肝臓障碍時に於ける腸管吸収機能に就いて

附. アズルビン S 経口投与による肝臓機能検査法の可能性の検討

日本医科大学薬理学教室 (主任 西村菊次郎教授)

太 田 宏

Hiroshi Oota

I. 緒 言

正常時及び肝臓異常時の腸管の色素吸収に関しては Haidenhein 以降多数の研究発表がある。肝臓疾患時に於ては、消化液分泌不全に基く消化力低下及び門脈系を主とする循環不全等により腸管吸収機能に変化を来し得べき事は容易に理解し得る。そこで肝臓機能に障碍のある場合、腸管の吸収機能が如何な程度に影響を受けるものであるかを知らうとして、アズルビン S (以下 Az. S と略す) を経口的に投与して肝臓障碍時に於ける腸管吸収の模様を追究した。これは肝臓疾患患者の栄養及び治療に些かでも貢献せんとするものである。尙、それと共に本研究の今一つの目的は Az. S に依る肝臓機能検査法が該色素の静脈注射によるものであるから、これを経口的に投与しても肝臓機能検査が可能か否かを検するにある。

肝臓障碍と腸管吸収機能との関係については浜中¹⁾は neutral-rot, Phenolsulphonphthalein を、加藤²⁾は Phenol-rot を用いて、更に膳谷³⁾はカルシウムに就いて実験を行い、何れも肝臓障碍時に於ては腸管吸収機能が減弱している事を報告して居る。

私は Az. S を経口投与し、その尿中排泄量を測定し、腸管よりの吸収状態を推測した。既に知られて居る如く、Az. S が血中に吸収されるとその大部分は短時間で胆汁内に排泄され、尿中には僅かしか排泄されないが、肝臓に排泄障碍が存在する時には血中に入つた色素の濃度は高い儘に持続し、腎臓より代償的に排泄されるが、もともと腎臓より排泄され難いので単位時間内の排泄量の限界に達する迄は同一時間内の排泄量が増加するが、その後は排泄時間の延長を来してくると云われている。

即ち、若し肝臓障害時に於て Az. S の腸管よりの吸収が正常時の吸収量に比べて大量若しくは等量の時は勿論、少量でもその程度の甚しくない時は当然尿中 Az. S 排泄量は正常の場合より増加して来る事となる。故に Az. S を経口投与して、その尿中排泄量からは腸管の吸収状態を正確には判断し難いと考えられ

るが、若しそれが可能であれば临床上甚だ便利であるので、果して可能であるか否かを検する目的で生体実験と共に保生腸管灌流実験を行い、その成績を比較、考察した。

II. 実験方法

A. 尿中 Az. S 定量法

Az. S の定量法は従来コンパトール, Bürker 氏比色計等を用いる方法があるが、何れも肉眼的に行うもので、主観による誤差が多分に考えられ、更に尿色の濃い場合、黄胆尿等の場合には正確を期し難い。

そこで私は燐タングステン酸を用いて尿色素の脱色を行い、光電比色計による尿中 Az. S の微量定量法を考案し、実験に使用した。

a) Az. S の物理的、化学的性質に関する実験

i) 温度による影響

Az. S 1% 溶液を冷蔵庫内 (約 5. 0°C) に 1 及び 24 時間貯蔵して、その前後の濃度を測定したが変化なく、又、硫酸酸性溶液を沸騰温浴 1 時間して、その前後の濃度を測定したが変化はない。

ii) 透過率と pH との関係 (第 1 表)

Az. S 1% 溶液 5 cc をアルカリ性にする時は Az. S は色調を変え鮮赤色を呈し、第 1 表の如く透過率は増加 (即ち、見掛け上濃度の減少) するが、是れに濃硫酸 2 滴を滴加して酸性にすると、アルカリ滴加以前の標準の濃度を示す。(この事はアルカリ尿の定量に際しては重要な事である。即ち、アルカリ尿に Az. S を添加して、硫酸酸性にして定量しても、Az. S 量には全く影響を認めない) 又、Az. S 溶液に初めから濃硫酸 2 滴を滴加しても影響は認められない。

iii) 透過率と試薬放置時間との関係

Az. S 1% 溶液及び硫酸酸性溶液を室温に放置し、以後 1. 2. 3. 4 及び 24 時間後に透過率を測定したが変化は認められない。又、3 週間放置しても変色しない。

b) 定量法

i) 至適波長の決定

Az. S の吸収極大について Conn⁴⁾ は、約 525 m μ

と述べているが、私は Az. S 20 γ /cc 溶液を検体として分光光度計により至適波長を測定し、500 $m\mu$ に吸収極大を示す事を知った。(第1図)

ii) 試薬

イ、濃硫酸

ロ、10% 燐タングステン酸水溶液

iii) 実施方法

第1表 透過率と pH との関係

標準 T % (pH 6.0)	アルカリ滴 加後の T %	更に濃硫酸 2 滴 々下後の T % (pH 1.2)
18.0	*25.8	18.5
38.1	44.5	39.0
42.5	49.5	41.2
53.0	60.2	53.0
57.0	64.0	56.2
60.0	65.8	58.5
13.5	**20.0	13.5
14.0	20.0	14.0
27.2	34.0	27.2
36.0	42.5	36.5
40.5	46.5	39.2
45.0	52.0	44.5

* 10% Na_2CO_3 2 滴々下後の T % (pH 9.0)

** 10% NaOH 2 滴々下後の T % (pH 11.4)

第1図 Absorption Spectrum of Azorubin S

被検尿 (5 cc) に濃硫酸 2 滴を加えて酸性となし、是れに等量の 10% 燐タングステン酸試薬を加え、3000 回転、10 分間遠心沈澱する。この上清液を光電比色計により測定する。Blank は蒸留水を用い、緑色のフィルター (波長帯 500~570 $m\mu$) を使用した。遠沈後可及的速かに測定するのがよい。これは時間の経過とともに白濁を呈する事があるためで、此の時には再遠沈後測定すればよい。

iv) 微量定量直線

次の如く Az. S 1 mg/dl ~ 4 mg/dl 溶液の定量直線を得る。(第2図、第2表)

V) 測定誤差

誤差の範囲は絶対値で +9 ~ -7% で、透過率を比較すると ± 1.5 目盛以内である。(第3表)

誤差について考えると、光電比色計そのものの読みの誤差は、透過率で $\pm 1/2$ 目盛⁵⁾ であり、即ち、 $\pm 1/2$ 目盛の誤差が絶対値に加わるために被検量の絶対値が小さくなればなる程、誤差が大きくなる事は十分考えられる事で、斎藤⁵⁾ も光電比色計そのものの測定誤差

