

疲労判定法としての尿 Donaggio 反応に関する研究

第 1 編

各種薬剤投与時に於ける Donaggio 反応の変化について

岡山大学医学部公衆衛生学教室（指導・大田原一祥教授）

専攻生 田 辺 昇 平

〔昭和 34 年 8 月 7 日受稿〕

目 次

第 1 章 緒 論	第 3 節 A. C. T. H. 投与による尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化
第 2 章 実験材料及び実験方法	第 4 節 薬剤非投与時の尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化
第 1 節 実験動物	第 5 節 尿 Donaggio 値と残留メチレン青濃度との関係
第 2 節 投与薬剤及び投与方法	第 4 章 考 按
第 3 節 Donaggio 反応術式	第 5 章 結 論
第 4 節 採尿法及び尿 pH 値の測定	文 献
第 3 章 実験成績	欧文抄録
第 1 節 塩化アドレナリン投与による尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化	
第 2 節 塩化アンモン投与による尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化	

第 1 章 緒 論

尿を用いる疲労判定法としては緒方, 大田原両教授による尿微量蛋白測定法¹⁾, 浜崎教授による尿ケトエノール物質測定法²⁾, 笹川教授による尿還元物質示差法³⁾, 石川教授による尿蛋白示差法⁴⁾, 緒方氏による尿 B. P. B. 染色法⁵⁾, 及び尿ムコ蛋白定量法⁶⁾等多数の方法が報告されているが, Donaggio 反応も亦広く行はれている疲労判定法であつて, 本反応を用いた疲労研究の報告⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾も数多く見うけられる. Donaggio 反応陽性物質即ち尿膠質量が疲労時に於て増加する原因を究明する一つの手段として, 薬剤投与による尿 Donaggio 値の変化を追求する研究は従来も種々試みられて居る. 即ち 1951 年山添教授¹³⁾は疲労時に於ける血圧上昇及び血液濃縮等に着眼して人体に塩化アドレナリン注射を行ふ事により, 疲労時と同様 Donaggio 値を増加せしめ得る事を発表し, つづいて 1952 年宇上氏¹⁴⁾は人体に塩化アドレナリン注射を行つた際の尿 Donaggio 値と尿酸クレアチニン比との関係についての研究を

発表し, 又 1953 年下川氏¹⁵⁾は作業時に於ける Acidosis に関連した研究として塩化アンモン投与により生体に人為的に Acidosis を起さしめた場合にも同じく尿 Donaggio 値の増加を認める事を発表して居る. 又 1952 年宇上氏¹⁶⁾はコーチゾン投与による尿 Donaggio 値の増加を報告して居る.

尿 Donaggio 反応陽性物質即ち尿膠質量の測定法については従来の Donaggio 原法¹⁷⁾に対し 1948 年佐藤氏はメチレン青を用いた Donaggio 標準法¹⁸⁾を採択され, 更に精密な比色定量法に関しては中山氏¹⁹⁾の研究が行はれて居る.

著者は従来の人体による実験方法に対し家兎を実験動物として, 比較的大量の薬剤を投与する事により尿 Donaggio 反応陽性物質排泄の推移を詳細に追求したので其の成績をここに報告する.

第 2 章 実験材料及び実験方法

第 1 節 実験動物

健康にして未だ如何なる薬物をも投与された事のない体重 2,300~2,500 g の家兎を選び, これに—

定の食餌を与えて飼養したものを実験に使用した。

第2節 投与薬剤及び投与方法

a) 塩化アドレナリン (三共製品)

1:1,000 塩化アドレナリン溶液 0.6 cc を家兎に皮下注射した。

b) 塩化アンモン (石津製品)

塩化アンモン 1 g を家兎に経口的投与をした。

c) A. C. T. H. (Armour 製品)

A. C. T. H. 10 mg を家兎の筋肉内に注射した。

第3節 Donaggio 反応術式

佐藤氏標準法¹⁸⁾に従った。即ち倍数稀釈尿 1 cc に 1:10,000 メチレン青 0.5 cc, 次で 4.0 % モリブデン酸アンモン 0.5 cc を加へ 37°C の孵卵器中に 2 時間入れ、とり出して室温に 24 時間放置、その後成績を判定した。この際残留メチレン青濃度が 1:60,000 メチレン青濃度以上のものを 1 点とし更に詳細を必要とする場合には、Beckmann 型分光光度計 (島津製 Q. B. -50 型) を用いて比色定量法により測定を行った。

