

# 岡山医学会雑誌

第71巻 7号の2 (771号)

昭和34年7月10日発行

615. 778. 299 : 612. 111 : 577. 15

## 赤血球酵素作用におよぼす Thiazolocyantin 系感光色素 Platonin の影響に関する実験的研究

岡山大学医学部法医学教室 (主任: 三上芳雄教授)

船 曳 定 雄

〔昭和34年5月20日受稿〕

### 結 論

Cyanin 系感光色素の有する生物学および医学的作用に関する実験的研究は枚挙に遑がないが、血液にたいする Cyanin 系感光色素の影響についての研究はいまだ寥々たるものである。三上教授門下の間世田<sup>1)</sup>は Thiazolocyantin 系感光色素 Platonin の生物学的作用に関する螢光的研究において、同色素加血液は対照血に比較してその還元度がおそく、酸素の消費量が減少し、赤血球抵抗が増強するとのべ、おなじく馴田<sup>2)</sup>は輸血用保存血稀釈液中に Platonin を添加した場合、対照血に比し赤血球の抵抗が増強し、抗菌性があり、実験的失血性貧血にたいし著効を認めたと報告し、いづれも色素の一部が赤血球内に進入して赤血球内色素および酸素等に影響をおよぼし、さらには血清中において稀釈成分とともに赤血球生存に有効な作用をおよぼすためであろうと推論している。

このように Thiazolocyantin 系感光色素が赤血球にたいし有効的あるいは防衛的に作用することから、Thiazolocyantin 系感光色素がいわゆる血液毒にたいしても有効であろうと考えて、浜田<sup>3)</sup>は血液毒である一酸化炭素中毒時における血液酸素消費に Thiazolocyantin 系感光色素 Platonin がいかなる影響をあたえるかについて研究し、Platonin を添加

した場合には血液酸素消費量が一酸化炭素によつて増加しないとゆう成績をえている。

著者は教室における Thiazolocyantin 系感光色素 Platonin の血液中毒にたいする影響に関する実験的研究の一つとして、血球代謝機能に關聯する赤血球の酵素作用に Platonin がいかなる影響をおよぼすかについて若干の研究をおこなつたので報告する。

### I. Cathepsin 作用について

Waldschmidt-Leitz ら<sup>4)</sup>は最初 Cathepsin は正常細胞内では非働性であると考えていたが、Maschmann<sup>5)</sup>は alcohol 洗滌を繰返しても Waldschmidt-Leitz らのゆうような非働性のものはえられず、すくなくとも50~70%は働性である<sup>6)</sup>とゆう結果をえ、生体内組織においてもかならずや働性の Cathepsin が存在し、これが組織の蛋白代謝に關与しているであろうとのべている。

しかして Cathepsin の作用は一見非働性のごとくであるが、実は合成分解の中位をたもつており、病的状態の出現に際しては1, 2条件の大きな変化に支配されて正常範囲をこえた分解または合成を招来し、かくして組織内における蛋白代謝に關与し、ひいては組織の生長、増殖、再生、壊死等の現象に重要な役割をはたしているものであらうと考えられ

ている。

Cathepsin はほとんどあらゆる動植物の組織細胞にふくまれているが、血液ではいかなる部分に存在しているかについては異論がある。すなわち、正常人血清中にはふくまれていないとゆう人<sup>7)</sup>と、ふくまれておりしかも Globulin 部分についているとゆう人<sup>8)</sup>があるが、脾、白血球以外の組織では Trypsin などはふくまれておらないが Cathepsin はふくまれており、人白血球中でもつとも多いのは Polyptidase で、Cathepsin はもつともすくないといわれている。赤血球中に Cathepsin が存在するやいなやについても疑義もあるが、三村<sup>9)</sup>は塩酸 Phenylhydrazine 添加により Heinz 小体の出現した赤血球の Cathepsin 作用について研究し、その存在を確認しているため、著者もそれに準拠して実験をおこなった。

### 実験方法

#### 1) 酵素液の調製

健康ウサギの静脈血を可及的無菌的に採取し、ただちに脱線維し、所要の滅菌遠沈管に分取、これに適量の滅菌生理的食塩水をくわえ、約5分間遠沈、上清を除去し、ふたたび適量の滅菌生理的食塩水を混和して遠沈する。

かく血球を洗滌すること5回、最後に滅菌生理的食塩水をくわえて10%赤血球浮游液を調製して酵素液とした。

#### 2) 実験方法

まづ試験管内実験では上記のごとくして調製した10%赤血球浮游液を対照とし、これに1/20容の Platonin 溶液 (5, 10, 50, 100 および 200  $\gamma$  各溶液) をくわえたものを検体とした。

つぎに動物実験では、あらかじめ調製した Platonin の 5, 10, 50, 100 および 200  $\gamma$  の滅菌水溶液を 1.0 ml/kg の割合で、体重 3.0 kg 前後の健康ウサギの耳静脈に早朝注射し、午後食餌をあたえる前に採血し、前記のごとく調製した赤血球浮游液をもつて検体とし、実験を開始する前に採取、調製した同浮游液を対照とした。

注射方法は連続注射と隔日注射の2法で、連続注射法では5~200  $\gamma$  各投与量において、1, 3, 5, 7 および10回連続注射し、隔日注射法では5~200  $\gamma$  各投与量において、いずれも隔日3回注射をおこなった。

#### 3) 酵素作用能の測定

各検体および対照酵素液各 1.0 ml にそれぞれ Sørensen 磷酸塩緩衝液 (pH 6.1) 2.0 ml, 2% Gelatin 溶液 2.0 ml, ついで Toluene 1 滴をくわえ、37°C の恒温器にいれ、ときどき振盪し、6時間後にこれを取り出し、10%三塩化醋酸 2.0 ml をくわえて除蛋白し、約30分後に濾過し、濾液の窒素量を Kjeldahl 法によつて定量し (6時間値)、Toluene を混和後恒温器にいれることなくただちに除蛋白してえた濾液の窒素量を直後値とし、6時間値と直後値との差の窒素量をもつて Cathepsin 作用能とした。

### 実験成績ならびに考察

#### a) 試験管内実験 (Tab. 1)

感光色素 Platonin をくわえないウサギ10%赤血球浮游液の残余窒素量 (6時間値と直後値との差) は 0.01401 g/dl であつたが、これ (正常赤血球酵素液) に Platonin を 1/20 容の割合に添加した浮游液 (検体酵素液) では、5  $\gamma$  Platonin 溶液添加の場合における残余窒素量 (直後値と6時間値との差) は 0.02802 g/dl, 10  $\gamma$  Platonin 溶液添加の場合のそれも同様、さらに 50, 100 および 200  $\gamma$  Platonin 溶液添加の場合のそれらはそれぞれ 0.02802, 0.04203 および 0.05604 g/dl であつて、Platonin 溶液を添加することによつて残余窒素量は増加し、また添加 Platonin の  $\gamma$  数が大なるほど赤血球浮游液の残余窒素量は増加した。

すなわち、赤血球の Cathepsin 作用は Platonin の添加によつて亢進をしめし、しかも Platonin 溶液の濃度の増加に比例して Cathepsin 作用も亢進した。

#### b) 動物実験 (Tab. 2)

まづ Platonin の非投与ウサギの赤血球酵素液 (対照) の残余窒素量は直後値 0.58842 g/dl, 6時間値 0.60243 g/dl でその差は 0.01401 g/dl であつた。

連続注射法では Platonin 5  $\gamma$  1回注射の場合の検体の残余窒素量は直後値 0.51837 g/dl, 6時間値 0.54639 g/dl で差は 0.02802 g/dl, 5  $\gamma$  3回連続注射では直後値 0.4203 g/dl, 6時間値 0.44832 g/dl で差は 0.02802 g/dl, 同5回注射では直後値 0.50436 g/dl, 6時間値 0.53236 g/dl で差は 0.02802 g/dl, 同7回注射では直後値 0.5604 g/dl, 6時間値 0.57441 g/dl で差は 0.02802 g/dl, 同10

