2,4-Dinitrophenol に関する研究

第15報 海猿血漿の 2,4-Dinitrophenol 作用減弱効果に就て

宮田 貞雄 宮城 嗣明 田中 博三 村野 匡

(和歌山県立医科大学薬理学教室)

(昭和36年9月11日受付)

既に本教室の相沢¹⁾は家兎血漿の 2,4-Dinitrophenol (DNP) 作用減弱効果に関し詳細な実験を行い、血漿の該効果は DNP の生体作用発現機序が *in vitro* に於ける場合と相違する主因の一つであらうと述べている。

他面安田(俊)²⁾は海猿に DNP を適用しても白鼠、家兎の如く肝 Glycogen の激減と著しい過血糖が招来されないと云う一見奇異な現象に着目し、爾後協同研究者³⁻⁸⁾と共に DNP の生体作用発現機序につき種々検討を加えた結果、DNP 生体作用発現には副腎機能が重要な役割を演じている事、前三動物の DNP 反応性差異も該機能と関連を有する可能性がある事が明かとなった。

然らば海猿の DNP 耐容性は上述の理由のみで解析できるであらうか。又海猿に於ける実験では血漿の DNP 作用減弱効果は他動物の場合と異なり殆ど考慮する必要はないのであらうか。寧ろこれに検討を加えておく事は、単に海猿に於ける DNP の生体作用を考察する上に極めて重要であるばかりでなく、血漿の意義を一層明確化するものであり、更に異種動物間の該減弱効果の相互比較は爾後の DNP に関する研究に多くの指針を与え得るものと思われる。

茲に於いて私達は海猿血漿の DNP 作用減弱効果につき、相沢の知見を参照しつつ、2, 3 検索を行なったので報告する。

実験方法並びに材料

実験動物としては体重 350 g 内外の雄性海猿を用いた。而して実験方法並びにその術式は血漿並びに被検臓器組織を海猿のみに制限した以外には全て相沢¹⁾の記載に準じて実施した。

実験成績

1) *Krebs-Ringer phosphate buffer* 液 (K. R. P. 液) 使用時に於ける対照実験

海猿大脳皮質、腎、肝組織切片を作製し、K.R.P. 液 (Glucose 0.1%含有) を浮游液として保温振盪し、該組織の酸素消費 (Q_{O_2}) に及ぼす DNP の影響を検して見ると、第1表に示すように、大脳皮質では DNP $5 \times 10^{-5}M$ 添加時、 Q_{O_2} は無添加対照水準の2倍に達した。而してこの Q_{O_2} の増加は $5 \times 10^{-5}M$ を頂点として $2 \times 10^{-5}M$ 乃至 $10^{-4}M$ でも明かに認め得たが、 $10^{-3}M$ 添加時には対照値の50%以下に及ぶ著しい抑制像が招来された。本傾向は腎に於ても $5 \times 10^{-5}M$ 添加時 Q_{O_2} の上昇度が大脳皮質に比しやや軽度であった以外は概ね同様に認められた。然し乍ら肝では DNP $10^{-4} \sim 10^{-3}M$ を添加しても殆ど上述のような著明な変化は招来されなかった。即ち K.R.P. 液中では DNP は肝を除き明かな Q_{O_2} の増加と減少の二相を現わした。

第1表. K.R.P. 液浸漬時に於ける海猿組織呼吸 (Q_{O_2}) に及ぼす DNP の影響

DNP 濃度 組 織	対 照	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$5 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-5}M$
脳	1.73 ± 0.158	0.69 ± 0.087	2.72 ± 0.230	3.35 ± 0.412	2.75 ± 0.249
腎	2.19 ± 0.332	1.13 ± 0.210	2.10 ± 0.539	3.15 ± 0.361	2.74 ± 0.257
肝	0.81 ± 0.276	0.67 ± 0.210	0.68 ± 0.152		

数字は $cmm^3/mg/hr$

II) 海猿血漿の DNP 作用減弱効果に関する実験

a) 全血漿を使用した場合：海猿血漿のみを組織浮游液として用い、前項同様 DNP の各種濃度を作用させて見ると、第 2 表の如く大脳皮質では K.R.P. 液浸漬時に出現したような DNP 特有の興奮乃至抑制の変動は

