

### 1. イオン交換樹脂によるアミノ酸およびペプチドのクロマトグラフィーについて

東京大学医学部生化学教室

島尾 和男

蛋白質の加水分解物の分画にイオン交換クロマトグラフィーを応用するための予備的実験として、Stein および Moore の方法によるアミノ酸のイオン交換クロマトグラフィーを行った際、原法に 2, 3 の Modification を加えて実験時間の短縮、経費の節約等を行ひ得たので、これらの諸点につき報告する。

1) **Fraction collector の試作** 容易に入手し得る材料を用い、簡単な手細工で製作し得るサイフォン—電磁石リレー式の Fraction collector を試作した。各 Fraction の容積の違いは土 1 滴で揮発性でない溶媒を用いる場合は実験に支障を来さない。製作材料費は 5000 円を出ない。

2) **流速** 実験時間の短縮のため、原法の 250~500 メッシュに対し、200~400 メッシュの樹脂を用いて、流速を原法の約 3 倍の 12 cc/hr. とした。

3) **アミノ酸定量法** 原法が比較的熟練を要し、且つ経費のかかるニンヒドリン法を用いているに対して、フォリンの法の変法による  $\beta$ -ナフトキノンスルホン酸ソーダによる呈色を利用した。この定量法の感度はニンヒドリン法に対して数倍ないし 10 倍位低いが、用いる試料を増加することによりこれを補い得た。

4) **定量の手間を省くため** 1 Fraction の容積を原法の 3~4 倍の 3~4 cc とした。

これらの Modification により得られるクロマトグラムは Stein および Moore により得られたものと略々等しいもので、通常存在するアミノ酸の分画定量に充分使用し得ると思われる。

なおこの条件下で行った血清アルブミンのペプシンによる水解物のクロマトグラムの例を示した。このクロマトグラムの各 Fraction についてはペーパークロマトグラフィーを行って、含有アミノ酸、各 Fraction の均一性などを検討中である。

### 2. アルカリによる血清蛋白の加水分解

東京大学医学部生化学教室

沖本京子・平井秀松

先に血清 Alb. および  $\gamma$ -Glob. の酵素水解、酸水解について報告したが、今回はアルカリ水解について述べる。終濃度 5 N または 1 N となるように蛋白溶液に NaOH を加え、沸騰水浴中で水解を行い、時間を追って総窒素、残余窒素 (NPN), Amino N および電気泳動分析を行

った。NPN は略々一時間以内に 100% の増加を示す。Amino N は NPN に稍々おくらせて増加してゆき、5 N の水解の場合は最高値は総 N の約 60% で、この時の分解液の平均分子量は増加した Amino N より算定して 170 位である。1 N の水解の場合は 10 時間で約 40% の増加があり、この時の分解液の平均分子量は 270 で dipeptide に近い分子量を示している。1 N の水解に伴う電気泳動像の変化は Alb. はそれよりも易動度の早い少量の成分とそれよりも遅い成分を産生し、 $\gamma$ -Glob. の場合はそれより早い成分を生成する。

総窒素は 5 N の水解の場合に Alb. は約 17%、 $\gamma$ -Glob. は約 26% 減少した。これはアンモニアとして蒸散したものと考え、水解時間を追ってアンモニアを定量した。Alb. の場合、発生アンモニアは総窒素の 12% に達し、 $\gamma$ -Glob. の場合は総窒素の 26% のアンモニアが定量的に捕捉された。

アスパラギンについてアンモニアを測定すると、完全に定量的にアミド N をアンモニアとして放出し、アスパラギン酸の  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> はアンモニアとして放出されない。

アンモニアの由来についてはアミド N の他になお他の窒素源があると思われるが、この点は今後検討する。

総じてアルカリ水解は同濃度の酸水解に比し、蛋白質の水解度が高く、実験した 5 N または 1 N 濃度のアルカリ水解では Alb. と  $\gamma$ -Glob. の差は把握し得なかつた。酵素水解に比しては、酸水解の場合と同様に著しい差異が見られる。また水解途中のアンモニアの蒸散は実験上注意が肝要である。

### 3. ビキニ被災者の血漿蛋白像について

東京大学医学部冲中内科

幾島 明・三輪 史朗

藏本 築・三好 和夫

東京大学医学部美甘内科

亀田 治男

本年 3 月 1 日、ビキニ海域において、放射能灰の被災を受けた第 5 福竜丸乗組員 23 名中、東大病院に入院した 7 名の患者の血漿蛋白像の推移を諸肝機能検査と関連してのべる。

これら患者の血液像は、4 月初旬を極期として、汎骨髄癆の症状を呈し、その後次第に回復を示しているが、未だ完全に回復していないものがある。

血漿蛋白像の変化は、全例を通じ、Alb. 値の減少と、 $\gamma$ -Glob. 値の増加がみられ、Alb. 値は 50% 前後を示し、 $\gamma$ -Glob. 値は 20% 以上を示すものが多く、27% の高値を示すものもある。この変化は入院当初より認められ、

5, 6 月頃やや軽快がみられたが、その後 8 月を極期として再び悪化し、最近漸く軽快の方向にある。総蛋白濃度、蛋白分層中泳動上の  $\alpha, \beta$ -Glob. Fib. 等には著変をみとめない。つぎに肝所見においては、入院当初より多くの患者で肝腫脹を認め、肝機能検査においても、モイレングラハト値の上昇、BPB 試験、CCF 試験等に陽性を示している。以上の点からみて、本患者等にみられる血漿蛋白像の異常は、肝臓障害によるものと考えられる。この肝臓障害がいかんして惹起されたかについては問題は簡単でないが、被災時における放射能による直接の障害は確実である。更にその経過中にダイルスの感染が伴ったか否かについては、なお検討を続けている所であるが、その場合にも感染に対する抵抗力の減弱があったことは確実である。これらの問題の解明には今後の実験的研究にまわりたいと考えている。

#### 4. 各種動物正常血清の電気泳動

京都大学医学部微生物学教室

山根 徳治

各種動物正常血清、即ち哺乳類(人間 2 例、馬 3 例、牛 3 例、豚 3 例、山羊 2 例、家兎 3 例、海狸 3 例、ラッテ 3 例)、鳥類(鶏 3 例)、両棲類(がま 3 例)、魚類(こい 1 例)、爬虫類(しまへび 1 例)の血清について Tiselius 装置により pH 8.6, イオン強度 0.1 のバルビタール緩衝液を用いて電気泳動分析を行い、その A/G 比および各蛋白成分濃度比についてつぎのごとき結果を得た。

1) A/G 比 哺乳類においては 1.00 以上のものは人間、海狸、家兎で豚、山羊、牛、馬、ラッテは 1.00 以下であった。他種動物においては 1.00 以上のものはがま、こい、しまへび、鶏はいずれも 1.00 以下であった。

2)  $\alpha$ -Glob. 哺乳類においてはラッテに特に多く、他種属動物においてはがま、しまへび、鶏の順に次第に少なかったが、鶏は人間に比較すれば多かった。

3)  $\alpha_2$ -Glob. 哺乳類においてはラッテ、海狸に多く、家兎および人間は少い。他種属動物においてはこいに特に多かった。

4)  $\beta$ -Glob. 哺乳類においては豚、ラッテ、家兎に多く、海狸が最も少い。他種属動物においてはしまへび、こいに多かった。

5)  $\gamma$ -Glob. 哺乳類においては山羊、牛、馬に多かった。他種属動物においては鶏が特に多く、ついでしまへび、こい、がまの順であるが、これらはいずれも人間より少なかった。

以上のごとく各種動物正常血清を電気泳動的に主として量的な立場から検索したのであるが、動物の種属を異

にすれば勿論、哺乳類間についてもかなりの差異の認められるものもある。これには各血清中に含まれる多糖類或いは類脂体の量が関与すると共に、動物の棲息環境の差異による質的な相異の加わることが考えられる。これらに関しては更に例数を重ね他の化学的検索と共に追求してみたい。

#### 4A 正常家兎血漿蛋白像

千葉大学医学部石川内科

村越 康一・東条 静夫

鈴木 徳雄・吉原百枝

(誌上発表)

滲濾出機転に関する研究の一環として、家兎を使用せる各種実験的肋膜炎に関し、我々は 2, 3 の知見を得、既に発表した所であるが、正常血漿蛋白像に関しては未だ報告少く、実験中に得たる知見を報告することも意義あるものと思われ。

実験方法 1 日 1 回蔬菜類・おから計 300 瓦よりなる餌料(大略蛋白質 10 瓦、脂肪 1.5 瓦、糖質 20 瓦、熱量 130 カロリー)にて餌育せる、体重 1.4~3.9 斤、血液 Hb 量 10~15 瓦の健常と目される成熟家兎 83 匹を使用し、餌料投与前空腹時に耳静脈より採血し、二重蔭酸塩を用い血漿を分離した。電気泳動は研究会規定に従って行い、総蛋白値は、吉川氏の計算式を応用せる次式より求めた。

$$P = \frac{n - (n_w + 0.0209)}{0.00191}$$

P: 資料蛋白値

n: 資料屈折率

$n_w$ : その時の蒸溜水屈折率

なお屈折率は Abbe 氏屈折計により求めた。

実験成績 83 匹中  $\alpha$ -G. 分離良好なる 63 匹より at random に選出せる 50 匹(雌 18 匹、雄 32 匹)につき計測を行いつぎの結果を得た。( ) 内測定範囲

