

アカタラセミアマウス及びヒポカタラセミアマウスの臓器中のカタラーゼの活性度及び安定度 (過ホウ素酸法による各種の温度ふ置後の測定による活性度の比較)

岡山大学公衆衛生学教室 (指導: 緒方正名教授)

鳥 取 美 男

(昭和62年9月9日受稿)

Key words: アカタラセミアマウス
ヒポカタラセミアマウス
カタラーゼ活性度
カタラーゼ安定度
カタラーゼ測定法

緒 言

アカタラセミアは1947年高原¹⁾によって初めて報告された, 血液中のカタラーゼ活性度が正常人のその約0.1%存在するにすぎない体質異常者²⁾である. アカタラセミアの半数は歯性進行性壊疽性顎炎 (高原氏病¹⁾) を有する. その後, 本症は韓国人にも存在する事³⁾が報告されている.

1961年, Aebi 等⁴⁾によって, スイス人にアカタラセミアの存在する事実が認められ, アカタラセミアの成因についての研究が行われた. 又, 近年 (1979年) Delgado 等⁵⁾により, ペルー人に日本人と同じような高原氏病を有するアカタラセミアが報告されている.

一方, Feinstein 等⁶⁻⁷⁾は1964年に放射線を照射したマウスに, アカタラセミア (Cs^bCs^b) と共に同型接合体ヒポカタラセミア (Cs^cCs^c) を見い出している. 次いで彼等は, アカタラセミアマウスと正常マウスとのかけあわせによって得られた異型接合体のヒポカタラセミアマウス (Cs^aCs^b) の血液カタラーゼの活性度が, 日本人のヒポカタラセミアの場合と同じように, その両親である正常 (Cs^aCs^a) とアカタ

ラセミア (Cs^bCs^b) の約2分の1であることを見い出している⁸⁾. Feinstein 等⁹⁾¹⁰⁾は, 又, アカタラセミアマウス及び異型接合体・ヒポカタラセミアマウスの血中カタラーゼは, 正常マウスに比べて熱や尿素に対する感受性が高いことを報告している. 一方, アカタラセミアマウス及びヒポカタラセミアマウスの血液, 臓器中のカタラーゼ活性度について, Feinstein の用いた過ホウ素酸を基質とする37℃5分間ふ置に於けるカタラーゼ活性の定量法¹¹⁾は, 本来, 反応時間中にカタラーゼの変性のある事がAebi¹²⁾によって報告されている. この点から考えて, 著者は, Feinstein 法によるすべての臓器カタラーゼ活性度の測定に於いて, 特にアカタラセミアマウスに存在する少量のカタラーゼ (残余カタラーゼ) は, 37℃5分ふ置では, 過ホウ素酸とふ置中に変性を生ずる点から20℃5分の測定法に変更することによって, 従来の測定法よりは, 高い酵素活性度を示す点に注目した. そして, この方法を用いれば, アカタラセミアマウスのすべての臓器中のカタラーゼは, 従来より高い活性度を示すであろうと考えた. 一方において, 正常マウスにおいても臓器によっては20℃測定値が37℃よりやや高くなる

か否かが問題とされた。従って、アカタラセミアマウスの血液及び肝臓、腎臓、肺臓、胃、脳、心臓の臓器中カタラーゼの測定と異型接合体ヒポカタラセミアマウスの血液及び肝臓、腎臓ならびに胃の臓器中のカタラーゼの測定を20℃及び37℃で行い、正常マウスのカタラーゼ活性度に対する比率を従来の37℃ふ置による比率に代えて、新たに20℃ふ置による比率として算出したので、その成績を報告する。

実験材料及び実験方法

[実験材料]

マウス; 5～8週齢, 体重25～35, 雄ノーマルマウス ($C_3H/AnL Cs^aCs^a$), 雄アカタラセミアマウス ($C_3H/AnL Cs^bCs^b$), ならびに雄異型接合体のヒポカタラセミアマウス ($C_3H/AnL Cs^aCs^b$) を使用した。使用した正常及びアカタラセミアマウスは米国 Oaklidge で放射線照射により作られたもので, 米国政府の許可を得て, Feinstein より供与されたものである。異型接合体ヒポカタラセミアマウスは正常マウスとアカタラセミアマウスの交配により求め得た。

薬品; 過ホウ素酸, 過マンガン酸カリウム ($KMnO_4$) は和光純薬 (東京) 製の特級を使用した。

[実験方法]

