27.

616-018.29

家兎摘出肝臓灌流實驗
(第2報) 色素灌流

岡山醫科大學稻田內科教室
脇本正規

[昭和8年6月19日受稿]

Aus der Medizinischen Klinik an der Okayama Med Fakultät
(Direktor: Prof. Dr. S. Inada).

Experimente über Farbstoffdurchströmung bei exstirpierter Kaninchenleber.

Von

Masanori Wakimoto.

Eingegangen am 19. Juni 1933.

Verfasser stellte Experimente über Farbstoffdurchströmung bei isoliertüberlebenden Kaninchenlebern an u. erzielte folgende Resultate;

1) Von der Leber wird basischer Farbstoff viel leichter aufgenommen als sauer Farbstoff.

2) Es scheint nur ein unbedeutendes Verhältnis zwischen dem Diffusionswert des Farbstoffes und der Saugkraft zu bestehen.

3) Wenn man die Farbstoff aufnahme mit der Löslichkeit von Lipoiden vergleicht so ersieht man, dass es kein bestimmtes Verhältnis zwischen den beiden gibt.

4) Es lässt sich vermuten, dass die Färbung bei der Leber positiv und negativ erfolgen kann.

5) Betreffs des Farbentones: Violett wird am besten und leichtesten angenommen, nach diesem folgt Blau, Braun und Rot. *(Kurze Inhaltsangabe).*

緒言

醫學上ニ於ケル色素ノ應用ハ甚ダ廣範圍ニ及ビ殊ニ組織染色上ニ於ケル其ノ應用ノ至大ナルハ今更喋々ヲ要セザルトコロナリ．輓近 Aschoff 及ビ清野博士等ニヨリテ行ハレタル生體色素攝取ノ研究ハ細胞ノ形態並ニ機能狀態ノ檢索ニ關シ新紀元ヲ劃シタルノ感アリ．超生體染色モ亦其ノ起源タルヤ既ニ歳アリ，其ノ間諸學者ニヨリ各方面ニ亙リ詳細ナル研究行ハレ，殆ド餘ス所ナキガ如キ感アルモ其ノ多クハ組織的考察ニシテ染色機轉自己ノ本態或ハ理論ニ就テ探索セルモノハ比較的少シ翻テ考フルニ染色機轉タルヤ甚ダ難解ニシテ現今ニ於テモ尙ホ一般的承認ヲ得タル定說ナク，或ハ物理的作用說與リ，或ハ化學的作用說唱ヘラレ，又輓近膠質化學ノ進步ニ伴ヒ膠質化學說等提唱サルニ至リタルモ未ダ以テ決定的解決ヲ與ヘタルモノナシ．

今之等方面ニ於ケル研究業績ノ主ナルモノヲ述ベンニ，Overton 氏ハ「リポイド」說ヲ，Höber, Möllendorf, Schulemann 氏ハ限外濾過膜說及ビ色素擴散能說ヲ稱ヘ， Bethe, Rohde 氏等ハ又水素「イオン」濃度ヲ擧グ．然レドモ之等ハ總テ單ニ超生體染色ニ於ケル部分的現象ヲ說明スルニ止リ，其ノ全般ニ亙レル通則タルヲ得ザルナリ．又以上諸學者ノ研究方法ヲ通覽スルニ死後染色固定標本ニ就テ研究セシモノニシテ多クハ組織學的考察ノ外ニ出ズ．故ニ余ハ比較的生體ニ近キ狀態ニ於テ之等方面ノ研究ヲ企テ臟器灌流實驗ヲ試ミタリ．但シコノ研究ハ生體ニ於テ之ヲ行フコト至難ナルヲ以テ勢ヒ摘出臟器ニ就テ實驗セザルヲ得ズ．故ニ余ハ家兎ニ就キテ摘出肝臟灌流ヲ行ヒ肝細胞ノ色素攝取狀態ヲ檢索セリ．

