



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	廿日鼠の凍死に関する一知見：（特に凍死温度と肝臓、心臓の glycogen, phosphatase との関係について）
Author(s)	兼平, 信一; KANEHIRA, Shin-ichi; 佐々木, 祐雄 他
Citation	低温科学, 10, 169-173
Issue Date	1953-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17553
Type	departmental bulletin paper
File Information	10_p169-173.pdf



Shin-ichi KANEHIRA and Hiro-o SASAKI 1953 Studies on the Death from Cold of Mice. On the Relations between the Low Temperature Causing Mice to Death and Glycogen or Phosphatase Contents in Liver and Heart of Frozen Mice. *Low Temperature Science*, 10. (With English résumé p. 173)

廿日鼠の凍死に関する一知見

(特に凍死温度と肝臓, 心臓の Glycogen, Phosphatase との関係について)*

兼平信一 佐々木裕雄

(低温科学研究所 醫學部門)

(昭和27年9月受理)

緒 言

動物の凍死に関する諸問題については、これ迄内外多数の人達によつて研究されて來たが、特にいろいろな條件で處置した白鼠を一定の低温に曝し、それが凍死に到る迄の時間(抵抗力)とか、家兎の凍死に於ける臓器組織内の特定な物質の消長等に関する研究では、代表的なものとして北海道大學柳外科教室の膨大な業績¹⁾にその記載がみられる。

我々は以上の報告に對して、逆に、一定の條件で飼育した動物を種々の低温度條件のもとに凍死せしめ、夫々の低温度での凍死時間(抵抗力)を測定すると共にその際の臓器組織内の二三の代謝機能に關連ある特定な物質についても併行して調べたら上記の研究の幅を更に擴張する上凍死の原因等にも新知見を附與することになるであろうと考えた。幸い我々の實驗室では組織の凍結乾燥に關する研究が行われて居り、臓器組織の特定物質の組織化學的檢索には従來の方法によれば夫々特殊固定を施さなければならないが、凍結乾燥法では一樣に凍結固定の操作を行うだけでよいし、又檢索物質の損失、變化等を防ぐ意味でも便利であるから、我々はこの方法を併用して次の様な實驗を行つた。

實 驗 方 法

1. 實驗材料： 体重約 17~18g の廿日鼠(♂)で、後に試料を凍結乾燥する都合上實驗當日より2~3日前から水を與えないで一樣に飼育した榮養状態略一樣のものを使用した。實驗は全例數 15 匹であつた。

2. 實驗操作： 廿日鼠 3 匹を一群として、夫々約 -40°C 、 -20°C 、 -10°C 、 0°C 及び $+4^{\circ}\text{C}$ 前後の低温に曝して夫々の群の廿日鼠の状態を凍死に到る迄觀察し、凍死直後開腹して肝、

* 北海道大學低温科学研究所業績 第 151 號。

心を取り出して適当な大きさ (約 0.5 cm^3) の切片を作つた。それを直ちに液体空気で凍結し -30°C 以下の低温室に保存しておき、それらの資料を随時乾燥して切片標本を作成した後 Glycogen, Phosphatase に特殊染色を施して各低温度条件による廿日鼠凍死直後の肝、心に於ける兩物質の消長を調べた。

この際常温 (この實驗は室温 $+15^\circ\text{C} \sim +20^\circ\text{C}$ の秋期に行われた) 同条件で飼育した廿日鼠 3 匹の肝、心から作製した試料をもつて上記實驗の對照とした。尙凍結乾燥法實施の詳細及び組織の Glycogen, Phosphatase の檢索法は著者等の 1 人兼平の報告²⁾に記載してある。又夫々の低温環境は當研究所設置の低温室及び恒温槽を利用した。

實驗成績

先づ前記体重栄養状態一定の廿日鼠 (♂) 各 3 匹を一群とせるものを、直徑約 10 cm の圓筒状金網に入れ夫々 -38°C , -20°C , -12°C , 0°C 及び $+4^\circ\text{C}$ の低温度に曝露してその凍死に到る迄の時間及び経過を観察してみた。その結果は第 1 表に示す如く低温度に曝すもの程凍死時間は短縮され、又 $+4^\circ\text{C}$ では 5 時間に至るも死に到らなかつた。

