各種ビタミンP様物質(フラボノイド)の實驗的臨床的研究

(第1報) ヘスペリヂン, ルチン及びミリチトリンの結核
アレルギー及び實驗的天竺鼠紫斑病に對する効果比較

三重醫大達山内科
上 住 南 八 男

Experimental and clinical studies on vitamin P like substances (flavonoids).
I Report Comparative studies of the effect of hesperidin, rutin and myricitrin
on tuberculin allergy and experimental purpura of guinea pigs. Nayao Uezumi.

第1章 緒言

Szent Györgyi はレモン汁, パプリカエキスからフラバノン配糖体であるチトリンを抽出し, 此れがアスコルビン酸とは別に異常に高まつた毛細血管の透過性を抑制し, 又はその抵抗性を増強する作用を有する事を知つた. そこでかかる性質を有する物質はビタミンPと稱され, 其の後ヘスペリヂン, 更に近年に至つて Griffith, Shanno 等の研究によりルチンが重要視され後者がビタミンP因子であらうとされた. 然しながら其の後の一連の研究によりかかる毛細血管強化作用を有する物質は必ずしもヘスペリヂン, ルチンに限らず, 廣くフラバノン, フラバノール, フラボン(狹義)配糖体にも見出され, 又純粹なビタミンP欠乏症を人体或いは動物体に招來せしめる事に成功していない事などより, 本來の意味に於けるビタミンとしてのビタミンPが存在するや否やは一應疑問視され, かかるポリフェノール化合物の一つ或いは數種のものに對してビタミンPなる言葉を適用すべきでないと言へされている.

ヘスペリヂン, ルチンを含む各種フラボン配糖体は廣く植物体に存在し, 殊に花・葉・根から抽出される事が多い. 而して此等フラボン体(廣義)を溶存する細胞液が太陽光線中の紫外線を吸収する力が強く, 原形質に對するその害作用を保護すると云う柴田¹⁾の説が一般に認められ, 又フラボン配糖体の他にアントシアン類も同時に含まれ同様

の作用がある事が知られている. そこで生体に於ても各フラボン体並にアントシアン体に同様の作用のある事は當然豫想されるので, こゝに著者は此等フラボン配糖体中より, ヘスペリヂン, ルチン, クエルチトリン, ミリチトリン, ロビン及びその非糖体であるヘスペレチン, クエルセチン, ミリセチン, 更にアントシアン体としてビオラニン, シアニン, ヒアシンの抽出合成を試み, 更に數種のものについて合成抽出中である. 而して此等化合物について, その化學的性質, 生化學的作用, 種々の酵素殊にヒアルロニダーゼに對する作用について検討した所, 其の中特にルチンとミリチトリンが如上の性質に於て酷似する事を知つた. (未發表). 此の事はミリチトリンがルチンと同様の臨床効果を有するのではないかと想像させるのであるが更に下記の理由からも著者はルチン, ミリチトリンの効果比較に興味をもつた. 毛細血管強化物質としての各種フラボノイド(フラバノン, フラバノール, フラボン及び其の配糖体に於ける作用を有する化合物に對し Wilson 等の提唱に従つて斯く名付ける)の作用の比較検討については既に多くの實驗研究がなされた. Ambrose & De-Ede は家兎皮膚のクロロホルム刺激に對するトリパンプルーの滲透着色時間に及ぼす影響をみ, ルチン, クエルチトリン, ヘスペリヂン誘導體中, ルチンに於て着色時間延長の最も著しい事を知つた. 又 Bohr, mc Ivor & Rein-ha-

rt は天竺鼠皮膚の熱刺激に對するエバンスブルーの滲透着色時間に及ぼす影響を見、ルチンより或種ヘスペリデン誘導体に其の着色時間延長が著しいと云い、又 Reckers & Field²⁾ は犬のレ線全身照射による死亡に對しルチン、レモン果被(従つてチトリンを含有せん) 及びアスコルビン酸のうち照射1週間前よりルチンを経口的に投與する事により最も著しくその死亡率を低下させ得る事を知つた。此等の事實は Clark & Geisman, Wilson & De Ede の各種フラボノイドのアドレナリン酸化抑制作用と比較する時興味ある事實を發見する。オルト又はパラ位の OH 基をもつポリフェノール類が生体内に於てアドレナリン酸化抑制作用をもち、メタ位のものには存しない事は Bacq により知られているが Clark & Geisman³⁾ は之を各種フラボノイドについて摘出家兔腸管のアドレナリンによる弛緩緊張状態の回復時間に及ぼす影響