實驗方法

普通超生體色素攝取試驗ニハ2樣ノ法式アリ．卽チ其ノ1ハ或ル色素ヲ單ニ Ringer 氏液ヲ以テ適當ノ割合ニ稀釋シタルモノニ摘出臟器ノ一片ヲ投ジ，一定時間後ニ於テ之ヲ取リ出シ，以テ組織學的ニ鏡檢ヲナス方法ニシテ，第2法ハ適宜ニ稀釋セル色素液ヲ以テ摘出臟器ノ灌流試驗ヲ行フニアリ．併シコノ灌流法ニヨルモノト雖モ幾何程度迄信賴シ得ベキカハ尙ホ不明ナリトス．何トナレバ長時間ニ亙リテ灌流ヲ行フ場合ニ於テハ死後ノ色素攝取量ヲモ同時ニ顧慮セザルベカラザルガ故ナリ．從ツテ正確ニ云ヘバ眞ノ超生體色素攝取ニハアラザル可シ．然レドモ現今ニ於テハ他ニ選ブ可キ適法ナク，從ツテ前記摘出臟器灌流方法ヲ以テ滿足セザル可カラズ．

茲ニ於テ余ハ家兎ノ摘出肝臟ニ就テ各種色素液ヲ用ヒテ灌流試驗ヲ行ヒタリ．其ノ實驗裝置並ニ灌流方法ニ就テハ既ニ拙著家兎摘出肝臟藥物灌流（岡山醫學會雜誌，昭和7年2月）ニ於テ詳述セルヲ以テココニハ之ヲ省略ス．尙ホ色素濃度比較ノ測定ニハ Duboscq 氏比色計ヲ用ヒ灌流前ノ色素液ノ濃度ト流出液ノ夫レトヲ比較對照シ以テ肝臟組織ニ於ケル色素攝取比率ヲ求メタリ．

實驗成績

表ニ示スガ如ク，灌流ニ使用セシ色素ハ酸性色素ニ屬セシム可キモノトシテ Carmin, Tripanblau, Congorot, Orange, Eosin 及ビ Anilinblau ヲ，又鹽基性色素トシテハ Neutralrot, Methylenblau, Bismarkbrawn, Crystalviolett, Gentianaviolett, Methylviolett, Safranin, Azur I 等ヲ選ビタリ．而シテ以上使用セシ色素ハ全部肝臓細胞ニ於テ攝取セラル可キモ，其ノ量的關係ニ於テハ各色素ニヨリテ大ニ其ノ趣ヲ異ニス．即チ上記色素中 Crystalviolett, Gentianaviolett, 又ハ Methylviolett ヲ用ヒテ行ヒタル灌流試驗ニ於テハ共ニ流出液ノ色調ハ殆ド原液ノ色調ナク只僅カニ其ノ痕跡ヲ認メ得ルニ過ギズシテ夫等色素ノ大部分ハ速カニ該臓器中ニ沈着セラルルコトヲ想定セシム．然ルニ Carmin, Tripanblau, Congorot, Orange, Eosin, Anilinblau, Methylenblau, Bismarkbrawn, Safranin 及ビ Azur I ヲ以テセル場合ニ於テハ總ベテ流出液ノ着色ハ顯著ニシテ而モ灌流時間ノ經過ト共ニ漸次其ノ度ヲ增大スルガ如シ．コレ色素ガ肝臓中ヘ送入セラルルヤ最初ノ間ニ於テ比較的良ク肝細胞ニヨリテ攝取セラルルト雖モ時間ヲ經過スルト共ニ肝臓ノ色素攝取能力ハ漸次減退スルニ基因スルタメナラン．更ニ Neutralrot ヲ以テ灌流ヲ行ヒシニ其ノ流出液ノ色調ハ漸次原液ノ夫レニ遠ザカリ黄綠色トナリ且螢光ヲ放ツニ至ルコトヲ認メ得タリ．

次ニ灌流液中ニ於ケル之等色素ノ多量ガ色素顆粒トシテ肝細胞ニヨリ充分貪食セラルルニ至ラバ夫等細胞ノ機能ハ著シク減退シ，最早同種色素ト雖モ夫レヲ顆粒トシテ攝取シ得ラレザルニ至ル可キハ想像スルニ難カラズ．之ニ鑑ミ余ハ一度色素灌流ニ使用セシ肝臓ハ再ビ之ヲ同一實驗ニ使用スルヲ避ケタレドモ別種色素液ヲ以テスル反覆注入ガ肝臓ノ色素攝取能力ニ及ボス影響ノ如何ヲ檢索センガタメ同一肝臓ヲ用ヒ豫メ Bismarkbrawn ヲ以テ充分灌流セシメタル後更ニ Crystalviolett ヲ以テ或ハ Gentianaviolett 灌流後 Azur ヲ以テ灌流シ各流出液ニ於テ夫々色素ノ運命ヲ觀察シタルニ Crystalviolett 及ビ Methylviolett ハ共ニ其ノ流出液ニ於テ殆ド原色調ヲ認メ難キ程著シク其ノ脫色ヲ被レドモ Azur ニアリテハ夫等ニ比シテ其ノ脫色極メテ微々タルコトヲ知ルヲ得タリ．

