

なる。

3) 筋の一部分を凍結し他部を非凍結とせ

ばその間に電位差を生ず。之は凍結の温度が低い程大となる。

文 献

- 1) Pauli u. Matula : Pflüg. Archiv. Bd. 163, (1916).
- 2) Biedermann : Elektrophysiologie. (1895), Jena.
- 3) 杉 : 日本医事新報, 938 卷, (昭 15).
- 4) Maximow · Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. 53, (1912).
- 5) Bernstein : Lehrbuch d. Physiologie (1910).

- Pflüg. Archiv. Bd. 92, (1902).
- 6) Jordan-Lloyds : zit. nach E. C. Smith (Proc. of the Royal Soc. Lond. Vol. 105).
- 7) Chandler (1913) : zit. nach M. Payne (Quart. Rev. of Biol. Vol. 1, 1926).
- 8) L. Hermann : Handbuch d. Physiologie (1879).

低 温 に 関 す る 研 究 (第 4 報)

凍 結 の 筋 乳 酸 含 量 に 及 ぼ す 影 響 に 就 て

岡山医科大学生理学教室 (指導 故 生沼教授)

医学士 竹 下 明 夫

[昭和 27 年 4 月 15 日受稿]

第 1 章 緒 言

一般に生活現象は生活体の温度が零度以下となり凍結状態にては殆んど停止の状態に近づく事は誰しも想像する事である。かかる場合筋肉の新陳代謝の方面から言へば最遅の化学的過程随つて最小の生活現象が行はれている。此の過程が正常のものなりや、或は又凍結及融解の如き重大なる変化によつて筋肉内の化学的過程が変化を受けるかは筋の凍結問題に於て重要な事柄である。

凍結によつて起る化学的变化に就いては、既に Kühne (1869) は凍結を受けた筋から融解後 Protein に富む液が出ると先づ報じ、次で Hermann が、近年又 T. Moran がかかる液は強い酸性を帯び之は乳酸産生の結果によるものであらうと指摘した。

又 Fletscher, Bottazzi は凍結を受けた筋に乳酸が増加する事を報じた。この量的関係については、先人の業績乏しく僅かに E. C. Smith の研究あり、Smith は蛙筋を 24 時間空気に -1.0°C より -10.0°C までの種々の

温度に凍結し融解後其乳酸含量の測定を為したる結果、 -2.5°C 附近が最大の蓄積をなして 0.7% に達したりと言ふ。而してこの温度より上又は下の場合はその蓄積量急激に低下すと、0.7% は筋肉の乳酸量としては疲労極量よりも更に大であるが、其後この成績を検討したる者を認めない。

著者は Ringer 液中にて筋を凍結して其の際如何なる成績が出づるや、且比較的短時間凍結の場合は如何なる価を出すやを実験をなし Smith の成績との比較を試みた。

第 2 章 実験材料、実験方法

実験材料 実験期間は 11 月下旬より、翌年 1 月初旬にわたる間であつて〔とのさまがへる〕(*Rana nigromaculata*) の冬眠中のものを土中より掘り出して其の腓腸筋を用ひた。

実験方法

第 1 項 筋剔出法

土中より掘り出した蛙は 1 日室内に置く。筋剔出時には可及的に反射運動を避けしめ之による乳酸量増加を防いだ。蛙の大きさは大

凡中等大のを用いた為一個の腓腸筋重量は 0.25g-0.5g である。

而して一匹の蛙にては筋肉量少く実験誤差大となる懼ある為一回の測定に 2-3 匹を同時に使用した。剔出した筋は左右の別によつて 2 組に分つ。其一方を Ringer 液に貯へて対照とし他方を凍結実験に供した。

第2項 乳酸定量法

筋の乳酸定量法を行ふ前に除蛋白と除糖法を行はねばならぬ。本実験に於ては除蛋白と乳酸抽出法を兼ねて三塩素醋酸法を、又糖除去には VanSlyke の銅石灰法を用ひた。

乳酸定量法には幾多の方法があるが田中、遠藤氏の方法は Friedmann 法の欠点を除去したもので簡便且確實であるから之を採用し

た。之等の方法に関しては文献(田中、遠藤、原島、Fredmann)及び成書(須藤、小金井)に記載してある故に之を省略することとする。

第3章 実験成績

1) 蛙筋の乳酸静止価

本項の実験は予備実験である。先づ本実験に於て正常の蛙筋は幾何の乳酸静止価があるか、左右側に於ての乳酸静止価の相違、又個体に就きての差異の点に就きて検した。

文献に徴すれば左右の比較の場合は大體誤差の範圍と見做して差し支え無い程度である。併し個体につきてはかなりの動搖を示している。

第1表 蛙筋の乳酸静止価

実験番号	右側筋			左侧筋			左右比較量 %
	筋重量	乳 酸 量		筋重量	乳 酸 量		
	g	mg	%	g	mg	%	
I	0.96	0.172	0.0180	0.96	0.163	0.0172	-0.0008
II	0.75	0.127	0.0171	0.74	0.137	0.0186	+0.0015
III	1.61	0.209	0.0130	1.58	0.249	0.0158	+0.0028
IV	0.73	0.156	0.0214	0.72	0.140	0.0195	-0.0019
V	1.02	0.193	0.0190	1.08	0.197	0.0183	-0.0007
VI	0.85	0.187	0.0220	0.85	0.196	0.0231	+0.0011
平均			0.0184			0.0188	

