

# コンドロイチン硫酸の医学的研究

## (4) S<sub>35</sub> で label したコンドロイチン硫酸ナトリウムの体内分布に就て

岡山大学温泉研究所内科 (指導大島教授)

岸 田 専 蔵

### 緒 言

結合組織の多糖類成分として、コンドロイチン硫酸及びヒアルロン酸が知られている。

このコンドロイチン硫酸 (以下コ. と略す) は軟骨, 腱, 骨端, 結合組織の膠原質等に比較的少量に含まれる糖蛋白質の成分であり, グルクロン酸とコンドロサミンよりなっている。

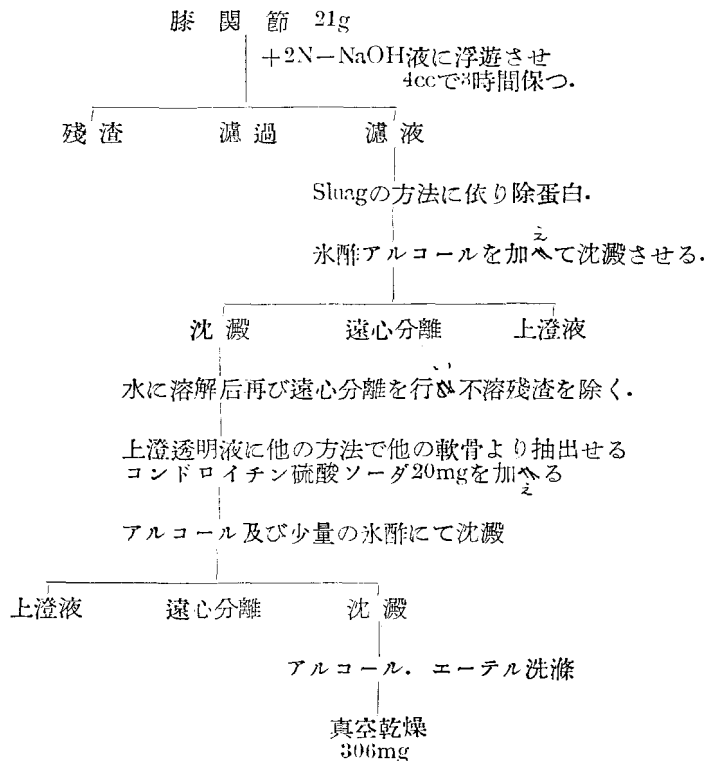
大島教授は数年前より Mucoprotein 及びその多糖類部分の一つであるコ. 製剤の内服 (粗コ. 剤セレブリン 1日3~5g) が神経痛, 偏頭痛, リウマチの如き疼痛性疾患に有効であることを認め, その作用機転を追及して, コリンエステラーゼ抑制, 末梢血管拡張, 組織透過性亢進, ヒアルロニダーゼ拮抗, 免疫体産生増強, 硫黄代謝整調等の作用を証明された. 今回はその一環として S<sub>35</sub> で label したコ. の Turn over について報告する. 猶 Dziwiatkowski は無機硫酸塩の, Layton は有機

物の硫酸塩の硫酸基が関節軟骨その他結合組織中のコ. となつて固定されることを放射性硫黄を用いて証明している。

### 実験材料並に実験方法

著者の使用せる S<sub>35</sub> で label したコ. ナトリウムは興生水産株式会社古橋保学士が生体から分離精製したもので, 第1表に示す如く硫酸の形で供給せられた S<sub>35</sub> を苛性ソーダで中和し, 幼若マウスの腹腔内に注射し, 注射48時間后膝関節を分離し, コを抽出したもの