Table 1 Activities of several enzymes added with Platonin in experiment "in vitro"

Enzymes	Concentration of Platonin					
	Control	5 $\gamma$	10 $\gamma$	50 $\gamma$	100 $\gamma$	200 $\gamma$
Cathepsin (g/dl)	0.01401	0.02802	0.02802	0.02802	0.04203	0.05604
Glycero-phosphatase (mg)	1.82	1.92	2.38	2.85	3.62	3.92
Catalase ( $\mu$ l)	14.5	14.0	13.5	11.5	11.0	10.5
Lipase ( $\mu$ l)	112.0	118.0	120.5	128.5	136.0	144.0
Glyoxalase ( $\mu$ l)	240.5	238.0	233.5	220.5	215.5	198.5

回注射では直後値 0.58842 g/dl, 6 時間値 0.60243 g/dl で差は 0.01401 g/dl; Platonin 10  $\gamma$  1 回注射の場合の検体の残余窒素量は直後値 0.51837 g/dl, 6 時間値 0.5604 g/dl で差は 0.04203 g/dl, 同 3 回連続注射の場合のそれは直後値 0.49035 g/dl, 6 時間値 0.5183 g/dl, 差は 0.02802 g/dl, 同 5 回連続注射の場合では直後値 0.58842 g/dl, 6 時間値 0.61644 g/dl でその差は 0.02802 g/dl, 同 7 回注射では直後値 0.54639 g/dl, 6 時間値 0.57441 g/dl でその差は 0.02802 g/dl, 同 10 回注射では直後値 0.58842 g/dl, 6 時間値 0.60243 g/dl でその差は 0.01401 g/dl; Platonin 50  $\gamma$  1 回注射の場合の検体の残余窒素量は直後値 0.53238 g/dl, 6 時間値 0.58842 g/dl でその差は 0.05604 g/dl, 3 回連続注射の場合のそれは直後値 0.50436 g/dl, 6 時間値 0.54639 g/dl でその差は 0.04203 g/dl, 5 回連続注射では直後値 0.49035 g/dl, 6 時間値 0.51837 g/dl でその差は 0.02802 g/dl, 7 回注射では直後値 0.53238 g/dl, 6 時間値 0.54639 g/dl でその差は 0.01401 g/dl, 10 回注射では直後値 0.49035 g/dl, 6 時間値 0.50436 g/dl でその差は 0.01401 g/dl; Platonin 100  $\gamma$  1 回注射の場合の検体の残余窒素量は直後値 0.46233 g/dl, 6 時間値 0.50436 g/dl でその差は 0.04203 g/dl, 同 3 回連続注射では直後値 0.21015 g/dl, 6 時間値 0.23817 g/dl でその差は 0.02802 g/dl, 5 回連続注射では直後値 0.47634 g/dl, 6 時間値 0.49035 g/dl で差は 0.01401 g/dl, 7 回連続注射では直後値 0.53238 g/dl, 6 時間値 0.54639 g/dl で差は 0.01401 g/dl, 10 回連続注射では直後値 0.53238 g/dl, 6 時間値 0.54639 g/dl で差は 0.01401 g/dl; Platonin 200  $\gamma$  1 回および 3 回連続注射の場合の検体の残余窒素量は直後値 0.43431 g/dl, 6 時間値 0.44832 g/dl で差は 0.01401 g/dl, 5 回連続注射では直後値 0.49035 g/dl, 6 時間値 0.50436 g/dl で差は 0.01401 g/dl, 7 回連続注射では直後値 0.47634 g/dl,

6 時間値 0.49035 g/dl で差は 0.01401 g/dl, 10 回連続注射では直後値 0.49035 g/dl, 6 時間値は 0.50436 g/dl で差は 0.01401 g/dl であつた。

つぎに隔日 3 回注射法では Platonin 濃度 5  $\gamma$  の場合の検体の残余窒素量は直後値 0.47634 g/dl, 6 時間値 0.49436 g/dl で差は 0.02802 g/dl; 10  $\gamma$  の場合は直後値 0.50436 g/dl; 6 時間値 0.53238 g/dl で差は 0.02802 g/dl; 50  $\gamma$  の場合は直後値 0.44832 g/dl, 6 時間値 0.49035 g/dl で差は 0.04203 g/dl; 100  $\gamma$  の場合は直後値 0.44832 g/dl, 6 時間値 0.46233 g/dl で差は 0.01401 g/dl; 200  $\gamma$  の場合は直後値 0.53238 g/dl, 6 時間値 0.54639 g/dl で差は 0.01401 g/dl であつた。

以上の実験成績から考察すると, 動物実験においては投与 Platonin 溶液の濃度から 5~100  $\gamma$  の場合では各 1 回注射時の検体の残余窒素量はどれも対照のそれよりも多く, とくに 50  $\gamma$  投与の場合がもつとも多く, ついで 10 および 100  $\gamma$  投与の場合, さらに 5  $\gamma$  投与の場合で, 200  $\gamma$  投与の場合には対照とおなじ値をしめした。また 5~100  $\gamma$  投与の場合には連続注射回数が 1~10 回と増加するにつれて残余窒素量は減少する傾向をしめし, 5~10 回連続注射によつて対照と同一の値をしめしたが, 200  $\gamma$  投与時には各注射回数の場合とも同一の値をしめした。

隔日 3 回注射の場合にもやはり 50  $\gamma$  投与の場合にもつとも残余窒素量が大き, ついで 5  $\gamma$ , 10  $\gamma$ , さらに 100  $\gamma$  および 200  $\gamma$  投与時の順であつた。

すなわち, 連続注射および隔日注射のいずれの場合にも 50  $\gamma$  投与の場合に赤血球の Cathepsin 作用がもつとも亢進しており, 連続注射の場合には 10 および 100  $\gamma$  投与の場合がこれにつぎ, 隔日 3 回注射の場合には, 5 および 10  $\gamma$  投与の場合がこれについだ。

また連続注射法では Platonin 溶液の濃度が 5

Table 2 Cathepsin activity "in vivo" g/dl

Kind of injection	Administered concentration of Platonin	Times of injection	Amount of R. N.		Difference between (A)and(B)
			Immediately (A)	Six-hours (B)	
Continuous injection	5 $\gamma$	1	0.51837	0.54639	0.02802
		3	0.4203	0.44832	0.02802
		5	0.50436	0.53236	0.02802
		7	0.5604	0.57441	0.01401
		10	0.58842	0.60243	0.01401
	10 $\gamma$	1	0.51837	0.5604	0.04203
		3	0.49035	0.51837	0.02802
		5	0.58842	0.61644	0.02802
		7	0.54639	0.57441	0.02802
		10	0.58842	0.60243	0.01401
	50 $\gamma$	1	0.53238	0.58842	0.05604
		3	0.50436	0.54639	0.04203
		5	0.49035	0.51837	0.02802
		7	0.53238	0.54639	0.01401
		10	0.49035	0.50436	0.01401
	100 $\gamma$	1	0.46233	0.50436	0.04203
		3	0.21015	0.23817	0.02802
		5	0.47634	0.49035	0.01401
		7	0.53238	0.54639	0.01401
		10	0.53238	0.54639	0.01401
200 $\gamma$	1	0.43431	0.44832	0.01401	
	3	0.43431	0.44832	0.01401	
	5	0.49035	0.50436	0.01401	
	7	0.47634	0.49035	0.01401	
	10	0.49035	0.50436	0.01401	
Injection of every other day	5 $\gamma$	3	0.47634	0.49436	0.02802
	10 $\gamma$	3	0.50436	0.53238	0.02802
	50 $\gamma$	3	0.44832	0.49035	0.04203
	100 $\gamma$	3	0.44832	0.46233	0.01401
	200 $\gamma$	3	0.53238	0.54639	0.01401
Control			0.58842	0.60243	0.01401

~100 $\gamma$  の場合には1~7回連続注射によつて赤血球 Cathepsin 作用能が亢進をしめすが、それらの5~10連続注射時および200 $\gamma$  各連続注射時、さらに100および200 $\gamma$  隔日3回注射の場合には Cathepsin 作用能には変化がみられなかつた。

