

アレルギー 20(9), 1971

第7回 補体シンポジウム

(委員長：国立がんセンターウイルス部 西岡久寿弥)

日 時：昭和45年6月12日～14日

会 場：金沢県立社会教育センター

日本アレルギー学会

第 7 回 補体シンポジウムプログラム

石川県社会教育センター
(金沢市本多町 3 丁目 2 番 15 号)

補体シンポジウム運営委員会

第 1 日 6 月 12 日 (金)

会場 金沢県立社会教育センター

1.00 P. M.

座長 小林敏夫 博士

1. アトピー皮膚炎家系にみられる低補体価血清について。
都立大久保病院 ○河島敏夫・横山文男・眞弓 忠・津田文男
国立がんセンター 嶋田孝吉・関根暉彬
2. 乳幼児期アトピー性皮膚炎にみられる免疫学的変化。
国立小児病院小児科 ○山本一哉・福井岩生・山田純子
3. 2～3のアレルギー性皮膚疾患患者における血清補体価について。
都立大久保病院皮膚科 ○横山文男・河島敏夫・津田文男
国立がんセンター 嶋田孝吉・宮沢政栄
4. 2～3の皮膚疾患における血清補体価とキニン様物質
徳島大学医学部皮膚科 ○白石聡・重見文雄・武田克之

2.15～2.30 P. M. 休憩

2.30 P. M.

座長 嶋田孝吉 博士

5. 汎補体成分の欠損をきたした慢性肝炎の一症例
岡山大学医学部第一内科 ○佐藤公身
横浜市立大学皮膚科 馬場 徹
6. 慢性肝疾患にみられる補体価変動の要因
—特に β 1Cおよび β 1E glolulinのImmunoassayと抗補体作用因子について—
岡山大学医学部第一内科 ○辻 孝夫・野崎 肇・佐藤公身・水野保夫・小坂淳夫
7. 慢性肝疾患における補体成分の研究
岡山大学医学部第一内科 ○佐藤公身・野崎 肇・辻 孝夫・小坂淳夫

3.30～3.45 P. M. 休憩

3.45 P. M.

座長 酒井好古 博士

8. 肺疾患における血清補体価の変動
—とくに肺癌について—
東京医大外科 ○河村一太・辻啓太郎・早田義博
都立大久保病院皮膚科 河島敏夫・嶋田孝吉
国立がんセンター 関根暉彬
9. 胃疾患と補体について
東京大学医学部物療内科 ○関野壮・谷本潔昭

10. 各種腎炎における血清補体価

慶応大学医学部内科 ○倉田 要・大久保充人・田村寿夫・井垣嘉之・丸茂菊男・浅野誠一
慶応大学医学部耳鼻科 河合清隆
都立大久保病院 宮沢政栄

6.00~8.00 P.M. 懇 親 会

第 2 日 6 月 13 日 (土)

会場 金沢県立社会教育センター

9.15 A.M.

座 長 井 上 公 臈 博 士

11. モルモット補体第一成分の多様性

国立がんセンターウイルス部 奥 田 智 子

12. C1及びC1Sを非特異的に結合した羊赤血球の溶血に関する研究

大阪成人病センター 上野美智子・○永木和義・稲井真弥

13. C4不活性化因子の分離精製

国立がんセンター 鳥 巢 要 道
三井記念病院 園 崎 秀 吉
横浜市大皮膚科 ○馬 場 徹

14. 第 4 成分阻害因子と C1S の関係について

国立がんセンター ○鳥 巢 要 道
大阪成人病センター 永木和義・稲井真弥
三井記念病院 園 崎 秀 吉
横浜市大皮膚科 馬 場 徹

10.30~10.45 A.M. 休 憩

10.45 A.M.

座 長 鳥 巢 要 道 博 士

15. モルモット補体第三成分の精製法の検討

—特に C5 inhibitor の除去—

金沢大学癌研究所分子免疫部 ○高 橋 セ イ
国立がんセンターウイルス部 岡 田 英 親 西 岡 久 寿 弥

16. モルモット補体第三成分の分子構造

愛知がんセンター超微形態部 ○鈴 木 郁 男
国立がんセンターウイルス部 岡 田 英 親 西 岡 久 寿 弥
金沢大学癌研究所分子免疫部 高 橋 セ イ 高 橋 守 信

17. C3 活性(モルモット)に及ぼす Dithiothreitol の作用

国立がんセンター研究所 ○西 岡 久 寿 弥 岡 田 英 親 山 主 公 子

12.00~1.15 P.M. 昼 食

1.15~1.45 P.M.

総 会 議 事

2.00 P. M.

座長 西岡久寿弥 博士

18. 補体第三成分の産生 —蛍光抗体法による観察—
東京大学医科学研究所病理 ○林 皓三郎
金沢大学癌研究所分子免疫部 高橋守信
19. 慢性肝炎における β 1Cおよび β 1Eグロブリンの肝組織の局在について
岡山大学医学部第一内科 ○水野保夫 平田弘昭 佐藤公身
辻考夫 小坂淳夫
20. ヒト由来株化細胞の培養濾液中のC4活性について
大阪成人病センター ○稲井眞弥 青木行俊 後藤田暁子

3.00~3.15 P. M. 休憩

座長 山本昇壮博士 白石聡博士

21. 有茎皮弁の生物学的反応性について —P. C. A 反応の抵下—
虎ノ門病院整形外科形成外科部門 ○西岡久寿樹 南条文昭
22. 定量 Passive Cutaneous Anaphyraxis
国立がんセンター ○岡田英親
虎ノ門病院整形外科形成外科部門 西岡久寿樹

4.00~4.15 P. M. 休憩

4.15~5.15 P. M.

座長 橋武彦博士

23. 免疫溶菌による大腸菌菌体成分の変化について
大阪大学医学部細菌学教室 ○井上公藏 高見沢昭久
24. 補体成分結合感作赤血球の電気易動度
愛知県がんセンター ○小島清秀 吉田孝人
国立がんセンター 岡田英親 西岡久寿弥
25. HTV含有細胞系とEA(19S)C43、EA(7S)との結合
国立がんセンター ○西岡久寿弥 橋武彦 平山雄
井上雅晴 関根輝彬
愛知県がんセンター 吉田孝人
北里研究所 高田満
東大医科研究所 川村明義
国立台湾大学 王秋華
国際対がん研究所 G. B. de Thé
(W.H.O.)

夕 食

7.00~8.00 P. M.

座長 永木和義博士

26. リウマチ因子の補体系におよぼす影響

東大整形外科 ○松浦美喜雄 園崎秀吉
横浜市大皮膚科 馬場徹
九大第一外科 鳥巢要道

27. リウマチにおける補体系の研究—関節液内RA因子とC1qについて

三井記念病院整形外科 園崎秀吉
国立がんセンター 鳥巢要道
九大第一外科 山本利幸

28. 変性IgGのリウマトイド因子に対する抗原性ならびに補体との関係について

東大物療内科 ○谷本潔昭 広瀬俊一

8.15~9.00P.M.

