

鶏の血漿蛋白に及ぼす⁸⁹Srの影響 (I)

安川正敏・長野慶一郎・高良実之・佐藤虎門

Influence of ⁸⁹Sr on the Plasma Proteins in Domestic Fowl (I)

Masatoshi YASUKAWA, Keiichirō NAGANO, Miyuki KŌRA and
Komon SATŌ

(*Laboratory of Veterinary Physiology*)

緒 言

家鶏の肝機能に対し、放射能がどのように影響するか。この主題の下に、著者らはまず血漿蛋白分層への影響を探り上げてみた。いうまでもなく、血漿蛋白の変動において、中枢的意義をもつのは、肝機能と考えられるからである。

放射性同位元素としては⁸⁹Srを使用した。この選定には格別の根拠があるわけではないが、Fission productとして⁹⁰Srが最も危険視されることが主な理由である。⁸⁹Srを使用したのは⁹⁰SrのContaminationへの顧慮もあるが、⁹⁰Srよりも比較的文献(^{1~6})が多く、比較検討に便宜なためでもある。といつても、これらの諸成績は器官への分布、或は、血液学的検索を主としており、蛋白分層についての報告は見当らない。

尚、周知の如く、Srは骨組織への親和性が特に強く、従つて蛋白分層を対象とする限りでは、必ずしも適当ではない。しかし、もちろん肝組織へ分布しないわけではない。例えは、PECHER(²)はマウスに⁸⁹Srを静注し、24h後における各器官の分布量を測定し、肝におけるそれは湿性重量 gm 当り%として0.07であつたと記載し、岡本ら(⁸)は家兎に⁹⁰Srを50μc筋注し、53日後に肝臓1gm当り48.9 cpmのActivityを認めている。更に岡本ら(¹)は家兎に0.025μc/gmの注入で、肝の著明な鬱血、小葉中心部における肝細胞索の軽度の萎縮、小葉周辺部の肝細胞索の肥大、肝細胞核の容積増大、核中心の染色性消失及び核膜濃染等の所見をえている。

さて、著者らは成鶏に0.01~0.5μc/gmの⁸⁹Srを皮下注射し、その血漿をTiselius電気泳動装置によつて分析したのである。実験例数は4例(他に対照3例)に過ぎないが、しかし、一応の所見をえたので第Ⅰ報として報告したい。尚、第Ⅱ報以下において、⁸⁹Srの增量注入及び肝親和性の強いRIによる追究を試みる予定である。

実 験 方 法

1. 白レグ種の鶏、月令8~10月のものを使用し、一定飼料で飼育した。
2. 血球は、胸部の末梢静脈から採血して常法によつて算定した。塗沫標本はArmitage染色を施した。
3. 泳動に供した血漿は、翼下静脈から毎回4mlの血液を採血し、3000 r. p. m. で5分間遠心分離したものを用いた。緩衝液はPhosphate buffer(1/20M KH₂PO₄ 1容 : 1/20M Na₂HPO₄ 16容, pH 8.0, μ=0.144)を使用した。透析はセロファン囊を用い、温度は4°C、透析時間は大部分40~50h(最短34h、最長65h)とし、蛋白濃度は日立蛋白計で測定した。透析後の

蛋白濃度は 2.0 gm/dl に稀釀し、更に、4000 r.p.m. で 5 分間遠沈してから、泳動に供した。泳動装置は、日立製 Tiselius (HTD-1 型) で、超ミクロセルを使用し、電流は 5 mA、電圧は 60~80 V の範囲内で、泳動時間は原則として 80 分、Diagonal slit の傾斜角度は若干の例外を除いて 60°、恒温槽の温度は 11~19°C である。泳動図は約 4 倍に拡大して、Ascending pattern を trace し、相対易動度を求め、Planimeter を使用して、面積比を計測した。

4. ⁸⁹SrCl₂ の Activity は Oak Ridge National Laboratory における Assay 当日から注射当日 (1958 年 1 月 12 日) までの減衰率を STEHN 図表で求め、生理的食塩水で 227.6 μc/ml に稀釀して、大腿無毛域に注射した。注射量は Table 1 に示される。

Table 1. Injection of ⁸⁹SrCl₂

Case No.	Body weight gm	μc/gm	μc injected	ml of sol. injected (227.6 μc/ml)
1	1780	0.5	890	3.91
2	1840	0.1	184	0.80
3	2540	0.05	127	0.55
4	2090	0.01	41	0.18

5. ⁸⁹Sr 注入後、血漿の cpm を測定した。これは試料皿に血漿 0.2 ml をなるべく平等の厚さに流入し、赤外線 lamp で乾燥し、G-M Counter で計測した。

6. 供試鶏は ⁸⁹Sr 注射前、血球の算定及び泳動を 3 回以上行い、注射後は 6 h, 12 h, 24 h, 3 日、6 日、10 日、15 日、20 日、25 日と 9 回に亘り測定した。

7. ⁸⁹Sr 注射直後の短い時間間隔による採血の影響を知る目的で、対照実験を行つた。この場合は ⁸⁹Sr の代りに生理的食塩水のみを注射した。注射量は前述の Case No. 1 に準じて 0.5 × 体重 gm/227 ml とした。実験例数は 3 例である。

8. 泳動図から分析された各蛋白分層は、Component 1, 2 …… と記載するのが至当と思われるが、相対易動度がほぼ一定していたこと、及び説明の便宜上から DEUTSCH⁽¹²⁾ MOORE⁽¹¹⁾ らの呼称に準じて、本文では一応 Albumin, α₁-Globulin …… 等と記載しておく。

成績

1. 血球像

a. 赤血球数 Case No. 1 及び 2 では ⁸⁹Sr 注射後 6 h ~ 12 h で一過性に増加し、24 h から減少し始め、24 h ~ 3 日後で正常値以下に減少し、その後再び増加、No. 1 では正常 Level を越えるが、No. 2 ではほぼ正常 Level に止まる (Fig. 1)。No. 3, 4 にも若干の増減があるが、前例ほど顕著でない。対照例では殆んど変動がない。

b. 白血球数 No. 1 では注射後 6 h ~ 12 h で急激に増加する。即ち、注射前の平均値信頼限界 ($p = 0.05$ 、以下同じ) は、2.97 ~ 3.56 万であったが、6 h 後に 5.69 万、12 h 後に 4.81 万に達した (Fig. 2)。他の 3 例も No. 1 と同様の傾向であるが、増加度合は低い。何れの例も、24 h 後には減少し始め、その後多少の起伏を示しつゝ次第に減少し、25 日後には 4 例ともに、注射前より低下している。対照例では 3 例中 1 例に 6 h での増加があつたが、他の 2 例では増加を認めない。

c. 白血球像 主要な変動は注射後 6 h ~ 12 h に起る。まず No. 1 についてみると、百分比としては Heterophile が増加し、他は何れも減少する。その後 Heterophile は減少し始め、

