

アレルギー19(1),1970

日米補体セミナー記録

於：東京経団連会館

日本アレルギー学会

[集 会]

日米補体セミナー記録

於：東京経団連会館

(受付：10月31日，1969)

1. ゾーン超遠心による補体第1成分(C1)の精製と electrofocusing による第2成分(C2)の精製

National Cancer Institute, Bethesda, Md.

Colten, H.R., Borsos, T.,
Bond, H.E. and Rapp, H.J.

ゾーン遠心法はウイルスや細胞内顆粒中生物活性をもつ高分子の精製に用いられてきた。本報では血清から、化学的にも活性の上でも純粋な補体第1成分(C1)を分離するためのゾーン超遠心法について述べる。C1の沈降速度が媒体のイオン強度に逆比例するという事実から、この精製法を開発することができた。イオン強度0.3以上ではC1の沈降定数は約4であるが、イオン強度0.15以下では約18である。この方法は2段階の遠心より成る、まず $\mu=0.75$ で19S分画の血清蛋白を沈澱させ上清のC1を分離し、ついで $\mu=0.065$ として18SになっているC1aをそれより小さい分子から分離する。このようにして精製したものの溶血活性は 0° では安定であるが、凍結、融解を2回くり返すと急速に失われる。この方法によつて大量の安定で純粋かつ溶血活性をもつC1aが得られる。このようにして得られた蛋白の50~80%が溶血活性をもつC1aである。

モルモットおよびヒト血清のある程度精製されたC2は、electrofocusingによつてさらに精製される。この方法によつて蛋白はpH勾配の中で、その等電点に分離、濃縮される。あるモルモット血清中ではC2の活性は2つの画分、1つはpHが5.2、他は約5.5に分かれる。調べたすべてのヒト血清と若干のモルモット血清のC2活性はpH約5.5のところにとだ1つのピークを示す。

2. 特異的抗体の関与しないヒツジ赤血球の補体による溶血

大阪府立成人病センター

稲井 真弥, 露口 泉夫, 平松 誠一
ヒトの aggregated IgG を CrCl_3 を介して結合させ

た羊赤血球 (Eag G) に高稀釈のモルモット血清を作用させると溶血することを観察した。この場合、1) その溶血の kinetics, 2) EDTAによる溶血阻止の状態、3) 種々の intermediate cells すなわち Eag GC 1a, Eag GC 1a 4, Eag GC 4 が作製し得ること、等の事実からこの溶血反応には補体が関与していることがわかった。IgM 結合赤血球も同様に補体作用により溶血したが、IgA あるいは IgD 結合赤血球は高濃度の補体を作用させても溶血はみられなかつた。これらの実験結果は IgG, IgM は補体を結合するが IgA はしないという従来からの報告とよく一致している。IgD 結合赤血球が溶血しないこと、また IgD にはいわゆる補体結合能がみられなかつたことから、IgD は補体結合性がないと結論しえる。

次に CrCl_3 を介してヒトの C1a を直接ヒツジ赤血球に結合させてみた (EC1a)。この EC1a に残りの補体成分を順次加えてみると溶血がおこることがわかつた。しかし感作赤血球から作つた EAC1a と異り、この EC1a に EDTA を作用させても C1a の遊離は全くみられなかつた。

EC1a に精製した補体成分を順次加えることにより、種々の intermediate cells, すなわち EC1a, 4, EC1a, 4, 2a をつくることができた。EC1a, 4, 2a からの C1a, 4, 2a site の decay をしらべたところ EAC1a, 4, 2a からの decay の態度と非常によく似ており、その rate constant, k は 0.017 で、EAC1a, 4, 2a では 0.026 であつた。以上の実験結果から EC1a から始まる各補体成分の反応は EAC1a の場合とほぼ同じであることがうかがえる。すなわち補体は特異的な抗体活性をもたない免疫グロブリンを介して、または CrCl_3 を介して赤血球に結合した場合、感作赤血球におけると順序機作で反応が進むこの赤血球を溶血せしめることを実験的に明確にした。

3. 異種免疫グロブリンに属する抗体による補体結合性の差異

Children's Asthma Research Institute
and Hospital, Denver, Colo.

Ishizaka, T. and Ishizaka, K.