#### 小 括

赤血球の Cathepsin 作用が Platonin 投与によ

つていかなる影響をうけるかについて、試験管内ならびに動物実験をおこなつた成績を小括すると、つぎのごとくである。

1) 試験管内実験においては赤血球の Cathepsin 作用能は Platonin の添加によつて亢進をしめし、しかも Platonin 溶液の濃度の増加に比例し Cathepsin 作用能も亢進した。

2) 動物実験では、まづ各濃度(5~100 $\gamma$ )の Platonin 溶液を1回注射すると赤血球の Cathepsin 作用能は対照に比し亢進するが、爾後 Platonin の連続注射回数を増すにつれて Cathepsin 作用能は抑制され5~10回目には対照と同一の値をしめし、200 $\gamma$  投与の場合には連続注射(1~10回)によつて Cathepsin 作用能に変動がみられなかつた。同様なこと(Cathepsin 作用能に変動のみられないこと)は隔日3回注射法で、100および200 $\gamma$  投与の場合にもみられた。

赤血球 Cathepsin 作用能の亢進は連続注射法および隔日3回注射法とともに50 $\gamma$  投与の場合がもつとも著明で、これにつぐものは連続注射法では10および100 $\gamma$  投与の場合であり、隔日3回注射法では5および10 $\gamma$  投与の場合であつた。

試験管内実験の場合と動物実験の場合とで Platonin の赤血球 Cathepsin 作用におよぼす影響に差異がみられたが、生体内代謝がみられる動物実験としからざる試験管内実験とではその成績のことなるのは当然であろうが、いづれにせよ、Platonin の添加あるいわ投与によつて赤血球の Cathepsin 作用能に亢進がみられることはきわめて興味ふかい現象であり、波多野ら<sup>10)</sup> は同じような蛋白酵素である Trypsin の Casein 分解作用におよぼす感光色素 Platonin および Lumin の影響を検し、Platonin 族では各塩(J-, Cl-, Br 塩)とも対照より多少亢進をしめし、濃度は10 $\gamma$ >1 $\gamma$ >1000 $\gamma$  の順で、Lumin は反対に対照より抑制的に作用するとのべているが、Platonin を使用した著者の実験成績と同一の傾向をしめすものといえよう。

#### II. Glycero-phosphatase 作用について

Phosphatase は重要な生物学的意義をもつ酵素であつて、化骨、含水炭素の酸化、生体内触媒として作用する色々な磷酸塩の生成、腸管からの吸収、腎からの磷酸塩排泄、前立腺の分泌等がその主なもの

である。

さて、生体内においておこなわれる化学変化のもつとも重要なものは生体内酸化で、これ自身が根本的なものであるのみならず、水解酵素の触媒する分解合成反応もすべて生体内酸化の如何と密接な関係をもっている。しかして生体内で酸化されエネルギー給源となる物質のもつともおもなものは含水炭素であり、含水炭素は磷酸エステルとなつてはじめて酸化分解される。したがつて含水炭素およびその分解産物が磷酸と結合し、また離れる反応を触媒する Phosphatase は含水炭素の生体内酸化になくはならぬものであつて、代謝のさかんな組織に Phosphatase の多いことも当然である。

Phosphatase はひろく動植物細胞内に分布しているが、動物組織には腎型、赤血球型および脾型がふくまれていることが知られている。

著者はこのように赤血球に存在する Phosphatase のうち Glycerophosphat を分解する Glycerophosphatase 作用にたいし、Thiazolocyanin 系感光色素 Platonin がいかなる影響をおよぼすかについて試験管内および動物実験をおこなつた。

### 実験方法

1) 酵素液の調製および 2) 実験方法は Cathepsin 実験と同様である。

#### 3) 酵素作用能の測定

各検体および対照酵素液各 1.0 ml にそれぞれ Barbital・塩酸緩衝液 (pH 6.0) 1.0 ml, 1% Sodium glycerophosphate 溶液 2.0 ml を混和し、Toluene 1 滴をくわえ、37°C 恒温器中に 6 時間放置し、基質の Sodium glycerophosphate が分解して生じた磷酸を Neumann 法の永富変法<sup>1)</sup>により定量し、その量から酵素作用の強弱を推した。すなわち、恒温器からとり出したのち、10% 三塩化醋酸 2.0 ml をくわえて蛋白質を濾別除去した濾液を硝酸酸性としてこれに 10% Ammonium molybdate 溶液をくわえ、磷酸をことごとく Ammonium phosphomolybdate として沈澱分離し、沈澱を 1.0% Potassium nitrate 溶液をもつて洗滌遠心沈澱した。かくて分離した沈澱を一定量の N/20 苛性曹達液に溶解し、0.5% Phthalphthalein 溶液を指示薬とし、反応に関与しなかつた過剰の N/20 苛性曹達液量を N/20 塩酸で滴定し、沈澱を溶解するに要した N/20 苛性曹達液量 (ml) をもとめ、これより磷酸量 (mg) を算出した。なお検体および対照の別

の一群は恒温器にいれることなくただちに除蛋白し、濾液の磷酸量を測定して直後値とした。

### 実験成績ならびに考按

#### a) 試験管内実験 (Tab. 1)

Platonin をくわえない正常ウサギ赤血球酵素液の 6 時間値磷酸量と直後値のそれとの差は 1.82 mg であつた。

添加 Platonin 濃度 5 $\gamma$  の場合の 6 時間値磷酸量と直後値のそれとの差は 1.92 mg, 10 $\gamma$  の場合には 2.38 mg, 50 $\gamma$  の場合は 2.85 mg, 100 $\gamma$  の場合は 3.62 mg, 200 $\gamma$  の場合は 3.92 mg で、赤血球酵素液の 6 時間値磷酸量と直後値磷酸量との差は Platonin 添加によつて増加し、しかも Platonin 濃度が大になればなるほど (5~200 $\gamma$ ) 増加の度合が大であつた。

すなわち、6 時間値と直後値との磷酸量の差によつてあらわされる赤血球 Phosphatase 作用は Platonin の添加によつて亢進し、添加 Platonin 濃度が大であるほど Phosphatase 作用の亢進が大であつた。

#### b) 動物実験 (Tab. 3)

Platonin 非投与正常ウサギの赤血球酵素液 (対照) の直後値磷酸量は 10.4 mg, 6 時間値のそれは 12.9 mg でその差は 2.5 mg であつた。投与 Platonin 濃度 5 $\gamma$  1 回注射の場合の検体の直後値磷酸量は 20.25 mg, 6 時間値は 41.85 mg でその差は 21.6 mg, 投与 Platonin 濃度 5 $\gamma$  3 回連続注射の場合には直後値磷酸量は 22.75 mg, 6 時間値は 33.75 mg で差は 11.0 mg, 同 5 回連続注射の場合には直後値 7.76 mg, 6 時間値は 17.89 mg で差は 10.13 mg, 同 7 回連続注射の場合には直後値 17.55 mg, 6 時間値 22.95 mg で差は 5.4 mg, 10 回連続注射の場合には直後値 14.68 mg, 6 時間値 18.33 mg で差は 3.65 mg; Platonin 濃度 10 $\gamma$  1 回注射の場合の検体の磷酸量は直後値 11.46 mg, 6 時間値 32.44 mg で差は 20.98 mg, 10 $\gamma$  3 回連続注射の場合には直後値 10.13 mg, 6 時間値 31.05 mg で差は 20.92 mg, 5 回連続注射の場合には直後値 12.83 mg, 6 時間値 33.08 mg で差は 20.25 mg, 7 回連続注射の場合には直後値 11.48 mg, 6 時間値 25.0 mg で差は 13.52 mg, 10 回連続注射の場合には直後値 5.2 mg, 6 時間値 6.89 mg で差は 1.69 mg; 50 $\gamma$  1 回注射の場合の検体の磷酸量は直後値 12.83 mg, 6 時間値 50.63 mg でその差は 37.8 mg,