マウスの眼窩静脈より毛細管で採血し, 抗凝固剤としてヘパリンを用いた。臓器ホモジネート; 血液を採取後, マウスより臓器を取り出し, 重量を測定後, その9倍量の混液 [0.25 M-Sucrose, 4mM-Tris-HCl-Buffer (pH7.4), 0.2mM-EDTA 但し濃度は終濃度] で, テフロン, ホモゲナイザーを用いてホモジネートを作製した。

カタラーゼ活性度の測定: Feinstein の測定法¹²⁾を一部修正して行った。即ち1.5%過ホウ素酸塩 [Perborate. $NaBO_3 \cdot 4H_2O$, (即ち $NaBO_2 \cdot H_2O_2 \cdot 3H_2O$)] に濃HClを加えてpH 6.8に調整したものを3.2mlに0.6mlの1/15M sodium phosphate buffer (pH 6.8)を加えたものを基質とし, 0.2mlの酵素液を加えた。この混液を20℃及び37℃で溶血液と肝ホモジネー

トを30秒, 1分, 2分30秒, 及び5分間その他の臓器ホモジネートは5分間各々ふ置して過ホウ素酸と反応させた後, 2N H_2SO_4 と30%の三塩化酢酸の(3:1)混液の4.0mlを加えて反応を停止させた。そして残存する過ホウ素酸量を0.05N- $KMnO_4$ で滴定した。

酵素液として, 正常マウスの場合は250倍稀釈の溶血液を使用し, 又アカタラセミアマウスの場合は10倍稀釈の溶血液を共に上述のごとく0.2mlで使用した。その際正常マウスはアカタラセミアマウスの1～5倍に希釈して基質を加えた後に測定を行った。

血液ならびに各臓器(脳, 心臓, 肺臓, 肝臓, 腎臓ならびに胃)のホモジネート中のカタラーゼの比活性度の算出は分解された $NaBO_3$ のmg当量をPerborate Unit (PU)と決め, 血液はPU/gHbで示し, 臓器はPU/g・湿重量でそれぞれ示した。

ヘモグロビンの定量; Van Kampen-Zijlstra 液(シアンメトコンク; 武藤化学薬品株式会社製)を用い生成したメトヘモグロビン濃度を分光光度計(日立製139型UV-VIS)を用いてAcuglobinを標準液として, 540nmで測定した。

実験結果

1. 溶血液のふ置時間ともなうカタラーゼ活性度;

①正常マウス溶血液; Fig1-Aに示すごとく37℃及び20℃で測定した場合のカタラーゼ比活性度では, 37℃の測定成績が20℃のそれよりやや高い傾向にあった。

②アカタラセミアマウス溶血液; Fig1-Bに示すごとく, 20℃にふ置した場合の比活性度は37℃のそれに比較して, 30秒以後は明らかに高かった。即ち37℃に於いて, 30秒ふ置以後では, カタラーゼの比活性度はあまり増大せず, カタラーゼの非動化が生じていた。これに対し, 20℃ふ置では30秒以後も時間ともなう, カタラーゼの比活性度は明らかな増加を示した。従って, 正常マウスならびアカタラセミアマウス溶血液の比活性度の差異は, ふ置時間と共に増大し, その結果アカタラセミアマウスでは

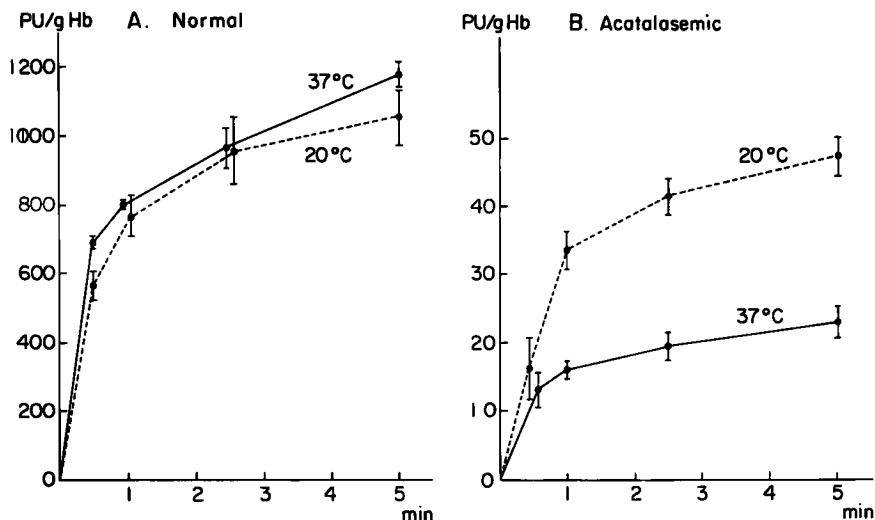


Fig 1. Catalase activity in hemolysate of normal and acatalasemic mice measured at 20°C and 37°C.

