TECHNICAL REPORT
05-60
業 績 報 告 書

IMMUNOLOGICAL EVIDENCE OF CATALASE DEFICIENCY IN HUMAN HEREDITARY ACATALASEMIA

人間の遺伝性無カタラーゼ血症における カタラーゼ欠乏の免疫学的判定

EDWIN T. NISHIMURA, M.D.
THOMAS Y. KOBARA, B.A.
SHIGEO TAKAHARA, M.D. （高原滋夫）
HOWARD B. HAMILTON, M.D.
SIDNEY C. MADDEN, M.D.

原爆傷害調査委員会
ATOMIC BOMB CASUALTY COMMISSION
ABCC

THE ABCC TECHNICAL REPORT SERIES
ＡＢＣＣ業績報告集

The ABCC Technical Reports provide a focal reference for the work of the Atomic Bomb Casualty Commission. They provide the authorized bilingual statements required to meet the needs of both Japanese and American components of the staff, consultants, advisory councils, and affiliated governmental and private organizations. The reports are designed to facilitate discussion of work in progress preparatory to publication, to record the results of studies of limited interest unsuitable for publication, to furnish data of general reference value, and to register the finished work of the Commission. As they are not for bibliographic reference, copies of Technical Reports are numbered and distribution is limited to the staff of the Commission and to allied scientific groups.

この業績報告書は，ＡＢＣＣの今後の活動に対して重点的の参考資料を提供しようとするものであって，ＡＢＣＣ職員・顧問・協議会・政府及び民間の関係諸団体等の要求に応ずるための記録である．これは，実施中で未発表の研究の検討に役立たせ，学問的に興味が限定せられていて発表に適しない研究の成果を収録し，或は広く参考になるような資料を提供し，又ＡＢＣＣにおいて完成せられた業績を記録するために計画されたものである．論文は文献としての引用を目的とするものではないから，この業績報告書各冊には一連番号を付してＡＢＣＣ職員及び関係方面にのみ配布する．

TECHNICAL REPORT
05-60
業 績 報 告 書

IMMUNOLOGICAL EVIDENCE OF CATALASE DEFICIENCY IN HUMAN HEREDITARY ACATALASEMIA

人間の遺伝性無カタラーゼ血症における カタラーゼ欠乏の免疫学的判定

EDWIN T. NISHIMURA, M.D.[1]
THOMAS Y. KOBARA, B.A.[2]
SHIGEO TAKAHARA, M.D.[3] (高原滋夫)
HOWARD B. HAMILTON, M.D.[2]
SIDNEY C. MADDEN, M.D.[1]

From ABCC Departments of Pathology[1] and Clinical Laboratories[2]
and the Department of Otohinolaryngology, Okayama University Medical School, Okayama[3].
ＡＢＣＣ病理部[1]，臨床検査部[2]，及び岡山大学医学部耳鼻咽喉科学教室[3]

ATOMIC BOMB CASUALTY COMMISSION
Hiroshima - Nagasaki, Japan

A Research Agency of the
U.S. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES - NATIONAL RESEARCH COUNCIL
under a grant from
U.S. ATOMIC ENERGY COMMISSION
administered in cooperation with the
JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH of the MINISTRY OF HEALTH & WELFARE

原爆傷害調査委員会
広島－長崎

厚生省国立予防衛生研究所
と共同運営される
米国学士院－学術会議の在日調査研究機関
（米国原子力委員会研究費に依る）

TABLE OF CONTENTS
目　次

	Page
Introduction 緒　言	1
Materials and Methods 材料および方法	2
Results 結　果	3
Discussion 考　按	6
Summary 総　括	9
References 参考文献	10

LIST OF TABLES AND FIGURES
挿入図表一覧表

		Page
Table 表	1 Quantitative precipitin reaction between normal human erythrocyte catalase and AHCS 正常人間赤血球カタラーゼとＡＨＣＳとの間の定量沈降反応	4
	2 Comparison of precipitin reactions between erythrocyte extracts and AHCS 赤血球抽出物とＡＨＣＳとの間の沈降反応の比較	5
Figure 図	1 Reactions to microdouble diffusion 微量二重拡散法による反応	6
	2 Pedigree of acatalasemic family 13 MI 無カタラーゼ血症家族13ＭＩの家系	7

INTRODUCTION
緒　言

In recent publications[1,2] hypocatalasemia, the carrier state of acatalasemia was defined chemically by a laboratory test permitting a phenotypic identification of the heterozygote from hymozygotes among siblings and parents of affected families. The test for detecting the anomalous states used by the authors in previous studies was based on the enzymic activity of catalase in erythrocytes and did not distinguish whether the defective catalytic action of the enzyme in affected individuals was due to disturbed biosynthesis of catalase protein or whether certain enzyme-inhibiting agents might be responsible for the deficiency state. The present investigation attempts to probe by immunological means the nature of the defect in acatalasemia and hypocatalasemia.