座長 園崎秀吉 博士

29. SLEの補体

岡山大学医学部第三内科

○森田実 西下駿三 天野哲基 大藤真

30. 自己免疫性溶血性貧血における補体—補体阻害系

九大第3内科 ○酒井好古 尾木幸八 小鶴三男 榊屋富一
九大心療内科 手嶋秀毅

第3日 6月14日(日)

9.30A.M.

シンポジウム「抗体の構造と補体結合性」

座長 右田俊介博士 稲井真弥博士

1. 免疫グロブリンの分類と発生

金沢大学癌研究所 右田俊介

2. 免疫グロブリンを非特異的に結合した赤血球の溶血について

大阪成人病センター 稲井真弥 平松誠一

3. ヒトIgG免疫グロブリンFc FragmentのCarboxyterminal Halfについて

慶応大学医学部内科 入交昭一郎

4. 抗体のカナメ構造と補体結合性

大阪大学微研免疫化学 内海爽

5. 変性IgG抗原性と補体結合性

東大医学部物療内科 広瀬俊一 谷本潔昭

6. IgG抗体の構造と活性

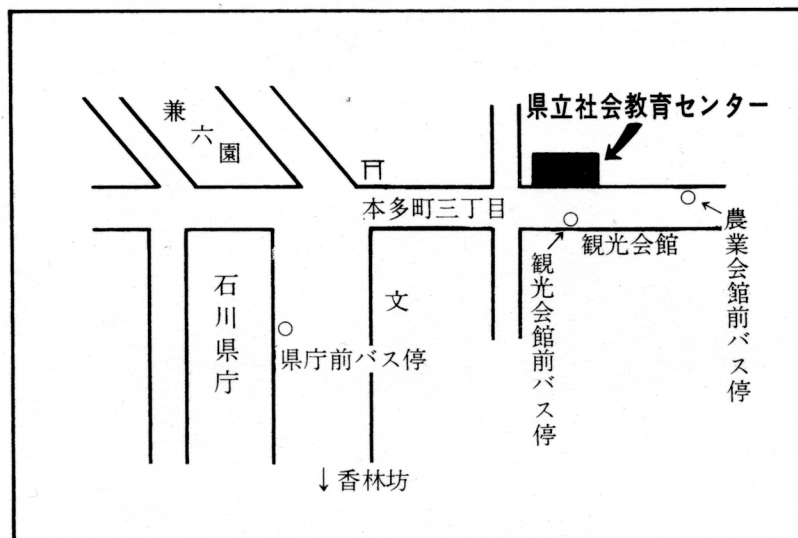
九大歯学部生化学 岸本忠三 尾上薫

討 論

石川県社会教育センター 三階

金沢市本多町3丁目2番15号 電話 (31) 3291

駅よりの所用時間
{ バス 20分
{ タクシー 10分



第7回 補体シンポジウム

(委員長：国立がんセンターウイルス部 西岡久寿弥)

日 時：昭和45年6月12日～14日

会 場：金沢県立社会教育センター

(特掲受付：7月16日, 1971)

1. アトピー性皮膚炎家系にみられる低補体価血清について

都立大久保病院

河島敏夫, 横山文男, 津田文男

東大病院輸血部 真弓 忠

東京国立がんセンター 嶋田孝吉, 関根暉彬

アトピー性皮膚炎患児の母親で血中補体価が大きく変動する症例について, 1年間8回にわたって, 補体価, C1, C4, C2, C3, について測定した. 健康時補体価が0~32CH50まで変動を示し, 成分のうちC3活性, β_2C/A は正常値を維持していた. それに対応してC4活性が大きく変動したが, このことからアトピー性皮膚炎患児, その家族71例について補体価を測定し, 患児では補体価は一般に高い. 患児の健康な両親については, アトピー病歴のある12例で, 低値5例, 正常値(30~45CH50)4, 高値5であり, アトピー病歴のないもの14例では, 低値1, 正常値11例, 高値2であった. 見いだした20CH50以下の健康者症例について, 成分を検討し, 第4成分と補体価とが強い相関を持っていることがわかった.

石川

患児の補体価の高低と両親のとは相関するか.

河島

相関すると思う.

2. 乳幼児期アトピー性皮膚炎にみられる免疫学的変化

国立小児病院

山本一哉, 福井岩生, 山田純子

アトピー系因濃厚な家系に属する患児について, その免疫グロブリン, 補体の測定をおこなった. 免疫グロブリン濃度については, IgG は一般に増加, IgM は正常範囲, IgA は増加の傾向があった.

補体については, β_{1A}/c 値は一般に高値であったが,

CH50は正常値, または低値で, その低値のものでは, C4値よりもC3値が低値を示していた. C3 inactivatorが正常値であつた点から, これらの症例においてはinactive formのC3の増加があると考えられる.

嶋田

C3活性の低い検体の場合, 免疫電気泳動で β_{1A} の増加を確認したか.

山本

やつていない.

嶋田

ベーチェット患者でも, 補体価が下がる時期があり, 第3成分活性は低下しているのと, β_{1c}/A は下つていない例があり, これを免疫電気泳動してみると β_{1A} が増加していることがわかった.

小林

β_2C 蛋白量とC3活性との平行性は?

嶋田

β_2C 蛋白量は, β_2C, β_{1A} の合計をいつているので第3成分活性とはparallelにならないことが多い.

3. 2, 3のアレルギー性皮膚疾患患者における血清補体価について

都立大久保病院

横山文男, 河島敏夫, 津田文男

嶋田孝吉, 宮沢政栄

各種アレルギー性疾患患者につき, その血清補体価(CH50)と同時にIA50および補体成分値(C1, C4, C3)についてしばしば報告してきた. その結果より, アレルギー性疾患においては, 一般に血清補体価は, 炎症発現直前あるいは, 炎症初期に低く, 炎症の増悪していくにつれ上昇し, 炎症極期には, 正常よりかえつて高値を示し, 炎症の軽快とともに正常に戻るというpatternを示すことが推定された. 結節性紅斑においても上述のようなpatternが観察され, 一般に血清補体価

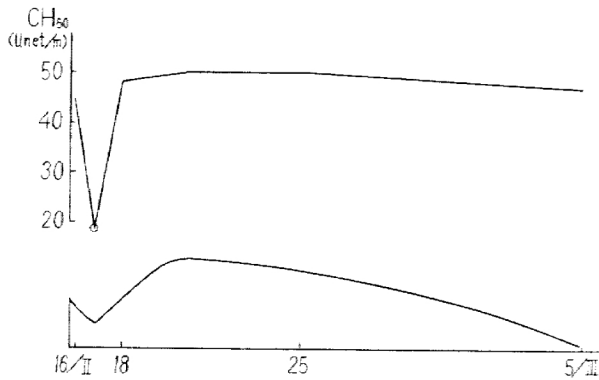


図1. 結節性紅斑症例 30才 ♀.

