

# 低カタラーゼ血液症の簡易検出法に関する研究

## 第 3 編

### 低カタラーゼ血液症の新簡易検出法：Floating Disk Method

岡山大学医学部公衆衛生学教室（主任：緒方正名教授）

高 越 良 明

〔昭和47年12月6日受稿〕

#### 緒 言

「カ」活性度の測定は、一定時間の反応の後に基質である過酸化水素の残存濃度を化学的に定量する過マンガン酸カリ滴定法<sup>16), 17), 18), 19)</sup>およびチオ硫酸滴定法<sup>20)</sup>；残存過酸化水素濃度を紫外外部吸収によって定量する分光光度計法<sup>21)</sup>；残存過酸化水素濃度を電解電圧による電流値より直接定量するポーラロメトリー<sup>22)</sup>；過酸化水素より分解発生する酸素量を定量する検圧法<sup>23)</sup>；基質を過硼酸塩とした場合の過マンガン酸カリ滴定法<sup>24)</sup> など、被検材料による「カ」活性度の多少に応じて、その測定に適合した数多くの方法が考案されてきた。

血液「カ」活性度の測定、なかんずく高原により発見された無「カ」血症のヘテロ接合体である低「カ」血症のスクリーニングにおける血液「カ」活性度の測定には、われわれは主として Herbert 法をもとに改変した過マンガン酸カリ滴定法で定量し、さらに低「カ」血症のスクリーニング・テストには上記滴定法をさらに簡便にした Kobara 法<sup>8)</sup>を用いている。

著者は、カタラーゼ反応によって基質の過酸化水素が分解されて発生する酸素を測定の基礎とした Gagnon, M. ら<sup>25)</sup>の paper disk による「カ」活性度の測定法を改変して、簡便、かつ迅速な低「カ」血症のスクリーニング・テストの1方法を考案した。

その方法はまず、溶血液を吸収させた paper disk を過酸化水素溶液に落下させると、溶血液中のカタラーゼにより分解、発生した酸素が paper disk の周囲に付着してこれを浮上させる。その際、paper disk の沈下した距離、および過酸化水素溶液面より落下し、さらに浮上して液面に達するまでの時間を測定する方法で、極めて簡単、かつ迅速に低「カ」

血症を検出し得る特徴を有している。

著者は多数の正常者、低「カ」血症者の血液について本法による検査を行ない、得られた成績と Herbert 法を改変した過マンガン酸カリ滴定法で定量した「カ」活性度（ただし catK/ml）とを比較対照し、本法のスクリーニング・テストへの応用の可能性について検討したので、ここに報告する。

#### 実験材料並びに実験方法

##### 実験材料

被検血液：正常者39名、および低「カ」血症者16名の肘静脈より採血し、第1編におけると同様にして凝固を阻止した。

##### 試薬並びに実験装置

0.01 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0)

3% 過酸化水素溶液：30% 過酸化水素を0.01 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) で稀釈した。

1000倍溶血液：血色素測定用メラングジュールを用いて、凝固を阻止した被検血液0.02 mlを0.01 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) 20 mlで溶血した。

Paper disk：直径4.5 mmの円板を東洋沓紙株式会社製ペーパー・クロマトグラフ用No50(2×40 cm)の沓紙で作製した。

シリンダー：0.5 cm目盛りをほどこした内径5 cm、高さ15～35 cmのシリンダー。

ストップ・ウォッチ：30秒計、または1分計。

ピンセット：先端を尖鋭にしたピンセット。

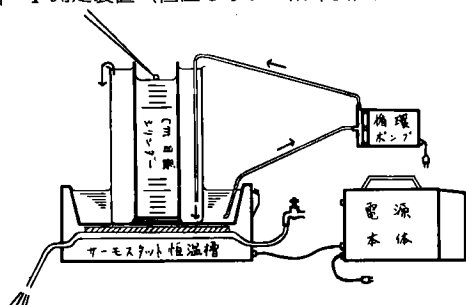
恒温装置並びに循環装置：三洋電器株式会社製電子現像バットに小型循環装置を接続してシリンダー内の3% 過酸化水素溶液を20℃に保った。

(第1図)

##### 実験方法

先端を尖鋭にしたピンセットで paper disk を保

図-1 測定装置 (恒温ならびに循環装置)



持し、1000倍溶血液を飽和状態に吸収させた後、あらかじめ恒温装置並びに循環装置で20℃に保温したシリンダー内の3%過酸化水素溶液面に垂直に、静かに paper disk を浸すと同時にストップ・ウォッチを押す(第1図)。paper disk はある深さまで沈降したのち浮上を始めて液面に達する。

このとき paper disk が液面より沈降する深さを沈降距離 (cm) とし、液面より沈降したのち浮上して再び液面に達するまでの時間を浮上時間 (sec) とし、両者の値を測定する。ただし反応液中で paper disk がシリンダー内壁を伝わって沈降または浮上し、あるいは paper disk が幾度も反転または斜めに移動するなど、不規則な沈降または浮上状態を示す場合は negative data とした。

