

経静脈性脂質輸入の創傷治癒に及ぼす影響

——特に不可欠脂酸の意義に就いて——

京都大学医学部外科学教室第2講座 (指導：青柳安誠教授)

倉 田 昌 彦

〔原稿受付：昭和34年8月5日〕

EFFECTS OF INTRAVENOUS INFUSION OF FAT ON WOUND HEALING

——SIGNIFICANCE OF ESSENTIAL FATTY ACIDS——

by

MASAHIKO KURATA

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School

(Director: Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

Fat has twice as much caloric value as carbohydrate or protein, and its role as a caloric source is well known, however, fat is not only significant as variable element, but it also plays an important role as a composing factor of tissue cells.

The importance of fat as a constant element was more definitely clarified by the discovery of the essential fatty acids. The fat emulsion which was produced in our laboratory was composed of sesame oil containing abundant essential fatty acids, and could be infused intravenously.

In present paper, the influence of fat, especially of essential fatty acids, on the wound healing was investigated by intravenous infusion of this fat emulsion or oral administration of sesame oil, and the significance of fat as a constant element was also investigated. The following conclusion was reached:

1. The administration of sesame oil accelerates markedly the wound healing. This effect is mainly due to the essential fatty acids which are contained in sesame oil.

2. These facts show that fat plays a important role as a composing factor of tissue cells, i. e. the constant element.

3. The mobilization of depot fat caused by surgical stresses can be explained as a reasonable stress response.

第1章 緒 言

脂質は糖質並びに蛋白質に倍する熱量価を有し、その熱源的な役割については従来良く知られて来た。併し脂質は単にこのような Variable element としての

意義を有するのみでなく、更に脂質は組織細胞の構成並びにその正常機能の遂行にも大きく関与しているので、換言すれば脂質はまた非熱源的な役割をも果しているものである。

このような脂質の有する Constant element として

の意義も近時各方面から次第に明らかにされつつあり、例えば組織細胞の構成基本単位も脂質と蛋白質の複合体である脂蛋白であることが明らかにされるに至つた³⁸⁾⁹²⁾、またこれが細胞膜、原形質膜⁸⁷⁾、核膜¹⁹⁾、ミトコンドリア膜¹¹⁾の形成にも与り、更に赤血球抵抗⁵⁴⁾、皮膚毛細血管⁴⁵⁾、肺毛細血管⁶¹⁾の透過性にも大きな影響を及ぼすことが明らかにされるに至つた。

また Pearson and Panzer⁶⁶⁾ は脂質を全く含有せず、蛋白質、糖質のみからなる食餌を試験に投与した際には、三大栄養素を共に含有した食餌を投与した場合に比して Phenylalanine, Varine, Lysine, Methionine 等のアミノ酸類の排泄が異常に増加する事実を認め、体構成成分の崩壊を防ぐためには蛋白質と共に脂質の充分な補給が必須条件であるとしている。

ところで、以上のような脂質の有する Constant element としての意義の重要性は次に述べる不可欠脂酸の発見によつて更に一層明確化されるに至つた、即ち、Evans and Burr (1926), Mc Amis et al. (1929)⁵¹⁾ 其の他⁷⁾ は嚴重な脂質欠乏食餌によつて飼育したラットの生長はやがて停止し、生殖不能となり、特有の皮膚変化及び尾部の壊死脱落を来し、更に肝、腎等の臓器の出血性変化すらも招来し、遂には試験の死をみるようになることを見出したが、これは脂溶性ビタミンである Vitamin A 及び D の欠乏によるものではなく、不可欠脂酸あるいは必須脂酸 (Essential fatty acid, EFA) と呼称されている生体内では全く合成され得ない不飽和脂酸即ちリノール酸、アラキドン酸等の欠乏によるものであることが今日明らかにされるに至つた。⁵⁾⁸⁾⁹⁾¹⁶⁾¹⁸⁾²⁶⁾²⁹⁾³⁰⁾⁸⁰⁾⁹¹⁾

而してこの不可欠脂酸こそ Constant element としての役割を果しているもので、Sinclair⁸¹⁾⁸²⁾ は不飽和脂酸を与えた際には体内不飽和脂酸は容易に増加するのに反して、その欠乏による体内不飽和脂酸の減少は極めて起り難いことを示し、不可欠脂酸が生体組織の構成に与つている可能性を示唆しており、更に Swanson⁸⁸⁾ は細胞膜、ミトコンドリア膜、ミクロゾーム中に含有される脂質構成脂酸について詳細な研究を行い、これに大量の不飽和脂酸特にアラキドン酸がその構成に与つていることを明らかにした。

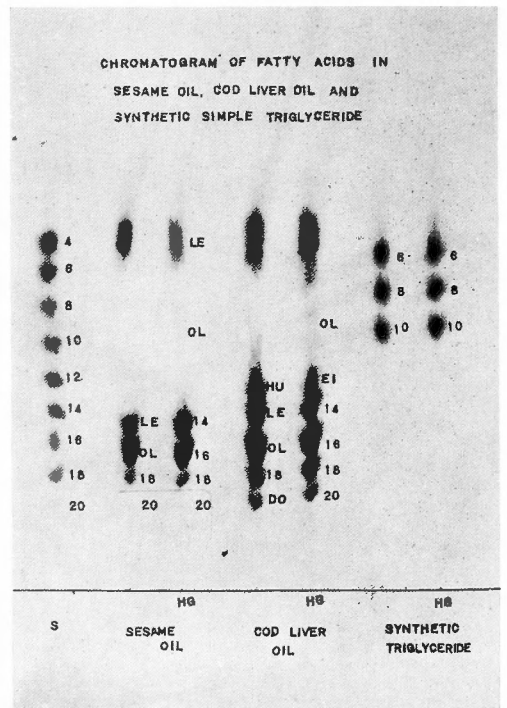
斯くして不可欠脂酸はまたミトコンドリアに於て行われる各種酵素の働きにも密接な関連性を有することも知られるに至つた。⁶⁾⁷⁾⁴⁷⁾⁹⁴⁾

また腫瘍組織のようにその發育の旺盛な組織では不可欠脂酸の消費が亢進する⁸⁴⁾⁸⁵⁾、全身の結合組織の

形成にも不可欠脂酸は大きく関与しているものとされるに至つた。⁷⁰⁾⁷⁹⁾

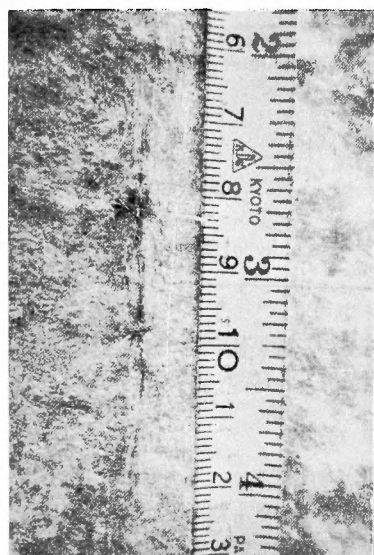
創傷の治癒がその周部組織からの新生によつて果されることはいう迄もないが、従来これに対しては蛋白質の及ぼす影響のみが重要視されて来た。併し上述のように組織細胞が脂蛋白によつて構成され、脂質は蛋白質と共に組織の構成に大きな役割を果し、而も脂質特に不可欠脂酸が組織の生長、結合組織の發育に大きく関与していること等が明らかにされるに至つたからには、蛋白質同様脂質もまた創傷における組織の新生あるいは再建に大きく関与しているものと考えざるを得ないのである。

われわれの教室で創製した経静脈注入可能なゴマ油乳剤は、不可欠脂酸を多量に含有するゴマ油の乳化態であるから(第1図)、本研究においてもこのゴマ油乳剤注入法あるいはゴマ油の経口的投与法を駆使することによつて、脂質就中不可欠脂酸の創傷治癒に及ぼす影響を追究すると共に、併せてこれにより Constant element としての脂質の意義を解明しようと試みたわけである。

