

150.

Donaggio 反應試薬の性質

増山 元三郎 細島 千代子

(中央氣象臺調査課, 東京帝國大學醫學部物療内科教室)

1. Donaggio 反應 (D.R.) が疲勞判定の一つの方法として, 運動醫學, 軍陣醫學, 温泉醫學等の方面で應用されてゐるが, この反應の本態は未だ分らないと云ふ¹⁾. 著者の一人 (増山) は疲勞時の尿は 1° 減量する, 2° 酸度を増す, 3° アンモニアの排泄は増す, 4° 磷酸は増す, 5° 鹽素は減る, との諸因子のうち 4° が一番主な役割を演じてはゐないかとの豫想から仕事を始めたが, 磷酸量だけでは説明のつかない事實に出會つたので最初の方針を變へ, この反應に使用される試薬自身がどんな性質のものかを調べることにした. 今日までに得られた結果の要點を以下に述べ御批判を仰ぎたいと思ふ.

2. 磷酸が問題になるかならないかを三つの方法で先づ調べた. 第1の方法は D. R. が陽性である患者の尿を水で 2 倍 4 倍と薄めて行き, 同じ倍率でこれに對應して $\frac{m}{g}$ Na_2HPO_4 で尿を薄めて行くのである. 若し P が多い程陽性なら, 水で薄めた場合には D. R. は薄めるに従ひ陰性となつて行くが, 正常尿中の P より十分濃い磷酸ソーダ溶液で薄めた方は反つて陽性度が高くなる筈である. 結果は豫想通りであつた. 第2の方法は D. R. 陰性の場合得られる沈澱をよく水で洗つた上水の中へ入れた場合と, 磷酸ソーダ水溶液の中へ入れた場合と比較して見ることである. 比較の結果沈澱は水には殆ど溶けないが磷酸ソーダ水溶液には溶けることが明かとなつた. 第三の方法は尿中の P の量を Bell-Doisy 氏法²⁾で定め, これと D. R. の判定結果とで 2×2 關聯表を作つて, R. A. Fisher の直接確率計算法³⁾を用ひ, ここに得た結果と同じ結果及びこれよ

1) 川崎近太郎: ドナギオ反應に就て. 科學. 12 卷, 4 號, 134 頁, 昭和 17 年 4 月.

2) 須藤憲三: 醫化學的微量測定法. 昭和 6 年.

3) R. A. Fisher: Statistical Methods for Research Workers, 1936, 100. 小數例だからカイ試驗法は使へない.

り結論に對して好都合な場合が偶然として、どの位起るかを計算してみるのである。物療内科入院中11の名の患者の尿に就き、Pとしての濃度が 20 mg/ml のものを境として分けて見ると、表1の如くなつた。これ

表 1

D.R. P	+	-	
	>20	4	
<20	2	5	7
-	6	5	11

と同じ及びこれよりよい結果が全く偶然として得られる確率は22分の1であるから、まづ偶然でないと考えてよい⁴⁾。しかしこの確率が十分小さくないところを見ると、P以外の他の因子の役割も考へねばならないことが分る。

3. 第3の方法に小數例(小標本)の理論の統計的假設検査法を使った結果によれば、2に得られた結果が PO_4 だけで矛盾なく説明できるかどうかはなほ調べてみる必要がある。試みに $\frac{m}{3} \text{Na}_2\text{HPO}_4$ の代りに第一鹽である KH_2PO_4 を使つても同じかどうか調べてみると、第1第2の方法は總て否定的な結果しか與へない。従つて第二鹽がアルカリ性であつたことが問題ではないかと思はれる。試みにD.R.陰性の尿から得られた沈澱をそれぞれ稀鹽酸、10%アンモニア水、 $\frac{N}{10}$ 苛性ソーダで洗つてみると、後の二つだけに溶けることが分つた。従つてD.R.はアルカリ性の溶液で陽性、酸性の溶液で陰性に出さうと思はれる⁵⁾。この推測は1の2と矛盾するやうであるが、問題になるのは4%鹽酸酸性モリブデン酸アンモニウム溶液(MA)を入れた後の被験液のpHであるならば、緩衝作用のある尿ほど、酸性の試薬を加へた場合のpHの移動は少いから原尿のpHとは、また別問題かも知れないのである。