第 1 表 各低温度曝露による廿日鼠凍死迄の觀察

温度群	-38°C	-20°C	-12°C	0°C	$+4^\circ\text{C}$
時間	I	II	III	IV	V
20分	安 靜	安 靜	盛んに動き廻る	盛んに動き廻る	不 穩
30分	安 靜	不 穩		不 變	
35分	死 亡	不 穩			
40分		不 穩	1 匹うづくまる 他興奮状態	不 變	
50分		死 亡			
1時間			1 匹死亡他うづくまる	盛んに動き廻る	幾分安靜 (異常なし)
1時間20分			全部死亡		
2時間				不 穩 2 匹毛を逆立てる	正常安靜 (元 氣)
4時間				1 匹死亡他は動き廻る	
4時45分				安靜うづくまる	
5時間				全部死亡	變りなく元氣
凍死迄の 平均時間	35分	50分	60分乃至80分	4時間乃至5時間	—

次に各低温度凍死廿日鼠の肝臓及び心臓内の Glycogen, Phosphatase を切片標本により染色してその消長を調べてみた所、第 2 表に示す通り大体次のような傾向が見られた。即ち、

- 1) 肝臓内の Glycogen, Phosphatase は高温度凍死のもの程檢出されにくくなつた。
- 2) 逆に心臓内の Glycogen, Phosphatase は共に低温度凍死に於ける程檢出されにくくなつた。

第2表 各低温度凍死廿日鼠に於ける臓器内 Glycogen の消長
(Hotchkiss の多糖類染色法による)

臓器	部位	温度				対照
		-38°C	-20°C	-12°C	0°C	
肝臓	原形質	++	++	+	-	##
	血管壁	+	+	+	±	++
	限局部位	中心静脈周囲	中心静脈周囲	瀰漫性	なし	中心静脈周囲
	肝小葉像	稍明瞭	稍明瞭	稍明瞭	不明瞭	明瞭
心臓	血管壁	-	±	+	+	++
	筋繊維内	-	-	-	±	+
	Sinusoid	-	-	-	+	++

第3表 各低温度凍死廿日鼠に於ける臓器内 Phosphatase の消長
(Gomori の Phosphatase 検出法による)

臓器	部位	温度				対照
		-38°C	-20°C	-12°C	0°C	
肝臓	核	+	+	++	+	+
	原形質	±	±	+	-	±
	血管壁	++	++	++	+	++
	Sinusoid	++	++	++	+	++
	肝小葉像	明瞭	明瞭	鮮明	稍明瞭	明瞭
心臓	核	±	±	±	+	##
	原形質	-	-	-	±	±
	血管壁	±	±	±	++	++
	筋繊維鞘	-	-	-	-	+

註 - は陰性、± は痕跡的に認められる場合、+ は僅少に認められる場合、++ は中等度に認められる場合、## は高度に認められる場合。

考 按

一定条件で飼育された略同体重の正常廿日鼠(♂)の凍死時間は、比較的低温度に曝されたもの程短い。前に記述した通り、我々の実験に於て-40°C前後の低温では平均生存時間35分、-20°C前後では平均50分であつて、之を齋藤³⁾の実験成績、即ち尋常栄養白鼠(体重性別記載なし)の-35°C前後に於ける低温での平均生存時間3時間5分、-18~23°Cでの6時間11分に比較して、実験動物の体重の相違を當然考慮におくにしても廿日鼠の耐寒性の弱さに一驚せざるを得ない。我々は廿日鼠の凍死温度を更に-12°C、0°C、+4°Cと漸次上昇せしめ、-12°Cで60~80分、0°Cで4~5時間と凍結時間の延長を認め+4°Cではもはや凍死を起さないことを確かめたわけである。さて臓器組織内物質の消長を調べる一手段として、各凍死

