

プロトポルフィリンの抗炎症作用 (II)

—アレルギー反応・抗体産生・免疫溶血反応におよぼす影響—

金沢大学医学部第二病理学教室(主任 石川大刀雄教授)

須 山 忠 和

松 本 剛

小 黒 義 五 郎

(受付昭和40年10月22日)

本論文の要旨は昭和39年11月, 第14回日本アレルギー学会総会において発表した。

前報¹⁾において, プロトポルフィリンが肝硬変抑制効果を示すことを, ラッテ肝の肉眼的および組織学的検索よりたしかめ得た。また, ラッテを用いての実験的肉芽腫の抑制効果や家兎を用いての痘瘡ワクチンの発痘抑制効果などから, プロトポルフィリンに著しい抗炎症作用のあることが明らかになった。つづいて即時型および遅発型のアレルギー反応に対してもまた興味ある結果を得たが, さらにマウスの感染防禦実験を *Salmonella enteritidis* を用いて検討し, プロトポルフィリンが抗炎症・抗アレルギー作用を示すにもかかわらず, 感染防禦抗体の産生を抑制せず, むしろそれを高めている事実を見出した。この報告においては, アレルギー性炎症に対するプロトポルフィリンの影響, とくにその抗体産生におよぼす影響について, コルチコステロイドとの比較において検討を加えた結果をのべ, さらに *in vitro* における補体の関与する免疫溶血反応に対しての影響についても併せてのべる。

実験材料および実験方法

I. アレルギー反応:

1. 使用薬物: プロトポルフィリン・ナトリウム塩(以下 NAPP と略記)はミドリ十字 K. K. より提供を受け, これを5%ブドウ糖に0.5~1%の割合に溶解し, 滅菌後静脈内投与した。コルチコステロイドは市販のプレドニソンを使用し筋肉内注射した。また対照としては NAPP の溶媒すなわち5%ブドウ糖のみを静脈内に投与した。

2. 能動性アルブス反応: 体重 2.7~3.0 kg の白色

家兎40匹を使用, 抗原としては Poter の方法²⁾によりカリミヨウバンで処理した結晶卵白アルブミンの1%溶液を1日おきに耳静脈より注射して感作した。感作は初回 0.5 ml よりはじめ, 注射量を漸増しつつ計6回, 感作抗原の総蛋白質量を 100mg とした。

薬物投与は, 家兎を10匹ずつ4群に分け, NAPP 2.5 mg/kg/日, 5 mg/kg/日; プレドニソン 2mg/kg/日 および 5%ブドウ糖(NAPP 溶媒)投与群とし, 初回感作の翌日より毎日投与し, 皮内反応施行の前日まで計20回注射した。

皮内反応は最終感作後10日目に家兎の背部の毛を刈り, 0.25%, 0.125% および 0.0625%の卵白アルブミン生理食塩水溶液を 0.1 ml づつ皮内注射して生ずる浮腫および発赤の径を12時間後に測定し, その長径と短径の積で結果を表わした。また反応の質的な変化は次の4段階に分けて観察した。すなわち, I) 浮腫, II) 発赤~充血, III) 出血, IV) 暗紫色の壊死。

抗体価の測定は Stavitsky 等³⁾の方法に準ずる赤血球凝集反応によつた。すなわち 0.005%タンニン酸で処理した綿羊赤血球に0.05%卵白アルブミン液を吸着させたものを抗原とし, 最終免疫後10日目に採血した上記家兎血清の凝集価を測定した。なお凝集価は凝集反応陽性を示す血清の最高稀釈倍数の逆数で示した。

3. 能動性全身アナフィラキシー: 体重約 300g のモルモット50匹を使用した。抗原として1%結晶卵白アルブミン生理食塩水溶液 1 ml を1日おきに3回腹腔内に注射して感作した。薬物投与は, モルモットを

Anti-inflammatory Effects of Protoporphyrin (II). Effects on Hypersensitive Reactions, Antibody Production and Immune Hemolysis. Tadakazu Suyama, Tsuyoshi Matsumoto & Yoshigoro Oguro, Department of Pathology (Director: Prof. T. Ishikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

