

死後における臓器酵素作用の消長に関する実験的研究

岡山大学医学部法医学教室 (主任: 三上芳雄教授)

神 田 瑞 穂
竹 丸 英 夫
熊本大学医学部法医学教室
高 浜 桂 一

[昭和37年2月14日受稿]

序 言

死体の変化は生活現象といちじるしくことなるから、組織の物理的および化学的ならびに生物学的状態の死後における変化を追求することは法医学上重要な問題の一つである。

死体における化学的变化は広義の酵素作用による Autolyse ならびに細菌の作用による Fäulnis および Verwesung であるが、組織細胞中に存在する分解酵素は、死後において固有の臓器に、ついで近隣臓器に作用してこれらを分解するにいたるものである。

このような、組織中における酵素の死後消長を検することによつて臓器組織の腐敗の進捗をはかり、ひいては死後経過時間推定に資せんとするところみが、きわめて興味あることを1952年著者はすでに示唆したが¹⁾、その後四方²⁾は1954年急性死屍肝臓の Histidin-desaminase 作用につき、ついで1955年四方³⁾はヒト筋肉の Carnosinase につき、また何川⁴⁾は空気栓塞死させたイヌの心、肝および横紋筋の Succinic Dehydrogenase につき、1957年柚須⁵⁾は交通事故死したヒトの脳、肝、心、腎および筋の Quinine, Acridine, Aldehyde, Xanthine, Succinic

および Pyruvate Dehydrogenase につき、Camps⁶⁾は彼の「死亡時間の確認」という綜説のなかで肝臓の Glucose hexose isomerase, Glucose 6-phosphatase および Phenyl-phosphatase についてのべ、それら作用能の死後における消長についての研究がおこなわれて死体臓器の化学的变化を酵素学的に追究しようとするところみがようやく注目されるにいたつた。

著者は死後における化学的变化である自家融解現象にもつとも関係のふかい Cathepsin の死後消長とその他の関聯酵素との関係をみるために基礎実験として蛋白分解酵素の一つである Papayotin および澱粉分解酵素である Taka-diastrase をもちいて調製せる各酵素液の経時的消長について研究をおこない、ついで、イヌ肝臓から抽出した酵素液について、その Cathepsin, Amylase および Phosphatase 各作用が、またイヌ骨から抽出した酵素液についてその Phosphatase 作用が逐日的にいかなる消長をしめすかをしらべ、さらにウサギ脳、肺、腎、肝および大腿筋の Amylase 作用が、夏期、春秋期ならびに冬季の各時季において、経時的にいかなる消長をしめすかについて実験をおこなつたので報告する。

第1編 Papayotin および Taka-diastrase 各酵素液における基質分解能の経時的消長について

結 言

臓器からの抽出酵素液の Cathepsin 作用および Amylase 作用が経時的にいかなる消長をしめすかの基礎実験として、蛋白分解酵素である Cathepsin と同型に属する結晶蛋白酵素である Papayotin ならびに Amylase 作用をもっている細菌製剤である Taka-diastrase をもちい、これら両酵素を glycerol-water および単に water で抽出し、それらに, Papa-

yotin ならびに Taka-diastrase の至適緩衝液をそれぞれ単独に、および両緩衝液を混合してくわえて各種酵素液を調製し、経時的に孵卵器内よりとり出して基質分解能の消長をしらべた。

実験材料及びに実験方法

Papayotin は Merck 製 Papayotin 80 倍末を、Taka-diastrase (以下 Diastrase と略記する) は三共製 Taka-diastrase 末を、緩衝液は Sørensen の磷酸塩

緩衝液を使用して Papayotin では至適 pH を 5.3 に、Diastase では pH 4.9 に調製してもちい、基質は Papayotin では 2% gelatine 液を、Diastase では 2% 可溶性澱粉溶液を使用した。

酵素液は表 1 のようにつぎの 6 種類にわけて調製した。

- 1) Papayotin 1g を各 20ml の glycerol および water で抽出し、それに Papayotin の至適緩衝液 10ml を加えたもの (以下 GP と略記する)
- 2) Diastase 1g を各 20ml の glycerol および water で抽出し、それに Diastase の至適緩衝液 10ml を加えたもの (以下 GD と略記する)
- 3) Papayotin および Diastase 各 1gr を各 15ml

の glycerol ならびに water で抽出し、それに Papayotin および Diastase の各至適緩衝液それぞれ 10ml を加えたもの (以下 GP+D と略記する)

- 4) Papayotin 1gr を water 40ml で抽出し、それに Papayotin の至適緩衝液 10ml を加えたもの (以下 WP と略記する)
 - 5) Diastase 1gr を water 40ml で抽出し、それに Diastase の至適緩衝液 10ml を加えたもの (以下 WP と略記する)
 - 6) Papayotin および Diastase 各 1gr を water 30ml で抽出し、それに Papayotin および Diastase の各至適緩衝液それぞれ 10ml を加えたもの (以下 WP+D と略記する)
- 実験は以上各調製酵素液を孵卵器内 (37°C) にい

Tab 1. Preparation of enzyme solutions

kinds of enzyme solution	substances		extracting solution		buffer-solution		enzyme	
GP	glycerol	20ml	water	20ml	Papayotin buffer	10ml	(PH5.3)	Papayotin 1g
GP	glycerol	20ml	water	20ml	Diastase buffer	10ml	(PH4.9)	Diastase 1g
GP+D	glycerol	15ml	water	15ml	Papayotin buffer	10ml	Diastase buffer 10ml	Papayotin 1g Diastase 1g
WP	water	40ml			Papayotin buffer	10ml		Papayotin 1g
WP	water	40ml			Diastase buffer	10ml		Diastase 1g
WP+D	water	30ml			Papayotin buffer	10ml	Diastase buffer 10ml	Papayotin 1g Diastase 1g

れて、直後および 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 ならびに 144 各所定時間後にとり出し、そのとり出した酵素液 1ml (GP+D 群および WP+D 群は 2ml)、緩衝液 2ml (GP+D および WP+D 両群では Papayotin ならびに Diastase の各至適緩衝液をそれぞれ 2ml ずつ、計 4ml を使用) および基質 5ml (GP+D および WP+D 両群では gelatine 液ならびに澱粉液をそれぞれ 5ml ずつ計 10ml 使用) を試験管に分取混和し、2群にわち、1群はただちに Erlenmeyer flask にうつして Papayotin 実験では約 5 分間煮沸、Diastase 実験では 10% 苛性曹達液をくわえて各酵素作用を停止せしめ、Papa-

yotin 実験では Kjeldahl 法で窒素量 (RN 量) を、Diastase 実験では Bertrand 法で葡萄糖生成量をもとめ (表 2 では滴定値 a でしめされている)、ついで分取、混和した他の 1 群、すなわち酵素液、緩衝液および基質の各混和液をさらに孵卵器内に 6 時間置いたのち、煮沸あるいは苛性曹達液添加によつてそれぞれ酵素作用を停止させて測定した RN 量あるいは糖量 (表 2 では滴定値 b でしめされている) との差 (a-b) をもつて、各所定時間における Papayotin および Diastase の基質分解能 (作用能) とした。

