

原 著

人工放射性同位元素による温泉作用の研究

(7) C^{14} による重炭酸イオン泉入浴の研究

信州大学医学部第二内科 (指導: 大島良雄教授)

佐竹清人 小島碩夫 中島富彦

緒 言

大島教授並びに佐竹は、 C^{14} で目印をつけた重曹水浴で動物実験を行い、重炭酸イオン乃至遊離炭酸が浴水中から体内に進入するか否かを検索して、浴水のpHがアルカリ側より酸側の方が、又浴時間の長い方が短い方より進入に有利であることを認めた。^①但し、その浴水の製造法が不適當であつたため、浴水中の重曹濃度がモルという高濃度となり、しかも C^{12} に対する C^{14} の割合が非常に小となつたので詳しい検索を行うことが出来なかつた。

今回著者等は再び放射性炭酸バリウム (C^{14} として1mC)を入手し、更めて実験を行う機会を得たのでその成績を報告する。

実験材料と実験方法

実験動物としては、前回と同様体重15g前後のハツカネズミを用い、1群を2匹宛とし第1群は無処置群、第2群は実験前日に灼熱した金属棒で腰部に1×2cmの第三度火傷を負わせた火傷群、第3群は皮膚にメチレン青(1%)を塗布した色素群とした。

入浴方法は関の竹筒法^②により行い、入浴時間は37°C、30分に統一した。

浴終了後はクロ、ホルム麻酔により開胸心穿刺により採血し、採血量は0.5ccとし前回同様に測定用ステンレス皿に移し、同量の蒸溜水を以て溶血せしめ、更に HCO_3^- イオン乃至 CO_2 固定の目的で30%苛性ソーダ1滴を加え、37°Cの孵卵器内で一夜乾燥し、測定前に赤外線ランプ下で、徐々に完全に乾燥せしめた後、科研製Lauritzen検電計で放射能を測定、血液1ccに相当する値を計算して表示した。

浴水の製作は次の如くにした。清浄な硬質ガラス製11三角コルベンに、蒸溜水11強をとり、沸騰せしめて溶解している CO_2 を追い出す。時々その一部をとり、直ちに島津製硝子電極pHメーターでpHを測定し、中性になつたところをたしかめた上、全量を11とし直ちに密栓して空気の進入を防ぎ保存する。放射性 $BaCO_3$ はベニシリン瓶中に密栓して供給されたので、これと中性蒸溜水入り11コルベンを気密に連絡し、別に注射器で稀塩酸を少量宛ベニシリン瓶に注入して、発生する CO_2 ガスを悉くコルベン内に導き、最後にベ

ニシリン瓶を塩酸で充して、瓶中の残気をコルベンに送り込んだ後これを外し、更にコルベン内に空気を送つて略大気圧と平衡せしめ、密栓の状態で冷蔵庫内に保存した。製造1日後より毎日気密に一部をとりだし、苛性ソーダを加えて乾燥後、その放射能をLauritzen検電計で検したが、第3日目より略一定となり、0.1ccにつき10div/min前後となつたので第5日目に実験を開始した。浴水の放射能測定の際、苛性ソーダを加え直ちに赤外線ランプ下で乾燥した場合、37°Cの孵卵器内で1夜放置乾燥した場合、更にこれらの検体を乾燥状態で1日放置した場合のそれぞれの放射能の間には、殆んど差が認められなかつたので C^{14} の固定は満足すべきものと思われる。

