

# モルモット血清によるタンニン酸処置 赤血球凝集現象に関する研究

## 第 6 報

タンニン酸処置赤血球凝集反応に対するマンガンの影響について

金沢大学結核研究所薬理部(主任:伊藤亮教授)

三 神 文 彦

(受付:昭和41年5月11日)

### 緒 言

モルモット血清によるタンニン酸処置赤血球凝集反応(以下単に TE 凝集反応と呼ぶこともある)に対するイオンの影響に関しては、さきに上野<sup>1)</sup>によって重金属イオンを除いた各種イオンについて精細な検索が行なわれた。重金属イオンについては、その多くのもが直接タンニン酸処置赤血球に対して強い凝集あるいは溶血作用を呈するため検索ができなかったの

が、著者はたまたま  $Mn^{2+}$  が  $10^{-2}M$  以下の低濃度では赤血球自体に対する障害がないことを知り、 $Mn^{2+}$  の TE 凝集反応に対する影響について検索を進めたのであるが、その結果この重金属イオンが他のイオンと違ってはなはだ興味ある特異な作用を発揮するものであることを実証するに至った。よってここにその成績を報告する。

### 実 験 方 法

実験方法はすべて上野<sup>1)</sup>の報告の記載に従った。蒸留水はイオン交換樹脂(日本オルガノ商会製モノベット型純水製造装置)を通して再精したものを用いた。

#### 1. 緩衝液加生理的食塩水

従来使用している磷酸緩衝液は  $Mn^{2+}$  と沈澱を生ずるため、0.1 M Veronal-HCl 混液、pH 7.0 を緩衝液とした。0.85%食塩水10容量に Veronal-HCl 緩衝液1容量を混和したものを緩衝液加生理的食塩水(以下食塩水と呼ぶ)として用いた。

#### 2. タンニン酸処置赤血球

健常モルモット(体重 500-700gm)から心臓穿刺で採った血液をただちに1.2容量の Alsever 氏液<sup>2)</sup>に混和する。次いで遠心分離した赤血球を4回食塩水で洗浄した後、食塩水を加えて原血液量とする。その後の操作はすべて低温室( $2^{\circ}\pm 2^{\circ}C$ )内で行なわれた。

洗浄赤血球 2 ml に対してタンニン酸の 1:10,000 溶液(食塩水に溶解)を 40 ml の割合に混和し、低温室内に30分間放置する。次いで赤血球を食塩水 30 ml で3回洗浄し、最後に食塩水を加えて 2 ml とする。調製したタンニン酸処置赤血球は氷水中におき、調製後なるべくすみやかに実験に使用した。

#### 3. モルモット血清

健常モルモットならびに結核感染モルモット(ヒト型結核菌 H37Rv 0.5mg を皮下接種して1月以上経ったもの)から心臓穿刺で採血し、血液を室温で凝固させ、分離した血清を  $5^{\circ}C$  以下で無菌的に保存した\*。実験に際しては血清を食塩水で適宜希釈して用いた。

#### 4. TE 凝集試験

塩化マンガン ( $MnCl_2$ ) の 通下希釈液 ( $5 \times 10^{-3}$  -  $5 \times 10^{-7}M$ ) 2 ml に血清の一定希釈液 2 ml を混和

\* 保存血清は少なくとも1年間はその TE 凝集活性にほとんど変化を生じない。

し、これをタンニン酸処置赤血球浮遊液 0.2 ml を入れた遠心沈降管 (12 mm×100 mm) に加えてよく混合した後、室温に25分間静置した。その間5分毎に試験管を透過光線下で検して、血球凝集の程度を次のように区分して記録した:

- 卅. 赤血球は凝集を起こしてほとんど全部管底に沈積した。  
 士. 赤血球は凝集を起こしてはいるが管底に沈積するに至らなかった。

卅, 卅, +. 凝集して管底に沈積した赤血球の量によって区分した。

一. 赤血球は全く凝集を起こさなかった。

付表の凝集試験成績には最終判定のみを掲示した。

## 5. 試 薬

1) タンニン酸: 和光純薬, 1級品。

2) 塩化マンガン ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ): 和光純薬, 特級品。0.1 M  $\text{MnCl}_2$  水溶液を原液として調製しておき、実験のつどこれを食塩水で希釈した。

