

6. 血清蛋白に関する「ポーラログラフ」的研究 (第2報)

アルカリ変性について (続)

笹井外喜雄. 江川昌男

Polarographic Studies on the Alkaline Denaturation of Serum Protein. (II)

Tokio Sasai, Masao Egawa.

1. In the preceding paper we showed that the course of denaturation with serum protein implies two different successive processes (i. e. activation and inactivation), from the view point of polarographic protein study.

Now we succeeded to separate this two phases of denaturation into two independent reactions under a suitable temperature ; namely below 20°C the protein wave keeps almost constant wave span, while above this temperature it decreases rapidly.

Considering that the aim of Brdicka test is to find the total active SH of serum protein, it must be carried out at this lower temperature.

At higher temperature, it will be a new test for degradation of SH activity which has its certain clinical significance.

2. Owing to the blood proteose another new protein double wave can be obtained in the sulfosalicylic acid filtrate. Examining the alkaline denaturation of this filtrate in regard to time, we found in the majority of case (61 cases out of 66 cases of different sera) that the wave height was once minimized in 30'—60' after KOH addition (0.08N) and then raised, showing, therefore, an inverse relation to the case of serum protein. But in the remaining 5 cases, in which 3 was with nephritis, the proteose showed similar denaturation to that of serum protein. The reliability of these phenomena will be definite, because the results of repeated observation over 5 months of periods fell within a narrow range of values. From this fact, it may be said that the blood proteose of some persons, especially nephrotic, has a characteristic closely akin to the serum protein.

1. Brdicka の発見した「ポ」蛋白波は蛋白質の研究 就中臨床血液診断に新分野を拓いたが変性の基礎的條件が不十分であるため吾々は前報に於て血清蛋白の変性時の温度, 「アルカリ」濃度, 作用時間が蛋白波高にどの様に影響するかを実験した. その結果変性は Activation

と Inactivation の 2 相性におこることを見出して報告した。今回の実験の目的は両相を別個な反応として区別することである。先ず Fig 1 は 2 例の血清についての変性経過であるがその相違は血清の個性に基

くと思われる。而し同一人血清に於ても検査時により動搖があることを知つたので恐らく室温範囲の温度変動が重大な役割をなすものと考え $10^{\circ}\sim 37^{\circ}\text{C}$ 間の温度効果を比較した。成績は Tab.1 の様に 10°C 前後の低温では Activate された蛋白液は長時間後に於てもその変化は僅少に止る。之に反し $20\sim 37^{\circ}\text{C}$ の比較的高温では温度に比例し波高は速かに下降し 24 時間後は一様に 0 になる。この様に温度を適当に選ぶと第 1 相と第 2 相を区別する事が可能である。

Fig 2 の図形で見ると一定時間変性後における波高即ち Brdicka の反応値は $a-b$ であり、Brdicka の意図する血清蛋白内の active な總 SH 量という点より之は当然 a に相当し b がこの場合誤差である。従つて 30 分後検査する場合 $b=0$ で

Fig. 1

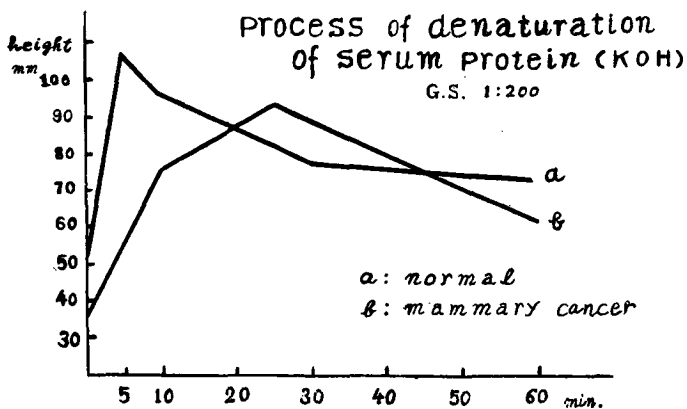


Fig. 2

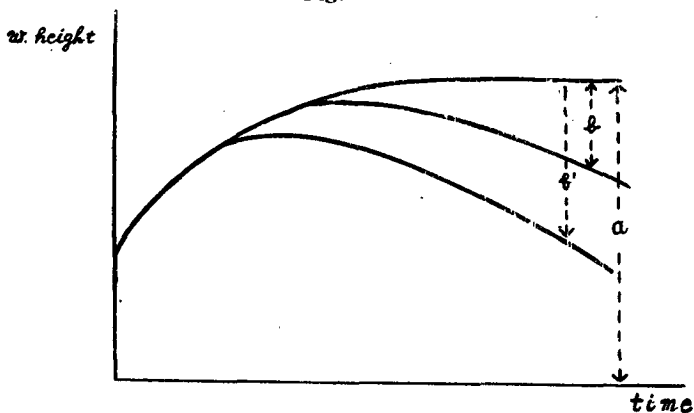
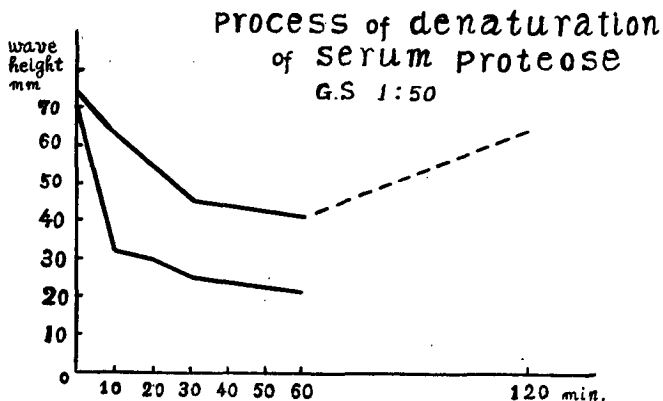


