

〔集会〕

題 名 第4回 補体シンポジウム

第16巻 第11号 794頁～816頁 1967年 別冊
ア レ ル ギ ー

日本アレルギー学会

第4回補体シンポジウム

I. 基礎的研究

追加討論(1~14)

I-1 補体第一成分の産生について

京都府立医大 増田内科

○近藤元治, 藤森英磨, 藤木典生

同 第2外科

小玉 正智

同 微生物学教室

塚本武司, 矢野 武, 菅沼 惇

補体学の著しい進歩にもかかわらず, 補体成分の産生に関しては不明の点が多く, 補体というものを理解する上に大きな妨げとなつてゐる. 補体産生の site の研究には, 第1に或る組織に障害を与えるか剔出を行い, 血中補体成分の変動をみる方法, 第2に臓器灌流液或いは組織培養液の補体成分を, 溶血活性でみたり, 或いは C^{14} -amino acid 等の labelled precursor の補体成分への移行を autoradiograph immunoelectrophoresis で検討する方法がある.

今回は $C'1$ の産生について検討した.

第1に, モルモット小腸から溶血活性を有する $C'1$ が産生されるという報告に基き, 犬の小腸全剔を行った. 術後10日間の観察で, $C'H_{50}$, $C'H_{63}$ は術後直ちに低下したが間もなく回復, 血清蛋白量は変化がなかつた.

第2に細胞レベルにおける $C'1$ の産生をみるため, 産生 $C'1$ の EAC'4 への transfer による溶血 plaque 形成で検討した. 犬, モルモットの小腸をトリプシンで処理して分離した細胞を良く洗い, Eagle 或いは TVB* の 1% agar 内で EAC'4 及び $C'2$ と混和, シヤール又はスライドグラスに流し, 37°C , 24~48時間培養の後, EDTA C' を重層, 更に2時間反応させて観察した. モルモット小腸の方にやや著明に plaque 形成をみたが, EDTA C' を加える以前に plaque を形成している場合もあつた. plaque の中心には, 1ヶの単核球と思われる細胞を認めたが, 何であるかは未だ明かでない. 同様の操作をモルモット, マウスの macrophage について行い, 同様の plaque 形成をみたが, 脾細胞では認められなかつた.

以上の2通りの方法の内, 初めの臓器剔出では, $C'1$ の産生がその臓器によつてのみ行われる場合を除いて, $C'1$ 産生の有無について結論づけにくい. 我々の観察では術後 $C'H_{50}$, $C'H_{63}$ 共に低下したが, これは手術侵襲によると考えられるし, 他に栄養吸収, 輸液不十分による血液濃縮等の因子が加わるため複雑である. 次の plaque formation では, 犬, モルモットの小腸細胞に, モルモット, マウスの peritoneal macrophage より溶血活性を有する $C'1$ が産生され, 脾からは産生されなかつたが, plaque forming cell の本態に関しては未だ明かにするに至つていない. 唯, 小腸の場合, 脾細胞ではなさそうである.

I-2 モルモット補体第1成分の電気泳動的解析

国立がんセンター

○橋 武彦, 嶋田孝吉

従来の方法で分離したモルモット第1成分は, その免疫溶血電気泳動像として3つの溶血帯を形成する. 溶血帯は $C'1$ 構成因子の解離性に関係があると考えられるので, $C'1$ 分離, 精製に際して Ca^{2+} を添加したところ, F帯のほとんど認められない $C'1$ をえた. このようにしてえた $C'1$ および新鮮モルモット血清を用い, メジウム中の Ca^{2+} の有無によるゲル濾過や遠心上の $C'1$ の分布と I L E パターンの変動をしらべた.

セファデックス G 200は実験を通して同一カラムを使用し, 上向性にゲル濾過をおこなつた. ベロナール緩衝液加生食水 VBS, pH 7.5, μ 0.15, VBS- Ca^{2+} ($1.5 \times 10^{-4}\text{M}$ Ca^{2+}) および EDTA (10^{-3}M および 10^{-2}M) を含む VBS を用いて行くと, $C'1$ 活性は1つの主ピークを示し, その前後に弱い活性ピークを認めた.

主なピークは VBS- Ca^{2+} の時に早く出現し, 活性も高いが VBD ではやや遅れ, EDTA 存在下では更に遅れて出現し活性も弱い.

新鮮モルモット血清についても同様の傾向を認めた. 活性部分の分画を別個に濃縮しその I L E パターンをみると, ピークに対応した単一溶血帯はいずれの場合にも

えられなかつた。VBS-Ca^{*}の場合、主活性ピーク部分およびその前部ではM,S帯が強く、後部ではM帯が主体で総じてF帯の活性は弱い。VBの場合はM,F帯とも認められるがピークの後部にゆくに従つてF帯が増強される傾向がある。EDTAの存在する場合ピークの最前部ではF帯が欠け、次のピークではF帯が最強となり、主活性ピーク部分では再びF帯が減少し、後部でまた認められるようになる。新鮮血清の場合は概してILEパターンが明瞭であり、F帯も強い。活性ピーク後部でF帯がみとめられないのはC'1 inhibitorの共存によると考えられる。

一方、シヨ糖密度勾配遠心では、第1成分は16Sからなる単一活性ピークとして認められる。EDTA処理したときは4Sの低活性ピークとしてえられる。EDTA処理後Ca^{*}を過剰に加へて遠心すると、未処理のC'1と同一の大きさのC'1がえられ、若干7S程度の小活性ピークもえられた。このピークは最も強い第4成分分解能を示す。新鮮モルモット血清についても同様の処理を行つたところ、同一傾向の活性ピークの変動をみた。これら各分画のILEパターンは、未処理C'1およびCa^{*}添加C'1はともに原点附近の活性が強く、F,M帯は弱い。EDTA処理C'1はF,M,S帯ともに強い。新鮮血清では下層部ではM,S帯が強く、活性ピークの上層肩部ではM,F帯がとくに強くなる。更に上層部では主としてM帯、それにS帯がみられ、逆にF帯が認められなくなる。EDTA処理血清はほとんどM帯のみからなつていた。

従つて、ゲル濾過、密度勾配遠心法で求められる活性ピークは溶液中のCa^{*}の存在の有無によつて分子の大きさを変化する。しかし各ピークは単一のILE溶血帯の構成成分からなるものでないことが明らかとなつた。

I-3 ヒト補体第1成分の電気泳動的解析

国立がんセンター

○橘 武彦, 近江和夫, 上山陽子

ヒトのC'1もモルモットのC'1と同様でILE3つの溶血帯として認められる。各溶血帯の生成はC'1巨大分子を構成しているsubcomponentの解離—結合の可逆的变化によつて生ずる可能性が強い。この点からsubcomponentの分離されているヒトC'1を用いてILEパターンの解析をおこなつた。

ヒトC'1をモルモットC'1と同一の方法で分離し、これをLepowらの方法に従つてEDTA処理後DEA

E-セルロース・カラムでC'1q, C'1r, C'1s分画にわけ、濃縮したのち、Ca^{*}存在下で混合し、それらのILEパターンをしらべた。EAC'4細胞を用いたILEで、C'1q, C'1r, はそれぞれ単独では反応を示さないが、C'1sは単独でEAC'4細胞に対してC'1活性を示し、その溶血帯はF帯に一致する。ただM帯に相当する位置にも微弱ながら2本のバンドがみとめられた。2つのsubcomponentの混合系では、C'1q+C'1r(1:1)は全く溶血帯を示さず、C'1q+C'1r(1:1)はC'1s単独時の溶血帯と同一のパターンを示した。しかしC'1r+C'1s(1:1)では主溶血帯はM帯の2本のバンドのうち陰極側に位置しC'1s単独時の強いF帯は弱い溶血帯となつた。即ちC'1rとC'1sの結合を示している。次にC'1q, C'1r, C'1sの3分画を種々の混合比で加えて泳動すると、C'1r/C'1s=1の場合F帯は弱く、M帯の活性が増強される。C'1r/C'1s>1のときはF帯は弱く、M帯は中等度に活性が認められる。また、C'1r/C'1s<1のときはF,M帯ともに強い活性を示す。これらのパターンに加へてC'1qが加はつた場合にはC'1r+C'1s系と異つて陰極側のS帯に弱い点状の溶血像をみとめる。

従つて、3つのsubcomponentの量的比によつて溶血帯のパターンは変化するが、S帯はC'1q, C'1r, C'1s3成分の複合体からなり、M帯は少なくともC'1r, C'1s, F帯は遊離のC'1sが主体をなすといえよう。EAC'4細胞に対する溶血活性の強さはC'1sの濃度に依存している。

また、C'1を抗原抗体沈澱物と反応させ、その上清中に残存するC'1のILEパターンをみると、S帯の消失がみられた。抗原抗体沈澱物を更に加へて反応させると、M帯の一部も消失する。この事実は上述の溶血帯の構成々分に対する結論を更に支持するものであろう。

I-4 標識補体法の基礎的研究

東大産婦人科, 国立がんセンター

○近江和夫

国立がんセンター

橘 武彦

東大医科研

川村明義, 川島豊作

東大産婦人科

竹内正七

1 昨年アレルギー学会において高橋らが発表した蛍光

標識補体法は、癌や妊娠などの免疫現象が予想されながら、その特異性の明らかでない抗原抗体複合を証明するための手段としてすぐれた方法であると考え、我々は以後の研究を行つて来た。すなわちヒト補体第1成分の精製法について検討し、血清をpH 7.5イオン強度0.04のリン酸緩衝液(PBS)又はベロナール緩衝液(VBS)にて透析して沈澱を1回同上緩衝液にて洗つてイオン強度0.3のVBSに溶解して粗C'1としてこの過程をくり返して精製C'1を得た。活性は粗C'1とほぼ等しく、蛋白量はOD₂₈₀値にて約1/3である。この精製C'1に対して蛍光色素(FITC)のラベル条件を検討して、活性を低下させずに標識する条件を見出した。すなわち 1×10^{13} SFU/mlのC'1に対して終濃度約2 γ /mlになるようにFITC溶液を1/10量加えて、10°Cで4時間incubationを行い、続いてセファデックスG-25を用いて遊離色素を除いて、これを標識C'1とした。この際glucose-GVB*を用いたものが活性保持によい。一方C'1は3つのsubcomponentsより成ることが知られて居り、FITCがどの部分に結合するかを知るために、Lepowらに従つてDEAEセルロースを用いて、1/1,000MにEDTAを含むPBSにてカラムクロマトグラフィーを行つて標識C'1をC'1q, C'1r, C'1sの分画に分けて各分画の蛍光を測定したところ、蛍光は殆どC'1qの分画に集つていることが認められた。

標識C'1を抗原抗体複合物にとり込ませ、特異蛍光を観察した。抗原抗体複合物の系は、MM₂細胞(同系腹水癌細胞)ーウサギ抗MM₂血清及び同系マウスより得た抗MM₂血清をin vitroで反応させ、標識C'1と反応させて、何れにも特異蛍光を細胞膜に認めた。対照試験では非標識C'1を用いて阻止試験では特異蛍光が著るしく弱められ、また標識C'1を非働化して用いると特異蛍光は認められなかつた。

EDTAの影響をしらべるために、EDTA-GVBを標識C'1と同時に作用させたが、特異蛍光は殆ど変らなかつた。これは前述した如く、最も多くFITCと結合するC'1qの部分が抗原抗体複合物に結合するときCa⁺イオンを必要としないとされていることを考え合せると理解されよう。

I-5 C'2の分離法の検討

熊本大、産婦人科

○東 政 弘

国立がんセンター

向島 達 岡田秀親

千葉大、公衆衛生

鈴木 守

C'2の分離法は、Borsos等のDEAE, CM, DEAE, Nelson等のCM DEAEの方法が報告されている。いずれの場合、再生CMでは得られないとされている。我々もCMセルローズをDeterson & Soberの原法に従つて処理すると従来のイオン強度ではC'2は得られない事を経験した。この条件を吟味するとC'2は、pH 5.0, i.s. 0.12で初めてeffluentに出て来る。この際C'4, C'3, C'5の混在は全くないがC'7, C'8, C'9は、10 effective mole程度に存在した、そして極めて安定なC'2を得た。更にこれらの条件では再生CMセルローズにおいても、C'2を得る事が出来、その混在する成分も同様であつた。