10匹ずつ5群に分けそれぞれに NAPP 1mg/kg/日, 2.5 mg/kg/日および 5%ブドウ糖を, 初回免疫の翌日より 1日おきに投与し, 惹起注射の前日まで計10回つづけた。

惹起注射は最終免疫後 2週目とし, 1%卵白アルブミン生理食塩水溶液の 0.1 ml を足静脈より注射してモルモットのショック死またはショック症状を観察した。

4. ツベルクリン皮膚反応: 体重 350~400g の白色モルモットを使用した。人型結核菌青山 B株の 100°C 30分加熱死菌を充分乾燥させた後, 滅菌流動パラフィンを加えて emulsion とし, 0.1 mg/ml となるような菌浮游液を作る。これを 1匹につき 0.5 ml ずつ筋肉内に注射して感作した。感作モルモットを20匹ずつ5群つくり, それぞれに NAPP 1 mg/kg/日, 2.5 mg/kg/日, 5 mg/kg/日; プレドニソロン 2 mg/kg/日および 5%ブドウ糖を, 抗原感作の翌日より 1~2日おきに週 3回の割合で投与し, 皮内反応施行の前日まで続けた。

結核死菌感作より 5週後および 6週後に, ツベルクリン原液の1000倍, 2000倍および4000倍稀釈液を 0.1 ml づつラテン交絡法に従ってモルモットの背部皮内に注射し⁴⁾, 48時間後の発赤の長径と短径とを測定, 結果はその積をもつて示した。

II. 感染防禦実験:

使用菌株は, マウスに対する強毒の *Salmonella gaertneri* No. 11 (慶応大学医学部細菌学教室より分与されたもの) を寒天斜面培地に 1代移植し, プイオンに移して 37°C で20時間培養したものを原菌液とした。含有生菌は 15 mg/ml であつた。

体重 13~14 g の dd 系マウス600匹の中500匹に対し, 50°C 30分加熱処理した菌液の 0.05 ml (1 ml 中湿重量 1mg の死菌を浮游させたもの) を1週間の間隔で2回, それぞれのマウスに皮内注射して免疫した。のこりの100匹は非免疫対照群とした。

免疫群のマウスはこれを 100匹ずつ5群に分け, それぞれに NAPP 1 mg/kg/日, 2.5 mg/kg/日, 5 mg/kg/日; プレドニソロン 2mg/kg/日および 5%ブドウ糖を, 初回免疫の翌日より, 生菌による攻撃の前日まで毎日投与した。NAPP は尾静脈内注射, プレドニソロンは筋肉内注射とした。

生菌攻撃は, 5%ブドウ糖投与群の感染防禦抗体価が充分に高まつたと思われた時, すなわち第 2回免疫後 2週目に行なつた。各群のマウスは非免疫対照群をふくめて10匹ずつ10段階に分け, 上述の原菌液およびその 25×2⁰, 25×2¹, ……., 25×2⁹ 倍稀釈液をそれ

ぞれ 1匹につき 0.5 ml ずつ腹腔内に注射した。菌攻撃後72時間以内に死亡するマウスの数を確認し, その LD₅₀ で感染防禦抗体産生に対する影響を検討した。

III. 補体作用抑制実験 (in vitro):

使用した medium は, 0.00015M CaCl₂, 0.0005M MgCl₂ および0.1%ゼラチンを含むイオン強度0.147, pH 7.5 のペロナール緩衝液 (GVB⁺⁺と略記) である。

溶血素 (抗ヒツジ赤血球ウサギ血清) は市販の凍結乾燥品 (ミドリ十字製) を上記 GVB⁺⁺ に溶解して使用した。至適感作のための溶血素量は Mayer の方法⁵⁾ に従い, あらかじめ決定しておいた。すなわち 10⁹ cell/ml ヒツジ血球と等量に混合した各種稀釈溶血素に補体血清を加え 37°C 90分 incubate 後, 最大の溶血を示すピークまたはプラトーでの溶血素量は 1/800 稀釈となつたので, これを至適感作量とした。

