

## 6. 血清蛋白のポーラログラフ的研究 (第3報)

「アルカリ」変性の臨床的観察

笹井外喜雄・江川昌男

**Polarographic Studies on the Alkaline Denaturation of the Serum**

**Protein. (III). A Clinical Observation**

*Tokio Sasai and Masao Egawa*

(K. Inouye Laboratory)

For the clinic purpose, there are two polarographic protein reactions of different kinds, the one concerned with the serum protein itself and the other with the deproteinized filtrate. In the present paper our clinical investigation into various sera from 120 cases are dealt with concerning the former reaction. Here we have examined the protein waves from both native serum and from the denaturated one, and also their protein contents and fractions. The procedure has been described in one of the foregoing papers. The waves of pathologic serum or plasma are lower than those of the normal. Since this fact was under the influence of the two factors: i. e. the quality and quantity, and also the latter factor must be excluded, we first estimated a curve expressing the relationship between the protein content and its wave height for the normal serum. Then taking this curve as a basis of comparison, we evaluated each wave as positive or as negative in its corresponding concentration. In the most cases both waves, obtained from the native and the denaturated, changed concomitantly and the evaluation were moderately positive in the sera of cancerous, inflammatory, hepatic and other disease. The extremely low and highly positive waves were seen in the cases of severe hepatic disorders, nephrosis and leucemias.

In many of those cases, it was also found that the increasing effect of wave by alkali was extremely suppressed or occasionally almost disappeared. Especially in liver diseases this was so remarkable that there appeared a tendency among the evaluations of two reactions to be disaccordant. For example, in a case died of hepatic coma the wave of the denaturated was intensively positive, while the native remained negative. We are of opinion that this phenomenon (the impotency of the alkaline effect) is mainly the qualitative change in its nature and is principally caused by

hyperglobulinemia.

In fact, we demonstrated on the isolated protein from the normal individual that the globulin showed a very lower wave and was scarcely activated by the alkali, as compared to the albumin. Furthermore, in the greater parts of the 27 examined cases, the A/G ratio seemed to play a definite rôle. In only a few cases, however, this relationship between the wave and A/G ratio seemed rather looser and moreover in 4 cases including 2 cases of blood diseases this relationship was not found at all.

The further study must of course be concentrated upon this problem, although there may be no doubt that the polarographic protein reaction is one of A. G. reactions basically.

「ポーログラフ」蛋白波は二通の方法、即ち一つは血清蛋白の波として他は除蛋白濾液内の「プロテオース」の波として臨床血液診断に用いられ、癌特異診断法ではないまでも明らかに價値あるものである。前者の反應で現在分つている經驗的事實は、一定稀釈の血清の蛋白波が癌や種々の炎症時には健康人のそれに比べて著しく低いという事だけでその本態については不明のまま残されている。私達は先きに血清蛋白の量及び質の兩變化に基くことを述べたが<sup>1)</sup> 本報告では硫酸銅法や kijeldahl 法による蛋白の測定を多数例で比較してこの問題を一層進展させた。亦変性操作による時間的變化に興味あるので<sup>2)</sup> 各症例の觀察に於ても生血清と変性血清の波との比較を行つた。検査は従來の方法に従い 2.9 倍の血清稀釈を N/12KOH 中常溫で 30 分間作用をさせたものと同濃度の生血清を各々 0.1cc づゝ別の電解瓶 (open beaker) にとり之に 20c.c の一定濃度の cobalt のアンモニヤ緩衝液 ( $\text{COCl}_2 1.6 \times 10^{-3}\text{M}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl} 10^{-1}\text{M}$ ,  $\text{NbH}_4\text{Cl} 10^{-1}\text{M}$ .) を加えたうちに  $-0.8\text{VOH}$  より polarogramm をとる。そして得た蛋白波の第 2 の極大について boalt 波の高さより Osillation の中点迄を mm で計つた數値を蛋白波の波高とする。(詳細は他文献<sup>3)5)</sup> にゆづる) 之等の操作については溫度條件<sup>2)</sup> 以外は格別困難はないが問題は血清蛋白量の個性差を除外し得る規準法である。之に対して私達は健康人血清による濃度と波高の關係を繰返し検査しその平均を以て規準曲線とし各血清の蛋白濃度に應ずる点でその波高がこの曲線の値よりどれだけ低いかにより  $+_1 - +_3$  迄區別し判定とした。Fig. 1, a, b はこの規準曲線である。1 年の間隔で行つた冬季の實驗値は一致し夏季のものは変性 10 分間値はやゝ高く出ている。而し 30 分値は変性第 2 階段の下降<sup>2)</sup> がおこり前者に一致している。従つて臨床的には溫度條件は無視し得る。但し生血清ではやゝ高い。(こゝではなるべく夏季の成績をさけた。)