総蛋白値・ $6.57 \pm 0.71$  (5.20~7.20)

$\beta$ -G 比率・ $12.1 \pm 2.3$  (7.5~17.9)

Alb. 比率・ $56.4 \pm 4.4$  (46.7~64.5)

$\phi$  比率・ $9.5 \pm 2.1$  (5.4~14.8)

総 G. 比率・ $34.2 \pm 3.6$  (25.9~40.8)

$\gamma$ -G. 比率・ $13.8 \pm 3.5$  (6.5~25.9)

$\alpha$ -G. 比率・ $8.3 \pm 2.2$  (4.4~17.2)

なお雌雄間には総蛋白値・各分層比率ともに有意差 ( $\alpha=0.05$ ) を認めなかった。

上記のごとく得たる値は正常人血漿蛋白像に類似するも、その変動大きく、また平井、Deutsch 氏の正常家兎血漿蛋白像ならびに菱田、荒木、Edsall、Tiselius、Svens-

son 氏の正常家兎血清蛋白像に比し Alb. 比率のやや低いことが注目される。また  $\alpha$ -G. の分離困難なることが従来屢々報告されているが、泳動時間をやや延長（日立 H.T.A. 型, ミクロセル使用, 10 mA, 1.5 時間）することにより比較的良好なる結果を得た。

## 5. 心外膜炎における低蛋白血症について

京都大学医学部前川内科  
前川孫二郎・荒木 仁  
岡田 安弘・和智 浩明  
加藤 治秀

心外膜炎 14 例中 8 例に血清総蛋白量の減少を認めた。発病以来の時日の経過するにつれて低蛋白を示す例が多くなる。つまり陳旧な症例に低蛋白血症が多い。一方 T.P. は予後と関係が深く T.P. の低いものは殆んど転帰がわるい。反之 T.P. の正常なものや、治療によって始め低かった T.P. が上昇したものは転帰がよい。本症において T.P. と蛋白分屑比とは余り関係はない。分屑比において ALB 減少と  $\alpha$ ,  $\gamma$  の増加をみる場分が多いが、絶対量では  $\gamma$  の増さないものもあり殊に T.P. の低い例では  $\gamma$  は正常または減少である。低蛋白血症を来す原因は色々あるが本症と同種の他の漿膜炎においては低蛋白になることは少く、むしろ高蛋白を示すものがよくある。そこで本症の際の低蛋白を 2~3 の臨床事実と引分けてみた。肝腫大の有無、尿中ウロビリノーゲン、心嚢浸出液、腹水など何れも直接関係ないことがわかった。本症には屢々仮性肝硬変を伴うが一般に肝硬変の際は  $\gamma$  が著しく増加するのが特徴であり本症の場合には合わない。循環血漿量をしらべたのは 2 例であるが何れも正常である。その他 Na, K 量、ツベルクリン反応などの関係もみたが結論は差しひかえる。

## 6. 髄液蛋白質の濾紙電気泳動による研究

大阪大学医学部神経科  
佐野 勇・蒲生 達三

電気泳動法の進歩に伴い、本法により髄液蛋白の分画像を観察せんとする試みは、既に 1944 年 Scheid 夫妻によってなされたが、チゼリウスの電気泳動法による時は極めて大量の髄液の濃縮が必要であり、いわんや患者髄液についての臨床病理的研究は殆んど不可能に属した。1949 年 Th. Wieland, 1950 年 Turba, Grassmann 等によって開拓された濾紙電気泳動法は極めて微量の蛋白質溶液を用いて行い得るので数年前より欧州、特にドイツでは血清蛋白の電気泳動には専ら Grassmann 法が

用いられるに至った。本法を髄液蛋白に応用せんとする試みは 1951 年不満足乍ら Esser により行われたのを嚆矢とする。髄液においてはこの際濃縮が不可欠であり、そのため 1. 沈澱法, 2. 透析法, 3. 凍結乾燥法, 4. 濾過法等諸種の方法が研究されたが何れも理想的とはいえず、我々はゲッチングンの Membrane-filter Gesellschaft のニトロセルローゼ膜を用いて極めて満足すべき濃縮を行い、ついで Grassmann の考案に従った阪大赤堀教授考案の泳動箱を用い、直流 120 V, 緩衝液はミカエリスのペロナール酢酸ソーダ緩衝液によって泳動し、蛋白質の染色には Grassmann 法に準じてバイエルのアミドシュワルツ 10 B を使用し、その定量には小林式デンストメータを使用し、その計算には可能な限り Wallner u. Ulke の方法を使用し、本邦において最初の濾紙電気泳動法による髄液蛋白泳動像をうることに成功した。正常髄液においては Bücher のいう Vor-Alb. Fraktion ならびに  $\alpha$ -Fraktion の出現を確認し、更に  $\alpha$ -Fraktion が多くは 3 峰,  $\gamma$ -Fraktion が多くは 2 峰を画くことを確認した。また各蛋白分画の百分比は 2.3 の点を除き Bücher, Miess, Gries, Steger 等の成績とおおよそ一致することを確認した。我々は此処に髄液蛋白泳動法を我が教室における髄液の日常検査の 1 項に加えると共に本法を使用し髄液蛋白の生理的ならびに病理的研究に着手しその成果を収めつつあるので此処に報告する。

## 7. 高圧濾紙電気泳動による血清アミノ酸曲線について

大阪大学医学部神経科  
佐野 勇

詳細は

- 1) Klinische Wochenschrift 831 (1954)
- 2) 日本医事新報 (印刷中) に記載した。

## 8. 蛋白質と色素の結合について

国立公衆衛生院 栄養生化学部  
楠 智一・木村 秀子

血清アルブミンは既報の通り Methyl orange, Brom Phenol Blue (BPB) 等の酸性色素と native の状態で結合するが、アルカリ、尿素、熱等の各種変性処理によって結合能を失う。 $\gamma$ -グロブリンは native の状態ではこれ等の色素と結合を示さず、各種の変性処理によってはじめて結合能を現わすようになる。卵アルブミンは溶解度の点では血清アルブミンと同様の態度を示すが、色素結合能の面ではむしろ  $\gamma$ -グロブリンと軌を一にし、na-

tive の状態では示さなかった BPB との結合を熱、尿素または熱+尿素等の処理によってはじめて現わすようになる。これ等の蛋白が native および各種変性処理後において示す BPB との結合の性状を, Intrinsic Dissociation Constant,  $\Delta F_1$ , 最大結合数等の計算の結果によって比較した。それによれば結合を示す場合の解離恒数や自由エネルギーの変化等の値はこれ等の蛋白について略々等しいから、結合の模様自身については大差ないものと思われる。

つぎに卵アルブミンの熱 (55~70°C), 尿素 (1~10 M) および熱+尿素等の変性処理について, SH 基の増加と色素結合の出現の模様を平行的に観察した結果を中間的に報告した。

それによれば色素の結合を示してくるような構造の変化に関する限り、熱と尿素の作用機序は恐らく異なっていて、両者が同時に作用する場合には著明な相乗作用を示すこと、および SH を露出させるような構造の変化と、色素を結合させるような構造の変化とは必ずしも平行して進行せず、変性の All or None 説はこの面からもさらに検討、批判の余地を残していることが推論された。

## 9. 赤血球浮游液構造粘性の著変

徳島大学医学部生化学教室

玉城 一郎

種々の濃度の食塩水に、種々の Vol % に牛赤血球を浮游させて、その比粘度を測定すると、40 Vol % 以下の赤血球浮游液では、媒体濃度による粘度の著変は見られないが、50 Vol % になると、0.4~0.5 Mol の食塩水濃度即ち、中村一黒田の所謂最小溶血濃度において、比粘度が著しく増加し、媒体濃度-比粘度曲線に1つの山をえがく。而も、この山は赤血球濃度が50 Vol % 以上に増すに従い、著しく高くなる。

さて、赤血球浮游液粘度に Einstein の粘度式

$$\eta_s = \eta_m(1+k\varphi)$$

があてはまるとすれば、上式から求めた  $k$  は、食塩水濃度の如何にかかわらず一定である筈である。実際に赤血球濃度が40 Vol % 以下においては5~6で殆んど一定である。然るに赤血球濃度が50 Vol % 以上になると、 $k$  の値は食塩水濃度によって変動し、最小溶血濃度において極大値をとる。

ここにおいて、最小溶血濃度における浮游液粘度の増加は構造粘性と関係あるものと考え、Ostwald の方法によって構造粘性指数を求めると、果せるかな、最小溶血濃度において極大値をとった。これは赤血球の表面膜の変化によるものと考え、それに影響を与えると考えられ

る種々の重金属塩類の微量を食塩水に添加して赤血球浮游液をつくり、その構造粘性指数を測定すると、Zn, Cu 塩において最小溶血濃度の構造粘性はより著しい増加をみた。しかるに Co 塩ではその影響はなく、Hg 塩はむしろ抑制的に働いた。

