

## 汎植物凝集素 *Caragana chamlagu* Lam. 의 凝集阻止에 關한 研究\*

启明大學校 醫科大學 小兒科學教室

金 正 珠

高麗大學校 醫科大學 法醫學教室

文 國 鎮

### =Abstract=

Agglutination Inhibition Study on Pan-phytagglutinin *Caragana chamlagu* Lam.

Jung-Ju Kim

Department of Pediatrics, Keimyung University  
School of Medicine, Taegu, Korea

Gook-Jin Moon

Department of Legal Medicine, Korea University  
School of Medicine, Seoul, Korea

Since blood groups and histocompatibility were discovered, they have been applied in several fields of medicine which include transfusion, organ transplantation, identification of paternity, diagnosis of certain specific diseases and study of ethnology.

In this study, the author demonstrated that the panhemagglutination activity of *C. Chamlagu* extract was inhibited by certain sera, while in others it was not. Therefore, the author designated the former as CCI (*Caragana Chamlagu* Inhibitor) and the latter as CCN (*Caragana Chamlagu* Non-inhibitor).

Samples taken from 873 cases were composed of 250 blood donors, 244 traumatic cases, 92 puerperants, and 287 cases of paternity identification.

The author also analyzed the frequencies of the CCI and CCN in comparison with blood groups and types, i.e. ABO, Rh subtypes (CDEcc), MNSs and secretor types.

The results were as follows:

1. Normal distributions of CCI and CCN were 71.33% and 28.67% respectively.
2. There were statistically no significant differences between normal distributions and each distribution of the blood groups and types.

### 緒 論

究는 1924년 Münk 가 江南종(*Phaseolus vulgaris*

L. 以下 *P. vulgaris*로 略함)의 抽出液에서 血液  
을 凝集시키는 物質을 證明하고 이를 Phasin이라

Phytagglutinin(以下 PHA로 略함)에 對한 研

고 命名한 以來 그 後 *P. vulgaris* PHA에 對한

\* 본 논문은 1983년도 계명대학교 동·산의료원 임상 연구 보조비로 이루어졌음.  
본 논문은 김정주의 석사학위 논문임.

研究는 많은 學者들에 依하여 이루어졌다. 即 *P. vulgaris*의 赤血球凝集能을 利用하여 Li 等<sup>1)</sup>은 全血에서 白血球를 分離하는데 使用하였고 또 PHA中에 細胞의 有絲分裂을 触進하는 有絲分裂催起因子(mitogen)가 含有되어 있음을 Nowell<sup>2),3)</sup>이 報告하였다. 그 後 이기중 各種 細胞의 人工培養時에 non specific mitogen으로 確定して 사용하게 되었다. 한편 Rigas와 Johnson(1964)<sup>4)</sup>, Weber 等(1976)<sup>5)</sup>, Michalowski 等<sup>6)</sup>은 電氣泳動法으로 *P. vulgaris*의 PHA를 PHA-M과 PHA-P로 區分하고 淋巴球의 有絲分裂催起能은 PHA-P가 보다 強한 것임을 報告하였다. 또 *P. vulgaris*의 蛋白成分中 白血球凝集能, RNA合成能 및 有絲分裂催起能 등의 시료에 作用을 하는 3要素가 含有되어 있음을 Rivera(1966)<sup>7)</sup>, Takahashi 等<sup>8)</sup>이 報告하고 이들 3要素로 인하여 *P. vulgaris*에 變動이 있으면 그에 따라 生物學的 性狀도 離은 差異가 생긴다고 하였다. 檢等<sup>9)</sup>은 *P. vulgaris*의 抽出液中에는 사람의 精子를 血型과 無關하게 모두 凝集하는 汚精子凝集素가 있음을 報告하였고 慎等<sup>10)</sup>은 韓國產 *P. vulgaris*의 汚凝集性을 利用하여 赤血球와의 凝集反應을 阻止하는 血清을 加진 사람과 阻止하지 못하는 사람으로 나누었는데 前者は 95%, 後자는 5%의 頻度를 나타내었다고 하며 胃潰瘍患者와 胃癌患者에서는 正常人보다 赤血球凝集反應을 阻止 못하는 頻度가 높았으며 統計學的으로도有意性이 있었다고 報告하였다.