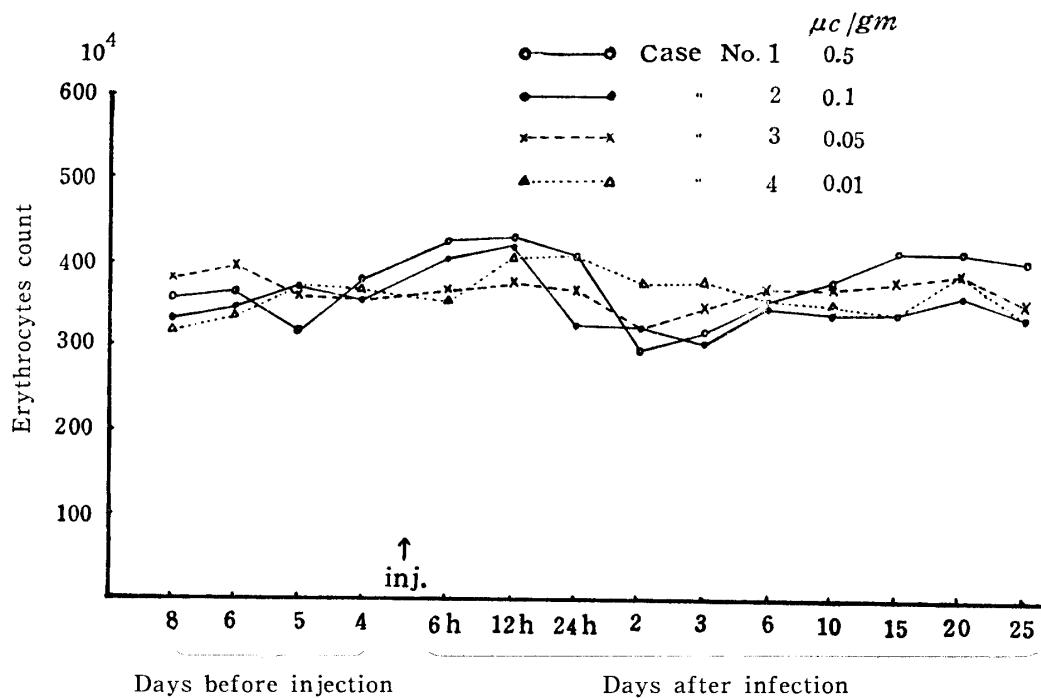


Fig. 1. Erythrocytes count

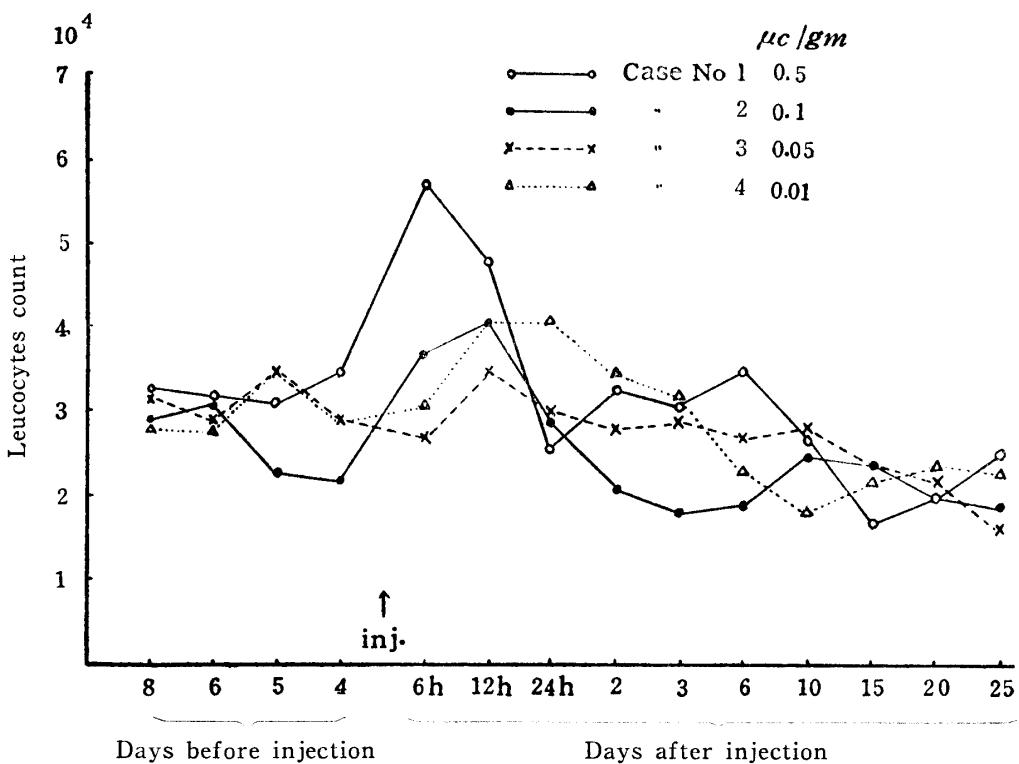


Fig. 2. Leucocytes count

Monocyte が増加する。No. 2 も同様な傾向を示したが、しかし Heterophile の Peak は 24 h 後で、No. 1 より遅れて出現している。No. 3, 4 にも同様な傾向が認められる。

つぎに、1 cmm 中の数としてみると、注射直後には Heterophile のみならず、Lymphocyte も増加する。例えば No. 1 で注射前の平均値信頼限界は 1.15 ~ 1.86 万であるが、6 h 後 2.47 万、12 h 後 1.88 万と増加する。他の例でもほぼ同じような関係がみられる。これに対し、対照例でも生理的食塩水注射 6 h 後には 3 例ともに、Heterophile % の増加を呈した。しかし、後の考按に述べるように、頻繁な採血条件は 12 h 後から始まる。従つて、この意味で 6 h 後を起点とすると殆んど変動していない。

d. 株球数 株球数は注射前における動搖が大きく、注射後の傾向が把握し難いが、No. 1 では注射 6 h 後に増加、これを Peak として以後漸減している。No. 2 では 6 h → 12 h と増加、12 h を Peak として以後漸減する。No. 3, 4 には特定の傾向がつかめない。対照例では 6 h 後を起点とすると、12 h で 2 例増、1 例減、24 h では 1 例増、2 例減で、増減不定である。

2. 血漿の cpm

各例とも注射 6 h 後（注射後第 1 回目の測定）を最高として、以後急激に下降の一途を辿る。6 h 後の cpm (血漿 0.2 ml) を記載すると、No. 1 は 4473, No. 2 は 803, No. 3 は 411, No. 4 は 131 であつた。3 日後には No. 1 で 44 cpm に過ぎず、すべて 100 cpm 以下に低下している。

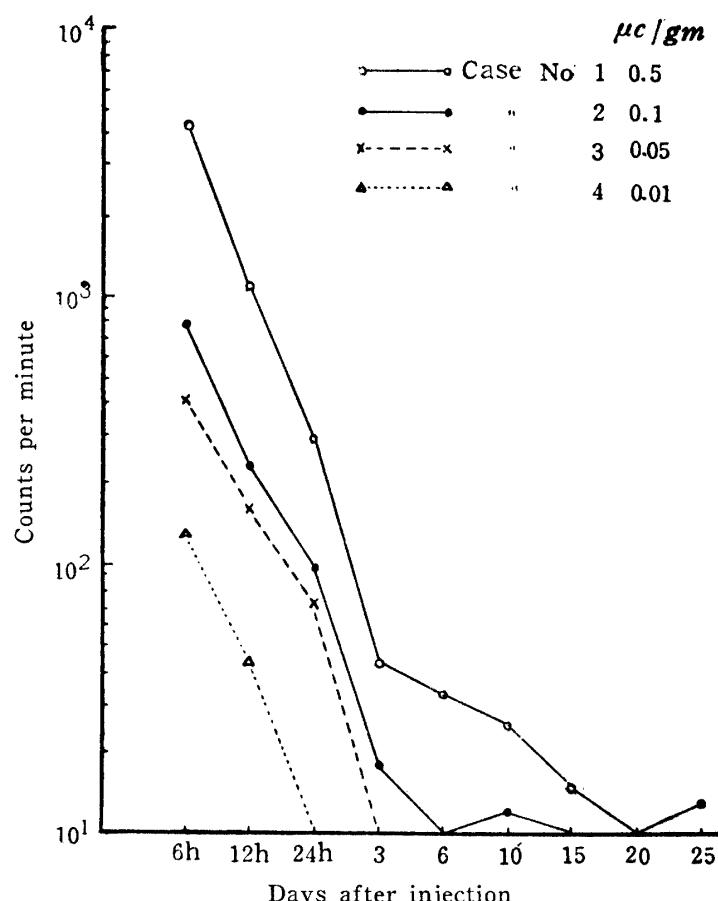


Fig. 3. Logarithmic change in specific activity of plasma (0.2 ml)

3. 蛋白分層

^{89}Sr を注射した 4 羽, NaCl を注射した 3 羽, 計 7 羽について注射前の分層正常 Level を示したのが Table 2 である。即ち, 血漿蛋白は 6 個の峯に分離し, これら 6 個の Component は, A1, $\alpha_1\text{G1}$, $\alpha_2\text{G1}$, βG1 , ϕ 位成分, γG1 とみなされる。表中の各鶏の数値は注射前 3 ~ 4 回の \bar{x} であり, これから平均値の信頼限界を求めたのが, 表中の M である。

