

血清不安定反應とくに熱凝析型反應 (Cobalt 反應・Cadmium 反應・
Weltmann 反應等) の本態に關するポーログラフ的研究

笹井外喜雄, 江川昌男, 岡 正夫

**Polarographic Studies on the Essential Factor of the Blood Lability
Tests, Especially of the Heat Coagulation Tests
(The Cobalt, Cadmium and Weltmann's Tests)**

Tokio SASAI, Masao EGAWA and Masao OKA

(K. Inouye Laboratory)

Received September, 1952

In our clinic two blood tests called the cobalt and cadmium tests were newly devised which had very important clinical significance as a routine method. The procedures are analogous to Weltmann's test, with a unique difference in that instead of CaCl_2 solution in the latter, CoCl_2 (Co. test) or CdCl_2 (Cad. test) is used according to the aim to find the lower or the higher limit of "Elektrolyt-Schwelle des Koagulationabandes." The results shift usually to the right side for liver diseases, while for cancer or inflammation to the left. Clinically emphasis must be put on that the Co. test is most suitable for the right and Cad. test for the left side reaction.

Although all serum-lability tests have their respective significances, it seems rational to classify them into two groups, the one being carried out under heat denaturation, and the other without heating, because these two groups behave quite differently when the serum of cancer or of pneumonia is examined, i.e., the former indicates an increase of colloidal stability, while the latter its decrease. To explain this difference we assumed the existence of some protein efficient to promote serum stability in the heat coagulation test.

As is well known, in the serum there exists mucoprotein, which is so easily soluble in water, so stable against heat or agents such as sulfosalicylic acid, trichloroacetic acid and perchloric acid, that the increase of serum stability is supposed to be due to the function of mucoprotein. Recently Winzler identified mucoprotein with proteose in the polarographic filtrate test. Clinical

investigation of the polarographic filtrate test further taught us that this substance decreases in patients with liver disease and increases in cancer, pulmonary and nephrotic diseases proportionally to the results of the heat coagulation tests. To decide whether mucoprotein (referred to as mp. hereafter) is an essential factor in the heat coagulation test, the correlation between them was first observed clinically and then the results were compared with the experimental findings obtained by the addition of isolated mucoprotein. For the determination of mp. the polarographic method was chosen, because the relation between the concentration of mp. and its height of protein wave (hereafter referred to as pol. mp.) was in a straight line so far as clinical values are concerned.

We used two values to express the pol. mp., namely D and N values. D means the height of the filtrate wave obtained from the denaturated serum, and N from the native serum. As to methodology we followed Mueller's description.

I. Correlation between the values of the Co. or Cad. test and those of pol. mp.

Between the values of the Co. or Cad. test and those of pol. mp., there exists a correlation, whose coefficient (r) was found by calculation to be -0.62 in the Co. test and $+0.74$ in the Cad. test when expressed in D value, in 157 cases of various diseases including normal persons. Even when expressed in N value similar coefficients were obtained, namely -0.43 and $+0.72$ for 166 cases.

II. A/G ratio and pol. mp. value.

No remarkable correlation was recognized between A/G ratio and the Co. or Cad. test in 27 cases. But when these cases were classified into groups according to the amounts of pol. mp., a certain relationship between A/G ratio and the Co. test was obtained in 13 cases which showed normal mp. or less, the coefficient r was found by calculation 0.73 and its stochastic danger was under 1% . It can be said, therefore, that, so far as no increase of mp. exists A/G may play an essential rôle in the Co. test, probably due to the increase of gamma globulin.

III. Serum protein content and the heat coagulation test.

The causal effectiveness of the content of serum protein in Weltmann's test was questioned by many authors, although the hypoproteinemia are usually found in cases which show the left side reaction. This phenomenon can be explained partly from the fact that the serum mp. generally increase in the hypoproteinemia.

IV. Experimental results as to the relation between pol. mp. and the lability test when urinal mp. is added.

With regard to the method of isolation, we followed Tamm. Urinal mp. can be regarded as identical with the serum mp., because of the coincidences in

their chemical as well as polarographic characteristics. The results are as follows: values of all heat coagulation tests, including Weltmann's and Shichijo's (a modified Kuerten's test) besides Co. and Cad. tests, were uniformly shifted in the direction of the cancer-form, namely to the left side, and their changes were proportional to the amount of mp. added; when the pol. mp. values thus obtained were plotted against the values of Co. or Cad. test, a remarkable fact was revealed that they were situated in the central region in the distribution of clinical cases, indicating that mp. is the essential cause for these tests.

V. Further experimental results.

a) Principally the same results were obtained in the case where the sample obtained from the urine of the patient of liver cancer was used. b) Both Witte's pepton and Takeda's polypepton, used as controls in the experiments, had only slight influence upon the tests. c) All the samples used could scarcely affect Takata's and Gros's tests, as expected from the clinical experience. d) Out of two polarographic values, N was approximately equal to the amount of the added sample, while D showed a definite decrease, probably due to the adsorption in other serum protein. Such an adsorption caused by denaturation seemed to constitute a main factor of the protective activity of mp.

第1章 緒 言

私達の教室に於て井上教授^{1),2),3)}、藤田は Weltmann 反應から出發して、臨床的に極めて意義深い反應即ち Cobalt 反應と Cadmium 反應の兩反應を考案し日常の診療に實用化している。私達はその本態の追求が急務であると考えたので以下の研究を企圖した。まづその出發點となつた諸事實からのべなければならない。

各種血清不安定反應の中核的要素は、血清膠質系を構成している蛋白の各分劃にあることは今日疑いがない。そして加熱や電解質添加等の作用をうけて凝析し沈降する蛋白と、この沈降に對し抑制的に働く蛋白との2要約が主體である點も確認された。例えば高田反應、グロス反應、Wuhrmann 反應等^{5),6)}では前者は γ Globulin 後者は Albumin がその役割をなす事實も確實となつた。然るに Weltmann 反應や私達がいま主たる課題としている Cobalt 反應、Cadmium 反應等に於ては、多くの努力にも拘らずかゝる蛋白分劃が未だ指摘され得ない。そしてかゝる一連の反應群はすべて加熱變性はその操作に加わつている點に興味がある。そこで各種血清反應を熱變性型反應と加熱によらない變性を目標とする型(代表者をとつて高田反應型とよぶ)とに二大別し、先づ兩型反應の臨床像の差異に着目した。するとつぎの事實が分つてきた。肝硬變症やカラ・アザール症等の様に γ Globulin 増加が著明なものは、いつれの型の反應に於ても凝固性の亢進がみられるが、急性炎症や悪性胞瘍では熱凝析反應は大低の場合凝固能の低下を示すが

