

慢性関節リウマチの金療法に関する研究

III 原子吸光分光分析法による検討

高 橋 和 枝

岡山大学温泉研究所 温泉医学部門
(指導：森 永 寛 教授)

I 緒 言

慢性関節リウマチ(以下関・リと略記)の病因は今なお明らかでなく、従ってその根治療法はいまだ確立されていない。関・リはまたいろいろな因子によって、その病状の緩解と再燃増悪を繰返すことが多いので、その経過予後を予め明言することは難しく、関・リの治療による効果を評価することもまた困難ではあるけれども、現在のところ経験的に金塩製剤の注射療法が一応の効果をあげうるものとされ、わが国でも漸く一般医家の注目をひくようになってきた(森永, 1970)。すなわち昭和42年以降の日本リウマチ学会総会講演において、関・リの治療に関する演題の中、金療法に関係のある題目数は逐年増加しつつある(表1-1)。金塩製剤投与の際の体内金代謝については、すでに FREYBERG *et al.* (1942) の詳細な研究があり、わが国でも橋本(1961, 1965)の報告をみるが、原子吸光分光分析法の臨床病理分野への導入によって、体液中の金濃度の測定が比較的容易に行えるようになった(井上, 1968; 富山, 1969; 中根ら, 1970; 山中ら, 1971; 本庄ら, 1971)ので、著者も病体内における金塩代謝の面からその作用機序の一端を窺わんと計画し、同法による体液中の金濃度の測定を試みた。

II 原子吸光分光分析法による金の測定

1. 装置

分光器：日立207型原子吸光分光光度計

ランプ：日立HLA-3型金中空陰極放電管

バーナー：Premix 型

燃 料：アセチレン-空気炎

波 長：2428Å

2. 試薬

水：脱イオン蒸留水

硝 酸：和光特級

塩 酸：和光特級

過酸化水素30%：江戸川化学分析用

酢酸エチル：和光特級

標準血清：国際試薬ラプトロール正常人血清コントロール試薬

ヒアルロニダーゼ：スプラージェ・モチダ，日局注射用ヒアルロニダーゼ製剤 500 単位

王 水：必要に応じ濃塩酸3容と濃硝酸1容とを混じて作製した。

金標準液：塩化金酸(石津試薬特級)を用い金量にして2.0mg/mlの水溶液を作り、貯蔵液とした。試料と同じ処理を行い1µg/ml~5µg/mlとして使用した。

Gold Sodium Thiomalate：小野薬品工業株式会社(キドン)

Gold Thioglucose：国際薬品(ゾルガナール・B)

3. 試料

ウサギの場合：動物商から購入し、標準食で1~2週間飼育した体重2.5kg内外の白色家兎を使用し、採血は

表 1 - 1

年 次	演 題 数	演題総数	関・リ治療に関する演題数 (A)	金治療に関する演題数 (B)	(B/A)
第11回総会 (1962)		94	13	0	0%
12 (1963)		131	32	8	25%
13 (1964)		121	25	6	24%
14 (1965)		108	28	10	36%
15 (1966)		91	11	9	82%

耳静脈から行い採取した血液は室温に放置、後遠沈して分離した血清を用いた。

ヒトの場合：岡山大学医学部附属病院三朝分院内科に入院し、あるいは外来で金塩製剤の投与を受けている関・リ患者の血清、尿、関節液および皮膚落屑を試料とした。関・リ患者は何れもアメリカ・リウマチ協会診断基準による Classical rheumatoid arthritis である。

4. 測定条件の検討

アセチレン流量について：金標準液を用いての実験では、空気圧1.8kg/cm²、流量13.0l/min.と一定に保ち、アセチレン圧は0.5kg/cm²に固定し、流量をいろいろ変化させたとき、流量が大きいくほど noise は大となった。最小流量1.75l/min.～最大流量4.0l/min.の間では吸収に大きな変化はみとめられなかったから、noise 最小でしかも炎の良好な状態は2.0l/min.であった。酢酸エチルによる溶媒抽出液では、流量1.75l/min.～20l/min.

図 2 - 1

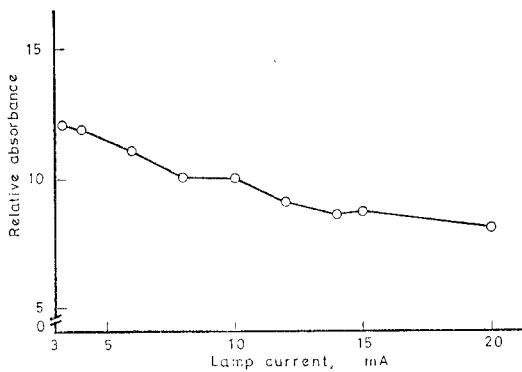
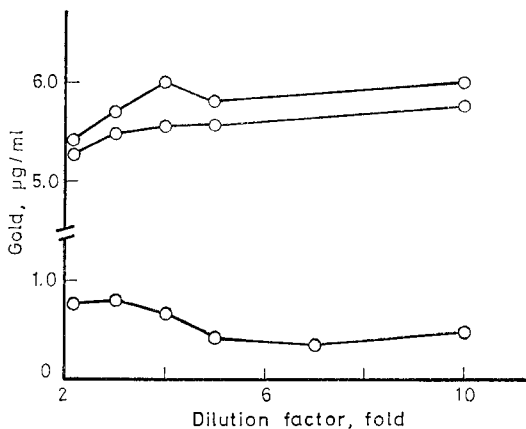


図 2 - 2



では殆んど変化なく炎の状態も良好であるが、流量の増加と共に酢酸エチル自身の吸収も増大し、炎も不燃性化した。すなわち酢酸エチル使用時のアセチレン流量も2.0l/min.で充分であると考えられる(図2-7参照)。

ランプ電流について：ランプを作動させるための電流が小さくなるほど感度はよくなるといわれているが、中空陰極ランプ使用の場合、電流が小さいと noise も吸収も大となるので、ランプ電流は8 mAに固定した(図2-1)。

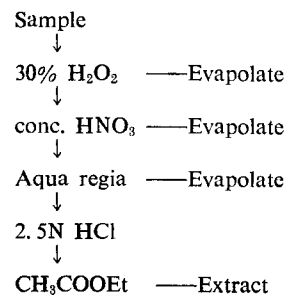
5. 測定試料の前処理の検討

血清について：他の報告(富田, 1969; 上川, 1971)と同様に水による直接稀釈法を試みた。2~10倍に稀釈するときあまり変化を認めなかった(図2-2)。検量線は標準血清を用いて、その都度蛋白濃度を調整し、また金標準液を用い作製した(図2-3)。

関節液について：粘度が高いため血清のように水によって直接稀釈することが困難なので、LORBER *et al.* (1968)と同様ヒアルロニゲーズで処理を施した。すなわち20~50単位/ml, 37°C, 20分間 incubate で Relative absorbance が安定することがわかった(図2-4, 2-5, 2-6)。検量線は予め金を検出しないヒト関節液を用いて同様に処理をし、金標準液を用い作製した(図2-3)。