마지막 著者は 韓國產 鈍葉生(*Caragana Chamlagu Lam.* 以下 *C. Chamlagu*로 略함)의 汚凝集性을 利用하여 사람의 血清을 作用시킨 바 몇가지 的도운 結果를 얻었는데 그 結果를 報告하는 바이다.

## 實驗材料 및 方法

### 1. 材 料

#### 1) 植物凝集素

韓國產 鈍葉生(*C. Chamlagu*)의 가지를 건조시켜 이를 粉末로 하고 그 粉末 1gm을 0.01M phosphate buffer saline 100ml와 混合한 後 遠心分離(5,000RPM)하여 그 上層液을 取하여 millipore (size 0.5μ, Swinnex 25)로 濾過하여 모든 사람의 赤血球와 凝集反應이 陽性인 것을 確認한 後 植物凝集素原液으로 使用하였다.

#### 2) 血 清

無菌의으로 靜脈血을 採血한 다음 小試驗管에 넣어 室溫에 1時間 放置하여 血球層과 分離된 血漿을 小試驗管에 取하여 遠心沈澱(3,000rpm)하여 남아 있는 血球成分을 完全 除去하여 使用하였다.

血清檢査 對象은 873名이었으며 그 内容은 다음과 같다.

供血者: 250名

外傷患者: 244名(男性 186名, 女性 58名)

產婦婦: 92名

親生子鑑別의 選定對象者: 287名

計: 873名

#### 3) 赤血球浮遊液

無菌의으로 採血한 O型의 血液를 生理的食鹽水로 洗滌하고 遠心分離하는 操作을 3回 反復하여 5% 生理的食鹽水赤血球浮遊液을 取하여 *C. Chamlagu* 抽出液와 凝集反應이 陽性인 것을 確認한 後 使用하였다.

## 2. 方 法

#### 1) 凝集反應阻止検査

*C. Chamlagu* 抽出液 即 汚植物凝集素原液에 同量의 사람 血清을 加하고 37°C로 調節한 恒溫器에서 30分間 作用시킨 後 遠心分離하여 그 上層液에 *C. Chamlagu* 抽出液 0.3ml를 加한 後 다시 37°C恒溫器에서 30分間 作用시킨 後 赤血球와의 凝集反應이 有無를 肉眼으로 檢査하였다.

## 實驗成績

供血者, 外傷患者 및 產婦婦 586名을 *C. Chamlagu* PHA와 赤血球凝集反應을 阻止하는 사람 即 *C. Chamlagu* Inhibitor(以下 CCI로 略함)와 阻止 못하는 사람 即 *C. Chamlagu* Non-inhibitor(以下 CCN으로 略함)라 稱하고 供血者와 外傷患者의 性別에 따른 이들의 分布와 產婦婦의 CCI와 CCN의 分布를 調査한 結果는 Table 1과 같다.

即 供血者 250名中 CCI는 179名(71.60%), CCN은 71名(28.40%)이었다. 外傷患者 244名中 CCI는 174名(71.31%), CCN은 70名(28.69%)이었으며 外傷患者의 男性 168名은 136名(73.12%)의 CCI와 50名(26.88%)이 CCN이었으며 女性 外傷患者 58名中 CCI는 38名(65.52%), CCN은 20名(34.48%)이었다. 그리고 產婦婦 92名은 65名(70.65%)의 CCI와 27名(29.35%)의 CCN으로 分布되었었다. 또 全體를 性別에 나누어 보면 男性의 境遇 436名中 CCI는 315名(72.25%), CCN은 121名(29.35%)이었으

Table 1. Distribution of inhibitor and noninhibitor to pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu* Lam. in donors, puerperants and trauma cases

Red cells of	Number of blood specimens tested		
	Total	inhibitor	noninhibitor (%)
<b>Male</b>			
Donor	250(100)	179(71.60)	71(28.40)
Trauma case	186(100)	136(73.12)	50(26.88)
Subtotal	436(100)	315(72.25)	121(27.75)
<b>Female</b>			
Puerperant	92(100)	65(70.65)	27(29.35)
Trauma case	58(100)	38(65.52)	20(34.48)
Subtotal	150(100)	103(73.53)	47(26.47)
Total	586(100)	418(71.33)	168(28.67)

여 女性 150名은 CCI 가 103名(73.53%)이고 CCN 은 47名(26.47%)이었다. 性別區分 比은 全體對象 586名中 CCI 가 418名(71.33%), CCN 은 168名(28.67%)의 分布를 나타내었다. 이들 各群別 CCI 와 CCN 的 分布頻度差의 Z検査를 實施한 結果 統計學的 有意性은 없었다.