高田型反應では反對に凝固能亢進を示す場合が多いということである。こゝに於て、私は熱凝析反應では高田型反應にくらべて、albumin やその他の恐らく更に有効な保護膠質の存在が、より大きな役割をなすためであろうと推定した。いま私達の立場を歴史的に回顧すると、はじめ Weltmann は彼の反應の本態を論じて、それは albumin でも globulin でもない一種不明の血清蛋白の特異性によると考えたが、Dirr 及び Soden⁸⁾ は「肝疾患時に減少し、急性炎症や悪性腫瘍の時に増加する如き peptide の存在」に重要な役を歸せしめるに至つた。當時、私は 1937 年にでた「ポーラログラフ」による癌反應 (Brdicka)¹¹⁾ の改良法たる濾液反應を追試した結果、protease とみなされる本反應の生起物質が重症の肝臓障碍時に常に血中に減少し、反對に癌や炎症で増加するという事實を知つたので、本物質が血清反應との關連に於て重要な任務をもつものと信ずるに至つた。その後、この血清内 protease について K. Mayer, Waldschmidt-Leitz¹²⁾ の研究があり、最近 Winzler 等により一層詳細な化學分析がなされた結果、mucoprotein¹³⁾ であることが確認され、等電點、分子量測定まで行われた。更に Surgenor¹⁴⁾ 及び Shmid¹⁵⁾ は Cohn 法で精製しその VI 分割から結晶形でとり出す等の注目すべき發展がみられている。

本報ではこの血清内 mucoprotein (以下 mp. と略記する) と同一物質とみなしうるものを尿中より分離し、之を血清に添加した時の影響と、臨床觀察成績とを比較し、mp. が熱凝析反應の本態であるか否かを決定せんとしたものである。

第 2 章 基礎的事項

I. 主として研究對象にした Cobalt 反應 (Co. 反應と略記) 及び Cadmium 反應 (Cad. 反應と略記) について。

兩反應が熱凝析反應として、諸種の利點を有することに就ては創始者である井上、藤田、岩野の原著にゆづり、こゝではふれない。施行方法は Weltmann 反應における CaCl_2 溶液の代りに、それぞれ CoCl_2 及び CdCl_2 溶液を使用せるだけの相異で、操作や判定については全く Weltmann 法に従う。即ち Co. 反應では、一定濃度の CoCl_2 溶液に被檢血清を 50:1 の割にいれ 15 分間煮沸した後、液中の血清蛋白が凝固沈澱 (又は浮游) し液が透明になる如き最低の CoCl_2 濃度即ち CoCl_2 の Elektrolyt-Schwelle の決定を目標とする。Cobalt の濃度と反應成績との關係は Table 1 に掲げた。健康人では R3~R4 を示し R7 以上は肝疾患等に主に出現する。之を右

Table 1. Evaluation of cobalt test

						Normal									
Value of cobalt test	R	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
Mg of CoCl_2 contained in each tube	-3	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3		

註 1 硫酸カドミウムを用いる Wuhrmann の同名稱の反應と區別するため Cadmium 熱反應とよぶ、たゞこゝでは單に Cad. 反應と記載した。

側反應陽性とよび、逆に R2 以下即ち Schwelle の高いものは炎症, nephrosis, 癌等に多く現れ之を左側反應陽性とよぶ。

周知の様に, Weltmann 反應に於ては上記 Co. 反應が目標としたイオン濃度の稀薄な方向の Schwelle とは反對側に, 即ち濃厚な方向にも Schwelle がある。兩者間のイオン濃度が凝固帶である。Cad. 反應はこの濃い Schwelle を目標とした反應であり, 判定は從つてこの方向にあわせて數値をつける。(Table 2)

Table 2. Evaluation of cadmium test

Value of cadm. test						Normal			
	R	"	"	"	"	"	"	"	"
	30	29	28	27.....	9	8	7	6	5 4 3 2
Mg. of CdCl ₂ contained in each tube	30	29	28	27.....	9	8	7	6	5 4 3 2

すると炎症型疾患では R10 以上が多く (健康人は R6~R8), 之を Co. 反應と同じく左側反應陽性とする。Cad. 反應は臨床的に主として左側に意義が深い事は藤田, 岩野の強調しているところである。注意すべきことは兩反應の判定の數値と左, 右反應という記載が上の理由によつて, 互いに逆になつてゐる點である。

II. 「ポーログラフ」濾液反應に關する基礎的事項 (Fig. 1 にその蛋白波を示した)

ズルホサリチル酸による血清の除蛋白濾液の一定量に, 蛋白波用試薬を加えて, 「ポーログラフ」蛋白波をとり, その波高を以て濾液反應價とすることは常法の通りで, この値を以て mucoprotein 値 (以下 mp. 値と略記する) を代表せしめた, その根據は次ぎの事實による。

a). mp. の濃度とその蛋白波・波高の關係 (Fig. 2)

尿中より分離した mp. を用い, 濃度と波高の關係を検すると一種の等溫吸着曲線が得られ, 0.1% 以上の濃度では波高は限界値に達する。故に兩者は直線關係にはないが, 私達の臨床觀察でみられた範圍では波高値 200mm (感度=1/50) 以上に出る例が認められないので mp. 濃度は實際上波高値で代りせしめうる。何となれば Fig. 2 (感度=

Galva. Sensibiuity=1:50

N Value

D Value

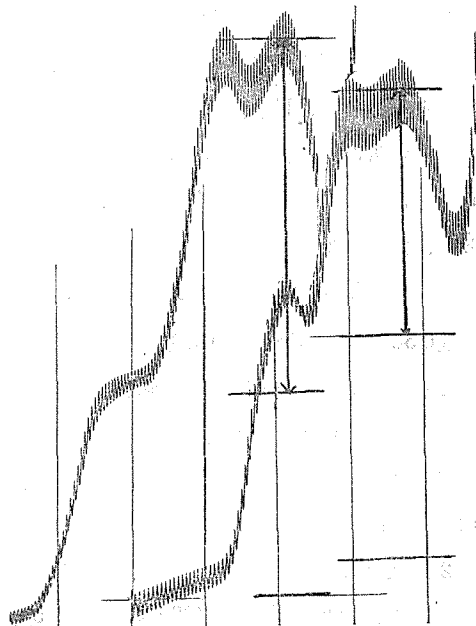


Fig. 1. Polarogram of serum filtrate.

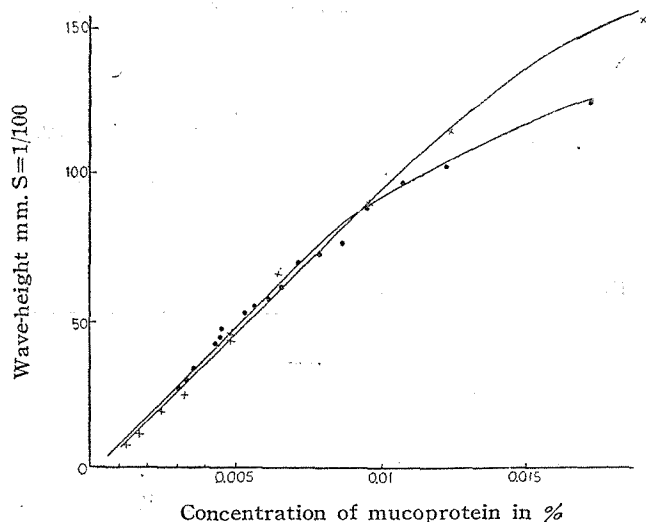


Fig. 2. Relation between concentration and wave-height of the isolated urinal mucoprotein

(× represents the sample from healthy personals; . from the patient of liver cancer.)