第一表 (古橋保) マウス30匹 投与された S<sub>35</sub> 総量凡そ1.5mc



第二表 腹腔内投与

経過時間 被検臓器	1 時 間			2 時 間			6 時 間			24 時 間			48 時 間			連 続		
	div min/g	%	div min	div min/g	%	div min	div min/g	%	div min	div min/g	%	div min	div min/g	%	div min	div min/g	%	div min
血 液	0.6	40× 80×	0.333	1.4	7× 30×	0.69	0.9	10.2× 60.5×	0.40	0.25	85× 100×	0.125	0.19	90× 100×	0.095	0.3	80× 95×	0.15
肺 臓	0.9	10.2× 82×	0.16	1.1	9× 90×	0.2	1.0	9× 82×	0.185	0.22	90× 65×	0.0396	0.08	100× 不明	0.0144	0.5	50× 100×	0.1
心 臓	0.9	10.2× 95×	0.12	1.2	8.5× 100×	0.095	1.35	70× 98×	0.135	0.9	10.2× 1000×	0.089	1.2	8× 99×	0.12	1.4	70× 98×	0.135
肝 臓	1.0	9× 9×	1.01	1.06	9× 9×	1.065	0.5	50× 52×	0.47	0.45	60× 60×	0.435	0.4	65× 65×	0.4	0.5	50× 51×	0.47
胃 腸	0.3	80× 20×	0.853	1.0	9× 1%液 の5/4倍	3.0	0.4	65× 70×	1.25	0.05	不明 96×	0.17	0.06	不明 90×	0.205	0.07	不明 85×	0.25
腎 臓	4.9	1%液 の5/2倍 8×	1.19	3.6	1%液 の2倍 10.5×	0.94	0.96	10.3× 85×	0.25	0.42	65× 1000×	0.11	0.35	80× 不明	0.091	0.31	80× 不明	0.082
骨 格 筋 肉	0.5	50× 1%液 の5/4倍	3.24	0.05	不明 8.2×	1.38	0.18	90× 8×	1.2	0.035	不明 84×	0.225	0.04	不明 80×	0.265	0.05	不明 80×	0.325
皮 膚	0.8	17 80	3.025	0.8	17× 1%液 の5/4倍	2.8	0.07	不明 85×	0.24	0.04	不明 98×	0.135	0.04	不明 98×	0.135	0.055	不明 80×	0.175
脳 髄	0.15	94× 90×	0.2	0.13	98× 90×	0.195	0.1	100× 92×	0.175	0.04	不明 1000×	0.085	0.04	不明 2300×	0.07	0.16	96× 85×	0.24
脾 臓	1.0	9× 94×	0.15	2.0	3× 32×	0.29	1.6	6.5× 85×	0.23	0.5	50× 2000×	0.08	0.35	1%液 の2倍 不明	0.057	0.6	40× 2000×	0.035

である。体重約 15g 前後のハツカネヅミー群 2 匹の腹腔内に  $S_{35}$  で label したコ. の 0.9% NaCl 水 1% 溶液 1cc. を注射し、注射後 1 時間、2 時間、6 時間、24 時間、48 時間、及び毎日 1cc. づゝ連続 1 週間注射后、並びに 1% 溶液 0.5cc. を経口的 (胃ゾンデ使用) に投与し、1 時間、2 時間、6 時間、12 時間、24 時間后に断頭、瀉血、出る血液をルツボに受け、第 2 表に示す各臓器は予め秤量せる別々のルツボに入れ、秤量後 1% 炭酸ナトリウムを加え、600°C 前後 2 時間で灰化し、再度秤量後灰分を先づ 0.5ml の稀塩酸にて溶解し、0.1N.  $Na_2SO_4$  0.1ml を加へた後 0.2N.  $BaCl_2$  0.2ml を加へて  $BaSO_4$  を沈澱せしめ、ステンレス皿上で乾燥した後秤量、その放射能を科研 Lauritsen 検電計で測定した。但し第 3 表に於ける頭部及び骨格は灰そのまゝ細粉状にしてステンレススチール皿上に移して薄層として測定、重量による補正を加えた。(横田剛男論文参照)

### 実験成績

上記の如き方法にて得た各臓器の量は平均

血液 0.5ml, 肺臓 0.18g, 心臓 0.1g, 肝臓 1.0g, 胃腸 3.0g, 腎臓 0.26g, 筋肉 2.65g, 骨格 5.89g, 皮膚 3.5g, 頭部 1.45g, 脾臓 0.14g となり、その灰分は非常に微量であつた。上記の操作を加へ、その結果を重量並に測定日による補正を加へた。それを表に示すと第 2 表及び 3 表に示す如くで、% の部はその臓器がこの実験に用ゐた 1% の  $S_{35}$  で label したコ. 0.1ml の何倍溶液に相当せる放射能を有して居たかを示す。(上記の数字は div/min/g, の下は各臓器の絶対量に対するコ. 溶液の放射能である。この場合使用せる 1% コ. 食塩水溶液の放射能は上記の同様の操作后、その 10 倍溶液 0.1ml が 0.95 div/min. に相当した。(昭和 28 年 5 月 25 日)).