尿、皮膚について：CHRISTION (1965)の前処理法を参考に、1) 磁製ルツボに試料(尿・皮膚)2.0~4.0mlまたは0.2~1.0gをとり、2) 適当量の30%過酸化水素を加える(固型試料の場合には充分湿潤する程度に30% H₂O₂を加える)。3) 加熱して蒸発乾固する。4) 蒸発残渣に濃硝酸2.0mlを加えよく混和し再び加熱して蒸発乾固する。5) この残渣に王水2.0mlを加えてよく溶かし、静かに加熱して蒸発除去する。王水による処理は2回繰返す。6) 蒸発残渣に2.5N塩酸溶液4.0mlを加えてよく溶かしコレステロール管に移し、7) 酢酸エチル2.0mlを加えて抽出し、8) 抽出液を原子吸光分光分析のための試料とした(表2-1)。試料中の金を原子吸光分光分析法で測

表 2 - 1 抽出時の前処理法



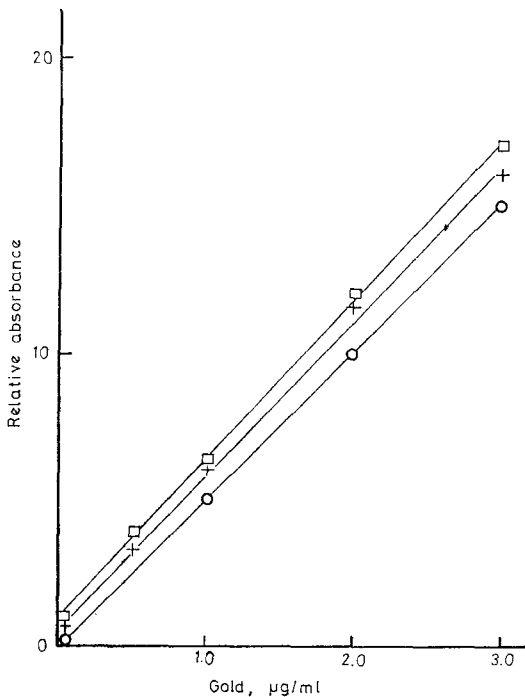
定するために STRELOW *et al.* (1966) は Cyanide waste 溶液からの金の抽出については、塩酸溶液と有機溶媒における A_{413}^{3+} の分布係数、および炎の中での増強感度からメチルイソブチルケトンが望ましいと述べているが、抽出溶媒について検討したところ、酢酸エチルもよい結果を示した(表2-2)。水に対する溶解度はかなり高いけれども炎の状態が良いので使用した(図2-7)。塩酸濃度については酢酸エチルによる塩酸溶液からの金の抽出は2Nないし4N塩酸溶液で一定であったので、2.5N塩酸を使用した(図2-8)。抽出時間は2分とした(図2-9)。検量線も同様の処理をして作製した(図2-10)。この処理方法に基づいて、同一試料を10回繰返し測定を行なった場合の再現性は、標準変差0.042、変動係数4.2%であった(表2-3)。

回収率については試料10例について、血清・関節液の場合は、更に1.0 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ の金標準液を加えた結果、血清については99.9%、関節液については102.5%であった。尿の場合は、更に0.5 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 金標準液を加えた結果、93.6%であった(表2-4)。

III 金塩注射と体内金濃度の推移

1. ウサギの場合

図 2-3



体重 2.5kg 内外の白色家兎の臀筋内に Gold Sodium Thiomalate 1 mg を注射して、経時的に血清中の金濃度を測定した。注射後 1~2 時間目に最高値を示し、8 例の平均値は投与後 30分 : 307 ± 70 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 、1 時間 :

表 2-2

Organic Solvents	Reading	Enhancement Factor
2.5N HCl	7.0	1.00
Diisobutyl Ketone	1.7	0.24
Ethyl ether	8.0	1.01
Methylisobutylketone	18.0	2.57
n-Butyl alcohol	1.8	0.26
Ethyl acetate	24.0	3.43
Isobutyl alcohol	2.0	0.29

図 2-4

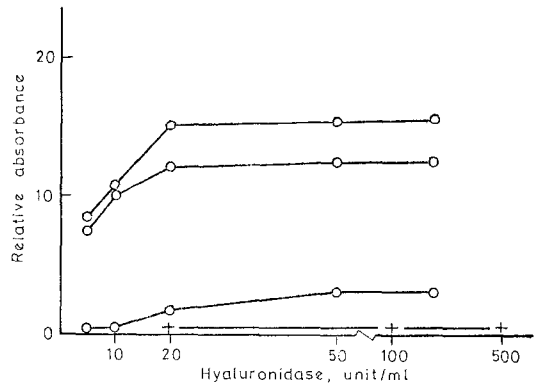


図 2-5

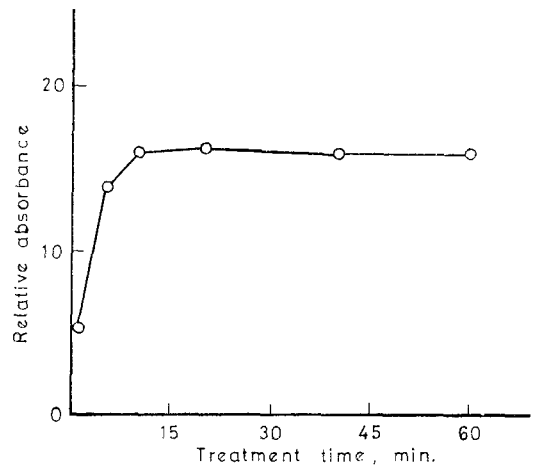


表2-3 尿についての再現性

No.	$\mu\text{g/ml}$
1	0.95
2	0.93
3	0.94
4	0.96
5	0.98
6	0.96
7	0.94
8	1.00
9	1.04
10	1.06
Av.	0.97 ₆
S. D.	0.04 ₂₂
C. V. (%)	4.205

