

脳に於ける糖質代謝の研究

Pyruvin 酸の生成に及ぼす各種塩類の影響に就いて

昭和35年7月29日 受付

信州大学医学部生化学教室

児 島 英 也

Studies on the Carbohydrate Metabolism in Brain

Effect of the Various Salt for Pyruvic Acid Synthesis

Hideya KOJIMA

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Shinshu University

緒 言

脳髓の科学的研究に化学の方法が利用されるに至つたのは極めて最近のことである。此の主な理由は脳に於ける種々の精神行作に際して、僅かに電気的現象の起るのを認めるのみで、形態学的変化も多くは認め難く、発生する Energy 量もそれに伴う化学的变化を追求することは、化学的定量の拙劣な時にあつては困難であつたことに基くと思われる。

脳の代謝は他の臓器と趣きを異にし、Energy 源として糖質以外の物質を利用することはなく、従つてその呼吸比は常に1に等しく、その単位量が単位時間に使用する酸素の量は他の組織のそれに比して非常に大きい。そのために Insulin による急激な低血糖では脳に著しい機能低下が起り又酸素の欠乏に際しても他の臓器に先立つて、脳の機能に障害を来すものである。

筆者は脳髓の糖質代謝について実験を行い、先づ Pyruvin 酸について検査を行つた。

Pyruvin 酸は葡萄糖より酸素存在の元に於ても、又その存在しない時に於ても、酸化の中間生成物として生じ、このものは更に乳酸に或は酸素の充分な時には TCA-cycle を経て CO_2 と水とに分解を受け、又 amino 基を受けて alanin となり、或は分解過程を繰返して葡萄糖になる等、種々の変化を受けることが可能である。本実験では各種塩類の脳組織内に於ける Pyruvin 酸の消長について検索を行つた。

実験の部

Pyruvin 酸の定量

清水氏法により次の様に定量した。

即ち新鮮な脳組織粥 2g を遠心沈澱管にとり、10% 三塩素酢酸 10cc を加へ栓をして振盪混和して10分間

は氷室内に放置した後、これを遠心沈澱し、その上清 3cc をとつて、発色剤として 2, 4-dinitrophenyl hydrazin 試薬を加へて発色せしめ波長 $520\text{m}\mu$ にて比色定量した。

脳髓の採取後時間経過による Pyruvin 酸含有量の消長

牛脳組織粥 2g 宛を4本の試験管にとり、水 1cc を加え、1本の試験管については、直ちに Pyruvin 酸（以下P酸とす）を定量し、他の3本の試験管については30分おきに空気を通じ乍ら、 37°C の温浴中に放置し、3時間、6時間、24時間の各経過に伴うP酸量を測定した。

成績

第1図の如く採取直後の脳髓中のP酸量は0.6~1.0 mg% であるが、 37°C の温浴中に放置した場合には時間の経過に従つて増加傾向を示し、24時間後では採取直後の2~5倍を示す。即ち採取後4時間乃至6時間までは急激な増加が起り、その後は著しい増量は認められない。馬脳についても同一の結果が得られた。

実験 1

各種塩類を添加せる時の脳のP酸量の消長

(1) NaCl の影響

牛脳組織粥 2g に 0.8%, 4% 及び 10% NaCl 溶液 1cc を加え、 37°C に保温し各時間に於て各々のP酸を定量する。対照実験としては食塩溶液の代りに蒸留水を加えたものを定量に供した。第2図に見る様に、対照に比して著しく増量が認められ、この影響は NaCl 濃度の上昇と共に著明になる。殊に7時間後には各濃度によつて著しい変化を示し、その後は著しい増減を示さない。(第2図)

(2) KCl の影響

1%, 2% 及び 5% 溶液を加えて、各時間に於て検べた。即ち KCl はP酸を少々減少せしめる。その減

少率は KCl の濃度の高いもの程大きく、添加後4時間で稍上昇の傾向を示すが、その後減少して、7時間て最も減少を示して、その後は著しい変化はない(第3図)。

(3) $MgSO_4$ の影響

Mg は添加後4時間で稍々減少し、7時間目には正常値より増加し、その後は著しい変化はない。この影響も $MgSO_4$ の濃度の高い程著しい。

(4) $CaCl_2$ の影響

$CaCl_2$ には P 酸を減少せしめる傾向がある。添加後4時間は急激に減少を示し、7時間目には最低に達する。この減少率は $CaCl_2$ の低濃度のもの程著明である。10% $CaCl_2$ では特に7時間目以後増加の傾向を示す場合も見られる。

