

$\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を用いた水銀中毒に関する実験的研究

第 3 編

BAL 投与時の蛋白結合水銀の変動並びに水銀の排泄状況に関する研究

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (主任：緒方正名教授)

大学 院 只 友 淳 雄
学 生

〔昭和 37 年 8 月 16 日受稿〕

緒 言

水銀の毒性の本態に関しては、水銀と蛋白質との結合が重要な意義を有している。即ち、水銀は細胞の蛋白質と結合し Albuminate をつくり蛋白沈澱による腐蝕作用をあらわすほかに細胞内に存在する解糖系、TCA Cycle 及び酸化還元系に重要な働きを演じている酵素、Glutathione 等の SH 基と作用して強力な Mercaptide を形成し細胞の機能を阻害することにより毒性を発揮する。後者については Urease を用いた Hellerman¹⁾ の研究、PCMB (p -Chloromercuribenzoate) を用いた Olcott & Fraenkel-Conrat²⁾ の研究、コハク酸脱水素酵素の阻害に関する Hg, Cu, Zn, Co 等の重金属を用いた Barron & Kalnitsky³⁾ 及び平出⁴⁾ の研究、Friberg⁵⁾、増井⁶⁾、及川⁷⁾等による Hg の Cholinesterase の阻害作用の研究によつて明である。

従つて水銀中毒の治療には Thiol 化合物が有効であると言われている。即ち、Thiol 化合物は重金属と蛋白質の SH 基の結合よりも安定に蛋白質の SH 基と結合することによつて金属塩が細胞に作用することを阻止し、かつ、既に結合した金属を引離して体外に排泄せしめる作用を有する。

この様な見地から Thiol 化合物の水銀中毒に於ける治療に関する研究も多くなされている。古くは Dennie, Mc Bride⁸⁾、Kuhn, Reese⁹⁾ 等が Thiol と水銀の関係を示唆するものとして S を持つ化合物であるチオ硫酸ソーダを昇汞の急性中毒患者に投与しその解毒効果を認めている。

又、最近 Reed 等¹⁰⁾ によつて結晶分離された Lipoic Acid (Thioctic Acid) は化学構造に S-S 結合をもつ Dithiol 化合物であつて、生体内で可逆的に酸化、還元され SH 基と移行しあい重金属中毒

に対し解毒効果を発揮することが Donatelli¹¹⁾、Cicala¹²⁾ によつて発表され、又、水銀中毒にも効果のあることが石井¹³⁾ 等によつて報告されている。

しかしながら、現在最も水銀中毒に効果があると信じられているのは Dithiol 剤である BAL (2,3 Dimercaptopropanol) である。この薬剤は化学兵器 Lewisite ($\text{CHCl}:\text{CHAsCl}_2$) の解毒の追求から Peters, Stocken & Thompson¹⁴⁾ によつて発見され米国の研究者によつて BAL (British Antilewisite) と命名されたものである。Stocken¹⁵⁾ は動物による急性水銀中毒に、この BAL を投与し卓効のある解毒作用を有することを認めている。その他かにも数多くの研究者が BAL が重金属中毒、殊に水銀化合物¹⁶⁾⁻²⁶⁾ 並びに砒素化合物²⁶⁾⁻³⁶⁾ に対し著効のあることを報告している。

著者は海猿に放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を投与後 1 週間にわたつて BAL を投与して、この間に於ける尿中並びに糞便中の水銀排泄状況を観察すると共に腎臓細胞内顆粒の蛋白質と結合した Hg^{203} の測定を行なつて、水銀中毒に対する BAL の解毒効果、特に腎臓に対する効果を検討し以下に述べる如き結果を得たので報告する。

実 験 材 料

1. 放射性同位元素 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$

本実験に使用した放射性同位元素 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ は社団法人日本放射性同位元素協会より送附された OAK RIDGE NATIONAL LABORATORY (OAK RIDGE, TENNESSEE) 製の硝酸溶液に溶解した $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を使用した。

$\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ の半減期は 43.5 日、放射線エネルギー (Mev) は β 線 0.205, γ 線 0.286 である³⁶⁾。

本実験に使用した実験器具は Isotope 自身の汚

染をさけるため一般実験器具とは別に取扱った。

2. BAL (British Antilewisite)

BAL (2,3 Dimercaptopropanol) の性状は、無色で Mercaptan 様の特異臭ある液体で、比重 1.236 ~ 1.256 を示し水には 6 % の割合に溶解する。その毒性はマウスに対し筋肉 1 回注射で $LD_{50}=128$ mg/kg (116 mg/kg ~ 141 mg/kg)¹³⁾ である。

本実験に使用した BAL (第一製薬株式会社製) は Dimercaprol を精製植物油中に 10 % の割合に溶解し、溶解補助剤として Benzyl Benzoate を加えた無色ないし、淡黄色を呈する注射剤である。

3. 実験動物

体重 500 gm 前後の海狸を用いた。海狸は実験に供する 1 週間前から豆腐粕 (おから) を用いて飼育し、その間、健康状態を確めた上で実験に供した。なお、飼育環境温度は 15°C に保った。

実験に使用した海狸は A, B の 2 群に分ち、放射性水銀 $Hg^{203}(NO_3)_2$ を投与後、1 週間の尿中及び糞便中の水銀排泄状況を観察した後、屠殺して腎臓細胞内顆粒の蛋白結合水銀の放射能値を測定したものを A 群とした。

一方、 $Hg^{203}(NO_3)_2$ 投与後、連続 1 週間 BAL を投与し、その間、尿中及び糞便中の水銀排泄状況を観察後に屠殺して腎臓細胞内顆粒の蛋白結合水銀の放射能値を測定したものを B 群とした。

4. 実験器具及び試薬

i. 実験器具

- Potter-Elvehjem Type Homogenizer³⁷⁾³⁸⁾
- 1/20 馬力電気モーター (Homogenate の作成に用いた。)
- Polyethylen 製造心沈澱管
- 超高速遠心機 FT-9S 型 (久保田製作所製)
- Well Type Sincillation Counter³⁶⁾
- 試料皿
- 乾燥器
- Cellophane 紙 (半透透析膜として試料の透析に用い、孔口は直径平均 30Å (20~95Å) で分子量 13,000 迄は透析可能である⁴¹⁾)
- 自動直示天秤

ii. 試薬

- 0.25 Mol Sucrose 溶液

実験方法

実験方法の概要は第 1 表に示す如くである。

1. $Hg^{203}(NO_3)_2$ 並びに BAL の投与

硝酸溶液に溶解した $Hg^{203}(NO_3)_2$ の原液に蒸留水を加え 0.2 ml の溶液中に 600,000 cpm の $Hg^{203}(NO_3)_2$ を含む様に希釈し本実験に使用した。

実験に用いた海狸は A 群 ($Hg^{203}(NO_3)_2$ 投与群)、B 群 ($Hg^{203}(NO_3)_2$ + BAL 投与群) に分ち各群には 5 匹の海狸を用いた。A 群海狸には、体重 1.0 kg 当り 1,200,000 cpm (水銀として 0.026 mg/kg) の $Hg^{203}(NO_3)_2$ を背部筋肉内に単一回注射を行なった。B 群海狸には、A 群と同様に背部筋肉内に $Hg^{203}(NO_3)_2$ を体重 1.0 kg 当り 1,200,000 cpm を 1 回注射し、他側の背部筋肉内に、更に体重 1.0 kg 当り 20 mg の BAL を放射性硝酸水銀を投与直後に注射して、以後連日 6 日間同量の BAL を 24 時間ごとに毎日 1 回単独筋注した。即ち BAL は合計 7 日間、140 mg/kg を投与した。