第 1 圖

R: Rhamnose

を又別にアドレナリンの銅觸媒による酸化に對する影響を見、又 Wilson & De Ede⁴⁾ は天竺鼠の摘出腸管に於けるフラボノイドによる酸化抑制作用を見、何れもその化學構造式との關係について検討した。兩者の結論は必ずしも完全には一致していないが、共に側鎖のフェニール核の遊離の OH の存在と作用發現に關係のある事を論じている。フェニール核の OH 基に着目すればヘスペリデンは1個であり、ルチンは2個ある。更に三重醫大生化學教室(鈴木教授担当)で、ヤマモ、(Myrica rubra Sieb. et Zucc.) の樹皮より抽出したミリチトリンは3個である。(第1圖)そこで此のルチン、ヘスペリデン、ミリチトリンを選び生体に於ける作用を比較検討せんとした。

第2章 ツベルクリンアレルギーに及ぼすビタミンP様物質の影響

ヘスペリデン(以下ヘ)ルチン(以下ル)が低下した皮膚毛細血管抵抗(以下 CR) 殊にルが高血圧患者の低下した CR を著明に回復させる事については既に多くの報告がある。然しながら人体に於て CR 低下を來す條件は多々あり、従つて或種のフラボノイドの CR 上昇作用を比較検討するに際しては一定の條件により CR 低下を來さしめ、此の

第2圖 結核患者の低下した皮膚毛細血管に及ぼすルチンの影響

状態に對する影響を検討する事が望ましい。結核患者に於て CR 低下を來すものゝ多い事については既に石田⁵⁾ は之に注目した。著者は遠山内科入

院結核患者につき CR を検査中低下しあるものゝ多い事を認め、又咯血の既往あるものゝ特にその頻度の高い事を認めたが、かゝる患者にルを投與し CR 低下を著明に回復せしめ得る事を確めた(第2圖)。而して結核患者の營養状態を考慮する時、CR 低下が結核アレルギーと直接關係を有するや否やに疑問がある。かゝる意味より結核患者のツベルクリン病巣反應時に CR 低下を來すや否やについて當然關心がもたれる。此の點に關し三上⁹⁾は結核アレルギーに於ける一現象として、ツベルクリン病巣反應時に CR 低下及び流血中の酸好性白血球(以下エ)の増加を認めている。著者は此を追試し後述の如く略々同様の結果を得た、従つてツベルクリン病巣反應時はツベルクリンアレルギーなる一定條件のもとに任意に人体に起し得る變化であるから、上述の目的に最も適當な對象たり得る事が想像される。著者は、ル、ミ、の3フラボン配糖体が此のツ病巣反應時に示す CR 低下及びエ増加に及ぼす影響を比較検討してみた。

實驗方法

實驗對照として當内科入院結核患者中1万倍舊ツベルクリン液(以下舊ツ)皮内注射48時間後發赤10mm以上且つ硬結を伴う陽性者を選び内6名をA) 非處置對照群とし、實驗例としては舊ツ皮内注射前1週間より、B) ル投與群として市販ル100mg, C) ミ投與群としては新たに抽出したミ100mg, D) ヘ投與群としては市販ヘ1gmを夫々經口的に投與し CR 及びエの消長を時間を追つて觀察した。CR は V.Borbely 氏法を多少改良し、鎖骨下窩皮膚に於て溢血斑を生ずる最低圧を計測した。女子に於ては月經時を除外した。エは Dungen 氏液を多少改良したもの(A液: 1%エオデン液5cc. アセトン30cc. 水100cc, B液0.84%メチレンブラウ水溶液、使用直前 A:B=2:1の割に混じ濾過)を用い直接計算した。