蛙筋の乳酸静止価に就きては既に諸家の成績がある。主なるものを列記すれば

Fletscher u. Hopkins	0.025 % - 0.035 %
Meyerhof	0.015 % - 0.020 %
平均	0.014 %
Embden	0.01 %
叶山	0.0197 %

著者の成績は左右平均 0.0186 % で Meyerhof, 叶山と大差無き価である。又左右比較の場合その差は大なる場合でも 0.0028 % に止り普通 0.001 % にある故に大體に於て誤差の範圍内にあると見てよい。しかるに個体の差はやゝ動搖を示している。その差額は最小 0.0130 % で、最大は 0.0220 % を示す。併し

2 倍を超過する事は無い。上述の Meyerhof, Embden, 叶山もこの程度の動搖を示している。この点より後の実験に於ては対照をとり比較することとした。

2) 凍結実験 精確に重量を計測した筋肉を Ringer 液中で一定温度に一定時間凍結した。凍結の操作は前編に述べた為略す事とする。凍結中の温度を -2°C , -4°C , -6°C , -9°C 及び雪状炭酸による温度として之の温度に置いた時間を 20 分, 90 分, 10 時間, 20 時間とした。長時間一定の低温に保つのは難事であるが本実験を寒中に行つた為注意を加へる事によつて可能であつた。

尙対照として反対側筋を Ringer 液に浸し

置き凍結筋の操作中室温 (7°C~13°C) に放置して後同時に乳酸含量を測定した。

1) 20分凍結の場合

之の結果は第2, 第3, 第4表に示している。之等総ての場合を通じて見られる事は融解後における明かなる乳酸量の増加である。而して個々の場合に就いては凍結温度 -9°C の時が最も少く平均 0.0268 % であり, -6°C 及び雪状炭酸による凍結後がそれぞれ平均 0.0324 %, 0.0326 % となり大なる価を示している。増加量から見ても -9°C にて最少で 0.0069 % となり, -6°C 及び雪状炭酸の場合はそれぞれ 0.0114 %, 0.0117 % で最大となる。

第2表 凍結と乳酸量

凍結温度	凍結時間	筋 乳 酸 量 (%)			実験例
		凍結筋	対照筋	増加量	
-2.0°C	20分	0.283	0.195	0.088	5
-4.0°C	20分	0.319	0.213	0.105	4
-6.0°C	20分	0.324	0.209	0.114	4
-9.0°C	20分	0.268	0.199	0.069	4
雪状CO ₂ による	20分	0.326	0.208	0.117	5
-2.0°C	90分	0.332	0.216	0.119	5
-4.0°C	90分	0.413	0.200	0.213	4
-6.0°C	90分	0.508	0.225	0.281	7
-9.0°C	90分	0.397	0.215	0.181	5
-2.0°C	10時間	0.826	0.228	0.590	6
-6.0°C	10時間	0.528	0.237	0.291	6
-2.0°C	20時間	1.082	-	-	5

2) 90分凍結の場合

之の結果は第5表第6表に示している。即ち之の場合は凍結時間20分の筋に比して可成りの増加を示して居る。-6°C の場合は最大にて平均 0.0508 % を示している。

次は -4°C, -9°C 雪状炭酸による場合で、平均値 0.032 %—0.0413 % である。之を亦増加の割合より見るも -6°C の場合は最大にて 0.0281 % を示す。-2°C にては 0.0119 % にて最小である。

対照筋にも室温に放置したる場合は僅少の乳酸量増加を示している。

3) 10時間凍結の場合

前編に述べた如く -2°C に凍結後の筋は常温に戻して興奮性を有している、前実験では又 -6°C の凍結で最大の乳酸量増加があつた。故に之の2つの場合を選び比較的長時間に亘る凍結による乳酸量の変化を検した。10時間凍結に際して凍結温度が -2°C の場合筋の融解后感応電流を以て興奮性を検した結果尙反応を示す。且筋体は柔軟である。その乳酸含量は第7表に示す如く著明なる増加を示して 0.0984 % に達する場合がある。平均すれば 0.0826 % である。之に反して凍結温度 -6°C の場合は凍結時間が 90 分の時に比して殆んど増加を示していない。

4) 10時間凍結して融解後之を10時間室温 (8°—10°C) に放置したる場合

前実験により増加せる乳酸量が室温に放置したる場合は如何に消長するやを験した。この際 Ringer 氏液を5時間毎に新鮮なものと換へた。各5実験例の成績によれば -2°C 凍結後の筋の乳酸含量は著明な減少を示して平均 0.0262 % となる。この価は非凍結筋と大差無き量である。-6°C のは之に反して漸増して平均 0.0666 % に増加する。

5) -2°C 20時間凍結

融解後筋は尙軽度の興奮性を有す。乳酸量は10時間凍結に比し軽度の増加あるも大体に於て飽和点に達している (第2表最下段)

