

プロトポルフィリンの抗炎症作用 (IV)

一経口投与せるプロトポルフィリンの実験的肝硬変および
アナフィラキシー・ショックに対する効果—

金沢大学医学部第2病理学教室(主任 石川大刀雄教授)

須 山 忠 和

松 本 剛

小 田 島 肅 夫

(昭和41年5月4日受付)

本論文の要旨は、第55回日本病理学会総会(昭和41年4月、広島)において発表した。

プロトポルフィリンが実験的肝硬変症に対し著しい抑制効果のあること、またホルマリン肉芽腫抑制効果や痘瘡ワクチン発痘に抑制効果を示すことなどからプロトポルフィリンに抗炎症作用のあることが明らかになった¹⁾。その後即時型および遅発型アレルギーに対してもかなりの抑制効果を示すことが確認され、その上生体の感染防禦抗体の産生をおさえることなく抗炎症作用を示すことが暗示された²⁾。一方また馬杉腎炎に対してもプロトポルフィリンはかなりの発症抑制および治療効果のあることが示された³⁾。以上の実験においてはプロトポルフィリンはナトリウム塩として静脈内に投与されたが、今回ヒトおよびラットについてプロトポルフィリンの経口投与による実験を行ない、特にホルマリン肉芽腫抑制およびラット肝硬変治療に対し臨床検査、培検所見の両方からきわめて興味ある結果を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 投与薬物:

プロトポルフィリン・ナトリウム塩(以下 NAPP と略記)は0.5%静脈注射用水溶液および腸溶性被覆を施した内服錠(1錠中 NAPP 20mg 含有)としてミドリ十字 K.K.より提供をうけた。なお動物実験用には特に調製した直径約 3mm の腸溶性錠剤(1錠中 NAPP 1~4mg 含有)を用いた。コルチコステロイドとしては市販のプレドニソロンを使用した。

2. 腸管吸収による有効投与量についての実験:

NAPP 錠経口投与における生体内吸収および有効投与量を NAPP 静脈内投与のそれと比較するため、ヒトおよびラットにそれらを投与し有効血中濃度および肉芽腫抑制効果を検討した。

(1) 血中濃度: NAPP の血中濃度の測定は Rimington の補正式を用いての分光学的定量法によつた⁴⁾⁵⁾。体重 55~56kg の健康な成人男子10名を対象として選び、これを5名ずつ2群に分けた。第1群は NAPP 錠 2.5mg/kg (1人につき7錠)を1回に内服させた。第2群は NAPP 0.5mg/kg を1回に静脈内投与した。経時的に採血した血液 5ml に約倍量の冷水を加え十分に溶血させた後、これに氷酢酸 10ml を加えて振盪し、次に酢酸エチル 30ml を加え、わずかに温めながら数分間ふりまぜてポルフィリンを抽出、一夜放置後濾紙で濾過し残渣を 10ml ずつの酢酸エチル-氷酢酸混液(3:1)で2回洗滌し、酢酸および酢酸ソーダを除き、洗液が酸性を示さないようにした。その後10%塩酸でプロトポルフィリンを抽出し、自記式分光光度計で Sorét 帯の吸光度を測定し、次の Rimington の補正式を用いて真の吸光度を計算し、血中濃度を求めた。

$$E_{408}^{\text{測}} = \frac{2 \times E_{408}^{\text{測}} - (E_{380} + E_{430})}{1.584}, \quad E_{1\text{cm}}^{1\%} = 4900$$

(2) 肉芽腫抑制実験: 抗炎症作用の示標としてホルマリン濾紙法¹⁾⁶⁾による肉芽腫抑制効果をしらべた。体重約 250g のドンリウ・ラット70匹を用い、それぞれ両側胸部皮下に7%ホルマリン 0.1mlを浸した円

Anti-inflammatory Effects of Protoporphyrin (IV).—Orally Administered Protoporphyrin; Its Effects on Experimental Liver Cirrhosis and on Anaphylactic Shock—Tadakazu Suyama, Tsuyoshi Matumoto and Shizuo Odashima, Department of Pathology (Director: Prof. T. Ishikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

形濾紙板（直径 10 mm，東洋濾紙 No. 126）を 1 個ずつ埋没し，懸濁プロカインペニシリン G 10,000 I. U. を局所に注射，縫合した。濾紙埋没の日より NAPP 錠の経口投与，NAPP 溶液の静脈内投与を 6 日間毎日行なつた。

投与量は経口投与の場合，5 mg，10 mg，20 mg/kg の各群；静脈内投与の場合は 1 mg，2.5 mg，5 mg/kg の各群とし，1 群 10 匹のラットを用いた。1 週後に埋没濾紙をとり囲んで生ずる肉芽腫を剔出し，その湿重量を測定し，対照無処置群の肉芽腫のそれと比較した。

なお，予備実験として腸溶性 NAPP 錠（動物用）を 2 錠ずつラット 15 匹に経口投与し，2，4，6 時間後に 5 匹ずつ剖検して消化管内での NAPP 錠の崩壊および吸収状態を肉眼的に観察して腸で吸収されていることを確かめた。

3. 肝硬変に関する実験：

実験的肝硬変の作成は，ラットに卵黄感作を繰返す方法¹⁷⁾によつた。体重 250 g 前後の Wister 系雄ラット 150 匹のうち 120 匹について 2 週間の予備飼育後，エーテル麻酔下に左腎結紮を行なつた。その 1 週間後卵黄感作を開始し，2～3 日おきに週 3 回，6 週間感作を続けた。卵黄は新鮮鶏卵よりできるだけ卵白を混入しないように分離し，1：1.5 の割合に生理的食塩水で稀釈し，無菌的にガーゼで濾過したものをを用いた。投与量は 20 ml/kg とし，尾静脈より注射して感作した。