異種の免疫グロブリンに属する抗体はそれぞれ異つた免疫化学的性質を表わす。これらの免疫グロブリンを区別するのに役立つ性質に補体結合性がある。ヒトの抗-A同種抗体とA型赤血球から成るC1a結合系を用いると、 γG 、 γM 抗体のいずれもC1aを結合するが、 γA 抗体はモノマーもポリマーも補体結合性に欠けることがわかつた。また γG および γM の aggregate は補体を結合するが、aggregated γA は結合しないこともわかつた。 γG グロブリンの亜族の中で γG_1 、 γG_2 、 γG_3 グロブリンは aggregate するとCおよびC1aを結合するが、 γG_4 は結合しない。

γG 、 γM 型の抗体はいずれも補体を結合するが、両者の結合のメカニズムが同じであるか否かはまだ解明されていない。たとえば赤血球に対する γM 抗体は γG 抗体よりも高い溶血活性をもつことが知られている。さらに Borss and Rapp は赤血球表面の γM 抗体は1分子で充分C1a結合部位を生じ得るが、 γG 抗体は少くとも2分子が doublet に配置する必要があることを報告している。これらの結果は充分精製したA型物質に対する γG および γM ウサギ抗体を用いて確かめられた。 γM 抗体がC1aを結合する効率は抗原の性質によつて変化する。可溶性抗原(A-物質)を用いると γG 抗体は γM 抗体よりも高いC1a結合能をもつが、細胞性抗原を用いると γM 抗体の方が γG 抗体よりも有効である。 γG 抗体と γM 抗体のちがいは可溶性抗原を用いたC結合においてもみられる。 γG 抗体より成る抗原抗体結合物によるC結合は当量比において最も高いが、 γM 抗体を含む複合物によるC結合は抗体過剰域において最も高い。 γG 抗体のC1a結合能は可溶性抗原でも細胞抗原でも定量的に同程度であるが、細胞表面上の γM 抗体は可溶性抗原に結合した同じ分子よりもはるかに効果的である。 γM 抗体によるC1a結合に対する抗原の性質の重要性は可溶性および不溶性A型物質を用いて確かめられた。その結果不溶性抗原と可溶性抗原の系における γM 抗体のC1a結合能の差異は抗原上の抗原性決定基の数と分布によることがわかつた。1個の γM 抗体分子は5~10個の抗体結合部位をもつので、抗体分子はおそらく1個以上の結合部位を通じて赤血球に結合すると思われる。それ故に γM 抗体が1個以上の結合部位を通じて抗原と結合することによつて抗体分子がひずみ、その結果

起る構造の変化がC結合をはじめるといふ仮定が生まれる。いずれにせよ、この結果は γG 抗体と γM 抗体によるC結合の開始にはちがったメカニズムが含まれていることを強く示唆する。

最近 γD および γE 免疫グロブリンのC結合性を調べた。 γE に関する実験は Bennich および Johansson と共同で行なつた。その結果、aggregated γD および γE のいずれもCまたはC1aを結合しないことがわかつた。aggregated γE はラットまたはヒトいずれの血清からもアナフィラトキシンを形成しない。 γE がCを結合しないことは γE の系によるレアギン過敏反応に補体が含まれないことを示している。

4. 抗体の種と親和力およびその C1a 結合および転位に対する影響

University of California San Francisco
Medical Center, San Francisco, Calif.

Linscott, W.D.

ヒツジ赤血球の boiled stromata に対する7Sおよび19S抗体分画について、その感作血球を様々な温度、イオン強度で洗い、洗滌前と洗滌後のC1a-結合部位の数を測定することによつて、各分画のヒツジ赤血球に対する結合能を調べた。免疫開始後数週間は7S抗体の親和力は非常に低く、室温で一回洗滌するとかかなりの抗体が感作血球からはずれることがわかつた。8~15週後に親和力はかなり高くなるが、まだ若干の損失が見られる。19S抗体では免疫開始後6日でも比較的親和力が高く、その後増大する。親和力の低い抗体は0°C、イオン強度0.037で洗滌する時、最もよく感作血球に保持される。

感作血球上に最もよく抗体が保たれる条件の下で、C1a結合および転位に対する抗体の種の影響を調べた。

7S抗体も19S抗体もともにイオン強度を上げるとC1aを解離しやすくなるが、この効果は19Sよりも7Sの方がはるかに大きい。0°Cから37°Cに上げると、調べた各イオン強度において7S-感作血球からのC1aの解離が増大するが、19S-感作血球では逆の効果がみられた：C1aは高温の方が強く結合した。両方の抗体に対してC1a転位に最適のイオン強度はほぼ0.11である。様々な異なつたイオン強度においてEAC1aからのC1aの転位はEAC1a4からよりも容易に起こることがわかつた。すなわち血球に結合したC4はC1aの結合エネルギーに寄与していることを示している。

感作していないヒツジ赤血球はタンニン酸で処理するとC1aを結合することができ、このC1aは溶血性をもつ。この反応はタンニン酸処理血球を前以てゲラチンやアルブミンのような蛋白で処理すると阻害され、タンニン酸処理血球についてC1aはEDTA-緩衝液で洗うと除かれる。