図 2 - 6

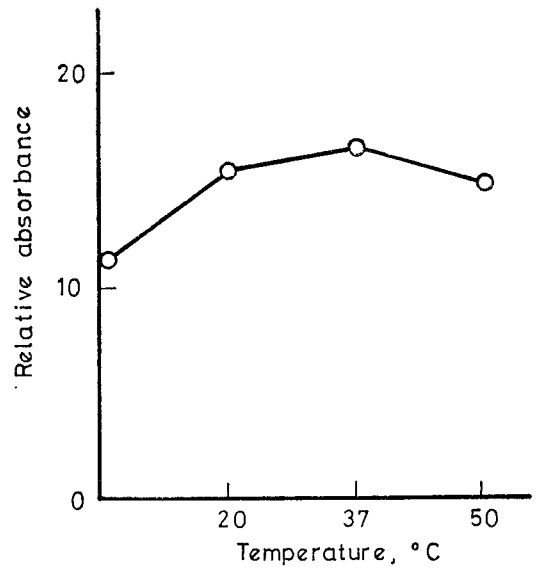
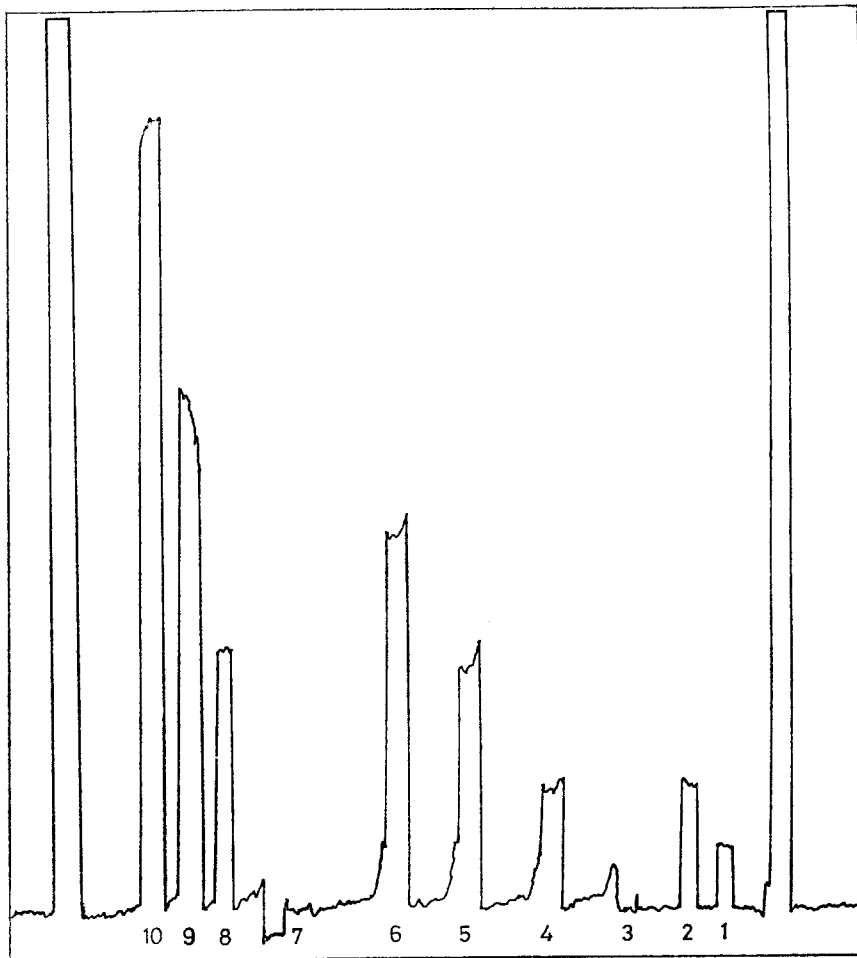


図 2 - 7



367±65 μ g/100ml, 2時間: 349±61 μ g/100ml, 4時間: 318±122 μ g/100ml, 6時間: 268±66 μ g/100ml で24時間後には191±31 μ g/100ml となった。24時間値は最高値(1~2時間値)の41.6~58.9%, 平均値では52.1%に相当した。2週間内外を経ると血清金濃度は測定誤差の範囲内に減少した(表3-1, 図3-1)。Gold Sodium Thiomalate 2.5mgの筋肉内注射では2例の平均値は投与後1時間: 645 μ g/100ml で, 24時間値は343 μ g/100ml となり, 1mg投与の場合と同様, 最高値40分値: 647 μ g/100ml の52.8%に相当した。なお注射した金塩の量は前者の2.5倍であるが, 血清金濃度は1.8倍にとどまった。1週間以後の値は測定誤差の範囲内に減少した(表3-2, 図3-1)。上記の注射量は50kgの人に換算すると1mgは20mgに, 2.5mgは50mgの金塩量に相当すると考えられ

る。

2. 関節リウマチ患者の場合

関・リ患者に Gold Sodium Thiomalate を筋肉内に注射し経時的に血清中の金濃度を測定してみると, 動物実験のときと同様1~2時間で最高値に達し, 初回注射

図 2-8

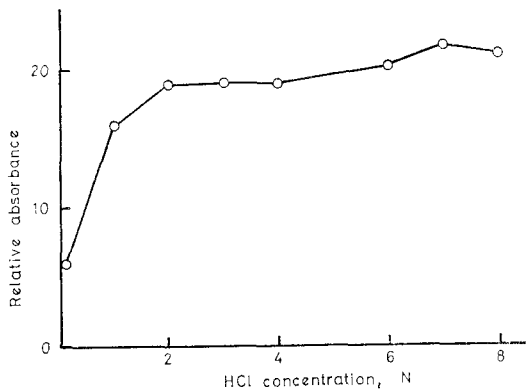


図 2-9

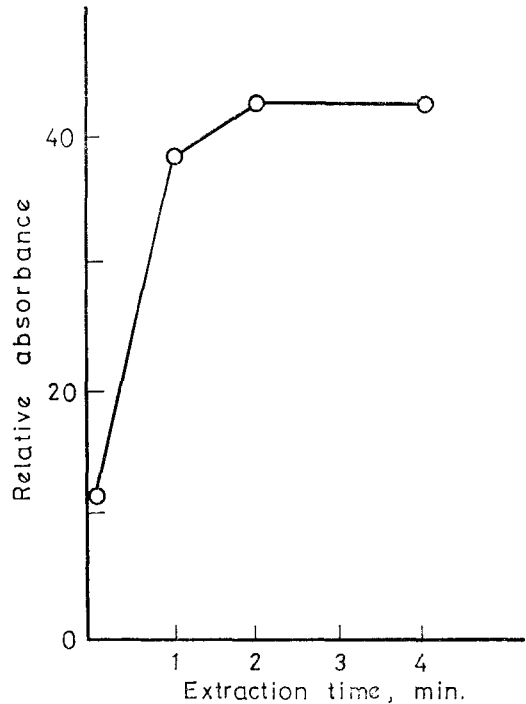
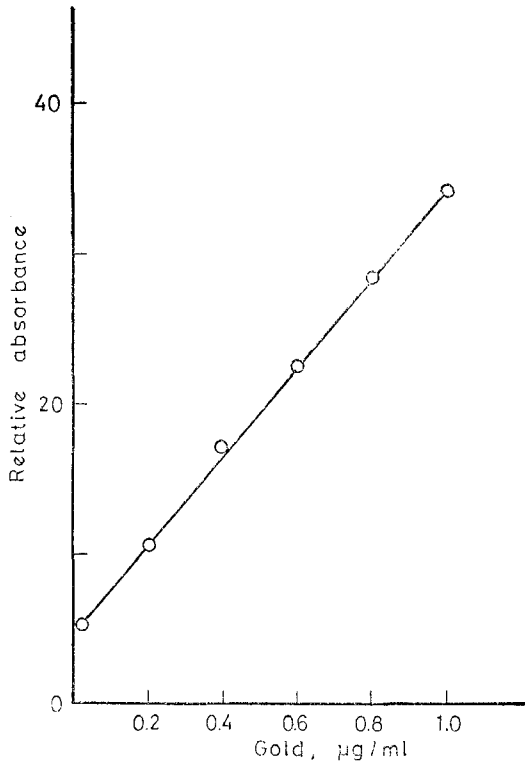


表 2-4 回収率

	Serum μ g/ml	Gold μ g/ml		Recovery %	S. F. μ g/ml	Gold μ g/ml		Recovery %	Urine μ g/ml	Gold μ g/ml		Recovery %
		Added	Found			Added	Found			Added	Found	
1	1.48	1.0	2.52	104	0.31	1.0	1.30	99	0.53	0.5	1.00	94
2	3.10	1.0	4.10	100	0.44	1.0	1.42	98	0.60	0.5	1.09	98
3	0.84	1.0	1.84	100	0.20	1.0	1.23	103	0.35	0.5	0.86	102
4	3.58	1.0	4.62	104	0.32	1.0	1.36	104	0.57	0.5	1.05	96
5	1.59	1.0	2.60	101	0.40	1.0	1.40	100	0.25	0.5	0.70	90
6	1.25	1.0	2.20	95	0.43	1.0	1.41	98	0.17	0.5	0.68	102
7	0.20	1.0	1.18	98	0.20	1.0	1.22	102	0.26	0.5	0.68	84
8	0.68	1.0	1.67	99	0.17	1.0	1.24	107	0.46	0.5	0.92	92
9	2.95	1.0	3.90	95	2.08	1.0	3.16	108	0.21	0.5	0.66	90
10	1.94	1.0	2.94	103	0.82	1.0	1.88	106	0.02	0.5	0.46	88
Mean				99.9				102.5				93.6

