

保存人赤血球のトランスアミナーゼ活性度変化と 諸種薬物の赤血球保存に及ぼす影響について

昭和36年2月28日受付

朝鮮大学校薬学大学生化学教室

金 浦 淇

Changes in the Transaminase Activities of the Human Erythrocytes During Storage and Effects of Various Agents Used for the Preservation of Blood upon the Storage of Erythrocytes

N. K. KIM M. D.

From the Department of Biochemistry Pharmaceutical College
of Chosun University, Kwang Joo, Korea

緒 論

保存人赤血球については従来 (Rovo & Turner^① Robertson^②) 種々研究され、特に第二次世界大戦時には、保存人赤血球の輸血に依つても新鮮血液と殆んど同様の成果があげられている。

全血から血漿を取り去り、残つた赤血球を再び生理的食塩水に浮遊せしめて、これを全血の代用品として用いようとする研究は Mac Quide & Mollison^③, Cookey & Horwitz^④, Thalheimer & Taylor^⑤等により行はれ、これが貧血其他多くの疾患に全血と殆んど同様な効果を示す事が明らかにされた。

然し、貯蔵赤血球の化学的性状、輸血后における細胞の生存能力及び赤血球保存媒質の毒性が、赤血球に及ぼす影響等については、未だ確定的な事が知られていない。

すなわち、赤血球保存媒質として生理的食塩水を使った時、5日以上は貯蔵しえず、又クエン酸ブドウ糖液を使った時も長期の保存には耐え得ない。(Gabrio^⑥, Strumia^⑦, Hardwick^⑧, Strumia & Mac Graw^⑨)

一方、赤血球の輸血後の生存能力、特に赤血球内の諸種酵素の若性度の変動については、殆んど知られていない。

著者は赤血球の Energy 代謝は、他の細胞と異なり、TCA 回路を有せず Warburg-Dickens 経路も平常は殆んど作用しておらず、赤血球の Energy の大部分が解糖系によるものであり、ために赤血球内 ATP レベルの下降が、赤血球生活力の下降の重要な一因であるという考え方 (Dayani, R. M.^⑩, Gabrio^⑪, Ernstein, R.^⑫) を前提として、この様な代謝過程

が、トランスアミナーゼ活性度にも変動を来す事を考へ本実験を試みた。

実験材料及び方法

1. 材 料

採血は、血液4容に対して ACD 液 (acid-citrate-dextrose solution) を1容の比率に入れ、注射器を用いて成人健康男子の正中静脈から採血し、直後に 0.11M リン酸緩衝液 (0.11M-Na₂HPO₄ および 0.11 M-NaH₂PO₄ を加へて pH 8.6 とし 0.9% の割に NaCl を溶解した) 1.5倍量之に加へ、静かに攪拌した後 3000r.p.m. で10分間遠心沈澱し、4回洗浄した後試験管にとり、4°C 冷蔵庫に保存した。

以上の実験は、細菌の影響を防ぐため無菌的に行つた。

2. 赤血球再浮遊液の調製

浮遊液として、上記の生理的食塩水-0.11M-リン酸緩衝液 (pH 7.6) を用ひ、これに終末濃度 0.1M のブドウ糖、果糖、ガラクトース、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、リンゴ酸ナトリウム、 2×10^{-3} -M ビタミン B₁、ピリドキサールリン酸 (PAL-P)、アデノシン三リン酸 (ATP) 及びシステイン、 1×10^{-2} M-ビタミン B₂、 5×10^{-2} -M ビタミン C を加へその効果を検した。

尚、赤血球の保存及び測定には、金属イオンの作用を避けるため再蒸溜水を用い、イオン交換樹脂浄水器でイオンを除去し、器具はガラスを用いた。

3. 方 法

赤血球-glutamic-oxaloacetic-transaminase (R-GOT) と赤血球-glutamic-pyruvic-transaminase (RGPT) の活性度測定には Cabaud, Leeper &

Wróblewski[®]の血清 GOT 及び血清 GPT の活性を測定する方法と同じく Beckman B 型分光光度計を用いる方法により実施した。

a) 試 薬

i) 基 質:

GPT 基質は、DL-アラニン 1.87mg, GOT 基質は DL-アスパラギン酸 2.66gm。各々 KH_2PO_4 2.0gm と α -ケトグルタル酸 0.6gm を蒸留水に溶解し、KOH 稀釈溶液で pH を正確に 7.6 とし全量を各々 100cc にする。

これは細菌の侵害を防ぐために、冷蔵庫に保存した。

ii) 100%三塩化酢酸:

蒸留水 100cc に三塩化酢酸 (TCA) 100gm を溶解する。

iii) Aniline-citrate:

5gm のクエン酸を同量の蒸留水に溶解して、これに同量のアニリンを混和して作る。結晶が析出すれば捨てる。

iv) 2,4-Dinitrophenylhydrazine:

100mg の 2,4-Dinitrophenylhydrazine を 20cc の濃塩酸に溶解し、蒸留水を加へて 100cc にする。

v) 水飽和トルエン:

500cc のトルエンに 5cc の蒸留水を加へて振盪したもの。

vi) Alcohol 性 KOH:

95%アルコール 100cc に、苛性カリ 2.5gm を溶解し、空気を遮断する。

b) 実験操作

二個の試験管 (B = 空試験管, u = 試験管) を用いる。血球を蒸留水で 10 倍稀釈し、0.5cc を各々の試験管に取り (対照実験には純血球を 10 倍に稀釈し、この 0.25cc と水 0.25cc を加へたもの) 薬物添加の血球は水 0.25cc の代りに浮游液を 0.25cc に換算して、0.25cc を用いた。

次に GOT 活性測定試験管 u 管と B 管に GOT 基質を 0.25cc 加へ B 管には直ちに 100%三塩化酢酸 0.1cc と Aniline-Citrate 0.1cc を加へて除蛋白し反応を止め盲検とする。

又 GPT 活性測定管である u 管および B 管には GPT 基質を各々 0.25cc を加へ、100%三塩化酢酸 0.1cc を B 管に加へて盲検とする。u 管は 37°C 恒温槽に 20 分間静置した。静置後 GOT 活性測定、u 管には 100%三塩化酢酸 0.1cc と Aniline-Citrate 0.1cc を加へて反応を中止し、又 GPT 活性測定 u 管には 100%三塩化酢酸 0.1cc を加へ反応を中止させた後、37°C 恒温槽

に 10 分間放置し、2,4 Dinitrophenylhydrazine 溶液 0.5cc を各々の試験管に加へた後、5 分間 37°C に放置し、Pyruvate-2,4-dinitrophenylhydrazone を形成させた後、トルエン試薬を各試験管に 1.0cc づつ加え強く振盪し、約 5 分間遠沈して Hydrozone をトルエン層に移行させる。

この Toluene 層を 0.5cc づつ新しい他の試験管に各々取り、Alcohol 性 KOH 2.5cc を加へて混和し、Beckman B 型分光光度計で Optical density を求めた。B 管液 O.D. を零にあわせて u 管液の Optical density を求め (490m μ) 標準曲線に依つて、Units (単位) を換算した

標準曲線の作製法は、ビルビン酸 5 μ g, 10 μ g, 20, 40, 60, 80 μ g/ml を各々の試験管に取り、上記実験法によつて Hydrazone を形成させ Alcohol 性 KOH 試薬にて発色させて、蒸留水を O.D. 零として各々の濃度の発色の Optical density を測定した。

GOT 及 GPT の単位は、赤血球浮游液 1.0cc がビルビン酸 1 μ g を形成する能力を以つて 1 単位と定められた。

実験結果

1. リン酸緩衝液生理的食塩水に浮遊し、4°C に保存した赤血球の GOT および GPT 活性の時間的变化

GOT は第 1 図 a) および第 1 表に示すように、緩やかな傾斜を画いて時間と共に徐々に低下する。GPT は GOT の約 1/10 単位に当り GOT と同様に徐々に活性の低下を示す。(第 1 図 b), 第 1 表)

2. 薬物を作用させた赤血球の GOT および GPT 活性の時間的变化

a. 六炭糖 (第 2, 3 表および第 2 図)

i) ブドウ糖 1 時間後では対照より著明に高く、1 週後には対照よりも下り、以後は対照と平行しながら低下する。GPT は 7~21 日間はあまり変化せず、28 日には著明に減少する。

ii) 果糖 GOT は保存 3 日までは対照よりもやや高い傾向があるが、以後は低下し対照と平行する。GPT は最初から対照より低下している。

iii) ガラクトース GOT は 21 日まで対照より約 600 単位低いが、28 日目には対照と交叉する。GPT は果糖の場合と殆んど一致した経過を取る。

b. ビタミン (第 4 図および第 2, 3 表)

i) ビタミン B₁ GOT は 1 時間後から対照より高い活性を保ちながら 28 日に達するが、GPT ではかえつて初めから低下している。

第1表 保存人赤血球のGOT, GPT活性
(薬物添加無)

(10例平均) (Per ml per 20 minutes)

種類 保存 日数	GOT 活性*	GPT 活性**
	units/ml	units/ml
1 時間	7900 ± 352.6	675 ± 19.0
3 日	7800 ± 353.0	636 ± 82.5
7 日	6950 ± 428.5	584 ± 27.0
14 日	6420 ± 19.0	526 ± 59.5
21 日	5560 ± 27.0	526 ± 52.9
28 日	4860 ± 39.0	399 ± 25.2