(5) NH_4Cl の影響

5% 及び 1% の NH_4Cl では軽度の減少を示すがこの減少は4時間を境として7時間後には旧に復す。10% 溶液では著しい増加を示し、7時間後に Maximum に達し、その後は全一の値をつづける。(第4図)

(6) NH_4SCN の影響

NH_4Cl により脳中 P 酸の増量を見たので、Ammonia-ion を含む他の化合物として、 NH_4SCN を選びその影響を検した結果、時間の経過と共に P 酸の著増を認めた。この影響は 5% 濃度で最も著明で、10% 及び 1% 濃度では緩かな増加率を示す。(第5図)

(7) KSCN の影響

NH_4SCN による増加がたして NH_4^+ によるものか否やを確める目的で KSCN の影響を検した。その結果やはり 5%、10% 濃度に於て増加を示した。従つて NH_4SCN による増加は NH_4^+ のみによるものとは断定出来難い。

(8) KH_2PO_4 の影響

KH_2PO_4 は一般に脳 P 酸を対照に比して減少せしめる。この作用は殊にその濃度の高い程著しい。(第7図)

(9) $(NH_4)_2HPO_4$ の影響

著しい影響は見られないが、稍々増加の傾向がある。この影響も濃度の高い程明らかになる。

(10) 10% NaCl 及び KH_2PO_4 の影響

先の実験で NaCl に P 酸増量の影響を認め、 KH_2PO_4 には逆の作用を見たので、両者同時に加えた時の作用を検した。その結果は Fig. 7. に見る様に NaCl による増加は KH_2PO_4 により、稍々抑制されその抑制効果はその添加量の大きい程著しい。(第7図)

(11) 10% NH_4Cl 及び KH_2PO_4 の影響

NH_4Cl の増加傾向に対する KH_2PO_4 の抑制効果を

Fig. 1. 牛脳採取後各時間に於ける P 酸含有量 圖の消長

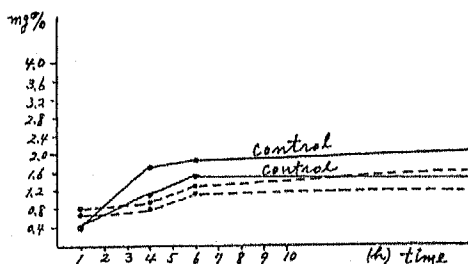


Fig. 2. 牛脳組織の採取後各時間に於ける P 酸消長に及ぼす NaCl の影響

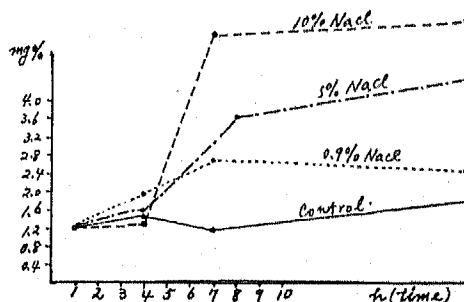


Fig. 3. 牛脳組織の採取後各時間に於ける P 酸消長に及ぼす KCl の影響

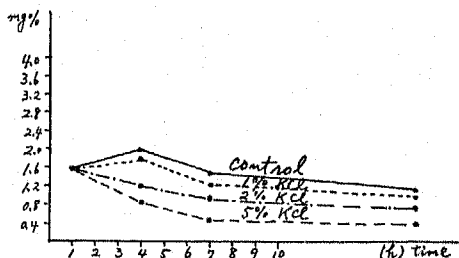
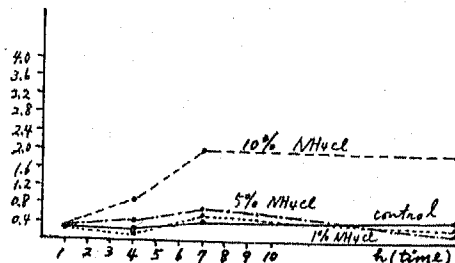


Fig. 4. 牛脳組織の採取後各時間に於ける P 酸消長に及ぼす NH_4Cl の影響



検じたその結果, Fig 8. に示す様に KH_2PO_4 の多い程 NH_4Cl P 酸増加率は著明に抑制されるのを見る。(第8図)

