

無 Catalase 血液症の研究

(第 4 編)

各種動物の各種臓器に於ける Catalase, Cytochrome
酸化酵素及び琥珀酸酸化酵素について

岡山大学医学部生化学教室 (主任: 水原舜爾教授)

大 石 哲 也

〔昭和30年4月3日受稿〕

Catalase はすべての動物、大部分の好気性微生物に広く分布し、過酸化水素を水と酸素に分解する酵素であり、動物体内では殊に赤血球と肝臓に多量に存在することはよく知られているが、又 peroxidase 様作用をあらわすことも発見されている¹⁾。

しかし所謂無 catalase 症が高原により発見されたことから、その生理的意義は深く疑われるに至つた。

無 catalase 症とは、高原²⁾により発見された人間の遺伝的 catalase 欠損体質であり、歯齦に進行性壊疽を起すものである。高原等³⁾によると、患者の口腔粘膜にも catalase が無いという。

又中村、上代等⁴⁾は患者の肝臓にも catalase は無いと報告している。

今まで人間の生存に絶対必要と思われており、しかも従来多量に存在すると認められていた血液、肝臓中に catalase が存在しないのみならず、患者は口腔疾患を除いては全々健康人と同じように生活し、生長し、かつ口腔疾患も適当な治療により治癒していることは、注目に値する事実である。

その後高原、三原等³⁾は各種動物の血液、臓器等の catalase 含有量を検査し、家鴨、鶯鳥は鶉、家兎に比べ肝臓、腎臓、小腸以外の臓器の catalase が少く、特に血液中に少いことを報告している。

そこで著者は、之等 catalase の少い動物及び人間に於ては、その catalase と cytochrome 系の間に関係があるか否かを知る目的をもつて、各種動物の各種臓

器について、catalase, cytochrome oxidase, 琥珀酸酸化酵素の活性度を比較検査した。

実験方法

実験動物は、すべて断頭、放血し、臓器を氷冷し5~10% homogenate として使用した。血液は適当に蒸溜水にて稀釈して用いた。catalase は Warburg 氏検圧装置を用いて、Fujita-Kodama 氏法⁵⁾により発生した酸素量を測定した。

Qcat. は次式より求められる。

$$Q_{cat.} = \frac{38^{\circ}\text{C} \text{ 30分間に発生した } O_2 \text{ 量 (cmm)}}{\text{乾燥量 (mg)}}$$

反応組成は、主室に緩衝液 3.0ml; 5% homogenate 0.1 ml; 又は 200 倍血液 (家鴨は 20 倍) 0.1ml; 側室に 0.31M H₂O₂ 0.1ml で 38°C 30分間の O₂ 発生量を測定した。なお緩衝液の組成は 0.154M NaCl 950ml, 0.154M NaH₂PO₄ 7.5ml, 0.11M Na₂HPO₄ 42.5ml, 0.154M NaHCO₃ 20ml である。cytochrome oxidase は、Eichel, Wainio, Person, Cooperstein⁶⁾の方法で Warburg 氏検圧装置により測定し、新鮮組織 1mg が 10分間に吸収する O₂ 量を比較した。

反応組成は主室に 0.4% cytochrome C 0.25ml; 0.01M semicarbazide-HCl 0.3ml; 0.1M Na₂HPO₄-KH₂PO₄ buffer pH 7.1 1.45ml; 10% homogenate 0.25ml; 水 0.5ml, 側室に 1.2% hydroquinone 0.25ml. 副室に 20% KOH 0.2ml で 25°C 10分間の O₂ 吸収量を測定した。

琥珀酸酸化酵素の測定は Warburg 氏検圧

法を使用し, Slater⁷⁾の方法を modify した.

即ち主室に10% homogenate 1.0ml; 0.15M pH7.4 phosphate buffer 1.0ml; 水0.5ml, 側室に 0.1M succinate 0.5ml, 副室に 20% KOH 0.2ml を加え 38°C で30分間の O₂ 吸収量を測定した.

家鴨, 犬, 健康人, 無 catalase 症患者の血液の succinic oxidase の比較には, 主室: 2倍稀釈血液 1.0ml; 0.33% cytochrome C 0.3ml; 0.15M pH 7.4 phosphate buffer 1.3ml; 側室 .0.5M succinate 0.1ml; 副室 .20% KOH 0.2ml とし, 38°C, 1時間の O₂ 吸収量を見た. なお, cytochrome C は市販製品及び牛心臓より Keilin-Hartree⁸⁾の方法により製造したものを使用した.

実 験 結 果

I) catalase 及び cytochrome oxidase は家鴨, 鶏, 二十日鼠の心臓, 肝臓, 血液, 腎臓, 小腸粘膜, 筋肉について, 同時に測定した. 結果は表1, 表2, 表3に示した. 即ち catalase は高原等³⁾の報告の如く家鴨に於ては肝臓, 腎臓, 小腸に多く, 血液には極めて少く, 鶏に比し 1/15 以下である. 二十日鼠に於ては全般に少く, ただ血液のみは家鴨の30倍以上, 鶏の約2倍の Qcat を有している.

cytochrome oxidase は家鴨, 鶏, 二十日鼠共, 心筋に活性度が高いのが注目され, その他鶏に於て, 筋肉にやゝ多く存するのが目立つ程度であり, 予想に反し catalase との反比例関係は認められなかつた.

第1表 家鴨各種臓器に於ける Catalase 及び Cytochrome oxidase 家鴨6羽平均

	心臓	肝臓	脾臓	血液	腎臓	小腸	筋肉
catalase(Qcat.)	430	7218	679	30	2855	1253	234
cytochrome oxidase	3.7	1.3	2.0	1.8	1.3	1.8	1.6

cytochrome oxidase は25° C. 10分, 新鮮組織1mg. の O₂ 吸 収量 (cmm.)