5. ヒト Ig G の構造と抗補体性との関係に関する研究

東大医学部物療内科

広瀬 俊一, 谷本 潔昭, 荒田 孚
勝田 保男

6モル尿素中で処理された後、生食に対して透析されたヒトIgG(U-IgG)は抗補体法、モルモット皮膚における血管透過性亢進およびリウマトイド因子(RF)に対する抗原性を持ち、IgGが本来有するモルモットに対する親和性も保存している。このような尿素処理ヒトIgG(U-IgG)を2MEで処理した後monoidoacetamide(MIA)にてアルキル化したもの(ME+MIA)およびアルキル化をしないもの(ME)を用いてこれ等の処理によるIgGおよびU-IgGの抗補体性と生物活性との関係を検討した。U-IgGのもつ抗補体活性およびモルモット皮膚に対する親和性はMEおよびMIA処理により破壊されるが、ME処理のみでは破壊されない。一方RFに対する抗原性はMEおよびMIAの両者を用いて処理された後にも失われない。精製 polymerize したHchain(tH)は抗補体性を有するにもかかわらず、RPCAを用いて検討したモルモットの皮膚に対する親和性および血管透過性亢進を示さなかつた。U-IgGおよびtHによる補体結合性はHchain間のinteractionによるものと思われるが、この際Hchain間のdisulfide bondの結合は本質的なものでないと思われる。

また、補体結合能は血管透過性とは、直接的関係を有さないように思われる。

6. 補体第4成分の分離と機能

国立がんセンター研究所

嶋田 孝吉, 関根 暉彬, 宮川 脩三
真弓 忠

C4の分離精製法は各種の方法が報告されているが、C4の溶血活性はしばしば精製過程で失われ、またC4とC1 inactivatorの分離もむづかしい。次のようなC4精製法が進められた。

血清を硫酸ソーダで塩析し、C4をC1 inactivatorから分けて、di-isopropyl fluorophosphateを加えてC4活性の低下を防ぐ。つづいて、CMとDEAEセルロースのクロマトグラフィーを行い、Sephadex G-200のゲル濾過を行なつて精製を進めた。

モルモット、ヒト、ラットのC4はこの新しい方法で分離されC3、C5のsite形成におよぼすC4の役割をしらべた。

1) ヒトC3はEACモル、4ヒト、2モルに対してはEAC1モル、4モル、2モルよりもよく反応するが、モルモットC3は両方の血球に対し同じように反応する。

2) ラットC5はEAC1モル、4ラット、2モル3ラットとよく反応するが、EAC1モル、4モル、2モル、3ラットは反応しないのに、モルモットC5は両方の血球に対し同じように反応する。

7. 補体系の蛋白性の阻止物質について

Harvard 大学医学部内科教室

Robert B. Brigham 病院

Irma Gigli

補体系の阻止物質や不活性物質は補体系の統制機構にあずかる因子としてその生物学的な意義が注目され感度のよい再現性の高い測定法の開発が試みられてきた。第1成分のinhibitorである α -2-グロブリンはC1のエステラーゼ活性の阻止や免疫拡散法で測定されてきたが、感度も低く直接その生物活性と結びつかない方法であつた。C1 inhibitorはかくして、活性化されたC1の溶血活性の阻止作用として測定する方法が提出された。その作用は反応液中に存在するC1にも、血球上に結合したC1にも作用する。

血漿中のKallikreinについてはDr. Colmanとの協同でしらべた結果、キニン系と補体系の関係がしらべられてきた。C1 inhibitorはKallikreinのTAMEに対する作用も阻止するが、その作用機序はC₁に対する同じように濃度、時間に応じて、Kallikreinと反応してとりこまれstoichiometricな結合体を作ることが示唆された。これはC1 inhibitorのトリプシンやスロンピンとの作用とことなつている。以上のことからC1とKallikreinとの共通した関連性が示唆される。

C3 inactivatorは田村, Nelsonによつて記載されたものであるが、EA 143状態にあるC3の作用をこわし、溶血反応でstoichiometricに測定される。C3

inactivator の C 3 に対する作用は温度時間に依存して、細胞についた C 3 から反応液中に C 3 分子の同位原素でラベルされた蛋白質を遊離させるが、反応系から C 3 inactivator は消費されない。このようなことから C 3 inactivator は、Lachman らの記載した conglutinin activating factor と同一とみられる。C 3 inactivator は、C 3 の今まで知られているすべての能力を破壊して、immune-adherence も溶血も喰菌作用もなくされる。

ヒト、モルモット、ウサギそれぞれの異種のくみ合せにおける C 4、C 2 は細胞に結合した、あるいは反応液中における C 1、C 4、C 2 のそれぞれの反応順列に従った同種間の成分の反応を阻止する。