第 2 表. 海猿血漿の DNP 作用減弱効果

DNP 濃度 組 織	対 照	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$5 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-5}M$
脳	1.67 ± 0.155	1.89 ± 0.274	2.09 ± 0.548	1.47 ± 0.412	1.69 ± 0.303
腎	2.45 ± 0.200	3.41 ± 0.678	2.81 ± 0.303	2.71 ± 0.346	2.46 ± 0.447
肝	1.32 ± 0.164	1.60 ± 0.346			

数字は $\text{cmm}^3/\text{mg}/\text{hr}$

殆ど招来されず、K.R.P. 液の場合と著しい相違を現わした。而して本傾向は腎に於ても齊しく認められた。即ち海猿血漿も家兎並びに白鼠の場合と同様、明かな DNP 作用減弱効果を有している事が立証せられた。

b) 血漿を 2 倍に稀釈した場合：相沢¹⁾に依れば家兎血漿は 2 倍に稀釈すれば全血漿使用の場合と異なり大脳皮質に於いて DNP $10^{-3}M$ 添加で Q_{O_2} の軽度の上昇、腎に於いて軽度の抑制が招来され、又白鼠血漿 2 倍稀釈は更に DNP 作用発現阻止力は弱化すると思われる。そこで私も海猿血漿を K.R.P. 液で 2 倍に稀釈して見た。得られた結果は第 3 表に示す如く、全血漿使用時と全く同様、腎の Q_{O_2} は DNP 添加量の多寡に関係なく、無添加対照値と殆ど差異を現わさなかったが、大脳皮質使用時に於いては DNP $10^{-4}M$ 適用で僅かな Q_{O_2} の増加傾向が現われるに至った。但し肝ではいささかの変動も認められなかった。

第 3 表. DNP 作用減弱効果に及ぼす血漿稀釈（2 倍稀釈）の影響

DNP 濃度 組 織	対 照	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$5 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-5}M$
脳	1.71 ± 0.145	1.56 ± 0.182	2.27 ± 0.447	1.76 ± 0.458	1.62 ± 0.361
腎	3.12 ± 0.263	3.25 ± 0.490	3.39 ± 0.549	2.91 ± 0.529	2.70 ± 0.400
肝	1.35 ± 0.217	1.52 ± 0.374			

数字は $\text{cmm}^3/\text{mg}/\text{hr}$

c) 血漿を 5 倍に稀釈した場合：家兎血漿 5 倍稀釈は大脳皮質に於いて DNP $10^{-4}M$ 添加後約 30% の Q_{O_2} の上昇、 $10^{-3}M$ で約 15% の抑制が台頭し、又白鼠血漿 5 倍稀釈は前者に比し更に弱化は明かとなると云われる。

海猿血漿を 5 倍に稀釈すると、大脳皮質に於いて DNP $10^{-4}M$ 添加時 20% の Q_{O_2} 増加、 $10^{-3}M$ 添加で 20% の抑制が出現し、腎では DNP $10^{-3}M$ 添加時約 30% の抑制が台頭するに至った。（第 4 表参照）

第 4 表. DNP 作用減弱効果に及ぼす血漿稀釈（5 倍稀釈）の影響

DNP 濃度 組 織	対 照	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$5 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-5}M$
脳	1.42 ± 0.098	1.04 ± 0.179	1.73 ± 0.148	1.55 ± 0.245	1.62 ± 0.387
腎	2.55 ± 0.332	1.70 ± 0.219	2.83 ± 0.247	2.43 ± 0.170	2.36 ± 0.239
肝	1.31 ± 0.308	1.25 ± 0.241			

数字は $\text{cmm}^3/\text{mg}/\text{hr}$

以上の成績から海猿血漿も稀釈すれば, DNP 作用減弱効果は弱化するが, その弱化率は家兎並びに白鼠に比し軽度であった。

III) 血漿の DNP 作用減弱効果に及ぼす各種処置の影響

a) 透析処置を行なった場合: 相沢¹⁾は家兎血漿を透析処理した後, DNP 作用減弱効果を検して見たが, 該効果はいささかも弱化しなかったと述べている。

私達も海猿血漿を K.R.P. 液で 48^h 透析し, その透析処理血漿につき DNP 作用減弱効果を検して見た。但し透析処理により血漿中の glucose は殆ど失われるので反応槽中には最終濃度が 0.2% の割合になるように glucose を追加させて実験を行なった。得られた結果は第五表の如く, 大脳皮質に於いては新鮮血漿使用時と全