更ニ余ハ上記諸檢索ト同時ニ色素灌流時ニ於ケル肝臓色彩ノ變化ヲ觀察シタルニ多クノ場合ニ於テ色素液注入後既ニ數分ニシテ肉眼ヲ以テ分別シ得ベキ程度ノ色素斑點ヲ肝臓ニ於テ目擊シ得タリ．殊ニ肝細胞ニヨツテ攝取セラレ易キ Crystalviolett, Gentianaviolett 或ハ Methylviolett ヲ使用セシ際ニハ暫時ニシテ肝臓自體ハ暗紫色ニ變化スルコトヲ認ム．而シテ色素灌流後 Ringer 氏液ヲ以テ肝臓ノ洗滌ヲ試ルムニ Crystalviolett, Gentianaviolett 及ビ Methylviolett ヲ使用セシ場合ニ於テハ其ノ流出液ハ殆ド無色ニ止ルヲ恒トスレドモ其ノ他ノ色素ヲ使用セシ場合ニ於テハ其ノ灌流流出液ハ夫々原色素ニヨリテ着色ス．而シテ Ringer 氏液ノ洗流ノ續行ニツ

レテ漸次減退スルナリ．卽チ肝細胞ニヨリ攝取セラレ易キ色素ハ吸着力ニ富ムノミナラズ一旦細胞內ニ沈着シタル場合ニ於テハ又容易ニ之ヲ排泄シ難キモノナル可シ．

第 1 表

酸性色素 (S)

色素名	反應	擴散度	生體染色	脂溶性			色素所屬名
				「オレーフ」油	「レチチン」	「ヒヨレステリン」	
LithionCarmin (G)	S	4.5	+	−	−	−	Triphenyl-methane
Congorot (By)	S	3.7	+	−	+	+	Disazo
Orange (B)	S	7.0	−				Monoazo
Trypanblau	S	2.5	+	−	−	−	Disazo
Eosine A. G. (G)	S	7.0	−	−	−	−	Xanthese
Anilineblau (G)	S	4.5	(+3)	−	−	−	Triphenyl-methene

鹽基性色素 (B)

色素名	反應	擴散度	生體染色	脂溶性			色素所屬名
Neutralrot (G)	B	3.5	恒溫動物(−) 變溫動物(+)	−	−	−	Azin
Methylenblau B (G)	B	2.5	−	±	+	+	Thiazine
Bismarkbrown (G)	B	7.0	−	+2	+	−	Disazo
Gentianaviolett (G)	B	3.0		−	+	+2	Tryphenyl
Methylviolett (B)	B	0.5—3.0	−	−	+	+	Tryphenyl
Crystalviolett (BA)	B	1.5	−	−	−	+	Triphenyl-methane
Safranine Textra (BA)		3.5	−	+	+	+	Chinonin
Azur I (G)	B	2.0		(±)	+	+	Thiazine

第　2　表

鹽　基　性　色　素

流出量	Neutralront	Methylenblau	Bismark-brown	Crystal-violett	Gentiana-violett	Methylen-violett	Safranin	Azur I
200cc	白色極ク僅ニ濁ル	0.00018%	計レズ	着色セズ	計レズ	計レズ	0.0016%	0.0005%
200cc	〃	0.000317%	〃	〃	〃	〃	0.0024%	0.0005%
200cc	〃	0.0005%	0.0003%	〃	〃	〃	0.0026%	0.0006%
200cc	僅ニ黄色	0.00069%	0.0001%	〃	〃	〃	0.C028%	0.0007%
200cc	黄綠色（螢光）	0.00081%	0.00016%	〃	〃	〃	0.003%	0.00077%
200cc	〃	0.000285%	0.0002%	〃	〃	〃	0.003%	0.0009%
200cc	〃	0.00027%	0.00025%	〃	Ringer ↓	〃	0.0031%	Ringer ↓
200cc	〃	0.00026%	0.0003%	〃	〃	〃	Ringer ↓	0.001%
200cc	〃		0.00028%	Ringer ↓	〃	〃	0.0013%	0.001%
200cc	〃		Ringer ↓	〃	〃	〃	0.00045%	0.0011%
200cc	Ringer ↓		0.00012%	〃	〃	〃	0.00041%	0.001%
200cc	〃		0.00010%	〃	〃	〃	0.00041%	0.001%
200cc	〃		0.00010%	〃	〃	〃	0.00038%	0.001%
200cc	〃		0.0001%	〃	〃	〃	0.00034%	0.0007%
200cc							0.00034%	
200cc							0.00034%	
200cc							0.0003%	
200cc							0.0003%	