最近の報告[1,2]において無カタラーゼ血症の保因状態である低カタラーゼ血症が化学的検査によって決定された．この方法は無カタラーゼ血症家族の同胞および両親について異型接合体と同型接合体とをはっきり区別出来るものである．この異常状態を検出するために用いた検査は，赤血球中のカタラーゼの酵素活性を調べることに基礎をおくもので，無カタラーゼ血症および低カタラーゼ血症の酵素触媒作用の欠陥が，カタラーゼ蛋白の生合成の障害によるものであるか，あるいはある酵素抑制因子の存在によるものであるかをこの検査法では区別することは出来なかった．今回の研究の意図は，無カタラーゼ血症および低カタラーゼ血症におけるカタラーゼ酵素活性の欠陥の性質を免疫学的検査方法で検討することである．

MATERIALS AND METHODS

Catalase from human erythrocytes was prepared from 50 liters of "outdated" citrated whole blood which was kindly supplied by the 406 General Medical Laboratory of the United States Armed Forces in Japan. The purification of catalase was carried out by using the method of Herbert and Pinsent.[3] The final catalase preparation employed for this study had a Kat_f value of 60,000 and was used as the antigen for inducing antibody formation in rabbits. Rabbits were used because they have been shown by Deutsch and Seabra[4] to be capable of producing adequate titers of antibody against human catalase. The purified antigen (catalase) was administered intramuscularly in Freund's adjuvant[5] containing 2.0 mg of the purified catalase for each ml of the

材料および方法

在日米軍第 406総合医学研究所の好意によって提供された“期限（輸血有効）切れ”クエン酸添加全血50ℓから人間赤血球カタラーゼを得た．カタラーゼの精製は Herbert および Pinsent の方法[3] によって行なった．この研究に使用された最終カタラーゼ製剤は，Kat_f 値が60,000で，これを家兎の抗体の産生誘発に対する抗原として用いた．家兎を使用したのは，家兎は人間カタラーゼに対して十分な適定量の抗体を産生する能力があることが Deutsch および Seabra[4] によって証明されているからである．精製抗原（カタラーゼ）は1mℓ当り 2.0mgの精製カタラーゼを含む Freund 補助液[5] として筋肉内に注射した．体重がそれぞれ約

injection mixture. Eight rabbits weighing approximately 2500 gm each were given 1 ml of the antigen mixture at weekly intervals for six weeks. Periodically the antibody reaction was checked against purified catalase by Oudin's single diffusion agar gel technique[6] and after a course of six injections of the antigen, animals which had relatively high titers were bled by cardiac puncture and their sera pooled. The titer of the pooled sera was checked against purified catalase by precipitin reaction and found to be positive 1:1024. This preparation will be referred to, hereafter, as rabbit anti-human catalase serum or AHCS.

Freshly acquired heparinized samples of blood were obtained from subjects in three families in which acatalasemia had been detected earlier.[2] The samples were refrigerated and immediately transported to the laboratory of the Atomic Bomb Casualty Commission (ABCC) in Nagasaki, where the processing for antigen preparation was carried out as follows.

The enzymatic activity of catalase in erythrocytes was first determined for each sample using the procedure described earlier.[2] The presence of antigen (catalase protein) in erythrocytes was investigated in the following manner:

The red blood cells were separated by low speed centrifugation from 1.0 ml aliquots of each of the blood samples; washed three times with physiological saline; and after measuring the packed cell volume, they were hemolyzed in an equal volume of distilled water. An equal volume of 3:1 ethanol-chloroform mixture was added to the hemolysate dropwise, with constant stirring. The floccules of denatured hemoglobin which developed were removed by centrifugation in Servall SS-1 centrifuge. The supernatant was carefully dried by evaporation under vacuum at room temperature. The dry residue was then reconstituted with physiological saline solution to a volume equal to the original packed red cells and was qualitatively

2500g の８匹の家兎に１週毎に抗原混合液を1 mℓ づつ計６週間に亘って投与した．Oudinの単一拡散寒天，ゲル法[6]によって精製カタラーゼに対する抗体反応を定期的に検査した．抗原の注射を６回行なった後，比較的高い適定濃度を持っている動物より心臓穿刺によって採血し，その血清をそれぞれ集めた．集められた血清の適定量は精製カタラーゼを用いて沈降反応によって検査され１：1024まで陽性であることが確かめられた．以後これを家兎の抗人間カタラーゼ血清，すなわちＡＨＣＳということにする．

以前に無カタラーゼ血症例が検出されている３家族[2]の家族員から新鮮なヘパリン添加血液標本を入手した．標本は直ちに長崎の原爆傷害調査委員会（ＡＢＣＣ）の検査室へ冷蔵輸送され，そこで抗原剤に関する処理が次の方法によって行なわれた．

