

無カタラーゼ血液症に於るカタラーゼ量 ペルオキシダーゼ量並に家鴨, 鶯鳥, 鳩に於るカタラーゼ量に就て

第 三 編

無カタラーゼ血液症血液ペルオキシダーゼに就て

岡山大学医学部耳鼻咽喉科教室 (主任: 高原教授)

三 原 伸

〔昭和 31 年 10 月 20 日 受稿〕

目 次

第一章 緒 言

第二章 測定方法並に測定材料

第一節 Mc. Junkin 氏変法による Peroxydase 反応

第二節 Bach-Zubkova 氏法による Peroxydase 測定法

第三節 測定材料

第三章 測定成績

第一節 Peroxydase 反応成績

第二節 Peroxydase 測定成績

第四章 考 按

第五章 結 語

第一章 緒 言

本症に就てカタラーゼ (以下単に〔カ〕と称す) 以外の体内酸化酵素の動静を探索する目的でペルオキシダーゼ (以下単に〔ペ〕と称す) を選び, その血液内〔ペ〕反応の出現或はその強弱の究明を行い又その血液内〔ペ〕量測定を行う事は有意義の手段であると思ひ実施した。

抑々本酵素は炭素結合分解酵素の中の鉄を持つ酸化酵素として〔カ〕と同じ分類に含まれている重要な酵素であり, 〔カ〕が過酸化水素を分解して $H_2O + O_2$ に分解するのに対し, 〔ペ〕は過酸化水素から酸素を賦活して活性となし ($H_2O_2 \rightarrow O + H_2O$) 受酸素物に運ぶ酵素である。その分布に就ては本酵素は広く動植物中に存し, 動物では主として白血球中であり, その他では骨髓, 体液, 乳汁中にも存し, 靑酸等に非常に鋭敏に抑制される点も〔カ〕と類似している。

〔ペ〕の生体内に於る意義並にその消長に就て既往の研究の跡を尋ねてみるに, 大体に於て血液内〔カ〕の消長と同一の経過を辿っている様である。例えば岡田氏に依ればビタミンBの鼠血液中〔カ〕〔ペ〕に及ぼす影響に就て, ビタミンBと〔カ〕〔ペ〕の増減は一致すると結論を出しており, 又同氏は慢性飢餓の血液〔カ〕〔ペ〕に及ぼす影響に就て白鼠に於て測定を行い, 〔カ〕数と〔ペ〕数とが略々同様の消長をしていると述べている。又土田氏はイオン化空気浴の家兎血液内酵素量に及ぼす影響に就て測定した結果, やはり〔カ〕と〔ペ〕は同様の消長を辿っている事を報告している。又田中氏は甲状腺腫竝にパセドー氏病のレ線療法の経過中に於る〔カ〕〔ペ〕の消長を検索し, 之等疾病では〔カ〕〔ペ〕共に増加している事を認め, 此等疾病のレ線治療により症候の軽快と共に〔カ〕〔ペ〕共に下降してゆく事を報告している。茲に於て本症では血中〔カ〕が殆んど缺除

近い状態であるので、同じ鉄を有する酸化酵素たる〔ペ〕の消長を究明する事は興味深いものと考えられる。

第二章 測定方法並に測定材料

第一節 Mc. Junkin 氏変法による〔ペ〕反応

1) 試薬は80%メチルアルコール(メタノール20.0cc+蒸溜水5.0cc) 25ccにペンチジン 0.1g オキシドール 2滴を加え褐色瓶に貯えたもので時々新調を要する。

2) 方法は血液塗沫標本に上記試薬10滴を加え30秒間密閉し、更に蒸溜水20滴を追加し軽く振盪し乍ら3分間後水洗乾燥を行う、次でギムザ稀釈液(蒸溜水 1cc +ギムザ原液 1.5滴)にて後染色10~15分行い水洗する。

第二節 Bach-Zubkova 氏法による〔ペ〕測定法

〔ペ〕定量法には各種の方法がある、即ち Willstaetter u. Stoll 氏の Pyrogallol 酸化法、Smirnow 氏の Pyrogallol 酸化法、Bach-Chodat 氏による Pyrogallol 酸化法、佐藤、関谷氏による硫酸銅液法、Bach-Zubkova 氏の Guajakol 酸化法、Willstätter-Weber 氏の Leucomalachit-Gruenの酸化法等色々の方法があるが、著者は操作の簡単なることと正確なる点で Bach-Zubkova 氏の Guajakol 酸化法を選び実施した。