2. 尿中及び糞便中の $Hg^{203}(NO_3)_2$ の測定

a. 尿及び糞便の採集

放射性水銀 $Hg^{203}(NO_3)_2$ 投与後、1 週間にわたり A, B 両群の海狸の尿及び糞便を以下に述べる方法により採集した。

即ち、海狸は A, B 両群とも丸籠の飼育箱の中に 1 匹ずつ隔離して豆腐粕 (おから) により飼育した。飼育箱は底に目のこまかいビニール製の網 (金属製のものは水銀アマルガムを形成する。) を設け、その下に大型シャーレを置き尿及び糞便を分離する様に工夫して、 $Hg^{203}(NO_3)_2$ を投与後 24 時間ごとに連続 7 日間の尿及び糞便をそれぞれ採集して実験に用いた。

b. 放射能値の測定

尿中及び糞便中の水銀の放射能値の測定は以下の如くに行なった。

即ち、採集した尿及び糞便の 24 時間中の全量を正確に計量後、その全部又は 1 部を取り (2.0 ml 以内) Well Type Sincillation Counter により各試料ごとに 2 分間宛 2 回、水銀の γ 線を測定し予め測定した自然計数値を測定試料の放射能値から減じ、各試料の 1 分間当りの水銀の放射能値 (cpm) を算出して、この値から 24 時間毎の尿及び糞便中に排泄された水銀の放射能値を算出した。

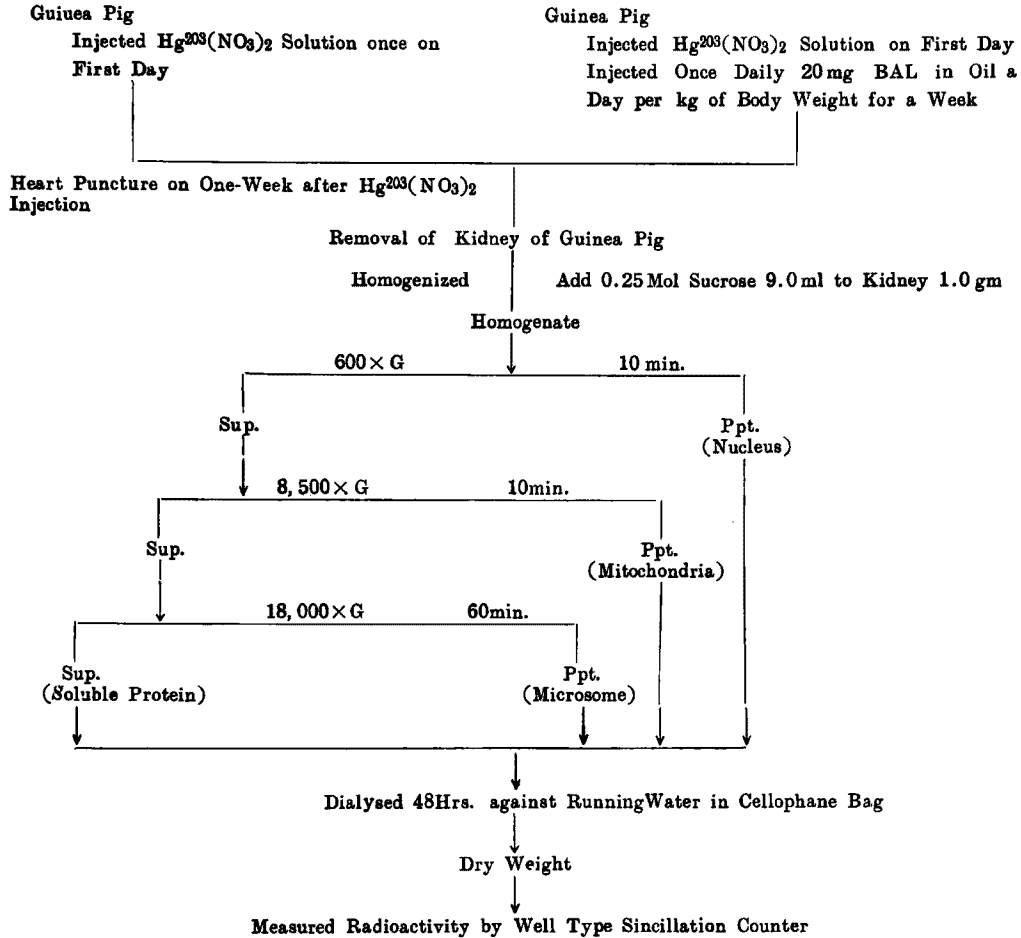
3. 腎臓細胞内顆粒の $Hg^{203}(NO_3)_2$ の測定

a. 腎臓の剔出

$Hg^{203}(NO_3)_2$ 注射後、24 時間毎に連続 1 週間、尿及び糞便中に於ける水銀の排泄状況を観察した海狸、

Table 1: Experimental Procedures on Effectiveness of BAL for Hg²⁰³(NO₃)₂ in Intracellular Granules of Kidney of Guinea Pig injected Hg²⁰³(NO₃)₂

Experimental Procedure



即ち、Hg²⁰³(NO₃)₂ 注射 168 時間後に海鼠を頸動脈切開放血法³⁸⁾ によつて失血死に致らしめ、直ちに腹部切開法によつて、両側腎臓を剔出した。

b. Homogenate の作成³⁷⁾³⁸⁾⁴⁰⁾

剔出した腎臓は氷冷 0.25 Mol Sucrose 溶液によりシャーレ中で洗滌し血液を除き、鋏で細かく切り碎き 1.0 mm Mesh のうらごしにかけた後、腎臓 1.0 gm に対し 9.0 倍量の氷冷 0.25 Mol Sucrose 溶液を加え、第 2 編でのべたと同様にして Potter-Elvehjem 型 Homogenizer³⁷⁾³⁸⁾ により周囲を氷片により冷却しながら 1,000 rpm 2 分間、homogenize し腎臓の Homogenate を作成した。

c. 腎臓細胞内顆粒の分離⁴⁰⁾

Homogenate は Schneider⁴⁰⁾ の方法に従つて、2°

～5°C の温度下に於いて超高速遠心機 FT-9S 型を用い腎臓細胞内顆粒をその比重に従つて分割遠心沈澱し、第 2 編で述べたと同様の方法によつて Nucleus, Mitochondria, Microsome, Soluble Protein に分離し、Soluble Protein を除く各細胞内顆粒は適量の氷冷 0.25 Mol Sucrose 溶液に分散せしめ、それぞれの懸濁液を作成した。

d. 透析⁴¹⁾⁴²⁾⁴³⁾

上述の懸濁液及び Soluble Protein の遊離水銀を除去するために、腎臓の Homogenate, Nucleus, Mitochondria, Microsome の 0.25 Mol Sucrose 懸濁液及び Soluble Protein をそれぞれ駒込ピペットで 2.0 ml 宛 Cellophane 紙嚢内に移し、48 時間流水中で透析した。透析は特に冬期を選んで透析膜外

液を $2^{\circ}\sim 5^{\circ}\text{C}$ の低温に保ち、且つ透析時間を短縮するため、流水で絶えず透析外液を更新した。

e. 放射能値の測定³⁶⁾

透析後、各試料は試料が Cellophane 紙嚢内に残らぬ様に、第2編でのべたと同様な方法によつて注意して駒込ピペットで各試料ごとに Wassermann 氏試験管に 2.0 ml 宛取り、Well Type Sincillation Counter によつて各試料ごとに、2 分間宛 2 回、水銀の放射能値を測定した。なお、各試料の 1 分間当りの水銀の放射能値 (cpm) は、測定試料の放射能値から予め測定した自然計数値を減じて算出した。

f. 乾燥重量の測定

放射能値測定後、各試料液ごとに内径 2.5 cm、深さ 0.5 cm のガラス製の試料皿に、試験管に試料が残らぬ様に蒸留水 1.5 ml で洗滌した洗滌液と共に駒込ピペットでその全量を移し 70°C 24 時間、完全乾燥せしめた。