親子鑑別對象者 287名은 CCI 가 210名(73.17%)이고 CCN 은 77名(26.33%)이었는데 ABO 式血型, MNSSs 式血型, Rh 의 各血型(C, D, E, c, e)과 Secretor 型을 調査하여 이들 各型과 *C. Chamlagu* PHA 에 대한 CCI 및 CCN 的 分布를 調査한 結果는 다음과 같았다.

Table 2. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu* Lam. in A B O blood group

	Number of blood specimens tested				
	Total	A	B	O	AB(%)
Inhibitor	210(73.17)	56(67)	68(76)	58(75)	28(76)
Noninhibitor	77(26.83)	28(33)	21(24)	19(25)	9(24)
Total	287(100)	84(100)	89(100)	77(100)	37(100)

Table 3. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu* Lam. in MNSSs blood type

	Number of blood specimens tested							
	Total	M	N	MN	S	s	Ss(%)	
Inhibitor	210(73.17)	44(85)	39(59)	127(75)	6(67)	180(71)	24(89)	
Non-inhibitor	77(26.83)	8(15)	27(41)	42(25)	3(33)	71(29)	3(11)	
Total	287(100)	52(100)	66(100)	169(100)	9(100)	251(100)	27(100)	

### 1. ABO 式血型과의 關係

ABO 式血型(Table 2)에서는 84名의 A型中 CCI 는 56名(67%), CCN 은 28名(33%)이었고 B型 89名中 CCI 는 68名(76%), CCN 은 21名(24%)이었다. O型은 77名이었는데 이中 CCI 는 58名(75%), CCN 은 19名(25%)이었고, AB型 37名中 28名(76%)이 CCI, 9名(24%)은 CCN 이었다. 이들 各 血型에 따른 CCI 와 CCN 的 分布에는 多少의 差는 있었으나 統計學的 有意性이 있는 것은 아니었다.

### 2. MNSSs 式血型과의 關係

MNSSs 式血型과 CCI 및 CCN 的 關係를 구명하기 위하여 分布를 調査한 結果(Table 3)는 52名의 M型中에는 44名(85%)이 CCI, 그리고 8名(15%)이 CCN 이었고, 66名의 N型中에는 39名(59%)이 CCI 이 있으며 27名(41%)이 CCN 이었다. 169名의 MN型中에는 127名(75%)이 CCI 이었고 42名(25%)이 CCN 이었다. S型 9名中 6名(67%)이 CCI 그리고 3名(33%)이 CCN 이었으며 S型 251名中에는 CCI 가 180名(71%), CCN 이 71名(29%)이었다. 正 Ss型 27名中 CCI 는 24名(89%), CCN 은 3名(11%)이었다. 即 MNSSs 血型에 따른 CCI 와 CCN 的 分布頻度에는 다소의 差가 있었으나 統計學的으로 有意性이 있는 差는 아니었다.

### 3. Rh-Hr 式血型과의 關係

Rh 式血型의 各 亞型과 CCI 및 CCN 사이에 國聯

이 있는가를 充明하기 위하여 實驗結果는 Table 4~7과 같다. 即 Table 4는 Rh 亞型인 D 와 CCI 및 CCN의 關係를 보여주는데 D(+) 286名中 CCI는 209名(73%)이고 CCN은 77名(27%)이었다. D(-)의 경우 檢者가 1名이었는데 CCI이었다.