* Spectrophotometric units (490 mμ) of Erythrocyte-GOT

$$\text{units of GOT} = \frac{\text{O. D.} \times 625}{1.26}$$

625=1ml serum extinction coefficient

1.26=temperature coefficient

** Spectrophotometric units (490 mμ) of Erythrocyte-GPT

$$\text{units of GPT} = \frac{\text{O. D.} \times 625}{1.57}$$

1.57=temperature coefficient

ii) ビタミンB₂ GOTは21日まで対照より相当高い活性を維持し, 28日では急激に低下する。GPTは1週まではやや高いが, 以後は対照よりも漸時低下する。

iii) ビタミンC GOTは1時間後の対照にくらべて1700単位程度の低下を, 28日後においては4500単位の甚だしい活性低下を見る。

GPTも対照より低値を示し経過する。

c. 3種の有機酸のナトリウム塩

(第4図, 第2, 3表)

i) 乳酸ナトリウム GOT, GPTともに対照より相当低い活性で対照と平行しながら低下する。

ii) 酢酸ナトリウム GOTは1時間後には対照より低いが, 1週後にはピークとなり14日後には対照と交叉し漸次低下する。GPTも1時間後は対照に比し著しく低いが, 7日後にはかえつて対照より高く, 28日には対照と同じ位になる。

iii) リンゴ酸ナトリウム GOTは対照よりやや低いが, 14日以後では対照より高い。GPTはかない対照より低い活性で対照と平行しながら低下する。

d. その他 (第5図, 第2, 3表)

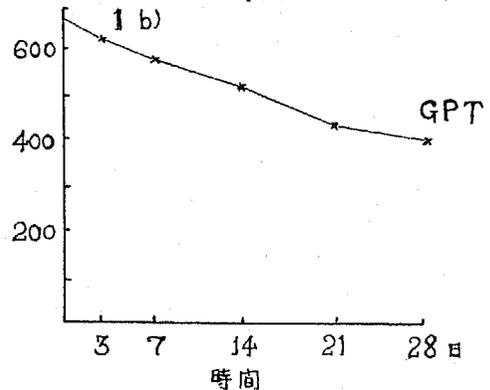
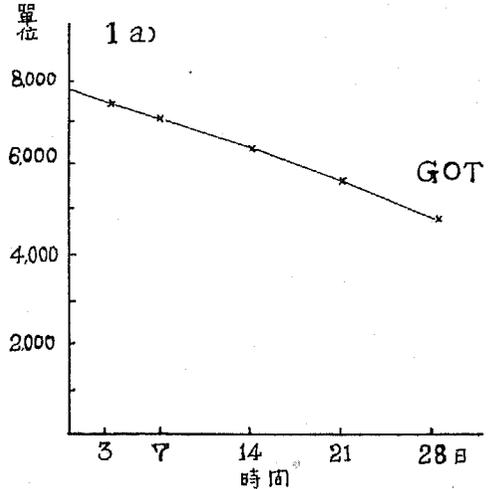
i) ATP (アデノシン三リン酸) GOTは1時間後では対照より低いが, 漸次増加して28日後には対照にくらべて著しく高い活性を示し, GPTもGOTよ

第1図 保存人赤血球のトランスアミナーゼ活性の時間的变化 (添加物なし)

1 a) GOT 活性

2 b) GPT 活性

横軸の時間0(原点)は1時間を, 単位は赤血球1ml当りの値を表わす。



りは少いが漸次増加して28日後には対照より相当高い活性を示す。

ii) PAL-P (ピリドキサルリン酸) GCTは約4000単位対照より高い活性を保ちながら推移する。GPTは対照より約1,000単位高い活性を持ち, 28日後でもなお400単位以上高い活性を示す。

iii) システイン GOTは対照より相当低い活性を示しながら低下し, GPTも漸次低下してかなりの低下を示す。

以上数種の物質の添加により, 最も高い活性を維持するものはATPで次にPAL-Pである。またビタミンB₁, ビタミンB₂は対照よりはやや高く維持され, GPTの方はやや低く保たれる。最も低下を示す物質はビタミンCである。

第 2 表 保存赤血球 Glutamic oxaloacetic transaminase 活性に及ぼす各種薬物の影響
(トランスアミナーゼ単位は 1ml 当り反応時間20分間の値を表わす)

薬品名	例数	薬物濃度 (M)	1 時間	7 日	14 日	21 日	28 日
対照	10		7900±352.6	6950±428.5	6420±19.0	5560±27.0	4860±39.0
ブドウ糖	5	0.1	9950±829.7	6580±479.5	5560±102.5	4630±490.8	4210±474.5
果糖	5	0.1	8140±136.9	6520±292.7	5560±827.7	5120±587.0	3375±925.0
ガラクトース	5	0.1	6910±209.2	6520±362.2	5870±576.9	5160±454.6	4850±518.5
ビタミン B ₁	5	2×10 ⁻³	8940±1097.7	7330±989.0	6950±132.7	6550±729.0	5760±340.8
ビタミン B ₂	5	1×10 ⁻²	9130±650.7	9150±823.0	8140±114.4	6550±556.7	2870±217.5
ビタミン C	5	5×10 ⁻²	5940±731.5	2250±180.0	855±261.0	675±261.0	198.4±66.5
ピリドキサルリン酸	5	2×10 ⁻³	11490±455.0	10400±369.0	9600±760.0	8800±628.0	8500±280.5
ATP	5	2×10 ⁻³	6930±0.0	8850±497.0	8960±321.7	9600±235.8	10090±399.5
システイン	5	2×10 ⁻³	6400±754.4	5600±257.6	4410±521.2	2830±428.8	1805±158.7
酢酸ナトリウム	5	0.1	6650±333.0	11110±109.1	6300±868.0	5960±727.0	5360±445.0
乳酸ナトリウム	5	0.1	5100±1015.0	5170±465.0	4470±864.0	4370±326.0	3690±177.0
リンゴ酸ナトリウム	5	0.1	6860±510.0	6530±538.0	6010±162.0	5980±336.0	5360±224.0

