Summary

Decomposition velocity of procaine penicillin in aqueous solution was measured at various temperatures and pH. All showed primary reaction and the velocity was found to be the smallest at around pH 6.0. Absorption spectra during the decomposition were measured and it was assumed that procaine penicillin underwent decomposition to penicilloic acid above pH 6.0.

(Received February 1, 1954)

91. 伊藤四十二, 鶴藤 丞, 久保田幸穂: 唾液腺ホルモンの研究 (第 25 報*)
放射性磷 (P^{32}) の生体内分布に及ぼすパロチンの影響**

Yosoji Ito, Susumu Tsurufuji, and Yukio Kubota: Studies on the Salivary Gland Hormones. XXV. Effect of Parotin on the Distribution of Radioactive P^{32} *in vivo*.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo***)

いわゆる唾液腺ホルモン学説に従つて牛耳下腺から抽出されたパロチンの生理作用は最近に到つて次第に解明されつつある¹⁾。著者等はパロチンが硬組織の形成、無機質の代謝に及ぼす効果の本態を追究するために人工放射性磷 (P^{32}) を使用してその生体内分布を検討した。

実験方法

体重 80 g 前後の雄ラットを用い、パロチン投与群にはパロチンの硫酸 15% 分画結晶を 0.9% 食塩水溶液として注射し、対照群の動物にはパロチンの代りに 0.9% 食塩水を注射し、一方一定量の P^{32} (約 10 μ c) を含む標識化 Na_2HPO_4 の 0.9% 食塩水溶液を全動物に注射した。皮下又は腹腔内に注射された可溶性磷酸塩は極めて速やかに血中へ移行する²⁾ から多量の可溶性磷酸塩を注射すると一時的に生体の磷代謝を攪乱するおそれがあるが逆にあまり低濃度では界面吸着などの現象のために溶液の均質性が失われる³⁾。著者等は Na_2HPO_4 の注射量を 10^{-4} ~ 10^{-5} mol, 溶液 0.5 ml としたので溶液の均質性をそこなわず、又磷の総注射量は 1.5 γ 以下であるからこれは血清約 0.05 cc 中に含まれる無機磷量に相当し、磷代謝を乱すおそれもないと考えられる。注射してから一定時間経過後上部頸髄を破壊して殺し、血液、肝臓、副腎、大腿骨、下顎切歯を取り出し、血液は 20 mm³, 肝臓は約 20 mg をアルミニウム箔上にはぼ一定面積、一様の厚さに展開し、副腎は片側ずつ全体を濾紙上に展開してから何れも空气中で乾燥した後 G-M カウンターで放射能を測定した。大腿骨、下顎切歯は電気炉内で 650 ~ 750° で灰化し、塩酸に溶解した後その全部又は一部を採り蒸発乾固し G-M カウンターで測定した。

実験結果

実験 I パロチン投与量はラット体重 100 g 当り 2 mg, 背部皮下に注射し、同時に放射性磷を背部皮下に注射, 3 時間後殺し血液、肝臓、大腿骨、下顎切歯につき検討した。結果は Table I に示す通りパロチン投与群は対照群に比べ放射性磷量が血液ではやや少なく、下顎切歯では明らかに多い。

Table I. Effect of Parotin on the Distribution of P^{32} (Dose: 2 mg./100 g. rat body weight)

Blood	Liver	Femur	Lower Incisor
c.p.m./20 mm ³	c.p.m./20 mg.	c.p.m./femur/5	c.p.m./whole incisor

* 第 24 報: 本誌 74, 142 (1954).

** 日本薬学会年会で講演 (1953).

*** Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) 文部省科学研究費第七部総合研究班報告, 昭和 26 年度 193 頁, 昭和 27 年度 101 頁.

2) Hevesy: Kgl. Danske Videnskab. Selskab. Biol. Medd. 15, 5 (1940); Kjerulf-Jensen: Acta Physiol. Scand. 3, 1 (1941).