Table 4. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu Lam.* in Rh subtype D

	Number of blood specimens tested		Total	c(+)	c(-)(%)
	Total	D(%)			
Inhibitor	210(73.17)	209(73)	1(100)		
Noninhibitor	77(26.83)	77(27)	0		
Total	287(100)	286(100)	1(100)		

Rh 亞型 C(Table 5)에서 C(+)는 243名이었는데 CCI가 175名(72%)이고 CCN은 68名(28%)이었다. C(-)는 44名이었는데 CCI는 35名(80%), CCN은 9名(20%)이었다.

Table 5. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu Lam.* in Rh subtype C

	Number of blood specimens tested		Total	e(+)	e(-)(%)
	Total	e(%)			
Inhibitor	210(73.17)	175(72)	35(80)		
Noninhibitor	77(26.83)	68(28)	9(20)		
Total	287(100)	243(100)	44(100)		

Rh 亞型 E 와 CCI 와 CCN의 關係를 實施한結果는 Table 6과 같다. 即 150名의 E(+)中 CCI는 110名(73%), CCN은 40名(27%)이었으며 E(-)인 자는 137名中 100名(73%)이 CCI, 37名(27%)이 CCN이었다.

Table 6. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu Lam.* in Rh subtype E

	Number of blood specimens tested		Total	E(+)	E(-)(%)
	Total	E(%)			
Inhibitor	210(73.17)	110(73)	100(73)		
Noninhibitor	77(26.83)	40(27)	37(27)		
Total	287(100)	150(100)	137(100)		

Rh 亞型 c 와 CCI 및 CCN의 關係를 實施한結果는 Table 7과 같다. 即 c(+) 177名中 CCI는 140名(79%), CCN은 37名(21%)이었고, c(-) 110

名中에서 CCI는 70名(64%), CCN은 40名(36%)이었다.

Table 7. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu Lam.* in Rh subtype c

	Number of blood specimens tested		
	Total	c(+)	c(-)(%)
Inhibitor	210(73.17)	140(79)	70(64)
Noninhibitor	77(26.83)	37(21)	40(36)
Total	287(100)	177(100)	110(100)

Table 8은 Rh 亞型 e 와 CCI 및 CCN의 關係를 實施한結果로서 e(+) 207名中, CCI는 150名(73%), CCN은 57名(27%)이었고 e(-)인 80名中에는 60名(75%)이 CCI이었고, 20名(25%)이 CCN이었다.

Table 8. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu Lam.* in Rh subtype e

	Number of blood specimens tested		
	Total	e(+)	e(-)(%)
Inhibitor	210(73.17)	150(73)	60(75)
Noninhibitor	77(26.83)	57(27)	20(25)
Total	287(100)	207(100)	80(100)

#### 4. 分泌型과의 關係

血型物質의 Secretor 및 Non-secretor 와 CCI 및 CCN의 相關性을 調査한結果(Table 9)는 Secretor 268名中 200名(75%)이 CCI이었고 나머지 68名(25%)은 CCN이었다. 또 Non-secretor 19名中 CCI는 10名(53%)이었고 CCN은 9名(47%)이었다.

Table 9. Distribution of inhibitor and noninhibitor to Pan phytagglutinin *Caragana Chamlagu Lam.* in secretor type

	Number of blood specimens tested		
	Total	Secretor	Non secretor (%)
Inhibitor	210(73.17)	200(75)	10(73)
Noninhibitor	77(26.83)	68(25)	9(47)
Total	287(100)	268(100)	19(100)

以上의 各 血型 및 唾液型에 따르는 CCI 와 CCN의 分布頻度에는 다소의 差異는 있으나 相互 統計學的으로 有意한 정도의 差는 아니었다.