これらのラットは予め 5 群に分け NAPP 錠および

プレドニソロンを表 1 のように投与した。すなわち，第 1 群：対照群（肝硬変無治療群），腎結紮および卵黄感作を行ない，薬剤投与は行なわない。

第 2 群：予防群，NAPP 錠経口投与 4 mg/ラット/日，週 6 回，投与は卵黄感作開始前 2 週より始め合計 48 回に至る。

第 3 群：治療群，NAPP 錠経口投与 4 mg/ラット/日，週 6 回，投与は卵黄感作後 2 週より始め合計 24 回に至る。

第 4 群：プレドニソロン群，2 mg/kg/日を週 6 回，投与は卵黄感作開始後 2 週より始め合計 24 回に至る。

第 5 群：正常群，腎結紮，卵黄感作共に行なわず他の 4 群と同一条件にて飼育する。

なお，NAPP 錠は 1 錠中 NAPP 4 mg を含有する直径約 3 mm の腸溶性被覆を施したものを 1 日 1 錠宛ゾンデを用いて経口投与した。

以上の各群のラットは卵黄感作開始後，2 週間，4 週間，6 週間経過後断頭瀉血採血し，SGOT，SGPT，高田反応，A/G 比等の臨床検査を行ない，屠殺ラットの脾，肝を摘出し，肉眼所見を観察した後 10%ホルマリンで固定，パラフィン包埋，ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して組織学的検索を行なつた。

Serum glutamic oxalacetic transaminase (SGOT) は Reitman・Frankel 変法¹⁸⁾により Dade 社 (Florida) の測定用試薬を用いて，同じく Dade の血液臨床化学検査用既知酵素含有コントロール血清である Enzzatrol を対照において測定した。

Serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT)

表 1 肝硬変実験における薬剤投与方式

群	投与薬物	処 置										
		予備飼育	腎結紮			卵黄感作開始		卵黄感作 2 W		卵黄感作 4 W		卵黄感作 6 W
		1 W	2 W	3 W	4 W	5 W	6 W	7 W	8 W	9 W	合計	
1	対 照 (水)		▲▲▲▲	▲▲▲▲	▲▲▲▲	○	○	○	○	○	○	48
					○	○	○	○	○	○	○	18
2	NAPP 予防 4 mg/ラット		●●●●	●●●●	●●●●	○	○	○	○	○	○	48
					○	○	○	○	○	○	○	18
3	NAPP 治療 4 mg/ラット		▲▲▲▲	▲▲▲▲	▲▲▲▲	○	○	○	○	○	○	24
					○	○	○	○	○	○	○	18
4	プレドニソロン 2 mg/kg		▲▲▲▲	▲▲▲▲	▲▲▲▲	○	○	○	○	○	○	24
					○	○	○	○	○	○	○	18
5	正 常 対 照 (無 処 置)											

○ 卵黄感作 ▲ 水 投 与
● NAPP錠投与
× プレドニソロン投与

も SGOT と同様 Dade の測定用試薬と Enzatrol を用いて測定した。

高田反応については、Jezler⁹⁾変法により、ラット血清の生理食塩水による 2 倍稀釈試験管系列のうち、沈澱を生ずる本数をもつて結果を表示した。反応は室温 (15~20°C) で行ない成績判定は 24 時間放置後の測定によつた。

A/G 比はラット血清をセルローズ・アセテート膜で電気泳動を行ない、デンストメーターにより Albumin 分画と Globulin 分画との比を求めた。泳動条件はペロナル緩衝液 pH 8.6, イオン強度 0.07, 0.6amp/cm, 45 分間であつた。

実験結果

1. NAPP 錠の有効投与量:

(1) 血中濃度: NAPP 錠をヒトに経口投与 (2.5 mg/kg) した際のプロトポルフィリンの血中濃度を、NAPP 静脈内投与 (0.5 mg/kg) におけるそれと比較した結果は表 2, 表 3 のようであり、薬物投与後の時間に対して血中濃度の平均値をプロットすれば図 1 を得る。これから明らかのように NAPP の腸管吸収はかなり個体差が著しいが、経口投与後 6 時間目ではほぼ最高の血中濃度 10.4 μg/10ml となり、それから徐々に低下し、12 時間目ではほぼ投与前の値になることが推定された。

ここで NAPP の有効濃度を、血中濃度の投与時間に対する積分値として表現するならば、NAPP 錠 (経口投与) と NAPP 注 (静脈内投与) との有効血中濃度の比は図 1 より点線部分の面積 (A) と、斜線部分の面積 (B) との比であらわされることになる。すなわち、

図 1 NAPP 経口投与と静脈内投与とにおける血中濃度の比較

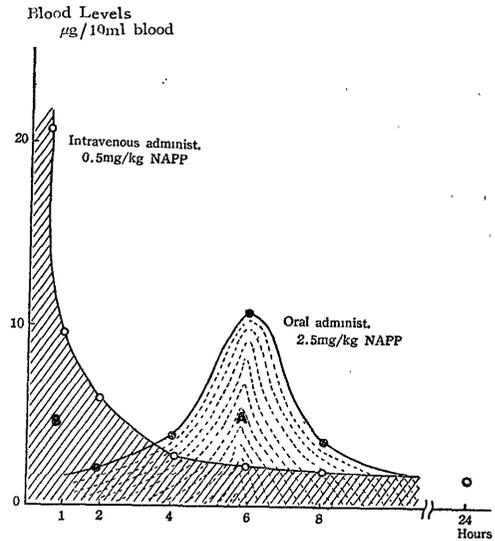


表 2 NAPP 錠経口投与による血中濃度 (μg/10 ml 血液)

成人男 (体重約 55 kg)	NAPP 錠投与後の時間							
	前	1/2	1	2	4	6	8	24
A	2.7	—	—	2.0	3.8	5.6	8.6	—
B	3.8	—	—	2.2	3.2	14.1	1.8	—
C	2.3	—	—	1.6	5.1	10.2	2.4	—
D	1.8	—	—	2.4	2.8	13.3	2.1	—
E	2.4	—	—	1.8	2.6	8.8	1.6	—
平均	2.6	—	—	2.0	3.5	10.4	3.3	—

表 3 NAPP 注射液静脈内投与による血中濃度 (μg/10 ml 血液)

成人男 (体重約 55 kg)	NAPP 静注後の時間							
	前	1/2	1	2	4	6	8	24
F	2.7	18.8	8.1	6.2	5.4	2.0	2.1	2.4
G	2.2	20.5	10.3	4.3	1.1	1.6	1.5	1.9
H	2.0	22.1	4.5	4.4	2.2	2.4	1.8	2.3
I	1.6	16.5	14.5	9.2	4.1	2.0	2.0	1.4
J	1.8	25.1	10.1	5.4	2.4	3.0	2.4	1.5
平均	2.3	20.6	9.5	5.9	2.6	2.2	2.0	1.9