50 $\gamma$  3回連続注射の場合には直後値 16.88 mg, 6時間値 52.65 mg で差は 35.77 mg, 5回連続注射の場合には直後値 7.16 mg, 6時間値 18.33 mg で差は 11.07 mg, 7回連続注射の場合には直後値 20.63 mg, 6時間値 28.05 mg で差は 7.42 mg, 10回連続注射の場合には直後値 16.88 mg, 6時間値 19.58 mg で差は 2.7 mg; Platonin 100 $\gamma$  1回注射の場合の検体の磷酸量は直後値 1.33 mg, 6時間値 22.95 mg でその差は 12.62 mg, 100 $\gamma$  3回連続注射の場合の磷酸量は直後値 9.93 mg, 6時間値 20.49 mg で差は 10.56 mg, 5回連続注射の場合には直後値 12.83 mg, 6時間値 18.23 mg で差は 5.4 mg, 7回連続注射の場合には直後値 14.18 mg, 6時間値 16.2 mg で差は 2.02 mg, 10回連続注射の場合には直後値 5.87 mg, 6時間値 6.75 mg で差は 0.88 mg; Platonin 200 $\gamma$  1回注射の場合の検体の磷酸量は直後値 22.01 mg, 6時間値 52.11 mg でその差は 30.1 mg, 3回連続注射の場合には直後値 10.59 mg, 6時間値 31.4 mg で差は 7.43 mg, 5回連続注射の場合には直後値 13.5 mg, 6時間値 20.93 mg で差は 7.43 mg, 7回連続注射の場合には直後値 12.1 mg, 6時間値 15.31 mg で差は 3.21 mg, 10回連続注射の場合には直後値 6.36 mg, 6時間値 7.41 mg で差は 1.05 mg であった。

隔日 3回注射法では Platonin 濃度が 5 $\gamma$  の場合の酵素液の磷酸量は直後値 7.97 mg, 6時間 23.4 mg でその差は 15.43 mg; 10 $\gamma$  の場合のそれは直後値 9.79 mg, 6時間値 15.53 mg で差は 5.74 mg; 50 $\gamma$  の場合のそれは直後値 1.08 mg, 6時間値 13.5 mg で差は 2.7 mg; 100 $\gamma$  の場合には直後値 7.97 mg, 6時間値 11.95 mg で差は 3.98 mg; 200 $\gamma$  の場合には直後値 27.98 mg, 6時間値 50.63 mg で差は 22.95 mg であった。

以上の成績からみると, Platonin 1回注射の場合の検体の差磷酸量(6時間値と直後値との差)は Platonin 1回注射によつて対照より著明に増加し, とくに投与 Platonin 濃度が 50 $\gamma$  の場合にもつとも多く, ついで 200 $\gamma$  投与时, さらに5および 10 $\gamma$  投与の場合であつた。つぎに Platonin 3回連続注射の場合にも検体の差磷酸量はいつでも対照より多く, とくに 50 $\gamma$  投与时に最大であつたが, 隔日 3回注射の場合には対照よりは多かつたが, 10~100 $\gamma$  投与では対照よりごくわずかな程度, 200 $\gamma$  投与の場合に最大であつた。

Platonin 5回連続注射の場合の検体の差磷酸量

Table 3 Glycero-phosphatase activity "in vivo" mg

Kind of injection	Administered concentration of platonin	Times of injection	Amount of (NH <sub>4</sub> ) PO <sub>4</sub> ·12MoO <sub>3</sub> ·2HNO <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O		Difference between (A) and (B)
			Immediately (A)	Six-hours (B)	
Continuous injection	5 $\gamma$	1	20.25	41.85	21.6
		3	22.75	33.75	11.0
		5	7.76	17.89	10.13
		7	17.55	22.95	5.4
		10	14.68	18.33	3.65
	10 $\gamma$	1	11.46	32.44	20.98
		3	10.13	31.05	20.92
		5	12.83	33.08	20.25
		7	12.48	25.0	13.52
		10	5.2	6.89	1.69
	50 $\gamma$	1	12.83	50.63	37.8
		3	16.88	52.65	35.77
		5	7.16	18.33	11.07
		7	20.63	28.05	7.42
		10	16.88	19.58	2.7
	100 $\gamma$	1	10.33	22.95	12.62
		3	9.93	20.49	10.56
		5	12.83	18.23	5.4
		7	14.18	16.2	2.02
		10	5.87	6.75	0.88
200 $\gamma$	1	22.01	52.11	30.1	
	3	10.59	31.4	20.81	
	5	13.5	20.93	7.43	
	7	12.1	15.31	3.21	
	10	6.39	7.41	1.05	
Injection of every other day	5 $\gamma$	3	7.97	23.4	15.43
	10 $\gamma$	3	9.79	15.53	5.74
	50 $\gamma$	3	10.8	13.5	2.7
	100 $\gamma$	3	7.97	11.95	3.98
	200 $\gamma$	3	27.68	50.63	22.95
Control			10.4	12.9	2.5

はいづれも(5~200 $\gamma$  投与の場合)対照より多かつたが, とくに 10 $\gamma$  投与の場合が最大で, ついで 50 $\gamma$  投与の場合であり, Platonin 7回連続注射の場合には 100 $\gamma$  投与の場合をのぞき 5回連続注射の場合と同じような傾向をしめし, さらに連続10回注射の場合には 5および 50 $\gamma$  投与の場合には対照よりやや多かつたが, その他の場合には差磷酸量は

対照よりすくなかつた。

すなわち、Platonin 投与ウサギ赤血球 Phosphatase 作用は非投与ウサギのそれに比し一般に亢進をしめすが、その度合は連続注射5回まででは投与 Platonin 濃度が50%の場合が最大であり、連続7回注射では10%、同10回では5%、隔日3日注射では20%投与の場合がもつともつよく Phosphatase 作用の亢進がみられた。

### 小 括

赤血球の Glycero-phosphatase 作用が Platonin 投与あるいは添加によつていかなる影響をうけるかについて試験管内ならびに動物実験をおこなつた成績を小括するとつぎのごとくである。

1) 試験管内実験では、赤血球の Glycero-phosphatase 作用は Platonin 添加によつて亢進をしめし、添加 Platonin 濃度が大きくなればなるほど Phosphatase 作用能は亢進をしめた。

2) 動物実験では、Platonin 投与ウサギ赤血球の Glycero-phosphatase 作用能は非投与ウサギのそれに比し亢進するが、その度合は連続5回注射まででは投与 Platonin 濃度が50%の場合にもつともよい亢進をしめし、連続7回注射では10%、同10回注射では5%と、注射回数が増すにつれて同一注射回数では投与 Platonin 濃度が小さいほど赤血球の Glycero-phosphatase 作用が亢進をしめた。しかし隔日3回注射法では Platonin 濃度が20%の場合にもつとも酵素作用が亢進をしめたが、50% Platonin 連続3回注射の場合よりも亢進の度合が小であつた。

赤血球の Glycero-phosphatase 作用におよぼす Platonin の影響が *in vitro* と *in vivo* とでことなることは Cathepin 実験でもみられたことで、けだし当然のことであろう。Platonin の注射回数(投与量)が増すにつれて酵素作用能が減弱したがこれは Platonin 投与による酵素作用能の亢進が単に Platonin 投与による一種の刺戟作用あるいは Stress にすぎないのか、それとも、Platonin 投与回数が増すにつれて Platonin が蓄積されて抑制的にはたらくようになるためであるのか、これらの問題の解決にはなお今後の研究に俟つところ大である。

血球 Phosphatase 作用に関しては Roche<sup>12)</sup> の詳細な研究があるが、感光色素の影響についての研究はいまだなく、鈴江ら<sup>13)</sup> は感光色素 N. K. 143 を投与したウサギ臓器の Phosphatase 作用の組