## 考 察

赤血球의 凝集機轉은 各 gene의 支配下에 產生된 赤血球膜表面의 抗原이 이에 對한 抗體와 相互作用을 하였을 때 凝集이 일어난다. PHA도 역시 赤血球表面의 어떤 受容體와 結合함으로 赤血球는 凝集된다. CCN의 血清内에는 *C. Chamlagu*의 PHA와 直接 反應하거나 PHA와 競合的으로 赤血球表面의 受容體와 反應하는 어떤 因子가 있어서 이것이 PHA의 赤血球凝集反應을 阻止하는 것으로 생각된다. 血型도 이 抗原과 抗體의 反應을 利用하여 檢查하거나 型을 分類한다. Landsteiner<sup>11)</sup>가 ABO式血型을 發見하여 報告한 後 Rh型, MNSs型, Kell型 및 Duffy型등 400種以上의 血型이 알려져 있다. PHA에 對한 inhibitor와 non-inhibitor도 一종의 血型으로 볼 수 있다. 이를 血型中 各各의 gene locus가 黑色인 것은 ABO型은 Chromosome 9<sup>12)</sup>, Rh型은 Chromosome 1<sup>13)</sup>, MNSs型은 Chromosome 2<sup>14)</sup> 등이다. 이들 genes이 赤血球表面의 抗原을 決定한다. 例를 들면 ABO型에서 赤血球의 表面에 抗原의 前驅物質(H-substance)이 있는데 A-gene은 H-substance의 Oligosaccharide chain에 N-acetylgalactosamine을 結合시키며 B-gene은 Oligosaccharide chain에 D-galactose를 結合시켜 各各 A-抗原과 B-抗原을 만든다.

現在 血型은 人間 淋巴球抗原과 더불어 全血이나 血液成分別 輸血, 臨器移植, 親子鑑別 및 疾病과의 關聯性에 應用되고 있다. 이에 대한 研究中 疾病과의 關係에 對한 報告로 Aird等(1954)<sup>15)</sup>이 消化性潰瘍은 O型인 사람에 많다는 것이 있은 後 很多追試와 統計的分析을 하였다. Johnson(1965)<sup>16)</sup>은 消化性潰瘍을 胃體部에만 潰瘍이 있는 第1型, 胃體部, 幽門部 및 12指腸 모두에 潰瘍이 있는 第2型, 胃體部에는 潰瘍이 없고 幽門部와 12指腸에 潰瘍이 있는 第3型으로 나누어 볼 때 第1型은 血型과 關係가 없으나 第2, 3型의 患者에는 O型인 사람이 많다고 報告하였다. Langman과 Doll(1965)<sup>17)</sup>은 消化性潰瘍이 O型인 사람에 많은 것은 事實이며 出血을 同伴한 患者에 O型이 特히 많다고 報告하였다. 또 Buckwalter(1960)<sup>18)</sup>와 Clarke(1961)<sup>19)</sup>은 nonsecretor에 消化性潰瘍이 많이 發生한다고 하였다. 慎等<sup>10)</sup>은 胃潰瘍患者와 胃癌患者에서 *P. vulgaris*의 PHA에 對한 noninhibitor가 正常對照群에 比하여 높다고 하였다.

著者は 韓國產 *C. Chamlagu*의 汉凝集能을 利用

하여 그 凝集能의 阻止與否를 사람 血清을 使用하여 檢查한 바 阻止시키는 血清과 阻止시키지 못하는 血清群이 있었다. 따라서 前者를 CCI(*C. Chamlagu* Inhibitor), 後者를 CCN(*C. Chamlagu* Noninhibitor)로 命名하였으며 正常韓國人 873名의 血清으로 그 凝集能의 阻止與否를 實驗調查한 結果 CCI는 71.33%, CCN은 28.67%이었다. 그리고 親生子鑑別對象者 278名의 血球 및 血清을 使用하여 各血型과 CCI 및 CCN과의 關係를 實驗調查한 바 各血型에 따라서 多少의 差異는 있으나 統計學的으로有意한 정도의 差異는 없었다.

이 *C. Chamlagu*의 CCI 및 CCN에 對하여 보다 廣範한 다른 血型과의 關係, 遺傳性 및 疾病과의 關係等에 對한 것은 研究가 이루어지면 다른 血型과 같이 여러 分野에 活用이 될 것으로 생각된다.