図 2-10



のものでは8~24時間ではほぼ半減したが、継続注射中の例では24時間にわたって最高値の67~98%、平均81%の値を持続することがわかった(図3-2)。すなわち今迄に注射せられた金塩の体内への蓄積の影響が考えられた。次に注射後24時間内に尿中に排泄される金の量は、5例の平均では注射量の9.6%に相当した(表3-3-1, 図3-3)。

Gold Thioglucose を筋肉内に注射した場合の血清中の金濃度の経時的推移は同じ金塩量を含むGold Sodium Thiomalate の場合よりやや低いのが常であった(図3-4)。また24時間内に尿中に排泄される金の量は、5例の平均では注射量の6.8%で、Gold Sodium Thiomalate 注射のときより少い傾向が窺われた(表3-3-2, 図3-3)が、後者が水溶液であって前者が懸濁液であるという製剤の差によるものと思われる。

関・リ患者で金療法中のもので、膝関節液を排除した症例について、関節液中の金濃度を測定し、同時に採取した血清中の金濃度と比較してみた。24症例中関節液金濃度が血清濃度より大であったのは4例で、他は何れも血清金濃度のほうが高く、平均値でみると血清金濃度: 262±62µg/100ml, 関節液金濃度: 198±55µg/100ml で両者の比は100:76となった(表3-4, 図3-5)。

著者の属する施設では現在までの臨床経験(森永, 19

表 3-1 Gold Sodium Thiomalate 1.0mg 筋注による血清金濃度の推移時間

	前	後10	20	30分	1	2	4	6	24時	4	6	8	12	17日
1	0			360	375	342	309	264	171µg/100ml					
2	0			336	378	396	318	225	213					
3	0			196	417	390	348	324	210					
4	0			456	531	474	504	438	252					
5	0			225	255	252	210	210	150					
6	0	105	180	181	295	286	235	210	160			14		
7	0			300	300	276		212	214	54			30	
8	0			375	385	375	300	257	160	60	60			20
平均	0	105	180	307±70	367±65	349±61	318±122	268±66	191±31	57	60	14	30	20
95%信頼限界				237~377	306~432	287~410	196~440	201~334	160~222					

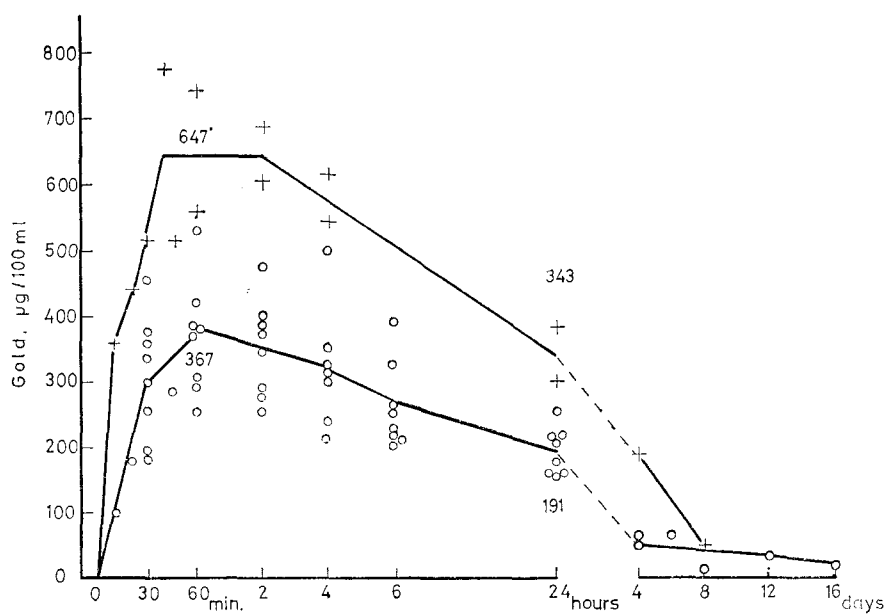
表 3-2 Gold Sodium Thiomalate 2.5mg 筋注による血清金濃度の推移

	前	後10	20	30	40	60分	2	4	24時	4	8日
9	0	365	440	515	517	546	605	543	300		55µg/100ml
10	0				776	744	690	612	385	190	
平均	0	365	440	515	647	645	647	578	343	190	55

表3—3—1 Gold Sodium Thiomalate 筋注射当日の尿中金排泄量

症 例	測定時前 投与金量	測定時 注射金量		採 尿 時 間						総 計	
				0—1	1—2	2—4	4—6	6—12	12—24	0—4	0—24
1. 山根	100mg	10mg	排泄量	77.3	56.1	120.6	98.6	110.0	60.9	254.0	523.5
			μg/時	77.3	56.1	60.3	49.3	18.3	5.1		
			%/時	1.54	1.12	1.21	0.99	0.37	0.10 ²	5.08	10.48
2. 日笠	10mg	10mg	排泄量	3.9	20.1	39.9	44.2	69.0	0	63.9	177.1
			μg/時	3.9	20.1	20.0	22.1	11.5	0		
			%/時	0.08	0.40	0.40	0.44	0.23		1.28	3.54
3. 岡部	240mg	25mg	排泄量	48.6	57.9	127.1	102.9	300.0	700.0	233.6	1336.5
			μg/時	48.6	57.9	63.6	51.5	50.0	58.3		
			%/時	0.39	0.46	0.51	0.41	0.40	0.47	1.87	10.75
4. 豆井	335mg	25mg	排泄量	90.7	92.2	130.8	242.5	415.5	644.0	313.7	1615.7
			μg/時	90.7	92.2	65.4	121.3	69.3	53.6		
			%/時	0.73	0.74	0.52	0.97	0.41	0.43	2.51	12.07
5. 山下	365mg	25mg	排泄量	133.2	92.6	212.3	124.6	346.0	476.0	438.1	1384.7
			μg/時	133.2	92.6	106.2	62.3	57.7	39.7		
			%/時	1.07	0.74	0.85	0.50	0.48	0.32	3.51	11.23
平均			%/時	0.76	0.69	0.69(×2)	0.66(×2)	0.38(×6)	0.26(×12)		9.55%
				±0.71	±0.35	±0.41	±0.36	±0.03	±0.25		

図 3 — 1



63) から、関・リ患者に投与する金塩製剤は 10~25mg を症例に応じ、副作用なども考慮して週 1~2 回注射することになっているが、金塩の注射総量 300mg 以上に達

