

家兎血清蛋白の亜硫酸曹達による塩析法と 濾紙電気泳動法との比較について

大阪北通信病院外科 (指導: 医博 岡村正部長)

松 本 哲 夫

〔原稿受付 昭和32年7月30日〕

COMPARISON OF SODIUM SULFITE SALTING-OUT METHOD AND FILTER PAPER ELECTROPHORESIS FOR THE ANALYTICAL MEASUREMENT OF RABBIT SERUM PROTEINS

by

TETSUO MATSUMOTO

Surgical Department, Osaka Kita Teishin Hospital
(Director: Chief. Dr. TADASHI OKAMURA)

A comparison was made, using rabbit materials, of salting-out technique with anhydrous sodium sulfite (Saito and Yoshikawa) and filter paper electrophoresis for the estimation of serum protein fractions. The results were as follows:

1. The analyses of sera of rabbits with or without various treatments employing the two techniques revealed that higher values are obtained by the former method for albumin and α -globulin, and higher values for β - and γ -globulins by the latter. Better parallelism was seen between the albumin values as determined by the two methods than in any other fractions.

2. Ascites proteins, if studied similarly, yielded very close values for α -globulin, but higher albumin by the former technique and higher β - and γ -globulins by the latter. Albumin values, among others, were in relative proportionality between the two methods.

3. The compositional relation between the peripheral, hepatic and portal venous blood in normal and CCL₄ injured rabbits was such that close values were always obtainable for albumin by the two methods.

I 緒 論

血清蛋白の分層値を求める方法として、塩類溶液に対する溶解度、電場内における易動度、超遠心力による沈降速度、或いは免疫的方法としての沈降反応等がある。

そのうち、塩類溶液による蛋白分層の測定は古くから利用され、特に硫酸曹達による Howe の方法が用いられてきた。最近 Tiselius による電場内易動度の

利用による電気泳動法が発表されてから、血清蛋白分層測定に大なる発展を示してきた。

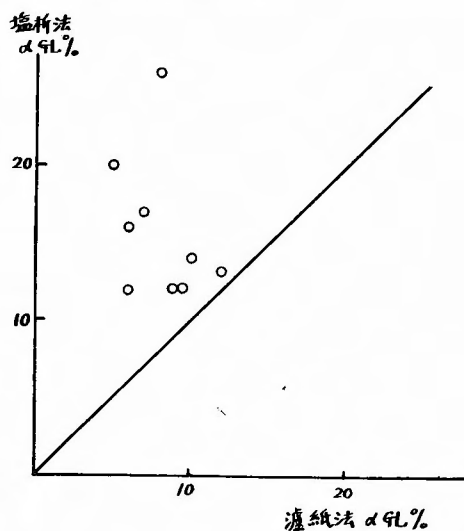
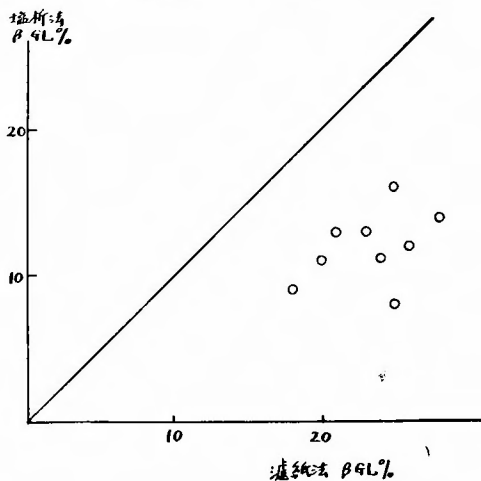
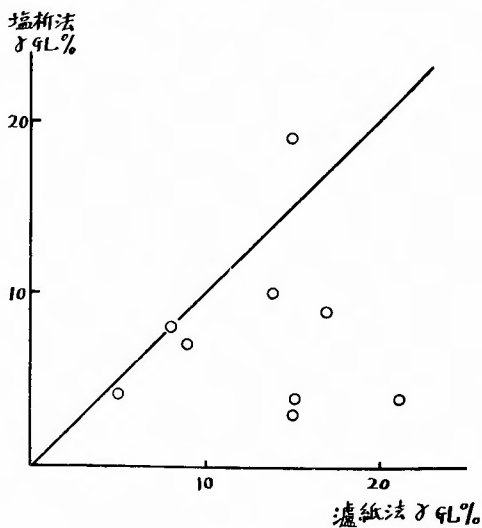
しかしながら、Tiselius の電気泳動法は高価な装置及び費用のかゝる点などにより、一般の臨床検査には応用され難いので、在来の塩析法を用いて、電気泳動法に相当する分層を得ようとする努力が行われた (斎藤, 吉川, Wosser)。