織化学的研究をおこない、感光色素投与群では非投与(対照)群に比し Phosphatase 作用の増加がみられたと報告しているが、興味あることである。

### III. Catalase 作用について

そもそも Catalase は  $H_2O_2$  に作用し、これを  $H_2O$  と  $O_2$  とに分解する酵素で、酸化還元酵素ではなく、その補助酵素である Lyase の一種で結晶としてえられ、 $Fe \cdot Protoporphyrin$  に蛋白の結合したものであることがたしかめられ、しかも蛋白は  $Fe \cdot Haemoglobin$  様に結合しているらしく、 $Fe$  は  $Fe^{+++}$  の形で存在するといわれている。Catalase は血液の中では赤血球に主として存し、赤血球では主として基素質にあるといわれている<sup>14)</sup>。

赤血球浮游液の Catalase 能に関する研究は比較的すくなく、Kultugin & Kanashenok<sup>15)</sup> がウサギの血液について溶血血液と赤血球浮游液との Catalase 能を比較した実験、Euler & Borgens<sup>16)17)</sup> および Okey<sup>17)18)</sup> の赤血球浮游液の Catalase 能にたいする温度、原形質毒の影響に関する報告があるにすぎない。

元来赤血球内の Catalase 機能は血球素を  $H_2O_2$  による酸化、分解より保護するものと考えられており<sup>19)</sup>、事実血液に  $H_2O_2$  をくわえるとこれは Catalase によつてすみやかに分解されて血球に変化をおよぼさないが、あらかじめ Catalase を阻害しておくとも血球素は  $H_2O_2$  によりすみやかに酸化されて Met-Hb に変化する。赤血球の Catalase がはたしてこのようにして血球素を保護しているものとするれば、生理的に Catalase によつて分解されている  $H_2O_2$  は赤血球の物質代謝によつて発表するものか、あるいは外部より侵襲するものかについてはいまなお不明であり、組織の物質代謝によつて発生した  $H_2O_2$  が血液に移行し、赤血球によつて分解され、発生した  $O_2$  はふたたび血球素の Oxygenation に利用されているとするれば、赤血球に含有されたままの Catalase、換言すれば赤血球浮游液がいかなる酵素作用を呈するかは興味のある問題である。

このような赤血球浮游液(酵素)の Catalase 作用が Platonin の添加によつていかなる影響をうけるかについて *in vitro* および *in vivo* の2,3実験をおこなつた。

### 実 験 方 法

1) 酵素液の調製、および 2) 実験方法は

Cathepsin 実験と同様である。

### 3) 酵素作用能の測定

Catalase 作用能の測定法には各種の方法があるが、著者は Fujita & Kodama の方法によつて Catalase の定量をおこなつたが、Catalase によつて  $H_2O_2$  を分解し、発生した  $O_2$  量によつて Catalase 作用能をあらわし、Catalase quotient はもとめなかつた。

すなわち、0.154M NaCl 溶液 95.0, 0.154 M  $NaH_2PO_4$  溶液 7.5, 0.11M  $Na_2HPO_4$  溶液 42.5 の割合に混和した溶液 100.0 にたいし、0.154 M  $NaHCO_3$  溶液 2.0 の割合で混和調製した Ringer 溶液 (pH 7.70) で 10% 赤血球浮游液をつくり、in vitro における対照としてはこの 10 ml に Platonin (5~200  $\gamma$ ) を 0.15 ml 混じたもの (in vivo では調製酵素液) 3.0 ml を Warburg 検圧計の室内にいれ、側室には 0.51 M の  $H_2O_2$  液 0.1 ml いれ、38°C 水浴中で Manometer を振盪し、平衡状態に達したのち内容を混和し (内容混和後は  $H_2O_2$  濃度は 0.01 M となり、pH は 7.4 となる)、30 分間に発生した  $O_2$  量 (ml) を測定し、発生した  $O_2$  量をもつて酵素作用能のつよさをあらわした。ただし、 $H_2O_2$  の 50% 以上を分解したものは捨てた。

### 実験成績ならびに考按

#### a) 試験管内実験 (Tab. 1)

まず、対照 (Platonin 非添加正常ウサギ赤血球浮游液) では 30 分間に発生する  $O_2$  量は 14.5  $\mu$ l で、Platonin を 1/20 容添加すると、添加 Platonin 濃度が 5  $\gamma$  の場合に発生する  $O_2$  量は 14.0  $\mu$ l, 10  $\gamma$  の場合には 13.5  $\mu$ l, 50  $\gamma$  の場合には 11.5  $\mu$ l, 100  $\gamma$  の場合には 11.0  $\mu$ l, さらに 200  $\gamma$  の場合には 10.5  $\mu$ l で、Platonin を添加することによつて  $O_2$  発生量が減少した。

すなわち、赤血球浮游液の Catalase 作用は Platonin 添加によつて減弱し、とくに添加 Platonin 濃度が大になればなるほど減弱の度が大となつた。

#### b) 動物実験 (Tab. 4)

Platonin 非投与正常ウサギ (対照) 赤血球浮游液が 30 分間に発生する  $O_2$  量は 24.5  $\mu$ l で、これにたいし、Platonin 5  $\gamma$  1 回注射の場合における検体の  $O_2$  発生量は 28.5  $\mu$ l, 同 3 回連続注射の場合には 26.0  $\mu$ l, 5 回連続注射の場合には 24.5  $\mu$ l, 7 回連続注射の場合には 21.0  $\mu$ l, さらに 10 回連続注射

では 19.0  $\mu$ l であつた。

投与 Platonin 濃度が 10  $\gamma$  で、1 回注射の場合における検体の発生  $O_2$  量は 26.5  $\mu$ l, 3 回連続注射の場合には 23.5  $\mu$ l, 5 回連続注射の場合には 21.5  $\mu$ l, 7 回連続注射の場合には 20.0  $\mu$ l, 10 回連続注射の場合には 18.5  $\mu$ l; 投与 Platonin 濃度が 50  $\gamma$  で 1 回注射の場合の検体の  $O_2$  発生量は 19.5  $\mu$ l, 3 回連続注射の場合には 17.0  $\mu$ l, 5 回連続注射の場合には 15.0  $\mu$ l, 7 回連続注射の場合には 12.5  $\mu$ l, 10 回連続注射の場合には 11.0  $\mu$ l; Platonin 濃度が 100  $\gamma$  で 1 回注射の場合の検体の  $O_2$  発生量は 21.0  $\mu$ l, 3 回連続注射の場合には 18.5  $\mu$ l, 5 回連続注射の場合には 16.0  $\mu$ l, 7 回連続注射の場合には 14.0  $\mu$ l, 10 回連続注射の場合には 12.5  $\mu$ l; 200  $\gamma$  1 回注射の場合の検体の  $O_2$  発生量は 22.0  $\mu$ l, 3 回連続注射の場合には 19.5  $\mu$ l, 5 回連続注射の場合には 17.5  $\mu$ l, 7 回連続注射の場合には 15.0  $\mu$ l, 10 回連続注射の場合には 13.5  $\mu$ l; 隔日 3 日注射法では Platonin 濃度が 5  $\gamma$  の場合の検体の発生  $O_2$  量は 21.0  $\mu$ l, 10  $\gamma$  の場合には 19.5  $\mu$ l, 50  $\gamma$  の場合には 15.5  $\mu$ l, 100  $\gamma$  の場合には 17.0  $\mu$ l, 200  $\gamma$  の場合には 18.0  $\mu$ l であつた。

投与 Platonin 濃度が 5 および 10  $\gamma$  の場合には Platonin を 1 回注射してえた検体の発生  $O_2$  量は対照よりやや多く、また Platonin 濃度 5  $\gamma$  で 3 回連続注射の場合にも対照よりわずかに  $O_2$  発生量が多く、5  $\gamma$  5 回連続注射の場合には対照とおなじ値をしめしたが、その他の場合には Platonin 投与によつて検体の  $O_2$  発生量は対照より減少し、ことに 50  $\gamma$  投与の場合には連続注射法でも隔日注射法でもともに他の濃度の場合 (5, 10, 100 および 200  $\gamma$ ) にくらべて  $O_2$  発生量もつともすくなく、連続注射法では各 Platonin 濃度とも、連続注射の回数が増すにつれて検体の発生  $O_2$  量が減少するようであつた。隔日 3 回注射法では既記のごとく、投与 Platonin 濃度が 50  $\gamma$  の場合検体の発生  $O_2$  量もつともすくなく、ついで 100 および 200  $\gamma$  で、5  $\gamma$  の場合にはもつとも対照値にちかかつたがいつれの場合にも対照より減少していた。