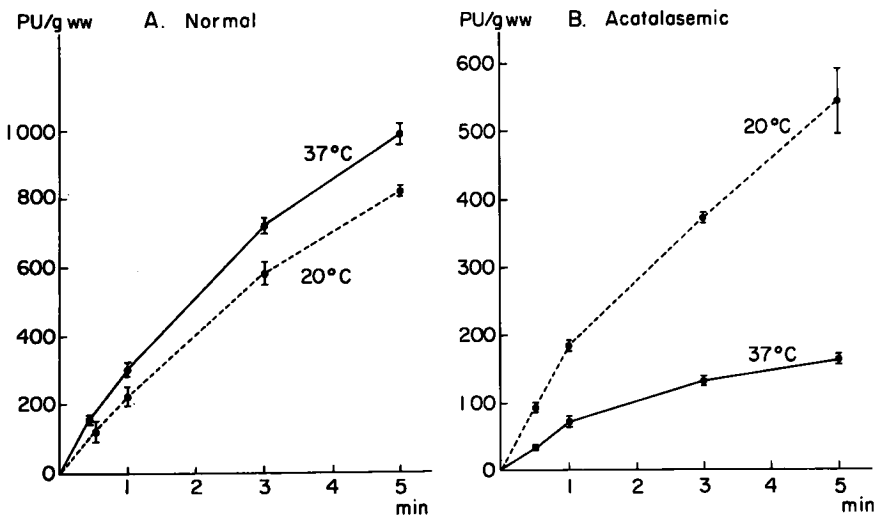


Fig 2. Catalase activity in liver homogenate of normal and acatalasemic mice measured at 20°C and 37°C.

37°Cふ置後の測定法よりも20°Cふ置のそのの方が比活性度の高いことが認められた。

2. 肝ホモジネートのふ置時間ともなうカタラーゼ活性度;

①正常マウス肝ホモジネート; 正常溶血液とほぼ同様の成績であった。そしていずれのふ置時間においても、37°Cふ置後の比活性度は20°C

ふ置後のそれよりもやや高かった (Fig2-A)。

②アカタラセミアマウス肝ホモジネート; 20°Cにふ置した場合のカタラーゼの比活性度はふ置30秒以後は明らかに時間と共に増加した。一方37°Cでは、ふ置30秒以後はカタラーゼの比活性度が、あまり増大せずアカタラセミアマウスの溶血液の場合と同様に、カタラーゼの非動化の

Table-1. Catalase activity in the blood and the solid organs of normal, heterozygous hypocalasemic and acatalasemic mice with male sex measured by Perborate unit after incubation at 20°C and 37°C.

		Nor.	Act.	Hypocat.(hetero)
liver ^{a)} (Pu/g)	37°C	996.0 ± 32.0	163.5 ± 6.4	614.9 ± 75.1
	20°C	824.0 ± 12.0	541.0 ± 65.0	783.4 ± 2.0
kidneys ^{b)} (Pu/g)	37°C	457.0 ± 4.2	51.7 ± 10.0	150.0 ± 17.7
	20°C	589.0 ± 10.0	91.7 ± 4.2	215.8 ± 26.5
lungs ^{b)} (Pu/g)	37°C	36.6 ± 2.3	14.5 ± 3.2	
	20°C	38.6 ± 0.9	27.0 ± 2.7	
stomach ^{a)} (Pu/g)	37°C	30.5 ± 3.2	5.0 ± 1.5	8.9 ± 2.6
	20°C	30.3 ± 3.1	10.2 ± 1.7	13.6 ± 2.9
brain ^{b)} (Pu/g)	37°C	5.0 ± 0.3	1.4 ± 0.1	
	20°C	6.0 ± 0.9	1.8 ± 0.1	
heart ^{a)} (Pu/g)	37°C	45.1 ± 7.5	9.1 ± 2.5	
	20°C	44.3 ± 25.6	14.1 ± 1.6	
blood ^{a)} (Pu/ml)	37°C	144.6 ± 10.3	2.8 ± 0.3	58.4 ± 8.7
	20°C	129.6 ± 14.1	5.8 ± 0.3	63.4 ± 4.8
blood ^{a)} (Pu/gHb)	37°C	1143.7 ± 67.1	23.4 ± 2.1	517.1 ± 36.4
	20°C	1096.1 ± 94.4	47.9 ± 2.8	559.4 ± 27.6

normal male mice C₃H/AnL C_s^aC_s^a

acatalasemic male mice C₃H/AnL C_s^bC_s^b

heterozygous hypocalasemic male mice C₃H/AnL C_s^aC_s^b

a) A Group ; Cat Act at 37°C > Act at 20°C

b) B Group ; Cat Act at 37°C < Act at 20°C

傾向を認めた (Fig2-B).