第4節 採尿及び尿 pH 値の測定

薬物投与前、投与後 1 時間、2 時間、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間の 7 回にわたり尿管カテテルによる導尿法に依り採尿した。

尿 pH 値の測定は尿蛋白の共存を考慮に入れ Beckmann 型ガラス電極による pH メーター (島津製 G. U. 1 型) を用ひ pH 7.0 の磷酸緩衝液を基準として、pH $\pm$ 0.02 の精密度で測定を行った。

第3章 実験成績

第1節 塩化アドレナリン投与による尿 Donaggio 値、尿量及び尿 pH 値の変化 (第1表参照)

第1図は 2 例の家兎に 1:1,000 塩化アドレナリン 0.6 cc を注射した場合の尿 Donaggio 値、尿量及び尿 pH 値の変化を図示したもので、実線は尿 Donaggio 値の変動を示し鎖線は尿量の変化を表わし、点線は尿 pH 値の変動を示して居る。

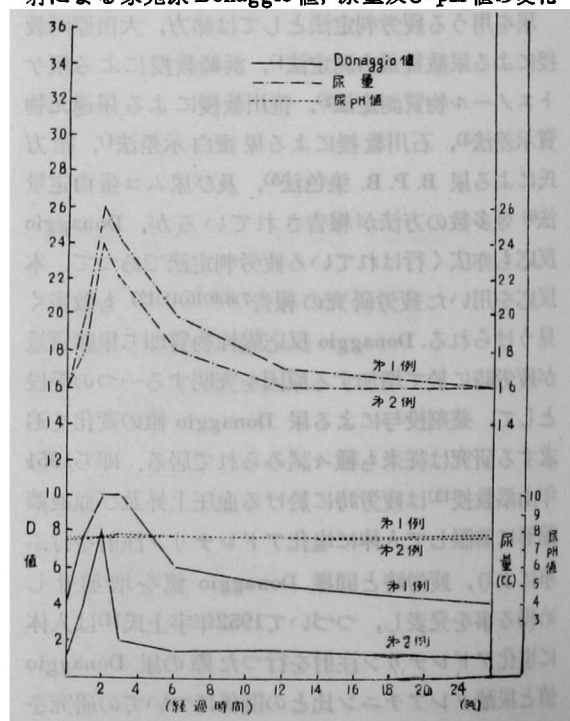
Donaggio 値は投与前 4 であつたが注射後次第に増加して 2~3 時間に最高値 8~10 を示し 24 時間後に注射前の値に復帰して居る。尿量も又注射後 2 時間を中心として増加を示して居る。これは尿 Donaggio 反応陽性物質の排泄量も亦増加して居る事を表わすものと思われる。又尿 pH 値は注射前後何れも 7.7~7.8 で変動を示さなかつた。即ち本実験によつて塩化アドレナリンの投与によつても尿 Dona-

第1表 各種薬剤投与時に於ける家兎尿 Donaggio 値、尿量及び pH 値の変動

投与薬剤	投与例	経過時間 D 値 尿量 pH 値	投与前	投 与 後					
				1 時間	2 時間	3 時間	6 時間	12 時間	24 時間
塩化アドレナリン液	I	D 値	4.0	8.0	10.0	10.0	6.0	5.0	4.0
		尿量	16.0	20.0	26.0	24.0	20.0	17.0	16.0
		pH 値	7.8	7.7	7.7	7.8	7.7	7.7	7.8
	II	D 値	1.0	4.0	8.0	2.0	1.5	1.5	1.0
	II	尿量	16.0	18.0	24.0	22.0	18.0	16.0	16.0
		pH 値	7.7	7.7	7.8	7.7	7.7	7.7	7.7
塩化アンモン	I	D 値	4.0	4.0	4.0	6.0	16.0	8.0	4.0
		尿量	16.0	18.0	24.0	26.0	27.0	22.0	18.0
		pH 値	8.0	8.0	8.0	6.8	6.0	7.3	8.0
	II	D 値	4.0	4.0	4.0	8.0	16.0	10.0	4.0
	II	尿量	14.0	17.0	22.0	22.0	21.0	20.0	15.0
		pH 値	7.0	7.2	6.9	6.6	5.8	6.5	7.0
A. C. T. H.	I	D 値*	3.5	16.1	18.8	20.6	7.2	7.1	3.5
		尿量	21.0	22.0	22.0	22.0	23.0	23.0	22.0
		pH 値	7.9	7.8	7.9	7.8	7.4	7.3	7.8
	II	D 値*	3.7	29.4	32.6	34.4	7.8	7.4	4.0
	II	尿量	20.0	20.0	21.0	21.0	21.0	20.0	21.0
		pH 値	7.4	7.4	7.7	7.5	7.3	7.2	7.5

