

ムコ多糖体並びに抗凝血薬の血液凝固及び 動脈硬化抑制作用に関する研究

第1編 コンドロイチン硫酸の血液凝固に及ぼす 影響について

昭和37年8月20日受付

信州大学医学部松岡内科学教室

(主任: 松岡松三教授)

上 条 信 郎

Studies on the Effect of Mucopolysaccharides and Anticoagulants on Blood Coagulation and Prevention of Arteriosclerosis

Part 1. Effect of Chondroitin Sulfuric Acid on Blood Coagulation

Nobuo Kamiyo

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine
Shinshu University

(Director: Prof. M. Matsuoka)

緒 言

コンドロイチン硫酸(以下コ硫酸)はウロン酸を含むムコ多糖体に属し、軟骨、腱、血管壁、心膜等の間葉系組織の構成成分である。その構造はグルクロン酸、ガラクトサミン、醋酸、及び硫酸からなり、Meyer^①によつて構造式が決定されている。このコ硫酸はムコイチン多糖体硫酸であるヘパリンと類似の構造を有することから、ヘパリンの血液凝固阻止作用と同様な作用を有することが想像される。

コ硫酸の血液凝固阻止作用に関しては、未だ系統的に検索された成績にとぼしい。川村等^②は鯨の鼻中隔軟骨より製成したコ硫酸を家兎に用いて、凝固時間の延長を見たとし、又、Marbet^③、正宗^④等はヘパリン様の血液凝固阻止作用を有する一種のコ硫酸(β -ヘパリン)の存在を認めている。一方、大島^⑤はコ硫酸のカルシウム塩を家兎に静注して、血液凝固時間の短縮したと発表している。コ硫酸といつてもその抽出材料により、又製法により同一のものと限らず、何種類かのある事を考えれば、血液凝固に及ぼす作用の一定しないのは当然かも知れない。著者はコ硫酸ナトリウムの純末を科研薬品より入手し、之を使用して試験管内および生体内における血液凝固に及ぼす影響について研究を行つたので、その成績について報告する。

実験材料

コ硫酸はナトリウム塩の形になつており、この純末を用いて0.0001%~2%までの濃度の生理的食塩溶液を作つて使用した。このコ硫酸のアルカリ塩は無味無臭の粉末で、吸湿性を有し、水に易溶でアルコール、アセトン等の有機溶剤に難溶で、その水溶液は粘稠性を有し、熱に比較的安定であるので50°~60°Cの生理的食塩水にて約10分間振りながら溶解後氷室に保存し用にのぞんで使用した。

実験は試験管内、生体内実験を行い、夫々について人、家兎を使用した。

実験成績

1. 試験管内実験

(1) 血液凝固時間に及ぼす影響

実験方法

2%コ硫酸溶液を母液として、生理的食塩水により種々の稀釈系列を作り、この0.1ccに同一の人、又は家兎の全血0.9ccを分注し、37°Cの恒温槽に入れてその凝固時間をLee-White法^⑥で測定した。家兎は耳静脈からシリコン塗布した注射器で採血し、シリコン試験管内で実施した。

実験成績

図1と表1に示す様に人、及び家兎共に0.1%の濃

度迄軽度ながら凝固時間は短縮の傾向を示し、0.1%の濃度で最短凝固時間となり、0.1%以上の濃度では

次第に延長を示し、濃度の増すに従いその程度も著明となった。

図 1. 全血凝固時間に及ぼす影響 (in vitro)

