

鳥類コリンエステラーゼ活性値測定に関する
基礎的研究 (第2報)
ガスクロマトグラフィーによる測定 (予報)

Studies on the Determination of Avian Cholinesterase Activity (Part 2)
On the Determination of Avian Cholinesterase Activity by Gas
Chromatography (Preparatory Report)

山田 三樹夫 佐藤 秀男
長谷川 恩 中谷 省三

Mikio Yamada, Hideo Sato,
Megumi Hasegawa and Shozo Nakaya

コリンエステラーゼ (以下 ChE と略す) の定量法としては、WARBURG 検圧計による AMMON の定量法¹⁾、ガラス電極による MICHEL の pH メーター法²⁾ などが知られている。CRANMER^ら³⁾ は基質として 3,3-dimethylbutyl acetate (以下 DMBA と略す) を使用し、生成する 2,2-dimethyl-1-butanol (以下 DMB と略す) をガスクロマトグラフィー (以下 GC 法と略す) で定量する方法を開発し、酵素活性の低い試料の測定に有効であることを報告した。

著者らは、第1報⁴⁾においてすでに報告したが、MICHEL の pH メーター法による測定結果では、これまで報告されていたように鳥類の赤血球 ChE 活性度は低い。このことが GC 法においても同様に認められるか否かを検討するため以下の実験を実施し、若干のデータを得たので報告する。なお、本実験は現在継続中であり、それらの知見を加え、近いうちにとりまとめて報告する予定である。

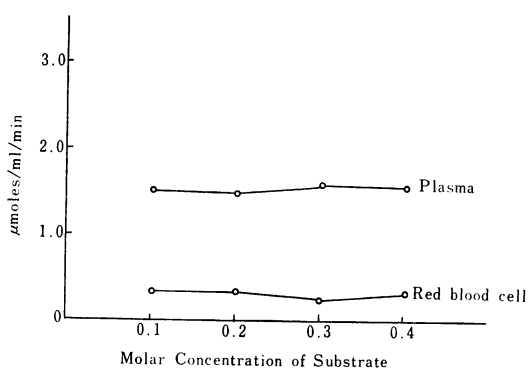
実験方法

- 1) 材料：使用したウズラは Japanese quail で、4, 5, 7, 14週令のものから直接心臓採血した。プラズマは 20 μ l を実験に供した。溶血液は赤血球：水 = 1 : 9 のものを 0.5 ml 使用した。脳ホモジネイトは 10 w/v% としたものを 0.2 ml 使用した。
- 2) 測定方法：M. F. CRANMER ^ら³⁾ の方法に準じ、これに若干の改変を加えた。
- 3) 試薬：エゼリンを使用した他は CRANMER 法³⁾ と同様であった。

結果および考察

ウズラの血漿および赤血球 ChE 活性度の基質濃度に対

Fig. 1 Effect of Substrate Concentration on Cholinesterase Activity



する影響を Fig. 1 に示した。0.1~0.4M の DMBA では ChE 活性度はほとんど変らなかった。この結果より 0.2M DMBA を用いることとした。

正常ウズラの血漿 ChE 活性度を測定した結果を Table 1 に示した。4週令から14週令の間では、1.24~2.65 μ M/ml/min であった。正常ウズラの血漿 ChE に対するエゼリンによる阻害試験の結果を Table 2 に示した。阻害率より判断すると、ウズラの血漿 ChE 量はかなり高く、MICHEL の pH メーター法とほぼ一致した。

次に正常ウズラの赤血球 ChE 活性度を測定した結果を Table 3 に示した。これによると、4週令の雄では平均 0.54 μ M/ml/min、雌では平均 0.63 μ M/ml/min であり、5週令ではかなり低下し、雄では平均 0.21 μ M/ml/min、雌では 0.25 μ M/ml/min であった。この4週令と5週令のウズラ赤血球 ChE 活性度の差が何に起因したのか今後検討を進めていく必要があるものと思われる。正常ウズラの赤血球 ChE に対するエゼリンによる阻害試験の結果を

Table 1 Plasma Cholinesterase Activity of Japanese Quail

Animal No.	Age (Weeks)	μ moles of 3, 3-DMBA hydrolyzed/ml/min	
		Male	Female
1	4	1.57	2.65
2	4	1.48	1.27
3	4	1.62	1.27
4	4	1.37	
5	4	2.48	
Means \pm S. D.		1.70 \pm 0.44	1.73 \pm 0.80
1	14	1.80	1.54
2	14	2.53	1.45
3	14	2.14	1.24
4	14	2.65	
5	14	1.31	
6	14	1.45	
Means \pm S. D.		1.98 \pm 0.55	1.41 \pm 0.15