第2表 定量実測値

mg/dl	T %	$-\log T$
1	81.0	0.092
	81.5	0.089
	81.5	0.089
2	65.0	0.187
	65.5	0.184
	66.0	0.181
3	53.0	0.276
	53.5	0.272
	53.0	0.276
4	43.5	0.362
	43.0	0.367
	42.5	0.372

第2図 Azorubin S 微量定量直線

第3表 測定誤差

	透過率(T%)		mg/dl		
	対照値	実測値	対照値	実測値	実測値 対照値 × 100
1	94.0	93.5	0.2875	0.3125	108.7
2	92.0	92.0	0.3875	0.3875	100.0
3	91.0	90.5	0.4375	0.4631	105.9
4	87.5	87.5	0.6256	0.6256	100.0
5	87.5	87.0	0.6256	0.6625	105.9
6	86.5	86.5	0.6875	0.6875	100.0
7	84.5	84.0	0.80	0.825	103.1
8	84.0	84.0	0.825	0.825	100.0
9	84.0	85.0	0.825	0.775	93.9
10	82.5	82.5	0.9125	0.9125	100.0
11	82.0	82.5	0.9375	0.9125	97.3
12	81.5	82.0	0.975	0.9375	96.1
13	81.5	81.5	0.975	0.975	100.0
14	81.0	81.5	1.0	0.975	97.5
15	81.0	81.0	1.0	1.0	100.0
16	78.5	78.5	1.15	1.15	100.0
17	77.0	78.0	1.25	1.1875	95.0
18	76.5	76.5	1.275	1.275	100.0
19	76.5	77.0	1.275	1.25	98.0
20	75.5	76.5	1.3375	1.275	95.3
21	75.0	76.5	1.3625	1.275	93.6
22	74.0	74.0	1.425	1.425	100.0
23	72.0	71.0	1.5625	1.6375	104.8
24	71.5	72.2	1.6	1.55	96.8
25	70.5	71.0	1.6625	1.631	98.1

註：対照値：Az. S を蒸留水に溶解した際の値
実測値：対照値と等量の Az. S を尿に溶解した際の値

が透過率の数が多くなるにつれて、大きくなる事を述べて居り、(90%……5.25%, 80%……2.80%), 以上より此の程度の誤差は許容さるべきものと考えられる。

c) 定量法の吟味

i) 燐タングステン酸と Az. S の吸光度との関係

Az. S 溶液に 10% 燐タングステン酸溶液等量を加えて、光電比色計によりその吸光度の変化を測定したが変化は認められない。

ii) 燐タングステン酸と尿色との関係

硫酸酸性尿に 10% 燐タングステン酸溶液等量を加えた場合、その遠沈上清液は水様透明となり、光電比色計にても、蒸留水を対照として、その差は透過率で ± 1.5 目盛である。(第4表)

即ち、この 1.5 目盛 (正確には ± 1/2 目盛は光電比色計自身の誤差) の誤差が絶対値に加わるために、被

検量が小となればなる程誤差が大きくなる事は前述した通りである。

B. 実験動物及び肝臓障害法

実験動物は何れも 2 kg 前後の白色雄性家兎を用い、四塩化炭素 (以下 CCl_4 と記す) 及び総輸胆管結紮により肝臓障害を行つた。

第4表 燐タングステン酸と尿色との関係

透過率 T% (Blank は蒸留水)	
蒸溜水	燐タングステン酸処理尿
100.0	98.5
100.0	100.0
100.0	98.5
100.0	101.0
100.0	98.5

即ち、 CCl_4 障害例では CCl_4 を 0.1 cc/kg 経口投与又は右大腿皮下に注射した。総輸胆管結紮例では家兎を背位に固定し、上腹部正中線に於て開腹し、総輸胆管を露出し、腸管への開口部に近くこれを結紮した。

実験は CCl_4 障害例では障害後 24 時間、総輸胆管結紮例では結紮後 48 時間に行つた。尚、経口投与実験では実験前 24 時間は絶食させた。

C. 尿採取法

ネラトンカテーテルにより、4 時間に亘り 1 時間毎に採尿し、上記定量法に従つて Az. S を測定した。

尚、正常例、肝臓障害例共、実験前にズルフオサリチル酸法で尿中蛋白陰性なる事を確認した。

III. 実験成績

A. 正常例 (第5表)

先づ実験に最も適当な経口投与量を決定するために、蒸留水 15 cc に Az. S を各々 60, 80, 100 mg 溶解し、夫々ネラトンカテーテルにより経口投与し、4 時間総尿について前記定量法により Az. S を測定し、次の結果を得た。

60 mg 投与群では平均 68.0 r にして、投与量に対し、0.11%, 80 mg 投与群では平均 235.6 r, 投与量に対し 0.29%, 100 mg 投与群では平均 274.6 r, 投与量に対し 0.27% にして、80 mg 投与群と 100 mg 投与群の排泄率の間には推計学的には有意の差は認められなかつたが、しかし 80 mg 投与群の方が排泄率が多少多い傾向を有し、80 mg が経口投与量として最適と思われる。60 mg と 80 mg との間の排泄量の格段の開きは、60 mg 投与群では投与 Az. S 量の多くが組織に吸着される事によるものと考えられる。

第5表 (正常例)
アゾルビンS経口投与量と尿中排泄量との関係

アゾルビンS 経口投与量 (g)	家 兔		尿中 初発時間 (分)	アゾルビンS 尿中排泄量(r)				アゾルビンS 総排泄量 (r)	排泄 率 (%)
	番号	体重 (kg)		1時間	2時間	3時間	4時間		
60	8	2.2	60	0	10.8	14.3	22.1	47.2	0.08
	11	1.8	120	0	0	6.9	15.6	22.5	0.04
	14	2.0	80	0	8.4	16.2	30.6	55.2	0.09
	17	1.8	70	0	60.0	57.0	28.1	145.1	0.24
	20	1.9	85	0	17.3	26.7	26.0	70.0	0.12
	平均			0	19.3	24.2	24.5	68.0	0.11
80	9	2.0	80	0	47.5	150.0	140.3	337.8	0.42
	12	2.1	45	29.9	130.0	62.4	24.8	247.1	0.31
	15	1.9	40	43.0	39.6	54.5	51.0	188.1	0.24
	18	1.9	50	8.8	60.5	65.2	48.1	182.6	0.23
	21	1.8	40	66.0	59.5	59.7	37.1	222.3	0.28
	平均			29.5	67.4	78.4	60.3	235.6	0.29
100	10	2.0	65	0	63.8	108.5	102.2	274.5	0.27
	13	2.0	40	34.5	102.0	113.6	108.0	358.1	0.36
	16	1.9	60	0	68.9	84.1	76.0	229.0	0.23
	19	2.0	40	7.7	82.8	97.5	26.3	214.3	0.21
	22	1.9	40	3.4	140.8	79.8	73.2	297.2	0.30
	平均			9.1	91.7	96.7	77.1	274.6	0.27

