

ルミノールを用いたヒト多核白血球 化学発光に関する研究

長崎大学小児科

辻	芳	郎	
森	剛	一	
楊	井	正	紀
福	田	友	子

多核白血球 (PMN) の酸化的代謝機構は PMN の貪食殺菌能の一要素であり、細胞内殺菌における重要な役割をはたしている。PMN の細菌等の異物貪食時に生じる chemiluminescence (化学発光: CL) は酸化的代謝過程で生じる活性酸素群 (O_2^- 、 H_2O_2 、 $OH\cdot$ 、 1O_2) に起因すると考えられる。我々はその測定法等に検討を加え、ルミノール添加により必要な PMN の微量化に成功した。今回この測定法での温度、Zymosan 濃度、反応 pH、opsonin による CL の変化について検討を加え、更に活性酸素の阻害物質添加による CL への影響について調べたので報告する。測定法は前年度報告した通りであるので省略する。

Zymosan 浮遊液は 1.25 mg/ml の濃度の場合に最も高い CL が得られた。温度は 25°C 、 4°C に比べ 37°C が最も適当と考えられる。pH は $7.3\sim 7.4$ で最も高い CL を認めた。opsonin としてのプール血清を希釈して Zymosan を opsonize してやると、希釈するに従い CL は低下した。また 56°C で 30 分間 incubate し易熱性 opsonin を不活化すると著明な CL 低下を認めた。

この実験系に O_2^- の不均化酵素である SOD $50\ \mu\text{l}$ 加えると濃度に依存した CL 抑制を認めた (図 1)。 H_2O_2 を分解する catalase を加えても CL は抑制された。 $OH\cdot$ の scavenger である Na-benzoate の添加時にも抑制が認められた (図 2)。また、myeloperoxidase (MPO) の阻害剤である Azide (NaN_3) を加えると CL は著明に抑制された。

以上の結果、ルミノール添加による CL 測定法では、(1) zymosan 浮遊液は 1.25 mg/dl 、反応を行う pH は $7.3\sim 7.4$ 、温度は 37°C の場合最も高い CL response が得られることがわかった。(2) 血清の opsonin 活性も測定可能である。(3) 不均化酵素、scavenger、酵素阻害剤添加により抑制を受けることより、 O_2^- 、 H_2O_2 、 $OH\cdot$ 、 1O_2 が関与していると考えられる。すなわち多核白血球の酸化的殺菌機能をみるすぐれた検査法であると考えられる。

図 1.

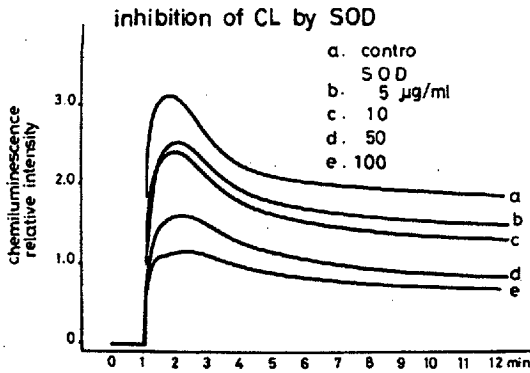
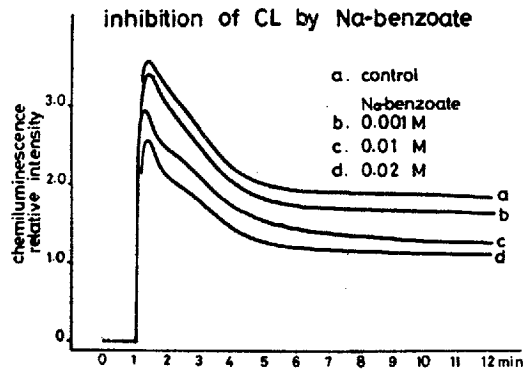


図 2.



白血球による dihydropteridine reductase 欠損症の診断に関する研究

東北大学小児科

多 田 啓 也
成 沢 邦 昭
新 井 直 博

フェニルケトン尿症 (PKU) のマス・スクリーニングが普及するにつれて、PKUとは異った悪性高フェニルアラニン血症の存在が指摘され、その鑑別診断は治療方針を決定する上で極めて重要な課題となっている。吾々は末梢白血球を用いる dihydropteridine reductase (DHPR) 活性測定法を種々検討した結果、新しい測定法を開発し本法が臨床上有用であることを見出した。

方法：末梢血 3 ml より PVP 沈澱法により白血球を分離し凍結融解後上清を酵素活性測定に用いた。

酵素反応系： 80 µmoles Tris-HCl (pH 7.6)

0.1 µmoles ferricytochrome C

0.1 µmoles NADH

2.0 µmoles 6-MPH₄ (6-methyl-5, 6, 7-tetrahydropteridine)

白血球上清

total 2 ml

反応は 25℃ で 5 分間、cytochrome C の還元を 550 nm の吸光度の増加で測定する。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



多核白血球(PMN)の酸化的代謝機構はPMNの貪食殺菌能の一要素であり、細胞内殺菌における重要な役割をはたしている。PMNの細菌等の異物貪食時に生じるchemiluminescence(化学発光:CL)は酸化的代謝過程で生じる活性酸素群(O₂、H₂O₂、OH、¹O₂)に起因すると考えられる。我々はその測定法等に検討を加え、ルミノール添加により必要なPMNの微量化に成功した。今回この測定法での温度、Zymosan濃度、反応pH、opsoninによるCLの変化について検討を加え、更に活性酸素の阻害物質添加によるCLへの影響について調べたので報告する。測定法は前年度報告した通りであるので省略する。