面積比 A/B ≒ 4/5

ここでは経口投与は静脈内投与の5倍量を使用しているから、同一の有効血中濃度を得るための内服量と静注量との比は、

内服量/静注量 ≒ 6/1

となる。

(2) 肉芽腫抑制試験: NAPP の経口投与および静脈内投与の、投与量と効果との関係は図2のようであり、ホルマリン濾紙をとり囲んで生ずる肉芽腫形成が NAPP 投与によりどの程度抑制されたかを示す。すなわち、経口投与と静脈内投与とで同一の効果(同一の肉芽腫湿重量)を得るための投与量の比は、用量-反応曲線より、

内服量/静注量 ≒ 6~7/1

となる。これはヒトに投与した場合の血中濃度の比とかなり近い値であり、有効血中濃度を、血中濃度の投与時間に対する積分値として表現したことの妥当性を裏づけるものであろう。

2. 肝硬変におよぼす影響:

(1) SGOT: ラットの SGOT 正常値はヒトにくらべてかなり高い値を示し、かつ個体差も大きく 180~260単位で、平均220単位であつた。卵黄感作後 2, 4, 6週に測定した NAPP 投与群および対照群(無処置肝硬変群)の測定結果は表4および図3に示した。これから明らかのように対照肝硬変群は4週において異常な増加を示し、ラット5匹の平均は511単位であり、中には975単位の高値を示すものすらあつた。その後やや低下の傾向をたどつたが、それでも6週の剖検時には平均345単位、最も高いもので590単位を示すものがあつた。

NAPP による予防群、治療群およびプレドニロン投与群は共に同一の傾向を示したが、全般を通じて SGOT 値の上昇は少なく、肝硬変の予防~治療効果のあることを示唆する結果を得た。

(2) SGPT: ヒトにくらべてラットの SGPT 正常値は やや高く 27.5~45.5 単位、平均38単位であつた。卵黄感作後 2, 4, 6週に測定した NAPP 投与群および対照群(無処置肝硬変群)の測定結果はプレドニロン投与群と対比させて表5および図4に示した。

無処置対照(肝硬変)群のラットの SGPT 値は卵黄感作開始後2週では有意の上昇を示さなかつたが、それ以後急激に上昇の傾向をたどり4週では平均76.9単位、剖検時の6週では104.0単位で中には185.0単位を示すものすらみられた。

一方 NAPP 投与による予防~治療群はプレドニ

図2 Dose-Response Relationship (Granuloma Inhibition Test)

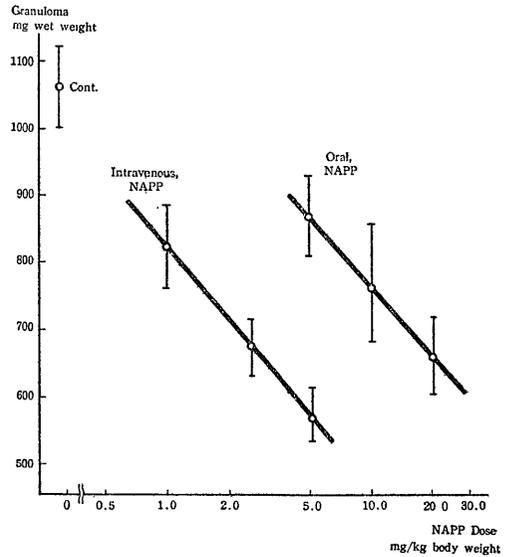
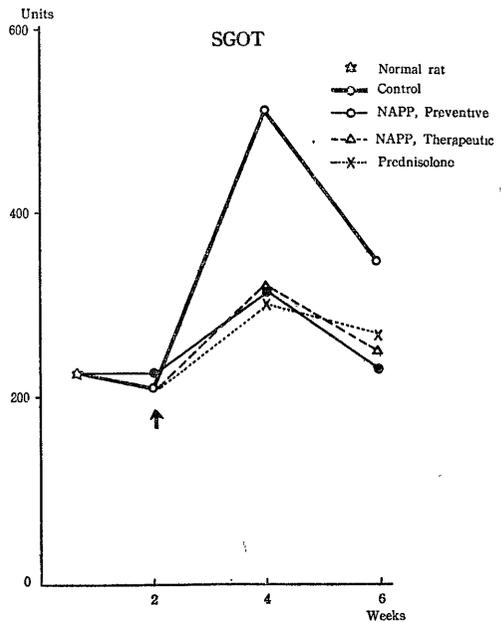


図3 SGOT 値



註 1) 横軸は卵黄感作開始後の週数
2) 2週目の矢印は治療実験における NAPP 投与開始を示す。

ロン投与群と同様 SGPT 値の多少の上昇はみられたが、終始無処置肝硬変群のそれを下廻り、剖検時の6週ですら平均70.8~72.4単位を示し、明らかに有意の差で予防~治療効果のあつたことがうかがわれた。

(3) 高田反応: ラットの場合は血清中のグロブリン分画が多いためもあつてか、正常血清においても 9

表4 SGOT 測定値

実験群 卵黄感作後	動物番号	EnzatroI*	正 常	対 照	NAPP 錠予防	NAPP 錠治療	プレドニ ソロン
2 週	1	93	185	188	182		
	2	89	260	289	213		
	3		175	188	230		
	4		244	188	230		
	5		218	200	260		
	平 均	91 (96)	216	211	227		
4 週	6	143(120)	255	535	505	260	245
	7	135(120)	190	975	170	205	210
	8		230	305	220	260	250
	9		220	230	375	230	330
	10		226	513	260	515	415
	11				365	445	360
	平 均	139(120)	224	511	316	319	301
6 週	12	135(120)	300	370	290	230	245
	13	120(120)	205	280	250	270	205
	14		240	590	270	220	280
	15		220	205	190	270	255
	16		180	270	205	290	300
	17		205	290	180	260	290
	18			380	175	250	310
	19			380	200	200	270
	20				305		
	平 均	127(120)	225	345	229	249	269

* EnzatroI とは血液臨床検査用既知酵素含有コントロール血清 (Dade Reagents Inc., Miami, Florida) であり、カッコ内の数値は使用 EnzatroI の標準値を示す。