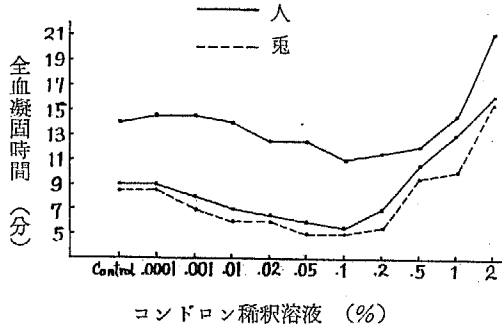


表 1. 全血凝固時間に及ぼす影響 (In vitro: Lee-White 法)

| コ 硫 酸 溶 液 | | | 全 血 凝 固 時 間 | | | | | |
|-----------------|-----|-------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| % | ml | 人及び家兎の血液 ml | 人 | | | 家 兎 | | |
| | | | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 1 | No. 2 | No. 3 |
| | | | min | min | min | min | min | min |
| 0.00001 | 0.1 | 0.9 | 14.0 | 9.5 | 7.5 | 8.5 | 9.5 | 9.5 |
| 0.001 | 0.1 | 0.9 | 14.5 | 9.0 | 7.5 | 8.5 | 9.5 | 8.5 |
| 0.01 | 0.1 | 0.9 | 14.5 | 8.0 | 7.5 | 7.0 | 8.5 | 8.0 |
| 0.02 | 0.1 | 0.9 | 14.0 | 7.0 | 6.5 | 6.0 | 9.0 | 8.5 |
| 0.05 | 0.1 | 0.9 | 12.5 | 6.5 | 6.5 | 6.0 | 7.5 | 9.5 |
| 0.1 | 0.1 | 0.9 | 12.5 | 6.0 | 6.0 | 5.0 | 7.5 | 8.0 |
| 0.2 | 0.1 | 0.9 | 11.0 | 5.5 | 6.0 | 5.0 | 7.5 | 7.5 |
| 0.5 | 0.1 | 0.9 | 11.5 | 7.0 | 7.5 | 5.5 | 8.0 | 8.0 |
| 1 | 0.1 | 0.9 | 12.0 | 10.5 | 7.5 | 9.5 | 9.0 | 8.5 |
| 2 | 0.1 | 0.9 | 14.5 | 13.0 | 18.5 | 10.0 | 11.0 | 9.5 |
| 0.85% NaCl Sol. | 0.1 | 0.9 | 21.0 | 16.0 | 30.0< | 15.5 | 20.5 | 15.0 |

図 2. プロトロンビン時間に及ぼす影響 (in vitro)

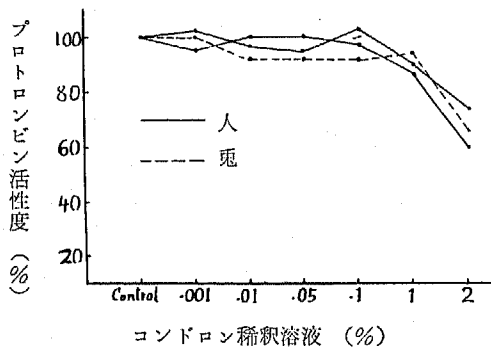


表 2. プロトロンビン時間に及ぼす影響 (In vitro: 松岡一段法)

| コ 硫 酸 溶 液 | | | プロトロンビン時間 | | |
|-----------------|-----|-------------|-----------|------|-----|
| % | ml | 人及び家兎の血液 ml | 人 | | 兎 |
| | | | No.1 | No.2 | |
| | | | % | % | % |
| 0.001 | 0.1 | 0.9 | 102 | 95 | 100 |
| 0.01 | 0.1 | 0.9 | 97 | 100 | 92 |
| 0.05 | 0.1 | 0.9 | 95 | 100 | 92 |
| 0.1 | 0.1 | 0.9 | 103 | 97 | 92 |
| 1 | 0.1 | 0.9 | 90 | 87 | 94 |
| 2 | 0.1 | 0.9 | 74 | 60 | 66 |
| 0.85% NaCl Sol. | 0.1 | 0.9 | 100 | 100 | 100 |

図 5. トプ形成試験 (in vitro)