乾燥後、各試料ごとに自動直示天秤をもちいて秤量し、予め測定した試量皿の重量を減じて各試料の乾燥重量とし、水銀の 1 分間平均放射能値を乾燥重

量で除して各試料の乾燥重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値を算出した。

実験結果

実験方法の項に於いて詳述した如く、実験海猿を A 群 (対照群: 5 例), B 群 (BAL 投与群: 5 例) に分け、A 群には $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を体重 1.0 kg 当り 1,200,000 cpm (水銀として 0.013 mg/kg) を背部筋肉内に投与した。B 群には A 群と同量の $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を投与し同時に体重 1.0 kg 当り BAL 20 mg を他側の背部筋肉内に投与、以後 24 時間毎に同量の BAL を 6 日間投与して、A, B 両群の 1 週間にわたる尿中及び糞便中の水銀排泄状況を観察し、又、腎臓細胞内顆粒の蛋白結合水銀の分布状態を測定した。これによつて水銀中毒に対する BAL の解毒効果を検定し以下各項毎に示す如き成績を得た。

1. 尿中並びに糞便中の水銀排泄状況

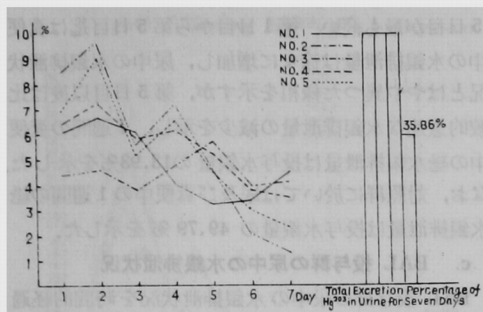
a. 対照群の尿中の水銀排泄状況

対照群に於いては第 2 表、第 1 図 A 及び第 2 図に

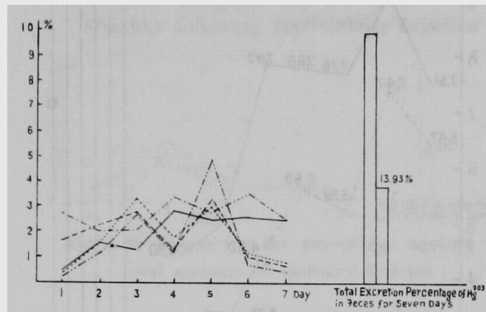
Table 2: Excretion of Hg^{203} for Seven Days in Guinea Pig injected $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$

Guinea-Pig No.	Day			1			2			3			4		
	Body Weight	Inj. cpm g	Excretion	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%
1	510 gm	1,200 cpm	Urine	18.0 ml	37,424	6.12	27.0 ml	40,892	6.68	15.0 ml	37,427	6.12	12.9 ml	24,196	3.95
			Feces	3.2 gm	2,434	0.40	0.9 gm	9,540	1.56	1.0 gm	8,000	1.31	2.5 gm	18,005	2.94
2	590 gm	1,200 cpm	Urine	24.6 ml	30,984	4.38	37.0 ml	32,616	4.61	15.4 ml	26,981	3.81	21.6 ml	33,134	4.68
			Feces	11.8 gm	18,939	2.68	1.2 gm	14,164	2.00	2.2 gm	14,986	2.12	8.2 gm	25,074	3.54
3	380 gm	1,200 cpm	Urine	42.0 ml	38,858	8.52	33.3 ml	44,138	9.68	47.3 ml	25,287	5.55	49.2 ml	33,160	7.27
			Feces	0.6 gm	868	0.19	1.8 gm	4,977	1.09	4.0 gm	12,440	2.73	1.2 gm	5,491	1.20
4	450 gm	1,200 cpm	Urine	3.5 ml	34,590	6.41	50.0 ml	39,160	7.25	28.6 ml	31,331	5.80	24.0 ml	32,741	6.06
			Feces	4.8 gm	8,614	1.60	2.1 gm	12,238	2.27	2.3 gm	15,106	2.80	1.0 gm	7,174	1.33
5	540 gm	1,200 cpm	Urine	49.6 ml	44,690	6.90	44.6 ml	59,252	9.14	55.4 ml	33,350	5.15	41.8 ml	42,206	6.51
			Feces	0.8 gm	2,169	0.33	1.6 gm	10,094	1.56	3.4 gm	22,170	3.42	0.6 gm	11,815	1.82

Note: % Stands for the percentage against the total amount of mercury injected

Fig. 1A: Excretion of Hg²⁰³ in Urine for Seven Days in Guinea Pig injected Hg²⁰³(NO₃)₂

示す如くである。尿中の水銀排泄状況を時間的経過に従つて観察すると、注射後第1日目に投与水銀量の6.47%が排泄され、第2日目7.47%、第3日目5.29%、第4日目5.69%、第5日目4.60%、第6日目3.24%、第7日目3.11%の水銀排泄量を示し、第2日目が最も尿中の水銀排泄量が高く、次いで第1日、第4日が高く、第7日目が最も低く水銀排泄量は時間の経過と共に徐々に減少する傾向

Fig. 1B: Excretion of Hg²⁰³ in Feces for Seven Days in Guinea Pig injected Hg²⁰³(NO₃)₂

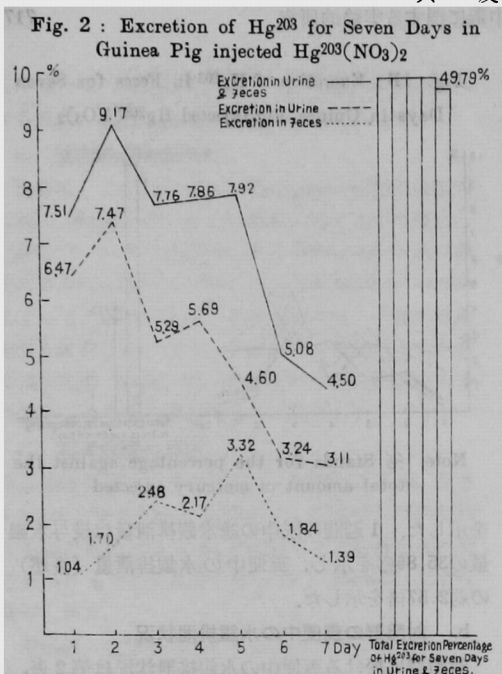
Note: % Stands for the percentage against the total amount of mercury injected

を示した。1週間の尿中の総水銀排泄量は投与水銀量の35.86%を示し、糞便中の水銀排泄量（後述）の約2.57倍を示した。

b. 対照群の糞便中の水銀排泄状況

対照群に於ける糞便中の水銀排泄状況は第2表、第1図B及び第2図に示す如く、時間をおつて観察すると第1日目が投与水銀量の1.04%を排泄し、

5			6			7			Total cpm of Excretion for One-Week	Excretion percentage for One-Week	Total cpm of Excretion for One-Week	Excre- tion Per- centage for One-Week
Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%				
11.8 ml	19,255	3.15	12.8 ml	20,537	3.36	19.0 ml	27,254	4.45	206,985	33.82	291,223	47.59
5.4 gm	15,125	2.47	3.7 gm	15,762	2.58	3.0 gm	15,372	2.51	84,238	13.76		
39.2 ml	40,200	5.68	25.2 ml	28,312	4.00	37.2 ml	28,756	4.06	220,983	31.21	357,898	50.55
0.9 gm	19,829	2.80	4.5 gm	26,303	3.72	5.0 gm	17,620	2.49	136,915	19.34		
37.8 ml	20,355	4.46	31.6 ml	8,775	1.92	21.1 ml	5,850	1.28	176,423	38.69	228,060	50.01
7.5 gm	22,828	5.01	1.7 gm	3,020	0.66	1.1 gm	2,013	0.44	51,637	11.32		
31.0 ml	27,941	5.17	24.0 ml	21,209	3.93	16.2 ml	18,901	3.50	205,873	38.12	276,427	51.19
3.1 gm	18,244	3.38	1.0 gm	5,507	1.02	0.6 gm	3,671	0.68	70,554	13.07		
45.8 ml	29,403	4.54	40.5 ml	19,285	2.98	27.1 ml	14,567	2.25	242,753	37.46	321,438	49.60
3.4 gm	19,184	2.96	3.3 gm	7,952	1.23	2.2 gm	5,301	0.82	78,685	12.14		