実験成績および考察

1. Papayotin 酵素液における基質分解能の経時的消長について (表2)

Papayotin 酵素液は上述のように GP, WP, GP +D および WP+D の4種であつて、滴定値で表現されている Papayotin の gelatine 分解能は GP では直後値は 2.2 であるが、6時間値は 1.1, 12時間値は 0.9, 24時間値は 0.7 と漸減するが、144時間値はなお 0.2 と基質分解能を存しているのたしい、WP では直後値が 1.2 で GP の直後値の約 1/2であり、48時間値ではすでに 0.1 に低下し、120時間値以後は基質分解能の消失がみられる。GP+D および WP+D はほぼ類似の消長 (WP+D の方が GP+D よりも基質分解能の低下が若干はやい) をしめし、120時間値までは基質分解能を存するが、

144時間値ではまったく消失している。

すなわち、Papayotin は Papayotin を単独に glycerol-water で抽出した場合には144時間孵卵器内に置いてもなお gelatine 分解能を有しているのに、water のみで抽出した場合にはすでに120時間で gelatine 分解能が消失し、Papayotin に Diastase を等量くわえて glycerol-water および water それぞれ抽出して孵卵器内に置いた場合には、ともに144時間で gelatine 分解能が消失した。

Papayotin に Diastase をくわえた酵素液において基質分解能がはやく消失するのはいかなる原因か明瞭にはわからないが、他の酵素との混和によつて酵素活性 (基質分解または生成能) が増加するため、ある一定の時期がくるとはやく活性が消失するのであらうとかがえるならば、Papayotin の基質分解能が Diastase の附加により促進されるた

Tab. 2. Decays of the proteolytic activity of papayotin with the time elapsed

kinds of enzyme solution	time (hours)	GP		WP		GP+D		WP+D	
		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
just after	a	20-14.4=5.6	2.2	20-15.4=4.6	1.2	20-18.0=2.0	1.2	15-11.1=3.9	0.9
	b	20-12.2=7.8		20-14.2=5.8		20-16.8=3.2		15-10.2=4.8	
6	a	20-15.8=4.2	1.1	20-15.9=4.1	0.9	15-13.4=1.6	1.1	20-17.7=2.3	0.9
	b	20-14.7=5.3		20-15.0=5.0		15-12.3=2.7		20-16.8=3.2	
12	a	20-15.9=4.1	0.9	20-14.2=5.8	0.9	20-17.9=2.1	0.9	20-17.0=3.0	0.3
	b	20-15.0=5.0		20-13.1=6.9		20-17.0=3.0		20-16.7=3.3	
24	a	15-11.0=4.0	0.7	15-10.5=4.5	0.8	20-17.2=2.8	0.7	20-16.9=3.1	0.3
	b	15-10.3=4.7		15-9.7=5.3		20-16.5=3.5		20-16.6=3.4	
48	a	20-15.8=4.2	0.5	20-13.7=6.3	0.1	20-17.0=3.0	0.4	20-17.3=2.7	0.3
	b	20-15.3=4.7		20-13.6=6.4		20-16.6=3.4		20-17.0=3.0	
72	a	15-10.3=4.7	0.5	15-9.8=5.2	0.1	20-17.0=3.0	0.3	20-16.9=3.1	0.3
	b	15-9.8=5.2		15-9.7=5.3		20-16.7=3.3		20-16.6=3.4	
96	a	20-14.7=5.3	0.3	15-9.6=5.4	0.1	15-12.1=2.9	0.3	15-12.2=2.8	0.3
	b	20-14.4=5.6		15-9.5=5.5		15-11.8=3.2		15-11.9=3.1	
120	a	15-10.0=5.0	0.3	20-14.6=5.4	0	15-12.0=3.0	0.1	15-12.1=2.9	0.1
	b	15-9.7=5.3		20-14.6=5.4		10-6.9=3.1		10-7.0=3.0	
144	a	20-15.8=4.2	0.2	20-14.6=5.4	0	20-17.2=2.8	0	20-17.2=2.8	0
	b	20-15.6=4.4		20-14.6=5.4		15-12.2=2.8		15-12.2=2.8	

め144時間後には消失するのであろう。このようなことは Papayotin と類似の蛋白分解酵素である Trypsin が Amylase によつて相互にその作用が促進される⁷⁾ ことからかながえられないことではない。

2. Diastase 酵素液における基質分解能の経時的消長について (表3)

Diastase 酵素液は上述のとおり GD, WD, GP+D および WP+D の4種であつて、滴定値で表現されている Diastase の澱粉分解能は GD では直後値は 0.45, 6時間値は 0.4, 12時間値は 0.35, 24時間値も 0.35と漸減するが, 144時間値は 0.15 となお基質分解能を有しているのにたいし, WD では直後値は 0.4 で GD とあまり差はないが, 96時間値ではすでに 0.05 と減弱し, 120時間以上になると完全に消失する。GP+D および WP+D ではない

づれも直後値は 0.55 および 0.8 と GD のそれより大であるが, 6時間値ではすでに激減し, 以後ほぼ漸減の傾向をしめすが, すでに72時間値以後は両者 (GP+D および WP+D) とともに基質分解能は消失する。

すなわち, Diastase は Diastase を単独に glycerol-water で抽出した場合には 144時間解卵器内に置いてもなお澱粉分解能を有しているのに, water のみで抽出した場合には120時間で澱粉分解能が消失し, さらに Diastase に Papayotin を等量くわえて glycerolwater および water でそれぞれ抽出して解卵器内に置いた場合には, とともに72時間で澱粉分解能が消失した。

Diastase のみを glycerol-water で抽出した場合における澱粉分解能が解卵器内で144時間を経過してもなお存するのにたいして, Diastase と等量の

Tab. 3. Decays of the saccharificating activity of Taka-diastase with the time elapsed

time (hours)	kinds of enzyme solution	GD		WD		GP+D		WP+D	
		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
just after	a	0.8	0.45	0.8	0.4	0.85	0.55	0.7	0.8
	b	1.25		1.2		1.4		1.5	
6	a	0.8	0.4	0.65	0.25	1.0	0.3	0.85	0.35
	b	1.2		0.9		1.3		1.2	
12	a	0.85	0.35	0.75	0.25	1.0	0.2	0.85	0.3
	b	1.2		1.0		1.2		1.15	
24	a	0.85	0.35	0.8	0.15	0.6	0.2	0.65	0.15
	b	1.2		0.95		0.8		0.8	
48	a	0.8	0.3	0.85	0.1	0.3	0.1	0.25	0.05
	b	1.1		0.95		0.4		0.3	
72	a	0.75	0.25	0.75	0.1	0.3	0	0.25	0
	b	1.0		0.85		0.3		0.25	
96	a	0.8	0.2	0.4	0.05	0.25	0	0.2	0
	b	1.0		0.45		0.25		0.2	
120	a	0.7	0.2	0.33	0	0.15	0	0.15	0
	b	0.9		0.3		0.15		0.15	
144	a	0.95	0.15	0.25	0	0.1	0	0.1	0
	b	1.1		0.25		0.1		0.1	