上記方法によって1試料につき10回測定して得た沈降距離および浮上時間の平均値と、Herbert 法を改変した過マンガン酸カリ滴定法で定量した「カ」活性度 (catK/ml) とを比較対照して検討した。

### 実験成績

正常者39名、低「カ」血症者16名の血液の過マンガン酸カリ滴定法による「カ」活性度 (ただし本編では catK/ml of blood) に対して、1試料につき10回測定して平均値を求めた本法による沈降距離および浮上時間の値は、第2図、第3図および第1表A、Bに示す通りである。すなわち「カ」活性度の低い低「カ」血症者群では沈降距離、浮上時間ともに延長し、「カ」活性度の高い正常者群では両値とも短縮した。そして本法の1試料につき10回の各測定値が、その平均値±(標準偏差の2倍)に含まれる割合は全例において90%以上で、しかも大多数例では沈降距離または浮上時間のいずれかが平均値±(標準偏差の2倍)に100%含まれていた。

さらに変位係数は、低「カ」血症者群で沈降距離

図2 Floating Disk Methodによる沈降距離と滴定法によるカタラーゼ活性度との関係

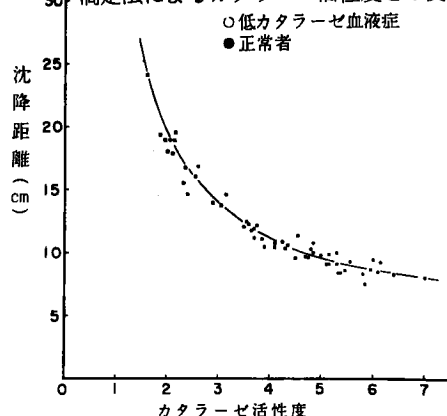
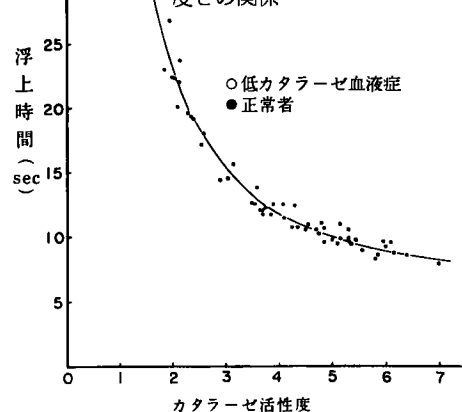


図3 Floating Disk Method による浮上時間と滴定法によるカタラーゼ活性度との関係



2.6~5.8% (平均値3.8%), 浮上時間2.1~8.2% (平均値4.0%), 正常者群では沈降距離1.6~6.2% (平均値3.4%), 浮上時間1.2~6.0% (平均値2.9%)で、低「カ」血症者群では浮上時間よりも沈降距離のばらつきが小さいのに反して、正常者群では浮上時間よりも沈降距離のばらつきの方が大となる傾向を示した。

また滴定法による「カ」活性度と10回測定の平均値による本法の沈降距離および浮上時間との関係は、第2図、第3図のようにほぼ双曲線を示し、低「カ」血症者群と正常者群とが、沈降距離13.0cm、浮上時間14.0 sec で画然と区別された。そして滴定法による「カ」活性度の対数値をx軸に、平均値による本法の沈降距離および浮上時間の対数値をy軸にとった両対数グラフ(第4図)において、これらの測定

第1表 Floating disk method による低カタラーゼ血液症血液および正常人血液の沈降距離および浮上時間  
(1材料につき10回測定)と滴定法によるカタラーゼ活性度との関係

A. 低カタラーゼ血液症

被検血液 No.	カタラーゼ活性度 cat K/ml	沈 降 距 離						浮 上 時 間						
		平均値 M (cm)	標準偏差 $\sigma$	% <sup>*1</sup> M $\pm$ $\sigma$	2 $\sigma$	% <sup>*2</sup> M $\pm$ 2 $\sigma$	変位係数 100 $\sigma$ /M	平均値 M(sec)	標準偏差 $\sigma$	% <sup>*1</sup> M $\pm$ $\sigma$	2 $\sigma$	% <sup>*2</sup> M $\pm$ 2 $\sigma$	変位係数 100 $\sigma$ /M	
1	1.61	25.0	0.98	70	1.96	90	3.9	31.3	2.32	80	4.64	100	7.4	
2	1.84	22.2	0.92	70	1.84	100	4.1	26.7	1.20	70	2.40	100	4.5	
3	1.94	18.7	1.09	60	2.18	100	5.8	26.1	2.14	80	4.28	90	8.2	
4	2.00	18.3	0.77	70	1.54	100	4.2	23.1	1.30	70	2.60	100	5.6	
5	2.05	18.9	0.55	60	1.10	100	2.9	22.4	1.00	70	2.00	100	4.5	
6	2.10	17.9	0.88	80	1.76	90	4.9	20.4	1.29	70	2.58	100	6.3	
7	2.13	19.0	0.94	50	1.88	100	5.0	22.0	0.67	70	1.34	100	3.0	
8	2.16	19.5	0.64	70	1.28	100	3.3	23.7	0.79	60	1.58	100	3.3	
9	2.32	15.5	0.70	50	1.40	100	4.5	19.7	0.65	80	1.30	90	3.3	
10	2.35	16.4	0.65	60	1.30	100	4.0	19.7	0.56	70	1.12	100	2.8	
11	2.42	14.5	0.57	80	1.14	90	3.9	19.2	0.52	70	1.04	100	2.7	
12	2.56	15.7	0.48	60	0.96	90	3.1	17.1	0.42	60	0.84	100	2.5	
13	2.61	16.8	0.60	60	1.20	100	3.6	18.0	0.48	60	0.96	100	2.7	
14	2.90	14.1	0.37	50	0.74	100	2.6	14.9	0.31	70	0.62	100	2.1	
15	3.06	13.7	0.41	70	0.82	100	3.0	15.0	0.41	60	0.82	100	2.7	
16	3.16	13.8	0.37	70	0.74	90	2.7	14.7	0.33	70	0.66	90	2.2	
変位係数の平均値-----							3.8	変位係数の平均値-----						4.0