すなわち、赤血球浮游液の Catalase 作用は Platonin 投与によつて、5  $\gamma$  1~5 回注射 (連続) および 10  $\gamma$  1 回注射の場合をのぞき一般に減弱し、とくに 50  $\gamma$  投与の場合が他の場合にくらべてもつともよく減弱がみられ、各 Platonin 濃度 (5~200  $\gamma$ ) では Platonin の連続投与回数が増すにつれて赤血



Table 4 Catalase, Lipase and Glyoxalase activities "in vivo"

Kind of injection	Administered Concentration of Platonin	Times of injection	Catalase	Lipase	Glyoxalase
			O <sub>2</sub> $\mu$ l 30 min	Co <sub>2</sub> $\mu$ l 1hrs	CO <sub>2</sub> $\mu$ l 30 min
Continuous injection	5 $\gamma$	1	28.5	130.5	258.5
		3	26.0	132.0	253.0
		5	24.5	138.0	248.5
		7	21.0	146.5	230.0
		10	19.0	165.0	212.5
	10 $\gamma$	1	26.5	130.5	260.5
		3	23.5	136.0	252.5
		5	21.5	148.5	246.5
		7	20.0	155.5	220.0
		10	18.5	172.0	204.5
	50 $\gamma$	1	19.5	145.5	240.0
		3	17.0	163.0	227.0
		5	15.0	188.0	208.0
		7	12.5	197.5	183.5
		10	11.0	213.0	174.5
	100 $\gamma$	1	21.0	138.0	246.5
		3	18.5	157.5	238.0
		5	16.0	166.5	215.5
		7	14.0	185.0	190.0
		10	12.5	196.0	176.0
200 $\gamma$	1	22.0	138.0	257.0	
	3	19.5	152.5	240.0	
	5	17.5	160.0	225.5	
	7	15.0	178.5	210.0	
	10	13.5	190.0	190.0	
Injection of every otherday	5 $\gamma$	3	21.0	138.0	248.5
	10 $\gamma$	3	19.5	142.5	242.5
	50 $\gamma$	3	15.5	170.5	216.0
	100 $\gamma$	3	17.0	168.5	227.0
	200 $\gamma$	3	18.0	156.0	230.5
Control			24.5	128.0	265.0

球の Catalase 作用が減弱した。隔日3回注射法でも各 Platonin 濃度の場合とも対照にくらべ Catalase 作用が減弱したが、とくに 50 $\gamma$  投与の場合に著明であつた。

#### 小 括

赤血球の Catalase 作用が Platonin 投与あるい

わ添加によつていかなる影響をうけるかについて試験管内ならびに動物実験をおこなつた成績を小括するとつぎのごとくである。

1) 試験管内実験では、赤血球の Catalase 作用は Platonin 添加によつて減弱し、とくに添加 Platonin 濃度が大きくなればなるほど (5 $\rightarrow$ 200 $\gamma$ ) Catalase 作用の減弱が著明であつた。

2) 動物実験では、投与 Platonin 濃度が 5 $\gamma$  で注射回数が1回、連続3および5回、10 $\gamma$  で1回の場合には赤血球の Catalase 作用は対照と同一かやや亢進したが、その他の場合にはいづれも一般に Catalase 作用は Platonin 投与によつて減弱し、とくに 50 $\gamma$  投与の場合に減弱が著明であり、また各 Platonin 濃度 (5 $\sim$ 200 $\gamma$ ) で Platonin の連続注射回数が増すにつれて赤血球の Catalase 作用が減弱した。隔日3回注射法でも Platonin 投与によつて赤血球の Catalase 作用が減弱したが、ことに 50 $\gamma$  投与の場合に減弱度が著明であつた。

感光色素が Catalase 作用におよぼす影響にかんする研究は村上ら<sup>20)</sup> および三上ら<sup>21)</sup> の報告をみるにすぎず、村上ら<sup>2)</sup> はヒト赤血球、細菌ならびに抽出 Catalase 作用におよぼす数種の三核型 Thiazolocyannin 系感光色素の影響について比較研究し、C<sup>n</sup>H<sup>n+1</sup> の Alkyl 基で n=4 $\sim$ 5 の Thiazolocyannin 系感光色素では対照に比し Catalase 作用は促進的にはたつき、n=1, 2 および 12 では Catalase 作用を阻害する傾向があり、その他の n=3 $\sim$ 8 の色素では Catalase 作用に影響がほとんどみられなかつたとのべており、三上ら<sup>21)</sup> は Lumin および Platonin の血液ならびに血液 Catalase におよぼす影響について研究し、血液 Catalase は 20 $\gamma$  以下の投与量では各群とも対照群に比し特別な変化はみられなかつたが、50 $\gamma$  以上になると Lumin, Platonin 群では Catalase 値はいちじるしく減少し、さらに投与回数が増すにつれていちじるしくなつたとのべ、いづれも著者の成績と類似ないし同一の傾向をしめしている。また Catalase よりもさらに生体内における酸化還元にふかい酵素である Oxydase 作用におよぼす Platonin の影響に関しては、木積<sup>22)</sup> は Platonin 濃度が 2, 5 および 10 $\gamma$  ではいづれもあきらかに Oxydase 量が増加し、20 および 35 $\gamma$  群ではあきらかに減少しているとのべ、これも著者の成績と軌を一にしている。すなわち、感光色素の少量注射によつて細胞えの賦活力が発揮されて酵素作用が亢進するが、大量注射ではさらに細胞えの賦活力

が増量する結果、その消費がはなはだ著明となり、逆に減弱となつてあらわれるのであろうか。

#### IV. Lipase 作用について

高級脂肪酸 3 分子と 3 価 Alcohol である Glycerin 分子との Ester である脂肪を分解する酵素が Lipase であるが、脂肪酸と Alcohol との Ester を分解あるいは合成する酵素である Esterase のなかにいれられ、そしてこの両者の間には劇然たる区別はみられないが、吾人の物質代謝とくに脂肪代謝にかくべからざる赤血球 Lipase 作用に感光色素 Platonin がいかなる影響をあたえるかについて in vitro および in vivo における 2, 3 実験をおこなつた。

#### 実験方法

1) 酵素液の調製, 2) 実験方法は既記諸酵素と同様である。

3) 酵素作用能の測定, Lipase 作用の測定は Rona-Lasnitzky 法に則つた Seuberling の方法にしたがい、Warburg の Manometer をもちいる測圧法によつて Tributyrin の分解値をもとめた。すなわち、37.5°C の恒温槽で振盪回数は毎分 80~90 回、計測時間は 1 時間、赤血球 Lipase によつて Tributyrin が分解し、遊離する酪酸に相当する CO<sub>2</sub> μl 数をもつて Lipase の強弱を推した。側室に Tributyrin emulsion (Tributyrin 1.0 ml に Ringer 液 100.0 ml をくわえたもの) 0.3 ml を、主室に赤血球浮游液 3.0 ml (in vitro で感光色素 Platonin を添加する場合には赤血球浮游液 2.85 ml に Platonin 0.15 ml をくわえる) をいれ、ついで炭酸窒素混合瓦斯 (CO<sub>2</sub>: N<sub>2</sub> = 5 : 95) を約 5 分間通じたのち Manometer に連結し、さらに前記混合瓦斯で充塞する。かくてこれを振盪装置に連結し、恒温槽で約 15 分間振盪し、平衡に達したのち側室の基質を主室にうつしてよく混じ、1 時間振盪後の Manometer の読みから CO<sub>2</sub> 量 ml を算出した。

#### 実験成績ならびに考按

##### a) 試験管内実験 (Tab. 1)

Platonin 非添加 (対照) ウサギ赤血球浮游液の 1 時間値 CO<sub>2</sub> 量は 112.0 μl であつたが、Platonin を添加すると、添加 Platonin の濃度が 5 γ の場合の検体 (赤血球浮游液) の遊離酪酸量に相当する