以前の報告[2]に説明した方法によって各標本について赤血球中のカタラーゼ酵素活性を先ず決定した．赤血球中の抗原（カタラーゼ蛋白）の存在は次の方法で調べた．

各々の血液標本の1.0 mℓ について低速遠心し，分離した赤血球を生理的食塩水で３回洗滌し，赤血球容積を測定した後で，等量の蒸留水を加えて溶血する．絶えず撹拌しながら等量の３：１エタノール，クロロホルム混合液を１滴ずつこの溶血物に加え，発生した変性血色素絮片を Servall SS－１遠心分離器で遠心除去する．上澄液は室温で真空蒸発法で注意深く乾燥する．次いで乾燥した残滓物に生理的食塩水を加えて再溶解し，初めの赤血球容積と等量にして30％過酸化水素水，

tested for catalase activity with 30 per cent hydrogen peroxide (Superoxol).

Serological tests employed the micro-double diffusion precipitin method[7] which did not require recharging of the wells; and the capillary precipitin ring test, performed as in the C-reactive protein method.[8] These techniques were selected because of extremely small amounts of antigenic material in available samples.

(Superoxol) でカタラーゼ活性に対する定性検査を実施した.

血清学的検査に当っては，抗原抗体の補充を必要としない微量二重拡散沈降法[7] およびC－反応蛋白法[8] に用いられると同様の毛細管沈降輪環検査法を使用した．これらの方法を選択したのは，利用し得る標本中の抗原物質が極めて微量であるためである．

RESULTS

In order to estimate the degrees of sensitivity of AHCS and the antigen prepared from normal blood samples, a rough quantitation utilizing the capillary precipitin ring test was carried out by serial dilutions of AHCS against normal catalase antigen preparations having progressively lower degrees of enzymic activity (serially diluted) equivalent to values ranging from 4.91 to 0.02 expressed in K_{cat} units*. The normal erythrocyte catalase antigen was prepared as described above from pooled blood samples of ten blood group A subjects who were unrelated to the acatalasemic families. Precipitin reactions and the controls used are shown in Table 1. From this test it is apparent that although AHCS is not potent antiserum it is adequate for the detection of small quantities of catalase protein possessing extremely minute enzymic activity. It is to be noted that end points of the precipitin reaction for various dilutions of antigen and antibody do not follow the usual pattern. This phenomenon probably can be explained by the fact that an extremely small quantity of antigenic catalase protein is employed in the procedure. The antigen dilutions recorded in Table 1 are expressions of the antigenic protein in respect to the relative rates of enzymic catalysis of catalase. The test indicates that antigenic protein

結　果

ＡＨＣＳおよび正常血液標本から作成された抗原の敏感度を推定するために，毛細管沈降輪環検査法を利用してK_{cat}単位*が4.91から0.02に相当する範囲で漸次低下する酵素活性を有する正常カタラーゼ抗原（倍数希釈液）に対するＡＨＣＳの倍数希釈液の反応を求めて，おおまかな定量を行なった．正常赤血球カタラーゼ抗原は，無カタラーゼ家族とは無関係なＡ群10名の血液標本を集めて前述の如き方法で作成した．沈降反応および使用した対照は表１に示してある．ＡＨＣＳは強力な抗血清ではないが，極めて微弱な酵素活性を有するカタラーゼ蛋白の少量を検出するには十分であることがこの検査から明らかである．抗原および抗体の種々の希釈液に対する沈降反応の終点は通常の型ではないことが注目される．この現象は，この検査で用いられたカタラーゼ蛋白抗原の量が極めて少ないという事実によって恐らく説明できると思われる．表１に記録した抗原希釈度は，カタラーゼの酵素触媒作用の相対的比率をもって表わした蛋白抗原値である．検査によって，カタラーゼ活性が K_{cat} 0.04程度に弱い蛋白抗原でもＡＨＣＳによって容易に検出され得ることが示されている．したがって，無カタラーゼ血症および

*K_{cat} *is an expression of first order velocity constant* K_1 *multiplied by* 10^3 *(See reference 2).*

K_{cat} は一次速度定数K_1を10^3 倍したものである（参考文献２を参照）．

with catalase activity as low as K_{cat} 0.04 can be detected readily by the AHCS preparation. Hence, this test is sufficiently sensitive to detect the catalase protein if it is present in the erythrocytes of acatalasemics and hypocatalasemics.