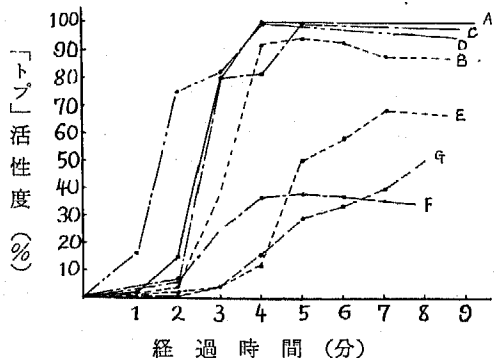


表 4. トプ形成試験に及ぼす影響 (in vitro)

| | 血 清 | BaSO ₄ 吸着 血 漿 | 経 過 時 間 (分) | | | | | | | | |
|---|---------------------|-----------------------------|--------------|----|----|-----|-----|-----|----|----|--|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | |
| | | | トプ 活 性 度 (%) | | | | | | | | |
| A | 正常血清 | 正常血漿 | 2 | 15 | 80 | 100 | 100 | | | | |
| B | 正常血清 | 0.1% γ 硫酸加血漿 | 1 | 4 | 38 | 92 | 94 | 93 | 88 | | |
| C | 0.1% γ 硫酸加血清 | 正常血漿 | 0 | 12 | 80 | 82 | 100 | 100 | | | |
| D | 0.1% γ 硫酸加血清 | 0.1% γ 硫酸加血漿 | 16 | 75 | 80 | 100 | 100 | | | | |
| E | 正常血清 | 2% γ 硫酸加血漿 | 0 | 2 | 4 | 12 | 50 | 58 | 68 | 61 | |
| F | 2% γ 硫酸加血清 | 正常血漿 | 0 | 6 | 25 | 37 | 38 | 37 | | | |
| G | 2% γ 硫酸加血清 | 2% γ 硫酸加血漿 | 0 | 1 | 4 | 16 | 29 | 34 | 40 | 51 | |

図 6. 全血凝固時間 (in vivo)

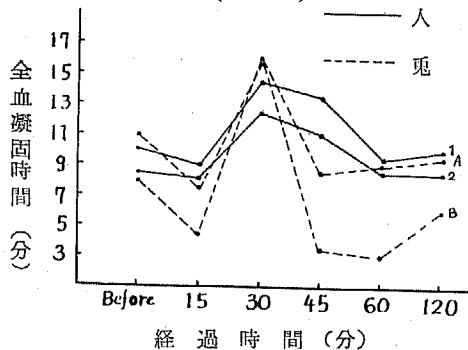


表 5. 全血凝固時間に及ぼす影響 (2% γ 硫酸溶液 20mg/kg 静注 in vivo)

| | | 注射前 | 15分 | 30分 | 45分 | 60分 | 120分 |
|---|---|-------|------|-------|-------|------|-------|
| 人 | 1 | 10.00 | 9.00 | 14.30 | 13.30 | 9.30 | 10.00 |
| | 2 | 8.30 | 8.00 | 12.30 | 11.00 | 8.30 | 8.30 |
| 兎 | A | 11.00 | 7.30 | 16.00 | 8.30 | 9.00 | 9.30 |
| | B | 8.00 | 4.30 | 16.00 | 3.30 | 3.00 | 6.00 |

(2) プロトロンビン時間に及ぼす影響

実験方法

凝固時間と同様に注射前、及び注射後15分毎に120分迄の蔭酸加血漿について、松岡一段法^⑦でプロトロンビン時間を測定した。

実験成績

図7と表6に示した。これによると注射後プロトロンビン活性度は漸次減少し、30分、又は45分で69~63%と最低の活性度となり、それ以後次第に増加の傾向を示し、家兎では90分で旧値に復するが人では120分でも未だ旧値に復さない。

(3) 安定因子に及ぼす影響

図 7. プロトロンビン時間 (in vivo)