#### A. 腹腔内注射の群 (第二表及び第 1~2 図)

1) 注射后 1 時間経過せるものでは第 2 表に示す如くで、全臓器に於て放射能を証明し、1 臓器 全量の有する放射能は骨格筋肉、次いで皮膚に多量に証明され、全コ. 量の約 2/3 を吸収している。骨格筋肉にあつては使用せるコ. 即ち 1% のコ. 0.1ml の 1.2 倍の放射能に

第三表 経 口 的 投 与

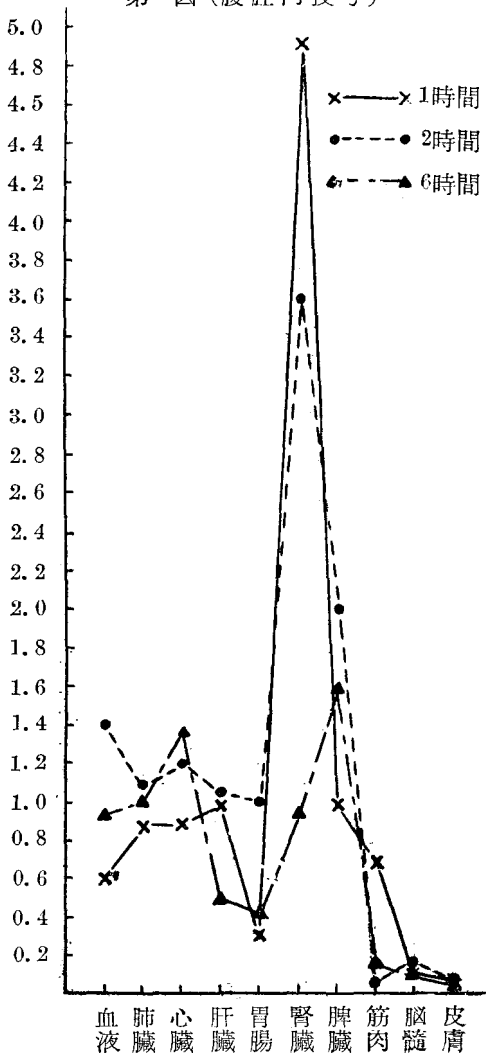
被檢臓器	1 時 間		2 時 間		6 時 間		12 時 間		24 時 間	
	div min/g	div min	div min/g	div min	div min/g	div min	div min/g	div min	div min/g	div min
血液	0.16	0.08	0.3	0.1	0.64	0.32	0.24	0.12	0.16	0.08
肺臓	0.4	0.07	0.44	0.08	1.2	0.22	0.44	0.08	0.4	0.07
心臓	0.6	0.06	0.9	0.09	1.9	0.19	1.4	0.14	0.8	0.08
肝臓	0.1	0.1	0.88	0.88	0.3	0.30	0.2	0.2	0.15	0.15
胃腸	0.5	1.5	0.2	0.6	0.07	0.21	0.02	0.05	0.02	0.05
腎臓	0.31	0.08	0.7	0.17	2.6	0.68	1.0	0.22	0.5	0.12
皮膚	0.01	0.044	0.023	0.08	0.05	0.15	0.03	0.1	0.03	0.09
筋肉	0.08	0.2	0.035	0.09	0.035	0.09	0.034	0.08	0.034	0.08
脳髓	0.04	0.06	0.04	0.06	0.3	0.4	0.25	0.3	0.15	0.21
骨格	0.013	0.075	0.02	0.12	0.1	0.6	0.05	0.3	0.05	0.28
脾臓	0.48	0.06	0.5	0.07	2.1	0.3	0.15	0.22	0.6	0.08

相当する放射能をも含有し、腎臓及び肝臓に於ても多量に含有していた。臓器重量1gに対する放射能は第1図に示す如くで、腎臓を以て最高とし、その臓器の放射能は1%コ. 溶液0.1mlが同様操作の後に示した放射能の2.5倍に相当する放射能を有することとなり、それに次いで脾臓で、他は著明なる変化のない曲線を画いて居り、骨骼筋肉にあつても腎臓の1/10量しか有しないという結果が生じた。