臨床成績：この様にして試験した約 120 例のうち 50 例の成績を、生血清の波高の順に配列したのが Tab. 1 である。即ち健康者はいづれも陰性であり疾患時ではその重篤性に平行して陽性度が高く且つ強くなる。(癌、炎症、肝、腎疾患等)。こゝでは諸種疾患の態度やその

過, 或いは他の臨床諸反應との相関性等について立入る事をさけ以下の事実だけ強調する。

1. 生血清と変性血清との比較。

両波高を較べると多く平行的である。之は各血清の蛋白量によつても左右されているから之を規準曲線で除外したのが判定欄で之は質的変化だけを示す。本欄ではその順位が變つてゐる。この事は波高がたゞちに質的変化を代表するものではないためである。亦表中の兩判定も多く平行的である。従つて血清蛋白の質的変化は変性せずにも既に認められる事が多い事を示す。而しながら一群の症例では両波の變化の相関性は少いか、時には反対である。例えば最も著明な一例は hepatic coma で死亡した No.14, No.15 の例に見られる様にその判定が生と変性とで正反対を呈している。之はアルカリ変性によるも波が極めて増大し難いことを表している。其の他 No.25, No.44, の例の様な重症肝臓病や No.43 Retikulosarkom にもかゝる傾向がつよい。

又生血清の波が極めて低い様な時にも (No.50, No.45) 変性効果の消失が見られるから之は悪性の徴表であり、肝臓病では globulinemia と平行的の様である。注意を要するのは健康血清でも高度に稀釈すればやはり変性効果は少なくなることだが上記の病症例は勿論蛋白量から見て之に該当せず血清蛋白の高度の質的変化の存在を暗示している。たゞ Nephrosis 等では強い低蛋白症があるから量的要因も考慮を要する。

Tab. 2 は予め蛋白量を補正したものと比較した例である。以上の様に蛋白量の本反應における影響は大きいから今後の実験ではこの様に始めから補正してかゝる必要がある。

2. Albumin 及び globulin との関係。

「ポ」蛋白波よりみた血清の上記の變化は何に基くか? 「ポ」蛋白波は現在蛋白の SH 又は S-S によるというのが定説<sup>4)</sup>であり一方 Albumin globulin はその含む硫黄に大きな差が認められているから当然蛋白質と A/G との関連性の有無が重要な問題となる。

Wave height  
in mm  
(1/200)

Fig 1. (a) Relation between protein content and wave height in normal.