低カタラーゼ血症者の赤血球中にこの酵素蛋白が存在すれば，この検査で十分カタラーゼ蛋白の存在を検出できる感受性を有する．

TABLE 1 QUANTITATIVE PRECIPITIN REACTION BETWEEN NORMAL HUMAN ERYTHROCYTE CATALASE AND AHCS

表1 正常人間赤血球カタラーゼとＡＨＣＳとの間の定量沈降反応

AHCS DILUTION ＡＨＣＳ希釈度	ACTIVITY OF ANTIGEN IN K_{cat} UNITS K_{cat} 単位で表わした抗原の活性									CONTROLS 対照		
	4.91	2.45	1.22	0.61	0.30	0.15	0.07	0.04	0.02	HB	S	PC
1: 2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
1: 4	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
1: 8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
1: 16	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
1: 32	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
1: 64	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
1:128	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
1:512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

+ = Indicates unequivocally positive reaction 明らかな陽性反応

S = Physiological saline 生理的食塩水

HB = Hemolyzed blood 溶血した血液

PC = Purified catalase 精製カタラーゼ

For all serological procedures, the following controls were simultaneously tested:

a. Physiological saline solution against AHCS,

b. Hemolysate of normal erythrocytes against AHCS,

c. Purified catalase (Kat_f 60,000) against AHCS.

When examining samples of catalase antigen prepared from subjects of acatalasemic families, the following additional controls were included:

d. Extract of erythrocyte catalase from normal blood against normal serum,

e. Physiological saline solution against human plasma, and

f. Human plasma against AHCS.

すべての血清学的検査に当って，下記の対照を同時に検査した．

a）ＡＨＣＳ対生理的食塩水，

b）ＡＨＣＳ対正常赤血球溶血物，

c）ＡＨＣＳ対精製カタラーゼ（Kat_f60,000）

無カタラーゼ家族の家族員から作成したカタラーゼ抗原の標本を検査した時は次の対照を追加した．

d）正常血清対正常血液赤血球カタラーゼ抽出物，

e）人間血漿対生理的食塩水，

f）ＡＨＣＳ対人間血漿，

The precipitin reactions of capillary precipitin ring tests and microdouble diffusion for blood samples of individuals in three acatalasemic families are presented in Table 2. The results show a close agreement of precipitin reactions in the two techniques employed. The only discrepancy occurs in case of Yu of family 13 MI where a positive precipitin reaction was recorded for the capillary tube method while a negative reading was obtained with the microdouble diffusion technique. The results in all other

無カタラーゼ3家族の家族員の血液標本について行なった毛細管沈降輪環検査法および微量二重拡散検査法の沈降反応は表2に示してある．その結果，採用された2つの方法の沈降反応は密接な一致を示している．唯一の相違は，家族13ＭＩの症例Ｙｕに認められ，その場合毛細管法では沈降反応は陽性であると記録されたが微量二重拡散方法では陰性であった．その他のすべての標本に対する結果は，この2つの方法で本質的に同一で

TABLE 2 COMPARISON OF PRECIPITIN REACTIONS BETWEEN ERYTHROCYTE EXTRACTS AND AHCS
表2　赤血球抽出物とＡＨＣＳとの間の沈降反応の比較

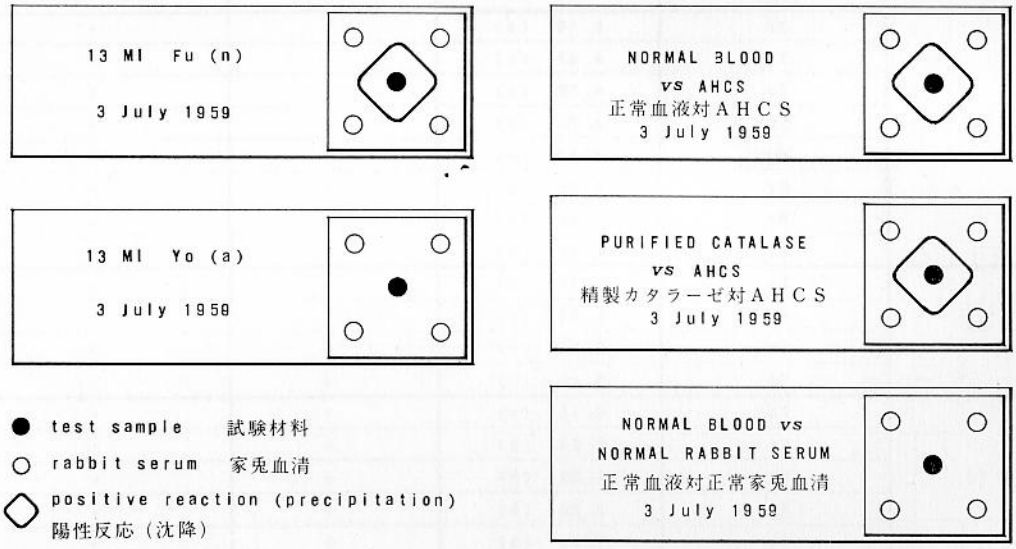
FAMILY* 家族	SUBJECT 家族員	K_{cat} UNIT** 単位	CAPILLARY METHOD 毛細管法	MICRODOUBLE DIFFUSION 微量二重拡散法
13 MI	Yo	0.16 (a)	-	-
	Yu	4.43 (n)	+	-
	Sa	4.20 (n)	+	+
	Sh	4.71 (n)	+	+
	Fu	5.84 (n)	+	+
	Ni	4.03 (n)	+	+
	No	3.96 (n)	+	+
	Nh	4.82 (n)	+	+
1 NA	Su	0.12 (a)	-	-
	Ka	0.00 (a)	-	-
	Se	2.61 (h)	+	+
	Yo	5.46 (n)	+	+
2 FU	Ju	0.10 (a)	-	-
	Ki	2.39 (h)	+	-
	Sh	4.59 (n)	+	-
	Ta	2.26 (h)	+	+
	Hi	2.45 (h)	+	+
	To	4.45 (n)		+
CONTROLS 対照	PURE CATALASE vs AHCS 精製カタラーゼ対ＡＨＣＳ		+	+
	NORMAL ERYTHROCYTES vs AHCS 正常赤血球対ＡＨＣＳ		+	+
	NORMAL PLASMA vs AHCS 正常血漿対ＡＨＣＳ		-	-
	NORMAL ERYTHROCYTES vs NORMAL SERUM 正常赤血球対正常血清		-	-
	PHYSIOLOGICAL SALINE vs AHCS 生理的食塩水対ＡＨＣＳ		-	-
	NORMAL PLASMA vs PHYSIOLOGIC SALINE 正常血漿対生理的食塩水		-	-