このように、等しく重金属塩類でも、赤血球浮游液の構造粘性に対する作用に差違の生ずることについては、更に詳細の研究を進めつつある。

## 10. 赤血球浮游液の流動透光性について

徳島大・医・生化

黒田嘉一郎

赤血球数測定に際して血液をハイム氏液で稀釈してメランジュール中で振ると条光の現われることは臨床医家の誰しも経験するところである。攪拌装置をそなえた特定のキューベットの中に赤血球の食塩水浮游液を盛り、一定光線で照射して浮游液層を透過した光量を光電管によって電気的に測定し、ついで攪拌しながら透過光を測定するに後者は前者よりも大であり、而もその差は条光の強さと平行関係がある。そこで赤血球浮游液の流動による透光量の増加する現象を“流動透光性”と名付け、この量を以て従来全く定性的に記載されていた条光を量的に測定することができるようになった。

ついで食塩水濃度を変化させその赤血球浮游液の流動透光度の変化をみるに、食塩水濃度の小さいときは流動透光度は大であり食塩水濃度の増加につれて流動透光度は減少し、0.4~0.5 mol 食塩濃度即ち中村一黒田の所謂最小溶血濃度において最小となり更に濃度が増加すると流動透光度は再び増加する。この現象は NaCl のみならず SrCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub> の所謂代表的中性塩溶液においてもみられ、而もその濃度を透過係数による Debye-Hückel の理論式から導出した媒体濃度で表示すると塩の如何にかかわらず同一濃度において流動透光度の最小が現われる。

さて、赤血球は最小溶血濃度において金平糖状ないし球形をとり、それより薄い濃度では円盤状を、濃い濃度では木葉状をとる。即ち赤血球が円盤状或いは木葉状のような非対称の形態をとるときは流動によって浮游液中の配列が方向づけられ透光度を増し、球状では静止時も流動時も浮游液中における配列の方向ずれには差がないため流動透光度が最小となると考えられる。

つぎに赤血球を各種の濃度の食塩水で洗滌しておいて、これを各種濃度の食塩水に改めて浮游しその流動透光性に現われる洗滌の履歴現象を調べてみるに、最小溶血濃度 (0.4 mol 食塩水) で洗った赤血球を最小溶血濃

度上の食塩水 (例えば 0.8 mol) に浮遊さすときは洗滌食塩水に影響されて 0.4 mol 食塩水に特有な流動透光度の最小値が 0.8 mol 食塩水に改めて浮遊させても保持される。然るにその他の食塩水濃度では総て可逆的であって洗滌の食塩水濃度の如何にかかわらず最後の浮游液の食塩水濃度によって流動透光度は規定される。

この履歴現象はまた赤血球状態に現われる履歴現象と全く平行する。

### 11. 老年者の血清蛋白電気泳動像

大阪大学医学部第2内科教室

木谷 威男・中島 敏夫

田村 珍彦・戸田 貞郎

大阪市養老施設に入所せる満 61 才～85 才の健常老年者 (男子 60 才代 8 名, 70 才代 14 名, 80 才代 3 名, 計 25 名, 平均 72.2 才, 女子 60 才代 14 名, 70 才代 17 名, 80 才代 5 名, 計 36 名, 平均 69.1 才) の血清蛋白電気泳動ならびに肝機能検査を施行した。電気泳動は日立 HT-B 型により電気泳動研究会の規定に基づいて実施した。

血清蛋白電気泳動像は男子では 60 才代は総蛋白量 (T.P.) 7.64 g/dl, Alb. 59.8%,  $\alpha$ -Glob. 6.1%,  $\beta$ -Glob. 12.4%,  $\gamma$ -Glob. 2.1%, 70 才代は T.P. 7.55 g/dl, Alb. 56.0%,  $\alpha$ -Glob. 6.8%,  $\beta$ -Glob. 12.2%,  $\gamma$ -Glob. 24.9%, 80 才代は T.P. 7.57 g/dl, Alb. 56.4%,  $\alpha$ -Glob. 6.4%,  $\beta$ -Glob. 10.8%,  $\gamma$ -Glob. 26.5% で, 男子全例の平均は T.P. 7.58 g/dl, Alb. 57.3%,  $\alpha$ -Glob. 6.5%,  $\beta$ -Glob. 12.1%,  $\gamma$ -Glob. 24.1%, 女子では 60 才代 T.P. 7.69 g/dl, Alb. 56.4%,  $\alpha$ -Glob. 6.8%,  $\beta$ -Glob. 12.8%,  $\gamma$ -Glob. 24.2%, 70 才代は T.P. 7.52 g/dl, Alb. 58.5%,  $\alpha$ -Glob. 7.2%,  $\beta$ -Glob. 13.0%,  $\gamma$ -Glob. 21.1%, 80 才代は T.P. 7.10 g/dl, Alb. 60.2%,  $\alpha$ -Glob. 7.1%,  $\beta$ -Glob. 12.8%,  $\gamma$ -Glob. 19.9%, 女子全例の平均値は T.P. 7.53 g/dl, Alb. 57.9%,  $\alpha$ -Glob. 7.0%,  $\beta$ -Glob. 12.9%,  $\gamma$ -Glob. 22.2% であり, 老年者においては Alb. の軽度減少,  $\gamma$ -Glob. の軽度増加を認め,  $\gamma$ -Glob. の増加は男子において著明である。 $\alpha$ -Glob.,  $\beta$ -Glob. は変化を認めない。

肝機能検査は尿ウロビリノーゲン, 血清コリンエステラーゼ, 血清コバルト反応, BSP, CCF の順に陽性度が高く, 男子は女子に比して陽性を示すもの多く, 全部陰性のもの Alb. 57.8%,  $\gamma$ -Glob. 21.8%, 1 つ陽性のもの Alb. 59.1%,  $\gamma$ -Glob. 22.2%, 2 つ陽性のもの Alb. 52.2%,  $\gamma$ -Glob. 27.1%, 3 つ以上陽性のもの Alb. 54.8%,  $\gamma$ -Glob. 28.1% であり, 陽性頻度の高い程 Alb. の減少,  $\gamma$ -Glob. の増加が著明である。

正常血圧 (100~139), 中等度血圧 (140~179), 高血圧 (180 以上) のもの間に血清蛋白電気泳動像の差を認めない。

### 12. Stress と血漿蛋白像

名古屋大学環境医学研究所 小川研究室

鈴木 伸夫・熊田 正徳

先に我々は, 胸廓成形術を Stress という観点からみてその際血漿蛋白像の変動を, Stress における生体適応指標である尿小川膠質反応 O(Y) の変動と比較観察して報告したが, 今回は更に肺結核症, ACTH 投与, 開腹術等における血漿蛋白像の変動を前記指標と関連して検討した。

1) 肺結核症においては軽症より重症になるにつれて Alb. の減少, Glob. の増加特に  $\gamma$ -Glob. の増加を認め一方 O(Y) においても重症になる程高値を示していた。

2) 健康者 (4 例) に ACTH 20 mg 8 時間点滴静注を行った場合には, 各症例とも  $\gamma$ -Glob. は増加を示し, OY も上昇を示した。

3) 軽症肺結核に前記同様方法で ACTH 投与した場合の血漿蛋白像においては  $\gamma$ -Glob. は軽度の増加を示していた。OY は  $\gamma$ -Glob. 量の高値を示している症例程早期に反応し且つ著しく高値を示していた。

4) 胸成術においては, 術後  $\gamma$ -Glob. 量は減少し, O(Y) は上昇を示すが, この場合においても術前  $\gamma$ -Glob. 量の高値を示す症例程, O(Y) は早期に反応し且つ著しく高値を示した。

5) 開腹術においては, 術後  $\gamma$ -Glob. は増加を示し, O(Y) は胸成術に比し低値を示していた。

上記のごとく肺結核症, ACTH 投与, 開腹術, 胸成術における血漿蛋白像の変動をみると  $\gamma$ -Glob. の増加する場合, 減少する場合がありこの  $\gamma$ -Glob. の相異は O(Y) に照してみるに Stress の強さに左右されるものと思われた。

### 13. 化学療法劑の作用機序に関する研究

(第1報)

化学療法における血漿蛋白の役割

慶応大学

五味 二郎・吉沢 久雄

川名 嵩久・伊藤 信也

本田 正節・佐藤 静男

堀内 敏子

研究目的 血清中の PAS 濃度を測定し, 且つ血清中

の PAS が血清蛋白分層と如何に結合しているかを検索した。

**実験方法** 日立製の古い型の4分節セルを用いて泳動し、泳動終了後下降脚側の緩衝液を靜かに吸引して、上行脚にはアルブミンのみ、下行脚にはグロブリンのみを認めるようになったときにセルを切断して、アルブミンおよびグロブリンを略々純粹に採取した。アルブミンならびにグロブリンを夫々単独に含むセルについて蛋白濃度をキエルダール法にて、PAS濃度を根来氏法によって測定した。

