

Title	X線の蛋白質に及ぼす影響(第1報)血清蛋白質の電気泳動的な研究
Author(s)	若林, 勝; 河村, 文夫
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1952, 11(9), p. 31-35
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/17623">https://hdl.handle.net/11094/17623</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## X線の蛋白質に及ぼす影響(第1報)

## 血清蛋白質の電気泳動的研究

(北海道大學醫學部放射線醫學教室)

若 林 勝

河 村 文 夫

(昭和26年10月25日受付)

## 緒 言

近時物理數學者によつて<sup>1)</sup>, 放射線の生物に對する作用についての實驗結果に, 或る程度の理論的解明が與えられた. 特にバイラス等については美事な學說<sup>2)3)4)5)</sup> がうちたてられている. 我々はこのバイラス等についての理論が, 血清蛋白質などにも擴張しうるか否かを確めんとして本實驗を企てた.

即ち血清蛋白質などにX線を照射し, これによつて起る變化を, 他の放射線や加熱處理を加えたものと比較検討し, 更にその際の變化を物理化學的に檢索し, その結果について理論的検討を加えんとするものである.

本編においては, 血清蛋白質の各種放射線による電気泳動的變化について檢索した結果を報告する.

## 實驗方法

人血を採血後, 血清を分離して實驗材料とした. この血清を3倍量の磷酸緩衝液(pH 7.8, イオン強度0.19)を以て稀釋し, セロハン袋に入れ同じ緩衝液の大量中において透析する. 之を24時間行い, 更に外側緩衝液をとりかえて24時間透析する. かくして得た稀釋血清を遠心沈澱し, 透明なる上清について實驗した.

即ちこの試料の一部を對照とし, 他方に各處理を加えそれぞれの電気泳動圖を撮つた. 尙境界形成用緩衝液は第2回目の透析に使用せるものを用いた. 電気泳動はdiagonalschlieren法を使用せるHTA型日立ゼリウス装置<sup>6)</sup>によつた.

泳動温度は4~5°C. 電壓勾配4~5volt/cm程度で, 泳動時間は90~120分であつた. 泳動圖は光

學的に寫眞乾板に撮影した. 各分層の面積は4倍に引きのばし, プラナーターにより測定し, 全面積に對する各分層の面積の割合より, 各組成を算出した.

## 實驗成績

1. X線による影響 X線照射條件はシーメンス製スタビリボルト装置により, 90 Kvp, 4 mA, 1 m mアルミ濾過, 焦點被照射體距離5cm, 線強度1650 r/min, 線量は10<sup>5</sup>r, 10<sup>4</sup>r, 10<sup>3</sup>rの三種とした. 照射にさいし試料は硬パラフィン容器中に密封し, 水分蒸發及び温度上昇を防止して照射した. 尙照射により試料には溷濁, 沈澱形成は認められなかつた. 實驗結果は圖表に示す如くであつた.

第 1 表

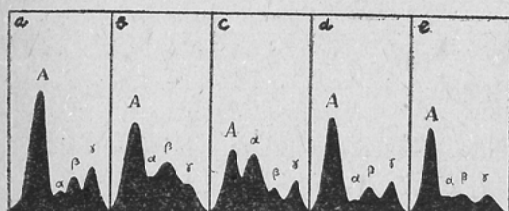
	分層組成(%)				備考
	A	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
對照人血清 A	57.0	7.5	12.4	23.1	A
X線 10 <sup>5</sup> r 照射	58.5	7.4	12.8	21.3	A
X線 10 <sup>4</sup> r 照射	57.5	9.4	16.0	17.0	A
X線 10 <sup>3</sup> r 照射	50.0	7.5	33.4	8.0	A

對照例では, 各分層の組成はアルブミン57.0%, グロブリンの $\alpha$ 分層は7.5%,  $\beta$ 分層は12.4%,  $\gamma$ 分層は23.1%であつた. 之は大體正常人血清の値<sup>6)</sup>と一致していた.