（%ハ流出液ノ原液ニ對スル色素含有量ノ百分率ヲ示ス
比色ハ流出量 200 cc ゴトニコレヲ行ヘリ）

第 3 表

酸性色素

流出量	Carmin	Trypanblau	Congorot	Anilinblau	Eosin	Orange
200cc	0.0037%	0.002%	0.0039%	0.00166%	0.00357%	0.0048%
200cc	0.0004%	0.0026%	0.00365%	0.00192%	0.00375%	0.0045%
200cc	0.0004%	0.0028%	0.0038%	0.00263%	0.00416%	0.0043%
200cc	0.000412%	0.003%	0.0036%	0.00263%	0.00435%	0.004%
200cc	0.000412%	0.003%	0.0042%	0.00263%	0.00435%	0.0039%
200cc	0.0043%	0.0034%	0.00434%	Ringer ↓ 0.00143%	0.00435%	
200cc	0.00415%	0.0036%	0.00446%	0.0005%	Ringer ↓	
200cc	0.0043%	0.0036%	0.00485%	0.000365%	0.00037%	
200cc	0.0043%	0.0034%	0.0048%	0.00042%	着色セズ	
200cc		Ringer ↓	0.00463%	0.000312%	〃	
200cc		0.00079%	0.0016%	0,00024%	〃	
200cc		0.00078%	0.00454%	0.00024%	〃	
200cc		計レズ	Ringer ↓	0.00022%	〃	
200cc		〃	0.0013%		〃	
200cc		〃	0.00013%			
200cc		〃	0.00001%			
200cc			0.000001%			
200cc			0.000001%			

(%ハ流出液ノ原液ニ對スル色素含有量ノ百分率ヲ示ス
比色ハ流出量 200 cc ゴトニコレヲ行ヘリ)

考　　案

以上ノ實驗成績ヨリ肝臟細胞ニ於ケル色素攝取機轉ノ要約ヲ考察スルニ一方ニ於テハ細胞體生理的機能及ビ生體細胞膜ニ於ケル理學的要約ガ影響シ，他方ニハ又色素自體ノ化學的性狀ガ作用シ以テ色素攝取能力ノ良否ガ成立ス可キモノニシテ其ノ現象タルヤ極メテ複雜ナル要約下ニアルガ故ニ上記余ノ研究成績ノミニテハ之ガ一定ノ法則ヲ見出ス事不可能ナルモ以下余ノ得タル實驗成績ヲ分解シ以テ其ノ一斑ヲ窺ハントス.

1) 色素ノ反應（荷電性）トノ關係

色素吸着ニ就キテハ古來幾多ノ學說アルモ就中異彩ヲ放テルモノハ Bethe (1916) 氏ノ Reaktionstheorie ナリトス. 凡ソ「イオン」反應ガ生活現象ニ重要ナル役目ヲ演ズ可キコトハ多數ノ研究ニヨリ證明セラレタルノミナラズ今尙ホ盛ニ研究セラレツツアル所ナリ. 超生體染色ハ一種特有ナル生活現象ナリト雖モ尙ホ生活現象ヲ有スル以上之ガ「イオン」反應及ビ色素濃度ノ如何ニ關係アルコトハ明カナルコトナリ. 蓋シ蛋白質ハ一般ニ兩性電解質ノ性狀ヲ有シ能ク酸及ビ「アルカリ」ト結合スルノミナラズ諸種ノ陽性又ハ陰性荷電ヲ有スル電解質又ハ膠質ト吸着ヲナスモノナリ.

今 Bredy 氏ニ據レバ「アルブミン」溶液ニ酸ノ痕跡ヲ加ヘ平流電氣ヲ通ズレバ其ノ濃度ハ陰極ニ大トナリ「アルカリ」ノ痕跡ヲ加フル場合ニハ反對ニ陽極ヘ多量ノ「アルブミン」ガ集ル可シ. 卽チ由之觀之蛋白質ハ兩性電解性ナルコトヲ知ル一方色素ハ又水溶液ノ狀態ニ於テハ膠質粒子トシテ存在スルノミナラズ一定ノ荷電ヲ有スルガ故ニ色素攝取ガ吸着現象ニ由ルモノナリトセバ單一ナル器械的吸着ノミニ非ズシテ電氣的吸着ニ依ルモノト考ヘザル可カラズ.

