺によつて採血して測定した濃度を、ゴマ油食、無脂質食及び肝油食飼育ラッテについて検討した結果は第57～60図に示す通りである。即ちゴマ油食、無脂質食飼育ラッテでは略々同じ血中 Dithizone 濃度を得た。この曲線は Alloxan 静注後 2 分で血中から大部分が消退するという Leech, Bailey 等の報告とも一致している。

たゞ肝油食飼育ラッテでは、稍々高い濃度を得た。

本項の成績からすれば、静注した Dithizone の Langerhans 氏島に到る量は、ゴマ油食、無脂質飼育ラッテについては少なくとも同等であるから、前項に於

て施行した Langerhans 氏島β細胞内の亜鉛の生体染色所見と併せ考えると、β細胞内の亜鉛と反応する Dithizone 量は、それがβ細胞膜を通過して、細胞内へ浸入する量の如何によつて左右されるか、又は細胞内に於ける亜鉛と Dithizone との反応の難易によつて定るものと考えられ、恐らく糖尿病発症性物質と亜鉛との反応には、未だ解決し得ざる他の条件が介在していることが思惟されるのである。而してゴマ油の投与はこの何等かの条件、即ち糖尿病発症性物質と亜鉛との結合を阻害することによつて、実験的糖尿病の発症を抑制しているものと考えらるべきであろう。

第4章 要約及び結語

従来生体に及ぼす脂質の投与の影響について論ずるに当つては、その投与脂質の性格について特別の考慮が払われず、たゞ無批判的に一概に脂質全体を取扱つて来た傾向がある。したがつて脂質の栄養学的効果についても多分に誤解されている点の多いことは、既にわれわれが指摘立証して来た。そこでこの度私はかかる観点から Alloxan 糖尿病の発症に及ぼす脂質投与の影響を検討して下記の事実を新たに明らかにすることが出来たのである。

1) 各種天然脂質30%含有食で飼育したラッテについて、その發育状態を体重増加の面から比較すると、ゴマ油含有食投与群に於て最も増加率が高く、肝油含有食投与群では最低であつた。

2) $C_6 \sim C_{18}$ 、及び Olein 酸の合成単一グリセライド含有食についての体重増加に及ぼす効果は、トリステアリン(C_{18})以外は略々同等であり、 C_{18} 投与ラッテの増加率の低いのは、その融点が高く、吸収率が悪いことに起因する。

3) これ等各種脂質投与群に於る Alloxan 糖尿病発症率は、ゴマ油投与群に於て最も低く、無脂質食、バター脂食及び肝油食投与群では相当高い発症率を示した。

4) 合成単一グリセライド投与ラッテについての Alloxan 糖尿病発症率は、 C_8 以下の低級飽和脂酸及び C_{18} 飽和脂酸投与群に於て稍々高い。 C_{18} 飽和脂酸投与群の高い発症率は、体重増加が少ないと同じ理由、即ちそのトリグリセライドの融点が高く、吸収率が著しく低い為で、無脂質食投与群に近似した状態にあるためと考えられる。

5) 各種脂質食投与ラッテの体重増加と Alloxan 糖尿病発症率の間には相關関係は認められない。

6) 無脂質食、ゴマ油食、肝油食投与ラッテについて Alloxan 投与後の血糖曲線を検討した結果、無脂質食及び肝油食投与群では各相を通じゴマ油食投与ラッテより高い血糖値を、終始持続する傾向を示した。

7) 各種脂質食飼育ラッテの Alloxan 糖尿病発症率の差違は、各脂質の肝に及ぼす影響の差が主な原因となり得る。

8) 無脂質食とゴマ油食投与ラッテの発症率の差は、β細胞の再生機能の差に起因するものではなく、β細胞内亜鉛と発症性物質との結合を妨げる因子によるものである。即ち島性殊にβ細胞性にその原因が求められるべきものと考えられる。

9) 島性糖尿病発症は、発症性物質とβ細胞内亜鉛と結合して、β細胞の破壊を惹起して起るものでありこの場合ラッテに於ては残存β細胞数が20~18個以下で発症するようである。

本論文の一部要旨は第7回日本消化器病学会近畿地方会(昭33,10)に於て発表した。

稿を終るに臨み終始懇切な御指導を賜つた教室日笠頼則講師に深甚の謝意を表します。また種々御教示を載き、殊に組織学的検索に当つては多大の御指導を賜つた本学医学部病理学教室岡本耕造教授に謹んで謝意を表します。更に各種脂酸並に合成油脂の御提供は、日本油脂株式会社研究所副所長倅井善三郎氏、酸水素油脂株式会社武井典夫、村井孝一両博士及び赤染義一の各氏に負うものであり、こゝに併記して感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Houssay, B. A., and Martinez, C.; Experimental diabetes and diet. Science, **105**, 548, 1947.
- 2) Houssay, B. A.; Effect of alloxan on glycaemia in dogs. J. Amer. Med. Ass., **129**, 145, 1945.
- 3) György, P., Rose, C. S.; Effect of dietary factors on early mortality and hemoglobinuria in rats following administration of alloxan. Science, **108**, 716, 1948.
- 4) Rodriguez, R., and Krehl, W. A.; Influence of diet on incidence of alloxan diabetes. Amer. J. physiol., **169**, 295, 1952.
- 5) Nieman, C.; Influence of dietary fat on incidence of alloxan diabetes in growing rats. Amer. J. Physiol., **181**, 183, 1955.
- 6) Rose, C. S., and György, P.; The relationship of dietary factors to the toxicity of alloxan. J. Nutr., **39**, 529, 1949.
- 7) Rodriguez, R. R., P. Cathananeo, B. A. Hous-