* 分光光度計に依る測定値

第1図 1:10,000 塩化アドレナリン (0.6 cc) 皮下注射による家兎尿 Donaggio 値、尿量及び pH 値の変化

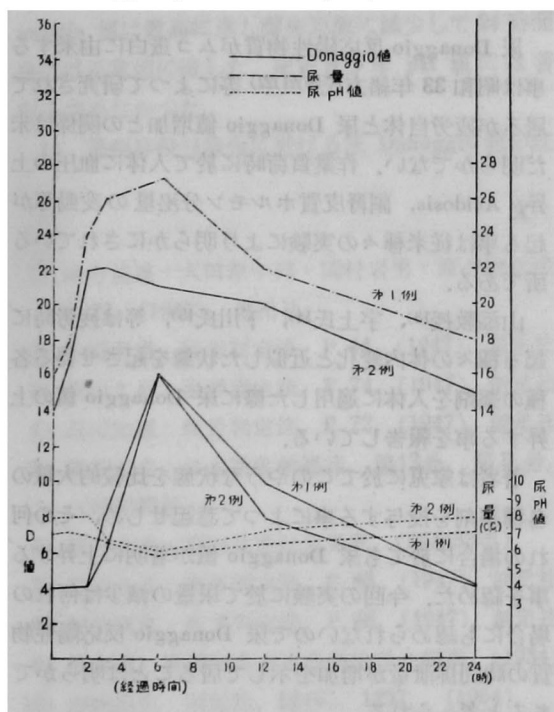


ggio 反応陽性物質の時間排泄量が増加する事を認めた。

第2節 塩化アンモン投与による尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化 (第1表参照)

第2図は塩化アンモン1gを家兎に内服せしめ人為的に Acidosis を惹起せしめた場合の家兎尿 Donaggio 値, 尿量及び pH 値の変化を示したもので, 実線は尿 Donaggio 値, 鎖線は尿量を表わし, 点線は尿 pH 値の変動を示して居る。

第2図 塩化アンモン内服による家兎尿 Donaggio 値, 尿量及び pH 値の変化

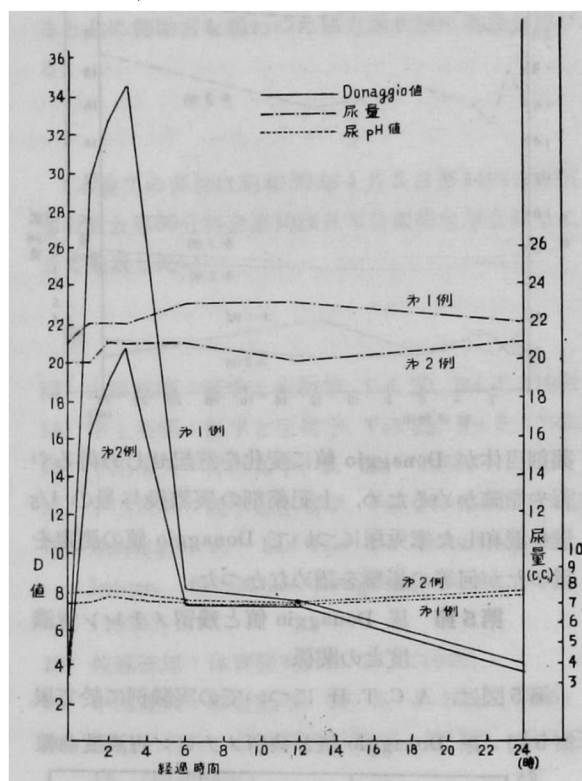


尿 Donaggio 値は2例ともに内服前4であつたが内服後3時間より増加を示し, 6時間後に最高値16に達し, 24時間後にはいずれも内服前の値に復帰して居る。尿量は内服後2~6時間に増加の傾向を示す。これは尿 Donaggio 反応陽性物質の時間排泄量の増加を意味して居る。尿 pH 値は内服前7.0~8.0であつたが内服後2~3時間で減少し始め, 6時間後には5.8~6.0を示し24時間後には, 内服前の値に復帰して居る。即ち尿の酸性化の程度と Donaggio 値の増加とは併行関係を示すことを認めた。塩化アドレナリンの場合と比較して尿 Donaggio 値が最高値を示す時間的ずれは, 前者が皮下注射投与なるに対し, 塩化アンモンが内服投与なることも一因をなすものと思はれる。