ウサギ血清または分離した C 1 を 56°C 30 分加熱すると、感作血球には結合するが、溶血活性をもたない物質となる。これは EDTA 処理により解離され、また EAC4 にも転移することが示された。

8. C 3 Inactivator の精製とその免疫学的性質

国立がんセンター研究所

鳥巢 要道, 園崎 秀吉

C 3 inactivator は、ヒト血清から DEAE および C M セルローズクロマトグラフィー、Pevikon C-870 ズーン電気泳動、Sephadex G-200 superfine のゲル濾過で精製された。

超遠心で $S_{20,w} = 5.2S$ の単一ピーク、蔗糖密度勾配超遠心でも 5.2S で β_1 グロブリン領域に単一沈降線を示す免疫電気泳動像を得た。

C 3 inactivator は、1) PCA 反応、2) アナフィラトキシン形成、3) 皮膚移植 (同種)、4) 免疫食現象、5) Prausnitz-Küstner 反応を阻止する。Prausnitz-Küstner 反応は石坂の報告したように γE でも阻止されるが、 γE の阻止作用は、56°C 4 時間でこわれるが、C 3 inactivator の阻止作用はこわされない。

9. 補体成分 C 2, C 3, C 5 の反応の化学的、生物学的研究

Department of Microbiology, The
Johns Hopkins University School of
Medicine, Baltimore, Md.

Mayer, M.M., Shin, H.S.
and Miller, J.A.

過去 6 年間に活性化された C 1 は C 4 および C 2 に対して酵素として作用し、C 2 分子を開裂させて複合体 C 4, 2a を生じ、これは C 3 分子を開裂し得る新しい酵素であるということが調べられてきた。C 3 のフラグメントの 1 つは血球膜に結合した C 4, 2a のところかあるいはその近くに結合して、C 5 との反応性を有する複合体 C 4, 2a, 3 を生じる。分子量約 10,000 のもう 1 つのフラグメントはモルモットの腸管に対しけいれんを起させる。複合体 C 4, 2a, 3 は C 5 を開裂させる。フラグメントの 1 つは血球に結合した C 4, 2a と結合する。分子量約 15,000 のもう 1 つのフラグメントはモルモットの腸管に対しけいれん誘起性であり、またウサギ多核白血球に対して化学趨向性を有する。

血球に結合した C 5 はイオン強度 0.15 において、EAC4, 2a 35 から活性な形で解離し、EAC4, 2a 3 に転位することができる。解離した C 5 は液層では非常に不安定である。さらに、高い温度、さまざまなイオン強度で起る C 2a の減衰—脱離の際には、EAC4, 2a 35 から C 5 の脱離を伴うことが見出された。このことは C 5 の結合には、血球に結合した C 4, 2a 複合体が含まれることを示している。

10. ヒト補体 C 2 および C 3 の溶血活性に対する S-H 保護と S-S 開裂の影響

Department of Experimental Pathology,
Scripps Clinic and Research
Foundation, La Jolla, Calif.

Polley, M.J. and Müller-Eberhard, H.J.

最適濃度のヨードでヒト C 2 を処理すると、補体成分の溶血活性が高められ C 42 複合体が安定化されるという事実は、C 2 分子内の 1 個またはそれ以上の S-H 基が酸化されるためであるといわれてきた。10M⁻³ ジチオスレイトールで oxy C 2 を処理すると、ヨード効果が全く逆になり、次いで再びヨードで処理すると C 2 活性が高まる。このような事実は未処理の C 2 分子には 2 個の遊離の S-H 基があり、それらはヨード酸化すると立体的に S-S 結合を作れるような位置にあることを示唆している。蔗糖密度勾配超遠心によつて得られた沈降速度、拡散定数、セファデックスゲル濾過を用いて分子量を測定すると、C 1 エステレースと C 2 (C 2 i) との反応生成物の分子量は約 33,000 で、未反応の分子 (C 2 = 117,000 : C 2 i = 84,000) よりも小さい。小さいフラグメントの物理化学的、免疫化学的性質はまだ確かめら

れていない。本実験から大きいフラグメントはC4, 2a複合体の形成にあずかり、このフラグメントが活性をもたらすS-H基を含むことがわかった。

未処理のC3を 5×10^{-4} M ジチオスレイトールで処理してもその溶血活性に影響がない。しかし次にp-クロルマーキュリーペンゾエート (p-CMB) を加えるとこの成分が不活化する。C¹⁴-p-CMB-不活化C3をヨードで処理する。C¹⁴-p-CMB がはずれてその溶血活性を完全に回復する。これらの研究はC2とC3の活性領域にS-H基とS-Sの存在を示す。