I-5に追加 新しいC'2分離法について

国立がんセンター

鳥巢要道

東京大学 整形外科

園崎秀吉

徳島大学 皮膚科

白石 聡

熊本大学 産婦人科

東 政弘

1960年、Borsos等は、補体第2成分を3種のColumn即ち、DEAE-cellulose pH 7.4, 0.08M NaCl, CM-cellulose pH 4.7, 0.03 M NaCl, DEAE-cellulose pH 7.4, 0.015M NaClを用いて分離報告した。この方法は、広く利用され補体学の進歩に多大の貢献をしたが、近年、補体各成分の分離精製が進むにつれ、この方法では第3成分以下を多く混合し、また再現性に難点があるともいわれている。

一方、Nelson等は、DEAE-celluloseを用い、イオン強度0.04よりdilution gradientをかけ、C'2の分離を試みたがきわめて収量が悪く、実用に適さぬと結論し、CM-celluloseで分離精製をした。しかし、私達は今回、DEAE-celluloseをもちいイオン強度を0.01以下よりdilution gradientを試み、その結果蛋白量(OD 280m μ)が低く、しかもtiterが高く、他の補体成分のcontaminも少ないC'2を取ることに成功したので報告する。

新鮮モルモット血清40mlに0.1M EDTA 10mlを加え、0.001M EDTAを含む0.005 M phosphate buffer pH 7.2で24時間透析する。次いで10,000 rpm,

30' 遠心し、その supernatant を上記 buffer にとかした DEAE-cellulose をきわめて高密度につめた column (25×850mm) に apply する。同様の buffer で1時間40ml の速度で 1,500ml 洗い、NaCl 0.01M 以下で溶出する蛋白を洗い出す。次に0.25M NaClを含む 0.001M EDTA, 0.005M phosphate buffer pH 7.2を starting buffer とする直線濃度勾配法により蛋白を展開溶出すると、イオン強度 0.018より0.03までの間で C' 2を得ることができる。得られた C' 2は、蛋白量が、きわめて少ないにもかかわらず、収量が多く、しかも C' 4, C' 3は勿論他の補体成分の contamin がごく少ない。又、再現性も強く数度にわたる実験でも前記イオン強度で得られ、pHを 7.5にした場合でも同様であった。

従来、DEAE-celluloseで、C' 2を分離することはできぬとされていたにもかかわらず、私達が分離できたのは、イオン強度を0.04以下にしたためか、あるいは、EDTAを加えたことにより、血清の化学的性質が変化し、C' 2分離を容易にしたのか、種々の factor が考えられるが、ともあれ、蛋白量、contamin が少なく、収量の多い C' 2を1本の column で、しかも再現性をもつて分離できたので報告した。

I-6 補体第3成分 C' 3と β_{1c} globulin の関係について

国立がんセンター

○鳥巢要道, 西岡久寿弥

東大整形外科

園崎秀吉

東大血清

田村 昇, 横地妙子

Relationship between β_{1c} globulin and C' 3

Motomichi Torisu.

Hidekichi Sonozaki.

Noboru Tamura.

Taeko Yokochi

Kusuya Nishioka.

補体第3成分は西岡, Linscott, 井上, Nelson により6つの成分に機能的純粋に取り出されその作用機序生物学的活性の解明が急がれている一方Müller Eberhard一派は電気泳動の手技を用いて補体第3成分を分離同定した。その中でEAI42 cell に最初に働く C' 3を β_{1c} globulin と synonymus なものであると結論した。

我々は前回の補体シンポジウムで正常健康人の中にきわめて溶血活性の低い血清をもつた一群がある事を報告、その血清を追求した所 C' 3 c (C' 3) が極めて低いにもかかわらず β_{1c} globulin が正常程度出現する事を見ました。この事は補体の各成分を分離解析してゆくに定量性の少ない電気泳動によつてのみ追求する事の限界を示唆したものである。

今回新鮮モルモット血清を用いてDEAEカラムクロマトグラフィー、CMクロマトグラフィーを行なつた所 anti β_{1c} で測定した β_{1c} globulin と C' 3 c (C' 3) の溶血並びにIA活性にずれのある事を見出した。この手技により取り出した溶血活性を全く有さない β_{1c} globulin は Anti β_{1c} と鮮明な沈降線を形成するし又電気泳動により β_{1A} globulin でない事を確認している。

以上の事実のより1本の沈降線をもつて物質の分離精製の最終点とする事はきわめて危険であるといわねばならぬ。

I-7 モルモット C' 3 の抗原性について

東京大学医学部血清学教室

○田村 昇, 横地妙子

臼井美津子, 松橋 直

C' 3の反応機序を解明するため、抗 C' 3血清を作製して、C' 3の抗原性とその活性との関係を追及した。抗 C' 3血清は2通りの方法で作製された。抗 C' 3血清Aは、カラムクロマトグラフィーにより分離した C' 3を adjuvant で免疫することにより、抗血清Bは、zymosan・モルモット血清複合物を37°Cで数時間加温して得られる decayed products を同様に adjuvant で免疫して作製。不活性化された C' 3 (C' 3 i) は zymosan で処理したモルモット血清をカラムクロマトグラフィーで分離、抗血清 A, B とともに EAC' 4 をほとんど凝集しないが、EAC' 4, 3を強く凝集し、ともに C' 3の活性を中和する。抗血清を C' 3 i で吸収すると、EAC' 4, 3に対する凝集力は90%以上の低下がみられ、C' 3の活性中和力は抗血清Aでは30%、抗血清Bでは55%の低下がみられた。両血清とも免疫電気泳動では $\beta_{1c} \sim \beta_{1A}$ グロブリンに特有な2峰性の沈降帯を示した。EAC' 1, 4, 2, 3の decayed products は抗 C' 3血清と反応して沈降物を形成するが、EAC' 1, 4, 2からのそれ、EAC' 1, 4 + C' 3からのそれは沈降物を形成しない。これらの点から、両血清によつて電気泳動によつて示された $\beta_{1c} \sim \beta_{1A}$ の沈降線は、C' 3と抗 C' 3抗体との

反応により生じた沈降線であることが推定される。

C'3として新鮮血清や分離されたC'3を、C'3iとしてはzymosan処理あるいはそれより分離されたC'3iを使用して、Ouchterlony法で沈降反応をみると、抗血清Aを使用した時には、C'3iはC'3に交叉反応し、C'3側にspurの形成がみられた。抗血清AをC'3iで吸収すると、もはやC'3iに対する沈降線はみられなくなるが、C'3に対する沈降線は消失しない。抗血清Bに対して生じるC'3とC'3iの沈降線は全く融合してspurの形成はみられず、C'3iによる吸収後、C'3iに対する沈降線は消失、C'3に対する沈降線は僅かに認められるのみであった。以上より、抗血清BはC'3分子の一部分に対する抗体を有し、抗血清Aはこの他にintactなC'3に特有な抗体をも含んでいると考えられる。すなわちC'3分子はEAC'1, 4, 2と反応する時にその分子中の一部分を失うことが想定される。なお演題6に示された活性のない β_{1c} グロブリンは抗原的にはC'3iとしての反応を示した。C'3の活性、不活性化は電気泳動的によるよりかは、その抗原性によつて決められるべきであろう。

I-8 C'のMultiple Nature

国立がんセンター

○向島 達

C'9は免疫細胞溶解の最終段階に使用するものとされている。従つてEA14,235,678細胞を溶解するものは、C'9として定義される。モルモットの血清ならびに種々のC'9分画を免疫溶血電気泳動で検討すると4つ異なる易動度を有するC'9を認めた。これらをその易動度により、l,m,n,oと命名した。

これらのRfは、l: 0.535, m: 0.400, n: 0.350, o: 0.067である。CMセルローズカラムで、lはpH 5.0, 0.08M NaClの条件でeffluentに出現し、m,n,oはpH 5.0, 0.2M NaClで溶出して来る。特にoはその溶出は長く、m,nとは別に単独に得られる。DEAEセルロースカラムにおいても、C'9は4つの易動度を示しpH 7.5 i.s. 0.09M NaClでl,m, 0.11M NaClよりoが出現する。しかしながら、単独な活性としては、得られない。蔗糖密度勾配では、oが最も重く、19S~7Sに及びl,mは約7S、nが最も軽くtopに証明された。

I-9 C'1 inactivatorの分離精製について

大阪府立成人病センター

○稲井真弥, 永木知義, 平松誠一

CrudeなC'4の中に混在するC'1 inactivatorを除去することを目標としてC'4を精製し、第3回補体シンポジウムにおいて、C'1 inactivatorを殆ど含まず免疫学的にpureと考えられる人C'4を精製しその成績を報告した。今回はC'4の精製に用いた各種分離方法を応用して人血清からC'1 inactivatorの分離精製を試みた。

即ち約400mlの人血清から得たpseudo globulin fractionをstarting materialとし、pH 7.4 DEAE cellulose columnにおけるstepwise elution, CM sephadex C-50 column chromatography, Pevikon C-870 pevikon block electrophoresis 更に DEAE cellulose columnにおけるsalt gradientによるelution, 最後にもう一度CM Sephadex C-50 column chromatographyを行つた。精製の各段階において、各fractionについてC'1 inactivator活性及び蛋白濃度を測定し、活性と無関係な蛋白を出来るだけ除去してC'1 inactivator活性の強い部分のみをpoolする様につとめ、この様にして得られた精製C'1 inactivatorは約280,000万倍稀釈1mlで1 eff. mol.の不活性化し、その蛋白濃度は0.77mg/mlであった。この精製C'1 inactivatorは免疫電気泳動法によつて抗人馬血清に対し α_2 -globulin領域に単一の沈降線を示し、 α_2 -macroglobulinあるいは α_2 -haptoglobulinに対する特異抗血清に対しては沈降線を作らなかつた。全血清を免疫電気泳動した場合、 α_2 -globulin領域に見られる多数の沈降線の中、C'1 inactivatorによるものを固定するために免疫電気泳動法とOuchterlony法を併用した。Ouchterlony法で形成されたC'1 inactivatorの沈降線は、 α_2 -globulin領域に見られた1本の沈降線と完全にfuseすることを認めた。

この沈降線は α_2 -haptoglobinの沈降線に近接し α_2 -haptoglobinよりも、少し抗血清溝に遠い位置をしめることがわかつた。

C'1 inactivatorの活性を目標として精製して得られたこの蛋白がC'1 inactivatorそのものか、あるいは単なるcontaminating proteinであるかは今後の検討にまたねばならない。

I-10 モルモットC'3 Inactivatorの分離精製並びに生物学的活性

東京大学医学部整形外科

○園崎秀吉

国立がんセンターウイルス部
鳥巢要道, 西岡久寿弥
徳島大学医学部皮膚科

白石 聡

C'3 inactivator の存在は己に1963年西岡により確かめられていた。田村は更に検討を加え、以下の事実を明らかにした。即ち、DEAEでかなり低イオン強度で溶出する。熱に安定な物質で、抗原抗体結合物にC'3が反応し、IA活性を有する状態になった時、このIA活性を阻害する。又この時 inactivator そのものは活性を失わず、この点は酵素と性質が似ている。沈降係数は4.8 Sである等。

現在迄に同様の inactivator はモルモットの他にウサギ、ヒト等に於ても存在する事が明らかになっている。我々は今回モルモットのC'3 inactivator を容易に分離精製する方法を発見したのでその生物学的活性と併せて報告する。尚C'3 inactivator の活性は田村の方法、即ち感作羊赤血球に補体第4成分及び第3成分の結合した中間生成物、EA43 cell. のIA活性をどれだけ抑制するかを見る方法によつて測定した。

新鮮モルモット血清32ml に0.1M-EDTA 8mlを加え、pH 7.2, 0.001M-EDTA を含む0.005 M-磷酸緩衝液(イオン強度0.008以下)で透析する。充分沈澱が生じた後、これを30分10,000 rpm で遠沈し、その上清をカラムにアプライする。カラムは2.5×90cmで、上記緩衝液に浸したDEAEセルロースを高密度に充填したものである。当初は上記緩衝液を毎時45mlの速度で約500ml 流し、 γ グロブリンを除く。次にこの緩衝液500ml と、pH 7.2, イオン強度0.3M NaCl, 0.001 M-EDTA を含む0.005M-磷酸緩衝液500ml とを用いて直線勾配でイオン強度を上げて溶出した。C'3 inactivator はイオン強度0.015~0.02M-NaCl で流出し、これは最初の蛋白のピークにやや先行する。これを更にpH 7.5, 0.15M-NaCl のtris-HCl buffer 中のSephadex G 100にアプライすると、蛋白のピークにやや先行してC'3 inactivator が溶出し、その活性は100%保たれる。これをもう一度sephadex G 100にかけると蛋白のピークと一致してC'3 inactivator が得られる。これは高単位の inactivator を含み、且つC'8の活性をわずかに有する他は他の補体成分を含まない。