Papayotin を添加した場合にすでに 72 時間で消失するのはいかなる原因かわからないが、前述のごとき解釈をゆるされるならば、Diastase の基質分解能が Papayotin の添加により異常に促進されるため 72 時間後には消失するのであろうし、ここでも Trypsin と Amylase が相互にその作用を促進する事実⁷⁾ が引用されるであろう。

結 論

基礎実験として、Papayotin および Taka-diastase をもちい、それらの単独および混合各酵素液を 37°C の孵卵器内に置き、直後、6、12、24、48、72、96、

120 および 144 時間後にとり出して、gelatine 分解能および澱粉分解能をそれぞれ検し、つぎの結果をえた。

1. Papayotin および Taka-diastase を単独に glycerol-water で抽出した場合には、144 時間後においても基質 (gelatine および 澱粉液) 分解能を維持し、water のみで抽出した場合には、いずれも 120 時間後には基質分解能を消失した。

2. Papayotin および Taka-diastase を等量混和して glycerol-water および water でそれぞれ抽出した場合には、いずれも 144 時間で gelatine 分解能を、また 72 時間で澱粉分解能を消失した。

第 2 編 肝臓抽出酵素液における Cathepsin, Amylase および Phosphatase 各作用ならびに骨抽出酵素液における Phosphatase 作用の逐日的消長について

結 言

生体内にある蛋白分解酵素の一つである Cathepsin は、Pepsin あるいは Trypsin とちがい消化液中には存在せず、ほとんどあらゆる動植物組織にふくまれている細胞内酵素であるが、動物体内では肝、腎、脾等の実質性臓器にもつとも多い⁸⁾。また Amylase もまた動植物界にひろく存在する澱粉および糖原の水解、合成を触媒する酵素で、動物組織では Amylase 分泌臓器である唾液腺、脾のほか、肝臓⁹⁾、心筋¹⁰⁾、筋¹¹⁾、腎¹²⁾、白血球¹³⁾ のような代謝のさかんな部分に多い。さらに Phosphatase も生物体内に広汎に分布している磷酸 ester の水解および合成を触媒する酵素で、とくに化骨、石灰沈着、代謝等に重要な生物学的意義をもっており、生体内では腎¹⁴⁾、腸管粘膜¹⁵⁾、骨¹⁶⁾、脾¹⁷⁾ および肝¹⁸⁾ 等に多く分布されている。

すなわち、肝臓抽出酵素液中には Cathepsin, Amylase および Phosphatase が存在し、骨抽出酵素液中には多量の Phosphatase をふくんでいるが、これらの各酵素作用能が孵卵器内におかれた酵素液中でいかなる消長をしめすかを、第 1 編の基礎実験とおなじように、逐日的に実験をおこなった。

実験材料ならびに実験方法

実験には体重 10 kg 前後の健康なイヌをもちい、頸部血管切断によつて失血死させ、肝臓を取出し、

生理的食塩水で充分洗滌したのち附着している水分や血液を濾紙で除去し、秤量 (40 g) 後乳鉢ではほぼ等量の石英砂とともに磨砕粥状とし、肝の 10 倍量の 50% glycerol-water をくわえて充分混和し、濾過後、濾液 (酵素液) を Cathepsin, Amylase および Phosphatase 各作用を検するための各単独緩衝液加酵素液 (A⁰, A¹, A² と略記しそれぞれ 80 ml づつ) と、Cathepsin, Amylase, Phosphatase の各至適緩衝液を混和する混和酵素液 (B) (100 ml) とにわけ、酵素液と等量の各至適緩衝液をくわえたものを 37°C の孵卵器において、各所定実験日 (当日、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 および 20 日目) にとり出して Cathepsin, Amylase ならびに Phosphatase 各作用能を検した。

基質は Cathepsin 実験には 2% gelatine 溶液を、Amylase 実験には 2% 可溶性澱粉液を、Phosphatase 実験には 1% Sodium glycerophosphate 溶液を、また緩衝液は Cathepsin 実験には Sørensen の Phosphate buffer を pH 5.3 に、Amylase 実験にはおなじく Phosphate buffer を pH 6.9 にそれぞれ調製し、Phosphatase 実験には Veronal-HCl buffer を pH 9.0 に調製して各使用した。

作用能は、各所定実験日に孵卵器よりとり出した一定の酵素液 (単独緩衝液加酵素液 A⁰, A¹, A² と混合緩衝液加酵素液 B) 各 6.0 ml づつ試験管に分取し、これに基質 (gelatine および 澱粉液) は各 5.0 ml,

glycerophosphate 液は 2.0 ml) をそれぞれくわえ、一はただちに各酵素作用を停止させ (a), 他はさらに 6 時間孵卵器内に置いたのち酵素作用を停止させ (b), Cathepsin 実験では Kjeldahl 法により窒素量 (残余窒素量) を, Amylase 実験では Bertrand 法で還元性物質をはかつて葡萄糖量を, Phosphatase 実験では Neumann 磷酸定量法永富変法で磷酸量を測定したが, 各滴定値における直後値 (a) と 6 時間作用値 (b) との差 (a-b) をもつて Cathepsin, Amylase および Phosphatase の作用能をしめした.

なお骨抽出酵素液の調製法は, 前記失血死させたイヌの大腿骨の骨端にちかい一部を鋸断し, 出来るだけ細片となし, 10 倍量の Chloroform-water によつて室温で 7 日間抽出したものを酵素液とし, 37°C の孵卵器内に置き, 所定実験日 (当日, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 および 30 日目) にとり出して, 一定量を 2 本の試験管に分取し, 基質 glycerophosphate 溶液をくわえ, 1 本はただちに三塩化酢酸をくわえて酵素作用を停止させ (直後値), 他の 1 本はさらに 6 時間孵卵器に置いたのち酵素作用を停止させ (6 時間値), 上述の磷酸定量法によつて磷酸を定量したが, 滴定値において直後値 (a) と 6 時間値 (b) との差 a-b をもつて Phosphatase 作用能をしめした.

実験成績ならびに考察

1. 肝臓抽出酵素液における Cathepsin 作用の逐日的消長について (表 4, 5 および 6)

表 4, 5 および 6 は同一実験を 3 回おこなつた成績であるが, 肝臓抽出液に Cathepsin の至適緩衝液のみをくわえた酵素液 (A^c) および Cathepsin, Amylase, Phosphatase の各至適緩衝液を混和した酵素液 (B) における Cathepsin の gelatine 分解能は, 表 4, 5 ならびに 6 にみられるように, ほぼ逐日的に漸減をしめすが, 20 日間孵卵器内においた場合でもなお gelatine 分解能を存している。しかし B 酵素液では A^c 酵素液にくらべ, 基質分解能の減弱がつよく, 20 日後においては, そのほぼ 1/2 に分解能は減弱した。

すなわち, Cathepsin の至適 pH の緩衝液をくわえた酵素液では孵卵器内に 20 日間置いてもなお gelatine 分解能を存しているが, Cathepsin の至適緩衝液の他に, Amylase および Phosphatase の各至適緩衝液を混じている酵素液の Cathepsin の