第 3 表 保存赤血球 Glutamic-pyruvic transaminase 活性に及ぼす各種薬物の影響

薬品名	例数	薬物濃度 (M)	1 時間	7 日	14 日	21 日	28 日
対照	10		675±19.0	636±27.0	526±59.5	526±52.9	399.0±25.2
ブドウ糖	5	0.1	638±126.0	399±19.4	399±99.4	399±45.2	191.0±96.1
果糖	5	0.1	622±38.9	447±49.5	339±64.9	343±55.1	207.5±34.5
ガラクトース	5	0.1	670±57.1	478±60.4	422±34.4	339±40.9	211.8±21.8
ビタミン B ₁	5	2×10 ⁻³	605±83.3	510±30.1	438±26.3	399±51.0	353.0±34.0
ビタミン B ₂	5	2×10 ⁻²	730±55.5	654±31.2	431±38.7	352±70.5	241.0±65.2
ビタミン C	5	2×10 ⁻²	447±34.1	399±33.8	328±22.5	258±27.3	218.1±75.5
ピリドキサルリン酸	5	2×10 ⁻³	1685±35.1	1300±55.3	1179±83.4	876±15.1	796.0±50.6
ATP	5	2×10 ⁻³	417±142.3	600±474.0	622±262.7	654±33.5	694.0±117.3
システイン	5	2×10 ⁻³	654±60.4	414±21.4	358±77.8	288±31.4	236.0±88.6
酢酸ナトリウム	5	0.1	229±45.6	716±54.0	606±13.2	478±43.5	431.0±84.5
乳酸ナトリウム	5	0.1	557±38.6	399±61.4	358±79.6	309±58.4	249.0±54.0
リンゴ酸ナトリウム	5	0.1	478±133.2	431±182.2	319±67.9	317±67.7	255.0±75.8

考 察

トランスアミナーゼは、主に細胞内に濃縮されているので、正常の血清には含有単位が低い、細胞損傷が甚だしい時には、トランスアミナーゼのレベルが上昇する事が常である。

著者の赤血球 GOT, PGT 測定の成績から見ると、血清に比し約10倍以上包含されていた。

保存赤血球に於ては、時日の経過と共にトランスアミナーゼの活性度の減少を来すが、これはトランスアミナーゼが破壊されると共に、新生されないためだと解釈し得る。

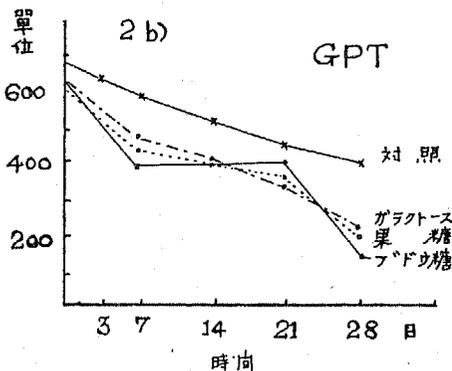
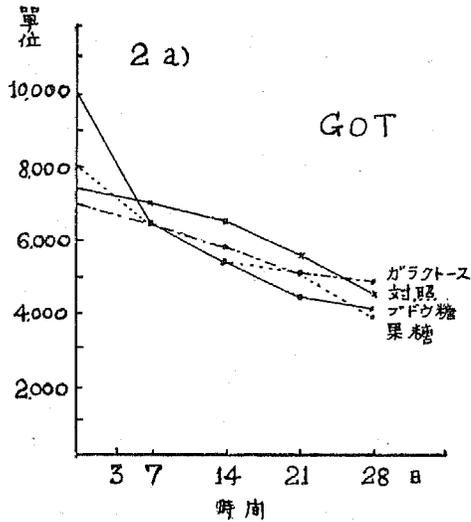
又、保存赤血球は TCA 回路が存在せず Warburg-Dickens 経路も働いていないため、Energy の大部分を解糖系に依存している、結局ブドウ糖が消費される事になり、ブドウ糖の消費と共に ATP レベルが低下し、ATP レベルが下れば、Nucleoside phosphorylase の協力を得て糖を磷酸化する経路によって糖代謝を行い Energy を供給する事になる。此の際アミノ基供与体と α-ケト酸の間にトランスアミナーゼの介在で行はれるトランスアミナーゼにも変化をもたらすべき事はいう迄もない。

