

題 名 第5回補体シンポジウム記録

日時：昭和43年7月20, 21日

場所：東京椿山荘

著 者 会長：浅野 誠一

第18巻 第号 137頁—158頁 1969年別冊

ア レ ル ギ ー

日本アレルギー学会

[集 会]

第5回補体シンポジウム記録

日時：昭和43年7月20, 21日

場所：東京 椿山荘

会 長： 浅 野 誠 一

1) 補体成分の塩析

東大医科研制癌 真弓 忠

東大眼科 嶋田 孝吉

国立がんセンター, ウイルス部 関根 暉彬

補体は, α_1 - β -globulin に属する蛋白群であつて, その分画はイオン交換セルロースカラムクロマトグラフィーと電気泳動法とを主として用いてなされていた. 今回われわれは一般の血清蛋白質分画法のうち, 大量処理の可能な塩析による方法を補体成分分画の初段階に使用することを目的として各補体成分の塩析のされかたをしらべた. 使用した塩は補体第四成分がアンモニウムイオンによつて失活させられることを考慮して, リン酸塩と硫酸ソーダとである. 塩析の結果, 補体成分は2組にわかれ, C'1 inh., C'2, C'9 は塩析されにくい組に, 他の成分は塩析されやすい組に属する. この結果, EAC' 14^b の作製法, および補体第7成分精製の初段階に塩析を応用した. それでえたウサギ第7成分に対するモルモット抗体 (IgG) の特異性を, 対照にモルモット第7成分をとりアガロース板上で, ウサギ第7成分のみ, その拡散がこの抗体によつて阻害されることを抗原抗体反応後モルモット補体成分でつくつた EAC'142356とモルモットC'8, C'9 とを重層することで証明する方法を報告した.

2) モルモット及びヒト C'4 の精製

東大眼科 嶋田 孝吉

医科研制癌 真弓 忠

国立がんセンター, ウイルス部

関根 暉彬, 上山 陽子

今日, C'4 の精製における問題点は, 主に次の2つにあると考える.

1) C'1 inhibitor を主とする不純物の分離除去が難しい.

2) C'4 を精製するに従い, その溶血活性が不安定になる.

以上の2点に留意して, C'4 の精製をした.

血清を pH 7.5, i.s. 0.04にし, 遠心した上清 (Sup I) を pH 5.5, i.s. 0.02にし再び遠心する. 上清 (Sup II) の pH を 6.8に戻した後, Sup II 100ml に対して, Na_2SO_4 を20gr の割合で加え, 20°Cにて30分間搅拌した上, 遠心分離する. この塩析により, C'4 は100%沈澱するが, C'1 inhibitor はほとんど沈澱せず, 沈澱 (Ppt II) の混入は, sup II中の5%以下に過ぎない. この ppt III は他に C'6, C'7, C'8 を含んでいる. ppt III 中の C'4 は, このまま放置しておくとも活性を速かに失つてしまう. これは次のような理由によると考える. 即ち, 血清中には C'4 を壊す物質, あるいはその前駆物質が存在し, さらにその作用を抑える物質も共存するらしい. 上述の塩析条件では, C'4 を壊す物質は C'4 とともに沈澱するのに対して, その作用を抑える物質は上清に残る. そのために沈澱中の C'4 は速かに失活してしまうものと考えられる. この C'4 の失活は, DFP を 2mM の濃度で添加することにより防ぎ得る. そこで, 塩析後直ちに ppt III を 2mM の DFP を含む 0.02M 酢酸緩衝液 (pH 5.0) に溶かし, CMセルロース・カラム (0.02M 酢酸緩衝液 pH 5.0, i.s. 0.10, 0.001 MEDTA を含む) にかける. 溶出された C'4 (モルモットおよびヒト C'4 とともに i.s. 0.14で溶出し始め, peak が i.s. 0.16) の溶血活性はかなり安定である. C'4 はこのカラムにより, C'6, C'8, C'1 inhibitor と分離されるが, 依然として高力価の C'7 と混在している. C'7 と分離するために DEAEセルロース・カラム (0.005M 磷酸緩衝液 pH 7.5, i.s. 0.10, 0.001M EDTAを含む)にかける. モルモット C'4 は i.s. 0.11から溶出し始め, peak 0.13, ヒト C'4 は i.s. 0.13から溶出し始め, peak 0.15であつた. この C'4 には他の補体成分および抑制物質の contamination は全く見られなかつた. さらにセファデックス G 200により, 免疫電気泳動にて単一なる沈降線を示す C'4 を得た. 活性は,

100/0.001 OD 280 μ m で全体を通しての収率は10%であった。

3) 抗補体成分血清の検討

国立がんセンター研究所

田村 昇, 島田 彰子

I) 補体第3成分に対する特異的な抗体として, 抗 β 1c- β 1A血清が用いられてきている。鳥巣らにより β 1cグロブリンが存在するのにもかかわらず, C'3 溶血活性の全く認められないヒト血清が発見されて以来, β 1cグロブリンと C'3 との異同が問題となり, 抗 β 1c血清を抗 C'3 血清として用いることの妥当性が論議されてきている。昨年すでに報告したごとく, 精製した C'3 で免疫して得られる抗モルモット C'3・ウサギ血清は, 免疫電気泳動上でモルモット血清との間に β 1c- β 1A グロブリンに特有な二峰性の一本の沈降線をつくる。この抗血性は C'3 の結合している感作血球, EAC'1, 4, 2, 3, EAC'4, 3などを凝集し, C'3 の溶血活性を中和する。しかしこれらの成績からのみでは, β 1c- β 1A グロブリンが C'3 であるとは断定できないので, 定量沈降反応により C'3 が β 1c- β 1A グロブリンとしての抗原性をもつタンパク質であることを確認した。抗 C'3 血清(抗 β 1c- β 1A血清)を硫酸塩析, DEAEカラムクロマトグラフィーにより IgG 分画に精製し, この精製抗体に EDTA 存在下でモルモット血清を加えて沈降反応をおこさせると, 抗体過剰域から沈降物が最大に形成される最適比あたりまでは上清中に C'3 の活性は認められず, 抗原過剰域にいたつてはじめて C'3 の活性が上清中に検出される。C'3 以外の補体成分に対しては全く影響が認められない。ウサギ抗体(IgG)の分子量を16万, モルモット C'3 のそれを21万とし, 最高比における抗体と抗原との比を3:1:5:1とすると血清中に含まれる β 1c- β 1A グロブリン量は 1,200:1,500 μ g/ml と推定される。

II) 補体成分は C'4, C'3, C'5はそれぞれ β 1e, β 1c, β 1f グロブリンとして同定されているが, その他の成分についてはタンパク質としてどのような性質をもつものか, あまり明らかでないので, 精製 C'8を免疫して抗 C'8血清を作製した。得られた抗血清は同様に IgG 分画に精製してその特異性を検討した。抗 C'8血清は EAC'1-7の反応性に対しては全く影響はないが, C'8の活性を中和し, EAC'1-7, 8の形成を阻止するので C'8に対する抗体が存在することは明らかである。さらにこの抗血清は, EAC'1-7, 8にも作

用してその反応性を低下させるので, C'8は EAC'1-7に結合するものと推定される。免疫電気泳動法により C'8あるいはモルモット血清を抗原として展開し, 抗 C'8血清と反応させた後, EAC'1-7と C'9の寒天浮遊液を重層させると, α_2 グロブリン領域に溶血帯が認められ, そのひろがり抗 C'8血清により弧状に阻止されるが, 沈降線との関連は不明瞭であり今後の検討を必要とする。

4) 化学修飾の補体活性に及ぼす影響

国立がんセンター研究所

関根 暉彬, 実吉 峰郎

補体が9成分に分画され, ついでその内のいくつかの成分には血清中にインヒビターが存在することが明らかにされた。補体に対する低分子の阻害剤は第1, 第3成分についてをのぞけばあまり知られていない。われわれはブロムシアン(BrCN)がモルモット補体の第5, 第6成分を阻害することを見いだした, pH 8.0において, モルモット血清(GPS)を100倍に希釈しBrCNを3mmol, 30°C, 30'作用させると, その補体活性は $1/10$ 以下になる。しかし pH 5.0で作用させたのではわずかに影響がみられるにすぎない, BrCNを作用させたGPSについて各補体成分を測定してみると特に C'5 C'6の低下がみられた, カラムクロマトグラフィーで精製した C'5に BrCNを pH 8.0で作用させるとその溶血活性は血清の場合と同程度の低下がみられたが, pH 5.0ではほとんど低下しなかつた。pH 8.0で BrCNを作用させたGPSに EAC'14235 cell および EAC'142356 cellを加えて溶血がおこらず, EAC'1423567 cellにおいてわずかに溶血がみられた。したがって補体価の減少が単に C'5 C'6の不活化のみによつていゝとは考えにくい, BrCNが C'5, C'6を不活化するのは C'5, C'6分子中の含硫アミノ酸残基が修飾をうけたものと考えられるがその点については検討中である。

5) 補体第3成分阻害因子とトランスフェリンの関係について

国立がんセンター, ウイルス部 鳥巣 要道

東京大学整形外科 園崎 秀吉

補体第3分子阻害因子(C'3 inactivator)は immune-adherence および immune cytolysisを阻害する物質として正常ヒト血清中に存在する蛋白質である。このあとの物理化学的性格を明かにして, その生物学的活性を追求することは, 補体の生体内での動態を解明する手掛り

になると考える。今回われわれは正常ヒト血清より C'3 inactivator を精製し、その抗原性を調べたところ、鉄を運ぶ蛋白として知られる transferrin ときわめて共通な態度を示すことを見出したので両者の関係についてのべてみたい。

精製は正常人血清に 0.001M Na₂EDTA 添加緩衝液を用い、DEAE, CM セルローズ, Sephadex G 200, Sephadex G 200, super fine 等を組合わせることにより精製した。精製した C'3 inactivator は超遠心分離(蔗糖濃度勾配, 分析用)で1本のピークを示した。また電気泳動ではβ領域の易動度を示し、免疫電気泳動では抗人ウマ血清に対し1本の沈降線を形成した。またこのものはトランスフェリンと共通の抗原性を見出したので、各精製過程のトランスフェリンの抗原性と C'3 inactivator の活性を比較したところ、Na₂EDTA を含んだ緩衝液を用いる精製法で両者は全く共通の態度を示した。また硫酸分画、リボノール分画、Pevikn 電気泳動、シヨ糖濃度勾配超遠心などでは両者の分離はできなかつた。しかし各精製過程において C'3 inactivator の活性が失活するため、両者の比較はできなかつた。一方鉄を運ぶ transferrin は鉄を飽和させることにより電氣的荷電が変わることが知られている。この性質を利用して飽和させた血清を用い C'3 inactivator の精製を行なつたところ、C'3 inactivator の活性をもつ transferrin と活性を持たない transferrin を見出した。両者の抗原性は anti-transferrin で検出するかぎり差は見だせない。transferrin のどの部分が C'3 inactivator の活性をもつものか transferrin の一部分が C'3 inactivator なのか、transferrin に associate していて抗原性は transferrin のみしか作らないものが現在までわかつていない。Transferrin の定義を抗原性で一方 C'3 inactivate を活性で全く違つた性質で比較することは、先年われわれが取り上げた β_{1c} globulin と C'3 の問題と同じように大変困難なことである。

6) Electrofocussing 法による補体の分画

国立がんセンター 向島 達

最近開発された electrofocussing 法は、従来一定の pH 条件下の電気泳動と異なり、いろいろ連続の等電点を有する Ampholite を支持体として用い、これに電圧を加えて、これらの Ampholite をその等電点の順序にならべ、linear な pH gradient を作らせ、その pH の連続の間に目的とする物質をその等電点のところに集め分画するものである。この方法で分画の際の toiling を除

けば、きわめて sharp な peak として得られる。現在この方法では、pH 0.02以上の差異を有するものは、別のものとして識別できるのできわめてわずかな差の isozyme を区別することもできる。このようにして分画した物質の pH はその原理からして、その等電点を与えるものである。従来煩雑な手技で求められた等電点もきわめて簡単に求めることができる。蛋白像の精製において、等電点を知ることは、きわめて有用である。モルモット補体および inactivator の精製は多くの業績があるがその等電点については求められていない。これらを求める目的で、モルモット補体、および DEAE または CM セルローズカラムで分離したサンプルにつき、その等電点を求め等電点における安定性、heterogeneity について検討を加えた。Carrier Ampholite pH 3~10 を用い sucrose gradient 50% から 0% initial voltage, 400V. final voltage 600V 48時間通電、分画した。その結果モルモット血清から出発したものでは、C'1, C'4, C'2 は失活しそれ以外のものについては等電点は求められた。分離したサンプルより出発したものについては C'2, C'3, C'4 についても多少の失活があるが測定できた。以上の等電点は、C'1 5.3~6.0 C'4 5.90 C'2 5.33 C'3 6.25 C'5 5.10 C'6 6.63 C'7 5.78 C'8 6.34 C'9 5.18 C'3 inactivator 6.45 であつた。C'1 については沈澱が生じ広く分布する。1M urea を加えたものについては、urea を加えないものとはほとんど差はなかつた。等電点における失活は C'2, C'3 で著明で C'4 が僅かで、他の成分はほとんど失活は認められなかつた。二峰性、三峰性を示す成分は認められなかつた。さらにこの方法の補体成分の purification に対する応用は等電点の差の大きい成分たとえば C'5, C'9, C'7 についてはきわめて有効である。今後セルロースカラムと組合せることにより有用な精製法とならう。