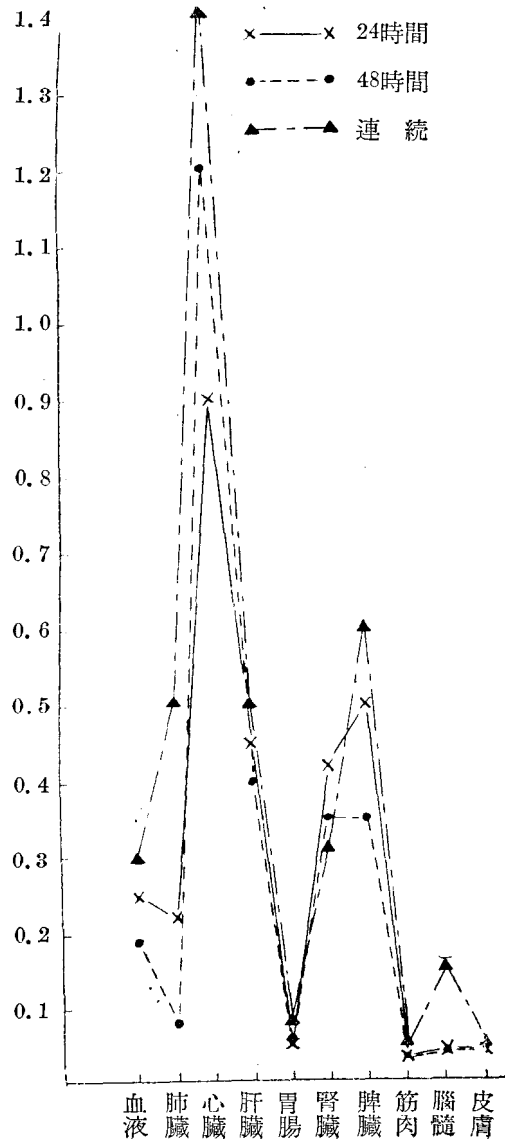
2) 2時間后最も多量の放射能を示した臓器は胃腸であるが、それに就いて考へられるこ

とは胃腸そのものゝ含有量の他に排泄された尿が経口的再攝取された可能性、及び排泄された尿中に相当量の放射能が証明された事実から見て、胃腸に於けるコ. 量の動搖に關与したかもしれぬことが考へられる。この時期に於ける目立つ変化は骨骼筋肉に於ける放射能の変化で、注射后1時間に於ける存在量の約1/2の減量を見た。皮膚に於ては未だ変化が著明ではなく、尙多量のコ. 量を認める。

第1図 (腹腔内投与)



第2図 (腹腔内投与)



第1図を見ると1時間と同様な状態を示し、腎臓が最高で、次いで脾臓であつて胃腸に於ける相対的なコ。攝取量は高くないことがわかる。

3) 6時間后には全般に放射能が順次消失の途をたどり最高濃度を下り始め、各臓器総放射能に就いてみれば、やはり骨格筋肉、胃腸が多く、次いで肝臓、血液の順である。1~2時間后では大量のコ。を認めた皮膚はこの時期には最低の群に入り、それを相対的に見ると脾臓が最高の放射能を有する様になり、次いで心臓に多量に存し、骨格筋肉、胃腸は低い位置にある。

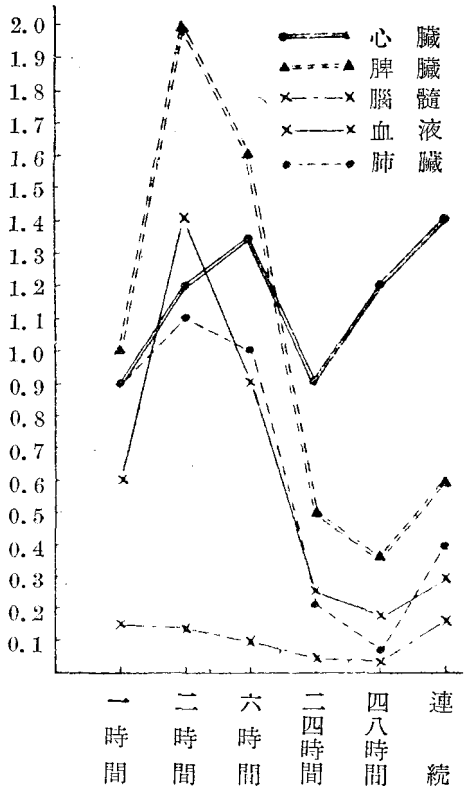
4) 24時間后には全臓器とも放射能は激減するがこの時期より組織に固定せるものが区

別出来る様になる。この時期には肝臓が最高の値を示し、骨格筋肉は激減し、皮膚は6時間と余り変化を有しない。特徴としては第2図の如く心臓及び脾臓が他に比し多量にそれを有していることである。