(12) 10% NaCl 及び H_3PO_4 の影響

NaCl の P 酸増加率は Orth 磷酸によっても著明に抑制される。

Fig 5. 牛脳組織の採取後各時間に於ける P 酸消長に及ぼす NH_4SCN の影響

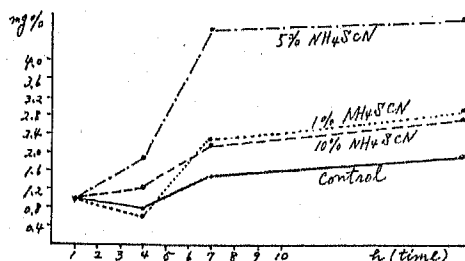


Fig 6. 全. KH_2PO_4 の影響

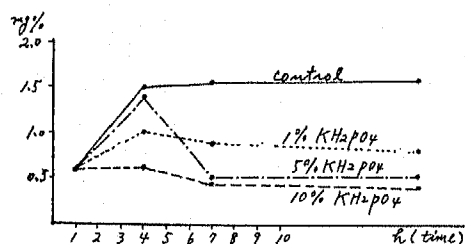


Fig 7. 牛脳組織採取後各時間に於ける P 酸に及ぼす NaCl と KH_2PO_4 の影響

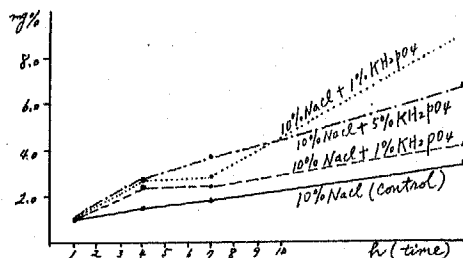
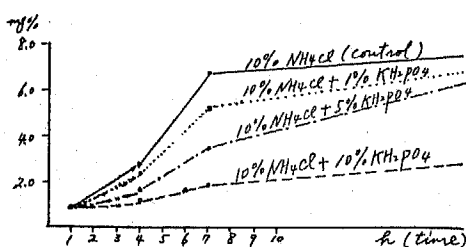


Fig 8. 全. NH_4Cl と KH_2PO_4 の影響



以上総括すると各種塩類のうちで, NaCl , NH_4Cl , CaCl_2 , NH_4SCN , KSCN , MgSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ を脳組織中に添加すると, 脳髓の P 酸量が対照に比し増加する。反対に KCl , KH_2PO_4 添加では減少が見られた。殊に磷酸塩の共存により NaCl , NH_4Cl の如く P 酸を増加せしむる塩類の効果は或る程度抑制されるのを認めた。

実験 2

実験(1)に於て得られた各種塩類による脳 P 酸量に対する影響が P 酸生成, 或は他物質への転化等, 如何なる機構に作用して惹起されるかを検索するために本実験を行つた。

即ち脳柄 0.2g を一列の試験管に採り, 第1の遠心管には水 2cc を, 第2のそれには水 1cc 及び塩類溶液 1cc を加へる。第3の試験管には 0.1% ブドウ糖 1cc 及び水 1cc, 第4の試験管には 0.1% ブドウ糖及び塩類 1cc を添加し両者を1組となした。第5番目の遠心管には水 1cc 及び既知濃度の P 酸を 1cc, 最後の試験管には全 P 酸 1cc と塩類溶液 1cc を添加し, 之等を 37°C の温浴中におき10分おきに毛細管ピペットで空気を充分注入, 而る後1時間目に各管の P 酸を定量した。

全一実験を牛の骨骼筋についても全一条件で行い, 脳髓と比較した。

成績

(1) 10% NH_4Cl の例

脳に NH_4Cl を加えたもの(2)は(1)〔以下この様に記す〕対照より P 酸は増量し, (4)にては(3)より増加する。又(6)は(5)より P 酸の消費されるのが遅延する。牛筋肉に於いては, 唯筋肉に水を注加した場合より P 酸は減少する。筋とブドウ糖と NH_4Cl を作用せしめたものは, 筋とブドウ糖を作用せしめたものより P 酸は減少を示し, 筋肉とブドウ糖及び既知濃度の P 酸を 37°C 1時間作用せしめたものは筋と全量の P 酸を作用せしめたものより, P 酸の減少するのが抑制される。即ちこの実験によつて NH_4Cl による脳 P 酸増量はブドウ糖から P 酸の生成過程が促進されることと思われ, 生成された P 酸の他物質への転化が抑制されるによると考えられる。然るに筋肉に於ては NH_4Cl の添加により, ブドウ糖から P 酸への生成は抑制されるが, 生成された P 酸の他物質への転化は促進されるのを見る。