## 実 験 成 績

### 1. TE 凝集反応に対する $\text{Mn}^{2+}$ の阻止作用

第1表に掲げた成績は TE 凝集反応に対する  $\text{Mn}^{2+}$  の阻止作用を示す典型的実験例である。この表では2匹の結核感染モルモット (No. 38—7, No. 38—27) からとった血清の 1:100—1:400 希釈液について、各希釈血清の TE 凝集反応力に対する  $\text{MnCl}_2$  の影響を  $5 \times 10^{-3}$  M から  $5 \times 10^{-7}$  M の濃度範囲にわたって検索した。この表を一見して明らかなのは、 $\text{Mn}^{2+}$  が TE 凝集反応に対してはなほ強大な阻止作用を示したことである:

(1) No. 38—7 血清では 1:140 希釈液の TE 凝集力は卅反応を生ずるほどの強いものであるが、 $5 \times 10^{-3}$ — $10^{-5}$  M  $\text{Mn}^{2+}$  によって希釈血清の凝集活性は完全に阻止された。更に  $10^{-6}$  M という低濃度  $\text{Mn}^{2+}$  によっても凝集反応は対照に比して明らかに弱くなっており、 $\text{Mn}^{2+}$  の阻止作用がここでもなお有効であることがわかる。また 1:250 希釈血清では、 $\text{Mn}^{2+}$  を加えない対照管の凝集反応は+であって、 $\text{Mn}^{2+}$  存在下では  $2 \times 10^{-6}$  M までの試験管では反応は完全に阻止され、 $10^{-6}$  M  $\text{Mn}^{2+}$  加試験管では凝集反応±であった。1:400 希釈血清では、対照管及び  $5 \times 10^{-7}$  M  $\text{Mn}^{2+}$  加試験管のみに微弱(±)凝集反応を認めた以外はすべて反応は陰性であった。

(2) No. 38—27 血清では、1:100, 1:200 及び 1:400 希釈血清の TE 凝集反応力(それぞれ卅, +及び±)に対する  $\text{Mn}^{2+}$  の阻止作用を検したのであるが、この場合にも  $\text{Mn}^{2+}$  の完全阻止濃度は  $10^{-6}$  M ないし  $2 \times 10^{-6}$  M。最小

有効阻止濃度は  $5 \times 10^{-6}$  M ないし  $10^{-6}$  M と前例とほぼ同様の成績が得られた。

なお表の最下欄に示した成績は  $\text{Mn}^{2+}$  自体のタンニン酸処置赤血球に対する影響を検したものであるが、 $\text{Mn}^{2+}$  はこの実験に使用した範囲内の濃度では血球に対して凝集や溶血などの作用は全くなかった。

### 2. $\text{Mn}^{2+}$ 作用の多様性

前項実験によって TE 凝集反応に対する  $\text{Mn}^{2+}$  の強力な阻止作用が実証されたのであるが、多数のモルモットについて実験を更に進めてゆくうちに血清によって  $\text{Mn}^{2+}$  の阻止効果に非常な変動のあることが明らかとなった。のみならず時には逆に TE 凝集反応の増強効果と思われるような一見きわめて奇異な事態に遭遇するに至った。

第2表及び第3表はこのような  $\text{Mn}^{2+}$  作用の複雑性を物語る実験例の一端を示したものである。

(1) 第2表は正常モルモット血清 (No. 54—2, No. 54—5, No. 54—6) についての実験例である。3例の実験のうち、No. 54—5 血清では、1:100 希釈血清 (TE 凝集反応+) に対して  $\text{Mn}^{2+}$  は  $10^{-5}$  M まで完全阻止作用を示し、最小有効阻止濃度は  $5 \times 10^{-6}$  M であった。また No. 54—6 血清でもほぼ同程度の  $\text{Mn}^{2+}$  阻止作用が認められたのであって、1:100 及び 1:250 希釈血清 (凝集反応力はそれぞれ卅及び+) に対する最小有効阻止濃度はともに  $2 \times 10^{-6}$  M であった。これらの成績は第1表に示した実験例と何ら変わるところがない。とこ

