

抗酸化剤（合成グルタチオン-タチオン）の高圧酸素による 出血ショックの治療と高圧癌治療に於ける放射能障害 防護作用に関する意義の実験的研究

京都大学医学部外科学第二講座（指導：木村忠司教授）

梅 村 博 也，久 山 健，松 田 晋，
木 下 研 一，里 村 紀 作，吉 田 良 行

〔原稿受付：昭和42年1月10日〕

The Role of Antioxidants (Synthetic Reductive Type of Glutathione, Tachione) in Inducing the Mortalities of Mice and Dogs Due to the Radioactive Isotope Au^{198} and the Hemorrhagic shock at the Hyperbaric Enviroment

by

HIROYA UMEMURA, TAKESHI KUYAMA, SUSUMU MATSUDA,
KENICHI KINOSHITA, KISAKU SATOMURA and YOSHIYUKI YOSHIDA

From the Second Surgical Department, School of Medicine, Kyoto University

(Director: Professor CHUJI KIMURA)

The huge dosage of radioactive Au^{198} is given intraperitoneally for mice, D. D. S. strain, 40 days old at the hyperbaric enviroment. The injection of glutathione (Tachione) before the exposure of the increased ambient pressure, seems to induce the mortalities of mice due to the inhibitions of oxygenation mechanism in cells by both or either radioactive function and the hyperbaric oxygenation, ten days after the procedures of the above.

Also if the synthetic glutathione (Tachione) is injected with any plasma expanders, for instance, Low Molecular Dextrane to the hemorrhagic shock dogs after bleeding at dog, treated by the hyperbaric oxygenation therapy, the possibilities in succeeding the hyperbaric oxygenationstherapy for the hemorrhagic shock would be supposed to increase.

緒 言

高圧環境下の色々の治療が平圧下よりも強い効果を
示す事はイギリス，米国，オランダ及びイタリーの研
究者群により10年来報告されて来た。我が国でも東京
大学，慈恵医科大学，札幌医科大学，奈良医科大学等
でこの方面の研究開発が行なわれた。この高圧診療の

摘応として出血ショック救急処置及び放射能による癌
治療が最も現在高圧診療として注目されている。所が
高圧酸素実験函（坂東医科工業：S-S型）（写真1及び
2）を京都大学医学部外科4講座合併実験室で設置さ
れた。出血ショック犬を高圧診療後還血しても3~4
時間後原因不明で死亡する。又高圧下の放射能障害に
よる死亡率もマウスで約7日後100%に及ぶ。よつて

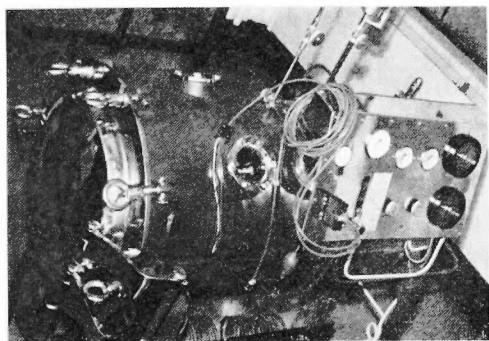


写真 1

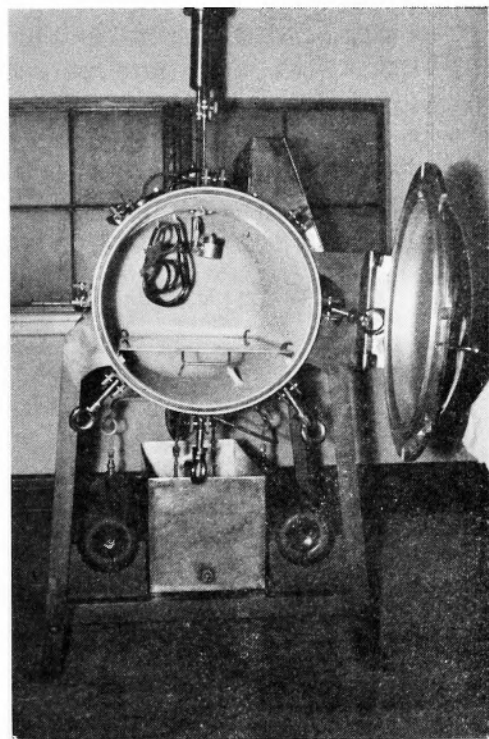


写真 2 高圧酸素実験装置

高圧下同位元素癌治療に於ける放射能有害作用は大きな障害である。この点につて、その死因を生体の Peroxidation とみなして、種々の抗酸化剤併用に着目し、まつグルタシオン(抗酸化作用のある合成タチオン-山之内製薬合成*)について検討した。その外種々の抗酸化剤、特に放射能障害防護作用のつよい、水溶、脂溶性薬剤について薬理学的実験中、ここに合成グルタチオン (Tachion) に関する結果について示す。