第 5 表. 透析処置後の血漿の DNP 作用減弱効果

DNP 濃度 組 織	対 照	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M	5×10 ⁻⁵ M	2×10 ⁻⁵ M
脳	1.34±0.237	1.38±0.292	1.49±0.170	1.24±0.141	1.34±0.182
腎	2.45±0.253	1.57±0.190	2.28±0.074	2.02±0.295	1.99±0.237
肝	1.05±0.212	1.03±0.200			

数字は cmm³/mg/hr

く同様, DNP の作用は殆ど出現しなかったが, 腎に於いて DNP 10⁻³M 添加時に 30% に及ぶ抑制像が現われた。

b) 熱処理を加えた場合: 家兎血漿に熱処理 (65°C, 5m) を加えれば DNP 高濃度適用時 QO₂ の増加像が現われるが, 白鼠血漿を熱処理すれば, DNP 10⁻³M 添加時殆ど K.R.P. 液使用時に匹敵する著しい抑制像が台頭すると云われる。

然らば海猿血漿に熱処理を加えれば如何なる変容を来たすであろうか。

即ち大脳皮質に於いて DNP 10⁻⁴~10⁻³M の高濃度を添加すれば明かな QO₂ の増加像が招来されたが, 抑制は全く認められなかった。処が腎に於いては DNP の高濃度を適用しても 20% 前後の増加傾向が現われるに止まった。(第 6 表参照)

第 6 表. 熱処理後の血漿の DNP 作用減弱効果

DNP 濃度 組 織	対 照	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M	5×10 ⁻⁵ M	2×10 ⁻⁵ M
脳	2.04±0.412	4.01±0.424	2.87±0.332	2.32±0.226	2.33±0.303
腎	3.21±0.311	3.63±0.574	0.399±0.424	3.72±0.400	3.35±0.400
肝	1.70±0.235	2.06±0.158			

数字は cmm³/mg/hr

以上の事柄から海猿血漿の DNP 作用減弱効果は家兎血漿と同様透析処理により影響を受けず且つ熱処理にも比較的安定であり, 白鼠血漿とややその趣を異にしている事を知った。

IV) 海猿血漿蛋白分層の DNP 作用減弱効果

相沢¹⁾は家兎血漿蛋白分層の DNP 作用減弱効果を検し, globulin 分層は全く該効果を有していないが, Albumin 分層には軽度ながら該効果の存在が認められたと述べている。そこで私達も海猿血漿から, Albumin 並びに globulin 分層を分離し, その各々につき DNP の作用減弱効果を検して見た。

a) Albumin 分層を共存させた場合: 大脳皮質では DNP 10⁻⁴M 添加時約 70% に及ぶ QO₂ の増加が現われる反面, 10⁻³M 適用時には約 30% の抑制像が出現した。而して腎に於いては DNP 10⁻³M 適用後では QO₂ は対照の 50% 以下に転落する程の著しい抑制が現われた。(第 7 表参照)

第 7 表. 海猿血漿の Albumin 分屑の DNP 作用減弱効果

DNP 濃度 組 織	対 照	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$5 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-5}M$
脳	1.19 ± 0.173	0.81 ± 0.028	1.97 ± 0.447	1.33 ± 0.230	1.07 ± 0.152
腎	2.07 ± 0.300	0.87 ± 0.141	2.30 ± 0.155	1.68 ± 0.300	1.60 ± 0.332
肝	0.65 ± 0.167	0.59 ± 0.032			

数字は cmm³/mg/hr

b) Globulin 分屑を共存させた場合：大脳皮質では DNP $2 \times 10^{-5} \sim 10^{-4}M$ 添加で約 2 倍に達する QO_2 の増加が現われる反面、 $10^{-3}M$ 添加では 50% 以上の著しい抑制像が台頭した。而して腎に於いても DNP $10^{-3}M$ 添加では大脳皮質と同様 50% 以上の著明な抑制が現われるに至った。（第 8 表参照）

第 8 表. 海猿血漿の Globulin 分屑の DNP 作用減弱効果

DNP 濃度 組 織	対 照	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$5 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-5}M$
脳	1.24 ± 0.187	0.60 ± 0.155	2.45 ± 0.412	2.83 ± 0.224	2.25 ± 0.286
腎	2.20 ± 0.346	1.11 ± 0.097	1.33 ± 0.285	2.52 ± 0.130	2.76 ± 0.332
肝	0.70 ± 0.134	0.56 ± 0.145			