**実験成績** 1) PAS-Ca 10g 服用1時間後に採血して血清を分離し、血清 11 cc に対して 500 cc の 1/20 モルの緩衝液にて透析した場合には、透析後の血清中の PAS は殆んどすべてアルブミンに結合している。2) 透析実験を行うと透析に用いた緩衝液の量ならびに PAS の濃度によって透析後の血清の PAS の量は変化する。3) 透析せざる血清を3倍にうすめて泳動して、蛋白に結合している PAS を測定したところ、血清中の PAS は殆んどすべてアルブミンに結合していることを証明した。

**考按** PAS を内服した場合の血清中の PAS の濃度は PAS の抗結核菌力より遙かに大である。しかるに PAS の内服に 10g という大量が用いられる所以は PAS が殆んどすべてアルブミンに結合して抗菌力を失うためではないかと考えられる。しかし透析実験から推定するに PAS とアルブミンとの結合はそれ程強くないと考えられる。これ等についてなお今後研究を続行する予定である。

#### 14. 臍帯血の血清電気泳動像と血液型

徳島大学医学部細菌学教室遠

住友 健治

遠山等、Orcutt により牛の新生児の血清中にオイグロブリンがなく、人においても Lewis, Well 等は新生児にはグロブリンが少く、ことにオイグロブリンが少いと報告している。一方新生児においては血球凝集素を欠くか、あっても少く生後徐々に増加し 2~3 年後に略々成人の力価に到達するといわれている。その点に関連して人の新生児の血清組成と成人血清のそれと比較し、併せて血液型および血球凝集素との関係を検索して見た。新生児 31 例の臍帯静脈血を注射器で採血し、血清蛋白組成を Tiselius 電気泳動装置で測定し内 22 例について血液型および凝集素の有無をのせ硝子法で検索した。

結果は全例において  $\gamma$ -Glob. の欠除ないし極めて少ないものはなく新生児血清は健康成人血清に比し蛋白濃度低

く、蛋白組成は Alb.  $\alpha$ -Glob. は殆んど大差を認めないが、 $\beta$ -Glob. は成人に比し低く、 $\gamma$ -Glob. は殆んど同じか寧ろ多い位であった。

この内 3 つ子の内の 2 名について血清蛋白を測定した所 4.38% を示し他に比しかなり低いことが認められた。また母児の血液を比較した所蛋白濃度は新生児において低く蛋白組成においては特に  $\beta$ -Glob. の値が低いのが認められた。一方血球凝集素は母の血清には勿論著明に認められるが新生児では認め難かった。

22 例について血液型および血球凝集素の有無を検索した結果では A 型 B 型では全例において凝集素を認め難く、O 型 10 例中 3 例において血球凝集素が認められた。血液型と各組成の間には特別な相関々係は認められなかった。

#### 15. 蛋白質のゲル化現象に対する考察

東京医科歯科大学医学部生化学教室

宮本 璋

近年高分子化学の急速なる進歩に伴って、我々生体膠質を取扱う者は、日頃現象として観察して来たゲル化 gelation について、改めて注目し直す必要に迫られている。今回は特に我々が従来から取上げ、観察して来た範囲、即ち血清のゲル化および各血清分層のゲル化の経験から、蛋白質のゲル化に対し考察を試みてみた。

我々はゲル化を数的に表わすものとして、粘稠度を選んだが、これは元来蛋白の粘稠度はその種類によるものとして茂在-Rohrer 等によって実用に供されて来たものであり、我々はそれが更に蛋白質の変形、変質、変性に対する研究の足がかりとなることに興味をいだいている。このゲル化の際の粘稠度の上昇経過を時間的にみると、典型的な二形式が識別され、一方は二次函数的に、他方は指数函数的な粘度の上昇として観察された。前者としては pH 7~8 に出現する Euglobulin のフォルモールゲルあり、これは後に凝集現象に移行することが認められ、また低温では Euglobulin のみが、高温になると Albumin も共に pH 4 付近でゲル化する乳酸ゲル化の場合にも、最後には凝集に変ることがわかった。これに反して後者に属する pH 5 付近の Albumin のフォルモールゲル (HCHO 多量添加) および強酸強鹼ゲルは前記の如き凝集への移行はみられず、極めて均等なゲルとして得られた。後者の場合は明らかに蛋白質の変性が起って、ポリペプチドの如き長い鎖がからみ合いを起すという Wabentheorie の考えに合致しそうである。然し前者の場合にはゲル化が凝集に先行して起ったとも考えることができ、従って可視的な巨大凝集塊に発展する前の不

可視的或いはコロイド的範疇において、疎水的に大きくなつた粒子の毛管抵抗が粘稠度の上昇として観察されたとしても不合理ではない。これは塩ゲル化について見た結果がよい例である。かかる観点から、我々はゲル化を均一現象として、加水性の増加のための分子運動の阻害と考えて来た従来の立場に、改めて検討を加える必要があると思う。

## 16. 白血球中性嗜好細胞の分離とその電気泳動像について

東京医科歯科大学医学部生化学教室

阿南 功一・酒井 昭義

尾崎 崇

馬の血液から Behrens の方法に従つて白血球の画分を単離することを試みた。即ち枸橼酸ソーダを混じた馬の血液を暫時放置し上清部を遠沈し、沈渣を生理的食塩水で繰返し洗滌後、アセトンで沈澱せしめ、無水硫酸ソーダで処理し、四塩化炭素に suspend する。石油エーテルを加えて比重 1.270 となし遠沈し、沈渣(白血球が既に非常に沢山集っている)を石油エーテル-四塩化炭素混液(比重 1.365)に suspend し、これを遠沈管にとり、その上に同混液の比重 1.330, 1.300, 純石油エーテル)を重疊し遠沈する。比重に従つて上層に主に赤血球、次の層にエオジン嗜好細胞が集まる(Eosino が略々 80% ある標本の顕微鏡写真を供覧した)。未だ技術的に問題があるので常にうまく Eosino だけ集めるまでには到っていない。この Eosino 分画は収量が少くこれ以上の研究に資することはできなかった。たまたま Neutro (染色性が諸操作のため悪化して Lympho と判り別できぬ)がない Lympho の分画をかなり大量に得たので、これを生理的食塩水に suspend し、potter 式ホモジェナイザーで破碎、遠沈上清(6000 r.p.m. 30 分でも opalescent を呈している)をとった。この沈渣(顕微鏡的には intact な細胞はなくなっているが、不溶性物質片が見られる) N/50 NaOH で pH 8.6 でホモジェナイザーにかけ、遠沈後上清をとり、沈渣は更に稀醋酸酸性(pH 3.6)でホモジェナイザーで抽出した。これら 3 抽出液の蛋白含有量は屈折計で約 2%, 1%, 0% であった。Paper electrophoresis を行つたところ pH 3.6 (醋酸バッファー) pH 7 (磷酸バッファー), pH 8.6 (グェロナルバッファー) 何れにおいても原点に大部分残り、僅かに連続的に移動する像を得ただけであった。Tiselius 装置による結果も同様で、NaCl 抽出液、NaOH 抽出液とも僅かに小さな peak が 1 つ認められただけであった。

白血球分画中の操作による細胞成分蛋白の変性という

ことも考えられ(ホモジェナイザーにかける前の suspension の標本の染色性は比較的良好ではあるが)るので更に検討を進めて行く心積りである。

## 16A C<sup>14</sup> Glycin の淋巴組織特に抗体導入に関する研究(予報)

新潟大学生化学

緒方規矩雄

岡山大学公衆衛生

緒方正名・望月義夫

私達は C<sup>14</sup> Glycin の生体内蛋白および抗体蛋白生成に関する研究の第 1 歩として、Greenberg の淋巴腺の intact cell suspension を用うる Lymphosarcoma 蛋白に対する C<sup>14</sup> Glycin 導入の研究ならびに定量的沈降法により免疫淋巴腺よりの生産抗体の沈降 N 量の存在することを認めた私達の研究に基づき以下の方法で C<sup>14</sup> Glycin の淋巴抗体に対する Incorporation の有無と速度に付て実験を行つた。即ち家兎に結晶卵白 Alb. で足蹠免疫法を行い膝腺淋巴腺を取出し、淋巴組織の cell suspension と C<sup>14</sup> Glycin を Incubate 後淋巴腺可溶性蛋白を抽出し核蛋白除去後、予め定量的沈降法で測定した最大沈降帯量の抗原を加え、沈降した抗体を TCA で洗滌し Lipid 除去後 Schneider 法で洗滌して蛋白量を測定すると共に、蛋白に含有される C<sup>14</sup> Glycin の放射能を thin mica geiger counter で測定し導入量を protein 当りの C<sup>14</sup> γ 数としてあらわした。その結果 C<sup>14</sup> Glycin は反応時間の進むにつれ、抗体に導入されることが明らかとなった。また淋巴腺の可溶性蛋白にも C<sup>14</sup> Glycin の導入が見出されるが、抗体に対する導入量は淋巴腺可溶性蛋白に対する導入量より多少上廻るようであった。また免疫した淋巴腺蛋白に対する導入量は相当の速度であることも見出された。本導入は Dinitrophenol の添加で完全に阻害され、また lyophilize した場合にも相当の阻害があることが見出された。現在 Homogenate を用いて研究を行つており、また、抗体量の生産および物理化学的研究法を併用して本実験を行っている。全身免疫法による脾臓を用いた時も定性的に殆んど同様の結果を得ることができた。