處置として血清を30分間加熱又はアルカリ變性を施している。それは、より高い濾液蛋白波を得るためなのであるが、私達の試験の結果は否定的であつた。濾液波は變性の強さ、時間を變數としたV字狀の變動を呈し、MüllerやBrdicka法の變性條件では、彼等の報告とは反對に、V型の下降部に相應して、反つて低い波が得られる事が多いのである。變性血清からの濾液波をD値とし、未處置血清からの値をN値とすれば、即ち $D < N$ のことが多い。それ故Crossley²¹⁾の考えとも一致して、N値を以て血清mp.の定量値としたいのであるが、特殊な場合には $D > N$ を示すものもあり、蛋白とmp.の複雑な相互作用を思ふ。本報告はこの點の追求をも一つの目的とした。従つて觀察及び實驗に於て、出来るだけD、Nの兩値を記録することにした。

c) 濾液反應の操作と注意

私達の採用した方法を略述しておこう。

血清0.5ccにAq. dest. 1.0ccを加え混和後1N.のKOH 0.1ccを更に加え正確に30分間、18°Cで作用させた後、20%ズルホサリチル酸1.0ccを添加したゞちによく混和し生ずる蛋白の沈澱を10分後東洋濾紙(No. 5)で濾過する。濾液は安定であるから隨時使用する。濾液0.5ccを、豫め水銀(陽極)をいれた20°C容量のピーカーにとり之に5.0ccの蛋白波用試験液を加えて混和せる後、 3.3×10^{-9} Amp. 感度檢流計を $1/50$ にし、-0.8 voltより定法に従いポーラログラムをとると定型的蛋白2重波をうる(Fig. 1)、蛋白波は基線より第2極大波の中點までの高さをmmで計測し、對照としてとつた同試験液(濾液の代りに5% gelatin 0.1ccをいれる)のCobalt波・波高を之から差し引いたものを以て波高、つまり「ボ」mp. 値とした。之がD値であるが1N. KOHの

$1/100$)に於て100mmまでは直線とみなしうるからである。

私達が、波高値(感度= $1/50$)をたゞちに「ボ」mp. 値と記載したのはこの理由による。

d) 濾液波高値(「ボ」mp. 値)の2つの價について。

濾液反應を檢査する際、¹⁹⁾ Brdicka, ¹⁶⁾ Waldschmidt-Leitz, Müller等一致して用いている方法は、ズルホサリチル酸濾液をつくる前

代りに aq. dest を用いて全く同操作で得た値を N 値とする。試験液の組成は 0.001M. hexa-minocobaltic chloride (luteo 鹽), 0.1N. NH_4Cl , 0.8N. NH_4OH であり検査の都度 stock solution より新たに調製した。

注意すべき實驗條件としては、やはり一定の溫度條件 (18°C) をまもる事で之は蛋白波發現と共に變性に對する條件という2重の意味をもつ。又滴下電極としての毛管は高い波をうるために m の大きい値のもの (私達の用いたものは 3.16) を使用する。更に毛管がつまりにくく、かりにつまっても洗滌でき従つて破損しない限り永久使用にたえるという利點をも持たすために凹レンズ状に毛管を先端の方で再び廣くしたものを用了。

第3章 臨床觀察

I. 「ポ」濾液反應 (血清中「ポ」mp 値) の臨床像について簡單にふれておこう。炎症性浸出性疾患, 癌疾患, ネフローゼ等で之が著明に増えることは既知の事であるが、之に對し肝障礙時では増加が認められないのみか、障礙の度に平行して更に一層の低下がみられるのが甚だ特徴的である。最も強い障礙即ち肝機能不全症や急性黄色肝萎縮症では例外なしに低い。(Fig. 3)

以上の事實が血清反應との因果關係を相像せしむるもので、既に1943年井上教授により指摘された。

II. Co. 反應と「ポ」mp. 値の相關性。

Fig. 4 は各種疾患ならびに正常人をあわせた157例について血清「ポ」mp. 値 (そのD値) と Co. 反應との相關を示したものである。圖中◎及び⊙印をつけた例は後でふれる。いま便宜上A, B2直線をひくと大部分は兩直線にはさまれ、この領域が相關分布域に相當する。相關の方向は勿論上述の臨床像に一致して、反應が

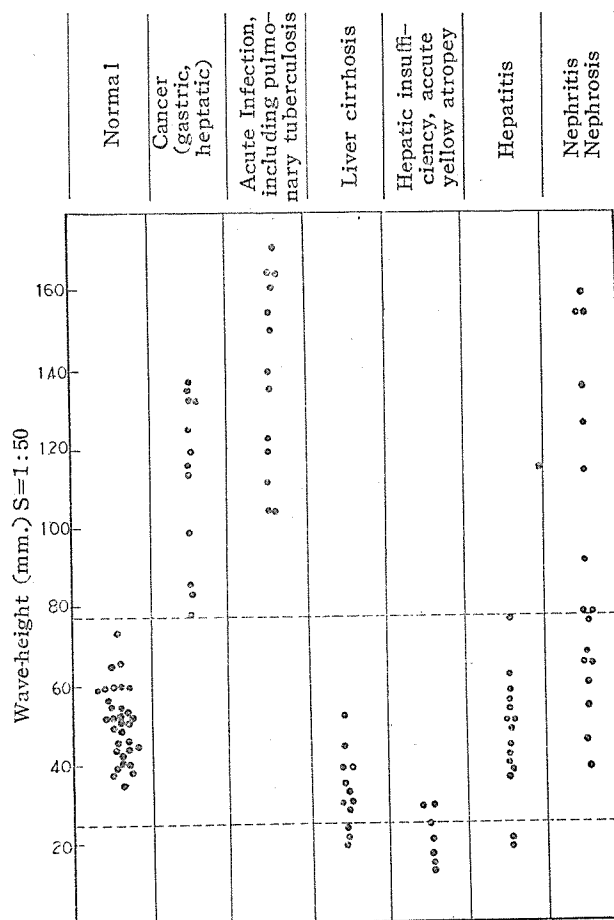


Fig. 3. Clinical picture of polarographic filtrate test

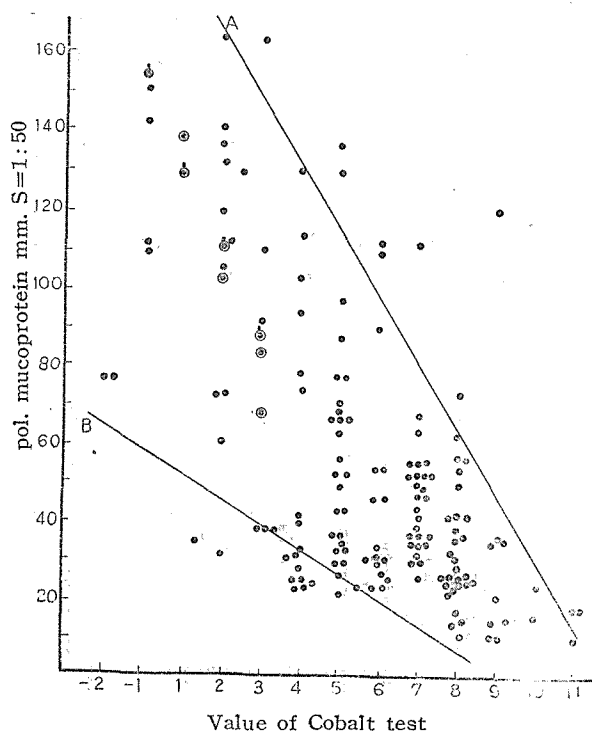


Fig. 4. Correlation between Cobalt test and wave-height of filtrate test (pol. mucoprotein) expressed in D value