最近さらに濾紙電気泳動法が研究され、その装置が比較的安価で、操作が簡単であり、また微量の試液で

表I. 健常家兎 塩析法並びに濾紙電気泳動法による血清蛋白分層値

	例数	塩析法 (%)					濾紙電気泳動法 (%)			
		アルブミン	α グロブリン	β グロブリン	γ グロブリン		アルブミン	α グロブリン	β グロブリン	γ グロブリン
健常家兎	9	63.3	16.2	12.4	9.1		51.4	8.3	23.6	13.7

図1 健常家兎 塩析法と濾紙電気泳動法との比較 アルブミン%

図2 健常家兎 塩析法と濾紙電気泳動法との比較 α グロブリン%図3 健常家兎 塩析法と濾紙電気泳動法との比較 β グロブリン%図4 健常家兎 塩析法と濾紙電気泳動法との比較 γ グロブリン%

測定出来るという利点为好都合のため、急激な普及をみるに至つた。

以上のごとく、血清或いは血漿の蛋白分層値の測定にいろいろ努力が払われたが、各々一長一短はまぬが

れない。

我々は家兎を用いて、無水亜硫酸曹達による塩析法(斎藤, 吉川氏法)と濾紙電気泳動法による血清蛋白の分層値の測定を行い、両者を比較検討した。

表Ⅱ. 肝障害並びに輸液注入家兎 塩析法並びに濾紙電気泳動法による血清蛋白分屑値

	例数	塩 析 法 (%)					濾紙電気泳動法 (%)			
		アルブミン	α グロブリン	β グロブリン	γ グロブリン		アルブミン	α グロブリン	β グロブリン	γ グロブリン
表題家兎	56	62.1	17.6	12.8	6.8		50.4	12.6	21.4	15.6