この inactivator は冷凍に対し安定で-70°C, -30°C 中48時間で失活しない。4°Cに1ヶ月保存しても失活しない。又耐熱性で、56°C30分で全く失活しないが、100

°C15分ではかなり活性を失う。蔗糖濃度勾配法で沈降係数を求めた所4.6Sであつた inactivator はヒト赤血球に対しては作用せず、EA43 Cell に対し作用してこのIA活性を阻害する。又田村の報告と同じく inactivator は抗原抗体補体結合物に作用する事によつて自らの活性は失なわない。inactivator は0°Cでは作用せず、20°Cでは作用が弱く、30°C, 37°Cで最も活性が高い。56°CではC'3のIA site がこわれるので inactivator がこの濃度で作用するか否かは不明である。尚この inactivator は free phase のC'3に対しては何ら作用しない。

inactivator が anaphylatoxin 形成にどう影響するかを検討した。新鮮モルモット血清にBSA-anti BSA 結合物及び inactivator を加えた。control として inactivator を加えないものも作つた。これらを37°C60分 incubate し、その上清を予めメチレンブルーを静注したモルモットの皮下に注射した。コントロール群では皮下に色素溢出が著明に認められたが inactivator を加えた群ではその濃度に比例して色素の溢出は抑制された。最後にPCAに対する作用を検討した。予め局所に inactivator を注射しておいた群ではその濃度に比例してPCAは抑制された。またこの抑制は同時にC'3を注射しておく事によつて restore されるのを認めた。

I-11 C 3H/He マウス血清中の抗補体物質について

国立がんセンターウイルス部

○井上雅晴, 岡田秀親, 川名 尚
古瀬礼子, 西岡久壽弥

腫瘍免疫では、比較的容易に入手できる純系動物であるという理由で、マウスが用いられることが多い。しかし、マウスの血清中に抗補体物質が存在していることは広く知られて居り、そのために特に抗腫瘍抗体のような微量の抗体を検出するのに有力な補体を用いる検出系を利用できないのが現状である。

私共はC3H/He マウス抗ヒツジ赤血球抗血清をモデルとして、抗体分画と抗補体物質の分離を試み、更にその性質を調べた。

抗補体物質はsephadex G-200ゲル濾過法に2分画に分る。1つは19S抗体分画と一致して他の1つはアルブミン分画より遅れて現れる。更に蔗糖濃度勾配超遠沈法により19S抗体とC'-inhibitor Iを分離することができた。C'-inhibitor Iは19S抗体より分子量は小さく、zone block electrophoresis では陽極側に泳動し、19S抗体と一致する。DEAE-cellulose column chromatogr-

aphy では食塩濃度0.06Mで溶離する C'-inhibitor IIは Sephadex G-200 によるゲル濾過法で抗体分画と分離され、zone block electrophoresis では陽極側にやや泳動し DEAE column chromatographyでは食塩濃度0.03Mで溶離する。

マウス血清中の抗体分画と抗補体分画の分離が可能になつたことにより補体を用いた感度の高い抗体検出系を利用できるようになつた。このことは腫瘍免疫学の発展に役立つものと考えられる。

I-12 マウス補体の測定とその問題点

東大 医科研 外科

○後藤俊二, 藤井源七郎, 石橋幸雄

マウス補体の測定には溶血素として高濃度のウサギ抗ヒツジ血清を要しますが、何故このような高濃度の溶血素を必要とするのかは問題であつた。

我々の方法では、ヒツジ血球 $5 \times 10^7/\text{ml}$ (1.0ml) に対して10倍稀釈の抗血清 ($5,000\text{AbH}_{50}/\text{ml}$) 0.5mlを要します。またこのような高濃度を用いるために血球の凝集が問題となり、凝集を防ぐためにヒツジ血球の感作には37°C 3分間、または0°C、10分~20分という条件が必要である。イオン強度も溶血反応に強い影響を及ぼし、マウス補体測定には0.07のイオン強度で最高値が得られ、反応時間は37°C 90分が至適である。

抗原抗体の種類と補体の結合という問題はマウス補体測定には高濃度の抗血清が必要であることから興味ある課題を提供するようにみえる。

ウサギ抗ヒツジ血球血清を7S抗体と19S抗体に分けてマウス補体価を測ると19S抗体を用いた時により高い補体価が得られるが、依然として高濃度の抗体量を要する。

ウサギ抗ヒツジ血球血清は Forssman 抗原 (F抗原) に対する抗 Forssman 抗体 (F抗体) と isophile 抗原に対する non F 抗体をふくむ。この抗血清よりF抗体と non F 抗体を分離した。

過剰のモルモット補体の存在下では、全抗血清と non F 抗体とは異なる溶血曲線を示し、全抗血清は1mlは $3,550\text{AbH}_{50}$ で、その中に non F 抗体は 400AbH_{50} 含まれることが示され、ウサギ抗血清中の non F 抗体は量的に少ない。

ところが、マウス補体過剰のもとで全抗血清と non F 抗体とは殆んど同じ溶血曲線を示しました。このことはモルモット C' とマウス C' が、F抗体と non F 抗体に対して異つた活性を示すようにみえる。

F抗体と non F 抗体を sephadex G-200で fractionation と各 fraction について溶血活性を見るとF抗体 fraction ではマウス補体で溶血活性が非常に低く、non F 抗体 fraction ではマウス補体で充分な溶血を見ました。

このことからF抗体にはモルモット補体が充分作用するが、マウス補体は作用しにくく、マウス補体は non F 抗体によく作用することがわかる。ウサギ抗血清中に含まれる non F 抗体が比較的少量であるためにマウス C' 測定に高濃度の抗血清が必要であるものと思われる。

10倍抗血清を用いての C₂H/He のマウスの補体価は $158\text{C}'\text{H}_{50}/\text{ml}$ であるが、10倍の non F 抗体では $147\text{C}'\text{H}_{50}/\text{ml}$ という結果で、non F のみでマウス補体価が測定できます。

又抗体量としては少量であるマウス抗羊血清でもマウス補体が測定できること、モル抗ヒツジ血清でモル補体が測定できること等より、抗原抗体結合物への補体の作用はその組合せによつて作用効率が大いぶ違ふようであり、免疫反応の場を考える時この点の考慮が必要であると思われる。

I-13 DAB 発癌過程におけるラット補体価の推移

国立がんセンターウイルス部 和洋女子大学

○坂本元子, 西岡久壽弥, 河内セイ
岡田英親, 張 紹元

在来まで、ラットの補体価は37°Cで C'IA が測定困難であつたものを、温度条件を吟味したところ、20°Cで測定が可能になつたので、その結果を報告し、従来研究を進めている肝癌との関連性について言及したい。

温度条件を変えて IA pattern をみると、37°Cで30分後に3,000倍で2 (+)を示したものが、45分、60分経過すると漸次陰転化するが、20°Cでは30分~120分にわたつて、力価に変化はなく、陽性のIA像がみられた。C'H₅₀でも、20°Cが最適な温度であることが認められた。溶血の kinetics をみると、37°Cで10%程度の溶血が認められた場合、18°C及び20°Cでは、最初のうちは溶血度は低いが、15分以降急激な溶血曲線を示し、73%位の溶血がみられた。

C'IA の反応では、20°Cが良く、37°Cでは見られないという現象を解析するために、次の点を検討した。

i) ラット血清がヒト赤血球の IA receptor を破壊することによつてIAの反応値が低下する。

ii) EAC' complex 自体の37°Cにおける decay.

iii) EAC' complex にラット血清中の結合されない因子が働いて, IA の反応を阻止する.

以上の結果は次のとおりである.

i) 37°Cで C'IA の反応がみられないのは, ヒト赤血球の IA receptor のラット血清による破壊ではない.

ii) EAC' complex 自体の37°Cにおける IA 反応性の decay が認められた.

iii) 20°Cでは inhibitor の作用は認められなかったが, 37°Cでは 100倍まで IA pattern が陽性にみられ, ラット補体の 300倍, 1,000倍の稀釈濃度では Inhibitor の存在が認められた. 濃い濃度のラット血清では, EAC' 1,423 cell の破壊とともに, 新しい補体が GVB* 中で IA 反応基を新しく作るために, IA が陽性に認められた. 新しい補体による生成を阻止した場合には, ラット血清中で, 1,000倍, まで inhibitor の存在が認められ, これは, 在来 田村らによつて報告されたモルモット血清中の C'3 inactivator 及び精製モルモットの C'3 inactivator と同じ反応を示している.

以上のような条件での測定方法を用い, DAB 投与肝癌の発生過程の血清中の補体価を20°Cで C'IA₅₀ を測定することによつて追求した結果, DAB 投与群は, 対照群に対し, 2ヶ月で1%の危険率をもつた有意の低下を示し, 6ヶ月では有意差はないが低下の傾向を示し, 10ヶ月目の担癌状態になつたものでは, 5%の危険率をもつて有意の低下が認められた. Corynebacterium の感染により顕著に C'IA の増加が認められた. 実験的に感染させた群は, 感染させない群に対し, 5%の危険率をもつた有意の増加が認められた. 更に, Corynebacterium 感染ラット腹水肝がん AH 130を, 300万, 66Fを14万接種した結果 AH 130, 300万, 30万接種したものでは, Coryne 感染群の生存率及び発癌率において, Coryne 感染しない群のそれより, 前者は高く, 後者は低い値を示した.

I-14 ウサギ補体測定の基礎的問題とその応用

愛知県がんセンター

○吉田孝人, 石川芳久

高島陽子, 伊藤洋平

ウサギを用いての免疫学的研究を押し進める場合, 同種及び自家の抗体, 補体をその免疫現象解析に導入しなければ生体内での現象を正確に把握することは不可能であろう. 我々は担癌ウサギの腫瘍免疫及びウサギの抗原・抗体反応を基礎にした研究をおこなつてい

手始めにウサギ補体価及び補体成分測定の最適条件を決める実験を試みて来たので報告する. 1) 補体価 (C'H₅₀) イオン強度に非常に左右され, isotonic 2% glucose gelatin veronal buffer saline (2% gl. GVB*, 0.088 M) で最高値を示し, gelatin veronal buffer saline (GVB*, 0.15 M) 中での 2.7倍であつた. 2) Ca*, Mg* イオンの C'H₅₀ に及ぼす影響, 2% gl. GVB* 中での最適 Ca*, Mg* 濃度は Ca* で 0.000187 M—0.000227 M の間, Mg* で 0.000105 M—0.000172 M の間に存在する. 3) 温度の C'H₅₀ 及び C'I-A₅₀ に及ぼす影響, GVB* 及び 2.5% gl. GVB* 中での C'H₅₀ は 37°C, 2% gl. GVB* 中では 30°C で最高値を示した. 4) C'H₅₀ 価は 0°C では GVB* (0.15 M) gl. GVB* (0.088 M), Sucrose, GVB* (0.088) 中ではほとんど降下しないが, 37°C では gl. GVB*, sucrose GVB* 中で 15 以内に急速に降下し, GVB* 中ではほとんど降下しなかつた.

これらの測定条件をもとにして担癌ウサギ補体価の上昇を検討したところ I A H A に関係する補体成分及びこの反応に関係する因子に原因があるだろうと予測出来るのである.

討論並に追加

I. 基礎的研究

(1~8 座長 西岡久寿弥)

座長 西岡久寿弥

本年5月にベルギーのブルージュでの国際会議で補体成分の nomenclature がきめられました. 元来, 補体成分の命名は, 日本の研究者の業績にもとづいて決められて来たものですが, それぞれの独立性と反応機序にもとづいて新命名法に準拠することは我々としても異議がないと思いますのでこのシンポジウムもこれにもとづいてすすめたいと思います.

C'1 → C'1

C'4 → C'4

C'2 → C'2

C'3c → C'3

C'3b → C'5

C'3e → C'6

C'3f → C'7

C'3a → C'8

C'3d → C'9

1. 補体第1成分の産生について 稲井真弥 (大阪成人病センター)

Overlay した EAC'4 cell は C'4 としての活性を最

終段階まで持っているか

近藤元治 (京府医大)

培養後 EDTAC' を重層する以前にすでに plaque の出来ている場合もあるが, EDTAC' を用いて初めて plaque の出来る場合は, やはり C' 4 の活性は残つていると考える.

橘 武彦 (国立がんセンター)

EAC' 4 cell でなしたように EA cell で同様の事を行つているか

近藤元治 (京府医大)

EA cell の場合は, plaque 形成をみなかつた.