アンタイオキシダントの放射能障害防護作用のスクリーニングテストは、原子力開発と共に、数千の化学物質について行なわれたが決定的なものは発見されるに至つていない。それは平圧下で余り統一されない方法である点と、各抗酸化剤も生体の水相か油相かと云う区別も余り注目することなく不統一な使用量による点などスクリーニングの方法に反省する点が多い。よつて一般的に大量用いねばならない点には有効な放射能防護剤共通な悩みである。その点合成グルタチオンは純粋で無毒なものが大量得られる事は意味が多い。又高圧酸素法は放射能障害を誘発する手段として着目してよいと思う。

次に高圧医学では生体の Peroxidation も見のがせない面である。デューク大学に於ける V.E の使用、同じく同大学の赤血球膜の Lipid Peroxidation による高圧の溶血の研究はこれに関する過去の業績である。

本研究は限られた実験例と方法による結論で、更に組織的な研究によりその正否を確認しなければならないが、放射能障害の高圧下での研究や高圧障害と過酸化物の毒性の関連についての一つの研究方法を提示する目的の一助となればと思う。

実験方法及び結果

(I) 放射性金コロイドの放射能障害の高圧下における合成グルタチオン (Tachion) の防衛的薬理作用。

方 法

生後40日目のD.D.S. マウス各 6 匹を別表の様に 4 群に分つ。合成グルタチオン (Tachion) 5 gm per Kilogram を腹腔内投与直後、Au¹⁹⁸ 250mc/kg を同じく腹腔内注射を行なう。その後ただちに SS 式高圧酸素室に入れ、加圧時間 5 分、最高圧相対圧で 2.5 ゲージ圧、ボトム時間 2 時間、減圧時間 35 分 (水深相当深度 90 フィート) の高圧環境におく。加圧 99.9% 酸素 150 気圧 6 リューベの純酸素加圧ボンベ使用す。室温 20°C である。

そして各グループの Au¹⁹⁸ の投与後の生存日数を測定した。Au¹⁹⁸ は日本ダイナボット、1966、12月10日有効時間正午を用いた。

結 果 (表 1 及び図 A)

無処置群及び合成グルタチオン (Tachion) 投与群

* γ -L-glutanyl-L-Cysteinyl-glycine

は1回の高圧露出（純酸素加压）ではいずれも永久生存す。それで本実験法では差は認められない。しかしAu¹⁹⁸単独及びAu¹⁹⁸とグルタチオン併用群は図の様にグルタチオンにより生存日数の延長を認めた事は放射

能性 Au¹⁹⁸ の毒性を高圧下でも防衛する事を意味するであろう。

(II) 出血ショック犬の高圧酸素治療に於ける合成グルタチオン (Tachion) の効果。

表 1 高圧酸素下のAu¹⁹⁸(金コロイド放射性同位元素) 250MC/kg に対する合成グルタチオンの放射能障害防禦作用 (数: 生存匹数)

日 数	H.O.	H.O. + タチオン	H.O. + Au ¹⁹⁸	H.O. + Au ¹⁹⁸ + タチオン
1	6	6	6	6
2	6	6	6	6
3	6	6	1	4
4	6	6	1	2
5	6	6	1	2
6	6	6	1	2
7	6	6	1	1
8	6	6	0	1
9	6	6	0	1
10	6	6	0	1
11	6	6	0	0