図5 四塩化炭素による肝障害並びに輸液注入家兎
塩析法と濾紙電気泳動法との比較
アルブミン%

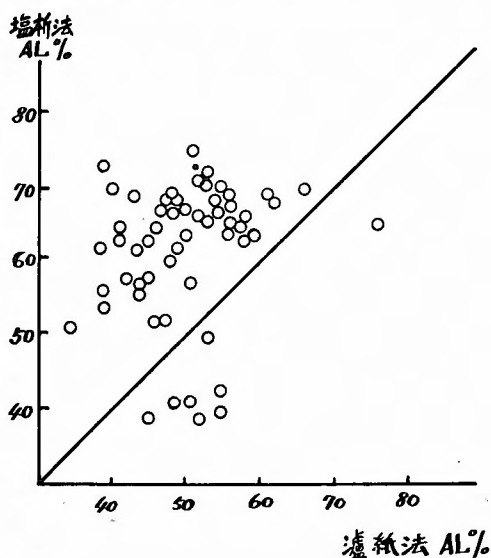


図6 四塩化炭素による肝障害並びに輸液注入家兎
塩析法と濾紙電気泳動法との比較
 α グロブリン%

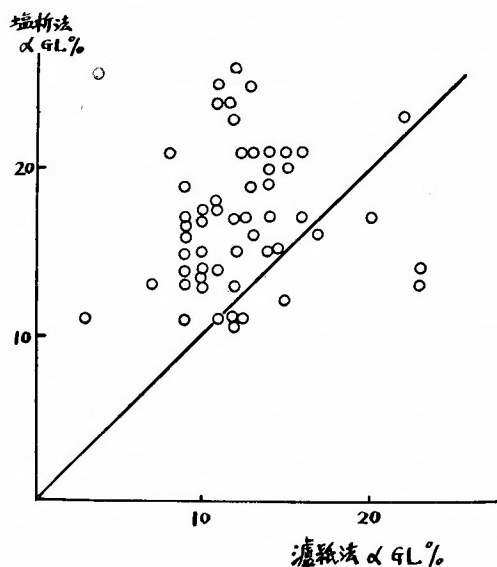


図7 四塩化炭素による肝障害並びに輸液注入家兎
塩析法と濾紙電気泳動法との比較
 β グロブリン%

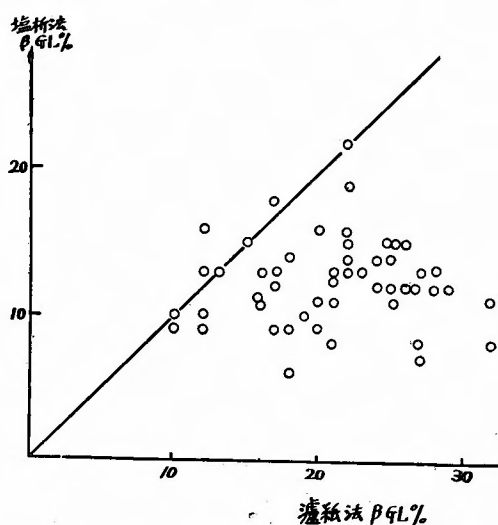
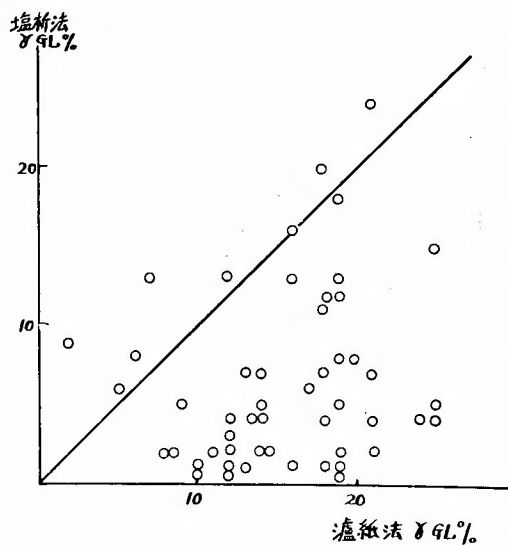
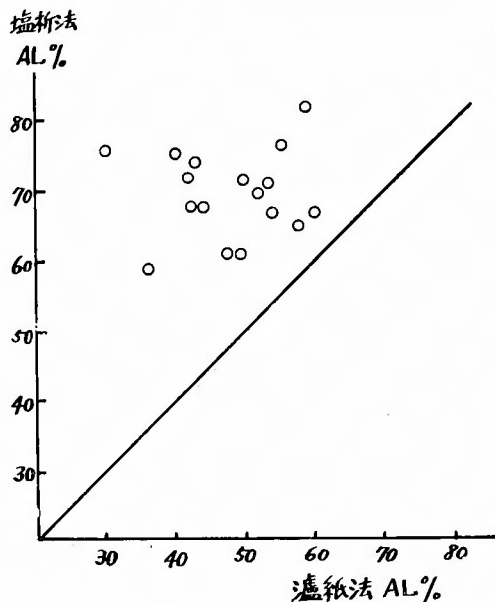
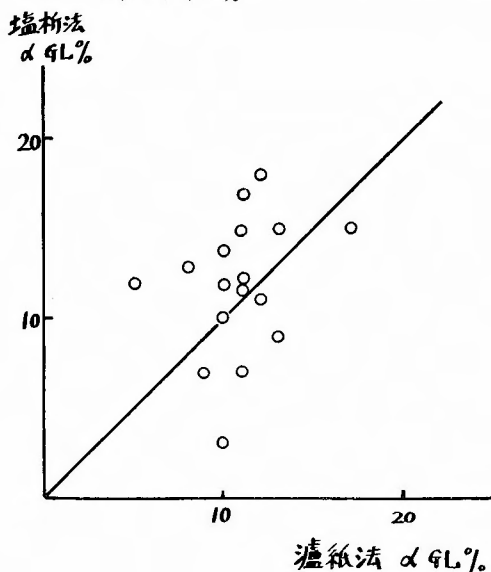
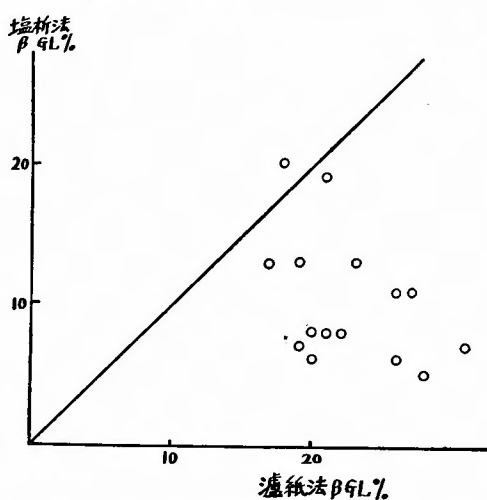
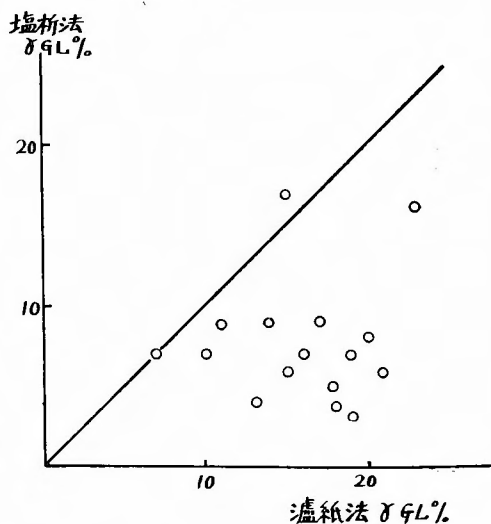