11. 免疫粘着現象の機序に関する研究

国立がんセンター研究所

西岡久寿弥, 関根 暉彬, 岡田 英親
真弓 忠, 河内 セイ

ヒツジ血球に抗体とC1, 4, 2, 3のついた血球 (EAC1423) は免疫粘着反応 (IA) をおこしてヒト赤血球をくつつける。C1, C2をこれから除いてもIA活性はかわらない。

EAC43またはEAC4をPronaseで処理すると、抗体にえいきょうを与えずにC4を除去する。このようなPronase処理のEAC43はヒト赤血球とのIA反応性を残している。

タンニン酸で処理した赤血球を高度に精製したC3と作用させると非霊長類の赤血球とは反応しないが、ヒト赤血球には粘着する。C3 inactivator で処理すると、ヒト赤血球の粘着性は消失する。I¹³¹ で標識したC3でしらべると、タンニン酸処理赤血球に結合するC3のIAを起す活性は、EAC1423に結合するC3に比較して $1/32$ 効率が低い。

以上の結果は、C3が、ヒト赤血球とIAを起すのに必要なただ1つの成分であり、この事実、C3のIA活性と関連した分子構造を明らかにすることを可能にするであろう。

12. ヒト補体成分の開裂物質

Department of Pathology, Health
Center, University of Connecticut,
Hartford, Connecticut

Lepow, I.H. and Patrick, R.A.

C3, C5より前に働く補体成分やトリプシンを含む様々な酵素の作用過程において、ヒトのC3もC5も基質となり、開裂されて生物学的活性をもつフラグメント

を生じる。このフラグメントは挛縮を伴うモルモット腸管の収縮や、ヒスタミンの遊離を伴う肥満細胞の脱顆粒のような一般的性質をもっている。したがってアナフィラトキシンとして定義される基準に合う。しかしC3 (C3a) とC5 (C5a) からのフラグメントはそれぞれその物理化学的性質が異なり、異つた動物の肥満細胞に作用する。C5aはモルモット腸管に対して一旦作用するとあとから加えた古典的アナフィラトキシンの脱感作を示す。そしてラット腸管には作用しないから、新鮮ラット血清と寒天を反応させて生じる古典的なアナフィラトキシンに相当する。他方C3aはモルモット腸管に対して一旦作用させるとC5aやラットの寒天アナフィラトキシンの脱感作を示さず、その上ラットの肥満細胞からヒスタミンを遊離する。それ故にアナフィラトキシンとは1つ以上の分子体をあらわす一般的な用語である。

C3aの生物活性の出方を規制するいくつかのメカニズムが調べられた。その中には; 1) 抗ヒスタミン(トリプロリジン) による薬物学的阻害; 2) トリプシン, α -キモトリプシンおよびカルボキシピプチダーゼ β による酵素分解; 3) 正常なヒト, ラットまたはモルモット血清による不活化がある。C3aに対するヒト血清中の不活物質は熱に不安定(56°C, 20分)で、透析されないブソイドグロブリンである。アガロースによる電気泳動(Dr. Fred S. Rosen)やヒト血清とI¹²⁵-C3aの混合物の蔗糖密度勾配超遠心による実験データから、 β -グロブリンと複合体を形成することが血清のC3a不活物質の作用機構であることが示唆される。

最近の実験結果によるとC1sをC4に作用させるで低分子のC4開裂物質を生じることがわかった。これは中性のpHではみられないが、低いpHでC4から解離されるものである。この問題の現状とC4およびC2の作用機作との関係について論じる。C4の大きいフラグメントと同様小さいフラグメントもC2と会合複合体を形成するという作業仮説に通ずる間接的な証拠について述べる。

13. ヒト赤血球 ATP 含量の免疫赤血反応に及ぼす効果

奈良県立医大細菌

深山 昭雄, 鴻上 順子, 榎葉 周三

免疫溶血反応における赤血球膜破壊の機構を追求するために赤血球膜に存在する各種酵素, 特にATPaseの活性の消長を調べた。この膜ATPaseには2種類のフラク

ジョンがある。1つにはウワバインによつて阻害される $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 依存性 ATPase と $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 非依存性のアクトミオン様 ATPase がそれである。われわれは、免疫溶血反応の過程において赤血球 ATP 含量が、ヘモグロビンの放出とともに起こることから、免疫溶血の結果、膜 ATPase の活性が上昇するのではないかと考えた。免疫溶血反応にかけられた赤血球膜を取り出し、その ATPase の活性をウワバイン存在下あるいは非存在下で測定した結果ウワバイン非感受性 ATPase の活性は補体添加後約5分以内に最高値を示したが、不活化補体あるいは EDTA-C を加えた系では、この ATPase 活性化はみられなかつた。また、ATPase 活性化とヘモグロビン放出の時期を調べた結果 ATPase 活性化が、ヘモグロビン放出に先立って行なわれることを見た。一方まず赤血球膜を調整し、それから抗体および補体を作用させた実験でも同じく $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 非依存性 ATPase の活性化をみた。この ATPase 活性化が、どの Intermediates で起こるかを調べた結果 0.09M EDTA-E* ではじめて ATPase の活性化がおこることを示した。

