

# タンニン酸処置赤血球の Streptolysin S 感受性に 対する血漿の影響について

金沢大学結核研究所薬理製剤部 (主任：伊藤亮教授)

秋 山 万 里 子  
魚 住 清  
山 崎 隆 吉

(受付：昭和37年6月1日)

## 緒 言

さきに伊藤ら<sup>1)2)</sup>によつて、ある種の動物の赤血球に、穏和な条件下でタンニン酸 (TA) 処置を施すと、その Streptolysin S (St-S) 溶血に対する感受性が著しく低下すること、しかもこのようにいつたん低下した TA 処置赤血球 (以下単に TA 血球と称す) の St-S 感受性が、TA 血球を蛋白質溶液で再処理すると完全に復現することが観察報告された。この研究において、青木<sup>3)</sup>は、種々の蛋白質について TA 血球の St-S 感受性に及ぼす効果を比較検討した結果、蛋白質の種類によつておのおのの効力に著しい差異のあることを明らかにした。中でもゼラチンが最も作用が強大であり、アルブミンこれに次いでかなりの効力を示すが、グロブリン

ははなはだ微力であるという成績が得られた。

さて、このように蛋白質が TA 血球の St-S 感受性に対し特異な復活作用 (本文ではこれを単に復活作用とも呼ぶ) を有することから、当然、アルブミンやグロブリンを主要成分として含有している血漿にも、また同じような復活作用が予想される。これに加えて、諸種疾患ことに結核症の如き慢性疾患とこれら血漿蛋白の各成分分量の増減との関連性が近年にわかに注目されつつある情勢にかんがみて<sup>4)</sup>著者らはここに、主としてモルモットを用いて、健常並びに結核動物の血漿が TA 血球の St-S 感受性に対しいかなる効果を示すかを検索した。

## 実 験 方 法

タンニン酸処置赤血球の調製や溶血試験はすべて既報の方法<sup>1)2)</sup>に従つて行なわれた。

1. Streptolysin S. 使用された St-S は溶血性連鎖状球菌の 1%核酸加ブイオン培養液から岡本ら<sup>5)</sup>の方法によつて分離された精製 St-S 標品 (溶血限界濃度 =  $1:10^7 - 2 \times 10^7$ ) である。

2. 赤血球. モルモットの赤血球を用いた。採血はあらかじめヘパリン液 (1,000単位/ml) でぬらした注射筒をもつて、心臓穿刺によつて行なわれた (ヘパリンの混入は実験に影響なし)。赤血球を磷酸緩衝液加

生理的食塩水 pH 7.2-7.4 (0.85% NaCl 溶液にその  $\frac{1}{10}$  容量の 0.1M 磷酸緩衝液を加えたもので、以下単に食塩水と呼ぶ) で 4 回洗浄した後、食塩水で 50% 浮遊液として、氷水中によく冷やしておく。

3. 血漿. 供試された血漿はモルモット及びウサギのものであるが、実験は主としてモルモット血漿について行なわれた。ヘパリン加血液を遠心して血漿を分離した。

4. タンニン酸. 局方タンニン酸 10mg を食塩水 10ml に溶解したものをタンニン酸原液とし、これを

食塩水で所要濃度に希釈した。原液は毎常新調して用いた。

5. TA 血球の調製とその血漿処理。前記モルモット赤血球の50%浮遊液 0.4ml を、あらかじめ氷冷しておいたタンニン酸の 1:10,000 溶液 4ml に注加し、氷冷下で10分間放置する。ついで TA 血球を遠心分離し、これを冷食塩水で3回洗浄する。かくして得られた TA 血球を直ちに被検血漿溶液 4ml に浮遊せしめ

て、下記の各実験例に示されたように一定時間処理する。血漿処理後、血球を更に食塩水にて3回洗浄した後、最後に食塩水 20ml をもって1%赤血球浮遊液とし、これを溶血試験に供した。

6. 溶血試験。TA 血球及び対照の正常血球について、慣用の術式による St-S 溶血試験<sup>9)</sup>を行ない、それら血球についての St-S 溶血価を相互に比較することによつて各血球の St-S 感受性の強弱を判定した。