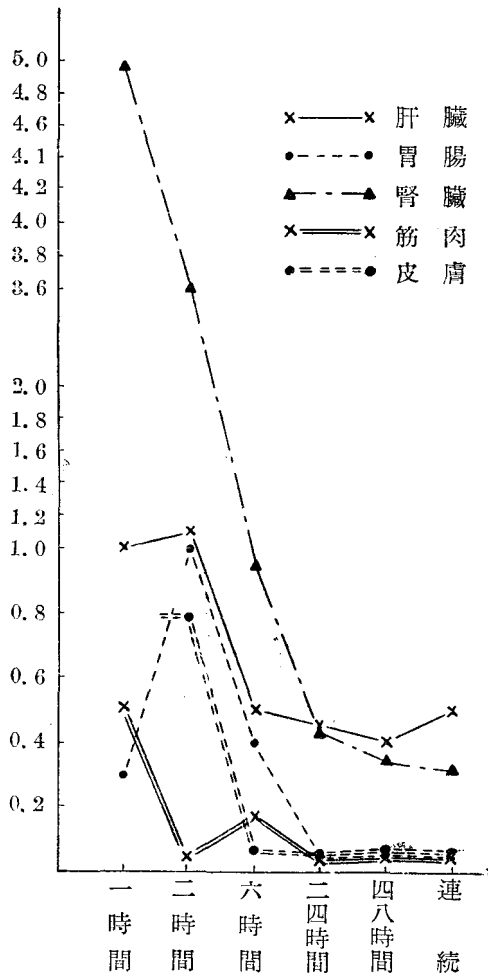
5) 48時間では大体24時間と略同様の曲線を描く。

6) 毎日1%のコ。を126.づつ1週間連用の場合のは、前日及び前々日即ち24時間及び48時間後の結果と関係することであらうから、それ等を比較して見ると、(第2図)特別な変化は認められないがそれ等の場合よりも

第3図(腹腔内投与)

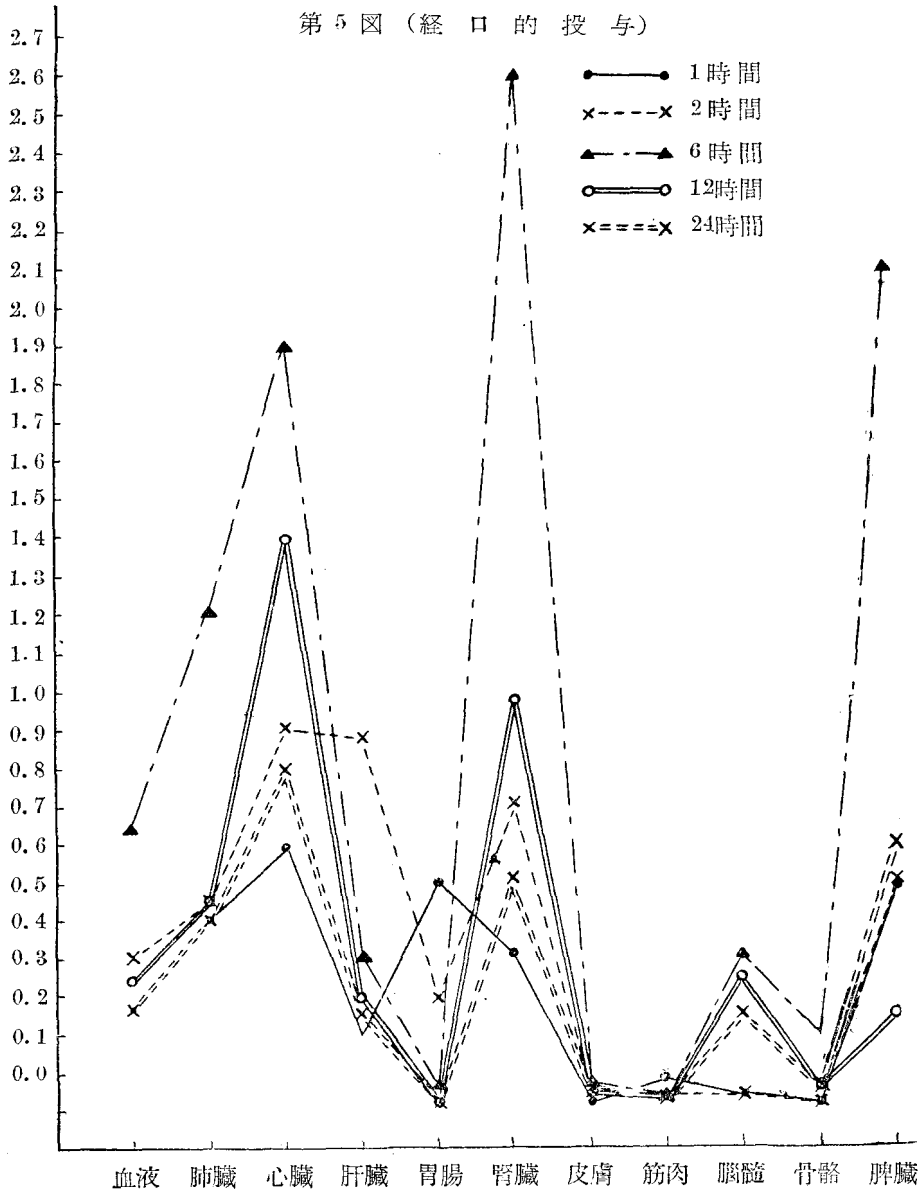


第4図(腹腔内投与)