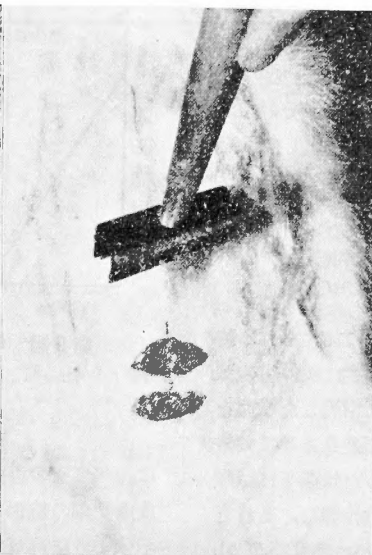


第 1 図

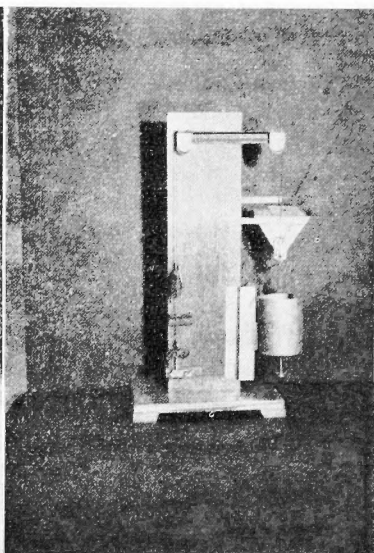
第2章 実験方法



第 2 図



第 3 図



第 4 図

1. 創傷抗張力の測定

従来創傷治癒に関する研究は数多く報告され、その組織学的検索法についても古くから (Ziegler 1874, Marchand 1901) 報告がみられる。而してその治癒経過を数量的に表わす手段としても Carrel (1910)¹⁰⁾, Du Nöuy (1916)²¹⁾, 奥田 (1932)⁶³⁾, 柳⁹⁸⁾等の種々の方法が考案されている。

また Howes⁴¹⁾によつて考案され、本研究に於ても採用した創傷抗張力の測定法も、要は組織の抗張力が創傷の癒合力を示すものであるという事実によるもので、一般に抗張力は初め数日間は創面間における膠着物質によつて左右されるが、その後は創傷における Collagen 線維の発達と略々平行することが明らかにされている²⁰⁾。

而もこの抗張力の測定方法にも亦いろいろの方法があり、Howes による皮膚切創をこれに直角の方向に細長い短冊形切片として切り取り伸展機にかける方法や、胃壁⁴²⁾, 腹壁⁵⁰⁾に切創を作りその内腔に空気或いは水等を圧入して破裂させる方法、或いは生体に麻酔を施し、切創をそのまま左右に牽引して哆開させる方法²⁸⁾等がその測定に適しているといわれている。

従つて、本研究に於ても第2図に示すような長さ約4cmの皮膚切創を矢状線と平行に作製し、その中央部で約1.5cmの間隔をおいて6号絹糸により2針縫合を行い、この皮膚切創の抗張力を測定した。

抗張力を測定するに当つては第3図に示すように正

確に1cmの間隔に鋭利な刃を有する道具によつて、2つの縫合糸の間から巾1cmの切創に直角な方向に細長い短冊形皮膚切片を切り取り、これを第4図に示す伸展機に設置して、砂による6.5g per min.の加重牽引を行い、皮膚切片の癒合部が断裂した時の砂重量から滑車抵抗を除去した値を以て、この切創の抗張力と定めた。

また、創傷の感染予防のため切創作製後3日間水溶性 Penicillin の一定量を背部筋肉内に注射した。

2. 組織学的検索

染色法としてはエオジン・ヘマトキシリン染色並びに Van Gieson 染色法を行つた。

第3章 実験成績並びに考按

1. 低蛋白、低熱量食餌投与の家兎に於ける創傷治癒に及ぼすゴマ油乳剤注入の影響

脂質が著明な蛋白節約作用を有することは既に知られているが⁶⁶⁾⁷²⁾⁷⁴⁾⁷⁵⁾⁹⁶⁾, 教室の塚田⁹⁰⁾, 長⁶⁴⁾, 久山⁴⁸⁾, 花房³²⁾等も脂質乳剤を使用することによつて、斯る事実を動物実験的並びに臨床的に明らかにした。

併し、このような脂質の低蛋白低熱量食餌投与下に於ける蛋白質節約作用も、従来考えられて来たような、ただ単なる脂質の熱源的な作用のみに帰すべきものではなく、同時にまた組織細胞を構成する Constant element としての脂質の補給が斯る際の細胞の崩壊に防制的に作用していることも見逃せないように思わ

れる。このような点について本実験においては創傷の治癒状況から検討を加えた。

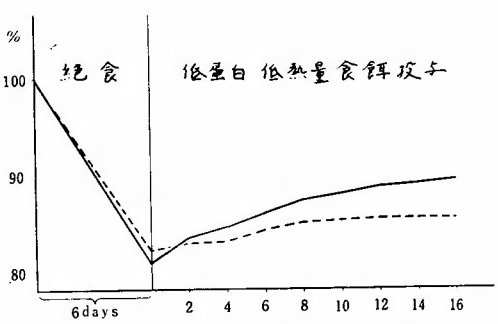
即ち、体重2kg 前後の雄性家兎を予め後述の標準飼料（第1表）によつて約1～2週間飼育し、その中から体重のほぼ安定したものを選んで実験に供した。と

第1表 体重約2kg家兎に於る標準飼料の含有熱量

生 草；	150g	51.87Cal
フスマ；	80g	158.74Cal
熱量総計；		210.31Cal

ここで胃切除のような手術侵襲が人体に加えられる時は、手術後患者は手術前の略々80%程度に迄体重の減少を来すのが普通であるから、これに相当した状態を試験に惹起する目的で、試験を6日間絶食させて健常時の体重の80%程度に迄体重が低下した状態下に試験を陥入らしめた後、これに皮膚切創を作製し、それと同時に標準飼料(生草150g,含有蛋白量5g,熱量25.5Cal, フスマ80g,蛋白量11.6g,熱量184.5Cal, 含有蛋白量総計16.6g, 熱量総計210Cal)の略々1/3相当量の蛋白質並びに熱量を含有する低蛋白、低熱量飼料(生草75g, 含有蛋白量2.5g,熱量12.8Cal,フスマ27g,含有蛋白量3.9g 熱量62.3Cal,含有蛋白量総計6.4g,熱量総計75.1Cal)の投与を行つた。而してこれを2群に別ち、一方には経口的食餌投与と同時に体重毎kg当り20%ゴマ油乳剤の6.6ccを糖、ビタミンと共に耳静脈から連日注入し、対照群に対してはゴマ油乳剤投与群に投与したと同量の水分、糖、ビタミンを経静脈性注入によつて投与した(第2表)。

然るに第5図に示すように6日間の絶食という前処置によつて実験前のほぼ80%程度に迄一旦減少した体重は、低蛋白低熱量食餌の投与開始と同時に両群共に増加し始めるが、ゴマ油乳剤注入の方が遙かに対照群



第5図 低蛋白、低熱量家兎の体重曲線
——；ゴマ油乳剤注入群
……；対照群

に比べてその程度が著明であり、且つそれに相応して皮膚切創の抗張力増大の程度も第3表並びに第6図に示すように、ゴマ油乳剤注入群の方が対照群に比べて遙かに著明で、特に6～8日以後に於て両群の差は判然と認められるようになった。

このような創傷治癒の状況を両群について更に組織学的見地から比較すると、2日目には既に両群共創面間の膠着物質への肉芽組織の著明な侵入が見られるが、まだ Collagen 線維は証明出来ず、而も両者間の差も左程著明でない。4日目に至ると両群共創面間は線維芽細胞によつて充満されるが、ゴマ油乳剤注入群の方が対照群に比べてその数も多く、その増生が活潑に行われている。6日目に至るとゴマ油乳剤注入群の線維芽細胞は対照群に比べてその配列が一様となり、細い Collagen 線維が創面間に充満し、明らかにゴマ油乳剤注入群の方が対照群に比べて組織学的にも創傷の治癒が促進されている。更に8日目に至ると両群共に線維芽細胞は可成の成熟を示し、6日目像に比較し

