

結核症の銅代謝に関する臨床的研究

第2報 胸腹水ならびに切除肺病巣内の銅含有量の持つ意義について

河 合 潔

国立中野療養所

受 付 昭 和 32 年 1 月 5 日

緒 言

前報で述べたように炎症局所における銅含有量の研究はあまりにも少なく、Menkin⁹⁾の報告は鉄に関するものであり、銅では放射性銅を利用した Schubert の実験的研究¹⁰⁾しかないことは Brenner⁵⁾の総説でも明らかで、この方面は正に未開領域と言わねばならぬ。しかも遊離状態の銅イオン自体は一定濃度以上では本質的に抗結核菌作用を有するものである以上、炎症局所に銅が集まるか否かは、仮にその銅が血清銅に由来する蛋白との結合銅であつてもその影響は無視できないと思う。

本報では各種の炎症時、非炎症時の胸腹水内銅量につき述べた後、切除肺病巣内の銅含有量の状態を正常肺部と比較しつつ報告したい。

第1節 胸腹水

1) 検査対象：非炎症性漏出液 8 例、炎症性漿液性滲出液 10 例、純結核性膿胸滲出液 27 例計 45 例であり、炎症性・非炎症性の鑑別は臨床診断によつた。また他菌の混合感染を併発した結核性膿胸例は除外した。なお同時に採血できた 31 例では血清銅も併せ測定した。

2) 検査方法：各穿刺液はすべて採取後速やかに 4000 廻転 15 分間遠心し繊維素、細胞等を除去し全く有形成分のない上清を測定に供した。測定方法は第 1 報の Robinson 法であり、イソアミルアルコール使用量は 4 ml である。結核菌培養は 3% 小川培地各 2 本に沈渣を 0.5 ml ずつ 2 本宛 2 カ月以上培養し判定した。

3) 非炎症性漏出液の場合 (表 1)

表 1 非炎症性漏出液の場合

症 例	臨 床 診 断	液内濃度	血清銅	結核菌培養
1. ■■■	気胸後滲溜液	45γ/dl	116γ/dl	(-)
2. ■■■	"	40	146	(-)
3. ■■■	"	31	116	(-)
4. ■■■	肋膜腔正常液	40		(-)
5. ■■■	気胸後滲溜液	41	71	(-)
6. ■■■	腹水(ネフローゼ)	微量		(-)
7. ■■■	肋膜外気胸後滲溜液	30		(-)
8. ■■■	気胸後滲溜液	28		(-)
		平均: 32		

表の如くその濃度は最高 48γ/dl にすぎず、ネフローゼに合併せる腹水では全く検出できなかった。また同一例の血清銅値に比し確かに低いということが特徴であり、4 例中 3 例までは液内濃度は血清内濃度の半量以下であつた。

4) 炎症性漿液性滲出液の場合 (表 2)

表 2 炎症性漿液性滲出液の場合

症 例	臨 床 診 断	液内濃度	血清銅	結核菌培養
1. ■■■	コレステリン性肋膜炎	144γ/dl	118γ/dl	+1*
2. ■■■	肋 膜 炎	170		(-)
3. ■■■	"	162		(-)
4. ■■■	"	184		(-)
5. ■■■	"	133	152	
6. ■■■	"	60		
7. ■■■	"	36		
8. ■■■	"	51	138	(-)
9. ■■■	"	156		
10. ■■■	"	299		
		平均: 140		

* コロニー数を示す

表の如く最低 36γ/dl より最高 299γ/dl におよび非炎症性漏出液の場合に比し明らかに高い。また第 2 例の滲出液内銅含量は血清中のそれを凌駕している。なお表中の肋膜炎はすべて漿液纖維索性肋膜炎にしていわゆる特発性ならびに随伴性肋膜炎の双方を含んでいる。

5) 純結核性膿胸滲出液の場合 (表 3)

膿性滲出液の場合には液中の膿球を主体とした有形成分の上清中銅濃度に及ぼす影響を少なくするために遠心上清量約 90% 以上の稀薄な膿を対象とした。

表の如く遠心上清内濃度は 66~385γ/dl で炎症性漿液性の際とはほぼ同様であるが非炎症性漏出液の場合より遥かに高濃度である。血清内濃度は 66~176γ/dl で、27 例中 9 例では液内濃度は血清内濃度を凌駕し、特に第 6 例の液内濃度は血清内濃度の約 3 倍に達した。