(● and ○ indicate the experimental values obtained with isolated urinal mucoprotein, the former from the healthy, the latter from the cancerous patient)

左側に至るほど mp は高まり、右側になるほど低まる。但し分散度はかなり廣く、相関係数 (r) として -0.624 を得た。「ボ」mp. 値として N 値をとつた場合の r は之よりやゝ低く 172 例で -0.432 を示した。而し兩値とも

充分有意義な數値である。^{註 2} D と N の實際の値は Table 3 であげた、本表は Co. 反應が R8 以上を呈した 22 例の成績で肝膿瘍、ネフローゼの各 1 例を除いては mp. の増加例がなく、約半數の 10 例では正常者の棄却下限以下の値をとつてゐる。

III. Cad. 反應と「ボ」mp 値との相關性。

Fig. 5 は Cad. 反應と「ボ」mp. 値の相關圖で症例は前節とほぼ同一症例によつた。この場合も ●, ○ 例をのぞく。直線 A', B' をひくと、大多數の例が兩直線間にふくまれ、やはり臨床像から豫期される通りの相

Table 3. Pol. mucoprotein values in the cases which show the values over R8 right side reaction in Cobalt test.

Name	Disease	Pol. mp. (mm., S=1:50)		Co. test
		N value	D value	
O. K.	Liver abscess	120.0	121.0	R. 10 ↑
K. K.	Nephrosis	80.0	72.0	" 8
K. Z.	Banti's syndrome	65.0	40.0	" 8
S. M.	Liver cirrhosis?	61.0	30.0	" 8
S. Y.	Nephrosis	54.0	56.0	" 8
S. T.	Liver cirrhosis	50.0	30.0	" 8
S. W.	Banti's syndrome	50.0	40.0	" 8
N. Z.	Precirrhosis of liver	48.0	29.0	" 8
T. D.	Liver cirrhosis	43.0	23.0	" 8
K. N.	" "	39.0	20.0	" 9

Y. Y.	Liver cirrhosis	38.0	20.0	// 9
Y. H.	" "	30.0	16.0	// 10
A. Z.	" "	23.0	23.0	// 8
Y. K.	" "	21.0	21.0	// 8
T. D.	" "	21.0	11.0	// 10 ↑
Y. Y.	" " (jaundice)	20.0	14.0	// 8 ↑
M. T.	Acute yellow atrophy	20.0	15.0	// 8
M. S.	Liver cirrhosis	19.0	13.0	// 8
K. S.	Liver insufficiency	18.0	25.0	// 10
M. Y.	" "	17.0	29.0	// 10 ↑
Y. H.	Liver cirrhosis	13.0	8.0	// 8
T. K.	" "	10.0	10.0	// 8 ↑
Healthy persons, 31 cases.		49.7	40.5	(mean)
Rejection limits		±23.79	±24.79	

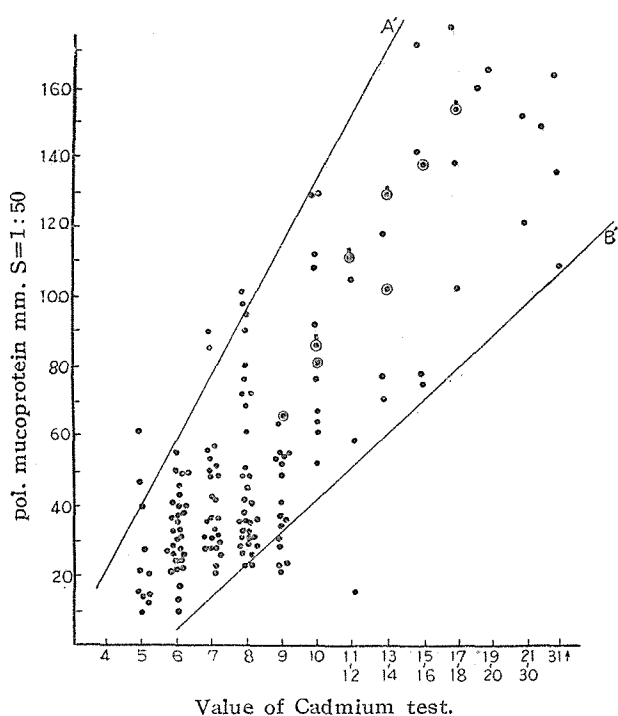


Fig. 5. Correlation between Cadmium test and wave-height of filtrate test (pol. mucoprotein) expressed in D value.

(⊙ and ⊕) have the same meanings as in Fig. 4).

關性が認められる。即ち Co. 反應の時と丁度反對方向に且つ之よりも高く例數 146 中相関係數 $r = +0.738$ を示した。この場合 N 値をとつても、ほぼ同様に 163 例で +0.72 である。勿論有意義な數値である。^{註 2}

この様な高い r の値にも拘らず分布域は未だ廣く。例えば R7 (正常値) の mp 値は 20~59mm, R10 では 52~130 mm の動搖がある。この分布を支配する要因を分析するために直線 A, A' 及び B, B' に近接して存在する症例即ち deviation の強い例を選び出してみると (Table 4) A, A' 線に近く存在するもの (A 群) に肝癌、敗血症、ホドキン氏病の様な炎症例が多く、反

對に B, B' に近い群 (B 群) に肝障礙が多く集りネフローゼ症は兩方にまたがるという傾向があらわれてきた。この事の解明のために次ぎの血清蛋白分割の研究を行つた。なお、高田型反應と

Table 4. Clinical picture of the cases which showed the most deviated values
(Group A showed too high values of pol. mp. in Co. or Cad. tests, Group B too low values).

	Group A			Group B		
	Disease	Co. or Cad. test	pol. mp. mm. S=1:50	Disease	Co. or Cad. test	pol. mp. mm. S=1:50
Cobalt test	Hodgkin's Disease	R 3	170.0	Nephrosis	R - 2	75.0
	"	" 4	129.0	Tuberculosis	" 1	45.0
	Liver cancer	" 5	135.0	Hepatitis	" 2	32.0
	Peritonitis cancro.	" 5	125.0	"	" 2	34.0
	Liver cancer	" 6	90.0	Hepatosplenomegaly	4	22.0
	Nephrosis	" 8	72.0	"	5	22.0
	Liver abscess	" 10	121.0	Hepatitis	5	23.0
Cadmium test	Liver abscess	" 7	140.0	Banti's Syndrome	R 6	20.0
	Liver cancer	" 7	84.0	" "	" 6	10.0
	" "	" 7	90.0	Liver cirrhosis	" 6	24.0
	Peritonitis acuta	" 8	107.0	" "	" 9	23.0
	Liver cancer	" 8	135.0	" "	" 9	29.0
	Sepsis	" 8	112.0	Hyperthyreosis	" 10	32.0
	Polyarthrititis	" 9	90.0	Jaundice	" 12	42.0
	Nephrosis	" 9	135.0	"	" "	44.0
	Cholangitis	" 10	108.0	Liver insufficiency	" "	15.0
	Hodgkin's Dis.	" 10	123.0	Nephrosis	" 14	47.0
	Liver cancer	" 10	123.0	"	" 16	75.0

「ポ」mp 値との間には臨床的特記すべき相関が発見されなかつた事を附記しておく。

IV. Kjeldahlometry による成績(A/G比, 總蛋白量)と「ポ」mp 値, 並びに血清反応値(Co, 反応及び Cad 反応)の三者の關連について。

a. A/G 比との關連.