タチオン: 合成グルタチオン5gm/kg

H.O.: 高圧酸素療法

方 法

体重 per kilo, 500単位の割に静脈内へヘパリンを注射することにより hepainization された成犬, 8kg~5kg のモンゴル犬, 雄に股動脈に Canulation をして, 自然脱血さすと同時に, 脱血と殆んど同速度に低分子デキストラン (分子量 4 万~6 万, 日本緑十字及び第五栄養株式会社製) を股静脈より注入する稀釈法で行なつた。図の様に, 同じ高圧酸素療法実験装置により加压した。脱出は10分以内, 高圧下収容は脱血終了直後に行なわれた。ヘマトクリットと血色素量値は脱血前, 後に行なわれた。SS 式高圧室に 附属の点滴セットにより, デキストラン, 300 ml に犬の体重 per kilo 50mg 合成グルタチオンを各実験犬 (OHP とグルタチオンのグループ) に高圧下に注入静脈投与を行なう。

結 果 (表 2 及び図 B)

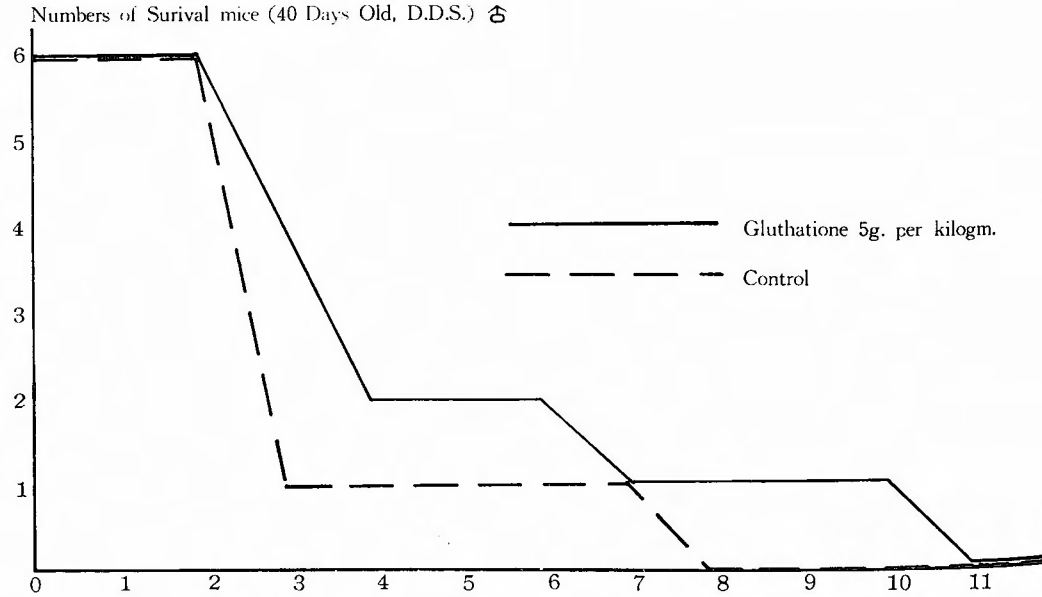


図 A Protective Effects of Glutathione Against Radioac- tive Lesion Au¹⁹⁸ (250 Mc / kg) at hyperbaric Enviroment as same as 25 m deep Underwater.

Numbers of Days after Radioactive Lesion Au¹⁹⁸ at Hyperbaric Oxygenation 100% (Three-nine pure O₂)

各実験犬は実験前より一定時間の絶食をしても、ヘマトクリプト、血色素値が夫々異なる上に、血液稀釈に対するそれぞれの犬によつて近似したヘマトクリプトとザリー値について同じ脱血 効果を示すためには、それぞれ異なつたデキストラン量を同一体重kgあたりの脱血量でも注入されねばならない。しかし高圧