7) 減光度による補体価の測定

愛知県がんセンター、ウイルス部

佐藤 繁美, 吉田 孝人, 福島 好美
伊藤 洋平

8) 補体価測定の自動化の試み

愛知県がんセンター、ウイルス部

日立製作所、那河工場

佐藤 繁美, 吉田 孝人, 福島 好美
伊藤 洋平, 小野 直也, 吉田 霞

Von Krogh, Wadzularth, Mayer 等によつて開拓された補体価測定法は感作血球 (EA) に補体を加え反応させたのち、遠心し、その沈渣の量、もしくはその上清中のオキシヘモグロビンの吸光度を測定することにより、溶血した血球数を知りそれによつて補体価を決めていた。この方法は遠心操作が入るため、多数の試料を処理すること、また EA の溶血の kinetics を追うことに困難がある等の点で改良が期待されてきた。われわれは補体価の測定を自動化することによつてこれらの困難な点を解消できるのではないかという考えの下に、基礎的研究を行つた。遠心操作を省いて EA, ghost, オキシヘモグロビン三者混在、血球懸濁液を直接分光光度計で読み、その減光度から血球濃度を定量する条件を検討したところ、 $\lambda = 625\text{m}\mu$, $\theta = 1.3\text{mm}$ がよいことがわかり、この条件で従来の Mayer 法と比較した。EA (5×10^8 コ/ml) とモルモット血清 (補体) の組合せで、 $625\text{m}\mu$ の減光度と血球濃度が正比例することから、反応後、溶血度を求め、Von Krogh の経験式に挿入し、両対数グラフから $C'H_{50}$ /ml を求めた。従来の $541\text{m}\mu$ 吸光度法と上記減光度法で求めた値の対比は $P < 0.05$ で $C'H_{50}$ にして吸光度法の方が減光度法より $1 \sim 4\%$ 高かつた。これは ghost cell による減光度に基くものと判つた。したがつて同じサンプルで減光度と吸光度によるデータを比較するとグラフの傾斜が逆になつており、両対数グラフ上では吸光度による線が、減光度によるものより $1 \sim 4\%$ 高い $C'H_{50}$ 価を示す点で $\log 1$ と交錯する。なお、 37°C 60分反応後、90分間室温に放置し減光度を求めたが60分後のものとほとんど同じであつた。これらのことをもとにして、多数の試料を処理することが可能である。また、 7.5ml Mayer 法でなく 3.0ml の小試法の方が両対数グラフ上で多く点がとれること、少ない試料で可能であるということ等で優れていた。次に double beam 分光光度計のセルを恒温 (37°C) にし EA に適当に稀釈した血清 (補体) を加え zero-time より時間的に溶血度を追うことができた。このことにより $\log \text{time}$ は補体濃度に反比例し、減光度の時間的変化は補体濃度に正比例した。このように免疫溶血を時間的に直接、追跡することが可能になつたため補体による溶血の機構を解析する手段として利用でき、疾患と溶血曲線の型を関連づける等の応用が期待される。

最後に、自動化の試みとして自動的に減光度を読みとり、記録して補体価を決定する装置と、EA, GVB⁺ 血

清 (補体) を自動的にピペッティングして 37°C で反応させる装置を組合せ、血清補体価を測定したところ、手で測定したものと自動で測定したものと近値を示した。反応時間、補体の稀釈等、この試作自動機械では改良する点がこのさされているが、一応自動的に測定できる見通しが可能となつた。

9) 減光度法によるヒト補体価の測定

名大皮膚科愛知果がんセンター、ウイルス部

石川 芳久, 池谷 敏彦, 渡辺 満也

小林 敏夫

最近の分光光学の進歩により減光度を用いて不均一系の試料を定量する試みが発展してきた。本邦では中西、黒田等による赤血球浮遊液の透光性の問題についての論文がみられるが、われわれはヒトの補体の減光度による補体価測定を試みたので、それを報告した。

1) 従来の Mayer による総量 7.5ml の 50% 溶血法と総量 3ml の変法による小試法とを比較した場合、両者の値は一致した。しかも小試法の方が試料は少なくすみ、多くの稀釈倍数をとりうるという利点を有したので以下の実験には小試法を用いて減光度による $C'H_{50}$ 測定を行つた。

2) $541\text{m}\mu$ の吸光度法と $625\text{m}\mu$ による減光度法を比較すると、減光度法の値は Von Krogh の式にあつはまり、両対数表にて直線関係を示し吸光度法による $C'H_{50}$ と略一致した値を示した。しかしその値は常に吸光度法による値よりやや低い値を示し、その差最大、 4% 、平均 2% であつた。

3) 吸光度法につき減光度法にても 37°C 、60分振盪直後の $C'H_{50}$ と90分室温放置後の $C'H_{50}$ との差はいづれも 2% 以内であつた。

4) 日立 124型 double beam spectrophotometer, 吸光セル 10mm , 8.7mm の Wedge, 恒温セル附属装置を使用し減光度法による、健康人、接触性皮膚炎、尋常性乾癬、補体価の著減を示す SLE の血清補体による kinetic immune hemolysis curve をそれぞれ記録した。これらの曲線の間には human C' の濃度の単なる差による勾配の変化は認められたが、疾患特有の曲線は得られなかつた。SLE においては増悪時も寛解時も $C'H_{50}$ の高低による差は認められたが特有な曲線は示さなかつた。これらの曲線において $\log \text{time}$ は human C' 濃度に反比例の関係を示したが、如何に濃くとも1分以内に溶血開始を認めたものはなかつた。またこれら異なる補体価を示す被検者の各種稀釈倍数の示す S 字状曲線の直線を示す

部分から得られた $\Delta E/\text{min}$ を縦軸に, $C/H_{50}/\text{dilution rate}$ を横軸にして作用すると, $\Delta E/\text{min}$ が0.25以下においては直線を示し, 0.25以上では急激に勾配を減じ, 拋物線を描くようになった. 9例の C/H_{50} の異なる症例より得られた直線部分より作図した平均直線について, C/H_{50} 未知の血清の $\Delta E/\text{min}$ が0.25以下であるならば, この図より C/H_{50} が推定しうることを示した. その誤差は今後の詳細な検討にまたねばならないが最大 8.5%, 平均 3.8%であった. このことより, この方法は臨床利用しうる簡便法として役立つものと考え, ここで報告した.

10) 免疫溶血反応に伴う赤血球膜 ATPase 活性の消長について

奈良医大 細菌

深山 昭雄, 岩竹 邦宣, 榎葉 周三

ヒト赤血球の ATP 含量と免疫溶血反応に対する感受性の関連について研究した結果, ATP 含量の多い赤血球が, 抗体および補体の作用によつて溶血しにくいのは, 補体の成分で作用した後の step で E^* precursor \rightarrow E^* activated の間に ATP dependent の逆反応が存在するためであることを示し, 同時に赤血球の ATP 含量が減少することを発表した. 今回の報告は, 免疫溶血系において, 赤血球 ATP が, どのように消費され, それが血球の lysis とどのような因果関係にあるかを知るために, 膜 ATPase 活性の消長について得た結果を示すものである.

1) モルモット補体の作用をうけた EA を, 低張液中で完全溶血を起し, 得た ghost の ATPase 活性を測定した結果, total ATPase および Ouabain insensitive ATPase の著明な上昇を認めた.

2) 最初に ghost を作成し, これに抗体および補体を作用させた後, membrane ATPase を測定した結果, 同様に total ATPase および Ouabain insensitive ATPase の上昇を認めた.

3) 溶血活性を持たないモルモット血清では membrane ATPase の上昇は起らない.

11) ヒト白血球の IA レセプターの探索

愛知県がんセンター, ウイルス部 第二内科

吉田 孝人, 今井 邦之, 太田 和雄

伊藤 洋平

霊長類 (primate) の赤血球および霊長類以外 (non-primate) の動物の血小板にいわゆる IA レセプターの

存在することについては Nelson 等によつて系統的に研究されてきた. またこれに反して primate のリンパ球, non-primate の赤血球には IA レセプターはないことも記載されてきている.

われわれはヒト白血病細胞に対する自家抗体の探索を行つている途上にヒト白血球 (リンパ球を除く) に IA レセプターの存在することを示唆する事実を見つけたので実験を組立て, その探索を試み, 次のような結果を得た.

ヒツジ赤血球 (E), ウサギ溶血素感作ヒツジ赤血球 (EA), 感作ヒツジ赤血球モルモット補体第 1, 第 4 成分複合体 (EAC'_{14}), 感作ヒツジ赤血球補体第 4, 第 3 複合体 (EAC'_{43}), および感作ヒツジ赤血球補体複合体 (EAC') の 5 種赤血球 (EAC'_{14} , EAC'_{43}) は (国立がんセンター・ウイルス部, 西岡, 関根博士の御好意により分与されたものである) とヒト赤血球 (O 型, Rh +), 末梢ヒト (granulocyte, monocyte, lymphocyte) 白血病細胞 (急性骨髄性白血病, (AML), 慢性骨髄性白血病: CML, 慢性リンパ性白血病: CLL) の三種, これらは正常白血球を含む) を EDTA-GVB, Azide EDTA-GVB, Phenol-EDTA-GVB, Heparin-EDTA-GVB, UV 処理して EDTA-GVB 等の各種 buffer 中で混じ, 30°C で反応させ, 結果を位相差顕微鏡で白血球の種類別にヒツジ赤血球の附着を指標に検討を行つたところ, 次のような結果を得た.

ヒト赤血球は EAC'_{43} , EAC' のみと反応し, その約 70% が附着されることを確め, これをもつて陽性対照とした. 正常白血球には E は附着しないが, EA, EAC'_{14} で 30~35% の granulocyte, monocyte に附着し, EAC'_{43} , EAC' になると 60~75% と倍になると同時に, per cell あたり 1~4 コだつたのか 4 コから 6 コ以上が増し, per cell あたりの附着 EAC'_{43} , EAC' が著しく増加することになり, IA レセプターの存在を示唆する結果となつた. AML (3 例), CLL (1 例) の granulocyte も正常白血球 granulocyte と同様な附着傾向を示し, またこれらの細胞は細胞学的にも normal granulocyte である. これに反して CML (3 例) の granulocyte は 50~60% 附着され, per cell あたり 1~4 コが多く 6 コ以上はほとんどみあたらない. CML の granulocyte は leukemic cell とされており, IA レセプターの数 per cell あたり少なくなつていていることを示している. いわゆる幼弱の leukemic cell (blast cell) は 10~20% の低率で per cell あたり 1~2 コ程度であつた. 正常リンパ

球およびリンパ白血球細胞には附着しなかつた。

これらの結果は正常 granulocyte および monocyte には I A レセプターがあることを示唆し、白血球細胞を含めて細胞分化と I A レセプターの出現、細胞の機能と I A レセプターの意義等の関係を明白にする問題を提示する結果を得た。

12. 免疫粘着現象 (IA) の基礎的研究

国立がんセンター・ウイルス部 関根 暉彬

東大医科研制癌 真弓 忠

国立がんセンター・ウイルス部 西岡久寿弥

I A 陰性の EAC'142 と C'3 とが反応することによって I A 陽性の EAC'1423 が生成する。この EAC'1423 から C'1 を Ca^{2+} をキレートすることにより、また C'2 を decay 現象を利用して除去した EAC'43 は I A 活性に関してもとの EAC'1423 と同様である。今回われわれは第一に、EAC'142 の I A 現象発現での役割は、それが C'3 分子中に mask されて存在する IA site を unmasking することだということを証明する一方法として、EAC'43 上の C'4 site を酵素処理によつて除去しても I A 活性は存続することを証し、第二として、EAC'142 の C'4 site 数が C'3 による IA site generation の程度と強く関係していることを示した。第一の実験については、もちいた EAC'43 は感作血球に C'1 (1,000 SFU/cell), C'4 (1~2 SFU/cell), C'2 (100~200 SFU/cell), C'3 (100~200 SFU/cell) を反応させたあと chelation と decay によつて C'4 site の limit の EAC'43 をつくつた。この EAC'43 をプロナーゼ (40 μ g/ml) で 30°C 90 分処理した。処理 EAC'43 の I A 活性は、未処理 EAC'43 と同様であつたが、血球にあらたに C'1, C'2, C'3, C'5, C'6, C'7, C'8, C'9 を加えて溶血によつて C'4 site 活性を測定した結果、処理 EAC'43 では C'4 site 活性が消失していた。また血球上の抗体活性はこの酵素処理によつてはほとんど影響をうけなかつた。以上のことから EAC'1423 の I A 活性は C'1, C'4, C'2 site 活性によらないことを証明した。第二の実験においては、C'4 site のことなつた EAC'142 cell をもちいて I A および H L によつて C'3 の titration をおこない、それへの C'4 site 数の影響をみることをおこなつた。この結果 C'4 site を増加するとともに C'3 による I A 活性が増加することが明らかとなつた。