赤血球感作は次のようにして行なつた。すなわち, Alserver 液に採血したヒツジ血液より赤血球を分離, モルモット補体血清で自然抗体の吸収を完全に行なつた後, このヒツジ血球の 10⁹ cell/ml に至適感作溶血素量 (1/800 稀釈) を等量しずかに加えて感作した。

補体は 500g 以上のモルモットから心臓穿刺により採血, 血清を分離し, これをプールして使用した。その補体価は Mayor の方法⁵⁾ によると C'H₅₀=175u. であつた。

補体作用阻害剤としての NAPP は, その 0, 5, 10, 20, 50 r および 100 r を GVB⁺⁺ 1 ml に溶解して用いた。

免疫溶血抑制反応は次の操作で行なつた。すなわち各種稀釈の NAPP 1 ml と1/400補体 1 ml を混合, 18°C 10分 incubate した後, 5×10⁸ cells/ml 感作赤血球を 0.5ml 加えて 37°C 1時間反応させ, EDTA-GVB (0.01M EDTA をふくむ GVB) 5 ml を加えて反応を停止させた。3000 r. p. m. 10分遠心上清のオキシヘモグロビンを 541mμ の O.D. で測定後, 対照 (NAPP Or 添加) と比較して, NAPP の各種稀釈に対する溶血度を求め, それより50% inhibition dosis をグラフ上から決定した。なお上記反応系で1/40補体を加えた場合を完全溶血とみなした。

実験結果

1. 能動性アルルス反応:

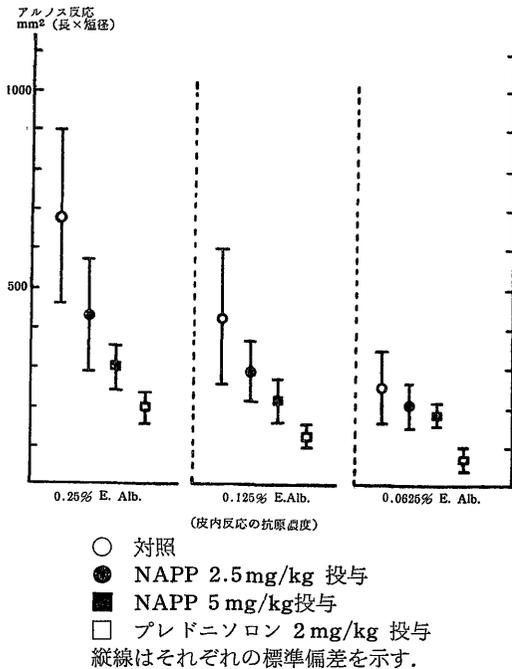
アルルス反応の, 浮腫・発赤の面積についてみれば NAPP 投与群は無投与群に比してその大きさは明らかに小さかつた (表 1, 図 1)。皮内反応のための卵白アルブミン濃度と反応の大きさとの関係を知るため

表 1: 能動アルルス反応

| 投与薬物 | 皮内反応に用いた抗原濃度 | | |
|---------------|--------------|---------------|----------------|
| | 0.25% E.Alb. | 0.125% E.Alb. | 0.0625% E.Alb. |
| 対 照 | 684 | 426 | 256 |
| NAPP 2.5mg/kg | 431 | 292 | 208 |
| NAPP 5mg/kg | 304 | 223 | 181 |
| Pred. 2mg/kg | 200 | 131 | 73 |

使用動物: 家兎
皮内注射は抗原卵白アルブミン (E.Alb.) の各濃度 0.1 ml を用いた。数値は10匹の平均値を mm² で示す。

図 1 能動アルルス反応に及ぼす NAPP の影響



に、惹起注射の蛋白量を、0.25 mg, 0.125 mg および 0.0625 mg の3段階にかえて行なった結果もまたこれらの図表に示した通りであり、0.0625 mg では NAPP 投与群と対照無投与群との間に有意の差が認め難かつた。それぞれの測定値のばらつきより求めた標準偏差は図 1 の縦線で示した。NAPP 投与量についてみれば、5 mg/kg 投与が最も反応が小さかつたが、プレドニソロン 2 mg/kg 投与に比べれば抑制効果は少なかつた。