血清蛋白分割と血清反應との關係は協同者岩野²²⁾の分擔課題であるからこゝではふれぬが, 「ポ」mp 値と蛋白分割値の兩者がいかなる割合でいて, 反應の本態に關與するかを追求する事を目標とした. 先づalbumin, globulin の比 (A/G) と血清反應値との關係を示す成績表をつくり, この中の個々の症例に「ポ」mp. 値による層化 (stratification) を行うとき, Co. 及び Cad, 反

註 2 相関係数 r の檢定は $F_0 = r^2(N-2)/(1-r^2)$ で F_0 を算出. (N は例數)

Co. 反應と「ポ」mp. 値 (D 値) との間では 76.5

Co. 反應と「ポ」mp. 値 (N 値) " 39.2

Cad. 反應と「ポ」mp. 値 (D 値) " 171.7

Cad. 反應と「ポ」mp. 値 (N 値) " 176.5

ポ mp 値増加のない例の Co. 反應と A/G 間には 11.4 をうる.

自由度 $n_1 = 1, n_2 = N - 2$ で F_0 分布表の數値と比較して信頼度を出す. $n_2 = 10, n_2 = 150$ の場合をみるとそれぞれ 10.04, 6.81 (1% 危險率) である. 上記の F_0 はすべてこの數値より大であるから之等の相関係数はいづれも 1% の危險率で以てすてられない.

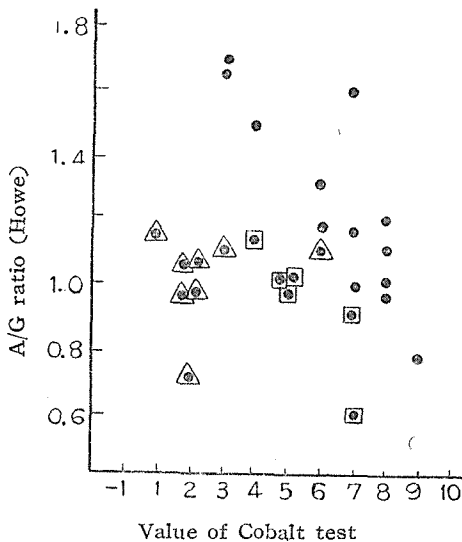


Fig. 6. Relation between A/G ratio and Cobalt test.

(• expresses the case, whose pol. mucoprotein is normal or less; ◻ expresses the case of pol. value 70~100mm; Δ the case above 100mm).

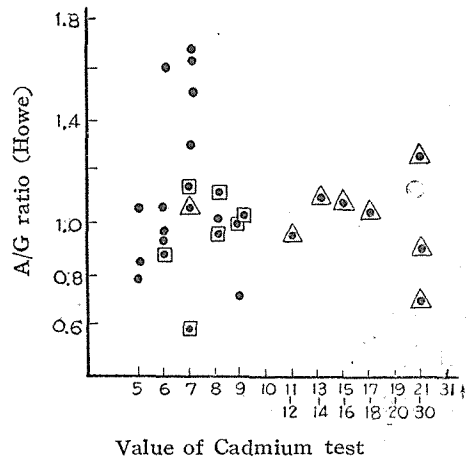


Fig. 7. Relation between A/G ratio and Cadmium test.

(•, Δ and ◻ have the same meanings as in Fig. 6).

5, 貧血2, ネフローゼ1計27例である。Fig. 6及びFig. 7はそれぞれCo. 反応, Cad. 反応とA/G比との関係であるが, 图中mp. 値正常か又はそれ以下の例を・印, 中等度増加(70~100mm)を◻印, 大量増加(100mm以上)をΔ印で示した。まづCo. 反応とA/G比の関係をみると $r=0.0013$ で相関が殆んどない。然るにmp. 増加例を除外し・印例のみでみると, 比較的明瞭な直線関係が露見されてくる。即ちA/G比の小さいものがCo. 反応の右側に大きいものが左側に集り, その r は -0.73 で危険率は1%である^{註2}。それ故Co. 反応に於ては血清mp. の増加のない限りにおいてA/G比は深い関係を持ち, 恐らく要因の一つと考えられる。逆にこの事は, A/G比との関係を研究する際症例の選び方によつて結果が異つてくる事を教えるものである。

つぎにCad. 反応とA/Gとの間にはCo. 反応におけると同様殆んど相関がなく, 又mp. 正常値のもののみを選んでも一定の相関性が出現して来ない。だからCad. 反応ではA/Gは全く原因的役割をしていないと推量せざるを得ない。

これはCo. 反応とCad. 反応との本質的相異点であり逆にいえばCad. 反応ではmp. は一層本質的的要因であろうと考えられてくる。又Fig. 6, 7中mp. 増加例がそれぞれ正反対の位置に偏在しているのは前節の相関を物語るものである。

b. 血清総蛋白量との関係。

血清総蛋白量5%以下を示す著明な低蛋白血症にmp. 値の高いものが多い事実を認めることが

出來た。この場合 mp/總蛋白量の比は一層大きくなるから保護膠質としての mp. の能力はそれだけ大きい筈である。而し、Co. 反應値を同じくする症例中で mp. 値と總蛋白量との間に判然とした關係を見出すことが出來なかつた。

第 1 章 尿 mp. による添加實驗

血清 mp. は多くの學者の手で分離されているが、之と同一物質とみなし得る尿 mp. をアルコール沈澱物中より分離し添加實驗を行つた。尿の非透析性アルコール分割が mp. であることはすでに Salkowski²³⁾ により認められ最近 Tamm²⁴⁾ も之を再認した。

I. 分離法と mp. の性狀.

遠心沈澱により浮游物を除いた 10 倍濃縮尿をセロファン膜で 48 時間透析した後アルコール (5:1) で繰返し沈澱させ最後に凍結乾燥で粉末としたが、エーテルを使用してつくつた資料との間に大差なかつた。收量は健康尿 8 l. より約 900mg, 癌尿 1 l. より約 1.7 g を得た。

之は帶白黃色乃至褐色粉末で水に易溶で濃厚液は非常に粘稠である。Biuret 反應陰性, Molish 反應陽性, 各種蛋白沈澱剤に對する態度も文獻的に一致した。paper chromatography 法で遊離 amino 酸をみとめず, 加水分解物は兩資料とも leucine, valine, tyrosine, alanine, threonine, glycine, glutamin 酸 serine 及び不明のもの 5 種の存在をみとめた。

Cystine の存在は「ボーラログロフ」法で確認, 總窒素量は夫々 8.5~9%. 蛋白波高と濃度との間には Fig. 2 の關係があり, 亦アルコールでおちない他の尿膠質は蛋白波を呈さない事も判明した。

II. 添加實驗成績

まづ健康尿 mp. を一定の血清に添加し, それが各血清反應 (とくに熱凝析反應) にどの様に影響するかを檢査し同時

Table 5. Influence of small amount of urinal mucoprotein in Co. and Cad. tests.