藤井源七郎 (東大医科研)

臓器移植の時など, 臓器切除を例えば腎, 肝でおこなうと, 肝の場合は, 補体低下のまま動物は死亡するが, 腎では, 術後数日, 低補体価を示した後, 補体価は上昇する, 小腸切除後の補体価変動も手術侵襲によると考えたい.

西岡久寿弥 (国立がんセンター)

EDTAC' を重層する以前に, すでに溶血している事は我々もよく経験するが, これはどう考えるか

近藤元治 (京府医大)

先に用いた C' 2 に C' 3 以下の成分の混在する可能性, C' 1 と同時に C' 3 以下の成分が産生される可能性, あるいは血清成分が十分に洗えていなかった場合など考えられる.

西岡久寿弥 (国立がんセンター)

C' 1 が実際に小腸から産生されて来ているのか, 或は血清成分として残っていたものかの区別はどうか

近藤元治 (京府医大)

EDTA GVB* で小腸細胞を洗っているので, 血清 C' 1 の混入はないと考える. 又文献的に in vitro の小腸培養でも, 時間的に C' 1 活性の上の上昇をみており, C' 1 は産生されたものと考え.

2. モルモット補体第 1 成分の電気泳動的解析.

3. ヒト補体第 1 成分の電気泳動的解析

吉田孝人 (愛知がんセンター)

EAC' 4 cell と EA cell をかけた場合の I L E 像の差は

橘 武彦 (国立がんセンター)

EA cell を用いての C' 1 の pattern の解析は昨年報告したとおりである. C' 1q, C' 1r, C' 1s の関連性は C' 4, C' 2 との精製と関連してさらにくわしく検討されるべきと思う.

西岡久寿弥 (国立がんセンター)

補体の精製とその電気泳動上の同定は, Müller-Eberhard らのような抗血清との沈降線のみで行われるべきでなく, その溶血活性を基礎とした橘らの確立した I L E 法 (immuno-lyso electrophoresis) にもとづくべきだと思ふ.

また補体第 1 成分がこのような多様性を示すことが明示された以上, C' 1 を第 1 分子群として考えている effective molecules という言葉より, その溶血活性をもとにして計算された site forming units (SFU) の方が実験結果の解析により忠実である.

4. 標識補体法の基礎的研究

鳥巢要道 (国立がんセンター)

C' 1 の非特異蛍光と特異蛍光の区別は?

近江和夫 (国立がんセンター)

抗体の確認されている系での蛍光と, 抗体の undetectable な系での発色との比較, 加熱, nonlabel C' 1 での block test などであるが, EDTA での処理にはまだ解決されない問題, おそらく C' 1q が EDTA 存在下でもくつつくということと関連したことが残されていると思う.

藤井源七郎 (東大医科研)

MM 2 は, それ自身でも結合 C' 1 が証明されるから untreated の cell でも抗体がないということがいえないのではないか

近江和夫 (国立がんセンター)

結合 C' 1 測定法にくらべ, まだ我々の方法は感度が低いから蛍光 C' 1 を証明するためには, 相当量の抗体を必要とする.

田村 昇 (国立がんセンター)

F I T C を conjugate するときの C' 1 の loss は?

近江和夫 (国立がんセンター)

我々の条件では, 殆んど C' 1 活性の loss はない.

園崎秀吉 (国立がんセンター)

そのときの C' 1 の assay は, EA 4 cell と EA cell のどちらかを使つたか

近江和夫 (国立がんセンター)

EAC' 4 cell でしらべた.

宮沢政栄 (都立大久保病院)

MM 2 cell 以外の抗原をしらべたか?

細胞の“いき”がよいときの方がよくひかるのではないか? Cytolysis をおこしたときはどうか?

近江和夫 (国立がんセンター)

MM2以外のMM3, MM4などではしらべてない。MM2の抗原は、細胞を-70°Cで保存しても変化ないから関係ないと思う。Cytolysisのstepとの関係はEA cellについての観察をすすめた上でおこたえしたい。

6. C'3 と $\beta 1c$ globulin について

深山昭雄 (奈良医大)

ヒトの低補体血清ではC'3以外の他のcomponentとくにC'1なども低いとみられるが?

鳥巢要道 (国立がんセンター)

他のComponentの低下もみとめられます。

安部 英 (東大吉利内科)

血清成分、とくに $\beta 1c$ などが時間的に変化すること、とくに可逆的に変化することはないか

鳥巢要道 (国立がんセンター)

$\beta 1c$ はagingにより $\beta 1A$ にconversionするが、それがもとにもどるということは、未だ報告されていないし、観察されてもいない。

稲井真弥 (大阪成人病センター)

anti $\beta 1c$ のつくり方は $\beta 1c$ を測定したときの抗体は、 $\beta 1A$ にも反応するか?

鳥巢要道 (国立がんセンター)

Müller-Eberhardの原法に忠実に従ってつくった。 $\beta 1A$ に対しても当然反応するが、定性的には、electrophoresisで $\beta 1A$ と $\beta 1c$ をみわけている。

竹内正七 (東大産婦人科)

Anti $\beta 1c$ をつくって、生体内における抗原抗体の存在を測定することは意味があるか

西岡久寿弥 (国立がんセンター)

補体活性のない $\beta 1c$ がAnti $\beta 1c$ に反応する事実からみて、anti $\beta 1c$ のみで、抗体の存在を予測することは極めて危険である。

とくにC'3のない $\beta 1c$ の存在が、単に偶然みつかった低補体活性ヒト血清だけでなく正常モルモット血清にも証明された事実は、 $\beta 1c$ の問題に対する1つの決め手となったと思う。

7. C'3

吉田孝人 (愛知がんセンター)

anti $\beta 1c$ はどの方法で作ったか $\beta 1c$ 以外の蛋白質に対する沈降線がかさなりあつて、別のものとみている可能性はないか

田村 昇 (東大血清)

Zymosan法でつくった。免疫電気泳動上と、阻止試験及び吸収実験の上から、沈降線にあらわれているもの

は $\beta 1c$ -anti $\beta 1c$ の反応と解釈している。

(9~11 座長 田村 昇)

9. C'1 inactivator の分離精製について

10. モルモット C'3 inactivator の精製分離並びに生物学的活性について。

鳥巢要道 (国立がんセンター)

濃縮過程で活性の低下はないか

稲井真弥 (大阪成人病センター)

我々は経験していない

進藤宙二 (東大医科研)

血清中のinhibitorとしてポルフィリン体がこの系に関与している可能性を考えられたい。また、溶血阻止は、何 γ 位で行われるか

それぞれのinhibitorは独立したものか

稲井真弥 (大阪成人病センター)

20 γ 位のorderでC'1を阻止する。C'1 inactivatorと園崎さんの報告したものはDEAE-celluloseからのelution characterがちがう。

田村 昇 (東大血清)

私が今まで比較して同時にしらべたのでは、両者はつきり異つた物質である。

11. C3H/He マウス血清中の抗補体物質について

吉田孝人 (愛知がんセンター)

inhibitorと補体の材料につかつた動物の組合せがことなつていとどうなるか

井上雅晴 (国立がんセンター)

ウサギにもマウスと同様のinhibitorがある。しかし、モルモットの補体以外についてはまだしらべていない。

追加 山本昇壮 (広島大、皮フ科)

Plasmin製剤の中に、抗補体作用のつよいものがあるが、まだその本体についてはしらべていない。

安部 英 (東大吉利内科)

Plasminの中の蛋白質が、とくにプラスミンそのものとC'1と関係しているのか、これからの問題だと思う。

(12~14 座長 橋 武彦)

12. マウス補体の測定とその問題点

井上雅晴 (国立がんセンター)

抗体の側で、IgG或はIgMが関係しているかの検討は

後藤俊二 (東大医科研)

今、抗体をわけているところである。

西岡久寿弥 (国立がんセンター)

マウス血清の中にフォルスマン抗原は証明されている

か

藤井源七郎 (東大医科研)

Fugmann がその存在を示している、ヒツジ赤血球に anboceptor よりさきにマウス C' を入れておくととけないのに、その順序を逆にするととけるとは、マウス血清のフォルスマン抗原の存在を考えさせる。

13. DAB 発癌過程におけるラット補体価の推移

園崎秀吉 (国立がんセンター)

私どもの発表したモルモット C'3 inactivator と、ラット血清中の因子とは温度条件の上からみても同じ感度だと思ふ。

藤井源七郎 (東大医科研)

ラットの抗体を用いての補体価活性でも同じような温度条件を示すか?

坂本元子 (和洋女子大)

ラット抗体を用いてはまだしらべていない。

竹内正七 (東大産婦人科)

DAB が補体を直接減少させているのか、DAB が発がんさせたことが補体を減少させているのか?

坂本元子 (和洋女子大)

その問題は検討中である。

吉田孝人 (愛知がんセンター)

Coryne を感染させる時期とがんの増殖とが重なりあつて C' level に変動を与えることはないか?

石橋幸雄 (東大医科研)

Coryne の感染と tumor 接種の時間的關係は

坂本元子 (和洋女子大)

C' は Coryne 感染だけでその後3日以降上昇する。その時期をねらつて肝癌を接種した。

14. ウサギ補体測定の基礎的問題とその応用

鳥巢要道 (国立がんセンター)

Buffer 中の Ca²⁺ の濃度に関連した問題で、血清中に存在する Ca²⁺ の影響をどの様に検討されたか

吉田孝人 (愛知がんセンター)

血清中の SLE そのものについて検討してはいるが、血清の稀釈液を変えても、変化がないのであまり影響はないと思ふ。

II 臨床的研究

追加討論 (1~9)

II-1 SLE と C'H₅₀ 及び β₁c globulin について

名大皮膚科

○石川芳久, 池谷敏彦

渡辺満也, 小林敏夫

我々は皮膚反応アレルギー性疾患と補体との問題について前回論じたが、今回は膠原病特に SLE について論じてみた。C'H₅₀ は Mayer の 50% 溶血法にて行つた。我々の正常人 22 例の平均値は 32.0 であり、SLE、20 例では 2.0~24.3 の値を示し、平均値 16.5、円板状エリテマトーデス 21 例では 26.7~46.0 の値を示し、平均値は 34.4 であり、両者の間には著明な有意の差がみられた。皮膚筋炎 4 例では平均値 36.7 で Schub 時高値をとるもの、Schub 時、寛解期共に大体正常値をとるものがあつた。汎発性鞏皮症 10 例では 20.7~55.0 迄の巾があり、平均値 41.6 と高値をとつた。SLE の患者を発疹の状態を中心とした全身症状、C'H₅₀ 血沈、白血球数、corticosteroid

治療との關係を表にして、C'H₅₀ の動態を中心として SLE の治療、予後判定について報告した。即ち corticosteroid 大量投与により低下している C'H₅₀ を急速に上昇せらる。漸減していく時、predonin 量として 10~5 mg になると C'H₅₀ は下降傾向を示すが、暫くその量を投与し続けると再び上昇傾向を示す。維持量を長期投与により再燃を防止し、且つ C'H₅₀ を正常閾に近づけ 30 以上に達した場合に約半ヶ年以上に亘り経過をみているが、再燃悪化をみていない。C'H₅₀ が 10 以下の時は急性増悪期にあり、大量の corticosteroid の投与が必要である。10~20 にある時は維持量以上の量が必要で、これを欠く時はすぐに再燃悪化をみる。20~30 の時は維持量若しくはそれより少し多い量でよい。C'H₅₀ 30 以上の時は維持量を長期投与中止を考慮していいと考える。次に SLE 患者の 3 例について急性増悪期から経過を追つて C'H₅₀ と免疫電気泳動上の β₁c globulin, β₁glycopro-

tein, IgM について報告した. 即ち $C'H_{50}$ が10以下の Schub 時では3例に β_{1c} globulin の消失又は著減, β_1 glycoprotein の減少が認められ, 2例に IgM の著増が認められた. $C'H_{50}$ が10以上になると消失していた β_{1c} globulin の線が現われ始め $C'H_{50}$ が15以上になると β_{1c} globulin, β_1 glycoprotein は大体正常に復する. β_{1c} globulin = $C'3c$, β_1 glycoprotein = $C'4$ か否かは議論の余地のある点であるが $C'H_{50}$ との関係からみて, β_{1c} globulin, β_1 glycoprotein は共に補体の component に関係している事は推測しうる. SLE の家系, 10家系について $C'H_{50}$ を測定したところ, その中の7家系に患者以外に $C'H_{50}$ の低値をとる者があつた. 最近SLEには遺伝子の dislocation があると浜島氏は報告しているが, このようにSLEの家系に $C'H_{50}$ の低値がある点は何か遺伝的要素が発症に関係するのではないかと考える. 勿論女性に多発する事, 貧困家庭に多い事から性ホルモン, 蛋白質代謝異常等との関係であるが, この遺伝的要素を加味した免疫学的機序についても目を向ける必要があると考ふる.