4. もしpHの問題ならば、種々の物質を含み複雑な組成をもつ尿よりも、正體の知れた鹽、アルカリ、酸を用ひてD.R.の試薬のもつ性質をまづ調べる方が早道である。

Thionin が手に入らなかつたので、これを殆ど同じ構造を持ち、D.R.試薬として代用できると云はれてゐるメチレン青(MB)を使つた。原法では千倍-萬倍のMBを1.0cc使ふのであるが、臨床検査用に澤

4) これは必要條件を調べただけで、まだ十分條件の方が調べてないから、これだけからD.R.の本態はPであるとは云へない。

5) 4の實驗を行つてゐる際、2の實驗を追試された稻垣克彦醫學士より、原尿のpHとD.R.陽性度とが正相関を示すことを私信中で指摘された。

山作つてあつた5%の溶液を0.1cc使つて實驗を行つた。尿に就て比較してみるとMBの薄い程、陽性に出易いやうであるから、以下の結果をそのまゝ他の研究者の結果に應用はできないかも知れないが、試薬の定性的性質は明かにし得ることと思はれる。表2では總て適當な濃度の溶液をそれぞれ2.0ccとり、これにMA 2.0cc、MB 0.1cc入れ混合し、沈澱があればこれを濾過し、D. R. 強陽性で沈澱がなければそのまゝの溶液に就てアンチモン電極のpH計で測つたpH値をIIとし、MAだけを入れMBを入れないもののpH値をIとして示した。表には小數點以下2桁目は4捨5入してある。

表 2

	I	II	D.R.		I	II	D.R.
HCl	—	4.4	—	(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄	6.0	5.3	+
NaCl	5.1	5.1	—	NaHCO ₃	6.0	5.2	+
NH ₄ Cl	5.1	5.1	—	KCN	6.0	6.0	+
HCl	—	5.1	—	NaOH	—	6.0	+
H ₂ O	5.2	5.2	—	NaOH	—	6.2	+
Na ₂ S ₂ O ₃	5.2	5.2	—	C ₆ H ₅ O ₇ Na ₃	6.6	6.4	+
HCl	—	5.3	—	Na ₂ HPO ₄	6.7	6.5	+
NaOH	—	5.6	—	C ₃ H ₅ O ₇ Na ₃	6.8	6.6	+
Na ₂ MoO ₄	5.7	5.7	—	(NH ₄) ₂ HPO ₄	7.5	7.2	+
NaOH	—	5.8	±	NaOH	—	9.2	+
Na ₂ C ₂ O ₄	5.9	5.4	+	NaOH	—	12.8	+

D. R. の方はIのpHが5.7及びこれ以下のものは全部陰性であり、5.8以上のものは全部陽性である。表2から氣の附くことは、陰性の場合にはI、IIでpHに變化なく、陽性の場合にはpH値の變化の少かつたKCNの場合を除いて總てIよりIIの方がpHが小さいことである。これは蒸溜水4.0ccに5%MBを0.1cc加へるとpH=4.3位になることから豫想されることであつて、陰性の場合にはMBが遊離してゐたClもろともに完全に沈澱してゐることを暗示する。これだけでD. R.の本態が明かになつたとはいまだ云へないが、D. R.の試薬が持つ大きな性質の一つが明かになつたと思はれる。

HClとNaOHで種々のpHの液を作つて調べてみると、IIのpH=1.3

より小さいところで D. R. は陽性となり、これより大きくなると陰性となり pH=2.4 のところで赤紫色の色を呈し、これより大きいところで再び陰性となり、pH=6.0 位から再び徐々に陽性になる。pH=6.2 を過ぎると強陽性となり、これが pP=12.8 位までつづき、これから先は次第に赤味と灰色を帯びてくる。

5. 最後に D. R. を陽性とならしめる物質は疲労尿だけに存在するものでないことを示す実験を一つ報告しておきたい。それは唾液に就て調べるのである。正常人で十分休養した朝の唾液を口腔内を洗滌した後採取し、蒸留水で 2 倍、4 倍、8 倍、16 倍、32 倍と薄めて、D. R. 試薬を入れ混合後遠心沈澱器へかけてみると、多少の沈澱はあるが、いづれも陽性となるのである。その一つに就て pH を測つてみると、MA だけを入れた時 5.7 でこれにさらに MB を入れたものは 5.5 であつた。

[結果の討論に加つて頂いた畏友鳥居敏雄、稻垣克彦兩醫學士に厚く御禮申し上げます]

(受附：昭和 17 年 5 月 11 日)