Table 2. Normal value of plasma protein before injection

Fowl* No.	Fraction %							A/G	Relative mobility **				
	A1	α_1	α_2	β	ϕ	γ	Total G1		α_1	α_2	β	ϕ	γ
1	40.0	8.5	7.0	8.0	16.4	20.1	60.0	0.67	84.4	71.3	62.1	50.6	40.0
2	39.4	7.6	7.2	6.2	16.8	22.8	60.6	0.65	82.8	72.5	63.0	51.7	43.3
3	44.5	7.0	7.1	8.8	16.3	16.3	55.5	0.80	84.3	72.7	61.8	52.9	40.6
4	41.4	7.6	7.5	6.9	13.7	22.9	58.6	0.71	83.9	71.3	60.5	50.5	40.0
5	41.3	6.3	7.1	6.5	18.6	20.2	58.7	0.70	83.9	71.9	59.3	50.1	38.7
6	42.9	9.9	6.3	5.2	15.8	19.9	57.1	0.75	84.4	70.6	61.1	51.4	40.0
7	47.9	12.0	7.7	5.2	12.4	14.8	52.1	0.92	84.2	72.4	62.5	52.3	43.7
\bar{x} /	42.5	8.4	7.1	6.7	15.7	19.6	57.5	0.74	84.0	71.8	61.5	51.4	40.9
s^{***}	2.9	1.9	0.4	1.3	1.8	3.0	3.0	0.09	0.6	0.8	1.3	1.0	1.8
M****	39.7	6.5	6.6	5.4	13.9	16.7	54.8	0.65	83.5	71.1	60.4	50.5	39.2
	~45.2	~10.2	~7.5	~7.9	~17.4	~22.4	~60.2	~0.85	~84.5	~72.5	~62.6	~52.3	~42.6

* No. 1~4, ^{89}Sr inj. No. 5~7, NaCl inj. ** Albumine, 100.

*** Standard deviation. **** Confidence limit of mean at 5% level.

つぎに各鶏について注射後の変化の有無, 或は変化の内容を記載しよう。まず, ^{89}Sr を注射した場合は下記の如くである。

Case No. 1 (Plate 1) A1 (Albumin) は注射後 12 h ~ 24 h と低下し, 24 h で最低値を示した。注射前の平均値信頼限界は, 36.8 ~ 43.2 % で, 注射後 6 h は 40.0 % で大して変わらないが, 12 h 後は 36.6 %, 24 h に至つて 34.7 % と推移, 明らかに正常 Level より低くなつた。これは, 3 日後には 39.8 % と回復している。この A1 低下に対し, 相対的に上昇を示すものは, 主として α_1 と ϕ である。殊に, $\alpha_1\text{G1}$ は Fig. 4 で明らかなように, 全経過を通じて A1 の動きと密接に対応して消長し, いわば代償的に推移している。例えば A1 の最低値と $\alpha_1\text{G1}$ の最高値はともに 24 h 後, A1 の最高値と $\alpha_1\text{G1}$ の最低値はともに 15 日後で, それぞれ一致しており, また, 注射後全期間の $A + \alpha_1/2$ の標準偏差は ± 1.5 で, 他の 3 例よりも小さい。 α_2 , βG1 は微増, γ は僅かに減少の傾向がある。従つて A/G , A/α , A/ϕ はいずれも減少の傾向を示した。例えば, A/α の注射前 2.03 ~ 3.18 が, 12 h 後に 1.86, 24 h 後に 1.74 と低下する。 A/γ には格別の傾向がない。

Case No. 2 (Plate 2) 注射後 12 h 及び 3 日後の泳動に失敗したので, その Data を欠くが, やはり A1 の低下が起る。注射前の平均値 37.5 ~ 41.3 % が, 6 h 後は 38.6 で変りなく, 24 h 後は 35.9, 6 日後は 35.2 と低くなる。これに対する相対的上昇は前例と同じく, α_1 と ϕ 分層に認められる。しかし, 前例と異なり, A1 と α_1 の対応性は不明確で, 等ろ A1 と γ の間にそれがみられる (Fig. 5)。 α_2 , β は殆んど変わらない。注射直後に A/G , A/α , A/ϕ がそれぞれ僅かに減少する。

Case No. 3 (Plate 3) 注射前の第 1 回目の A1 peak が高いので, 全体の傾向を判り難くしている。A1 は 6 h, 24 h 後には低いが, 12 h 後は高く全体として動搖が強い (Fig. 6)。全経過の最低は 24 h の 34.4 % であるが, 注射前の動搖が大きいため, 平均値の信頼限界が 33.6 ~ 55.4 %

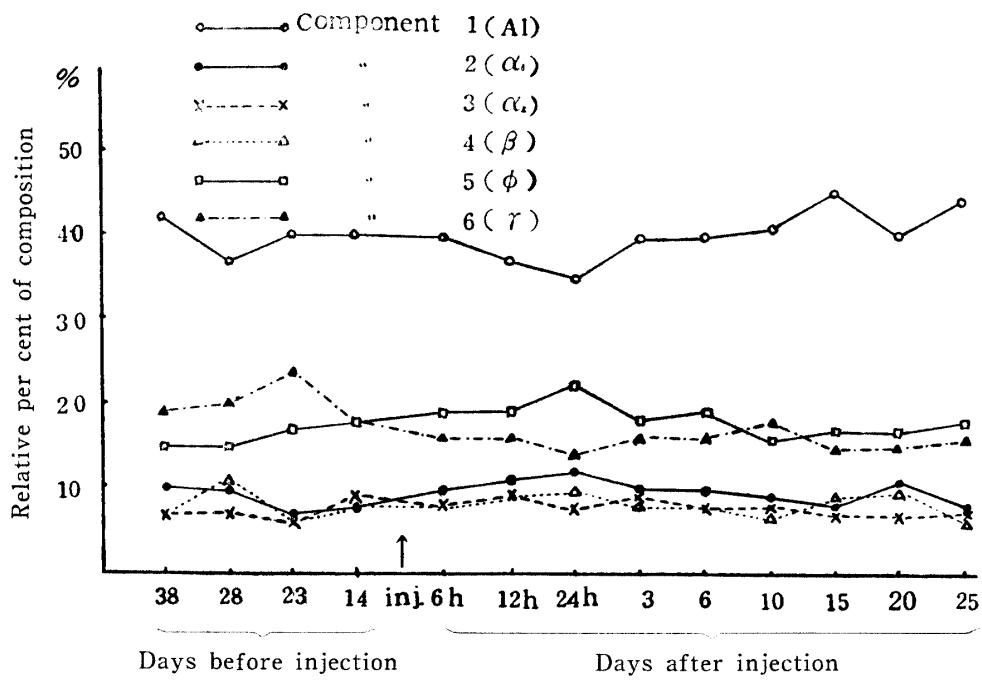


Fig. 4. Electrophoretic analysis of plasma protein

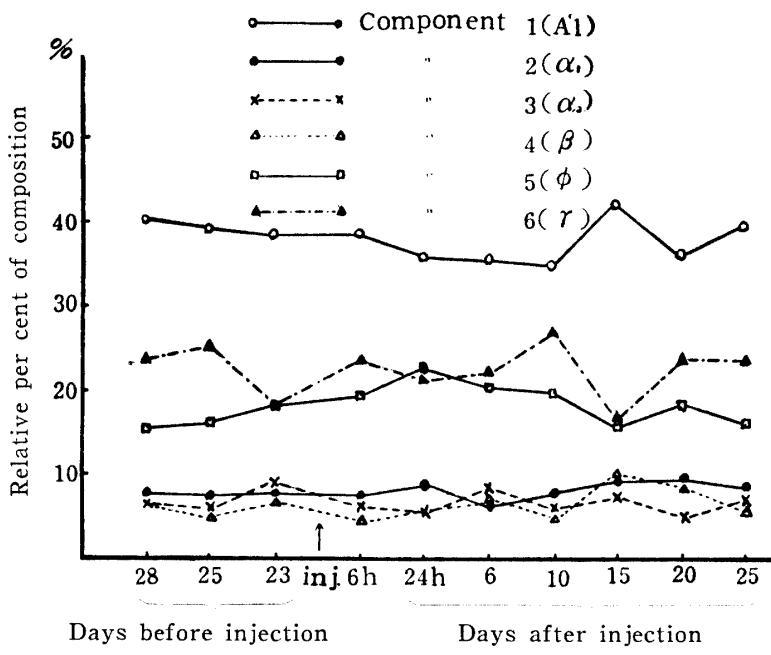
Case No. 1. 0.5 $\mu\text{c}/\text{gm}$ 

Fig. 5. Electrophoretic analysis of plasma protein

Case No. 2. 0.1 $\mu\text{c}/\text{gm}$

と広いので、減少が明確でない。しかし α_1 は上昇しており、24 h 後を Peak としている。 ϕ は殆んど変化なく、その他の分層にも格別の傾向を認めない。ただ A1 と γ の対応性は極めて明瞭に現われている。