80 mg 経口投与群に於ては

- 1) 3時間目が最も排泄量多く
- 2) 尿中初発時間は40~80分
- 3) 排泄終了は48時間である。

以上を標準として次の如き実験を行つた。

以下 Az. S の経口投与量は一律に80mg とし、ネラトンカテーテルを用いて Az. S 1%溶液8cc を胃内に注入し、次いで蒸留水7cc をカテーテルを洗滌する様にして追加注入した。

B. 肝臓障害例 (第6表)

a) CCl₄ 経口投与例

CCl₄を投与すれば肝臓実質細胞殊に肝小葉中心部に種々の退行変性を招来し、脂肪変性を来すと云われ、肝臓毒として一般に使用されて居り、本報告の CCl₄ 障害例では教室の慣用に従い肝臓障害24時間後に実験を行つた。その結果は

- 1) 4時間総排泄量は平均114.2r と著明に減少し正常例との間には1%の危険率で有意の差を認める。
- 2) 4時間目が最も排泄量多く

3) 尿中初発時間は1時間30分~3時間30分 (8例中6例の尿中初発時間は1時間30分~1時間45分の間にある)で、正常例に比べ明らかに遅延して居る。

4) 排泄終了は25~35時間で、大多数は25~30時間に終了し正常例に比べて早い。

以上の如く、尿中排泄量の著明な減少、尿中初発時間の遅延、正常例では3時間目が最も排泄量多いのに反し、肝臓障害例では4時間目が最大で吸収の遅延が想像される事、又、排泄終了時間が正常例に比べて促進している点等より、肝臓障害時には腸管吸収機能の減弱する事が明らかに窺われた。

b) CCl₄ 皮下注射例

CCl₄経口投与例では、経口投与のために、腸管に対する CCl₄ の直接の影響が考えられ、此の影響を除外するために CCl₄ を皮下注射し肝臓障害を行つた。CCl₄ 皮下注射例では CCl₄ 経口投与例に比べ肝臓障害の程度がより強いと一般に云われている。

結果は

1) 4時間総排泄量は平均93.9r と著明に減少し、正常例との間には1%の危険率で有意の差を認む。

2) 4時間目が最も多く

3) 尿中初発時間は60分~1時間45分と明らかに遅延し、

4) 排泄終了は26~48時間で正常より早い傾向を認めた。

又、以上より CCl₄ 皮下注射例の方が経口投与例の場合より腸管の吸収障害が大である様に思われる。

c) 総輸胆管結紮例

総輸胆管を結紮すれば、24時間後既に眼瞼結膜及び眼球結膜等は軽度黄色を呈し、黄疸の発生を認め48時間後に至れば、其の程度著明となる。其病理組織学的変化に就いては Simmonds, Bauer, Charcot, 稗田⁶⁾等の研究があり、胆汁鬱積による機械的作用、並びに胆管より漏出せる胆汁の化学的毒作用による結合組織の増殖、肝臓実質細胞の壊死等を来すと云う⁷⁾。

結果は

1) 4時間総排泄量は平均79.7r にして、正常例との間には1%の危険率で有意差を認む。

2) 4時間目が排泄量最も多く

3) 尿中初発時間は50分~2時間30分と遅延し、

4) 排泄終了は 何れも 48 時間以内で 正常に比べ促進している。

以上より、肝臓障害時に於ては腸管吸収機能の低下を来すと云う事を略々推察する事が出来た。

C. Az. S 腸間膜静脈注入例 (第 7 表)

上記方法による肝臓害時時に於ける尿中 Az. S 排泄量の減少が果して

- i) 腸管吸収機能の減弱によるものか、
- ii) 腸管吸収機能は正常で、即ち、血中には正常例と略々等しい濃度に吸収されるが、腎臓その他臓器の何らかの機能異常によりて尿中排泄量が減少したのではないかと云う事が考えられる。此の場合、血中殊に門脈中の Az. S の濃度を測定する事が最も望ましいと思われるが、Az. S の血中濃度を正確に測定する事は難しいので、次の如く実験を行つた。即ち、正常及び肝臓障害家兎に就いて、腸間膜静脈中に一定量の Az. S を注射して、その 4 時間の尿中排泄量を測定した。即ち、もしも腸管の吸収機能が相等しい場合、正常家兎と肝臓障害家兎とでは尿中排泄量に如何なる相違を来すかを実験的に追究した。

実験方法：

正常及び肝臓障害家兎に試みに 1% Az. S 溶液 2.0 cc(20mg) を腸間膜静脈に注射し、4 時間に亘り、各々 1 時間毎に採尿し Az. S を測定した。

肝臓障害例は CCl₄ を 0.1 cc/kg 皮下注射し、24 時間後に実験を行つた。

成績は

1) 4 時間総排泄量は、正常例平均 2418.7 r 肝臓障害例平均 4881.0 r にして肝臓障害例に於ては、正常例との間に 5% の危険率で著明に尿中排泄量の増加を認めた。

2) 何れも 1 時間目が排泄量最も多く

3) 尿中初発時間は正常例 13~15 分、肝臓障害例 5~6 分にして、肝臓障害例の方が早い。

即ち、肝臓障害例と正常例の Az. S 吸収量が等しい場合には、正常例に比して肝臓障害例に於ては著明に Az. S 尿中排泄量の増加、尿中初発時間の促進を来す事となる。

以上の事実より考えて、肝臓障害時に於ては著明に腸管吸収機能の減退を来す事が明らかとなつた。

D. 肝臓障害後一定時日 (7~21 日) 経過後の腸管吸収機能について (第 8 表)

一般に肝臓は代償作用の強い臓器であり、障害された肝臓実質細胞も余程其の程度が強くない限りは時日

第 6 表 肝臓障害例
(アゾルビン S 80 mg 経口投与)