CO<sub>2</sub> 量は 118.0 μl, 10 γ の場合のそれは 120.5 μl, 50 γ の場合のそれは 128.5 μl, 100 γ の場合には 136.0 μl, 200 γ の場合のそれは 144.0 μl で、Platonin の添加によつて遊離する酪酸に相当する CO<sub>2</sub> 量が増加をしめした。

すなわち、in vitro では赤血球の Lipase 作用は Platonin を添加すると亢進することが推せられた。

##### b) 動物実験 (Tab. 4)

Platonin 非投与正常ウサギの赤血球酵素液 (対照) によつて 1 時間に Tributyrin が分解して遊離する酪酸量に相当する CO<sub>2</sub> 量は 128.0 μl で、連続注射法で、投与 Platonin の濃度が 5 γ で注射回数 1 回では同様 CO<sub>2</sub> 量は 130.5 μl, 同連続 3 回では 132.0 μl, 同連続 5 回では 138.0 μl, 同 7 回では 146.5 μl, 同 10 回では 165.0 μl; 投与 Platonin の濃度が 10 γ で注射回数 1 回では 130.5 μl, 連続 3 回では 136.0 μl, 連続 5 回では 148.5 μl, 同 7 回では 155.5 μl, 同 10 回では 172.0 μl; 50 γ で注射回数 1 回では 145.5 μl, 連続 3 回では 163.0 μl, 同 5 回では 188.0 μl, 同 7 回では 197.5 μl, 同 10 回では 213.0 μl; 100 γ で注射回数が 1 回では 138.0 μl, 連続 3 回では 157.5 μl, 同 5 回では 166.5 μl, 同 7 回では 185.0 μl, 同 10 回では 196.0 μl; 200 γ で注射回数が 1 回では 138.0 μl, 連続 3 回では 152.5 μl, 同 5 回では 160.0 μl, 同 7 回では 178.5 μl, 同 10 回では 190.0 μl; 隔日 3 回注射法では投与 Platonin の濃度が 5 γ の場合には 138.0 μl, 10 γ の場合には 142.5 μl, 50 γ の場合は 170.5 μl, 100 γ の場合には 198.5 μl, 200 γ の場合には 156.0 μl であつた。

赤血球浮游液が Tributyrin を分解して遊離する酪酸量に相当する CO<sub>2</sub> 量は、Platonin を投与した場合には非投与例にくらべいづれも増加し、注射回数が同一の場合には投与 Platonin 濃度が 50 γ の場合もつとも CO<sub>2</sub> 量多く、ついで 100 および 200 γ の順であり、同一 Platonin 濃度では注射回数の増すにつれて CO<sub>2</sub> 量は多くなる傾向をしめし、隔日 3 回注射法でもいづれも対照より CO<sub>2</sub> 量は多く、50 γ 投与の場合が最大であつた。

すなわち、赤血球浮游液の Lipase 作用は Platonin 投与によつていづれも亢進し、注射回数が同一の場合には 50 γ 投与の場合にもつとも Lipase 作用の亢進が著明であり、各濃度 (5~200 γ) の Platonin 投与では注射回数の増すにつれて Lipase 作用の亢進がみられ、隔日 3 回注射法では 50 γ 投

与の場合でもつとも Lipase 作用の亢進が著明であつた。

### 小 括

赤血球の Lipase 作用が Platonin 投与によつていかなる影響をうけるかについて、試験管内ならびに動物実験をおこなつた成績を小括するとつぎのごとくである。

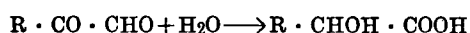
1) 試験管内実験では、赤血球の Lipase 作用は Platonin を添加すると亢進し、その度合いは添加 Platonin の濃度に比例して著明に亢進が推せられた。

2) 動物実験では、赤血球の Lipase 作用は Platonin 投与によつていずれも亢進し、注射回数が同一の場合には Platonin 濃度が 50 $\gamma$  のときもつとも Lipase 作用の亢進が大であり、各濃度 (5~200 $\gamma$ ) の Platonin 投与例では注射回数のますにつれて Lipase 作用の亢進が大となり、隔日 3 回注射法では 50 $\gamma$  投与例で Lipase 作用の亢進がもつとも著明であつた。

赤血球 Lipase 作用におよぼす Platonin の影響を検した研究もほとんどなく、三上ら<sup>23)</sup>はウサギ血清 Lipase に Lumin および Platonin がおよぼす実験をおこない、Lumin および Platonin はともに正常ウサギの血清 Lipase にたいしてはやや抑制的に作用する傾向をしめし、抑制が消失するとともに以後はかえつて増強的に影響する両面的作用を有するものと考えているが、血清と血球では Lipase 作用がことなるであろうから、著者の成績と若干齟齬するところがあつてもやむをえないであろう。

### V. Glyoxalase 作用について

Glyoxalase は Methylglyoxalase あるいわ Ketonaldehydmutase とも称せられ、



なる分子式における Cannizzaro 反応を融媒する酵素で、Methylglyoxal ( $CH_3 \cdot CO \cdot CHO$ ) は通常不同変化では焦性葡萄糖 ( $CH_3 \cdot CO \cdot COOH$ ) と Acetol ( $CH_3 \cdot CO \cdot CH_2OH$ ) とになるので、上記反応は単なる加水反応にすぎないとのかんがえもあるが、一応分子内酸化還元反応とかんがえられる。

さて、Lohmann<sup>24)</sup>、Jowett、Quastel<sup>25)</sup>らによつて赤血球内に Glyoxalase の存在が報告され、Methylglyoxal は含水炭素酸化の重要な中間産物とかんがえられ、したがつて Glyoxalase の意義も

重要視されていたが、Glyoxalase の基質となる Methylglyoxal が葡萄糖の正常な中間代謝産物でないことが Lohmann<sup>24)</sup> 自身によつて指摘されてから、この酵素が代謝系路に大きな役割をはたしていないという理由でその生理化学的意義についてはあまり研究されていないが、磷酸 Ester とならない含水炭素の分解にある意味をもっているのではなからうかと考えられ、また、小松<sup>26)</sup> は実験的貧血時における赤血球内 Glyoxalase 活性の変動をしらべ、Glyoxalase は赤血球成熟に関する 2 つの酵素群のうち、Catalase、琥珀酸脱水酵素をふくめた呼吸酵素などの群に属するものではなからうかと推論せられている。

著者は赤血球 Glyoxalase 作用にたいし、Platonin がいかなる影響をあたえるかについて in vitro、in vivo の 2, 3 実験をおこなつたので報告する。

### 実験方法

1) 酵素液の調製、2) 実験方法は前述酵素群と同様である。

#### 3) 酵素作用の測定

Jowett、Quastel らの方法<sup>25)</sup> にしたがつて定量し、10% 赤血球浮游液を酵素液として Krebs-Ruigh-Bicarbonate 溶液から 30 分間に発生する  $CO_2$  ガス量で Glyoxalase 作用能をあらわした。

### 実験成績ならびに考按

a) 試験管内実験 (Tab. 1) Platonin 非添加正常ウサギ赤血球浮游液 (対照) が 30 分間に発生する  $CO_2$  量は 240.5  $\mu$ l, Platonin 添加例では Platonin 濃度が 5 $\gamma$  の場合のそれは 238.0  $\mu$ l, 10 $\gamma$  の場合は 233.5  $\mu$ l, 50 $\gamma$  の場合には 220.5  $\mu$ l, 100 $\gamma$  の場合は 215.5  $\mu$ l, 200 $\gamma$  の場合は 198.5  $\mu$ l であつた。これからかんがえらると赤血球の Glyoxalase 作用は Platonin の濃度が大きくなるにつれて  $CO_2$  量は減少した。

