

# ゼラチンのタンニン酸処置赤血球の Streptolysin S 感受性 復活作用に関する知見補遺

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  
後 藤 進  
上 野 良 雄

（受付：昭和36年1月11日）

## 緒 言

Streptolysin S (St-S) の溶血現象に関して最近伊藤等<sup>1,2)</sup>によつて、或る種の哺乳動物の赤血球をタンニン酸 (TA) で処置すると、その St-S 感受性が著しく低下する、との注目すべき新知見が報告された。続いて青木<sup>3)</sup>は、TA 処置赤血球を蛋白質で再処置すると、TA 処置によつて一旦低下した赤血球の St-S 感受性が容易に回復するという興味ある実証を行つた。しかも青木は、諸種蛋白質について検索した結果、TA 処置赤血球に対する St-S 感受性復活作用が、蛋白質の種類によつて大いにその程度を異にしており、就中ゼラチン (Gelatin) が他の蛋白質に比して遙かに強力な活性を示すことを確かめた。

処でゼラチンはコラーゲン (Collagen) の変性によつて生じた蛋白質で、化学的にはアルブミン、グロブリン等の如き一般蛋白質と甚しく性質を異にしているものであるが、ゼラチンそれ自体も化学的には決して単一純粋なものではなくて、原料、分離法、精製法等の相違によつて理化学的性状を異にした多種多様のゼラチン標品が得られている。このような事情にかんがみて著者等は、青木の知見を補遺する意味で、原料や精製度を異にした7種類のゼラチン標品について、各標品の TA 処置赤血球の St-S 感受性復活作用を仔細に比較検討した。ここにその成績を報告する。

## 実 験 方 法

実験方法はすべて既報の方式<sup>2),3)</sup>に従つて行われた。

1. Streptolysin S. 使用した St-S は溶連菌の1%核酸加ブイオン培養液から分離された<sup>4)</sup>精製 St-S 標品 (溶血限界濃度=1:2×10<sup>7</sup>) である。

2. 赤血球。健常モルモットから心臓穿刺によつて採つた血液 (ヘパリン加) を遠心し、分離した赤血球

はこれを磷酸緩衝液加生理的食塩水 pH 7.2-7.4 (以下単に食塩水と称す) で4回洗滌し、最後に食塩水を加えて50%浮游液とし氷水中にてよく冷やしておく。

3. タンニン酸。局方タンニン酸 10mg を食塩水 10 ml に溶かしたものをタンニン酸原液とした。原液は毎年新調する。

4. ゼラチン。供使したゼラチン標品は下記の7種

(外国標品3種, 国内標品4種)であつた。

a) 外国標品:

- Gelatin (Difco)  
 " (Nelson)  
 " (Fisher Co., U. S. A.)

b) 国内標品:

- ゼラチン (和光純薬)  
 市販ゼラチン (A)  
 市販ゼラチン (B): 金沢市内某畜産会社製  
 品で, 牛皮からの粗製ゼラチン。  
 ゼラチン (日本皮革会社)

5. 赤血球のタンニン酸及びゼラチンによる処置。

50%モルモット赤血球浮游液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。次いで遠心によつてTA処置赤血球を分離し, これを3回冷食塩水で洗滌する。かくして得られたTA処置赤血球を直ちに被検

ゼラチン標品の一定濃度溶液(食塩水溶液)4mlに浮游せしめ, 浮游液を37°Cに20分間解置する。解置後赤血球を3回食塩水で遠洗洗滌し, 最後にこれを食塩水20mlをもつて1%赤血球浮游液とし溶血試験に供した。尚この際, ゼラチンの代わりに食塩水を用いた対照実験を同時に行つた。

6. 溶血試験。前項において得られたゼラチン再処置赤血球, 並びにTA単独処置を行つた対照赤血球, 及び正常赤血球, の3者について, 慣用の術式<sup>9)</sup>によるSt-Sの溶血試験を行い, 溶血成績を相互に比較することによつてゼラチンのSt-S感受性復活効力を検測した。

而して溶血成績の判定に当つては, 溶血の程度を, 完全溶血卍, 不完全溶血卍, ++, +, ±, 非溶血-, として記録した。また付表の実験成績は最終溶血成績のみを示したものである。

## 実 験 成 績

第一表は供試ゼラチン7種について前章記載の方法で各標品(1:20,000—1:500,000溶液)のTA処置モルモット赤血球に対するSt-S感受性復活作用を逐一比較考査した溶血実験成績を一括提示したものである。