- say and B. Uno; Unsaturated fatty acids and alloxan diabetes. *J. Nutr.*, **51**, 441, 1953.
- 8) Forbes, M. and György, P.; Effect of yeast and of yeast extracts on liver necrosis and hemolysis by dialuric acid of red blood cells of rats on a necrogenic diet. *J. Nutr.*, **461**, 1957.
 - 9) Rose, C. S., György, P.; Specificity of hemolytic reaction in vitamin E deficient erythrocytes. *Amer. J. Physiol.*, **168**, 414, 1952.
 - 10) Kramár, J., V. E. Levine; Influence of fats and fatty acids on the capillaries. *J. Nutr.*, **50**, 149, 1953.
 - 11) Hikasa, Y., Asada, S., Zaitu, A., Tsukada, A., and Nakata, K.; Studies on the intravenous administration of fat emulsion. *Arch. Jap. Chir.*, **21**, 1, 1952.
 - 12) Hikasa, Y., Kuyama, T., and Otani, S.; Clinical application of fat emulsion. *Arch. Jap. Chir.*, **25**, 396, 1956.
 - 13) Goren, S. W., Geyer, R. P., Matthews, L. W. and Stare, F. J.; Parenteral Nutrition. X. Observation on the use of a fat emulsion for intravenous nutrition in man. *J. Lab. Clin. Med.*, **34**, 1627, 1947.
 - 14) 日笠頼則; 脂質乳剤を以てする脂質代謝並にその栄養学的意義についての研究, 最新医学 **13**, 9, 10, 11号, 2278, 2586, 2954, 1958.
 - 15) 日笠頼則他; 脂質補給の基礎と実際, 診療, **11**, 9, 10号, 922, 1041, 1958.
 - 16) Bloom, R., et al.; Intestinal lymph as pathway for transport of absorbed fatty acids of different chain lengths. *Amer. J. physiol.*, **166**, 451, 1951.
 - 17) Geyer, R. P., Chippman, J. and Stare, F. J.; In vivo oxidation of emulsified radioactive trilauren administered intravenously, *J. B. C.*, **176**, 1469, 1948.
 - 18) 桑田勉, 油脂化学; 岩波書店, 東京, 1956.
 - 19) 日本油脂化学協会編, 油脂化学便覧; 丸善書店 1958.
 - 20) Verkade, P. E., J. van der Lee, F. W. Meerborg; Einige Bemerkungen über die Herstellung der Triglyceride der Fettsäuren. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bs.* **51**, 850, 1932.
 - 21) 小森研究室編, 油脂試験法; 大阪大学工学部応用化学教室.
 - 22) 日本薬局方注解; 南江堂, 1954.
 - 23) 戸部隆吉, 未発表
 - 24) 丹信敏, 未発表
 - 25) 牧安孝, 未発表
 - 26) Meng, H. C., J. B. Youmans; Utilization of a "Synthetic" triglyceride preparation by weanling rats. *J. Nutr.*, **55**, 527, 1955.
 - 27) Van de Kamer, J. H., H. Ten Bokkel Huinink, and H. A. Weyers; Rapid method for the determination of fat in feces. *J. B. C.*, **177**, 347, 1949.
 - 28) 松田晋, 未発表
 - 29) 長瀬正夫, 未発表
 - 30) Okamoto, K.; Experimental pathology of diabetes mellitus. Nippon-Isho Schuppan Co Ltd. Tokyo 1951.
 - 31) Bailey, C. C., and O. T. Bailey; The Production of diabetes mellitus in rabbits with alloxan. *J. Amer. Med. Ass.*, **122**, 1165, 1943.
 - 32) Bailey, C. C.; Alloxan diabetes. The treatment of diabetes mellitus, 8 edition, Lee and Febiger, Philadelphia, 1947.
 - 33) Lukens, F. D. W.; Alloxan diabetes. *Physiol. Rev.*, **28**, 304, 1948.
 - 34) 沖中重雄, 小林樹徳; アロキサン糖尿病, 医学の進歩, 南条書店, 東京, **6**, 392, 1949.
 - 35) Banting, F. G. and C. H. Best; The internal secretion of the pancreas. *J. Lab. Clin. Med.*, **7**, 251, 1922.
 - 36) 岡本耕造; 実験病理学よりみた糖尿病の先天性素因, *J. Kyoto Med. Ass.* **9**, 1, 1958.
 - 37) Bierman, E. L., I. L. Schwartz, and Vincent P. Dole; Action of insulin on release of fatty acids from tissue stores. *A. J. Physiol.*, **191**, 359, 1957.
 - 38) Banerjee, S.; Effect of certain substances on the preventions of diabetogenic action of "alloxan". *Science*, **106**, 128, 1947.
 - 39) Lazarow, A.; Protective effect of glutathione and cystine against alloxan diabetes in the rat. *Proc. Soc. Exp. B. M.*, **61**, 441, 1946.
 - 40) Lazarow, A.; Further studies of effect of sulphur compounds on production of diabetes with alloxan. *Proc. Soc. Exp. B. M.*, **66**, 4, 1947.
 - 41) Lazarow, A., and J. Liambis; Methylen blue potentiation of alloxan diabetes. *Proc. Soc. Exp. B. M.*, **73**, 323, 1950.
 - 42) Hiraide, J.; Progressive study of SH group. Igaku shoin Co. Ltd. 1954.
 - 43) Leech, R. H., C. C. Bailey; Blood alloxan and blood glutathione in rabbits injected with alloxan. *J. B. C.*, **157**, 525, 1945.
 - 44) 竹中普久; 諸種ビタミン類の実験的糖尿病発症防止に関する研究, 神戸医科大学紀要, **5**, 1502, 1955.
 - 45) 泰井哲朗; 諸種天然有機物質の実験的糖尿病発症防止に関する研究, 同上, **5**, 1442, 1955.
 - 46) 早川悌輔; 諸種化学物質の実験的糖尿病発症防