図8 四塩化炭素による肝障害並びに輸液注入家兎
塩析法と濾紙電気泳動法との比較
 γ グロブリン%



表Ⅲ. 腹水 塩析法並びに濾紙電気泳動法による蛋白分層値

	例数	塩析法 (%)				濾紙電気泳動法 (%)			
		アルブミン	α グロブリン	β グロブリン	γ グロブリン	アルブミン	α グロブリン	β グロブリン	γ グロブリン
腹水	20	69.6	12.3	10.7	8.3	48.6	11.1	28.4	16.5

図9 腹水 塩析法と濾紙電気泳動法との比較
アルブミン%図10 腹水 塩析法と濾紙電気泳動法との比較
 α グロブリン%図11 腹水 塩析法と濾紙電気泳動法との比較
 β グロブリン%図12 腹水 塩析法と濾紙電気泳動法との比較
 γ グロブリン%

Ⅱ 実験材料及び検査方法

試験は健康家兎及び各種の実験に供した家兎（第1編，第2編）。

検査方法は，血清蛋白量の測定には日立の屈折計を

用い、蛋白分層値の測定には亜硫酸曹達による塩析法(吉川、斎藤氏法¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾、及び濾紙電気泳動法⁶⁾⁷⁾⁸⁾を応用した。

濾紙電気泳動法は、東洋濾紙式の装置。電極は白金電極、緩衝液はヴェロナール緩衝液(pH. 8.6, μ 0.1)。濾紙は東洋濾紙 No. 50、電流は濾紙幅 1cm につき 0.3 ~ 0.4mA の電流を定電流にして 10 時間から 15 時間泳動を行つた。

染色は Bromphenol Blue 液を使用。

定量はパラフィンで固定後、濾紙泳動光電比色計 S-1 型(東洋理化工業株式会社製)。

Ⅲ 実験成績

A) 塩析法及び濾紙電気泳動法による血清蛋白分層値の比較。

イ) 健常家兎の場合

表 I, 図 1, 2, 3, 4.

ロ) 四塩化炭素による肝障害並びに輸液後の家兎の場合

表 II, 図 5, 6, 7, 8.

