
 原 著

 尿ウロビリノゲン反應知見補遺 (第二報)
 (尿ウロビリノゲンの α 型、 β 型)

名大醫學部勝沼内科教室 (指導 勝沼精藏教授)

國立療養所大府莊 (指導 勝沼六郎博士)

束 村 道 雄

緒 言

さきに著者は第一報に於て尿中の Urobilinogen 完全缺如 (Ehrlich 氏 Aldehyd 反應加熱陰性) に就いて觀察しこれが病的意味を有たないことを述べ、更に常温で Ehrlich 氏 Aldehyd 反應 (以下 Ehrlich 氏反應と稱する) を與える物質と加熱してはじめて Ehrlich 氏反應を與える物質とは別個のものと考えらるべきであるとした。即ち醋酸鉛による沈澱の差から兩者を別個のものと考えた Hári の説を臨床的觀察から確認し前者を Urobilinogen β 、後者を Urobilinogen α と名づけ、更に Urobilinogen α の臨床的意義に就いて其の増加が病的意味を有し得ることを述べた。著者は Urobilinogen の α 及 β 型の問題に就いて更に實驗を續けて新知見を得たので此處に報告する次第である。

實驗成績並びに考按

(實驗 1) 醋酸鉛による沈澱 Ehrlich 氏反應は次の様に施行した。即ち試薬は P-Dimethylaminobenzaldehyd を 2% の割合に 10% 鹽酸に溶解したものをを用い、新鮮尿約 5cc に前記試薬 3~4 滴を加えて室温に 5 分放置した後、常温の呈色を觀察し (Urobilinogen β) 次いで煮沸する迄加熱して加熱時の呈色を觀察した。(主として Urobilinogen α の反應を観る)

(1) 常温では Ehrlich 氏反應陰性で加熱してはじめて赤色を呈する尿 (即ち Urobilinogen α のみを含有する尿) に、10% 醋酸鉛水溶液をもちや沈澱を増さぬ迄加えて後濾過した濾液は Ehrlich 氏反應常温陰性、加熱陽性である。(濾液には相當多

量の試薬を加えて反應を行う。)

(2) 常温で Ehrlich 氏反應陽性の尿の醋酸鉛沈澱後の濾液は、Ehrlich 氏反應常温陰性で加熱陽性又は陰性である。

(3) 加熱しても Ehrlich 氏反應陰性である尿の醋酸鉛沈澱後の濾液は Ehrlich 氏反應加熱陰性である。

(小括) 以上の實驗によつて、著者は常温で Ehrlich 氏反應を與える物質は醋酸鉛により沈澱し、加熱してはじめて Ehrlich 氏反應を與える物質は醋酸鉛により沈澱しないと云う Hári (1) の所見を追試確認するとともに、更に Eigelbe Diazoreaktion を用いて詳細なる實驗を行つて此の兩者が別個のものであることを認めた。即ち Urobilinogen β (β 型) は醋酸鉛によつて沈澱するが Urobilinogen α (α 型) は沈澱しない。依つて Urobilinogen の α 型及び β 型の問題につき、新に次の實驗を行い、以下述べる新知見を得た。

(註) Hammarsten (2) によれば醋酸鉛 (Die Bleiacetate) は Urobilinogen を沈澱させぬか又はさせても不完全であると云う。

(實驗 2) Urobilinogen α 及び β の Eigelbe Diazo 反應

尿を Sulfodiazobenzol の酸性液と混すれば多くの場合強い Orangefärbung が出現するが、K. Thomas (3) は Ehrlich の Aldehyd 反應が陽性なる處すべてこの Eigelbe Diazoreaktion が陽性なることを確め、尿中の此の反應が Urobilinogen によることを示した。著者は Urobilinogen α 及び β がこの Eigelbe Diazoreaktion にて反應の差を示すかどうかを検してみた。

(1) 尿を酒石酸々性として約倍量のエーテルで抽出し Eigelbe Diazoreaktion を行つた。(デアゾ反應用として常用される試験管を用いて、デアゾ第2液及び第1液を混合した後エーテルを重ねて振盪した) Ehrlich 氏反應常溫陽性の尿即ち β 型含有尿は Eigelbe Diazoreaktion に對し 即時に陽性反應を示す。即ち直に明瞭な黄色輪をエーテル層と Sulfodiazobenzol 酸性液との境界に生じる。強陽性の場合には直ちに Sulfodiazobenzol 酸性液全體が黄染する。しかるに Ehrlich 氏反應常溫陰性、加熱陽性の尿即ち Urobilinogen α のみを含む尿は Eigelbe Diazoreaktion. に對して、エーテル重疊後 15~20 分後にはじめて反應して黄色輪を認め得た。即ち Urobilinogen β が即時反應を示すのに對し α は遅延反應を示す。