\*1 10回測定の平均値 $\pm$ 標準偏差に含まれる測定値の百分率

\*2 10回測定の平均値 $\pm$ 標準偏差の2倍に含まれる測定値の百分率

B. 正 常 者

被検血液 No.	カタラーゼ活性度 cat K/ml	沈 降 距 離						浮 上 時 間					
		平均値 M (cm)	標準偏差 $\sigma$	% <sup>*1</sup> M $\pm$ $\sigma$	2 $\sigma$	% <sup>*2</sup> M $\pm$ 2 $\sigma$	変位係数 100 $\sigma$ /M	平均値 M(sec)	標準偏差 $\sigma$	% <sup>*1</sup> M $\pm$ $\sigma$	2 $\sigma$	% <sup>*2</sup> M $\pm$ 2 $\sigma$	変位係数 100 $\sigma$ /M
1	3.47	11.4	0.30	80	0.60	100	2.6	11.9	0.38	50	0.76	100	3.2
2	3.54	12.4	0.50	70	1.00	100	4.0	12.5	0.35	60	0.70	100	2.8
3	3.61	11.1	0.55	60	1.10	100	5.0	13.5	0.55	70	1.10	90	4.1
4	3.63	11.6	0.28	70	0.56	90	2.4	12.0	0.27	70	0.54	100	2.3
5	3.69	11.7	0.32	80	0.64	90	2.7	12.0	0.40	80	0.80	90	3.3
6	3.70	11.1	0.41	60	0.82	100	3.7	11.1	0.37	70	0.74	100	3.3
7	3.74	12.1	0.41	80	0.82	90	3.4	12.2	0.25	60	0.50	100	2.1
8	3.85	10.1	0.32	70	0.64	100	3.1	11.8	0.33	60	0.66	100	2.8
9	3.91	10.4	0.32	70	0.64	100	3.1	12.5	0.43	80	0.86	100	3.4
10	4.08	11.0	0.42	70	0.84	100	3.8	12.4	0.31	50	0.62	100	2.5
11	4.12	9.2	0.46	50	0.92	100	5.0	11.5	0.57	60	1.14	100	5.0
12	4.26	10.8	0.44	60	0.88	100	4.1	10.7	0.21	80	0.42	100	1.9
13	4.31	10.2	0.31	60	0.62	100	3.0	12.4	0.31	80	0.62	100	2.5
14	4.33	10.7	0.54	60	1.08	100	5.0	11.3	0.65	70	1.30	100	5.8
15	4.52	8.9	0.20	70	0.40	100	2.2	10.6	0.27	50	0.54	100	2.5
16	4.56	11.3	0.29	60	0.58	90	2.6	10.9	0.13	80	0.26	90	1.2
17	4.70	9.1	0.25	70	0.50	100	2.7	8.9	0.18	20	0.36	100	2.0
18	4.74	8.8	0.31	70	0.62	100	3.5	10.2	0.27	70	0.54	90	2.6
19	4.78	10.2	0.30	70	0.60	100	2.9	11.9	0.35	80	0.70	90	2.9
20	4.84	10.7	0.17	70	0.34	100	1.6	10.6	0.18	50	0.36	100	1.7