3) Voigt: "Biophysical Research Methods" Interscience Publishers inc. p 631 (1950).

Radioactivity	Parotin Group (5 rats)	164	603	1788	1268
	Control Group (5 rats)	177	649	1695	1115
Statistical Test of Significance	F_0	3.58	<1	1.35	13.45
		<10%			<1%

実験 II パロチン投与量は体重 100 g 当り 3.1 mg, これを 2 時間おきに 3 回に分割, 背部皮下に注射, 第 3 回パロチン注射と同時に放射性磷を背部皮下に注射, 3 時間後殺し, 大腿骨, 下顎切歯につき検討した. 結果は Table II に示す通り有意差は認められない.

Table II. Effect of Parotin on the Distribution of P^{32} (Dose: 3.1 mg./100 g rat body weight, given in three doses)

Radioactivity		Femur c.p.m./femur/5	Lower Incisor c.p.m./whole incisor
	Parotin Group (7 rats)	2001	1154
	Control Group (6 rats)	1942	1033
Statistical Test of Significance	F_0	<1	<1

実験 III パロチン投与量を体重 100 g 当り 0.8 mg, 0.2 mg, 0.05 mg の 3 用量とし, 対照群を加え用量と実験日とを要因とした 2 元配置法で実験, パロチンを腹腔内に注射してから 3 時間後放射性磷を腹腔内注射, 24 時間後殺し, 副腎, 下顎切歯につき検討した. 結果は Table III に示す通り下顎切歯に有意差を認める. これはパロチン 0.5 mg 投与群の放射性磷沈着量が他群より著しく多いためである.

Table III. Effect of Parotin on the Distribution of P^{32} (randomized blocks method with 4 different doses and 6 different days of the experiment)

Radioactivity			Adrenal Gland c.p. 5 mins., whole organs	Lower Incisor c.p. 5 mins., bilateral/5
	Control Group		1564 (6 rats)	6309 (6 rats)
	Parotin Group	mg./100 g. b.w.		
		0.05	1453 (6 rats)	7423 (5 rats*)
		0.2	1309 (6 rats)	5971 (4 rats*)
Statistical Test of Significance		0.8	1310 (6 rats)	6449 (6 rats)
	F_0		<1	4.77*
				<2.5%

* F_0 was calculated after estimation of missing plot.

実験 IV パロチン投与量を体重 100 g 当り 0.05 mg とし腹腔内に注射, 3 時間後放射性磷を腹腔内注射, 24 時間後殺す. この実験を 3 回反復し実験日とパロチンの効果とを要因とした 2 元配置法で実験, 下顎切歯につき検討した. 結果は Table IV に示す通りで有意差は認められない.

Table IV. Effect of Parotin on the Uptake of P^{32} by Lower Incisors (Dose: 0.05 mg/100 g rat body weight; randomized blocks method with 2 treatments and 3 different days of the experiment)

Date	14/11,'52	23/11,'52	11/12,'52
Treatment			
Control	0.792* (4 rats)	0.689 (5 rats)	0.760 (4 rats)
Parotin	0.866 (5 rats)	0.724 (4 rats)	0.728 (5 rats)

* Per cent of the dose administered.

考 察

実験誤差の解析 著者等の研究の主眼点は硬組織にあるので, 硬組織についての実験結果に混入する実験誤

差の原因について実験 I のデータに基づいて若干の検討を試みた。

(1) 硬組織の重量と P^{32} 沈着量：大腿骨又は下顎切歯の湿重量又は灰分重量と沈着した P^{32} 量との関係は著者等の実験条件ではそれぞれ Fig. 1, 2, 3, 4 に示すように特に相関関係はないものと考えられるので、これらの重量についての補正は行なかつた。