(2) 常溫で Ehrlich 氏反應陽性であるが、其の醋酸鉛沈澱濾液が Ehrlich 氏反應加熱陰性なる尿即ち β 型のみを含むと思われる尿で此の醋酸鉛沈澱を酒石酸々性アルコールで抽出して Eigelbe Diazoreaktion を行えば即時強陽性を示した。常溫で Ehrlich 氏反應陰性で加熱陽性である尿の醋酸鉛沈澱から同様抽出して Eigelbe Diazoreaktion を行うのに陰性であつた。

(小括)尿を酒石酸々性としてエーテルにて抽出し Eigelbe Diazoreaktion を行えば Urobilinogen β は即時反應を Urobilinogen α は遅延反應(10~20分)を呈する。

(實驗3) エーテルへの溶解度

實驗2の如く酒石酸々性尿よりエーテルにて抽出し Eigelbe Diazoreaktion を行えば一般に上述の如き結果を示すが、更に多數例について觀察する内、Ehrlich 氏反應常溫微弱陽性の尿が Eigelbe Diazoreaktion に反應するのに約5分を要した例に際會し、又 Ehrlich 氏反應加熱弱陽性の尿が遅延反應をも陰性となつた例に際會した。そこで即時反應又は遅延反應を呈するのは單にエーテル中の Urobilinogen の量的差違によるのではないかと云うことが考えられた。

(1) 尿を醋酸鉛で處置して Urobilinogen α のみを含む濾液を以て Eigelbe Diazoreaktion を行つてみると著明な即時陽性反應を示す。即ち α 型

も即時反應を示すものであることが分る。故に Urobilinogen の α 型と β 型とは酒石酸々性尿からエーテルで抽出して Eigelbe Diazoreaktion を行つと前者は遅延反應、後者は即時反應を示すので一見 Eigelbe Diazoreaktion そのものに對する反應を異にする様にみえるけれども、實は α 型と β 型とで Eigelbe Diazoreaktion に對する反應を異にするのではなく、エーテルに對する溶解度が異なつてゐるのであることが分る。即ち酒石酸々性のもとに β 型は容易にエーテル中に移行するが α 型はエーテルに移行し難いものと考えられる。隨つて Eigelbe Diazoreaktion に對して即時反應を示すのと遅延反應を示すのとはエーテル中のウロビリノゲンの量的關係によるものであると考えられる。

(2) β 型のみを含む尿を酒石酸々性としてエーテル抽出を行えば、抽出後の尿はもはや常溫で加熱しても反應を呈しなくなる。 β 型及び α 型を含む尿を酒石酸々性としてエーテル抽出を行うと常溫陰性、加熱陽性となり α 型のみが残つてゐる。又 α 型のみを含む尿を同様處置しても α 型は常に殘存していることが證明される。

(小括) Urobilinogen β は酒石酸々性(鹽酸々性でも同様、但し速かに抽出する)のもとに尿よりエーテルで完全に抽出し得るが、 α は酒石酸々性尿からエーテル中に移行し難い、尿を酒石酸々性としてエーテルで抽出し Eigelbe Diazoreaktion を行えば β 型は即時反應を α 型は遅延反應を示すことは實驗2の如くであるが、此は α 型も β 型も Eigelbe Diazoreaktion そのものに對しては同じ態度を示すにも拘らずエーテルへの溶解度を異にするためにかかる反應の差が現われるものと思われる。

(實驗4) 硫酸安門による沈澱

(1) β 型は硫酸安門飽和によつて完全に沈澱する。

(2) α 型のみを含む尿を硫酸安門で飽和しても、硫酸安門飽和後の濾液は依然として Ehrlich 氏反應加熱陽性で濾液に尙 α 型が残つてゐる。

(小括) Urobilinogen β は硫酸安門飽和によつて完全に沈澱するが Urobilinogen α は一部沈澱

するのみで飽和後の濾液に尙殘存している。

(實驗5) 炭末への吸着

Urobilinogen の β 型は pH5~7 にて尿に 2% の割合に加えた活性炭に完全に吸着され、炭末から酸性アルコールに溶出されるが、 α 型は活性炭に吸着されない。