## 16B I<sup>131</sup> 抗原および I<sup>131</sup> 抗体の生体内導入に関する研究

岡山大学公衆衛生

緒方 正名・望月 義夫

1) 沃化 I<sup>131</sup> 結晶卵白 Alb. と対応家兎抗体との沈降

物の放射能を測定して、抗体過剰域では付加抗原が全部沈降物中に存することを認めた。2) 結晶卵白 Alb. (EA と略) に  $I^{131}$  を微量ラベルしたものを抗原とした場合も 1) と同様であり、本例では抗原の特異性は失われぬようである。3) EA と  $I^{131}$  家兎抗体  $\gamma$  Glob. との反応では、沈降物の放射能は沈降 N 量に比例した。4) 更に 3) の沈降物を前報のごとく Pepsin 消化することによつて、70% の純度を有する  $I^{131}$  抗体を作り得た。3) および 4) の蛋白を海狸に注射して放射能を測定して被働性感作および異種蛋白導入実験とした。5) 即ち皮下注射法は静脈内注射法より血中最高曲線が多少遅れ、また  $I^{131}$  尿排泄曲線は  $I^{131}$  蛋白血中曲線と殆んど平行し、組織導入曲線は血中曲線と異り殆んど 30 分後に最高値を示し、単位臓器重量当りの導入量は脾、肝、腎、肺、腸の順であるが、全臓器では、肝腎肺脾の順であった。Schneider 法による Mitochondria 分層 (Mw) に対する導入量は非常に多く、溶性組織蛋白に対するものは殆んど存しなかった。Mw 導入量は一定時間後最高値を示した。Incubate 法でも同様の結果を得た。6) 蛋白を Pepsin, Trypsin で酵素水解を行った時およびアルカリ部分水解を行った時の前および後に  $I^{131}$  をラベルすると  $I^{131}$  蛋白の血中残留量は native の場合に比して減少し、尿排泄  $I^{131}$  量は初期に増加した。7)  $I^{131}$  同種蛋白は  $I^{131}$  異種蛋白に比して血中  $I^{131}$  蛋白残留量が多く、尿排泄  $I^{131}$  量少く、肝 Mitochondria 分層の吸着性の少い特徴があった。8)  $I^{131}$  抗 EA 蛋白感作後 EA 抗原を注射すると血中抗体の速かな消失と回復曲線が得られ Histamin Shock では陰性であった。9) 抗体が不溶性または不溶性物質に吸着された時、即ち細胞核 Mitochondria 等における抗体活性度を研究するため  $I^{131}$  抗原と反応させた後吸着された  $I^{131}$  抗原量を放射能より測定する方法を考案し同位元素結合反応と名付けた。本反応は能働性免疫家兎肝細胞および肝 Mitochondria に陽性であり、付加抗原の増加と共に吸着量は増加する。それ故これらの顆粒に抗体が吸着されて存する可能性が存する。細胞浮游液で  $I^{131}$  抗原吸着量を調べた結果では、脾淋巴腺肝肺腸腎の順であり、網内系細胞に多くの吸着が証明された。

## 16C. 輸血後における血清蛋白像の変動とそれに対する血清絮数反応および不安定性反応の態度について

東邦大学医学部医化学教室

高田 蒔・畑下 敏行

益子 智貞

肺葉切除術、区域切除術もしくは肝剥出術の場合には

大量の失血を伴うので、それに応じて大輸血 (1000~2000 cc) が行われる。演者はかかる場合に、術前、手術の翌日、術後 4 日目、1 週間目、2 週間目、3 週間目および 4 週間目に採血し、その血清について濾紙電気泳動法、絮数反応および不安定性反応として高田反応、硫酸カドミウム反応ならびにウエルトマン反応を施し、経過を追うて観察したところ、何れの症例においても共通する興味ある所見をえた (観察例は 17 例)。

即ち血清蛋白像では早い場合には手術の翌日、最も多くは術後 4 日目に  $\alpha_2$  が著明に増加し、それと共に Alb. と  $\beta$  は著しく減少するが、 $\gamma$  の量は増減不定であり、 $\alpha_1$  は  $\alpha_2$  の著増に伴ってかなり増加する場合が多い。 $\alpha_2$  が最も多く増す時期は術後 1 週間目である。 $\alpha_2$  の増加と同時に血清絮数値はかなり高くなり、それと共に特有な“微濁遅延反応”を示すに至る。またそれまで陽性であった高田反応は陰性となり、なおカドミウム反応は著明に陽性を呈し、殊にウエルトマン凝固帯は極端に短縮し、術後 4 日目からは 1 本も凝固しなくなる。

然るに術後 2~4 週間目、平均 3 週間目からは  $\alpha_2$  は原値にもどり、絮数の遅延反応も消失し、カドミウム反応は陰性となり、凝固帯は再び 1~3 の程度にまで戻る。

右の所見は大輸血の量と平行し、中量の輸血 (300~600 cc.) では見られない。この所見は手術、即侵襲とは直接関係なく、専ら大輸血と関係し、新鮮血液や保存血液とは無関係である。

(シムボジウム 1~4 は本誌 2, 167~198 頁を参照。)

## 21, S5. 人工接種による伝染性単核症の血清蛋白分画について

九大医・第一内科

操 坦道・遠藤 延喜

小林 讓・河村 和坦

麻生 正子・山崎 博愛

私共は、小林が分離した伝染性単核症の病毒を篤志家に接種して発病した 6 例について、その血清蛋白分画像を濾紙電気泳動法で研究し、併せて各蛋白分画と Paul-Bunnell 反応との関係について検索した。

病毒の接種は皮下注射、皮内注射、経鼻吸入のいずれかによつた。

Paul-Bunnell 反応および牛赤血球、モルモット腎による吸收試験は型のごとく実施した。

濾紙電気泳動法は昨年本会に発表した方法によつた。各蛋白分画の分離精製は、血清に終濃度 16% になるように亜硫酸ソーダ溶液を加え、上清はそのまま、沈澱は 16% 亜硫酸ソーダ溶液で洗った後、蒸留水に溶解し



た後で、コロチオン膜で限外濾過して、蛋白濃度が全血清にはほぼ等しくなる程度に濃縮した。

以上のような方法で、病毒接種前から経過を追うて研究した結果、次のことを認めた。

1. 本症極期においては病毒接種前に比して、アルブミンの減少、グロブリンの増加、A/G 比の低下が、発熱と共に起り始め、下熱におくれて最高度に達したる後、次第に回復する。
2.  $\gamma$ -グロブリンの絶対量と Paul-Bunnell 反応の抗体価との間には正の相関関係があり、その抗体は  $\gamma$ -グロブリン分画位に存する。

## 22, S6 百日咳菌およびコレラ菌の抗原抗体反応 (追加)

徳島大学医学部細菌学教室

田中 三郎・吉田 長之  
 福家 勇・高石 憲治  
 角谷 公・西野 健二  
 福井 公明・河野 晃

橋本 忠世・手川 治助 (電子顕微鏡室)

1. 百日咳菌の赤血球凝集性: 3,000 million/c.c. の Cell wall (以下 C.W. と略) およびこれと同数の菌体に相当する Plasma (以下 Pl. と略) について赤血球凝集性を検討した結果、赤血球凝集素は Pl. 中に存在して C.W. にはないことがわかった。なおその凝集素は 56°C 30 分では破壊されないが 60°C 30 分では少し破壊され 100°C 30 分では完全に破壊されるのを認めた。従って本凝集素はかなり耐熱性のものであることが推定できる。

2. 百日咳菌の皮膚反応: 100 million/c.c. の C.W. を生理的食塩水に浮遊したものとそれに相当する Pl. 溶液をそれぞれ 10 倍希釈して、各々 0.25 c.c. 宛健康家兎の皮内に注射して発赤の強さを測定した結果 10 mm 以上を陽性とすれば、C.W. 溶液では 128 倍迄陽性であったが Pl. ではすべて陰性であった。また C.W. 生理的食塩水浮遊液を 56°C 30 分、100°C 30 分加熱したものも陽性の結果を得た。従って皮膚反応誘起物質は C.W. に多く含まれ且つそれは耐熱性のものであることがわかった。

3. 百日咳菌の感染防禦試験について: 本菌の感染防禦抗原が C.W. に存在するかまたは Pl. に存在するかについてマウスで実験した結果本抗原は C.W. に存在し Pl. にはないということがわかった。

4. 百日咳菌ならびにコレラ菌の opsonin index と凝集素価の変動: 百日咳菌、コレラ菌共に C.W. ワクチンおよび Pl. ワクチンで免疫した家兎血清のオプソニン

価は免疫期間の長くなるにつれて増加し、凝集素価の上昇と比例する。然し C.W. ワクチンで免疫したものが Pl. ワクチンによるものよりオプソニン価の上昇が強い。但し 0 抗原による免疫ではオプソニン価は上昇しない。

