

〔原 著〕

## 急性窒息に対するグアニルチオ尿素の影響

東京女子医科大学法医学教室 (主任 吉成京子教授)

教 授	吉	成	京	子
	ヨシ	ナリ	キョウ	コ
講 師	沢	口	彰	子
	サワ	グチ	アキ	コ

(受付 昭和46年 5月13日)

**The Effect of Guanylthiourea on Acute Suffocation****Kyoko YOSHINARI, M.D. and Akiko SAWAGUCHI, M.D.**

Department of Legal Medicine (Director: Prof. Kyoko YOSHINARI)

Tokyo Women's Medical College

Pastushenkov (1966), Aleksandrova, Vinogradov, Barbulev (1968) demonstrated that guanylthiourea alleviated oxygen deficiency, at 25-100 mg/kg in mice, rats, cats and dogs, restored cerebral bioelectric activity in cats after 5 minutes asphyxia and enhanced the resistance of the heart to respiratory hypoxia in dogs.

We have previously studied on rabbit serum proteins, glycoproteins and enzymes in suffocation, and found significant changes in them.

In the present study, the effect of guanylthiourea was studied on the animals which were under acute suffocation.

In the guanylthiourea-treated rabbit serum samples obtained before and after death from acute suffocation, total protein concentration, protein and glycoprotein fractions, glycoprotein and  $\alpha_1$ -acid glycoprotein hexoses and enzyme (GOT, GPT, LDH, ALD) activities were determined.

The technique used was essentially same as that described in the previous reports (4, 7, 8). Obtained results were:

1. The course of suffocation was prolonged.
2. The values of serum total protein were lower than those of the control.
3. Protein fraction patterns were almost same as control.
4. Glycoprotein fraction patterns were equal to or higher than control.
5. Moderate increase in glycoprotein hexoses and  $\alpha_1$ -acid glycoprotein hexoses were noted.
6. The activities of serum enzymes (GOT, GPT, LDH, ALD) decreased below the control.

**I. 緒 言**

最近, ソ連で研究されているグアニルチオ尿素

は, 生物の酸素不足による窒息死を予防する低毒性のグアニジン系化合物である. これを投与した

動物実験では、死亡までの時間の延長、生存率と仮死蘇生率の増加、脳電気活性の上昇<sup>1)</sup>、体温の低下<sup>2)</sup>、酸素不足呼吸における心抵抗力の増大<sup>3)</sup>などが認められている。

著者らはすでに、窒息時における生理学的変動、血液化学的成分の変動の研究を行ない、その有意なる変動を認め報告した<sup>4)5)6)7)8)</sup>。

今回は、グアニルチオ尿素を注射したウサギについて、気管圧閉による急性窒息実験を行ない、症状、経過時間、回復および血液化学的成分の変動（血清総タンパク濃度、血清タンパクと糖タンパク分画、血清タンパクヘキソースと  $\alpha_1$  酸性糖タンパクヘキソース、GOT、GPT、LDH、ALDなどの酵素）について観察し、急性窒息に対するグアニルチオ尿素の影響を検索した。

## II. 実験方法

実験動物として、体重 2.5kg前後の無麻酔の白色成熟雄ウサギを使用した。

### 1. 症状、経過時間、回復

グアニルチオ尿素の50mg/kgと 100mg/kg濃度の皮下注射を観察し、いずれも注射後50分でコッヘル氏鉗子で気管を圧閉して急性窒息を起こさせ、窒息時の症状と各期の長さを比較した。回復実験は窒息死亡直後のもの、および終末呼吸の途中で圧閉をやめ、人工呼吸を行ない回復するや否やを観察した。

### 2. 血液化学的成分

グアニルチオ尿素 100mg/kg注射後50分で頸静脈より窒息処置前の採血を行ない、直ちに急性窒息を起こさせ、窒息死後の採血を行なった。採血直後に遠心分離した窒息前、窒息後の血清について、次の化学的成分の変動を測定した。

#### 1) 血清総タンパク濃度 (Total Protein)

血清タンパク屈折計により測定。

#### 2) 血清タンパク (Serum Protein) と血清糖タンパク (Serum Glycoprotein) 分画

セルロース・アセテート膜電気泳動法<sup>9)</sup>。

0.05M Barbitol buffer, pH 8.6.

Dye; Ponceau Red, Schiff reagent.