Note: % Stands for the percentage against the total amount of mercury injected

第2日目1.70%, 第3日目2.48%, 第4日目2.17%, 第5日目3.32%, 第6日目1.84%, 第7日目1.39%の水銀排泄量があり, 第1日目から第5日目迄は糞便中の水銀排泄量は徐々に増加し, 尿中の水銀排泄状況とはやや異った様相を示すが, 第5日目以後は比較的急速な水銀排泄量の減少を示し, 1週間の糞便中の総水銀排泄量は投与水銀量の13.93%を示した. なお, 対照群に於いては尿及び糞便中の1週間の総水銀排泄量は投与水銀量の49.79%を示した.

c. BAL 投与群の尿中の水銀排泄状況

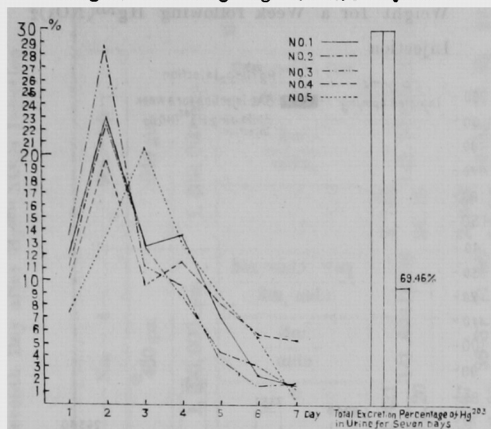
BAL 投与群の尿中の水銀排泄状況を時間的経過に従つて観察すると第3表, 第3図A及び第4図に示す如く, 第1日目に投与水銀量の10.77%が尿中に排泄され, 第2日目21.51%, 第3日目13.30%, 第4日目11.38%, 第5日目6.53%, 第6日目3.90%, 第7日目2.07%の排泄があり, 第2日目に最も著明に水銀は排泄され, 1週間の総尿中水銀排泄量の約31%を注射後第2日目に排泄した. 対照群に於いて最も多く排泄される第2日目と比較し

Table 3: Excretion of Hg^{203} for Seven Day of Guinea Pig Seven Injection of BAL (20mg/kg of BAL a Day) following $Hg^{203}(NO_3)_2$ Injection

Guinea-Pig No.	Day			1			2			3			4		
	Body Weight	Inj. cpm	Excretion	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%
1	560 gm	1,200 cpm	Urine	52.0 ml	80,964	12.05	40.6 ml	153,610	22.86	24.6 ml	85,424	12.71	26.0 ml	91,949	13.68
			Feces	7.8 gm	13,463	2.00	0.9 gm	6,956	1.04	6.5 gm	24,991	3.72	1.0 gm	8,279	1.23
2	620 gm	1,200 cpm	Urine	53.4 ml	81,248	10.92	45.2 ml	169,116	22.73	49.4 ml	94,576	12.71	57.4 ml	65,694	8.83
			Feces	4.0 gm	12,945	1.74	6.6 gm	37,415	5.03	2.1 gm	19,173	2.58	0.4 gm	18,361	2.47
3	580 gm	1,200 cpm	Urine	45.0 ml	93,262	13.40	36.2 ml	199,009	28.59	57.0 ml	77,377	11.12	67.0 ml	67,871	9.75
			Feces	0.1 gm	7,362	1.06	1.6 gm	18,186	2.61	2.4 gm	32,501	4.67	3.2 gm	10,190	1.46
4	460 gm	1,200 cpm	Urine	34.4 ml	55,475	10.05	44.2 ml	109,445	19.83	31.8 ml	52,556	9.52	27.6 ml	63,774	11.55
			Feces	4.9 gm	5,985	1.08	3.5 gm	12,758	2.31	6.2 gm	17,162	3.11	2.5 gm	10,298	1.87
5	490 gm	1,200 cpm	Urine	32.0 ml	43,724	7.44	41.6 ml	79,645	13.55	42.0 ml	120,298	20.46	53.0 ml	76,963	13.09
			Feces	0.6 gm	2,704	0.46	1.7 gm	4,014	0.68	5.3 gm	24,129	4.10	2.2 gm	14,687	2.50

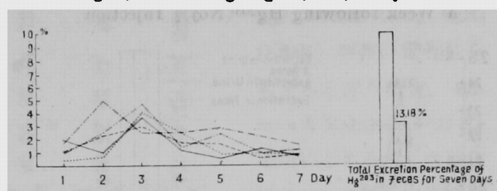
Note: % stands for the percentage against the total amount of mercury injected

Fig. 3A: Excretion of Hg²⁰³ in Urine for Seven Days of Guinea Pig after Seven Injection of BAL (20mg per Day per kg of Body Weight) following Hg²⁰³(NO₃)₂ Injection



2.9 倍の水銀排泄量が認められた。又、この期間では最も水銀排泄量の少いのは第7日目であり、尿中の水銀排泄量は第1日目から第2目に急激に増加し、第2日目以後は急激に減少する1峯性の山を示した。

Fig. 3B: Excretion of Hg²⁰³ in Feces for Seven Days of Guinea Pig after Seven Injection of BAL (20mg per Day per kg of Body Weight) following Hg²⁰³(NO₃)₂ Injection



Note: % Stands for the percentage against the total amount of mercury injected

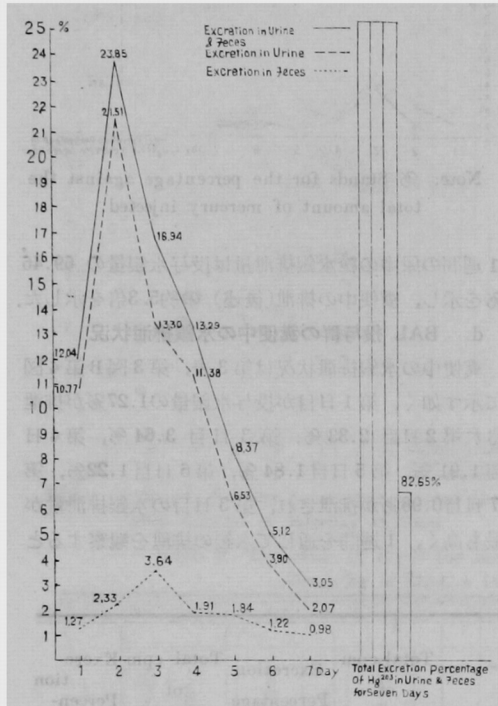
1週間の尿中の総水銀排泄量は投与水銀量の69.46%を示し、糞便中の排泄(後述)の約5.3倍を示した。

d. BAL 投与群の糞便中の水銀排泄状況

糞便中の水銀排泄状況は第3表、第3図B第4図に示す如く、第1日目投与水銀量の1.27%が排泄され第2日目2.33%、第3日目3.64%、第4日目1.91%、第5日目1.84%、第6日目1.22%、第7日目0.98%が排泄され、第3日目の水銀排泄量が最も高く、1週間を通じて水銀の排泄を観察すると

5			6			7			Total cpm of Excretion for One-Week	Excretion Percentage for One-Week	Total cpm of Excretion for One-Week	Excretion Percentage for One-Week
Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%	Volume	Excretion cpm	%				
35.2 ml	48,224	7.18	22.4 ml	15,982	2.38	18.2 ml	10,128	1.51	486,281	72.36	554,975	82.59
0.5 gm	2,353	0.35	2.7 gm	7,798	1.16	0.7 gm	4,854	0.72	68,694	10.22		
45.2 ml	31,730	4.26	45.4 ml	23,676	3.18	46.2 ml	10,118	1.36	476,158	64.00	613,453	82.45
1.8 gm	21,189	2.85	4.0 gm	16,003	2.15	0.9 gm	12,209	1.64	137,295	18.45		
17.2 ml	28,122	4.04	34.8 ml	18,133	2.61	23.4 ml	12,089	1.74	495,863	71.24	596,052	85.64
0.7 gm	16,660	2.39	0.1 gm	7,142	1.03	0.2 gm	8,148	1.17	100,189	14.39		
33.8 ml	45,076	8.17	12.0 ml	32,171	5.83	8.0 ml	28,571	5.18	387,068	70.12	450,563	81.62
2.6 gm	9,480	1.72	0.4 gm	3,571	0.65	2.4 gm	4,241	0.77	63,495	11.50		
18.6 ml	52,944	9.00	28.4 ml	32,270	5.49	19.2 ml	3,269	0.56	409,113	69.58	475,901	80.94
1.8 gm	11,230	1.91	0.3 gm	6,621	1.13	4.4 gm	3,403	0.58	66,788	11.36		