保存赤血球の酵素活性については、進和^④のグル

第2図 ブドウ糖、果糖およびガラクトースを添加した赤血球のトランスアミナーゼ活性の時間的变化

- 2 a) GOT 活性
- 2 b) GPT 活性

横軸の時間 0 (原点) は1時間を、単位は反応時間20分間の赤血球 1ml 当りの値を表わす。(以下の図も同じ)



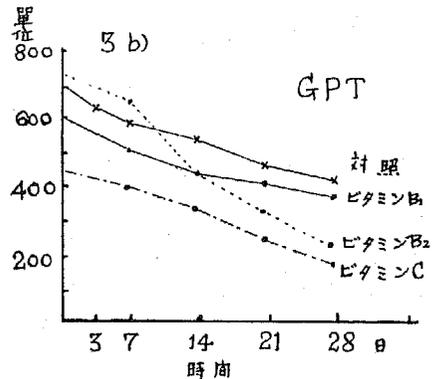
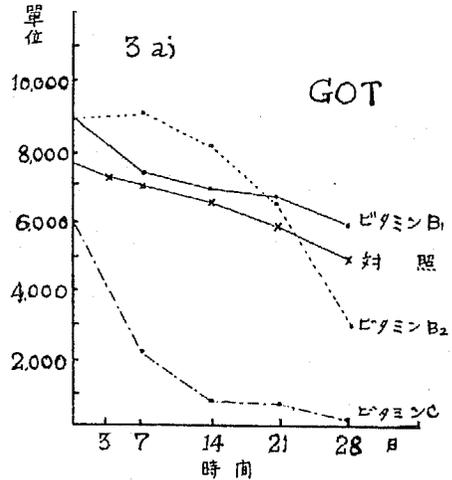
タチオン、グリオキザラーゼ、乳酸およびリンゴ酸脱水素酵素、吉川^⑤の炭酸脱水素酵素などの研究があるが何れも赤血球老化に由る緩慢な低下を見て居る。

薬物添加に由る老化防止を見ると、糖類中ブドウ糖はグルタチオン含有量に対して減少を抑制したが、このグルタチオン含有量は、赤血球溶血に関係があるということが知られて居るから、結局ブドウ糖は赤血球老化を防止すると考えられる。

又、脱水素酵素及びグリオキザラーゼに対しても、ほぼ同一の作用を認め、又吉川^⑤の発表に依れば、炭酸脱水素酵素及びカリウムの游出と共に、溶血に対する

第3図 ビタミンB₁、ビタミンB₂およびビタミンCを添加した赤血球のトランスアミナーゼ活性の時間的变化

- 3 a) GOT 活性
- 3 b) GPT 活性

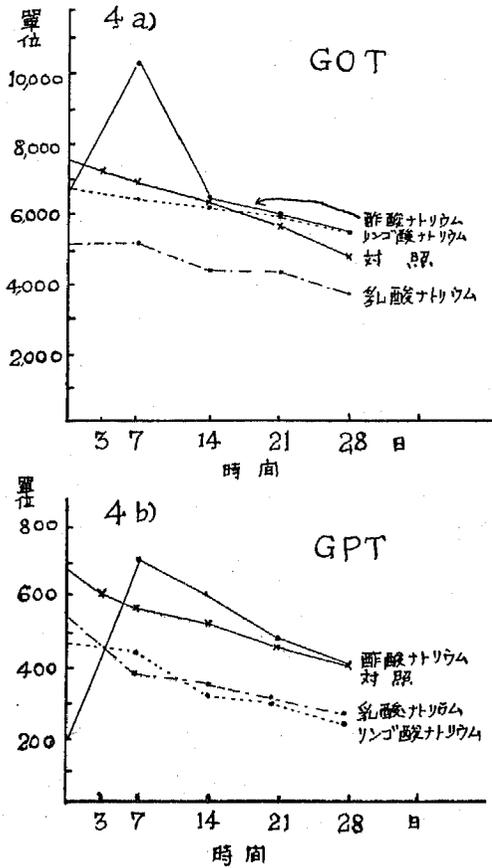


種類	保存日数			
	1週后	2週后	3週后	4週后
グルタチオン	51	29	25	16
グリオキザラーゼ	66	62	41	32
乳酸脱水素酵素	69	60	38	
リンゴ酸脱水素酵素	63	50	27	
赤血球 GOT	87	81	70	61
赤血球 GPT	86	78	78	60
炭酸脱水素酵素	70	63	56	

表中の数値は最初の活性及び含有量を100%として%で表示した値)

防護作用に於ても、ブドウ糖が最も優秀であるというが、本実験の保存赤血球に於てブドウ糖、果糖、ガラクトースのような糖類を添加した後のトランスアミナーゼ性の活測定値は、GOT はブドウ糖添加により約