5. コレラ菌の C.W. ならびに Pl. で免疫した家兎血清蛋白分層の変動: C.W. ワクチン、Pl. ワクチン共に初回注射によって、 $\gamma$  グロブリンは僅かに増加するがそれ以後はむしろ減少の傾向を示めし、65 日間免疫しても著明な増加を認め得なかった。

6. コレラ菌の試験管内溶菌現象: 抗 C.W. 血清では  $10^2$  稀釈では集落の発生を見ないが  $10^3$  では 1 個、 $10^4$  では 4,529 個の集落を認めた。抗 Pl. 血清では 10 倍稀釈で既に無数の集落が発生した。従ってコレラ菌の溶菌現象に関与する抗体は C.W. 抗原に由来するものと推定される。

## 23, S7 ネズミチフス菌細胞膜の抗原抗体反応 (追加)

徳島大学医学部細菌学教室

福家 勇・吉田 長之  
 田中 三郎・高石 憲治  
 角谷 公・西野 健二  
 福井 公明・河野 晃

橋本 忠世・手川 治助 (電子顕微鏡室)

マウスにチフス性疾患を起すネズミチフス菌の Cell Wall (C.W. と略) が免疫反応株に感染防禦において、どのような役割を演ずるかということは、細菌に対する免疫反応の本質へ近づくつ 1 の研究課題として非常に興味のあることと思われる。我々は Bacterial cell より C.W. (細胞膜) を分離することに成功した (その純粋度は 95% 内外と考えられる)。この分離された C.W. をワクチンとして、マウスに対するネズミチフス菌感染防禦試験を行い、C.W.-ワクチン、C.W.-クロームワクチンおよび抗 C.W. 家兎血清が第一次性敗血症を防禦するのではないと思われる実験成績をマウスの各臓器よりの定量的菌検索および死亡率の 2 つの面から得た。しかしこれらのワクチンおよび抗 C.W. 血清がマウスのチフス性疾患を防禦するかどうかについては更に研究しようと思っている。

凝集原或いは免疫原株に耐熱性 0 抗原 (凝集原) では C.W. がどのような形態的像を呈するかは、この抗原の抗原性或いは免疫性に C.W. がどの程度に関与するかを知る 1 つの根拠とすることができるのではないかと考えた。そこで煮沸に対し全菌体株に C.W. がどのような変化を呈するかを電子顕微鏡的に観察し、この菌の C.W.

が煮沸二時により形態的に著しい変化を示すことを見た。しかし、この変化した C.W. の免疫原性 (抗原性) については研究中である。

この菌の抗 C.W. 血清の分離された C.W. に対する作用を電顕的に観察したところ、抗 C.W. 血清だけで C.W. は溶解する傾向を示した。この反応は補体が介在した時に更に顕著であった。この菌の C.W., Plasma で免疫した家兎血清蛋白分層と凝集価の変動をみ、 $\gamma$ -グロブリンおよび凝集価の上昇することを見た。

## 24, S8 細菌細胞膜の巨大分子

徳島大学医学部細菌学教室

吉田 長之・福家 勇

電子顕微鏡界の権威 Wyckoff が数年前から、巨大分子 (Macromolecules) という言葉をつかって、生物組織の微細構造を構成し、しかも、現在の電子顕微鏡 (EM) と略の分解能で見分けうる微小粒子単位を一応説明している。私共は、細菌細胞膜の E.M. 像をとってみると、この巨大分子という言葉をつかうのに適当な、120~140Å の微小粒子が存在しているのを認めえたので、この問題に関する私共の見解を述べる。

1. 細菌細胞膜の外層と内層の構成成分の差異 (*The Tokushima Journal of Experimental Medicine*, 1, No. 1, 8-12, 1954.: N. Yoshida, I. Fukuya et al を参照)

枯草菌の C.W. をとり、0.1% 燐タングステン酸 (pH 2) で処理すると外層は Rough であり、内層は Smooth である、ところが、燐タングステン酸で電子染色する前に、メプシンおよびトリプシンで C.W. を消化させておくと、外層の Rough は、内層と同じように Smooth になる。このことから外層は蛋白成分が主体で、内層は Polysaccharide が主成分であろうことが推論される。

2. C.W. を構成する巨大分子 (120~140Å) の配列状況

C.W. をとり出して無処置のまま EM にかけて、Staphyl. aureus, B. subtilis 等は 120~140Å の粒子が aggregate の状態で並んでいるが、判然とした Hexagonal Pattern は見られない。ところが、Staphyl. E. coli 等を 1 N. HCl あるいは Aq. d. で 100°C 15 分加熱することにより、繊維状に巨大分子が配列している未報告の EM 像をえた。これらの 1 列にならんだ巨大分子は 3 列にきれいに配列していることもある。列と列とのあいだがどのようになっているかは今のところ不明である。1/1000 N-NaOH で 100°C, 15 分加熱した時は繊維状配列は全く認められず、散在した比較的大きく、不正の粒子がみられ、その間には物質欠損がある EM 像をえた。

## 25, S 赤痢免疫血清の電気泳動学的研究 (第3報)

北里研究所

羽賀 正・村島 英世

赤痢患者より分離した鈴木株 (sh. flexneri 26) の酸凝集 A 性型菌 (S 型菌)、酸非凝集性 N 型菌 (S 型菌) と R 型菌に就いて研究し次の結果を得た。

1) A 型菌と N 型菌は抗原的には 1 相菌に属し、R 型菌とは抗原的には差異がある。糖分解能は 3 者間には殆んど差異がない。

2) 分離直後の赤痢菌は A 型菌であって、その形態は球形を呈しているが、人工培地に異代培養すると N 型菌に変異し、形態は楕円形または桿状になる。更に R 型に変異すると食塩水に凝集するようになり、形態は殆んど長桿菌のみとなる。

3) A 型菌、N 型菌および R 型菌の菌体を分割してその分割物の酸凝集性を見るに、A 型菌は各分割共に酸に凝集するのに、N 型菌および R 型菌のそれは凝集しない。

4) A 型菌と N 型菌で免疫した血清は蛋白分布に同じ傾向を示す、且つ吸収試験の結果もその間に差異がないが、R 型菌で免疫した血清は S 型菌のそれに比して  $\gamma$ -globulin の増加が著明でない。また吸収試験からも抗体に差異を来している。

## 26, S10 感作赤白血球の電気泳動について

京都府立医科大学細田内科

丸本 晋・大久保 彰

小川 三郎・安井 康夫

感作赤白血球凝集反応の機作の一端を究明するため、種々の要因により感作せられて被凝集性を示す血球と正常血球との間に如何なる相異があるかを調べる目的をもって、先ずその表面荷電の変化を検討した。大体 Northrop および Kunitz に倣って自製した泳動槽を 25±1°C の恒温槽中に納め、電極は寒天橋を用いた不分極電極を使用し、照明は暗視野装置を用い、液層中の底面より 1/5 の高さにある赤白血球のみ鮮鋭なピントを当てて、その 1 ヲの赤白血球が 6 mA の電流を通じた時、顕微鏡の接眼鏡に挿入したマイクロメーターの目盛りにて 120μ の区間を泳動する時間を測定した。健康ヒト血球はほぼ一定の値を示す。人、ニワトリ、ウサギの順に遅い。Medium に Buffered saline を用いると酸性に傾くに従って遅い。Medium に食塩水を用いると相当する pH の Buffered saline 中でのほぼ一致する値を示す。以下同一 0.

型ヒト血球を生理的食塩水に浮遊せしめたものにつき測定し  $\mu$ /秒 の値で検討した。

- a) 正常同種赤血球凝集反応
- b) チフス感作血球凝集反応
- c) クリスタル紫による血球凝集
- d) インフルエンザ B ウイルス (Lee 株) による血球凝集反応

において

- 1) 感作された赤血球はすべてその表面荷電の低下が証明され
- 2) その低下は a) および b) においては血清階段稀釈および血清を作用させる時間の両面において, c), d) においては感作物質の階段稀釈において凝集像の認められない程度の感作物質の付着によりすでに現れ始め
- 3) 低下の程度は凝集の程度にはほぼ平行した。

そこで感作赤血球凝集反応の機作にはその表面荷電の低下が重要な役割を演ずるものと考えられる。

### 27. 猩紅熱および泉熱の電気泳動的の研究 (第1報)

北里研究所

飯村 達・村島 英世  
羽賀 正

猩紅熱と泉熱の鑑別は臨床的には或程度可能であるが、生物化学的診断については全く未踏の域を脱しない現状である。この見地より両者の血清蛋白分層と肝機能とを併せ観察して、鑑別診断の一助となし得るか否かを検査したのでその1部を報告する。