B) 腹水の蛋白分層値

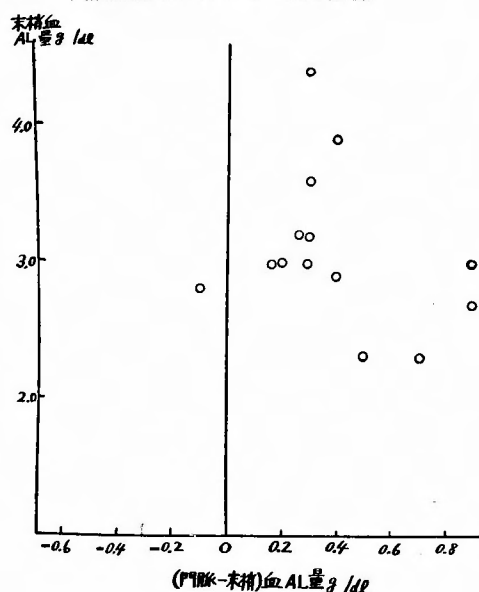
第 1 編及び第 2 編に述べた腹水を用う。

表 III, 図 9, 10, 11, 12.

小括

健常家兎では、アルブミンの塩析法値は濾紙法値より

図 13 健常家兎 濾紙電気泳動法による末梢血と門脈血とのアルブミン量の関係



りも高く、 α グロブリンも同様である。 β, γ グロブリンは逆となる。個々の比較をみると、アルブミンと β グロブリンの値は両法ほぼ平行関係を示し、 α, γ グロブリンは平行しない。

また各種操作を加えた家兎でも、健常家兎と同様にアルブミン、 α グロブリンは塩析法値が高く、 β, γ グロブリンは逆となる。個々の比較に於ては、アルブミンが平行している。

腹水蛋白分層値では、 α グロブリンは両者ほぼ一致した値を示すが、アルブミンは塩析法値が濾紙法に比べてはるかに高くなる。 β, γ グロブリンは濾紙法値が高い。個々の比較に於ても、アルブミン、 α グロブリンは平行関係を示すが、 β, γ グロブリンは平行しない。

C) 濾紙電気泳動法による、健常家兎並びに四塩化炭素による急性肝障害家兎の末血、門血、肝血の血清蛋白分層値

イ) 健常家兎の場合

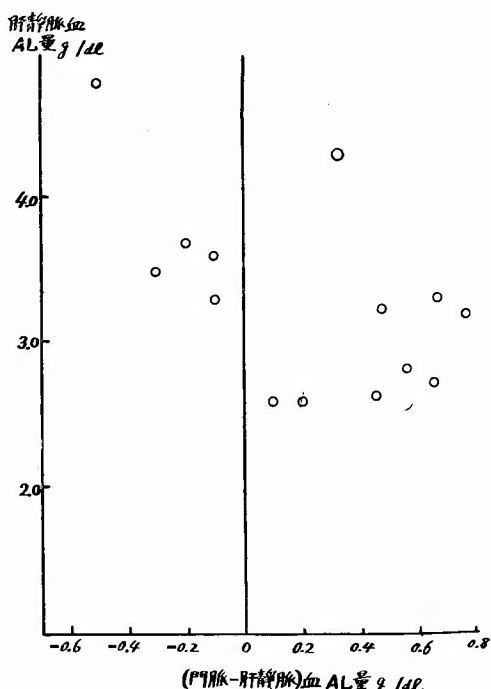
採血は第 1 編に同じ。

表 IV, 図 13, 14.

ロ) 四塩化炭素による急性肝障害家兎の場合

表 V, 図 15, 16.

図 14 健常家兎 濾紙電気泳動法による肝静脈血と門脈血とのアルブミン量の関係



表Ⅳ. 健康家兎 濾紙電気泳動法による末梢血, 門脈血, 肝静脈血の血清蛋白分層値

	例数	総蛋白量		アルブミン量		α グロブリン量		β グロブリン量		γ グロブリン量	
		範 囲	平均	範 囲	平均	範 囲	平均	範 囲	平均	範 囲	平均
末梢血	14	6.0~7.4	6.9	2.3~4.4	3.11	0.4~1.7	0.96	1.4~2.5	1.79	0.5~1.8	1.00
門脈血	14	6.2~7.4	6.8	2.7~4.7	3.51	0.5~1.2	0.91	0.9~1.9	1.52	0.2~1.2	0.84
肝静脈血	14	6.2~7.2	6.7	2.6~4.8	3.32	0.6~1.1	0.76	0.8~2.0	1.59	0.2~1.8	1.04