連続使用の場合が強く体内に著積されることが認められた。その中で脳髓の放射能が比較的高位に位置することが目につく。次に一つの臓器に就いて時間的考察を試みると第3, 4図の如くで血液に於ける放射能は早期に急速に上昇し、此の実験では2時間が最高で、6間時には下降し初め、2~6時間の間に血液中の濃度は最高に達するものであろうと推察出来る。又下降も非常に急峻なカーブを画いて居

る。脾臓及び心臓も血液と同様の経過を取るも脾臓は常にその上位にあり、心臓にあつては連続使用後に多量に証明される様になる。肝臓にあつては、初期の変化は著しいが6時間以後は余り変化なく48時間後も相当量のコ。を有し、筋肉に於ては上述の如く、初期の変化顕著なるも大体6時間以後は固定されている。皮膚に於ては最初より相当量を証明し、6時間余り変化なく、固定され、特に連



続注射のものでは相当量証明されている。脳髓に於ては大體血中濃度に関係するも連続注射のものでは他臓器に比し多く含有する實驗例があり、今後尙詳しい検索を必要とすると思われる。

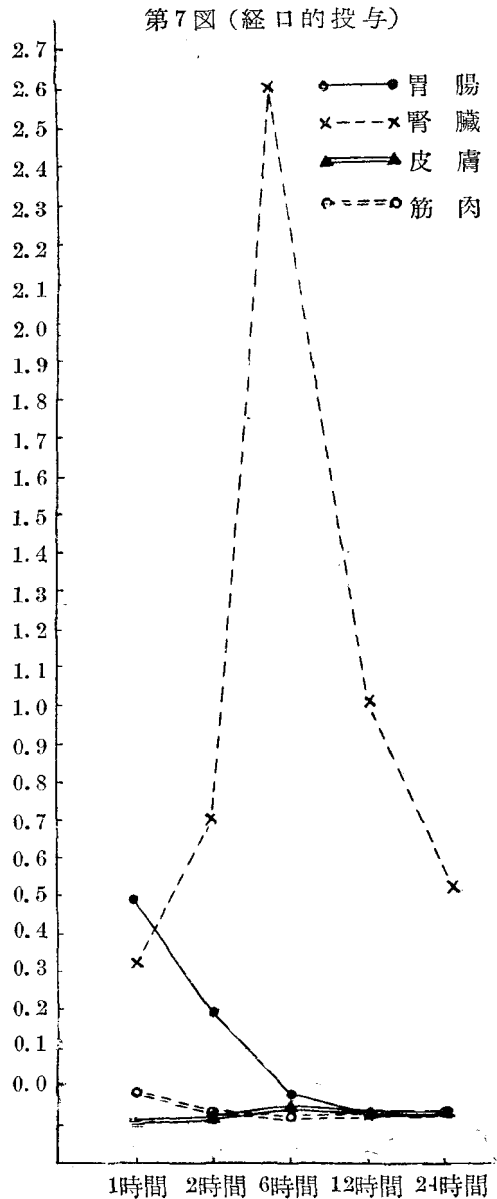
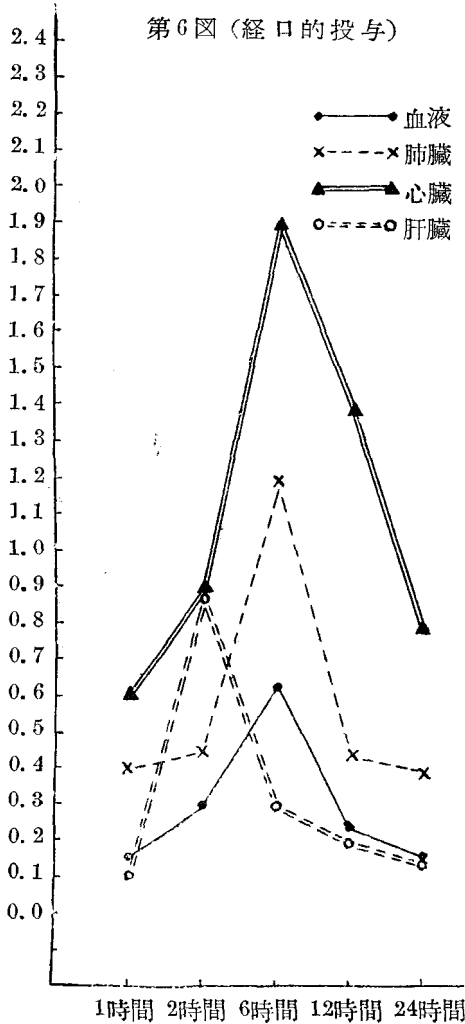
B. 経口的投与