被検血液 No.	カタラーゼ活性度 cat K/ml	沈 降 距 離						浮 上 時 間							
		平均値	標準偏差	% <sup>*1</sup>	2σ	% <sup>*2</sup>	変位係数	平均値	標準偏差	% <sup>*1</sup>	2σ	% <sup>*2</sup>	変位係数		
		M (cm)	σ	M±σ		M±2σ	100σ/M	M (sec)	σ	M±σ		M±2σ	100σ/M		
21	4.85	9.9	0.23	60	0.46	100	2.3	9.6	0.18	40	0.36	100	1.9		
22	5.00	9.5	0.26	70	0.52	100	2.7	9.8	0.19	60	0.38	100	1.9		
23	5.11	9.4	0.37	60	0.74	100	3.9	9.8	0.19	60	0.38	100	1.9		
24	5.15	9.9	0.23	60	0.46	100	2.3	9.8	0.24	50	0.48	100	2.5		
25	5.15	8.9	0.55	50	1.10	100	6.2	10.7	0.64	60	1.28	100	6.0		
26	5.29	9.7	0.28	60	0.56	100	2.9	9.8	0.25	70	0.50	100	2.6		
27	5.30	9.1	0.33	60	0.66	100	3.6	10.5	0.39	70	0.78	90	3.7		
28	5.32	8.3	0.23	50	0.46	100	2.8	9.5	0.33	70	0.66	90	3.5		
29	5.34	8.7	0.35	70	0.70	100	4.0	9.5	0.27	60	0.54	100	2.8		
30	5.43	8.4	0.29	70	0.58	90	3.5	9.7	0.24	60	0.48	100	2.5		
31	5.54	9.2	0.27	70	0.54	90	2.9	9.3	0.30	70	0.60	100	3.2		
32	5.81	8.3	0.25	60	0.50	100	3.0	8.2	0.21	70	0.42	100	2.6		
33	5.84	7.5	0.39	60	0.78	100	5.3	8.5	0.34	60	0.68	100	4.0		
34	5.94	8.5	0.30	80	0.60	90	3.5	9.5	0.27	60	0.54	100	2.9		
35	5.98	9.4	0.38	70	0.76	90	4.0	9.2	0.36	60	0.72	100	3.9		
36	6.12	8.8	0.33	50	0.66	100	3.8	9.7	0.28	60	0.56	90	2.9		
37	6.16	9.2	0.20	70	0.40	100	2.2	8.7	0.16	80	0.32	100	1.8		
38	6.39	7.8	0.34	70	0.68	100	4.4	8.5	0.28	70	0.56	100	3.3		
39	7.04	7.9	0.25	40	0.50	100	3.2	7.5	0.19	60	0.38	100	2.5		
変位係数の平均値-----							3.4	変位係数の平均値-----							2.9

※ 1 10回測定 of 平均値±標準偏差に含まれる測定値の百分率

※ 2 10回測定 of 平均値±標準偏差の2倍に含まれる測定値の百分率

値はほぼ直線上に分布した。すなわち Gagnon, M. の精製カタラーゼを用いた実験におけるカタラーゼの一次反応と同じ成績を得た。

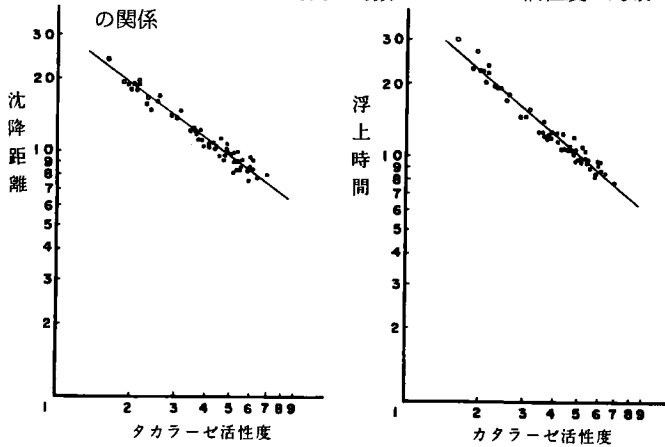
は沈降距離の数値より浮上時間の数値が大となる傾向を示した。

総括並びに考按

実験成績に示したように、滴定法による「カ」活性度の対数値と本法の沈降距離および浮上時間の対数値はほぼ直線上にあり、血液カタラーゼを使用した本法も精製牛肝カタラーゼを用いた Gagnon, M. らの原法と同様な成績を得た。すなわち本法も1試料につき10回測定してその平均値を求めることにより試料の「カ」活性度を間接的に測定することができる。

しからば、本法をさらに簡略化して低「カ」血症のスクリーニング・テストとして用いるために1試料10回測定の平均値と、1試料

図 4 沈降距離および浮上時間の対数とカタラーゼ活性度の対数との関係

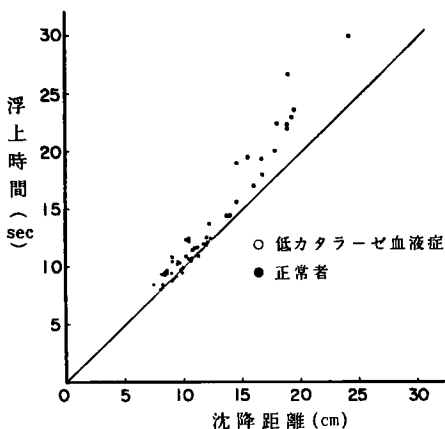


○ 低カタラーゼ血症者  
● 正常者

また、沈降距離と浮上時間との相関関係は第5図のように正常者群では沈降距離と浮上時間のおおのの値数に比例関係があるが、低「カ」血症者群で

3回測定の平均値とを比較する手段として、実験成績の1試料10回の各測定値のうち第1～第3番目までの3回の測定値の平均値を求め、1試料10回測定

図-5 沈降距離と浮上時間との相関関係



の平均値 (以下  $M_1$  で表わす) と、1 試料 3 回測定  
の平均値 (以下  $M_2$  で表わす) とを比較検討した。

各  $M_1$ ,  $M_2$  における沈降距離および浮上時間と  
「カ」活性度との関係は、第 2 表 A, B のようにほ  
とんど一致するばかりでなく、 $M_1$ ,  $M_2$  も低「カ」  
血症者群と正常者群とが沈降距離 13.0 cm, 浮上時間  
14.0 sec ではっきりと区別された。さらに  $M_1$  と  $M_2$