13. タンニン酸処理血球による Immune Adherence

国立がんセンター研究所

岡田 秀親, 河内 セイ, 西岡久寿弥

Immune adherence (IA) には C'3 が必須因子であるので C'3 をタンニン酸処理赤血球に吸着させた TEC'3 (tannic erythrocytes-C'3) をつくり、その C'3 を何らかの方法により活性化することにより、IA reactive な TEC'3 をつくることの可能性を検討した。その結果、TEC'3 は何らの操作を加えなくても、ヒト赤血球 (Hu E) に粘着することを知つた。同様の条件で C'5 および B S A を吸着させたものではともに Hu E への粘着は認められなかつた。TEC'3 とニワトリ赤血球 (Chick E) との反応は認められず、EAC'1423 と同様に Hu E への、粘着が特徴のようである。TE-C'3 を C'3 inactivator と混合して 37°C 120 分反応させると、Hu E への粘着活性は消失した。C'3 inactivator は活性化された C'3 にのみ作用するので TEC'3 にする過程で C'3 の活性化があると考えられる。C'3 に ^{131}I をラベルしたタンニン酸処理赤血球への吸着量を検討した結果、1.5 SFU/cell 以上が吸着した場合に Hu E への粘着を認め得た。EAC'142 cell がどの程度の I A をおこなうに必要な C'3 は 0.1~0.05 SFU/cell であつたので、TEC'3 の場合には EAC'1423 の場合に比し、少なくとも 30 倍以上の C'3 が必要である。一方 C'3- ^{131}I を正常モルモット血清に混合して免疫電気泳動を行い、X線フィルムへの感光を調べても β_{1c} の沈降線以外に放射能活性が認められず、またその C'3 ^{131}I を EAC'142 cell に吸着させると、その放射能活性の 30~40% 程度のものが吸着されるような高純度の C'3 を用いても 1 SFU = 2,500 分子 (C'3 の分子量を 21 万として計算) であつた。このことは、Müller-Eberhard の言うごとく、C'3 の活性化には C'3 の一定個所における蓄積が必要とも考えられる。そこで TEC'3 が EAC'1423 に比し Hu E へ粘着するための C'3 の効率が $1/30$ 以下であることは TEC'3 では C'3 が血球表面上のある個所に限局蓄積しにくいという可能性も考えられる。一方 TEC'3 では C'3 の一部だけが活性化されており、他の多くの C'3 は活性化されていないものである可能性も考える。現在 C'3 を活性化して粘着活性を高める試みとして C'1, C'4, C'2 Venom factor ヨード希釈血清、酸化剤、還元剤等について惹干検討したが、現在のところ効率の高い活性化の条件はみつかつていない。

14. 抗原抗体複合物の非特異的抗体吸着現象

東大血清 松橋直, 白井美津子

抗原抗体複合物に補体が吸着される以外に, 他の反応系の抗体および血清中の種々の成分が吸着されることを見出し, その中では他の反応系の抗体が非特異的に抗原抗体複合物に吸着されることに注目し, 「抗原抗体複合物の抗体吸着現象」と名づけた(松橋1959).

この現象の最も基本的なものは, 抗A血清と抗B血清とを混合しておき, この混合液にA型赤血球を反応させて抗体を Landsteiner 法で誘出すると, その抗体誘出液は抗Aおよび抗B抗体活性をもっており, A, B 両赤血球が凝集するようになる. このとき, 抗A血清にB型赤血球を, 抗B血清にA型赤血球を混合して, Landsteiner 法で抗体誘出を行つても, 抗体は誘出されないから, 前述の現象はA型赤血球と抗A抗体が結合してはじめておこる現象ということが出来る. 事実, あらかじめ抗A抗体感作A型赤血球を作つておき, これをよく洗つてから抗B血清と混合し, 抗体誘出を行つても, 抗B抗体が誘出液中に検出されるから, この現象には, 抗原抗体複合物ができることが, 第一条件になる. ここで問題になるのは, 抗A抗体によりA型赤血球が凝集させられ, その赤血球と赤血球の間に抗B抗体がだきこまれることである. この「だきこみ」をのぞくため, できるだけ凝集塊をふりほぐして洗うことを試みているが, この可能性は除外できない. そこで, 普通の抗A血清では凝集させられないが, 抗A抗体と結合する赤血球 Ax をもちいて, 前述同様の実験を行つても, 抗B抗体は非特異的に吸着されてくるから, 凝集塊形成による「だきこみ」よりも, 抗原と抗体複合物ができることが原因であると考えられる. 同様の現象は, 抗E, 抗 Le^a など種々の血液型抗体でも観察される.

この現象は血液型抗体ばかりでなく, たとえば脂質, 蛋白質などの抗原の場合も観察される. たとえば, 梅毒患者血清に, 抗A, 抗B, 抗D, 抗Eなどを加え, cardiolipin-lecithin (CL) 抗原と反応させ, 凝集したCL抗原をよく洗つてからCLをエーテルで抽出し抗体誘出液をつくと, その誘出液中には, 抗CL抗体のほか, 加えた抗A, 抗B, 抗D, 抗Eなどが検出されてくる. また蛋白抗原たとえば卵白アルブミンと抗血清とを反応させるとき, ヒトの抗A, 抗B血清または抗ヒツジ溶血素を存在させておくと, できる沈降物にこれらの加えた抗体が吸着されることが, 抗原抗体沈降物を56°C10分間加温して解離させ, 再び室温に戻して沈降物をつくらせると, その上清中に, 加えた抗体が吸着されること

から推定できる.

この現象は, IgG, IgM 抗体の何れによつても起こることは, 抗A, 抗B抗体を用いて証明できる. なお, 抗原抗体複合物に吸着される他系統の抗体が, どの程度非特異的に吸着されるかは, 反応系によつて異なるようであるが, 抗原が蛋白性の時は, 前述のような方法では特異抗体の20—30%のようであるが, この成績には自信がない. しかし, 抗A, 抗B抗体系のときは, 凝集終価の測定では18°Cで $1/3$ —3倍の非特異的吸着抗体が見出されているが, これは正確な意味の定量ではないため何ともいえないが, 特異的結合抗体と同量近くの別の系統の抗体が吸着されるようである. 正確な定量については, さらに実験をしたいと考えている.

15. 正常 γ -globulin を結合したヒツジ赤血球の溶血について

大阪府立成人病センター

稲井 真弥, 露口 泉夫, 平松 誠一

いわゆる non antibody γ -globulin を結合したヒツジ赤血球がモルモット新鮮血清によつて溶血をおこし, この現象が補体の作用によることが明らかとなつた.

市販のヒト γ -globulin Cohn の Fraction II を加熱により aggregate させ, 硫酸ソーダによる分画沈澱によつて aggregated γ -globulin と non-aggregated γ -globulin に分け主として前者を実験に使用した. ヒツジ赤血球への蛋白の結合は CrCl_3 を用い, 岸本, 露口らの方法に準じた. 溶血に用いたモルモット血清はあらかじめヒツジ赤血球で7—8回吸収し正常溶血素を略完全に除去した. ヒト γ -globulin 中にヒツジ赤血球に対する抗体のないこと, およびモルモット血清中にヒト γ -globulin に対する抗体のたいことはそれぞれ確認した. すなわち aggregated γ -globulin を結合したヒツジ赤血球(EAgG)のモルモット血清による溶血には特異的な抗原抗体反応は全く関与していない. EAgG の溶血現象をみるためには Mayer の $\text{C}'\text{H}_{50}$ 測定法の $1/2.5$ のスケールを使用した.

EAgG cellのモルモット血清による溶血の Kinetics を検討するとその反応曲線は, 至適感作の感作ヒツジ赤血球(EA)を用い補体濃度を変量して得られる反応曲線に略一致することがわかつた. また EAgG とEAのモルモット血清に対する反応性をみるために両者の cell を用い吸収モルモット血清について $\text{C}'\text{H}_{50}$ を測定すると EAgG によつて得られる $\text{C}'\text{H}_{50}$ はEAの場合の $1/2$ — $1/4$ で, $1/n$ は 0.3以上となつた.

この EagG cell のモルモット血清による溶血が補体によるものであることは次の実験で確かめられた。

1) 非動化モルモット血清では EagG の溶血はおこらない。2) 反応液中の Ca^* , Mg^* を Chelate するに足る EDTA を加えると溶血は阻止される。EagG の溶血におよぼす EDTA の影響は、EA と補体との溶血に及ぼす EDTA の影響と類似した結果がえられた。3) EA から C'1, C'4, C'2 を用いて EAC'1a, EAC'1a, 4, EAC'1a, 4.2a 等の intermediate cell を作る方法に準じて、EagG から EagG C'1a, EagG C'1a, 4, EagG C'1a, 4.2a 等の cell を作る事ができた。

ヒツジ赤血球に aggregated γ -globulin, non-aggregated γ -globulin, IgM, IgA をそれぞれ結合させ各 cell についてモルモット血清による溶血を比較すると、前2者を結合した cell の間にはそれぞれの溶血に差がなく、IgM を結合した cell の溶血は前2者の場合に比し弱く、IgA を結合した cell では高濃度のモルモット血清によつても全く溶血を示さなかつた。

16. リンパ組織抽出液中の細胞溶解因子について

国立がんセンター研究所

奥平 博一, 岡田 秀親, 河内 セイ
西岡久寿弥

細胞の関与する免疫機構にリンパ球の果たす役割が大きいことは、多くの人の認めるところであるが、その機能を発揮している物質についての具体的な知見は未だ多くない。各種動物のリンパ系組織の抽出液に細胞障害性物質(以後 CLF: cellular lytic factor と記す)の存在が見出されたのでリンパ球の細胞障害作用の解明に役立つと考えここに報告する。この発見の端緒となつたのは、マウス乳癌由来の腹水化癌細胞 MM₂ にリンパ腫抽出液(モロニー白血病)を加えて C3H/He マウスに注射したところ C3H/He マウスは癌死を免れたという事実であつた。その機序については、CLF の MM₂ 細胞に対する直接的細胞障害作用によるものであらうということが、in vitro で認められた。CLF は MM₂ に特異的に作用するのではなく、他の腫瘍細胞、赤血球にも同様に作用する。CLF は Virfis homogenizer で高速ホモジナイズすることにより容易に抽出が可能になつたので、この抽出法を用いてマウスその他の正常動物の各種臓器における分布を調べたところ、抽出液の細胞障害作用は、脳、肝、肺、腎には認められず、脾、リンパ節、胸腺に存在していた。

なお、正常血清中において、CLF と同一と考えられる物質の存在を示唆する結果が、immuno lysoelectrophoresis による分析で得られている。

リンパ節の細胞分画では細胞障害作用の特定の分画への局在は見られなかつた。

現在、CLF の力価測定には標的細胞としてヒツジ赤血球を用いているが、イオン強度、pH は低い方が感度がよく、EDTA の添加により活性が増強するところから i.s. 0.023, pH 6.5, 0.0025M Na₂ EDTA 5% ブドウ糖および1%ゲラチンを含む磷酸緩衝液を用いている。CLF の活性は 56° 30 分の加熱により、約 $\frac{1}{3}$ に低下する。反応は温度に依存し、21°C から 45°C までは温度の上昇とともに細胞溶解作用は促進され 2°C においては 21°C におけるよりも反応が促進される。

電気泳動では、アルブミンから、 α -グロブリン領域に活性がみられ、超遠心では 7S より軽い分画と 19S より重く、40,000 rpm で沈澱する分画に活性があることが示された。ウサギの抗マウスリンパ球抗体によつて、CLF 活性の阻害が見られる。また CLF の阻害物質は正常血清中にも存在し、この阻害物質は硫酸 $\frac{1}{2}$ 飽和の上清に分画され、DEAE セルロースカラムクロマトグラフで、pH 7.8, i.s. 0.05 で溶出された。

追加

国立がんセンター研究所 入江 健二

C3H/He マウスの腹水型乳癌細胞 MM₂ の移植に対して抵抗性を有する同系マウスの抗血清(RMS)を各種乳癌組織のデオキシコール酸ソーダ(DOC)-extract で吸収し、補体存在下で RMS による MM₂ への免疫細胞障害の阻止を検定しようとする実験において、ヒト乳癌 extract を用いた系では無呼吸対照よりも顕著に MM₂ を障害することが観察された。この結果 DOC-extract そのものによる細胞障害作用が想定されたので RMS 補体の不在下で、ヒト乳癌 extract を直接 MM₂ に作用させたところ 100% cytolysis が得られた。この作用に対する CLF inhibitor および補体の影響を調べたところ CLF inhibitor によつて著明に抑制され、補体によつては促進されたのである。補体による促進は補体としてのモル血清中の natural antibody の影響と理解しようが、CLF inhibitor による抑制は DOC extract に CLF 様作用のあることが強く示唆されているといえよう。この実験に際して DOC そのものは extraction の過程で dialysis および高速遠心により十分除かれており同じ乳癌患者の大胸筋 DOC extract は全く細胞障害作用を示さなかつた。このヒト癌細胞 DOC extract に