Tab. 4. Decays of the proteolytic activity of cathepsin with the time elapsed (No. 1)

groups	A ^c		B		
	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml	
the day	a	20-11.0=9.0	2.8	20-9.0=11.0	2.6
	b	20-8.2=11.8		20-6.4=13.6	
1	a	20-14.0=6.0	2.8	15-6.5=8.5	2.4
	b	20-11.2=8.8		15-4.1=10.9	
2	a	15-7.9=7.1	2.6	20-13.2=6.8	2.3
	b	15-5.3=9.7		20-10.9=9.1	
3	a	15-9.0=6.0	2.5	15-5.0=10.0	1.3
	b	15-6.5=8.5		15-3.7=11.3	
4	a	15-8.1=6.9	2.4	15-2.7=12.3	1.1
	b	15-5.7=9.3		15-1.6=13.4	
5	a	15-8.8=6.2	2.3	15-4.6=10.4	0.9
	b	15-6.5=8.5		15-3.7=11.3	
6	a	15-9.7=5.3	2.2	15-5.3=9.7	0.9
	b	15-7.5=7.5		15-4.4=10.6	
7	a	15-8.2=6.8	2.1	15-5.5=9.5	0.8
	b	15-6.1=8.9		15-4.7=10.3	
8	a	15-7.8=7.2	1.9	15-6.0=9.0	0.7
	b	15-5.9=9.1		15-5.3=9.7	
9	a	15-6.4=8.6	1.7	15-5.9=9.1	0.7
	b	15-4.7=10.3		15-5.2=9.8	
10	a	15-7.2=7.8	1.5	15-5.2=9.8	0.7
	b	15-5.7=9.3		15-4.5=10.5	
11	a	15-7.2=7.8	1.3	15-5.8=9.2	0.5
	b	15-5.9=9.1		15-5.3=9.7	
12	a	15-7.2=7.8	1.3	15-4.4=10.6	0.6
	b	15-5.9=9.1		15-3.8=11.2	
13	a	15-5.9=9.1	1.4	15-6.3=8.7	0.6
	b	15-4.5=10.5		15-5.7=9.3	
14	a	15-4.1=10.9	1.3	15-4.8=10.2	0.4
	b	15-2.8=12.2		15-4.4=10.6	
15	a	15-3.9=11.1	1.2	15-3.8=11.2	0.5
	b	15-2.7=12.3		15-3.3=11.7	
20	a	15-5.0=10.0	1.1	15-2.1=12.9	0.3
	b	15-3.9=11.1		15-1.8=13.2	

gelatine 分解能が Cathepsin 至適緩衝液のみをくわえた場合の約 1/2 しかなかつたわけで, 肝臓を glycerol-water で抽出した酵素液中には Cathepsin の他に Amylase や Phosphatase 等の各種の酵素があつて, それらの酵素の至適緩衝液をくわえること

Tab. 5. Decays of the proteolytic activity of cathepsin with the time elapsed (No.2)

groups		A ⁰		B	
days		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	20-8.7=11.3	3.1	20-11.2=8.8	2.7
	b	20-5.6=14.4		20-8.5=11.5	
1	a	20-12.0=8.0	2.9	20-11.0=9.0	2.3
	b	20-9.1=10.9		20-8.7=11.3	
2	a	15-9.6=5.4	2.9	15-6.7=8.3	2.3
	b	15-6.7=8.3		15-4.4=10.6	
3	a	15-8.8=6.2	2.7	15-7.6=7.4	2.1
	b	15-6.1=8.9		15-5.5=9.5	
4	a	15-6.4=8.6	2.6	15-7.3=7.7	2.2
	b	15-3.8=11.2		15-5.1=9.9	
5	a	15-8.3=6.7	2.6	15-5.9=9.1	2.1
	b	15-5.7=9.3		15-3.8=11.2	
6	a	15-7.8=7.2	2.1	15-5.5=9.5	1.9
	b	15-5.7=9.3		15-3.6=11.4	
7	a	15-7.7=7.3	2.3	15-6.3=8.7	1.6
	b	15-5.4=9.6		15-4.7=10.3	
8	a	15-7.9=7.1	2.1	15-6.1=8.9	1.3
	b	15-5.8=9.2		15-4.8=10.2	
9	a	15-8.0=7.0	1.9	15-7.4=7.6	1.1
	b	15-6.1=8.9		15-6.3=8.7	
10	a	15-7.2=7.8	1.9	15-6.7=8.3	0.9
	b	15-5.3=9.7		15-5.8=9.2	
11	a	15-6.4=8.6	1.7	15-2.5=4.5	0.8
	b	15-4.7=10.3		15-6.7=8.3	
12	a	15-5.2=9.8	1.6	15-8.5=6.5	0.9
	b	15-3.1=11.4		15-7.6=7.4	
13	a	15-4.4=10.6	1.7	15-6.9=8.1	0.8
	b	15-2.7=12.3		11-6.1=8.9	
14	a	15-4.3=10.7	1.5	15-7.6=7.4	0.7
	b	15-2.8=12.2		15-6.9=8.1	
15	a	15-4.4=10.6	1.3	15-6.4=8.6	0.7
	b	15-3.1=11.9		15-5.7=9.3	
20	a	15-4.0=11.0	1.1	15-8.1=6.9	0.4
	b	15-2.9=12.1		15-7.7=7.3	

によつて gelatine 分解能が減弱するともかかんがえられるが、各 pH の緩衝液を混和することによつて、酵素液中の pH が Cathepsin に至適でなくなるために gelatine 分解能の減弱度が大きくなるともかかんがえられる。

Tab. 6. Decays of the proteolytic activity of cathepsin with the time elapsed (No.3)

groups		A ^c		B	
days		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	20-10.2=9.8	3.1	20-7.9=12.1	2.7
	b	20-7.1=12.9		20-5.2=14.8	
1	a	20-11.2=8.8	3.1	20-6.1=13.9	2.4
	b	20-8.1=11.9		20-3.7=16.3	
2	a	15-7.4=7.6	2.9	15-4.7=10.3	2.6
	b	15-4.5=10.5		15-2.1=12.9	
3	a	15-6.6=8.4	2.8	15-4.5=10.5	2.1
	b	15-3.8=11.2		15-2.4=12.6	
4	a	15-8.3=6.7	2.9	15-5.0=10.0	1.8
	b	15-5.4=9.6		15-3.2=11.8	
5	a	15-9.9=5.1	2.7	15-6.8=8.2	1.6
	b	15-7.2=7.8		15-5.2=9.8	
6	a	15-7.6=7.4	2.5	15-6.5=8.5	1.4
	b	15-5.1=9.9		15-5.1=9.9	
7	a	15-8.3=6.7	2.6	15-6.2=8.8	1.5
	b	15-5.7=9.3		15-4.7=10.3	
8	a	15-9.0=6.0	2.3	15-7.0=8.0	1.4
	b	15-6.7=8.3		15-5.6=9.4	
9	a	15-6.9=8.1	2.1	15-6.0=9.0	1.3
	b	15-4.8=10.2		15-4.7=10.3	
10	a	15-7.1=7.9	1.9	15-6.0=9.0	1.1
	b	15-5.2=9.8		15-4.9=10.1	
11	a	15-5.0=10.0	1.9	15-7.0=8.0	0.9
	b	15-3.1=11.9		15-6.1=8.9	
12	a	15-4.5=10.5	1.8	15-7.2=7.8	0.8
	b	15-2.7=12.3		15-6.4=8.6	
13	a	15-6.3=8.7	1.8	15-6.1=8.9	0.7
	b	15-4.5=10.5		15-5.4=9.6	
14	a	15-5.4=9.6	1.6	15-8.0=7.0	0.6
	b	15-3.8=11.2		15-7.4=7.6	
15	a	15-4.1=10.9	1.5	15-7.1=7.9	0.6
	b	15-2.6=12.4		15-6.5=8.5	
20	a	15-3.5=11.5	0.8	15-7.6=7.4	0.4
	b	15-2.7=12.3		15-7.2=7.8	