	家 兎		尿時 中初 発間 (分)	アゾルビン S 尿中排泄量(r)				ア尿総 ゾル ビン 中量 S (r)
	番号	体重 (kg)		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	
四塩化炭素経口投与例	23	2.2	150	0	0	8.8	17.5	26.3
	24	2.0	105	0	22.0	27.6	32.0	81.6
	25	2.0	95	0	7.2	45.6	126.0	178.8
	26	2.2	90	0	114.8	55.2	42.0	212.0
	27	2.1	100	0	3.0	21.9	55.0	79.9
	28	2.0	100	0	24.0	41.0	39.0	104.0
	29	2.0	90	0	55.0	14.4	151.9	221.3
	30	2.3	210	0	0	0	9.6	9.6
	平 均			0	28.3	26.8	59.1	114.2
四塩化炭素皮下注射例	31	2.1	100	0	20.2	30.6	48.6	99.4
	32	2.0	85	0	19.6	24.2	42.0	85.8
	33	1.9	60	0	28.3	54.4	73.6	156.3
	34	2.1	105	0	6.3	17.9	16.0	40.2
	35	2.1	90	0	20.0	30.0	37.8	87.8
	平 均			0	18.9	31.4	43.6	93.9
総輸胆管結紮例	51	1.9	50	28.0	48.0	43.5	67.5	187.0
	52	2.2	150	0	0	5.0	20.0	25.0
	53	2.0	100	0	7.0	12.0	14.3	33.3
	54	2.1	95	0	18.2	28.0	34.2	80.4
	55	2.1	110	0	6.5	20.4	45.8	72.7
	平 均			5.6	15.9	21.8	36.4	79.7

第 7 表 アゾルビン S 腸間膜静脈注入例

	家 兎		尿時 中初 発間 (分)	アゾルビン S 尿中排泄量(r)				ア尿総 ゾル ビン 中量 S (r)
	番号	体重 (kg)		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	
正 常 例	36	2.2	13	1084.0	502.5	183.3	93.8	1863.6
	37	1.9	15	1815.0	1212.5	50.0	43.8	3121.3
	39	2.0	15	2040.0	137.5	55.0	38.8	2271.3
	平 均			1646.3	617.5	96.1	58.8	2418.7
肝 臓 障 害 例	40	1.9	5	2012.5	1837.5	975.0	106.3	4931.3
	41	2.0	5	4600.0	156.3	76.3	115.1	4947.7
	42	2.2	6	2758.0	1456.3	367.5	182.5	4764.3
	平 均			3123.5	1150.0	472.9	134.6	4881.0

の経過と共に能く恢復、再生する力を有する。又、かかる障害肝臓は時日の経過と共に漸次肝臓機能の恢復

を来す事は既に知られている。

私は此の場合、腸管吸収機能が肝臓機能の恢復に従い如何なる変化を来すかを追究する事により、肝臓機能と腸管吸収機能との関係の幾分を知ろうとした。

実験は、 CCl_4 0.1 cc/kg 経口投与 24 時間後及び 7~21 日後に同一家兎につき、Az. S 経口投与実験を行い、その尿中排泄量を測定した。

肝臓障害後 24 時間では

- 1) Az. S 総排泄量は 103.7 r,
- 2) 4 時間目が最も排泄量多く
- 3) 尿中初発時間は 1 時間 30 分~3 時間 30 分 (1 時間 30 分~1 時間 40 分が最多)
- 4) 排泄終了は 25~35 時間である。

是に反し、肝臓障害後 7~21 日経過した例では

- 1) Az. S 総排泄量は 150.8 r と増加し、
- 2) 4 時間目が最も排泄量多く
- 3) 尿中初発時間は早くなり、45~65 分となる。但し、排泄持続時間は変わらない。

即ち、肝臓毒投与後、時日の経過と共に Az. S 排泄量の増加を認めるようであるが、是れを推計学的に検討すると、両者の間には有意の差を認める事は出来なかつた。しかし、尿中初発時間の促進及び 3 時間目排泄量が増加して正常の排泄型に似て来ている点等を考え合せると、腸管吸収機能も亦、肝臓機能の改善に平行して幾分でも好転して来て居る事が推察出来た。

E. 肝臓障害時に於ける肝臓機能亢進剤の腸管吸収機能に及ぼす影響について (第 9 表)

第 8 表 肝臓障害後一定時日経過後の腸管吸収機能 (肝臓機能恢復と尿中排泄量との関係)

	家 兎		肝経 障過 時日 後数	尿時 中初 発間 (分)	アゾルビ S 尿中排泄量 (r)				ア尿総 ソル ビ ン 中量 S (r)
	番号	体重 (kg)			1 時 間	2 時 間	3 時 間	4 時 間	
肝 臓 24 時 間 後 例	27	2.1	—	100	0	3.0	21.9	55.0	79.9
	28	2.0	—	100	0	24.0	41.0	39.0	104.0
	29	2.0	—	90	0	55.0	14.4	151.9	221.3
	30	2.3	—	210	0	0	0	9.6	9.6
	平 均				0	20.5	19.3	63.9	103.7
肝 臓 一 定 時 日 経 過 例	27	2.1	21	65	0	45.0	100.8	117.0	262.8
	28	1.9	14	45	9.5	15.1	45.8	82.8	153.2
	29	1.6	14	50	6.7	22.0	27.6	28.9	85.2
	30	1.8	7	50	15.6	36.8	37.4	12.5	102.3
	平 均				7.9	29.7	52.9	60.3	150.8

カルシウムが肝臓機能に対して亢進的に作用する事は既に知られ⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾、本教室に於いても藤井¹²⁾は塩化カルシウムを負荷した家兎に於いて、肝臓色素排泄機能が著明に亢進する事を報告して居る。

私は肝臓障害家兎に於いて、斯る肝臓機能亢進剤が腸管吸収機能に対して如何なる影響を及ぼすかを検索した。即ち、肝臓障害時、肝臓機能亢進剤を使用した場合、腸管吸収機能は改善されるものであろうかと云う事は臨床的にも興味ある問題である。

実験方法： CCl_4 を 0.1 cc/kg 皮下注射して肝臓を障害し、24 時間後、10%塩化カルシウムを 1.0 cc/kg 静注し、塩化カルシウム静注 30 分後に Az. S 80 mg を経口投与し、4 時間に亘り各々 1 時間毎に採尿し、Az. S を測定した。結果は

- 1) 4 時間総排泄量は平均 45.8 r にして、正常例との間には 1%の危険率で有意の差を認め CCl_4 皮下注射例に比べても 5%の危険率で有意の減少を示した。又、 CCl_4 経口投与例及び総輸胆管結紮例に比べても著明に減少している。塩化カルシウム投与後短時間にして、かくの如き変化の行われる機序については追求をしなかつた。

- 2) 3 時間目が最も排泄量多く

- 3) 尿中初発時間は 1 時間 40 分~2 時間で明らかに遅延している。

しかし、斯る尿中 Az. S 排泄量の著明な減少は、塩化カルシウム投与により、

- i) 肝臓色素排泄機能のみが亢進して、尿中排泄量が減少したのか、
- ii) 腸管吸収機能が亢進しても、肝臓よりの色素排泄機能が亢進し、そのために尿中排泄量が減少したのか、不明である。