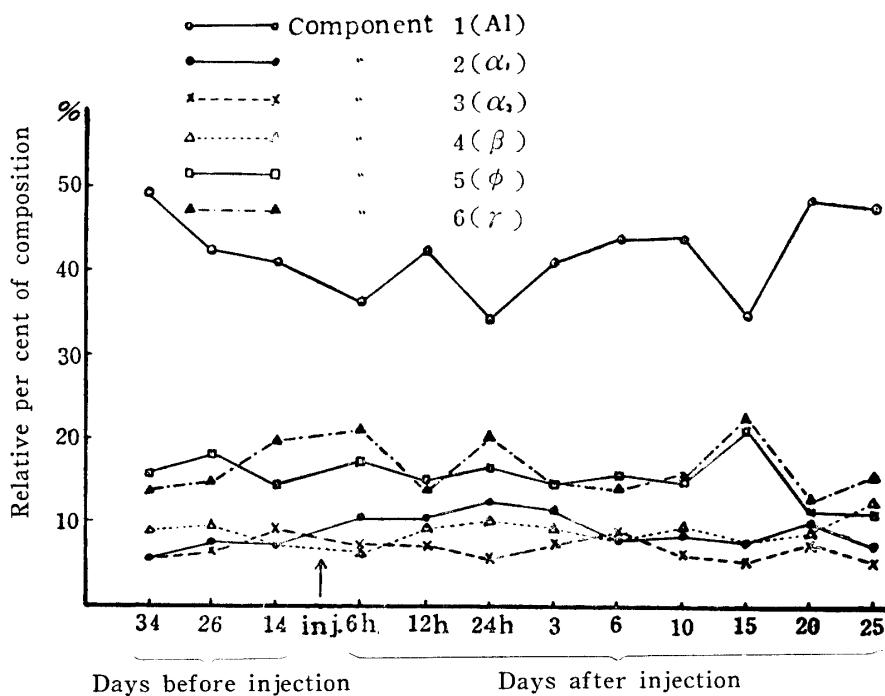


Fig. 6. Electrophoretic analysis of plasma protein
Case No. 3. 0.05 μ c/gm

Case No. 4 (Plate 4) 注射後には A1 の動搖性が強く、傾向を捉え難い (Fig. 7). しかし、注射前の平均値 39.8 ~ 43.0 % に対し、12 h 後の 36.7 %, 3 日後の 38.3 % と、低い値が認められた。それ以後は再び上昇している。

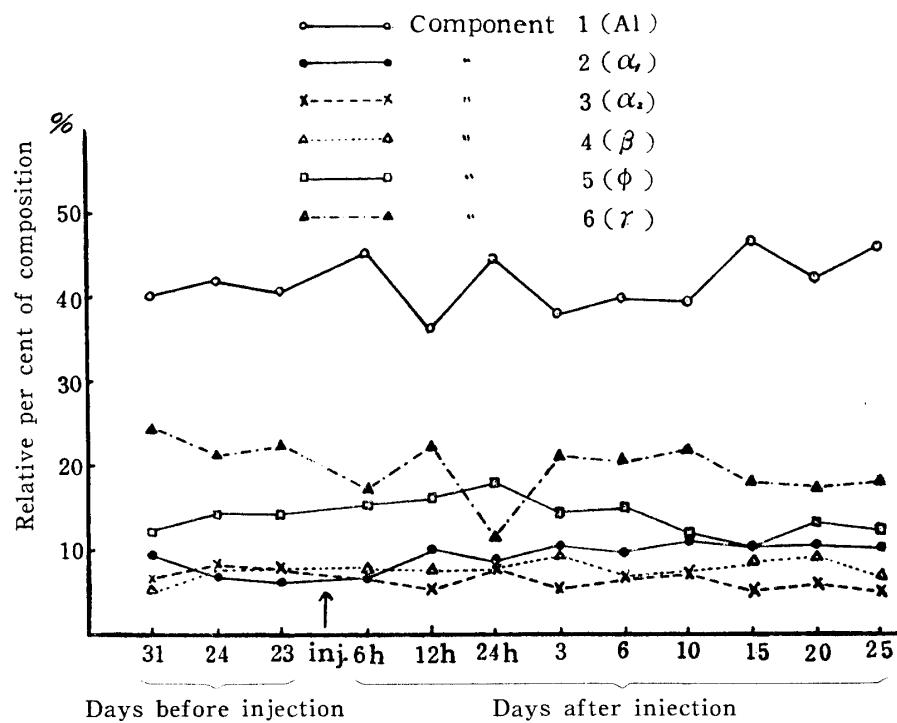


Fig. 7. Electrophoretic analysis of plasma protein
Case No. 4. 0.01 μ c/gm

つぎに、対照例についてみると、つぎのようである。

対照 Case No. 1 (Plate 5) A1 値は極めて恒常的である (Fig. 8). 即ち、注射前の平均値信頼限界は 39.4 ~ 43.2 % であるが、注射後はすべてこの範囲内にあり、1 % 以内の変動を示すに過ぎない。その他の分層では ϕ と γ の間の相対的変動のみが認められた。

対照 Case No. 2 A1 は生理的食塩水注射 6 h 後に減少している。しかし、6 h 後を起点とすると、殆んど変動がない (Fig. 8). ϕ は 6 h 後、12 h 後にやや増加、 α_1 は寧ろ減少、 α_1 に代つて α_2 が微増する。A1 と γ の対応性はかなり明らかに認められる。

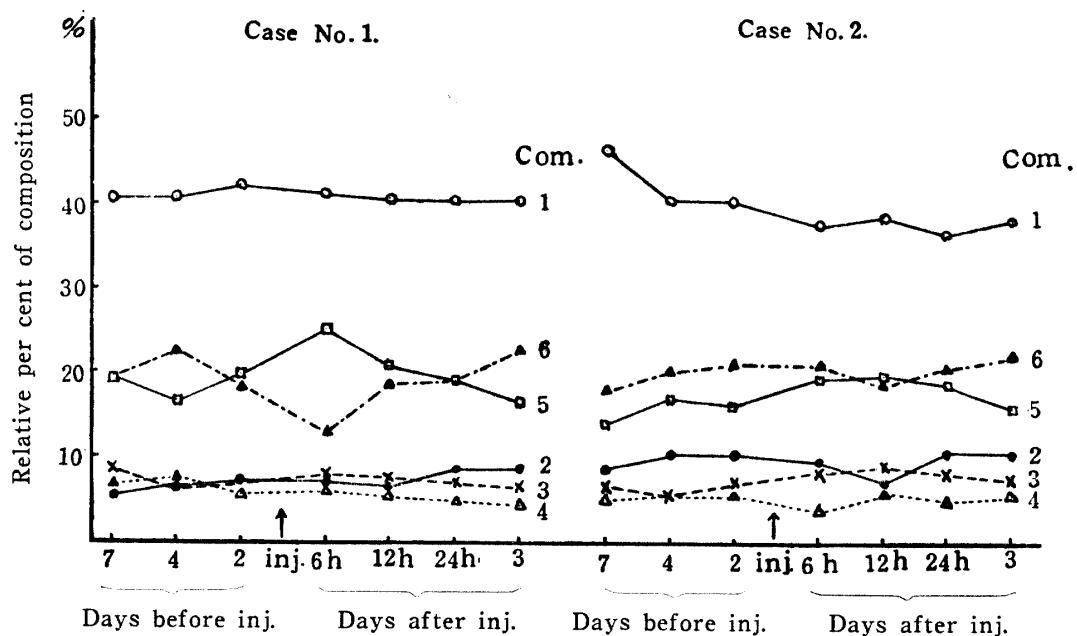


Fig. 8. Electrophoretic analysis of plasma protein
Control test

Remarks: Case No. 1 NaCl 0.9 %, 4.1 ml inj.
Case No. 2 NaCl 0.9 %, 4.0 ml inj.