は、高値を示すが、軽快につれて漸次正常値に復帰する。発作を繰り返した症例で、たまたま発作直前に測定し得た症例では、図のごとく、CH50の著明な低下を認め得た。誘発試験の可能な多形紅斑、固定薬疹（アミノピリン疹）の症例を得、誘発試験による炎症の経過と補体およびプラスミン系の動態を調べ、上述の推論の正しいことを証明した。

4. 2, 3 の皮膚疾患における血清補体価とキニン様物質

徳島大学医学部皮膚科

白石 聡, 重貝文雄, 武田克文

全身性皮膚疾患のCH50は、多くの場合、正常人に比して高く、じんま疹のように、症状が経時的变化を示す疾患では、その日差変動も大きい。SLEでは、発作期、帯状疱疹合併前に急激な低下をみるが、発作後2~3日で一時上昇し、その後再び下降する傾向がみられた。その際のキニン様物質とCH50, 補体成分の関係は

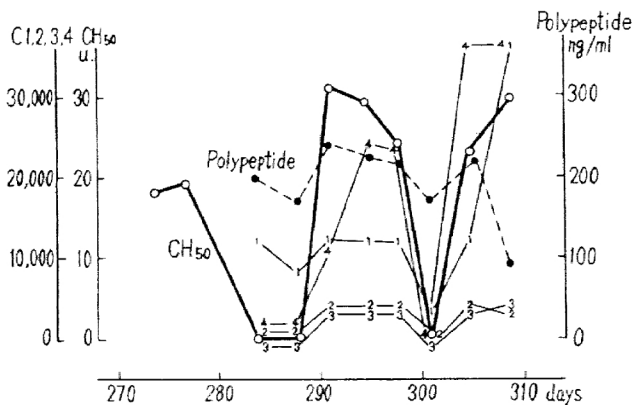


図1. Relationship between complement and polypeptide.

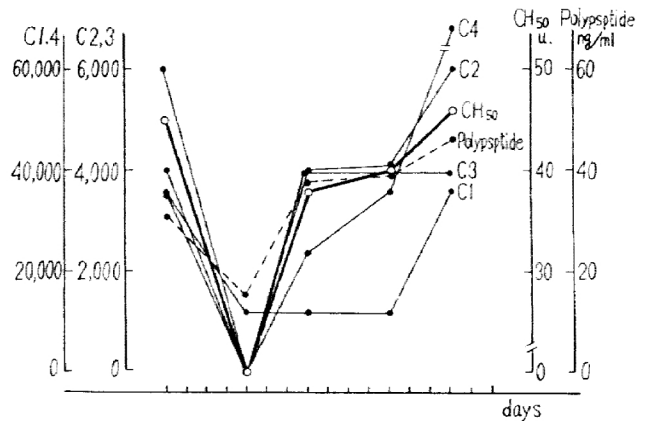


図2. Relationship between complement and polypeptide.

図1に示した。慢性湿疹の場合も、両者はよく平行して変動した(図2)。CH50が経過とともに変化しなかつた自家感作性皮膚炎症例では、キニン様物質の変動も見られなかつた。CH50とキニン様物質とはよく平行して変動したが、後者の測定に際して、血清を前処置していないゆえ他の物質による子宮筋収縮も考慮せねばならない。

横張

血中補体価を測る場合、たとえば、45 CH50からほとんど0 CH50までになるには、体内でどれくらいの抗原抗体反応があつたと考えるのか。

谷本

モルモットで 200 CH50位の血中補体価を測定不能位に下げるのに aggregated IgG 1g前後必要だつた。

広瀬

臨床的に補体価低下は抗原抗体反応以外の因子が作用しているように思う。アトピー性皮膚炎等では、非補体結合性抗体である γ E が関与しているとされている。

西岡

IgE に補体結合能がなくまた IgE にレアギン活性があるが生体内のアレルギー病変誘導には、IgE だけでなく、補体結合性の IgG, IgM 抗体も重要な因子であり、それによる補体系の変動は無視できないと考える。そのような場合、補体成分の変動が時間単位の測定によりその臨床所見と関係づけることが必要だろう。

嶋田

その時間単位の補体測定により、誘発テストにおける補体価低下の後の上昇が、1~2時間の単位でおこっていることから、それは補体が stock から放出される mechanism が働いていることが予想される。

5. 汎補体成分の欠損をきたした慢性肝炎の症例

岡山大学医学部第一内科 佐藤公身
横浜市立大学医学部皮膚科 馬場 徹

慢性肝疾患においては血清補体価が低下する症例がしばしばみられる。広範囲な補体成分の低下とC1 inactivatorの欠損とC4 inactivating factorの出現を一過性に認めた慢性肝炎の一症例を報告する。

症例：33才，男子，会社員

昭和40年3月以来輸血後肝炎として治療しているもので，入院時所見はとくになく，入院時検査成績では，S-GPT：255 K.U.，S-GOT：123 K.U.，S-Bil.：1.20 mg/dl，Al-Pase：2.4 B.U.， γ -globulin：2.4 g/dl，g/dl，RAテスト：(+)，膠質反応ではZnTT：8u.，T.T.T：4u.であり，肝生検による肝組織像はグリソン氏鞘に主として円形細胞浸潤を認め，ところにより境界板の破壊をともなつた典型的な慢性肝炎像を示していた。

1) 血清トランスアミナーゼ値が正常化してくるにしたがつて血清補体価も正常化してきたが，さかのぼつて両者を比較すると，必ずしも負の相関を示さない。2) CH50が極度に低下した昭和44年10月の血清では，C4，C2，C3，C5，C8，C9とC1 inactivatorの欠損，C1の増加およびC4 inactivating factorの出現を認めたが，C7のみは正常であつた。3) CH50が

14u.に上昇してきた時点ではC4，C2，C3とC4 inactivating factorの正常化のおくれが著明であつた。

慢性肝炎の一症例で特に顕著な症状をみることなしに一過性に広範囲な補体成分とC1 inactivatorの欠損およびC4 inactivating factorの高度の出現をみ，CH50の上昇とともに各補体成分とC1 inactivator，C4 inactivating factorの正常化もみられはじめたが，C4，C2，C3およびC4 inactivating factorの正常化は著明におくれた。