しかし、肝臓障害例では何れも 4 時間目の排泄量が最も多いのに反して、本例では 3 時間目が最も多く、排泄の型が正常例に似て居るのは興味深く、又 CCl_4 皮下注射による肝臓障害例に比べても著明に減少しているのは注目すべき事である。

そこで私は斯る点を明らかにするために、家兎剔出保生腸管灌流実験を行い、此の事実を追究した。

IV. 家兎剔出保生腸管灌流実験 (第 3 図)

剔出保生腸管灌流装置に就いては今迄多数の報告があり、最近に於ても松井¹³⁾、井田¹⁴⁾、寺岡¹⁵⁾等の実験があるが、私は是等を多少改良して、次の如く実験を行つた。

A. 実験方法

第9表 肝臓障害後塩化カルシウム負荷例
(CCl_4 0.1 cc/kg 皮下注射 24 時間後
10% CaCl_2 1.0 cc/kg 静注, 30 分後
に Az. S 80 mg per OS.)

家 兔 番号	体重 (kg)	尿時 中 初 発間 (分)	アゾルビ S 尿中排泄量(r)				ア尿総 ゾ ルビ ン 中 量 (r)
			1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	
56	2.5	100	0	18.8	24.5	20.8	64.1
57	2.3	120	0	0	34.1	31.2	65.3
58	2.1	100	0	3.5	5.9	10.1	19.5
59	2.1	100	0	9.8	20.2	11.0	41.0
60	2.1	105	0	7.0	18.0	14.2	39.2
平 均			0	7.8	20.5	17.5	45.8

家兎を背位に固定し、腹部を正中線で切開して腸管を取り出し、上腸間膜動脈、及び門脈にカニューレを挿入し、動脈側からマリOTT 瓶中の体温に温めた Tyrode 液を通して、腸間膜血管と腸壁内毛細管内とに残れる血液を洗い流す。次に幽門部から下方 5 cm (十二指腸上部) 及び回盲部に於いて夫々腸管を二重結紮し、又、直接には実験とは無関係であるが実験時間の関係上大腸へ行く腸間膜血管を分離する煩を除くために大腸下端でも二重結紮して、腸間膜をつけたまま十二指腸上部及び大腸下端で切除し、 $38\sim 39^\circ\text{C}$ に保てる Tyrode 槽内に入れて自由に腸管運動の出来る様にした。即ち、本装置には小腸、大腸、腸間膜、及び腸間膜血管を含む事になる。Tyrode 液の灌流は摘出時そのままとし、上腸間膜動脈より流入、門脈より流出せしめた。灌流圧は 40 cm H_2O ⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾ とし、灌流速度はマリOTT 瓶中に生ずる気泡を参考として、3 秒間 2 気泡の速度で灌流した。Az. S は 80 mg を 15cc

第3図 腸管灌流装置

の水に溶解し (前実験と同量) 小腸上部に注射針により腸壁を通して注入し、門脈より出る灌流液を 2 時間に亘り、各々 30 分毎に採取し、Az. S を定量した。

手術時間は実験成績に大きな影響を及ぼすので可及的短時間に、而も手技は正確に行う事が必要である。又、実験前 24 時間は絶食させた。小腸内容は殆んど見られなかった。

斯る実験方法に於ては、手術後 1 時間では腸管水腫を見る事はなく、又、腸管運動も活潑に保たれているが、実験 2 時間に及べば腸壁はやや水腫状となり、又腸管はガスのため膨満し、且つ、腸管運動の減弱を来す。故に手術後 1 時間以上の成績は余り正確とは云えない。依つて私は、吸収量を手術後 1 時間、2 時間に区切り夫々推計学的に検討した。又、血管灌流 2 時間後腸管内容を蒸留水で洗滌し、この洗滌液についても Az. S を測定した。

B. 実験成績 (第 10 表)

a) 正常例

4 例に就いての成績は

1. 初めの 1 時間吸収量は平均 4910.3 r,
2. 何れも初めの 30 分の吸収量が最も多い。
3. 腸管内残存量は平均 6132.7 r である。

b) 肝臓障害例

実験方法：肝臓障害は CCl_4 0.1 cc/kg 右大腿皮下注射により行い、注射 24 時間後に実験を開始した。

6 例に就いての成績は

1. 初めの 1 時間吸収量は平均 3394.9 r,
2. 1 例を除いて何れも初めの 30 分の吸収量が最も多い。
3. 腸管内残存量は平均 9394.3 r である。

以上の成績を正常例に比較すると、1 時間吸収量は正常例との間に 5% の危険率で有意の減少を示し、又、腸管内容については 5% の危険率で正常例は肝臓障害例より少なかった。即ち、肝臓障害例は正常例に比べて腸管吸収機能悪く、従つて腸管内残存量も多いと云う事になる。

c) 肝臓障害後塩化カルシウム負荷例

実験方法：肝臓障害は CCl_4 0.1 cc/kg 右大腿皮下注射により行い、注射 24 時間後に 10% 塩化カルシウム 1.0 cc/kg 静注し、静注 30 分後に灌流を行った。

5 例に就いての成績は

1. 初めの 1 時間吸収量は平均 10485.8 r,
2. 何れも初めの 30 分の吸収量が最も多い。
3. 腸管内残存量は平均 4801.5 r である。

以上の成績を正常及び肝臓障害例に比較すると、1時間吸収量は正常及び肝臓障害例との間に1%の危険率で有意の増加を認め、又、腸管内残存量は正常例との間には有意の差なく、肝臓障害例との間には、1%の危険率で有意の減少を示した。即ち、肝臓障害後、肝臓機能亢進剤である塩化カルシウムを投与すると、腸管吸収機能は亢進して正常及び肝臓障害例に比較して有意の増加を示し、従つて腸管内残存量の減少を来した。

以上より肝臓障害後塩化カルシウム負荷家兎の Az. S 経口投与実験で、その尿中 Az. S 排泄量の減少を来したのは、恐らく腸管吸収機能の改善と、肝臓色素排泄機能の亢進との組合せの結果であると思われる。Az. S 排泄の型が正常例のそれに一致しているのは是