Before and after the addition of mp.	Pol. mp. mm, S=1:50		Co. test	Cad. test
	N value	D value		
before	72.0	41.0	R 5	R 7
after	95.0	58.0	// 5	// 8~9

にその時の「ポ」mp. 値を記録した。使用血清は健康者及び合併なき高血壓者のものを用いた。

a. 少量添加成績 (Table 5) 「ポ」mp. 値 (N) が 72mm から 92mm に上昇する程度に於て Cad.

Table 6. Influence of large amount of urinal mucoprotein in Co. and Cad. tests.

Before and after the addition	Con C.,	pol. mp. (mm, S=1:50)	Co. test	Cad. test	Shichijo's test
		N value			
before	~	55.0	R 3	R 9	Type I
after	1550mg/dl	230.0	// 1	// 25↑	~
	3080 //	344.0	// 2↓	// 25↑	Type II

反應がR7からR8~9に轉位したが Co. 反應には未だ影響しない。

b. 大量添加成績 (Table 6). この場合280mm という「ボ」mp 値は臨床でみられる最高限をこえる値であり, 更に 344 mm に至つては完全に非臨床的な値である. この「ボ」mp 値の變動に伴い兩反應は極端な左變位 (癌型) を示した. 同時に施行した七條反應も完全癌型に變つた.

c. 中等量添加成績. (Table 7) つぎに臨床的範圍の變化をねらつて上記2實驗の中間量を用

Table 7. Influence of the moderate amount of urinal mucoprotein in Co., Cad. and other tests.

Added substance, and its concent.	Total nitro- gen	A/G ratio	pol mp. (mm) S=1:50		Co. test	Cad. test.	Weltm- ann's t.	Shichijo test.	Takata "	Gros's " (cc)
			N	D						
Before ~	6.24g/dl	1.71	92.0	67.0	R 3	R 9	R 9	-	÷	1.71
After	*Mucoprotein added 163mg/dl	~	~	97.0	82.0	" 3	" 10	" 5~6	÷	1.76
	" 322 "	~	~	127.0	102.0	" 2	" 12~14	" 4	÷	1.76
	" 654 "	6.25 "	1.69	186.0	133.0	" 1	" 16	" 3	+	1.83
	Polypepton added 654mg/dl	6.52 "	1.61	93.0	43.0	" 3	" 10	" 5~6	÷	1.86
	Witte pepton added 654mg/dl	6.45 "	1.13	175.0	140.0	" 3	" 10	" 5	+	1.94

The substance was obtained from healthy persons.

(* When it was added with the serum, it cannot be dissolved completely. Insoluble part was discarded.)

いた. この場合 Co., Cad. 兩反應のほかは Weltmann 反應, 七條反應更に高田型反應として高田, Gros 兩反應を併せ試験した. 更に對照物として Witte の pepton, 武田の polypepton を用いて比較した. その結果は, 加えた mp. 量に比例して一様に明瞭な左方變位が起り, 而もその度合は「ボ」mp. 値の増加量と平行した. Witte の pepton 等對照物の影響は七條反應以外は輕微で僅かに Weltmann 反應が R1 だけ動いたに止る. 更に同型の實驗を癌尿 mp. を用いて行つたが結果はほぼ同様であつた. (Table 8) 以上各級の實驗の共通事實としては Co. 反應より Cad. 反應への影響がより鋭敏であることが指摘される. さて mp. の本態的意義を知るために殘された問題は, この模擬實驗と臨床觀察成績とを比較してその異同を論ずる事である. そこで本實驗結果 (「ボ」mp. 値と Co., Cad. 反應の關係) をさきの Fig. 4, 5 の臨床相關圖中に plott した. (◎, ⊙印), すると注目すべきことには, この關係は相關圖中の殆んど中間に位置することが分つた. とくに Cad. 反應では A', B' 兩直線間の殆んど中心を走つてゐる, 従つて mp. が Co., Cad. 兩反應の中心要約即ち本態物質だろうとする想定の確からしさが證明された.

註 3 七條反應は Kürten の癌反應である Serunkochprobe を簡略化したものである. よくみがかれたスライド上に血清 1 滴をたらし, デツキで覆つた後に一定方式で弱い火焰上にかざし, その際あらわれる凝固の模様を I~IX の 9 型に分類して判定するもので, その意味は Kürten 反應と同様に考えてよい.

Table 8. Influence of urinal mucoprotein obtained from a cancer patient.

Concentration of added mp.		Total nitro- gen	A/G ratio	pol. mp. (mm.) S=1:50		Co. test	Cad. test	Weltm- ann's t.	Takata's test.	Gros's " cc)
				N	D					
Before	~	7.52g/dl	1.27	109.0	87.0	R 3	R 10	R 6	÷	1.83
After	* 166mg/dl	~	~	127.0	111.0	" 2	" 12	" 5	÷	1.81
	332 "	~	~	147.0	129.0	" 1	" 14	" 4	-	1.81
	664 "	7.52	1.47	195.0	154.0	" - 1	" 18	" 3	-	1.89
	1323 "	~	~	195.0	213.0	" - 2	" 20	" 3	-	1.98

(* When it was mixed with the serum, 5~13% was insoluble, the insoluble part was discarded.)

Weltmann 反應, Kürten 反應について恐らく事情は同一であろう。なお、健康尿 mp. と癌 mp. とは上記の様に相似の結果を呈したが更に同一の被添加血清を以て確かめたが やはり相異は發見され得なかつた。(Table 9)

Table 9. Comparison of the effect of two mucoproteins, healthy and cancerous.

Added mp. and its concent.		Co. test		Cad. test		Weltmann's test	Takata's test	Gros's test (cc)
Before	~	R	5	R	8	R 6~7	+	1.70
After	healthy mp. 332mg/dl	//	4	//	12	// 5~6	~	~
	cancer. mp. 332 "	//	4	//	12	// 5	~	~
	healthy mp. 1323 "	//	- 1	//	20~25	// 3	-	2.02
	cancer. mp. 1323 "	//	- 1	//	20~25	// 4	-	1.95

そのほか mp. は高田型反應に對しては、臨床上の非相關に拘らず、微力ながらやはり一種の保護能を有することも表中より視知される。

d. 添加 mp. 量と「ボ」mp. 値との關係.