偖テ余ノ實驗成績ヲ見ルニ一般ニ鹽基性色素ハ酸性色素ニ比シ肝臟ニ於ケル吸着性强ク酸性色素中吸着度最モ高キ Anilinblau ノ如キモ，鹽基性色素ノ吸着度最モ低キ Safranin ト略ボ同程度ノ吸着度ヲ示スニ過ギズ，コノ事實ハ體液ノ「アルカリ」性ニ傾ケル事實ト相俟チテ Bethe, Rohde, Pohle ノ所謂 Reaktionshypothese der Resorption ヲ廣義ニ解シテ適用シ得可シト思惟ス. 尙ホ一般生體ニ於テ鹽基性色素ガ酸性色素ニ比シテ灌流ヨリ脫色ヲ受クルコト强キ事實ハ鹽基性色素ト細胞トノ親和力强ク體組織ニ早ク吸着固定セラルルモノナラント想像セラレタリシガ余ノ實驗ノ結果ハ實ニ此ノ推斷ニ對シ有力ナル根據ヲ與ヘタルモノト信ズ.

2) 色素擴散度トノ關係

凡ソ色素ガ能ク組織細胞ノ超生體染色ヲ招來シ得ル爲ニハ該色素ガ組織及ビ細胞膜ヲ透過シテ細胞原形質內ニ浸入スルコトヲ要ス. 從ツテ斯ル色素ハ一定度以上ノ擴散性ヲ有ス可キモノニシテ曩ニ Kürther 及ビ Ruhland ニヨリ唱ヘラレタル Ultrafiltrationstheorie ハカカル色素ノ擴散性ガ生體ノ色素吸收ニ影響アルコトヲ提唱セルモノナリ. 而シテ余ガ實驗範圍ニ於テ色素吸着ト擴散度トノ相互關係ヲ觀察スルニ擴散度ノ大小ニヨリテ其ノ吸着力ニ差異ヲ生ゼシム可キモノト推測スルコ

ト能ハズ．何トナレバ酸性色素ニ屬ス可キ擴散度大ナル Orange 及ビ Eosin ハ反ツテ其ノ吸收率少ク又同ジ擴散度ヲ有スル Lithion Carmin 及ビ Anilinblau ニ於テモ亦著シキ吸收率ノ差異ヲ認メ得ル事ニ依リテモ明白ナレバナリ．

又鹽基性色素ニ於テモ其ノ擴散度トノ間ニ一定ノ關係ヲ認メズ卽チ吸着率强キ Crystalviolett, Methylviolett, Gentianaviolett ハ低キ擴散度ヲ有シ同ジ程度ノ擴散度ヲ有スル Azur I ハ吸着率惡シキガ如シ．卽チ色素攝取ト擴散度トヲ比較對照スルニ其ノ間何等的確ナル法則ヲ見出ス事能ハズ．故ニ擴散度ノミヲ以テ色素攝取ヲ論ズ可カラザルヲ知ル．併シ超生體色素攝取ニ際シ細胞ノ死亡期ニ於テハ細胞膜ノ性狀ニ變化ヲ來シ，色素分子ヲ透過シ易カラシムルコトアル可キハ大イニ熟慮スベキコトト考フ．

3） 色素類脂肪溶解性ノ影響

Overton ガ Lipoidtheorie ヲ建設セシ以來生體染色ノ研究ニハ固ヨリ苟モ生體ニ於ケル物質ノ吸收竝ニ排泄ヲ論ズルニ當リテハ其ノ物質ノ類脂肪溶解性ノ如何ヲ知ル事ヲ必須項目トセリ．其ノ後此ノ問題ハ尙ホ Höber, Ruhland 及ビ Möllendorf 等ニヨリテ論議セラレ，其ノ贊否未ダ確定セズト雖モ生體ノ色素攝取ニ對シ多少ノ影響ヲ與フルコトハ多クノ學者ノ信ズルトコロナリ．