Fig. 4 Excretion of Hg^{203} for Seven Days of Guinea Pig injected BAL (20mg per Day per kg of Body Weight) Once a Day for a Week following $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ Injection



Note: % Stands for the percentage against the total amount of mercury injected

徐々に減少する水銀排泄状況を示し、1週間の糞便中の総水銀排泄量は投与水銀量の13.18%であった。

なお、BAL 投与群に於いては尿及び糞便中の総水銀排泄量は投与水銀量の 82.65% であった。

e. BAL 投与群と対照群に於ける 尿中及び糞便中の水銀排泄状況の比較

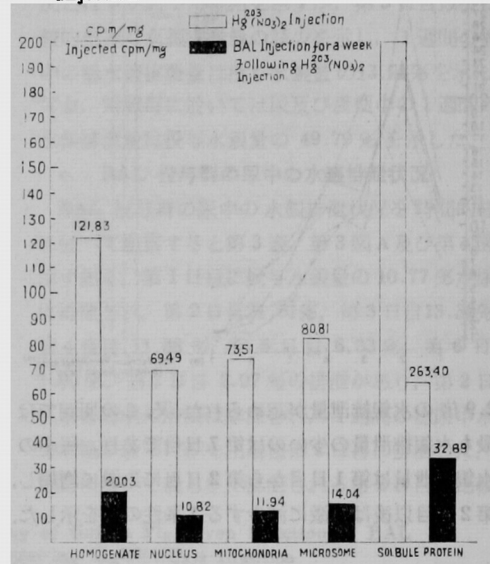
海豚に投与した放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ に対して、BALは尿中の水銀排泄に極めて効果的に作用し、対照群の1.9倍の排泄を認めた。ことに、BALの水銀の尿中排泄に及ぼす効果は第2日目(対照群の2.9倍)第3日目(対照群の2.8倍)第4日目(対照群の2.0倍)に大であるが、糞便中の水銀排泄にはほとんどBALは作用しないと考えられる。

2. 腎臓細胞内顆粒に於ける蛋白結合水銀の分布状態

a. 対照群に於ける蛋白結合水銀の分布

対照群に於ける $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ 投与1週間後の腎臓細胞内顆粒蛋白と放射性水銀との結合状態は第4表及び第5図に示す如く、体重1.0 mg 当りの注射放射

Fig. 5 Radioactivity Ratio of Hg^{203} in Intracellular Granules of Kidney of Guinea Pig injected 20 mg BAL a Day per kg of Body Weight for a Week following $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ Injection



能値に対する乾燥重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値は Soluble Protein(263.40) > Microsome (80.81) > Mitochondria (73.51) > Nucleus (69.49) の順序であり、第2編で述べた $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ 注射24時間後の腎臓細胞内顆粒の蛋白結合水銀の分布状態と同様の順位を示した。

b. BAL 投与群に於ける蛋白結合水銀の分布

BAL投与群に於いては、第5表及び第5図に示す如く、腎臓細胞内顆粒の蛋白結合放射性水銀は、各分割に於いて著しい減少を示し、対照群と比較すると乾燥蛋白重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値は Soluble Protein (32.89) では 1/8.0, Nucleus (10.82) では 1/6.4, Mitochondria (11.94) では 1/6.2, Microsome (14.04) では 1/5.6 の減少を示し、Soluble Proteinに於ける減少率が最も大であった。

なお、腎臓細胞内顆粒の蛋白結合水銀の分布状態は Soluble Protein > Microsome > Mitochondria > Nucleus の順序で対照群と同様の順序であった。

総括並びに考按

水銀、砒素、亜鉛、鉛等の重金属は蛋白質のSH基と結合して Mercaptide を形成し、酵素系のSH基を不活性化する事がこれら重金属中毒を発生せしめる一因と考えられている。このことは Hellerman¹⁾

Table 4: Distribution of Hg²⁰³ in Intracellular Granules of Guinea-Pig Kidney on the Seventh Day after Hg²⁰³(NO₃)₂ Injection
[1, 200, 000 cpm/kg of Hg²⁰³(NO₃)₂]

Guinea-Pig No.		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5		
Body Weight		510 gm	590 gm	380 gm	450 gm	540 gm		
Injected cpm per 1.0 kg		1, 200, 000 cpm	1, 200, 000 cpm	1, 200, 000 cpm	1, 200, 000 cpm	1, 200, 000 cpm		
Cell Fractions		$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$
		$\frac{\text{Inf. cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{Inf. cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{Inf. cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{Inf. cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{Inf. cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{Inf. cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{Inf. cpm}}{\text{mg}}$
HOMOGENATE	cpm	5,872	4,233	2,383	4,421	3,742	143.10	119.25
	Dry Weight (mg)	40.10	28.15	15.95	31.20	26.15	143.10	119.25
NUCLEUS	cpm	1,940	1,962	1,980	1,667	2,943	84.57	70.48
	Dry Weight (mg)	24.35	23.55	23.85	19.30	34.80	84.57	70.48
MITOCHONDRIA	cpm	947	2,335	1,352	1,475	1,891	90.05	75.04
	Dry Weight (mg)	10.90	26.85	15.40	16.50	21.00	90.05	75.04
MICROSOME	cpm	1,162	736	798	1,706	1,418	100.57	83.81
	Dry Weight (mg)	12.30	7.50	8.60	17.25	14.10	100.57	83.81
SOLUBLE PROTEIN	cpm	4,600	3,092	4,018	4,134	4,712	305.97	254.98
	Dry Weight (mg)	14.20	10.55	12.40	12.40	15.40	305.97	254.98
		MEAN						$\pm \sigma$
								$\pm \sigma$

の Urease を用いた広範囲な研究, Olcott & Franckel-Conrat²⁾ の SH 基に対し PCMB (ClHg·C₆H₄COOH) が強い親和性を有すると言う研究, Barron & Kalnitsky³⁾ の Hg を始めとする多くの重金属のコハク酸脱水素酵素の SH 基結合及び不活性化作用に関する研究, 平出⁴⁾ による HgCl₂, CuSO₄, ZnSO₄ 等の Mitochondria のコハク酸脱水素酵素に対する阻害並びに SH 量の低下に関する実験等によつて明白である。従つて重金属中毒の治療手段には, 生体内の SH 基と金属の結合よりも, 更に安定に金属と結合することによつて, 金属が細胞に作用することを阻止すると共に, 既に細胞に結合した金属を細胞より引き離して結合せしめ, 無毒な化合物として体外に速やかに排泄せしめる作用を有する薬物が理想的である。この様な考えによつて Monothiol である Glutathione, チオ硫酸ソーダが水銀中毒の治療に用いられていたが, 8)⁹⁾ 第 2 次世界大戦中に Peters, Stocken & Tompson¹⁴⁾ が Lewisite の解毒の追求から, 砒素と結合し安定な環状化合物を形成する Dithiol 剤である BAL を発見し, この BAL が水銀中毒にも著効のあることが Longscope¹⁷⁾, Bell¹⁸⁾, Donatelli¹⁹⁾, 岡野²⁰⁾, 小堀²¹⁾, 橋場²²⁾,