この方法は Guajakol の酸化による比色定量法である。Guajakol $C_7H_8O_2$ は類黄色澄明油液で1cc は水 80cc に溶け、その水溶液は長期間保存し得られ、且過酸化水素の添加によつて酸化されず、又〔ペ〕の作用によつて生ずる Tetra-Guajakol は可溶性であつて、Bach-Zubkova 氏法によつて 0.05mg をも比較定量し得られる点が Pyrogallol より優つている。

測定方法は 1000 倍稀釈血液 1cc を 0.1% Guajakol 液 1cc, 1%過酸化水素液 1cc 及び水 7cc と共に試験管に入れ、室温に放置し、30分後に生ずる色を標準液の色と比色する。即ち種々の濃度の標準液 10cc宛を大いさ厚さ

等しき密閉管に入れた色と比較する方法である。酸化せる Guajakol の液は不安定にて時間が経つと褪色を来す為、Engelhardt に従つて 5% $K_2Cr_2O_7$ 液約 1.2cc を 10% $CO(NO_3)_2$ 液 50cc に加えたる溶液を用い、之を標準液とする。此標準液を稀釈して最低濃度の管が 10cc 中に酸化せる Guajakol 0.05mg を含有しているものに相当する様にする。次で標準管の色調を 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 の如くにする。両氏によれば混液 10cc 中に過剰の〔ペ〕が存在すれば Guajakol は相当する酸化生成物に全部変化する。稀釈血液 1cc が Guajakol を酸化する量を以て Peroxydase-Zahl とする。

標準管を検査するには 0.05mg より段々に量を増した Guajakol を過剰の〔ペ〕にて完全に酸化せしめ之を標準管と比較し、若し酸化せる Guajakol 溶液の色が夫に相当する管の標準液の色より強い時は Guajakol 溶液に Biurett より水を加えて 2 溶液の色を同一にする。此稀釈するに用いた液量から標準管の色に相当する酸化せる Guajakol 含有量を計算する訳である。

例・今標準管 I の色と酸化せる Guajakol 0.05mg を含む溶液の色とを同一にする為、後者に水 1.5cc を加えたたとすると、 $0.05 \times \frac{10}{10+1.5} = 0.043mg$ の酸化せる Guajakol を 10cc 中に溶かしている溶液の色が標準管 I の色に相当する。〔ペ〕を定量するには可検液(酵素液 1cc, 0.1% Guajakol 液 1cc)の色を標準管の色と比較し、水を加えて其次位の標準管の色と同一にする。

第三節 測定材料

1) 〔ペ〕反応には本症 1 家系全症例(4 例)の耳朶より採血せる血液を以て塗沫標本を作製し染色鏡検した。

2) 〔ペ〕定量には I) と同様に本症 1 家系全症例に就て耳朶より血液 0.02cc 採取し、之を蒸溜水 20cc に溶血させた 1000 倍稀釈液を作り、之を測定材料たる酵素液として使用し測定を行つた。尚直ちに測定出来ない場合

は氷室に容れ、後必要に応じて取出し測定を行つた。又測定時同時に赤血球数、白血球数 Hb 量の測定の為、耳朶より採血した。測定時には常に〔ペ〕数既知の正常人を対照として同時に測定した。

第三章 測定成績

第一節 〔ペ〕反応成績 (Mc. Junkin 氏変法)

本症1家系全症例(4例)の〔ペ〕反応を観察するに、Mc. Junkin 氏変法により陽性と

判定される血球原形質内の黄褐色顆粒の出現は正常人の場合と比較し、略々同程度と認めて差支えないと思う。即ち好酸球の場合を比較してみるに、本症並に正常人の何れの好酸球も例外なく黄褐色顆粒が核以外の原形質の全領野に隙間なく充滿している事が認められる。次に好中球の場合に於ても黄褐色顆粒の出現の程度は正常人のそれと比較し著しい相違は認められない。この点に就て第1表を作製し、好中球原形質全領野に黄褐色顆粒の出現せるものをI型とし、好中球原形質の約

第 1 表

症 例	好 中 球				好 酸 球	単球並に移行型		
	I 型	II 型	III 型	IV 型	V 型	VI 型	VII 型	
N 家 系	I 例	8%	27%	24%	28%	5%	7%	1%
	II 例	11%	27%	26%	28%	4%	4%	0
	III 例	6%	25%	18%	37%	6%	8%	0
	IV 例	8.5%	26%	22%	28.5%	8.5%	6.5%	0
	平 均	8.4%	26.25%	22.5%	30.3%	5.9%	6.4%	0.25%
正 常 人		10%	26%	17.5%	32%	7.5%	6%	1%