偖テ余ノ實驗ニ際シ使用セシ色素ニ就キテ其ノ「リポイド」可溶性ヲ見ルニ鹽基性色素ニ於ケルモノニ多ク之ヲ見ル．從ツテ可溶性ノ難易ガ鹽基性色素吸着度ノ高キ主要ナル因子ナルヤノ觀アレドモ詳細ニ其ノ觀察ヲナス時ハ鹽基性色素中 Neutralrot ハ吸收度高キニモ拘ラズ「リポイド」可溶性ナラズ又酸性色素ニ於テモ「リポイド」可溶性ナルモノガ特ニ吸着ノ良好ナル可キ事實ヲモ認メ難シ．依ツテ「リポイド」可溶性ノミヲ以テハ吸着度ノ高低ヲ批評シ能ハザル事明白ナリ．

4） 生體染色トノ關係

生體染色トノ關係ハ全然之ヲ否定シ得ザルモ余ノ實驗成績ニ於テハ大ナル意義ヲ發見シ得ザリキ．卽チ超生體染色ニ於テハ生體染色ニ於テ陰性ナルニ拘ラズ反ツテ超生體染色ニ於テハ陽性ヲ示シ生體染色陰性ナル Methylviolett 及ビ Crystalviolett ガ最モ著明ニ攝取セラルル奇現象ヲ示ス．又酸性色素ニ於テ生體染色ノ强陽性ナル Trypanblau, Anilinblau ガ生體染色微弱ナル Congorot, Orange, Eosin ニ比シ特ニ吸着度强キトモ思ハレザル所ナリ．

5） 色素ノ色調トノ關係

色素ガ生體內ニ注入セラルルヤ種々ノ物理的，化學的變化ヲ蒙リ，其ノ色調ガ原液ト相違スルニ至ル事アリ．是レ溶媒竝ニ細胞體內ニ於ケル物質就中蛋白質竝ニ無機及ビ有機鹽類ノ量及ビ其ノ種類又ハ色素分子ノ解離狀態或ハ其ノ濃度ノ大小等ニヨリテ變化ヲ被ル可キガ故ニ流出液ノ色調ハ原液ノ色調ト相違スル場合アルコトハ想像スルニ難カラズ．故ニ流出液ノ色調ノミヲ以テ直チニ色素攝取量ヲ定メ難キ場合アルモ大體ニ於テ菫色ガ最モヨク吸收セラレ，青色コレニ次ギ褐色，赤色ノ順序トナル．

因之觀之ニ吸着陽性色素中ニハ暗青色ヲ帶デルモノ多キガ如シ．

結　　論

家兎摘出肝臓ニ於テ色素灌流實驗ヲ行ヒ次ノ結果ヲ得タリ.

1) 鹽基性色素ハ酸性色素ニ比シ肝臓ニ於テ攝取セラルルコト遙ニ容易ナリ.

2) 色素擴散度ノ大小ハ其ノ吸着力ニ大ナル關係ヲ有セザルモノノ如シ.

3) 色素攝取ト類脂肪溶解性トヲ比較對照スルニ其ノ間何等的確ナル關係ナキモノト推測セラル.

4) 生體染色陽性ナルト陰性ナルトヲ論セズ何レモ肝臓ニ於テ攝取セラルル可能性アリト考ヘラル.

5) 色調ニ於テハ菫色ヲ呈スルモノ最モヨク吸收サレ, 青色コレニ次ギ褐色, 赤色ノ順トナル.

擱筆ニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導ト御校閲ヲ賜リタル稻田教授ニ滿腔ノ謝意ヲ表シ, 併セテ不斷ノ御鞭撻ト御助力ヲ賜ヒシ田川前助教授ニ感謝ス.

主 要 文 獻

1) *Bethe*, Biochem. Zeitschrift. Bd. 127, S. 18, 1922. 2) *Höber*, Biochem. Zeitschrift. Bd. 20, S. 56, 1909. 3) *Höber u. Kempner*, Biochem. Zeitschrift. Bd. 11 S. 105, 1908. 4) *Hildebrand*, Arch. f. klin. Chir. Bd. 81, S. 421, 1906. 5) *Mollendorf*, Deutsch. Med. Wochenschr. 40, Jg. Nr. 41, S. 1839. 6) *Overton*, Biochem. Zeitschr. Bd. 20, S. 56, 1909. 7) *Pohle*, Deutschr. med. Wochenschrift. Nr. 47, S. 1464, 1921. 8) *Rohde*, Pflügersche Arch. Bd. 168, S. 411, 1917. 9) *Schulemann*, Biech. Zeitschr. Bd. 80, 1917. 10) 清野, 生體染色研究ノ現況及ビ其檢査術式.