2. 肝臓抽出酵素液における Amylase 作用の逐日の消長について(表7, 8および9)

肝臓抽出酵素液に Amylase の至適緩衝液のみをくわえた酵素液(A^a)および Amylase, Cathepsin, Phosphatase の各至適緩衝液を混和した酵素液(B)

Tab. 7. Decays of the saccharificating activity of amylase with the time elapsed

(No. 1)

groups		A ^a		B	
		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	0.6	0.2	0.4	0.2
	b	0.8		0.6	
1	a	0.2	0.2	0.3	0.1
	b	0.4		0.4	
2	a	0.05	0.15	0.1	0.05
	b	0.2		0.15	
3	a	0.1	0.1		
	b	0.2			

Tab. 8. Decays of the saccharificating activity of amylase with the time elapsed

(No. 2)

groups		A ^a		B	
		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	0.9	0.3	0.3	0.3
	b	1.2		0.6	
1	a	0.5	0.2	0.4	0.2
	b	0.7		0.6	
2	a	0.65	0.1	0.1	0.05
	b	0.75		0.15	
3	a	0.3	0.05	0.05	0.05
	b	0.35		0.10	
4	a	0.05	0.05		
	b	0.10			

における Amylase の澱粉分解能は表 7, 8 および 9 にみられるように最初からきわめてよわく、したがって孵卵器内におかれた場合には短時間で分解能が減弱し、4~5 日目にはすでに全く消失してしまつた。

すなわち、肝臓を glycerol-water で抽出し、Amylase の至適緩衝液をくわえた酵素液における Amylase の澱粉分解能はきわめてよわく、37°C の

Tab. 9. Decays of the saccharificating activity of amylase with the time elapsed (No. 3)

groups		A ^a		B	
		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	0.6	0.2	0.35	0.3
	b	0.8		0.65	
1	a	0.25	0.2	0.2	0.15
	b	0.45		0.35	
2	a	1.0	0.1	0.2	0.1
	b	1.1		0.3	
3	a	0.1	0.05	0.05	0.05
	b	0.15		0.10	

孵卵器内では 3~4 日で消失し、Amylase 以外の Cathepsin および Phosphatase の至適緩衝液を混和してもほとんど同様の成績で、他の緩衝液の混和による影響がみられなかつたが、これはもともと Amylase の澱粉分解能が減弱しているためと推せられる。

3. 肝臓抽出酵素液における Phosphatase 作用の逐日的消長について (表 10, 11 および 12)

肝臓抽出酵素液に Phosphatase の至適緩衝液のみをくわえた場合 (A^p) および Phosphatase, Amylase, Cathepsin の各至適緩衝液を混和した場合 (B) における Phosphatase の glycerophosphate 分解能は、表 10, 11 および 12 にみられるように、ほぼ逐日的に減弱するが、孵卵器内におかれた場合 20 日目においてもなお分解能を存しており、ただ減弱の度合は A^p の方が B よりもやや著明で、B の減弱度は緩徐であつた。

すなわち、Phosphatase の至適緩衝液を単独にまたは混和して肝臓抽出酵素液にくわえて孵卵器内に置いた場合には、逐日的に減弱しながらも 20 日目でもなお glycerophosphate 分解能を存し、その減弱の度合は Phosphatase の至適緩衝液のみを単独にくわえた場合の方が、Phosphatase の他に、Amylase および Cathepsin の各至適緩衝液を混和添加した場合よりも大であつた。その理由については分明にしがたいが、Phosphatase は活性炭と持炭がゆるく結合して pH の変化等によつて容易に解離する酵素であるから、Phosphatase, Amylase および

Tab. 10. Decays of the esterificating activity of phosphatase with the tim elapsed (liver ekstrakt)

No. 1

groups	Ap		B	
	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	10- 4.1= 5.9	20- 8.4=11.6	1.6
	b	10- 2.9= 7.1	25-11.8=13.2	
1	a	10- 5.5= 4.5	20- 9.0=11.0	1.5
	b	10- 4.2= 5.8	25-12.5=12.5	
2	a	10- 5.4= 4.6	20- 7.2=12.8	1.4
	b	10- 4.3= 5.7	25-10.8=14.2	
3	a	10- 6.0= 4.0	20- 9.0=11.0	1.1
	b	15-10.1= 4.9	20- 7.9=12.1	
4	a	15-10.5= 4.5	20-10.5= 9.5	1.3
	b	10- 4.7= 5.3	20- 9.2=10.8	
5	a	10- 4.5= 5.5	20-12.2= 7.8	1.1
	b	10- 3.8= 6.2	20-11.1= 8.9	
6	a	10- 5.0= 5.0	20-12.0= 8.0	1.3
	b	10- 4.2= 5.8	20-10.7= 9.3	
7	a	10- 4.4= 5.6	20-12.8= 7.2	1.1
	b	15- 8.8= 6.2	20-11.7= 8.3	
8	a	15-11.4= 4.6	15- 9.2= 5.8	1.0
	b	15-11.1= 4.9	15- 8.2= 6.8	
9	a	10- 5.3= 4.7	15- 8.6= 6.4	0.8
	b	10- 4.8= 5.2	15- 7.8= 7.2	
10	a	10- 6.1= 3.9	15- 6.6= 8.4	0.8
	b	10- 5.7= 4.3	15- 5.8= 9.2	
11	a	10- 6.4= 3.6	15- 8.4= 6.6	0.7
	b	10- 6.1= 3.9	15- 7.7= 7.3	
12	a	10- 6.5= 3.5	15- 8.4= 6.6	0.6
	b	10- 6.3= 3.7	15- 7.8= 7.2	
13	a	10- 6.7= 3.3	15- 8.6= 6.4	0.4
	b	10- 6.6= 3.4	15- 8.2= 6.8	
14	a	10- 6.9= 3.1	10- 3.6= 6.4	0.4
	b	10- 6.8= 3.2	10- 3.2= 6.8	
15	a	10- 7.2= 2.8	10- 3.2= 6.8	0.5
	b	5- 2.1= 2.9	10- 2.7= 7.3	
20	a	5- 1.0= 4.0	10- 6.1= 3.9	0.3
	b	5- 0.9= 4.1	10- 5.8= 4.2	

Cathepsin の各至適 pH の緩衝液を混和することによつて、Phosphatase の至適 pH (9.0) の緩衝液のみをくわえた場合よりも大なる安定度をしめすよ

Tab. 11. Decays of the esterificating activity of phosphatase with the time elapsed (liver ekstrakt)