これらの成績を総括して、アカタラセミアの残余カタラーゼは、過ホウ素酸と37°Cでふ置中に正常マウスのカタラーゼよりも変性しやすいことが認められた。従って、血液及び臓器中のカタラーゼ活性度は、37°Cでふ置後測定することより20°Cふ置後で測定する必要があると結論された。

3. 正常マウスにおける各種臓器中のカタラーゼ活性度；

脳、心臓、肺臓、肝臓、ならびに胃ホモジネー

トのカタラーゼ活性度を37°C及び20°Cで測定し、比較検討を行った。その結果 [Table-1] に示されるごとき成績を得た。即ち、血液、肝臓、胃ならびに心臓 (A群臓器) においては、37°Cでふ置した方が20°Cでのそれよりもカタラーゼ活性度は高く、また腎臓、脳ならびに肺臓 (B群臓器) においては20°Cふ置の方が37°Cでのそれよりも高く、臓器別では、腎臓では中等度に高く、脳ならびに肝臓は、やや高い活性度を示した。

4. アカタラセミアマウスにおける各種臓器中

Table-2. Results of (t) test of difference in catalase activities measured by 37°C and those 20°C. (n=4)

		Nor.		Act.		Hypcat(hetero)
liver (Pu/g)	37°C	996.0 ± 32.0 *	}	163.5 ± 6.4 *	}	614.9 ± 75.1 *
	20°C	824.0 ± 12.0 (W)		541.0 ± 65.0 (W)		783.4 ± 2.0 (W)
kidneys (Pu/g)	37°C	457.0 ± 4.2 *	}	51.7 ± 10.0 *	}	150.0 ± 17.7 *
	20°C	589.0 ± 10.0 *		91.5 ± 4.2 *		215.8 ± 26.5 *
lungs (Pu/g)	37°C	36.6 ± 2.3 (-)	}	14.5 ± 3.2 *	}	
	20°C	38.6 ± 0.9 (W)		27.0 ± 2.7 *		
stomach (Pu/g)	37°C	30.5 ± 3.2	}	5.0 ± 1.5 *	}	8.9 ± 2.6 *
	20°C	30.3 ± 3.1		10.2 ± 1.7 *		13.6 ± 2.9 *
brain (Pu/g)	37°C	5.0 ± 0.3 (-)	}	1.4 ± 0.2 *	}	
	20°C	6.0 ± 0.9 (W)		1.8 ± 0.1 *		
heart (Pu/g)	37°C	45.1 ± 7.5	}	9.1 ± 2.5 *	}	
	20°C	44.3 ± 25.6		14.1 ± 1.6 *		
blood (Pu/ml)	37°C	139.9 ± 15.9	}	2.8 ± 0.3 *	}	58.4 ± 8.7
	20°C	133.9 ± 16.2		5.8 ± 0.3 *		63.4 ± 4.8
blood (Pu/gHb)	37°C	1143.7 ± 67.1	}	23.4 ± 2.1 *	}	517.1 ± 36.4
	20°C	1096.1 ± 94.4		47.9 ± 2.8 *		559.4 ± 27.6

* = P<0.05, ** = P<0.01, [W ; Welch の検定] F検定により両群の標準偏差

のカタラーゼ活性度；

脳、心臓、肺臓、肝臓、腎臓、ならびに胃ホモジネートのカタラーゼ活性度を37°C及び20°Cで測定して比較検討を行った (Table-1)。その結果2種の温度による測定値において、脳、心臓、肺臓、肝臓、腎臓、ならびに胃のすべての臓器において、20°Cの測定成績は37°Cのそれよりも明らかに高かった (Table-1)。

そして20°Cと37°Cの測定値の差異について統計的な検討を行った成績では、アカタラセミアウスでは、20°Cの測定値が37°Cのそれより有意に高い (p < 0.01) ことが認められた