1 時間后では皮膚、脳髓を除いた全臓器に放射能の存在を認めた(自然漏電0.05/min)、この時期には未だ胃腸に大半の放射能の存在を認めた。次いで筋肉が多量に有してゐた。2時間には全臓器に於て量が1時間より上位にあり、肝臓が最高の位置にのし上り、胃腸は

下降して行く。筋肉は非常に減量して来た。6時間后では全般に放射能が充まり、中でも12時間后では全般に曲線は低位を取り、骨髄が上位を占める様になる。

24時間后でも尙骨髄、脳髓が多くの放射能を有して居る。

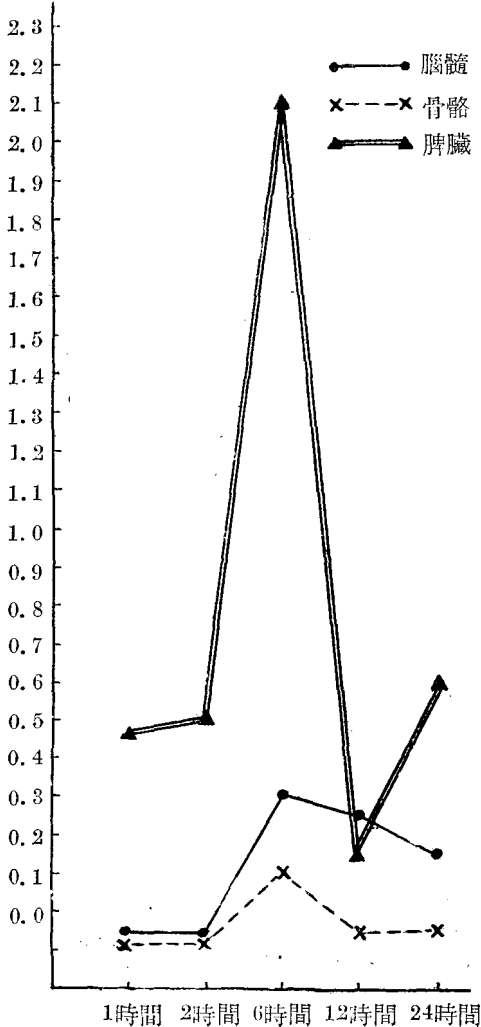
各臓器の変化を見るに血液は2~6時間にC. の最高濃度を示すが然しA. の注射せる実



験例では2時間側に、B.の経口的投与の結果では6時間の側にある。肺臓、心臓、脾臓は臓器の絶対量からいうと血液と似た経過を取るも相対的にはやはりAの実験と同じ結果を生んでいる。肝臓にあつてはAでは1時間と2時間と大差はないが、Bでは放射能は2時間後には多量に増加し、他が増加し最高に達する時期には下降し始める。

腎臓は6時間が最高で12時間及び24時間に於ても相当量存在し、体内からのコ.の消失は急速ではない結果を示してゐる。

第8図 (経口的投与)



筋肉にあつては血液に於ける放射能濃度最高とならざる1時間後に多量に存し、2時間から急速に少くなり、其後固定された感がある。

骨髄にあつては次第に増量して12時間にて最高に達し、固定した放射能を有する様になる。この経口的投与の結果Aの実験の骨髄筋肉の項の曲線が理解しやすくなった。

考 案

無機の硫酸塩の形で投与したLabeledの硫酸根がコンドロイチン硫酸の形で固定せられるのと逆に、おそらくlabeledのコンドロイチン硫酸の形で投与された硫酸根  $S_{35}O_4$  も体内で非放射性的の  $SO_4$  との間に交換が行はれるであらう。又コ.の体内に於ける分解も考慮しなければならぬ。

本論文では labeledのコ. 投与後の体内の各臓器に証明せられる  $S_{35}$  による放射能を一応凡てコ. によるものとして取扱つた。即ち本実験では labeled コ. 投与後体内各臓器よりコ. を抽出して、その  $S_{35}$  による放射能を測定してはいないから厳密な意味で投与されたコ. の体内分布を調べたとは云へないことをお断りしておく。

此の様な扱ひ方を念頭に入れておいてコ. 内服後のコ. の吸収、排泄状態を想像すると Neuberger<sup>10)</sup> によるとコ. は腸骨内で消化酵素により分解されないというから、おそらくそのまま腸管より吸収せられ門脈乃至胸管を経て、右心に入り大循環に入るのであらう。