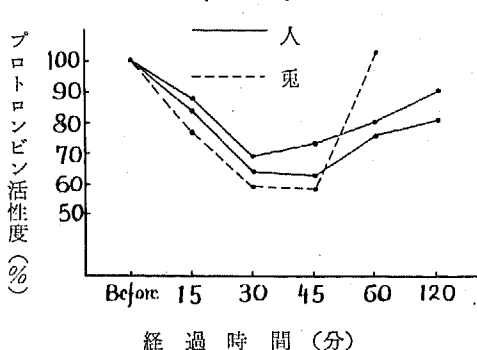


表 6. プロトロンビン時間に及ぼす影響 (in vivo %)

| | | 注射前 | 15分 | 30分 | 45分 | 60分 | 120分 |
|---|---|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 人 | 1 | 100 | 88 | 69 | 73 | 80 | 90 |
| | 2 | 100 | 84 | 64 | 63 | 76 | 81 |
| 兎 | | 100 | 77 | 59 | 58 | 103 | |

実験方法

凝固時間を測定した血液の凝固完了後2時間以上を
経た後血清を分離して、Koller-Duckert の法^④で
安定因子を測定した。

実験成績

注射後45分で最も減少して82~37%となり、以後
120分迄次第に旧値に近づくが、兎は120分で尚、51%
の値を示している。(図8, 表7参照)

(4) 不安定因子に及ぼす影響

実験方法

試験管内実験と同様に、各時間毎の尿酸加血漿につ
いて、同一人、及び家兎の不安定因子を Wolf の教室
変法^⑤で測定した。

実験成績

図9, 表8の如く注射後15分乃至45分後に若干の減
少をみ、60分乃至120分で旧値に復する傾向が見られ
た。

(5) フィブリノーゲン、及び血小板数に及
ぼす影響

実験方法

各時間毎にフィブリノーゲンは Trosine 法^⑥、血
小板数は Rees-Ecker 直接法^⑦で測定した。

実験成績

両者共に注射後30分、乃至45分で一時的に減少し以
後旧値に近い値を示した。(図10, 表9参照)

(6) 「トプ」形成試験に及ぼす影響

実験方法

試験管内実験と同様に、Biggs-Douglas 法^⑧によ
り注射前の血清、血漿の組合せを正常とし、注射後30
分、45分、60分、及び120分の血清、血漿について、
「トプ」活性度を測定した。

実験成績

正常血清と各時間の血漿の組合せと、正常血漿と各
時間の血清との組合せを比較すると、明らかに血清の
方が血漿に比べ「トプ」形成は不良であつた。

血漿は注射後30分では74%と軽度の「トプ」形成不
良を示すが、45分、60分、或は120分では「トプ」
形成は殆ど正常であつた。血清では注射後30分の血清
が最も「トプ」形成は不良であり55%、次いで45分、
60分の順に形成は良好となり、120分では殆ど100%を
示した。(図11, 表10参照)

(7) トロンボエラストグラムについて

人について実施した成績は、図12の如く、rは注射
前16分、45分で19分と延長し、60分乃至120分で旧値
に近づいている。k及びr+kも同様の経過を示す。
maは注射前45.6mmと巾が広く、45分で40mm、60分で

図8. 安定因子
(in vivo)

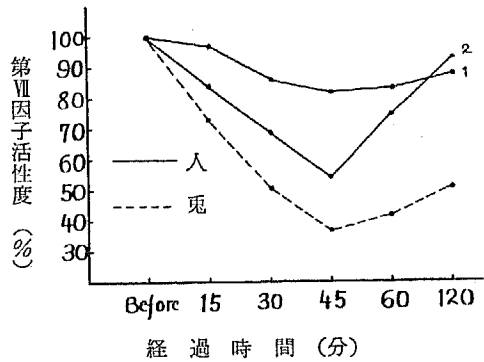


表7. 安定因子に及ぼす影響
(in vivo %)

| | | 注射前 | 15分 | 30分 | 45分 | 60分 | 120分 |
|---|---|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 人 | 1 | 100 | 97 | 86 | 82 | 83 | 88 |
| | 2 | 100 | 84 | 69 | 54 | 75 | 93 |
| 兎 | | 100 | 73 | 51 | 37 | 42 | 51 |