第10表 剔出保生腸管灌流実験

	家 兎		腸管 管存 内量 (r)	アゾルビン S 吸収量(r)				ア総 ソ吸 ルビ ン量 S(r)
	番号	体重 (kg)		30分	60分	90分	120分	
正 常 例	66	2.4	6971.6	2932.5	1068.8	463.8	318.8	4783.9
	67	2.3	5150.0	3115.0	2357.5	1300.0	852.5	7625.0
	68	2.0	8534.2	2357.5	1218.8	490.0	318.8	4385.1
	69	2.0	3875.0	3328.0	3264.0	2645.0	1794.0	11031.0
	平均		6132.7	2933.0	1977.3	1224.7	821.0	6956.0
肝 臓 障 害 例	70	2.3	10827.5	3057.6	650.0	411.3	150.0	4268.9
	71	2.5	10368.0	1560.0	1058.0	367.5	237.5	3223.0
	72	2.0	5610.0	1278.8	1668.8	1950.0	1210.0	6107.6
	73	2.3	10890.0	2546.3	1890.0	1256.0	1012.5	6704.8
	77	2.0	10720.0	2001.0	1200.0	950.0	675.0	4826.0
	78	2.0	7950.0	2024.0	1435.0	975.0	693.8	5127.8
	平均		9394.3	2077.9	1317.0	985.0	663.1	5043.0
肝 臓 障 害 後 塩 化 カ ル シ ウ ム 負 荷 例	81	2.1	3987.5	7043.8	4485.0	3850.0	3010.0	18388.8
	82	2.0	6142.5	6360.0	4893.8	3300.0	1748.0	16301.8
	83	2.2	5425.0	5889.8	2624.0	2300.0	1564.0	12377.8
	84	2.2	4422.5	7331.3	2976.0	1912.5	1365.0	13584.8
	85	2.2	4030.0	6625.0	4200.0	2970.0	1700.0	15495.0
	平均		4801.5	6650.0	3835.8	2866.5	1877.4	15229.7
肝 臓 障 害 後 DL 負 荷 例	86	2.1	5900.0	4572.5	3915.0	2388.8	1045.0	11921.3
	87	2.4	4856.3	7905.0	2970.0	1610.0	1275.0	13760.0
	88	2.1	2975.0	8697.5	5555.0	3100.0	990.0	18342.5
	89	2.1	4637.5	4207.5	2415.0	1667.5	1312.5	9602.5
	90	2.1	5700.0	3710.0	2587.5	1593.8	1365.0	9256.3
	平均		4813.8	5818.5	3488.5	2072.0	1197.5	12576.5

れを裏附けるものと考えられる。

d) 肝臓障害後 DL-Methionin 負荷例

Methionin は抗脂肪肝作用があり、種々肝臓疾患の治療に使われているが、私は肝臓障害後 Methionin を投与した場合の腸管吸収機能の変化を追究した。即ち Methionin 投与による肝臓障害の改善程度と比例して腸管吸収機能が改善されれば、両臓器の間には正の相関関係があると結論し得る。茲に問題となるのは Methionin の直接腸管吸収機能に及ぼす影響の有無であるが Methionin は12時間前に静注するのみであり、且つ、実験中は不断に腸管壁血管は Tyrode 液にて灌流されているのであるから Methionin 単独の腸管に対する直接の影響は殆んどないと思われる。しかし全面的に是れを否定する事は出来ない。

実験方法：肝臓障害は CCl₄ 0.1 cc/kg 右大腿皮下注射により行い、注射12時間後に DL-Methionin 100 mg (2%液 5 cc, ミノファーゲン製薬) を静注しその12時間後(即ち、CCl₄ 注射24時間後)に灌流を行つた。

5例に就いての成績は

1. 初めの1時間吸収量は平均 9307.0 r,
2. 何れも初めの30分の吸収量が最も多い。
3. 腸管内残存量は平均 4813.8 r, である。

以上の成績を正常及び CCl₄ 投与例と比較すると1時間吸収量は5%の危険率で正常及び CCl₄ 投与例に比べ有意の増加を見ている。更に腸管内残存量に就いては、正常例との間には有意の差なく CCl₄ 投与例との間には1%の危険率で有意の減少を示した。即ち、肝臓障害後 DL-Methionin を投与すると腸管吸収機能は亢進し、同時に腸管内残存量の減少を来すと云う事が判つた。

V. 総括及び考按

肝臓は物質代謝の面でも重要な役割を有し、肝臓障害が存在する時には是等代謝の円滑なる運航を妨げ、就中、糖、蛋白、脂肪の中間代謝に悪影響を及ぼし、解毒機能の低下と相俟つて栄養障害を惹起する事が考えられる。一方それ以前の問題として肝臓障害時の腸管吸収機能を追求する事は意義あるものと思われる。

私は肝臓障害と腸管吸収機能との間の関係を知らんとして本実験を行い、それと同時に色素経口投与による肝臓機能検査法が可能か否かを検討した。

本実験では成績判定の容易なる点及び消化と云う要約を除外して主に吸収機能を検査し得る点等より

して生化学的特異性の物質は暫くおき、色素剤 Az. S を使用した。既に浜中¹⁾、加藤²⁾、瀧谷³⁾等は肝臓障害時には腸管吸収機能の低下を来す事を報告している。又、臼杵、浜中、湯浅¹⁹⁾等は肝臓障害時に於ては腸液の酸、塩基中和能の低下、又、実験家兎小腸に於て著明なる緊張の低下と運動の不規則且つ緩慢なる事実を認め、又、福井²⁰⁾はレントゲンの肝臓機能障害患者の消化管の運動機能を検索し、小腸の緊張弱く、排泄時間の延長を来すと言う事を明らかにした。凡そ色素が血中に吸収されると、肝臓はその異物排泄機能により胆汁より排泄する。肝臓障害時には該機能が減弱し、ために血中濃度は正常に比して高くなり、尿中排泄量の増加を来す事は明らかである。この点を利用して多くの色素剤が肝臓機能検査法に使用されて居る。而して多田²¹⁾に依れば、正常の場合腎臓より排泄されない色素は主要排泄路たる総輸胆管が結紮された場合でも遂に腎臓より排泄される事なく、正常の場合肝臓及び腎臓より排泄される色素のみ総輸胆管結紮後に於て代償的に腎臓より排泄されると。Az. S は血中に入るとその大部分が肝臓より排泄され、尿中には僅かしか排泄されぬ点より肝臓機能検査に利用されている。

以上の如く血中濃度が正常と等しい程度であるならば、肝臓障害の場合は当然尿中排泄量の増加を来すべき事は明らかである。肝臓機能低下時 Az. S 経口投与の場合、その尿中排泄量の減少を来したのは、1) 腸管吸収機能の減退、2) 腎臓排泄機能の変化が考えられる。私はこの点を究明せんとして、前記成績と、腸間膜静脈より Az. S を注入した場合の成績とを比較した。Az. S 腸間膜静脈注入例の場合は、肝臓障害時には正常例に比べ、1) 尿中色素初発時間の促進、2) 尿中色素排泄量の増加、を来し、Az. S 吸収量が等しい場合には肝臓障害例では正常例に比べ尿中色素初発時間の促進と Az. S 尿中排泄量の著明な増加を来す事が想像された。この事より肝臓障害時 Az. S 経口投与の場合尿中 Az. S 排泄量の減少は、以上の例が全て尿中蛋白陰性で一応腎の影響を除外し得る点よりして、Az. S 吸収機能の低下による事を思わせた。