第4章 考 按

凍結に依る乳酸量増加の機転に付いては先づ考へらるゝのは筋肉周囲の凍結の為に筋が酸素缺乏状態に置かれる為に乳酸蓄積作用が起る事である。之も可能なる一原因であるが之のみでは説明が不可能である。故に他に挙げられる原因として

1) は筋肉内イオンの状態変化

2) は凍結融解による筋肉の機械的破壊作用による乳酸量増加である。

筋凍結の場合其の水分の凍結に就ては Jordan-Lloyds の成績があつて、温度が零度に近い程組織未凍結の量は大であることを報ず。併しこの部分は前編に述べた如く他部の凍結

により水分の脱失が行はれている。之の為に組織液は濃厚となり〔イオン〕は非常に過剰な状態となつている。筋肉内の〔イオン〕量と乳酸生成量との関係につき原島は筋肉中の乳酸生成作用は〔イオン〕の影響を受け〔イオン〕過剰ならば乳酸量増加し過少ならば減少すると結論す。正常筋にては〔イオン〕の平衡が保たれるが凍結中は之が破れて乳酸生成量増大す。しかのみならず温度低下し且酸素供給不能の為生成された乳酸の酸化並に〔グリコゲン〕への還元は行はれず凍結時間の経過と共に漸次増加する。第2は凍結と融解の為の〔リポイド〕の変化から来る増加で之は破壊の程度に並行する。

本実験に於て何故に -2°C にて乳酸量が時間と共に増加するかはこの温度にては筋は凍結状にあるも微細な部分にては凍結を免がれている部分が多い。この部分は水分脱失の影響を受けている為に〔イオン〕が過剰の状態にありその為漸次に乳酸を蓄積する。又温度之より低下したる場合は殆んど大部分が凍結して末凍結部は少い。故にイオン状態より来る乳酸量増加は少く凍結状態を永く続けたも増加を来さない。之に反して破壊作用による増量はある。実験成績の90分凍結 -6°C の場合最大であつたのは第1, 第2の原因による増量の和が最大であつたと言ひ得る。 -2°C 及 -6°C 10時間凍結後室温に放置した際の乳酸量消長に関しては -2°C の場合は筋は尙生存している為酸化過程が行はる為

乳酸は急激に減少する。即ち疲労回復と同様な現象である。 -6°C 凍結の場合は筋は死滅せる為漸増する。

Smith は空気中にて凍結に際し -2.5°C 附近は極大に達して0.7%に達すといふがこの値は、疲労強直時の極大にも等しき値で低温にて果してしかるか尙今後の検討を要する次第である。Smith のと著者の成績とに大差があるが之の原因の一つは冷却凍結の方法を異にした為と考へらる。Smith は空気中に置き冷却した為冷却作用が緩慢であつた。その為未凍結部による乳酸量増加大であるのに比し本実験にては Ringer 液中にて冷却した為比較的急激に凍結が起つた故之の作用が小であつたと考へらる。

第5章 結 論

蛙の剔出筋肉を一定温度に一定時間凍結した後乳酸含量を測定し次の結論に達した。

- 1) 一般に筋の乳酸含量は凍結により増加する。
- 2) 筋を凍結状態に置く時間を永くすればする程乳酸量は大となる。
- 3) 20分乃至90分の如き短時間凍結の場合は凍結温度を -2°C , -4°C , -6°C , -9°C としたうちでは -6° の場合乳酸量が最大となる。
- 4) 比較的長時間(10~20時間)凍結の時は -2°C にある筋が乳酸量漸増する。 -6°C の場合漸増しない。

文 献

- 1) A. Pütter : Vergleichende Physiologie (Jena) (1911).
- 2) Fletscher Hopkins : Journ. of Physiolog. Vol. 35, (1907).
- 3) Mayerhof : Pflüg. Archiv. Bd. 182, (1920) Bd. 188, (1921).
- 4) Embden : Biochem. Z. Bd. 127, (1922).
- 5) Hill : Muscular Activity (1926).
- 6) E. Smith : Proceed. of the Roy. Soc. Lond. Vol. 105.
- 7) 田中, 遠藤 : 十全会雑誌, 32 卷, (昭2).
- 8) 叶山 : 慈恵会医科大学生理学論文集, 1 卷, (1932).
- 9) Jordan-Lloyds : zit. nach E. C. Smith (Proc. of the Roy. Soc. Lond. Vol. 105).
- 10) 原島 : 慶応医学, 9 卷, (昭4).
- 11) T. Moran : Proceed. of the Roy. Soc. Lond. Vol. 105, (1930).
- 12) 須藤 : 医化学的微量測定法, (昭16).
- 13) L. Hermann : zit. nach Belehadedek (1871).
- 14) Belehadedek : Temperature and living matter (1935).
- 15) 小金井 : 生化学的微量測定法, (1929).
- 16) Bottazzi : Biochem. Zeitsch. Bd. 20, (1909).
- 17) Kühne : zit. nach Belehadedek (1869).
- 18) Friedmann-Cotonio-Shaffer : Journ. of biol. chem. Bd. 73 (1927).