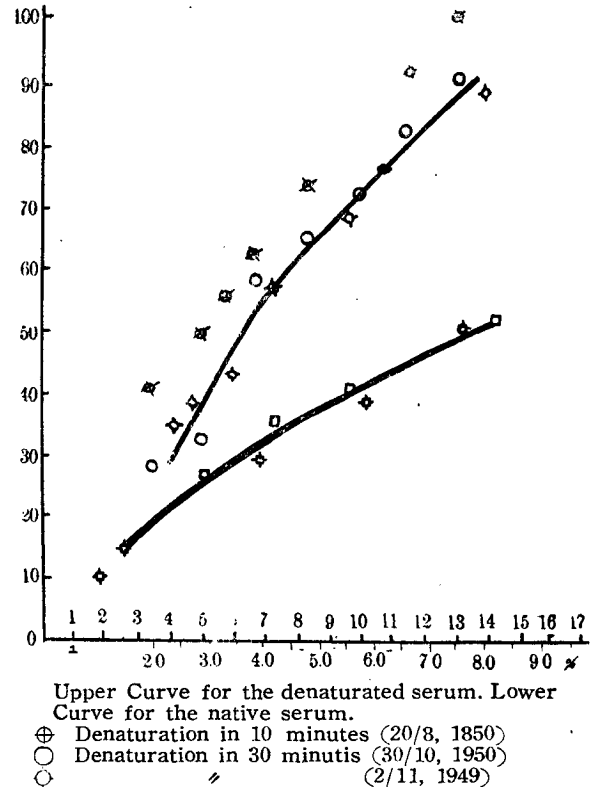


Table 1

NO.	NAME	DISEASE	Height of protein wave in mm.				protein value	
			native	* <sub>1</sub>	denat. *	* <sub>1</sub>	Content (%)	A/G
1	S.Y	normal	43	÷	77	—	7.7	1.34
2	T.B	normal	46	—	88	—	7.2	~
3	T.A	normal	47	—	80	—	8.2	2.34 * <sub>2</sub>
4	I.K	normal	49	—	84	—	7.6	
5	T.B	normal	50	—	82	—	7.3	
6	K.T	normal	52	—	75	—	7.2	
7	M.S	normal	54	—	86	—	7.5	
8	A.H	normal	61	—	82	—		
9	Y.G	hepatitis	61	—	105	—	7.1	
10	Y.C	pulmonary tuberculoss	59	—	101	—	6.6	
11								
12	K.H	neurosis	50	—	82	—	7.4	
13	K.A	hemiplegy	48	—	80	—	8.0	
×14	K.T**	acute yellow atrophy of liver	48	—	52	##	7.3	0.20
×15	◇◇ <sub>3-4</sub>	◇◇◇	43	—	46	##	7.3	0.19
16	Y.G	ptosis of liver	47	—	72	—	6.7	1.12
17	T.U	ascariasis	47	—	78	—	6.7	
18	O.M	hepatitis	46	—	76	—	6.7	1.12
19	K.S	nephritis	46	—	84	—	7.3	1.59
20	A.K	cancer of liver	46	—	65	##		
21	S.M	cirrhosis of liver	46	—	70	÷	7.0	
22	O.H	goiter	44	+	78	+	8.2	
23	T.S	gastric cancer	44	÷	60	##	7.2	
24	Y.S	mammary cancer	43	+	77	÷	7.5	1.40
×25	S.T	cancer of liver	43	+	50	##	6.6	0.64
26	M.R	hepatosplenomegaly	42	+	78	+	9.5	0.45
27	T.K	hepatitis	42	—	69	—	7.7	1.32
28	T.M	hepatitis	42	—	79	—	6.0	1.63
29	T.N	hepatitis	41	+	74	÷	7.1	1.22
30	N.K	pleurisy	41	+	70	##	8.6	
31	Y.D	pulmonary tuberculosis	40	+	66	+	7.8	1.13
32	I.E	pleurisy	40	+	60	+	6.8	1.10
33	H.B	pulmonary tuberculosis	40	+	64	##	7.8	1.13
34	T.G	cirrhosis of liver	40	—	58	—		
35	M.M	pulmonary tuberculosis	39	##	65	##	8.2	
36	I.G	cancer of liver	39	—	58	—	4.9	0.81
37	T.M	liver abscess	39	—	58	—		
38	I.M	cholecystitis	38	+	59	##	6.7	0.40
39	A.W	cirrhosis of liver	38	+	57	+	6.3	
40	F.S	nephrosis	36	—	42	+	3.8	0.80
41	M.C	sepsis	35	##	62	##	8.2	
×42	N.K	reticulosarcomatosis	33	+	41	##	5.6	1.66
43	T.M	hepatitis	32	##	59	+	6.5	0.77
×44	M.O* <sub>3</sub>	cancer of liver	32	+	41	##	5.4	0.41
45	O.N	nephrosis	32	+	32	##	3.0	0.37
46	I.M	intestinal tuberculosis	28	—	36	+	2.8	0.53
47	M.B	leucemia	28	##	45	##	5.5	1.63
48	A.S	nephrosis	26	##	37	##	3.8	0.70
49	K.S	nephrosis	25	##	33	##	4.4	0.79
×50	O.K	liver abscess * <sub>3</sub>	21	##	23	##	5.5	0.53