試驗成績

A) 對照6例に於ては舊ツ注射後24時間乃至48時間を極期として CR 低下を來しエは5例中4例に於て増多、1例減少を見たが、CR 及び

エも共に1週間後舊値に復した。(第3圖)。

第3圖 ツアレルギーに及ぼすビタミンP様物質の影響 非處置對照群

B) ル投與群, CR: 11例中3例は前投與期間中既に上昇, 1例は却つて低下, 他の7例は著變なく経過し, 舊ツに對しては2例に於て著明な低下を見た他, 影響を受けないか又は中3例の如きは著明なる上昇を示し, 低下例に於ても舊値への回復は對照例に比し速かであり, 爾後全例に於て輕度の上昇を示しつゝ経過した。

エ: 前投與期間中全例7例多少の動搖を示し, 舊ツに對しては増加1例, 變化しないもの3例, 却つて減少するもの3例, 以後全体として減少の傾向を示しつゝ経過した。(第4圖)。

C) ミ投與群, ルと略々同じ経過を示した。

CR: 9例中前投與期間中既に5例は上昇1例は低下他は著變なく経過し, 舊ツに對し低下例なく却つて上昇するもの5例あり爾後上昇の傾向を示しつゝ経過した。

エ: 7例中1例増加3例減少3例著變なく, 即

ち一定の傾向を示す事なく前投與期間を經過し舊

第4圖 ツアレルギーに及ぼすビタミンP
様物質の影響 ルチン投與群

ツに對して、1例増加他は著變なく爾後多少の動搖を示しつつ經過した(第5圖)。

D) へ投與群, CR: 5例中2例は前投與期間中多少動搖舊ツに對して2例低下1例上昇, 1例は變化せず5日目略と舊値に復し上昇の傾向を示す事なく經過した。尙此の中にミによりツに對し抑制された効果が見られなかつた1例を含む。

エ: 3例中1例ツに對し増加, 他は全經過を通じて著變を見ない(第6圖)。

小 括

V. Borbely の陰圧吸引法による CR 値は皮膚毛細血管の状態を必ずしも完全に表現するものではない事は陰圧法と陽圧法の成績が必ずしも一致していない事より明瞭である。又 CR の正常値についても種々の報告があり、その意義と信頼度について疑問の所が多いが、10%内外の日差を除外すれば、その絶対値のみでなく詳細な經過觀察に適

第5圖 ツアレルギーに及ぼすビタミンP
様物質の影響 ミリチトリン投與群

し、その意義の如何に拘らず、皮膚毛細血管の出血傾向への影響を検討し得る利点がある。著者の實驗を見るに、フラボン配糖体投與例と對照例に著明な差があり、且つミとルの間に多少ミの方に CR 低下抑制効果作用が強い事が認められた。へは投與量のたとミに反應しへに反應しない例のある事を考慮におくとその効果はル、ミより劣ると考えられる。以上の如くツ病巣反應時に對するフラボン配糖体の影響を CR の推移によつて殊に同一個体について觀察する事はビタミンP様物質の力價判定の爲に極めて簡単にして信頼すべき結果を與えるものと考え。而してその作用機轉に關しては明らかでないが、單に血管壁に作用してその抵抗を増大せしめると云う如き簡単なものでなく、ツ、アレルギー反應の生化學的機轉そのものに影響を及ぼすものであろう事はエに對する作用よりしても覗い知られる所であらう。然し乍らエに對するフラボノイドの影響は3者の間に著し

第6圖 ツアレルギーに及ぼすビタミンP
様物質の影響 ヘスベリゲン投與群

い差を認めない点より考えると本剤の人体作用機轉は血管壁に對する作用の他に多くの因子が介在する事を推測せしめる。

第3章 實驗的天竺鼠紫斑病に及ぼすビタミンP様物質の影響

各種フラボノイドの抗アナフィラキシー性作用を有するや否やについては此等フラボノイドの毛細血管強化物質としての作用機序の追求に對して極めて重要な所見を與えるものであり従つて此の点に關し既に多くの實驗が行われている。平松は天竺鼠の正アナフィラキシーショックに對し、への豫防効果を Hullstrång & Hack はチトリンの抗アレルギー性作用を Raiman, Later & Neckeles はルの天竺鼠の正アナフィラキシー抑制作用を認めているが Wilson Martarotti & De Ede 及び Roth & Seppard はルに天竺鼠の抗アナフィラキシー作用がないと云い、Arbesman & Neter は天竺鼠の Forsman 抗体による逆アナフィラキシー抑制効果のない事を證明し、Clark & Mackay は天竺