第2表 低蛋白、低熱量家兎に於る食餌投与並びに注入薬剤
Wounding

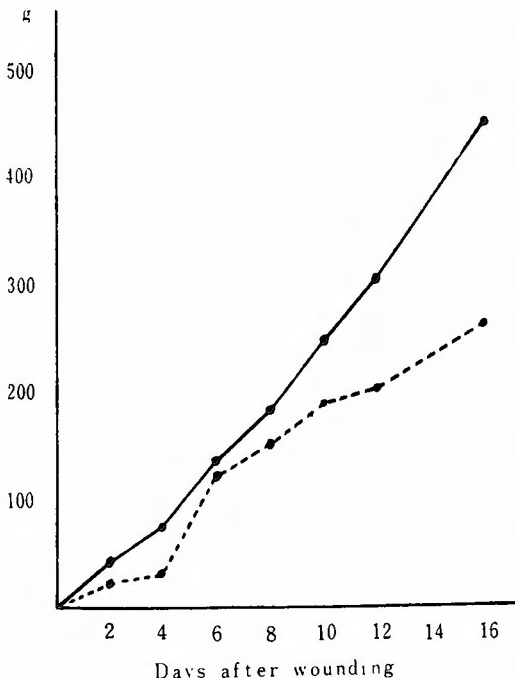
食 餌	絶 食	食 餌
		低蛋白、低熱量食餌(生草；75g、フスマ；27g)投与
Fat emulsion infused group		Fat emulsion 50% glucose solution 2cc Vitamins
Control group		5% glucose solution 9.54cc 50% glucose solution 2.46cc Vitamins
	6 days before wounding	

Vitamins: Vitamin B₁ 20mg, Vitamin B₂ 10mg, Nicotinic acid 20mg, Vitamin C 40mg and Methionine 20mg

第3表 低蛋白，低熱量食餌投与家兎に於ける腹部皮膚切創抗張力測定値

Days after wounding		2	4	6	8	10	12	16
No. of animals								
Fat emulsion infused group	1	90		230		335		560
	2	90		200		360		600
	3	80		120		225		530
	4	90		180		270		480
	5		90		170		420	540
	6		170		220		380	475
	7		130		235		350	390
	8		100		230		365	420
	Mean	87.5	122.5	182.5	228.3	297.5	353.7	499.4
Control group	9	70		250		330		405
	10	60		130		200		310
	11	80		170		190		200
	12	70		150		220		335
	13		90		190		255	300
	14		70		240		310	390
	15		90		185		220	270
	16		80		170		210	250
	Mean	70	77.25	175	196.25	235	249	307.5

(a unit; gram)



第6図 低蛋白，低熱量家兎の切創抗張力曲線

—●— ; ゴマ油乳剤注入群
 - - - ● - - ; 対照群

てその輪郭は不鮮明となり数も減じて来る。而してこの際もゴマ油乳剤注入群の方が対照群に比べて成熟の程度が優つてゐるようである。また Collagen 線維の発達も明らかにゴマ油乳剤注入群の方が優つてゐる。10日目にも対照群に比べてゴマ油乳剤注入群の線維芽細胞の成熟が著明である。而して両群共に既に著明に発達した Collagen 線維によつて創傷は満たされるが、なお対照群はその発達がゴマ油乳剤注入群に比べて遅れている。併し16日目に至ると両者共に略々発達した結合組織線維によつて創傷は満たされ、組織学的には両群の Collagen 線維増生の程度にも最早殆んど差異を認め難い、併しその発達の程度に大きな差の存在することは前述の抗張力の測定成績より明らかである。

以上の実験成績は低蛋白，低熱量食餌投与下にある試験に対し、熱量的には殆んど問題にならない程度の僅かな量の脂質の補給によつても、創傷の組織再建は著しく促進され得ることを物語つて居り、従つて脂質補給の Variable element としての効果のみを以て以上の事実を説明することは出来ず、そこにはどうしても脂質の有する Constant element としての役割を充分に考慮すべき必要性のあることを示唆している。

第4表 Composition of diets

Fat-free diet			Sesame oil contained diet		
Casein	24g	83.04Cal	Casein	24g	83.04Cal
—	—	—	Sesame oil	20	180.0
Potato starch	71	237.14	potato starch	17.2	57.14
Salt mixture	5		salt mixture	5	
Vitamin mixture	第6表		Vitamin mixture	第6表	
Total calorie		320.18	Total calorie		320.18

2. 脂質欠乏食餌並びに20%ゴマ油含有食餌によつて飼育したラットの創傷治癒状況の比較及び Vitamin B₆ 併用の意義

前項の実験に於ても明らかなように、熱量的にみれば殆んど問題にならない程度の量の脂質を補給しても、確かに脂質の補給は創傷の治癒を著しく促進し、組織の新生あるいは再建に大きく寄与していることを立証した。

即ち、脂質は Variable element としての熱源的な作用を有するのみならず、組織細胞の構成並びにその正常機能の遂行にも大きな役割を果しているもので、換言すれば Constant element としての意義を有することを示している。

そこで更にこの点を詳細にする目的で、脂質欠乏食餌並びにゴマ油含有食餌によつて飼育したラットの創傷治癒の状況を検討し、併せてこの両群の肝における不可欠脂酸の含有量をも比較検討した。

また後述するように不可欠脂酸の代謝に大きな関係を有する Vitamin B₆ をも併用した場合についても同様に検討し、脂質の Constant element としての役割を果すものが不可欠脂酸に由来するという事実を明確にしようと試みた。即ち、不可欠脂酸であるリノール酸、リノレン酸、アラキドン酸のうちアラキドン酸のみは動物界固有の脂酸であり、而もアラキドン酸は前二者に比べて生体に及ぼす作用が極めて強く⁹⁾³⁰⁾³²⁾、また生体内に於てリノール酸からアラキドン酸への転換が行われ合成され得ることが認められている³⁹⁾⁴⁰⁾⁵³⁾⁵⁹⁾⁶⁰⁾⁸⁶⁾⁹⁷⁾。Deuel¹⁸⁾ もリノール酸、リノレン酸の形で摂取された不可欠脂酸が生体内に於てアラキドン酸に転換された後、初めて活性型となり不可欠脂酸特有の栄養学的効果を発揮するに至るものとしている。

また他方、Vitamin B₆ が不可欠脂酸と極めて密接な関係を有することは Vitamin B₆ 欠乏による皮膚変化並びに Acrodynia が脂質欠乏によるそれと極めて良く類似しており、而も前者が脂質投与によつて、後

者が Vitamin B₆ の投与によつてある程度迄治癒することなども知られるに至つた²⁾³⁾¹⁸⁾³⁷⁾⁵³⁾⁷⁶⁾⁷⁸⁾。而してその後 Witten and Holman⁹⁷⁾ 並びにその他の研究者³⁹⁾⁴⁰⁾⁹⁵⁾によつて、Vitamin B₆ は不可欠脂酸の生体内代謝に大きく関与し、リノール酸からより高度な不飽和脂酸であるアラキドン酸への転換にそれが大きく関与していることが明らかにされている。

本実験に於ては雄性の純系 Wistar 系ラットを試獣として選び、これを4群に分ち、第1群及び第2群には第4表に示すような糖質、蛋白質のみからなり全く脂質を含まない食餌を投与し、第3群並びに第4群にはこれにリノール酸を含有するゴマ油を添加した食餌を投与したが、何れの食餌に於ても食餌の有する総熱量並びに蛋白含有量は同一とした(第4表)。