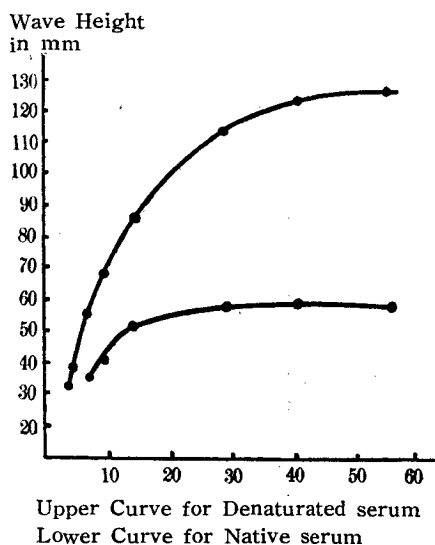
\*<sub>1</sub> Evaluation by the standard curve. (Fig.1)\*<sub>2</sub> The normal values for A/G.\*<sub>3</sub> Autopsy was performed.\*<sub>4</sub> 13 days after the first test, a day before her death.

× Patients died shortly thereafter.

Table 2

Name	Disease	Wave height (mm)				Protein g/dl Content
		Native corrected		Denatur. corrected		
S.K	nephrosis	28	30	32	43	5.0
O.F	nephrosis	30	40	41	62	4.2
M.M	gasirsc cancer	43	61	45	75	5.3
K.A	apoplexia	55	48	99	80	9.0

Fig.1, (b) Relation between protein content and wave height in normal.



で健康血清のこれ以上であることを知った。之等の事実から A/G 比が小さい時即ち globulin 量が相対的に多い時、生血清でも変性血清でも低い波を呈することが了解される。而し両波が平行的でない場合がある事や、又血液病でみた様に之で説明出来ない場合等は今后更に追求すべき主な点である。

### 結 論

1. 病的血清で「ポ」蛋白波の低いのは血清蛋白の量と質とに関係する。私達は健康血清による規準曲線で量的因子を除外して判定したが今后は予め蛋白濃度を一定にした血清稀釈液を使用すべきである。

2. alkali による変性で蛋白波が上昇し難い現象は主として血清の高度の質的变化に基づく。之は重症肝臓病に特に強いが nephrosis, 白血病等にも見られ病症の悪の徴表といふ得る。肝臓病では又 globulin 量と平行的である。

Tab.1 の 27 例では例数が少く充分なことは言ひ難いが、肝臓や腎臓の疾患では A/G 比の小さい程その波、特に変性波が低く陽性度が強いことが認められる。而し炎症性の疾患ではこの関係は緩の様であり、更に又 2 例 (No42, No,47) の血液病をふくむ数例では全くあてはまらない。

そこで先づ分離した albumin, globulin について実験をすることが当面の課題となる。詳細は別報にゆづるが、globulin は albumin に比し著明に低い蛋白波を呈することを認めた。即ち globulin の波高の limiting value は albumin に比し低く alkali による変性でも前者は殆んど上昇しないが後者の増大は著明

3. 上記の質的変化の原因として albumin, globulin の分割が最も本質的要因である。  
今後は臨床成績との不一致の点を特に追求すべきである。

文 献

- 1) 笹井, 江川: 本報告21集, 1930, 26.
- 2) ♪ : ♪ 22集, 1950, 62.
- 3) Müller, O. H. et Davis, J. S; Arch, Biochem. 15, 1947, 39.
- 4) Brdička, R: Collection Czech. chem, Comm; 5 (1933), 112, 148.
- 5) 館: 最近のポーラログラフイ (記念講演集) 950, 50.

最後に Kjeldahl の測定値は当内科字佐美学士によることを附記し深謝の意を表す。

(昭和26年1月32日受理)