例えば Table 7 の mp. 添加濃度 664mg/dl のものについてこの關係をみよう。「ボ」mp. 値の検査は稀釋度 44 倍であるから之は 13mg/dl に相應した波が出る筈である 而し不溶性の部分があつたから之を補正して計算すると約 9mg/dl にあたる、之が該當する「ボ」mp. 値を Fig. 2 から求め感度 1/50 に直すと 170mm を得る、ところで實驗値の N 値は 183mm で凡そ添加量に一致する。之に對し D 値は 139mm しかない。それ故添加量は N 値によつて再現されるとみられるだろう。之は mp. の定量的觀察に於ては D 値よりも N 値の方が有利である一つの根據となる事實である。

第 5 章 考 察

尿中から分離された mp. が血清中に存する mp. と同一型物質とみなしうるならば、以上の實驗事實からして mp. が熱凝析型血清反應 (Co., Cad. 反應, Weltmann 反應等) の極めて重要

な因子, いわばその本態物質であるという私達の所論には疑問の餘地がなからう。尿及び血清中の該物質がmp.であることについては多くの研究の示すところであるからこゝではふれない。血清中と尿中のmp.が同一物質なりとする根據については, その1は臨床觀察よりみた兩者の相關性, その2は兩者の化學性狀の一致, 即ちズルホサリチル酸や三鹽化醋酸或いは煮沸しても沈澱せず, 飽和硫酸液や燐タングステン酸液でおちること, 又糖反應例えば Molish 反應が陽性である等の點, その3は尿膠質中アルコール沈澱性のmp.のみが蛋白波を呈し, それは血清のものと同じとして, 所謂交叉現象²⁷⁾即ち稀釋によつて第1波と第2波の高さが逆になるという現象が認められないという論點であつた。¹⁹⁾さて Weltmann 反應の本態について今迄多數の研究が行われている。或いは試験管内添加質試験或いは生體中への負荷 (例, calcium負荷) により反應に影響する物質, とくに熱凝析抑制能のある物質の發見に努力が拂はれた, 之は Rosseger の總説中²⁸⁾に詳述されているが多くの勞作は徒勞に終つた。たまたま, 少し許り有効な物質 (コレステリン・脂肪酸等) がみつかつて, すれば非生理的な大量を用いて始めて得られた結果であつたから實際の反應の因子とは明らかに別個のものであつた。Huggins もヨード醋酸鹽, Germanin, 濃厚糖液, 滲透劑或いは thymus nucleate 等をあげているが非生理的という點では上記のものと異なるところがない。たゞ thymus nucleate³⁰⁾ は一種の蛋白體である點で注目をひくのみである。しかし Wuhrmann と Wunderly が, 今迄沈澱の要因としてのみ考えられていた globulin 中 α 及び β globulin の一部が逆に保護的に作用する事實を指摘したのは確かに大きな前進であつた。³¹⁾Coste は又含糖 globulin増加と反應の關連を追求している。之等の仕事は私達と全く別個になされたにも拘らず同様な目標に向つて進んでいるのは興味深い。たゞ私達の成績は單なる臨床觀察の相關性に止らず模擬實驗と臨床の一致という事實の上に立つ故に, 明瞭にmp.の原因的役割を實證し得たものと信ずる。而しながら, 之によつて熱凝析型反應一般の本態論が完全に解明されたものでなく, 多くの不明の點が將來に残されていることも容認しなければならない, 何となれば臨床例中の相關係数が單なる相關の程度とすれば充分高く信頼性も高いが本態としては必ずしも充分高くないからである。この間隙をうめる一つの要素として, 少くとも Co. 反應ではA/G比があげられる。これは協同者岩野等が鹽析法で得た結果とも一致している。岩野は Co. 反應に於ては急性炎症, 癌, 營養失調症等左側反應陽性群でみると albumin, globulin等の役割を見出し難いが肝硬變症, カラアザール症等右側反應陽性群では euglobulin, pseudoglobulin I 及び A/G 比と反應成績との間に明らかに相關性を指摘した。

これは私達の實驗で mp. が正常か, もしくは低下例においてのみ Co. 反應値と A/G 間に相關性がみられた事實と符合するものである。多分之等は γ globulin の役割に歸すべきであろうが, mp. 自身一つの globulin である事實を考えると A/G 比を以て保護係数を表すのは明らかに矛盾している。むしろ $A + mp/eugl. + pseudg.$ (又は $\gamma gl.$) の如き係数がより普遍性をもつであ

ろう。また Cad. 反應に於てはいかなる條件の下でも A/G との間に關係がみつめられなかつた點から、al. や γ gl. や mp. 以外にも特異な分割が存在しているかもしれない。

Wuhrmann⁴⁾ 等は電氣泳動法分析により β_1 gl. (Lipoprotein) の保護膠質能を主張しているが興味ある事實で、私達は Table 4 の如き deviation の甚しい例の中でこれを検討すべきだと考える。

以上のほか、なお考察すべき多くの條件が残っている。まづ血清總蛋白量との關係も不明のことが多い。Rosseger, Berner⁶⁾ 等が指摘している様に臨床經驗と實驗的成績との間に矛盾がある。即ち血清をうすめると反應は右側に轉移するのに臨床例では低蛋白血症例例えばネフローゼや營養失調症に著明な左側反應が認められる事實である。私達は、低蛋白血症中に mp. 増加例が多いという推計學的事實から問題は蛋白量自身よりむしろ mp./總蛋白量 の比にあるのでなからうかと考えている。つぎに mp. が均一物質であるか否かについても問題がある。Schmid は結晶形にとり出したが Winzler のものは 3 ッ以上の要素からなるとされている。私達は mp. の濃度～波高曲線における限界値の波高が諸種疾患で異なることを見出したし、Crossley²⁰⁾ 等は「ポーログラフ」活性度(波高/含有窒素量)を規定し之が生體の條件によつて變動することを報告している。従つて私達の成績で病と健康の二者間に差がないとしても之を以て常に同一であると結論するには充分慎重を要すると思う。

つぎに al. や gl. の均一性に就ても問題がある。私達の「ボ」血清第一反應成績や Weissman²⁵⁾ の SH 電氣滴定法等の結果から疾患によつて均一性が攪亂されと考えられる。この場合ネフローゼと肝硬變症に最も大さな變化が見出されたことは Table 4 の例と較べて興味深い。

最後に mp. が膠質保護作用をいとなむ機構について考えてみたい。mp. の等電點は pH 3~4 という酸性側にある。従つて血清の pH に於ては多くの negative charge をもつから之が有効な保護作用をなすものと了解される。Auerbach³²⁾ は血清が熱凝固をおこすに足る最低水素イオン濃度を測定し、肝硬變症が最も低く(pH 値大)急性炎症性疾患が高い(pH 値少)ことを見出したが、之は mp. の如き酸性蛋白分割の等電點えの影響と解される。更にこの mp. が直接沈澱せんとする蛋白に結びついて沈澱抑制するものとみなされる事實は、al. 分割と glycoprotein 分割との關係についての Rimington³³⁾ の報告や、添加 mp. に對する Winzler¹⁴⁾ の回収試験成績、或いは Shetlar³³⁾ の多糖類含量と各蛋白分割の關係についての臨床觀察により明らかであるが、血清蛋白の變性時におけるこの關係は更に興味深いものと私達は考える。例えば分離した mp. は苛性ソーダ(0.1 N)により蛋白波波高の變化を蒙らないが、之を血清に加えて全體を苛性ソーダや加熱による變性を行つたあとではその濾液中の「ボ」mp. は一般に減少がみられる。即ち前述の $D < N$ の場合である。この現象は血清蛋白の變性により惹起された二次的現象で血清蛋白の變性第 1 段階即ち activation phase¹⁷⁾ に相當して、より多くの mp. が變性蛋白と結びつき、従つて保護作用