又、障害肝臓は時日の経過と共に漸次その機能の恢復を来す事は既に知られているが、私は斯る場合に、腸管吸収機能が肝臓機能の恢復につれて如何なる変化を来すかを尿中 Az. S 排泄量を参考として追究したところ、腸管吸収機能も亦肝臓機能の改善に平行して良くなる事が明らかになった。

以上の点より肝臓障害時には腸管吸収機能の減弱を

来し、又、肝臓障害の改善されるにつれて腸管吸収機能も好転すると云う推論を得るに至つた。

しかし、肝臓毒である CCl₄ は同時に腎臓の尿管系及び尿管系に変化を与え²²⁾、又、肝臓障害は腎臓の機能的並びに組織学的損傷を生ぜしめると云われ²³⁾、一方、菊地²⁴⁾は肝動脈結紮時に於ては肝臓障害の程度は大であるが、腎臓は若干の機能的低下を見たに過ぎず、組織学的にも病的変化は認められないと述べている。本実験に於ては何れも実験前尿中蛋白陰性なる事を確認しているために一応腎臓自身の影響は除外し得るとは云え、以上の理由で肝臓障害時に於ては腎臓の機能低下を見る事は十分考えられ、この理由で肝臓障害時に尿中排泄量より腸管吸収機能を推測する事は最善の方法とは考えられない。斯る点を明らかにするため私は更に家兎剔出保生腸管灌流実験を行い、肝臓障害時には腸管吸収機能の低下を来すと言う事を確認する事が出来た。

更に又、肝臓障害時に肝臓機能亢進剤、肝臓此護剤を使用した場合に、腸管吸収機能は改善されるであろうかと言う事は臨床的にも極めて興味ある問題である。このため私は塩化カルシウム、DL-Methionin を使用し実験を行つた。

カルシウムが肝臓の色素排泄機能に対して促進的に働く事は明らかであり、既に Minot & Cutler⁸⁾ は肝臓障害の予防及び治療にカルシウム剤の有効なる事を報じ、この理由に就いては、肝臓障害時血中に蓄積したグアニジンに拮抗的に作用するためと述べ、重見等⁹⁾ はカルシウム食事は肝臓毒に依る肝臓障害に対し好影響を与え、適当なるカルシウム食事は肝臓機能に対し一種の Reservekraft を与えると述べて居り、原²⁵⁾は重見の成績²⁶⁾に基づき、カルシウムのグアニジンに対する拮抗作用の他に、肝臓障害時に呈するカリウムの毒作用に対するカルシウムの拮抗作用にも因ると述べて居る。一方、大橋¹⁰⁾は乳酸代謝の面より、更に麻生田¹¹⁾はビリルビン代謝、ウロビリゲン代謝の面よりカルシウムの肝臓機能亢進作用を報じて居る。又、下山²⁷⁾は肝臓障害時に於けるカルシウムの治療機転を組織学的に追究し、カルシウムは臓器の治療機転を促進し、且つ、中毒に因る死期を遅延し得ると述べている。

Methionin²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾はその不安定なメチル基による抗脂肪肝作用の他に、含硫アミノ酸特有の細胞賦活作用、リボ核酸増加に依る細胞再生作用あり、又 Sulfhydryl 基を与える事により、肝臓毒の解毒に貢献すると云われ、中毒性肝炎、伝染性肝炎、肝硬変³¹⁾³²⁾³³⁾³⁴⁾の治療

に有効であると云われ、Beams³⁵⁾、Steigmann³⁶⁾等は肝硬変に Methionin を投与して Needle biopsy を行い、臨床像の好転と肝臓病変の正常化及び病的脂肪の消失等を見て居る。又、井上³⁷⁾は肝臓疾患に L-Methionin を投与して、肝臓解毒機能、プロトンピン生成能等種々の肝臓機能の亢進を見た述べ、松田³⁸⁾は健康家兎では総合アミノ酸である Mariamin は肝臓機能を著明に亢進させるが、L-Methionin、DL-Methionin では亢進を認めず、一方、肝臓障害後に投与すると何れも肝臓機能の亢進を来し、又、予め L-Methionin を投与しておくこと CCl₄ 中毒を軽減すると報じ、現在 Methionin は臨床的に肝臓疾患は勿論、その他多方面に利用されている。

そこで私は斯る肝臓機能亢進剤、肝臓庇護剤が腸管吸収に対して如何なる態度を取るかを家兎別出保生腸管灌流実験、生体実験により検索し、肝臓機能の腸管吸収機能に対する関係を追究したが、肝臓機能亢進剤、肝臓庇護剤投与例は肝臓障害例に比し何れも腸管吸収機能が亢進している。

別出保生腸管灌流実験に於いて問題となるのは塩化カルシウム及び DL-Methionin の腸管吸収機能に直接及ぼす影響であるが、斯る薬剤は何れも実験前 30 分及び 12 時間に静注するのみであり、且つ、腸管は不断に灌流液にて灌流されているのであるからその影響は殆んどないと思われるが、この実験からは全く影響を及ぼさないと断言出来ない。

しかし、肝臓障害後に塩化カルシウム或いは DL-Methionin を投与した例では、Az. S 吸収量が肝臓障害例は勿論、正常例よりも増加した事は興味深い事と思われる。

以上を総括して私は、肝臓障害時には腸管吸収機能は減弱する。斯る腸管吸収機能減弱も肝臓機能の正常復帰に従つて回復する。又、肝臓障害時に肝臓機能亢進剤、肝臓庇護剤を投与する時は腸管吸収機能は亢進すると云う結論を得るに至つた。

又、以上の事実より考按して肝臓障害時に於ける斯る腸管吸収機能低下は、肝臓機能障害により二次的に招来されたものであると考えられる。

最後に本研究の目的の一つであるところの、Az. S 経口投与による肝臓機能検査が可能か、否かの問題である。

元来、本色素による肝臓機能の検査は、これを静脈内に注射し、その胆汁中に排泄される量の多少、遅速等により肝臓機能を判断したものである。胆汁中の色

素排泄を観察することの煩わしさの代りに尿中排泄色素を以てしたのが今日の一般使用される尿中排泄による検査法である。

即ち、胆汁中に排泄される量が減少すればそれに反比例して尿中色素が増加すると云う考え方によるものである。

Az. S を経口的に投与する場合、若し消化器系統からの吸収が肝臓機能の如何に係らず同一であるならば、肝臓機能の検査方法中色素の静注の代りに経口投与を採用しても何等差し支えないわけであるが、本研究の結果によれば肝臓障害時には腸管よりの吸収が障害される事は明らかであるから、しかく簡単には運ばない。