対照 Case No. 3 注射前に比べて、A1 が僅かに低くなっている。しかし、前の No. 2 と同様に 6 h 後を起点とすると殆んど不変である。A1, γ の対応は明らかでない。

4. 血漿蛋白量

蛋白計による測定であるから精密度に欠けるが、この測定値についてみると限りでは、⁸⁹Sr 注射直後に、やや低下する傾向がある。しかし、若干例を除けば、注射前の平均値の信頼限界の範囲内に止まつている。Case No. 1 についてみると、注射前 3.6 ~ 4.6 g/dl であるのに対し、6 h 後が 4.6, 12 h が 4.0, 24 h 後に最低の 3.6 g/dl を示した。このように、数値としては、注射後に漸次小さくなるが、しかし、平均値の信頼限界の範囲内に含まれる。24 h 後に最低値を示したことは、A1 % の最低値と時間的に一致している。A1 量 (g/dl) は 24 h 後に 1.25 g/dl と算出されるが、この量は、⁸⁹Sr 注射例及び対照例の全測定値を通じ、最も低いものである。

5. 体重

⁸⁹Sr 注射例、対照例ともに、ほぼ恒常的で一定の増減傾向を示さなかつた。

総括並びに考按

^{89}Sr 注射例は 4 例であり、かつ注射量が相違するので、差の有意性の検定が困難である。それで、各例の注射前の平均値信頼限界 ($p = 0.05$) を求め、これとの対比から、注射後の変動を窺つて、前文に述べてきたが、まず血球及び蛋白分屑の主要な変動は殆んど注射直後、即ち $6\text{ h} \sim 24\text{ h}$ 後に一過性に出現しており、変動の主な内容としては赤血球、白血球及び栓球の増加、A1 の低下、 α_1 と ϕ 分屑の上昇等の諸傾向が指摘される。以下これらの変動について検討を加えたい。

1. まず、赤血球の増加は疑いもなく ^{89}Sr の注射による影響と考えられる。その根拠としては（1）対照例では増加しない。いい換えると、短い時間間隔で繰返された採血条件は、格別、因子となつていない（2） ^{89}Sr 注射量の多いものが増加率が大きく、且つ Peak が早期に出現する傾向をもつ、等の事実が挙げられる。またこのような増加現象は岡本ら、⁽⁴⁾ 佐藤、⁽⁶⁾ 西尾⁽⁷⁾ による ^{89}Sr 及び ^{90}Sr 注射の結果とも一致している。

つぎに、白血球の増加であるが、赤血球 5,000 個 中の白血球自体が増加している。Case No. 1 についてみると、注射前の平均値信頼限界は、43~48 であるが、 6 h 後に 67、 12 h 後に 53 と増加する。つまりこのことは、白血球の増加は赤血球のそれを上廻ることを意味している。ところで、白血球の増加、またはその後に続く減少で、主役を演ずるのは Heterophile で Lymphocyte がそれに次いでいる。Heterophile は $6\text{ h} \sim 12\text{ h}$ 後に急激に増加し、これより後は漸減し、更に正常 Level よりかなり低くなり、各白血球中最も増減の振幅が大きく、白血球全体の経過に最大の因子となつている。

以上の経過からみて、少くとも血球所見の上で、供試例特に No. 1, 2 において、急性放射能障害を起したとみることは許されるであろう。

2. つぎに、蛋白分屑であるが、A1 減少傾向が最も注目される。この傾向が ^{89}Sr によるためかどうかについて、著者らはそれが最大の因子であると考える。こう考えるのは（1）注射量の多いものにこの傾向が強い（2）相対的割合としても、 g/dl としても低くなる（3）対照例でも NaCl 注射後に A1 低下の例があつたが、その度合は小さいし、また後述する問題を含んでいる（4）血球増加の Peak と A1 最低値が時期的にほぼ一致する（5）多くの疾患にさいし、A1 が減少する、等の諸事実に基いている。

ところで、対照実験によつて、特に知りたかつた点は、短い時間間隔で採血する（特に注射後の 6 h , 12 h , 24 h ）ことの影響であつた。その意味で NaCl 注射後 6 h , 12 h , 24 h と採血（採血量はもちろん常に 4 ml）したのであるが、実際に短い時間間隔という条件は 12 h 後から始まるとみてよい。というのは NaCl 注射前 2 日前に採血した後は、NaCl 注射 6 h 後までは採血していないからである。従つて頻繁な採血条件を問題とする限りでは、 6 h を起点とすべきである。この意味で 6 h 後を起点として、対照例の結果をみれば、 12 h 後、 24 h 後、3 日後のそれぞれ、各分屑の変動、殊に A1 の減少傾向は所見されない。対照例の No. 2, No. 3 が NaCl 注射後 6 h において、注射前より低くなつてゐる理由は判らない。NaCl 注射によつて惹き起される、と考えるのは困難である。いずれにしても、著者らの行つた採血条件が A1 減少傾向の主因子でない事は認められるであろう。また平井ら⁽⁸⁾によれば、瀉血に際し、A1 の減少が起るという。しかし上に述べた成績から、著者らの行つた、この程度の失血では A1 減少を起すに到らないと思われる。それはまた A + α 値の変動からも窺われる。即ち、A + α_1 + α_2 値の Constancy を認め難いのである。

尚、市川ら^(9, 10)が鶏に³²P 或は¹³¹I を 1 羽当たり 5 ~ 1,000 μc 注射し、蛋白態 N を測定した成績では A1-N と G1-N に大した変動を認めていない。RI の種類は異なるが、1,000 μc の注射量は著者らの 0.5 $\mu c/gm$ に大体匹敵している。著者らの成績で、注射後の全期間を通じると、大した変動が認められないが、しかし、注射直後の低下は認めざるを得ない。市川らの結果と異なるのは、RI の差はもとよりであるが、その他の分析方法の相違も存するかと思われる。

3. A1 の低下に対し、相対的上昇を示したのは、主として α_1 と ϕ 分層である。注射後 6 h ~ 3 日までの平均としてみると、程度の差はあるが、 α_1 , ϕ ともに全例において注射前より増加している。つぎに、各分層相互の注射後全過程を通ずる対応的変動性は、No. 1 では A1- α_1 が明確で、A1- ϕ がこれにつき、No. 2 でも A1- γ , A1- α_1 の間に認められる。No. 3, 4 では A1- γ にそれを認める。また対照例では No. 1 では $\phi-\gamma$, No. 2, 3 では A1- γ の間にその関係が所見された。これを要約すると、⁸⁹Sr 量の多いものに A1- α_1 、少いもの或は対照に A1- γ の対応性、という傾向が示される。

以上要するに、⁸⁹Sr 注射に基く分層変化の中心的傾向は A1 の減少と、これに対する α_1 の相対的上昇、ということができる。従つて、疾患時に最も普通にみられる変動型態の Category に属している。

4. 著者らの実験例は少ないし、⁸⁹Sr 投与量も多くない。蛋白分層の変動は血球変化程著しくない。これは一面においては⁸⁹Sr の骨組織への集中性のためとも思われる。このような意味から、第Ⅰ報以下においては、⁸⁹Sr の注射量を増加して追究し、また、特に肝に選択性をもつ¹⁸²Ta を試み、比較検討したい。

要 約

白レグの成鶏(♂)に⁸⁹SrCl₂ の 0.5, 0.1, 0.05 及び 0.01 $\mu c/gm$ を、各 1 羽について皮下注射したところ、つぎの結果がえられた。

1. 注射直後 (6 h ~ 12 h) に赤血球及び白血球が一過性に増加した。白血球では Heterophilic L. の増加が顯著であつた。
2. ⁸⁹Sr 投与による蛋白分層の主要変動は、注射直後における Component 1 (Albumin) の低下、Component 2 (α_1 Globulin) 及び Component 5 (ϕ 位成分) の上昇であつた。

本研究は文部省の総合研究費の援助を受けた。研究代表者、東大、大久保義夫教授の御懇篤なる御指導を感謝いたします。また、電気泳動について、適切な御助言を戴いた、本学、西山久吉教授に謝意を表します。

なお、本成績の要旨は、日本獣医学会(1958)で報告した。

文 献

- 1) JACOBSON, L. O. & MARKS, E. K.: *Radiology*, **52**, 371 (1949).
- 2) PECHER, C.: *Univ. Calif. Publ. Pharmacol.*, **2**, 117 (1942).
- 3) 菊池武彦・脇坂行一: *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, **112** (1954).
- 4) 岡本十二郎・浜田政彦: *Radio Isotopes*, **4** (No. 1), 59 (1956).
- 5) 佐藤 募: *日医放誌*, **15**, 769 (1955).
- 6) 佐藤 募: *熊本医誌*, **30**, 844 (1956).
- 7) 西尾一男: *生化学*, **27**, 240 (1955).