第4図 酢酸ナトリウム, 乳酸ナトリウム, リンゴ酸ナトリウムを添加した赤血球のトランスアミナーゼ活性の時間的变化
 4 a) GOT 活性
 4 b) GPT 活性



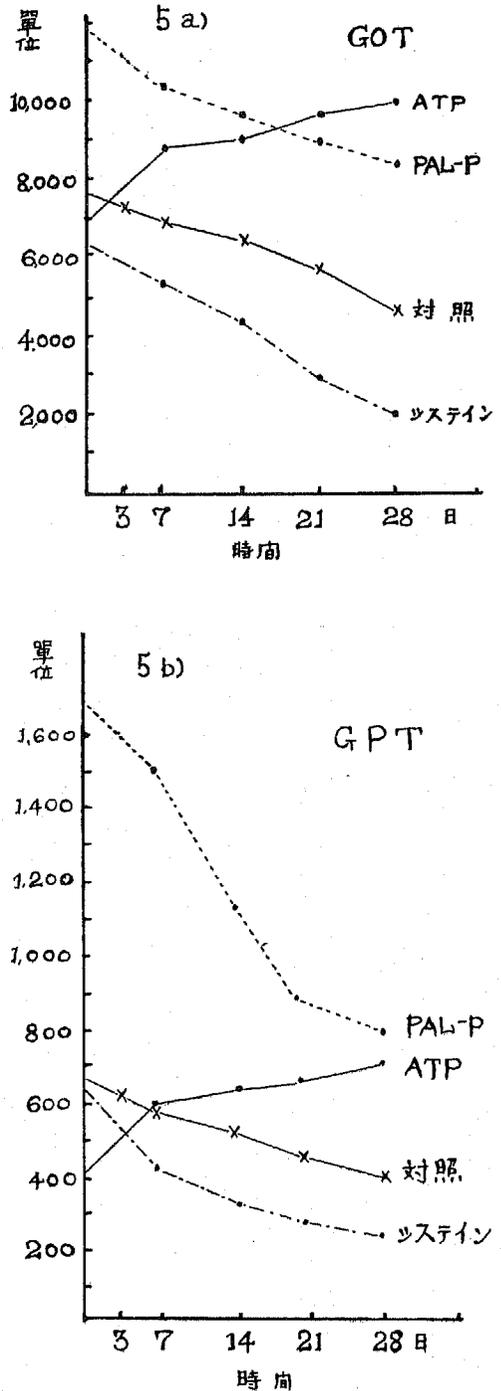
1週までは対照よりも高い活性を示すほかは、亢進は見られず、むしろ抑制されている。

この事は少なくとも、糖類とトランスアミナーゼとは直接の関係はない事を意味するものと思はれる。

ビタミン類では、ビタミンB₁は赤血球のGOTをやや亢進させ、GPTをやや抑制したがビタミンB₁は生化学的にピルビン酸又は α -ケトグルタル酸のような α -ケト酸類の脱炭酸における補酵素として働らく物質で、又チアミンニリン酸はブドウ糖代謝の直接酸化経路に於て起る Transketolation の反応に、補酵素として働らく。それでチアミン缺乏時のシロネズミの赤血球では、この酸化経路が著るしく障害されて五炭糖が正常の約3倍も蓄積されるという。

以上の見地より、チアミンの投与に依り赤血球の老化防止と共に、トランスアミナーゼ活性の低下を抑制するものかと期待した。

第5図 ATP, ピリドキサルリン酸(PAL-P)およびシステインを添加した赤血球のトランスアミナーゼ活性の時間的变化
 5 a) GOT
 5 b) GPT



ビタミン B₂ の添加に依る保存赤血球のトランスアミナーゼ活性を見ると GOT は約 3 週迄は対照より高い活性を維持し、GPT の方は約 10 日間はより高い活性を維持した。

このビタミン B₂ すなわちリポフラビン自身は、中間代謝に含まれる黄色タンパク体に属する数種の酵素の一分で、リポフラビンの活性型はリン酸と結合されて居り、その一つはリポフラビンリン酸として Warburg の黄色酵素、チトクロム C 還元酵素、D-アミノ酸酸化酵素などに含まれて居り、他の一つはフラビンアデニンジヌクレオチドである。

これらの酵素は、何れも赤血球老化に影響を及ぼす一連の酵素なのでビタミン B₂ を本実験に使用した。ビタミン C は赤血球の GOT、GPT に対する阻害が甚だしく GOT に於ては約 100% に近い阻害を示し、GPT は GOT 程ではないが、対照より相当に低い活性を示しているが、これはアスコルビン酸の還元性に由るのかも知れない。

ピリドキサルリン酸は、トランスアミナーゼの補酵素としてトランスアミナーゼ活性とは不可分の立場にある。本実験に於ても GOT は対照に対して約 4000 units も高い活性を維持しながら、緩慢な低下を見せて居り、GPT も対照より約 1000 units も高い活性を有しながら、漸次低下している。この事は赤血球に於ても、他の細胞と同様ピリドキサルリン酸がトランスアミナーゼ活性と密接な関係にあることを示している。