3/4 の領野に黄褐色顆粒の出現せるものをII型とし、1/2 の領野に陽性顆粒の出現せるものをIII型とし、1/4 の領野に出現せるものをIV型とした、好酸球をV型とし、単球並に移行型に於て顆粒出現のないものをVI型とし、僅かでも出現せるものをVII型とし、以上7型に就て本症1家系の全症例4名と正常人の場合との比較を行つた。各例に就て上記血球100ケを算定し、その各型に於る百分率を第1表に示した。

この第1表により〔ペ〕反応陽性の強弱を推定してみるに、本症と正常人との間に著しい相違は見出せなかつた。即ち先づ本症と正常人との好中球〔ペ〕反応を比較してみるに、本症ではII型が0.25%、III型が5%多い値を示しているが、I型IV型が各々1.6%、1.7%少い値であるので恰も互に補い合つた数値を示していて、好中球に就ての両者の反応の差は少い。好酸球に於ては前述の如く〔ペ〕反応は最も強く、本症と正常人との間に差は認められない。単球並に移行型に就ては〔ペ〕

反応は非常に弱く、成書に依れば単球は一部陽性を示すものありと記せられており、この場合も同様に正常人とは極く僅か低い%に陽性を示しているが、反応そのものは弱いものである。

第二節 〔ペ〕測定成績 (Bach-Zubkova 氏法)

本症1家系全症例(4名)に就て耳朶より採取せる血液の〔ペ〕定量を行い、その測定値を第二表に示した。

本症の Peroxydase Zahl は最低0.137より最大値0.159を示し、平均値は0.144である。

第 二 表

症例	年令性別	赤血球数	白血球数	血色素量	〔ペ〕数
I	20 j ♀	430万	6400	73%	0.137
II	22 j ♂	470万	5800	78%	0.137
III	13 j ♀	420万	6200	90%	0.145
IV	18 j ♀	470万	7200	92%	0.159
以上 4 例 平均					0.144

著者の行つた正常人の Peroxydase Zahl 平均測定値は 0.148 であり、本症 4 例の平均値と比較し、殆んど差は認められない。換言すれば本症血液〔ペ〕は正常人と同様の含有量を示していると云へる。

測定に際しては同時に赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量の測定を行い、何れも正常範囲内である事を確かめている。又 1000 倍稀釈血液を 1cc の場合と 2cc 用いた場合とを各例に就て行い、測定は 1 症例に就て同一血液に於て最小 2 回より最大 8 回宛測定を行つて得た値である。尚 1 年の中 III 月 VI 月 VII 月 XII 月の各月に測定を行い、その都度同時に正常人血液に就て測定を行つたが、何れの時期にも正常人の場合と略々同様な結果を得た。上記の何れの時期にも本症 4 例何れも非発病期であり、発病期に於ける測定が行へなかつたのは遺憾であつた。

第四章 考 按

本症の血液〔ペ〕反応 (Mc. Junkin 氏変法) 並に〔ペ〕測定 (Bach-Zubkova 氏法) を行い、前述の結果を得た。

先づ〔ペ〕反応に就てみるに本反応は成書に記載されている如く、骨髓系細胞は陽性を示し、リンパ系細胞は陰性を示すものであり、単球は一部陽性を示すものもある。本症の〔ペ〕反応陽性顆粒の出現の程度を正常人と比較してみるに、前述の如く好酸球、好中球、単球の何れの血球も正常人と殆んど相違を見出し得なかつた。即ち黄褐色顆粒が原形質全体に対して占めている面積を以て本反応の強度の尺度とし、7 型に分類し比較を行つたが著しい差は認められなかつた。尚黄褐色顆粒の各個々の色の濃淡に就ても同様に差は認められなかつた。此等の事実を以て直ちに〔ペ〕の量を云々する事は出来ないが、少なくとも〔ペ〕反応の強さは正常人と殆んど差がないという事は云い得ると思ふ。

次に〔ペ〕測定に就ては第二表に示す如く、本症 1 家系全症例の Peroxydase-Zahl 最大 0.159 最小 0.137 平均 0.144 であり、正常人平

均値 0.148 と比較し殆んど差のない事を確認した。文献に依れば〔ペ〕量変動に関しては土田氏は正常家兎 1 日中の変動は最高 16% 最低 4% であると報じ、高岡氏は犬に於て最高 13% 最低 2% であると報告している。此等の変動値から考察しても本症例と正常者の〔ペ〕量の差は問題にならない位に微小であると云い得る訳である。尚正常者の Peroxydase-Zahl 0.160 内外との報告があるが、著者の場合ではその約 7.5% 低い値である 0.148 という値が出た。この値は本症と同時に測定した正常人〔ペ〕の平均値であり、同じ測定試薬と測定手技による値であるので、本症例と比較するのに最も妥当であると考え、この値を使用した次第である。