6. 慢性肝疾患にみられる補体価変動の要因—特に β_1C および β_1C globulinのImmunoassayと抗補体作用因子について

岡山大学医学部第一内科

辻 孝夫，野崎 肇，佐藤公身
水野保夫，小坂淳夫

国立がんセンターウイルス部 鳥巢要道

慢性肝疾患患者で，とくに溶血補体価CH50が著明に低下している11例について，immunoglobulinでは γG ， γA ， γM が3者とも増加の症例はなく， γG か γM 上昇のいずれかの場合が関係していた。 β_1E -globulinとC4活性， β_1C_{1A} -globulinとC3活性の間には測定数値の上からは相関はみられなかつた。

しかしおのおのの症例を経過を追つて検討した場合には，5カ月以上にわたつてCH50が<2であつた慢性

Table 1 Results of β_1C -Globulin, β_1C_{1A} , A-Globulin and Anti-Complemental Factor (AC) in Chronic Liver Diseases with Hypocomplementemia (11 cases)

Case	Diagnosis	CH50	AC	γG	γA	γM	β_1E -glob.	β_1C_{1A} -glob.	Tf	Australia-1 antigen & antibody
Ni, T.	Chronic hepatitis (II B)	14	9	1500	190	140	20	58	230	(-)
Ku, A.	// (II Ae)	14	14	1550	130	130	31	64	330	/
Ya, K.	// (//)	< 2	30	1200	190	105	17	61	260	(-)
I, T.	// (Rec)	5	80	1025	380	440	60	75	230	(-)
Shi, K.	// (II Ab)	< 2	30	1250	450	165	44	90	260	/
Me, T.	// (II B)	2	30	1100	330	165	32	50	280	/
U, T.	// (II Ae)	14	9	980	350	480	38	68	290	(-)
Ha, K.	Liver cirrhosis (B)	< 2	30	1750	90	150	20	44	220	(-)
Shi, M.	Chronic hepatitis (II Ae)	5	30	680	155	120	21	58	260	(-)
Ku, H.	// (II Af)	9	80	1200	230	330	7	42	200	/
Sa, G.	Liver cirrhosis (A')	< 2	80	1400	330	280	11	66	320	(-)

Normal adults.....CH50：40-80u, AC：< 9 u, γG ：1193±157mg/dl, γA ：293±82mg/dl, γM ：94±55mg/dl, β_1E -glob.：15±4 mg/dl, β_1C_{1A} glob.：51±8 mg/dl, Tf：152±24mg/dl, Au-1：(-)

Table 2 Levels of Complement and its Components of Serum from Patient with Chronic Hepatitis (Case: O,H., 44year old man, teacher)

Component (u.) Date	CH50	C 1	C 4	C 2	C 3	C 5	C 6	C 7	C 8	C 9	C 1— I NH	C 4— I NH	β_1 E- glob.	β_1 C ₁ A- glob. (mg/dl)
Control 1	36	8000	36000	400	3600	800	1200	72000	24000	24000	8000	0	15	52
“ 2	42	12000	36000	800	7200	800	3600	72000	12000	36000	8000	0	17	51
Pt 1—14—70	9	12000	<10	50	270	50	400	72000	12000	12000	/	20	/	/
“ 1—20—70	/	12000	400	400	1200	800	400	72000	12000	36000	/	270	/	/
“ 1—21—70	2	2400	20	40	1200	<20	400	72000	12000	36000	24000	20	25	58
“ 1—23—70	40	12000	12000	240	3600	800	400	72000	12000	12000	/	/	22	56
“ 1—25—70	14	12000	<10	50	1200	800	400	72000	12000	36000	24000	20	23	58
“ 1—26—70	30	12000	4000	600	3600	1200	3600	72000	12000	24000	/	/	24	56
“ 1—27—70	40	12000	12000	400	3600	1200	<20	72000	8000	12000	/	/	/	/
“ 1—28—70	30	12000	< 100	240	400	20	400	72000	8000	12000	/	/	/	/
“ 1—30—70	40	8000	12000	400	3600	1200	400	72000	12000	36000	8000	/	/	/
“ 2— 2—70	80	8000	4000	400	3600	800	400	36000	8000	12000	8000	/	/	/
“ 2— 4—70	80	8000	12000	800	3600	800	400	72000	12000	36000	8000	/	/	/
“ 2— 6—70	80	8000	36000	800	3600	800	400	72000	4000	12000	/	/	/	/
“ 2— 9—70	80	8000	12000	800	3600	800	400	72000	12000	12000	/	/	/	/

肝炎 (II Ae 型—グリソン氏鞘の炎症と浸出性病変, 線維性病変の混在を示すもの) の1例 (Ya, K. 例) と肝硬変 A' 型の1例 (Sa, G. 例) では β_1 E-globulin が低下していた。また短期間に著明に CH50 の変化した II A 型 (前記の II Ae 型よりさらに線維性病変が強いもの) の1例 (O, H. 例) では逆にやや β_1 E-globulin と β_1 C₁A-globulin が上昇していた (Table 1, 2 参考)。熱処理 (56°C, 30分間) による AC 出現の著明な症例は25例中5例で, グリソン氏鞘の癥痕型1例, 再発型1例, 肝硬変 A' 型3例であった。そしてこの中で, 4例は γ G か γ M の増加が特徴的で, 別の1例は, transferrin が上昇していた。また溶血補体価や各成分活性値と γ G の Fab, Fe fragment 量, L—鎖の K, L 量との間には関係は認められなかつた。

ルポイド肝炎以外の慢性肝炎のある型の症例に著明な溶血補体価低下例があり, 持続した低下例では β_1 E-globulin の減少をみると, 一過性の場合には逆に β_1 E-globulin, β_1 C₁A-globulin の増加がみられる2つの集団群のあることがわかつた。また慢性肝炎における補体価低下の要因は単一的に説明できるものではなく, AC が出現するところから, この疾患における種々の補体結合反応陽性判定は慎重であることを強調した。

7. 慢性肝疾患における補体成分の研究

岡山大学医学部第一内科

佐藤公身, 野崎 肇, 辻 孝夫
小坂淳夫

研究対象は慢性肝炎 106例, 肝硬変症31例と control として健康成人20例を選び補体系の測定は micra-plate を用いて行なつた。

1) 慢性肝疾患において慢性肝炎, 肝硬変症ともに約 1/3 の症例に溶血補体価の低下がみられた。2) 慢性肝疾患において, 溶血補体価と諸種肝機能検査成績ならびに RA および γ -globulin 値とは一定の相関がない。3) 慢性肝炎における溶血補体価を肝組織分類別に検討すると, 非活動型のものでは溶血補体価が低下するものが少ない。4) 慢性肝炎の溶血補体価低下例では C 4, C 2, C 3, の低下をともなっているものが多いが C 7, C 8, C 9 は正常にたもたれているものが多い。5) 肝硬変症の溶血補体価低下例では C 3, C 4, C 6, の低下をともなっているものが多いが C 7, C 8, C 9 は正常にたもたれているものが多い。6) 慢性肝炎で溶血補体価低下例23例中2例に C 1 inactivator の欠損ないしは低下を認めた。また26例中23例に C 4 inactivating factor の出現をみた。7) 肝硬変症で溶血補体価低下例11例中5例に C 4 inactivating factor の出現をみた