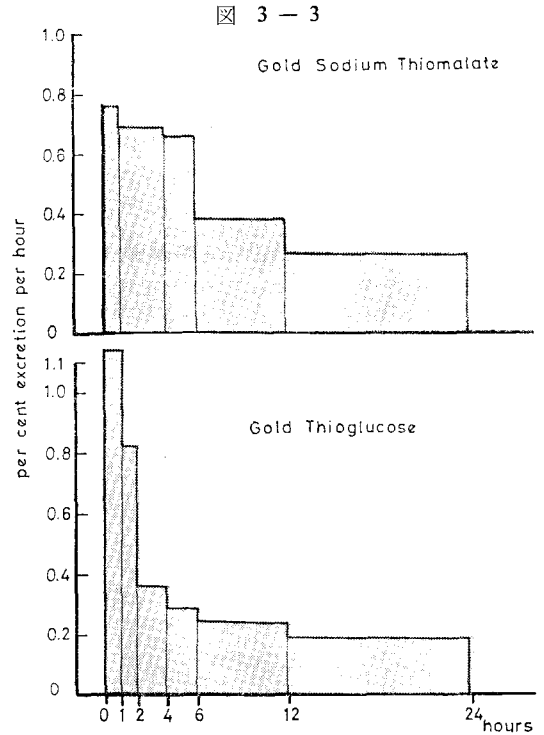
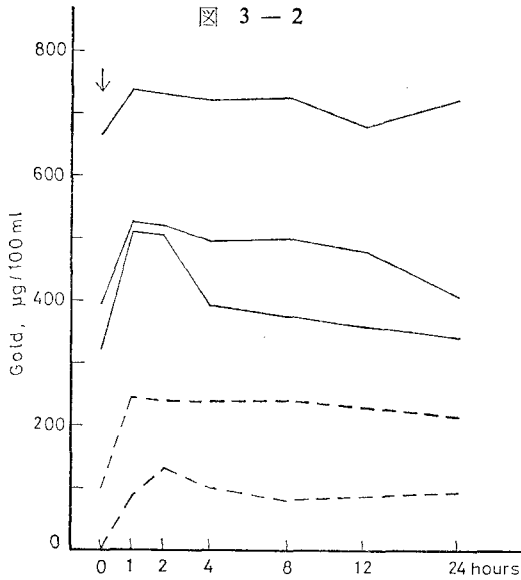


表3-3-2 Sodium Thioglucose 筋注射当日の尿中金排泄量

症 例	測定時前 投与金量	測定時 注射金量	排泄量 µg/時 %/時	採 尿 時 間						総 計	
				0-1	1-2	2-4	4-6	6-12	12-24	0-6	0-24
1. 山本	1,010mg	10mg	排泄量	110.7	64.9	94.8	46.3	178.6	336.7	316.7	832.0
			µg/時	110.7	64.9	47.4	23.2	29.8	28.1		
			%/時	2.21	1.30	0.95	0.46	0.60	0.56	6.35	16.67
2. 杉田	500mg	25mg	排泄量	99.9	98.4	42.5	75.7	220.0	512.0	316.5	1,048.5
			µg/時	99.9	98.4	21.3	37.8	36.6	44.7		
			%/時	0.80	0.79	0.17	0.30	0.29	0.36	2.53	8.59
3. 西尾	10mg	25mg	排泄量	44.2	69.1	11.2	60.2	165.0	0	184.7	349.7
			µg/時	44.2	69.1	5.6	30.1	27.5			
			%/時	0.35	0.55	0.05	0.24	0.22		1.48	4.12
4. 美甘	500mg	25mg	排泄量	197.5	114.4	76.5	40.8	45.0	0	429.2	474.2
			µg/時	197.5	114.4	38.3	20.4	7.5			
			%/時	1.58	0.92	0.31	0.16	0.06		3.44	3.80
5. 高松	10mg	10mg	排泄量	36.9	27.0	29.0	22.8	0	0	92.9	115.7
			µg/時	36.9	27.0	14.5	11.4				
			%/時	0.74	0.54	0.29	0.23			2.32	2.32
平均			%/時	1.14	0.82	0.35(×2)	0.28(×2)	0.23(×6)	0.18(×12)	6.76%	
			±1.02	±0.50	±0.43	±0.05	±0.29	±0.32			

図 3-4

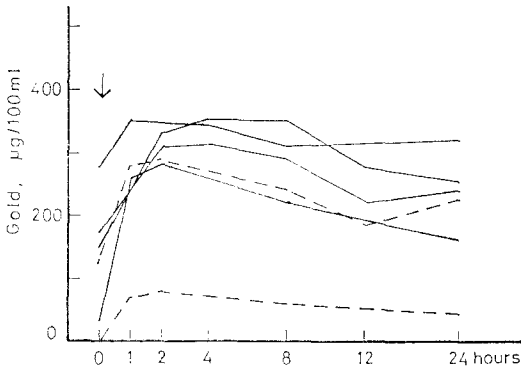


表 3-4

症例番号	関節液	血清
1	100	60 µg/100ml
2	12	24
3	80	86
4	54	66
5	187	190
6	132	200
7	100	180
8	320	294
9	40	250
10	220	264
11	152	172
12	190	172
13	112	230
14	70	116
15	95	182
16	204	392
17	220	392
18	270	336
19	400	400
20	444	516
21	380	432
22	466	480
23	260	368
24	236	486
平均	198 ±55 143~153	262 ±62 200~324

した症例について 10mg を週 2 回注射し、注射後 3-4 日目の血清中の金濃度を測定すると $212 \pm 32 \mu\text{g}/100\text{ml}$ (43例の平均) となった。また金塩 25mg を 1 週 2 回注射した場合の注射後 3-4 日目の血清金濃度は 55 例の平均では $353 \pm 29 \mu\text{g}/100\text{ml}$ であった。すなわち投与した金塩の量は、2.5 倍であっても血清中の金の濃度は 1.7 倍にとどまったのであって、先に述べたウサギの実験の場合と同様であった。従って有効血中金濃度が確立されるならば、注射する金塩量は適宜減らすのが副作用を防止する意味あいからも望ましいであろう (図 3-4)。

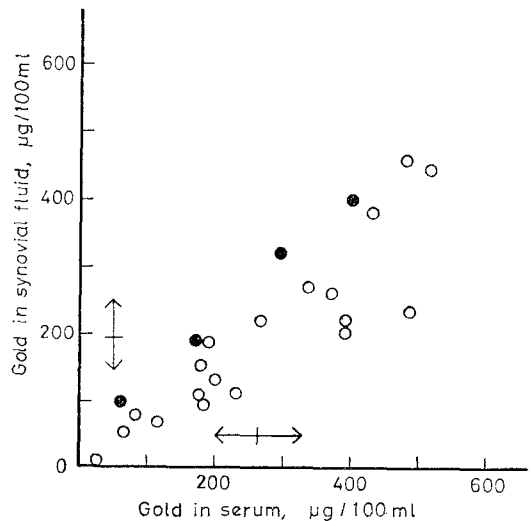
3. 副作用と血清金濃度

金療法施行中に見られた痒疹や軽い皮膚炎など血清中の金濃度とは必ずしも相関するとはいえなかったが、全身性の剝脱性皮膚炎や血小板減少性紫斑病の場合、血清金濃度で $500 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 以上の際に認められるようであった (図 3-6)。

症例 1 剝脱性皮膚炎： 44才，主婦，病年：2年半，
Stage II, Class 4.