次にX線照射による影響を見るに, 第1表, 第1圖, 第2圖に示す如くであつた. 即ち組成について見るに, アルブミン分層では線量10<sup>5</sup>r, 10<sup>4</sup>rでは照射による影響は殆んど認められないが, 10<sup>3</sup>rでは多少の減少を示している. グロブリンにおいては $\alpha$ 分層には殆んど影響を認めない.  $\beta$ 分層では10<sup>5</sup>rでは變化なきも, 10<sup>4</sup>rでは明かな増加(+

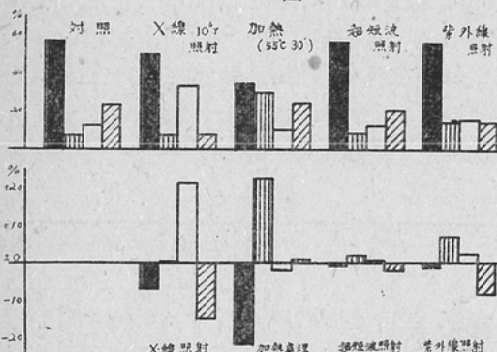
36%)を示し、 $10^6r$ では著しい増加(+110%)を示していた。 $r$ 分層では $10^5r$ では殆んど變化なく、 $10^{5.5}r$ では明かな減少(-36%)を示し、 $10^6r$ では著しい減少(-65%)を示した。

第 1 圖



a: 對照人血清(Asc)      A: アルブミン分層  
 b: X線  $10^6r$  照射       $\alpha$ :  $\alpha$ グロブリン分層  
 c:  $56^\circ C$ , 30分加熱       $\beta$ :  $\beta$ グロブリン分層  
 d: 超短波大量照射       $\gamma$ :  $\gamma$ グロブリン分層  
 e: 紫外線照射  
 人血清4倍稀釋 pH7.80, イオン強度0.19磷酸緩衝液15mA, 120分

第 2 圖



各分層組成並に増減率表

黒: アルブミン分層      縦線:  $\alpha$ グロブリン分層  
 白:  $\beta$ グロブリン分層      斜線:  $\gamma$ グロブリン分層

各分層の移動度について見るに、増加部分の易動度はほぼ $\beta$ グロブリンに近く、他は對照と差を認めなかつた。又泳動圖を見るに、一般に照射例において各峰の平滑化の傾向が明かに認められた。

即ち人血清蛋白質はX線照射により各峰が平滑化し、組成上では、 $\gamma$ 分層の著明なる減少と、 $\beta$ 分層部の著しい増加を來すものである。この變化の度は $10^6r$ より $10^5r$ の間では線量増加に伴つて増大する。尙組上増加した部分の易動度はほぼ $\beta$ グロ

ブリンに近い値であつた。

以上の結果を紫外線照射と比較するために、次の實驗を行つた。

2) 紫外線による影響

紫外線照射はアクメ人工太陽燈を用い、100V、7Aの入力にて30cmの距離で8時間の照射を行つた。照射にさいし試料はガラス皿に入れ液層を數耗の厚さとし、容器の外側は水道水にて冷却しつゝ照射し、液温は常に $10^\circ C$ 以下であつた。

第 2 表

	分層組成(%)				備考
	A	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
對照人血清 C	60.8	5.7	14.5	19.0	C
紫外線照射	59.5	12.8	17.0	10.7	C
超短波照射	60.5	8.3	13.9	17.4	C
對照人血清 A	57.0	7.5	12.4	23.1	A
$55^\circ C$ 30分加熱	35.0	29.9	10.4	24.6	A
對照人血清 D	56.0	6.2	12.3	26.5	D
$55^\circ C$ 10分加熱	44.8	13.4	14.1	27.5	D