ろが表から明らかなように No. 54—2 血清では  $Mn^{2+}$  が前記 2 血清の場合と大いに趣を異にした態度を示したのである。すわなち 1:100 希釈血清(凝集力+)に対する  $Mn^{2+}$  の影響を低濃度から順次に検すると、 $5 \times 10^{-7} M$  から  $2 \times 10^{-6} M$  までは + で全く影響なし、 $5 \times 10^{-6} M$  及び  $10^{-5} M$  では反応士で阻止作用あり、 $2 \times 10^{-5} M$  以上の高濃度では凝集反応は完全に阻止されたのであるが、注目されるのはこれら陰性試験管列中で、 $2 \times 10^{-4} M Mn^{2+}$  加試験管に対照管と同程度の凝集反応を生じたことである。しかも更に奇妙なことには全く凝集反応力のない 1:250 希釈血清で  $2 \times 10^{-3} M$ — $5 \times 10^{-4} M Mn^{2+}$  加試験管に  $\#$  または  $\#\#$  の強い凝集反応が生じたのである。また 1:500 希釈血清でも、希釈血清それ自体には全く凝集作用がないにもかかわらず、 $5 \times 10^{-7} M$ — $5 \times 10^{-4} M Mn^{2+}$  加試験管に著明な凝集反応が現われたのであって、このように  $Mn^{2+}$  の存在によって TE 凝集反応が誘発されるということは No. 54—5 血清や No. 54—6 血清では全然見られなかった現象である。

(2) 第 3 表は 6 例の結核感染モルモット血清について TE 凝集反応に対する  $Mn^{2+}$  の影響をしらべた実験成績であるが、第 2 表成績と比較して明らかなように、結核血清では  $Mn^{2+}$  作用がより以上に複雑で変動性であることがうかがわれる。これらの成績を通じて  $Mn^{2+}$  の TE 凝集反応に対する影響には 2 種類を区別することができる。その 1 つは  $Mn^{2+}$  の  $10^{-5} M$  から  $10^{-6} M$  までの範囲内に最小有効濃度をもった阻止作用であり、他は  $10^{-4} M$  以上の高濃度域に現われる増強作用である。そしてこの表の成績から、これら 2 種類の  $Mn^{2+}$  作用にはそれぞれ次のような特長のあることがうかがえる。

(a) 阻止作用は血清によってその最小有効阻止濃度に大した変動がない。

(b) これに反して増強作用は血清によって、また同一血清でもその希釈度によって著しい変動を呈した。例えば No. 41—28 血清では、血清の希釈度が 1:140, 1:200, 1:300 と増すにつれて  $Mn^{2+}$  による凝集反応増強作用も

また顕著となったが、No. 41—32 血清では 1:250 希釈血清で増強作用は最高を示し、1:140 及び 1:400 希釈液ではかえって減弱をきたした。更に No. 44—11 血清では、1:80 及び 1:160 希釈血清の場合には  $Mn^{2+}$  の増強作用はほとんど現われなかったが、1:300 及び 1:500 希釈血清では何れも著明な増強作用が生じた。また No. 44—18 血清の場合には 1:100 希釈血清では  $Mn^{2+}$  は増強作用を全く示さず阻止作用のみを呈したのであるが、1:250 希釈血清では  $10^{-3} M$  ないし  $2 \times 10^{-4} M Mn^{2+}$  加試験管に凝集反応が現われ、更に 1:500 及び 1:1,000 希釈血清では、血清それ自体にはもはや凝集作用がないにもかかわらず、 $2 \times 10^{-3} M$ — $2 \times 10^{-4} M Mn^{2+}$  加試験管に凝集反応を生じた。

第 3 表の最後に示した No. 44—13 血清は上に述べたような  $Mn^{2+}$  の 2 相性作用をきわめて顕著に現わした 1 例である。このモルモットは内臓に高度の結核病変を呈し、かつその血清は 1:64 から 1:500 までの希釈域内において  $\#$  ないし  $\#\#$  の TE 凝集を惹起するほどの強力な活性を示した。 $Mn^{2+}$  の影響は表に示したように、1:160 及び 1:300 希釈血清では  $Mn^{2+}$  を加えた全試験管に対照管と同程度の  $\#$  または  $\#\#$  の凝集反応が生じたのであって、ここでは  $Mn^{2+}$  の阻止作用は全く認めることができなかった。ところが 1:500 希釈血清 ( $\#\#$ ) では、 $2 \times 10^{-5} M$  ないし  $5 \times 10^{-6} M Mn^{2+}$  加試験管では凝集反応は完全に阻止され、最小有効阻止濃度  $10^{-6} M$  を示したのであるが、 $10^{-4} M$  以上の高濃度では対照と同等の強反応が見られた。また 1:1,000 及び 1:2,000 希釈血清では、血清自体はもはや全然凝集力はないのであるが、 $Mn^{2+}$  の  $2 \times 10^{-4} M$  以上の濃度で強反応が生じたのであって、 $Mn^{2+}$  の TE 凝集反応増強作用がこのような低希釈血清でも著明に現われたことはなほだ興味ある成績である。