(Table-2)。

以上を総括した結果、アカタラセミアウスカタラーゼの20°Cの測定値の方が37°Cのそれに比べて真のカタラーゼ活性度に近いことが推定された。

5. 各種臓器中のカタラーゼ活性度のアカタラセミアウスと正常マウスの比；

前項の成績を用いて、アカタラセミアウスの各臓器と正常マウスの対応する臓器との比を37°C及び20°Cで測定した。その前者では従来の37°Cの活性度に比べて、20°Cで測定した活性度がいずれも高い値が得られた (Table-3)。

Table-3. Ratio of catalase activity in the blood and the solid organs of normal, heterozygous hypocatalasemic and acatalasemic mice with male sex which are measured by perborate method after incubated at 20°C and at 37°C for 5 minutes.

		Nor.		Act.		Hypocat.(hetero)	
		(%)	20/37(°C)	(%) *	20/37(°C)	(%)	20/37(°C)
liver (Pu/g)	37°C	100	0.83	16.4 ± 0.6	3.30	61.7 ± 0.2	1.27
	20°C	100		65.7 ± 7.9		95.0 ± 9.1	
kidneys (Pu/g)	37°C	100	1.29	11.3 ± 0.2	1.78	32.8 ± 3.9	1.44
	20°C	100		15.6 ± 0.7		36.6 ± 4.5	
lungs (Pu/g)	37°C	100	1.05	39.6 ± 8.7	1.86	/	
	20°C	100		69.9 ± 7.0			
stomach (Pu/g)	37°C	100	0.99	16.4 ± 4.9	2.04	29.2 ± 8.5	1.70
	20°C	100		33.7 ± 5.6		44.9 ± 9.6	
brain (Pu/g)	37°C	100	1.20	28.0 ± 4.0	1.29	/	
	20°C	100		30.0 ± 1.6			
heart (Pu/g)	37°C	100	0.99	20.2 ± 5.5	1.55	/	
	20°C	100		31.8 ± 3.6			
blood (Pu/ml)	37°C	100	0.90	2.0 ± 0.2	2.07	41.7 ± 6.2	1.09
	20°C	100		4.3 ± 0.2		47.3 ± 3.6	
blood (Pu/Hbg)	37°C	100	0.90	2.0 ± 0.2	2.07	45.2 ± 3.2	1.09
	20°C	100		4.4 ± 0.3		51.0 ± 2.5	

即ち、20°Cの測定による活性度比は、37°Cの測定による活性度比よりも、真のカタラーゼ活性度の比に近い値を示していると考えられる。個々の組織について調べてみると、アカタラセミアマウスの血液カタラーゼの正常マウスのそれに対する比率は、37°Cでは2.0%、20°Cでは4.3%である。又肝臓における比率は、37°Cでは16.4%、20°Cでは65.7%を示した。そして20°Cにおいて、測定した臓器中のカタラーゼ活性度のアカタラセミアマウスと正常マウスとの比は、上述の臓器の他に、腎臓における比率では、15.6%、肺臓においては69.9%、胃においては33.7%、脳においては30.0%ならびに心臓にお

いては31.8%を示した。

6. ヒポカタラセミアマウスの血液及び各種臓器のカタラーゼ活性度ならびに正常マウスとの比；

ヒポカタラセミアマウスの血液及び臓器ホモジネートのカタラーゼ活性度を37°C及び20°Cで測定した。

その結果、正常マウスの2種の温度による測定値では、血液及び肝臓、胃においては37°Cふ置の測定では、20°Cのそれよりも高く、腎臓では20°Cふ置測定の方が高かった。一方ヒポカタラセミアマウスにおいては、血液及び肝臓、腎臓ならびに胃においては、20°Cの測定値が37°C

のそれよりもやや高いことが認められた (Table-1). そして統計学的にも20℃の測定値が37℃のそれよりも有意に高い ($p < 0.05$) ことが認められた (Table-2). 又、腎臓では、20℃と37℃の比は、正常マウスよりヒポカタラセミアウスの方がやや高かった。

そして、20℃、37℃のいずれのふ置温度における測定値も、各々の温度において正常マウスの測定値とアカタラセミアウスの測定値の中間を示した (Table-1).

そしてヒポカタラセミアウスの20℃ふ置の測定値の正常マウスのそれとの比率は、血液では47.3%、肝臓では95.0%、腎臓では36.6%ならびに胃では44.9%を示した (Table-3).