すなわち、赤血球 Glyoxalase 作用は Platonin の添加によつて減弱し、その度合いは添加 Platonin の濃度が大きくなるほど減弱が著明であつた。

b) 動物実験 (Tab. 4) Platonin 非投与正常ウサギ赤血球浮游液 (対照) が 30 分間に発生する  $CO_2$  量は 265.0  $\mu$ l, 連続注射法では Platonin 濃度が 5 $\gamma$  で、注射回数が 1 回の場合の赤血球浮游液の 30 分間発生  $CO_2$  量は 258.5  $\mu$ l, 同 3 回連続注射の場合には 253.0  $\mu$ l, 同 5 回では 248.5  $\mu$ l, 同 7 回で

は 230.0  $\mu$ l, 10回では 212.5  $\mu$ l; Platonin 濃度が 10  $\gamma$  の場合で注射回数が 1 回の場合には 260.5  $\mu$ l, 同 3 回連続注射では 252.5  $\mu$ l, 同 5 回では 246.5  $\mu$ l, 7 回では 220.0  $\mu$ l, 10 回では 204.5  $\mu$ l; 50  $\gamma$  で注射回数 1 回では 240.0  $\mu$ l, 同連続 3 回では 227.0  $\mu$ l, 同 5 回では 208.0  $\mu$ l, 7 回では 183.5  $\mu$ l, 10 回では 174.5  $\mu$ l; 100  $\gamma$  で注射回数 1 回では 246.5  $\mu$ l, 同連続 3 回では 238.0  $\mu$ l, 同 5 回では 125.5  $\mu$ l, 7 回では 190.0  $\mu$ l, 10 回では 176.0  $\mu$ l; 200  $\gamma$  で注射回数 1 回では 257.0  $\mu$ l, 同連続 3 回注射では 240.0  $\mu$ l, 5 回注射では 225.5  $\mu$ l, 7 回では 210.0  $\mu$ l, 10 回では 190.0  $\mu$ l; 隔日 3 回注射ではいずれも対照より CO<sub>2</sub> 量は減少し, とくに 50  $\gamma$  投与例で著明であつた。

すなわち, 赤血球の Glyoxalase 作用は Platonin 投与によつて減弱し, その度合は投与 Platonin 濃度が 50  $\gamma$  場合のもつとも著明であり, 同一 Platonin 濃度群では注射回数の増すほど Glyoxalase 作用は減弱をしめし, 隔日 3 回注射法でも 50  $\gamma$  投与例でもつとも著明に Glyoxalase 作用の減弱が推せられた。

#### 小 括

赤血球の Glyoxalase 作用が Platonin 投与によつていかなる影響をうけるかについて試験管内ならびに動物実験をおこなつた成績を小括するとつぎのごとくである。

1) 試験管内実験では, 赤血球 Glyoxalase 作用は Platonin の添加によつて減弱し, その度合は添加 Platonin の濃度が大になるほど減弱は著明であつた。

2) 動物実験では, 赤血球 Glyoxalase 作用は Platonin 投与によつて減弱し, その度合は添加 Platonin 濃度が 50  $\gamma$  の場合にもつとも著明で, 同一 Platonin 濃度では注射回数の増すほど Glyoxalase 作用は減弱をしめし, さらに隔日 3 回注射法でも一般に対照に比し減弱をしめすが, とくに

50  $\gamma$  投与例でもつとも著明に Glyoxalase 減弱が推せられた。Glyoxalase 作用にたいする Platonin の影響が Catalase と同様な傾向をしめしたことは, あるいわ小松<sup>26)</sup> のいつているように Glyoxalase が Catalase と同一の性質をもつた呼吸酵素であることを推せしめる一つの資料になるならば, 本実験はきわめて有意義といえるであろう。

#### 結 論

赤血球の Cathepsin, Glycero-phosphatase, Catalase, Lipase および Glyoxalase 各作用におよぼす Thiazolocyanin 系感光色素 Platonin の影響について, 試験管内ならびに動物実験をおこなつた成績を総括, 結論するとつぎのごとくである。

1) 試験管内実験では, 赤血球の酵素作用中 Platonin の添加によつて亢進をしめしたものは Cathepsin, Glycero-phosphatase および Lipase の各作用であり, 逆に減弱をしめしたものは Catalase および Glyoxalase であり, いずれも添加 Platonin の濃度が大になるほど亢進, あるいわ減弱をしめした。

2) 動物実験では, 試験管内実験とほぼ同様に Platonin の投与によつて Cathepsin, Glycero-phosphatase および Lipase の各作用は亢進し, Catalase のほとんどの例および Glyoxalase の各作用は減弱をしめし, ことに 50  $\gamma$  投与例においてもつとも著明であつた。而して各実験において同一濃度の Platonin を投与した場合では, Lipase をのぞいた各酵素では注射回数を増すと (1~10 回) 亢進あるいわ減弱の度合は減少したが, ひとり Lipase のみは亢進の度合が注射回数に比例して大であつた。

撰筆するにあたり指導ならびに校閲をいただいた三上教授および神田助教授に深謝します。この論文は昭和 33 年 5 月, 前橋における第 42 次日本法医学会総会で発表した。

#### 文 献

- 1) 間世田・鹿大医紀要, 1, 5 (1953)
- 2) 馴田・鹿大医誌, 303, 6, (1955)
- 3) 浜田・岡医誌, 125, 71 (1959)
- 4) Waldschmidt-Leitz. et al: H., 17, 188 (1930)
- 5) Maschmann: H., 205, 222 (1933)
- 6) Maschmann: H., 141, 216 (1933)

- 7) Heyde: Ber. ges. Physiol., 328, 57 (1931)
- 8) Kleinmann: Biochem. Z., 145, 252 (1932)
- 9) 三村・岡医誌, 71 (1959)
- 10) 波多野他: 感光色素, 17, 7 (1951)
- 11) 永富・大阪医誌, 739, 34 (1935)
- 12) Roche: Biochem. J., 1924, 25 (1931)

- 13) 鈴江他：感光色素, 14, 38 (1956)  
14) Schmidt : Pfüogers Arch., 431, 6 (1872)  
15) Kultugin & Kanashenok : Asch. biol. Nauk. 40 (1936)  
16) Euler & Borgenstam : Biochem. Z. 124, 102 (1920)  
17) Okey : Amer. J. Physiol., 417, 62 (1922)  
18) Morgulis : Ergebn. Physiol., 308, 23 (1924)  
19) Bingold : Naturw., 656, 26 (1921)  
20) 村上他：感光色素, 16, 18 (1953)  
21) 三上他 : Ibid., 9, 11 (1951)  
22) 木積 : Ibid., 31, 40 (1956)  
23) 三上他 : Ibid., 10, 11 (1951)  
24) Lohmann : Biochem. Z., 443, 237 (1931)  
25) Jowett & Quastel : Biochem. J., 27, 486 (1933) Ibid., 28, 162 (1934)  
26) 小松 : 生化学, 224, 29 (1957)

---

## Experimental Study on the Effect of Photosensitizing Dye, Platonin upon the Activities of the Enzymes in the Erythrocytes

By

Sadao FUNABIKI

Department of Legal Medicine, Okayama University Medical School  
(Director : Prof. Y. MIKAMI)

The author has examined in vitro and in vivo on the influence of photosensitizing dye, Platonin (Thiazolocyannin) upon the activities of cathepsin, glycerophosphatase, catalase as well as lipase and glyoxalase in the erythrocytes, and obtained the following results.

1) The activities of cathepsin, glycerophosphatase and lipase of the erythrocytes were added Platonins have increased in vitro, otherwise the activities of catalase and glyoxalase have decreased. The greater the concentration of Platonin become, the more remarkable is the increase or the decrease of the activities of the said enzymes.

2) In vivo experiment as well as in vitro, the activities of cathepsin, glycerophosphatase and lipase of erythrocytes was added Platonins have increased, and almost of those of catalase and glyoxalase has decreased, especially in case of addition of pro kg 50  $\gamma$  Platonin. So it can be said the experiment in vitro and in vivo when added the same decrease of concentration of Platonin; the activities of the said enzymes except lipase is lower the degree of the increase or the decrease by augmentation of times of injection (1—10 times), but the activity of lipase is higher the degree of increase.

---