本の試験管中平均して4本は肉眼的沈澱物を認めた。したがってラットにおける高田反応の正常値を4とし、肝硬変群、NAPP投与群、プレドニソロン投与群の経時的測定結果を示したものが表6および図5である。これから明らかなように無処置肝硬変群(対照群)は卵黄感作開始後次第に測定値の上昇をみせたが、処置群ではNAPP、プレドニソロン投与群共に沈澱物の生成は少なく常に肝硬変群の値を下廻った。平均して試験管系列1段ずつの差がみられた。

(4) A/G比: 測定結果はまとめて表7および図6に示した。正常ラット血清のA/G比は、われわれの結果では平均0.639で、大体0.535~0.735の変動がみられた。ところが無処置肝硬変群(対照群)では卵黄感作開始より直ちに低下傾向を示し、4週でその値は平均0.466で最低を示し、6週の剖検時まで続いた。

一方NAPP投与群のうち、予防処置群については

4週まではほとんど正常ラット血清のA/G比と有意の差を示さず、その後やや低下の傾向を示したが、それでも6週の剖検時で平均0.558であつた。またNAPP治療群についてみてもプレドニソロン投与群と同様に、卵黄感作2週後に薬物投与を開始してからは、A/G比の低下は全くみられなかつた。これらの結果は明らかにNAPPが肝硬変のA/G比の改善に好結果を与えることの示唆と受けとられよう。

なおラット血清のセルロース・アセテート膜電気泳動のデンストメーターによる積分図で、肝硬変ラット血清は正常のそれに比し明らかにグロブリン分画の増加が認められたが、NAPP投与により、血清の電気泳動図は正常血清のそれに近づき、かつグロブリン分画の増加も抑制された。

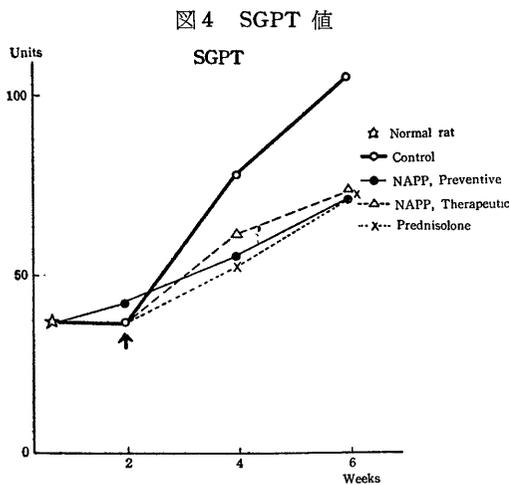
(5) 死亡率: 卵黄感作開始後2~3週に、対照群(無処置肝硬変群)でかなりのラットの死亡がみられた(表8)。これらの死亡例はいずれも卵黄注射直後

表5 SGPT 測定値

実験群 卵黄感作	動物番号	Enzatrol*	正 常	対 照	予 防 (NAPP錠)	治 療 (NAPP錠)	プレドニ ソロン
2 週	1	71	27.5	37.0	39.0		
	2	71	35.0	42.5	47.0		
	3		27.5	35.5	43.5		
	4		27.5	32.0	37.0		
	5		42.5	35.0	39.0		
	平 均	71 (69)	32.0	36.4	41.1		
4 週	6	63.0	35.0	33.5	35.1	55.0	33.0
	7	68.0	55.0	135.0	46.1	37.5	43.5
	8		45.5	58.0	48.5	77.5	51.0
	9		27.5	42.5	80.0	90.0	66.5
	10		31.0	115.5	63.0	54.0	47.5
	11				55.5	47.5	78.0
平 均	65.5(68)	38.8	76.9	54.7	60.3	53.3	
6 週	12	73.5	55.0	92.5	62.5	70.0	65.0
	13	69.0	45.5	72.5	62.5	120.0	71.5
	14		50.5	185.0	52.5	45.5	80.0
	15		39.5	72.5	72.5	110.5	95.5
	16		37.5	55.5	65.0	105.0	100.0
	17		30.0	112.0	80.0	45.0	46.0
	18			120.0	55.0	46.5	45.0
	19			125.0	112.0	37.5	76.5
	20				75.0		
	平 均	71.8(68)	43.0	104.0	70.8	72.5	72.4

*表4の脚注参照

Enzatrol のカッコ内の数値は使用 Enzatrol 標準値



説明は図3 註説明

にショック症状を呈し12時間以内に死亡したもので、ラットに産生された抗卵黄抗体によるアナフィラキシー・ショックと判断された。一方プレドニソロン投与群においても死亡するラットが多かつたが、体重の減少が著しいことから副作用によるものとみなされた。しかし NAPP 予防群においては3週目に1匹のラットが死亡したのみであり、また NAPP 治療群においても、2週後に薬物投与を開始してからは1例の死亡もみられず、死亡した4例はいずれも NAPP 投与以前におけるアナフィラキシー・ショック死であつた。

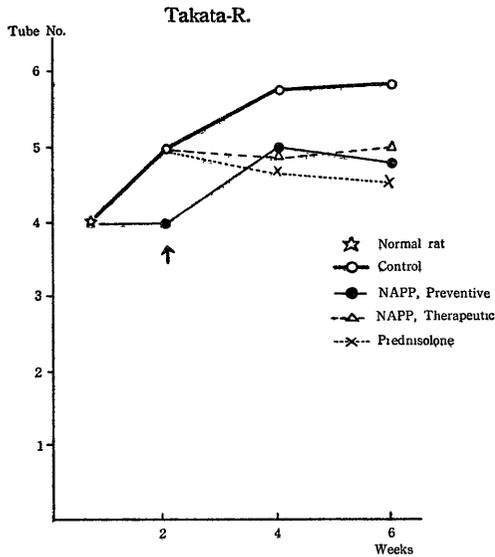
(6) 病理学所見: 卵黄感作開始後、2週、4週および6週にそれぞれ3~5匹ずつのラットを剖検した。

i) 肝/体重比および脾/体重比: 摘出肝および脾の湿重量を測定、体重に対する重量比を求めた結果は図7および図8に示した。肝/体重比(図7)は、卵黄感作2週においては対照群、処置群共に正常値に比べ

てあまり変化はみられなかつたが、4週において対照群はかなりの増加をみせて5%をやや上廻り6週まではこの値を保つた。これに反してNAPP投与群では4週で約4%の値をとりその後も上昇の傾向をたどつたが終始対照群を下廻る値を示した。