ヒポカタラセミアウスの固体数が、比較的限られていたので正確を期して本論文では、肝臓、腎臓、胃ならび血液のみを対象としての測定値を記入した。

考 察

無カタラーゼ血症マウス (アカタラセミアウス) を用いて、カタラーゼ活性の低い生体の環境への感受性やカタラーゼの生理的意義を明らかにする私共による一連の研究が行われている。特にアカタラセミアウスには、血中メトヘモグロビン濃度の高い事実¹³⁾が認められ、また金属水銀をアカタラセミアウスに暴露した際に、未酸化の金属水銀が動脈血液中に残留し、脳、肝臓、胎児に蓄積する傾向の強いことが¹⁴⁾認められた。

これらの事実を、カタラーゼ活性度との量・影響関係より明らかにするためには、アカタラセミアウスの臓器中カタラーゼの活性度をより正確にする必要が認められた。本研究は、この目的のために設定されたものである。

アカタラセミアウスのカタラーゼ活性度は、種々の変性剤 (尿素、塩酸グアニジン、SDS、LIS等) に対する耐性が正常マウスのそれより低いことが報告されている⁹⁾¹⁰⁾。この事実は、アカタラセミアウスのカタラーゼは正常マウスのカタラーゼよりもサブユニットに解離しやすい性質をもっていることを示唆している。更に、アカタラセミアウスのカタラーゼは、正

常のそれよりも熱に対する耐性が低い点から、従来の37℃ 5分間ふ置後の定量では、過ホウ素酸とのふ置中に過ホウ素酸による活性の低下¹²⁾が推定される。そして本実験では、アカタラセミアウスの血液、肝臓、腎臓のみならず、すべての臓器中のカタラーゼは、このような性質をもっていることが認められた。更にこの点に注目して20℃ふ置法を用いてアカタラセミアウスの臓器中のカタラーゼの活性度と正常マウスのカタラーゼ活性度に対する真の比率を新たに算出した (Table-3)。その値は脳では30.0%、心臓では31.8%、肺臓では69.9%、肝臓では65.7%、腎臓では15.6%、胃では33.7%を示した。尚、正常血液カタラーゼについて Aebi ら¹²⁾は、20℃の測定値が37℃よりもわずかに高く、我々の成績では、37℃の測定値が20℃のそれよりもわずかに高いことが認められたが、この差は材料、及び測定誤差の範囲内と考えられる。

一方において、カタラーゼ活性度の測定としては、過ホウ素酸において、37℃における短時間ふ置の測定値を用いる可能性もある。即ち、37℃ 1分間の血液及び肝臓の測定値では (アカタラセミアウス/正常マウス) 比より20℃ 5分間の (アカタラセミアウス/正常マウス) 比が、ほぼ等しいかやや高かった。しかしながら、1分間ふ置後の測定法はふ置時間を正確に計測するのが、やや困難であった。従って、本法にくらべて多数の試料を用いる実験では、5分間ふ置の測定方法はふ置時間に対する誤差が少ないので、20℃ 5分間のふ置法を使用した。

過酸化水素による37℃の測定法¹⁵⁾との比較については以下の如く考えられる。1分間以内のカタラーゼによる過酸化水素の消費量を一次反応として反応常数 (Cat · k) で求めた成績では、本法によってアカタラセミアウスの血液を除く臓器ホモジネートと正常マウスの対応する臓器ホモジネートとの比率は、今回の実験による20℃で測定した過ホウ素酸による活性度より求めていたカタラーゼ活性の比率と、ほぼ等しいかやや高かった。しかしながら溶血液のカタラーゼ活性度の測定に際しては、共存するヘモグロビンの影響が問題となる。即ち、

Keilin 等¹⁶⁾によれば、高濃度の過酸化水素では、ヘモグロビンをメトヘモグロビンに変化させる。そして生成したメトヘモグロビンは、カタラーゼ様活性により過酸化水素を消費する。その際のメトヘモグロビンの Michaelis 定数に対応する過酸化水素の濃度はカタラーゼのそれより高いという緒方らの報告¹⁷⁾がある。従って、過ホウ素酸より、徐々に解離される低濃度の過酸化水素に基づくヘモグロビンの、酸化後のメトヘモグロビンによる非特異性の過酸化水素分解反応は、より高い過酸化水素濃度を基質とする過酸化水素法¹⁵⁾より、比較的少ない値を示すと考えられる。