(2) KCl の例

脳に KCl を添加すると P 酸は KCl を添加しない時よりも減少するが, 既知濃度の P 酸を一定量加えた場合, KCl の有無にかゝらず夫々 P 酸量は殆んど変化

がない。脳にブドウ糖と KCl を加えたものは、KCl を加えないものより P 酸は増加するが、筋肉は却つて減少する。

(3) KH_2PO_4

脳に KH_2PO_4 を加える時 P 酸は減少するが脳にブドウ糖と KH_2PO_4 を加へたものは KH_2PO_4 を加えない時より増量し、P 酸の一定量を加え、 KH_2PO_4 を追注した場合は KH_2PO_4 の無い時より P 酸の減少の割合が遅延する。筋では KH_2PO_4 を加えると却つて増加する。

(4) MgCl_2

脳に MgCl_2 を作用させると著しい P 酸の減少を見る。全じ筋肉でも骨格筋と心筋とは MgCl_2 の作用が異なり、夫々の筋肉にブドウ糖と MgCl_2 を加えると、骨格筋では MgCl_2 を加えないものより P 酸は減少するが心筋では反対に増加する。

NaCl , CaCl_2 , KSCN , NH_4SCN の例に於いて此等の塩類溶液を添加するときは何れも脳中 P 酸は増加する。

(5) 重金属塩類の影響を見るために以下記載した様に HgCl_2 , FeCl_3 , CuCl の各塩類を使用し、脳及び筋肉 P 酸の変化を検索した。

脳に 0.2% HgCl_2 1cc を添加すると脳 P 酸は増加するが、筋には著しい増減がない。筋肉にブドウ糖と HgCl_2 を作用せしめたものは HgCl_2 のないものより P 酸量は少い。 FeCl_3 を働かせると脳 P 酸は増量するが FeCl_3 を加へて incubate すると却つて減量を示す。又脳、筋、何れも CuCl により P 酸は増加する。

(6) 尿 素

無機塩類に比べて有機物の一例として、脳及筋に 10% Urea 溶液を添加して P 酸量を検したが著しい増減は認められなかった。

実験 3

果糖による実験

実験 2 に於て使用した 1% ブドウ糖の代りに 1% 果糖を用いて全じ条件で各塩類について実験を行つた結果、略全様の变化を示した。塩類としては 10% NaCl , 5% NH_4SCN , 10% MgCl_2 及び 10 KH_2PO_4 の各溶

第 1 表

操 作	塩 類 被 検 物	Pyruvin 酸量 (mg%)							
		NH_4Cl		KCl		KH_2PO_4		NaCl	
		脳	筋	脳	筋	脳	筋	脳	筋
被検物+	水 (対照)	0.45	3.4	0.65	1.2	0.9	0.6	0.45	0.6
全 +	水 + 塩 類	0.75	2.7	0.25	0	0.65	1.6	0.9	0.6
全 +	水 + ブドウ糖	0.2	3.5	0.3	0.9	0.45	0.2	0.2	0.2
全 +	ブドウ糖 + 塩 類	0.9	2.1	0.65	0.25	0.75	1.6	3.55	0.4
全 +	水 + P 酸	1.4	2.1	4.9	1.4	4.45	1.75	1.4	1.75
全 +	P 酸 + 塩 類	6.1	6.5	4.9	2.3	5.25	10.1	5.4	1.1

(P 酸を夫々 0.066mg, 0.13mg, 0.091mg, 0.066mg 添加)