(2) 実験誤差の要因分析：大腿骨について実験誤差を個体差、同一個体の大腿骨の左右の間の差、一つの大腿骨から計数用のサンプルを調製する際に起る誤差、同一サンプルの計数を繰返す時に起る純粹の計数誤差等に分割して要因分析を行うと Table V に示すように個体差が圧倒的に大きく実験手技の巧拙によると考えられるものよりも吾人の制禦し難い個体差によつて実験誤差が大きく支配されることがわかる。

Fig. 1. Relation between the Wet Weight of Rat Femur and P^{32} Uptake

Fig. 2. Relation between the Ash Weight of Rat Femur and P^{32} Uptake

Fig. 3. Relation between the Wet Weight of Rat Lower Incisors and P^{32} Uptake

Fig. 4. Relation between the Ash Weight of Rat Lower Incisors and P^{32} Uptake

○ Parotin Group, ● Control Group.

Table V. Analysis of the Experimental Error for the Uptake of Injected P^{32} by the Rat Femur

Source of Experimental Error	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean Square of Variance	Variance Ratio (F_0)	P
Between Individual rats	1649590	4	412397	32.54	<1%
Between Right and Left of each Individual	76029	6	12671		
Between Samples from Same Femur	51231	12	4296	2.96	
Error in Counting	134454	72	1867	2.28	<5%

(3) パロチンの影響：実験の結果を一括して柔組織と硬組織とに分けて示せば Table VI, VII となる。 P^{32} 沈着は柔組織ではすべてパロチン投与群は対照群より少ない。推計学的に指定すると有意とは言えないが、注目値する結果である。硬組織では一般にパロチン投与群の方が対照群より大きいが推計学的検定では有意と認められる場合と認められない場合とある。これは実験に使った動物数が少なく、母集団での差が小さい為に検出が困難であるのか、或いは吾人の未知の因子があつて、これらの因子とパロチンとの相乗作用が大きくあらわれるためであると考えられる。

Table VI. Effect of Parotin on the Distribution of P^{32} in Soft Tissues

		Blood	Liver	Adrenal
Parotin	mg/100 g b.wt.			
	0.05			-7.10
	0.2			-16.3
	0.8			-16.3
	2.0	-7.35*	-7.10	

Statistical Evaluation

Significant ?

$$* \frac{[\text{Parotin Group Value}] - [\text{Control Group Value}]}{[\text{Control Group Value}]} \times 100\%$$

Table VII. Effect of Parotin on the Distribution of P^{32} in Hard Tissues

		Femur	Lower Incisor			
Parotin	mg./100 g. b.wt.					
	0.05			+17.7	+9.35	+5.08 -4.22
	0.2			- 5.35		
	0.8			+ 2.22		
	2.0	+5.49*	+13.7			
	3.1	+3.08		+6.56		

Statistical Evaluation

significant

significant in
0.05 mg. group

* Same as Table VI.

本研究の費用の一部は文部省科学研究費によつた。放射性追跡実験の技術に関し御指導を戴き、実験設備の使用を快諾せられた国立東京第二病院山下久雄博士、東京大学医学部吉川春寿教授に深く感謝する。

東京大学医学部薬学科

Summary

Inorganic phosphate labelled with P^{32} was injected into groups of immature male albino rats which had been given parotin in various doses. Uptake of P^{32} by incisor, femur, blood, liver, and adrenal gland of the rats was compared respectively with those of normal control animals by autopsy. The results obtained suggest following conclusions:

1) Soft tissues (blood, liver, and adrenal) of the parotin-administered rats take up less P^{32} than the normal controls, though the differences were not always significant in the statistical test. On the other hand, hard tissues (incisor and femur) of the parotin-groups generally take up more P^{32} .

2) Dosage of parotin, mode of the administration, period of the administration and killing, and many factors other than the effect of parotin influence the uptake of P^{32} in animal tissues. It seems that the interference of these factors is responsible for the effect of parotin not being always statistically significant in the experiments. Some sources of a meaningless variations in the experimental data are discussed, the largest cause seemed to be that by individual difference.

(Received February 1, 1954)