ATP はミトコンドリアを低張糖液 (0.5M) に入れた時、その膨脹に対して抑制的に作用する事が知られている⁽¹⁰⁾。又 K⁺ の遊出も防止する傾向が見られる。

ATP は容易に水解され、又 ATP 其他のリン酸エステルは赤血球の細胞膜を容易に透過し得ない事が知られ、結局その作用は ATP の分解産物であるアデノシン、アデノシンリン酸、アデノシン二リン酸によるものと考へられる。

アデノシンの添加が 40°C で貯蔵した赤血球の保存度を良くし⁽¹¹⁾、又之が貯蔵赤血球中に容易に水解されるリン酸化合物の后有量を増すことが認められている⁽¹²⁾。

正常人赤血球の Osmotic lysis に対する抵抗に対しヌクレオチドの効力を見ると、0.9% 食塩-リン酸緩衝液、PH 7.3~7.4 に於てプリン・リボシド (アデノシン、グアノシン、イノシン、2,6-ジアミノプリン・リボシド、キサントシンなど) と共に購置することに依つて Osmotic lysis に対する抵抗力が高められると謂はれている。

これ等の事実は in vitro でプリン・リボシドの新陳代謝は、その保存する Energy が滲透圧的 stress を受ける赤血球の Structural integrity を維持するに利用されると想像されている⁽¹³⁾。

以上の諸事実に由り、ATP が赤血球保存に優秀なる事は確定的な事実であるが、本実験に於て示した ATP 添加保存赤血球 GPT、GPT は対照と交叉した形で上昇し、28 日後に於ても尚上昇している。

即ち正常赤血球よりも、却つてその活性が亢進されている。

進和⁽¹⁴⁾及び吉川⁽¹⁵⁾に由れば、乳酸脱水素酵素、リンゴ酸脱水素酵素の活性が、炭酸脱水素酵素とは反対に ATP を添加することによつてかえつて抑制されるという。

システインにおいては、SH 基がトランスアミナーゼに重要な役割を演ずる事は、既に知られて居り⁽¹⁶⁾又 X 線による赤血球の K⁺ 喪失及び Na⁺ 侵入現象をも防止する⁽¹⁷⁾。進和⁽¹⁴⁾及び吉川⁽¹⁵⁾は monothiol 化合物が炭酸脱水素酵素、乳酸脱水素酵素、リンゴ酸脱水素酵素など酵素活性を抑制し、これが赤血球の老化にも関係があるという。

本実験に於けるシステインの添加に依るトランスアミナーゼも、以上述べた他の酵素活性と同様に抑制されている。

進和⁽¹⁴⁾、吉川⁽¹⁵⁾らの実験によると、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、リンゴ酸ナトリウムを添加することによつて、グリオキザラーゼ、リンゴ酸脱水素酵素、乳酸脱水素酵素、炭酸脱水素酵素などの酵素活性が抑制されるという。トランスアミナーゼに於ては、酢酸ナトリウムに於ては GOT、GPT 両方共保存 1 週迄は急激な上昇を見せ、その後 GOT は 2 週日迄急激に低下して対照と同一点に到達し、更に対照とはなれて漸次やや上昇して居る。

GPT は約 1 週日後から緩慢な低下を見せて居る。乳酸ナトリウムは最初から GOT、GPT 共に抑制されて居りリンゴ酸ナトリウムに於ては GOT のみ約 2 週間以後からやや対照より上昇している。

以上の有機酸は、赤血球老化防止に多少効果を有しているというが、赤血球内のトランスアミナーゼに関する限り酢酸ナトリウムは、保存的に働き他の物はかえつてこれを抑制している。

Braunstein⁽¹⁸⁾に由ると Glutamic-aspartic transaminase が低濃度の基質に作用する時は、飽和脂肪酸で若干阻害される事が認められて居り、又 Cohen⁽¹⁹⁾に由れば、トランスアミナーゼは一般に種々の有機酸により阻害されるという。

結 論

1. 赤血球を4°Cにて生理的食塩水に浮遊させ(リン酸緩衝液 pH 7.6) その Glutamic-oxaloacetic transaminase (R-GOT), Glutamic-pyruvic transaminase (R-GPT) の1時間, 3日, 1週, 2週, 3週, 4週保存後の活性を測定したところ R-GOT は各々 7900±352.6 units (per ml per 20 minutes), 7800±353 units, 6950±428.5 units, 6420±19 units, 5560±27 units, 4860±39 units を得た。

R-GPTに於ては, RGOTの約 $\frac{1}{10}$ units に該当し各々 675±19 units, 636±82.5 units, 584±27 units, 526±59.5 units, 526±52.9 units, 399±25.2 units を得た。