## 要 約

韓國產 楊柳子(*Caragana Chamlagu* Lam.)의 凝集素를 材料로 873名의 血清과 作用시킨 後 O型 사람의 赤血球와의 凝集反應阻止與否를 檢查하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. *C. Chamlagu* 凝集素의 凝集反應을 阻止시키는 사람 血清과 阻止시키지 못하는 사람 血清이 있었는데 前者를 CCI(*C. Chamlagu* Inhibitor), 後者를 CCN(*C. Chamlagu* Non-inhibitor)라 稱하였다.
2. 正常韓國人 873名의 血清의 CCI 및 CCN의 分布는 71.33%와 28.67%이었다.
3. CCI 및 CCN은 性別, ABO血型, MNSs血型, Rh亞型 및 分泌液(唾液)과 一定한 關係가 有하였다.

## 參 考 文 獻

- 1) Li, J.G., and Osgood, E.E.: A method for rapid separation of leukocytes and nucleated erythrocytes from blood or marrow with a phytohemagglutinin from red beans(*Phaseolus vulgaris*). Blood, 4: 670, 1949.
- 2) Nowell P.C.: Phytohemagglutinin; an inhibitor of mitosis in cultures of normal human leukocytes. Cancer Res., 20: 462, 1960.
- 3) Nowell P.C.: Inhibition of human leukocyte mitosis by prednisolone in vitro. Cancer

- Res., 21: 1518, 1961.
- 4) Rigas, D.A., and Johnson, E.A.: Studies on the phytohemagglutinin of *Phaseolus vulgaris* and its mitogenicity. Ann. N.Y. Acad. Sci., 113: 800, 1964.
- 5) Weber, T., Nordman, C.T., and Grasbeck, R.: Separation of lymphocyte stimulating and agglutinating activities in phytohemagglutinin(PHA) from *Phaseolus vulgaris*. Scand. J. Haematol., 77: 81, 1967.
- 6) Michalowski, A., Bartoszewicz, W., and Kozubowski, J.: Blastic transformation in leukocyte cultures. Lancet, II: 1130, 1966.
- 7) Rivera, Jr. A., and Mueller, G.C.: Differentiation of the biological activities of phytohemagglutinin affecting leukocytes. Nature, 212: 1207, 1966.
- 8) Takahashi, T., Ramachandramurthy, P., and Liedner, J.E.: Some physical and chemical properties of a phytohemagglutinin isolated from *Phaseolus vulgaris*. Biochem. Biophys. Acta, 133: 123, 1967.
- 9) 檀景澈, 文國鎮: *Phaseolus vulgaris* L.의 赤血球 및 精子凝集素活性에 關する研究. 高麗醫大雜誌, 11: 2, 1149, 1974.
- 10) 檀景澈, 文國鎮: 沢植物凝集素 *Phaseolus vulgaris* L.의 血清에 依する 凝集阻止에 關する研究. 高麗醫大雜誌, 17: 1, 67, 1980.
- 11) Landsteiner, K.: On agglutination of normal human blood. (A. L. Kappus, trans.), Transfusion, 1: 25, 1961.
- 12) Westerveld, A., et al.: Assignment of the AK: NP: ABO linkage group to human chromosome 9. Proc. Nat. Acad. Sci., 73: 895, 1976.
- 13) Ruddle, F., et al.: Somatic cell genetic assignment of peptidase C and the Rh linkage group to chromosome a-1 in man. Science, 176: 1429, 1972.
- 14) German, J. L., et al.: MN blood group group locus: data concerning the possible chromosomal location. Science, 162: 1014, 1968.
- 15) Aird, I., Bentall, H.H., Mehigan, J.A., and Roberts, J.A. Fraser: The blood groups in relation to peptic ulcerations: An association between the ABO groups and peptic ulceration. Brit. Med. J. II: 315, 1954.
- 16) Johnson, H.D.: Gastric ulcer; classification, blood group characteristics, secretion patterns and pathogenesis. Ann. Surg., 162: 996, 1965.
- 17) Langman, M. J. S., and Doll, R.: ABO blood group and secretor status in relation to chemical characteristics of peptic ulcers. Gut, 6: 270, 1965.
- 18) Buckwalter, J. A., Scoy, R.E., Van and Knowler, L. E.: ABO blood groups of duodenal ulcer patients. Brit. Med. J. II: 1643, 1960.
- 19) Clarke, C. A.: Blood groups and Disease, Progress in Medical Genetics, Grune and Stratton, New York, Vol.1: 81, 1961.