#### 3) 血清糖タンパクヘキソース (Serum Glycoprotein Hexoses)

Lustig-Langer 法の Weimer-Moshin 変法<sup>4)</sup>。

#### 4) $\alpha_1$ 酸性糖タンパクヘキソース ( $\alpha_1$ -Acid glycoprotein Hexoses)

Winzler 法の Weimer-Moshin 変法<sup>4)</sup>。

#### 5) S-GOT (Serum Glutamic-Oxalacetic Transaminase) と S-GPT (Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase)

Reitman-Frankel 法<sup>7)</sup>。

#### 6) S-LDH (Serum Lactic Dehydrogenase)

Wilkinson らによる紫外部測定法<sup>10)</sup>。

#### 7) S-ALD (Serum Aldolase)

Beisenherz らによる紫外部測定法<sup>11)</sup>。

コントロールとして、グアニルチオ尿素の注射を行わないウサギを使用し、窒息前の正常時血清と急性窒息死後の血清について、同様な測定を行なった。

## III. 実験結果

### 1. 症状、経過時間

対照例および注射例のそれぞれの全経過時間を平均値 (N=5) で比較した。対照例を 100としたとき、対照例に比べ50mg/kg注射例では7.74%、100mg/kg注射例では8.69%延長した。50mg/kg注射例と 100mg/kg注射例を比較すると、100mg/kg注射例の方が僅かに窒息経過が長い。

窒息各期について比較すると、注射例は対照例に比べ痙攣期と終末前呼吸停止期が延長した。なお 100mg/kg注射例では苦闘期も延長した。すなわち、グアニルチオ尿素注射例では苦闘期、痙攣期、終末前呼吸停止期など窒息の中間期が延長した。

### 2. 回復実験

回復実験は対照例、50mg/kg注射例、100mg/kg注射例について終末呼吸終了後30秒目、20秒目、15秒目、10秒目、終末呼吸終了時、終末呼吸4回目にそれぞれコッヘル氏鉗子を取り去り窒息を中止し、直ちに人工呼吸を行ない、呼吸運動が回復するか否かを観察した。

終末呼吸4回目、終了時、終末呼吸終了後10秒目までは対照例も注射例も回復した。終末呼吸終了後15秒目以後は注射例でも回復しなかつた。

このように回復については窒息時の症状を目安とした場合、対照例と注射例とで差がみられなかつた。

### 3. 血液化学的成分の変動

#### 1) 血清総タンパク濃度 (図1. 表1.)



**Table 3.** Effect of Guanylthiourea on Rabbit serum GOT, GPT, LDH and ALD in Acute Suffocation

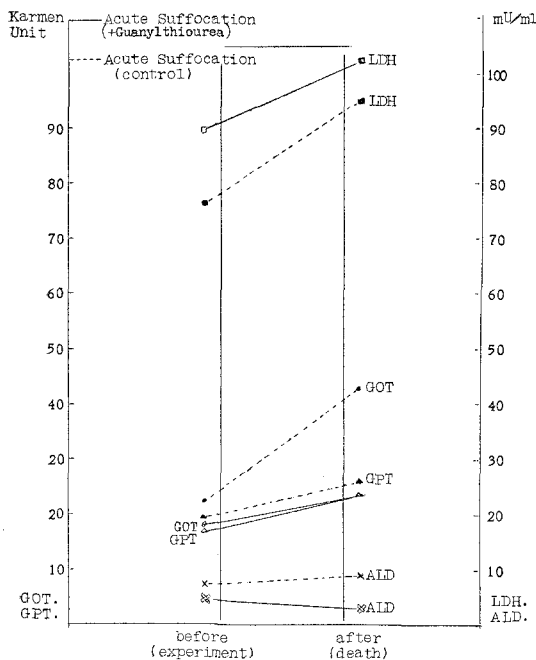
means (N=7) * P<0.05 ** P<0.01	GOT (Karmen Unit)			GPT (Karmen Unit)			LDH (mu/ml)			ALD (mu/ml)		
	b	a	d	b	a	d	b	a	d	b	a	d
control	22	42	+20**	19	26	+ 7*	76.4	95.5	+19.1	8.0	8.7	+ 0.7
+ Guanylthiourea	18	24	+ 6*	17	19	+ 2*	90.1	103.1	+13.0	5.2	3.7	- 1.5**

b: before (experiment)      a: after (death)      d: difference (a-b)

対照例パターンに平行に変動し、血清糖タンパクヘキソースパターンと同じ変動を示した。窒息後における有意の変化は認められなかつた。

#### 6) 血清酵素系 (GOT, GPT, LDH, ALD)

血清酵素系はおよそ対照例パターンに平行に変動し、いずれも窒息後の増加の割合は対照例より低いパターンを示した (図 2.)