よる細胞障害作用の本態に関しては、悪性腫瘍に対する stromal reaction 等 immunological host reaction を裏づける1つの証拠という考え方と同時に、癌細胞そのものの intra-cellular factor による effect という考え方があり得よう。いずれにせよこの問題を解決することは、細胞障害作用の阻止によるヒトの腫瘍特異移植抗原の追求のためにも、腫瘍に対する host response の補体系を含めた諸現象を解明するためにも必要と考えられるので、今後の課題としたい。

17. IA 微量法のウイルス学的応用

国立予防衛生研究所、腸内ウイルス部

伊藤 道夫

補体要求性の免疫反応である immune adherence (IA) は、その鋭敏度と反応時間の短いことなどの点で以前より注目されて来たが、補体の定量とその関連研究以外の分野では意外に応用された例が少いようである。筆者らはすでにいくつかのウイルスの抗原、抗体の定量にこの方法を用い、通常の補体結合反応 (CF) よりきわめて敏感なこと、十分にウイルス研究に利用できることを報告した。前回に用いたチューブ法を改良し、プリステック・トレイを用いる一つの簡単な IA 微量法を考案した。そしてウイルス学……とくに defective ウイルスとして最近発見された adeno-associated satellite virus (ASV: アデノ衛生ウイルス) の研究に利用した若干の成績を報告する。IA 微量法はマイクロタイター用の disposable トレイを使用し、抗原、抗体各1滴 (約 0.025ml)、100~200倍のモルモット補体に 0.4% にヒト O 型血球を混じた液 3 滴を加え、カバーでシールし、手で振りまぜ 35°~37°C で約 10 分後もう一度振り、さらに約 1 時間フランジ器中に放置して血球を沈ませ HA を判定する方法である。アデノウイルス、アデノ衛生ウイルス、SV₄₀、ポリオなどの抗原、抗体の定量を試みた結果、従来のチューブ法に比べて略、同程度の感度を示し、CF 反応より 4~128 倍程度、敏感であることが明らかにされた。また反応の特異性に関しても交叉反応により確認された。このように同程度の反応性を示しながらなお原法の 1/10 量の抗原、抗血清量で充分な微量法は貴重なウイルス抗原、抗血清を検約する意味からもすぐれたものであり、その有用性が期待される。さらに、単独ではふえることができず、常にその増殖のために helper となるアデノウイルスの同時感染を必要とする defective なアデノ衛生ウイルスの感染価、中和抗体測定のために、IA を利用した微量定量法が工夫された。これ

によつて従来、定量のきわめて困難であつたこの種の defective ウイルスが、通常の CPE をおこすウイルスのように比較的容易に測定することが可能となつた。19例のヒト血清、23例のカニクイザル血清中のアデノ衛生ウイルス抗体がこの方法を用いて検索された。1型ウイルスに対しては約 40%、2型ウイルスに対しては約 60% 近くものヒト (日本人) 血清中に明らかな抗体が見出された。このウイルスの病原性に関しては現在のところまったく不明であるが、流行性肝炎その他、未知の病源ウイルスとの関連性を含めて、このような新しい方法論からの研究が期待される。

18. *Toxoplasma* の Immune Cytolysis における補体の役目

東大医科研細菌感染

鈴木 守, 常松 之典

トキソプラズマを正常人の血清中 (accessory factor 以下 AF) に浮遊させたのち抗体を作用させると、その作用をうけた虫体は“みかづき形”に変形し、アルカリ性メチレンブルーをとらなくなる。これにたいし、抗体の作用をうけないものは、アルカリ性メチレンブルーをとつて、前者と区別がつくようになる。この現象は、1948年 Sabin-Feldman によつて発表され、トキソプラズマ症の最も重要な血清学的診断法として用いられている。この現象は単に血清反応としてのみではなく、トキソプラズマ虫体の immune cytolysis という観点からも興味のあるところであり、その過程の解析が期待されている。さてこの反応で一番問題となるのは、従来この点については、zymosan, EDTA, 熱処理, NH₄OH 等により AF 能が不活化されることから補体の作用が関与するものと考えられてきた。しかしこのような不活化の操作は、補体に specific なものでなく、補体以外の他の成分も障害することが考えられる。われわれは、補体成分欠如血清に対し精製した欠乏している成分を補うことによつて AF としてこの機能回復をはかり、この観点より補体がこの反応の要因であるか否かをたしかめた。問題の低補体価血清は C'4 C'2 の溶血活性が非常に低値を示したものであり、AF 能をほとんどもたなかつた。この血清の β_2 E-globulin は、正常の沈降線がみられた。精製 C'4, C'2 をこの血清に加えたところ溶血価の上昇と同時に AF 能もある程度まで回復した。さらに国立がんセンターの鳥巣らが集めた。低補体価血清 (いずれも 2 単位以下) 7 例について AF 能をしらべたところ、いずれもほとんど能力はみとめられなかつた。以上の実

験事実により、補体は、AFの本態として必要不可欠の要素であることが、明らかとなつた。しかしAFとして用いられる際、血清は、20%—40% (final) という高濃度であることが必要であるので、この点で補体以外の limiting factor が何が必要であるか否かは、今後検討したい。

19. 熱における補体成分の変動

国立がんセンター研究所 西岡久寿弥

SEATO 医学研究所 Philip K. Russell

Yale 大学医学部 Scott B. Halstead

流行性出血熱は、その病因が、きわめて抗原性の近い ARBO-VIRUS の二重感染によつて起るショック症状を基盤としたアレルギーに基づくものとされている。これは、デング熱ウイルスに対する抗体が、病変初期から、IgG 抗体として把握され、抗体産生のパターンが、抗原の二次刺激によつて反応する抗体産生像と一致しているという免疫化学的知見から提出された病因論である。

本疾患の病変経過に伴う補体成分の変動を SEATO 医学研究所で採集した14例の経過をおつて採血したシリーズの患児血清について検討した。

C'1, C'2, C'5, C'6, C'7, C'8, C'9の各成分は病変経過と結びつけられる特異像は認められなかつた。C'4については、C'1IA₅₀, C'H₅₀の変動と最もよく相関して変動しているが、C'4も C'1IA₅₀, C'H₅₀の変動と同じように、病変の経過との関連性は認め難い。

C'3に関しては、急性期にいずれも低下し、回復期に向うに従つて、正常値に戻るといふ、病変経過との相関の認められる変動を示した。

補体の特定の成分の変動の推移を定量することにより、全補体活性を測定しただけでは見出し得ない知見を得て、臨床処見と結びつけて解析されることをみた。さらに急性期における IgG 抗体出現がこの病変の特徴的な重要な因子であるとされている本疾患で、C'3がこのような変動を示している事実から、C'3の免疫病理学的研究を進めれば、一連のショックの症状解析にきわめて重要な鍵があたえる手がかりとならう。

20. C'2, C'4 低値をきたした光線過敏症の1例

徳島大学医学部皮膚科

白石 聡, 武田 克之, 荒川 忠良

C'2, C'4 低値をきたした光線過敏症の1例。

いわゆるアレルギー性皮膚疾患、自己免疫疾患の発症には、抗原抗体反応のみならず、補体系、各種酵素系の関与が考えられる。

私らは、その活性と量的変動の両者を追求できる補体に注目し、各種疾患の補体価 (C'H₅₀) 並びに病状の経過とともに C'H₅₀ がどのように変化するかを追求しているが、C'H₅₀ が全く低値を示す光線過敏症の1例を経験したので報告する。

患者は73才の男子、昭和41年7月露出部の痒痒性皮疹を主訴として来院し、Ecz. chronicum universalii mit Lichtdermatose との診断のもとに治療を受け、約1ヵ月後皮疹は消退したが、同年10月、稲狩り後、露出部に再び皮疹を来し受診、ただちに入院した。

生化学的検査では、軽度の低蛋白血症を認めたほか、肝機能、血清電解質、残余窒素、ASLO, RA, CRP, などいずれも正常値であり、LE細胞、LE現象は陰性であつたが、光線感受性試験 (SEI) は亢進していた。C'H₅₀ は、Mayer の50%溶血法で、入院経過中4回測定したが、その値は0, 13.6, 0, 0を示した。そこで、補体9成分、C'3 inactivator をマイクロ・タイター法により検討した (C'2の測定には、EAC 1 gp 4 hu の cell を使用、他の補体成分は、いずれも分離したモルモット補体成分を使用した)。その結果、C'H₅₀ が0を示すいずれの場合にも、C'2, C'4の活性が全く見られなかつた。この患者血清を使い免疫電気泳動を行つたところ、anti β_{1E} に対してβ領域に明瞭な沈降線を得た。

現在まで、C'2, C'4の溶血活性のない疾患は、hereditary angioneurotic edema (HAME) と報告され、その原因として C'1 inhibitor の欠損によるとされている。本症例がHAMEと同じ原因によるものかどうかを現在検討しているが、ともあれ、溶血活性がないにもかかわらず免疫電気泳動で沈降線を得たことは、補体成分測定は、その溶血活性を主体としたものでなければならぬと考へてよからう。

21. C'3 Inactivator に関する臨床的研究

(C'3 Inactivator deficiency serum の検索を含む)

九大榎屋内科

酒井 好古, 尾木 幸八, 榎屋 富一

現在、補体成分活性を不活化する因子として、第1, 第3, 第6成分に対する少なくとも独立した3つの inactivator が血清中に自然に存在することが知られてい

る。就中、C'3 inactivator は第3成分のもつ特異な生物学的機能に対して作用する意味において重要であり、かつまた、鳥巢、園崎らによつて C'3 inactivator が transferrin と共通した抗原性を有するという報告がなされているので、この点に関して臨床成績を検索し、C'3 inactivator の欠如している血清の症例を紹介した。

(方法) 被検血清希釈系列 0.4ml と 2×10^7 /ml EA 43, 0.2ml を 0.01M EDTA 加ペロナル緩衝液中で 37°C, 60分 incubate し、 4×10^7 /ml ヒト血球 0.005M ペロナル浮遊液 0.5ml と 37°C, 10分間振盪し、60分静置後その I A H A を読み、20点を血清 C'3 inactivator の活性とした。

(成績) C'3 inactivator 活性は、急性および慢性骨髄性白血病、悪性リンパ腫において低値を示し、肝硬変症、肺結核症において低値ないし高値と動揺域が大であつた。リウマチ熱、SLE、自己免疫性溶血性貧血、PNH、寒冷凝集素症、腎移植などいわゆるアレルギー性疾患群では、明らかに高値を示した。また、IA、C'1 活性が変動する場合 C'3 inactivator も変動を示し、両者の変動は coincident であつた。白血病細胞の場合、結合した C'1 量が増加するときむしろ C'3 inactivator は低値を示し、結合 C'1 量が少ないとき inactivator は正常域にあつた。

C'3 inactivator と T I B C の関係は後者があるレベル以上有するとき前者は後者の量と無関係に変動した。血清鉄値が減少するとき、C'3 inactivator は増強し、両者は負の相関を示すが、これは病巣があつて inactivator が活性化されるとき、鉄も病巣や網内系動員されることで説明が可能である。

精製 transferrin には C'3 inhibitor としての活性があり、鉄飽和 transferrin が、不飽和 transferrin に比し不活化が強い。

日赤中央病院小児科坂田博士の症例 Atransferrinemia においてその血清には C'3 inactivator が証明されず、また C'3 inactivator を抑制する因子も除外されたので、本態性 C'3 inactivator の欠如血清といふことができる。

以上、C'3 inactivator は各種疾患のアレルギー機転に関与することを示し、transferrin による検討、Atransferrinemia 症例における検索より、transferrin と C'3 inactivator の構造上共通性を示した鳥巢、園崎らの成績を支持するいくつかの事実を報告した。

22. HANE (遺伝性血管神経性浮腫) の1例

東大物療内科

山本恵一郎、荒田 孚、谷本 潔昭
広瀬 俊一、大島 良雄

遺伝性血管神経性浮腫 (hereditary angioneurotic edema) は皮膚あるいは粘膜に急性・一過性に反復して限局性・無痛性の浮腫の出現する稀有な遺伝性疾患であるが、近年この疾患に特有な kallikrein-kinin 系ならびに補体系の異常が発見され注目されている。文献上欧米ではかなりの報告例をみるが、本邦では未だ報告がない。われわれは補体系の異常を確認した本症の一例を経験したのでここに報告した。