治療しない対照群よりは高圧治療群が良いが永久生存は無い。しかし一合成グルタチオン (Tachione) を併用群は永久生存例を得た。

その外、フルクトン (大塚製薬製フルクトーゼ5%溶液) プラスミン (住友化学製、アミノ酸とアルギン酸の混合溶液) 及び犬血清についてそれぞれ脱血稀釈

表 2 高圧酸素による出血ショック治療のタチオンー合成グルタチオンの効果に関する実験

(群)	体重 (kg)	抜去血量 (ml)	注入デキストラン量 (ml)	ヘマトクリプト (%)		血色素量 (%)		結 果	高圧酸素時間		
				前	後	前	後		加圧	ボトム	減圧
(対照群)	8.2	400	400	29	13	70	30	脱血後15'死亡	0	0	0
	5.0	450	450	26	10	65	23	脱血後40'死亡	0	0	0
	8.2	700	740	35	10	48	10	脱血後75'死亡	0	0	0
(高圧酸素群)	7.0	500	1200	55	16	26	11	脱血後185'死亡	11'	1°30'	35'
	8.8	600	750	38	9.5	72	7	脱血後292'死亡	12'	1°30'	35'
	7.5	600	1200	28	12	60	23	脱血後291'死亡	13'	1°19'	35'
(タチオンー高圧酸素群)	7.0	400	800 + タチオン350mg	25	6.5	50	14	脱血後177'死亡	12'	1°30'	35'
	8.0	500	600 + タチオン400mg	49	16	50	20	生 存	11'	1°24'	35'
	8.0	600	600 + タチオン400mg	53	17	91	25	生 存	15'	1°15'	35'

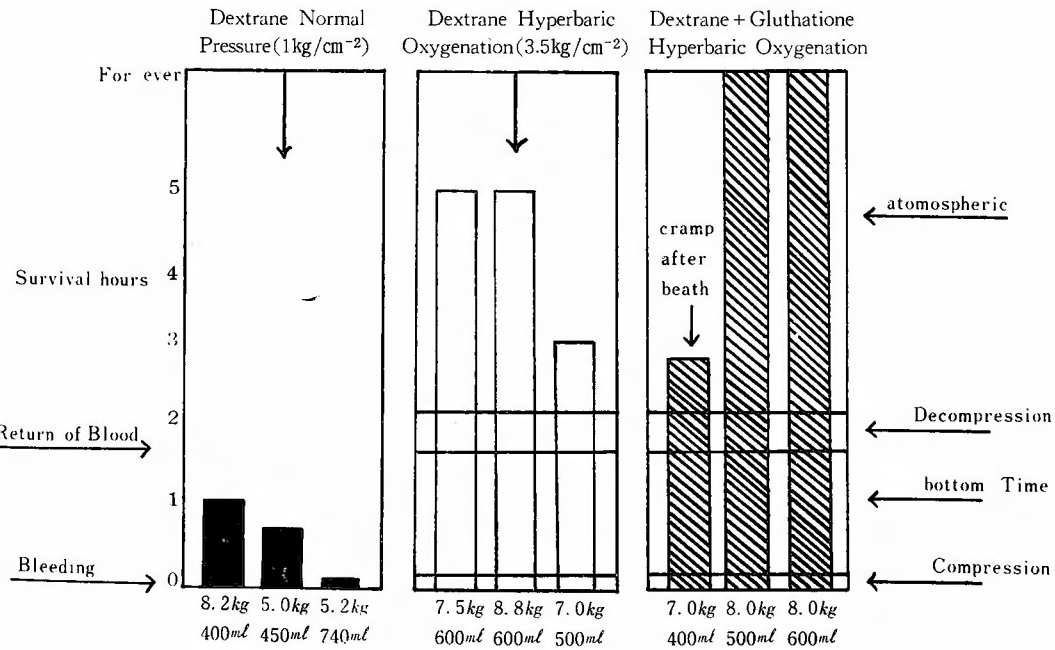


図 B Survival Time after Hemorrhage at Hyperbaric Research
(up : weighing each dog) (down : Volume of arterial Blood drawn)

実験を行なつて高压治療群の生存時間を比較検討し、もつとも生理的条件下に近い犬血清群が卓越した結果を得るも永久生存例は、グルタチオン添加 Plasma Expander 群の様に得られなかつた。しかしその外*チクローム添加 Plasma Expander で血液置換しても、この実験方法ではグルタチオン（水溶性抗酸化剤）添加群の様に永久生存例はなくとも、高压処置が有効を示す如く生存時間は延長している。現在、実験前チクローム系は長期間頻回に与えて細胞にかなりの蓄積をはかつておくべきであつて、グルタミオンとはかなり意味がちがう様であるので、Vitamine Eと共に検討中である。そこでこの高压治療後数時間の死亡を腎障害によると考え、P.S.P.ナトリウムカリウム、N.P.N.の面で検討するに差異はなかつた。よつて本実験ではこの死亡原因が放射能障害に類する Peroxidation に関係があると推察した。すべての実験で平圧にもどす時、脱血量の1/3~1/2還血し、実験終了時には総計1/2の血液が脱血瓶より犬に返されている。