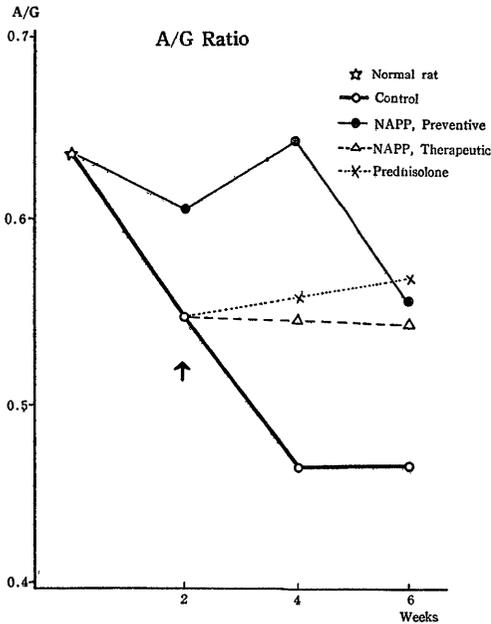
一方、脾/体重比(図8)は、正常ラットのそれは

図5 高田反応



説明は図3 註参照

図6 A/G 比



説明は図3 註参照

0.42~0.48であつたが、対照群(無処置肝硬変群)では卵黄感作開始後2週ですでに著しい脾/体重比の上昇をみせて1%にまで及んだ。4週をすぎるとやや低下の傾向をみせたがそれでも6時間で0.8%の値を示した。ところがNAPP投与による予防群では終止正常値にとどまり上昇は全くみられなかつた。また卵黄感作2週後よりNAPP投与を開始した治療群ではプレドニソロン投与群同様に薬物開始と共に脾/体重比は低下を示し4週では0.7%の値を示して、この傾向はその後6週の剖検時まで続いた。

ii) 肝肉眼的所見: 対照肝硬変群では卵黄感作開始後2週ですでに肝表面の色調の変化が目立ち淡褐色と

図7 肝/体重比

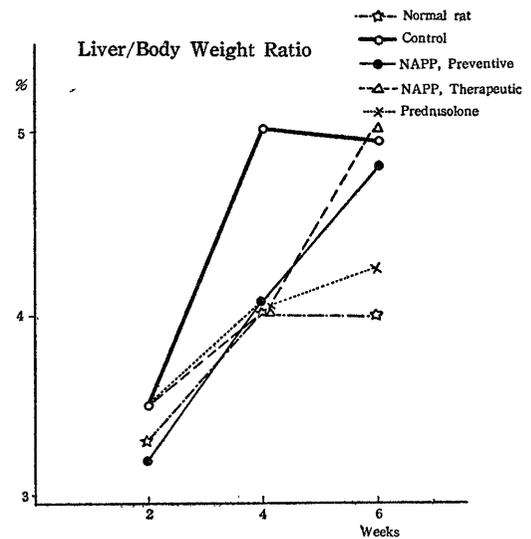
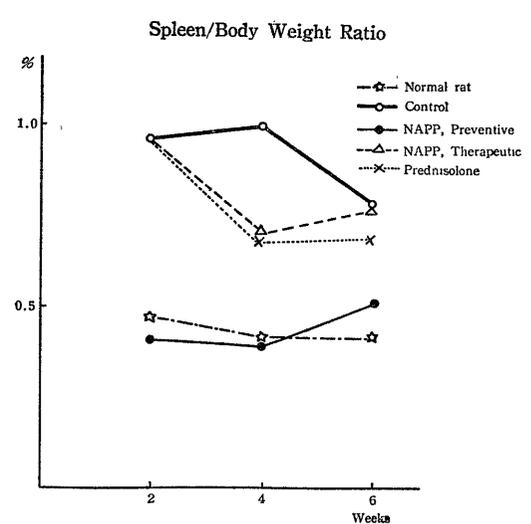


図8 脾/体重比



なり、4週でさらに表面は微細顆粒状で硬度も増加した(写真1-a)。

NAPPによる予防群では2週では変化は全くみられず4週に至りやや表面顆粒状を思わせるものがあり硬度もわずかに増加した。しかしその後6週に至るも同様の所見であり、増悪の傾向は全くみられなかつた(写真2-a)。NAPP治療群も卵黄感作開始後6週のもは表面わずかに顆粒状であり硬度もやや増加したが肥大はほとんど認められなかつた(写真3-a)。プレドニロン投与群は肝は淡褐色、表面平滑で硬度の増加はみられなかつた(写真4-a)。

iii) 肝組織学的所見: 対照肝硬変群では卵黄感作2週で小葉間結合織の増生が所々にみられ、グリソン氏鞘は拡張しそこから間質がのびているのがみられる。炎症性細胞浸潤も認められ、肝細胞は細胞質粗大となり顆粒状となつているのがみられた。5週では小葉間結合織の増生がさらに著明で索状の間質が小葉を区

切り小葉周辺部には所々細胞浸潤を伴う小塊死巣がかなりの程度に認められるようになった。炎症性細胞の浸潤ことに好酸球が多く、肝細胞は核の大小不同が認められるようになった。6週では小葉間結合織が著明に増生し索状にのびた間質が小葉を区切つて大小不同の小葉を形成している。グリソン氏鞘は間質の増生、細胆管の増生がかなり認められ、形質細胞や好酸球等の浸潤はさらに強くなつた。肝小葉周辺には細胞浸潤を伴う小塊死巣が多く認められ、肝細胞は核の大小不同、核分裂像、細胞質の粗大顆粒状化が著明でまたかなりの程度に好酸性化したものが出現した(写真1-b)。

NAPP投与による肝硬変予防群では、卵黄感作2週では小葉間結合織は全く正常でその他にも正常肝組織と比べて著しい変化は認められなかつた。4週でわずかに小葉間結合織の増生がみられ、肝細胞の軽度肥大とNAPPのとりこみがみられる以外小葉週辺の小