**Fig. 2.** Variations in GOT, GPT, LDH and ALD

GOT (表 3) : 対照例と同じく窒息後有意の増加を示したが、増加の割合は対照例とくらべ約  $\frac{1}{3}$  であつた。窒息前、後の値も 22 単位に対して 18 単位、42 単位に対して 24 単位と、いずれも対照例

より低い値を示した。

GPT (表 3) : GOT の変動と同様なパターンを示し、窒息後有意の増加を認めたが、増加の割合は対照例の約  $\frac{1}{3}$  で、窒息前、後の値も 19 単位に対して 17 単位、26 単位に対して 19 単位といずれも対照例より低い値を示した。

LDH (表 3) : 対照例とくらべ窒息前、後の値は高い値を示したが、増加の割合は対照例より低い値を示した。但し、有意の変化は認められなかつた。

ALD (表 3) : 窒息後有意の減少を示し、対照例との差が著明であつた。

#### IV. 考 案

一般に急性窒息の経過は窒息開始後、無症状の前駆期、深い吸気運動を行なう呼吸困難期、もがくような運動をする苦闘期から痙攣期にはいる。始めは間歇的に起こる痙攣であるが (交替性痙攣)、途中から連続して起こる痙攣となり、後弓反張を伴う (強縮性痙攣)。

努力した深吸気運動は痙攣期中も起こるが、痙攣の方が著明に目立つので痙攣期という。次いで強縮性痙攣は突然止み、同時に呼吸運動も停止する。この時期を終末呼吸停止期という。次に終末呼吸が起こる。これは、始めは深い吸気運動であるが、回数と共に段々浅く小さくなり、多くは 7 ~ 8 回で終了する。

本実験例では、窒息全経過時間の延長と、窒息各期のうち苦闘期、痙攣期、終末前呼吸停止期などの窒息の中間期が延長したことは興味ある所見である。回復については、窒息時の症状を目安とした場合、対照例と注射例とで差がみられなかつたが、グアニルチオ注射例は、窒息時の症状の時

間的な経過が長くなるので、症状を目安とせず窒息開始後3分とか4分とか窒息開始後の時間を目安として行なえば、注射例の方が回復例が多いことと思われる。

Pastushenkov<sup>1)</sup> は青酸カリによる体組織酸素不足状態のマウスに、グアニルチオ尿素を注射すると、致死時間の延長が起こること、高空の酸素不足環境におかれた動物の窒息死予防効果のうち、仮死後の回復時間においても、グアニルチオ尿素がすぐれた蘇生効果を示すことなどを報告している。

急性窒息時の血液の化学的成分に関して、著者らはすでに、血清タンパク、血清糖タンパク、結合糖質群の研究<sup>4)</sup>、この研究に関する免疫学的追究<sup>5)12)</sup>、酵素系の研究<sup>7)</sup>、糖質とインスリン動態に関する研究<sup>6)13)</sup>、などの成果を発表した。とくに、窒息時における血清タンパクの変動は、一般の臨床疾患にみられる変動と異なり、アルブミンの増加が特徴的であり、急性条件下に反応しやすい特性を持つ血清糖タンパクの $\alpha_2$ グロブリン分画糖量と $\alpha_1$ 酸性糖タンパクも著明に増加をきたす。

窒息時におけるこれらの特徴的なパターンがグアニルチオ尿素の作用により抑制されるものと予想したが、この薬剤の影響はあまり認められなかつた。血清総タンパク濃度は対照例との差が認められたが、血清タンパクパターンは対照例とほぼ同一であり、血清糖タンパクパターン、結合糖質群パターンは対照例に等しいか、それより著明であつた。

最近、Morgan<sup>14)</sup> は hypoxia 時のラットとウサギにおける血清トランスフェリン濃度の上昇と、この変動が酸素の供給と欠乏に並行することを報告している。

酵素系は生体の物質代謝をささえ、個々の酵素はこの代謝を直接に制約するので、これら酵素タンパクの窒息時の変動を知ること、窒息の機序を知る上からも非常に重要である。GOT, GPT, LDH, ALDなどの酵素は、心、肝、筋肉、脳などに主として多量に含まれ、生細胞中に

おける重要な役割をはたしている。これらの酵素の血漿中の濃度は、急性窒息あるいは anoxia, hypoxia に鋭敏な変動をきたし、とくに S-GOT は窒息において著明な増加をきたす<sup>7)8)</sup>。S-GOT, S-GPT の増加は慢性窒息においてことに著しく、急性窒息の約5倍相当の増加を示す<sup>8)</sup>。