われわれは、ウラニールイオンが羊赤血球の免疫溶血反応で E* のある段階を阻害することを知つたので、ウラニールイオンが ATPase の活性（活性化）を阻害するのではないかと考え、正常膜 ATPase の活性をウラニールイオン存在下で測定し、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 非依存性 ATPase が選択的にウラニールイオンにより、阻害されることを示した。

以上の結果から、直接免疫溶血反応における膜破壊機構を結論するのは、早急であるが、少なくともヒト赤血球では、補体作用の結果、膜に存在する酵素に変化がおこりそれが、ある程度、膜破壊と関係あることを示しているのではないかと推定する。

14. 免疫溶菌における大腸菌からの酵素の遊出について

阪大医細菌

井上 公蔵, 米増 国雄, 高見沢昭久
天野 恒久

免疫溶菌系（抗血清+補体血清）からリゾチームを除去した場合に大腸菌 B 株およびその変異株は BAC' に変化する。BAC' は正常な桿菌状形態を保持しその菌体内酵素である $\beta\text{-D-galactosidase}$ をほとんど遊出しない。BAC' は洗滌後リゾチームを作用させると球状体（血清スフェロプラスト）に変化し、 $\beta\text{-D-galactosidase}$ の遊

出が起る。この遊出はもしリゾチーム処理を高張蔗糖液中で行うと妨げられる。ウサギ血小板より抽出されるブラキンは最近その本体が一種の phospholipase A であることが証明されたがこのものは BAC' に作用してこれを桿菌状のまま ghosts に変化させ $\beta\text{-D-galactosidase}$ を高張液中においても遊出させる。

大腸菌の表在性酵素である alkaline phosphatase は BAC' 形成過程に遊出される。この遊出はリゾチームあるいはブラキンを溶菌系に加えることにより促進される。

また BAC' 形成には抗体と免疫溶血に必要な補体の9成分すべてが必要であることも証明された。

15. ウイルス中和に対する補体の影響

東京大学医科学研究所

吉野亀三郎, 谷口 貞子

ウイルス中和反応は一般に補体の中和反応に対する影響をあまり考慮しないでなされて来た。たゞ1つの例外は、抗 Dengue 抗体の測定をするときに、ヒト血清を加熱しないで行くと中和が強められることであつた。抗体のウイルス中和に加熱しない抗血清を用いるとウイルス中和能力が若干高められるとされていたが、その程度は一般に少く、中和反応の術式の変化を要求するほどではなかつた。

1964年にわれわれはヘルペスウイルスで感染または免疫した初期のウサギ血清が補体の存在下においてのみ抽出できる中和抗体を含むことを明らかにした。同じ現象はヒトのヘルペス感染でも見られる。他の研究者は同じような効果をワクチニアウイルスでもみとめた。われわれは、ウイルス中和に必要な補体成分は、C 1, C 4, C 2, C 3であることをみとめた。また、西部ウマ脳炎ウイルス免疫ウサギ血清も、同様な早期の補体要求性中和抗体を含むことを発見した。

16. 補体及び補体成分の測定及び性状に関する問題点

University of California,
San Diego, La Jolla.

Robert A. Nelson, Jr.

補体および補体各成分の反応系について、ヒト、モルモット、ウサギ、サメの血清補体を測定して来たうちに当面した問題点を列記する。

白血球と異性の血清を用いて細胞毒性試験を行うとき

はその白血球に対する自然抗体が非常に大きい役割を示す。

モルモットC1の分子の大きさを測定するのは種々矛盾した結果がある。ウサギとサメのC1はモルモットの他の成分の反応をうけない。C4, C2をモルモット血清から精製するときの収量はきわめてわるい。モルモットC4に比し、ヒトC4は凍結に耐えない。C3の溶血活性と β_2c 蛋白のピークは、DEAE, CM-セルローズカラムでことなる証拠がある。C3とSAC142との反応機序の説明はまた統一した見解がない。C3, C5をNaja Haje 毒の“Venom factor” C で不活化するときの条件はまだ確立されていない。まぢまぢの結果が得られることがある。C5, C6, C7は、自然に血清中に別々の蛋白質として存在しているのか、簡単な物理化学的操作によりそれぞれの成分に分れてしまうのかは未だ明らかでない。SAC142356の2相性の崩壊過程は未だ十分説明できない。EAC1-8は作成するのに用いた補体成分によつてその安定度がことなる。ヒトのC8, C9は、同じように作成したモルモットのC8, C9に比し溶血活性が低い。