図9. 不安定因子
(in vivo)

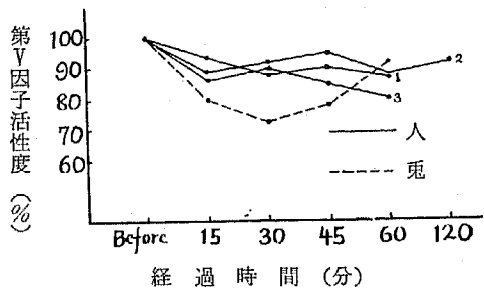


表8. 不安定因子に及ぼす影響
(in vivo %)

| | | 注射前 | 15分 | 30分 | 45分 | 60分 | 120分 |
|---|---|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 人 | 1 | 100 | 94 | 88 | 90 | 78 | |
| | 2 | 100 | 89 | 92 | 95 | 88 | 92 |
| | 3 | 100 | 86 | 90 | 85 | 80 | |
| 兎 | | 100 | 80 | 73 | 78 | 92 | |

39mmと狭くなり、120分で再び旧値に近く41mmとなつ
ている。(図12, 表11参照)

図10. フィブリノーゲン及び血小板

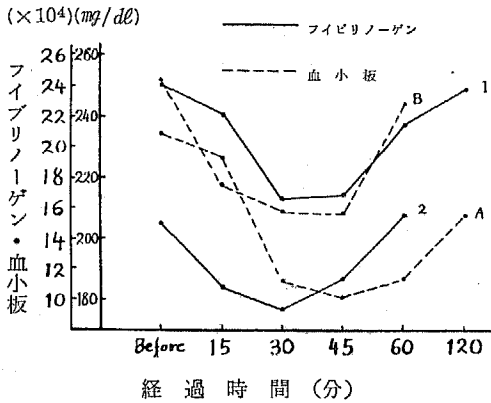


図11. トプ形成試験 (in vivo)

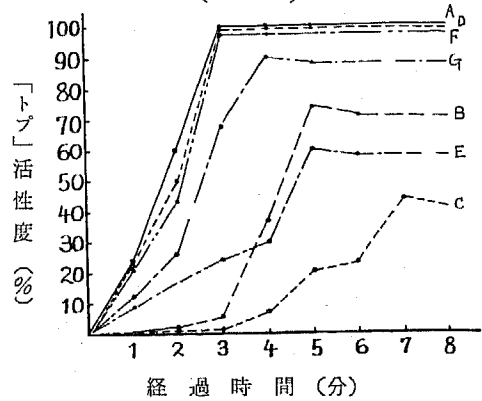


表 9. フィブリノーゲン及び血小板に及ぼす影響
フィブリノーゲン (mg/dl) in vivo

| | | 注射前 | 15分 | 30分 | 45分 | 60分 | 120分 |
|-----------|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| フィブリノーゲン量 | 1 | 250.2 | 240.8 | 213.3 | 214.6 | 237.8 | 249.1 |
| | 2 | 210.3 | 184.3 | 177.9 | 187.3 | 208.7 | |
| 血小板数 | A | 20.9×10^4 | 19.3×10^4 | 11.2×10^4 | 10.2×10^4 | 11.4×10^4 | 15.6×10^4 |
| | B | 24.4×10^4 | 17.6×10^4 | 15.8×10^4 | 15.7×10^4 | 22.9×10^4 | |

表 10. トプ形成試験に及ぼす影響
=硫酸静注後30, 45, 60分の血清, 血漿を使用 (in vivo)