また更に第2群並びに第1群には Vitamin mixture の経口的投与の他に Vitamin B₆ を1日1mgの割合で各試獣に皮下注射によつて追加補給した。而して各群何れも斯る食餌で12週間飼育した後、試獣の腹部皮膚に作製した切創の抗張力をさきに述べた実験と全く同様な方法で測定すると共に、エオジン・ヘマトキシリン染色並びに Van Gieson 染色によつてこれ等創傷の組織学的検索をも併せ行い、線維芽細胞の発達、Collagen 線維の形成を比較観察した。

各群の生長曲線は第7図に示すようにゴマ油含有食餌群③④がほぼ直線的に發育するのに対して、脂質欠

第5表

Salt mixture	
NaCl	17.3g
NaH ₂ PO ₄	31.7
K ₂ HPO ₄	95.4
CaH ₂ (PO ₄) ₂ ·H ₂ O	54.0
Cal. lact.	139.0
MgSO ₄	26.6
KJ	10.0

(by McCollum)

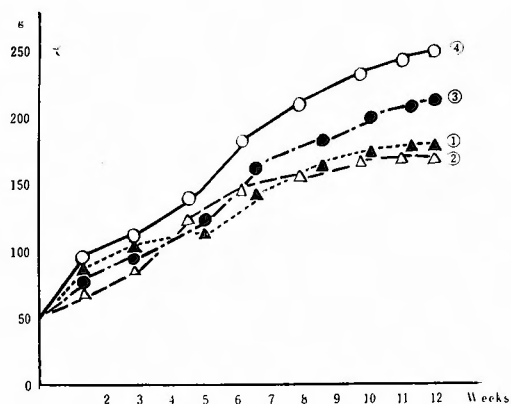
第 6 表

Vitamin mixture (per fat-free food 100g)	
biotin	15 μ g
folic acid	100 μ g
thiamine HCl	600 μ g
riboflavine	750 μ g
ca. pantothenate	1500 μ g
pyridoxine HCl	750 μ g
nicotinic acid	6mg
choline HCl	100mg
inositol	300mg
B ₁₂	0.2 γ
C	33mg
K	0.4mg
A	540 i. u.
D ₂	45 i. u.
E	0.2mg

乏食餌群①②は初めの2～3週間は略々正常に發育するが、その後次第にその体重増加の程度が少なくなり、8～10週に至つてその体重増加曲線は殆んど水平となる。これは Greenberg et al.²⁹⁾の所見と極めて良く一致している。

また脂質欠乏食餌群①②にあつてはVitamin B₆併用の効果が全くみられないのに反して、ゴマ油投与群③④にあつてはB₆併用群④の方がB₆非併用群③に比べて遙かにその生長は良好で、明らかにB₆併用の効果が認められる。切創抗張力の測定値(第7表)並びにその平均曲線第8図に於ても脂質欠乏群①②はゴマ油投与群③④に比べて創傷の治癒が著明に遅延しているのがみられ、而も脂質欠乏群にあつてはVitamin B₆併用の効果が全くみられないのに反して、ゴマ油投与群にあつてはB₆併用の効果が顕著に認められた。

更に以上の事実を組織学的に検討すると、3日目には既に何れの群においても創面は線維芽細胞並びに毛



第 7 図 純系 Wistar 系ラットの生長曲線

- ① ▲——▲; 無脂質食餌による飼育群
 ② △---△; 無脂質食餌による飼育並びに Vitamin B₆投与群
 ③ ●---●; ゴマ油含有食餌による飼育群
 ④ ○——○; ゴマ油含有食餌による飼育並びに Vitamin B₆投与群

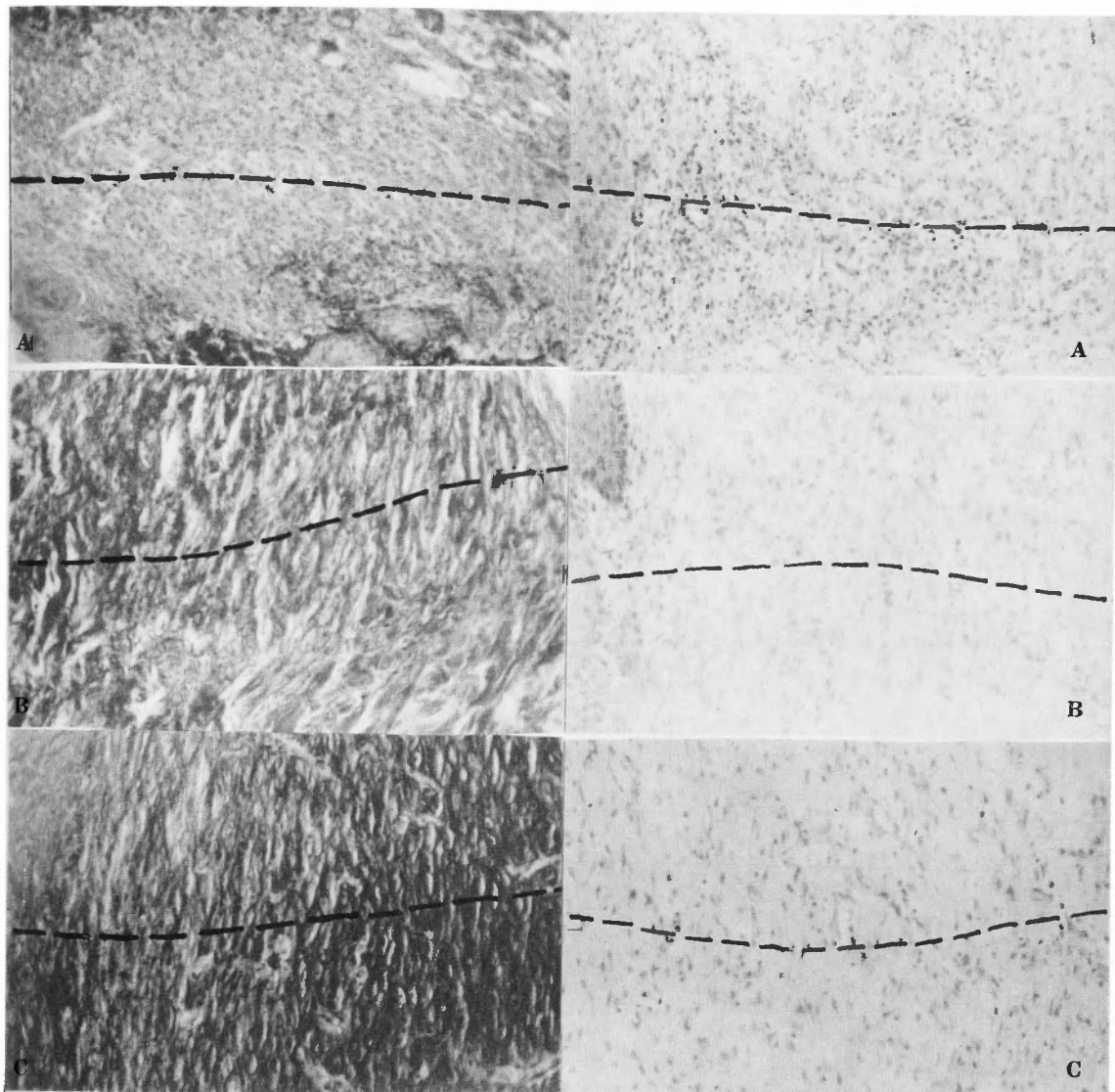
細管芽萌からなる新生肉芽組織によつて占められ、各群の間にこれといった著明な差異は認め難い。併しゴマ油投与群就中 Vitamin B₆を併用したものに於ては線維芽細胞の数が多くに思われる。なお Collagen 線維は何れの群に於ても未だ充分には認められない。

6 日目に至ると線維芽細胞はゴマ油投与群特にB₆併用群に於て、脂質欠乏群に比べてその数が多く認められ、脂質欠乏群ではB₆併用群と非併用群の間に全く差異を認め難い。Collagen 線維の形成はゴマ油投与群特にB₆併用群に於て、脂質欠乏群に比べその増生が遙かに良好である(第9図)。9 日目に至ると脂質欠乏群はゴマ油投与群に比べて線維芽細胞の成熟の遅延が著明であり(第10図)、多数の未成熟な細胞がみられる。ゴマ油投与群の線維芽細胞は一樣の配列を示し、結合繊維化への傾向が大きい。ゴマ油投与群の Collagen 線