が、C1 inactivator の異常は認められなかつた。

慢性肝炎患において溶血補体価と諸種肝機能検査成績とは一定の相関を示さないわけで、補体価の変動の要因は単一のものではないと考えられる。補体価低下の要因としては補体の消費、産生の低下と補体阻害因子の出現などが考えられる。慢性肝炎患で補体価低下の症例ではC4 inactivating factor が多く出現しており、補体価低下に補体阻害因子が関与する。

慢性肝炎における溶血補体価の低下を最もよく反映しているのはC4であり、肝硬変におけるそれはC3であった。

慢性肝炎患で補体価低下を示す症例でも、C7、C8、C9は正常にたもたれているものが多かつた。

真弓

抗補体作用は、検体を56°C30分処理する時に出現することもある。また肝炎血清中に、オーストラリア抗原-抗体 complex があると、それが抗補体作用を示すという報告があるが。

辻

56°C30分処理の場合に人工的に出現する抗補体作用因子は確かにγG およびγM が関係しているようだ。オーストラリア抗原については、これが慢性肝炎においても in vivo で、抗原-抗体 complex を作り、これの抗補体性を考えた。

横張

Fibrinogen, albumin, choline esterase 値とCH50との間に何か相関がみられたか？

辻

Fibrinogen, albumin, choline esterase 値とCH50は関係ございません。また私の報告しましたACとも関係ありません。

吉田

抗核抗体の出現に際して急性肝炎から慢性肝炎に移行している過程に何らかの関係があるか。

辻

Lupoid hepatitis では抗核抗体が、ほとんど100%出ているが、とりあつた慢性肝炎活動型、非活動型)、および肝硬変の検体では、LE test negative であつた。

入交

補体価を測ることによつて、肝炎の慢性化または予後を推測できるか。

佐藤

慢性肝炎で、その肝組織所見が、いわゆる非活動型であり、臨床的にもおちついたものでは補体価はあまり低

下しないようである。

8. 肝炎患における血清補体価の変動—とくに肺癌について

東京医科大学外科

河村一太, 辻啓太郎, 早田義博

都立大久保病院 河島敏夫

国立がんセンター 嶋田孝吉, 関根暉彬

肺疾患ではCH50, C4値の高い症例が多く、CH50 19例中78.9%で最も多く、非癌性肺疾患20例中55.5%、肺外性悪性疾患12例中16.6%また、C4値では肺癌15例中73.3%、非癌性肺疾患18例中50.0%、肺外性悪性疾患6例中33.3%に高値を認め、特に肺癌ではその傾向が著明であつた。しかしIA50, C1値, C3値では特に有意の差は認められなかつた。肺癌の病期と血清補体価との関係をみるとCH50はI期, II期70.0%, III期80.0%, IV期36.3%, 転移性肺腫瘍16.6%, C4値ではI期, II期85.7%, III期66.6%, IV期40.0%, 転移性肺腫瘍50.0%と病期の進展に伴ない血清補体が上昇し、末期では減少する傾向が認められた、このことは病巣の増大と補体との関連性を示唆している。そこで、肺病変に所属する肺動脈、肺静脈の血清補体の変動を比較検討した結果、CH50は8例中7例、C4値は5例中4例が肺静脈より肺動脈で高い値を示した。さらに、病型別に肺動脈、肺静脈中の減少差、およびその減少率をみるとCH50では小腫瘍型1.5単位、4.4%、無気肺型3.7単位6.6%、胸水型5.0単位10.4%、大腫瘍型13.7単位26.7%、胸壁にまで浸潤した型では12.5単位26.7%。C4値では小腫瘍型2万、17.2%、胸水型4.5万、24.8%、大腫瘍型11万、40%で、病巣の進行増大と平行的に減少率が増加することは、癌の進展と相関があり、血清補体の消費が亢進しているものと推定された。また一方、肺病巣部と非病巣部との肺静脈血清補体の変動の比較では、病巣部の血清補体が非病巣部より低値を示した。この事実からも肺病巣部あるいはその隣接組織内において補体が消費され免疫的反応に関与しているものと憶測できる。以上の結果より病巣部での補体の消費の亢進に基づき、産生機構への刺激が高まり、その結果末梢血清補体の上昇を示すものと考え、そこで心臓カテーテル法により腸骨静脈、肝静脈、肺静脈、胸部大動脈の血清補体分布を検索するとCH50, C4値とも肝静脈において高値を示し、肺動脈においても同程度高値を示した。今後さらに補体産生臓器の検索の必要性はじゅうぶんある

が、消費の刺激に対する応答臓器の一環として肝臓が重要な役割を有しているものと考えられる。

9. 胃疾患と補体について

東京大学医学部物療内科

関野 壯, 谷本潔昭

萎縮性胃炎および、表層性胃炎、胃潰瘍、胃癌等において、抗胃抗体（補体結合性）と血清補体価、胃組織のCi結合能力、胃組織内 β_2C 存在部位につき検討した。

1) 胃疾患々者血清中の補体結合性抗胃抗体は健常例では14例中1例のみ陽性であったが、胃萎縮性胃炎56例中22例(39.5%)、新鮮潰瘍30例中7例(23.3%)、慢性潰瘍27例中10例(37%)、胃癌16例中6例(37.5%)の陽性を認めた。

2) 補体価は健常例15例は29.5単位から54.7単位で、平均値は38.7単位、表層性胃炎8例の平均値は33.3単位、萎縮性胃炎57例の平均は32.4単位と最も低く、胃潰瘍では新鮮潰瘍30例は40.9単位で最も高いのに反し、慢性潰瘍は33.1単位と低く、胃癌は10単位以下であった1例を除いた16例の平均は40.1単位であった。萎縮性胃炎の補体価は健常に比して有意に低かった。

3) 胃粘膜組織のCi結合能力。Biopsyで得た10~40mgの胃粘膜をhomogenizeし、患者自身の新鮮血清1ccを37°C15分間作用させ、洗滌後C1を西岡等の方法で測定し、1ccあたりの溶血活性を、用いた材料の重量比で算出した。健常3例のCiのCH63による平均値は5.19mg/mlであったのに対し、萎縮性胃炎26例で1.78mg/ml、新鮮潰瘍16例は2.39mg/ml、慢性潰瘍11例は1.56mg/ml、胃癌6例は2.62mg/mlであった。胃炎において、C1結合能力の高いものが多数認められた。