| | 血清 | BaSO ₄ 吸着 血漿 | 経過時間 | | | | | | | | | |
|---|-----------|----------------------------|----------|----|-----|-----|-----|----|----|----|--|--|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | | |
| | | | トプ活性度(%) | | | | | | | | | |
| A | 正常血清 | 正常血漿 | 24 | 61 | 100 | 100 | 100 | | | | | |
| B | 正常血清 | 注射後30分の血漿 | 0 | 2 | 5 | 37 | 74 | 71 | 71 | | | |
| C | 注射後30分の血清 | 正常血漿 | 0 | 0 | 1 | 7 | 20 | 23 | 44 | 41 | | |
| D | 正常血清 | 注射後45分の血漿 | 24 | 50 | 100 | 100 | 100 | | | | | |
| E | 注射後45分の血清 | 正常血漿 | 9 | 17 | 24 | 30 | 60 | 58 | 58 | | | |
| F | 正常血清 | 注射後60分の血漿 | 21 | 43 | 100 | 100 | 100 | | | | | |
| G | 注射後60分の血清 | 正常血漿 | 12 | 26 | 68 | 90 | 88 | 88 | | | | |

図12. トロンボエラストグラム (in vivo)

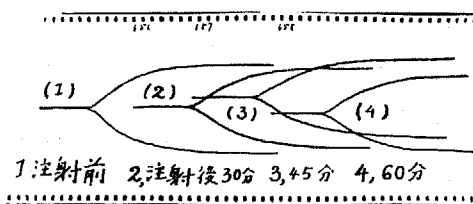


表11. トロンボエラストグラムに及ぼす影響

| | | 分 | 注射前 | 30 | 45 | 60 | 120 |
|-------|----|------|------|------|------|------|-----|
| r | 分 | 16.2 | 17.3 | 19.3 | 16.1 | 15.1 | |
| k | 分 | 6.5 | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 7.0 | |
| r + k | 分 | 22.7 | 26.3 | 28.3 | 25.1 | 22.0 | |
| ma | mm | 45.5 | 41.0 | 40.0 | 39.0 | 41.0 | |

考按並に総括

近年、ムコ多糖体は医学の各分野に於てその重要性が認められ、生理的、及び病理学的意義が次第に明らかになつて来たが、血液凝固とムコ多糖体との関係については、ヘパリン以外の物質については殆ど知られていない。

ヘパリンは Mc Lean^⑩、Quick^⑪によつて発表された如く強力な抗凝血作用を有し、その後多くの研究が重ねられて、すでに血栓症の治療にも用いられている。然るにその他のムコ多糖体では、カロン硫酸について田宮等^⑫、石井等^⑬によつて凝固時間の延長作用のあるのが報告されているのみであつたが、最近松岡等^⑭及び村山^⑮によつてその詳細な研究成績が発表され、カロン硫酸の作用はヘパリンに類似していることが分つた。

之等ヘパリン、及びカロン硫酸と構造の類似したコ硫酸についても、血液凝固阻止作用を有する事が想像される。コ硫酸の血液凝固に及ぼす影響については、すでに古く川村等^②が鯨の鼻中隔軟骨から製成したコ硫酸を家兎に使用して、試験管内、及び生体実験で凝固時間を測定して、凝固時間の延長作用のあることを発表した。その後、Marbet等^③、正宗^④はヘパリン様の血液凝固阻止作用を有する一種のコ硫酸(β-ヘパリン)の存在を認めている。又、大島^⑤はコ硫酸のカルシウム塩を家兎に静注して、血液凝固時間の短縮をみたと報告した。Marbet等^③によれば牛の肺から得られたヘパリン分画中にコ硫酸Bと類似した組成と性質を有する物質を分離し、之をβ-ヘパリンと名づけ、これの抗凝固作用はヘパリンより弱く、トロンビンを加えた蔭酸血漿の凝固を阻止する作用はヘパリンの1/3であるとしている。Grossman等^⑥はβ-ヘパリンは低濃度のトロンビンに対して、アンチトロンビン作用を有するが、高濃度ではその作用を有せず、軟骨から得られたコ硫酸(A)はアンチトロンビン作用はないと云つている。

以上、現在迄のコ硫酸の血液凝固に及ぼす作用の研究では、凝固時間の延長と弱い抗トロンビン作用を有する事が知られているのみであり、著者はコ硫酸ナトリウムの純末を入手し得、之を用いて詳しく研究する機会を得たので成績を発表した。

