The Role of Local Calcium Deposit for the Healing Process of Fractures on Rachitic Rabbits

By
Kinya Hisamoto

Department of Orthopedic Surgery, Kokura Labour Accidental Hospital

Union did not occurred, when the 1/3 of radius on rachitic rabbits together with periostium had been excised.

Triple calcium phosphate and calcium carbonate, boiled bone powder, boiled bone chip und autogenous bone chip, as the bone elements, were inserted in its gaps. The rabbits that rachitic changes were slight or middle taked union, though the healing of fractures were some delayed, but the rabbits indicated the changes of high degree scheu union after 9~10 weeks occationally.

As entcalcificated bone chip was inserted in its gaps, union was not indicated.

The rate of speed on the healing of fractures in the rickets was not influenced by kinds of bone elements and indicated union in propotion to intensification of rachitic changes.

柳沢氏血清Ca 及同イオン定量法の検討

九州大學醫學部整形外科學教室 (主任 天兒教授) 花 北 良 臣

演題は透析性Caとなつてゐるが、之を論ずるには当然総Caが問題となるので先づ之に就て述べたいと思う。

血清Caの定量については今迄に幾多の方法が発表され、1947年夏、「アメリカ」疫痢調査団が来朝した際のCa定量法に關しても吉川氏がSobel法の変法ではあるが其の方法を詳しく述べてゐるが、之等の方法はすべてCaを蓚酸塩或は隣酸塩として沈澱させ、それより蓚酸或は隣酸として間接的に定量する方法であつて、時間を要し、技術上かなり難しく、臨床的應用は困難の様である。又最近石井氏はEthylendiamine tetraacetic acidの錯塩がCa及びMgイオンと特異的に結合するのを利用するSchwarzenbach法を追試し、Sobelによる値と殆ど變らないと發表し推奨してゐるが私はSunchromin Fast Blueを用ひ比色により測定する新微量法を追試し知見を得たので報告する。

此の柳沢氏法の抄録は「整形外科と災害外科」第一卷第一号末尾に紹介してあるが其の方法の概略について述べると、Sunchromin Fast Blueはクロール、フェノール、アゾデオキシナフタリン、

デスルホン酸ナトリウムの事で赤色粉末状を呈し、白紙にすりつけると紫色の条痕を残し、苛性ソーダを加えると紫色に変色するが、Ca、Beの存在で赤色を示す。Beは血清中に其の存在を認めないので、此の性質がCaの定量に応用出来るわけである。

炭酸CaにてCa標準溶液を作り(0.10, 20%の如く)、之にSunchromine溶液次いで苛性ソーダ溶液を加えて620m μ のFilter用い光電比色計で比色し、其の透光率をその逆対数で縦軸に取ると原点を通る綺麗な直線を以てCa含有量と透光率との関係が得られる。之を基準曲線として用いる。

血清Ca値は血清成分の中で非常に一定な値を保持するものの一つで、磷と異なり血液の中では殆んど血清にのみ存在し、主として上皮小体ホルモンにより調節されるのみで変化の少い成分と云われてをり、其の正常値は先人諸家の値を平均すると9~11.5mg/dlの範囲内にある。

私は柳沢氏法により健康人30例のCa値を測定した結果を得た。その平均値は10.3mg/dlとなり先人諸家の正常値と比較するとスライド3の如くなり、正常範囲内にあることを知った。又柳沢氏の行つた15例の平均値10.0mg/dlと殆ど同値であることも認められた。次に骨骼系統に対し大なる手術侵襲を加えた2例に就て、術前術後、日を追うて1日、3日目とCa値を測定したが、手術前後で殆んど有意の差を認めなかつた。又此の河野(6)例について血清採取後の時間、温度との関係を吟味するため、採取せる日に測定した後、室温に放置し、24時間後再び測定を試みたが、其の測定値の間にも大した変化はなく、Ca値は磷及フオスファターゼと異り測定迄の時間、温度に大して左右せられないものである事を知った。

次に演題に掲げた所謂透析性Ca即ち広義のCaイオンに就いてであるが、血清中Ca分屑の中理化学的作用に主として与るのは、此のイオン化せるCaであると云われているので其の変化の意義は重要と考えられる。血清Caの分屑に就て種々の説が述べられているがMcLean等によると総Caの中5mgは蛋白質と結合せる不透析性Ca、残りの透析性Ca所謂広義イオンの中2mgはイオン化せる狭義のCaイオンで残り3mgはイオン化していないと云つている。

此の透析性CaについてもMcLeanの理論的方法、Toksoyの透析膜法等が挙げられていながら臨床的応用は困難であつたが、最近柳沢氏が蓆酸安門を用いて総Caと同様に定量する方法を発表しているので追試を行つた。

20例の健康人の柳沢氏法による測定値によれば其の値が個人により、又蓆酸安門を加えてからSunchromineを加える迄の時間により其の間に大きな差のある事を知り、正常値は前述の如くMcLeanに依れば4.25~5.25mg/dl、Cantarow & Trumperに依れば4.5~5.5mg/dlといふ非常に狭い範囲にある事から、柳沢氏法そのものに疑問を抱き基礎的実験を試みた。即ち此の測定法の原理は、4%即ち飽和蓆酸安門を血清に加えてから時間の経過につれてCaが蓆酸として沈澱するので柳沢氏は此の沈澱と時間との関係を一つの曲線として得た。即ちA点(2分後)で階段状にCaの沈澱が緩慢になり其の後約3~5分は殆んど一定値を保つていたので柳沢氏は此の階段が透析性Ca