反応の質的な変化についてもまた検討を加えたが、対照群、NAPP 投与群、プレドニソロン投与群いずれも、浮腫・発赤・充血・出血・変色・局所壊死にいたる各種段階の反応がみられ今回の実験条件下では、

対照群と薬物投与群との間に有意の差を見出すことはできなかつた。

最終免疫後10日目すなわちアルルス皮内反応を行なう当日の血清中の抗体価を血球凝集反応によつて検索した結果は表 2 である。これから明らかなように、NAPP 投与群と対照 (ブドウ糖のみ投与) 群との間では流血抗体の凝集価に有意の差が認められなかつた。しがしプレドニソロン投与群では凝集価が低値を示した。これらを血清稀釈倍数 10×2^n の指数 n で比較すれば、対照群では平均 10.4, NAPP 2.5 mg/kg 投与群では 9.8, NAPP 5 mg/kg 投与群では 10.0 であ

表 2: 能動アルルス反応における血中抗体の凝集価におよぼす NAPP の影響

| 投与薬物 | 凝集価 (血清最高稀釈の逆数) | * n | n の平均 |
|--------------------|--------------------|-----|-------|
| 対 照 (5%ブドウ糖) | 20,480 | 11 | 10.4 |
| | 10,240 | 10 | |
| | 10,240 | 10 | |
| | 20,480 | 11 | |
| | 10,240 | 10 | |
| NAPP 2.5 mg/kg | 10,240 | 10 | 9.8 |
| | 5,120 | 9 | |
| | 10,240 | 10 | |
| | 10,240 | 10 | |
| | 10,240 | 10 | |
| NAPP 5 mg/kg | 20,480 | 11 | 10.0 |
| | 5,120 | 9 | |
| | 10,240 | 10 | |
| | 5,120 | 9 | |
| | 20,480 | 11 | |
| プレドニソロン 2 mg/kg | 2,560 | 8 | 7.8 |
| | 1,280 | 7 | |
| | 2,560 | 8 | |
| | 1,280 | 7 | |
| | 5,120 | 9 | |

使用動物: 家兎

* 稀釈倍数を 10×2^n の n で表わしたものを、

り、プレドニソロン 2 mg/kg 投与群ではであつた。

ただ、この実験を通じて、対照群および NAPP 投与群において家兎はいずれも体重の増加を認めまた途中で死亡するものはみられなかつた。プレドニソロン投与群においては体重減少が著しく、また10匹中4匹が実験途中で死亡した。

2. 能動性全身アナフィラキシー:

感作モルモットに対するアナフィラキシー惹起注射の抗原量 (卵白アルブミン) は予備実験により決定した。すなわち感作しただけで薬物投与を行なわないモルモットに 0.2%~2% 卵白アルブミンの階段濃度につき、それぞれ 0.1 ml および 0.2 ml を足静脈より

注射し、モルモットのショック死およびショック症状を観察した。その結果 1%, 0.1 ml では10分以内に死亡, 0.5%, 0.1 ml では8分後横転, ただし死亡せず, 0.2% 0.2 ml では呼吸促進を示すだけであつた。そこで惹起注射量としては 1%アルブミン溶液 0.1ml をえらんだ。

実験各群に対するアナフィラキシー・ショックの観察結果は表 3 から明らかなように、対照群、薬物投与群をとわず、モルモットはすべてショック症状を呈した。また死亡したものはすべて注射後10分以内の典型的なショック死であつた。

3. ツベルクリン皮膚反応:

結核死菌感作後 5 週目のツベルクリン皮内反応の発赤は NAPP 投与群、プレドニソロン投与群共に、対照群に比してその大きさが著しく小さかつた。NAPP の投与量間には、1 mg/kg~5 mg/kg の範囲において発赤の大きさに有意の相関は認められなかつたが、5 mg/kg 投与群では、プレドニソロン 2 mg/kg 投与群よりも反応抑制効果が大きい傾向が、2000倍および 4000 倍ツベルクリン注射の場合において認められた。これらの結果はまとめて図 2 および表 4 に示した。そこには測定値のばらつきから求めた標準偏差もまた縦線にて示してある。ただ家兎を用いたアルッス