先づ、凝固時間に及ぼすコ硫酸の影響を見ると人の場合も、家兎の場合も、試験管内実験で0.1%以下の濃度では血液凝固阻止作用は見られず、却つて0.1%迄の凝固時間は短縮の傾向を示し、0.1%以上の濃度では、その濃度が増すにつれて凝固時間の延長作用が

著明となつた。即ち、著者の使用したコ硫酸は低濃度では凝固時間をやゝ促進するが、その程度は小さく、高濃度では凝固阻止的に作用する。

凝固阻止作用を著明に示した2%コ硫酸を、人又は家兎に静注した場合の凝固時間の変動を見ると、注射後15分でやゝ短縮の傾向を示し、30分、乃至45分では逆に延長を見、60分、乃至120分ではほぼ旧値に復した。松岡等^⑭が慢性腎炎にコ硫酸40mgを静注した際、凝固時間が一過性に短縮した成績を発表しているが、著者の成績は20mg/kgの大量を使用したものであり、之はコ硫酸の使用量の差によるものと考えられる。大島^⑤の報告では Sahli-Fonio 法を用いて家兎で観察し、注射直後に凝固開始がやゝ遅延して、1時間後に短縮を見ているが、これはコ硫酸カルシウム塩であり、著者の場合はナトリウム塩であるための相違とも考えられる。

以上著者は、高濃度コ硫酸が血液凝固阻止作用を有することを知つたが、この機序が如何なる原因によるものかを追求するために各凝固因子の測定を行つた。先づ、プロトロンビン時間に及ぼす作用では、試験管内実験で1%の濃度迄は殆ど変化を見ないが、それ以上の濃度では延長を示し、2%では最も著明な延長を示した。更にこの場合の安定因子、及び不安定因子の変動を見ると、一段法プロトロンビンのそれとよく一致した。生体内での変化は2%コ硫酸静注で、一段法プロトロンビン時間は注射後15分から減少の傾向を示し、30分、乃至45分で最も著明となり60分、120分で旧値に復したが、安定因子、不安定因子も同様な傾向を示した。即ち、コ硫酸による凝固時間の延長は一段法プロトロンビン時間の延長、安定因子、及び不安定因子の減少が、その原因の一部をなしていることが推定される。フィブリノーゲンは2%コ硫酸静注後減少を示したが、之はフィブリノーゲンの亢進、又は生体内での消費によるかは不明であるが、それらの変化は推測される。

血小板もフィブリノーゲンと同様の経過を示した。

コ硫酸のトロンボプラスチン形成に及ぼす影響を0.1%、及び2%の溶液について試験管内での実験成績をみると、0.1%では殆どその形成能に変化をみないが、2%では血清、血漿共トロンボプラスチン活性の低下を示し、又その程度は血清の方が若干著しい傾向がある。

トロンボエラストグラムは、血液凝固の全過程を示すものとされているが、著者はコ硫酸の血液凝固に及ぼす影響をトロンボエラストグラムで検索した所、コ硫酸静注後、45分で、r、k、及びr+kは延長を示

し、 ma は小となり、60分乃至120分で前値に戻った。

r , $r+k$ は凝固時間の延長とよく一致し、又 ma の減少はフィブリノーゲン、血小板の減少とよく一致している。深沢^⑭によれば、 ma はフィブリノーゲン、血小板と関係あり、之等の減少は ma の減少を示すとしているが、著者の成績もこの成績と一致している。

以上コ硫酸の凝血的検討を行つたが、之を村山^⑮がカロニン硫酸について行つた成績と比較してみると、 β 時間、第Ⅴ因子に対しては同様の効果を有するが、第Ⅶ因子に対しては村山のカロニン硫酸には抗第Ⅶ因子作用はなく、著者のコ硫酸では、その作用を認め、ヘパリンと似ている。「 τ 」形成試験については、カロニン硫酸は血漿因子の低下を示したが、著者のコ硫酸では血漿因子より血清因子の低下の方が著明であつた。然しコ硫酸の作用機序は全体としてヘパリン、カロニンと類似していると考えられる。