肝臓は門脈から入つたコ. を收容する意味で、その投与後2時間における最高値を見られた後、急速にその放射能が低下した。

皮膚、筋肉(腱)、骨におけるコ. は一たん流血中に入つたコ. が之等の部分に徐々に



吸収せられ、一部がおそらくコ. の形で固定せられるらしく考へられる結果が得られた。之は Dziejatokowski, Layton 等の報告を裏書きする。

脳髄はこの場合頭蓋骨をも一部含んで測定されたので此の実験の成績からコ. が脳髄にのみとられたのであるか否か明らかにされない。

心臓、脾臓の Specific activity は著しく高かつた。之が血管系統に対するコ. の親和性と関係があるかもしれない。

### 総 括

S<sub>35</sub> で label したコンドロイチン硫酸ナトリウムを成熟マウスに投与し、その体内分布を追究した。

1) 腹腔内は投与の場合には注射後の2時間前後に血液内に於ける濃度が最高に達した、  
経口的投与に際しては注射後6時間前後に  
最高値がみられその時期には投与せる全放射  
能の約35%の放射能を証明す。

能の約35%の放射能を証明す。

2) 肝臓に於ては2時間後最高値に達し、以後低下する。心臓、脾臓、脳髄共に同様の時間に最高値に達するがその specific activity は肝臓よりもむしろ高い。

3) 腎臓に於けるコ. の放射能は注射後1時間より著明に証明せられ、6時間迄に大半が消失する。其後は少しづつ長時間排泄が行はれる。

4) 筋肉には1~2時間に於て多量に証明せられ、6時間になると激減するが、その後固定される。

皮膚も筋肉と同様の経過を取る。

骨髄に於ては次第に増量し、12時間にて最高に達し、其後固定した放射能を示す様になる。

擧筆するに臨み終始御懇篤なる御指導と御授意を賜つた大島教授に深甚なる感謝の意を表す。  
(本論文の要旨は昭和23年6月第61回岡山医学会総会に於て発表した。)

### 主 要 文 献

- 1) 関正次：日本温泉気候会誌，13 (3)，49—66，昭22.
- 2) 正宗一：化学の研究，4集 1，昭24.
- 3) 左右田，江上，堀米：日本化学会誌，61，43，昭15.
- 4) 大島，上田：岡山大学温泉研究所報告 (8) 1，昭27.
- 5) 大島良雄：本誌 (6) 52，昭27.
- 6) 大島良雄：全 (7) 昭27.
- 7) D. D. Dziejat Kowski: Journ. Biol. chem.  
{178 931, 1949.  
{189 (1) 187—190, 1951.
- 8) 大島良雄，横田剛男：本誌 (7) 1，昭27.
- 9) 横田剛男：本誌 (9)，昭28.
- 10) C. u. Rubni, O.; Biochem. Z., 67, 82, 1914.

MEDICAL STUDIES ON CHONDROITIN SULFATE (IV)  
DISTRIBUTION OF CHONDROITIN SULFATE  
LABELED WITH  $S^{35}$  IN ANIMAL BODY.

Senzo KISHIDA

(DIVISION OF INTERNAL MEDICINE, BALNEOLOGICAL  
LABORATORY, OKAYAMA UNIVERSITY)

0.1 ml. of the 1% solution of chondroitin sulfate labeled with  $S^{35}$  was administered to mice intraperitoneally or 0.5 ml. was given per orally with gastric tube to another group of mice. Each two mice were killed every one, two, six, twelve twenty four and forty eight hours after the injection respectively, and after a series of daily injection for a week samples of blood, lung, heart, liver, kidneys, skin, muscles, bones, spleen, brain, stomach and intestines were taken from these animals.

Radioactivity of  $S^{35}$  was measured by  $BaSO_4$  method using Lauritsen's electroscope.

- 1) The highest activity in blood was observed about two hours after the injection, while in per oral administration it was reached after six hours. at that time 35% of administered dose of radioactivity was observed
  - 2) The excretion of labeled chondroitin sulfate seemed to be done from kidneys. The greater part was excreted in six hours and then the decrease in the activity of kidneys became slower.
  - 3) Muscles and skin showed a considerable activity in 1-2 hours. A marked decrease was seen after six hours, then their activity seemed to remain.
  - 4) Radioactivity of skelet rose gradually, reached its maximum in twelve hours, and then had a tendency to show constant value.
  - 5) In liver, spleen and brain highest activity was observed two hours after the injection.
-