(3) 第 4 表には TE 凝集反応に対する  $Mn^{2+}$  作用の多様性を一層明確に示すために、TE 凝集反応力がほぼ等しい 3 例の結核モルモット血清 (No. 53—5, No. 53—9, No. 53—

10) について行なった実験成績を示した。これら3つの血清は 1:100 希釈で $\text{H}$ , 1:250 希釈で $\text{+$ または $\text{+}$ の TE 凝集を生ずるような同一程度の TE 凝集活性をもっているのであるが,  $\text{Mn}^{2+}$  に対しては互いに異なった反応態度を示した。

(a) No.53—5 血清では  $\text{Mn}^{2+}$  の阻止作用のみがきわめて強力に発揮されている。すなわち 1:100 希釈血清による TE 凝集反応は  $10^{-5}$  M 以上の高濃度の  $\text{Mn}^{2+}$  によって完全に阻止され, かつこの際の  $\text{Mn}^{2+}$  の最小有効阻止濃度は  $10^{-6}$  M であった。また 1:250 希釈血清の場合には  $10^{-6}$  M まで  $\text{Mn}^{2+}$  による完全阻止が見られた。1:500 以上の希釈血清では血清の凝集反応は陰性で,  $\text{Mn}^{2+}$  を加えても何ら異常な反応は起こらなかった。

(b) No. 53—9 血清に対する  $\text{Mn}^{2+}$  作用の実験成績は一見上記 No. 53—5 血清と同様, 阻止作用のみが現われているように思われるのであるが, 1:100 希釈血清に対する  $\text{Mn}^{2+}$  作用をよく検討すれば明らかなように, 決して No. 53—5 血清の場合のように単純な阻止効果ではない。すなわち  $\text{Mn}^{2+}$  は  $10^{-3}$  M 以上の高濃度では凝集反応の完全阻止をきたしたのであるが,  $5 \times 10^{-4}$  M 以下の低濃度では全管にやや不整に多少とも凝集反応が起こっているのであって,  $\text{Mn}^{2+}$  の阻止作用と増強作用とが重なり合っているような結果を生じたものと考えられる。しかし 1:250 希釈血清では凝集反応は  $5 \times 10^{-6}$  M  $\text{Mn}^{2+}$  加試験管まで陰性であり, また 1:500 以上の希釈血清に対しても  $\text{Mn}^{2+}$  が何ら異常反応を生じなかったことは前記血清と同様の結果であった。

(c) No. 53—10 血清に対する  $\text{Mn}^{2+}$  は上記 2 血清例と全く趣を異にして,  $\text{Mn}^{2+}$  の濃度及び血清の希釈度によって TE 凝集反応の阻止ならびに増強の 2 相型を呈したのである。すなわち 1:100 希釈血清では第 1 ( $5 \times 10^{-3}$  M  $\text{Mn}^{2+}$  加) 及び第 2 ( $2 \times 10^{-3}$  M  $\text{Mn}^{2+}$  加) 試験管で凝集反応陰性であったが, それ以外の試験管には対照管よりやや弱い同程度の凝集反応が生じた。また 1:250 希釈血清では,  $2 \times 10^{-4}$  M— $10^{-5}$  M

$\text{Mn}^{2+}$  加試験管では反応陰性であったが,  $5 \times 10^{-4}$  M 以上の高濃度  $\text{Mn}^{2+}$  加試験管では対照管 (+) よりも遙かに強い凝集 ( $\text{H}$ ) が生じた。1:500, 1:1,000 及び 1:2,000 希釈血清では対照管は何れも反応陰性であったが,  $5 \times 10^{-4}$  M 以上の高濃度  $\text{Mn}^{2+}$  加試験管に著明な凝集反応が生じた。

以上述べたいくつかの実験例から明らかなように  $\text{Mn}^{2+}$  の TE 凝集反応に対する影響は血清によって異なっていてきわめて複雑な様相を呈し, しかも同一血清でも  $\text{Mn}^{2+}$  の濃度や血清の希釈度を変えると, ある時は阻止または増強作用が単独で現われ, またある時は両作用が入り混ざって現われるのである。