反応の場合と異なり、プレドニソロン投与によつてモルモットの体重減少は認められず、また途中死亡するものもみられなかつた。

しかし一方、結核死菌感作後 6 週目の皮内反応の発赤の大きさを比較した場合は対照群と NAPP またはプレドニソロン投与群との間に有意の差を認めることができず、また対照群の発赤の大きさも、5 週目のそれに比し小さい傾向にあつた。すなわちツベルクリン 1000 倍稀釈での反応の大きさは対照群、NAPP 投与群共に平均値が 80%~100mm² であり、2000倍稀釈では 60~70mm², 4000倍稀釈では 30~45mm² であつた。

4. 感染防禦実験:

Salmonella enteritidis(gaertneri) の 60°C 30分処理菌で免疫したマウスの感染防禦抗体産生におよぼす NAPP の影響をプレドニソロンと比較して検索した結果は表 5 のようで、攻撃のための生菌量は、菌原液の25倍稀釈の段階的倍数稀釈とし、生菌攻撃により

図 2 ツベルクリン皮膚反応におよぼす NAPP の影響

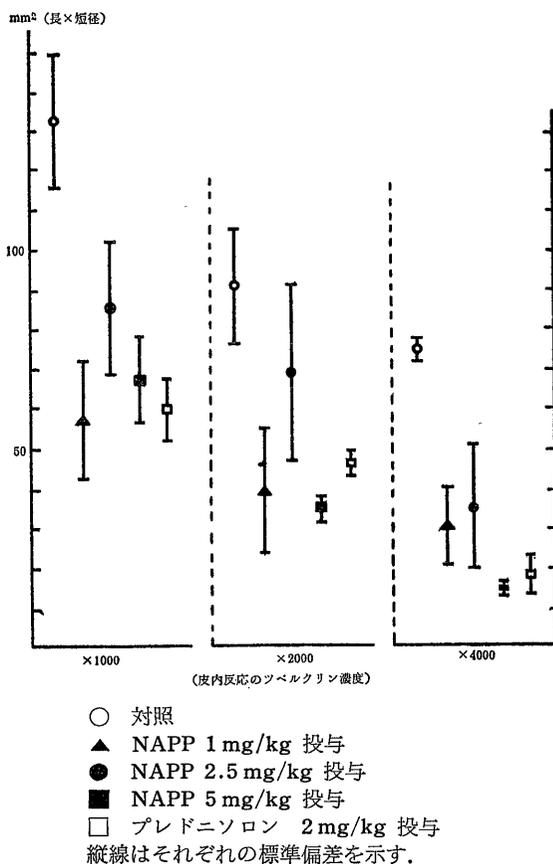


表 3: 全身性アナフィラキシーにおよぼす NAPP の影響

| 投与薬物 | 使用動物数 | アナフィラキシー・ショック | | |
|---------------|-------|---------------|-----------|----|
| | | 死 | 横転等 立毛 | 計 |
| 対照 | 10 | 9 | 1 | 10 |
| NAPP 1mg/kg | 10 | 9 | 1 | 10 |
| NAPP 2.5mg/kg | 10 | 6 | 4 | 10 |
| NAPP 5mg/kg | 10 | 10 | 0 | 10 |
| Pred. 2mg/kg | 10 | 10 | 0 | 10 |

動物はモルモットを使用

表 4: ツベルクリン皮膚反応

| 投与薬物 | ツベルクリン稀釈倍数 | | |
|---------------|------------|-------|-------|
| | ×1000 | ×2000 | ×4000 |
| 対照 | 132 | 91 | 75 |
| NAPP 1mg/kg | 56 | 39 | 30 |
| NAPP 2.5mg/kg | 85 | 69 | 35 |
| NAPP 5mg/kg | 67 | 35 | 14 |
| Pred. 2mg/kg | 59 | 46 | 18 |