表6 高田反応

卵黄感作期間	実験群	動物番号	正 常	対 照	予 防 (NAPP錠)	治 療 (NAPP錠)	プレドニ ンロン
2 週		1	4	5	4		
		2	4	5	4		
		3	4	5	4		
		4	5	6	3		
		5	4	5	4		
		6		4	5		
		平 均	4.2	4.0	4.0		
4 週		7	4	7	5	5	4
		8	4	6	6	5	4
		9	3	4	5	5	5
		10	4	7	5	4	5
		11	5	5	5	5	4
		12		4	6	6	6
		平 均	4.0	5.8	5.0	5.0	4.7
6 週		13	4	5	4	4	4
		14	5	7	5	4	4
		15	4	4	5	7	4
		16	3	6	4	6	5
		17	4	6	4	5	4
		18		7	5	5	6
		19		5	5	4	5
		20		5	5		
		21		6	6		
		平 均	4.0	5.8	4.8	5.0	4.6

数字は9本の試験管中肉眼的沈澱物を生じた本数を示した。

壊死巣および炎症性細胞の浸潤等も全く認められなかった。卵黄感作6週に至つてわずかに小葉周辺帯の小壊死巣がみられるものもあつたが、小葉間結合織の増生は所々わずかに認められるにすぎず、グリソン氏鞘の変化も軽度であつた(写真2-1b)。

NAPP 治療群では、卵黄感作後6週で小葉間結合織が索状にのびて小葉を区切つているところもみられ、グリソン氏鞘には細胞浸潤がいくらかみられた。肝細胞は細胞質が軽度に粗大顆粒状化し、核の肥大が

わずかにみられた(写真3-1b)。

プレドニロン投与群はうつ血像があり、結合織の増生傾向は認められず、グリソン氏鞘にわずかに細胞浸潤が認められる程度であつた。しかし肝細胞は微細空胞形成が高度で、細胞質は粗大顆粒化して空虚となり核の大小不同がかなり認められた(写真4-1b)。

なお以上の肉眼的所見および組織学的所見はまとめて表9および表10に示した。

表7 A/G 比

卵黄感作期間	実験群	動物番号	正 常	対 照	予 防 (NAPP錠)	治 療 (NAPP錠)	プレドニ ロン
2 週		1	0.645	0.555	0.641		
		2	0.601	0.610	0.686		
		3	0.548	0.494	0.594		
		4	0.683	0.508	0.450		
		5	0.735	0.550	0.660		
		平 均	0.652	0.548	0.606		
4 週		6	0.645	0.562	0.678	0.564	0.610
		7	0.683	0.452	0.743	0.486	0.545
		8	0.450	0.310	0.670	0.614	0.500
		9	0.615	0.539	0.591	0.564	0.665
		10	0.712	0.470	0.670	0.510	0.678
		11			0.521	0.535	0.600
平 均	0.621	0.466	0.645	0.546	0.599		
6 週		12	0.663	0.434	0.575	0.564	0.615
		13	0.663	0.494	0.666	0.582	0.503
		14	0.650	0.415	0.550	0.534	0.496
		15	0.705	0.489	0.750	0.432	0.575
		16	0.535	0.529	0.565	0.589	0.548
		17		0.645	0.476	0.564	0.680
		18		0.314	0.613	0.493	0.607
		19		0.436	0.496	0.601	0.521
		20			0.486		
		21			0.406		
		平 均	0.643	0.469	0.558	0.545	0.568

表8 ラット死亡数

実験群	卵黄感作週数							合 計
	1	2	3	4	5	6		
対 照 (28匹)	0	6	3	0	0	0	9	
予 防 (27匹)	0	0	1	0	0	0	1	
治 療 (27匹)	0	4	0	0	0	0	4	
プレドニロン (27匹)	0	5	1	0	2	1	9	

↑
治療群薬剤投与開始

表9 肉眼所見 (肝)

実験群	対 照						予 防						治 療						プ レ ド ニ ソ ロ ン					
	ラ ッ ト 番 号	卵 黄 感 作 数	色 調 変 化	表 面 顆 粒 状	硬 度 増 加	肥 大 程 度	肝 重 量 W.W	脾 重 量 W.W	色 調 変 化	表 面 顆 粒 状	硬 度 増 加	肥 大 程 度	肝 重 量	脾 重 量	色 調 変 化	表 面 顆 粒 状	硬 度 増 加	肥 大 程 度	肝 重 量	脾 重 量				
2	1		+	±	+	±	9.3	1.9	-	-	-	7.6	0.9	-	-	-	-	-	-	-				
	2		±	-	+	±	9.4	2.1	-	-	-	7.6	0.9	-	-	-	-	-	-	-				
	3		+	-	-	+	10.1	2.2	-	-	-	8.6	1.0	-	-	-	-	-	-	-				
4	4		±	±	+	±	15.0	2.1	±	+	±	10.5	1.0	±	+	+	+	10.2	1.6	±				
	5		±	±	±	±	14.0	3.9	-	+	±	11.6	1.1	+	+	+	-	8.5	1.8	±				
	6		±	±	+	±	11.6	2.6	-	+	±	9.5	1.0	+	+	+	-	8.3	1.2	+				
6	7		±	±	±	±	10.8	1.9	+	+	-	13.5	1.0	+	+	+	+	12.0	1.8	+				
	8		+	+	±	±	13.8	2.7	+	+	-	11.8	1.8	+	+	+	-	10.2	1.7	±				
	9		±	±	±	±	14.9	2.2	+	+	-	15.3	1.3	±	±	±	+	10.0	2.5	±				
10	10		±	±	±	±	13.5	1.8	+	+	-	12.8	1.3	+	+	+	+	14.9	1.7	±				
	11		±	±	±	±	13.5	3.5	±	+	+	14.1	2.3	±	±	±	+	9.1	1.3	±				
11	7		±	±	±	±	10.8	1.9	+	+	-	13.5	1.0	+	+	+	+	12.0	1.8	+				
	8		+	+	±	±	13.8	2.7	+	+	-	11.8	1.8	+	+	+	-	10.2	1.7	±				
	9		±	±	±	±	14.9	2.2	+	+	-	15.3	1.3	±	±	±	+	10.0	2.5	±				
12	10		±	±	±	±	13.5	1.8	+	+	-	12.8	1.3	+	+	+	+	14.9	1.7	±				
	11		±	±	±	±	13.5	3.5	±	+	+	14.1	2.3	±	±	±	+	9.1	1.3	±				