第 7 表 純系 Wistar 系ラットに於ける腹部皮膚切創抗張力測定値 (平均)

After incision days	3	6	9	12	15
脂質欠乏群	40	121.2	250	308.6	330
脂質欠乏並びに Vitamin B ₆ 投与群	75	120	250	325	385
ゴマ油投与群	47	149	327	405	440
ゴマ油投与並びに Vitamin B ₆ 投与群	120	220	391	476	512

(a unit: gram)

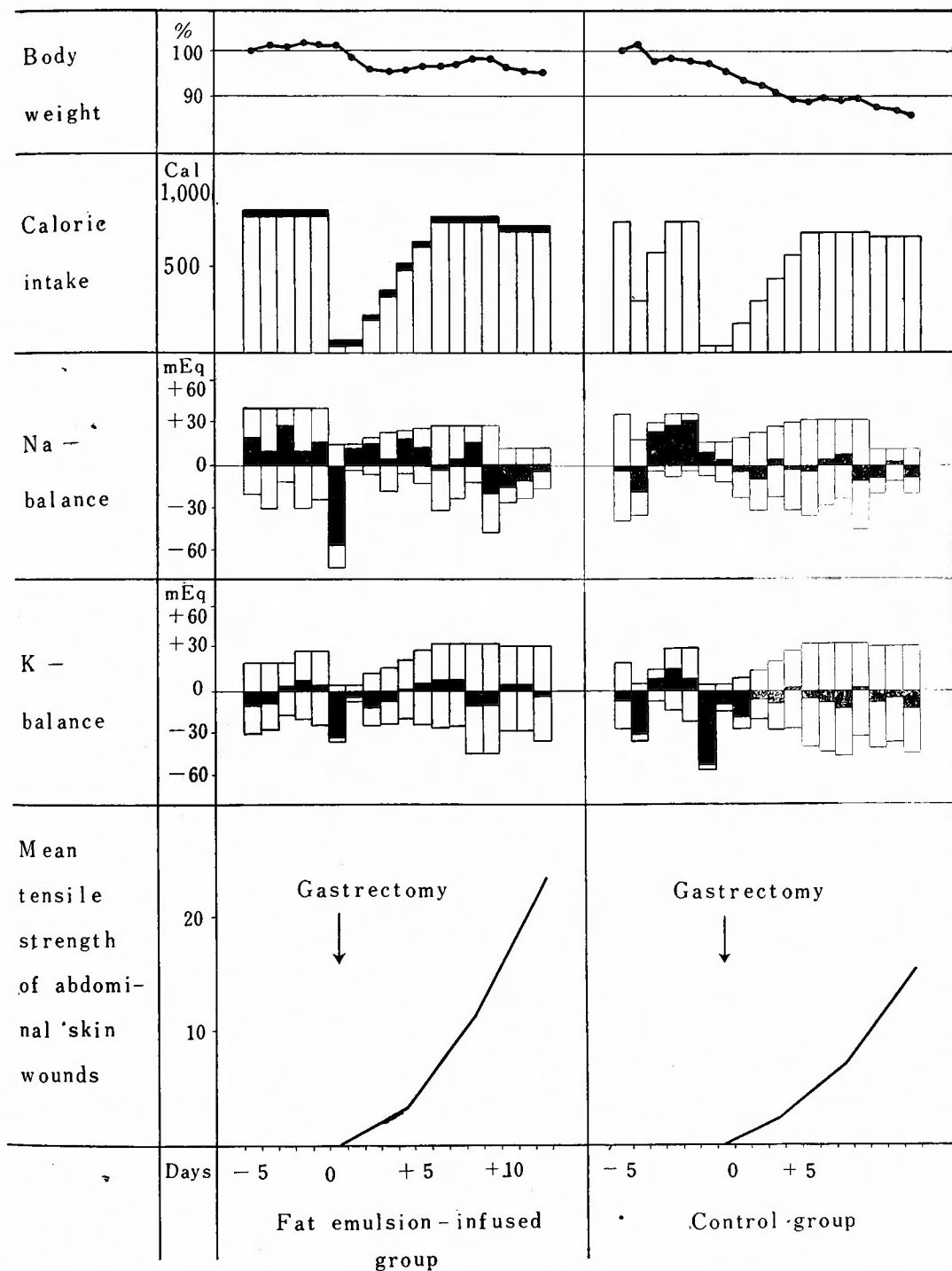


第 9 図

第 10 図

脂質欠乏(A), コマ油投与(B), コマ油並びにVitamin B₆投与(C)ラットの Van Gieson 染色による 6 日目創傷組織像。脂質欠乏像に於いて Collagen 線維(赤染)の著明な形成不全が認められる。(-----; 切創中心線)

脂質欠乏(A), コマ油投与(B), コマ油並びにVitamin B₆投与(C)ラット H. E. 染色による 9 日目創傷組織像。脂質欠乏像に於いて細胞の未成熟が著明である。(-----; 切創中心線)



第12図 胃切除術施行犬に於ける体重並びに切創抗張力の比較

第9表 胃切除施行犬に対する食餌投与並びに注入薬剤
gastrectomy & incision

Days	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
食 餌	米:17g(60 Cal)per kg b. w. 魚粉:4g(10 Cal) // 水; 40cc // 水; 40cc // (Standard diet)							fasting	S. D. ×1/5	S. D. ×2/5	S. D. ×3/5	S. D. ×4/5	Standard diet							
Fat emulsion infused group	20% Fat emulsion (containing 5% glucose solution 8cc B.E.S. 10cc Vitamins							7% glucose)	2cc per kg b. w. // //											
Control group	5% glucose solution 10cc per kg b. w. B.E.S. 10cc Vitamins																			

Vitamins: Vitamin B₁ 10mg, Vitamin B₂ 5mg,
Vitamin B₆ 25mg, Vitamin C 100mg

斯る観点から手術侵襲なる Stress が、生体に加わつた際、その後の創傷治癒に脂質乳剤の投与が如何なる影響を与えるかを次の実験によつて検討した。

即ち、体重10kg前後の雄性犬を用い、第9表に示すように胃切除施行前1週間米17g (60Cal), 魚粉4g(10 Cal), 水80cc (各体重1kg当り)の基準食餌を与え、胃切除を施行した当日並びにその翌日は絶食とし、術後2日目から術後5日目に至る間は基準食餌の1/5から4/5量に至る食餌量を投与し、術後6日目以後は基準食餌全量を与えた。

ゴマ油乳剤は術前1週間より術後9日迄第9表に示す量を糖、Vitamin、B. E. S.と共に四肢静脈から連日注入し、対照群にはゴマ油乳剤投与群に投与されたと同量の糖、電解質並びに Vitamin を経静脈性注入によつて連日投与した。

実験に供する切創の作製は胃切除施行の直後に行い、側腹部の皮膚に数ヵ所作製した。皮膚切創の作製方法並びに抗張力の測定、組織学的検索方法は前述した諸実験と全く同じである。

胃切除術は嚴重な消毒のもとに行い、胃の末梢側約2/3を切除し、Billroth I 法による胃十二指腸吻合を行つた。

然るに第12図に示すように体重は両群共に術後やや減少するが、ゴマ油乳剤注入群の方が対照群に比べ体重の減少程度が小さい。

切創の抗張力増強曲線はゴマ油乳剤投与群の方が対照群に比べて遙かに著明である。

以上の事実を更に組織学的に検討すると、4日目に於てはゴマ油乳剤投与群並びに対照群の何れも創面間

第10表 胃切除術施行犬に於る切創抗張力測定値 (平均)

After incision days	4	8	12
Fat emulsion infused group	330	1150	2270
Control group	250	720	1580