金塩注射開始後 35 日目、金塩投与総量 220mg の頃から前胸部皮膚にむずむずする感じを覚えたので直ちに投与を中止したが、次いで頸部、側腹部に紅斑と痒感を発生、数日にして顔面から全身に拡がり、同時に 39.4°C の発熱を伴い、白血球数：13,900：桿状：15%，分葉：76%，好酸球：5%，リンパ球：1%，単球：3% であった。10 日後には白血球数：22,050：桿状：6%，分葉：52%，好酸球：29%，リンパ球：10%，単球：3% となり、1 ヶ月後には全身の皮膚は剝脱し、2 ヶ月後には白血球数

図 3-5



: 10,750 : 桿状 : 13%, 分葉 : 60%, 好酸球 : 4%, リンパ球 : 23% とほぼ旧値に復してきた。この症例の血清中金濃度と尿中への金排泄量を (図 3-7) に示した。なお剝脱した皮膚落屑試料中の金含有量は 1 μ g/g であった。

症例 2 血小板減少症 : 59才, 主婦, 病年 : 9年, Stage IV, Class 3~2.

EA錠9錠/日とともに金療法を開始し, Gold Sodium Thiomalate 投与総量245mgのあと, 下肢に著明な皮下溢血斑をみとめ, 血小板数は 56,000 に減少していた。出血時間は7分, 凝固時間は開始 : 6分45秒, 終了 : 16分であった。プレドニゾン5mg/日, アドナ100mg/日の投与で1週間後には皮下溢血斑は消失した。この症例の血中金濃度と尿中金排泄量を (図 3-8) に示した。

図 3 - 6

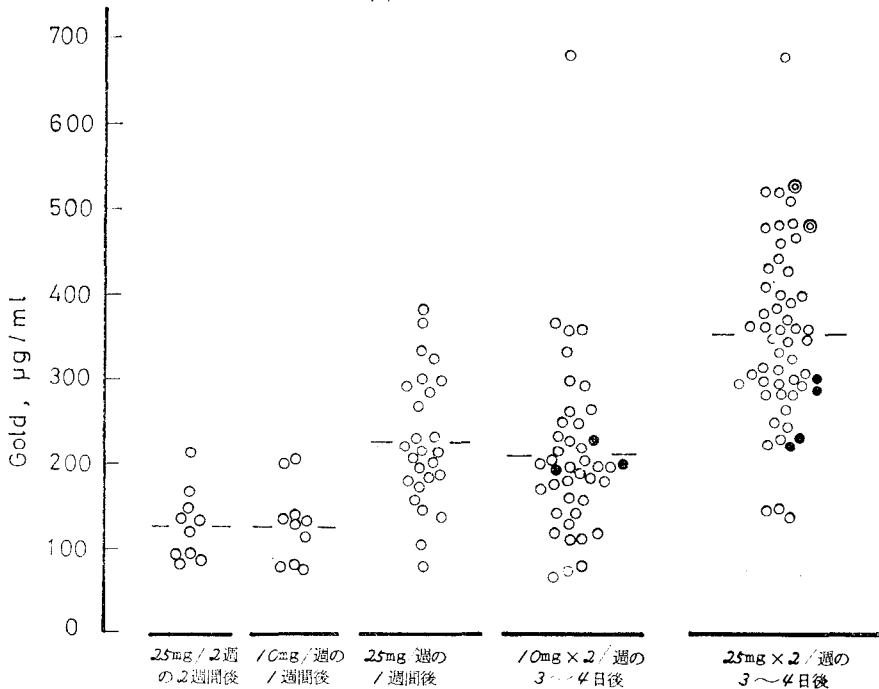


図 3 - 7

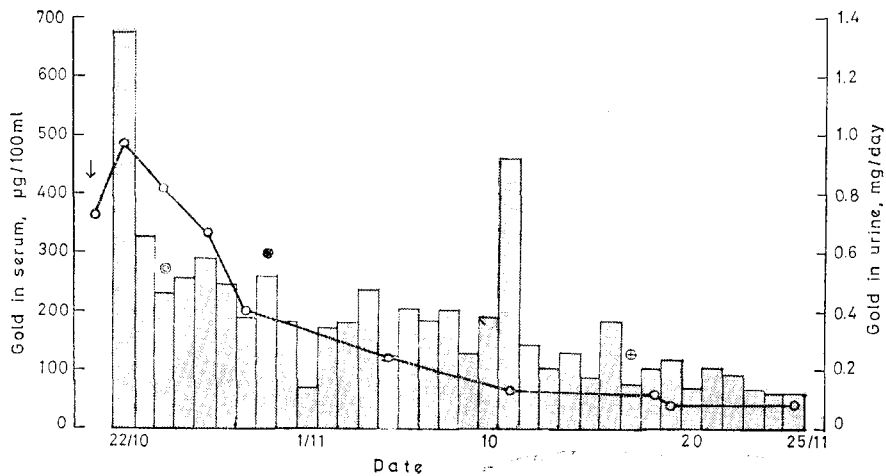
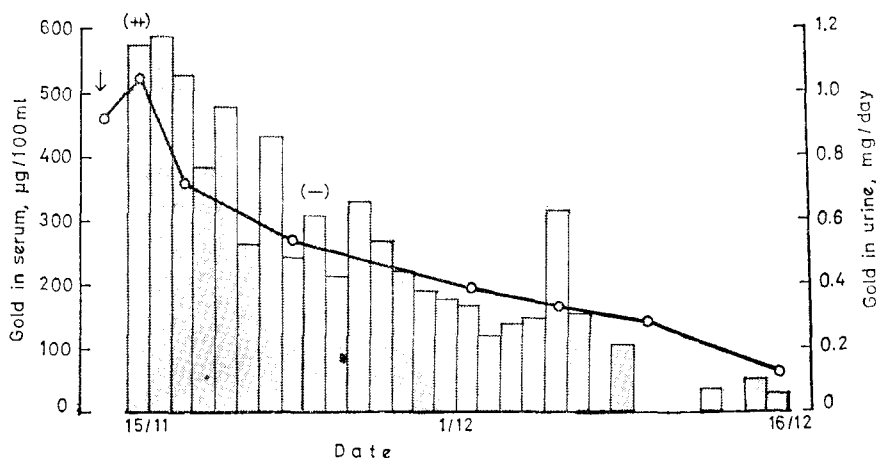


図 3 - 8



IV 総括と考按

富田(1969)も述べているように体液中の金の測定は比色法, activationanalysis, ポーラログラフ法などについて試みられてきたが, 操作の煩雑さ, 装置に要する経費, 干渉物質, 回収率その他の点からより簡易な分析法の出現が望まれていた。著者も嘗て橋本(1961)にならない Sandell 法によって血清, 尿中の金濃度の測定を試みたが, その成績は必ずしも routine work としての臨床応用には適しないものであったという経験を持っている(未発表)

緒言にも述べたごとく, 関節リウマチの金療法は経験的にはじめられたものであり, その治療効果を評価するためには当然投与せられた金塩製剤の体内における動態を検索することが必須と考えられ, FREYBERG *et al.* (1942), FREYBERG (1966), 橋本(1961)らによって煩雑な測定法を駆使しての生体内の金の代謝の概要が明らかにされたのであるが, 原子吸光分析法による体液中の重金属の定量法が開発せられるに至り, LORBER *et al.* (1968), わが国でも富田(1969), 中根ら(1970), 本庄ら(1971)が何れも本法による血清・尿中の金の定量法を検討し, 測定精度, 簡易性からみて日常の臨床検査に適することを認め, それぞれの測定条件を報告している。