本実験例の S-GOT, S-GPT パターンは対照例より低いパターンを示し、窒息後の増加の割合は対照例の $1/3$ であつた。とくに、急性心筋硬塞の初期に増加する ALD が本実験例で減少を示したことは興味深い。これらの変動は、グアニルチオ尿素の作用下でおこる神経系の一時的な抑制、心筋の酵素消費量の減少、体温の低下などによる基礎代謝の低下<sup>15)</sup>によるものと考えられる。とくに、この薬剤のこのような作用は、代謝過程に対し抑制的に影響するのではないかと思われる。

グアニルチオ尿素の抗低酸素効果の機構について、Sherbacher<sup>2)</sup> はこの薬剤が酸素消費量の低下と緩和な低体温状態を誘発し、とくに、細胞内の自由酸化(非磷酸化的酸化)を選択的に抑圧する能力をもつことで説明している。

本実験例の血清タンパク、血清糖タンパク、血清結合糖質群においては、グアニルチオ尿素の作用の肯定的な所見はあまり認められなかつたが、酵素系においては、この薬剤の作用の著明な影響が認められた。

## V. 結 語

最近、ソ連で研究されている抗低酸素効果を示すグアニルチオ尿素について、急性窒息時におけるその効果を研究した。

グアニルチオ尿素50～100mg/kg濃度を皮下注射したウサギを用いて、針子で気管圧閉を行ない、急性窒息を起こさしめて、症状、経過時間、回復、および窒息前、窒息後の血液化学的成分の変動(血清総タンパク濃度、血清タンパク、糖タンパク分画、血清タンパクヘキソースと $\alpha_1$ 酸性糖タンパクヘキソース、GOT, GPT, LDH, ALDなどの酵素)について観察し、急性窒息に対するグアニルチオ尿素の影響を検索した。

1) 窒息開始から死亡までの時間は対照例とく

らべ延長した。

2) 窒息各期の持続時間は中間期が延長した。

3) 窒息開始からの時間を目安とすると回復例が多かった。

4) 血清総タンパク濃度は対照例パターンより低いパターンを示した。

5) 血清タンパク分画は対照例パターンとほぼ同一であったが、血清糖タンパク分画は対照例パターンに等しいかあるいはそれ以上の変動を示した。

6) 血清糖タンパクヘキソースと血清  $\alpha_1$  酸性糖タンパクヘキソースは対照例パターンより高いパターンを示し、中等度の増加を示した。

7) 血清酵素系 (GOT, GPT, LDH, ALD) 活性値はLDHを除くいずれも対照例パターンより低いパターンを示した。LDHも窒息後の増加の割合はGOT, GPTと同じく対照例より低く、ALDにおいては減少を示した。これらの酵素系の変動は物質代謝の抑制を示すようなパターンであり、グアニルチオ尿素の影響をあらわしているものと考えられる。

稿を終るに臨み、ご助言ならびにご校閲をいただきま

した本学生化学教室松村義寛教授に深謝いたします。

(本稿の要旨は昭和46年4月4日、第55次日本法医学会総会において発表した。)

#### 文 献

- 1) **Pastushenkov, L.V.:** *Fermakol Toksikol* **29** 725 (1966)
- 2) **Sherbachev, I.P.:** *Fermakol Toksikol* **31** 107 (1968)
- 3) **Aleksandrova, A.E., et al.:** *Fermakol Toksikol* **31** 697 (1968)
- 4) 沢口彰子: *東女医大誌* **36** 438 (1966)
- 5) 沢口彰子・他: *東女医大誌* **38** 105 (1968)
- 6) 吉成京子・他: *東女医大誌* **38** 879 (1968)
- 7) 沢口彰子・吉成京子: *日法医誌* **23** 409 (1969)
- 8) 沢口彰子・吉成京子: *東女医大誌* **40** 627 (1970)
- 9) 沢口彰子: *東女医大誌* **38** 899 (1968)
- 10) **Wilkinson, J.H.:** *An Introduction to Diagnostic Enzymology*, 140, Edward Arnold. L.T. D., London (1962)
- 11) **Beisenherz, G. et al.:** *Z. Naturforsch* **8** 555 (1963)
- 12) 沢口彰子・吉成京子: *東女医大誌* **39** 400 (1969)
- 13) 沢口彰子・吉成京子: *日法医誌* **24** 439 (1970)
- 14) **Morgan, E.H.:** *J Lab Clin Med* **75** 1006 (1970)
- 15) **Generalov, V.I.:** *Fermakol Toksikol* **31** 107 (1968)