**実験材料:** 定型的猩紅熱 10名、泉熱集団発生病例 7名、対照として健康人 5名である。猩紅熱、泉熱共に病初より1週間おきに3回検査した。

**実験方法:** 本会規定に従い、蛋白濃度は日立蛋白計により、泳動は日立製 HT-B 型チゼリウス装置を使用した。

**実験成績:** 1) Alb. は猩紅熱、泉熱共に病初より漸次減少を示し、A/G は両者共週を追うて低下する。

2)  $\alpha$ -Glob. は猩紅熱・泉熱共に病初より増加し、猩紅熱は第1週に最も高く、泉熱では目立った増加がない。

3)  $\beta$ -Glob. は両者共漸次増加する傾向であるが、猩紅熱では2,3週目に対照値を上廻る。

4)  $\gamma$ -Glob. は両者共漸次増加してくる。

以上の成績を平均値による有意の差の検定を行った。その結果は、

- A) 猩紅熱と健康人: Alb. と  $\alpha$ -Glob. は1週より3

週まで、 $\beta$ -Glob. は第2週において有意の差がある。

B) 泉熱と健康人: Alb. と  $\alpha$ -Glob. は2,3週目に有意の差がある。

C) 猩紅熱と泉熱: 両者共に健康人に対して夫々有意の差を認めたが、両者間には殆んど差がない。

#### 肝機能との関連々係

肝機能検査は蛋白代謝機能を中心に検査しつぎの相関関係を得た。

1) 猩紅熱および泉熱の Alb. の減少はブロムサルフアレン試験および尿ウロビリノーゲン反応と傾向を同じくする。

2)  $\beta$ -Glob,  $\gamma$ -Glob. は両者の高田氏反応、クンケル試験、チモール濁濁反応と、および猩紅熱のヨバルト反応と傾向を同じくする。

### 28. 骨関節結核症における血漿蛋白像の変動について

国立埼玉療養所

松島 良雄・吉沢 繁男  
綿引 定昭・浅葉 義一  
八田 永

結核性疾患の血漿蛋白像の変動およびその意義を追求しているが、今回、骨関節結核症につき検討した。対象は当療養所入所中の骨関節結核患者中、他臓器に結核性疾患を合併せざる28例につき、電気泳動法にて検索、蛋白濃度は日立蛋白計を用いた。

1) 全例を病状により最盛期群 16例、および鎮静期群 12例に分け比較したが、蛋白像の変化として、Alb. A/G の減少、総蛋白量、総 Glob. 就中  $\beta$ -,  $\gamma$ -Glob. Fib. が増大するが変動の程度は最盛期群に著明である。

2) 全症例を瘻孔、膿瘍の有無により分類した所、瘻孔、膿瘍を有する群の大多数は最盛期に、無き群の大多数は鎮静期に属し、瘻孔、膿瘍の有無による差異は1)におけると同様であった。

3) 瘻孔、膿瘍を有する例、無い例を夫々、骨関節病巣の広い狭いにより分類検討したが、病巣範囲の広い狭いによる差異は認められなかった。

4) 瘻孔、膿瘍保有例を混合感染の有無により2分し検討した所、混合感染群は A/G が小、総 Glob. の百分率および濃度の増加を認め、特に  $\gamma$ -Glob. 量の増加が主役を演じている。

5) 骨関節結核症に対する外科的療法を行った症例を経過の良否により、A群——著明な好転をみた症例で、関節廓清術4例、脊椎固定術2例、計6例、B群——比

較的良好な経過をとった症例で脊椎固定術5例。——C群——病巣経過のはぼ不変な症例で脊椎固定術5例、を術前術後1, 3, 6 カ月日につき検討した。なお、手術例ではすべて肺結核患者の胸廓成形術で得た結核患者の保有肋骨の移植術を併用した。脊椎固定術にては術前値で特に Alb.  $\gamma$ -Glob. が正常値に近い例程良好な経過を示す。術後経過の好転した A 群は Alb. が漸次増加し、総 Glob. 就中 Fib. が減少し、A/G が大となる。

## 29. 尿の蛋白分画に関する研究

九州大学医学部第一内科

遠藤 延喜・吉浦 嘉照

1694 年 Dekker が尿に酢酸を加えて煮沸することにより、尿中にも蛋白が排泄されることを発表して以来、尿白尿に関しては数多くの報が告あるが、尿中蛋白の出現機転ないしは由来に関しては何れも仮説的で、殊に尿蛋白出現機転に関しては全く明らかでない。私達は腎炎、ネフローゼ、高血圧症等の各種蛋白尿疾患患者について、濾紙電気泳動法を応用して血清および尿蛋白分画像を検し、更に推計学的な考察を加え、各種疾患による血清および尿蛋白分画像の相違および濾出機転について若干の知見を得たので報告する。即ち

1) 尿中に出現する蛋白分画は、アルブミン以外に各グロブリン分画の存在することを確め、血清蛋白分画と質的差異を認めなかった。

2) ネフローゼの血清では特有な A の減少、 $\alpha$ - $\gamma$ 、 $\beta$ - $\gamma$  の増加殊に  $\alpha_2$ - $\gamma$  の著明な増加、 $\gamma$ - $\gamma$  の軽度増加を認め、尿蛋白においては、A の出現が最も多く次いで  $\alpha_1$ - $\gamma$  で  $\gamma$ - $\gamma$  は最も少かった。

3) 高血圧症、腎炎患者の血清および尿蛋白分画像においては両者の間に差を認めなかったが、正常健康人に比して何れも A の減少、 $\alpha_2$ - $\gamma$ 、 $\gamma$ - $\gamma$  の増加を認め、尿中に出現する蛋白は高分子の蛋白分画部即ち  $\beta$ - $\gamma$ 、 $\gamma$ - $\gamma$  の出現がネフローゼに比して大であった。

## 30. 組織損傷時の血清蛋白分層の変動について

慈恵医大生理杉本研究室

宮沢 鉄郎

組織傷害時に血清蛋白質に変動が見られるか否かを血清の総蛋白濃度の測定ならびに各蛋白分層の電気泳動的の研究によって検討した。

被検者には単純骨折2名、複雑骨折1名、熱傷1名計4名を選び、受傷日から1週間毎日採血、更に1週間後

に1回計8回採血して、受傷後2週間の血清蛋白分層の変動を観察し、受傷第2日目に血清蛋白分層の変動が最も著明であることを認めた。

従って更に組織損傷者16例を追加し受傷第2日目の血清蛋白分層の平均値と正常値とを、特に骨折の有無、単純骨折と複雑骨折に分けてその結果を比較し、次の成績を得た。

血清蛋白分層の変化として特筆すべきことは Alb. に  $f$ -peak を認めたこと、 $\alpha$ -Glob. に peak の出現することであったが、受傷後2週間を経過すればいずれも正常泳動図に復帰した。

総蛋白濃度は受傷日から減少し、以後漸増し正常値に近づく。

また各分層の濃度、濃度比は何れも第2日目に Alb.、 $\alpha$ -Glob. の著明な減少と  $\beta$ 、 $\gamma$ -Glob. の著明な増加が見られ、以後  $\alpha$ -Glob. Alb. の順に増加してくる。

骨折の有無による比較では挫傷(創)に骨折が加わると Alb. の減少、 $\gamma$ -Glob. の増加がみられ、単純、複雑両骨折の比較では骨折に挫滅が加わると  $\beta$ -Glob. の増加することを認めた。

以上の成績から損傷局所に炎症が存在するために体液交流の障害、正常濾過平衡の失調により血清蛋白質は血管以外に透過拡散すると考えた。

この際分子量の小さな Alb. は拡散し易いために損傷早期に血管外に脱出し、1週間後に恢復する、

$\beta$ -Glob. は Lipid 等の添加により増加し、時には  $\beta$ -peak の出現となって現われ、 $\gamma$  は組織破壊産物として比較的早期に増加するものと考えた。

## 31. 熱傷時における血漿蛋白分層の変動について

慈恵医大生理杉本研究室

S. Y. DUER

犬の後肢を 85°C の熱湯に10秒間つけて受傷せしめ、患肢の股静脈より受傷直前、受傷直後 2.5, 24 および 48 時間の4回に互り採血し、Hematocrit 値(H)、血漿総蛋白濃度(T.P.) (ピカレット反応)、血液水分量(B.W.) (黒田氏法)、ならびに血漿蛋白分層の電気泳動的観察を行い、つぎの成績をえた。

1) 熱傷犬の T.P. と H. はほぼ平行し、2.5 時間後には稍々上昇、以後時間の経過と共に漸次減少した。

2) B.W. は 2.5 時間後には著明な変化を示さなかったが、以後増加し、H. および T.P. と鏡像を示した。

3) 血漿蛋白分層の変動は受傷直後から Alb. の減少と  $\alpha$ -Glob. の著明な増加を認めた。なお  $\beta$ - $\gamma$ 、 $\gamma$ - $\gamma$  分層

は明瞭に分離しなかつたので、これらの總和を求めて観察したが、著変を認めなかつた。

4) つぎに全身の毛細管透過性を抑制する目的で Cortisone を 1 日 1 回 25 mg ずつ 3 日間に互り筋注を行いながら同様の実験を行ったが、Cortisone 非投与の場合と殆んど同様の結果を得た。