17. 補体第7成分に関する研究

国立がんセンター研究所

真弓 忠, 嶋田 孝吉, 関根 暉彬

蔗糖濃度勾配超遠心法と Sephadex G 200 ゲル濾過法によりモルモット, ヒト, ウサギのC7はそれぞれ120,000, 130,000, 130,000の分子量をもつことを明らかにした。また, Geon. Agarose の電気泳動ではヒト, モルモット, ウサギの順序に泳動する β -グロブリン領域に存在する。

それぞれのC7はEAC1-6細胞とよく反応する。

C7形成のdose-responseは直線関係をなして, Mayerのone-hit説と一致する。モルモットC7はイオン強度0.74でも, 0.15でも同様に反応し, EAC1-6細胞により結合し去られる。

モルモットのウサギC7に対する抗体は, ウサギおよびヒトのC7活性を抑えるが, モルモットC7の活性は阻止しない。これらの結果はモルモットとヒトのC7が共通抗原をもつことを示す。しかし, この抗体は一旦結合されたEAC1-6モルモットC7ウサギのC8, C9との反応を阻止しない。この結果はEAC1-6によるC7の結合があるかないかの問題を提起するが, 標識したC7ヒト- I^{131} は, EAC1-6にとりこまれて結合

し, 結合の度合と溶血度に平行し, さらに, C7の上清からの消失と平行する。また標識していないモルモットC7によつて, ラベルされているC7の取りこみは阻止される。以上の結果は, SAC1-7は, C7とSAC1-6の実際の結合によつて形成せられるものと理解されよう。

18. 補体第8ならびに第9成分の研究

国立がんセンター研究所

田村 昇, 島田 彰子

モルモットC9は, その特異抗体により α_2 グロブリンと同定された。精製C9をウサギに免疫して得られた抗血清は, モルモット血清, 精製C9に対して, 免疫電気泳動法で α_2 領域に単一な沈降線を形成する。この抗血清をIgG分画として精製して, 同様に免疫電気泳動を行い, EAC1-8を含む寒天を重層すると, α_2 領域に生じた溶血帯の進展は, この沈降線によつて完全に阻止される。さらに, このIgG分画をEDTA存在下でモルモット血清と反応させると, 99.5%以上のC9は除かれるが, 他の補体成分には全く影響が認められない。この方法によりC9を除去したモルモット血清は, Salmonella typhi 0901株に対して免疫殺菌作用を示さないが, モルモットあるいはヒトのC9を加えると, 殺菌作用が認められるようになり, 免疫殺菌現象には, 補体の9成分のすべてを必要とすることが明らかにされた。

C9によるEAC1-8の溶血は抗C9によつて阻止されるが, EAC1-9が形成された後は, 抗C9の溶血に対する影響は認められなかつた。

C8を免疫して得られたウサギの抗血清も, C8の作用を阻止し, さらにEAC1-8とC9との反応をも抑制するので, C8はEAC1-7と結合して, EAC1-8を形成すると結論することができよう。

19. ヒト補体成分 C8, C9 測定試薬の調製

Cordis Laboratories, Miami, Fla.

Zarco, R.M., Schultz, D.R.,

Cort, R.A., Grasselli, E.D.

and Geffen, R.M.

以前に Nelson, Rommel and Stolfi がモルモット血清からC8とC9を測定するに適切な補体成分混合物の調製に用いた方法は, ヒト血清に適用するとき満足すべき方法ではないことがわかつた。その方法によつて得られた試薬は不純物としてかなりの量のC8とC9を含

み, C2は含まない. 出発物質として本質的にC1を含まない血清を用いて, 適当なヒト補体試薬混合物を分離する3つの方法が得られた. 1) 相対イオン濃度(RSC) 0.07M, pH 5.0でCM-セルロースによるカラムクロマトグラフィー, ついで0.16M RSC, pH 7.5におけるDEAE-セルロースによるカラムクロマトグラフィー 2) 0.10M PO_4 , pH 6.9におけるハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー, ついでセファデとクスG-200によるゲル濾過 3) 0.035 M RSC, pH 7.0におけるDEAE-セルロースクロマトグラフィー, ついでG-200によるゲル濾過.

これらの方法によつて安定な中間体(EAC1423567)を生ずるに充分なC4, C2, C3, C5, C6, C7を含む試薬が得られる. この試薬は -70°C に凍結しても安定である. しかし 0°C に保存するC4, C2, C3の活性が低下する. 中間体の生成には低い, RSC, pH 7.5において 30°C , 1時間反応させるのが最もよい.