(a unit; grm)

に肉芽組織が充分発達しているが、前者は後者に比べ線維芽細胞の数が多い。Collagen 線維は両群共に認められない。8日目ではゴマ油乳剤投与群の線維芽細胞はその輪郭が何れも不鮮明となり数も減じて、可成りの成熟を示している。これに對し対照群に於てはその成熟化の遅延が認められる。また前者にあつては非常に数多くの Collagen 線維が活潑な増生発達を営んでいるが、後者はその数が少なく明らかに増生発達が遅延している。而して12日目に於てはゴマ油乳剤注入群、対照群の何れも線維芽細胞は成熟しその数を著明に減少して来るとはいへ、なお前者にその成熟化の優位が見られる。併し Collagen 線維は両群共に既に著明な発達を遂げており、両群の間に著明な差異を組織学的に認め難い。

以上の実験結果から胃切除後に於てもゴマ油乳剤投与がその創傷治癒を促進させることが明らかになつた。

一般に生体に Stress が加わると貯蔵脂質の動員が Stress response として惹起され、而もこれが蛋白同化期に移行した後もなお暫く継続するという事実は、勿論この動員脂質の酸化燃焼によつてその間の生体の要求する熱量の補給を果すという意味が多分に存在す

ることはいう迄もないが、併し他方私が以上の実験から明らかにしたように Stress にもとづく脂質動員作用は組織の再建という見地から見ても極めて合目的な Stress response と解し得るもので、組織の再建は蛋白質の補給のみでは毫も完うし得ず、組織細胞の構成基本単位である脂蛋白の合成には蛋白質と同時に充分な不可欠脂酸の補給の必要なることをよく物語っている。

而して貯蔵脂質中に日常貯えられている不可欠脂酸を Stress を契機として、熱源となり得る一般普遍的な脂酸（飽和脂酸、オレイン酸等）と共に動員し、術後の蛋白同化期に至つて補給蛋白質とこの動員不可欠脂酸を以て組織の再建を果すわけなのである。

第4章 総 括

以上の実験結果から脂質の投与が創傷治癒に大きく貢献するが、これが脂質の有する熱源としての効果によるものではなく、Constant element として組織細胞の構成に与る脂質の補給が果されたことによつて招来された現象と解さなければならぬ。

これは Smedley-MacLean et al.⁽⁸⁴⁾⁽⁸⁵⁾ の述べているように、その發育の極めて旺盛な腫瘍組織では不可欠脂酸の消費量が大きいという事実や、Ramalingaswami⁽⁷⁰⁾, Sinclair⁽⁷⁹⁾ の述べているように軟骨組織、骨組織の結合組織の發育に際し不可欠脂酸が大きな意義を有するという事実とよく一致するもので、要するに脂質、就中不可欠脂酸が組織細胞の重要構成成分としての大きな意義を有する事実を端的に示しているものということが出来よう。

さて創傷に於ける組織の再建は受傷とともにその周囲の結合組織から線維芽細胞が分裂増殖し、毛細管芽萌と共に肉芽組織を形成して創傷部を充填し、さらにこれ等の細胞間基質には線維芽細胞によつて可溶性の Mucopolysaccharide よりなる Procollagen 線維が形成され⁽²⁰⁾⁽²²⁾⁽²³⁾⁽³¹⁾、さらにこれが線維芽細胞の働きによつて不溶性の酸性 Polysaccharide よりなる強靱な Collagen 線維に発達するものと考えられている⁽²⁰⁾⁽²²⁾⁽²³⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾。而して細胞の重要な構成成分としての脂質特に不可欠脂酸の補給はこの線維芽細胞の分裂並びに増殖、さらには毛細管芽萌の形成に寄与するものであり、ひいてはこれによつて創傷の Polysaccharide 線維の形成を促進するものと考えられる。

なお更に不可欠脂酸はミトコンドリアの骨格を形成し、そこに行われる各種酵素系の働きにも密接な関連性を有するものとされている⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁴⁷⁾⁽⁸⁸⁾⁽⁹⁴⁾。また Mc Mil-

lan⁽⁵⁴⁾ は食餌による摂取熱量から体表面より水分蒸發によつて失われる熱量等を差引いた純粋に体内に於て利用されたと考えられる熱量を、その試獣の体重増加と比較して、脂質欠乏動物は対照と同一熱量摂取に於てその体重増加が対照の略々半分であると述べ、脂質欠乏動物にあつては摂取した熱量を大量に浪費していると述べている。即ち、脂質特に不可欠脂酸の欠乏は如何に他の栄養素を充分に摂取しても、それ等の殆んどが生体内に於て徒らに燃焼されるのみで生体の生長に寄与し得ないというのである。

またさきに述べたように結合組織の発達には Polysaccharide が大きな役割を演じているが、教室の松田⁽⁵⁸⁾ が明らかにしたように不可欠脂酸は糖質代謝に対しても著しい影響を及ぼすものであり、これが間接的に Polysaccharide 線維の形成にも大いに寄与しているものと考えられる。

第5章 結 語

生体の組織細胞が脂質と蛋白質の結合体である脂蛋白によつて構成されているという観点から、創傷治癒に対しては蛋白質の補給のみでは不十分で、同時に脂質の補給がなされなければならないものと考え、換言すれば脂質の有する非熱源的な役割を実験的に追究し、次の結論に到達した。

1. 低蛋白、低熱量食餌投与下にある試獣に対し不可欠脂酸を充分に含有した脂質を投与すると、その創傷治癒は著るしく促進される。
2. 脂質欠乏食餌並びにゴマ油含有食餌によつて飼育したラットの創傷治癒状況を比較し、併せて不可欠脂酸の代謝に密接な関連性を有する Vitamin B₆ 併用の効果を検討した。
3. 脂質欠乏ラットはゴマ油投与ラットに比べてその創傷治癒は著るしく遅延し、且つゴマ油を充分な Vitamin B₆ と共に併用投与した際に於てその効果は最も著明であつた。
4. このようなゴマ油投与の創傷治癒効果はゴマ油に含有される不可欠脂酸の存在によることは明らかである。
5. 胃切除を行つた犬に於ても同様術後の創傷治癒をゴマ油乳剤は促進させる。
6. 手術侵襲という Stress を伴つて惹起される貯蔵脂質の動員作用は、組織再建という観点からみても一種の生体防衛上の合目的生体反応と解し得る。
7. 脂質は Variable element として熱源的意義