症例は、昭和17年10月生主婦。家族歴で母および母方の祖母、母の従弟、また患者の弟にも同様の浮腫の発現をみたという。既往歴は特記すべきものなし。現病歴は、昭和30年頃から半年ないし1年に1度位、左右いずれかの上下肢に発作性に浮腫が出現し、4~7日持続し消退した。以後、42年12月当科入院時まで、浮腫出現部位は、四肢ならびに顔面におよび、さらに腹痛や咽喉絞扼感を伴うことが多くなり、発作間隔も次第に狭まってくる傾向がみられた。入院時所見は、右上肢、ことに肘関節を中心に上下約10種に多少の発赤を伴う浮腫性腫脹をみるが、掻痒・疼痛なし。胸・膜部理学的所見に異常なく、尿・血液像、血沈、CRPその他を含めての臨床諸検査に異常はみられなかつたが、血清補体系を検索すると著明な異常があらわれた。すなわち発作時において、50%溶血補体価 (C'H50)、50%免疫粘着反応補体価 (C'IA50)、補体成分力価 C'1、C'4、および C'2 に著しい低下をみとめ、特に C'4 と C'2 の力価は全く消失していた。このことより患者血清の C'1-esterase 活性を pH stat で測定したところ、対照とした精製ヒト C'1 分画の esterase 活性よりもさらに高い値を示し、患者血清には、C'1-esterase inhibitor (C'1 inactivator) の欠如による C'1-esterase 活性の亢進のあることが推定された。

また、EAC'4 cell を用いての免疫溶血電気泳動法によると、新鮮正常血清は、S および M の2つの溶血活性帯を示すに対して、HANE 血清は S および M のみならずさらにはやい F 帯が post albumin の位置に現れ、精製ヒト C'1 分画も HANE 血清と同様の pattern を示した。このことより、新鮮正常血清に F 帯のみられないのは C'1-esterase に対する inhibitor protein の存在によること、また HANE 血清には in vivo ですでに F 帯に相当する C'1 S が遊離していることが考えら

れた。

なお患者の非発作時の血清 $C'H_{50}$ も低値を示し、また家族内で今回検査しえた母ならびに弟の非発作時の $C'H_{50}$ も同様に低値を示す傾向がみられた。

23. Compound 48/80 の補体に対する作用について

広島大学皮膚科 矢村 卓三

東京大学医科学研究所アレルギー

進藤 宙二

広島大学皮膚科 山本 昇壯

Compound 48/80は、Baltzly らによつて開発され、Feinberg らによつてその効果が認められた強力なヒスタミン遊離物質であり p-methoxyphenylethyl methylamine と formaldehyde の縮合物で主として dimers, trimers, tetramers, が混在しているものとされている。compound 48/80は in vivo および in vitro でマスト細胞の脱顆粒を起しヒスタミンを遊離せしめるが、その機作についてはいまだ確定的なものはない。しかしこのような活性をもつ 48/80 が、補体にたいしてどのような影響をおよぼすかを検討した。

Mayer の50%溶血の方法に準じて48/80のモルモット補体溶血活性にたいする影響をみると、対照が52%の溶血を示すのにたいし、62.5 γ で29.2%、250 γ では4.6%の溶血となり著明な抑制効果がみとめられた。さらに各 component の反応段階について検討してみると、 $C'4$ の反応段階を強く抑制することがみとめられた。これに反して、48/80と $C'1$ を混合し EAC' 4 細胞と反応させた場合は、 $C'1$ 活性は35%から70%程度の増強がみとめられた。

また、Evans blue にも抗補体作用がみとめられたが、48/80と Evans blue を混合することによつて、その抗補体作用は消失することがみとめられ、したがつて48/80の補体作用抑制効果は、補体成分とくに $C'4$ を不可逆的に denature するものではないと考えられる。

48/80のPCA反応にたいする影響を検討したが、抗体と同時注射したときに抑制効果が強く、このことは、 $C'4$ の阻止による抗体グロブリンの組織定着の阻害を示唆するが、48/80の組織にたいする障害、ヒスタミンなど局所の chemical mediators の減少などの関与も充分検討する必要があると思われる。

48/80がヒスタミン遊離物質であるとともに $C'1$ 活性の増強を示したことは興味深く、今後その機作を検討したい。

24. 非ステロイド系抗炎症剤の補体系におよぼす影響

東大整形外科 松浦美喜雄

東大医科研細菌感染 鈴木 守

徳島大皮膚科 白石 聰

山口大医学部 青山 文相

慢性関節リウマチの病理には、その患者の多くの血清中にRA因子の存在すること、病理組織像などから、免疫現象の関与が想像されている。最近では、この疾患に補体からの接近が行われており、慢性関節リウマチの膝関節液中では蛋白濃度に比して、補体活性の低いことが知られている。この疾患では、さまざまな非ステロイド系抗炎症剤が抄与されるが、これらの薬剤は、補体系にどのような影響をもつのであろうか。フェニルブタゾン、ケトフェニルブタゾン、塩酸ベンジダミン、フルフェナム酸、メフェナム酸、ブコローム、アスピリンについてその抗補体作用を溶血系でみた。これらの薬剤中、フルフェナム酸、メフェナム酸の二つが血清の補体活性をほぼ30 γ /mlで50%まで抑制することがわかつたので、さらに、これら二つの薬剤について検討を加えた。フルフェナム酸は、N(3トリフルオロメチルフェニル)アントラニル酸、メフェナム酸は、N(2,3キシリン)アントラニル酸であり、ともにアントラニル酸の誘導体で、相似た構造をもっている。通常の投与では、経口的にヒトにあたえると、メフェナム酸では、7~10 γ /ml、フルフェナム酸では、5~15 γ /mlの血中濃度まであがる。in vitro の系では、100倍に希釈したヒト血清に等量の30 γ /mlのフルフェナム酸、メフェナム酸を加えて、37°C45分間処理した後の $C'H_{50}$ 、 $C'IA_{50}$ 、補体各成分の変動をみた。その結果、 $C'H_{50}$ は低下し、 $C'IA_{50}$ には影響なく、 $C'4$ が明らかに減少し、さらに、 $C'1$ 、 $C'2$ 、 $C'5$ 、 $C'6$ などにも影響がみられた。モルモットの血清で同様のテストを行うと、ヒト血清と同様の傾向がみられる。しかし、50%抑制に必要なメフェナム酸、フルフェナム酸は、ヒト血清を抑制するより多くの量を要する。また、補体の研究が単に慢性関節リウマチにとどまらず、炎症一般への接近の1つの有力な手がかりとなると考え、このような観点かよ、抗炎症剤としてつかわれている薬剤の中に、抗補体作用のあるものが見出されたことは興味深く、今後の課題として追究して行きたい。

25. 遅延型アレルギーと補体との関係について

(第2報)

—除補体操作 (Decomplementation) の遅延型アレルギーに及ぼす影響について—

東大物療内科

谷本 潔昭, 荒田 孚, 山本恵一郎

勝田 保男, 大島 良雄

予研結核部 BCG室

吉田 彪, 三浦 馨, 橋本達一郎

著者らは、遅延型アレルギーと補体との関係を明らかにするために、既に第4回補体シンポジウム並びに、第17回日本アレルギー学会総会において、結核感作動物(モルモット)を用いて、脱感作現象をとりあげ、その前後の補体価の変動を調べた。その中で、血中補体価の変動は、血中抗体の変動に随伴したものと示され、遅延型アレルギーに直接結びついたものとしては解釈できなかつたことを報告した。

今回著者らは、全身あるいは局所的に、decomplementation を施した動物の遅延型皮膚反応を調べ、decomplementation の遅延型アレルギーにおよぼす影響をみた。それと同時に、より直接的に細胞性抗体と補体との関係を調べるために、結核アレルギーの受身伝達 (passive transfer) 能力を有する細胞を集めて、その細胞自身と補体との関係をみた。

1. 全身的並びに局所的 decomplementation の遅延型アレルギーにおよぼす影響。

全身的 decomplementation を行うためには、decomplementation という操作自身が、非特異的な影響を遅延型アレルギーにおよぼすおそれがある。この弊害を除くためには、材料の選定、投与方法の改善が必要である。著者らは、反復投与を避け、しかも長時間に亘つて低補体価の状態を維持させるようにした。

投与材料としては、BSA-anti BSA complex, aggregated human gamma globulin (AHGG), コブラ毒を用い、各々投与回数を3回(8時間おき), 2回(12時間おき), 1回とし24時間後にツベルクリン反応(ツ反)を判定するとともに血中補体価の測定を行い、おのおの80%以上, 90%以上, 90%以上の低補体価を持続させたことを確認した。結果は、ツ反は対照群と比べて全く差を認めることができなかつた。

2. 局所的 decomplementation (DeC') の遅延型アレルギーにおよぼす影響について。

全身的 decomplementation (DeC') においては、血

中補体の消長を捉えることが容易であるが、組織中の補体の変動を捉えることは困難である。したがって、組織中の補体を除くためには、局所的に行う必要がある。投与方法としては、皮膚反応の周囲に径4 cm位の ring を作り、その ring に沿つて、Cu-chlorophyllin, Phloridin Saldox, コブラ毒等の抗補体物質を oil in emulsion にして投与し、徐放的に長時間に亘つて中心部の DeC' を試みた。反対側の背には、中心部に BSA-anti BSA 系を利用して PCA を行い、どれだけ補体の作用が抑えられているかどうか一応の目安とした。結果は、抗補体作用の強さにほぼ比例して、PCA が抑えられるにも拘らず、ツ反は全く影響を受けることはなかつた。

3. ツベルクリンアレルギーの passiv transfer を行つた recipient に対する DeC' の影響。

結核感作動物を BCG 生菌で challenge してその脾細胞を集め、未感作動物 (recipient) に、「ツ」アレルギーの transfer を行つた。

この場合、recipient となる群を、DeC' を施した群と対照群に分けて行つたが、その両者の間に遅延型皮内反応の強さに、差を認めることができなかつた。

4. 細胞性抗体と補体との関係について。

結核感作動物より得られた、passive transfer 能力を有する細胞を用いて、その細胞自身の immuno-adherence (IA), および、cell bound C'1 activity を測定した。対照群は未感作動物から得られた。transfer 能力を有していない腹腔渗出細胞を用いた。

結果はこの両者の間に、IA 並びに bound C'1 についても、差を認めることができなかつたが、詳細は、第18回日本アレルギー学会総会において発表予定である。

以上、遅延型アレルギーと補体との関係を追求するために種々の実験を行つたが、遅延型アレルギーに補体が直接重要な役割を演ずるという証拠は得られず、補体の役割は遅延型アレルギーにおいては、きわめて限られたものではないかと推測することができた。

26. リウマトイド因子と補体との関係について
—特に変性ガンマグロブリンについて—

東大物療内科

谷本 潔昭, 広瀬 俊一, 荒田 孚

山本恵一郎, 勝田 保男, 大島 良雄

リウマトイド因子に対する抗原として、native IgG, 尿素処理により変性した、polymer-type IgG (pV-IgG). monomer-type IgG (mU-IgG), および、広瀬らの方法

により得られた, turbid H-chain (tH) の4種類を用いて, 次の各種の反応を行つた.

1) IgG の抗補体作用, 並びに IA (immune adherence) Inhibition Test

結果は, pU-IgG, tH に強い抗補体作用, 並びに IA Inhibition が認められ, mU-IgG は軽度, native IgG, Fab, L-chain には上記の作用が認められなかつた.

2) タンニン酸処理したヒツジ血球を上記4種類の抗原で感作し, それに補体 (C') を加えて溶血反応を起させ, その上にヒトO型血球を加えて, IAHA (immune adherence hemagglutination) を起させた. 結果は, 抗補体作用とほぼ平行し, pU-IgG, tH に強い溶血活性並びに, IAHA が認められ, mU-IgG, native IgG にはほとんど認められなかつた. このことは, aggregate した IgG および tH では, C' の9成分全部をつけ得ることを示す.

3) 次に4種の抗原に対して, 非働化したリウマチ反応陽性血清を加え, その上に C', および感作ヒツジ血球を加えて, 補体結合反応 (CFT) を行つた. この場合に, pU-IgG, tH を抗原とすると, その抗補体作用のため, 見かけ上の陽性率が高くなり, また mU-IgG, native IgG を抗原とした場合にも, リウマチ反応陽性血清においては, 溶血系感作血球による凝集反応の影響を強く受け, CFT の判定が難しく, 実用化の段階には致らなかつた.

4) タンニン酸処理ヒツジ血球を上記4種の抗原で感作し, リウマチ反応陽性血清を加えて, 凝集反応を起させ, その上に, C' を加えて, 溶血反応を起させた. リウマチ反応陽性血清の場合は, pU-IgG, mU-IgG, tH とともに強い凝集反応を示し, 1万倍以上の値を示すものが多い. 大これに反して, リウマチ反応陰性血清においては, 20倍以下の値しか示さず, 明確に区別され得た. なお native IgG を抗原とした場合は, 何れも凝集反応を示さなかつた. 溶血反応の場合には, 凝集反応と同様に pU-IgG, mU-IgG, tH の順に強い溶血活性を示したが, この三者においては, 却つて, リウマチ反応陽性血清の濃度の高いところでは, 溶血が阻止される傾向がみられた. しかるに, この傾向はリウマチ反応陰性血清並びに native IgG を抗原とした何れの場合にも, 溶血反応を含めて認めることができなかつた. このような溶血を阻止する原因としては, 感作血球に対する, 補体とリウマトイド因子の競合が起るため 2. リウマチ反応陽性血清においては, 別個に C' の inhibitor が存在す

ること, 等が考えられ今後の検討を要する. また, リウマトイド因子が補体をとるかとならないかを定める場合には, どうしても抗補体作用の少ない抗原を用いる方が有利である. それとともに現在の補体定量法で広く一般に行われているヒツジ感作血球の溶血活性で測定する方法は, 凝集反応の影響をどうしても強く受けやすい. これらの点が今後の問題点として残っているものと思われる.