著者は血清については水により2~10倍に稀釈し, 関節液についてはヒアルロニダーゼ処理を施した。また尿, 皮膚については過酸化水素, 硝酸で有機物を処理し, 遊離した金を含む試料に王水を加えてテトラクロロ金酸とし, 2.5N塩酸にとかした溶液から酢酸エチルをもって金を

抽出し, 原子吸光分析法用の試料とした。CHRISTIAN (1965)はポーラログラフィーで金を測定する場合の処理として, 試料を水酸化カリウムでアルカリ性にした後, 過酸化水素・濃硝酸で処理し, 乾式灰化し, 王水を加え, 塩酸にとかし, ジエチルエーテルをもって金を抽出しているが, 原子吸光分析法で試料を処理する場合, 乾式灰化を行ったものを行わないものについて検討したが差異を認めなかったためこの操作を省略した。

すなわち原子吸光分析法によれば試料としての血清, 関節液は0.2ml, 尿は2.0mlと少量ですみ, 回収率も, 血清:99.9%, 関節液:102.5%, 尿:93.6%とよく, 40µg/100ml以上の金の測定が可能であって, しかもその操作も比較的簡易であることを確め得たのである。

次に投与された金塩製剤の生体内における動態についてはFREYBERG *et al.* (1942)をはじめ, 橋本(1961), LORBER (1966)などの詳細な報告があり, 富田(1969), 山田ら(1970), 山中ら(1971), 上川(1971)等は原子吸光分析法による血清・尿中の金濃度を測定し, その臨床的意義についても言及している。著者の実験成績でも金塩製剤を投与した場合, 血清金濃度は初回注射の時は1~2時間で最高に達し, 24時間値は最高血清濃度の52%に相当したが, 継続投与中の場合には24時間にわたって最高値の80%以上の血清金濃度が維持され, 金塩の体内への蓄積による影響が考えられた。著者の属する施設においては日常の臨床経験(森永, 1963)から金塩の10~25mgを症例に応じて副作用なども考慮しながら週1~2回注射するのを原則としているが, 金塩製剤の投与総量が300mg以上に達した症例では維持量として10mg

を週2回注射した場合、注射後3-4日目すなわち次の注射を行う前に採血して調べた血清金濃度は $212 \pm \mu\text{g}/100\text{ml}$ で25mgを週1回注射した場合、注射後1週間目の血清金濃度は $228 \pm 33 \mu\text{g}/100\text{ml}$ とほぼ同じであった。また25mgを週2回注射し、注射後3-4日目すなわち次の注射を行う前に採血して血清金濃度を調べると $353 \pm 29 \mu\text{g}/100\text{ml}$ となり、投与した金塩の量は2.5倍でも血清中の金濃度は約1.7倍にとどまっておき、はじめのウサギでの実験と同様であった。もし有効血清金濃度が $200 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 前後のところにあるとするならば、少量を間隔を短くして用いる方が副作用、その他の点から考え安全かつ経済的ではあるまいか。注射せられた金塩製剤は注射当日(24時間内)にその5-7%が尿中に排泄される(LAURENCE, 1961; 橋本, 1961; 上川, 1971)といわれており、著者の実験でも確認することができたが、また副作用の発現は血中金濃度の急上昇と関係するという報告(山田ら, 1970)もあるから、血清金濃度の著しい変動をおこさぬためにも少量頻回注射が望ましいと考えるものである。

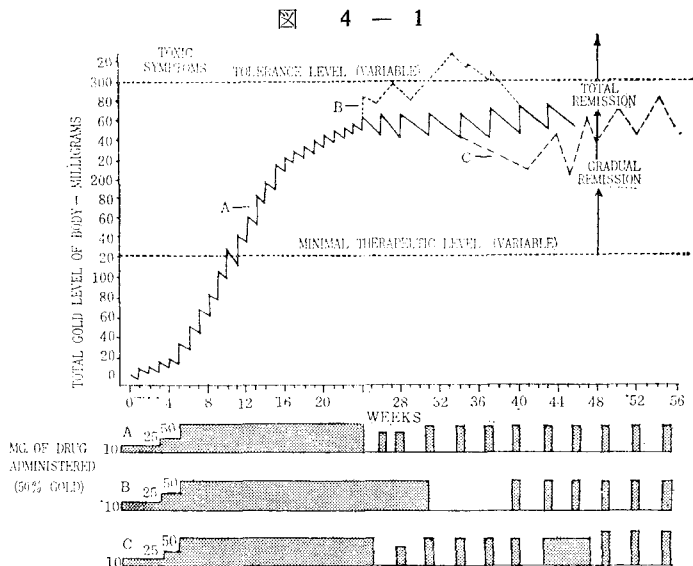
次に金塩製剤が局所細胞内酵素を阻害して炎症を抑え、効果をもたらすものとするならば、当然のことながら血中濃度ではなく関節局所の濃度が問題となるであろう。それをみる一つの方法とし金治療中のヒトで膝関節液を排除する機会があった症例で同時に採取した血清中の金濃度と関節液中の金濃度を比較すると、両者の比は100:76で大体血清金濃度の70-80%と考えられ、滑液中の金

含有量は血清の約50%であるというLORBER(1966)の成績より大であったが、LAURENCE(1961)の報告と同様であった。

金注射にともなう副作用は尿中への金の排泄率の少ない症例にでやすいといわれ(FREYBERG, 1966; 上川, 1971)、注射後3時間の排泄率と副作用との相関が強いともいう(橋本, 1961)。血中濃度と副作用の間には直接的な相関はみとめられなかったが、重篤な副作用は血清金濃度が $500 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 以上の症例に多いように思われた。SMITH(1956, 1963)は副作用の発現は金に対するTolerance levelを越えた場合に認められるとして図4-1のような模式図を提出しているが、FREYBERG(1956)は金塩の体内代謝は日々変動しており、血中ないし尿中の金濃度(量)を測定して治療的濃度、ないし中毒的濃度を見出すことは難しいから副作用の発現は体内の金濃度と必ずしも比例するとは限らないと述べている。金治療法に伴う副作用は薬物過敏症によるものと考えるのが妥当のようである(池上ら, 1970)。

V 結 言

原子吸光分光光度計を使用し、血清・関節液・尿および皮膚中の金を測定するにあたって、機器の性能、測定条件、試料の処理法などについて検討し、ついで金塩製剤注射時の体液内金濃度の推移について検索し、次の成績を得た。



Theoretical basis for gold therapy (excretion rate of gold, 1 mg. per day) (R. T. Smith: A. I. R., 6 (1) 60, 1963)

1) 測定条件については、アセチレン流量2.0l/min, ランプ電流 8 mA に設定してほぼ満足すべき結果が得られた。

2) 試料の処理については血清は水による2~10倍稀釈とし、関節液については、ヒアルロニダーゼ50単位/ml, 37°C, 20分間 incubate でよい結果が得られた。尿その他の試料については、 HAuCl_4 としての金を塩酸溶液から酢酸エチルに抽出した。それぞれについての回収率は、血清99.9%, 関節液:102.5%, 尿:93.6%であった。