第2表 鶏各種臓器に於ける Catalase 及び Cytochrome oxidase 鶏4羽平均

	心臓	肝臓	脾臓	血液	腎臓	小腸	筋肉
catalase(Qcat.)	336	6570	676	500	2466	1404	252
cytochrome oxidase	3.7	1.8	2.6	1.9	1.8	1.5	3.5

cytochrome oxidase は25° C. 10分新鮮組織1mg. の O₂ 吸 収量 (cmm.)

第3表 二十日鼠各種臓器に於ける Catalase 及び Cytochrome oxidase 二十日鼠5頭平均

	心臓	肝臓	脾臓	血液	腎臓	小腸	筋肉
catalase(Qcat.)	23	307	63	1015	268	288	41
cytochrome oxidase	2.6	0.8	1.1	1.4	1.1	1.2	1.4

cytochrome oxidase は25° C. 10分新鮮組織1mg. の O₂吸 収量 (cmm.)

II) 琥珀酸酸化酵素: 家鴨, 鶏に於て心臓, 肝臓, 脾臓, 筋肉, 血液, 腎臓, 小腸粘膜の琥珀酸酸化酵素を測定し, その結果は表4に示した. 即ち全般的傾向として, 心臓, 肝臓, 腎臓, 小腸に比較的多く, 血液, 筋肉, 脾に少いことが認められ, 家鴨と鶏を比較すると, 心臓, 腎臓に於て後者が多く, 小腸, 肝臓に於て前者の多いことが認められるが, 表4と表1, 表2と比較するに琥珀酸酸化酵素も catalase と量的関係は認められない.

第4表 家鴨, 鶏各種臓器に於ける琥珀酸酸化酵素

10% homogenate 1.0 ml. 38° C. 30分に於ける O₂吸 収量 (cmm.)

	心臓	肝臓	脾臓	筋肉	血液	腎臓	小腸
家 鴨	27	48	11	7	5.5	55	54
鶏	86	33	15	9	3.5	83	23

次に反応液中に cytochrome C を加え, 家鴨, 犬, 健康人, 無 catalase 症患者の血液について, catalase 及び琥珀酸酸化酵素を測定した. 結果は表5の如くである. 即ち家鴨血液に於ては琥珀酸酸化酵素は, 健康人, 犬の

血液に対し、3~20倍に達しており、catalaseは健康人、犬の血液に対し、 $1/100 \sim 1/20$ という興味ある値を示している。しかしながら無catalase症患者血液に於ては、catalaseは家鴨と同様極小なる値を示しながら、琥珀酸酸化酵素は健康人の血液に対し、やゝ大なる値を示すにすぎない。

第5表 人間及び各動物血液の Catalase 及び Succinic oxidase

	健康人	無 catalase 病患者	犬	家鴨
catalase	3147	52	646	31
succinic oxidase	1.3	2.2	11.2	30.1

catalase は Qcat. succinic oxidase は 2 倍 血液 1.0 ml. 38° C. 1 時間の O₂ 吸収量 (cmm.)

cytochrome C 添加

考 案

以上の結果から catalase の少い動物又は無 catalase 症患者に於て cytochromes 系の酸化機能が高まっているという証拠は少しも存在しないことがわかる。

凡ての flavoprotein は in vitro に於て O₂

と反応して H₂O₂ を生成することが知られているが、この flavoprotein が実は Fe を含み、cytochrome C と組み合わせてよく反応するという事実が最近明らかになつて来た⁹⁾。

従つて生体内に於ては H₂O₂ が生成される如き反応は起らないのではなからうかとも考えられる。

結 論

1) 家鴨、鶏、二十日鼠の各種臓器に於ては catalase と cytochrome oxidase の含有量に一般的相反関係を認めない。

2) 家鴨と鶏の各種臓器に於ける琥珀酸酸化酵素と catalase の含有量にも一般的相反関係は認められない。

3) catalase の少い家鴨の血液は正常人及び正常犬に比し cytochrome C を加えた場合には琥珀酸酸化酵素の活性度がやゝ上昇するが、無 catalase 症患者の血液はその活性度はあまり上昇しない。

文 献

- 1) Keilin, D., and Hartree, E. F., *Biochem. J.*, **39**, 293, (1945)
- 2) Takahara, S., *Proc. Japan. Acad.*, **27**, 295 (1951)
- 3) Takahara, S., Mihara, S., Tsugawa, K., and Doi, M., *Proc. Japan. Acad.*, **28**, 383 (1952)
- 4) Nakamura, H., Yoshiya, M., Kaziro, K., and Kikuchi, G., *Proc. Japan. Acad.*, **28**, 59 (1952)
- 5) Fujita, A., u Kodama, T., *Bioch. Z.*, **232**, 20 (1931)
- 6) Eichel, B., Wainio, W. W., Person, P., and Cooperstein, S. J., *J. Biol. Chem.*, **183**, 89 (1950)
- 7) Slater, E. C., *Biochem. J.*, **45**, 1 (1949)
- 8) Keilin, D., and Hartree, E. F., *Proc. Roy. Soc. London. Series B*, **122**, 298 (1937)
- 9) Mahler, H. R., and Elowe, D. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5769 (1953)

Department of Biochemistry, Medical Faculty of Okayama University
(Directed by Prof. Dr. Shunji Mizuhara)

**Comparative Studies of Catalase, Cytochrome Oxidase, and
Succinic Dehydrogenase of some Animal Tissues.**

By

Tetsuya Oishi

The blood catalase level of ducks is known to be quite low, but no increased activity of cytochrome systems was observed in several tissues of ducks compared with the other animals.