### 実験成績

第1表は TA 血球の St-S 感受性に対するモルモット血漿の影響を検した溶血実験の1例を示したものである。この実験成績では、St-S は正常血球に対して 1:10mill. 希釈液まで溶血を示したのに対し、TA 血球に対してはわずかに 1:500,000 希釈液まで溶血を呈したのであつて、TA 血球の St-S 感受性は正常血球のそれに比して実に  $\frac{1}{20}$  に低下している。しかるに、TA 血球をモルモット血漿の 1:200 希釈液をもつて室温 (17°C), 20分間処理したものである、St-S の溶血限界濃度は正常血球の場合と同等の価を示したのであつて、すなわち 1:200 希釈血漿によつていつたん低下した TA 血球の St-S 感受性が完全に復現したのである。また血漿の 1:500, 1:1,000 及び 1:2,000 希釈液をもつて処理した TA 血球に対する St-S の溶血限界濃度はそれぞれ 1:5mill., 1:2mill. 及び 1:1mill. であつて、この成績から血漿の最小有効濃度がほぼ 1:1,000 であることがわかる。

更にモルモットの性別あるいは生長度と血漿の復活作用との関係について検索したが、健常動物では個体差による血漿効力の有意な差異は認められなかつた。

第2表は TA 血球を血漿で処理する際の温度の影響を検討した実験成績である。表示の溶血試験の結果から明らかなように、室温及び 37°C における血漿処理の場合には TA 血球の St-S 感受性に対し同程度の復活効果が得られた。しかしこれらに比べて氷水中処理の場合には血漿

の復活効果はいくぶん弱かつた。

第3表は血漿の St-S 感受性復活作用の耐熱性を示した実験成績である。この結果から、血漿を 56°C, 30分間加熱してもその復活効力には全く変化がないことが確かめられた。

第4表はウサギ血漿の効果について検索した実験の1例を示したものである。この成績からウサギ血漿もまた TA 血球の St-S 感受性に対し復活作用を有していて、しかもその効力がモルモット血漿と全く同程度のものであることが明らかとなつた。

上記の実験成績から、健常動物の血漿が TA 血球の St-S 感受性に対して強力な復活作用を有すること、しかもその作用が動物の種類や個体に関係せず、比較的定常性であること等が実証されたのである。ところでこのような血漿の復活作用が血漿中の蛋白質に由来するものであることはさきの青木<sup>10)</sup>の研究から容易に推察されることである。そこで、ある種の疾患に見られる血漿蛋白分布像の変動がその復活作用にいかなる影響を与えるかがはなはだ興味ある問題となつてくる。

著者らはこの問題を結核感染モルモットについて検索した。第5表はヒト型結核菌 H<sub>2</sub> 株 0.2 mg を皮下接種して3カ月以上経過したモルモットの血漿について、その TA 血球の St-S 感受性復活作用を、正常モルモット血漿と比較した実験成績である。この実験では被検血漿の 1:100, 1:500 及び 1:2,000 希釈液で処理した各 TA

血球に対する St-S の溶血限界濃度が、結核血漿と正常血漿とでは全く同一値を示したのであつて、ここに結核モルモットの血漿の復活効力

が健常動物血漿のそれに比してなら変わるところがないことが実証されたのである。

結 論

モルモット及びウサギ血漿について、タンニン酸処置赤血球の Streptolysin S 感受性に対する血漿の影響を検索して次の結果が得られた。

1. タンニン酸処置によつて低下した血球の Streptolysin S 感受性は、血漿による再処理に

よつて容易に復活する。

2. 血漿の復活作用は 56°C, 30分間の加熱によつて不活性化されない。

3. 結核感染モルモットと健常モルモットでは、血漿の復活作用に差異がない。

Table 1  
Restoration of the streptolysin-S susceptibility of tanned erythrocytes by guinea-pig plasma

Erythrocytes		Hemolysis test												
		Time of reading (hr.)	Dilutions of streptolysin-S											
			1 : 100,000	1 : 200,000	1 : 500,000	1 : 1 mill.	1 : 2 mill.	1 : 5 mill.	1 : 10 mill.	1 : 20 mill.	1 : 50 mill.			
Treated with tannic acid (1 : 10,000) Subsequently treated with following dilutions of guinea-pig plasma at room temperature (17°C) for 20 min.	Without further plasma-treatment	2	卍	卍	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 : 10,000	2	卍	卍	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 : 5,000	2	卍	卍	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 : 2,000	2	卍	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 : 1,000	2	卍	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	卍	卍	±	-	-	-	-	-	-	-
	1 : 500	2	卍	卍	卍	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	卍	卍	+	±	-	-	-	-	-	-
	1 : 200	2	卍	卍	卍	卍	+	+	-	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	卍	卍	卍	+	+	+	-	-	-	-
Normal erythrocytes (control)		2	卍	卍	卍	卍	+	+	+	-	-	-	-	-
		24	卍	卍	卍	卍	+	+	+	±	-	-	-	-

卍 = complete hemolysis ; 卍, 卍, +, ± = partial hemolysis ; - = no hemolysis.