より NAPP 錠の投与を開始した。プレドニソロンも卵黄感作後 2 週間から投与を開始した。NAPP 錠およびプレドニソロンは投与を続けつつ卵黄感作も併せて継続し、その間各種の臨床検査を行なった。これらの成績からラットの実験的肝硬変症に対し、NAPP の経口投与が、前報の NAPP 静脈内投与の場合と同様かなりすぐれた予防および治療効果を示すことがわかった。

SGOT 値は一般に心筋梗塞、急性肝壊死等においてその上昇がみられるとされている。ラットの場合は正常値がヒトにくらべてかなり高い値を示しかつ個体差も大きかったが、対照肝硬変に比して NAPP 予防群および治療群共に SGOT 値のかなりの低下が認められた。

SGPT 値は肝炎で規則正しく上昇し急性肝障害の鋭敏な指標とされているが、肝硬変対照群においても卵黄感作の回数の増加に従い急激な上昇がみられた。しかし NAPP 投与群は予防群、治療群共に SGPT 値は常に肝硬変対照群を下廻り薬物投与の効果を示した。高田反応は陽性の場合ヒトでは肝実質に重篤な障害のあることを示し特に肝硬変症においては陽性率が著しいとされているが、ラットの場合では血清中のグロブリン分画が多いので正常においても陽性を示した。しかし対照肝硬変群に比し NAPP 投与群は陽性度がかなり低かった。A/G 比については正常ラットの値が 0.59 ± 0.07 との報告¹⁰⁾もあるが、われわれが 15 例の正常 Wister 系ラットについて測定した結果は A/G 比が 0.64 であつた。これはラット strain および測定条件による相違であろう。いずれにせよ、対照肝硬変群において A/G 比の急速な低下がみられたのに反し、NAPP 投与群では明らかにその低下の抑制されることがわかった。

以上の如く各種臨床成績において NAPP の経口投与は明らかに肝硬変抑制および治療効果を示したが、このことはさらに病理学的所見からも確認された。すなわち対照肝硬変群では肉眼的にも組織学的にも明らかに肝硬変像がみられたのに反し、NAPP 投与群は予防・治療群共に肝表面の微細顆粒状変化は軽度かまたはほとんどみられず硬度の増加も軽度で、組織学的にも小葉間結合織の増生は少なく、グリソン氏鞘の細胞浸潤も抑制されていた。プレドニソロン投与群では肝硬変像はよく抑制されていたが、うつ血像がみられ肝細胞の変性を思わせるものが多かつた。

なお、この実験で、ラットの死亡率については非常に興味ある結果が得られた。ラットに卵黄感作を続けることにより次第に肝硬変をおこしてくるが 6 週の剖

検時まで肝硬変が原因と考えられる死亡例はみられず、卵黄感作開始後 2~3 週において、対照肝硬変群 (NAPP 無投与) にみられた 9 死亡例 および NAPP 治療群の治療開始前にみられた 4 死亡例は、いずれもラット中に産生された抗卵黄抗体によるアナフィラキシー・ショック死と判断された。したがって NAPP 投与ラットで死亡率が著しく低いことは、卵黄感作によるアナフィラキシー・ショック等に NAPP が抑制効果の著しいことも示唆しているとい得よう。このことは対照肝硬変で脾/体重比が異常に大きく 0.8~1.0% に達し、A/G 比においてもグロブリン分画特に γ -グロブリンの増加が著しいのに反し、NAPP 投与群では脾/体重比が常に正常値 (0.4~0.5%) にとどまり A/G 比もほぼ正常値を示したことなどから考え合せて免疫病理の立場から甚だ興味深いものがある。

一方 NAPP が感染防禦抗体の産生をおさえることなく抗炎症作用を示すこと²⁾ や網内系機能賦活作用を示すこと¹¹⁾ などの事実を考慮するならば、プロトポルフィリンの生体におよぼす影響とその作用機序解明にとって今回の結果はまた一つの手がかりとなり得よう。

結 論

卵黄感作をくり返すことによつて発症させられた実験的肝硬変症ラットにプロトポルフィリン (腸溶性 NAPP 錠として) を経口投与し、その発症予防効果および治療効果を検討した。得られた結果は次のように要約される。

(1) NAPP の経口投与量は注射液の静脈内投与の場合の 6 倍量が適当であることが、人体投与の場合の血中濃度およびラットを用いた肉芽腫抑制実験より確かめられた。

(2) 上記適量 (4 mg/ラット) を経口投与した実験的肝硬変症において、NAPP が発症抑制効果および治療効果をもつことが、SGOT 値、SGPT 値、高田反応、A/G 比等の臨床検査成績および肝の肉眼的・組織学的所見から明らかとされた。

(3) ラットの卵黄感作によるアナフィラキシー・ショック死の抑制に、NAPP が著しい効果を示した。

おわりに御指導を頂いた恩師石川大刀雄教授、倉田自章助教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 須山忠和・松本 剛：十全医会誌，70，694 (1964)。
- 2) 須山忠和・松本 剛・小黒義五郎：十全医会誌，73，199 (1966)。
- 3) 須山忠和・

- 松本 剛・佐伯良昭： 十全医会誌, 73, 206 (1966). 4) 浦田郡平： 化学の領域, 増刊33 (南江堂), p. 119~125 (1958). 5) Rimington, C. & Sveinsson, S. L. : Scand. J. Clin. Lab. Invest., 2, 209 (1950). 6) Tanaka, A., Kobayashi, F. & Miyake, T. : Endocrinol. Japon. 7, 357~364 (1960). 7) Campbell, J. A. H. : Brit. J. exp. pathology., 42, 290 (1961). 8) Reitman, S. & Frankel, S. : Am. J. Clin. Path., 28, 56 (1957). 9) Jezler : Zschr. Klin. Med., 114, 793 (1930). 10) 高杉年雄： 内科, 15, (6), 1031 (1965). 11) 田上清貞・橘 和代： 十全医会誌, 69, 367 (1963).

Abstract

The effects of orally administered protoporphyrin (entric coated tablet) on experimental liver cirrhosis, induced in rats by repeated injections of chicken egg yolk, have been investigated. The results obtained from the clinical and pathological examinations are summarized as follows:

1) In preliminary experiments, it was found that orally administered protoporphyrin was relatively well absorbed from the intestinal tract in human subjects or experimental animals. The dose-response relationship, which was estimated by granuloma inhibition test for anti-inflammatory effects, revealed that the effective oral dose was about six times as much as the intravenous dose.