その外特記すべきは、グルタミオン群中、死亡後、呼吸運動と心搏動停止、瞳孔散大による死の確認後40分して前肢、後肢、肋間筋、頸筋より上下頸筋の順で間代性攣縮より遂に生存時の如く四肢をうごかして5分間持続す。これと似ているが、その程度の劣る死後反応がその他の群にも認められた。これは移植片の高压酸素曝での保存の意義と関連あるのではないかと想像した。

考 察

アンタイオキシダントは1940年代よりその開発研究は放射能障害防御を主軸として、種々生体新陳代謝障害の治療効果について進められた。それ以前では農薬、天然樹脂及び食品加工工業において製品貯蔵中自然発生する酸化反応を抑える触媒的微量物質として開発された。天然樹脂や天然油脂の中にはこのアンタイオキシダントがアミン等の型で極微量含有され、（例えば胡麻油中のセザミン）、食品工業において純度上昇とともに酸敗され易い傾向がある。その原因としてこう云う物質が有ることが注目された。それで人造バターその他の天然物模品に添加して酸化するのを防ぐ目的で数多くの天然品や合成品の抗酸化剤が発表された。その後、肝障害、皮膚疾患、その他の中にO≡O型の Peroxidation を主体とする疾患と放射能障害特に原子爆弾症の症状と近似するので、その本体は

O- O) 又はO≡O型の Peroxidation であると主張され、更に放射能、特にγ線による癌治療の本体も Peroxidation によると考えラジオドトキシンと名づけた人もある。実際にマウスに大量のチオ硫酸ソーダ（ハイポ）の結晶を経口投与をすると胸部に大量のレントゲンを照射する時発生する水腫的反応を抑制する。しかし生体中に発生する酸化機構の場を、油相、及び水相に分けると、前者では不飽和脂肪酸、後者ではアミノ酸や糖の分解産物が問題となる。

この様に放射能の癌治療の複雑なる機序を単純、模型的に考える事に異論をもつものであるが、放射能、抗癌物質の作用が高压と云う環境因子で新陳代謝を増強すると共に強化されることは異論はない。しかも癌治療に関しては、癌細胞に少くあつまり、主として正常組織に集るアンタイオキシダントが必要であろう。もし Peroxide と云う 特定のものを考へずとも、Oxidation の促進が癌細胞に対する各種抗癌力の癌細胞の毒性をすすめる反面、正常細胞に対する毒性や酸化による新陳代謝の破壊を如何にして防ぐかと云う事が問題になる。それでグルタチオンの様な正常新陳代謝産物を抗酸化物質として大量投与すると主として正常細胞に集つて還元力を発揮すると予想し癌細胞には少いとみている。癌治療に対する高压医学の意味、更にグルタチオンの併用効果はこの様な仮説によつてしか説明出来ないのは残念である。

所が癌に限らず高压医学全部間についても各種アンタイオキシダントの活用は反省する必要がある。生体に投与する抗酸化剤として、各種還元剤、（ハイポ、Vitamine C）、生体の酸化還元に関与するカタライザーの性格より、SH、-S-S-基型化合物としての作用物質（チチスチン、；オロトン酸、チオクト酸；グルタチオン）と全く触媒的作用物質の3種ある。現在迄、色々の抗酸化剤が報告されたがアンタイオキシダントの効果と無毒性をみとめられて、医薬として一般化されたものはハイポ、グルタチオン、Vitamine C、γ-トコフェロールとオロトン酸、チオクト酸等があり、チクローム系も深い関係があると云う定説になつている。

この方面の高压医学的研究の歴史的背景は高压医学の焦点は酸素中毒であつた。これを克服する事は年末の念願である。この中急性中毒は1930年頃一時 Peroxidation と関連すると云う報告も出たが、パンシルバニ