第 2 表

操 作	塩 類 被 検 物	Pyruvin 酸量 (mg%)							
		MgCl_2			FeCl_3		HgCl_2		CuCl
		脳	筋	心 筋	脳	筋	脳	筋	脳
被検物+	水 (対照)	0.7	1.0	0.65	0.55	2.25	0.5	2.55	0.55
全 +	水 + 塩 類	0.2	0.3	0.25	1.8	1.15	0.9	2.75	1.6
全 +	水 + ブドウ糖	0.5	0.9	0.6	0.3	3.5	0.5	3.5	0.3
全 +	ブドウ糖 + 塩 類	0.25	0.65	0.95	1.65	0.6	1.0	2.4	0.9
全 +	水 + P 酸	6.4	4.65	3.8	6.5	3.95	28.8	3.95	6.5
全 +	P 酸 + 塩 類	3.95	6.1	2.45	7.9	4.7	42.5	10.5	17.5

(P 酸を夫々 0.13mg, 0.23mg, HgCl_2 では脳は 0.51mg, 筋は 0.12mg, 0.23mg 添加)

液を 1cc 用いた。

実験 4

実験 2 及び 3 の牛脳及び筋肉粥を一昼夜透析したものでブドウ糖、果糖及び一定量の P 酸を加え、各種塩類の効果を検したが、その結果透析しない材料についての成績と同様の結果を得た。唯 CaCl_2 の場合のみ脳組織粥を透析したときと、しない時とで、反対の結果を得た。

実験 5

前実験に於て各種塩類が脳中 P 酸量に及ぼす影響を知り、更にその作用する機序を略々察し得た。本実験に於ては P 酸と密接な関係を有する二・三の物質に対する各種塩類の影響を検した。

(A) 脳乳酸含有量に対する影響

乳酸の定量には Barkerd Summerson 法により p-hydroxyphenyl にて発色せしめ Beckmann 比色計により比色定量した。即ち脳組織粥 2g を 2 本の試験管にとり、一方には水 1cc、他方には塩類溶液 1cc を加え、 37°C 1 時間 incubate した後各々に三塩素酢酸 9cc を加へ、室温に 5 分間放置した後、上清 2cc を別の試験管にとつて実験に供した。脳は何れも死後 1 時間のものを冷凍して使用した。

P 酸を増加させる塩類中 KSCN 以外を例外とし、他はすべて乳酸量も増加する。P 酸を減少せしめる塩類 KH_2PO_4 を除き MgCl_2 、 KCl は脳乳酸量も減少せしめることを知った。(第 3 表)

(B) 脳遊離ブドウ糖に及ぼす影響

牛脳 0.2g を 10cc の Messflask に秤量し、水を加

第 3 表 各塩類溶液を加えた時の脳乳酸量

塩 類	乳 酸 量 mg%	対照乳酸量 mg%
NH_4Cl (10%)	236.3	229.8
	242.8	223.8
NaCl (10%)	236.3	223.8
	174.0	173.6
CaCl_2 (10%)	223.8	211.7
	220.8	206.1
NH_4SCN (5%)	239.3	211.7
	225.6	206.1
KSCN (10%)	119.1	173.6
	192.5	206.1
KCl (5%)	208.9	229.8
	161.1	173.6
MgCl_2 (10%)	220.8	223.8
	158.8	173.6

えて 10cc とする。その 1cc を 2 本の試験管にとり、一方には水 1cc、他方には 10 の各種塩類溶液を 1cc 加えて 2cc となし、 37°C 、1 時間 incubate した後、その 0.1cc をとつて遊離のブドウ糖を Hagedorn-Jensen 法によつて測定した。脳は死後 1 時間のものを使用した。 NH_4Cl 、 NaCl 、 CaCl_2 、KSCN の如き P 酸量を増加せしめた各種塩類のうち NH_4Cl と KSCN とは遊離ブドウ糖を増加せしめ、他の塩類は減少せしめた。(第 4 表)

第 4 表 脳遊離ブドウ糖に及ぼす各種塩類の影響

塩 類	塩類を加えた時の遊離ブドウ糖	対 照
NH_4Cl (10%)	53.5 ^{mg%}	42.5 ^{mg%}
NaCl (10%)	25.5	38.0
CaCl_2 (10%)	17.5	35.5
KSCN (10%)	165.5	42.5
CuCl (0.2%)	33.0	42.5
HgCl_2 (0.2%)	26.5	38.0
FeCl_3 (0.2%)	34.5	38.0
KCl (5%)	25.5	38.0
MgCl_2 (10%)	16.5	38.0
KH_2PO_4 (10%)	24.5	35.5