No. 2

groups	Ap		B	
	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	16.8-10.2=5.6	11.8- 5.0=6.8	1.3
	b	16.5- 9.8=6.7	14.6- 6.5=8.1	
1	a	17.2-12.0=5.2	8.6- 5.5=3.1	1.3
	b	16.9-10.6=6.3	7.7- 3.3=4.4	
2	a	15.2- 7.9=7.3	12.5- 7.2=5.3	1.2
	b	15.8- 9.4=6.4	12.3- 5.8=6.5	
3	a	13.8- 8.9=4.9	11.6- 6.4=5.2	1.1
	b	12.6- 6.9=5.7	13.8- 7.5=6.3	
4	a	12.6- 7.4=5.2	10.5- 6.3=4.2	1.1
	b	13.5- 7.7=5.8	8.9- 3.6=5.3	
5	a	10.7- 7.4=3.3	10.1- 7.0=3.1	0.9
	b	10.3- 6.5=3.8	13.2- 9.2=4.0	
6	a	11.9- 7.2=4.7	8.8- 4.7=4.1	0.8
	b	11.8- 6.6=5.2	7.9- 3.0=4.9	
7	a	11.5- 7.3=4.2	8.5- 5.4=3.1	0.8
	b	10.9- 6.4=4.5	6.4- 5.5=3.9	
8	a	9.8- 6.6=3.2	11.2- 8.3=2.9	0.7
	b	9.5- 6.2=3.3	13.1- 9.5=3.6	
9	a	8.9- 6.1=2.8	10.4- 6.2=4.2	0.7
	b	9.3- 6.4=2.9	11.6- 6.7=4.9	
10	a	6.9- 3.8=3.1	8.9- 5.2=3.7	0.6
	b	7.4- 4.2=3.2	9.3- 5.0=4.3	
11	a	9.8- 5.7=4.1	8.5- 5.4=3.1	0.6
	b	9.9- 5.6=4.3	7.8- 4.1=3.7	
12	a	7.4- 3.5=3.9	6.3- 2.2=4.1	0.3
	b	8.2- 4.2=4.0	7.8- 3.4=4.4	
13	a	6.9- 3.2=3.7	4.6- 2.3=2.3	0.3
	b	6.3- 2.5=3.8	5.6- 3.0=2.6	
14	a	5.2- 2.7=2.5	4.2- 2.1=2.0	0.4
	b	5.9- 3.2=2.7	3.9- 1.4=2.5	
15	a	5.4- 3.1=2.3	4.1- 2.1=2.0	0.3
	b	11.2- 8.8=2.4	4.7- 2.4=2.3	
20	a	6.5- 3.3=3.2	2.8- 1.7=1.1	0.3
	b	7.1- 3.8=3.3	3.3- 1.9=1.4	

うになり、そのためにPhosphatase 作用能 (glycerophosphate 分解能) に差があるのではなからうかと推察される。

Tab. 12. Decays of the esterificating activity of phosphatase with the time elapsed (liver extract)
No. 3

groups		A _p		B	
		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	15.0-8.6=6.4	1.3	20.6-14.0=6.6	1.5
	b	12.5-4.8=7.7		21.3-13.2=8.1	
1	a	16.3-8.8=7.5	1.1	20.3-13.8=6.5	1.4
	b	14.3-7.7=8.6		23.6-15.7=7.9	
2	a	16.0-9.0=7.0	0.9	19.8-16.9=2.9	1.4
	b	15.7-7.8=7.9		21.4-17.1=4.3	
3	a	13.8-8.0=5.8	0.9	19.3-15.7=3.6	1.2
	b	14.4-7.7=6.7		18.6-13.8=4.8	
4	a	14.3-9.3=5.0	0.6	18.5-15.0=3.6	1.1
	b	14.9-6.3=5.6		19.3-14.7=4.6	
5	a	12.8-6.3=6.5	0.7	18.6-14.0=4.6	1.2
	b	14.2-7.0=7.2		16.8-11.0=5.8	
6	a	10.8-5.0=5.8	0.5	15.8-11.7=4.1	1.1
	b	13.6-7.3=6.3		18.6-13.4=5.2	
7	a	11.3-5.4=5.9	0.3	19.3-15.4=3.9	1.0
	b	12.3-6.1=6.2		19.7-14.8=4.9	

8	a	14.2-9.7=4.5	0.3	18.5-15.2=3.3	0.9
	b	13.8-9.0=4.8		17.8-13.6=4.2	
9	a	12.8-7.7=5.1	0.2	14.6-11.6=3.0	0.9
	b	11.9-6.6=5.3		18.5-14.6=3.9	
10	a	16.2-11.5=4.7	0.1	11.6-8.6=3.0	0.7
	b	15.8-11.0=4.8		16.7-13.0=3.7	
11	a	10.6-6.8=3.8	0.1	10.9-7.2=3.7	0.6
	b	12.8-8.9=3.9		12.3-8.0=4.3	
12	a	10.3-6.6=3.7	0.2	9.8-5.7=4.1	0.7
	b	11.3-7.4=3.9		11.5-6.7=4.8	
13	a	9.8-6.1=3.7	0.1	9.7-6.6=3.1	0.6
	b	7.9-4.1=3.8		8.8-5.1=3.7	
14	a	7.9-3.8=4.1	0.1	9.3-5.1=4.2	0.6
	b	8.8-4.6=4.2		8.7-3.9=4.8	
15	a	8.9-6.2=2.7	0.1	7.3-3.3=4.0	0.5
	b	7.9-5.1=2.8		8.2-4.7=3.5	
20	a	6.3-3.5=2.8	0.1	6.9-3.0=3.9	0.3
	b	4.3-1.4=2.9		7.4-3.2=4.2	

4. 骨抽出酵素液における Phosphatase 作用の逐日的消長について (表13)

孵卵器内におかれた骨抽出酵素液の Phosphatase 作用能 (glycerophosphate 分解能) は, 表13にみら

Tab. 13. Decays of the esterificating activity of phosphatase with the time elapsed (bone extract)

groups No.		No. 1		No. 2		No. 3	
		titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml	titration value ml	a-b ml
the day	a	29.7-10.5=19.2	2.5	30.7-9.7=21.0	1.7	35.8-14.8=21.0	2.8
	b	31.2-9.5=21.7		27.3-4.6=22.7		28.5-14.7=23.8	
1	a	28.6-11.2=17.4	2.4	25.3-7.0=18.3	1.5	31.6-11.7=19.9	2.5
	b	30.3-10.5=19.8		26.8-7.0=19.8		33.4-11.0=22.4	
2	a	26.6-10.0=16.6	2.3	19.8-1.9=17.9	1.3	32.1-13.7=18.4	2.3
	b	30.5-11.6=18.9		19.9-0.7=19.2		34.3-13.6=20.7	
3	a	25.3-8.2=17.1	2.1	21.4-4.3=17.1	1.4	29.6-11.7=17.9	1.9
	b	27.8-9.5=19.2		23.6-5.1=18.5		28.7-8.9=19.8	
4	a	21.4-7.1=14.3	1.9	24.3-6.2=18.1	1.2	25.3-7.8=17.5	1.9
	b	24.2-8.0=16.2		25.2-5.9=19.3		24.9-5.5=19.4	
5	a	21.2-7.3=13.9	2.0	22.3-5.0=17.3	1.1	27.8-11.8=16.6	1.7
	b	21.3-5.4=15.9		23.6-5.2=18.4		29.7-11.4=18.3	