結 論

コンドロイチン硫酸 (C) のナトリウム塩を用いて試験管内及び生体内において、血液凝固に及ぼす作用を検討し、次の結果を得た。

I 試験管内実験

- 1) 全血凝固時間は低濃度では短縮するが、高濃度では延長を示した。
- 2) プロトロンビン活性度は0.1%以上の濃度で減少した。
- 3) 第Ⅶ因子は2%の濃度にて軽度の減少を示した。
- 4) 第Ⅴ因子は2%の濃度で軽度の減少を示した。
- 5) トロンボプラスチン形成能は2%の濃度で減少し、血漿因子および血清因子に対する阻止作用がみとめられた。

II 生体内実験

2%コンドロイチン硫酸を20mg/kgの割合に静注した。

- 1) 全血凝固時間は注射後30分乃至45分で軽度の延長を認めた。
- 2) プロトロンビン活性度は30分乃至45分後に減少を認めた。
- 3) 第Ⅶ因子は45分後に減少を認めた。
- 4) 第Ⅴ因子は15分乃至45分後に軽度の減少を認めた。
- 5) フィブリノーゲン及び血小板数は30分乃至45分後に一時的に減少を認めた。
- 6) トロンボプラスチン形成能は30分乃至45分後に血清因子の低下を認めたが、血漿因子には変化を認めなかつた。

7) トロンボエラストグラフでは、45分後に r , k の延長を認めたが ma には著変を認めなかつた。

以上、コ硫酸は試験管内においても、生体内においても略同様に血液凝固を阻止する作用があることを知つた。

本論文の要旨は第22回日本血液学会総会において発表した。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜つた恩師松岡松三教授に深く感謝の意を表するとともに、村山繁光博士をはじめ教室内各位の御援助を深謝する。

本研究は、文部省科学研究費の補助を受けた。こゝに謝意を表する。

文 献

- ①Meyer, K. and Rapport. M. M.: Science, 113: 596, 1951.
- ②川村正夫・他:北海道医誌, 18:2224, 昭15.
- ③Marbet, R. et al: Experimentia, Ⅷ/1: 41, 1952.
- ④正宗 一: 生体の化学, 3: 234, 昭27. 生化学, 23: 176, 昭26.
- ⑤大島良雄: 温泉研究所報告(岡山), 6:52, 昭27.
- ⑥Lee, R. I. and White, P. D.: Am. T. M. SC., 145: 495, 1913.
- ⑦松岡松三: 日本医事新報, 1314: 37, 1949.
- ⑧Koller, F., A. Loeliger u F. Duckert: Acta. haematol. (Basel), 6: 1, 1951.
- ⑨荻原洋三: 信州医誌, 6: 252, 昭32.
- ⑩Douglas, A. S. & Biggs, R.: J. Clin. Path. 6: 23, 1953.
- ⑪松岡松三・他: 臨牀検査, 2: 61, 1958.
- ⑫Rees, H. M. and Ecker, E. E.: J. A. M. A., 80:1621, 1923.
- ⑬Mc Lean: J. Am. J. Physiol, 4: 250, 1916.
- ⑭Quick, A. J.: Phys. Reviews, 24: 297, 1944.
- ⑮田宮春雄, 山本 正, 小田 孟: 東京医誌, 55: 140, 昭16.
- ⑯石井 暢, 塚田恵一: 日血会誌, 16: 233, 昭28.
- ⑰松岡松三: 日血会誌, 45: 1334, 昭32.
- ⑱村山繁光: 信州医誌, 8: 339, 1959.
- ⑲Grossman, B. J. et al: Peliatries, 20: 506, 1957.
- ⑳松岡松三・他: 診療, 12: 1151, 昭34.
- ㉑深沢 英・他: 日本臨牀, 17: 2083, 昭34.