鼠のアナフィラキシーショックに對し、ルは多少の豫防効果を有するが、へ、チトリンにはないと云い、Arbesman も同様の結果に達している。ルの抗アナフィラキシー性作用の有無に關して大多數の實驗は寧ろ否定的であるが、此等の實驗に於ては投與方法に異同があり、殊に効果注射前生体がフラボノイドに飽和しているや否やについての検討を欠く。此の点 Reckers & Field²⁾ はレ線全身照射に及ぼすルの効果が照射前後を通じて照射犬がルに飽和されている時にのみ著明な効果を示す事を報じたのは注目すべきである。又ルが殆ど水にとけない事から投與にあたつて種々の溶媒が考慮されているが、この溶解方法と抗アナフィラキシー作用との間の関係も一應考慮に置かねばならない。

此等の事より今直ちにフラボノイドに抗アナフィラキシー作用が存在しないと云う結論をひき出す事は危険である。

著者は以上の点を考慮し更に血管強化物質としてのルの作用を端的に知らんと欲して選擇的に血管を障礙し出血を來す方法として抗栓球血清により天竺鼠に栓球減少性紫斑病を惹起せしめ、ル、ミへの効果を比較検討した。

實驗方法

平松⁷⁾に従つて天竺鼠栓球の生理的食塩水を得4日乃至7日の間隔をおいて6回家兔耳靜脈に注射し最後の感作より10日後採血し、天竺鼠栓球に對し640倍の凝集價、同赤血球に對し640倍の凝集價を有する抗栓球血清を得た。此の血清を体重400~500gmの天竺鼠の心臓内に100gm体重0.2ccの割で極めて徐々に注射し、直後のアナフィラキシー症狀心嚢内出血等を觀察し生存例に於ては紫斑の状態、CR、栓球數を検した。栓球數算定には直接法を用い、CRは人体實驗と略と同じく前もつて剃毛した腹部皮膚に直徑1cmの吸引カップを1分間適用し50mm水銀柱の間隔をもつて陰圧を加え溢血斑出現の最低値を取つた。ル、ミ、へは何れも著者の教室で精製した結晶を10%の割にプロピレングリコールに溶解し、効果注射前24時間、3時間及び注射後24時間目にその0.2ccづゝ

腹腔内に投與した。

實驗成績

非處置對照群：10例中3例はショック死，4例

第1表 抗血小板血清の心臓内注射による死亡

	總數	ショック死	出血死	生存例に於ける紫斑出現の度
非處置對照群	10	3	4	3 (++) (++) (++)
正常家兎血清群	2	0	0	2 (—) (—)
ルチン投與群	6	0	1	5 (—) (+) (+) (++) (—)
ミリチトリン投與群	8	0	1	7 (—) (—) (+) (+) (+) (—)
ヘスバリゲン投與群	3	1	2	0

第7圖 實驗的紫斑病に及ぼすビタミンP様物質の影響，非處置對照群

は心臓内出血により死亡，残りの3例が生きのびた。生存例に於ては30分乃至6時間後より米粒大の紫斑が全身皮膚に出現し，48時間後概ね消失した。尙正常家兎血清を注射した2例は共に生存し紫斑は出現しなかつた。此れに對しルチン投與群は6例中ショック死なく，1例は心臓内出血により死亡，他は全部生存，ミ投與群は8例中ショック死なく，1例は心臓内出血により死亡，他の7例は

第8圖 實驗的紫斑病に及ぼすビタミンP様物質の影響，ルチン投與群

第9圖 實驗的紫斑病に及ぼすビタミンP様物質の影響，ミリチトリン投與群

生存した。紫斑の出現は全然ないか、軽微であつた。へ投與群3例中ショック死1例、心臓内出血死2例であつた。(第1表)。生存例に於けるCR値及び栓球數の消長は次の如くである。