同一例につき 2 回測定したのは症例 19 で、明らかな肺穿孔、発熱と共に肋膜炎を起したものであるが第 1 回排膿時すでに滲出液濁濁し膿胸というべき状態であつた。その際の滲出液上清よりは 280γ/dl に及ぶ高濃度の銅を

表 3 純結核性膿胸滲出液の場合

症 例	液内濃度	血 清 銅	結核菌培養
1. ■	291 γ /dl	134 γ /dl	(-)
2. ■	79	99	+
3. ■	79	95	(-)
4. ■	115	138	(-)
5. ■	67	108	+ 1**
6. ■	294	94	(-)
7. ■	94	92	(-)
8. ■	102	80	(-)
9. ■	100	116	+++
10. ■	166	132	+ 4
11. ■	91	133	(-)
12. ■	89	144	+++
13. ■	72	89	++
14. ■	152	150	(-)
15. ■	89		(-)
16. ■	88	66	(-)
17. ■	102		+++
18. ■	100	124	+ 31
19. ■	280		+++
	104*	138	+ 30
20. ■	81	111	(-)
21. ■	70	88	(-)
22. ■	110		+ 1
23. ■	76	129	(-)
24. ■	66	99	(-)
25. ■	385	156	(-)
26. ■	204	148	
27. ■	284	176	
	平均: 142	平均: 118	

* 約5ヵ月後の再測定値 ** コロニー数

証明した。その後 INAH とピラジナマイドの併用療法にて次第に軽快し、膿中結核菌も減少し5ヵ月後に再測定した際には 104 γ /dl に下降していた。なお本例を除いては膿胸に移行後いずれも2年以上経過した慢性例である。

液内濃度と結核菌培養の陽陰性との間の関連は前記第19例の場合を除いては一般に密接でない。

第2節 切除肺病巣

1) 検査対象: 12例の切除肺より正常肺部分を避けて摘出した各種の状態にある18箇の肺病巣ならびに切除肺表面より切離した肺肋膜を含む7箇の正常肺部分である。

2) 検査方法: 切除した材料を再溜水にて清洗したシャーレ内にとり直ちに乾燥器内にて120°C 2日以上に亘り充分に乾燥後正確に秤量しマイクロエルダール型コルベン内に移し、硫酸 1 ml, 硝酸 3 ml, 過塩素酸 3 ml (各試薬とも分析用純品を使用) を加え湿性灰化を行った。分解は当初小さな焔で緩慢に行い、分解の進行とと

もに焔を大きくし通常10数時間後には約 1 ml のほとんど無色透明液を得た。ただし半ば石灰化したような陳旧病巣では白色の結晶が析出する場合があつた。冷却後30%過酸化水素水を滴下し変色しなければ分解完了とした。

以上によりえた灰化物を 木村一村上法²¹⁾²²⁾ を応用し分析した。以下著者が特に注意した点または変更した点を述べると、(1) 試薬の精製、調製はほとんど原法通りに行つたが特に Dithizon 溶液の調製に際しては Dithizon を溶解せるアンモニア水に塩酸を加え Dithizon を再び四塩化炭素内に移行せしめる際、充分に塩酸酸性としたことで、さもないと Dithizon をアンモニア水中より完全に分離できないこととなる。かくしてえた 0.1% 溶液は 0.02% に四塩化炭素で稀め使用した。(2) 銅を結合した Dithizon は磁製の皿に受け水浴上にて四塩化炭素を蒸発せしめた後、小さな焔にて軽く熱しついで火力を強め残渣の Dithizon が完全に分解してほとんど無色の灰化物となるまで充分に灼熱した。(3) pH の調整はできるだけ正確に行つた。(4) 銅—Carbamate 錯塩を四塩化炭素に移行せしめる際第1回は 5 ml, 第2回は 4 ml にて行い 10 ml のメスコルベンを使用し終末量は 10 ml とし、440 m μ で光電光度計を使用し吸光度を計つた。

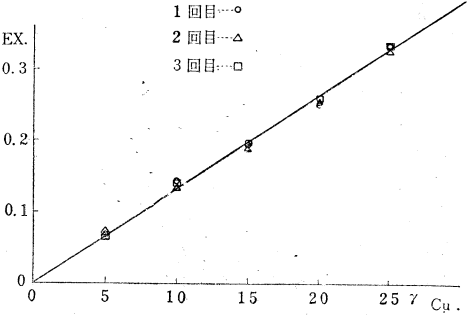
以上のような方法で当初は再蒸溜水の Blank のみで 6 検体あて 6 回ほど反復施行し同時に行つた 6 検体の各吸光度が一定してきたことを確認してから、すなわち技術的に安定してから本実験に移つた。