4) 胃粘膜組織における β_2C の存在部位の蛍光抗体法直接法では全例胃組織に特異蛍光は認められなかった。患者自身の新鮮血清を37°C30分作用させたのち洗滌し、胃底腺構成細胞の一部に蛍光を認め、H,E後染色により壁細胞のcytoplasmaであることが確認された。健常例でも11例中3例が陽性であったが、萎縮性胃炎32例中19例(60%)、新鮮潰瘍20例中10例(50%)が陽性であった。慢性潰瘍では17例中5例であった。補体結合性抗体のtiterと血清補体価との間には相関は認め難く、萎縮性胃炎においては胃粘膜組織にCi結合能力と補体結合性抗体のtiterとの間に、抗体価の高い患者の胃組織はCi結合能力も高い傾向がみられた(表5)。ま

た、Ci結合能力と抗 β_2C による蛍光抗体法陽性例との関係をみると、Ci結合能力の高いものの方が β_2C を結合していることが多い。これは萎縮性胃炎のみならず胃潰瘍でもみられ、ことに慢性疾患において、より著明である。

次に血清補体価と β_2C 結合能力との関連をみると、萎縮性胃炎および慢性胃潰瘍では、 β_2C 結合のみられるものにおいて、血清補体価は低い。それに反し、新鮮潰瘍では β_2C 結合能力陽性のものか、補体価も高い傾向を示した。

胃疾患とくに萎縮性胃炎についてみると、血清補体価が低下しており、これは悪性貧血、萎縮性胃炎患者の $1/3 \sim 1/4$ において、血清補体価の低下がみられるというJacobの報告と一致する。また補体結合性抗体を有する率が高く、かつその抗体価が高いものか、胃粘膜組織の補体第1成分結合能力も高い傾向を示した。またanti β_2C による蛍光抗体法で検出された β_2C globulin(C'3を含むといわれている)が陽性を示す例では、補体第1成分(C'1)結合能力も高く、逆に結合能力の高いものは β_2C が陽性に検出される率が高い。このことは胃組織中においても、補体が第1成分より順次、第3成分までが連続的に反応し得る可能性を示している。一方、補体第3成分(C'3)、すなわち β_2C が証明されたものでは、血清補体価は低下の傾向にあった。一般に抗原抗体complexに補体が付着することを考慮に入れるならば、抗体の証明と同時に、血清補体価ならびに上記補体成分の検討によつても、萎縮性胃炎のあるものでは、胃粘膜萎縮障害の進展に自己免疫学的機序なくなく、補体の関与を介しての免疫学的機序がじゅうぶん推定される。新鮮潰瘍と慢性潰瘍とに分けてみると、いくつかの差異がみられ、慢性潰瘍は萎縮性胃炎と類似するという結果を得た。これまで胃潰瘍に伴なつた胃炎は随伴性胃炎として、その発生には潰瘍存在による分泌異常、運動異常なども一因として考えられているが、われわれが得た成績より推測するならば、慢性潰瘍にみられる随伴性胃炎は、新鮮潰瘍により損傷された胃粘膜成分が、何らかの過程を経て抗原として認識され、その結果、胃粘膜組織に対する抗体が産生されたとも考えられる。

平松

β_2C 以外の血清蛋白分画に対する蛍光抗体で検索を行なつたか。

関野

行なつていない。

10. 各種腎炎における血清補体価

慶応大学医学部内科

倉田 要, 太久保充人, 田村寿夫
井村嘉之, 丸茂菊男, 浅野誠一
慶応大学医学部耳鼻科 河合清隆
都立大久保病院 宮沢政栄, 津田文男

各種腎炎において血清の全補体価 (CH50) と同時に, 補体成分のうち, 主としてC1, C4の変動を観察した. 急性腎炎患者4例, 慢性腎炎患者36例, ネフローゼ症候群患者13例, SLE患者23例である.

各種腎炎におけるCH50値は, 急性腎炎, SLEにおいては低値を示すものが多く, 慢性腎炎, ネフローゼ症候群では正常ないしやや高値であつた. 低値を示したものは, 急性腎炎では初期のもので, SLEではほとんどが活動期のものであつた. ネフローゼ症候群において82単位以上のきわめて高い値を示した例が2例あつたが, いずれも, ステロイドによく反応した例で利尿期に測定したものである. いずれも一過性で, まもなく正常に復した.

各種腎炎におけるC1の値は急性腎炎では, 初期の3例に低値がみられたが, 一方, CH50が低値を示しているにもかかわらずC1は11.1万とむしろ高値を示した例もあつた. SLEでは低値を示した例が多かつた. 慢性腎炎, ネフローゼ症候群では, 正常ないしやや高値であつた. 各種腎炎におけるC4の値は, 急性腎炎では, 初期の2例において低値をとり, SLEでは, 低値をとつたものが多かつた. 慢性腎炎, ネフローゼ症候群では, むしろ高値をとるものが多かつた.

急性腎炎とSLEについて, CH50とC1, C4との間の相関を求めてみた. 急性腎炎において, CH50とC1との間には, $\gamma = 0.09$ で相関はみられず, CH50とC4との間には $\gamma = +0.85$ ($P < 0.01$)の相関がみられた.

SLEにおいて, CH50とC1の間には, $\gamma = +0.54$ ($P < 0.05$), CH50とC4の間には $\gamma = +0.89$ ($P < 0.01$)の相関がみられた.

臨床症状と補体価の変動を対比すると, 33才男で, 成人の急性腎炎の症例については本年3月末, 咽頭炎に罹患, 4日間で治癒したが, 4月12日に眼瞼の浮腫に気づき, 検尿の結果, 急性腎炎と診断され, 4月15日, 慶応病院内科に入院した. 入院時, 血圧170/110, 尿蛋白(+), 沈査に赤血球が一視野に20~30コみられた. CH

50は入院時22単位以下の低値を示していた. その後臨床症状は急速に改善し, 5月初めには, 尿蛋白(±), 沈査に赤血球一視野に5~6コとなつた. CH50は4月末には正常となり, 5月8日頃一時低下の傾向を示したが, すぐ上昇した. C1, C4は常に正常値より高値を示した. 5月22日に β_2A/C を測定しているが, 30mg/dlであつた. この症例においては, CH50の低下は, C1, C4以外の成分によるものと思われ, 少なくともC3が関与しているようである.

次の症例は, 17才の女性で, 発熱, 関節痛を主訴として入院し, LE細胞, 抗核抗体, 抗DNA抗体全て陽性で, SLEと診断された症例である. 昨年10月入院時, CH50は10単位以下のきわめて低値をとり, C1は1.3万しかなかつた. 11月もほぼ同様であつた. C1はこの時点で測定していない. 本年3月, ステロイドが効を奏し症状が軽快してきた時点ではCH50は40単位であつたが, C4は2.1万とまだ低値であつた. 4月24日, CH50は48単位で, C4は6万と急激に上昇してきた. この症例は, ステロイドによく反応して寛解をみたものであるが, CH50の回復からやや遅れてみられたC4の急激な上昇が注目される.