- 8) 岡本十二郎 他: 放射性アイソトープ, 61 (1957).
- 9) 市川 収 他: 水曜会記事, 4, 27 (1954).
- 10) 市川 収 他: 水曜会記事, 4, 27 (1954).
- 11) MOORE, D. H.: *Endocrinology*, 42, 38 (1948).
- 12) DEUTSCH, H. F. & GOODLOE, M. B.: *J. Biol. Chem.*, 161, 1(1945).
- 13) COMMON, R. H. et al.: *Science*, 118, 86 (1953).
- 14) SANDERS, E. et al.: *J. Biol. Chem.*, 155, 469 (1944).
- 15) LYNCH, J. E. & STAFSETH, H. J.: *Poult. Sci.*, 32, 1068 (1953).
- 16) BANDT, L. W. et al.: *J. Biol. Chem.*, 191, 105 (1951).
- 17) 平井秀松・島尾和男: 電気泳動法, 210 (1955).
- 18) 平井秀松 他: 生化学, 25, 165 (1953).

Résumé

In order to ascertain the influence of radio activity on the plasma protein, $^{89}\text{SrCl}_2$ was administered to 4 cocks subcutaneously in doses of 0.01 to 0.5 μc per gram of body weight, and the plasma protein were analyzed by Tiselius electro-phoretic method before and after administration.

The electrophoretic analyses were carried out in phosphate buffer (pH 8.0, ionic strength 0.144), under the conditions of 5 mA, 60~80 Volts, 11~19°C, and 80 minutes. The cases of 3 cocks, to which NaCl solution (0.9%) alone was administered as control, were tested under the same conditions.

The results obtained are summarized as follows.

A marked rising in red and white blood cell counts was observed at 6~12 hours after the injection of $^{89}\text{SrCl}_2$; and in augmentation of the leucocytes, heterophytic leucocytes played the leading role. As the influence of $^{89}\text{SrCl}_2$ on the protain fractions, a tendency of decrease in albumin was found, while α_1 globulin and ϕ fraction tended to increase.

Table 3. Blood picture before and after ^{89}Sr injection 1. Blood cell count

Blood cell Case No.*	Days	Erythrocytes 10^4				Leucocytes 10^4				Thrombocytes 10^4			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Before inj.	8	363	335	384	315	3.26	2.94	3.18	2.83	5.51	3.58	5.29	3.71
	6	365	348	398	342	3.21	3.13	2.94	2.80	3.79	4.69	7.88	3.62
	5	320	372	364	368	3.07	2.28	3.49	3.45	3.26	4.53	4.58	5.74
	4	379	356	360	368	3.52	2.20	2.88	2.87	3.48	3.73	6.26	4.71
	M**	320	328	348	308	2.97	1.90	2.68	2.50	3.84	3.25	3.73	2.86
		~394	~378	~405	~389	~3.56	~3.38	~3.57	~3.48	~4.18	~5.02	~8.28	~6.02
After inj.	6h	425	408	366	358	5.69	3.71	2.70	3.07	5.95	5.79	5.56	4.51
	12h	430	422	383	414	4.81	4.13	3.52	4.05	3.69	6.79	4.82	3.39
	24h	410	324	367	405	2.62	2.94	3.00	4.13	4.18	5.02	5.13	4.86
	2	298	323	322	381	3.27	2.09	2.83	3.50	5.45	5.32	3.22	4.72
	3	318	303	345	382	3.11	1.75	2.89	3.20	4.07	3.33	4.62	3.66
	6	355	346	365	355	3.47	1.93	2.68	2.34	4.18	5.32	4.59	3.26
	10	378	344	367	348	2.72	2.43	2.78	1.80	3.93	3.71	6.31	3.61
	15	419	340	376	336	1.67	2.38	2.40	2.21	1.59	4.42	3.76	3.49
	20	416	361	391	394	1.99	2.02	2.18	2.44	1.91	3.68	3.98	4.72
	25	405	333	349	334	2.51	1.93	1.57	2.33	3.32	3.40	2.40	3.07
	x	385	350	363	371	3.19	2.54	2.66	2.91	3.83	4.68	4.44	3.93

* 1, 2, 3, 4.....0.5, 0.1, 0.05, 0.01 $\mu\text{c}/\text{gm}$. ** Confidence limit of mean at 5% level.

Table 4. Blood picture before and after ⁸⁹Sr injection 2. Leucocytes %

Case No.	Leuco.	1					2					3					4					
		Days	B	E	H	L	M	B	E	H	L	M	B	E	H	L	M	B	E	H	L	M
Before inj.	8	0.5	2.5	40.0	44.0	13.0		1.0	1.0	4.0	86.0	8.0	1.0	1.5	28.5	49.5	19.5	1.5	2.0	15.0	70.5	11.0
	6	2.0	4.0	28.5	51.5	14.0		1.0	0	4.5	86.5	8.0	2.5	2.5	26.0	56.0	13.0	2.5	0.5	18.0	67.5	11.5
	5	1.5	2.5	44.5	35.0	16.5		0.5	0	6.5	83.5	9.5	1.5	1.0	29.5	55.0	13.0	1.0	4.0	14.0	69.0	12.0
	4	5.5	1.0	26.5	50.0	17.0		1.0	1.5	11.5	78.5	7.5	3.0	1.5	21.5	62.0	12.0	4.5	2.5	14.0	67.5	11.5
	x	2.4	2.5	34.9	45.1	15.1		0.9	0.9	6.6	83.6	8.3	2.0	1.6	26.4	55.6	14.4	2.4	2.3	15.2	68.6	11.5
	6h	2.5	1.0	44.5	43.5	8.5		0.5	0.5	20.0	68.5	10.0	1.5	3.5	37.0	45.5	12.5	2.0	1.5	21.5	65.5	9.5
	12h	2.0	3.5	45.0	41.5	8.0		1.0	0.5	18.0	74.0	6.5	2.0	1.0	34.5	49.5	13.0	1.0	2.5	13.0	74.5	9.0
	24h	4.0	4.0	36.5	48.5	7.0		1.5	2.0	47.0	35.0	14.5	3.0	2.5	31.0	50.5	13.0	1.5	2.5	12.5	74.0	9.5
	2	2.5	4.0	29.0	55.0	9.5		1.5	1.5	10.0	75.5	11.5	1.0	4.5	27.0	55.0	12.5	1.5	2.0	11.0	79.5	6.0
	3	2.0	1.5	37.0	52.5	7.0		1.5	0.5	11.0	75.0	12.0	1.5	0.5	32.5	54.5	11.0	2.0	2.5	15.5	66.5	13.5
After inj.	6	0	2.5	38.5	54.0	5.0		0.5	2.0	5.0	80.0	12.5	2.0	4.5	25.5	57.0	11.0	1.5	2.0	13.0	73.5	10.0
	10	2.0	3.0	41.0	45.5	8.5		1.0	1.5	4.5	81.0	12.0	1.0	3.0	23.5	60.5	12.0	0.5	1.0	15.0	72.5	11.0
	15	1.0	5.0	32.5	54.0	7.5		0	1.5	4.0	82.5	12.0	1.0	2.0	17.0	66.0	14.0	2.5	3.5	15.0	67.0	12.0
	20	0.5	1.0	36.0	50.0	12.5		1.5	0.5	4.5	83.5	10.0	3.0	2.5	16.0	66.0	12.5	3.5	2.0	14.5	68.0	12.0
	25	0	2.5	23.5	62.0	12.0		1.5	1.0	4.0	81.5	12.0	1.5	4.5	17.0	63.0	14.0	1.5	1.0	10.5	77.0	10.0
	x	1.7	2.8	36.3	50.6	8.6		1.1	1.1	12.9	73.6	11.3	1.8	2.8	26.1	56.7	12.6	1.7	2.0	14.2	71.8	10.3

Table 5. Specific activity of blood plasma (cpm in 0.2 ml)

Case No.	Days after inj.	1					2					3					4					
	6h						4473					411					131					
	12h						1255					158					44					
	24h						287					72					3					
	3						44					1					1					
	6						34					1					0					
	10						26					7					4					
	15						15					0					0					
	20						9					0					0					
	25						13					2					0					