その結果は第1及び2圖、第2表に示す如くであつた。即ち照射例を對照例に比較するに、組成においてはアルブミン分層に著變なく、グロブリンの $\alpha$ 分層は著しく増加(+124%)し、 $\beta$ 分層はかなりの増加(+17%)を來たし、 $\gamma$ 分層は著しい減少(-44%)を來たした。又泳動圖において各峰の平滑化の傾向が明かに認められた。Davis<sup>9)</sup>等は馬血清及び人血清について、紫外線照射による變化を電気泳動的に研究している。その結果は人血清においてはアルブミン分層に近くDなる峰を生じ、 $\gamma$ グロブリン分層のいちぢるしい減少を見、アルブミン分層は軽度の減少を見ている。馬血清においては、 $\beta$ 分層部に相當してDなる峰を生じ、アルブミン分層及び $\gamma$ グロブリン分層部の著しい減少乃至消失を見た。従つて我々の場合とは必ずしも一致した結果ではなかつた。

Davis は室温において1乃至5日の長きにわたつて照射している點で我々の場合とことなり、兩者の不一致はこれによるものと考えられる。

とにかく我々の得た結果についてX線照射の場合と比較するに、紫外線照射においては $\alpha$ 分層部

の著しい増加を來すが、X線照射では變化を認めなかつた。然るに $\gamma$ 分層の減少 $\beta$ 分層部の増加は兩者において認められた。要するに紫外線の場合とX線照射の場合とは全く一致した變化とはいえない。

次に之等の變化と長波長の電磁波である超短波の場合とを比較した。

### 3) 超短波による影響

超短波の蛋白質に対する影響<sup>9)</sup>としては熱作用のみ、或は特殊作用ありと主張する人がある。之等について一應實驗を試みた。

超短波發振器は高岸式治療用装置を用いた。波長は15米程度である。試料はガラス容器に入れ流水にて冷却しつゝ12時間照射した。

その結果は圖表に見る如く、對照例と差を認めなかつた。即ち溫度上昇を防止しつゝ照射するときは、超短波は蛋白質に變化を及ぼさないと云う結果であつた。

以上の實驗と加熱による變化とを比較するために次の實驗を行つた。

### 4) 加熱による影響

血清蛋白質は加熱によつて變性<sup>9)</sup>することは良く知られ、電氣泳動法によつても詳細なる研究が行われている。我々は56°C及び75°Cの加熱を行いその變化を觀察した。

その結果は第2表第1及び2圖の如くであつた。即ち56°C 30分加熱のものは、組成上アルブミン分層の著しい減少、 $\alpha$ 分層部の著しい増加を來し明かな一つの峰を形成している。 $\beta$ 分層、 $\gamma$ 分層には著變なかつた。この増加部の易動度は $\alpha$ グロブリンに近い値であつた。56°C 10分加熱の場合は定性的に30分加熱の場合と同様であつた。75°C 10分加熱の場合はアルブミン分層及び $\gamma$ 分層は著しく減少し、全體として一つの峰を $\beta$ 分層に近い所に作つている。

van der Scheer<sup>10)</sup>は馬血清について65°C乃至70°Cに加熱することにより、 $\alpha, \beta, \gamma$ 分層の平均の所にCなる成分が生ずると云う。この變化は50°C乃至60°Cでは殆んど見られないと云う。我々の75°C加熱の場合は先人<sup>10)</sup>の成績とよく一致して

いた。又56°C加熱の場合はこの變化とはことなるが、先人<sup>11)</sup>の血清において弱アルカリ性においては56°C加熱によつて、アルブミン峰は移動度を減少し、 $\beta$ グロブリンに近くなり、二つの峰を形成するとの結果とよく一致する。

之等加熱による結果をX線或は紫外線照射の場合と比較するに明かに異なるものである。即ちたとえ56°C加熱により、アルブミン分層は著しい減少を來し $\beta, \gamma$ 分層には著變はないが、X線照射においては、アルブミン分層及び $\alpha$ 分層には著明なる變化は見られず、 $\gamma$ 分層の著しい減少と $\beta$ 分層部の明かな増化を見る。