### 3. TE 凝集反応に対する $\text{Mn}^{2+}$ の増強作用についての吟味

上に述べた実験結果から  $\text{Mn}^{2+}$  がモルモット血清の TE 凝集反応に対して強大な阻止作用を呈するばかりでなく, 時によってはこれと反対に, 特に高濃度で TE 凝集反応を増強する作用のあることが明らかとなったのであるが, ここで当然問題となるのはこの  $\text{Mn}^{2+}$  によって増強された——希釈血清それ自体に TE 凝集活性が認められない場合には一見  $\text{Mn}^{2+}$  によって誘発されたとも言えよう——血清の TE 凝集反応が本来の凝集反応と全く同一性状のものか否かということである。そこでこの問題について何らかの手がかりを得るため次の実験を行なった。

#### (1) 正常赤血球に対する $\text{Mn}^{2+}$ 増強作用の検討

モルモット血清による TE 凝集反応は低温でタンニン酸処置をほどした赤血球を用いてはじめて現出するものであって, 当然のことながら無処置の正常赤血球では全く認めることはできないのである<sup>3)</sup>。そこで  $\text{Mn}^{2+}$  の付加によって TE 凝集反応の増強を呈した結核血清について正常赤血球を用いて果して  $\text{Mn}^{2+}$  によって血球凝集が生ずるや否やを検した。

第 5 表の実験成績は結核感染モルモット血清の 1:500 希釈液 (凝集反応,  $\text{H}$ ) 及び 1:1,000 希釈液 (凝集反応,  $-$ ) について, 一方では

TE 凝集試験によって  $Mn^{2+}$  の増強作用を示すと同時に、他方それらの希釈血清について正常赤血球を用いて同様に  $Mn^{2+}$  の影響を検したものである。この表から明らかなように、TE 凝集反応に対しては  $Mn^{2+}$  は高濃度域において著明な増強作用を呈したのである。ところが正常赤血球を用いた時には 1:500 希釈血清では対照管は勿論のこと  $Mn^{2+}$  を加えた全試験管においてもまた血球凝集は全く生じなかったのである。更に 1:1,000 希釈血清でもタンニン酸処置赤血球実験では  $2 \times 10^{-4} M$  以上の高濃度に  $Mn^{2+}$  を加えると著明な血球凝集が生じたのであるが、正常赤血球実験では全く陰性の結果であった。

以上の成績から  $Mn^{2+}$  によって増強あるいは誘発される血球凝集の発現には、TE 凝集反応と同様、タンニン酸処置による赤血球細胞表面のある種の変性が必要であることが確かめられた。

#### (2) 加熱血清に対する $Mn^{2+}$ 作用の検討

モルモット血清の TE 凝集活性は血清を 56°C, 30分間加熱すると容易に消失するのである<sup>3)</sup>。そこで  $Mn^{2+}$  の TE 凝集反応増強作用につ

いても血清の加熱がどのような影響を与えるかについて検した。

第6表に示した実験成績は、56°C, 30分間加熱した結核血清と非加熱の対照血清とについて、それぞれ 1:100, 1:200, 1:400 希釈液（非加熱血清の凝集反応はそれぞれ  $\text{+++}$ ,  $\text{++}$ ,  $\text{+}$ ）をつくり、各希釈血清の TE 凝集反応に対する  $Mn^{2+}$  の影響を型のごとくしらべたものである。表に明らかなように、非加熱血清実験では何れの希釈血清においても  $Mn^{2+}$  は阻止、増強の2相性作用を示し、阻止作用は血清希釈の高いほど著明であり、また増強作用は  $Mn^{2+}$  の  $10^{-4} M$  以上の高濃度で一様に  $\text{+++}$  または  $\text{++}$  の強い凝集反応を生ずる程度であった。ところが加熱血清では  $Mn^{2+}$  を加えない対照管の反応が消失したのは勿論のこと、更に  $Mn^{2+}$  を加えた全試験においても TE 凝集反応力は完全に消失していたのである。

以上の実験から  $Mn^{2+}$  によって増強（もしくは誘発）される血清の TE 凝集反応も、 $Mn^{2+}$  によって阻止的影響をうける反応と同様にきわめて易熱性であることが明らかとなった。