次の症例では40才の女性で, SLEの症例で, 昭和41年発病, 以後寛解, 増悪をくり返している症例であるが, CH50が38単位に上昇した寛解期にも, C4は, 5.6万と低値を示し, その後CH50もやや低値をとり, C4もそれにつれて減少の傾向が認められる. 急性腎炎初期, およびSLEの活動期には, CH50の低下がみられるが, 補体成分のレベルでみると, 両者では異なつた変動がみられるようである. SLEの症例では臨床症状の改善に伴つてCH50も正常化していく例が多いが, その際C4はやや遅れて正常化していく傾向があり, SLEにおいて臨床症状と対比した場合, CH50と同時にC4値を測定することは大いに有意義であると思う.

11. モルモット補体第一成分の多様性

国立がんセンターウイルス部 奥田智子

モルモット補体第一成分 (gpc₁) はポリアクリルアミドゲル (PAA) 上の電気泳動によつて3つのバンド (S, M, Fバンド) に分れることが報告されている. これらのバンドの位置や数はC1精製の条件, 保存期間, 化学試薬, 泳動条件によつて変化する. これらのバンド間の相互関係を調べ, また各バンドを単離し, その物理化学的性質, 生物活性, 抗原性等を調べることによ

つて、 gpc_1 の性質，特にその subcomponent の性質を明らかにしようと試みた。

血清を3容の水で稀釈し，pH 7.5で euglobulin fraction を沈殿させることによつて得られた gpc_1 は PAAゲル上で S, Mバンドのみで Fバンドは見られない。しかしこれを 0°C に保存する間に徐々に Fバンドが出現する。pH 8.0で沈殿させて得られた gpc_1 は，最初から S, M, Fの3つのバンドが見られる。メルカプトエタノール，PCMB, LiBr, エチレンクロロヒドリン，EDTA等を作用させても PAAゲル上で大きな変化は見られないが，尿素，SDS，あるいはDOCを作用させると S, Mバンドが消失し，Fバンドが強くなる。Fバンドはさらに3つに分れる。PAAゲル電気泳動における Rf 値はそれぞれ F1 (0.88), F2 (0.74), F3 (0.66), M (0.35), S (~ 0.88) である。 gpc_1 を DOC および EDTA で処理した後，セファデックスクロマトグラフィー，ゾーン電気泳動，密度勾配超遠心によつて F3 を単離した。同様に gpc_1 を低イオン強度 (RSC = 0.04) の veronal buffer に透析した際の上清を DOC, EDTA と処理したものから F2 を単離した。その沈降係数は F2 (3.7S), F3 (4.0S) である。

EDTA の存在下で沈殿させた euglobulin fraction から，溶血活性は示さないが，抗 C1 抗体と反応する沈降係数 11S のタンパク (q') を得た。F3 に q' を作用させると PAAゲル上で新たなバンド (Rf = 0.31) を M 領域に生じる。q' は抗 C1 抗体の C1 溶血阻害作用を阻止するので， gpc_1 の溶血に関する構成因子の1つと考えられる。

1.3% のキャリアーアンホライトを含む PAAゲル上で electrofocusing を行なうと，血清蛋白がきわめてよく分離されることがわかつた。たとえばモルモット血清の場合，BPB で染色後 20本の線が認められた。この方法で gpc_1 を泳動した後，EAC4 セルを重層してゲル上の C1 の溶血活性をみるとかなり広い pH 範囲 (5.4~5.7, 6.4~6.7) に活性がみられた。

井上

- 1) 溶血活性のある F3 は human C1 S に相当するのか。
- 2) 定量はどうか，Dose-Response 等はどうか。

奥田

- 1) F3 は C1 S 的なものとする。
- 2) Dose-Response 等の定量的実験は現段階ではできない。

12. $C\bar{1}$ および $C1s$ を非特異的に結合したヒツジ赤血球の溶血に関する研究

大阪成人病センター

上野美智子，永木和義，稲井真弥

一昨年および昨年の補体シンポジウムで稲井等は， CrCl_3 を通じあるいはタンニン酸処理ヒツジ赤血球 (ETa) に $C\bar{1}$ または $C1s$ を結合させさらに $C4$, $C2$, C -EDTA を加えることにより感作ヒツジ赤血球 (EA) と同様に ETa を溶血せしめ得ることを報告した。この際問題になつたことは，ETa の同じ溶血度を得るのに $C\bar{1}$ は $C1s$ にくらべかなり大量を必要とした点で，その原因として 1) $C\bar{1}$ が $C1s$ にくらべて破壊されやすい。2) ETa に結合した $C\bar{1}$ は $C1s$ に比べて cell から解離しやすい。3) EA に $C\bar{1}$ が結合する時と異なり antibody のない ETa には $C\bar{1}$ が hook されるのに必要な $C1q$ が不必要で $C1$ esterase のみでよい。4) $C\bar{1}$ 中の $C1q$ はむしろ溶血阻止の方向に働く。以上の4点が考えられたので今回はこれらについて検討した。ETa の作製，ETa への $C\bar{1}$ および $C1s$ の結合方法， $C1s$ の精製法およびヒツジ赤血球に対する normal antibody を含まぬ $C\bar{1}$ の精製法はすでに発表したとおりである。 $C1q$ は中性低イオン強度で得た euglobulin を 0.01 MEDTA の存在下でイオン強度の 0.15 の DEAE カラムに apply し，通過部分を同じく EDTA の存在下で 30% 飽和硫酸で落し，さらに sephadex G-200 カラムを pH 5.1 で 2 回通して精製したが微量の IgG,

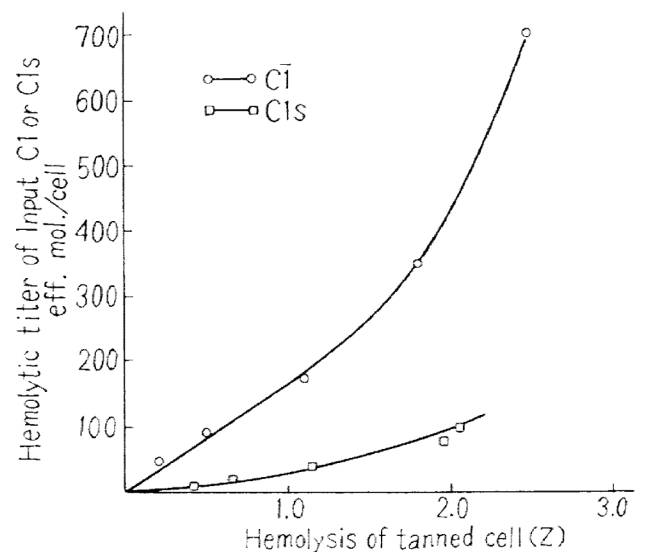


Fig. 1. Hemolysis of $C\bar{1}$ or $C1s$ fixed tanned cell compared with input hemolytic titer.