既に緒言に於て記載した如く、生体内〔カ〕と〔ペ〕の消長は岡田氏、土田氏、田中氏に依つても両者は大体同一の経過を辿つている様である。然るに本症に於ては既に第一編に於て述べた如く血液〔カ〕量が非常に極微量であるのに反し、〔ペ〕量は正常人と殆んど差を認め得ない程度に存している事実は注目すべき事である。この点に就ては本症の如き〔カ〕含有量の特異な場合に於る〔ペ〕量と云う事になると全然未知の新事態に遭遇し直面した事になり、その結果も同様に予想し得ない事であるからであらう。尚体内の他の酸化酵素例えばチトクロームオキシダーゼ、コハク酸酸化酵素等に就ての測定も必要になるが、之等に就ての研究は教室に於て進められている。

本症の〔ペ〕測定結果により本症の〔カ〕量が特異である原因には、少なくとも〔ペ〕生成に関与する因子は全然影響していないだろうという事が云い得るし、血液内に〔ペ〕が正常量に存在する事から、〔カ〕〔ペ〕共通の阻害因子の抑制は受けていないという事も事実である。

第五章 結 語

本症の血液〔ペ〕反応並に血液〔ペ〕量の測定を行い次の結果を得た。

1) 本症の血液〔ペ〕反応をmc. Junkin 氏変法により行い, 陽性顆粒の出現程度を正常人と比較し殆んど差違のない事を認めた。

2) 本症の血液〔ペ〕量を Bach-Zubkowa

氏法により測定し, 正常人と比較し差違を認めなかつた。

稿を終るに臨み御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師高原教授に対し衷心より感謝の意を表する。

主 要 文 献

- 1) 高原, 宮本: 耳鼻咽喉科, 21, No. 2, 1949.
- 2) S. Takahara · Lancet. Dec. 6, P. 1101, 1952.
- 3) S. Takahara : Pro. Japan. Acad., No. I, Vol. 27, No. 6, 1951. No. II, Vol. 28, No. 7, 1952. No. III, Vol. 28, No. 10, 1952.
- 4) 高原: 岡山医学会雑誌, 63, No. 1, 1951.
- 5) 宮本: 岡山医学会雑誌, 64, No. 4, 1952.
- 6) A. Fujita und T. Kodama : Bioch. Z. 232, 20, 1930.
- 7) Bach-Zubkowa . Bioch. Z. 125, 288, 1921.
- 8) K. G. Stern Z. Physiol, chem. 204, 259, 1932.
- 9) Stern u. Batteli : Ergebnisse d. Phys. 10, 1910.
- 10) H. Nakamura, M. Yoshiya, K. Kaziro and G. Kikuchi : Proc. Japan Acad., 28, 59 (1952)
- 11) M. Dixon : Multi-enzyme Systems 1954. 尾田義治訳, 納田書店.
- 12) 土田: 北海道医学雑誌, 16年前, No. 6, (昭13).
- 13) 田中: 名古屋医学会雑誌, 45, No. 1, (昭12).
- 14) 藤田: 医学生物学研究領域に於ける検圧計とその応用.
- 15) 越智: 北海道医学雑誌, 第6年, No. 6, (昭3).
- 16) 岡田: 児科雑誌, 425, 1413 (昭10).
- 17) 日野: 酵素化学の進歩 (カタラーゼ)
- 18) 野崎: 朝鮮医学雑誌, 19, No. 12 (昭4).
- 19) 大谷: 実験酵素化学.
- 20) Kozoo Kaziro, Goroo Kikuchi Heizoo Nakamura und Masaru Yoshiya Die Frage nach der physiologischen Funktion der Katalase im menschlichen Organismus · Notiz über die Entdeckung einer Konstitutions anomalie "Anenzymia catalasea", Jg. 85, Nr. 9—10/1952.

Oto-rhino-laryngological Department, Okayama University Medical School.

Quantity of Catalase and Peroxydase in Acatalasemia Cases and Quantity of Catalase in Wild duck, Goose and Pigeon.

Part III. Quantity of Peroxydase in Acatalasemia Cases.

By

Shin Mihara, M. D.

I performed the quantitative estimation of peroxydase in blood of acatalasemia cases, using Bach-Zubkowa's method, and peroxydase reaction of blood were tested according to Mc Junkin's method. Obtained results were as follows:

- 1) Quantity of peroxydase of blood in acatalasemia were almost equal to normal persons.
- 2) Peroxydase reaction of blood in acatalasemia cases were almost the same in comparison with that of normal person's blood.