(實驗6) Schlesinger 氏反應

(1) Ehrlich 氏反應常溫陽性であるが醋酸鉛沈澱濾液は加熱痕跡陽性に過ぎない尿(主として β 型を含む尿)を日光にさらして Ehrlich 氏反應が加熱陰性となつたのを確めて(Urobilinogen が完全に Urobilin になつたと考えられる) Schlesinger の反應を行えば強陽性である。

(2) Ehrlich 氏反應常溫陰性、加熱強陽性(即ち α 型を多量を含む尿)を日光にさらして、Ehrlich 氏反應加熱陰性となつたのを確めて、Schlesinger の反應を行えば弱陽性であつた。即ち Urobilinogen α も β も酸化されると Schlesinger の反應を興える。

結 論

1) 常溫で Ehrlich 氏 Aldehyd 反應を興える物質と常溫では反應せず加熱してはじめて反應を興える物質とは別の物質と考えられる。前者を Urobilinogen β (β 型) 後者を Urobilinogen α (α 型) と呼ぶ。但し兩者ともに酸化されると Schlesinger 氏反應を呈する。

2) β 型は酸性又は中性尿から醋酸鉛によつて沈澱し、沈澱から酸性アルコールで抽出し得る。 α 型は醋酸鉛によつて沈澱しない。

3) β 型は酒石酸々性尿からエーテルで容易に完全に抽出し得るが α 型はエーテルに移行し難い。 α 型も β 型もともに Eigelbe Diazoreaktion を呈するが、酒石酸々性尿をエーテルで押出して Eigelbe Diazoreaktion を行くと上記のエーテルの溶解度の差から β 型は即時反應を著明に興えるが、 α 型は遅延反應を呈するにすぎない。

4) β 型は硫酸安門飽和によつて完全に沈澱するが α 型は不完全に沈澱するに過ぎない。

5) β 型は pH 5~7 にて尿より活性炭に完全に吸着し、酒石酸々性アルコールに溶出するが、 α

型は吸着されない。

著者が第一報並びに第二報に於て記した結果から、常溫で Ehrlich 氏 Aldehyd 反應を呈する所謂病的 Urobilinogen 尿は、從來考えられた様に單に正常尿の Urobilinogen の量的増量によつて起るものではなく、正常時とは質的に異なつた状態に於て Urobilinogen が排泄される状態であると解すべきであると確信する。

終に御懇篤なる御指導を給わつた恩師勝沼教授、院長勝沼六郎博士、御助言を給わつた日比野助教授並びに芳賀博士に深く感謝する。又名大生化学教室八木助教授並びに田中學士の御援助に對し深く感謝する。

文 獻

- (1) P. Hári, Biochem. Zeitschr., 117, 41, 1921.
- (2) Analyse des Harns. Elfte Aufl. von Neubauer-Hüppert's Lehrbüch, C. W. Kreidel's Verlag. 1913, S. 1405—1406.; D. Charnas, Biochem. Zeitschr., 20, 401, 1909.
- (3) K. Thomas, Zeitschr. f. Klin. Med., 64, 247, 1907.

追 補 (1) Ehrlich 氏試薬を加えて後數分を要して常溫陽性となる場合に就いて

Ehrlich 氏 Aldehyd 試薬によつて Urobilinogen 反應を行う場合に、試薬を加えて後數分を要して常溫陽性となる場合がある。此の原因について次の事實は一つの示唆を興えるものと思う。Ehrlich 氏試薬を加えて直ちに常溫陽性となる尿に KH_2PO_4 を加えて Ehrlich 氏反應を行う時、加える Ehrlich 氏試薬の量によつて種々の反應が起る。Ehrlich 氏試薬が KH_2PO_4 の量に比して比較的大量であると直に常溫陽性となる。試薬の量が比較的小量であると何時までも常溫陰性にとどまる。試薬の量が上述二者の間にあると數分を要して常溫陽性となる。實際の場合でも Urobilinogen の量に關係する以外に斯様に尿中の磷酸鹽等の無機又は無機鹽のためにかゝる現象が起り得ることと思われる。