* チクローム：三共株式会社：東京：合成

ヤ大学薬理学者ランバートセンは、Duel 効果や血清中の O_2 溶解にともなう Free-Oxygen (ヘモグロビンと結合せざる)の反射性毛細血管収縮による CO_2 蓄積による急性中枢神経反応と云う結論を示した。これが急性酸素中毒に関する定説である。今血中ヘモグロビンが正常の20%、純酸素4気圧とすると、血中の酸素分布は、ヘモグロビンは、正常の20%、血清中には正常血中平圧下での総酸素の30%で計正常の50%で正常ヘモグロビン100%の大気圧下の生体の血中 O_2 は大部分は100%ヘモグロビンと結合して血中血清 Free Oxygenは無視する程少い。所がこの実験の死亡はマウスは7日後、犬では4~5時間後にみとめられる。これは急性中毒と云うべきものではない。所が急性に反して慢性酸素中毒は勿論、その他の高圧性障害は、Peroxidationの因子がつよいと予想する。この問題を理解しやすい様に高圧のPeroxidationの細胞微細発生メカニズムについて一つの思考模型を示す。細胞を水相反応の場、乳化相の場、油相の場と核・細胞質、各膜すべてを3つに分類する。水相はつねにメタボライズにより流転するので高圧下Peroxidationの大部分の影響をうけて急性症状を示すが、慢性中毒はそれが油相に投影且つ貯えられてその反応は序々に生じる。その両相は乳化相により媒介される。こう云う仮定によりグルタチオンは水相のPeroxidation自体の発生を防ぎ、 α -トコフェロールは水相でのその発生が油相に投影されるのを防ぐものと理解される。色々の理論や歴史的背景は別としてこのグルタチオン(山内製薬提供)は合成品とは云え正常組織細胞構成要素である上、国産で高い純度のものが得られるので高圧の害を防ぐ薬剤として有効且つ有望と着目してよい。ここに問題になるのは、現在迄放射線障害に対する防御物質のスクリーニングテストはすべて大気中で行なわれる為に高圧下の細胞の酸化還元反応における酸素のポテンシャルとは全く別である。アンタイオキシダントは触媒作用の一つでその有効濃度は種々の酸素濃度について別々の種類の触媒作用のアンタイオキシダントがあると云う事は事実である。平圧下で有効であるものが平圧以外では有効とは限らない。いづれにしてもすべての生体反応は特に酵素化学的に、高圧下では全くちがった様相を示すのでないであろうか。

結 論

正常な個体が高圧医学的環境におかれた場合についてはグルタチオン抗酸化剤として高圧障害を防御する事は証明出来なかつた。しかし Au^{198} の大量投与及びショック等の極めて病的個体では高圧の急性でない障害には防衛する可能性を示唆する実験データを得られたが、更に組織的研究方法により追試される事を希望する。京都大学医学部附属病院バキューグイン MC92診療用高圧室はこの点を更に組織的且つ臨床的に追試するに用いよう。いづれの方法でもタチオンの如き抗酸化剤が有効であると確認出来れば海底開発を含めて高圧に対する人類の関心に活用されるであろう。

本研究は京都大学医学部外科 I, II, 脳外科, 整形外科教官研究費によつて、高圧酸素実験兩製作と維持費について支持された。動物飼育設備その他は山之内製薬株式会社の研究援助を受けた。

文 献

- 1) Hyperbaric Oxygenation. ed., H. E. Whipple. Ann. N. Y. Acad. Sci. Vol. 117, 1965.
- 2) Fundamentals of Hyperbaric Medicine. ed., Committee on Hyperbaric Oxygenation. Nat. Research. Council, published by National Research Council 1966.
- 3) U.S. Navy Diving Manual 1963, Part I. U.S. Government Printing Office.
- 4) Clinical Application of Hyperbaric Oxygenation, ed., I. Boerema et al published by, Elsevier Pub. Co. Amsterdam, 1964.
- 5) Proceeding of the Second International Conference on Hyperbaric Oxygenation ed., I. Ledingham published by E. S. Livingstone Co. Ltd., Edinburgh, 1965.
- 6) I. W. Brown et al. Hyperbaric Oxygenation ; Current Status, Possibilities and Limitations, Advance in Surgery, Vol I. ed., C. L. Welch, Published by Yearbook Publishers, Chicago, 1965.
- 7) タチオン文献集 No. 1~1. 山之内製薬株式会社編。

タチオン、は山之内製薬株式会社、プラスミンは住友化学、低分子デキストランは第五栄養株式会社より提供を受けた。よつて感謝の意を表します。猶、低分子デキストランは一部日本緑十字、フルクトンは大塚製薬株式会社製を使用した。高圧酸素室設計は坂東医科工業瀬川三郎氏によつて努力されたものである。チトクロームC：三共株式会社製造且提供。