今ここにDifcoゼラチンを例にとつてその実験成績の要点を述べれば次の如くである。即ち正常赤血球並びにTA単独処置赤血球に対するSt-Sの溶血限界濃度は夫々1:20mill及び1:500,000であつて, TA処置による赤血球のSt-S感受性低下度はこの場合 $\frac{1}{40}$ であつた。他方TA処置赤血球をDifcoゼラチンの1:20,000溶液で再処置したものでは, そのSt-S溶血価は正常赤血球と同一価を示しているのであつて, この際ゼラチンによつて, TA処置赤血球のSt-S感受性は完全に回復したのである。またゼラチンの1:50,000, 1:100,000, 1:200,000及び1:500,000溶液で再処置した実験例では, 赤血球のSt-S溶血価は夫々1:5mill, 1:2mill, 1:2mill及び1:500,000であつて, この結果からDifcoゼラチンの最小有効濃度が略々1:200,000

であることがわかる。

更に第一表に示したその他のゼラチン標品においてもこれと全く同一の溶血成績が得られたのであつて, ここで特に注目されるのは, Fisherゼラチンの如き高度精製ゼラチンと市販の粗製ゼラチン(B)との間にSt-S感受性に関する生物学的活性において何ら異なるところがないという事実である。この様なゼラチン標品間における活性の均一恒常性はまたゼラチンの活性が, 決して標品に混在しているかも知れない夾雑物等によつて生じられたものではなくて, 蛋白自体に基因していることを明示したものである。

要するに以上の実験成績は, ゼラチンが, その原料の種類や分離精製法の如何を問わず, TA処置赤血球に対し強力なSt-S感受性復活作用を発揮する特性を有していることを実証したものである。

## 結 論

諸種ゼラチン標品について、各標品のタンニン酸処置モルモット赤血球に対する Streptolysin S 感受性復活作用を比較考査した結果、

それら標品相互の間には復活効力において何ら変わるところがないことが確かめられた。

## 文 献

- 1) Ito, R. et al. : Jap. 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：同, 17(下), 493, 1959.
- 4) Okamoto, H. et al. : Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 14, 99, 1941.
- 5) 伊藤亮：日本薬物学雑誌, 28, 41, 1940.

Table 1 Comparison of the restoration activity of various gelatin samples on the streptolysin-S susceptibility of tanned erythrocytes

Hemolysis test		Dilutions of streptolysin S								
		1:100,000	1:200,000	1:500,000	1: 1mill	1: 2mill	1: 5mill	1: 10mill	1: 20mill	1: 50mill
Red cells		###	###	###	###	###	##	++	+	-
Normal red cells		###	##	+	-	-	-	-	-	-
without gelatin treatment		###	##	+	-	-	-	-	-	-
Treated with tannic acid (1:10,000) for 10 min. in the cold and subsequently with solutions of the following gelatins for 20 min. at 37°C	Gelatin (Difco)	1: 20,000 1: 50,000 1: 100,000 1: 200,000 1: 500,000	### ### ### ### ##	### ### ### ### +	### ### ### ### +	## ## ## ## +	## ## ## ## +	## ## ## ## +	## ## ## ## +	## ## ## ## +
	Gelatin (Nelson)	1: 20,000 1: 50,000 1: 100,000 1: 200,000 1: 500,000	### ### ### ### ##	### ### ### ### ++	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +
	Gelatin (Fisher)	1: 20,000 1: 50,000 1: 100,000 1: 200,000 1: 500,000	### ### ### ### ##	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +
	Gelatin (Wako)	1: 20,000 1: 50,000 1: 100,000 1: 200,000 1: 500,000	### ### ### ### ##	### ### ### ### ++	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +
	Gelatin (commercial sample A)	1: 20,000 1: 50,000 1: 100,000 1: 200,000 1: 500,000	### ### ### ### ##	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +
Gelatin (commercial sample B)	1: 20,000 1: 50,000 1: 100,000 1: 200,000 1: 500,000	### ### ### ### ##	### ### ### ### ##	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	### ### ### ### +	
Gelatin (Nippon-Hikaku)	1: 50,000 1: 100,000 1: 200,000	### ### ##	### ### ##	### ### ##	### ### ##	## ## +	## ## +	- - -	- - -	- - -

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