紫外線照射の場合も、加熱の場合とは全く異つた泳動圖を示している。

### 總括考按

以上の成績を總括するにX線照射ではグロブリンの $\beta$ 分層部の増加と $\gamma$ 分層の減少が著明であり、紫外線照射では、 $\alpha, \beta$ 分層部の増加と $\gamma$ 分層の減少が著しい。要するに、X線及び紫外線照射においては、グロブリン部に影響が顯著で、アルブミン分層には影響が少ないと云う結果であつた。然るに血清の加熱による變化は、アルブミン分層の著しい減少を來している。とにかくX線照射による血清蛋白質の變化は電氣泳動的に、加熱による場合と明かに異なるものである。

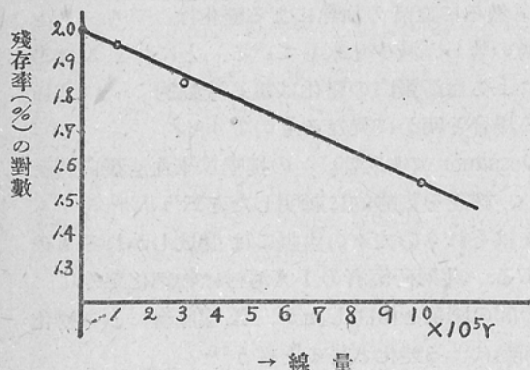
Dessauerの點熱説<sup>12)</sup>の提唱以來血清蛋白質を用い、該説を實驗的に説明したと云う人<sup>13)</sup>あるも我々はそれらの人々の主張には賛成しかねるものである。共同研究者の1人河村は物理化學的に、この間の關係を検討したが、X線照射による變化は加熱による變化と異ると言う<sup>14)</sup>。

さてX線照射による血清蛋白質の電氣泳動的變化について見るに、組成上 $\gamma$ グロブリン分層の著しい減少を來し、 $\beta$ グロブリン分層部の著しい増加を來すことは、X線照射により、 $\gamma$ グロブリン等が電氣泳動的に $\beta$ グロブリンに近いものに變化したと言ひうるであろう。即ち $\beta$ 分層部の増加は $\gamma$ 分層の減少に負う所が大であるが、尙他の分層も關係するものと思われる。このことは泳動圖において、照射例は何れの峰も平滑化していることな

どよりもうかゞえる。蛋白質の電気泳動圖は、その泳動条件によつて異なるものであり、又電気泳動的に均一なるものも物理化學的には必ずしも均一ではないと云われる<sup>9)</sup>。しかしながら我々のX線照射によるこの變化は、この際の物理化學的變化<sup>4)15)</sup>より見ても、蛋白質の分子構造的變化が主因となるものと考えられる。

しかし之等の變化は $10^5 r$ 以上の大線量で初めて證明され、且つそれ以上の線量では線量の増加と共に變化の度が増大する。 $\gamma$ 分層について見るに、その減少の度は $10^5 r$ では7%、 $10^{5.5} r$ では36%、 $10^6 r$ では65%であつた。今 $\gamma$ グロブリン分層の對照例を100として残存せる割合の對數を縦軸に、横軸に線量をとるとききれいな直線關係が得られる。(第3圖)即ち $\gamma$ グロブリン分層の減少と線量との間には指數函數的關係が成立する。この結果は放射線生物學で取扱われている的彈説の $n=1$ の場合に相當し、エネルギー吸収についての量子論的手掛りを與える。之等の點に關しては後報において理論的に検討する。

第3圖  $\gamma$ グロブリンの残存率と線量との關係



### 結 論

人血清にX線、紫外線、超短波照射及び加熱等の處理を加え、電気泳動的に檢索し次の如き結果を得た。

1) 人血清蛋白質はX線照射により各峰は平滑化し、組成上では、アルブミン分層、 $\alpha$ グロブリン

分層には著變なく、 $\beta$ 分層部の明かなる増加と、 $\gamma$ 分層の著明なる減少を來す。その變化の度は $10^5 r$ より $10^6 r$ の間では線量の増加と共に増大する。