と不透析性Caとの境で、不透析性Ca即ち蛋白質と結合しているCaが離れ、蓚酸と結合する時間的ずれではなからうかと推論し、此の時期に残つたCaを測定すれば総Caとの差が透析性Caとして得られるといつてゐる。

然るに私の4例に就ての同様実験の平均値からは図8(省略)点線の如き曲線となり、急激に下降し、蓚酸アンモンを加えて1~3分後には既にCaは総て沈澱してしまうという急降下の曲線が得られた。依て原法通り1~3分後に、蓚酸安門を加えた血清にSunchromineを添加した場合、すべてが透析性Caとなる矛盾を認め、前述20例の測定には蓚酸安門を加えた直後にSunchromineを加えて定量したので、理論的には透析性Caの値ではない訳で、只此の短時間に蓚酸安門により沈澱したCaの値と云うに過ぎない。又蓚酸安門の温度による変化をみるために之を冷却しようと試みたが、蓚酸安門は4%で飽和であり、15°Cで最も水に溶解し15°C以下になると過飽和となり、無色斜方晶形の結晶を析出するので正確な4%の濃度は得られず、温度は15°Cに保持するを妥当と考える。

更に柳沢氏の此の曲線が正確であるとしても、蓚酸安門を加えてからSunchrominを加える迄の時間が原法に依る1~3分の間では大なる差を生じ却つて5~10分の間に加えるべきが至適と思われる。

今後更に厳密な追試検討の必要は大いに認めるとしても4.25~5.25mg/dlといふ極めて狭い正常範囲の透析性Caを斯の如き推論に基づく方法によつて定量する事は大なる誤差を生ずる恐れがあり、却つて血清蛋白質量と総Ca量より計算によつて求めるMcLeanの方法が其の測定さへ正しく行われるならば、信用に値するのではないかと考える。

結 論

私は柳沢氏法により、主に健康人の血清中総Ca及透析性Caの定量を行い、次のやうな結果を得た。

先づ総Caの定量に就ては、更に他の定量法と比較検討の必要はあるが、私の経験として二、三の実験も行い、次の如き測定時の注意を厳守するならば、総Ca定量に関する限り簡便に臨床上信頼して利用する価値ありと信ずる。

即ち 1) Sunchromine稀釈液を正確に調製し褪色するので常に褐色瓶に保存し、柳沢氏の処方で光電比色計のふれが少い時は2~5倍に濃くする事、又苛性ソーダをひんぱんに作りかえる事。

2) 新しく調製した試薬により測定を行うときは、必ず基準曲線を更新しなければ必ず多少の変化がある。出来得ればSunchromineの褪色、苛性ソーダ溶液の吸湿によるpHの変化を予想して基準曲線は測定の都度更新するのが望ましい。

3) 其の他一般的な光電比色計の使用法に習熟する事。

而して此の方法により健康人30例の平均値は10.3mg/dlとなり又乏しい例ながら、骨骼系統に大なる手術侵襲を加えても術前後で殆んど変動を認められない事、又同一血清を24時間放置しても其の測定値も略々一定である事を知つた。更に今後病的症例について、其の変化を検討したいと思う。

次に透析性Caについては、私の前述せる20例の測定値は結果より見れば理論的には透析性Ca値ではない事、二三の基礎的実験及文献的考察から考えると原法に疑問があり簡便ではあるが、現在の処臨床的応用は尙早の感がある。

演題の最後に示したShinowara法によるアルカリ性フوسفアターゼに関して、データと一応の結論は得ているが、Caとは又別のものであり、時間の関係上本日は省略し次の機会に譲りたいと思う。

文 献

- 1) Krammer d. Tisdall : Journ. of Biol. Chem., 48 : 223, 1921.
- 2) Clark d. Collip : J. Biol. Chem., 63 : 461, 1925.
- 3) Sobel d. Skersky : J. Biol. Chem., 122 : 665, 1938.
- 4) 吉川 : 血清中カルシウム定量法について, 病室と研究室. Vol. 5, No. 1, 1947, 13P.
- 5) 石井 : 血液Ca, Mgの新定量, 医学と生物学, Vol. 24 No. 1, 27, 9P
- 6) 柳沢 : 血清Ca及血清Caイオンの新微量法, 総合医学 Vol. 8, No. 12.
- 7) Abraham Cantarow : Diseases of Metabolism : Duneun. 2nd Edition. 1947.
- 8) Cantarow & Trumper : Clinical Biochemiotry, 2nd Edition, 1939.
- 9) Franklin C, McLean & Hastings, Am. J. of the Medical Sciences. Vol 189, No. 5. 1935, P601.
- 10) 天児 : 骨疾患の血液化学的診断について, 「整形外科」 Vol. 1. No. 1. 昭25年 1月,
- 12) Lederle Bulletin. Vol 15, No. 4. Novemb. 1950.

Examinations on the Determination of Calcium Concentration in the Blood by Yanagizawa's Method.

By

By Yoshimi Hanakita

Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine, Kyushū University
(Prof. Amako)

Recently, I have studied on calcium determination by Yanagizawas' method. It makes use of property that Sunchromin Fast Blue M.B produces a special colour (violet) in existence of calcium in the alkaline solution.

(1) Total calcium concentration: It must be taken more examinations to compare with other methods (to determine the total calcium concentration in serum), but I have believed that it is fairly reliable method for clinical determination. In 30 cases of the normal adult, the average of the total calcium concentration in serum was 10.3mg/dl.

(2) diffusible calcium concentration: I could not get a satisfactory result from this method about the determination of diffusible calcium concentration. It is believed that the clinical worth is doubtful in present day.