(C) 脳糖原量に及ぼす影響

牛脳組織粥 1g を 2 本の遠心管にとり、一方には水 1cc、他方には各種塩類 1cc を加え、空気を通じ乍ら、1 時間保温した後、30% 温 KOH を 2cc 加えて煮沸水中にて加熱し、組織を溶解せしめる。透明となるに及んで 96% alcohol を加えて glycogen を沈澱せしめ、遠心分離する。この glycogen を酸を加えて加水分解を行つた後 Hagedorn-Jensen 法により glucose を定量し、之に 0.927 を乗じて糖原量を求めた。

脳 P 酸量を増加せしめる NH_4Cl 、 NaCl は glycogen 量を減少せしめ、P 酸量を減少せしめる塩類のうち KCl は glycogen 量を増加せしめ、 MgCl_2 は glycogen 量も減少せしめる。(第 5 表)

実験 6

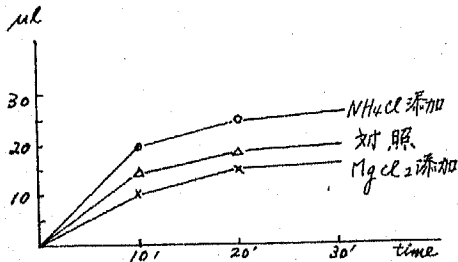
脳組織粥の酸素消費量に及ぼす影響

牛脳組織 2g を 20cc Messflask に秤量採取し、Ringer 液を加えて 20cc となし、その 1cc を Warburg 検圧装置主室にとる。副室は 20% KOH 0.2cc、側室には各種塩類 0.25cc を加える。主室には更に Ringer 液 0.5cc を加え、緩衝液として、磷酸緩衝液 (pH 7.28) を使用した。反応温度 37°C 。

その結果脳 P 酸量を増加せしめる塩類中、 NaCl 、

第5表 糖原量に及ぼす各種塩類の影響

添加塩類	糖 原 量 mg%	対 照 mg%	死 後 経 過 (時)
NH ₄ Cl	176.1	203.9	1.0
	120.5	129.8	1.0
NaCl	111.2	148.3	1.5
	64.9	101.9	1.5
KCl	194.7	148.3	1.5
	74.2	46.4	1.5
MgCl ₂	138.1	203.9	1.5
	55.6	127.8	1.5

Fig 9. 脳組織中の酸素消費量に及ぼす NH₄Cl 及び MgCl₂ の影響

第6表 脳組織中の酸素消費量に及ぼす各種塩類の影響

時間(分) \ 塩類	10	20	30
MgCl ₂	15.4 (26.4)	28.6 (47.8)	
NaCl		31.5 (27.7)	112.1 (49.1)
KH ₂ PO ₄	39.0 (11.3)	61.7 (22.6)	75.6 (61.7)
NH ₄ SCN	13.8 (15.4)	22.6 (16.5)	23.9 (17.6)
HgCl ₂	17.6 (27.7)	25.2 (42.8)	27.9 (86.9)
FeCl ₃	6.3 (21.4)	13.8 (36.5)	17.6 (50.4)
CuCl		42.8 (27.7)	44.1 (28.9)

NH₄SCN, KSCN, CaCl₂, NH₄Cl は O₂ 消費量を増加し, 脳P酸を減少せしめる KCl, KH₂PO₄ は O₂ 消費量を増加し MgCl₂ は著明に減少せしめる。

脳にブドウ糖と各種塩類を添加した時の酸素消費量

脳にブドウ糖を添加したものは脳だけの O₂ 消費量より著しく増加する。又脳に NH₄Cl とブドウ糖を加えたものは, 脳とブドウ糖を加えたものより O₂ 消費量が増強し, MgCl₂, NaCl, NH₄SCN の各塩類は低下せしめる。

この事実は脳P酸に対するこれ等塩類の影響がブドウ糖の添加によつて増強或は抑制されることとよく一致する。

脳にP酸を加えた時の塩類の影響

脳の O₂ 消費量は低下し, 更に NH₄SCN を加える時は O₂ 消費量増強する。

脳に乳酸を加えた時の塩類の影響

脳に乳酸を加えると脳の場合より O₂ 消費量は増強し, MgCl₂, NH₄Cl, NH₄SCN 何れも之れを低下せしめる。

結 論

脳髄に於ける糖質代謝研究の第一報として, P酸量に及ぼす各種塩類の影響について実験し, 次の結果を得た。

1) 正常脳のP酸含有量は死后時間経過と共に増加する。これは死後4時間位は急速に増加し, 6時間後には最高に達し, 以後は著しい変動は認めない。

2) 脳組織P酸に対する各種塩類の影響を検討するに, NaCl, NH₄Cl, NH₄SCN, KSCN は著しく増量せしめる。(NH₄)₂HPO₄ も稍々増加の傾向がある。