温度に於ける動物死亡時の肝、心内の Glycogen, Phosphatase の組織化學的檢索を行つた。尙 Glycogen, Phosphatase を檢索の對象としたのは前者は生体が異常低温に曝された場合に所謂糖動員 (Zuckermobilisation) により体力消耗の程度を知る規準になると考えられたからであり、後者も亦生体の代謝異常によつて消長する酵素であると云われているからである。従つて兩物質の常時存在する特定の臓器である肝臓及び心臓内に該物質を組織化學的に追究することにより、生体の機能状態をよく知ることが出来るものと考えられる。又 Glycogen, Phosphatase の檢索に當り凍結乾燥法を利用した目的は、兩物質の組織化學的檢索には、従來の方法によれば夫々煩雜な特殊固定法、ツェロイデン包埋法等を施す必要があるのに比較して、凍結乾燥法では一様に凍結乾燥操作で固定可能である上、化學劑の固定による影響を出来るだけ避け乍ら、兩者共パラフィン包埋を施して檢出出来、特に Glycogen の分布状態等については従來の組織像にみられる所謂邊綺現象 (細胞の一方にのみ Glycogen がたよつて分布する現象) もなく至便である。以上のような理由から今回の凍死實驗に於て Glycogen と Phosphatase を對象として檢索したのであるが、その結果注目されることは兩者共肝臓と心臓とで全く正反對の所見を示すことである。即ち肝臓に於ては凍死温度が低い程、一方心臓に於ては凍死温度が高い程 Glycogen, Phosphatase が多く殘存しているのである。

従來凍死實驗で臓器内 Glycogen を檢索した報告は少なからずありそのいずれに於ても Glycogen の減少乃至消失が認められている。例えば大脇・渡邊等⁴⁾の實驗は家兎を用い $-35\sim 40^{\circ}\text{C}$ で冷却したものであるが、やはり肝臓、心臓に於ける Glycogen の減少消失を認めている。但し兩臓器での Glycogen 減少程度が大體平行するとの所見が得られたのは、冷却條件がすべて一定であつたためと想像される。

さて凍死と云う現象が如何なる機序によつて起るものであるかということについては、従來幾多の説がたてられているが要するに体温喪失に伴う全身代謝機能の失調、衰頽に歸すべきものと考えられる。但し我々の成績に於てもみられるように臓器によつて代謝障碍の程度の異なることは、各器官で凍死過程での機能保持の程度に時間的な差違があるからではなからうか。例えば冷却温度が低い場合は凍死に至るまでの時間が短かく未だ多少肝臓中の Glycogen が殘存し、Phosphatase は活性を示すのにも拘らず、循環機能が極めて急激に衰頽して死に陥るものと想像される。それに反して冷却温度が高く凍死時間の長い場合は心機能の停止する頃には全身の代謝機能も殆んど全く消滅して凍死に到るものであらうと考えられる。何れにせよ先人の報告と同様に凍死によつて肝、心臓 Glycogen の減少することは確認せられたが、凍死の條件が異なるとその程度にも差のあること及び Phosphatase が略 Glycogen と平行して消長することなどの所見は凍死の研究に一知見を加え且つ凍死の機序を説明する場合に何らかの示唆を與えるものと思われる。

摘 要

凍死の機序を解明する目的で行つた實驗の一部として次のような知見を得た。即ち -40°C , -20°C , -10°C , 0°C の低温で凍死させた廿日鼠の肝臓、心臓の Glycogen, Phosphatase を凍結乾燥標本について検索した結果、いずれも減少又は消失することを認めた。特に凍死温度によつて肝臓と心臓とで所見の異なることが知られた。

稿を終るに臨み御懇篤なる御指導と御校閲を賜りたる恩師根井外喜男教授に深甚なる謝意を捧ぐ。

文 献

- 1) 柳 壯一 1939 低温の生体に及ぼす影響に就ての實驗的研究。特に凍死に関する研究(解説)。北海道帝國大學。
- 2) 兼平信一 1953 組織標本作製方法としての凍結乾燥法について。低温科學, 10, 137.
- 3) 齋藤八郎 1935 低温の生体に及ぼす影響に就ての實驗的研究—種々なる條件の下に於ける動物生存時間(抵抗力)に関する實驗的研究。北海道醫學雜誌, 13, 138.
- 4) 大脇俊一・渡邊綱彦 1936 同上一病理組織學的研究。同誌, 14, 351,491.

Résumé

In order to clarify the mechanism of death from cold, adult mice were frozen to death by cooling at various temperatures such as -40° , -20° , -10° and 0°C and histochemical observations were undertaken on the frozen-dried materials prepared from the livers and hearts of mice that had thus died.

As the results of these experiments, it was found that both glycogen and phosphatase diminished or entirely disappeared in the organs, while the residual contents of these substances in the livers differed from those in the hearts, which depends upon the rate of freezing.