が強化されたものと考えられる。之が熱凝析型反應に對しmp.がとくに大きな役割をなす原因でなからうか。しかしmp.が著明な増加を示す例やネフローゼ等で逆に $D > N$ を示すものも時々出現することは兩者の interaction の複雑性を暗示している。こゝでの私達の目的は、mp.の保護作用の機構は血清蛋白分割間の相互作用のためであり又血清による特異性のある事實を指摘し得れば足りる。

第6章 結 論

1. 血清不安定反應は之を血清蛋白の熱變性をおこさせて判定する熱凝析型反應と然らざるもの(非熱型反應)との二型に分類するのが合理的である。前者に屬するものに Cobalt 反應, Cadmium 反應, Weltmann 反應, Kürten 反應, 七條反應等があり後者には高田反應 Wuhrmann の Cad. 反應 Thymol 濁濁反應等がある。この分類の根據は各型反應はその屬する型により臨床像に於て相互に近縁關係が認められるほか、本態論的立場からは熱凝析反應に屬するものに於ては mucoprotein を代表とする保護膠質の役割が極めて大きいからである。

2. 「ポーラログラフ」濾液反應物質は血清 mucoprotein であり之が熱凝析反應の成績と臨床的に強い相關性がある。即ち Cobalt 反應及び Cadmium 反應について約170症例で分析せる結果、相關係數はそれぞれ $-0.46 \sim -0.62$ (NとD値)及び $+0.71 \sim +0.72$ (NとD値)で、Cadmium 反應と「ボ」mp 値との關係がより密であつた。つぎに A/G (Howe 法) と血清反應との間につぎの關係があつた。右側及び左側反應陽性の疾患をふくんで27例の觀察でA/Gとの間に認むべき相關性が發見出來なかつたがそのうちmp.増量のない13例に於ては Cobalt 反應との間に有意な相關關係 ($r = -0.72$) が認められた。而し Cadm. 反應との間にはかゝる事實が認められなかつた。

3. 尿中より分離した mucoprotein の血清えの添加が Co. 反應及び Cad. 反應成績に及ぼす影響と上記臨床觀察例とを「ポーラロ」蛋白波波高によつて比較した結果、mucoprotein が之等諸反應の原因的要約としても第1義的重要性をもつことを實證した。

即ち健康血清又は高血壓の血清に一定量の mp. を添加すると Co. 反應 Cad. 反應 Weltmann 反應, 七條反應等の諸反應は一樣に左側(癌型)に轉移する。之に對し Witte の pepton や poly-pepton (武田) の添加影響は輕微であり又高田反應, Gros 反應に對する mp. の影響は少い。そしてmp.添加による「ボ」mp 値の變動を臨床相關圖中に求めることにより臨床觀察値と實驗値との同一性を證明し得た。

又 mp. 添加の影響は Co. 反應よりも Cad. 反應に強く、この事は上記臨床的事實(相關係數の差及び A/G と Co. 反應間に存在する一定の關係)に對應する。

文 献

- 1) K., Inouye, T. Fujita, H. Irie: *Acta Scholae Med. in Kyoto Japonica.*, 23, 93, 1950.
- 2) 井上硬: 臨床の進歩, 第2集, 昭24 (永井書店).

- 3) 藤田：實驗消化器病學，17，415，1942. 岩野：日新醫學，37，(5)，1950.
- 4) F. Wuhrmann, C. P. Wunderly. *et al.*: *Helvetica Medica Acta.*, 17, 197, 1950.
- 5) F. Wuhrmann and C. P. Wunderly: *Deutsch. med. Wschr.*, 76, 1253, 1950.
- 6) A. Berner: *Helvetica Medica Acta.* 16, 3, 1949.
- 7) O. Weltmann and C. V. Medvei: *Z. klin. Med.*, 118, 670, 1931.
- 8) O. Soden, and K. Dirr: *Z. exp. Med.*, 108, 157, 1940.
- 9) 笹井：實驗消化器病學，17，425, 1942.
- 10) T. Sasai and M. Egawa: "Proceedings of the I st International Congress in Prague" (I) 255, 1951.
- 11) R. Brdička: *Nature*, 159, 330 and 1020, 1937.
- 12) E. Waldschmidt-Leitz and K. Mayer: *Z. physiol. chem.*, 261, 1, 1933.
- 13) R. J. Winzler, A. W. Devor *et al.*: *J. clin. Invest.*, 27, 609, 1948. H. E., Weimer, J. W. Mehl, *et R. S. Winzler*: *J. Biol. chem*, 185, 561 and 159, 1950.
- 14) D. Surgener, *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 1223, 1949.
- 15) K. Schmid: *ibid.*, 72, 2316, 1950.
- 16) O. H. Müller and J. R. Davis: *J. Biol. Chem.*, 159, 667, 1945.
- 17) 笹井，江川：京大化學研究所報告，21，26，1950.
- 18) 笹井，江川： *ibid*，22，62，1950.
- 19) 笹井，江川，熊原，速水： *ibid*，29，15，1952.
- 20) 笹井，江川： *ibid*，近刊.
- 21) M. L. Crossley: "Proceedings of the I st International Congress in Prague (I)" 23, 1951
- 22) 岩野，坂本，岡：近刊（昭27，日本消化機病學會發表）.
- 23) E. Salkowski: *Berlin. Klin. Wschr.*, 42, 1581 and 1681, 1905.
- 24) I. Tamm and F. L. Horsfall: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 74, 108, 1950.
- 25) H. F. Kürten: *Klin. Wschr.*, 18, 667, 1939.
- 26) 河野：日新醫學，33，529，1951.
- 27) C. Tropp, L. Jühling, *et al.*: *Z. physiol. Chem.*, 262, 225, 1939.
- 28) H. Rossegger: *Ergebnisse inn. Med. und Kinderheilkunde*, 57, 230, 1939.
- 29) C. Huggins and E. V. Jensen: *J. Biol. Chem.* 179, 645, 1949.
- 30) T. R. Greenstein *et al.*: *J. Biol. Chem.*, 132, 456, 1950.
- 31) Cited by H. Bergstermann: *Klin. Wschr.*, 29, 701, 1951.
- 32) Cited by Rossegger. (28).
- 33) M. R. Shetlar, *et al.*: *Cancer Research.*, 10, 681, 1950.
- 34) N. Weissman and E. B. Schoenbach: *J. Biol. Chem.*, 187, 153, 1950
- 35) 笹井，江川，坂本：未刊（昭和27年日本消化機病學會演說）. 及び 笹井，江川，宇佐美：京大化學研究所報告，26，54，1951.
- 36) 井上硬等：日本內科學雜誌，30，218；31，189.
- 37) K. Meyer: *Advances in protein chemistry.*, 2, 249, 1945.

（昭和27年9月1日受理）