表Ⅴ. 四塩化炭素注射による急性肝障害家兎 濾紙電気泳動法による末梢血, 門脈血, 肝静脈血の血清蛋白分層値

	例数	総 蛋 白 量		アルブミン量		α グロブリン量		β グロブリン量		γ グロブリン量	
		範 囲	平均	範 囲	平均	範 囲	平均	範 囲	平均	範 囲	平均
末 梢 血	5	6.8~8.4	7.5	2.93~5.10	3.81	0.61~1.04	0.90	0.70~2.02	1.65	0.37~1.44	1.11
門 脈 血	5	6.6~7.6	7.1	3.03~4.46	3.78	0.45~1.03	0.85	0.98~1.78	1.51	0.69~1.88	0.93
肝静脈血	5	6.6~7.3	6.9	2.56~3.78	3.31	0.69~1.12	0.89	1.23~1.56	1.38	1.09~1.61	1.31

図15 急性肝障害家兎 濾紙電気泳動法による末梢血と門脈血とのアルブミン量の関係

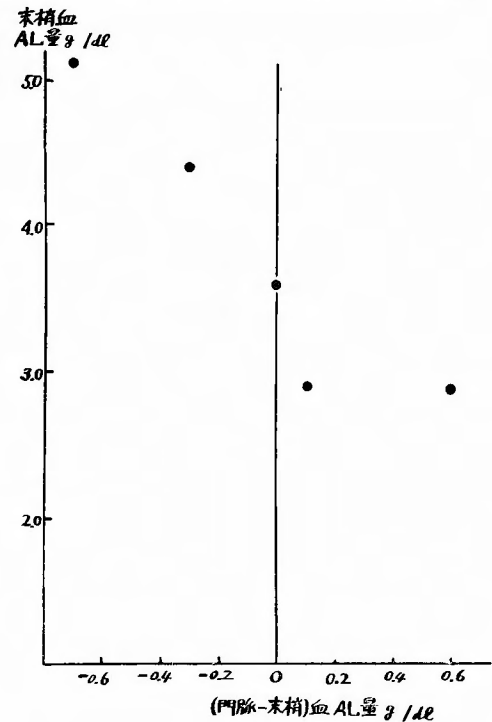
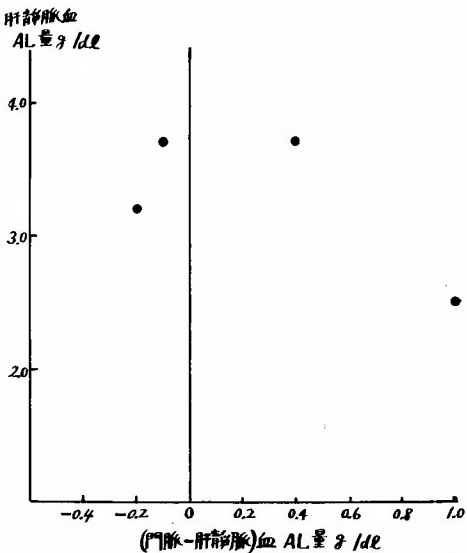


図16 急性肝障害家兎 濾紙電気泳動法による肝静脈血と門脈血とのアルブミン量の関係



肝血アルブミン量に対する門血アルブミンは量ほど健康家兎の場合と同じである。以上の所見は、塩析法による結果と全く同一である。

α グロブリン量では、健康家兎は門血α グロブリン量が末血、肝血のα グロブリンより低く、塩析法と同一所見である。急性肝障害家兎では、末血α グロブリン量は門血のそれより多く、肝血のα グロブリン量も門血のそれとほぼ同値を示し、塩析法と完全な一致をみない。

小括
健康家兎における門血アルブミン量は、末血、肝血のアルブミン量より高いが、四塩化炭素による急性肝障害家兎の門血アルブミン量は、末血のそれより低くて、門血は末血に対して、一定値保持の傾向を示す。