3) 金塩製剤注射時の体液内金濃度については、ウサギの場合、Gold Sodium Thiomolate 筋注後、1時間で血中金量は $367 \pm 65 \mu\text{g}/100\text{ml}$ と最高となり、24時間で $191 \pm 31 \mu\text{g}/100\text{ml}$ となり最高値の約半量となった。2週間で誤差範囲になった。又注射量は金塩製剤が2.5倍でも血清金濃度は1.8倍にとどまった。

関節リウマチ患者で継続注射中の症例では金塩注射後24時間にわたって最高値の81%以上の血清金濃度を維持した。金塩製剤の投与総量が300mg以上に達した症例について、維持量としての10mg週2回使用と、25mg週1回使用との間に血清金濃度には大差を認めなかった。

4) 尿中へ注射当日(24時間内)に排泄される金量は、Gold Sodium Thiomolate では注射量の9.6%, Gold Thioglucose では注射量の6.5%であった。

5) 関節液金濃度は血清金濃度の76%であった。

6) 金治療中にみられる重篤な副作用は血清金濃度が $500 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 以上の症例に多いようであったが、副作用の発現率は体内金濃度と必ずしも相関しているとは限らぬ成績を得た。

試料の提供について御協力を得た八幡隆昭博士に深謝する。

本報告は日本臨床病理学会中国四国第15回地方会(昭和44年10月25日)、および第14回日本リウマチ学会総会(昭和45年5月8日)の席上発表し、臨床と研究、47巻11号(昭和45年11月)に速報した。

文 献

- CHRISTION, G. D. (1965). Polarographic determination of traces of gold in blood and serum. *Clin. Chem.*, **11**, 459-464.
- FREYBERG, R. H., BLOCK, W. D. and WELLS, G. S. (1942). Gold therapy for rheumatoid arthritis. *Clinics*, **1**, 537-570.
- FREYBERG, R. H. (1956). Discussion. *Ann. Rheum.*
- Dis. Vol, page.*
- FREYBERG, R. H. (1966). Gold therapy for rheumatoid arthritis. In: *Arthritis and Allied Conditions*, edited by J. L. Hollander, 7th ed., Lea and Febiger, Philadelphia. pp. 320-332.
- 橋本 明 (1961). リウマチ様関節炎の金療法に関する研究. *リウマチ*, **3**, 18-62.
- (1965). Histochemical approach to the determination of gold in various organs of mice after injection of gold thioglucose. *リウマチ*, **6**, 148-152.
- 本庄重夫, 大久保三郎 (1971). 原子吸光分析法による金製剤投与後の尿中金の測定法. *臨床病理*, **19** (総会号), 430.
- 池上忠興, 八幡隆昭, 北山稔, 森永寛 (1970). 金塩製剤投与と顆粒球減少症例の経験. *岡大温研報*, **39**, 37-42.
- 井上 一 (1968). リウマチ滑膜における金塩の光頭および電頭的検討. 第12回日本リウマチ学会総会口演, 福岡.
- 上川英徳 (1971). 原子吸光分光分析法による慢性関節リウマチにおける金療法の研究. *リウマチ*, **11**, 349-355.
- LAWRENCE, J. S. (1961). Studies with radioactive gold. *Ann. Rheum. Dis.*, **20**, 341-351.
- LORBER, A. (1966). Comparison of serum gold levels in rheumatoid arthritis patients on chrysotherapy determined by atomic absorption spectrophotometry. *Arth. Rheum.*, **9**, 865.
- LORBER, A., COHEN, R. L., CHANG, C. C. and ANDERSON, H. E. (1968). Gold determination in biological fluid by atomic absorption spectrophotometry: Application to chrysotherapy in rheumatoid arthritis patients. *Arth. Rheum.*, **11**, 170-177.
- 森永 寛 (1963). 関節リウマチ治療の実際. *総合臨床*, **12**, 2129-2134.
- 森永 寛 (1970). 慢性関節リウマチの薬物療法: 遅効性有力薬剤・金療法について, *リウマチダイジェスト*, **2**, 28-31.
- 中根清司, 岩崎滋子, 井口健次, 小田原美津, 高坂彰, 辻稔 (1970). 原子光吸分析法による血清・尿中金の定量法, *臨床病理*, **18** (総会号), 144.
- SMITH, R. T. (1956). Discussion. *Ann. Rheum. Dis.*, **15**, 395.
- SMITH, R. T. (1963). Effective anti-rheumatoid gold therapy. *A. I. R.*, **6**, 60-73.
- STRELOW, F. W., FEAST, E. C., MATHEWS, P. M.,

BOTHMA, C. J. C. and VANZYL, C. R. (1966).

Determination of gold in Cyanide Waste solution by solvent extraction and atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.*, **38**, 115-117.

富田章一郎 (1969). 関節リウマチにおける金療の原子吸光分光分析法による検討。リウマチ, **9**, 149-166.

富田章一郎, 上川英徳 (1969). 原子吸光分析による血清および尿中の金の測定 (第2報)。第13回日本リウマチ学会総会口演, 東京。

山中健輔, 山田収, 箕田政人, 山崎晴一郎 (1971). 慢性関節リウマチにたいする金療法中の生体内金の推移と効果。臨床病理, **19** (総会号), 198-199.

山田収, 山中健輔, 成田郁五郎, 山田晴一郎, 有馬正, 井上庄二 (1970). Gold thioglucose 投与時の Au 血中濃度とその臨床的意義について, 臨床症理, **18** (総会号), 145.

STUDIES ON CHRYSOTHERAPY IN RHEUMATOID ARTHRITIS

III. GOLD DETERMINATION BY THE ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY

by Kazue TAKAHASHI (Director: Prof. H. MORINAGA),

Department of Medicine, Institute for Thremal Spring Research, Okayama University.

Abstract. The gold concentration in serum, synovial fluid and urine has been determined using a HITACHI MODEL 207 atomic absorption spectrophotometer. Flow rate of acetylene was setted at 2.0l/min. and lamp current was setted at 8mA. The samples were pretreated by the determination of gold. Serum was diluted with deionized water by two to ten-fold. To

0.2ml. of synovial fluid 50units/ml of hyaluronidase was added and then incubated for 20 minutes at 37°C. This sample was then treated the procedure for serum given previously. Urine was treated using the modification method of Christions procedure. The recovery rates with gold sodium thiomalate in serum, synovial fluid and urine were 99.9%, 102.5% and 93.6% respectively. When gold sodium thiomalate was injected in rabbits, the maximum serum gold level was attained 1 hour after injection and then gradually decreased at about 50% of the maximum level 24 hours after injection. In the observations of changes in the gold levels in the serum of patients with rheumatoid arthritis after injection of gold sodium thiomalate and gold thioglucose, its peak level after gold thioglucose injection tended to be slightly lower as compared with the same amount of gold sodium thiomalate injection. In those patients who had been given 300 mg. or more of gold salt-preparation, one additional injection of 25 mg. of gold salt could attain the gold level of around 200 μ g/100ml, in serum a week later, and this level was very nearly the same with that after 3-4 days of one additional injection of 10mg. of gold salt. The amount of gold excreted in the urine varied from patient to patient, and the mean excretion rates of gold sodium thiomalate and gold thioglucose in the urine within 24 hours after intramuscular administration were 9.8% and 6.5% respectively.

The simple, rapid and accurate method for analysis in biological specimens using atomic absorption spectrophotometer would offer one of the excellent measures in the clinical management of patients with rheumatoid arthritis.