- 止に関する研究。同上, 5, 1571, 1955.
- 47) 泰井哲朗他; シロネズミおよびハツカネズミの
胰血管枝の圧迫による一時的血行停止のさいの
脾臓および腹腔臓器の血行について, 同上,
5, 1433, 1955.
- 48) Rodríguez, R. D.; Prevention of diabetes
on forced fed rats under prolonged diethyl-
stilbestrol administration. Proc. Soc. Exp.
B. M., **73**, 317, 1950
- 49) Collins-Williams, J., A. E. Renold, A. Ma-
rble; Attempts to produce diabetes in
guinea pig by alloxan and pancreatectomy
with observation on the effect of diet
deficient in cystine and methionine. End-
ocrinology, **46**, 1, 1950.
- 50) Houssay, B. A., O. Orias, and J. G. Sará;
Action of alloxan on glycemia of dog. J.
Amer. M. Ass., **129**, 145, 1945.
- 51) Borstein, J.; Insulin-reversible inhibition
of glucose utilization by serum lipoprotein
fractions. J. B. C., 205, 513, 1953.
- 52) 医学シンポジウム第17輯; 糖尿病, 診断と治療
社, 東京1957.
- 53) 中村隆他; 実験的糖尿病に及ぼす食餌の影響,
最新医学, **13**, 203, 1958.
- 54) Janes, R. G., and M. Prosser; Influence of
high fat diets on alloxan diabetes. Am. J.
Physiol., **151**, 581, 1947.
- 55) Nelson, R. A.; Pathophysiology of diabetes
mellitus. Amer. J. Dig., Dis. **14**, 35, 1947.
- 56) Gomori, G.; A differential stain for cell
types in the pancreatic islets. Amer. J.
Path., **15**, 437, 1937.
- 57) Duff, G. L.; The pathology of the pancreas
in experimental diabetes mellitus. Amer.
J. M. Soc., **210**, 381, 1945
- 58) Johnson, D. D.; Alloxan administration in
the guinea pig. A study of the histological
changes in the islands of Langerhans, the
blood sugar fluctuations, and changes in
the glucose tolerance. Endocrinology, **46**,
135, 1950.
- 59) Molander, D. W., A. Kirschbaum; Altered
glucose tolerance with histologically normal
islets following repeated small doses of
alloxan. Endocrinology, **44**, 391, 1949.
- 60) Duff, G. L., Toreson, W. E.; Prevention and
reversal despite hyperglycemia of gly-
cogen infiltration (hydropic degeneration)
in the pancreas in alloxan diabetes in the
rabbit. Endocrinology, **48**, 298, 1951.
- 61) Okamoto, K.; Microscopic Histochemistry.
2nd Ed. Igaku Shoin Co. Ltd. Tokyo. 1958.
- 62) Fischer, H.; Dithizon verfahren in der
Chemischen Analyse. Überblick über die
Entwicklung der letzten Jahre. Z. angew.
Chemie, **50**, 919, 1937.
- 63) Wang, G. F., O. M. Hegsted; Determination
of blood and plasma volumes, thiocyanate
space and bromsulphalein clearance in rats
Amer. J. Phy., **156**, 227, 1949.
- 64) Somogyi, M.; Notes on sugar determination
J. B. C., **195**, 19, 1952.
- 65) 藤井暢三; 生化学実験法, 定量篇, 南山堂,
1956.