の有意性をみると、全例において  $\frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} < 3$  で  
あり、有意の差は認められなかった。

以上のことから、1 試料を 3 回測定してその平均  
値を求める簡便法を低「カ」血症のスクリーニング・  
テストとして用い得ることが判明したので、次に低  
「カ」血症のスクリーニング・レベルを設定する手  
段として低「カ」血症者における「カ」活性度の分  
布状態について検討を加えた。

すなわち、岡山大学医学部耳鼻咽喉科学教室の無  
「カ」血症、低「カ」血症調査班が、1964 年 (昭和  
39) までに詳細に調査した無「カ」血症 20 家系、低  
「カ」血症 24 家系の過マンガン酸カリ滴定法による  
「カ」活性度の分布は、正常者 331 例の平均値 4.80 お  
よび標準偏差 0.70, 低「カ」血症者 182 例の平均値 2.35  
および標準偏差 0.47 の正規分布曲線で表わされ (第  
3 表, 第 6 図), 低「カ」血症者全数を 100% として  
その 2.7% が “平均値 + (標準偏差の 2 倍)” すなわ  
ち  $2.35 + 0.47 \times 2 = 3.29$  (Kcat) 以上となる。

そこで、第 2 図, 第 3 図より「カ」活性度の 3.29  
に相当する本法の沈降距離 13.0 cm, 浮上時間 14.0 sec  
をもって仮りに滴定法と見あう本法のスクリーニ  
ング・レベルとした。

第 2 表 Floating disk method による低カタラーゼ血液症血液および正常人血液の沈降距離および浮上時間  
の 10 回測定および 3 回測定における測定値の差の有意性の検定

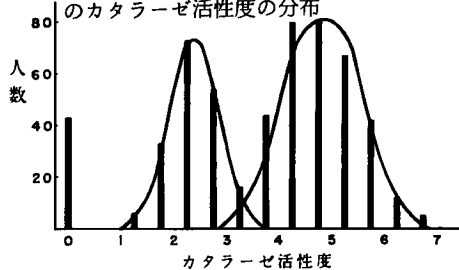
A. 低カタラーゼ血液症

被検 血液 No.	カタラーゼ 活性度 cat K/m <sub>l</sub>	沈 降 距 離							浮 上 時 間						
		10 回 測 定			3 回 測 定			有意性 $\frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$	10 回 測 定			3 回 測 定			有意性 $\frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$
		$M_1$ (cm)	$\sigma_1$	$m_1$	$M_2$ (cm)	$\sigma_2$	$m_2$		$M_1$ (sec)	$\sigma_1$	$m_1$	$M_2$ (sec)	$\sigma_2$	$m_2$	
1	1.61	25.0	0.98	0.31	24.7	1.70	0.98	0.29	31.3	2.32	0.73	32.1	1.82	1.05	0.63
2	1.84	22.2	0.92	0.29	22.3	1.00	0.58	0.15	26.7	1.20	0.38	27.3	0.90	0.52	0.94
3	1.94	18.7	1.09	0.34	18.4	1.69	0.97	0.29	26.1	2.14	0.68	26.3	3.02	1.75	0.11
4	2.00	18.3	0.77	0.24	18.1	1.03	0.60	0.31	23.1	1.30	0.41	22.4	1.68	0.97	0.67
5	2.05	18.9	0.55	0.17	19.4	0.67	0.39	1.19	22.4	1.00	0.32	23.1	0.95	0.55	1.09
6	2.10	17.9	0.88	0.28	18.7	1.05	0.61	1.19	20.4	1.29	0.41	20.9	1.78	1.03	0.45
7	2.13	19.0	0.94	0.30	18.6	0.85	0.49	0.70	22.0	0.67	0.21	22.0	0.66	0.38	0.00
8	2.16	19.5	0.64	0.20	19.3	0.83	0.48	0.38	23.7	0.79	0.25	23.1	0.80	0.46	1.15
9	2.32	15.5	0.70	0.22	15.3	0.92	0.53	0.35	19.7	0.65	0.21	19.5	1.04	0.60	0.31
10	2.35	16.4	0.65	0.21	16.7	0.56	0.32	0.79	19.7	0.56	0.18	19.9	0.16	0.09	1.00
11	2.42	14.5	0.57	0.18	14.3	0.53	0.31	0.56	19.2	0.52	0.16	18.8	0.44	0.25	1.33
12	2.56	15.7	0.48	0.15	16.0	0.75	0.43	0.65	17.1	0.42	0.13	17.2	0.50	0.29	0.31
13	2.61	16.8	0.60	0.19	16.5	0.45	0.26	0.94	18.0	0.48	0.15	17.8	0.72	0.42	0.44
14	2.90	14.1	0.37	0.12	14.2	0.64	0.37	0.26	14.9	0.31	0.10	15.0	0.50	0.29	0.32
15	3.06	13.7	0.41	0.13	13.7	0.55	0.32	0.00	15.0	0.41	0.13	14.9	0.55	0.32	0.29
16	3.16	13.8	0.37	0.12	13.9	0.20	0.12	0.59	14.7	0.33	0.10	14.8	0.16	0.09	0.77