追 補 (2) 一見常溫陰性にみえて大量の試薬を加えると常溫陽性となる場合(著者の所謂“虚陰性例”)に就いて

尿に Ehrlich 氏 Aldehyd 試薬を加えて(例えば尿 5cc に 2~3 滴の試薬を加えて)いつまでも

常温陰性にとどまる時に更に約 10 滴位試薬を追加するか又は鹽酸を添加すると常温陽性になることが稀にあることを知つた。此の時尿を醋酸鉛で沈澱せしめると沈澱部からの酸性アルコール抽出液は Eigelbe Diazoreaktion 陽性であり、濾液の方に如何に大量の試薬を加えても常温では陰性である。(α 型のみを含む尿に如何に試薬を大量加えても常温では陰性にとどまつている) 又尿を酒石酸々性としてエーテル抽出を行い、Eigelbe Diazoreaktion を行えば即時陽性反応を示す。一方エーテル抽出後の濾液は如何に大量の試薬を加えても常温陽性とはならない。即ち此の場合は一見常温陰性とみえても(α 型のみとみえても)實はβ 型が存在しているのである。著者はかかる例を「虚陰性」と呼んでいる。かかる例を實驗的につくるには常温即時陽性尿に KH_2PO_4 を相當量

(尿 10cc に 0.5~1.0g) 添加すればよい。此の實驗的虚陰性尿は全く自然のものと同じの性質を示す。自然の虚陰性例も尿中の無機又は有機鹽によるものと思われる。

Ehrlich 氏 Aldehyd 試薬によつて Urobilinogen 反応を行う際、此の虚陰性の例が稀ではあるが存在することを注意しなければならぬと考える。

追 補 (3) Urobilinogen 反應 (α 及び β)

以上の所見から尿の Urobilinogen 反應を正確に且 α 型及び β 型を區別して施行する方法として次の様に Eigelbe Diazoreaktion を行うのがよいと考える。即ち尿を酒石酸々性としてエーテル抽出を行い Eigelbe Diazoreaktion によつて β 型を観察する。次に尿に醋酸鉛を加えて生ずる沈澱を濾過して濾液で再び Eigelbe Diazoreaktion を行つて α 型を観察する。

結核菌のグリセリン代謝に就て

(第一報)

国立療養所刀根山病院(院長 渡邊三郎博士)

阪大 理學部化學科(指導 赤堀四郎教授)

笹 川 泰 治 山 村 雄 一

(本論文の要旨は昭和 23 年 3 月大阪醫學會例會、昭和 23 年 11 月近畿結核集團會及び昭和 24 年 4 月日本結核病學會總會に於て發表せり。)

第 1 章 緒 言

結核菌培養の炭素源として最も多く用いられているものはグリセリンである。グリセリン(以下「グ」と略記する。)を最初結核菌に用いたのは Nocard und Roux⁽¹⁾であり、その後 Proskauer 及び Beck⁽²⁾は「グ」が結核菌の發育に最も好適な炭素源となることを発見した。

而して Frouin,⁽³⁾ Terroine and Lobstein⁽⁴⁾ らは培養基中の「グ」量と増殖結核菌の脂質量と一定の関係のあることを述べている。然し最近では Henley⁽⁵⁾, Dubos⁽⁶⁾⁽⁷⁾ らは「グ」を含まぬ結核菌の急速大量培養法を發表しており、又大阪大学竹尾結核研究所に於ては「グ」を漸減的に減少して添加せしめた培地に人型菌植繼ぎを行つて遂に

「グ」を全く含まぬ培地に於ても増殖可能ならしめ、弱毒人型菌を得ている。Evanoff 及び Sweany⁽⁸⁾ らの如きは彼等の Cream-egg-milk 培地では「グ」が反つて發育阻害的であるとしている。

然し乍ら「グ」を以て結核菌の essential metabolite とする考を支持する者は極めて多く Fernbach and Ruddier⁽⁹⁾, Henley⁽¹⁰⁾ Malcolm and Merrill⁽¹¹⁾ Long⁽¹²⁾, Corper⁽¹³⁾ 等多數に上つている。

私共はこの結核菌にとつて essential metabolite と考えられる「グ」の結核菌による代謝機轉を明らかにする爲に次に述べる實驗を行つたので、その成績をここに第一報として報告する。

第 2 章 實驗方法

第 1 節 結核菌酵素液の調製

菌株は凡て鳥型結核菌(竹尾株)を用いた。

鳥型菌の「グ」肉汁寒天培地に培養第 4—7 日目