II-2 SLE における血清補体価と末梢血リンパ球の抗原性物質に対する反応性 (第1報)

慶大内科, 耳鼻科*

浅野誠一, 丸茂菊男, ○大久保憲二
若杉 晃, 富泉栄三, 井垣嘉之
富永教洋, 大久保充人, 田村寿夫
倉田 要, 河合清隆*, 百溪尚子

SLEにおける血清補体価の低下は, 免疫の関与を示唆する根拠の1つとされているが, 現在尚その機序は十分に解明されていない. 我々は, この点を検討する目的で,

(1) SLEに於ける血清補体価の変動と臨床並びに検査所見との関係を検討し,

(2) 次に, SLE患者では, 抗DNA抗体が陽性となる事実にヒントを得て, その末梢血リンパ球を分離して, ここに抗原刺激の意味で, DNAを添加して, 培養し, この際出現する細胞の幼弱化を追求することによつて, DNAに対する抗体産生の様子を推察した.

対象は, SLEの患者16名である. 診断は, SLEとしての臨床並びに検査所見を有するもので, 加えて細胞陽性のもの或いは抗DNA抗体陽性のものをSLEとした.

方法は,

(1) 血清補体価の測定は Mayer の方法に基き, 上記16名に就いて, 総計59回の測定を施行した.

(2) リンパ球の培養法は, Moorhead の方法に基き, 上記SLE患者16名中12名に就き27回の培養を施行した. 患者末梢血10ml をヘパリン採血し, リンパ球を分離し, 同時に3本の培養瓶に分けて, 培養した. 即ち

(1) 第1の培養瓶はそのまま,

(2) 第2の培養瓶は, phytohemagglutinin M 0.05 ml/ml を

(3) 第3の培養瓶は, calf thymus DNA 10~100 γ /ml,

又は, Schwartz の方法で, 凍結融解処理したヒト白血球含有血漿 0.1ml/ml を加えて, 各々を37°C, 96時間培養して, (2)又は(3)に認められるリンパ球の幼弱化の比率を算出した.

成績

1) C' は, 臨床症状の悪化とよく平行して, 低下を認めた. 特に発熱, 発疹の有無とよく平行し, 発熱, 発疹のいずれもない時期に C' の極端な低下を認めたのは, 4例のみであり, このうち3例は, その後の経過で, 50日以内に症状の再燃を認めている.

2) C' の変動は, LE細胞陽性, 白血球減少症, 高 γ -グロブリン血症, 血清TTT値の増加等の検査所見と平行を示し, 特にLE細胞陽性の時期には, 1例を除き, C' の著明な低下を認めた. LE細胞陽性の時期に C' 12.5を示めた1例は, プレドニゾン投与後5日目に測定した症例であり, 補体価は回復の途上にあつた.

3) C' は, ステロイド治療による疾患の寛解とよく平行して上昇した.

4) 末梢血リンパ球にDNAを適量添加して培養することにより, SLE患者に於いて, リンパ球の幼弱化を認めた. 一方, 正常人対照に於いては, いずれも, DNAの添加によつて, リンパ球の幼弱化は促進されなかつた.

5) リンパ球は, phytohemagglutinin M, DNA いずれを加えた培養に於いても, ステロイド使用中の患者では幼弱化が阻止された.

II-3 2,3 の血液疾患における補体活性の変動とその意義

九州大学樹屋内科

樹屋富一, ○酒井好吉

主に脾機能亢進症、白血病症例を対象としてそれら血清補体活性、血清 C'1 活性ならびに細胞結合性 C'1 活性の動態を観察した。

(1) 9例の Banti 症候群における溶血および IA 活性は推計学的低値を示した。5例の後天性溶血性貧血において溶血活性は明らかに低下する傾向がみられた。8例の血小板減少性紫斑病における溶血、IA、C'1 の各活性は正常域に位した。

(2) 脾機能亢進症のうち脾腫を認めた症例における溶血活性は脾腫を認めなかつた症例に比し低値を示し、骨髓細胞結合性 C'1 活性は前者において増加することが知られた。

Coombs 直接試験陽性例の溶血、IA、C'1 活性はいずれも低下し、骨髓細胞結合性 C'1 活性が証明され、同試験陰性例においても溶血活性が低下し、若干量の結合性 C'1 活性が検出された。肝機能障害を合併した症例においては、溶血 IA 活性が低下し、C'1 活性は正常域にあり、この所見は肝硬変症にみられる pattern を反映するものと考えられる。

(3) 17例の再生不良性貧血における溶血、IA、C'1 は活性はいずれも正常域にあり、溶血あるいは IA 活性が低下した脾機能亢進症における態度と異にしている。

(4) 脾機能亢進症における治療経過との関係を見ると、corticosteroid 投与によつて結合性 C'1 活性は明らかに減少し、血清補体活性はいずれも上昇する成績が得られた。

(5) 17例の急性骨髓性白血病における溶血 IA、C'1 の各活性はいずれも明らかに高値を示し、骨髓細胞結合性 C'1 活性は著しく変動した。12例の慢性骨髓性白血症においては溶血活性が高値を示した。急性白血病の血性補体および細胞結合性 C'1 活性は慢性白血病に比し、その動揺域が大であつた。

(6) 白血病寛解症例において結合性 C'1 活性が大きい症例が経験されたが、血清補体活性には寛解、非寛解両者の間に差を認めるに至らなかつた。

(7) 急性白血病症例において 6-MP、corticosteroid による治療経過を追跡すると、細胞結合性 C'1 活性が減少し、一方血清補体活性が上昇することが知られた。

(8) 15例の癌症例の溶血、IA、C'1 活性はいずれも明らかに高値を示し、急性白血病における類同の血清補体活性を示した。

(9) 癌腫の転移撒布の程度、赤沈値を指標として癌症例の経過をみると、早期に比し進行期において血清各

活性は上昇した。一方、リンパ球数と血清補体活性は負の相関々係を示した。

II-4 健康小児の血清補体価の正常値 (第1報) および小児急性白血病に於ける血清補体 価の検討

東大小児科

渡辺言夫、瀬川昌也、○兵頭行夫

吾々は、小児急性白血病の急性期に於ける血清補体価の検討をするために、先ず、健康小児0才から15才までの80例につき、Meyer の50%溶血法を用いて、血清補体価を測定した。新生児、未熟児は含まない。健康小児80例全体の血清補体価(以下 C'H₅₀ とする)の平均は 30 C'H₅₀ 単位/ml で、標準偏差4.92であり、成人のそれに比較して低いことが分つた。更に、0才から1才、2才から5才、6才から10才、11才から15才の各年齢層の間に差が認められ、各々の C'H₅₀ の平均値は 26.90 C'H₅₀ 単位、29.50 C'H₅₀ 単位、32.20 C'H₅₀ 単位、33.40 C'H₅₀ 単位であり、年齢と共に成人の正常値に近づく傾向にあつた。次に、検討を加えた小児急性白血病は35例で分類不能型18例、骨髓芽球型11例、前骨髓芽球型5例、リンパ球型1例である。全例の C'H₅₀ の平均値では、健康小児のそれと差は認められなかつた。しかし、死亡した重症例を除くと、可成り高い C'H₅₀ 価を示すものもあり、やや高めの傾向が、認められた。各年齢別では5才以下では、C'H₅₀ 価は高めであつたが、6才以上では逆に、やや低かつた。寛解群と死亡では、死亡群の方が、可成り C'H₅₀ 価は低下していた。C'H₅₀ 価の変動では、寛解と共に、正常範囲にもどる傾向にあつた。治療の有無種類については、急性期の C'H₅₀ 価に差は認めなかつた。末梢血 赤血球数との関係では、赤血球数と C'H₅₀ 価との間に多少の正の相関があつた。しかしながら、急性白血病の免疫学的な機序の点については、血清補体価からだけでは、充分な結論は得られなかつた。

II-5 白血病症例における血清補体価

愛知県がんセンター研究所

今井邦之、吉田孝人、伊藤洋平

名大日比野内科

○吉川敏、高橋利忠、山田一正

急性白血病増悪期(22例)、寛解期(19例)、長期生存例(16例)及び慢性白血病(10例)について C'H₅₀ 価を測定したところ急性の増悪期においては高値または低値を示し非常にばらつきがあるが、寛解期には日本人の正常

範囲に近すぎ、更に長期生存例ではその傾向が強い。慢性の場合は正常範囲にあるという興味ある事実がわかった。

2症例について増悪期、寛解期について同一患者でその補体価を追求したところ、寛解期に入ると $C'H_{50}$ 価は増悪期に比して低下し正常範囲になる傾向があることを認めた。

II-6 担癌生体の補体価

国立がんセンター

○向島 達, 木村禧代二, 西岡久寿弥

メイヤーの50%溶血法で、担癌生体 179症例、466回の補体価を測定した。これらは、癌患者 104例、急性骨髄性白血病 (AML) 14例、慢性骨髄性白血病 (CML) 8例、細網肉腫 (RCSA) 18例、ホヂキン氏病 (HD) 13例等である。癌患者では、転移のないものではその補体価は正常域に存在するが広範囲に転移した症例ではいずれも 2θ を越えて高値を示した。HD RCSAはいずれも高値を示しこれはその病勢と一致し、即ち、増悪期には高値を示した。AMLはその経過中ほとんど正常域に存在した。CMLは一般に低値を示したが、寛解期にはほとんど測定出来ない症例を認めた。これらは $C'1$, $C'2$, $C'3$, $C'IA_{50}$ が測定出来なかつた。これら、CMLの症例は inhibitor の存在が証明出来ず、補体の消費によるものと考えられる。更に60例の担癌生体と12例の健康人の $C'IA_{50}$ と $C'H_{50}$ とを比較すると、 $C'IA_{50}$ において、担癌生体は、健康人より低い事が判つた。一方 $C'H_{50}$ では両者は、差は証明出来ない。

以上の事より $C'IA_{50}$ の測定がより重要であると考えらる。

II-7 持続的に血清 $C'4$ 値の上昇を認めた骨髄腫の1例

大阪府立成人病センター

○平松誠一, 永木和義, 稲井真弥

その観察期間中、高い $C'4$ 値を持続した骨髄腫の1例について報告した。

患者は、36才の男子で、腰痛を主訴として、昭和42年1月48日より4月28日まで入院したものである。

主要検査所見としては、尿蛋白は1日量として、6~7%に排泄され、Bence-Jones 蛋白を証明し、末梢血は著しい貧血を示し、骨髄には、骨髄腫細胞を多数に認め、血沈は著しく促進していた。骨のレ線所見では、四肢骨を除き、多くの部位に、punched out の像や、骨折

を伴う骨破壊像がみられた。血清蛋白分画では、 β -globulin の著しい増加が認められ、血清の免疫電気泳動像は、IgA, IgM の消失を認め、抗 κ 血清に対して、 β 領域に著明な沈降線を認めた。以上の所見から、本症が、 κ -Bence-Jones 型骨髄腫であることが診断された。

なお、この血清の免疫電気泳動像 (抗ヒト馬血清に対する) において、 β_{1E} -line が著しく延長し、 $\beta_{1C/1A}$ -line と陰極側において交叉しており、あたかも β_{1E} -line の消失せる如き様相を呈していたが、抗ヒト $C'4$ 血清に対して著明な沈降線の形成を呈するのを認めた。

そこで、この事実から、本症例について、血清 $C'4$ 値を測定してみたところ、著しい増加を示し、正常平均値の数倍、時に10倍にも及んでおり、しかも、これが入院中持続していることがわかつた。なお、尿中に $C'4$ は認めなかつた。

骨髄腫の $C'4$ 値に関しては、本症例の他に9例 (G型6例、A型3例) について測定したが、殆んど全例において正常値を呈し、著明な低値をとる例も認めたが、本症例の如き著明な増加は認めなかつた。このことは、本症の病型において特異的であるのか、或いは、本症が特殊な例であるかは不明であるが、少なくとも本例に関しては、血中の $C'4$ が増加し、尿中に $C'4$ が認められないことは、 $C'4$ の産生と排泄機構の異常が推定される。

なお、本症例において、cyclophosphamide (Endoxan®) の投与により、 $C'4$ 値の低下傾向 (正常域には達しないが) が認められ、本剤が、 $C'4$ 値に対して何らかの影響を与えるのではないかと考えられるが、今後検討してゆくべき問題と考える。