KCl, MgCl₂, CaCl₂, KH₂PO₄ は反対に之を減少せしめる。但し CaCl₂ は高濃度に於ては増加せしめる。

3) 脳髄に NaCl 或は NH₄Cl と共に KH₂PO₄ を作用せしめると, 後者の添加量に従つて NaCl の増加量を抑制する作用が著明に現はれる。

4) 上記の脳P酸を増加せしめる塩類は, 脳組織に於て何れもブドウ糖がP酸に変化する機序を促進せしめ, P酸が他の物質に変化する機序を抑制する。MgCl₂ の如く脳P酸を減少せしめるものは, ブドウ糖からP酸への生成を抑制し, 生成されたP酸から他物質への変化を促進していることを認めた。

5) HgCl₂, FeCl₃, CuCl 等の重金属塩類の影響を見ると, 何れも脳P酸量を増加させるが, HgCl₂ は主としてP酸の他物質への変化を抑制し, FeCl₃ はブドウ糖からP酸の生成を, CuCl は上記両方の機序を夫々促進及び抑制することに基づく。

6) 尿素は脳P酸含有量には著明な影響は認めない。

7) 之等の実験に於てブドウ糖の代りに果糖を用いて行つたが, 略々全一の結果を得た。

8) 脳組織の乳酸, ブドウ糖及び glycogen に対する上記化合物の影響は, P酸を増加せしめる塩類は一般に KSCN を例外として他は乳酸量を稍々増加せしめる傾向がある。

P酸を減少せしめる $MgCl_2$ は乳酸量を増加することが認められた。遊離ブドウ糖に対し NH_4Cl , $KCNS$ の他は之を増加せしめ, glycogen 量は KCl が増加せしめる他, $MgCl_2$, NH_4Cl , $NaCl$ は何れも之を減少せしめた。

之等の結果は必ずしも夫等のP酸に対する影響とは傾向を一にしなかつた。

9) 脳組織酸素消費量にP酸増加作用のある塩類中 $NaCl$, NH_4Cl , $KCNS$, $CaCl_2$, NH_4SCN は脳の O_2 消費量を減少せしめ, 反対の作用を有する $MgCl_2$ は O_2 消費量を減少せしめる。

10) 脳組織にブドウ糖を加えると O_2 消費量は増加するが, ブドウ糖と共に NH_4Cl , NH_4SCN , $CaCl_2$ 等を加えると, その増加率は著しくなり, 脳にP酸を加えると O_2 消費量は低下するがP酸と共に NH_4SCN を加えると増加する。

この稿を終るに臨み, 御指導を賜った藤村教授に深甚な謝意を表します。

参考文献

- ①Wendel, W. B.; Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 27, 624 (1929-30) ②Wendel, W. B. & Schaffer, P. A.: J. Biol. Chem., 87, PXX (1930)
 ③Hastings: J. of Biol. Chem. Vol. 194, No. 1, P 69 (1952) ④Baldwin, B. A.: Dynamic Aspect of Biochemistry P 428 (1952) ⑤Barker, S. B. & Summerson, W. H.: Colorimetric Determination of Lactic Acid in Biological Material J. Biol. Chem. 138, 535 (1941) ⑥Cori, G. T. & Cori, C. F: J. Biol. Chem. 135, 733 (1940)
 ⑦中 修三: 福岡医誌, 24, 1054 (1931) ⑧Kerr, S. E. & Ghantus, M.: J. Biol. Chem. 143, 227 (1942) ⑨James B. Sumner & G. Ferd Somers: Chemistry and Method of Enzymes 342 (1953) ⑩清水泰二: 生化学, Vol. 22, No. 3, (1950) ⑪Friedmann & Graeser: J. Biol. Chem. 100, 291 (1933) ⑫Cori: J. Biol. Chem. 63, 261 (1925)