表 4 標準銅量の Extinction (吸光度) と算出法

Cu	第1回	第2回	第3回	平均	Cu/Ex.
5	0.067	0.071	0.067	0.068	73.6 γ
10	0.143	0.134	0.140	0.139	72.0
15	0.195	0.191	0.197	0.194	77.3
20	0.250	0.256	0.260	0.255	78.5
25	0.335	0.328	0.334	0.332	75.3
Calibration constant (γ , Cu/Extinction):					75.3

算出法: 1. $EC = \text{試料の吸光度} - \text{Blankの吸光度}$
2. $Ec \times 75.3 \gamma \times \frac{1,000(mg)}{\text{乾燥重量}(mg)} = \text{乾燥重量 } 1gm \text{ 当りの銅含量}$

図 1 検量線



銅量算出の基礎となつた各銅溶液の吸光度と乾燥重量
1 gm 中の銅含有量の算出法および検量線は次の通りで
ある。(表4, 図1)

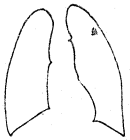
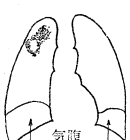
3) 検査成績

各症例毎に術前X線所見, 従来の化学療法(総量), 切
除部位, 病巣の肉眼所見, 乾燥重量, 銅含有量を表5に
示した。

また測定部位の種類を大きく, (1) 正常肺部, (2) 空
洞壁および内容, (3) 被包乾酪巣その他の3群に大別し
それぞれの含有銅量を表6に示した。

表の如く正常肺部は乾燥重量にて6.5~16.2γ/gm (平
均12.1) であるに対し, 病巣部は7.7~81.1γ/gm (平均
29.7) で一般に高い。しかし病巣中でも空洞壁, 空洞内
容等は症例4, 6, 8, 9で示される如く一般に低く, 硬

表5 切除肺中の銅含有量

症 例	X 線 所 見	化 学 療 法	切 除 部 位	肉 眼 所 見	乾 燥 重 量	銅 含 量
No. 1 ■■■■ (♂) 40 才 昭27. 1 発見 30.12 手術		SM 100gm PAS 4,230 INAH 25	L-S ¹⁺²	小豆大弾力性硬度の被 包乾酪巣	115 mg	37.7γ/gm
No. 2 ■■■■ (♂) 24 才 昭28. 3 発見 30.12 手術		SM 80gm PAS 1,500 INAH 55	L-S ³ L-S ¹⁺²	半米粒大の軟かな被包 乾酪巣	32.5	16.0
No. 3 ■■■■ (♂) 24 才 昭28.12 発見 30.12 手術		SM 83gm PAS 4,750 INAH 12	L-S ¹⁺² L-S ³	半米粒大の小撒布巣1 部肺組織も附着	51.5	10.1
No. 4 ■■■■ (♀) 28 才 昭29.10 発見 31. 1 手術		SM 49gm PAS 2,040 INAH 5.6	右 上 葉 全 部	空洞内容	81.4	8.4
No. 5 ■■■■ (♂) 29 才 昭28. 1 発見 31. 1 手術		SM 66gm PAS 6,760 INAH 66	L-S ¹⁺² L-S ⁶	正 常 肺 部	116.4	12.5
				半米粒大の硬い乾酪巣	23.4	64.1
				大豆大の硬い乾酪巣	25.0	17.1
No. 6 ■■■■ (♂) 45 才 昭28. 4 発見 31. 2 手術		SM 77gm PAS 2,330 INAH 16	右 上 葉 全 部	正 常 肺 部	37.6	13.7
				空 洞 内 容	52.1	11.8
No. 7 ■■■■ (♂) 26 才 昭30. 7 発見 31. 3 手術		SM 61gm PAS 1,700 INAH 0	R-S ¹ R-S ²	正 常 部	37.6	15.7
				軟 い 乾 酪 巣	91.5	41.8
No. 8 ■■■■ (♂) 34 才 昭25. 1 発見 31. 3 手術		SM 93gm PAS 2,080 INAH 6	左 肺 全 部	正 常 肺 部	297.0	9.1
				空 洞 壁	108.4	8.1
				硬 い 乾 酪 巣	68.3	18.0