以上の如くにして作った蒸溜水* (但し、この中には C^*O_2 が溶解し HCO_3^- と CO_3^{2-} の形で存在する。従つて便宜上*印をつけた)のpHは実験当日5.6を示した。因みに普通空気中に放置した中性蒸溜水中には、空気中の CO_2 が溶解し、1週間前後で空中 CO_2 と略平衡し、そのpHは5.7であるという。^③著者等の作った蒸溜水*中に溶解した CO_2 のモル濃度を計算すると、 $[H^+] = \sqrt{K[CO_2]}$ (但しKは CO_2 の第一解離恒数: 3×10^{-7}) から約 1.3×10^{-5} モル程度となる。供給された BaC^*O_3 の重量は13mgで、 6.6×10^{-5} モルであり、その C^{14} の純度は99%以上というから、^④仮にこれを100%として発生すべき C^*O_2 も同じモル数となるので、蒸溜水11中に溶解した CO_2 を大部分放射性とすると約 $\frac{1}{2}$ がとけたことになる。放射能であらわせば約 $\frac{1}{2}$ mC、即ち200 μ Cが11中に存在すると計算される。

この蒸溜水*を用いて、次の4種の浴水を作り、各々について前記3群のハツカネズミの入浴を行つた。

- 1) 蒸溜水*
- 2) 1g/l 重曹水
- 3) 1g/l 重曹+1g/l 芒硝水
- 4) 1g/l 重曹+1g/l 食塩水

(重曹、芒硝、食塩はそれぞれの濃度になる様に蒸溜水*にとかす。)

入浴の前後で、浴水の放射能は変化し浴後は約 $\frac{1}{2}$ 程度に減弱した。

TABLE 1

bath water	pH	radioactivity of 0.1cc of bath water (div./min.)	radioactivity in the blood of the bathed mice (div./min. per 1.0cc)		
			control group	group freshly burnt on the skin	group applied 1% methylen- blue to the skin
distilled water	5.6	10.3	0.36) 0.40)0.38	0.71) 0.80)0.75	0.40) 0.45)0.42
1g/l NaHCO ₃	6.6	9.6	0.18) 0.19)0.18	0.36) 0.28)0.32	0.24) 0.26)0.25
1g/l NaHCO ₃ + 1g/l Na ₂ SO ₄	6.8	9.8	0.38) 0.32)0.35	0.63) 0.68)0.65	0.47) 0.47)0.47
1g/l NaHCO ₃ + 1g/l NaCl	6.8	9.1	0.09	—	—

natural leak : 0.14 div./min.

実験成績

1) 蒸溜水* の場合 (pH 5.6, 浴水 0.1cc の放射能 10.3div./min.):

3 群のハツカネズミの血液 1cc 中の放射能は表に示す様に、無処置群の平均 0.38div./min., 火傷群の平均 0.75div./min., 色素群の平均 0.42div./min. で、火傷群 > 色素群 > 無処置群となる。この成績から各処置を加えた場合と、然らざる場合について要因分析を行うと、処置による差は 1% の危険率で有意となる。どの差が有意かを検定すると、5% の危険率で火傷群のみが他群に対し有意の増量を示す。この成績で注目すべきことは、浴水が空气中に放置した蒸溜水と略同一の pH であるから、単なる蒸溜水中に溶解した CO₂ も HCO₃⁻ 乃至 CO₂ の何れの形としてかは不明にせよ、皮膚を通過し得るといふ点である。

2) 1g/l 重曹水の場合 (pH 6.6, 浴水 0.1cc の放射能 9.6div./min.):

血中放射能は 1cc につき表示の如くで、平均、無処置群 0.18div./min., 火傷群 0.32div./min., 色素群 0.25div./min. で、1) の場合と同じく火傷群 > 色素群 > 無処置群となるが、要因分析の結果はこれらの群の間の差は有意でなかつた。蒸溜水浴に比べ、血中放射能は各群共約 1/2 に減弱しているが、加えた NaHCO₃ は 1g/l で約 1.2 × 10⁻² モルであるから、C¹⁴ に対する C¹² は 1000 倍程度の量となり HCO₃⁻ 乃至 CO₂ の進入はこの場合の方がはるかに大きいといふことが出来る。

3) 1g/l 重曹 + 1g/l 芒硝水の場合 (pH 6.8, 浴水 0.1cc 中の放射能 9.8div./min.):