II-8 胃癌患者の血清補体価——特に癌進展度との関連について

九州大学勝木内科

○増田信生, 南家邦夫, 岡部治弥

癌患者の血清補体価は対照に比し高値を示す或はばらつきが大であると云われている。

我々は日本人に多い胃癌患者のみについてこれを検討して、同様の結果を得た事は第2回補体シンポジウムで発表した。更に早期胃癌が比較的的低値を示す事は第12回消化器病学会九州地方会で報告した。これを詳しく分析してみるべく症例を増しているが現在47例となつたので中間報告をする。方法は Mayer の50%溶血法及び西岡の50% IAHA 法を用いた。

対照群は健康な生活を送り胸部レ線、検尿、血沈値に

異常なく、30才以上の者は更に肝機能、末梢血、血糖値、心電図、梅毒反応、上部消化管及び胆のうレ線検査で全く異常を認めなかつた41例で平均値(以後Mと略)36.9u. 標準偏差(以後SDと略)5.2uであつた。胃癌群47例はM: 4.6u SD: 13.8uで前回同様の結果であつた。因みに他臓器原発癌16例はM: 55.7u SD: 15.5uで胃癌群より更に高い値と同様のばらつきを認めた。癌以外の胃疾患12例はM: 38.6u SD: 7.9uで健康者群と殆んど同様の値を示した。胃癌を早期胃癌13例と進展胃癌34例に分けてみると各々M: 29.8u SD: 8.0u M: 46.1u. SD: 12.8uとなり、早期胃癌は健康者群よりやや低値を示し、進展癌は前二者のいずれよりも高値を示しばらつきも大である。34u以下では早期胃癌10例に対し進展癌3例、42u以上19例は全例進展癌であつた。進展胃癌を更に多面的に分析する。Borrmann分類ではI II型8例、M: 40.9u. SD: 16.9u, III型15例; M: 48.7u SD: 9.0u IV型4例、M: 50.3u. SD: 20.4u. でI II型よりIV型となるに従いMは高くなつていくがばらつきは一樣でない。大きさで分類すると最大径4cm以下では6例; M: 40.8u SD: 10.5u 4cm以上では14例; M: 48.9u SD: 17.6uで大きいものの方が平均値もばらつきも大となつている。進展度からみると固有筋層或は漿膜下層まで侵潤し転移のないもの5例 M: 38.4u SD: 9.5u リンパ節転移あるも他部転移のないもの9例; M: 41.7u SD: 8.9u 肝転移を来したものの7例; M: 54.4u SD: 14.5u 癌性腹膜炎を来したものの5例; M: 50.2u SD: 20.0uで転移のひどいもの程平均値及びバラツキは大となる。癌の間質反応をみると間質反応著明なもの7例; M: 46.6u SD: 11.0u C'IA₅₀はM: 5,860u SD: 2,570u 間質反応のないもの6例; M: 35.7u SD: 5.7u C'IA₅₀はM: 3,630u SD: 780uで間質反応著明なものの方が平均値、ばらつき共大である。尚早期胃癌は全例間質反応を認め難くC'IA₅₀はM: 3,630u SD: 1,180uであつた。胃切除を受けた症例の術前及び術後2~3週後の値を比較すると胃癌でない4例は殆んど差を認めない(4u以内)が胃癌13例は1例を除き上昇(8例、9~32uの増加)ないし下降(3~16uの減少)を示した。輸血の有無とは無関係のようである。2年前に測定した胃癌20例中50u以上を示した5例は全例1~15ヶ月、平均5.4ヶ月で死亡し、40~50uの5例中4例は3~7ヶ月、平均4.5ヶ月で死去しているが40u以下の10例中8例(4例は早期癌)は尚生存している。以上胃癌患者は

進展したものの程補体価の平均値及びばらつきは大となり、補体価の高いもの程予後が悪いが間質反応に関しては他の要素と全く反対の結果を示しているので今後検討を加える。

II-9 肝疾患時の補体に関する研究

岡山大学医学部第1内科

小坂淳夫、○長島秀夫、宮本千鶴子
木村浩二、表原 弘、宮崎健史
魚脇路弘、佐藤公身

肝疾患とくに慢性肝炎および肝硬変症における血清補体(C'H₅₀)の動態については慢性化の遷延および進行に伴い血清補体価は漸次低値を示すことについてはすでに報告した。

今回は特にこれらの疾患の経過中に抗補体作用を呈する症例がかなり認められることを指摘すると共に抗補体作用をもつ血清について若干の検討を加えた結果について報告する。

1. 抗補体作用出現血清について3 stage 補体結合反応で抗肝抗体の検出の可能性がある。
2. 慢性肝疾患症例の経過を追つた場合抗補体作用の出現が一過性にみられるものやかなり持続してみられるものがみとめられる。
3. タンニン酸処理ヒトO型(Rh+)赤血球を肝抗原で感作したものに抗肝抗体ないし抗補体作用を有する血清を作用させヒトO型白血球による erythrophagocytosis から若干の検索を行つた。

次に、動物実験的に in vitro で分離細胞に抗肝抗体を作用させたさいの肝細胞よりの酵素遊出機序に補体の関与を認めた。

討論並び追加

III. 臨床的研究

(1~3 座長 小林敏夫)

1. SLE と C'H₅₀ 及び β_{1c} globulin

長島秀夫(岡山大)

我々も肝疾患の際に、急性期、増悪期に低補体値を示し、慢性化の場合或は病気の改善に伴いもとのレベルもどつていく事が知られるが、SLEでの低値はどう考えるか

石川芳久(名大皮フ科)

Inhibitor その他の問題もあり複雑である。又この様な場合、プラスミンの問題についてはどうですか?安部先生におききたいが、

安部 英 (東大吉利内科)

SLEのプラスミン活性は、一定の傾向がなく、補体との関連については、はつきり云えない。

田村 昇 (東大血清)

免疫電気泳動像での沈降線を β_2c と判定した根拠は又 β_2c の沈降線は、時間的に消失するが、判定の時期についてはどうか

石川芳久 (名大皮膚科)

抗 β_2c 血清では検討していない。一応判定時間は一定にしている。

(4~6 座長 長島秀夫)

3. 二、三血液疾患における補体の変動とその意義

4. 健康小児の血清補体価の正常値 (第一報) および

小児急性白血病における血清補体価の検討

長島秀夫 (岡山大内科)

年齢別の補体価の変動は、小児白血病の問題だけでなく、重要な check しなければならないことと考える。

荒田 孚 (国立がんセンター)

座長の指摘されたことは、私共が昨年報告したように、年齢別だけでなく、また日差変動の問題も含めて考えたい。

6. 担癌生体の血清補体価について

井上雅晴 (国立がんセンター)

ほとんどの患者に化学療法を使っているが抗がん剤の補体価への影響は?

向島 達 (国立がんセンター)

抗がん剤の $C'H_2$ への影響はみていないが、症例としては、なるべく抗がん剤を使用していない患者を選んでいる。

安部 英 (東大吉利内科)

胆がん生体でがん組織中の補体と血中の補体価との関係は?

向島 達 (国立がんセンター)

かなりバラツキが多くとくに関連性は考えにくい。

(7~9 座長 稲井真弥)

7. 持続的に血清 $C'4$ 値の上昇を認めた骨髄腫の一例

近藤元治 (京府医大)

$C'1$ inhibitor について測定されたか? というのは、 $C'1$ 活性が高まると、 $C'2$, $C'4$ の活性が低下する。逆に $C'1$ inhibitor が強く $C'1$ 活性が低下すると $C'4$ の値は上昇する事が考えられるので、inhibitor の面から追求すると面白い。

平松誠一 (大阪成人病センター)

まだ行っていない。

III 補体とその関連領域

追加討論 (1~11, 10は中止)

III-1 低補体価血清の E. coli 602 に対する殺菌作用について

東大物療内科

○荒田 孚, 谷本潔昭

東女医大外科

阿部泰恒

きわめて $C'H_{50}$ の低い血清 8 例を用いて、できるだけ補体が limiting factor となるように実験条件を工夫して、その血清の殺菌反応を検討した。低補体価血清 8 例中の 1 例は溶血性貧血のもので C'_{1a} の段階で溶血活性が著しく低下しており、他の 7 例中 3 例は第 3 回補体シンポジウムにおいて「 $C'3c$ deficient serum」として発表せられた例であり、 $C'3$ の活性がきわめて低い例であ

る。

細菌は E. coli 602, またその抗血清としてウサギ抗血清を用いた。抗血清はアセトン乾そう菌体 1 mg, 1 mg, 2 mg, 2 mg を 4 日おきに静注したもので凝集価は 2,500 倍であった。

細菌, 抗血清, ヒト血清を稀釈するための緩衝液は GVB* よりゲラチンを抜いた VB* を用いたが E. coli の至適 pH 7.1 に調製すれば充分使用に耐え補体活性を検討する実験では最良であると考えられる。

細菌は指数函数的に増菌している状態のものを用いた。培養液中で増菌しているものを 1 回遠沈して培養液を捨て、上記緩衝液に浮遊して光電比色計 660m μ のヨミから、適宜希釈し菌数約 3,000/ml となる菌浮遊液を

つくつた。この濃度の菌液を用いるときは抗血清の 10^5 倍希釈を等量反応させるのが、ヒト血清の殺菌反応をみるのに最良であった。

そこで上記菌液と 10^5 倍希釈抗血清を等量混合し30分間 30°C で反応させた。このようにして感作した細菌浮遊液 1.0ml と5倍希釈のヒト血清 1.0ml を混合し、そのときを0分とし、以後 37°C に保ちつつ各時間ごとに4時間迄 0.3ml ずつシャーレ平面培地上に反応液を播いた。対照としてはヒト血清の代りに VB* 1.0ml を入れたものをつた。24~48時間後そこに生じてくるコロニー数を求め0分時のコロニー数からの減少率をそれぞれに計算し、更に全体を統一するために対照の減少率との比を求めた。

$$\frac{\text{各検体の各時間におけるコロニー数} / \text{各検体の0分におけるコロニー数}}{\text{対照の各時間におけるコロニー数} / \text{対照の0分におけるコロニー数}}$$

仮りにこれを survival index (SI) とすると SI の差が著明になるのは3時間値からであることが分つた。例えば非働化血清を用いると、3時間ごろより急に増菌が著しくなる。

そこで3時間値と $C'H_{50}$ とを比較検討した。低補体価血清群と正常補体価血清群との間では前者の SI 6.98~0.51 に対して後者のそれは0.28~0.06で明らかな差がみられたが、それぞれの群の中では $C'H_{50}$ と SI との間に明らかな関連はみられなかつた。又非働化血清の SI は 8.1~5.1である。

以上のことから著明に低い $C'H_{50}$ の血清では20 $C'H_{50}$ 以上の正常補体価血清との間に SI に明らかな差がみられたが $C'H_{50}$ との相関々係は不明である。

III-2 免疫食菌現象の代謝について

東大、理学部、動物

○柿沼カツ子

国立がんセンター

西岡久寿弥

白血球は細菌や異物を貪食する時に休止時の2倍近く呼吸が上昇する。この呼吸は異物を貪食するのに必要なエネルギー供給のためでなく異物分解に関係するらしい。貪食のためのエネルギーはもつばら解糖のエネルギーに依存していると考えられている。一方、抗原である細菌そのものよりも、抗原-抗体/補体、複合体にして白血球に与えるといちぢるしく貪食率が增大することが知られている。

膜内への異物を取り込む膜の運動の何が引金とをつつ

呼吸を増加するのか 知るための有力な手掛りとして、この複合体を適用し、その貪食率と代謝変動率とを比較検討してみた。

白血球はモルモットの腹水から採取した主に多形核白血球を使用した。抗原は始めにヒツジ赤血球を使用し、抗体、及び補体第3成分Cまでを結合させた複合体 (E A 423c) を用いた。これを白血球に貪食させた後蒸溜水を加え、残つた E A 1423c を溶血させて後遠心し、その上清を $412\text{m}\mu$ で比色し、貪食率を測つた。

その結果、E, E A, E A 142ではほとんど貪食されをいが、E A 1423cにしてその大多数が白血球に接着し、開始時から約15分間に完了する早い貪食反応を示し、一般の食菌速度と異なることが観察される。それにも拘わらず、呼吸上昇、乳酸生成の上昇、ATP消費ADP生成がみられなかつた。(Jap. J. Exp. Med., 36, 363, 1966). 電子顕微鏡による像から一般の食菌機構と異なり白血球と E A 1423c の細胞間の強い凝集にとどまり phagosome の形成はみられをい。