*The designation of families follows that suggested by Takahara[2,9]
家族番号は高原に従った.[2,9]
** (a) - Acatalasemia 無カタラーゼ血症 (h) - Hypocatalasemia 低カタラーゼ血症 (n) - Normal 正常
The numerical values (K_{cat}) are essentially the same as those previously described for these subjects[2]. The results, however, were reconfirmed in the present study.
数値（K_{cat}）は，これらの家族員について以前に報告したもの[2]と本質的には同一である．ただし，この数値は今回の調査で求められたものである．

samples are essentially identical in the two methods. Typical positive reactions for the microdouble diffusion method are shown in Figure 1. All acatalasemic blood samples show negative reaction while hypocatalasemic and normal blood samples are all positive with the exception of the one negative noted above in the microdouble diffusion method in case Yu. Precipitin reactions in these tests show good correlation with the catalase reaction velocity constant, K_{cat}.

あった．微量二重拡散法での典型的陽性反応は図1に示した．無カタラーゼ血液標本はいずれも陰性反応を示したが，低カタラーゼおよび正常血液標本は，症例 Yu が微量二重拡散法で上述の如く陰性と認められたこと以外には，いずれも陽性であった．これらの検査における沈降反応は，カタラーゼ反応速度定数 K_{cat} と完全な相関関係を示す．

FIGURE 1 REACTIONS TO MICRODOUBLE DIFFUSION
図1 微量二重拡散法による反応



DISCUSSION

The negative precipitin reactions in the four subjects with acatalasemia suggest that erythrocyte catalase protein is either totally deficient or structurally altered in acatalasemia. There appears to be no need, therefore, to postulate that the defect in acatalasemia is due to an enzyme inhibition.

Working independently, while these studies still were in progress, Kajiro[10] stated in a brief report that, in one case of acatalasemia examined by him, catalase protein could not be detected by the

考 按

無カタラーゼ血症患者4名において沈降反応が陰性であることは，無カタラーゼ血症では赤血球カタラーゼ蛋白が全く欠除しているか，あるいはその構造が変化していることを示唆する．従って無カタラーゼ血症における欠陥は酵素機能の抑制によるものであると仮定する必要はないように見受けられる．

我々の研究が進行中であった時に，独自の研究を実施した上代[10]は，彼の簡単な報告の中で無カタラーゼ血症の1例において血清学的検査を行

serological test. Although the data presented by him were inadequate for critical evaluation, the results presented in this report are in agreement.