B. 正 常 者

被検血液	カタラーゼ No. cat k/ml	沈 降 距 離							浮 上 時 間						
		10 回 測 定			3 回 測 定			有意性	10 回 測 定			3 回 測 定			有意性
		M <sub>1</sub> (cm)	σ <sub>1</sub>	m <sub>1</sub>	M <sub>2</sub> (cm)	σ <sub>2</sub>	m <sub>2</sub>		$\frac{M_1-M_2}{\sqrt{m_1^2+m_2^2}}$	M <sub>1</sub> (sec)	σ <sub>1</sub>	m <sub>1</sub>	M <sub>2</sub> (sec)	σ <sub>2</sub>	
1	3.47	11.4	0.30	0.09	11.6	0.36	0.21	0.87	11.9	0.38	0.12	12.1	0.30	0.17	0.95
2	3.54	12.4	0.50	0.16	12.7	0.42	0.24	1.03	12.5	0.35	0.11	12.7	0.36	0.21	0.83
3	3.61	11.1	0.55	0.17	10.7	0.38	0.22	1.48	13.5	0.55	0.17	13.4	0.49	0.28	0.30
4	3.63	11.6	0.28	0.09	11.9	0.12	0.07	2.73	12.0	0.27	0.09	12.2	0.20	0.12	1.33
5	3.69	11.7	0.32	0.10	11.6	0.51	0.30	0.31	12.0	0.40	0.13	11.7	0.66	0.38	0.75
6	3.70	11.1	0.41	0.13	11.3	0.55	0.32	0.57	11.1	0.37	0.12	11.4	0.45	0.26	0.70
7	3.74	12.1	0.41	0.13	11.8	0.10	0.06	2.14	12.2	0.25	0.08	12.1	0.07	0.04	1.11
8	3.85	10.1	0.32	0.10	10.2	0.52	0.30	0.31	11.8	0.33	0.10	11.8	0.55	0.32	0.00
9	3.91	10.4	0.32	0.10	10.5	0.47	0.27	0.34	12.5	0.43	0.14	12.8	0.70	0.40	0.17
10	4.08	11.0	0.42	0.13	10.9	0.64	0.36	0.26	12.4	0.31	0.10	12.5	0.44	0.25	0.37
11	4.12	9.2	0.46	0.15	9.1	0.76	0.44	0.22	11.5	0.57	0.18	11.3	0.86	0.50	0.38
12	4.26	10.8	0.44	0.14	10.7	0.45	0.26	0.33	10.7	0.21	0.07	10.7	0.38	0.22	0.00
13	4.31	10.2	0.31	0.10	10.3	0.26	0.15	0.18	12.4	0.31	0.10	12.4	0.25	0.14	0.00
14	4.33	10.7	0.54	0.17	10.5	0.47	0.27	0.65	11.3	0.65	0.21	11.3	0.35	0.20	0.00
15	4.52	8.9	0.20	0.06	8.8	0.21	0.12	0.77	10.6	0.27	0.09	10.6	0.36	0.21	0.00
16	4.56	11.3	0.29	0.09	11.1	0.17	0.10	1.54	10.9	0.13	0.04	10.8	0.07	0.04	2.45
17	4.70	9.1	0.25	0.08	9.0	0.26	0.15	0.60	8.9	0.18	0.06	8.9	0.21	0.12	0.00
18	4.74	8.8	0.31	0.10	8.7	0.30	0.17	0.50	10.2	0.27	0.09	10.2	0.32	0.19	0.00
19	4.78	10.2	0.30	0.09	10.1	0.35	0.20	0.45	11.9	0.35	0.11	11.8	0.45	0.26	0.36
20	4.84	10.7	0.17	0.05	10.7	0.07	0.04	0.00	10.6	0.18	0.06	10.5	0.16	0.09	0.91
21	4.85	9.9	0.23	0.07	9.9	0.23	0.13	0.00	9.6	0.18	0.06	9.6	0.20	0.12	0.00
22	5.00	9.5	0.26	0.08	9.6	0.38	0.22	0.43	9.8	0.19	0.06	9.7	0.20	0.12	0.77
23	5.11	9.4	0.37	0.12	9.4	0.55	0.32	0.00	9.8	0.19	0.06	9.7	0.20	0.12	0.77
24	5.15	9.9	0.23	0.07	10.1	0.16	0.09	1.82	9.8	0.24	0.08	10.0	0.26	0.15	1.18
25	5.15	8.9	0.55	0.17	9.1	0.96	0.55	0.34	10.7	0.64	0.20	11.1	0.95	0.55	0.68
26	5.29	9.7	0.28	0.09	9.8	0.40	0.23	0.40	9.8	0.25	0.08	9.9	0.35	0.20	0.45
27	5.30	9.1	0.33	0.10	9.2	0.50	0.29	0.32	10.5	0.39	0.12	10.8	0.42	0.24	1.11
28	5.32	8.3	0.23	0.07	8.3	0.36	0.21	0.00	9.5	0.33	0.10	9.5	0.20	0.12	0.00
29	5.34	8.7	0.35	0.11	9.1	0.21	0.12	2.50	9.5	0.27	0.09	9.7	0.23	0.13	1.25
30	5.43	8.4	0.29	0.09	8.3	0.12	0.07	0.91	9.7	0.24	0.08	9.5	0.23	0.13	1.33
31	5.54	9.2	0.27	0.09	9.2	0.17	0.10	0.00	9.3	0.30	0.09	9.3	0.10	0.06	0.00
32	5.81	8.3	0.25	0.08	8.4	0.16	0.09	0.83	8.2	0.21	0.07	8.2	0.00	0.00	0.00
33	5.84	7.5	0.39	0.12	7.3	0.36	0.21	0.83	8.5	0.34	0.11	8.5	0.16	0.09	0.00
34	5.94	8.5	0.30	0.09	8.8	0.35	0.20	1.36	9.5	0.27	0.09	9.7	0.23	0.13	1.25
35	5.98	9.4	0.38	0.12	9.4	0.71	0.41	0.00	9.2	0.36	0.11	9.2	0.67	0.39	0.00
36	6.12	8.8	0.33	0.10	9.0	0.25	0.14	1.18	9.7	0.28	0.09	9.8	0.20	0.12	0.67
37	6.16	9.2	0.20	0.06	9.1	0.21	0.12	0.77	8.7	0.16	0.05	8.7	0.10	0.06	0.00
38	6.39	7.8	0.34	0.11	7.9	0.42	0.24	0.38	8.5	0.28	0.09	8.7	0.35	0.20	0.91
39	7.04	7.9	0.25	0.08	8.2	0.16	0.09	2.50	7.5	0.19	0.06	7.6	0.16	0.09	0.91