使用動物: モルモット

数値は10匹の平均値を mm² で示す。

マウス10匹中何匹が死亡したかを72時間の観察から示した。これから Bliss のプロビット図解法⁶⁾により50%致死量 (LD₅₀) を求め、2ⁿ 稀釈で表現した。これをまとめて示せば図3のようである。これらの図表から明らかなように、非免疫正常マウスでは LD₅₀=2^{-10.6} であるのに反し、免疫対照群 (5% ブドウ糖のみ投与) では LD₅₀=2^{-7.3} で、マウスの感染防禦能は高まつていた。一方、NAPP 投与群では LD₅₀=2^{-6.1} ~ 2^{-6.6} であり、感染防禦能はさらに高まつているといえよう。プレドニソロン投与群では LD₅₀=2^{-9.1} でマウスの感染防禦能は抑制されていた。

表5: NAPP の感染防禦能におよぼす影響

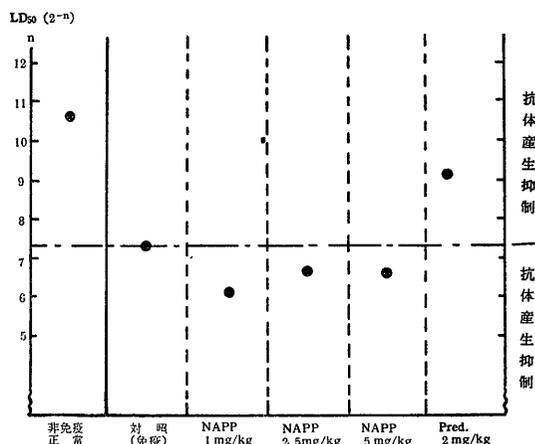
| 菌の稀釈倍数 | 非免疫正常マウス | 対照 (免疫ブドウ糖) | 投与薬物 | | | |
|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | | NAPP | | | Pred. 2mg |
| | | | 1mg | 2.5 mg | 5mg | |
| 菌原液 | 10 | 10 | 9 | 10 | 8 | 10 |
| 25×2 ⁰ | 8 | 7 | 8 | 8 | 6 | 10 |
| 25×2 ¹ | 10 | 7 | 6 | 8 | 7 | 8 |
| 25×2 ² | 7 | 7 | 5 | 4 | 5 | 7 |
| 25×2 ³ | 6 | 4 | 2 | 5 | 4 | 3 |
| 25×2 ⁴ | 6 | 1 | 1 | 2 | 2 | 5 |
| 25×2 ⁵ | 7 | 0 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| 25×2 ⁶ | 5 | 2 | 0 | 0 | 2 | 4 |
| 25×2 ⁷ | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| 25×2 ⁸ | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| LD ₅₀ | 1/1600 | 1/163 | 1/75 | 1/98 | 1/100 | 1/550 |
| | 2 ^{-10.6} | 2 ^{-7.3} | 2 ^{-6.1} | 2 ^{-6.6} | 2 ^{-6.6} | 2 ^{-9.1} |

- 1群10匹のマウス中生菌攻撃により72時間内に死亡する数を表示した。
- 使用菌株はマウスに対する強毒の *Salmonella enteritidis* (gaertneri) No. 11.

5. 補体作用抑制実験:

in vitro における NAPP の補体作用抑制効果を、免疫溶血反応により検討した結果は表6および図4に示した。すなわち1/400補体に NAPP を 0~100r 添加した場合の、溶血によるオキシヘモグロビンの吸光度 (541mμ) より対照 (NAPP, 0r) に対するそれぞれの溶血度 γ を求め、これより阻害度を%で表現した結果は表6である。この際使用したモルモット補体は C'H₅₀=175 u. (Mayer) であり、この1/40 補体による溶血をもつて完全溶血とみなした場合、対照 (NAPP, 0r) の溶血度 γ は 0.886 であつた。阻害度 (%) を NAPP 濃度の対数に対してプロットすればほぼ直線関係となつた (図4)。これから明らかなように、50% inhibition dosis は 16r であり、100r ではほぼ完全に溶血反応を阻止した。