2) この際 $\gamma$ グロブリン分層の減少の度と線量との間には指數函數的關係が成立する。

3) 紫外線照射ではアルブミン分層には著變なく $\alpha$ 及び $\beta$ グロブリン分層部の増加と $\gamma$ 分層の著しい減少を來す。

4) 超短波を溫度上昇を防ぎつゝ照射するときには特別なる變化を見ず。

5)  $56^\circ C$ 加熱によつてはアルブミン分層の著しい減少と $\alpha$ グロブリン分層部の増加を來たし、 $\gamma$ グロブリン分層には著變を見ない。

6) 電気泳動的にX線照射の人血清蛋白質に對する影響は熱變化とは異なる態度を示し、又紫外線照射とも同一でない。

(本實驗に當り泳動装置使用の便を與えられ、且つ御教示いただいた本學第一生理學教室、葦島高教授、中村治雄助教授に感謝する) 尙本論文の一部は第9回日本醫學放射線學會總會(昭和25年4月)において發表した。

### 文 獻

- 1) Blau, M. & Altenburger, K.: Zeits. Physik. 12, (1923), 315. — 2) Jordan, P.: Physik. Zsits. 39, (1938), 345. — 3) Glocker, R.: Zeits. Physik. 77, (1932), 653. — 4) Lea, D.F.: "Action of Radiations on Living Cells." Cambridge University Press. (1947). — 5) 平井, 島尾: 生化學, 21, (1949), 54. & 109. — 6) Davis, B.D. etc: J. Biol. Chem. 146, (1942), 663. — 7) Dugger, B.M.: "Biological Effects of Radiatin." New York (1936). — 8) Schliepake, E.: "Kurzwellen Therapie." 3 Auf. Gustav-Fischer, Jena. (1932). — 9) Neurath, H. etc: Chem. Rev. 34, (1944), 157. — 10) van der Scheer, J. etc: J. Imm. 40, (1941), 39. — 11) Tiselius, A.: Biochem. J. 31, (1937), 1464. — 12) Dessauer, F.: Zeits. Physik. 12, (1923), 38. — 13) Nakashima: Strahlenther. 24, (1926), 1. — 14) 河村: 日醫放誌に掲載豫定. — 15) 河村, 廣田: 科學, 21, (1951), 469. — 16) Crowther, J.A.: Proc. Roy. Soc. B, 100, (1926), 390. — 17) 河村: 日醫放誌に掲載豫定.

## On the Effect of X-ray on the Proteins.

## I. Electrophoretic study of the Serum Proteins.

Masaru Wakabayashi &amp; Fumio Kawamura

from

The Department of Radiology, Faculty of Medicine, Hokkaido University, Sapporo Japan.

The changes of human serum protein caused by X-ray irradiation were studied with electrophoretic method. The results of the experiments were compared with these by ultraviolet irradiation, ultrashort wave irradiation or by heating.

The results of the experiments were as follows.

1) By X-ray irradiation each beak of the patterns of human serum was flattened and in composition  $\gamma$ -globulin fraction markedly decreased, while  $\beta$ -globulin fraction increased markedly. Albumin fraction showed a little decrease. The degree of changes agreed with the ratio of increases of doses ranging from  $10^5$  r to  $10^6$  r. Mobility of the increased part in composition was approximately same to that of  $\beta$ -globulin.

2) Exponential relation exists between the decrease of  $\gamma$ -globulin on the electrophoretic patterns and doses given.

3) By ultraviolet irradiation albumin fraction showed no marked change,  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulin fractions increased markedly and  $\gamma$ -globulin fraction decreased markedly.

4) Though a large quantity of ultra-short wave (wave length 15 m) was irradiated, no particular change was observed in the sample kept at low temperature during the irradiation.

5) When warmed to  $56^\circ\text{C}$ , albumin fraction decreased markedly, a clear peak formed in the part of  $\alpha$ -fraction, and  $\beta$ - and  $\gamma$ -globulin fractions did not change much. When warmed to  $75^\circ\text{C}$  nearly all of the albumin fraction and globulin fractions disappeared and a large peak was formed in the central part of the pattern.

6) The effect of X-ray irradiation on the human serum was obviously different that of heating and was not necessarily the same to that of ultraviolet irradiation.