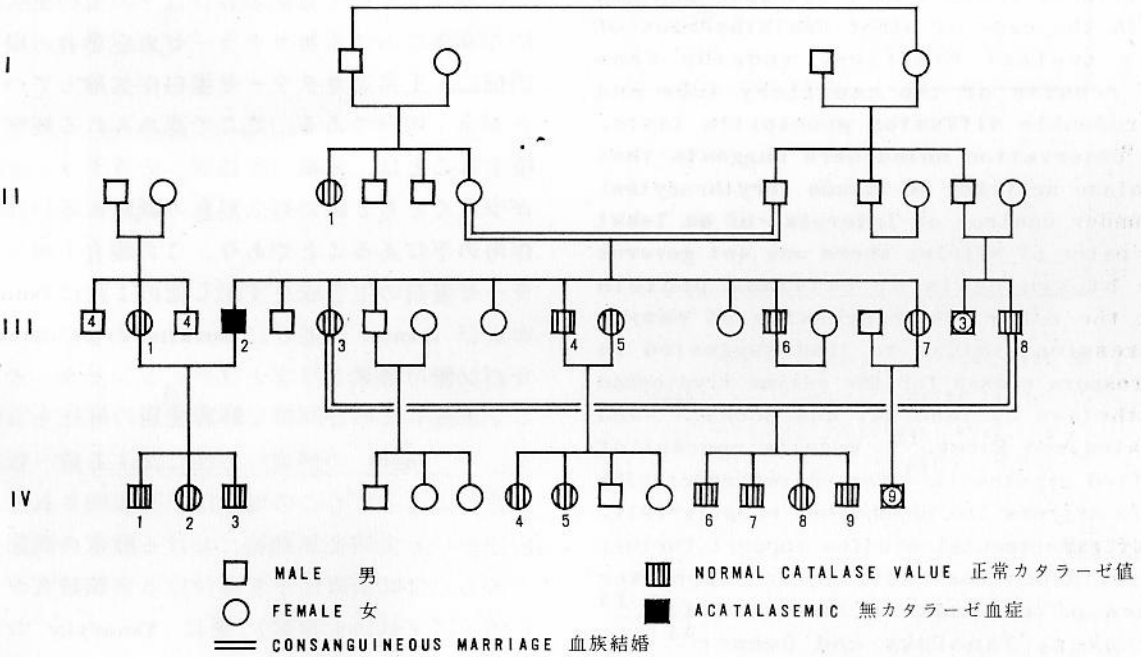
The previous studies[1,2] showed that in all acatalasemic families those individuals heterozygous for the gene responsible for acatalasemia had reduced erythrocyte catalase activity with the exception of family 13 MI (Figure 2). Thus, for most of the families the genetic character of the disorder appears to be a semidominant or incomplete recessive one.

なったが，カタラーゼ蛋白を検出し得なかったことを述べた．彼が発表した資料は精密な判定を下すには不十分であるが我々の結果と一致している．

家族13ＭＩ（図２）を例外として，すべての無カタラーゼ家族において，無カタラーゼ血症の原因となる遺伝子に対して異型接合体である者は，赤血球カタラーゼ活性が減弱していたことが以前の我々の研究[1,2]で認められた．かくして，これらの家族の大部分においてこの障害の遺伝形質は半優性であるか，あるいは不完全劣性である．

FIGURE 2 PEDIGREE OF ACATALASEMIC FAMILY 13 MI

図２ 無カタラーゼ血症家族13ＭＩの家系



It is of considerable interest that in family 13 MI (Figure 2 and Table 2) aberrant results of enzymic activity of erythrocyte catalase were observed in three offspring (Table 2, family 13 MI, Yu, Sa, Sh) of the propositus, who is acatalasemic (Table 2, family 13 MI, Yo), and married to a "catalase normal" female

家族13ＭＩ（図２及び表２）では，この家系の発端者である無カタラーゼ血症患者（表２，家族13ＭＩ，Ｙｏ）は“正常カタラーゼ”の女性（表２，家族13ＭＩ，Ｆｕ）と結婚しているが，その子供３名（表２，家族13ＭＩ，Ｙｕ，Ｓａ，Ｓｈ）には赤血球カタラーゼの酵素活性に関して異なった結果

(Table 2, family 13 MI, Fu). Had the genetic pattern of this family been that of semi-dominant character as in the others, the heterozygous offspring would then show **intermediate** catalytic activity of the erythrocyte catalase. This, however, was not the case and the probability that these three children were illegitimate is considered very unlikely in view of the fact that ABO, MN, and Rh blood factors of the parents and offspring studied in the laboratory seem to exclude such a possibility.

が観察されたのはかなり興味のあることである．この家族における遺伝形式が他の家族と同様に半優性のものであるならば，異型接合の子供の赤血球カタラーゼは**中間的な**触媒活性を示したであろう．しかしこの例ではそうではない．また我々の検査室で調べた両親および子供のＡＢＯ式血液型，ＭＮ式血液型およびＲｈ因子によれば，これら３名の子供が実子であるに違いない．

The propositus (family 13 MI, Yo), in this instance, seemingly carries a gene which does not transmit to the heterozygous offspring the trait characterized by decrease of catalase activity (hypocatalasemia). It is quite apparent that this acatalasemic individual lacks normal catalase protein as in the case of other acatalasemics of more typical families, judging from the results of the capillary tube and microdouble diffusion precipitin tests. The observation noted here suggests that catalase activity of tissue (erythrocytes) is under control or interplay of at least two pairs of alleles where one set governs the biosynthesis of catalase protein and the other the repression of **enzyme expression** similar to that suggested in **Neurospora crassa** for the enzyme tryptophan synthetase by Yanofsky and Bonner[11] and Suskind and Kurek.[12] Vogel's concept of unified hypothesis[13] for enzyme reactivity would express the phenomenon equally well. Other experimental studies support further the evidence for modifier or suppressor genes of enzymes in mutant cells.[14] Moreover, Yanofsky and Bonner[11] and Bonner[15] state that the locus of suppressor genes is distinct from the original enzyme locus and no linkage exists between the two loci for at least their experimental model. Horowitz supports this view.[16]