図3 NAPP の感染防禦能におよぼす影響



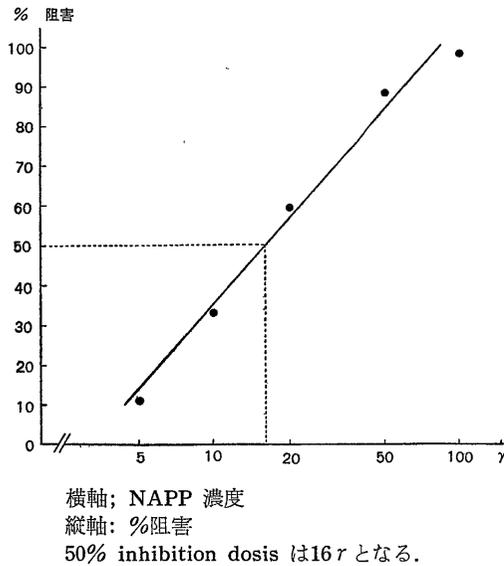
本文および表5参照
縦軸は攻撃に用いた *Salmonella enteritidis* のマウスに対する50%致死量を示す。

表6: NAPP の補体作用阻止効果

| 補体稀釈 | 1/40 GPC' | 1/400 GPC' | | | | | |
|---------------|-----------|------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| | | 対照 | NAPP (γ) | | | | |
| | | | 5 | 10 | 20 | 50 | 100 |
| 阻害剤 | (完全溶血) 0 | 0 | 5 | 10 | 20 | 50 | 100 |
| O.D. 541 mμ | 0.784 | 0.695 | 0.619 | 0.464 | 0.285 | 0.083 | 0.013 |
| 溶血度 (Y) | 1 | 0.886 | — | — | — | — | — |
| 溶血度 (g) | — | 1 | 0.89 | 0.67 | 0.41 | 0.12 | 0.019 |
| %阻害 (1-γ)×100 | — | 0 | 11 | 33 | 59 | 88 | 98 |

GPC': モルモット補体
使用した補体力価: C'H₅₀=175 u. (Mayer)

図4 NAPP 補体作用抑制効果



総 括

NAPP がこの報告での実験条件下でアレルギー反応抑制効果を示したことは、前報¹⁾での実験的肉芽腫等の抑制実験と共に、この物質の抗炎症・抗アレルギー作用を示したものといい得る。ここではアレルギー性反応のうち、即時型過敏状態の局所表現として能動アルルス反応、その全身表現としてアナフィラキシー・ショック、また遅発型過敏状態としてのツベルクリン皮膚反応をそれぞれ実験対象としてえらび、NAPPの抗アレルギー作用をプレドニソロンのそれと比較した。

まず能動的アルルス反応に関しては、反応の質的な変化(浮腫・発赤・充血・出血・壊死)ではNAPPがとくに影響を与えている結果は得なかつたけれども、その反応の大きさ(面積)においてはNAPPがプレドニソロンと同様に明らかにこれを抑制している結果を得た。このことはNAPPの即時型アレルギー反応に対する抑制効果を示しているものと判断される。しかし皮内反応抑制と血清抗体価減少との平行関係はプレドニソロンにおいてはある程度認められたけれど、NAPPでは皮内反応抑制がみられる場合でも凝集価の低下はみられなかつた。NAPPが抗体産生のprimary responseとsecondary responseとにおよぼす態度の差については現在検討中である。

モルモットを使用しての能動性全身アナフィラキシーに関しては、実験群・対照群共に惹起注射後10分以内に、すべてに典型的な全身ショック症状が認められ

た。この事実はNAPPがプレドニソロンと同様、モルモットに対して即時型過敏状態の全身表現に対し、抑制ないし阻止効果を示さないことを思わせる。

遅発型アレルギーとしてのツベルクリン皮内反応は、モルモットについて感作後5週目の皮内注射による反応で検討したが、NAPPはプレドニソロンと共に明らかな抑制効果を示した。

以上の結果より、NAPPは即時型および遅発型アレルギーの局所反応を抑制し、かなりの程度に抗炎症・抗アレルギー作用を示すことが明らかであろう。しかし一方では全身アナフィラキシーに対し抑制効果を示さず、また遅発型アレルギーも惹起注射の時期によつては抑制効果を示さないこともあるという事実は抗炎症作用を示すコルチコステロイドまたは代謝拮抗剤としての6-mercaptopurine等の場合と同様、これらの現象が免疫の方法と抗原の種類、用いる動物種、薬物投与方法と免疫期間との相互関係等にかかなりの程度依存していることを示唆するものであろう。