Table 5: Distribution of $Hg^{203}(NO_3)_2$ in Intracellular Granules of Guinea-Pig Kidney after Seven BAL Injections Once a Day following once $Hg^{203}(NO_3)_2$ Injection [1, 200, 000 cpm/kg of $Hg^{203}(NO_3)_2$: 20mg/kg of BAL a Day]

Guinea-Pig No.		No. 1		No. 2		No. 3		No. 4		No. 5		MEAN	$\pm \sigma$
Body Weight		560 gm		620 gm		580 gm		460 gm		490 gm			
Injected cpm per 1.0 kg		1, 200, 000 cpm		1, 200, 000 cpm		1, 200, 000 cpm		1, 200, 000 cpm		1, 200, 000 cpm			
Cell Fractions		cpm/mg		cpm/mg		cpm/mg		cpm/mg		cpm/mg		gpm	gpm
		gpm	Inf. cpm/mg	gpm	Inf. cpm/mg	gpm	Inf. cpm/mg	gpm	Inf. cpm/mg	gpm	Inf. cpm/mg		
HOMOGENATE	cpm Dry Weight (mg)	749 31.10	24.08 20.07	713 33.80	21.09 17.58	602 23.80	25.29 21.08	269 12.35	21.78 18.15	752 26.95	27.90 23.25	20.03	± 2.04
NUCLEUS	cpm Dry Weight (mg)	401 29.55	13.57 11.30	221 16.30	13.56 11.30	295 20.75	12.19 10.16	171 13.50	12.67 10.56	431 33.25	12.96 10.80	10.82	± 0.77
MITOCHONDRIA	cpm Dry Weight (mg)	376 26.30	14.30 11.92	375 27.15	13.81 11.51	148 10.30	14.37 11.98	162 11.40	14.21 11.84	381 25.55	14.91 12.43	11.94	± 0.44
MICROSOME	cpm Dry Weight (mg)	189 11.40	16.58 13.82	171 10.55	16.21 13.51	87 5.00	17.40 14.50	201 11.60	17.33 14.44	301 18.00	16.72 13.93	14.04	± 0.63
SOLUBLE PROTEIN	cpm Dry Weight (mg)	604 14.05	42.99 35.83	428 10.85	39.45 32.88	419 9.80	42.76 35.63	262 8.25	31.76 26.47	432 10.70	40.37 33.64	32.89	± 3.37

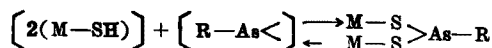
上田等²³⁾によつて報告されている。又、天然に存在するビタミンであつて Reed¹⁰⁾等によつて Yeast 菌から分離抽出結晶化が行なわれ Reed⁴⁴⁾⁻⁴⁶⁾, Bullock⁴⁷⁾⁻⁴⁸⁾等によつて化学構造が 6.8 Dithiooctanic Acid と決定され、合成が行われた Dithiol 化合物である Lipoic Acid (Thioctic Acid) が Donatelli¹¹⁾, Cicala¹²⁾等によつて、重金属中毒にかなり著しい解毒効果のあることが認められ、石井¹³⁾は水銀中毒に有効であると報告している。しかし、水銀中毒の解毒に関しては、人見⁵⁰⁾, 石井¹⁸⁾等は BAL が Lipoic Acid よりもはるかに優るといふ成績を発表している。

SH 化合物並びに酵素の SH 基と金属との結合様式を砒素化合物を例にとつて模式的に示すと次頁に示す如くである⁴⁹⁾。

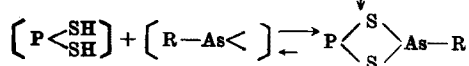
即ち、この反応は可逆的であり、長がい矢印の方向に反応は進行し易い、従つて SH 基の回復には Monothiol よりも Dithiol の方がより効果的であると言える。(水銀第一化合物、例えば昇永等の場合は $R-Ag^+$ の代りに Hg^+ を上述の式に挿入すればよい訳であるから有機砒素と同様であると考えられる。)

以上に述べた如く BAL の水銀中毒に対する効果については幾多の研究があるが、現在までの研究

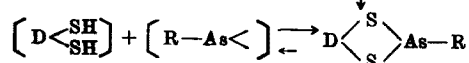
(i) Monothiol と砒素化合物



(ii) 酵素の SH 基と砒素化合物



(iii) Dithiol と砒素化合物



は BAL の水銀に対する解毒効果に関し水銀中毒患者の治療例、尿中水銀の排泄量の増加、或は動物実験による体内水銀量の減少について報告しているものである。

著者は第 1 編に於いて、生体内に投与した Hg²⁰³(NO₃)₂ の大部が組織蛋白と結合している事、第 2 編に於いて、水銀が細胞内顆粒蛋白とも結合していることを報告した。今回は、蛋白結合水銀に対する BAL の効果を検討するために最も水銀の集積性の強い腎臓を用い、腎臓細胞内の各顆粒に於ける蛋白結合水銀の残留状態を対照群と BAL 投与群に分けて測定し、一方に於いて、両群の 1 週間に於ける水銀の排泄状況を合せ観察し、BAL の水銀中毒に対する効果を測定した。

著者の実験より、BAL 投与時の水銀排泄状況について考察すれば、尿中に於ける水銀排泄状況を時間的経過に従って観察すると、対照群に於いては第 2 日目に水銀排泄量が最も多く、1 週間の尿中の総水銀排泄量の約 21% を排泄し、第 2 日目以後は第 4 日目に一過性的水銀排泄量の増加を見るが、全体としては比較的急速に水銀排泄量は減少して行き、1 週間の尿中の総水銀排泄量は投与水銀量の約 35.9% であつた。これに対し、BAL 投与群に於いても対照群と同様に第 2 日目に水銀排泄量が最も著明であつて、1 週間の尿中の総水銀排泄量の約 31% を示しており、第 2 日目以後は極めて急速な水銀排泄量の減少を認め、1 週間の尿中の総水銀排泄量は投与水銀量の約 69.5% であつて対照群の 1.9 倍の尿中の水銀排泄量が認められた。従つて、BAL 投与によつて尿中の水銀排泄量は著明に増加し、尿中の水銀排泄に関しては BAL が著しい効果を発揮することが認められた。一方、糞便中に於ける水銀排泄状況を時間的経過を追つて観察すると、対照群に於いては第 1 日より第 5 日目までは水銀排泄量が漸次増加の傾向を示し、第 5 日目が最も水銀排泄量が多く、それ以後は比較的急速に水銀排泄量の減少を示し、1 週間の糞便中の総水銀排泄量は投与水銀量の約 13.9% であつた。これに対し、BAL 投与群に於いては第 1 日目

より第 3 日目までは水銀排泄量が漸次増加する傾向にあり、第 3 日目に最も水銀排泄量が多く、それ以後は比較的緩慢に排泄され、一週間の糞便中の水銀排泄量は投与水銀量の約 13.2% であつた。従つて、BAL は糞便中の水銀排泄に関してはその効果をほとんど認め得なかつた。

以上を総括して見ると、著者の成績では対照群 (Hg²⁰³(NO₃)₂ のみ投与) に於いては、尿中及び糞便中の総水銀排泄量の和は投与水銀量の約 49.8% であり、その内、尿中の水銀排泄量は約 35.9%、糞便中の水銀排泄量は約 13.9% である。これに対し、BAL 投与群では尿中及び糞便中の総水銀排泄量の和は投与水銀量の約 82.7% を示し、その内、尿中の水銀排泄量は 69.5%、糞便中の水銀排泄量は約 13.2% であつて、BAL 投与によつて 1 週間に於ける尿中並びに糞便中の総水銀排泄量は対照群の約 1.7 倍であり、特に、BAL は上述した様に尿中の水銀排泄に著効を示し、第 2 日目に最も強く作用するが、糞便中の水銀排泄にはほとんど効果を示さなかつた。