### 考 察

以上述べた実験成績によって  $Mn^{2+}$  がモルモット血清の TE 凝集反応に対して特異な作用を呈するものであることが実証された。 $Mn^{2+}$  作用のうち、その1は最小有効阻止濃度が  $10^{-6} M$  にも及ぶという強力な阻止作用であり、その2はおおよそ  $10^{-4} M$  付近を限界として高濃度域に現われる増強（誘発）作用である。しかも相反するこれら2つの作用が血清によって、また同じ血清でも希釈度を変えることによってある時は何れか1つの作用が単独で現われ、またある時は2つの作用がそれぞれいろいろの程度に組み合せて共に現われるといった具合にきわめて多彩な出現型を示したことはまことに興味あることである。このような  $Mn^{2+}$  の TE 凝集反応に対する阻止、増強の2相性作用に関連して想起されるのは、さきに上野<sup>1)</sup>が報告し

た2価陽イオンの作用である。すなわち上野はモルモット血清の TE 凝集反応に対する各種イオンの影響を検索して、Ca, Mg, Ba, Sr などの2価陽イオンが濃度の減少に従って最初阻止、ついで増強の2相性作用を呈することを明らかにした。しかしこれら2価陽イオンの場合にはその作用が  $10^{-2} M$  ないし  $10^{-3} M$  までの高濃度域に限られており、到底強力な  $Mn^{2+}$  作用には比べようもない。しかも Ca などの場合には血清によって、またその希釈度によって2相性作用の現われ方に変動をきたすようなことはなく、ほぼ定常の強さをもって阻止、増強作用が相ついで現われたのであって、これらの事実から Ca などの2価陽イオンの作用と  $Mn^{2+}$  作用との間には内因的に大きな差異のあることが推想される。

さてこのように個々の血清によって千変万化の様相を呈する  $Mn^{2+}$  作用の原因と意義について一考してみよう。  $Mn^{2+}$  が生体内においてある種の重要な働きをしていること、その代謝異常と疾病との関係などについては近年いろいろ論議が行なわれている<sup>4,5)</sup>。

特にリボ核酸 (RNA) の生合成に  $Mn^{2+}$  が補助因子として不可欠の役割を果していること<sup>6)</sup> や細菌の孢子形成現象に  $Mn^{2+}$  が必要であること<sup>7)</sup> などの事実は  $Mn^{2+}$  の酵素学上における重要性を明示するものである。またごく最近 Franklin & Baltimore<sup>8)</sup> は Mengovirus を感染させた哺乳動物細胞 (L細胞) から分離した RNA 合成酵素の働きが、正常大腸菌から分離された RNA 合成酵素の場合とは反対に、  $Mn^{2+}$  によって強く阻止されることを報告しているのは、著者の実証した TE 凝集反応に対する  $Mn^{2+}$  の阻止作用と思いを合わせて示唆するものがあるように考えられる。

TE 凝集反応に対する  $Mn^{2+}$  作用の意義について考える際特に指摘されることは、  $Mn^{2+}$  作用の複雑、多彩性が、第2表と第3表の実験成績を比べてもわかるように、結核感染モルモット血清において顕著な傾向を示したことである。しかしながら結核感染モルモットについて内臓器管における結核病変の程度 (肉眼的所見による) と血清における  $Mn^{2+}$  の2相性作用の出現型との関連性については、第3表の No. 44-13 モルモットに見られたように両者の間に確かに平行関係の認められたものもあつたが、また一方相関性のなかったものもあつて、著者の得た実験成績からは一義的な結論を得ることはできなかった。

ところでモルモット血清による TE 凝集反応

が血清蛋白中に存在する凝集因子 (Agglutinator) と阻止因子 (Inhibitor) の相互の力量関係によって生ずるものであることは早くに伊藤ら<sup>9)</sup> によって主唱されたところであり、その後の研究<sup>10)</sup> によって両因子の中にもそれぞれ異なったいくつかの活性蛋白分屑の存在することが次第に明らかとなつてきている。従つて  $Mn^{2+}$  作用の多様性の原因を論ずるにあつて当然予想されることは、  $Mn^{2+}$  作用と活性因子の多元性との関係である。例えば凝集因子の中にも  $Mn^{2+}$  によって容易にその作用を阻止されるものもあるだろうし、反対に増強的影響をうけるものも考えられる。同様なことは阻止因子についても考えられる。更にまた  $Mn^{2+}$  の凝集反応増強作用に関しては、十分に希釈してもはや凝集作用を呈しなくなった高希釈血清でも  $Mn^{2+}$  を加えると、しばしば著明なしかも血清の加熱によって消失するような凝集反応が生じたことから、これまで考えられていた凝集因子、阻止因子以外に血清中に第3の因子、すなわち " $Mn^{2+}$  の存在を必要とする凝集因子" を想定することも可能であろう。このように活性因子の多元性と各因子に対する  $Mn^{2+}$  作用の相違とが相まって複雑、多彩な  $Mn^{2+}$  効果を生み出したものと解される。