5) 以上の成績から熱傷時にみられる血漿蛋白の変動は主として熱傷部位に起る物理的、ならびに化学的变化によって局所毛細血管の透過性が亢進する結果、受傷当初に水分の血管外脱出がおき、次いで水分と共に血漿蛋白質の一部、殊に分子量の小さい Alb. が血管外に脱出して行き、その代償として  $\alpha$ -Glob. の増加がみられるものとする。なお  $\alpha$ -Glob. については  $\alpha_2$ -Glob. の増加することも確認できたがその理由については現在のところ不明である。

### 31A 血清濾紙電気泳動図について ——蛋白, 糖, 脂肪染色の試み——

大阪大学医学部第 1 内科

藤田伝太郎・鷺見富士雄

吉川 巖・熊原 雄一

福本 哲也

血清濾紙電気泳動を Barbitol-HCl 緩衝液, pH 8.6,  $\mu$  0.65 にて行い蛋白, 糖, 脂質を夫々 Solar Blue Black extra conz., 過沃度酸, シッフ氏 (PAS) 試薬および Sudan Black B を用い染色し濾紙光電光度計を用い直接測定した。

正常例では PAS 染色により蛋白分画に相当する夫々の分画を認め、脂質染色により、 $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ -Lipoprotein および  $\gamma$  域が染色されるのを見た。

閉塞性黄疸 (Biliary cirrhosis) の例では  $\alpha_1$ -Lipoprotein peak の著明な低下、 $\beta$ -peak は著明な増加を示し、Wilson 氏病例にて蛋白  $\gamma$ -Glob. 増加と共に糖質  $\gamma$  の著しい増加、 $\alpha_1$ -Lipoprotein は殆んど正常、 $\beta$ -Lipoprotein は著明に低下、肝炎例では蛋白  $\gamma$ -Glob. 軽度増加、糖質  $\beta$  やや高く、脂質  $\alpha_1$ -peak の低下を認めた。

関節リウマチ例にては蛋白  $\gamma$ -Glob. の増加、糖質  $\alpha_2$  の上昇、脂質では出発点より  $\beta$  かけての濃染、肺結核例では蛋白  $\alpha_2$  および  $\gamma$ -Glob. の増加、糖質も  $\gamma$  高く、Sarcoidosis 例にて蛋白  $\gamma$ -Glob. 増加著明、糖質は  $\beta$  および  $\gamma$  分画に増加を認めた。

ネフローゼ例にて蛋白は Alb. 減少、 $\alpha_2$ ,  $\beta$  の著増、糖質では Alb.  $\alpha_1$  が低く、 $\alpha_2$  著増、脂質では Alb.  $\alpha_1$  低下、また正常と異り蛋白  $\alpha_2$ ,  $\beta$  間に著明な peak の出現

を見た。

Basedow 氏病の例では脂質は全体として低く特に  $\beta$ -Lipoprotein は低下していた。

Polycytämie: 蛋白  $\gamma$ -Glob. の増加を認め糖質においても  $\gamma$  の増加を認めた。

Myelom: Alb. 減少、 $\beta$ ,  $\gamma$  間に M-Fraction ( $\beta_2$ -Glob.) 出現、糖質もこの部分に著しい増加を認めた。しかるに脂質においては M-Fraction に相当した peak を認めず更に  $\beta$ -Lipoprotein と思われる peak は正常より稍々早く動き蛋白  $\beta$  が現われまた  $\alpha_1$ -Lipoprotein の低下を認めた。

なお上記濾紙電気泳動と同時に Free Electrophoresis をも行い比較観察した。

以上私達は血清蛋白泳動濾紙に蛋白, 糖, 脂質染色を行い諸種疾患に際し興味ある事実を観察し、より詳細な血清蛋白像の理解に本法の有意義なことを認めることができた。

### 31B 血清蛋白結合 Polysaccharide および Lipoprotein について

東京医科歯科大学歯学部生化学教室

小林茂三郎・村井 京子

従来血清蛋白質については Tiselius 法により詳細に検討されているが、血清中の polysaccharide や lipid の研究は比較的少ない。

我々は濾紙電気泳動法により血清を泳動し、同一濾紙上の泳動図について蛋白質, Polysaccharide および lipid を夫々 Amidoschwarz 10B, Hotchkiss の過沃度酸—Schiff 試薬および Sudan Black B により染色し、これを直接光度計によって測定した。その結果 polysaccharide および lipid は染色条件になお問題があり、直ちに定量的な扱いをすることは困難であるが、Hotchkiss 法陽性物質ならびに Sudan Black B によって呈色する lipid は何れも血清蛋白分層と同一の位置に存在し、例えば腎疾患、肺結核などの場合には健康人とはかなり著明な相異が認められた。

以上の実験において、濾紙は Whatman No. 1 を主として使用した。従来用いてきた東洋濾紙株式会社 No. 50 は吸着性が強く、最近発売された同社の No. 51 は Whatman No. 1 に比較的近い性質を有し蛋白質などの実験に使用し易い。

## 31C 蛋白系ホルモンと蛋白分解酵素の物理化学的観察

群馬大学内分泌研究所

滝川 決男

蛋白系ホルモンの検定法に物理化学的方法を応用しようとする目的から基礎的な研究を行っているが、牛耳下腺より抽出した唾液腺ホルモン(パロチン)に蛋白分解酵素を作用させて一定時間毎に経過を電気泳動法により観察し、同時に紫外線スペクトルおよびポーラログラフによる分析を行いその変動を検討した。

### 1) トリプシンの作用

0.05 M 磷酸緩衝液 (pH; 8.08,  $\mu$ ; 0.14) 中でトリプシンを作用させて一定時間毎に試料を採取して電気泳動を行い、図形の変化を観察した。30 分後に 3~5 ケの小分峰が出現し主分峰面積は 120 分迄急激に減少して終に一定値に達する。紫外部吸収の吸光度は処理時間の経過と共に始め増加し、120 分後には吸収極大が変移し吸光度は減少を示す。ポーラログラム波高も同様な経過をと

り 120 分後に半波電位の変化が認められた。

### 2) ペプシンの作用

0.1 M 醋酸塩緩衝液 (pH; 2.00,  $\mu$ ; 0.1) 中でペプシンを作用させて同様に泳動を行った。処理時間の経過と共に 2~3 ケの分峰がみられ、主分峰面積は 120 分迄急激に減少し一定値に達する。紫外部吸収の吸光度の変化はトリプシンの場合と同様である。ポーラログラム波高の変動はトリプシンの場合と同様な傾向であるが、変動値は極めて大きい。

### 3) パパインの作用

0.05 M 磷酸塩緩衝液 (pH; 7.00,  $\mu$ ; 0.14) 中でパパインを作用させて以下同様に泳動を行った。処理時間の経過と共に泳動図形は偏平となるが、小分峰の分離は 120 分迄みられない。紫外部吸収吸光度ではトリプシン、ペプシンの場合にみられなかった 2 段の増加変動が示され、またポーラログラム波高にも 2 段の増加がありパロチンに対するパパインの作用はトリプシンおよびペプシンの作用と異なることが認められた。

## 第 6 回 電気泳動研究会総会に出席して

11月 20 日慶応義塾大学医学部北里講堂で行われた第 6 回の本会は非常に盛会裡に挙行された。日曜日であるにも拘らず早朝から 200 名近い聴衆が詰めかけ、夕刻まで熱心に討論がつけられた。約 25 題の演題が北海道から、関西から参じた熱心な人達により演ぜられ、追加討論が活発に交されて本会の研究会的性格が遺憾なく発揮されたのである。

血清反応について行われたシンポジウムでは先ず宮本教授が永年にわたる血清ゲル化反応についての研究を述べられ、ゲル化反応の条件特に pH がゲル化に及ぼす著しい影響を指摘され、又ゲル化の化学機構に適切な仮説を提供されて興味を唆った。

高田反応の発見者である高田教授は御自身の反応の機構と  $\gamma$ -グロブリンとの関係を深く追及され、一方コバルト、カドミウム反応等との比較、又それらの特異性についての講演を操りひろげられ、聴衆に深い感銘を与えられた。

ついで京都府立医大の細田教授は永年にわたり行われた血清諸反応の極めて広範な臨床的且つ基礎的研究を数十枚にのぼるスライドを使用しつつ滔々と述べられる大講演は壯観でさえあった。特に血清蛋白各分劃と用いられる試薬との対応についての御研究は略々決定的と思われる結論を出され、疾患診断における血清反応の役割について聴衆の得た知識は莫大なものであった。

口演会終了後慶大五味助教授の至れり尽せりの御準備による懇親会が催された、参加者は 60 名以上もあり、飲む程に談論風発、本会ならでは挙げられぬ懇親会本来の目的を十二分に果たしたのである。この経験から爾今本会は会員全員の参加できる懇親会を催し、特に遠来の方をねぎらおうと委員一同で話しあったのである。7 時頃であったろうか、会員一同石田教授以下慶大役員の方々の親身も及ばぬお世話に心から感謝しつつ散会した。

来年の総会は会長児玉桂三氏が学長をしておられる徳島大学で開催されることとなった。又今年のように学者の情熱に燃えた多数の発表が和やかな空気の中に討論される理想的な会合になることであろう。会員諸兄のもれない参加を期待したい。(H. H.)