第3節 A. C. T. H. 投与による尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化 (第1表参照)

第3図は A. C. T. H. 10.0 mg を家兎に筋注した場合の尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化を示したもので, 実線は尿 Donaggio 値, 鎖線は尿量, 点線は尿 pH 値の変動をあらわして居る。

第3図 A. C. T. H. 10.0 mg 筋注後の Donaggio 値, 尿量及び pH 値の変化



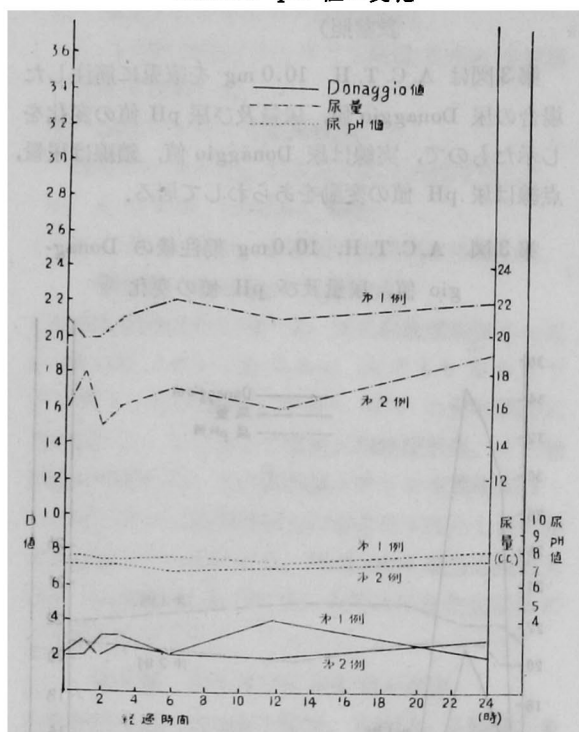
尿 Donaggio 値は2例とも注射前3.5~3.7であつたが, 注射後1時間ですでに著明な増加を認め, 3時間で最高値20.6~34.4を示し, 爾後急激に減少して6時間後には7.8となり24時間後には大体注射前の値に復帰して居る。本例に於ては尿量及び尿 pH 値には著しい変動を認めなかつた。

第4節 薬剤非投与時の尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の変化

第4図は, 対照として何等処理しない家兎尿 Donaggio 値, 尿量及び尿 pH 値の時間的変動, 食物による変化及び導尿急性による変動を示したものである。

即ち Donaggio 値の自然的変動は2以内に止まり尿量, pH 値には殆んど変化のない事を確かめ得た。尚上述投与薬剤がそのまま尿中に排泄せられてその

第4図 薬剤非投与家兔尿 Donaggio 値、
尿量及び pH 値の変化

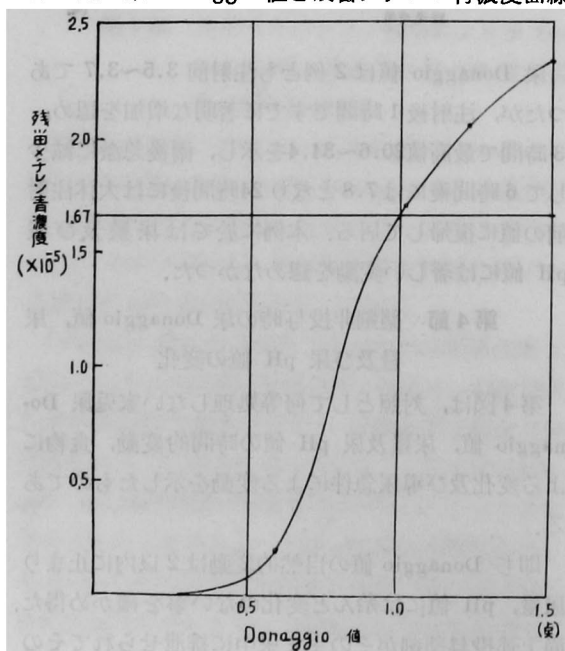


薬剤自体が Donaggio 値に変化を惹起せしめ得るや否やを確かめるため、上記薬剤の実際投与量の $1/5$ 量を混和した家兔尿について Donaggio 値の測定を行つたが何等の影響を認めなかつた。