10	a	14.6 - 6.5 = 8.1	1.2	14.5 - 6.1 = 8.4	0.8	19.2 - 10.0 = 9.2	1.2
	b	13.9 - 4.6 = 9.3		13.8 - 4.6 = 9.2		18.7 - 8.3 = 10.4	
20	a	10.8 - 4.4 = 6.4	0.8	12.1 - 6.3 = 5.8	0.5	16.8 - 9.3 = 7.5	0.8
	b	12.1 - 4.9 = 7.2		10.8 - 4.5 = 6.3		15.9 - 7.6 = 8.3	
30	a	8.6 - 3.3 = 5.3	0.5	7.8 - 3.3 = 4.5	0.3	10.3 - 5.0 = 5.3	0.6
	b	9.7 - 3.9 = 5.8		7.6 - 2.8 = 4.8		14.9 - 9.0 = 5.9	

れるように、逐日的に多少減弱するが30日目においてもなおみとめられる。このことは R. Robison¹⁹⁾も Bone phosphatase についての彼の序説のなかで触れ、数ヶ月間もその作用を消失しないのであつていとおりである。

結 語

失血死させたイヌの肝臓より抽出した酵素液の Cathepsin, Amylase および Phosphatase 各作用能ならびにイヌの大腿骨より抽出した酵素液の Phosphatase 作用能の孵卵器内における消長を逐日的に実験し、つぎの結論をえた。

1. 肝抽出酵素液の Cathepsin 作用能は20日目

でもなおみとめられ、酵素液に、Cathepsin の至適緩衝液のみならず Phosphatase および Amylase の各至適緩衝液をも混ざると Cathepsin の作用能は半減する。

2. 肝抽出酵素液の Amylase 作用能は3~4日で消失する。

3. 肝抽出酵素液の Phosphatase 作用能は20日目でもなおみとめられ、酵素液に Phosphatase の至適緩衝液以外に、Cathepsin および Amylase の各至適緩衝液をも混ざると Phosphatase の作用能はつよくなる。

4. 骨抽出酵素液の Phosphatase 作用能は30日目でもなお充分みとめられる。

第3編 死体臓器組織抽出酵素液における Amylase 作用の経時的消長について

結 言

動物組織における代表的な酵素である Cathepsin, Amylase および Phosphatase のなかで、Amylase がもつとも特異な消長をしめすことが基礎実験の成績から判明したので、肝臓だけでなく、他の2, 3臓器組織についても、死後比較的みちかい時間のあいだに Amylase 作用能が興味ある消長をしめすのではないかと推察されたので、あるいはそれによつて死後経過時間推定の一にも資せんために本編の実験をおこなつた。

実験材料ならびに実験方法

実験材料としては 2.5kg 内外の成熟健康ウサギを空気栓塞死させ、夏季 (28~32°C)、春秋 (18~23°C) および冬季 (1~5°C) の各時期に、腐敗実験室内に放置し、30分、1, 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60 および72時間後に所定の各ウサギを開腹して、

それぞれ脳、肺、肝、腎ならびに大腿筋の一部を無菌的に剔出切取り、生理的食塩水で充分清浄し、水分や血液を可及的に除去したのち秤量し、乳鉢にいれ、臓器の10倍量の glycerol-water (1:1) をくわえて Merck 製海砂とともに磨砕し、toluene の重層下で 37°C 孵卵器内で4時間自家融解したのち、0°C の水室内で1夜抽出し、Seitz の濾過器をもちいて吸引濾過した液を5倍量の滅菌蒸留水で稀釈し、これを酵素液として実験に供した。

すなわち、基質には2%可溶性澱粉溶液 5.0ml、上記の酵素液 5.0 ml および Sørensen の phosphate buffer 5.0ml の混合液を 37°C の孵卵器内に24時間置いたのち、適量の phosphotungstic acid をくわえて濾過し、濾液の一定量について還元性物質を Bertrand 変法で測定し、これを glucose としてあらわし、他方前記澱粉液あるいは酵素液のかわりに同量の蒸留水をくわえて盲験をおこない、本実験の

glucose 量から盲験値をさしひき、実際に澱粉が酵素によつて分解、生成した glucose の量をもとめ、これをもつて臓器 Amylase 作用のつよさをしめすこととした。

実験成績ならびに考按

1. 臓器組織 Amylase 作用能における至適 pH について

脳、肺、肝、腎および大腿筋の各臓器組織における Amylase 作用能の至適 pH をしらべるために、pH が 5.90, 6.23, 6.81, 7.16 および 7.73 の 5 種類の Sørensen phosphate buffer を調製使用し、Amylase 作用能 (活性値) が最大をしめす (glucose 量の最多のもの) pH は、脳、肺では 5.90, 肝では 7.73, 腎および筋では 6.81 であった。よつて以後の各実験は上記各臓器の至適 pH 緩衝液で Amylase 作用を検した。

2. 脳、肺、肝、腎および大腿筋抽出酵素液の Amylase 作用能について (表14)

脳、肺、肝、腎および大腿筋に Amylase が存するやいなやを検するため、これら各臓器組織からの抽出酵素液について、本実験方法にのつとつて Amylase 作用能を測定したところ、表14のように、各臓器組織中には Amylase が存在し、その作用能 (澱粉分解能) は、大腿筋でもつとも大、ついで腎、肺、肝の順で、脳では比較的以小であった。

Tab. 14. Amylase activity of the tissue-extract (glucose, mg)

Nrs. of experiments						Aver.
	1	2	3	4	5	
brain	0.89	0.79	1.08	0.96	0.89	0.92
lung	4.75	4.86	4.69	4.73	4.89	4.78
liver	2.15	2.00	2.00	2.35	2.20	2.14
kidney	5.97	6.16	6.13	6.19	6.17	6.12
muscle	8.77	9.25	8.91	9.03	8.89	8.97

3. 夏季における死体臓器組織抽出液の Amylase 作用能の消長について (表15)

室温 28~32°C の夏季における実験では、死体臓器組織抽出酵素液における Amylase 作用能は死後時間の経過とともに激減し、脳および肝では死後18時間までは作用能が存するも、24時間後には全く消失し、肺、腎および筋においても36時間後には同様全く消失した。

4. 春秋季における死体臓器組織抽出液の Amylase 作用能の消長について (表16)

室温 18~23°C の春秋季における実験では、死体臓器組織抽出酵素液における Amylase 作用能は死後時間の経過とともに漸減し、夏季実験と同様、脳および肝で比較的早く消失し、60時間後には全く作用能がみられず、肺、腎および筋でも72時間後には作用能が消失した。

Tab. 15. Decays of amylase activity of the tissue-extracts in summer (28~32°C)

(glucose, mg)

tissues	time (hrs)	just after										
			0.5	1	3	6	12	18	24	36	48	60
brain	0.96	0.69	0.45	0.28	0.13	0.10	0.05	—	—	—	—	—
lung	4.75	2.97	1.79	1.08	0.79	0.32	0.15	0.10	—	—	—	—
liver	2.24	1.49	0.89	0.55	0.32	0.15	0.05	—	—	—	—	—
kidney	6.16	4.75	3.23	1.89	1.45	0.81	0.21	0.10	—	—	—	—
muscle	8.91	6.19	4.37	2.35	2.00	0.79	0.19	0.10	—	—	—	—