Table 6. Electrophoretic analysis of plasma protein

Case No.	Days before and after injection	Fraction %							Ratio between fractions				A+α	Content of total protein g/dl
		A1	α ₁	α ₂	β	δ	γ	Total G1	A/G	A/α	A/δ	A/γ		
1	38	42.4	10.1	6.7	7.2	15.1	18.5	57.6	0.74	2.54	2.81	2.29	59.2	4.0
	28	37.3	9.7	6.7	11.0	15.3	20.0	62.7	0.60	2.29	2.44	2.29	53.7	4.4
	23	39.9	6.7	6.0	6.3	16.9	24.2	60.1	0.66	3.14	2.36	1.65	52.6	3.7
	14	40.2	7.6	8.7	7.6	18.4	17.5	59.8	0.67	2.47	2.18	2.30	56.5	4.4
	M*	36.8	5.9	5.4	4.7	13.9	15.4	57.0	0.58	2.03	2.03	1.62	50.8	3.6
		~43.2	~11.1	~8.6	~11.3	~18.9	~24.8	~63.2	~0.77	~3.18	~2.85	~2.64	~60.2	~4.6
	6h	40.0	9.8	7.8	7.6	18.5	16.3	60.0	0.67	2.27	2.16	2.45	57.6	4.6
	12h	36.6	10.7	9.0	8.5	18.9	16.3	63.4	0.58	1.86	1.94	2.25	56.3	4.0
	24h	34.7	12.3	7.7	9.6	21.8	13.9	65.3	0.53	1.74	1.59	2.50	54.7	3.6
	3	39.8	9.7	8.5	8.1	17.6	16.3	60.2	0.66	2.19	2.26	2.44	58.0	3.8
After	6	39.8	10.2	7.9	7.7	18.5	15.9	60.2	0.66	2.20	2.15	2.50	57.9	4.3
	10	41.1	9.2	7.9	7.4	16.2	18.2	58.9	0.70	2.40	2.54	2.26	58.2	4.3
	15	44.9	7.7	7.2	8.5	17.2	14.5	55.1	0.82	3.01	2.61	3.10	59.8	4.3
	20	39.8	11.3	7.4	9.8	17.2	14.5	60.2	0.66	2.13	2.31	2.74	58.5	4.5
	25	44.3	8.4	7.9	5.9	17.8	15.7	55.7	0.80	2.72	2.50	2.82	60.6	4.4
	x	40.1	9.9	7.9	8.1	18.2	15.8	59.9	0.67	2.06	2.23	2.56	58.0	4.2

Table 6. (Continued)

Case No.	Days before and after injection	Fraction %							Ratio between fractions				A+α	Content of total protein g/dl	
		A1	α₁	α₂	β	δ	γ	Total Gl	A/G	A/α	A/δ	A/γ			
2	Before	28	40.1	7.7	6.7	6.3	15.2	24.0	59.9	0.67	2.78	2.64	1.67	54.5	4.6
		25	39.4	7.2	5.9	5.3	16.7	25.5	60.6	0.65	3.01	2.36	1.55	52.5	4.6
		23	38.6	7.9	9.1	6.9	18.6	18.9	61.4	0.63	2.27	2.08	2.04	55.6	4.2
		M*	37.5	6.7	3.1	4.1	12.6	14.3	58.8	0.61	1.74	1.54	1.10	50.3	3.9
	After	6h	~41.3	~8.5	~11.3	~8.1	~21.0	~31.3	~62.5	~0.69	~3.64	~3.18	~2.40	~54.1	~5.1
		24h	38.6	7.5	6.2	4.7	19.5	23.5	61.4	0.63	2.82	1.98	1.64	52.3	4.6
		6	35.9	9.0	5.5	5.8	22.4	21.4	64.1	0.57	2.48	1.60	1.68	50.4	4.2
3	Before	10	35.2	6.5	8.4	7.0	20.8	22.1	64.8	0.54	2.36	1.69	1.59	50.1	4.1
		15	34.5	7.8	5.8	5.0	19.9	27.0	65.5	0.53	2.54	1.73	1.28	48.1	4.8
		20	42.0	9.2	7.3	9.7	15.4	16.4	58.0	0.73	2.55	2.73	2.56	58.5	5.0
		25	35.5	9.1	4.9	8.5	18.2	23.8	64.5	0.55	2.54	1.95	1.49	49.5	4.3
	After	x	39.3	8.6	6.9	5.7	16.0	23.5	60.7	0.65	2.54	2.46	1.67	54.8	4.2
		6h	37.3	8.3	7.4	6.6	18.9	22.5	62.7	0.59	2.54	2.02	1.66	52.0	4.5
		12h	~55.4	~9.2	~11.4	~11.1	~21.1	~24.3	~66.2	~1.15	~5.43	~3.10	~4.67	~62.1	~4.7
4	Before	34	49.4	6.0	5.7	9.0	16.0	13.9	50.6	0.98	4.22	3.09	3.55	61.1	3.6
		26	42.7	7.5	6.7	9.8	18.3	15.0	57.3	0.75	3.01	2.33	2.85	56.9	4.2
		14	41.3	7.5	9.1	7.6	14.5	20.0	58.7	0.71	2.49	2.85	2.07	57.9	3.8
		M*	33.6	4.8	2.8	6.5	11.5	8.3	44.8	0.47	1.05	2.42	0.97	53.1	3.1
	After	6h	41.4	11.7	7.8	9.3	14.9	14.9	58.6	0.71	2.12	2.78	2.78	60.9	3.2
		12h	44.3	8.4	8.9	8.2	15.9	14.3	55.7	0.80	2.56	2.79	3.10	61.6	3.3
		24h	44.2	8.8	6.4	9.6	15.3	15.7	55.8	0.79	2.91	2.89	2.82	59.4	3.3
5	Before	3	34.9	7.6	5.5	7.9	21.5	22.6	65.1	0.54	2.66	1.67	1.54	48.0	3.8
		10	48.7	10.2	7.7	9.2	11.3	12.9	51.3	0.95	2.72	4.31	3.77	66.6	4.0
		15	47.9	7.3	5.3	12.4	11.2	15.9	52.1	0.92	3.80	4.28	3.01	60.5	3.6
		20	41.7	9.8	6.7	9.3	15.6	16.9	58.3	0.72	2.53	2.85	2.47	58.2	3.6
	After	31	41.1	9.6	6.9	5.5	12.3	24.6	58.9	0.70	2.49	3.34	1.67	57.6	3.8
		24	42.1	6.9	7.7	7.4	14.5	21.4	57.9	0.73	2.88	2.90	1.97	56.7	3.7
		23	40.9	6.3	7.9	7.9	14.2	22.8	59.1	0.69	2.88	1.79	1.79	55.1	3.7
6	Before	M*	39.8	3.3	6.2	3.5	10.7	18.9	57.0	0.62	2.19	2.39	1.41	53.4	3.5
		6h	~43.0	~11.9	~8.8	~10.3	~16.7	~26.9	~60.2	~0.80	~3.31	~3.69	~2.19	~59.6	~3.9
		12h	45.4	7.2	6.8	7.7	15.5	17.4	54.6	0.83	3.24	2.93	2.61	59.4	4.4
		24h	36.7	10.2	6.4	7.8	16.2	22.7	63.3	0.58	2.21	2.27	1.67	53.3	4.8
	After	3	44.8	8.8	8.0	8.4	18.4	11.6	55.2	0.81	2.67	2.43	3.86	61.6	4.3
		6	38.3	10.3	5.7	9.7	14.6	21.4	61.7	0.62	2.39	2.62	1.79	54.3	3.6
		10	40.2	9.9	6.7	7.2	15.2	20.8	59.8	0.67	2.42	2.64	1.93	56.8	3.4
7	Before	15	39.8	11.4	7.1	7.8	11.8	22.1	60.2	0.66	2.15	3.37	1.80	58.3	3.6
		20	46.9	10.7	5.1	8.7	10.4	18.2	53.1	0.89	2.97	4.51	2.58	62.7	3.9
		25	42.7	10.6	5.9	9.7	13.5	17.6	57.3	0.75	2.59	3.16	2.43	59.2	3.7
		x	46.1	10.5	5.3	7.0	12.7	18.4	53.9	0.86	2.92	3.63	2.51	61.9	3.4
	After	6h	42.3	10.0	6.3	8.2	14.3	18.9	57.7	0.73	2.60	3.06	2.24	58.6	3.9
		12h	~350	~371	~421	~2.78	~3.46	~2.02	~3.24	~7.09	~5.34				
		24h													

* Confidence limit of mean at 5% level.