今、本研究の成績を仔細に観察すると、色素の経口投与の場合、肝臓機能に障害があれば尿中排泄色素は減少する結果になっている。

Az. S 静注の場合、一般的には尿中色素量の減少の原因としては、腎臓障害、肝臓機能亢進が考えられる。Az. S 経口投与では腸管の吸収障害がこれに加わる。腎臓に障害ある場合は Az. S 静注による場合も経口投与による場合も同様にその影響を受けるから、腎臓は一応問題外として考える事にする。

Az. S 静注の場合、尿中色素の増加は肝臓機能低下を示し、Az. S 経口投与の場合は、尿中色素の増加は腸管吸収機能良好か或いは肝臓機能低下かを示す。

しかし、本研究によれば肝臓機能低下があれば腸管吸収も従つて悪くなるから、腸管吸収良好と肝臓機能低下とは両立し得ない。

故に Az. S 経口投与で尿中色素の増加は肝臓機能の亢進を示す。只、肝臓機能に著変なく、腸管吸収障害がある場合、尿中色素の増加は腸管吸収の良好を示すのみであつて、肝臓機能については何等の事を示さない。しかし、肝臓機能の障害があれば腸管吸収も悪くなる筈であるから、此の場合の尿中色素の増加は少くとも肝臓機能の悪化を示すものではない。

以上を要約すれば、Az. S 経口投与の場合、色素の尿中排泄が標準若しくはそれ以上の場合は肝臓機能に障害なしと考えてよく、排泄が標準以下であるならば肝臓機能と腸管吸収機能とが共に低下しているか又は後者のみ低下しているかである。

依つて本法は肝臓機能検査法の一つ或いはその補助として使用し得ると考えられる。但し、本検査法は空腹時に行う事が肝要である。

VI. 結 語

I 燐タングステン酸を用いて尿色素の脱色を行い、光電比色計による尿中 Az. S の微量定量法を考案した。

II Az. S を使用して肝臓障碍時に於ける腸管吸収機能を家兎生体実験、家兎剔出保生腸管灌流実験に就いて検索し次の結果を得た。

i) Az. S 経口投与と実験に使用する Az. S 量は 80 mg が適当である。即ち、この事は実験に使用する Az. S 量には動物の種類により Optimal の量がある筈であると云う事を示す。

ii) 肝臓障碍時に於いては腸管吸収機能の減弱を来す。

iii) 肝臓障碍時に肝臓機能亢進剤である塩化カルシウム、肝臓庇護剤である DL-Methionin を投与すると腸管吸収機能の亢進を示す。

iv) 肝臓障碍時に於ける腸管吸収機能低下は、肝臓障碍により二次的に招来されたものである。

V) Az. S を経口投与し、その尿中排泄の模様を観察することにより肝臓機能の検査が或る程度可能である。

(本論文の要旨は日本薬理学会第13回関東部会に於て発表した。)

文 献

- 1) 浜中 正一：実験消化器病学，**9**，1500 (昭9)
- 2) 加藤 静応：京都府立医科大学雑誌，**31**，1135 (昭16)
- 3) 臈谷 寿人：実験消化器病学，**11**，235 (昭11)
- 4) Conn, H.J.: Biological Stains, Biotech Publications, Geneva, N.Y. U.S.A. (1953)
- 5) 斎藤 正行：光電比色計による臨床化学検査，南山堂，東京 (昭28)
- 6) 稗田憲太郎：南満医学会雑誌，**12**，157 (大13)
- 7) 中井 文二：実験消化器病学，**9**，1376 (昭9)
- 8) Minot & Cutler: Journ. Clin. Invest., **6**，

369 (1928)

- 9) 重見速雄他：実験消化器病学，**7**，731 (昭7)
- 10) 大橋 員恵：上に同じ，**9**，9 (昭9)
- 11) 麻生田好雄：上に同じ，**8**，823 (昭8)
- 12) 藤井 嶋：日医大誌，**19**，284 (昭27)
- 13) 松井 文英：日医大誌，**20**，524 (昭28)
- 14) 井田 憲明：ビタミン，**2**，13 (昭24)
- 15) 寺岡 宏：生化学，**25**，402 (昭29)
- 16) 塩谷 信男：朝鮮医学会雑誌，**80**，57 (昭2)
- 17) 太田 敬三：児科雑誌，**380**，103 (昭7)
- 18) 奥藤 重二：京都医学会雑誌，**21**，1815 (大13)
- 19) 白杵天成他：実験消化器病学，**8**，572 (昭8)
- 20) 福井 潤：上に同じ，**11**，813 (昭11)
- 21) 多田 嘉徳：日本微生物学会雑誌，**17**，1005 (大12)
- 22) 若林 英次：実験消化器病学，**3**，371 (昭3)
- 23) 水田 信夫：日本内科学会雑誌，**21**，129 (昭8)
- 24) 菊地金男他：日本消化機病学会雑誌，**51**，145 (昭29)
- 25) 原 亨：日本内科学会雑誌，**21**，205 (昭8)
- 26) 重見 速雄：実験消化器病学，**9**，317 (昭9)
- 27) 下山 政人：医海時報，**2341**，1529，**2342**，1575，**2343**，1629，**2344**，1688 (昭14)
- 28) 瀬戸桂太郎：治療，**37**，11，(昭30)
- 29) Popper, H. et al: Am. Journ. Med. Sciences., **215**，624 (1948)
- 30) Brunschwig, A et al: Arch. Path., **40**，81 (1945)
- 31) Eddy, J.H.: Am. Journ. Med. Sciences., **210**，374 (1945)
- 32) Sahyun, M.: Am. Journ. Digest. Dis., **16**，243 (1949)
- 33) Cayer, D.: Arch. Int. Med., **80**，644 (1947)
- 34) Morrison, L.M.: J.A.M.A., **134**，673 (1947)
- 35) Beams, A.J. et al: Gastroenterol., **9**，718 (1947)
- 36) Steigmann, F.: J.A.M.A., **137**，239 (1948)
- 37) 井上 硬他：最新医学，**7**，251 (昭27)
- 38) 松田 武夫：医療，**6**，492 (昭27)