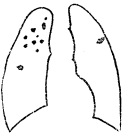
症 例	X 線 所 見	化 学 療 法	切 除 部 位	肉 眼 所 見	乾 燥 重 量	銅 含 量
No. 9 ████ (♂) 34 才 昭30. 9 発見 31. 3 手術		SM 50gm PAS 1,640 INAH 0	左 上 葉 全 部	正 常 肺 部	94.5	6.5
				被 包 乾 酪 巢	52.6	41.4
				空 洞 壁	74.7	7.7
No. 10 ████ (♀) 34 才 昭28. 8 発見 30.12 手術		SM 198gm PAS 7,050 INAH 0	R-S ¹ a R-S ²	正 常 肺 部	69.8	11.3
				空 洞 壁	18.4	43.6
No. 11 ████ (♂) 34 才 昭21. 6 発見 31. 9 手術 註：術前血清銅値 108 γ /dl		SM 147gm PAS 5,390 INAH 0	R-S ¹ R-S ²	正 常 肺 部	141.4	16.2
				小指頭大乾酪巢	182.1	63.0
				大豆大乾酪巢(石灰を含む)	76.9	81.1
				小豆大乾酪巢	59.1	13.7
No. 12 ████ (♂) 30 才 昭29.10 発見 31. 5 手術		SM 68gm PAS 2,400 INAH 2	右 下 葉 全 部	空 洞 内 容	121.5	41.6
				空 洞 壁	96.5	10.4

表 6 病巣別の含有銅量

種 類	例 数	銅含量の幅 γ /gm	平 均 値 γ /gm
正 常 部	7	6.5~16.2	12.1
空 洞 壁 兼 内 容	7	7.7~43.6	18.8
被包乾酪巢その他	11	10.1~81.1	36.7

化性の被包乾酪巢例えば 症例 1, 5, 8, 9, 11 等では高く、最高値を示したのは半ば石灰化した症例11の被包乾酪巢内においてであった。このように病巣の性状に応じて各種の値を示した点が最も注目された。

考 案

Menkin⁹⁾ は結核病巣への鉄の集積を実験的に証明しているがその理由として各種の実験を基礎として炎症巣の毛細血管透過性の亢進を挙げている²³⁾ のは妥当だと思う。例えば胸腹水の場合、炎症性の穿刺液では毛細血管透過性の亢進により蛋白含量の多いことはすでに周知の事実でありしかも血清銅の大部分が Holmberg²⁴⁾ らの言うCaeruloplasmin として α_2 グロブリン分画に結合しているとすれば炎症滲出液における銅含有量の増加は正に必然的結果と言わねばならぬであろう。なおネフローゼの腹水では銅を検出できなかったが Krebs¹⁾ によればネフローゼの血清銅は正常値の $\frac{1}{4}$ と称せられているのでこのような血清銅値の低下が腹水内銅量に影響していると思われる。

しかしここで問題となるのは肺病巣の場合で、外界と

通常直接交通のない肋腹膜腔の際とは自ずと条件が異なってくる。すなわち外界と交通があり未だ活動期にある空洞壁、空洞内容等では低値を示すものが多く、被包された治癒傾向の多い濃縮化病巣では一般に高値を示す等、病巣の病理解剖学的性格との関係が密接であり単なる Menkin の炎症説のみでは説明されえない。Schubert¹⁰⁾ は放射性硫酸銅0.025mgを結核モルモットおよび健康モルモットに1回だけ皮下注射して結核肺には健康肺の4~5倍の銅が集まることを証明しておりしたがつてヒトの肺病巣でも一旦は血清内銅の病変部への集積が起りうると想像され、その後はそれぞれの病的機転すなわち濃縮か崩壊かに応じてあるいはさらに高くあるいはさらに低くなるものと思われる。しかしいづれにせよ治療病巣に銅含量が大であったことは病巣の安定性という面から見て、その存在意義は無視できない。ただし切除肺より分析試料である病巣部を摘出する際、小病巣では病巣全体を分析に用いねばならぬ結果となり病理組織学的な検索が困難となつたのは遺憾であった。

肺病巣内の銅含有量測定に応用した木村一村上法は非常に堅実な方法だと考えられるが Dithizon 抽出を行うためかなり複雑であり、それだけに熟練が要求される。他方同じ湿性灰化を行う Braun-Scheffer¹⁶⁾ や Gubler¹⁴⁾ の報告では Dithizon抽出を行っていないのに血清、全血では大差のない数値が出ているので木村一村上法もさらに多少の簡便化が望ましい。この点 Griffith²⁵⁾ の行つた Emission spectrograph 法は多数の試料を処理する目的から見れば利用価値が高い。彼らは同方法と化