27. 慢性関節リウマチの補体

東京大学整形外科 園崎 秀吉

国立がんセンターウイルス部 鳥巢 要道

慢性関節リウマチは原因不明の疾患である. その基盤には免疫学的機序が関与していると想像されつつもまだ確証は得られていない.

われわれは慢性関節リウマチの原因機序解明に補体学的アプローチを試みたので報告する.

患者は1967年8月から1968年1月までの間に中央鉄道病院整形外科および虎ノ門共済病院整形外科の外来を訪れたもので, ARA の診断基準に従い, definite または classial RA と診断されたものである. class および stage は種々のものを含み合計30例であつた. その他の関節炎 (外傷性, 単純性, 感染性, 痛風性, 恐皮症に合併したものを含む) 20例は同様にして得た.

1) 関節液中溶血補体価と蛋白濃度

リウマチ以外の関節炎では蛋白濃度に比例して溶血価が高い, それに比しリウマチでは蛋白濃度が高いのがいにもかわらず補体価はきわめて低いものが多い. このことは何らかの機序により補体価が活性化され消費されたであろうことを示唆する.

2) 関節液中の補体成分

リウマチでは第4成分 (C'4) が著明に低下し次に第3成分 (C'3), 第2成分 (C'2) が低値を示す. 他の関節炎では C'4 の低下は認められず補体価の低いものでは C'3, C'5 が低値を示した.

3) 関節液中の補体成分の電気泳動.

補体成分の中には活性化されたのち inactive form となるものがある. C'4 は β_1E -globulin として同定されているが不活性化され溶血活性を失なつても β_1E -globulin としての抗原性を失なうものではない. また β_1C -globulin は β_1A -globulin となる. このような電気泳動的性質を利用して inactive な補体成分の検出を試みたところ C'4 の溶血活性の全くない7例において β_1E -globulin は全く正常血清中と同じ位あることを見出し

た。またリウマチでは β_2 -globulin より α_1 -globulin が多く、対照群では β_2 -globulin が多かった。

このことは補体の消費を示唆する1)の問題を裏付けるものである。

4) 関節液中の C'3 inactivator と transferrin

リウマチの関節液中の C'3 inactivator は蛋白濃度に比例して高くこのことは補体の過度の活性化を防ごうという意味できわめて合目的なことといえよう。一方 C'3 inactivator と密接な関係にある transferrin の抗原性を測定した所両者の行動は非常によく一致した。transferrin の抗原性をもつもの全てが C'3 inactivator ではなく両者を同一視することは危険であるがリウマチに合併するトランスフェリンの低下や低色素性貧血、炎症部位への鉄の集積を考えるとこの両者の一致はきわめて興味深いものがある。

以上の事実は蛋白量が多いのにどうして補体活性が低いのか、活性化されて消費されたとすれば、その原因は何か、これを明かにすることによりはじめてリウマチの病態解明に補体の解析がその一助をないうこととなるだろう。

28. 小児膠原病における補体変動の意義

東大小児科 渡辺 言夫, 兵頭 行夫

全身性紅斑性狼瘡, 結節性動脈周囲炎, 皮膚筋炎, 慢性関節リウマチ等, 小児の膠原病においては, 当然免疫機構に何らかの影響がおよんで, 血清補体価が変動することが想像されるが, これらの膠原病の中では, 全身性紅斑性狼瘡のみが著しい血清補体価の低下を示すことが注目される。われわれは, 血清補体価の臨床的応用として, 鑑別診断, 治療管理の面について検討し, さらに, 全身性紅斑性狼瘡については, 腎組織への β_2 の沈着と, 抗DNA抗体, 抗denatured-DNA抗体の補体結合性についても検討した。

検索した膠原病のうち, 8例の紅斑性狼瘡は全例低補体値を示し, しかも, 補体価は臨床症状とよく一致して変動している。注目すべきことは, 増悪期には血波促進よりなお早期に低下している事実である。すなわち, 寛解期になつて maintenance 中に血清補体価低下をみた場合は, ステロイド増量等の適切な処置を速やかに行うべきである。このような疾病管理により, 腎障害の進展, SLEの増悪はさらに阻止されるものと思われる。

腎障害との関係については, 蛍光抗体法で β_2 , γ -globulin の結合が明らかになつているが, 腎障害を認めないSLEでも同様に補体価が低いので, 低補体の原因と

して腎障害のみを考えるわけにはゆかない。

また, 抗DNA抗体, 抗denatured-DNA抗体の補体結合性について, Wasserman, Levineの方法で検討すると, native DNAは $0.2\mu\text{g/ml}$, denatured DNAは $0.05\sim 0.1\mu\text{g/ml}$ に補体結合の至適濃度があつて, いづれも補体結合性であることが示された。この抗DNA抗体, 抗denatured-DNA抗体も, SLEの臨床症状と一致していることが注目される。

以上のごとく, 補体学的検索が鑑別診断, 疾病の管理の面に応用されることを示すとともに特にSLEにおける補体の意義について考按した。

29. 扁桃摘時の補体の変動

慶大耳鼻咽喉科, 内科

河合 清隆, 鈴木 安恒, 大久保充人
井垣 嘉之, 浅野 誠一

腎炎の発症に補体が関与しており, また腎炎の再発予防および進行阻止の目的でしばしば扁桃摘が行なわれている。

このことより考えて扁桃摘という操作が補体に如何なる影響をおよぼすかを検討してみた。

対象は当院耳鼻咽喉科において, 口蓋扁桃の摘出手術を行つた29名の男女(うち腎炎患者2名を含む)について術前, 術直後(加刀後3時間以内), 術後1週, 術後4週以降の計4回にわたり血清中の $\text{C}'\text{H}_{50}$, 蛋白分画, 蛋白定量, 末梢血中の白血球数等について検査を行つた。

得られた成績の概要は次のごとくである。

1. $\text{C}'\text{H}_{50}$ は全体として術直後および1週目では, やや上昇を示し, 術前高い値を示した場合では4週以降でほぼ前値に復していた。
2. $\text{C}'\text{H}_{50}$ は術前, 低値を示した場合では術後の検査を通じて上昇の傾向がさらに大きかつた。
3. 末梢血では, 直後, 1週目で白血球数の増加がみられた。
4. 血清蛋白では, 4週以降でグロブリンの減少, なかでも γ -グロブリンの低下がみられ, アルブミンの増加がみられた。

結 論

$\text{C}'\text{H}_{50}$ が直後, 1週目で上昇することは, 急性炎症において血清補体が上昇を示すという過去の報告や, われわれの末梢白血球数の成績より考えて炎症も1つの要因と考えたい。しかし, 手術的侵襲の補体への影響を末だあきらかではないので今後検討してゆきたい。

また手術前値が下つている場合に扁桃摘後4週以降でも

なお補体価上昇の傾向を示すのは扁桃が補体低下の一因となっていたことも考えられる。

30. 妊娠晩期中毒症患者の血清補体価

熊本大学産婦人科教室

東 政弘, 中山 道男

わが教室では従来妊娠晩期中毒症(以下中毒症と略)の本態に関するアレルギー反応の機序を追求しているが, その研究の一環として, 正常妊婦および中毒症患者の血清補体価を測定し, 比較検討した。測定法は mayer 法により $C'H_{50}$ を定量した。測定の対象は熊本大病院および熊本公立病院産婦人科の外来および入院患者合計 155名から採血を行ない, 同一症例について経時的に測定したものを含めると合計 228の血清について行われた。(1) 日差変動: 先ず4例の同一妊婦について, 早期空腹時, 中食前, 夕食後における補体価を測定してみると 2.5~4.0の日差を認めた。したがって以後採血は中食前に一定して行つた。(2) 正常妊婦の血清補体価: 正常妊婦61例の補体価の平均値は 43.8 ± 6.66 で非妊婦の平均値 35.0 ± 2.73 より高い値を示した。(3) これを妊娠月数別に観察すると, 妊娠4カ月で 44.2 ± 6.18 の平均値を示し, 妊娠5, 6, 7カ月の妊娠中期に稍低値となり, 妊娠7カ月では 40.4 ± 8.14 と最も低く, その後漸増し, 産褥初期に最も高い値を示した。(4) 中毒症患者妊娠時の血清補体価: 37例についてみるとその値は17から58の範囲に渡っているが, 大部分の症例は40以下(75.7%)で, その平均値は 31.2 ± 9.32 で正常妊婦のそれよりも低値を示した。中毒症を日産婦妊娠中毒症中央委員会の分類にならつて軽症と重症(特殊型を含む)に分けて比較してみると, 前者の平均値 36.4 ± 6.66 に比し後者のそれは 22.7 ± 7.92 と, 重症例では明らかに低値を示した。(5) 正常褥婦の血清補体価: 正常褥婦34例(46の検体)についてみると, 分娩直後は 40.8 ± 3.51 で, 妊娠10カ月の 46.7 ± 7.04 より一時低下し, その後産褥3日目に 53.5 ± 9.12 と最も高い値を示して後, 徐々に低下し, 産褥1カ月で 38.6 ± 3.35 の値を示した。(6) 中毒症患者産褥時の血清補体価: 重症中毒症16例につき, 同一症例を経時的に測定してみると, 妊娠中の最高値と最低値との差は, 全例10以下であつた。しかるに産褥時の変動は, 正常褥婦に比して著しく, 13例において30~45増加, 3例において20~30の増加を示した。症例により異なるが, 分娩時に低値を示し, 以後急激に増加し, 産褥7日目頂最高に達するが, 2週間目頃もなお高値を示すものが多数例に認められた。以上の成績

より, 中毒症患者においては, 正常妊婦, 褥婦に比して妊娠末期, 分娩時に著しく低値を示し, 産褥時に急激な著しい変動を示すことが特徴的であると考えられる。この成績が何を示唆するかは単に想像するにすぎない段階である。今後各補体成分の変動, inhibitor の変動, 性ホルモンとの関係等を検討して, この動態の意義を考えねばならぬと考えている。

31. 補体による腫瘍免疫抗体の測定

西岡久寿弥, 井上 雅晴, 半田 紅子

古瀬 礼子, 入江 健二, 坂本 元子

補体の研究は, 補体自身のもつ免疫化学的, あるいはその生物活性にもとづく免疫病理現象の追究にむけられていると同時に, 抗原抗体反応の detection, 方法論上の進展にも応用されてきた。

書近, 腫瘍免疫の分野においては, 特に, transplantation antigen についてウイルス腫瘍, 化学発癌剤による腫瘍を問はず, その解析の必要に迫られてきている。それに対応する syngeneic な抗体が, 血清抗体として把握されているのは, われわれの C3H/He マウス乳癌と Klein の moloney lymphoma にすぎない。しかしながら抗原抗体の detection の感度をあげることで, その方法に基づき膜抗原の解析を並行して進めることにより在来まで採知されなかつた移植抗原並びにそれに対する抗体の把握もなされよう。われわれはこの観点より方法論上の進展を企画してきた。膜抗原採知法としては, Klein らの membrane fluorescence法, われわれの immune adherence 法があり, immune adherence 法によつては特にその感度の高い点と, immune adherence の specific inhibition test により, 抗原物質の追究が可能になつたので, 免疫化学的に表面抗原の同定方法がなされた。

Transplantation にあずかる現象を in vitro でのモデルとして採知するためには補体による immune cytotoxicity test によつては在来の trypan blue 染色, Cr^{51} の release に加えてわれわれの開発した 26 dichorophenol indophenol の生細胞による還元性を利用した INK法がある。Celuda の開発した, FDA法 (fluorescein diacetate 生細胞内で esterase による分解を受けると, fluorescein となつて蛍光性を持ちこれが細胞内にとどめられて蛍光を観察することにより生死観別をする) は特に微量のサンプルで反応を行ひ得るので, その術式を改善し, immune cytotoxicity に

よる細胞の生死判定にその精度と感度を上昇させた。これらの結果、膜抗原の同定方法としては immune adherence 法, immune cytotoxicity をみるためには、改良 FDA法をもちいている。

われわれのもつている C3H/He マウスにおける syngeneic な移植腫瘍について、IAとFDA法により交叉反応性を比較した。これらの結果は、syngeneic な抗体による in vivo における抗移植性、ならびに、精製抗原による抗移植性阻止実験と一致しているので両者を並行してすすめることは有用な transplantation antigen の追究の基礎的な術式となろう。