Table 2 Plasma Cholinesterase Inhibition of Japanese Quail by Eserine

Animal No.	Age (Weeks)	Sex*	μ moles of 3, 3-DMBA hydrolyzed/ml/min		% Inhibition
			Eserine (-)	Eserine (+)**	
1	4	M	1.57	0.07	95.6
2	4	M	1.37	0	100
3	4	M	2.48	0	100
4	4	F	2.65	0.46	82.8

*M ; male, F ; female

**Eserine Concentration ; 1.16×10^{-4} M

Table 3 Red Blood Cells and Brain Cholinesterase Activities of Japanese Quail

A. Red Blood Cells Cholinesterase					
Animal No.	Age (Weeks)	μ moles of 3, 3-DMBA hydrolyzed/ml/min			
		Male	Female		
1	4	0.65	0.61		
2	4	0.43	0.65		
Means \pm S. D.		0.54 \pm 0.11	0.63 \pm 0.02		
1	5	0.22	0.23		
2	5	0.25	0.27		
3	5	0.18	0.19		
4	5	0.20	0.20		
5	5	0.21	0.37		
Means \pm S. D.		0.21 \pm 0.03	0.25 \pm 0.07		
B. Brain Cholinesterase					
1	7	5.13	6.21		

Table 4 Red Blood Cells and Brain Cholinesterase Inhibition of Japanese Quail by Eserine

A. Red Blood Cells Cholinesterase					
Animal No.	Age (Weeks)	Sex*	μ moles of 3,3-DMBA hydrolyzed/ml/min		% inhibition
			Eserine (-)	Eserine (+)**	
1	4	M	0.65	0.23	55.8
2	4	M	0.43	0.19	64.6
3	4	F	0.65	0.28	56.9
4	4	F	0.61	0.22	63.8
5	5	M	0.21	0.14	33.3
6	5	F	0.37	0.17	54.0
B. Brain Cholinesterase					
1	7	M	5.13	0.26	94.9
2	7	F	6.21	0.22	96.5

*M ; male, F ; female

**Eserine Concentration ; 1.16×10^{-4} M

Table 4 に示した。これによると、阻害率は 33.3~64.6 %であり、これまでの MICHEL の pH メーター法でのエゼリンによる阻害率と比較すると 2~3 倍の高率を示した。鳥類の赤血球 ChE 量は、かなり微量であるか、もしくは欠乏しているとされているが^{(6),(7)}、今回の結果よりみると、鳥類にもかなりの量が存在するものと思われる。

正常ウズラの脳 ChE 活性度は、実験に供された検体数が 2 検体と少ないが、Table 4 に示したように 7 週令の雄では、 $5.13 \mu\text{M/g/min}$ 、雌では $6.21 \mu\text{M/g/min}$ であり、血漿や赤血球の ChE 活性度と比べてかなり高かった。それぞれのエゼリンによる阻害率は Table 4 に示した。

む す び

今回 ChE 定量法として用いた CRANMER らの方法は上述のように ChE 定量法として十分に応用しようという結果を得、また特にウズラの赤血球 ChE に関しては重要な知見がえられた。今後この定量法について、さらに検討を進めていくと同時に、鳥類およびその他の動物の ChE を測定し、生体影響調査の一環としても役立てたいと考える。

最後に、ウズラを提供し、ご指導を賜った本衛生研究所服部睦作科長に感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) AMMON, R.: Pflüger's Arch. f. ges. Physiol., **233**, 486 (1933)
- 2) MICHEL, H. O.: J. Lab. Clin. Med., **34**, 1564 (1949)
- 3) CRANMER, M. F. et al.: J. Chromatogr., **57**, 365 (1971)
- 4) 佐藤秀男ら: 本誌 (印刷中), (1974)
- 5) MENDEL, B. et al.: Biochem. J., **37**, 473 (1943)
- 6) AUGUSTINSSON, K.-B.: Acta physiol. Scand., **15**, Suppl., 52 (1948)
- 7) TANABE, A. et al.: Jap. J. vet. Sci., **33**, 111 (1971)