更に血清内の各因子の消長が血清蛋白質の病態生理学的な状態変動と深く結びついていることをも考慮するとき、著者の実験で得られた一見複雑、多彩な  $Mn^{2+}$  効果こそ実は血清蛋白質の動的な分布型を知る新しい指標ともなりうるのではなからうか。この予想を確かめるためには、今後更に分離精製された活性因子の個々について精細な  $Mn^{2+}$  作用の検索が行なわれねばならない。

## 結 論

モルモット血清の TE 凝集反応に対する  $Mn^{2+}$  の影響を検して、

1)  $Mn^{2+}$  は TE 凝集反応に対して強力な阻止作用 (最小有効阻止濃度  $=10^{-6}M$ ) を呈すると共に、  $10^{-4}M$  以上の濃度で著明な凝集反応

増強作用を示す、

2) 従つて TE 凝集反応に対する  $Mn^{2+}$  の作用はきわめて多様であつて、血清によって、また同一血清でもその希釈度によって  $Mn^{2+}$  の阻止、増強作用のうちの一つのみがあるいは両

方がいろいろの程度に組み合って現われる,

3) 結核感染モルモット血清は非感染モルモ

ット血清よりも  $Mn^{2+}$  作用の多様性が顕著である, ことが実証された.

#### 文

- 1) 上野良雄 : 金大結研年報, 22, 17, 1964.
- 2) Boyden, S. V. : J. Exp. Med., 93, 107, 1951.
- 3) Ito, R. and Akiyama, M. : Jap. J. Tuberc., 10, 102, 1962; Amer. Rev. Resp. Dis., 88, 553, 1963; Nature, 200, 791, 1963.
- 4) Cotzias, G. C. : Physiol. Rev., 38, 503, 1958.
- 5) Myers, H. M. and Hendershot, L. C. :

#### 献

- Ann. Rev. Pharmacol., 3, 307, 1963.
- 6) Hurwitz, J. and August, J. T. : Progress in Nucleic Acid Research, 1, 59, 1963.
- 7) Halvorson, H. : The Bacteria, 4, 223, 1962.
- 8) Franklin, R. M. and Baltimore, D. : Viruses, Nucleic Acids, and Cancer, p. 310, 1963.
- 9) Ito, R. : (Unpublished)





Table 2 Variable effect of manganese on TE-agglutination of normal guinea-pig serum

Guinea pig No.	Dilution of serum	Molar concentration of MnCl <sub>2</sub>													Control (without MnCl <sub>2</sub> )
		5×10 <sup>-3</sup>	2×10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	5×10 <sup>-4</sup>	2×10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	5×10 <sup>-5</sup>	2×10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-5</sup>	5×10 <sup>-6</sup>	2×10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>	5×10 <sup>-7</sup>	
54-2	1: 100	-	-	-	-	+	-	-	-	±	±	+	+	+	+
	1: 250	-	++	##	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1: 500	++	++	++	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:1000	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54-5	1: 100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+
	1: 250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1: 500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54-6	1: 100	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	##	##	##
	1: 250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+
	1: 500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Table 4 Variable effect of manganese on TE-agglutination of tuberculous guinea-pig serum

Guinea pig No.	Dilution of serum	Molar concentration of MnCl <sub>2</sub>													Control (without MnCl <sub>2</sub> )
		5×10 <sup>-3</sup>	2×10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	5×10 <sup>-4</sup>	2×10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	5×10 <sup>-5</sup>	2×10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-5</sup>	5×10 <sup>-6</sup>	2×10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>	5×10 <sup>-7</sup>	
53- 5	1: 100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+
	1: 250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	1: 500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53- 9	1: 100	-	-	-	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+
	1: 250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+
	1: 500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53-10	1: 100	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1: 250	±	+	+	+	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+
	1: 500	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:1000	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2000	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