血液 1cc 中の放射能は表の如く、平均無処置群 0.35div./min., 火傷群 0.65div./min., 色素群 0.47div./min. で、この場合も火傷群 > 色素群 > 無処置群となり、要因分析の結果は処置による差が 1% の危険率で有意である。どの差が有意であるかを検定すると、火傷群は無処置群に対してのみ 5% の危険率で有意の増量を示している。

この成績で注目すべき点は、2) の場合に比べ重曹並びに放射性 C の量は同一であるのに、これに芒硝が加わると C¹⁴ の進入が重曹単独の場合よりも促進されることである。

4) 1g/l 重曹 + 1g/l 食塩水の場合 (pH 6.8, 浴水 0.1cc 中の放射能 9.1div./min.):

この実験では入浴及び採血に不手際があつて、溺死その他の事故により 0.5cc の血液が得られたものは無処置群の 1 匹にすぎず、他の 5 匹は多くて 0.1cc を得たに止つた。この無処置群の 1 匹の血中放射能は 0.09div./min. で、この成績から直ちに他の浴群との比較は出来ぬが、食塩添加が HCO₃⁻ 乃至 CO₂ の進入に抑制的に働くらしいといふことはうかゞいふ。

考 按

大島教授は夙に放射性同位元素による温泉作用の研究を開始せられ、既に同教授ならびにその門下により S³⁵, Ca⁴⁵, C¹⁴ 等を用いての成果が発表せられている。^{⑥⑦⑧④}

その成績を要約すれば、

1) イオン進入には浴水の pH が関係し、陰イオンは酸性側において、陽イオンはアルカリ側において進入が容易である。

2) 微温長時間浴の方が、高温短時間浴よりもイオン進入に有利である。

3) 連日浴は慣れを生じ、イオン進入を減退せしめる。

4) 食塩添加は Ca⁺⁺, SO₄⁻⁻ イオンの体内進入を抑制する。

5) 火傷ならびに、塩基性色素塗布は SO₄⁻⁻ イオンの進入を容易ならしめる 等である。

著者等は今回 C¹⁴ で目印をつけた HCO₃⁻ イオン乃至 CO₂ の体内進入を、浴水の種類を変え、動物の皮膚の条件を変えて検索したが、CO₂ 濃度として単に蒸溜水に比べ 10⁻⁵ 程度の稀薄なもので、

37°C, 30分の入浴で体内に進入する事実を見出した。これは浴水のpHが5.6という酸性側にあつたことが、 SO_4^{--} の場合^⑤と同様に陰イオンである HCO_3^- の進入を促したものであろうと思われる。

1g/lの濃度になる如く重曹を添加すると、浴水のpHは6.6に上昇し、 C^{14} を含む蒸溜水の場合に比して、血中放射能は見掛け上減少するが、 C^{12} と C^{14} が同じ態度をとるとすると、全体としては進入が増大したことになる。これは浴水単位容積中に含まれる HCO_3^- イオン乃至 CO_2 の量が関係するものと思われる。既に SO_4^{--} イオンの場合において、高濃度の方が低濃度よりも進入が増加することを大島教授ならびに横田は確認しており、^⑥又大島教授ならびに佐竹が、 C^{14} を用いて行つた実験^①において、 $\frac{1}{2}$ モルという高濃度の重曹水に酸を加えPHを7.2とし、その際相当量の C^{12} , C^{14} を CO_2 として散逸させた場合ですら、37°C, 30分浴で血中放射能を証明した事実もこれを裏書きするものと考えられる。

1g/l重曹水に更に1g/lの割合に芒硝を加えた場合、血中の放射能は見掛け上略蒸溜水*浴と等しくなり、換言すれば HCO_3^- イオン乃至 CO_2 の体内進入は著しく促進された。

SO_4^{--} イオンの体内進入の事実は既に証明せられており、これとの共存下においてより軽い HCO_3^- イオン乃至 CO_2 が更に容易に進入し得る事実は、含芒硝重曹水の意義を考察する上に興味ある所見である。