β, γ グロブリン量では、健康家兎は門血 β, γ グロブリン量が末血、肝血のそれより低く、急性肝障害家兎に於ても正常例と同様な関係を示す。塩析法とは異なる。

IV 総括及び考按

塩類溶液による塩析法と電気泳動法とは、全然異なる蛋白質の物理化学的性質を利用するのであるから、その蛋白分層は理論上等しい筈はなく、その各々に、それぞれ特長がある。一般に塩析法によるアルブミン値は単一物でないから、電気泳動法の値とは一致せず、高い値を示すという (Rafsky¹⁰⁾)。しかし、Jager¹⁰⁾等は両法を比較して、飽和硫酸マグネシウム、26%硫酸曹達、26.9% (血清で薄められて28%亜硫酸曹達は26.9%となる) 亜硫酸曹達による塩析法のアルブミン値は電気泳動法の値と比較的よく一致すると述べ、Pettermann, Tayler, Cohn も同様のことを述べている。

しかしながら、各異つた方法による分層に対し、同じ名称を附するのに問題があろうともいわれる (平井¹¹⁾三好¹²⁾)。

また電気泳動法による蛋白分層も完全分離されたとはいえないという (斎藤¹³⁾)。

我々の成績をみると、塩析法によるアルブミン及び α グロブリンは塩析法値の方が高く、 β, γ グロブリンは濾紙法値の方が高い。そして、アルブミン値は、両法比較的よく類似の値を示しており、次に α, γ グロブリンが類似する。 β グロブリン値はかなり異なる。さらに個々の関係を検討すると、アルブミンは、両法が比較的よく平行関係を示している。

このことは、健康家兎に於ても、操作の加えられた家兎に於ても同様である。

また腹水の蛋白分層値に於ては、アルブミン値は塩析法値の方が高く、その差が著しくなるが、個々の関係では両法は比較的よく平行関係を示す。 α グロブリン値は両法一致の傾向を示すが、 β, γ グロブリン値はその関係はみだれる。

さらに、健康家兎及び四塩化炭素による急性肝障害家兎の末血、門血、肝血の関係を検討したが、アルブ

ミン量は塩析法による値と全く同一の傾向を示している。 α グロブリン量では少し異なるが、 β, γ グロブリン量は、完全に異なる。

V 結 論

1) 健康家兎及び各種操作を施した家兎における、血清蛋白分層値を塩析法及び濾紙電気泳動法により測定した。その結果、アルブミン、 α グロブリンは塩析法の値が高く、 β, γ グロブリンは濾紙法の値が高い。両法の値はアルブミンに於て最もよく平行する。

2) 腹水蛋白分層値は、 α グロブリンがほぼ同値を示し、アルブミンが塩析法が高く、 β, γ グロブリンが濾紙法で高い。個々の関係はアルブミンが比較的平行する。

3) 健康家兎及び四塩化炭素による急性肝障害家兎の末血、門血、肝血相互の関係は、アルブミン量に於て、塩析法値と濾紙電気泳動法値とはよく一致する。

終りに臨み、絶えず御鞭撻を頂いた京大医学部青柳安誠教授の御校閲を深く御礼申し上げる。

文 献

- 1) 斎藤正行・吉川春寿：血液蛋白質(1)。日本医事新報, No. 1277; 9, 昭23.
- 2) 斎藤正行・吉川春寿：血液蛋白質(2)。日本医事新報, No. 1278; 8, 昭23.
- 3) 斎藤正行・吉川春寿：血液蛋白質(3)。日本医事新報, No. 1279; 19, 昭23.
- 4) 斎藤正行：血清蛋白について。日本医事新報, No. 1301; 44, 昭24.
- 5) 斎藤正行：光電比色計による臨床化学検査。南山堂, 142, 昭27.
- 6) 松本哲夫：血清蛋白の化学的並びに濾紙電気泳動法による比較。通信医学, 8, 436, 昭31.
- 7) 森五郎他：濾紙電気泳動法の実際。第1版, 1955.
- 8) 小林茂三郎：濾紙電気泳動法の検討。日本医事新報, No. 1562; 25, 昭29.
- 9) Rafsky, H. A.: Electrophoretic Studies in Liver Disease. Gastroenterology, 14; 29, 1950.
- 10) Jager, B. V.: Comparative Electrophoretic and Chemical Estimations of Human Serum Albumin. J. Lab. & Clin. Med., 35; 76, 1950.
- 11) 平井秀松：血漿蛋白質分割法。最新医学, 10; 105, 昭30.
- 12) 三好和夫：血漿蛋白質とその臨床面。日本臨床, 9; 529, 昭26.