2) When this oral dose (4 mg/rat/day) was daily administered to rats of experimental cirrhosis, marked preventive and therapeutic effects of protoporphyrin on the cirrhosis were shown as the results of laboratory data such as SGOT, SGPT, Takata-reaction, A/G ratio, and histological examination of liver.

3) Systemic anaphylactic shock in sensitized rats was also clearly suppressed with protoporphyrin administration.

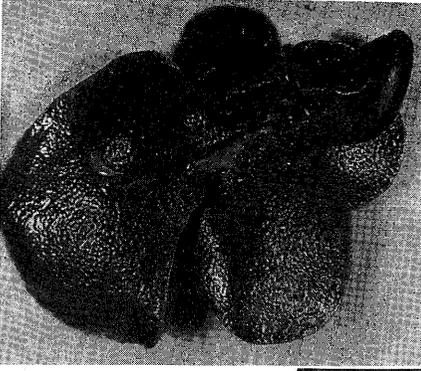


写真 1-a

対照（肝硬変無治療）群. 卵黄感作後6週.

写真 1-b

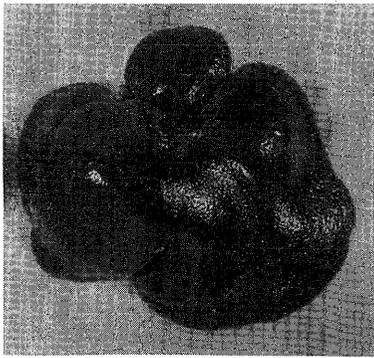
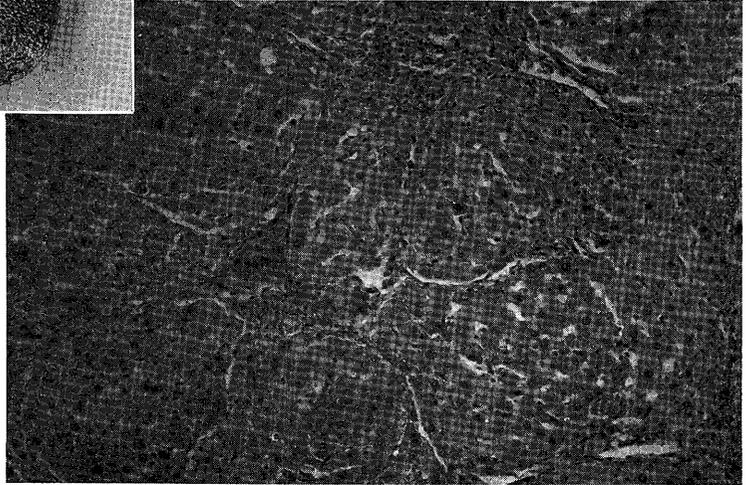
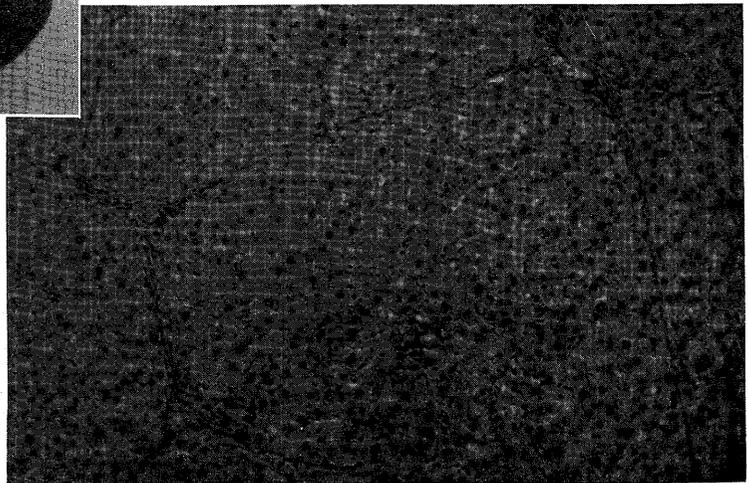


写真 2-a

NAPP 予防群. 卵黄感作後6週.

写真 2-b



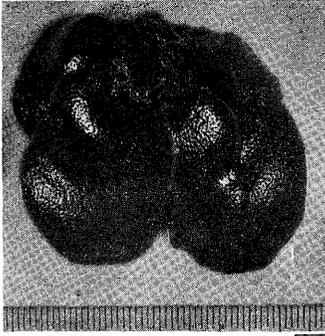


写真 3-a

NAPP 治療群. 卵黄感作後 6 週.

写真 3-b

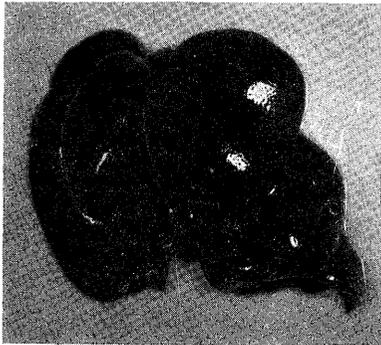
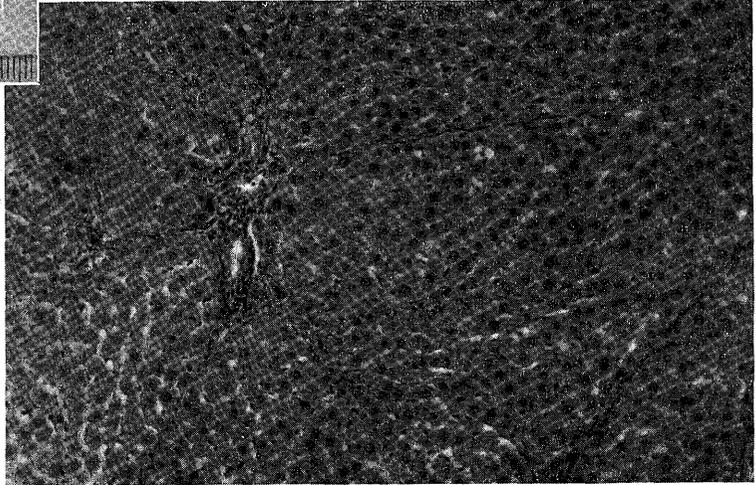


写真 4-a

プレドニゾン群. 卵黄感作後 6 週.

写真 4-b