## 文 献

1) Ito, R. et al. : Japan. J. Pharmacol., 9, 169, 1960.  
 2) 松田雅夫 : 金大結研年報, 16 (下), 499, 1958.  
 3) 青木康三 : 金大結研年報, 17 (下), 493, 1959.  
 4) Bovornkitti, S. : Am. Rev. Resp. Dis., 85,

58, 1962.  
 5) Okamoto, H. et al. : Japan. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 14, 99, 1941.  
 6) 伊藤亮 : 日本薬物学雑誌, 28, 41, 1940.

Table 2  
 Effect of temperature on the restoring activity of plasma

Erythrocytes		Dilutions of streptolysin S									
		1 : 100,000	1 : 200,000	1 : 500,000	1 : 1 mill.	1 : 2 mill.	1 : 5 mill.	1 : 10 mill.	1 : 20 mill.	1 : 50 mill.	
Normal erythrocytes		###	###	###	###	##	+	+	±	-	
Without plasma treatment		###	###	++	+	-	-	-	-	-	
Tanned erythrocytes	Plasma-treatment at 17°C	1 : 100	###	###	###	##	+	+	±	-	
		1 : 500	###	###	###	###	++	±	-	-	
		1 : 2,000	###	###	++	+	-	-	-	-	
	Plasma-treatment at 37°C	Dilutions of plasma	1 : 100	###	###	###	###	##	+	±	-
			1 : 500	###	###	###	###	##	+	-	-
			1 : 2,000	###	###	###	##	++	-	-	-
			1 : 100	###	###	###	##	++	+	-	-
			1 : 500	###	###	##	++	±	-	-	-
			1 : 2,000	###	###	##	++	-	-	-	-

Table 3 Heat-stability of the restoring activity of plasma

Erythrocytes		Dilutions of streptolysin S									
		1 : 100,000	1 : 200,000	1 : 500,000	1 : 1 mill.	1 : 2 mill.	1 : 5 mill.	1 : 10 mill.	1 : 20 mill.	1 : 50 mill.	
Normal erythrocytes		###	###	###	###	##	+	+	±	-	
Tanned erythrocytes	Without plasma treatment	###	###	###	++	-	-	-	-	-	
	Treated with following dilutions of Heated (56°C, 30 min.) plasma	1 : 100	###	###	###	###	##	++	+	±	-
		1 : 500	###	###	###	##	++	±	-	-	-
		1 : 2,500	###	###	###	++	±	-	-	-	-
	Unheated plasma	1 : 100	###	###	###	###	##	++	+	±	-
		1 : 500	###	###	###	###	##	+	±	-	-
		1 : 2,500	###	###	###	++	+	-	-	-	-

Table 5 Comparison of the restoring activity of tuberculous and normal guinea-pig plasmas

Erythrocytes		Dilutions of streptolysin S									
		1 : 100,000	1 : 200,000	1 : 500,000	1 : 1 mill.	1 : 2 mill.	1 : 5 mill.	1 : 10 mill.	1 : 20 mill.	1 : 50 mill.	
Normal erythrocytes		###	###	###	###	##	++	+	±	-	
Tanned erythrocytes	Without plasma treatment	###	###	###	++	-	-	-	-	-	
	Treated with following dilutions of Tuberculous guinea pig plasmas of	1 : 100	###	###	###	###	##	++	+	±	-
		1 : 500	###	###	###	##	++	+	-	-	-
		1 : 2,000	###	###	###	##	++	-	-	-	-
	Normal guinea pig	1 : 100	###	###	###	###	##	++	+	±	-
		1 : 500	###	###	###	##	++	+	-	-	-
		1 : 2,000	###	###	###	##	++	-	-	-	-

Table 4  
Comparison of the restoring activity of rabbit  
and guinea-pig plasmas

Erythrocytes		Dilutions of streptolysin S												
		1 : 100,000	1 : 200,000	1 : 500,000	1 : 1 mill.	1 : 2 mill.	1 : 5 mill.	1 : 10 mill.	1 : 20 mill.	1 : 50 mill.				
Normal erythrocytes		卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-				
Tanned erythrocytes		Without plasma treatment		卅	卅	卅	+	-	-	-				
Treated with following dilutions of		Rabbit plasma		1 : 200	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-	
		Guinea-pig plasma		Rabbit plasma		1 : 1,000	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-
				Rabbit plasma		1 : 5,000	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-
				Guinea-pig plasma		1 : 200	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+
		Guinea-pig plasma		1 : 1,000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
		Guinea-pig plasma		1 : 5,000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-