投与水銀に対する BAL の水銀排泄の効果について文献的に考察して見ると、石井¹³⁾は無機水銀は尿へ多く排泄される傾向を示すことを報告しており、著者の実験結果と一致している。一方、対照群 (Hg²⁰³(NO₃)₂ のみ投与) に於ける投与水銀の排泄について見ると、鈴木等⁵¹⁾は Hg²⁰³(NO₃)₂ の皮下注射により 1 週間の尿中及び糞便中の総水銀排泄量は投与水銀量の約 60% と報告している。又、Adam⁵²⁾が昇汞を静脈注射した例では、注射後 2 週間の水銀の総排泄量は投与水銀量の 60% であり、その内、尿中に 39%、糞便中に 27% の水銀排泄を認め、Friberg⁵³⁾による昇汞の皮下注射時の実験でも尿中の水銀排泄量は糞便中の水銀排泄量の 2 倍を示したことを報告している。著者の実験に於いても対照群の 1 週間の尿中及び糞便中の総水銀排泄量は約 49.8% であり、尿中では約 35.9%、糞便中では約 13.9% の水銀の排泄があり、前者は後者の約 2.6 倍であつて、糞便中よりも尿中に水銀排泄が多いことを認めている。

BAL 投与時の腎臓細胞内顆粒の水銀の結合状態について、著者は組織蛋白と結合して SH 酵素の作用を阻害し、これによつて臓器の機能低下を来たさしめているいわゆる蛋白結合水銀が、BAL 投与によつて減少するかどうかについて実験を行なつた。

Hg²⁰³(NO₃)₂ 投与 1 週間後の腎臓に於ける蛋白結合水銀量について、水銀に対する BAL の解毒効果を検定すると、BAL 投与群の腎臓 Homogenate に

於いては腎臓組織蛋白結合水銀量は著明に減少し、乾燥組織重量1.0 mg当りの蛋白結合水銀量は対照群の約1/6.1であり、更に腎臓 Homogenate を Schneider⁴⁰⁾の方法によつて分画遠心沈澱して得られた腎臓細胞内各分割の蛋白結合水銀についてみると、Nucleus, Mitochondria, Microsome, Soluble Proteinのいずれの分割に於いてもBAL投与群では対照群に比較し1/8.0~1/5.6の著明な蛋白結合水銀の減少を認めた。

以上を総括し、尿中の水銀排泄状況及び腎臓細胞内顆粒の蛋白結合水銀の残留状態より水銀中毒に対するBALの効果を検討すると、BALは水銀が腎臓細胞蛋白に作用することを阻止すると共に、既に腎臓細胞に結合した水銀をこれから分離してBALと結合せしめ体外に速やかに排泄させ、水銀中毒時に酵素活性が低下するということに対し有効に作用していると推論される。又、Stocken⁵⁴⁾はBALは1回投与より連続して与える方がよいと言っているが、著者の実験による尿中の水銀排泄状況及び腎臓細胞内顆粒の蛋白結合水銀の残留状態から見てもBALは中毒発現の出来るだけ早期から連続投与するのがよいと考えられる。

結 論

水銀中毒に対するBALの効果測定のために、海豚をA、B両群に分け、A群(対照群)には体重1.0 kg 当り放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を1,200,000 cpm(水銀として0.026 mg/kg)投与し、B群(BAL投与群)には上述と同量の $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を投与直後、体重1.0 kg 当り20 mgのBALを注射し、更に以後連日6日間、同量のBALを毎日1回注射した。両群に於いて $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ 投与後の1週間にたわる水銀の尿中及び糞便中の排泄状況並びに $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ 投与1週間後の腎臓細胞内顆粒に於ける蛋白結合水銀の分布状態より、水銀に対するBALの解毒効果を検討して以下に述べる如き結論を得た。

1) 対照群に於いて $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ 投与後、尿中の水銀排泄状況を時間的経過に従つて観察すると水銀排泄量は第2日目に最も多く、第2日目の水銀排泄量は1週間の尿中の総水銀排泄量の約21%であり、以後は比較的急速に水銀排泄量は減少を示すが、第4日目に於いて一過性に水銀排泄量の増加が認められた。

糞便中の水銀排泄量は第1日目より第5日目まで

漸次増加の傾向を示し、第5日目が最も多く第5日目以後は比較的急速に水銀排泄量の減少を示した。

2) BAL投与群に於いて、尿中の水銀排泄状況を時間的経過に従つて観察すると第2日目に著明に多く、第2日目の水銀排泄量は1週間の尿中の総水銀排泄量の約31%を示し、以後極めて急速に水銀排泄量が減少した。

糞便中の水銀排泄状況は、第1日目より第3日目までは水銀排泄量の漸次増加の傾向を示し、対照群よりも2日早い第3日目が最も水銀排泄量が多く、それ以後は比較的緩慢な水銀排泄量の減少を示した。

3) 対照群の1週間の尿中及び糞便中の総水銀排泄量はの和は、投与水銀量の約49.8%であり、その内、尿中の水銀排泄量は約35.9%、糞便中の水銀排泄量は約13.9%であつて、尿中の水銀排泄量は糞便中の水銀排泄量の約2.6倍に達した。

4) BAL投与群の1週間の尿中及び糞便中の総水銀排泄量の和は、投与水銀量の約82.7%を示し、その内、尿中の水銀排泄量は約69.5%、糞便中の水銀排泄量は約13.2%で、尿中の水銀排泄量は糞便中のその約5.3倍を示した。

5) 3及び4の成績よりBAL投与群では1週間の尿中の水銀排泄量は、投与水銀量の約69.5%であり、対照群では約35.9%であつてBAL投与により尿中の水銀排泄に著効を認めたが、糞便中の水銀排泄量はBAL投与群が約13.2%に対し対照群は約13.9%であつて、糞便中の水銀排泄に対してはBALはほとんどその効果のないことが認められた。

6) BAL投与後に於いては、腎臓組織内蛋白結合水銀量は著明に減少し、乾燥組織重量1.0 mg 当りの蛋白結合水銀量は、対照群の約1/6.1であり、更に腎臓細胞内顆粒に於いてはNucleus, Mitochondria, Microsome, Soluble Proteinのいずれの分割に於いても対照群に比較して1/8.0~1/5.6の著明な蛋白結合水銀の減少を認めるが、特に、その減少はSoluble Proteinに於いて最も著しかった。

稿を終るに臨み、終始懇切に御指導並びに御校閲を頂いた緒方正名教授に深謝いたします。又、御生前厚き御指導を頂いた故大田原一祥教授の霊に謹謝いたします。

(本論文の要旨は第34回日本産業医学会総会に於いて発表した)

文

- 1) Hellerman, L.,: *Physiol. Rev.*, 17, 454, 1937.
- 2) Olcott, H. S., & H. F. Conrat,: *Chem. Rev.*, 41, 151, 1947.
- 3) Barron, E. S. G., & Kalnitsky, G.,: *Biochem. J.*, 40, 513, 1946.
- 4) 平出順吉郎: SH の進歩, 医学書院, 1954.
- 5) Friberg, L., Odeblad, E., & Forssman, S.,: *Arch. Ind. Health*, 16, 163, 1957.
- 6) 増井義弘: 奈良医学雑誌, 8, 357, 昭32.
- 7) 及川富士雄: 労働科学, 31, 11, 1955.
- 8) Dennie, C. C., & Mc Bride, W. L.,: *J. Am. Med. Ass.*, 83, (26), 2082, 1924.
- 9) Kuhn, H. A., & H. H. Reese,: *J. Am. Med. Ass.*, 85, (23), 1804, 1925.
- 10) Reed, L. J., Debusk, B. G., et al,: *J. Biol. Chem.*, 192, 851, 1951.
- 11) Donatelli, L.,: *Atti del Simposio Internazionale Su l'acido Tiottico*, 74, 1955.
- 12) Cicala, V., V. Galloro, & A. Jacobelli, . *Atti del Simposio Internazionale Su l'acido Tiottico*, 25, 5, 1955.
- 13) 石井俊文: 産業医学, 1, 7, 8, 1959.
- 14) Peters, R. A., Stocken, L. A., & Thompson, R. H. S.,: *Nature*, 156, 616, 1945.
- 15) Stocken, L. A.,: *Biochem. J.*, 41, 358, 1947.
- 16) Gliman, A., Allen, P., Philips, F. S., and John, E. S.,: *J. Clin. Invest.*, 25, 549, 1946.
- 17) Longscope, W. T., and Leutscher, J. A., . *J. Clin. Invest.*, 25, 557, 1946.
- 18) Bell, R. F., Gilliland, J. C., and Dunn, W. S.,: *A. M. A. Arch. Ind. Health*, 11, 231, 1955.
- 19) Donatelli, L., . *Atti del Simposio Internazionale Su l'acido Tiottico*, 45, 1955.
- 20) 岡野 実: 臨床内科小児科, 8, 291, 昭28.
- 21) 小堀辰治, 久木田淳: 総合医学, 8, 1011, 昭28.
- 22) 橋場亮二: 北海道医学雑誌, 29, 324, 昭29.
- 23) 上田喜一, 西村正雄, 石井俊文: 治療, 12, 1289, 1959.
- 24) 上田喜一: 日本の医学の1959年, 第15回日本医学会総会学術会記録, 1, 320, 昭34.
- 25) Aposhian, H. V.,: *Science*, 128, 93, 1958.