を有するのみならず, Constant element として組織の構成並びにその正常な機能の遂行に關与している。

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。

参 考 文 献

- 1) Bensley, R. R. and N. L. Hoerr: Studies on cell structure by the freeing-drying method. *Anat. Rec.*, **60**, 449, 1934.
- 2) Birch, T. W. and P. György: A study of the chemical nature of vitamin B₆ and methods for its preparation in a concentrated state. *Biochem. J.*, **30** (1), 304, 1936.
- 3) Birch, T. W.: The relation between vitamin B₆ and unsaturated fatty acid factor. *J. Biol. Chem.*, **124**, 775, 1938.
- 4) Budwig, J.: 27 Fats as limiting substances or activators of respiratory exchange, cell growth and regeneration. Sinclair, H. M.: *Essential fatty acids* (London) p. 189, 1957.
- 5) Burr, G. O.: Significance of the essential fatty acids. *Fed. Proc.*, **1**, 224, 1942.
- 6) Burr, G. O. and A. J., Beeber: Metabolism studies with rats suffering from fat deficiency. *J. Nutrition*, **14**, 553, 1937.
- 7) Burr, G. O. and M. M. Burr: A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. Biol. Chem.*, **82**, 315, 1929.
- 8) Burr, G. O. and M. M. Burr: On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition., *ibid.* **86**, 587, 1930.
- 9) Burr, G. O., M. M. Burr and E. S. Miller: On the fatty acids essential in nutrition III. *ibid.*, **97**, 1, 1932.
- 10) Carrel, A.: The treatment of wounds. *J. A. M. A.*, **55**, 2148, 1910.
- 11) Dallam, R. D.: Studies on the chemical composition of nuclei and cytoplasmic granules. *Arch. Biochem. & Biophys.*, **54**, 24, 1955.
- 12) Day, T. D.: Mode of reaction of interstitial connective tissue with water. *J. Physiol.*, **109**, 380, 1949.
- 13) Decker, A. B., D. L. Fillerup and J. F. Mead: Chronic essential fatty acid deficiency in mice. *J. Nutrition*, **41**, 507, 1950.
- 14) Deuel, H. J., Jr., S. M. Greenberg et al.: The effect of fat level of the diet on general nutrition. V. The relationship of the linoleic acid requirement to optimum fat level. *J. Nutrition*, **40**, 351, 1950.
- 15) Deuel, H. J., Jr. and A. L. S. Cheng et al.: The protective effect against x-irradiation of methyl lineolate in the rat. *Science*, **117**, 254, 1953.
- 16) Deuel, H. J., Jr. et al.: The effect of fat level of the diet on general nutrition. XIV. Further studies of the effect of hydrogenated coconut oil on essential fatty acid deficiency in the rat. *J. Nutrition*, **55**, 337, 1955.
- 17) Deuel, H. J., Jr.: 3 Nutritional significance of the fats. Holman, R. T., W. O. Lundberg and T. Malkin: Progress in the chemistry of fats and other lipids. Pergamon Press LTD. London, **2**, 99, 1954.
- 18) Deuel, H. J., Jr. and R. Reisen: The physiology and biochemistry of the essential fatty acids. *Vitamins and Hormones*, **13**, 29, 1955.
- 19) Dounce, A. L.: Enzyme studies on isolated cell nuclei of rat liver. *J. Biol. Chem.*, **147**, 685, 1943.
- 20) Dunphy, J. E., K. N. Udupa and L. G. Edwards: Wound healing. A new perspective with particular reference to ascorbic acid deficiency. *Ann. Surg.*, **144**, 304, 1956.
- 21) Du Noüy, P. L.: Cicatrization of wounds. II. Mathematical expression of the curve representing cicatrization. *J. Exp. Med.*, **24**, 451, 1916.
- 22) Edwards, L. C. and J. E. Dunphy: Wound healing. I. Injury and normal repair. *New Engl. J. Med.*, **259**, 224, 1958.
- 23) Edwards, L. C. and J. E. Dunphy: Wound healing. II. Injury and abnormal repair. *ibid.*, 259, 1958.
- 24) Engel, R. W.: The relation of B-vitamins and dietary fat to the lipotropic action of choline. *J. Nutrition*, **24**, 175, 1942.
- 25) Enomoto, H.: Soshō no soshiki-kochoryoku ni kansuru kenkyū. *J. J. S. S.*, **59**, 204, 1958.
- 26) Evans, H. M. and S. Lepkovsky: Vital need of the body for certain unsaturated fatty acids. II. Experiments with high fat diets in which saturated fatty acids furnish the sole source of energy. *J. Biol. Chem.*, **96**, 157, 1932.
- 27) Gersh, J. and H. R. Cathpole: Organization of ground substance and basement membrane and its significance in tissue injury, disease and growth. *Am. J. Anat.*, **85**, 457, 1947.
- 28) Gilmore, R. C. and L. T. Samuels: The effect of previous diet on the metabolic activity of the isolated rat diaphragm. *J. Biol. Chem.*, **181**, 813, 1949.

- 29) Greenberg, S. M. et al.: The effect of fat level on the diet on general nutrition. VI. The interrelation of linoleate and linolenate in supplying the essential fatty acids requirement in the rat. *J. Nutrition*, **41**, 473, 1950.
- 30) Greenberg, S. M., C. E. Carbert, D. J. Deuel Jr. and J. B. Brown: The effect of fat level of the diet on general nutrition. VII. Comparison of the potency of arachidonic and linoleic acids in furnishing the requirement for essential fatty acids in the rat. *ibid.*, **45**, 521, 1951.
- 31) Grossfeld, H., K. Meyer and G. C. Godman: Differentiation of fibroblasts in tissue culture, as determined by mucopolysaccharide production. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **88**, 31, 1955.
- 32) Hanafusa, S.: clinical studies on the nutritional effects of fat emulsion administered intravenously and by nasal tube feeding. *Arch. Jap. Chir.*, **28**, 1356, 1959.
- 33) Hikasa, Y.: Sibo-yueki ni kansuru shomondai. *Geka-kenkyu no shinpo: Geka to eiyo tokushu*, **2**, 15, 1957.
- 34) Hikasa, Y. et al.: Parenteral administration of fats. II. Clinical application of fat emulsion. *Arch. Jap. Chir.*, **27**, 736, 1958.
- 35) Hikasa, Y.: Shishitsu-nyuzai wo motte suru shishitsu-taisha narabi ni eiyougakuteki igi ni tsuite no kenkyu. *Saishin igaku*, **13**, (1) 2278, (2) 2586, (3) 2954, 1958.
- 36) Hikasa, Y. et al.: Shishitsu-hokyu no kiso to Jissai. *Shinroyo* **II**, (1) 922, (2) 1041, 1958.
- 37) Hogan, A. G. and L. R. Richardson: Plural nature of vitamin B. *Nature*, **136**, 186, 1935.
- 38) Hogeboom, G. H., W. C. Schneider and G. E. Pallade: Cytochemical studies of mammalian tissues. *J. Biol. Chem.*, **172**, 619, 1948.
- 39) Holman, R. T. and T. S. Taylor: Polyethenoid fatty acid metabolism. III. Arachidonate supplementation. *Arch. Biochem.*, **29**, 295, 1950.
- 40) Holman, R. T.: Metabolism of isomers of linoleic and linolenic acids. *Proc. Soc. Expl. Biol. Med.*, **76**, 100, 1951.
- 41) Howes, E. L., J. W. Sooy and S. C. Harvey: The healing of wounds as determined by their tensile strength. *J. A. M. A.*, **92**, 42, 1929.
- 42) Harvey, S. C. and E. L. Howes: Effect of high protein diet on the velocity of growth of fibroblasts in the healing wound. *Ann. Surg.*, **91**, 641, 1930.
- 43) Jackson, S. F.: Fibrogenesis in connective tissues. *Nature*, **173**, 950, 1954.
- 44) Jackson, S. F.: Cytoplasmic granules in fibrogenic cells. *ibid.*, **175**, 39, 1955.
- 45) Kramar, J. and V. E. Levine: Influence of rats and fatty acids on the capillaries. *J. Nutrition*, **50**, 149, 1953.
- 46) Kritchevsky, K. et al.: Effect of cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis. *Am J. Physiol.*, **178**, 36, 1954.
- 47) Kunkel, H. O. and J. M. Williams, Jr.: The effects of fat deficiency upon enzyme activity in the rat. *J. Biol. Chem.*, **189**, 755, 1951.
- 48) Kuyama, T.: Clinical studies on the nutritional effects of intravenous administration of fat emulsion. *Arch. Jap. Chir.*, **27**, 64, 1958.
- 49) Levin, E. L., R. M. Johnson and S. Albert: Mitochondrial changes associated with essential fatty acid deficiency in rats. *J. Biol. Chem.*, **228**, 15, 1957.
- 50) Localis, S. A., W. Casale and J. W. Hinton: Wound healing. Experimental and statistical study. III. Experimental observations. *Surg. Gynecol. & Obst.*, **77**, 243, 1943.
- 51) McAis, A. J., W. J., Anderson and L. B. Mendel: Growth of rats on "fat-free" diets. *J. Biol. Chem.*, **82**, 247, 1929.
- 52) McCollum, E. V. and N. Simmonds: A study of the dietary essential water-soluble B, in relation to its solubility and stability towards reagents. *ibid.*, **33**, 55, 1918.
- 53) McHenry E. W. and G. Gavin: The B vitamins and fat metabolism. IV. The synthesis of fat from protein. *ibid.*, **138**, 47, 1941.
- 54) MacMillan, A. L. and H. M. Sinclair: The structural function of essential fatty acids. Sinclair, H. M.: Essential fatty acids. (London) p. 208, 1957.
- 55) Maki, Y.: unpublished.
- 56) Matsuda, S.: unpublished
- 57) Medes, G. D., C. Keller and A. Kurkjian: Essential fatty acid metabolism. I. Essential fatty acid content of rats on fat-free and pyridoxine-free diet. *Arch. Biochem.*, **15**, 19, 1947.
- 58) Mead, J. F., G. Steinberg and D. R. Howton: Metabolism of essential fatty acids incorporation of acetate into arachidonic acid. *J. Biol. Chem.*, **205**, 683, 1953.
- 59) Mead, J. F. and D. R. Howton: Interconversions of the unsaturated fatty acid. Sinclair, H. M.: Essential fatty acids.