1g/l重曹水に1g/lの割合に食塩を添加した場合の所見は明確に把み得なかつたが、食塩の共存が抑制的に作用するらしいことはうかがい得た。 Ca^{++} の場合^①にも SO_4^{--} の場合^⑤にも食塩の添加は抑制的に作用する。

火傷を起さしめ、又メチレン青塗布の上入浴させた場合は、蒸溜水*, 重曹水, 含芒硝重曹水の何れにおいても血中放射能の増大を認め、しかも火傷群>色素群>無処置群の傾向が認められた。既に SO_4^{--} イオンの場合火傷がイオン進入を促進することを大島教授ならびに横田が証明し、^⑥又塩基性色素たるメチレン青塗布が SO_4^{--} イオン進入に有利に働くことを横田が報告している。^⑦同じく陰イオンたる HCO_3^- の場合にも同様の機作により、皮膚の性状の変化が進入に有利に働くものと考えられる。

結 語

著者等は C^{14} で目印をつけた HCO_3^- 乃至 CO_2 含有の蒸溜水, 重曹水, 含芒硝重曹水, 含食塩重曹水を用い、無処置群, 火傷群, メチレン青塗布群のハツカネズミに、37°C, 30分の入浴を行わしめ、次の成績を得た。

1) HCO_3^- , CO_2 の何れの形で進入したかは明らかでないが、 CO_2 として 10^{-5} モル程度を含有する蒸溜水* (pH 5.6) 浴でも、血中に放射能を証明し得る。

2) 重曹水(pH 6.6)浴では、蒸溜水*浴に比し HCO_3^- 乃至 CO_2 の体内進入は増強する。

3) 芒硝添加重曹水 (pH 6.8) 浴は、重曹水単独浴の場合に比べ、 HCO_3^- 乃至 CO_2 の体内進入を促進する。

4) 食塩添加は抑制的に働く様である。

5) 火傷乃至メチレン青塗布は HCO_3^- 乃至 CO_2 進入を有利ならしめ、何れの浴法でも火傷群>色素群>無処置群の順に血中放射能の増加が認められる。

欄筆するに当り、恩師大島教授の御指導と御校閲を衷心より深謝する。

本論文の要旨は昭和31年4月、第21回日本温泉気候学会總會において発表した。

参 考 文 献

- ①大島, 佐竹; 信州医誌, 3, (3): 162, 昭29.
 ②関; 解剖学雑誌, 20, (1): 35, 昭17. ③吉村; pHの理論と測定法, p. 248, 丸善, 昭29. ④アイソトープ実験技術, 第1集; p. 256, 南江堂, 昭30. ⑤大島, 横田; 岡大温研報, (7), 1, 昭27. ⑥横田; 岡大温研報, (8), 1, 昭27. ⑦横田; 岡大温研報, (13), 18, 昭29. ⑧大島; 信州医誌, 4, (3): 346, 昭30.

Balneological Studies Using Radioactive Isotopes

(7) Studies with C^{14}

Kiyoto Satake, Hiroo Kojima and Tomihiko Nakajima

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. Dr. Y. Oshima)

Using distilled water and sodium bicarbonate solution (one gram per liter), in both of which carbonic acid gas labelled with C^{14} was dissolved, the present authors investigated the transition of bicarbonate ion in the bath water into the body of bathed mice.

The bathed animals were divided into three groups: the first group as control, the second freshly burnt on the skin and the third applied 1% methylenblue to the skin.

The temperature of bath water was 37°C and the time of bathing was 30 minutes long.

The result thus obtained were as follows:

1) Transition of bicarbonate ion through the skin into the body of the animals was proved to be

positive even after the bath in distilled water containing 10^{-5} mol. of CO_2 (pH: 5.6, radioactivity per 0.1cc of bath water: 10.3 div./min.).

2) After the bath in bicarbonate solution (pH: 6.6, radioactivity per 0.1cc of bath water: 9.6 div./min.) transition of bicarbonate ion into the body was greater than that after the bath in distilled water.

3) By the addition of sodium sulfate (one gram

per liter) to the sodium bicarbonate solution percutaneous absorption of bicarbonate ion was promoted, while it was suppressed by the addition of sodium chloride (one gram per liter).