この場合の家系発端者（家族13ＭＩ，Ｙｏ）はカタラーゼ活性の減少（低カタラーゼ血症）を特徴とする素質を異型接合の子供に伝えない遺伝子を有しているように思われる．毛細管検査法および微量二重拡散沈降検査法の結果から判断して，この無カタラーゼ血症患者にはその他の更に典型的な家族における無カタラーゼ血症患者の場合と同様に，正常なカタラーゼ蛋白が欠除していることが全く明白である．ここで認められる観察が示唆することは，組織（赤血球）のカタラーゼ活性が少なくとも２組の対立形質の調節あるいは相互作用の下にあることであり，この場合１組はカタラーゼ蛋白の生合成を支配し他の１組はYanofsky および Bonner[11] 並びに Suskind および Kurek[12] が**パン黴**の酵素トリプトファン，シンセターゼに対して示唆したのと同様な**酵素発現**の抑圧を支配する． Vogel の酵素反応性に関する統一仮説の概念[13] によってもこの現象は十分説明される．このほかにも突然変異細胞における酵素の調節遺伝子あるいは抑制遺伝子を裏付ける実験研究がある（例えば文献14を参照）．更に Yanofsky および Bonner[11] 並びに Bonner[15] は抑制因子座は本来の酵素座と異なっており，少なくともその実験模型については，これらの２つの座の間に連鎖はないと報告した． Horowitz はこの見解を支持する.[16]

Additional support for the hypothesis of dual allele control of catalase activity is lent by observations in another genetically determined human metabolic disorder, congenital galactosemia. Here the impair-

２つの対立形質がカタラーゼ活性を調節するという仮説を更に支持するものに，もう１つの人間の遺伝的代謝障害，すなわち先天性ガラクトース血症の観察所見がある．この場合，ガラクトー

ment of galactose metabolism occurs both in children and parents[17] and not necessarily in both parents.[18] Kirkman and Kalckar[18] believe that the genetic determinants of this disorder may involve a supressor gene. However, they do not exclude in their consideration the possibility that two or more different forms of galactosemia exist. Likewise, suggested here is the possibility that the form of acatalasemia represented by family 13 MI was a variety distinct from the more typical type.[2] The present immunological study appears definitely to establish that a total deficiency or a structural modification of the catalase molecule exists in this case as well as in the other acatalasemic individuals who were investigated. Support of the modifier gene hypothesis of enzyme activity awaits further observations on other human hereditary disorders.

ス代謝の障害は子供と親に生じている[17]が，必ずしも両親に生じていない．[18] Kirkman および Kalckar[18] はこの障害の遺伝的決定因子は抑制遺伝子と関係があるかも知れないと考えたが，彼等の考察では２つ以上の異なった種類のガラクトース血症が存在する可能性がないとはしていない．同様に我々は家族13 MI に表われた無カタラーゼ血症の種類は典型的な種類のものとは明らかに別のものであると考えた[2]．現在の免疫学的研究では，調査された他の無カタラーゼ血症患者と同様にこの患者にもカタラーゼ分子の完全欠除あるいは構造上の変化が存在していることを明確にしているように見受けられる．酵素活性の調節遺伝子仮説を裏付けるには更にその他の人間における先天的障害を観察する必要がある．

SUMMARY

Using a purified preparation of human erythrocyte catalase, an antiserum was produced in rabbits. Red blood cell extracts which normally contain catalase were tested by precipitin reactions (capillary tube method and microdouble diffusion method) against the rabbit anti-human catalase serum. Tests were negative with acatalasemic erythrocytes and positive with hypocatalasemic and normal red cells. The biochemical defect in acatalasemia appears to be either an absence of erythrocyte catalase or a faulty molecular configuration of it.

Genetically in the more common or typical form of acatalasemia, the defect is transmitted as a semidominant or incomplete recessive character. In one unusual acatalasemic family, an involvement of catalase modifier genes or supressor genes is suggested. The supressor genes are believed to alter the catalase activity of erythrocytes by repression of **enzyme expression** in a manner similar to that postulated for **Neurospora crassa** in reference to tryptophan synthetase.