数字は cmm³/mg/hr

以上の成績から Albumin 分屑は家兎に比較すれば遙かに微弱であるが、未だ該減弱効果を認め得たが、Globulin 分屑は全く該効果を有していない事を知った。

V) 海猿赤血球の DNP 作用減弱効果

相沢¹⁾は家兎並びに白鼠赤血球の DNP 作用減弱効果を検したところ、血漿と全く様相を異にし、いささかの該効果も認め得なかったと述べている。

私達も海猿赤血球につき同様検して見たが、第 9 表に示す如く、家兎並びに白鼠の場合と同様、DNP 作用減弱効果の存在は全く認められなかった。

第 9 表. 海猿赤血球の DNP 作用減弱効果

DNP 濃度 組 織	対 照	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$5 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-5}M$
脳	2.29 ± 0.268	1.36 ± 0.074	3.64 ± 0.574	3.20 ± 0.424	3.06 ± 0.412
腎	2.41 ± 0.539	1.61 ± 0.164	3.80 ± 0.671	3.33 ± 0.632	2.64 ± 0.693
肝	1.37 ± 0.265	0.84 ± 0.130			

数字は cmm³/mg/hr

総 括 並 び に 考 按

海猿血漿の DNP 作用減弱効果を家兎並びに白鼠の該効果と比較して見ると、透析により影響されない事。熱処理（65°C, 5m）後の該効果の弱化は軽微である事。血漿を 5 倍稀釈しても未だ明かな該効果は充分認められる事等から、白鼠血漿とはやや趣を異にし、寧ろ概括的には家兎血漿に近似していた。

今、同種血漿に同種組織（例：家兎血漿に家兎組織）を浸漬した際に於ける血漿の DNP 作用減弱効果能を三者間で比較して見ると、海猿血漿が最も強く、家兎がこれに次ぎ、白鼠が最も弱かった。従ってこれ等の事実だけから考察すれば、緒言に於いて触れた様に、海猿に於いては家兎並びに白鼠に比し DNP の生体作用発現が最も軽微である事実には血漿の本効果が相当有力に影響しているのではないかという推量も可能である。処が白

第1図. 2, 3 動物血漿の DNP 作用減弱効果の比較 (白鼠組織)

なお海猿赤血球も殆ど DNP 作用減弱効果を有していなかった事から, 赤血球存在は DNP 作用発現に能動的な影響因子ではないと思われる。

結 論

- 1) 海猿血漿は明かな DNP 作用減弱効果を有する。
- 2) 該効果は透析乃至熱処理 (65°C, 5m) により著しい弱化を蒙らない。
- 3) 海猿血漿の Albumin 分層は軽度な該効果を示すが, Globulin 分層は全く該効果を有しない。
- 4) 海猿, 家兎並びに白鼠血漿の該効果を比較し且つ DNP の生体作用発現に於ける該効果の意義につき考察を加えた。

文 献

- 1) 相沢正久: 日薬理誌, **57**, 193 (1961)。
- 2) 安田俊吉: 同誌, **54**, 1118 (1958)。
- 3) T. Murano et al: Osaka City Med. J. **4**, 197 (1958)。
- 4) T. Murano et al: 同 誌 **6**, 79 (1960)。
- 5) T. Murano et al: 同 誌 **6**, 91 (1960)。
- 6) T. Murano et al: 同 誌 **6**, 129 (1960)。
- 7) T. Murano et al: 同 誌 **6**, 117 (1960)。
- 8) T. Murano et al: 同 誌 **6**, 105 (1960)。

鼠組織を異種血漿, (例: 家兎乃至海猿血漿に白鼠組織) に浸漬しつつ, DNP の該効果を比較して見ると, 様相は甚だ異なり, 海猿血漿が最も弱かった。(第1図参照)

従ってこれ等の知見を勘案すれば, 三血漿間で海猿血漿の DNP 作用減弱効果が最も優れているとする結論は早計に失する様に思われる。換言すれば, DNP の作用発現現象は単に血漿側だけで支配されるのではなく, 血漿と組織間の “interaction” が方向性を決定づけている可能性が大である。勿論 DNP の生体作用発現は現実的異種媒体中に於いて生起する事はある得ないが, 逆説的に云って白鼠組織が最も DNP に対する親和性が高い故に, 或は該血漿の該減弱能が最も低い故に, 著明な DNP の生体作用が惹起されるとは断定し得ないと思われる。

いずれにしても DNP の生体作用発現に於ける血漿の意義に関しては更に詳細な検討を行わねばならない。