第5節 尿 Donaggio 値と残留メチレン青濃度との関係

第5図は、A. C. T. H. についての実験例に於て尿

第5図 尿 Donaggio 値と残留メチレン青濃度曲線



Donaggio 値の変化を正確に求める目的で中山氏の方法¹⁹⁾に従ひ Beckmann 型分光光度計(島津製 Q. B. -50 型)を用い波長 $620 m\mu$ で残留メチレン青濃度を測定した成績を示したものである。

横軸は尿 Donaggio 値を示し、縦軸は残留メチレン青濃度を 10^{-5} 単位で表はして居る。本図の曲線を用いて逆算すれば Donaggio 値は 1.0 ± 0.1 点の巾で極めて正確に測定することが出来る。尚縦軸に於ける残留メチレン青濃度 1.67×10^{-5} がこの曲線と一致する所を Donaggio 値 1.0 点として計測を行つたものである。

第5章 考 按

尿 Donaggio 反応陽性物質がムコ蛋白に由来する事は昭和 33 年緒方氏²⁰⁾²¹⁾²²⁾等によつて研究されて居るが疲労自体と尿 Donaggio 値増加との関係は未だ明らかでない。作業負荷時に於て人体に血圧の上昇、Acidosis、副腎皮質ホルモン分泌量の変動等が起る事は従来種々の実験により明らかにされている所である。

山添教授¹³⁾、宇上氏¹⁴⁾、下川氏¹⁵⁾、等は疲労時に起る種々の体内変化と近似した状態を起させ得る各種の薬剤を人体に適用した際に尿 Donaggio 値の上昇する事を報告している。

著者は家兔に於てこのやうな状態を比較的大量の各種薬剤を投与する事によつて惹起せしめ、その何れの場合に於ても尿 Donaggio 値が著明に上昇する事を認めた。今回の実験に於て尿量の減少は何れの場合にも認められないので尿 Donaggio 反応陽性物質の時間排泄量が増加を示して居ることは明らかであると考へられる。

以上の実験は疲労と尿 Donaggio 反応陽性物質との関係究明の一助となり得るものと信ずるとともに各種の作業場其の他に於て疲労測定を実施する場合尿 Donaggio 値を上昇せしめる作用のある薬物を使用したか否かをたしかめる事は、その疲労度の判定に極めて重要な事と考へられる。

第6章 結 論

著者は家兔を実験動物として疲労時に於ける尿 Donaggio 反応陽性物質増加の原因を解明する目的を以て $1:1,000$ 塩化アドレナリン、塩化アンモン、A. C. T. H. 等を投与し、疲労時に於ける体内変調に近似した状態を惹起せしめて以下に示す如き結果を得た。

1) 塩化アドレナリン投与家兎に於ては注射後 2～3 時間に尿 Donaggio 値は最高値に達し爾後次第に下降して 24 時間後には正常値に復した。尿量も亦注射後 2～3 時間に於て増加したが尿 pH 値は変動を認めなかつた。

2) 塩化アンモン投与家兎に於ては内服後 6 時間で尿 Donaggio 値最高を示し爾後次第に減少して 24 時間後には正常値に復した。尿量も 2～6 時間で増加し尿 Donaggio 反応陽性物質の時間排泄量の増加を裏付けた。尿 pH 値は同じく注射後 3～6 時間に於て最低値を示した。

3) A. C. T. H. 投与家兎に於ては注射後 1 時間にしてすでに著明な増加を認め、3 時間に於て尿 Donaggio 値は最高に達し爾後急激に減少して 24 時間後には正常値に復した。尿量及び尿 pH 値には著変を認めなかつた。

4) 薬剤非投与家兎に於ける尿 Donaggio 値の変

化は最高 2 以内の変動に止り尿量及び尿 pH 値にも著変を認めなかつた。

5) 尿 Donaggio 値と残留メチレン青濃度との関係曲線を描き大体中山氏と同様の結果を得た。この曲線より逆算することにより Donaggio 値は 1.0 ± 0.1 点の巾で正確に測定する事が出来た。

稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜つた恩師大田原一祥教授に深謝の意を捧げると共に御助言を賜つた緒方助教授に謝意を捧げる。

(本論文の要旨は昭和 30 年 4 月 5 日第 14 回日本医学学会総会第 36 分科会第 10 回日本公衆衛生学会総会に於て発表した。)

文 献

- 1) 緒方益雄：大田原一祥：岡村岩男：疲労判定法，P. 72，(1947)，創元社。
- 2) 浜崎幸雄：疲労判定法，P. 44，(1947)，創元社。
- 3) 笹川久吾：疲労判定法，P. 74，(1947)，創元社。
- 4) 石川知福：疲労判定法，P. 72，(1947)，創元社。
- 5) 緒方正名：日本衛生学雑誌，第 13 卷，第 5 号，(昭和 33 年)。
- 6) 緒方正名：27 回日衛総会発表，(昭和 33 年)。
- 7) 笹川久吾：疲労判定法，P. 83，(1947)，創元社。
- 8) 越智真免：疲労判定法，P. 88，(1947)，創元社。
- 9) 高木豊：第 16 回日本連合衛生学会発表，(1934)。
- 10) 西崎道生：岡医法，66(6)，1237，(1954)。
- 11) 西崎道生：岡医法，68(8)，1248，(1956)。
- 12) 緒方正名：望月義夫：体力科学，7(4)，179，(1958)。
- 13) 山添三郎：医学と生物学，Vol. 20，No. 4，(1951)。
- 14) 宇上英明：医学と生物学，Vol. 25，No. 6，(1952)。
- 15) 下川末夫：体力医学，3，64，(1953)。
- 16) 宇上英明：医学と生物学，Vol. 24，No. 2，(1952)。
- 17) Donaggio, A.: Ein Test der Ermüdung II. Intern. Sportärzte Kongress, Berlin, 81, (1936)。
- 18) 佐藤徳郎：体育研究，8，56，(1948)。
- 19) 中山達夫：綜合医学，10，5，P. 255，(1953)。
- 20) 緒方正名外：日本衛生学雑誌，第 13 卷，第 2 号，15，(昭和 33 年)。
- 21) 緒方正名外：日本衛生学雑誌，第 13 卷，第 2 号，22，(昭和 33 年)。
- 22) 緒方正名外：日本衛生学雑誌，第 13 卷，第 2 号，28，(昭和 33 年)。

Donaggio Reaction of Urine as the Method Determining Fatigue

Part 1. Changes in the Donaggio Reaction at the Time of Administration of Various Drugs

By

Shohei Tanabé

Department of Public Health Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kazuyoshi Ohtawara)

With the purpose to elucidate the cause of the increase in substances positive to Donaggio reaction of urine in fatigue the author administered adrenalin chloride (diluted 1,000-fold), ammon chloride and ACTH to rabbits and induced conditions simulating those irregularities of the body in fatigue. In the observation of their urine the following results were obtained.

1. In the rabbit administered adrenalin chloride the urine Donaggio value reaches its maximum 2—3 hours after the injection and thereafter descending gradually, it returns to normal level 24 hours afterwards. The amount of urine likewise increases 2—3 hours after the injection, but urine pH does not show any alteration.

2. In the rabbit given oral administration of ammon chloride the urine Donaggio value reaches the maximum six hours after the administration and decreasing gradually thereafter, it returns to normal level after 24 hours. The amount of urine likewise increases 2-6 hours after the administration, substantiating the increase in the content of substance positive to the urine Donaggio reaction being excreted hourly. Urine pH shows the minimum 3—6 hours after the administration.

3. In the rabbit administered ACTH the urine Donaggio value, increasing markedly already one hour after the injection, reaches the maximum value after three hours. Thereafter decreasing rapidly, it returns to normal level after 24 hours. No changes can be recognized in the urine content and pH.

4. In the rabbit not treated with drug the maximum variation in the urine Donaggio value ranges within two, and no marked change can be recognized in the urine content and in pH.

5. In drawing the correlation curve between the urine Donaggio value and the concentration of remnant methylene blue the result obtained approximately coincides with that reported by Nakayama. Calculating from this curve, the Donaggio values can be correctly determined within the limit of error of 1.0 ± 0.1 .