従って、アカタラセミアマウス血液中のカタラーゼの活性度の測定には、過ホウ素酸を基質とした方が、より正確と考えられる。この点に関して、ヘモグロビン標品による実験（湯浅及び緒方との Personal communication）では、過ホウ素酸を基質とする方が過酸化水素を基質とする場合より、共存するメトヘモグロビンに基づく非酵素的反応が、より低いことがほぼ認められている。詳細は今後これらの共同研究者と共に、さらに研究を進める予定である。

異型接合体・ヒポカタラセミアマウスのカタラーゼ活性度について（20℃ふ置後測定値/37℃ふ置後測定値）の活性度比が正常マウスの活性度比とアカタラセミアマウスの活性度比の中間を示した。この成績は、又、熱等に対する性質が正常カタラーゼとアカタラセミアカタラーゼの中間を示すと推定される。これらのことを更に明らかにするには、Aebi等がスイスのアカタラセミアで行った様に、正常マウス及びアカタラセミアマウスのカタラーゼについて hybrid 生成実験を行い、このようにして生成した両種カタラーゼの hybrid と異型接合体ヒポカタラセミアのカタラーゼとの等電点を比較することが必要であると考えられる。この点に関しては、今後共同研究者と共に検討を進めたいと考えている。

結 論

正常マウス及びアカタラセミアマウス及び異型接合体ヒポカタラセミアマウスの溶血液中及

び臓器ホモジネート中のカタラーゼ活性度を過ホウ素酸を基質として各種の温度でふ置後測定し、以下の成績を得た。

1) 正常溶血液及び肝ホモジネートでは、37℃及び20℃で測定した場合のカタラーゼ活性度は、37℃のそれが20℃のそれよりやや高い傾向にあった。これに対しアカタラセミアマウスの血液ならびに肝ホモジネートでは、ふ置時間30秒以後においては、20℃にふ置した場合のカタラーゼ活性度は、37℃のそれよりも明らかに高く、その差異はふ置時間とともに大きくなった。それゆえ、アカタラセミアの残余カタラーゼは過ホウ素酸と20℃でふ置した場合よりも、37℃でふ置した方が変性し易いことが推定された。

2) 20℃と37℃でふ置したアカタラセミアマウスの臓器中のカタラーゼの活性度の比（20℃ふ置の測定値/37℃ふ置の測定値）は、1.29倍から3.30倍の範囲であり、前者の活性度は後者のそれより統計的に有意に高かった。

3) 従来、アカタラセミアマウスと正常マウスの臓器カタラーゼ活性度の比率は、37℃測定値で行われていた。今回、アカタラセミアマウスについて20℃ふ置後の測定による活性度と正常マウスの20℃ふ置後の測定値に対する活性度に対する比率は、真のカタラーゼ活性度比に近いと考えられる。この値は、従来37℃測定値による比率より明らかに高く、血液では4.3%、脳では30.0%、心臓では31.8%、肺臓では69.9%、肝臓では65.7%、腎臓では15.6%、胃では33.7%を示した。

4) 20℃でふ置した異型接合体ヒポカタラセミアマウスの血液及び臓器中のカタラーゼ活性度と、37℃でふ置したカタラーゼ活性度との比は、1.09倍から1.70倍の範囲であった。このヒポカタラセミアマウスの各臓器の活性値の比は、2種の温度のふ置における正常マウスとアカタラセミアマウスの活性度比の中間を示した。

そしてヒポカタラセミアマウスの20℃ふ置後に測定した活性度と正常マウスの20℃ふ置後の活性度との比率は、真のカタラーゼ活性度による比に近いと考えられる。この正常マウスに対する比率は、血液では47.3%、肝臓では95.0%、腎臓では36.6%、胃では44.9%を示した。