非處置對照群：3例中全例に於て栓球數は6時間後には10万以下に減少し4日後略々舊値に復した。CRは6時間後既に著明に下降、4日後1例は略々舊値に復したが他の2例は完全には舊値に復さなかつた。此の結果は正常家兎血清の注射例に比し特異的なものである。(第7圖)

ル投與群：生存5例中(他の1例は寒冷により死亡)栓球數は對照群と同じく10万以下に減少し、4日後略々舊値に復した。CR値は6時間~12時間後軽度の低下を示したが2日後既に舊値に復した。(第8圖)

ミ投與群：寒冷により3日後死亡した1例を除く6例に於ても血小板の減少は6時間に10万以下となつており、4日後1例は尙10万臺、4例は舊値以上、1例は略々舊値に復した。CR値は6時間後軽度の低下を示すが1日後には略々舊値に復し、4日後には舊値以上に達する3例を得た。(第9圖)。

小 括

Curz⁸⁾等は抗栓球血清を天竺鼠の心臓内に注射し33例中22例に定型的なアナフィラキシー性ショック死を、2例に於てショックを経過後紫斑病による死亡、2例に胸腔内出血死を觀察した。著者は非處置對照群に於て略々之と一致する結果を得たが、此のアナフィラキシーショックに對しル及びミが豫防効果を有する事を確めた。又平松⁷⁾は抗栓球血清の皮下注射による天竺鼠の實驗的紫斑病に於て、その出血症状に對しへの連續投與が多少の抑制効果を有する事を認めた。又Randell等⁹⁾も同様の方法により臨床症状、及び栓球數、CR値の推移を見、への誘導体及びルに多少の抑制効果を認め、寧ろ前者に効果あるを確めたが、その際栓球減少に對しては抑制効果がなかつたと云う。著者は純粹なへ、ル、ミに於て、ル及びミにはショック阻止、CR値低下豫防及び回復効果を認めルよりミに後者に對する効果が勝り、へには實驗的

紫斑病に對する豫防効果を認めなかつた。然しながらRandell等と同じく、ル及びミ共に栓球の減少は豫防出来なかつたがその回復が速かで更に原値以上に達せしめた。

結 論

1) ビタミンP様作用を有すると考えられるフラボン配糖体の中側鎖のフェニール環に遊離OH基を夫々1, 2, 3個有するヘスペリデン、ルチン、ミリチトリンの効果を比較検討した。

2) ツ、病巣反應時に於けるCR値低下をル及びミは著明に抑制した。ミの効果はルよりやや優りへの効果は此等より劣る。而して酸性白血球増加抑制作用は3者の間に著しい差異を認めなかつた。

3) 抗栓球血清による天竺鼠のアナフィラキシーショックに對し、ル及びミは豫防効果を有す。へについてはこれを認めなかつた。

4) 抗栓球血清による天竺鼠の栓球減少性紫斑病に對しル及びミは豫防並に治療効果を有す。ミはルよりやや優る。

〔附記〕ミリチトリンは我國山野に自生するヤマモ、の樹皮にその原料を求め得、且つその抽出は容易にして收量のなるもので、ルチンの原料入手困難と收量少なる事に比し著しい利点がある。著者の實驗の如くミがルに比し、そのビタミンP様作用が強いとすれば我國に於ては今後ルにかえるにミを以てする事は甚だ有望である。尙本實驗を通じて認むべき副作用はなかつた。

(本研究は文部省科學研究費の補助を受けた)。

文 献

- 1) 柴田桂太；植物學雜誌 23:1916 — 2) Recker, P.E. and Field, J.B.; Am. J. Med. Sci. 218:1 1949 — 3) Clark, W.G. and Geisman, T.A.; J. Pharm. Exp. Therap. 95: 363, 1949 — 4) Wilson, R.H. and De Ede, F.; J. Pharm. Exp. Therap.; 95: 399, 1949 — 5) 石田；日本循環器學雜誌, 10: 13 昭19 — 6) 三上；綜合醫學 5: 583, 昭23 — 7) 平松；皮膚科泌尿器科雜誌 49: 昭16 — 8) Curz, W.O. and Silva, E.M.; Proc. Soc. Exp. Biolog. Med.: 70: No 2, 1949 — 9) Randell, L.O. and Sevinghaus, E.L.; Arch Biochem: 22: 132, 1949,