Table 7. Blood picture (Control test) 1. Blood cell count

Blood cell Case No.	Days	Erythrocytes 10 ⁴			Leucocytes 10 ⁴			Thrombocytes 10 ⁴		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Bef. inj.	7	336	330	378	2.21	2.90	1.55	3.01	4.55	2.57
	4	334	353	317	2.00	2.40	1.77	2.67	5.43	3.80
	2	322	343	332	2.44	2.12	1.79	2.76	3.29	3.98
	M**	312	313	263	1.66	1.48	1.38	2.38	1.75	1.56

Aft. inj.*	6h	354	345	345	2.40	3.58	2.00	2.69	5.17	3.58
	12h	348	347	337	2.15	2.63	1.81	2.85	6.52	3.10
	24h	330	338	334	2.17	3.17	1.73	2.97	4.79	3.17
	3	365	331	340	2.22	2.05	2.04	2.96	4.03	3.67
	x	349	340	339	2.24	2.85	1.90	2.87	5.13	3.38

* 0.9% NaCl inj. Injection doses: Case 1 (4.1 ml), Case 2 (4.0 ml), Case 3 (3.6 ml).

** Confidence limit of mean at 5% level.

Table 8. Blood picture (Control test) 2. Leucocytes %

Case No.		Leuco.	1					2					3				
Days	Bef. inj.		B	E	H	L	M	B	E	H	L	M	B	E	H	L	M
	7		1.0	0.5	15.0	71.0	12.5	0	0	7.0	86.0	7.0	1.0	0.5	7.5	86.0	5.0
Aft. inj.	4		0	0.5	12.5	76.5	10.5	0	0	9.0	82.0	9.0	1.0	0.5	9.0	83.5	6.0
	2		0	0	15.0	71.0	14.0	0.5	0	9.0	81.0	9.5	1.5	1.0	6.0	82.5	9.0
	x		0.3	0.3	14.2	72.9	12.3	0.2	0	8.3	83.0	8.5	1.1	0.7	7.5	84.0	6.7
	6h		0	0	31.0	50.0	19.0	0	2.0	24.0	63.0	11.0	2.0	0	17.5	71.0	9.5
	12h		0	0	30.0	49.5	20.5	0	0.5	23.0	64.5	12.0	0.5	0	18.5	73.0	8.0
Aft. inj.	24h		0	0.5	19.5	58.5	21.5	0	0	18.0	69.5	12.5	1.0	0	11.5	79.5	8.0
	3		0	1.0	17.5	62.0	19.5	0	0	17.0	69.0	14.0	0	0	13.5	78.5	8.0
	x		0	0.4	24.5	55.0	20.1	0	0.6	20.5	66.5	12.4	0.9	0	15.2	75.5	8.4

Table 9. Electrophoretic analysis of plasma protein (Control test)

Case No.	Days before and after injection*	Fraction %							Ratio between fractions				A+ α	Content of total protein g/dl	
		Al	α_1	α_2	β	δ	γ	Total G1	A/G	A/ α	A/ β	A/ γ			
1	Before	7	40.7	5.3	8.5	6.9	19.2	19.4	59.3	0.60	2.95	2.12	2.10	54.5	3.6
		4	40.9	6.6	6.1	7.2	16.7	22.5	59.1	0.69	3.22	2.45	1.82	53.6	4.0
		2	42.3	7.1	6.8	5.3	19.9	18.6	57.7	0.73	3.07	2.13	2.28	56.2	4.0
		M**	39.4	4.0	4.0	4.0	14.4	15.1	56.5	0.54	2.74	1.76	1.51	51.5	3.3
			~43.2	~8.6	~10.2	~10.0	~22.8	~25.3	~60.9	~0.80	~3.42	~2.70	~2.63	~58.1	~4.5
	After	6h	41.1	7.0	7.8	6.1	25.1	12.9	58.9	0.70	2.78	1.64	3.19	59.4	3.8
		12h	40.8	6.7	7.2	5.5	20.9	18.9	59.2	0.69	2.93	1.95	2.16	54.7	4.0
		24h	40.5	8.4	7.1	4.9	19.8	19.3	59.5	0.68	2.61	2.06	2.10	56.0	4.3
		3	40.7	8.7	6.6	4.2	16.8	23.0	59.3	0.69	2.66	2.42	1.77	56.0	4.4
		x	40.8	7.7	7.2	5.2	20.6	18.5	59.2	0.69	2.74	1.98	2.11	58.0	4.1
2	Before	7	46.8	8.8	6.7	5.5	14.2	18.0	53.2	0.88	3.02	3.30	2.60	67.3	3.8
		4	41.1	10.5	5.5	5.5	17.0	20.4	58.9	0.70	2.57	2.42	2.01	57.1	4.2
		2	40.8	10.3	6.9	4.6	16.1	21.3	59.2	0.69	2.37	2.53	1.92	58.0	4.2
		M**	34.5	8.0	4.5	3.9	12.2	15.6	53.4	0.50	1.83	1.54	1.28	59.4	3.5
			~51.3	~11.3	~8.3	~6.5	~19.4	~24.2	~60.8	~1.02	~3.47	~3.95	~3.08	~62.2	~4.7
	After	6h	37.7	9.4	8.3	3.9	19.7	21.0	62.3	0.61	2.13	1.91	1.80	55.4	4.2
		12h	38.9	7.1	9.1	6.0	19.9	19.0	61.1	0.64	2.40	1.95	2.05	55.1	4.2
		24h	36.7	10.9	8.0	4.9	18.9	20.6	63.3	0.58	1.94	1.94	1.78	55.6	4.6
		3	38.5	10.5	7.4	5.5	16.0	22.1	61.5	0.63	2.15	2.40	1.74	56.4	4.5
		x	37.9	9.5	8.2	5.1	18.6	20.7	62.1	0.61	2.14	2.04	1.83	55.6	4.4
3	Before	7	47.5	13.3	7.8	5.5	10.4	15.5	52.5	0.90	2.56	4.57	3.06	68.6	3.9
		4	48.9	10.7	8.4	5.3	13.0	13.7	51.1	0.96	4.57	3.73	3.57	68.0	3.8
		2	47.3	11.9	6.8	4.9	13.9	15.2	52.7	0.90	3.97	3.40	3.11	66.0	3.8
		M**	45.7	7.8	5.7	4.4	7.9	11.4	49.9	0.83	1.81	1.50	2.74	65.0	3.7
			~50.1	~15.2	~9.7	~6.0	~16.9	~17.2	~54.3	~1.01	~5.59	~6.30	~3.76	~70.0	~3.9
	After	6h	44.4	12.5	5.9	5.3	14.4	17.5	55.6	0.80	3.55	3.08	2.54	62.8	3.7
		12h	42.4	8.9	9.7	5.3	14.9	18.9	57.6	0.74	4.76	2.85	2.24	61.0	3.7
		24h	42.7	11.6	6.8	5.0	16.5	17.4	57.3	0.75	3.70	2.60	2.47	61.3	3.7
		3	43.3	12.4	8.4	5.0	12.8	18.1	56.7	0.76	3.49	3.38	2.39	64.1	3.8
		x	43.2	11.3	7.7	5.1	14.7	18.0	56.8	0.76	3.82	2.94	2.40	62.2	3.7

*, ** Same as Table 7.

Explanation of Plates

The plates show the electrophoretic patterns (ascending) of plasma protein

Plate No.	Case No.	Injection doses	Figures																			
1	1	0.5 $\mu c/gm$	Fig. No. Days before inj.		1*	2	3	4														
			Fig. No. Hours or days after inj.		38	28	23	14	5	6	7	8	9	10	11	12	13					
2	2	0.1 $\mu c/gm$	Fig. No. Days before inj.		6h	12h	24h	3	6	10	15	20	25	14	15	16	28	25	23			
			Fig. No. Hours or days after inj.		6h	24h	6	10	15	20	25	17	18	19	20	21	22	23				
3	3	0.05 $\mu c/gm$	Fig. No. Days before inj.		6h	12h	24h	3	6	10	15	20	25	24*	25	26	34	26	14			
			Fig. No. Hours or days after inj.		27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	31	24	23			
4	4	0.01 $\mu c/gm$	Fig. No. Days before inj.		6h	12h	24h	3	6	10	15	20	25	39	40	41	42	43	44	45	46	47
			Fig. No. Hours or days after inj.		6h	12h	24h	3	6	10	15	20	25	48	49	50	7	4	2			
5	Control test 1	0.9 % NaCl 4.1 ml	Fig. No. Days before inj.		6h	12h	24h	3	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	
			Fig. No. Hours or days after inj.		6h	12h	24h	3	6h	12h												

Remarks: The patterns were photographed under the angle of diagonal slit 60°, while those of marked with * were taken under the angle 68°.