20. pH 勾配電気泳動法および免疫溶血電気泳動法による補体成分の解析

国立がんセンター研究所

向島 達, 橋 武彦

モルモット補体の全9成分の等電点をpH勾配電気泳動法によつて測定したところ次の結果をえた(数値はpHで表わす).

C1 5.3—6.0; C4 5.90; C2 5.30; C3 6.25; C5 5.10; C6 6.63; C7 5.78; C8 6.34; C9 5.18; C3 inactivator 6.45.

一方免疫溶血電気泳動法による各成分の相対易動度については既報の通りであるが, これはホリアクリルアミドゲル内で電気泳動を行つたのち, 適当な溶血系—反応細胞と検体以外の補体全成分—を含むアガロースゲルを重ねし, その補体成分の示す溶血活性より易動度を求めた.

この方法でC1は3つの異つた溶血帯として認められ, 易動度の速い方からF, M, S帯と名付けられた. pH勾配電気泳動法ではpH 4.56, 4.95および5.40にそれぞれC1の活性ピークがえられ, これらはF, M, S帯に相当した.

ヒト血清のC1活性はM, S帯として認められるが, F帯は出現しない. これは血清中に存在するC1 inactivatorの易動度が類似しているため, F帯を形成するC1の活性が阻害されるためであろう. この点, C1

inactivatorを欠いている遺伝性血管神経性浮腫の患者血清はF, M, Sの三帯を示した事実ははなはだ興味深い. 精製C1をC1 inactivatorと反応させて電気泳動すると精製C1の3つの溶血帯がすべて消失した. しかしながらヒト血清にC1 inactivatorを作用させた場合にはM, S溶血帯は依然として出現した.

21. マウス補体の研究

東大医科研外科学研究部

藤井源七郎, 後藤 俊二, 石橋 幸雄

マウス補体の測定には, 大量のウサギ抗ヒツジ赤血球抗体が必要であるが, Forssman抗体を欠くマウス抗ヒツジ赤血球抗体を用いると少量の抗体で容易に測定が可能である. しかし, このマウス抗体はモルモット補体存在での溶血活性は低かつた.

このような観察に立つて, non-ForssmanとForssman型抗体を用いてマウス補体の活性を測定し比較検討した. C3H/Heマウスの新鮮血清は, non-Forssman型抗体では147 CH^m 50単位を示したが, Forssman型抗体を用いた場合は $1/20$ 稀釈でもまったく溶血がみられなかつた.

non-Forssman, Forssman型抗体で感作血球(EA)とEAC 1^{m4} をつくりマウスC1の結合の程度をみると, いずれのEA, EAC 1^{m4} も同程度によくマウスC1を結合し有意な差はみられなかつた. しかし, EAとEAC 1^{m4} からのEAC 1^{m4} の形成は, non-Forssman型抗体のばあいにはすぐれており, Forssman型抗体ではEAC 1^{m4} はほとんど形成されなかつた.

以上の成績からマウス補体測定にForssman型抗体が低い活性しか示し得ないのは, EAC 1^{m4} 形成不全が原因であつて, C 1^m 結合が抗体の種類によつて影響されたためではないことを示唆している.

22. IAHAで検出される白血病細胞に対する自己抗体

愛知県がんセンター研究所ウイルス部第二病理部

吉田 孝人, 今井 邦之, 杉山 武敏

白血病をLong-Evans系ラットに7, 12-ジメチルベンツ(a)アンスラセンで誘発し, その白血病細胞細胞膜に対してその生体は抗体(自己)を産生しているか否かについてImmune Adherence Hemagglutination(IAHA)で検出を試みた. 白血病を誘発した16匹中14匹に白血病

細胞膜に対する自己抗体を見出したが、他の2匹には検出不可能であつた。対照として同一個体の胸膜細胞を選んで反応させたが陰性であつた。ブールした正常ラット血清とも白血病細胞は反応しなかつた。これらの事実はラット白血病細胞膜の特異抗原をその担腫瘍生体は免疫学的に認識し抗体を産生し得ることを意味する。

同様のアプローチを人白血病細胞に試みた結果次のような成績を得た。急性骨髄性白血病10例中8例に、急性リンパ性白血病1例中0例、慢性骨髄性白血病9例中8例、慢性リンパ性白血病2例中2例に自己抗体を検出し

得た。内4例については、その臨床経過と抗体の推移はパラレルで増悪期に入れると低く、検出不可能になること、共通抗原が存在することを示唆する成績を得た。

日米補体セミナーは1966年、H.J. Rapp 博士と進藤宙二博士が企画を開始し、National Science Foundation、日本学術振興会の支持を得て、1968年11月11日—13日にわたって開催された。参会者一同は関係各位の御援助に対して感謝の意を表す。

編集責任者 西岡 久寿弥
奥田 智子