稿を終えるにあたり、絶えず御指導、御校閲い 教授に深謝致します。
いただいた岡山大学医学部公衆衛生学教室緒方正名

文 献

1. Takahara S : Progressive oral gangrene probably due to lack of catalase in the blood (Acatlasemia) Report of nine cases. *Lanset* (1952) 2, 2.
2. Ogata M, Sadamoto M and Takahara S : On the minimal catalatic activity in Japanese acatalasemic blood. *Proc Jpn Acad* (1966) 42, 828-832.
3. 矢田清次 : 稀有なる無カタラーゼ血液症の一症例. *日歯評論* (1959) 204, 7-10.
4. Aebie H, Heiniger JP, Butler R and Hassig A : Two cases of acatalasemia in Switzerland. *Experimentia* (1961) 17, 466.
5. Delgado AW and Calderon R : Acatalasemia in two peruvian siblings. *J Oral pathol* (1979) 8, 358-368.
6. Feinstein RN, Seaholm JE, Howard JB and Russell WL : Acatalasemic mice. *Proc Natl Acad Sci Wash* (1964) 52, 661-662.
7. Feinstein RN, Howard JB, Braum JT and Seaholm JE : Acatalasemic and hypocatalasemic mouse mutants. *Genetics* (1966) 53, 923-933.
8. Feinstein RN, Braum JT and Howard JB : Nature of the heterozygote blood catalase in a hypocatalasemic mouse mutants. *Biochem Genet* (1968) 1, 277-285.
9. Feinstein RN, Braum JT and Howard JB : Acatalasemic and hypocatalasemic mouse mutants II. Mutational variations in blood and solid tissue catalases. *Arch Biochem Biophys* (1967) 120, 165-169.
10. Feinstein RN, Howard JB and Savol R : Heat and urea stability of blood catalase of catalase mutant mouse strains. *Experimentia* (1971) 27, 1152-1153.
11. Feinstein RN : Perborate as substrate in a new assay of catalase. *J Biol Chem* (1949) 180, 1197-1202.
12. Aebie H, Suter H and Feinstein RN : Activity and stability of catalase in blood and tissues of normal and acatalasemic mice. *Biochemical Genetics* (1968) 2, 245-251.
13. 小林弘治 : 変異マウス血液中のカタラーゼ活性度とメトヘモグロビン濃度の関係. *岡山医学会雑誌* (1987) 99, 389-401.
14. Ogata M, Matsuda A, Meguro T and Aikoh H : Metallic mercury in the arterial blood of normal and acatalasemic mice exposed to metallic mercury vapor. *Physiol Chem Phys* (1987) (in press).
15. Takahara S, Hamilton HB, Neel JV, Kobara TV, Ogura V and Nishimura ET : Hypocatalasemia, A new genetic carrier state. *J Clin Invest* (1960) 39, 610-619.
16. Keilin D and Hatree EF : Reaction of methemoglobin and catalase with peroxides and hydrogen donors. *Nature* (1954) 173, 720-723.
17. Ogata M, Tomokuni K, Watanabe S, Osaki H, Sadamoto M and Takahara S; Residual catalase in the blood of Japanese acatalasemia *Tohoku J Exp Med* (1972) 107,105-114.
18. Aebi H, Wrsz SR and Scherz B; Unstable mutants ad molecular hybrids in enzyme deficiency conditions. *Acta Biol Med Ger* (1977) 36, 735-741.

Activity and stability of catalase in the organs of acatalasemic mice—Comparison of activities at different incubating temperatures by the perborate method.

Yoshio TOTTORI

Department of Public Health, Okayama University Medical School,

2-5-1 Shikata-cho, Okayama, Japan.

(Director: Prof. M, Ogata)

Catalase activities in the organs of normal, acatalasemic and heterozygous-hypocatalasemic mice were determined after the tissues were incubated with perborate at different temperatures.

Catalase activity in the normal mouse hemolysate and liver homogenate measured after being incubated with perborate at 20°C for 5 min. was slightly lower than that measured at 37°C. In contrast, residual catalase activity in acatalasemic mouse hemolysate and liver homogenate measured at 20°C for 5 min. was markedly higher than that measured at 37°C, suggesting that residual catalase in the acatalasemic mouse blood and liver is inactivated during incubation with perborate at 37°C for 5 min.

Catalase activity in the blood and solid tissues of acatalasemic mice measured at 20°C was 1.29 to 3.30 times as high as that measured at 37°C.

The ratio of catalase activity in the blood and solid tissues of acatalasemic mice to that in normal mouse tissues incubated with perborate at 20°C for 5 min. was calculated to be 4.3% in blood, 65.7% in liver, 15.6% in kidneys, 69.9% in lungs, 33.7% in stomach, 30.0% in brain and 31.8% in heart.

Catalase activity in the blood and solid tissues in heterozygous hypocatalasemic mice measured at 20°C was 1.09 to 1.70 times as high as that measured at 37°C. This ratio of catalase activity in the heterozygous hypocatalasemic mouse tissue incubated at 20°C to the activity of tissue incubated at 37°C is between the ratio of normal mice and that of acatalasemic mice. The ratio of catalase activity in the blood and solid tissues of heterozygous hypocatalasemic mice to the activity in the corresponding organs of normal mice measured at 20°C for 5 min. was calculated to be 47.3% in blood, 95.0% in liver, 36.6% in kidneys, and 44.9% in stomach.