- (London) p. 65, 1957.
- 60) Mead, J. F. and D. R. Howton: Metabolism of essential fatty acids. VII. Conversion of linolenic acid to arachidonic acid. *J. Biol. Chem.*, **229**, 575, 1957.
 - 61) Nagase, M.: unpublished
 - 62) Nunn, L. C. A. and I. Smedley-MacLean: The nature of the fatty acids stored by the liver in the fat-deficiency disease of rats. *Biochem. J.*, **32**, 2178, 1938.
 - 63) Okuda: Soshō-chiyu ni kausuru kenkyū. *J. J. S. S.*, **32**, 1, 1932.
 - 64) Osa, H.: Experimental studies on the intravenous administration of a fat emulsion for nutritional purpose. *Arch. Jap. Chir.*, **25**, 154, 1956.
 - 65) Panos, T. C. et al.: Metabolic studies in fat deficiency. Sinclair, H. M.: Essential fatty acids (London) p. 205, 1957.
 - 66) Pearson, P. B. and F. Panzer: Effect of fat in the diet of rats on their growth and their excretion of aminoacids. *J. Nutrition*, **38**, 257, 1949.
 - 67) Quackenbush, F. W., B. R. Platz and H. Steenbock: Rat acrodynia and the essential fatty acids. *ibid.*, **17**, 115, 1939.
 - 68) Quackenbush F. W., F. A. Kummerow and H. Steenbock: The effectiveness of linoleic, arachidonic and linolenic acids in reproduction and lactation. *ibid.*, **24**, 213, 1942.
 - 69) Quackenbush, F. W. and H. Steenbock: Body fats in rat acrodynia. *ibid.*, **24**, 393, 1942.
 - 70) Ramalingaswami, V. and H. M. Sinclair: The relation of deficiency of vitamin A and of essential fatty acids to follicular hyperkeratosis in the rat. *Brit. J. Dermatol.*, **65**, 1, 1953.
 - 71) Reiser, R.: The biochemical conversions of conjugated dienoic and trienoic fatty acids. *Arch. Biochem. and Biophys.*, **32**, 113, 1951.
 - 72) Rogers, C. S. et al.: Influence of fat in the diet upon nitrogen balance and liver regeneration. *Am. J. Physiol.*, **163**, 347, 1950.
 - 73) Salmon, W. D.: The effect of certain oils in alleviating localized erythematous dermatitis (acrodynia or Vitamin B₆ deficiency) in rats. *J. Biol. Chem.*, **123**, civ-ey, 1938.
 - 74) Salmon, W. D.: Some physiological relationships of protein, fat, choline, methionine, cystine, nicotinic acid and tryptophan. *J. Nutrition*, **33**, 155, 1947.
 - 75) Samuels L. T., R. C. Gilmore and R. M. Reinecke: The effect of previous diet on the ability to do work during subsequent fasting. *ibid.*, **36**, 639, 1948.
 - 76) Samrma, P. S., E. E. Snell and C. A. Elvehjem: The bioassay of vitamin B₆ in natural materials. *ibid.*, **33**, 122, 1947.
 - 77) Schilling, J. A., B. V. Favata and M. Radakovich: Studies of fibroplasia in wound healing. *Surg. Gynec. & Obst.*, **96**, 143, 1953.
 - 78) Schneider, H., H. Steenbock and B. R. Platz: Essential fatty acids. Vitamin B₆ and other factors in the cure of rat acrodynia. *J. Biol. Chem.*, **132**, 539, 1940.
 - 79) Sinclair, H. M.: Effects of deficiency of essential fatty acids. I. Deficiency of essential fatty acids in lower animals. Sinclair, H. M.: Essential fatty acids (London), p. 249, 1957.
 - 80) Sinclair, R. G.: The metabolism of the phospholipids. V. The relationship between the amount of fat ingested and the degree of unsaturation of the phospholipids and neutral fats in the tissue. *J. Biol. Chem.*, **96**, 103, 1932.
 - 81) Sinclair, R. G.: The metabolism of the phospholipids. VIII. The passage of the intermediary role of liver phospholipid in fat metabolism. *ibid.*, **111**, 515, 1935.
 - 82) Sinclair, R. G.: Further evidence of the existence of metabolic and nonmetabolic phospholipids. *ibid.*, **114**, civ, 1936.
 - 83) Sjöstrand, F. S.: Electronmicroscopy of mitochondria and cytoplasmic double membranes. *Nature*, **171**, 30, 1953.
 - 84) Smedley-Mac Lean, I., and L. C. A. Nunn: Fat-deficiency disease of rats. The relation of the essential unsaturated acids to tumor formation in the albino rat on normal diet. *Biochem. J.*, **35**, 983, 1941.
 - 85) Smedley-MacLean, I. and E. M. Hume: Fat-deficiency disease of rats. The influence of tumor growth on the storage of fat and of polyunsaturated acids in the fat-starved rat. *ibid.*, **35**, 996, 1941.
 - 86) Smedley-MacLean, I. and E. M. Hume: Fat-deficiency disease of rats. The storage of fat in the fat-starved rat. *ibid.*, **35**, 990, 1941.
 - 87) Stonebury, C. A.: Lipids of the cell nuclei. *J. Biol. Chem.*, **129**, 189, 1937.
 - 88) Swanson, M. A. and C. G. Artom: The lipid composition of the large granules (mitochondria) from rat liver. *ibid.*, **187**, 281, 1950.
 - 89) Tanaka, Y.: unpublished.
 - 90) Tsukada, A.: Studies on the intravenous

- administration of the fat emulsion in the light of protein metabolism. Arch. Jap. Chir., **23**, 215, 1954.
- 91) Turpeinen, O.: Further studies on the unsaturated fatty acids essential in nutrition. J. Nutrition, **15**, 351, 1938.
- 92) Wang, I. Y.: Lipoprotein of cellular nuclei. Fed. Proc., **11**, 306, 1952.
- 93) Well, L. and M. A. Russell: Studies on plasma phosphatase activity in relation to fat metabolism in rats. J. Biol. Chem., **136**, 9, 1940.
- 94) Wesson, L. G. and G. O. Burr: The metabolic rate and respiratory quotients of rats on a fat-deficient diet. *ibid.*, **91**, 525, 1931.
- 95) Widmer, C. and R. T. Holman: Polyethenoid fatty acid metabolism. II. Deposition of polyunsaturated fatty acids in fat-deficient rats upon single fatty acid supplementation. Arch. Biochem., **25**, 1, 1950.
- 96) Willman, W., M. Brush, H. Clark and P. Swanson: Dietary fat and the nitrogen metabolism of rats fed protein-free rations. Fed. Proc., **6**, 423, 1947.
- 97) Witten, P. W. and R. T. Holman: Polyethenoid fatty acid metabolism. VI. Effect of pyridoxine on essential fatty acid conversions. Arch. Biochem. & Biophys., **41**, 266, 1952.
- 98) Yanagi, S.: Sosho-hanron. Nippon Geka Zensho, **1**, 71, 1950.