4) Irrespective of above mentioned kinds of baths percutaneous absorption of bicarbonate ion was accelerated by making a burn or by application of methylenblue to the skin of the bathed animals.

植物性色素による細胞核青染剤について

昭和30年9月23日 受付

信州大学医学部第一解剖学教室 (指導 尾持教授)

井 上 智 弘

緒 言

今日組織学的標本作製技術に於いて所謂永久標本作製に際し核染色に用いられる色素にはヘマトキシリンとカルミンがある。而してカルミンはメキシコ原産の有物目同翅亜目に属する胭脂虫 (Coccus cacti) の雌を原料として、得られた動物性色素を含んだ染料で、核を赤染し耐久力あるものである。併し現在最もよく用いられている核染色剤はヘマトキシリンであつて、これは熱帯地方に産する荳科植物の *Haematoxylon campechianum* L. より製出した植物性色素「ヘマトキシリン」 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ を酸化して生じた「ヘマテイン」 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$ を用いるものである。ヘマトキシリンは核を青染する他はカルミンと同じく耐久力あり染色操作も容易で且結果は常に確実であることが賞用せられる大きい理由であると考え。殊に核を青染するのはエオジン等による複染色を可能にし、又視覚に対しても赤色より生理的に優つている。

ヘマトキシリンは上述の如く組織学的標本作製上甚だすぐれた色素であるが、原料が熱帯又は亜熱帯地にのみ産し、我国には殆んど生産されないの、その使用に当つてはもつばら輸入にたよらねばならないのが現状である。しからば我が国産によつて簡易に求められる植物性染料にしてヘマトキシリンに代り得るものは全くないかというに、文献によれば数種の核青染剤を挙げる事が出来る。即ち、ナス(布施、鈴木両氏)、黒豆(鈴木氏、郷氏)及びツユクサ(尾持教授)がそれであるこれらはそれぞれに特徴ある染色剤であるが、その他にも純国産植物による核青染剤はないかと研究した結果、その条件に適うような色素を確認したので報告し併せて使用法をも述べようと思う。

自家所見及び考察

今回私がとり上げたものはつばき科に属するさかき

(*Cleyera ochracea* D. C.) の漿果に含まれる色素である。さかきは本邦中部以南の山林中に生ずる常緑亜喬木であつて、夏に開花し秋に多数の種子を入れた黒色の漿果を生ずるのである。この漿果を採取して 37°C の卵卵器中にて急速に乾燥して保存に耐えるように処置したものを原料とする。

染色液製法

乾燥して得られたさかきの漿果10gを乳鉢に入れて乳棒をもつて、種子がつぶれない様注意しながら充分にすりつぶしてから、70%アルコールを約50cc加え混和して5~6時間放置する。そして最初にガーゼを用い、次いで濾紙を以つて濾過する。濾液を皿にとつて一日放置するとアルコールが蒸発して濃縮するが、更にその液に97%アルコールを約20cc加えると白色の沈澱を生ずる。再び濾過して濾液を放置すると濃縮してくるので、同様の操作を繰返して濾液を得る。これに10%明礬水10ccと氷醋酸を0.5cc加えて染色液の調製を終る。

染色操作

切片は水洗した後、上記染色液に約10~20分間浸しておくと、総ての細胞核は青染される。弁色はヘマトキシリンと同様稀塩酸アルコールを用いて行うことが出来る。

染色後の水洗はヘマトキシリンの場合と異り簡単に余剰の染色液を除く程度でよく、長時間の水洗はかえつて脱色或は変色するおそれがある。必要によつてはエオジンによる後染色も行うことが出来る。

10%ホルマリン固定によるツユクサ包埋した切片を用いて上記染色液とエオジンの複染色をして作製した標本を観察するに、弱彫大では総ての核は青染し、胞体は赤染して一見ヘマトキシリン、エオジン複染色による標本と全く同じである。併し色調に於いて