Tab. 16. Decays of amylase activity of the tissue-extracts in spring and autumn (18~23°C)

(glucose, mg)

tissues	time (hrs)	just after										
			0.5	1	3	6	12	18	24	36	48	60
brain	0.89	0.73	0.61	0.45	0.37	0.28	0.49	0.38	0.19	0.10	—	—
lung	4.69	4.11	3.23	2.97	2.35	1.89	2.70	2.05	1.08	0.47	0.20	—
liver	2.15	1.79	1.20	0.96	0.79	0.79	1.11	0.79	0.33	0.10	—	—
kidney	6.13	5.21	4.69	4.11	3.59	3.02	3.23	2.35	1.08	0.32	0.15	—
muscle	8.91	7.21	6.19	5.56	4.37	3.59	4.11	3.23	1.89	0.47	0.20	—

Tab. 17. Decays of amylase activity of the tissue-extracts in winter (1~5°C) (glucose, mg)

tissues	time (hrs)	just after	0.5	1	3	6	12	18	24	36	48	60	72
brain		1.08	0.96	0.79	0.61	0.45	0.28	0.31	0.28	0.19	0.13	0.10	0.05
lung		4.86	4.37	3.89	3.59	3.23	2.97	2.35	2.00	1.79	1.45	0.89	0.61
liver		2.35	2.24	2.00	1.89	1.49	1.20	0.96	0.89	0.73	0.61	0.45	0.30
kidney		6.19	5.88	5.21	4.89	4.11	3.65	3.20	2.65	2.03	1.79	1.08	0.89
muscle		9.25	8.89	8.29	7.63	7.21	6.89	6.16	5.51	5.11	3.23	2.00	1.20

5. 冬季における死体臓器組織抽出液の Amylase 作用能の消長について (表17)

室温 1~5°C の冬季における実験では、死体臓器組織抽出酵素液における Amylase 作用能は、死後時間の経過とともに緩減するが、72時間後においてもなお作用能を存していた。

6. 死体の腐敗が冬季の低温時よりも夏季の高温時において著明であることは自明の事実であり、上記の死体臓器組織のなかで腐敗しやすいものは肝、脳、肺、腎、筋の順序であることは Casper のおしえるところであるが、上記の順序で腐敗しやすい肝、脳において他の肺、腎および筋に比し Amylase 作用能がひくいことはきわめて興味のあることである。Amylase 作用能のひくい臓器、したがって糖原分解作用のよわい臓器で腐敗がはやくおこり、また Amylase 作用能がはやく消失することは、死体の腐敗を原因する細菌が無窒素性連鎖化合物 (Stickstofffreie Kette) を獲得するため死体蛋白を分解するかわりに炭水化物を利用するので、炭水化物の存在は死体の腐敗を抑制するものであらうと記載している Specht²⁰⁾ の説に一つの実験的根拠をあたえたと云えるだらう。

結 論

夏季、春秋および冬季に室温に放置したウサギ死体の脳、肺、肝、腎および筋から抽出した各酵素液について Amylase 作用能の消長を経時的に測定し、つぎの結果をえた。

1) 健常ウサギの脳、肺、肝、腎および大腿筋の抽出酵素液には澱粉を水解する作用がある。

2) 夏季実験では、脳、肺、肝、腎および筋各抽出酵素液の Amylase 作用能は、死後急激に減弱し、脳および肝では24時間後、肺、腎および筋では36時間後には消失した。

3) 春秋実験では、脳および肝抽出酵素液の Amylase 作用は死後60時間目、肺、腎ならびに筋では72時間目には消失した。

4) 冬季実験では、脳、肺、肝、腎および筋各抽出酵素液の Amylase 作用能は、死後72時間経過してもなおみとめられた。

この論文は昭和27年、第37次日本法医学会総会および昭和36年第45次日本法医学会総会において発表した。

稿をおわるにあたり遠藤名誉教授の御指導、三上教授の御校閲を深謝します。

文 献

- 1) 神田：日法医誌，6，187(1952)。
- 2) 四方：日法医誌，8，166 (954)。
- 3) 四方・日法医誌，9，220 (1955)。
- 4) 何川・溝井・恵木・高木・栗田：日法医誌 9，216 (1955)，神医紀要，9 (2) (1957)。
- 5) 柚須：日法医誌，11，521 (1957)，日大医誌，17，163 (1958)。
- 6) Camps, F. E. : J. Forensic Science, 4, 80 (1959)。
- 7) 川島・真喜屋：日本消化機誌. 38, 135 (1939)。
- 8) Goldstein, B. : Enzymologia, 1, 256 (1936)。
- 9) Davenport, H. A. : J. biol. chem., 70, 625 (1926)。
- 10) Loeper, M., Lemaire, A. & Tonnet, T. : Soc. Biol., 103, 211 (1930)。
- 11) Lohmann, K. : Biochem. Z., 178, 444 (1926)。
- 12) Lopatin, G. : Med. Biol. Z., 2, 18 : B. ges. Physiol., 37, 420より引用。
- 13) Willstätter, R. & Rohdewald, M. : Hoppe-Seylers' Z., 203, 189 (1931)。
- 14) Bamann, E. & Riedel, E. : Hoppe-Seylers' Z., 229, 125 (1934)。

- 15) Roche, J. : Bull. soc. chim. biol., 13, 841(1931). 19) Robison, R. : Ergebn. d. Enzymforsch., 1,
 16) Robison, R. : Biochem. J., 17, 286 (1923). 280 (1932).
 17) Bamann, E. : Biochem. Z., 286, 147(1936). 20) Specht, W. : Ergebn. d. Allg. Path., 33,
 18) Bamann, E. & Riedel, E. : Hoppe-Seylers' 138 (1937).
 Z., 226, 125 (1934)

Experimental Studies on the Postmortem Changes of Enzymic Activities in the Organs and Tissues

By

Mizuho KANDA

Hideo TAKEMURA

Dept. of Legal Medicine, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Dr. Yoshio MIKAMI)

Keiichi TAKAHAMA

Dept of Legal Medicin, Kumamoto University Medical School

The studies on the changes of the activities of cathepsin, amylase and phosphatase in the enzyme solution extracted from the organs and tissues led to the following results.

Report I. As the fundamental experiment, the activities of Papayotin and Taka-diastase which hydrolysed the substrates (gelatine and starch) was kept still after 144 hours in an incubator, but the activities of them in their mixed solution was lost more rapidly.

Report 2. The activities of cathepsin and phosphatase in the enzyme-solution extracted from the liver and the activity of phosphatase from the femur of the dog was kept still in an incubator after 20 days, but the activity of amylase from the liver was already lost after 3 or 4 days.

Report 3. The activities of amylase in the brain, lung, liver, kidney and the thigh-muscle of the rabbit was lost 24 to 36 hours after death in summer, 60 to 72 hours in spring and autumn, but was kept still 72 hours in winter.