図 6 無カタラーゼ血液症, 低カタラーゼ血液症家系のカタラーゼ活性度の分布



第3表 無カタラーゼ血液症, 低カタラーゼ血液症家系におけるカタラーゼ活性度 (Kcat) の分布

	人数	カタラーゼ活性度		
		平均値	標準偏差	範囲
正常者	331	4.80	0.70	3.50-6.87
低カタラーゼ血液症	182	2.35	0.47	1.07-3.40
無カタラーゼ血液症	43	0	-	-

しかし、このレベルでは、なお2.7%の低「カ」血症者をとりこぼしており、このとりこぼしをほとんどなくするためには、 $\text{平均値} + (\text{標準偏差の}2.5\text{倍})$ すなわち $2.35 + 0.47 \times 2.5 = 3.52$  (Kcat) に相当する沈降距離12.5cm, 浮上時間13.5 sec までスクリーニング・レベルを上げなければならない。

高原によれば、低「カ」血症は正規分布しているので $^{26)}\text{平均値} + (\text{標準偏差の}2.5\text{倍})$ では低「カ」血症のとりこぼしは0.62%にすぎない。

次に、10回測定の前平均値の代わりに3回測定の前平均値を用いれば、スクリーニング法としてはさらに簡便である。そこで10回および3回の測定値の算術平均の差の有意性を正常者39例、低「カ」血症者16例について検討した。

## 文

- 1) 高原滋夫, 宮本久雄: 家族的に見られたる歯性壞疽性顎骨炎の3例. 日耳鼻51: 163-164, 1948.
- 2) Takahara, S.: Acatalasemia (lack of catalase in blood) and oral progressive gangrene. Proc. Jap. Acad. 27: 295-301, 1951.
- 3) Takahara, S., Mihara, S., Tsugawa, K. and Doi, M.: Acatalasemia II. Contents of catalase in blood and tissues of men and animals. Proc. Jap. Acad. 28: 383-387, 1952.
- 4) Takahara, S.: Progressive oral gangrene probably due to lack of catalase in the blood (Acatalasemia). Lancet. 2: 1101-1104, 1952.
- 5) 高原滋夫: 無カタラーゼ血液症. 人遺誌. 7: 37-59, 1962.
- 6) Nishimura, E.T., Hamilton, H.B., Kobara, T.Y., Takahara, S., Ogura, Y. and Doi, K.: Carrier state in human acatalasemia. Science. 130: 333-334, 1959.
- 7) Takahara, S., Hamilton, H.B., Neel, J.V., Kobara, T.Y., Ogura, Y. and Nishimura, E. T.: Hypocatalasemia; A new genetic carrier state. J. clin. Invest. 39: 610-619, 1960.
- 8) Hamilton, H.B., Neel, J.V., Kobara, T.Y. and Ozaki, K.: The frequency in Japan of

$$\frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

第2表A, Bにおける55例の各 $\frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$ の最高値が2.5であり、いずれも3以下である。このことから3回測定値の前平均値をもって10回測定値の近似値としてスクリーニングに充分使用できることが明らかにされた。