学分析で剖検肺72例の銅含量を測定しており1才以上の標準平均値 $12.1\gamma/gm$ (乾燥重量)と称し著者の得たのと同様な数値を発表している。

結 論

1) 各種の胸腹水計45例の遠心上清中の銅含量を Robinson法により測定した結果、非炎症性漏出液8例では $0\sim 48\gamma/dl$ (平均32)、炎症性漿液性滲出液10例では $36\sim 299\gamma/dl$ (平均140)、炎症性膿性滲出液27例では $66\sim 385\gamma/dl$ (平均142)で炎症性滲出液において非炎症性の場合に比し明らかに高濃度の銅を証明した。

2) 肺組織は木村一村上法にて測定し、12例の切除肺より切離した7箇の正常肺部分の含有量は乾燥重量にて $6.5\sim 16.2\gamma/gm$ (平均12.1)であり、これに対し19箇の病巣部の含有量は $7.7\sim 81.1\gamma/gm$ (平均29.7)で一般に高く、病巣中では被包濃縮化された治癒過程にある乾酪巣等では $10.1\sim 81.1\gamma/gm$ (平均36.7)にて含量多く、開放性の空洞壁および空洞内容は $7.7\sim 43.6\gamma/gm$ (平均18.8)にて一般に低濃度であつた。

稿を終るに臨み御指導、御校閲を賜つた東京医大篠井金吾教授、春木秀次郎所長、馬場治賢部長ならびに生化学上の御指導を賜つた東大栄養学教室米山良昌助教授に心から感謝します。

なお本研究の一部は第31回結核病学会総会において発表した。

文 献

- 1) Krebs, H. A. : *Klin. Wschr.*, 7: 584~585, 1928.
- 2) Heilmeyer, L., Keiderling, W., und Stüwe, G. : Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe und ihre Bedeutung beim Krankheitsgeschehen, Jena, Gustav Fischer, 1941.
- 3) 福島寛四・千田信行: 血液学討議会報告, 2: 1~27, 昭24.
- 4) 若田部武寿: 最新医学, 9: 403~416, 昭29.
- 5) Brenner, W. : *Ergebnisse d. Inn. Med. u. Kind.*, 4 (Neue Folge), 806~974, 1953.
- 6) Polster, W. : 5)より引用.
- 7) Sorkin, E., Roth, W., und Erlenmeyer, H. : *Helv. Chim. Acta*, 35: 1736~1741, 1952.
- 8) Roth, W., Zuber, F., Sorkin, E., und Erlenmeyer, H. : *Helv. chim. Acta*, 43: 430~433, 1951.
- 9) Menkin, V., and Menkin, M. F., *J. Exper. Med.*, 53: 919~927, 1931.
- 10) Schubert, G., Vogt, H., Maurer, W., und Riezler, F.N. : *Klin. Wschr.*, 26: 493~494, 1948.
- 11) 河合 潔: 結核, 31(増刊号): 193~194, 昭31.
- 12) Kellin, D., and Mann, T. : *Proc. Roy. Soc. London B*, 125: 187~204, 1938.
- 13) Robinson, G.J. : *J. Biol. Chem.*, 179: 1103~1109, 1949.
- 14) Gubler, J.C., Lahey, M.E., Helen Ashenbrucker, Cartwright, C.E., and Wintrobe, M.M. : *J. Biol. Chem.*, 196: 209~220, 1952.
- 15) Frank, C.C., Johnson, R.E., and Marek, E. : *Metabolic Methods*, St. Louis, Mosby, 1951.
- 16) Braun, L., und Scheffer, L. : *Biochem. Z.*, 304: 397~403, 1940.
- 17) 三方一沢・長谷川彌人・伊藤宗元: 最新医学, 10: 245~253, 昭30.
- 18) Cartwright, G. E. : *Copper metabolism*, 274~314, Baltimore, The Johns Hopkins Press, 1950.
- 19) Cartwright, E., Johns, J., and Wintrobe, M. : *J. Biol. Chem.*, 160: 593~600, 1945.
- 20) Schaich, W., Stalder, L., und Keiderling, W. : *Beitr. Klin. Tuber.*, 104: 465~514, 1951.
- 21) Kimura, K., and Murakami, Y. : *Microchemie vereinigt mit Microchemica acta*, 36~37: 958~966, 1950.
- 22) 茂在敏司・豊田正輝: 日新医学, 39: 273~279, 昭27.
- 23) Menkin, V. : *Newer concepts of inflammation*, Illinois, Charles C Thomas, 1950. (日本版)
- 24) Holmberg, C.G., and Laurell, C.B. : *Acta Chem. Scand.*, I: 944~950, 1947.
- 25) Griffith, G.C., Butt, M.E., and Walker, J. : *Ann. Intern. Med.*, 41: 501~509, 1954.