次に抗原として ^{125}I でラベルした ferritin を使用した。その抗体はウサギで作られ、補体はモルモットの血清を使用した。 ^{125}I -ferritin 抗体、補体複合体を作り、白血球にあたえた後、アラビヤゴム密度勾配法によつて、貪食した白血球を集めその I^{125} の γ 線をカウントして貪食率を測定した。その結果は、抗原の ferritin 分子のみでは全く取り込まれないが抗原-抗体複合体にして始めて貪食され、補体がつけば更に20%近く増大することがわかつた。それはまた電子顕微鏡像から ferritin 複合体にして始めて取り込まれることが判明し、白血球内に数多くの大きな phagosome を形成し、中に ferritin が密集しているのがみられる。呼吸も ferritin のみでは休止時と変わらないが抗体と結合して始めて上昇し、補体と結合させると更に20%近く上昇する。また一般食菌作用を抑える濃度のモノヨード酢酸を作用させても複合体ではなおも白血球は取り込むことが可能なようである。

以上の点から、免疫食菌現象はいづれも一般の食菌現象に比べていちぢるしく貪食率が增加する点では共通しているが、粒子が ferritin の様な分子レベルのものと赤血球のやうを細胞レベルのものと同一に論じてよいかはまだ検討の余地があると思う。

白血球膜への複合体の結合部位の化学的性状は各種の分解酵素を白血球へ作用させて E A 1423c の凝集の割合から調べた。トリプシン、パペイン、ペプシン、キモ

トリプシン等の一連のタンパク分解酵素によつて凝集の割合は減少し、その他の酵素では影響されないようである。白血球膜のそのタンパク性の部位に複合体が強く凝集し、膜内への取り込みが増大すると考えられる。

III-3 Passive Immune Adherence Hemagglutination (タンニン酸処理血球による Immune Adherence)

東大医科学研究所

○岡田英親

国立がんセンター

西岡久寿弥

Immune Adherence (IA) は最も感度の高い *in vitro* の免疫反応の1つとして知られている。特に IgM 抗体に於ては、その感度きわめて高くヒツジ血球 (ShE) を抗原とした系では 0.0005 AbN の抗体を検出でき、それは補体結合反応 (CFT) より 130 倍の感度を示すことが西岡等により報告されている。しかし IA が高感度を示すのは、抗原が粒子状 (particle Ag, P-Ag) の場合であり可溶性 (soluble Ag, S-Ag) の場合には CFT と大差がない。P-Ag の形にすると高感度になることの 1 例として、Forsman 抗原の cross reaction による反応の inhibition test で抗原を検出する方法が挙げられる。即ち pneumococcus より分画して得た PNF 1 で免疫して得た抗 PNF 1 血清と ShE とを反応させ GPC' とヒト血球 (HuE) を加えると IA が認められる。この系に PNF 1 を加えると IA 像を抑制しこの方法より PNF 1 は 0.006 μ g まで検出することができる (西岡等)。S-Ag である PNF 1 が P-Ag である ShE と cross react することを利用し、p-Ag で反応をみるようにもつていた為に高感度で抗原を検出できたと考えられる。

抗原物質上の抗原決定基の数及び密度が問題となると考え、S-Ag である BSA をタンニン酸処理赤血球 (TRC) に吸着させて P-Ag の形に変えそのときの BSA 量を変化させて IA 像を検討した。遠心洗滌した ShE を phosphate buffered saline (PBS) 中に 1×10^8 /ml に調整し、1/30,000 タンニン酸溶液等量と混合して得た TRC を、次の 5 種の BSA 溶液で処理した血球を 0.5% NRS-EDTA-PBS で洗滌後 GVB* におきかえて用いた。(A): 2,500 μ g BSA/ 5×10^8 TRC (B): 250 μ g BSA/ 5×10^8 TRC, (C): 25 μ g BSA/ 5×10^8 TRC, (D): 2.5 μ g BSA/ 5×10^8 TRC, (E) 0 μ g BSA/ 5×10^8 TRC, の 5 種の TRC-BSA を作成

した。

反応は試験管法及び microplate 法の両方について試みた。

試験管法: 稀釈した抗 BSA 0.4ml と TRC-BSA 1×10^8 /ml 0.1ml とを混合し室温 30 分放置後、ShE 及び HuE で吸収したモルモット血清 (1:120) を 0.4ml 加え更に 2×10^8 /ml の HuE 0.1ml を加えて 37°C 60 分放置後 IA 像を判定した。

Microplate 法: 稀釈した抗 BSA 一滴に 5×10^7 /ml の TRC-BSA 一滴を加え更に 1/80 の GPS (ShE 及び HuE で吸収) 一滴を加え室温 10 分間放置後 1×10^8 /ml HuE を一滴加えて 37°C 1 時間ないし 2 時間後に IA 像を判定した。

両方法とも、GPC' 又は HuE 又は GPC' 及び HuE を入れない対照により passive hemagglutination (PHA) 及び passive hemolysis (PHL) をみた。PHA 及び PHL は (A) の場合最も敏感であり、(PHA は 0.0015 μ g AbN, PHL は 0.1 μ g AbN が検出可能)、PIA は (C) のときに最も高感度で 0.001 μ g AbN が検出可能であった。(C) における PHA では 0.01 μ g AbN の所までしか検出できなかつた。PHA と PIA との判別が問題であるが、(C) の TRC-BSA を用いては PHA が弱くなり逆に PIA がその 10 倍ほどに伸びること、その IA pattern が顕微鏡的に HuE に ShE が吸着している像が認められ、更に田村、鳥巢、園崎等により GPS より分離した IA inhibitor で IA 像が抑制されること等により、PIA が IA による反応であると考えられる。

III-4 IAHA による自家抗白血球細胞抗体の検出

愛知県がんセンター研究所

○吉田孝人, 今井邦之, 杉山武敏

太田和雄, 伊藤洋平

人白血球及びラット白血球細胞を抗原とし、その自家血清中に特異抗体の存否を、自家及び同種補体を用いて immune adherence hemagglutination (IAHA) test で試みたところ、白血球細胞表面抗原と反応する抗体を試験管内反応として又顕微鏡下で人 O 型赤血球の附着している状態を観察出来たので報告する。

現在迄に人白血球病 3 例を試みた結果第 1 例は C'I-A₀ 50/ml, 第 2 例は 200/ml, 第 3 例は入院時 100/ml で入院中状態が悪化した時期に於て 10/ml 以下という興味

ある事実を得た。

DMBA誘発ラット白血病においてもC'I-A₅₀で3,000/ml ~ 6,000/ml という高値を示し顕微鏡下で白血病細胞の表面に人O型赤血球のロゼット状に附着する強い反応を観察したので IAHA test の応用として論じた。

III-5 アゾ化合物を用いた補体結合抑制反応

— 定量化への試み —

東大血清

○田村 真, 三ツ矢正安, 井口美代子

目的：抗アトキシル・アゾ・BSA-ウサギ血清とアトキシル・アゾ・リゾチームとの抗原抗体反応系に対して、ハプテン（アトキシル・アゾ化したチロシン、ヒスチジン、フェノール、レゾルシン）による補体結合の抑制反応を行い、抗原と抗体の対応性のあり方を見た。

方法：ワッセルマン反応緒方法の術式に従って先ずスクリーニングを行ったのち、筆者らの考案した簡便な補体価定量法を用いて、補体結合抑制を示す立体図を描く（x軸を抗原濃度、y軸をハプテン濃度、z軸を結合補体量——これは溶血量の差で代用する）。以上で明らかとなつた最大の補体結合量を示す抗原濃度を用いて、各ハプテン濃度について残つた補体価C'H₅₀を定量する。

尚便を補体定量法とは適当な補体濃度の範囲では、その濃度と比色計で測定される溶血量とが直線関係にある事実を利用したものであるが、抗血清や抗原が少量ですむことと、抗原濃度・ハプテン濃度の多くの組み合わせを同時に行い得るとする利点をもっている。

なお、抗原とハプテン濃度 アゾ基の吸収を示す430 mμ の optical density で調整した。

成績：(1) 一定濃度の抗血清はそれ自身、非特異的に補体を一定量吸着する。抗原単独やハプテン単独では、用いられた濃度では、極めて僅かの吸着を示す。(2) 抗血清とハプテンの結合体の補体吸着量は抗血清単独の場合とわずかしち変わらない。(3) アトキシル・アゾ・チロシンやアトキシル・アゾ・ヒスチジンなどのアミノ酸を含むグループと、含まないグループとは、抑制曲線において異つた挙動を示す。前者のグループの方が、1個のアトキシル・アゾ基について抑制効果が大きかつた。

III-6 モルモット眼房水の補体成分について

国立がんセンター東大眼科

○嶋田孝吉

モルモット眼房水には、C'1活性は全く認められず、

C'1以外の補体成分活性が、血清中の1/100から1/10,000の濃度で存在した。その平均は、C'4、C'2、C'3、C'8では1/1,000、C'5は1/300、C'6は1/400、C'7は1/600、C'9が1/200であつた。即ち、大きな分子のC'1は、その活性が認められず、小さなC'9は、比較的高濃度で存在することがわかつた。

眼房水には、C'1の溶血活性を抑制する作用があり、その1mlは、単離したC'1の5.4×10⁹ s.f.u. を不活化した。この作用は、熱に対して不安定で、53°C 30分にて、50%、56°C 30分で65%、63°C 30分で99%の活性を失つた。又、このC'1 inactivatorの大きさは、沈降係数約4 Sであり、その眼房水中での濃度は、血清中の1/90であつた。

更に、眼房水中には、C'3 inactivatorも存在し、その濃度は、血清中の1/130であつた。

前房穿刺後2時間して採取した眼房水では、すべての補体成分活性が上昇しており、C'1以外の補体成分では、平均、血清の1/3から1/10の濃度になつたが、C'1活性は、血清の1/200にしか上昇しなかつた。

前房穿刺後のC'1とC'2の活性を経過を追つて調べると、共に穿刺後直ちにその濃度は上昇し、C'1血清の1/200、C'2は約1/10になり、この濃度は12時間持続し、以後徐々に低下して、C'1は3日後にその活性が全く認められなくなり、C'2は1週間後、穿刺前の濃度にもどる。

前房穿刺後2時間目の眼房水中のC'1、C'3 inactivatorは共に高濃度に存在し、C'1 inactivatorは血清中の1/3、C'3 inactivatorは血清と同濃度であつた。

以上のように、眼房水には、C'活性が認められず、C'1 inactivatorが存在し、しかも全般に、補体成分の濃度が低いことは、ここに、抗体の少量しか存在しないことと相俟つて、眼における生体反応において、重大な意味をもつものと考えられる。

III-7 遅延型アレルギーにおける補体の関与

— 脱感作による血中補体価の変動 —

東大物療内科

国立癌センターウイルス部

○谷本潔昭

国立予防衛生研究所結核部

吉田 彪

(目的) 遅延型アレルギー補体が如何なる役割を果すかについては、現在の所殆ど不明である。一方即時型ア

アレルギーについては、全身 anaphylaxis の際、補体価の激減を来たすことが知られている。そこで、我々は大量の抗原抗体反応を起すものとして、脱感作をとり上げ、その前後の補体価を調べ、遅延型アレルギーと補体との関係解析の一助とした。

(方法) モルモットを青山 B 株結核死菌 0.5mg の流動パラフィン浮遊液の筋肉内注射で感作し、充分強い遅延型皮内反応、即ち、2,000×old tuberculin (以下 OT と略) 0.1ml 皮内注射し、48時間後 12×12mm 以上の発赤を認めた後に次の3種類の脱感作を行った。

1. PPDs (purified protein derivatives) を 200 γ 、350 γ 500 γ 、1 mg、2 mg、4 mg、の6種類に分け、静注して脱感作したもの。

2. OT を 10×1ml、原液 0.5ml、原液 1ml の3種類に分け、腹腔内注射で脱感作したもの。

3. OT を長期に亘り、徐々に増量しながら脱感作したもの、即ち、第1週 OT 10×0.1ml、第2週 5×0.1ml、第3週 2×0.1ml、第4週原液 0.1ml を皮下注射し、ツ反の陰転化を来たしたもの。この何れの方法に際しても、2,000×OT または、100×OT で皮内反応を行い、ツ反の陰転化 (5×5mm 以下) を確めた。採血は同一動物について感作前、脱感作直前即ち感作成立時、脱感作1時間後、脱感作24時間後、及び48時間後に採血し、補体価 (C'H₅₀、Mayer の方法による) 免疫粘着反応力価 (C'IA₅₀、西岡の方法による)、MD 抗体価 (Middlebrook-Dubos 反応の溶血法による) を測定した。なお、長期脱感作例についても、脱感作前及び後に採血を行い、同様の検査を行った。