2. ブドウ糖, 果糖, ガラクトースを媒質に添加してもトランスアミナーゼ活性度は影響を受けなかつた。

3. チアミン, リボフラビンの添加は対照に比し, GOTの活性度は昂進させるが, GPT活性度はかへつて低下させた。

4. アスコルビン酸はトランスアミナーゼ活性度の著しい下降をもたらした。

5. システイン, 乳酸ナトリウム, リンゴ酸ナトリウム, トランスアミナーゼ活性度を低下させたが, 酢酸ナトリウムは一時的の著しい昂進を示した后下降した。

6. アデノシン三リン酸は, 対照とは逆にトランスアミナーゼの活性度を上昇させた。

7. ビリドキサールリン酸の添加によつては, トランスアミナーゼ活性度は著しく昂進したが, 時間の経過と共に徐々に下降した。然し対照よりはいつも高かつた。

文 献

- ①Rovo, P. & Turner, J. R.: J. exp. med. 23. 219. 1916. ③Robertson, D. H.: Brit. med. J. 1. 196. 1918. ④Mac Quide, D. H. & McIlison, P. L.: Brit med. J. 2. 555. 1940. ④Cookey, W. B. & Horwitz, W. H.: J. A. M. A. 124. 961. 1944. ⑤Thalhimer, W. & Taylor, E. S.: J. A. M. A. 127. 1096. 1945. ⑥Gabrio, B. W., Hennessey, M., Thomasson, T., Finch, C. A.: J. Clin. invest. 36. 1-6. 1957. ⑦Strumia, M. M., Blake, A. D. & Wicks, W. A.: J. Clin invest. 26. 672. 1947. ⑧Hardwick, J., Ricketts, C. R., Squire, J. R.: Nature 166. 988. 1950. ⑨Strumia, M. M., Mac

- Graw, J. J & Margaret, Dolan: proc. Soc. exper. biol. & med. 75. 675. 1950. ⑩Dojani, R. M, Ostern, J. M.: J. Biol, Chem. 231. 913. 1958. ⑪Gabrio, B. W., Hennessey, M., Thomasson, T., Finch, C. A.: J. Biol Chem 215. 357. 1955. ⑫Ernstein, R., Jafee Bertrant. A. Loway, Grace A. Vanderboff J. Biol. Chem 221. 971. 1956. ⑬Cabaud, P., Leeper, R. & Wróblewski, F: american J. Clin. path. 26. 1101. 1956. ⑭進和健: 日薬理誌 55. 1014-1020. 1959. ⑮吉川英一: 日薬理誌 55. 391. 1959. ⑯Lehninger, A. L.: Henry Ford Hospital international Symposion. Enzymes, 9. 10. Academic press 1956. ⑰Gabrio, B. W., Donchne, D. M. & Finch, C. A.: J. Clin. invest 34. 1509. 1955. ⑱Gabrio, B. W., Hennessey, M., Thomasson, J. & Finch, C. A.: J. Biol. Chem. 215. 357. 1955. ⑲Barron, E. S. G. & Singer, T. P.: Science, 97. 356. 1943. ⑳Bankley, S., Fujū & Kimmel, J. R.: J. Biol. Chem 180. 161. 1950. ㉑Braunstein, A. E.: Enzymologia 7. 25. 1939; ㉒Branderger, H: Cohen, P. P.: Helv. Chim. Acta 36. 549. 1953

ABSTRACT

Glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminase activities of the red blood cell have been determined at one hour, three days, one, two, three and four weeks of storage at 4° C in physiological saline containing phosphate buffer solution (pH 7.6). Effects of the following agents added in the saline phosphate buffer medium on the changes in both of transaminase activities of red blood cell during storage were also studied; glucose, fructose, galactose, thiamine, riboflavin, ascorbic acid, pyridoxal phosphate, adenosine triphosphate, cysteine, sodium acetate, sodium lactate and sodium malate.

Both transaminase activities in red blood cell determined at one hour following blood withdrawal were higher than those of serum.

There was a gradual reduction in the enzyme activities during storage, and the rate of reduction proceeded at an almost linear rate.

Addition of hexoses, glucose, fructose, and galactose caused decreases in both of trans-

minase activities, the reduction rate of which during storage, however, was not affected.

Both thiamine and riboflavin maintained GOT at higher level compared with that of non-added control blood cells, whereas GPT level was decreased. The effect of these vitamins on the changes in the transaminase activities during storage, nonetheless, was not discernible. On the other hand, ascorbic acid exerted pronounced decreasing effects upon the rate of reduction as well as upon the levels of both transaminase activities.

Cysteine, sodium lactate and sodium malate were all alike in causing decreases in both

transaminase activities. In contrast to these, sodium acetate increased the levels of the transaminase a 7 days of storage, after which both transaminase activities were rapidly reduced to those of control values.

Of all the tested agents, adenosine triphosphate was unique in that gradual increases in both transaminase activities were attained during storage.

Pyridoxal phosphate increased the levels of the transaminase. However, it did not change the course of reduction rate in the activities as did adenosine triphosphate.