痘瘡ワクチンに対する発痘抑制効果¹⁾およびアレルギー反応に対する影響等に関連して、NAPPが生体の感染防禦能に何らかの影響を与えているかも知れないと予想される。そこでマウスを用い感染防禦抗体産生におよぼすNAPPの影響を*Salmonella enteritidis* (*gaertneri*)で検索し、NAPPが抗体産生を高めている事実を見出した。一方プレドニソロンではそれを抑制する傾向にあつた。さらにまた、補体の関与する免疫溶血反応においては、NAPPは*in vitro*で補体作用を抑制して免疫溶血を阻止することが、すでに示唆されてきたが⁷⁾、今回の実験でNAPPが明らかに補体作用を抑制ないし阻止することが示された。これらの事実は、NAPPの抗炎症・抗アレルギー作用の本質の解明に示唆を与えるであろう。

結 論

前報にひきつづき、プロトポルフィリン・ナトリウム塩(NAPP)が抗炎症・抗アレルギー作用を示すことを明らかにしたが、抗体価の低下は認められず、むしろそれを高めている結果を得た。すなわち

1. NAPPは家兔を用いての即時型局所アレルギー(能動アルルス反応)に対して抑制効果を示した。しかし流血抗体の凝集価の低下は認められなかつた。

2. モルモットを用いての遅発型局所アレルギー(ツベルクリン皮膚反応)に対してもまたNAPPは抑制効果を示した。

3. モルモットに対する即時型全身アナフィラキシーに対しては、NAPPはプレドニソロンと同様抑制

ないし阻止効果を示さなかつた。

4. マウスの感染防禦抗体産生におよぼす NAPP の影響を *Salmonella enteritidis (gaertneri)* を用いて検索した結果は、プレドニソロンが著明にマウスの感染防禦能を抑制しているのに反し、NAPP ではむしろそれを高めている結果を得た。このことは NAPP が感染防禦抗体の産生を高めていることを示すものであろう。

5. 補体活性におよぼす影響をしらべた結果、NAPP は *in vitro* において補体の免疫溶血反応を抑制ないし阻止することが明らかとなつた。その50%阻害量は 16 γ であつた。

おわりに御指導を頂いた石川大刀雄教授、倉田自章助教授に感謝いたします。また補体に関する実験で御教示を賜つた東大・伝研進藤宙二教授および同門の諸先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 須山忠和, 松本 剛: 十全医会誌, 70, 694 (1964).
- 2) Poter, R. R.: Biochem. J., 59, 405 (1955).
- 3) Stavitsky, A. B. & Arquilla, E. R.: Int. Arch. Allergy. 13, 1 (1958).
- 4) 厚生省: 生物学的製剤基準 (1964).
- 5) Mayer, M. M.: Kabat and Mayer's Experimental Immunochemistry (2nd ed.), Charles C. Thomas Publishers (1961).
- 6) Bliss, C. I.: Statistics of Bioassay, Academic Press (1953).
- 7) 進藤宙二ら: personal communication.

Abstract

1) Local manifestation of immediate hypersensitivity (active Arthus reaction) in rabbits was suppressed with intravenously administered protoporphyrin though hemagglutination titer of circulating antibody was not affected. Delayed hypersensitivity (Tuberculin skin reaction) in guinea pigs was also markedly suppressed with intravenous injection of protoporphyrin. Systemic anaphylactic shock in guinea pigs, however, was neither prevented nor suppressed with protoporphyrin administration.

2) Infection protective experiments in mice actively immunized to *Salmonella enteritidis (gaertneri)* indicated that the antibody production was accelerated with protoporphyrin injection while markedly depressed with prednisolone.

3) Protoporphyrin showed a anti-complement activity *in vitro* inhibiting immune hemolysis of sheep erythrocytes with its rabbit antibody and guinea pig complement at a concentration of 100 γ in the experimental conditions reported here. Its 50% inhibition dosis was 16 γ when the control showed 88.6% lysis.