## 結 論

Gagnon, M. らの paper disk によるカタラーゼ活性測定法を改変して、簡便、かつ、迅速な低「カ」血症のスクリーニング・テストの1方法を考案した。

正常者および低「カ」血症者血液を用いた floating disk method による実験成績を統計学的に処理して得られたスクリーニング・レベルは沈降距離12.5cm, 浮上時間13.5 sec である。

## 献

- the rare "recessive" gene causing acatalasemia. J. clin. Invest. 40: 2199-2208, 1961.
- 9) 高原滋夫, 小倉義郎, 折田洋造, 中川嘉人, 小西静雄, 森谷研介: 昭和37年度までの Acatalasemia, Hypocatalasemia 調査集計. 日耳鼻67: 1421-1426, 1964.
- 10) 高原滋夫: 低カタラーゼ血液症のスクリーニング. 医学のあゆみ. 54: 303-305, 1965.
- 11) 高原滋夫, 小倉義郎, 高越良明, 森谷研介, 大上浩, 堀興雄: Hypocatalasemia の出現頻度に関する昭和38年度調査報告. 岡山医誌. 77: 365-368, 1965.
- 12) 高原滋夫, 小倉義郎, 岡崎英生, 安原皓三, 貞本昌規, 大島昭夫: 昭和39年度 Acatalasemia, Hypocatalasemia 調査集計. 岡山医誌. 77: 717-723, 1965.
- 13) 川崎政美: 肝 Catalase 活性に関する研究. 岡山医誌. 71: 5101-5109, 1959.
- 14) Herbert, D.: Catalase from bacteria. Methods in Enzymology, eds., S.P. Colowick and N.O. Kaplan. New York, Academic Press. 2: 784-788, 1955.
- 15) Shikama, K.: Denaturation of catalase and myosin by freezing and thawing. Tohoku Univ. Ser. IV (Biol.) 27: 91-106, 1963.
- 16) Von Euler, H. und Josephson, K.: Über

- Katalase I. *Ann. Chem.* **452** : 158-181, 1927.
- 17) Bonnichsen, R.K., Chance, B. and Theorell, H.: Catalase activity. *Acta Chem. Scand.* **1** : 685-709, 1947.
- 18) Bonnichsen, R.K.: Blood catalase. *Methods in Enzymology*, eds., S.P. Colowick and N.O. Kaplan. New York, Academic Press. **2** : 781-784, 1955.
- 19) 井上文蔵, 越智躬澄, 白井豹: 「カタラーゼ」定量法に就て (第2報). *東京医学会雑誌* **34** : 1190-1196, 1920.
- 20) Balls, A.K. and Hale, W.S.: The estimation of catalase in agricultural products. *J. Assoc. Official Agr. Chemists.* **15** : 483-490, 1932.
- 21) Beers, R.F., Jr., and Sizer, I.W.: A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* **195** : 133-140, 1952.
- 22) 浜本昭: Oxigraph による O<sub>2</sub>以外の物質の定量分析について. *生体の科学* **10**巻, **6** : 307-314, 1959.
- 23) Fujita, A. und Kodama, T.: Manometrische Bestimmung der Katalase. *Bioch. Z.* **232** : 20-34, 1931.
- 24) Feinstein, R.N. perborate as substrate in a new assay of catalase. *J. Biol. Chem.* **180**:1197-1202, 1949
- 25) Gagnon, M., Hunting, W.M. and Esseln, W.B.: New method for catalase determination. *Analyt. Chemist.* **31** : 144-146, 1959.
- 26) Takahara, S.: Discussion between Acatalasemia in Japan and Acatalasemia in Switzerland; Hereditary disorders of erythrocyte metabolism. p. 63. Grune and Stratton, Inc. New York, 1968.

## A Study on the Methodology of Screening Tests for Acatalasemic Gene Carrier

by

Yoshiaki Takagoshi, M.D.

Department of Public Health, Okayama University Medical School  
(Director : Prof. Masana Ogata)

The way of preserving blood specimens is an important factor on the screening tests for acatalasemic gene carrier. Because, the decay time of catalase activity in blood depends on the physical conditions, largely on temperature, where the blood specimens are kept.

The author investigated the decay rate of catalase activity under following conditions.

1. Preservation of human blood in a vacuum flask at the temperature of 0~10°C.
2. Preservation in a deep-freezer at -20°C.

In the former condition the blood specimen did not lose catalase activity at least seven days, and afterwards decay went on gradually. On the contrary, in the latter frozen specimens some degree of decay occurred soon. Afterwards, however, they kept constant catalase activity, 84% of the initial value, for months. So, it is concluded that for the practice of screening tests preservation in a vacuum flask at the temperature of 0~10°C is preferable.

Next, the author devised a handy, feasible way of screening tests named the !!floating disk method. !!It is a modification from M. Gagnon's estimation of catalase activity by measuring floating time of a piece of paper disk dipped with enzymatic specimen in hydrogen per-oxide solution. The screening level set up by this method is 12.5cm for the depth and 13.5 sec for the floating time.