献

- 26) Dreisbach, R. H.,: *Handbook of poisons*, Lange Med. Publication, California, 1955.
- 27) Waters, L. L., and Stock, C.,: *Science*, 102, 601, 1945.
- 28) Peters, R. A., Sinclair, H. M., and Thompson, R. H. S.,: *Biochem. J.*, 40, 516, 1946.
- 29) Bethenod, M., and Marin, A.,: *Ann. Med. Leg.*, 37, 106, 1957.
- 30) Barron, E. S. G., Miller, Z. B., & Bartlett, G. R.,: *Biochem. J.*, 43, 346, 1947.
- 31) Sulzberger, M. B., Baer, K. L.,: *J. A. M. A.*, 133, 293, 1947.
- 32) Eagle, H., & Magnuson, H. J.,: *J. Vene. Dis. Inform.*, 27, 114, 1946.
- 33) Eagle, H., & Magnuson, H. J.,: *Am. Syph. gono. & Vene. Dis.*, 30, 420, 1946.
- 34) 加納魁一郎: 臨床, 3, 1, 昭25.
- 35) 谷野喜平, 宮崎宝明, 安西 喬, 佐藤直子: 総合医学 昭25.
- 36) 山下久雄: アイスोटープの医学的応用, 医学書院, 1954.
- 37) Potter, V. R., Elvehjem, C., . *J. Biol. Chem.*, 114, 495, 1369.
- 38) Potter, V. R.,: *Manometric Techniques and Tissue Metabolism*, 136, 1951.
- 39) 阿南功一他: 医学領域に於ける生化学実験法, 医学書院, 1954.
- 40) Schneider, W. C.,: *J. Biol. Chem.*, 176, 259, 1948.
- 41) Felix Haurowitz,: *Chemistry and Biology of Protein*, Academic Press. Inc., Publishers, Neu York, 1950.
- 42) Hans Neurath, & kenneth Bailey,: *The Protein*, 1, Part A. 1953.
- 43) 水島三一郎, 赤堀四郎: 蛋白化学, 2, 共立出版, 昭29.
- 44) Reed, L. J., Gunsalus, J. C., et al,: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 1267, 1953.
- 45) Reed, L. J., Debusk, B. G., Hornberger, C. S., & Gunsalus. I. C.,: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 1271, 1953.
- 46) Hornberger, C. S., Reed, L. J., et al, . *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 1273, 1953.
- 47) Bullok, M. W., Brockman J. A., et al,: *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 3455, 1952.

- 48) Bullok, M. W., Brockman J. A., et al.: J. Am. Chem. Soc., 76, 1828, 1954. 11, 昭36.
 49) 伊藤 宏: 薬理学, 英光堂書店, 1962. 52) Adam, K. R.: Brit. J. Pharmacol., 6, 483, 1951.
 50) 人見正博, 宮塚弘子他: 藤沢薬品工業研究所年報 4, 1, 1958. 53) Friberg, L.: Acta Pharmacol. et. Toxicol., 12, 411, 1956.
 51) 鈴木継美, 深山智代, 勝沼晴雄: 日新医学, 48, 54) Stocken, L. A.: Biochem. J., 40, 358, 1947.

Experimental Studies on Mercury Poisoning with the Use of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$

III. Changes in mercury combined with protein and its excretion after the administration of BAL

By

Atsuo Tadatomo

Department of Public Health Okayama University Medical School

(Director: Prof. Masana Ogata)

Author's Abstract

With the purpose to find out the effect of BAL (2,3 Dimercaptopropanol) in mercury poisoning, a group of guinea pigs were divided into two groups of A group (control) and B group (BAL injection). To A group 1,200,000 c. p. m. /kg of radio isotope $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ (0.026 mg/kg of mercury) was injected into the dorsal muscle, and to B group the same dose of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ was given in the same way and immediately 20 mg/kg of BAL was injected and the same dose for the six consecutive days thereafter. Then, for the period of one week following the injection of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$, the excretion of mercury in the urine and stool as well as the distribution of mercury combined with protein in the intracellular granules of kidney after one week of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ injection were observed in order to see the antidotal effect of BAL, and obtained the following results.

1. With the control group, the observations conducted with the lapse of time after $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ injection have revealed that the excretion of mercury in the urine is greatest on the second day, the excreted amount being about 21 per cent of the total mercury excreted in the urine in the one week period of observation. This excretion decreases relatively rapidly thereafter, but a transient rise in the quantity of excreted mercury can be observed on the fourth day.

As for the excretion of mercury in stool, it tends to increase from the first day to the fifth day of the observation showing the greatest amount of the excretion on the fifth day and after that it decreases relatively rapidly.

2. In the group injection with BAL, the excretion of mercury in the urine is markedly great on the second day, this amount being as much as about 31 per cent of the total mercury

excreted during the one-week period of observation, and it decreases quite rapidly thereafter.

On the other hand, the amount of mercury excreted in the stool increases gradually from the first day to the third day of observation, showing the greatest amount of the excretion on the third day which is two days earlier than that in the control, and it decreases relatively slowly thereafter.

3. In the control group, the sum of the total amounts of mercury excreted in the urine and stool for the period of one week is about 49.8 per cent of the mercury injected, and of this about 35.9 per cent is excreted in the urine and that in the stool about 13.9 per cent, proving that the amount excreted in the urine to be as much as about 2.6 times that in the stool.

4. In the group injected with BAL, the sum of the total amounts of mercury excreted in the urine and stool for the one-week period is about 82.7 per cent of the mercury injected, and of this about 69.5 per cent is excreted in the urine and about 13.2 per cent in the stool, proving that the amount of mercury excreted in the urine is about 5.3 times that in the stool.

From the findings described in sections 3 and 4, in the group B given BAL, the amount of mercury excreted in the urine during the one-week period is about 69.5 per cent of the injected mercury, whereas that in the stool is about 13.2 per cent in the control A group, proving that the BAL administration has a marked effect on the excretion of mercury in the urine. On the other hand, the amount of mercury excreted in the stool is 13.2 per cent in the B group given BAL as against about 13.9 per cent in the A group, control. This means that there is hardly any effect of BAL on the excretion of mercury in the stool.

5. In the observation of the B group given BAL, the amount of the mercury combined with protein in kidney tissue has been found to decrease markedly after the BAL injection, and the amount of mercury combined with protein per 1.0 mg. of the tissue in dry weight is about 1/6.1 of that in the control group. In addition, in the intracellular granules of kidney, the amount of mercury combined with protein decreases markedly 1/8.0~1/5.6 of that in the control group in such fractions as nucleus, mitochondria, microsomes, and soluble protein, and such a decrease is most marked in the soluble protein.