(結果) 1. 感作前と感作成立時との間に補体価の変動は認められなかった。2. PPDs で脱感作した時は、脱感作後1時間、24時間で補体価の軽度の減少がみられ、その程度は24時間の方がやや強いが、対照群との差は著明でない。3. OT 脱感作時は、1時間で既に著明な補体価の低下を認め、24時間後には更に低下が強い。4. MD 抗体価は OT 脱感作時に低下が認められ、PPDs 時には変動がない。5. 補体価は脱感作後48時間では回復に向う。6. 長期脱感作例では、補体価の変動がない。7. C'IA₅₀ の変動は C'H₅₀ の変動と平行した。

(考按) 以上より、OT 脱感作時には血中抗体価の減少が認められ、それに平行して補体価の著明な減少を来たす。一方 PPDs 脱感時には、血中抗体及び補体価の変動は著明でなかったことから、遅延型アレルギーに補体が関与するという積極的な証拠は得られなかった。今後

遅延型アレルギーと補体との関係を追求して行くには、補体のない動物、或いは人為的に補体価を低下せしめた動物に遅延型アレルギーを起させることも重要だが、遅延型アレルギーと組織中の補体との関係を追求する方向がもつと重要性を増すものと思われる。

III-8 PCA 反応の抗体グロブリン組織定着過程における補体の役割

国立がんセンターウイルス部

○西岡久壽弥、橋武彦、岡田英親

東大医科学研究所

土井陸雄、中村博

PCA 反応における抗体グロブリン組織定着過程が、抗体の F C 分割の組織定着因子によるものであるという Ovary の説によつては、在来報告したように、PCA 反応を起さない抗体 (IgA) の組織定着、IgA 又は pepsin 処理をうけた IgG、IgA の competitive inhibition の実験事実を説明しえない。さらに、ウマ IgA 及び PCA 反応をおこすウマ IgG による reversed PCA 反応が両者とも陰性である事実は reversed PCA 反応の実験をもとにして組みたてた Ovary 説の根拠をくつがえすものである。

これに対して、補体系が関与して、xenogeneic, allogeneic なグロブリンを組織定着させるという我々の作業仮説を確認するために Cu-chlorophyllin のみをらず、各反応段階の抗補体剤を、抗体グロブリンと in vitro で混合して注射する方法によつて、組織定着の阻止をみた。EDTA, Salicylaloxim, Phlorizin, Pheophytin は抗体組織定着を阻止する。Venom factor (Naja haje より精製) では抗体注射より前に局所に注射したときのみ、阻止がみられる。Phlorizin では、同時注射のみ阻止し、事前処理によつては阻止しない。

これらの抗体の組織定着阻止は、補体の in vitro における溶血活性阻止能力と量的に相関関係にあつた。Phlorizin, Venom factor の阻止は C'3 の添加によつて、Cu-chlorophyllin は C'5 の添加によつて restoration がみられた。これらの事実は補体系、少なくとも C'5 までの反応がグロブリンの組織定着に関係していることを示すものである。

III-9 ヒト γ -globulin 及び Subunit のリウマトイド因子に対する抗原性、補体結合及び生物学的活性について

東大物療内科

○広瀬俊一、横張竜一、山本恵一郎

荒岡 孚, 谷本潔昭, 勝田保男

Aggregated human IgG または soluble antigen-antibody complex がもつ生物学的活性及び補体結合能は知られており, またリウマチ因子(RF)は native の IgG とは反応せず, 変性 IgG, 及びその subunits と反応をする. 今回はこれ等のヒト IgG 及び subunits その用い変性によるこれ等活性の変化に関して検討した.

ヒト IgG は同一系の実験には同一 Lot を用いた. IgG は DEAE cellulose column chromatography により pH 8.0, 0.005Mol の phosphate buffer でとり, 未処理では RF と全く反応しない事を確かめて使用した. papain digest により Fab, Fc fragment, 2 mercaptoethanol により H 及び L chain 分けた.

H chain は tH (tarbid H chain) と呼ばれる強く polymerize した型のものを使用した. (J. Imm. 94, 927, 1965) 尿素変性を IgG では 0.5%, Fab, Fc では 2% で行い (J. Imm. 98, 628, 1927) u-IgG, u-Fab, u-Fc とし, u-IgG は Sephadex G-200 により pu-IgG (polymer type) と mu-IgG (monomer type) に分けた.

抗血清としてはリウマチ患者血清の他, 肝硬変症及びリウマチ反応陽性の膠原病患者血清を用い, 更に H chain を用いてウサギを免疫して得た anti-H chain 血清を使用して各抗原 preparations の抗原特異性を gel 内沈降反応及び Boyden 法血球凝集反応で検討した. mu-IgG, pu-IgG, tH, u-Fab, は各疾患における RF との反応で特異性の差を示さなかつた.

一方家兎抗 H chain 血清では native IgG と mu-IgG の抗原性の間に差はみられなかつたが, u-Fab, u-IgG, tH は各々特有の抗原特異性をもつ事が示された.

これ等の抗原物質の補体結合性 (C'F) を G.P 血清を用い C'H₅₀ で検討すると tH, pu-IgG は他に比し強い補体結合性を示した. 一方牛血清を用いた conglutination test では pu-IgG は強い反応を示したが tH は反応しない. tH の C'FT と conglutination test における反応性の差については, G.P 血清と牛血清における差によるものか, 他の因子によるものかは今後の検討を必要とする.

一方 soluble complex 及び aggregated IgG が示す血管透過性亢進作用をこれ等の preparation を用い検討すると, IgG, mu-IgG, Fab, u-Fab, L-chain と H chain は陽性を示さず pu-IgG のみ強く blue spot を

つくつた. rabbit anti-human IgG を用いて行つた R P C A では IgG, mu-IgG, pu-IgG は 2 μ g N/ 0.1ml で強く陽性を示したが, Fab, L, tH chain は 20 μ g N/ 0.1ml で全く反応を示さなかつた. 一方 R P C A で抗原皮内注射直後に抗血清と色素を静注したのでは Ht も IgG, mu-IgG と同じく陽性反応を示した. この事は tH を皮内に注射した後すぐ抗体を静注により入れたのでは tH は抗原として R P C A を起し得る事を示している.

また, ウサギ抗ヒト IgG 血清静脈注射24時間後に抗原を皮内に注射したのでは何れの preparation も陽性反応を示した.

以上の結果からは RF に対する IgG の抗原性出現が必ずしも C'F と平行せず, また conglutinating activity とも平行しない事を示している. 一方, R P C A で Fc を含んでいる H chain が陰性である事は, R P C A における反応性で Fc と H chain の間に差があると考えられる.

III-11 Hemagglutination の Inhibition (HI)

を応用した線溶測定法における補体の意義

東大吉利内科

○安部 英, 風間睦美, 鶴巻由美
浅野孝子, 松島早苗

線溶活性の測定法には原理にも技術にも種々異つた方法が行われてきたが, それらには用いる基質の純度や安定性, 測定される検体の調整, ことにそれが測定前に相当の manipulation を受ける点などで問題があり, また得られた測定値の解釈, 中でもそれが生体内における線溶活性との相関や生物学的意義について議論が分かっている. これらの短所を補う目的で線維素, 線維素原またはそれらの分解産物のもつ共通抗原性を利用し, それらに対する抗体を作つてこの抗原-抗体反応に極めて鋭敏な haemagglutination inhibition (HI) を配する方法が村上らによつて提唱された. 著者らは健常者および各種疾患々々から採つた血漿で, この HI titer (HIT) を測つたところ, その値は上記被検者の間で特定の傾向を示さず, また従来から行なわれてきた線維素平板溶解法, euglobulin 溶解時間 (eug LT), あるいは血漿線素原量の値とも特別の相関を示さなかつた. また種々の手術その他で, 明かに線溶亢進のあると思われる例, 例えば股動脈血栓症および歯肉肥大症の手術例で, それらの血漿検体を上記の測定法により検べた結果を比較すると

、従来の方法、中でも eug LT では明かな線溶亢進が認められるのに、HITでは何ら特別の所見を示さなかつた。よつてこのHITの不定な測定値が得られる原因として補体が関係するか否かを検討した。

まず血漿に streptokinase (SK) を加えて線維素原の溶解を起した後、この反応液に thrombin (thr) を加えて残存線維素原を凝固させ、上清の分解産物を測定すると、SKの力価が高いものほど上清のHITは高値を示した。この時SKと同時に ϵ -aminocaproic acid (ϵ -ACA) を加えて線維素原の分解を中止させると、上清HITの上昇も止つた。しかし上述の反応液に thr を加えることなく、そのままHITを測定すると、各反応液でSKや ϵ -ACAの量とは無関係に常に一定の値を示した。

つぎに本HIT法が線維素分解と線維素原分解とを識別する目的で、血漿にSKを加えた後直ちに thr を加えて凝固させ、放置したものと、同じく血漿にSKを加えて一定時間放置反応させた後に thr. を加えて凝固させたものとの両者の上清をそのまま、およびこれらを56度15分間加熱した後でHITを測定したものとでは、確かに前者の線維素分解の方の値が高く、また加熱により両者とも値が低下したが、線維素分解と線維素原分解とを上清の加熱処理で識別することができなかつた。しかしこの際反応系には補体反応に必要な Ca イオンが欠けているため、これを補う意味をも含め thr. の代りに CaCl₂ を加えて測定しても上と同様の結果が得られて、この際補体が特に関与するという所見は得られなかつた。つぎにこれらの反応系に新鮮モルモット血清を加えても、得られるHITに特定の変動を認めず、これからも本測定法に補体が関与するという積極的な所見は得られなかつた。

討論並びに追加

III 補体とその関連領域研究

(1~2 座長 藤井源七郎)

2. 免疫喰菌現象の代謝について

吉田孝人(愛知がんセンター)

E. Coli と EAC' 1423 の phagocytosis の間にメタボリズムの差をおこす原因は?

柿沼かつ子(国立がんセンター)

まだ説明できない。

(3~6 座長 藤井源七郎)

4. IAHA による自家抗白血球細胞抗体の検出

田村 昇(東大血清)

in vivo ですでに cell は、抗原抗体結合物になつて補体をくつつけているのではないか?

藤井源七郎(東大医科研)

その問題は、私が homograft をうけた動物のリンパ細胞でしらべたときも、新しく血清補体と十分接触させる方が C' を十分くつつけたことを経験している。

6. モルモット眼房水の補体成分について

宮沢政栄(都立大久保病院)

眼房水中に C'1 活性がないといわれましたが、角膜層に結合している C'1 は存在していませんか?

石橋幸雄(東大医科研)

前房房水中に C'1 活性のないこと以外にも角膜の transplantability を成立させる要因があると思うか?

嶋田孝吉(東大眼科)

角膜細胞層の C'1 についてはしらべていない。他の要因の関与も当然考えねばならないとは思いますが、私たちは、角膜移植成立の要因の1つとして C'1 活性がないことを明らかにした。

(7~8 座長 勝田 保男)

7. 遅延型アレルギーにおける補体の関与——脱感作による血中補体価の変動

田村 昇(東大血清)

OT を使つての passive hemagglutination で血中抗体を測定する場合は OT antigen の抗原物質が粘製されていなければならないと思う。

8. PCA 反応の抗体グロブリン組織定着過程における補体の役割

広瀬俊一(東大物療内科)

1) FITCで光つているものが抗体の固着とみてよいか?

2) PCAの抗原注射で 2,500Lf 以上注射した時はどうか?

3) ウマの抗体での passive general sensitizationは?

4) 抗体と host が allogeneic な組合せのときも natural Ab の存在を考えるか?

西岡久寿弥(国立がんセンター)

1) FITCで光つているものは、抗体をラベルしたあとでもPCAを起したり、competitive の inhibition を示したりするから、抗体の function をそのままもつていると考える。

2) ふつう 500Lf がPCAを起すのに過剰の抗原量である。その5倍量を用いてもなお抗体グロブリンの席

取り競争があるから competitive inhibition とみてよいと思う。

3) 補体の in vivo における役割をみている第1アプローチとして local lesion に私たちは焦点をしばつていたので、全身アナフィラキシーの問題には入っていない。

4) ウマの IgA の個体差は、IgG のそれよりも強い。この点から同じ species の間でも natural Ab を考えてもよいと思う。

(9~11 座長 松橋 直)

9. ヒト γ globulin 及びその Subunit のリウマトイド因子に対する抗原性、補体結合能及び生物学的活性について

橋 武彦 (国立がんセンター)

RPCA を起こすに必要な因子は?

広瀬俊一 (東大物療内科)

Fc の configuration change によるものと考えている。