総　括

人間赤血球カタラーゼの精製剤を使用して，家兎に抗血清を産生した．普通カタラーゼを含んでいる赤血球抽出物を家兎の抗人間カタラーゼ血清に対する沈降反応（毛細管法および微量二重拡散法）によって検査した．検査の結果は，無カタラーゼ赤血球では陰性であり，低カタラーゼおよび正常赤血球では陽性であった．無カタラーゼ血症における生化学的欠陥は赤血球カタラーゼの欠除か，あるいはその分子配列の不完全であるように見受けられる．

最も普通の型，すなわち典型的な種類の無カタラーゼ血症においては，遺伝的にこの欠陥は半優性あるいは不完全劣性形質として伝達される．例外的な１無カタラーゼ家族では，カタラーゼ調節遺伝子あるいは抑制遺伝子が侵されていることが示唆される．抑制遺伝子はトリプトフアン,シンセターゼに関して**パン黴**について仮定されているものと類似した方式で**酵素発現**の抑制によって赤血球のカタラーゼ活性を変更するものと思われる．

REFERENCES
参考文献

1. Nishimura, E. T., Hamilton, H. B., Kobara, T. Y., Takahara, S., Ogura, Y., and Doi, K.: Carrier state in human acatalasemia. Science 130:333-334, 1959. (ABCC TR-01-59)
(人間における無カタラーゼ血症の保因状態)

2. Takahara, S., Hamilton, H. B., Neel, J. V., Kobara, T. Y., Ogura, Y., and Nishimura, E. T.: Hypocatalasemia: A new genetic carrier state. J. Clin. Invest. 39:610-619 1960 (ABCC TR-05-59)
(低カタラーゼ血症: 新しい遺伝的保因状態)

3. Herbert D. and Pinsent, J.: Crystalline human erythrocyte catalase. Biochem. J. 43:203-206, 1948.
(結晶性人間赤血球カタラーゼ)

4. Deutsch, H. F. and Seabra, A.: Immunochemical studies and assay of catalase. J. Biol. Chem. 214:455-462, 1955.
(カタラーゼの免疫学的研究および分析)

5. Freund, J. and McDermott, K.: Sensitization to horse serum by means of adjuvants. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 49:548-553, 1942.
(補助液によるウマ血清に対する感作)

6. Munoz, J. and Becker, E. L.: Antigen-antibody reactions in agar. 1. Complexity of antigen-antibody systems as demonstrated by a serum-agar technic. J. Immun. 65: 47-58, 1950.
(アガールにおける抗原抗体反応: 1. 血清アガール方法で示される抗原抗体体系の複雑性)

7. Yakulis, V. J. and Heller, P.: Rapid slide technic for double diffusion agar precipitin test. Am. J. Clin. Path. 31:323-325, 1959.
(二重拡散アガール沈降素検査のための迅速スライド方法)

8. Anderson, H. C. and McCarty, M.: Determination of C-reactive protein in the blood as a measure of the activity of the disease process in acute rheumatic fever. Am. J. Med. 8:445-455, 1950.
(急性リューマチ熱における病状の活動性の尺度としての血液中のC—反応蛋白の定量)

9. Takahara, S., Ogura, Y., and Doi, K.: Statistical study of acatalasemia, a review of thirty-eight cases appearing in the literature. Acta Med. Okayama 13:209-219, 1959.
(無カタラーゼ血症の統計的調査. 文献に現われた38症例の検討)

10. 上代皓三: 無カタラーゼ症の免疫学的研究, 昭和33年度文部省研究費による研究報告集録, 医学および薬学編. 東京, 日本学術振興会 1959 p.184.

(Immunological study of acatalasemia. General report of the cooperative research (Medicine) by the Education Ministry for 1958, Tokyo, Japan Science Promotion Society, 1959, p. 184.)

11. Yanofsky, C. and Bonner, D.M.: Gene interaction in tryptophan synthetase formation. Genetics 40:761-769, 1955.
(トリプトファン シンセターゼ形成における遺伝子の相互作用)

12. Suskind, S. R. and Kurek, L. I.: On a mechanism of supressor gene regulation of tryptophan synthetase activity in Neurospora crassa. Proc. Nat. Acad. Sci. 45:193-196, 1959.
(パン黴におけるトリプトファン シンセターゼ活性の抑制遺伝子による調節の機序について)

13. Vogel, H. J.: Repressed and induced enzyme formation: A unified hypothesis. Proc. Nat. Acad. Sci. 43:491-496, 1957.
(酵素形成の抑圧および誘発: 統一仮説)

14. Glass, B.: In Pursuit of a gene. Science 126:683-689, 1957.
(遺伝子の研究について)

15. Bonner, D. M.: The genetic unit. Cold Spring Harbor Quant. Biol. 21:163-170, 1956.
(遺伝学的単位)

16. Horowitz, N. H.: Progress in developing chemical concept of genetic phenomena. Fed. Proc. 15:818-822, 1956.
(遺伝学的現象の化学的概念の発展における進歩)

17. Bretthauer, R.K., Hansen, R. G., Donnell, G., and Bergren, W.R.: A procedure for detecting carriers of galactosemia. Proc. Nat. Acad. Sci. 45:328-331, 1959.
(ガラクトース血症保因者検出のための方法)

18. Kirkman, H. N. and Kalckar, H. M.: Enzymatic deficiency in congenital galactosemia and its heterozygous carriers. Ann. N. Y. Acad. Sci. 75:274-278, 1958.
(先天性ガラクトース血症およびその異型接合性保因者における酵素欠乏)