Fig. 3

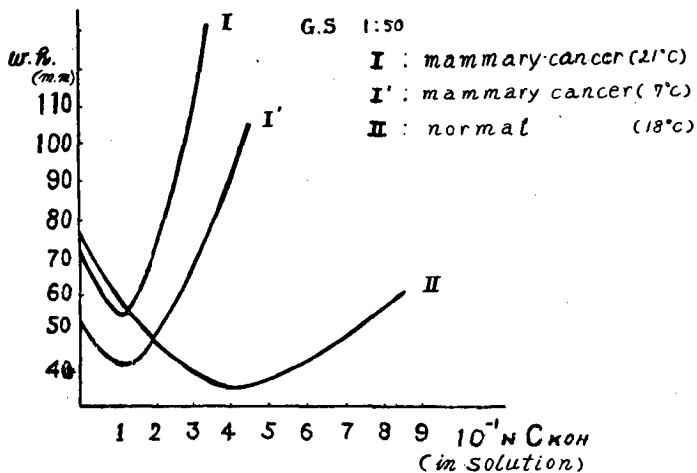


ある限界温度は約20°Cであることがわかる。別に活性化されたSHが再び消失する段階即ちbを目標とした新反応が成立する筈であるがTab.1からは protein Index と低温24時間値との間に或る関連が暗示されるに止り臨床的意義の発表は今後に期するより仕方がない。

2. Proteose の変性について

上述の変性過程の追求は血清蛋白のそのままの変性反応についてであるが臨床的にはより重要と思われるのは「ズルホサリチル」酸濾液中の蛋白波を検査する反応である。この濾液中には古くから問題になっている Proteose という分子量3万位の類蛋白体に相当するもの

Fig. 4
Serum proteose and KOH concentration



Tab 1. Effect of temperature on denaturation of serum protein

NAME	CASE	protein wave height			Temp. C°	Protein Index
		30min	60min	24hrs		
T. B	normal	85	86	82	11	1.2
		85	75	0	20	
H. K	acute arthritis	71	70	74	11	4.8
		70	65	0	25	
N. M	morbus Basedowii	70	79	75	10	
		68	58	0	28	
M. H	hepatosplenomegalie	67	65	59	10	0.7
		62	59	41	35	
A. M	nephrosis	41	41	50	11	12.4
		28	65	0	35	
N. Y	pulmonary tuberculosis	70	66	63	11	2.3
		54	47	0	37	

だと認められている。それ故現在の血清反應は変性した Proteose の検査であるが、かゝる変性操作が果して必要であるか又何を意味するかについて native の Proteose 波高(之をCとする)と変性波の波高(之をDとする)とを比較することが先決問題と思われる。之についての実験成績の一部を述べる。Proteose 変性の時間的变化一定稀釈の血清に KOH を加え 0.08N にし 120 分迄分割的に濾液の蛋白波高を見た 2 例の曲線を Fig. 3 に示した。0分の点が native の Proteose 量に相應し以後減少し 30~60分で極少となりついで再び 2 時間で上昇している。この曲線の形が Fig. 1 の蛋白の場合と正反対であるのが注目をひく。2 時間後上昇は蛋白の一部分が「アルカリ」

のため消化されて濾液内に移行するためと思われるが、何故かゝる経過をとるか不明である。たゞ時間の代りに「アルカリ」濃度を変数にとつても同型の誇張された曲線が得られる(Fig.4)事実から「アルカリ」作用であることに間違いない。図示の I, I' は同一例(乳癌轉移例)の温度による変化域である。I, II の 2 例の相違は血清の個性に基づくと考えられる。

更に私達の実験した66例の血清について上記の D/C をとつてみると大多数は兎に角この型を呈した。而るに 5 例だけがこの様にならず 30 分変性波が反つて上昇する例外型であつた。この結果がどれ位信用し得るかを知らるため相当長期間の経過を観察したが、かなり恒常値を得た。(Tab.2) 之によつて D/C は血液個性を表現するといふ得るだらう。C より D が大きいという型はむしろ蛋白変性曲線(Fig.1)に近似することから腎炎等では血清 Proteose は蛋白に近い性質を有すると考えられる。

最後に臨床的な C・D の意味を考えると單に D だけを検査する従來の方法は血清の場合と異りあまり意味がない、むしろ C の値の方が有意義である。而し D/C 比をとる時はじめて臨床的に價值があると考えられる。

終りにのぞみ本研究の御指導を賜はりたる恩師井上硬教授に深甚の謝意を表する。

Tab. 2

CASE	Date	Proteose(mm. G.S. 1:50)		
		C	D	D/C
Normal	14/ I	40	46	1.15
	13/ V	53	54	1.02
	22/ V	50	52	1.04
	5/ VI	64	66	1.03
Normal	3/ X	57	37	0.65
	20/ V	67	29	0.44
	23/ V	60	35	0.58
	5/ VI	61	35	0.57
Nephritis	7/ III	63	50	0.80
	15/ V	94	105	1.12
	19/ V	58	76	1.31
	27/ V	57	79	1.39

化学研究所報告第二十二集

文 献

- 1) 笹井, 江川 ; 本報告21集
- 2) R. Brdicka ; *Klin. Wochenschr.* **18** 305 (1939)
- 3) O. Müller, J. S. Davis ; *J. Biol Chem* **159** 667 (1945)

(昭和25年7月20日受理)