32. 皮膚同種移植における血清補体価と補体成分レベルの変動

東大医科研外科

藤井源七郎, 後藤 俊二, 岡田 秀親
中島紗智子, 石橋 幸雄

マウスの皮膚および腫瘍同種移植で、血清補体価がグラフト拒否反応と比較的一致して変動することを第1回補体シンポジウムで報告したが、今回は、マウスとモルモットの皮膚同種移植におけるレベルと血清抗体の関係、補体成分レベルの変動について検討した。

皮膚移植は、動物の背部に全層皮膚グラフトをおき、移植後4日間隔で、マウスでは3匹を1群として全採血、モルモットは心臓穿刺により約2mlを採血した、分離した血清は -90°C に保存した。マウス補体の測定は、われわれがすでに発表した(第2回本シンポジウム)方法で $\text{C}'\text{H}_{50}/\text{ml}$ を得、モルモット補体はMayer法により測定した。 $\text{C}'\text{IA}_{50}$ 価は西岡の方法による。モルモット血清の補体の9成分は、国立がんセンター・ウイルス部の協力を得て、マイクロタイター法により充分量の8C'成分存在下に2+溶血(50%溶血)を示す最大稀釈数の逆数をとつて各C'成分のレベルとした。

C57 BL, ♀より C3H/He, ♀マウスへの移植では、移植後16日まで徐々にC'値の低下があり、以後上昇するが、上昇期におこなつた第2次移植以後では、補体レベルの低下は軽度で、次いで、むしろ著名な血清補体価の上昇がみられた。血清抗体価はIAHA (immune-adherence hemagglutination) 法で測定したが、その価の推移は、補体レベルの低い時期に高い。donor と recipient の組合せを逆にした場合、第1次移植では血清のIAHAによる抗体価はほとんど上昇をみず、第2次移植後、急速な上昇をみた。補体の $\text{C}'\text{H}_{50}/\text{ml}$ 値は、あ

まり変動しなかつたが、 $\text{C}'\text{IA}_{50}$ 値は、血清抗体価の高くなる第2次移植で著名に低下している。

モルモットで、脾細胞の同種腹腔内移植をおこなつた場合、補体のC'4、C'2とC'3で著明な低下と、血清 $\text{C}'\text{H}_{50}/\text{ml}$ 値の低下(12日目)をみた例が6例中2例あつたが、その他は不定な変動を示した。皮膚同種移植をおこなつたモルモットでは、第1次移植後 $\text{C}'\text{H}_{50}/\text{ml}$ 、 $\text{C}'\text{IA}_{50}/\text{ml}$ 値の低下と、それに次ぐ上昇がみられ、C'成分は、そのC'4、2、3が $\text{C}'\text{H}_{50}/\text{ml}$ 、 $\text{C}'\text{IA}_{50}/\text{ml}$ 値と一致して変動するが、その程度は著明でなかつた。

以上より、1) 皮膚同種移植では、腎、肝同種移植の直後にみられる血清補体価の下降あるいは上昇がなく、徐々に低下し、その推移は、グラフト拒否反応あるいは血清抗体レベルの推移とかなり呼応する。2) 血清補体価の低下が目立たない場合でも、移植後2週以後の rebound による補体価の上昇が常にあり、前期に補体消費のあることを示している。3) C'成分の変動は、かならずしも著名ではないが、C'4、C'2とくにC'3の変動がグラフト拒否反応と呼応してあらわれる等が結論された。

33. 大腎移植における補体の変動について

東大医科学研究所外科研究部

松倉 迪雄, 関口 守正, 遠藤 幸夫
鈴木 正明, 黒沢 知徳, 後藤 俊一
藤井 源七郎, 石橋 幸雄

イヌの腎移植の際の補体価の変動と、抗補体処置によるイヌの血清補体レベルおよび腎グラフト生着に対する影響について実験を行つた。

イヌ血清の正常補体価はMayerの方法により測定すると27~62単位である。同一イヌでは末梢静脈、腎動脈、腎静脈、外腸骨動脈、外腸骨静脈のいずれより採血した血液も、同一の補体価を示した。

イヌ腎自家移植後の末梢静脈血の補体価は、術後一過性に上昇するが、約一週後には術前の値に戻る。

イヌ腎同種移植では、移植後1~2日に、血清補体価の低下が見られ、その後次第に上昇し、グラフト脱落後は手術前よりも高くなる。

移植後30分に、腎グラフトの腎動脈および腎静脈より採血し補体価を調べると、自家移植の場合はほとんど見られない。一方同種移植の場合は、常に静脈側の方が動脈側より低い値を示した。これはグラフトの中で、自然抗体による抗原抗体反応がおこり、その結果補体が消費されたためではないかと考えられ、このことは血清補体

価の移植直後の低下に、関係があるようである。

次に生体内の補体活性を押えた時のグラフト生着への影響を見るために、C'3からC'5への反応をblockするといわれている。銅クロロフィリンおよび抗補体血清をイヌに投与し、補体活性を押えることを試みた。

銅クロロフィリン50mg/kgをイヌに静注すると、10分より2時間後までは、測定不能にまで低下した。24時間後には注射前の値に戻る。イヌ腎同種移植後10mg/kgの銅クロロフィリンを連日投与した時の末梢静脈血中の補体価は、術後一過性に低下した後次第に術前の値に戻り、その後一定の値を示した。銅クロロフィリン投与群では同種グラフト生着期間が、 12.6 ± 2.9 日と対照群の 7.2 ± 1.5 日に比べて有意の差で延長している。

イヌ血清よりC'1分画を透析によつて分離し、これに対する抗血清を、ウサギ、ブタを用いて作り(D₁)、さらにイヌ血清よりC'1をのぞいた残りの血清に対する抗体をウサギで作つた(D₂)。

in vitroではD₂にD₁より強い補体価抑制作用を認めた。

腎同種移植前にD₂を投与した2匹のイヌはグラフト生着期間が39日、29日と著明に延長したが、ウサギD₁投与群は4匹とも死亡した。

ブタD₁を投与した2匹ではグラフトの生着延長はみられなかつた。

われわれの投与量では、投与直後短期間の血清補体レベルの低下を得たのみで、同種移植反応のおこる時期(7日辺り以後)ではむしろ上昇している傾向があり、移植反応抑制の効果を得られなかつたが、他の抗免疫剤との併用、特にcriseの時期の抗補体物質投与は有意義ではないかと思われる。

34. 同種腎移植患者の補体の変動

東大泌尿器科 小島 弘敬, 高安 久雄

国立がんセンター研究所 田村 昇

移植に伴つて起きる拒絶現象の早期の臨床的指針となる可能性あるものとして、2人の腎移植患者にC'H₅₀と補体全成分を経時的に測定した。第1例は26才の糸球体腎炎末期で56才の母親より腎移植を受けた。手術日、9,000mlに達した尿量は術後3日目より減少10日目よりBUN増加、尿量1,000ml/dayを割る。22日目移植腎の被膜剝離術、以後尿量、次第に増加、35日目には2,600ml/day、BUNも減少して40日目には75mg/dlに至つたが、その後尿量は減少、BUNは増加、50日目にはBUN 100mg/dayを越え、人工腎を使用、尿量は

59日目には、200ml/dayまで減少、これを最低値として以後上昇67日目には1,000ml/dayをこえた。71日目、心不全のため死亡。C'H₅₀は8日目、65単位とピークに達し、後、減少して、21日目、31単位と低値を示し、再び上昇して31日目、46単位と2つ目のピークをつくり以後減少して57日目最低値11単位となり、その後上昇して死に至つている。全経過を通じてC'H₅₀は尿量とほぼ平行した動きを示す。補体各成分もいずれも57日目を最低とした変動を示すが、C'1、C'4、C'2、C'3、の変動の方がC'5、C'6、C'7、C'8、C'9、のそれより大きい。第2例は36才の糸球体腎炎末期で血縁関係の無い36才の本態性腎出血患者より腎移植を受けた。術後50日まで経過は良好で、尿量は常に2,000ml/day以上、BUNは20~40mg/dlである。この例ではC'H₅₀は術後43日目に22単位という低値あるのみで、30~40単位の間をゆるやかに変動するのみである。以上、典型的な経過を示す2例の腎移植患者のC'H₅₀、補体全成分の変動を追求した。C'H₅₀は拒絶現象と関連して変動するようであり、その変動は、ある特定の一成分の変動によるのではなく、いくつかの成分の変動によるものと考えられる。

35. 腎移植患者における補体の推移

慶大内科、泌尿器科*

浅野 誠一, 丸茂 菊男, 井垣 嘉之
大久保充人, 田村 寿夫, 倉田 要
長谷川 昭

腎移植時の補体の変動に関しては、いまだ定説がない。一方、移植後のrejectionの判定は従来専ら臨床的に行われてきた。ここに新しい免疫学的方法として補体をrejectionの判定に利用できれば有用と思われる。以上の理由でわれわれは最近慶大病院で経験した腎移植の一例について、臨床経過に伴う補体価と免疫グロブリンの推移を検討したので報告する。

方法はMayerの方法でC'H₅₀を、Hylandのimmunoplateを使用してβ₁C/β₁A-, γG-, γM-, γA-globulinの測定を行つた。

症例は28才男子で全経過約3年に渡る糸球体腎炎に基づく慢性腎不全例である。昭和43年1月9日慶大泌尿科の入院時、BD 164/118mmHg、心左方拡大、肺野にラ音を聴取、足背部に浮腫を認めた。入院時検査成績として、高度の貧血、リンパ球減少症、高窒素血症、酸血症を認め、検尿にては、尿蛋白ズルフォ(卅)、沈渣に赤血球多数を認めた。クレアチニン・クリアランス3 ml/min。

入院後移植に備えて、計13回の血液透析を施行し、移植前日よりプレドニン、イムランによる免疫抑制療法を開始し、2月27日両側腎摘除に続いて、実弟（24才、男子）より腎移植を受けた。移植後約2週間ほとんど無尿状態を続けたが、以後漸時利尿を認めている。3月、5月、7月と計3回 rejection の徴候を認めたがその都度免疫抑制剤を増量して防止に成功している。6月に一旦退院したが、約2週間後肝炎発症のため再入院している。

$C'H_{50}$ は、移植前および直後に高値を呈したが以後正常範囲まで低下している。その後第1回および第2回目の rejection に続いて、 $C'H_{50}$ 値が一時的に正常下限まで低下している。第3回目の rejection は肝炎発症の時期と一致しているがその際 $C'H_{50}$ は再び上昇傾向を認めた。

同時に測定した β_1C/β_1A globulin 値の推移は $C'H_{50}$ 値のそれとほぼ平行するものであつた。

Immuoglobulin の動きとしては、 $2\gamma G$ は移植前および移植直後に高値を示し、以後一旦正常範囲に入っているが、第1回目の rejection に続いて一時低下、その後再び正常となつたが、肝炎発症時には再び低下傾向を示した。 γM は移植前および直後低値を認め、以後は正常範囲に復している。肝炎の際には上昇を認めた。 γA は移植前後、rejection 時を通じて正常値を続けたが、肝炎時には上昇傾向を認めた。

36. 蛍光標識抗 β_1C -グロブリン法による細胞結合抗体の免疫学的解析法の検討

東大産婦人科

竹内 正七, 金子 実, 泉 陸一
近江 和夫, 川名 尚, 南条 継雄

実験癌に関する限り、癌に特異的な免疫現象が存在していることは今日疑いえないところまできている。しかし、癌の抗体は癌細胞に結合してしまい、容易に血中に流出しないことが示唆されてきているが、その確実な解析法のないところに大きな問題がある。

したがつて、細胞結合抗体の解改を行いうるような方法論の開発は癌免疫の研究において重要な意義をもっている。この細胞結合抗体の証明には従来、蛍光標識抗 β_1C -グロブリン法が広く応用されており、最近では西岡らの結合 C'_1 法や、昨年われわれの報告した蛍光標識 C'_1 法などの方法が工夫されてきている。

ところが、Müller-Eberhard らにより β_1C -グロブリンは C'_2 と同心ものとされていたが、 β_1C は C'_3 とし

て補体活性がきわめて乏しいことが、鳥巢らにより指適されるようになり、従来もつとも広く用いられていた蛍光標識抗 β_1C -グロブリン法による細胞結合抗体の解析は方法論的に重大に疑問が投げかけられるようになった。

そこでわれわれは β_1C -グロブリンの補体活性を免疫溶血電気泳動法、(immunolyso-electro phoresis) により支持体に寒天、およびポリアリアルアミドを用いて検作ヒツジ血球に補体の C'_1 , C'_4 , C'_2 細胞が反応した、いわゆる EA 142細胞に C'_3 を除いた残りの補体全成分を作用させ、あらかじめ電気泳動した面にこの反応液を重ねさせることによつて得た溶血帯により、 β_1C -グロブリンの補体活性を検討した。

その結果、免疫電気泳動法で示さる沈降線の一部にのみ補体第3成分としての活性が示され、他の部分には補体活性のないことが判明した。

したがつて、本法においては C'_3 としての活性を有さない部分がそれを持つ部分にならかの障害を与える可能性が懸念されうることを認めた。

そこでさらに C3H/He マウスに自然発生した乳癌を腹水型にして継代した MM₂ 癌株を抗原として、これを成熟ウサギに免疫して抗体を得て、抗原抗体複合物を複製し、この複合物に対し、モルモット補体を反応させた抗原抗体複合物に標識抗ヒト β_1C -グロブリンを作用させる実験系を用い、本法の方法論的価値を基礎的に検討した。

その結果、理論的に陽性にすべき系は陽性、陰性にすべき系は陰性の成績をえた。また再現性もすぐれていることを認めた。

したがつて、われわれの検討した限り、本法の細胞結合抗体の解析法としての価値は失われていないものと考えられる。

しかし、 C'_3 が純化した物質として取り出されている現在としては、本法は蛍光標識抗 C'_3 -グロブリン法の開発に進展してゆくべきであろう。

1. 総合討論記録

国立がんセンター研究所 西岡久寿弥

昨日提起されました問題について、総合討論の司会をさせていただきます。補体成分の問題からはじめます。 C'_4 の問題、 C'_3 と β_1C との関係、transferrin と C'_3 cinactivator との関係等が問題点になるかと思いますが、まず transferrin と C'_3 cinactivator との関係からはじめます。

1. Transferrin と C'3 inactivator の関係

小野：1) Transferrin に Fe* が入った時の C'3 inactivator の活性と transferrin として精製した時の C'3 inactivator の活性はどうか。

鳥巢：1) 1個の transferrin 分子には2個の Fe* が入るといわれています。不飽和の transferrin と飽和の transferrin における C'3 inactivator の活性は九大の酒井先生がやつておられます。

2) Transferrin として精製したものにも inactivator の活性はあるように思う。またその活性は凍結乾燥では失活致しません。

3) 血清に Fe* を飽和させた後、カラムをかけますと、5～6割の transferrin は C'3 inactivator の活性が非常に少ないか、もたないように思います。今のところ、transferrin を、anti transferrin と反応する質物として測定している。C'3 inactivator も transferrin の抗原性しか出てきませんが、transferrin の分子の上についた非常に小さなもので抗原性をもたないのかもしれない。

酒井：1) 小鶴博士が putnum のところでとられましたものは 0.4%リボソーム上清をセロルーズで精製した免疫学的にも非度に純粋なものである。Fe* を飽和させた transferrin の C'3 inactivator の活性は不飽和の transferrin のそれよりも10倍高い。

2) 日赤の坂田博士よりいただいた Atransferrinemia の血清には全く C'3 inactivator の活性がない、また、今まで調べた他の患者に C'3 inactivator の活性を欠如したものがみつかつていない。

白石：酒井先生の Atransferrinemia の sample はいつとられたものか、またどのような条件に保存されたものか、われわれがモルモット C'3 inactivator を精製し、4°Cに保存すると半年位で時々、活性の失活をみるように思うが。

鳥巢：1) 血清のままに保存しただけならば、-20°Cでも半年、1年では C'3 inactivator の活性は失活いたしません。

精製した Sample は活性がおちることがたまたまあるように思う。

2) 小鶴博士が Putnum のところよりもつてこられたという transferrin は結晶ですか。

酒井：そうです。3～4年保存されたものであるが C'3 inactivator の活性を充分もっています。

鳥巢：Atransferrinemia の血清は採血された時は免

疫電気泳動にて全く transferrin の沈降線を見出してないそうですが患者は現在貧血も改善されプラズマネートを輸液していますので代謝の面で変化が出てると思います。

今度採血しても昔の条件と違っていると思います。C'3 inactivator の欠如した血清は失活ではなくやはり transferrin も C'3 inactivator の持たないものだと思う。

小野：Transferrin に鉄を入れると 280m μ の吸収にかかってくるか。

酒井：全然かかってくるきません。

西岡：Transferrin のもつ生物学的意義はどうか。

酒井：結核病巣を鉄染色すると青く染まり、また transferrin もあつまつてきている。このことは免疫部位あるいはアレルギー反応に鉄および transferrin の累積を意味するが C'3 inactivator と密接に関係していることは非常に意味深い。また、transferrin は昨日榊屋教授も指してきた通り、(1) 鉄の transpost (2) 消化管よりの鉄の吸収を助ける。(3) 不飽和の transferrin がそのキレート作用により細菌の増殖を阻害する等が知られている。

2. 新しい技術上の問題

西岡：昨日提出された感光度による溶血測定から補体測定の自動化の問題あるいは最新のテクニックである electrofocussing の応用について。

鳥巢：Electrofocussing に全血清を素材にしてやられているが、精製法としては、分画の進んだものをさらに純化するように利用した方がよいのではないか。

向島：全血清を素材にしたのは、native の補体成分の等電点の pH 域を決定するためである。その成績から C'3, C'5, C'7, C'9 などの精製には非常に有用で分画の進んだ素材についても適用できる。

小野：最終的に精製する方法として分画の進んだ素材を用いるのはよいか、isozyme などの経験からしても、はじめの分画で minor component をみのがしてしまう危険もある。粗杯料でかけるとき、分画の進んだものの精製とをわける2つの使い方をすればきわめて有効と思う。

西岡：向島が native な状態の補体成分の等電点を決定したのは、補体成分の物理化学的性状の知見に著しく貢献している。真弓が C'7 について、在来の方法で決定した値ともよく一致している。精製方法上の問題は、鳥巢、小野らの指摘されたように、精製技術として有用

であり、今、進屋中の Disc electrophoresis も組合せて進めていきたい。

減光度溶血測定とその自動化のシステムで溶血の最終段階の kinetics には、非常によいと思いますが、intermediate cell 形成の kinetics を解析できるか。

吉田：各 step の cell を作つて時間的に次の component を入れる channel の決定は可能である。

向島：Micromethod はできないか。

小野：現在 One tube で容量 3 ml でそのまま反応をみているが、補体の Volume 20 μ l、精度 1% のサンプリングは可能である。

藤井：赤血球の size は比較的均一でやりやすいと思うが、赤血球の size の差や IA おこつている aggregation の測定にも利用できるであろうか。自動化した機械の管理上の問題点は

小野：Multi channel の方式も可能である。

管理上の問題は、自動化した点の merit も考えていただきたい。

3. 抗原抗体結合物による非特異的抗体吸着の問題について

西岡：非特異的な抗体がつくのは量的にはどのくらいか。

松橋：20~30%はつくのではないかと考えている。血球系では50%近い値を示した実験もある。

西岡：いい阻害剤はないか。

松橋：いろんな血清をやつてみたが、ある人の血清を使うと全然起こらない。それ故に、血清の中に inhibitor があるのではないかと考えている。私は昨日抗体によつて起つたり起こらなかつたりするらしいと申しましたが、最近ミネソタの Suardal がやつたのをみますと、抗体を精製して、IgG にしてみると、IgG もつくし、IgM もつくといつている。

小野：ある種の抗体を作つて、非特異的な antigen の吸着する可能性がどの位あるか、抗原抗体反応の結合力を比べて、強さはどうか。抗原に specific な抗体がついて、その後、非特異的な抗体がつくのか、または、特異的なものと、競合してつくのか。

松橋：その点になりますと、よくわかりませんが、もし蛋白性のもので、グロブリンのある種のものはやはり、つき得るのではないか。抗原が白血球のように大きいもの、lipid のようなもの、卵白アルブミン等の場合、非特異的な抗体のつき方はおのおので違つていよう。非特異的な抗体のつき方ですが、特異的な抗体より

一応弱いのではないかと考えられる。binding constant はやつていないので定量的なことは、やつてみたい。どこにつくかという問題ですが、よくわかりません。56°C加熱しても、EDTAで処理したもので、起こるので、補体のつくところと違うのではないか。抗原抗体反応を起こしたら、抗体分子自身の変化は起こるし、また、抗原分子も変化するので、電気2重層が、かわつてくることが、昔からいわれている。粒子の問題として、この electrodensity が変わることが問題ではないか。

園崎：特異的なものと、非特異的なものつく ratio はどんな抗原抗体でも一定か。

松橋：抗原が purify されてくると、non-specific な結合が多くなる可能性があり得ると思う。

藤井：Cytophilic antibody や cell bound antibody との関連の可能性は。

松橋：Auto antibody など考えられている Absent cell などでは、その可能性も考えられると思う。

園崎：稲井先生の報告された、normal のヒトの γ -globulin が2%ぐらいつくということと関係ありましようか。

松橋：量的には、私どものは20%位です。

西岡：松橋さんのは base には specific な antigen-antibody reaction がある点で稲井さんのは異なつていると思う。

4. 臨床上の問題点

西岡：臨床上の問題に移りたいと思います。本年は特に基礎と臨床が密接にむすびついた observation に進んで来ていると思いますので、このシンポジウムの出発したときの意図に非常に接近して来ていると思います。白石さんのクロロキンをういられた理由は、C'4 の inhibition をねらつたのですか。

白石：治療前でも C'4 が低かつたので、remission があつたのは、クロロキンの anti C'4 作用ではないと思います。また C'4 がとくにおちているのですが、HANE の素因は認められません。

西岡：C'4 がおちていることは、病因であるのか、病像の1つであるのか、クロロキンの効果とあわせて興味深い問題と思います。

谷本：補体系を抑えることと抗炎症剤は平行しているか。

松浦：平行しているとは認められない。補体系をおさえることで、抗炎症作用をあらわすものがあることは考えなければならないと思う。

谷本：炎症の発生機序に違つたみちすじがあるか。delayed type の炎症発生については、私どもは、補体の関与がないと思つているので以上おたずねしたい。

園崎：抗原抗体反応にもとづかないで、補体 体液酵素系でおこる炎症性病変機底の存在を明らかにすることが現時点では大切ではないかと思う。

谷本：補体の変動は、抗原抗体反応から、現定されている面と、リウマチ因子、aggregated γ -globulin の影響もあるから、それらをあわせて検討することが必要と思う。

西岡：抗原抗体反応による補体系の活性にもとづく病変の解析だけでなく、原因は何であれ、補体それ自身の物質としてのそのものズバリの molecular change として解析しようとするのは、非常に大切なことと思います。谷本君のあげている delayed type のツベルクリン反応を抗原抗体反応と考えるのか、抗体の免疫化学的実体はどう考えているか。

谷本：現時点では、passive transfer で示される実験で細胞移入に特異性があることから、抗体の存在を推定している。抗体の実体は unknown です。

藤井：われわれは、homograft rejection の場合でも 19S 抗体を主とする immunoglobulin の関与を否定できない結果をえている。谷本さんの実験では decomplexation は不十分と思う。その場にあつまっている cell に associate した抗体の反応に必要な補体量は十分あるのではないか。

谷本：私どもは、補体が直接関与しているという積極的な証拠はえられなかつたというのが現状です。モルモットで完全に補体を 0 にすることは難しい。量的な相関を求めるより他に方法はないと思う。

藤井：私はいわば生体病変や免疫現象にどれだけ補体が関係しているかということを知りたいという立場である。マウス補体の例でも、assay 系により補体作用のみとめられないときでも、component は十分に存在していることを経験している。

岡田：delayed type の反応で細胞が局所にあつまってくるメカニズムはどう考えているか。chemotactic factor generation などの実験から、補体の関与は考えられ

ないか。

谷本：そのような時期での反応に、補体の関与は否定していない。

5. 移植の問題

鳥巢：移植の問題で今、免疫抑制剤としてイムランとかまた anti lymphatic serum などつかわれているが今後移植はどのような方向にいくものか

小島：よくわかりませんが、rejection が起こり graft がおちるぬわけて代謝拮抗剤を使つているので副作用が強く感染症とか出血性傾向で患者の命が失われる。生体にてできるだけ副作用を少なくして移植免疫だけをおさえてゆけたらよく、補体の研究もそのために役立つのではないか。

丸茂：移植に関して免疫学的に考えますに、not-self の認識を specific におさえられればよい。もらう腎臓に対してその抗原性を無視できるようになればよいのではないか。

藤井：移植の場合一番問題になるのは、免疫抑制をやらなくても、ついてくれる相手があればよい、今までの成功例は組織適合性がわりと合つているようなもので、駄目なものは何をやつても、駄目のような印象をうける。組織適合性を見つけ出すよいテクニックがあればよい。

丸茂：東大の人に伺いますが、被膜剥離をやられその際に、biopsy をとられたようですが病理学的所見はどうか。tubular の血管の内皮細胞のまわりに淋巴球の浸潤がありそれが血流障害の大きな原因だと云われているが

小島：Tubular の小血管のまわりに円形細胞浸潤といった特別な変化は見えなかつた。

Immuran なども与うているので、その影響もあるから何ともいえない。

西岡：癌は体の中で not-self であり、その抗体が、つかまつてきていますが、rejection をおこさないで、癌として発育してゆく。この機序を、はつきりさせることは、移植がいつまでもつくという、基本的問題を解決する 1 つの方法ではないかと思う。