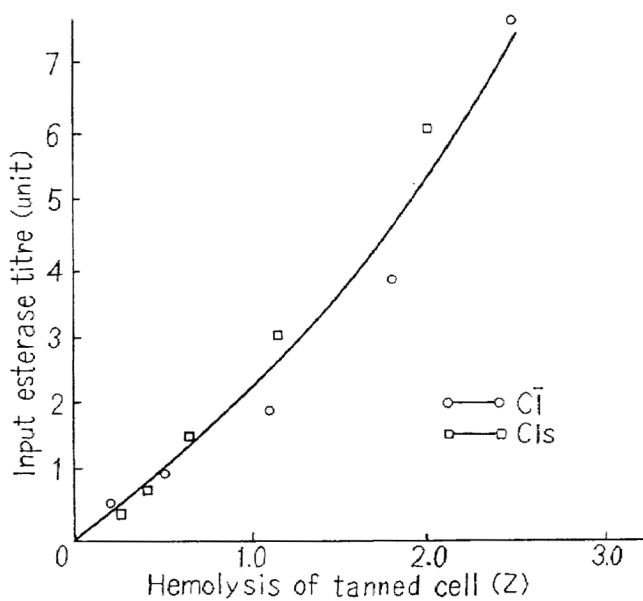


Fig. 2. Hemolysis of $C\bar{1}$ or $C1s$ fixed tanned cell compared with input esterase titer.

IgM, IgA および β -lipoprotein を含んでいた。エステラーゼ活性は TAME あるいは ATEe を基質にして Roberts の方法で測定した。

1) ETa に $C\bar{1}$ あるいは $C1s$ を結合させる際に結合せずに残った部分と cell fixed のものを input から引くと、 $C\bar{1}$ で約90%ないし97%、 $C1s$ で70%ないし83%が消失し破壊されたものと考えられ、 $C\bar{1}$ は明らかに $C1s$ にくらべタンニン酸の影響を受けやすい。しかしこの程度の差では $C1s$ が $C\bar{1}$ にくらべ ETa に対する efficiency が5倍から10倍もよい説明にはならない。

2) Linscott 等は ETa $C\bar{1}$ が EDTA により容易に $C\bar{1}$ を解離すると発表しているがわれわれが追試したところではほとんど解離せず、従つて $C\bar{1}$ が $C1s$ よりも解離しやすいとは思えない。

3) 溶血活性とエステラーゼ活性の比較では、Fig. 1 に示すように、input の溶血活性を縦軸に、cell fixed の溶血を横軸にとると、 $C\bar{1}$ は $C1s$ にくらべ、同一の cell fixed の溶血を得るのに約9倍の input を必要としている。しかし縦軸に ATEe を基質にした $C\bar{1}$ あるいは $C1s$ のエステラーゼ活性をとると Fig. 2 に示すように $C\bar{1}$ および $C1s$ を fix した ETa の溶血の dose-response curve は全く一致した。

4) ETa $C1s$ の溶血におよぼす $C1q$ の影響は、F II を対照にとると著明に溶血球上方向に作用するが、これは $C1s$ 1分子当たり $C1q$ を100分子位加えて初めて見られるもので通常の macromolecule の $C\bar{1}$ ではこ

のようなことはないと推察される。ETa の $C1s$ あるいは $C\bar{1}$ を結合した際の溶血度はおおのこの溶血活性にではなくエステラーゼ活性に比例する。

鳥巢

$C1q$ が著明に溶血活性を阻止しているが、 $56^{\circ}C30$ 分処理したときの効果はどうか。

永木

$C1q$ を非動化して、その溶血作用阻止を見ていない。

橘

Esterase 活性に平行に ETa の溶血が得られるというが、そのメカニズムをどのように考えるか。

永木

ETa $C1$ あるいは ETa $C1s$ 溶血のメカニズムはおそらく EA $C1$ あるいは $C1s$ と同じと思う。

井上

1) Hemolytic activity な $C1$ と $C1s$ とでは反応条件によつて得られる単位が違うはずであり、hemolytically に active でも ETa では inactive であるというよりむしろ esterase 活性の方が分子数という点では活性分子を正確に定量できるということではないか。

永木

1) $C1s$ と $C1$ の溶血の efficiency の比は variable であるが、溶血活性に無関係に、 $C1s$ および $C1$ は等モルで ETa を溶血させると考えられる。

13. C4 不活性化因子の分離精製

国立がんセンターウイルス部 鳥巢要道

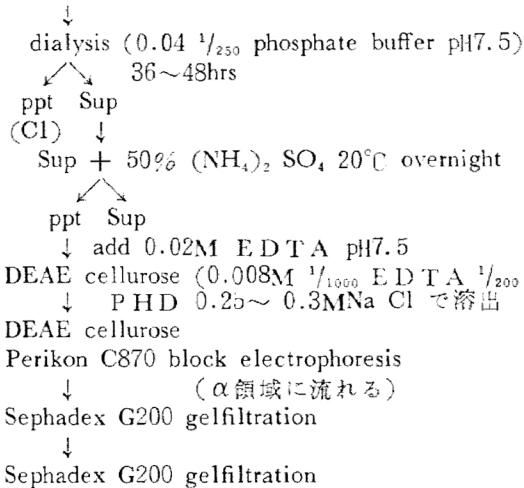
三井記念病院 園崎秀吉

横浜市大皮膚科 鳥場 徹

新しい補体成分欠如血清としてわれわれが発見した第4成分欠如血清 (C4 deficient human serum) は新鮮血清の時に、第4成分の溶血活性を全く有せず CH50、および IA も全く示さない。この C4 deficient human serum の1つの特異的性格としてヒト血清より精製したる補体第4成分 C4hu を、C4 deficient serum に加えると短時間のうちに加えた C4 の溶血活性を失わしめる事実気づいた。このことは C4 deficient serum の中にあるある因子が加えられた溶血活性をもつ C4 を不活性化するために起こる現象でありこの因子を精製分離することは生体内における補体の役割りを解明する上に1つの手掛りになるのではないかと考えた。

材料：C4 deficient serum, Aged serum

精製：C deficient serum



以上のような過程で精製した C4 inactivating factor は強力な C4 不活性化作用を有し、沈降係数は 4 S である。

また 56°C30 分の加熱によりその活性を失なうが 56°C 2 分では安定である。EA₄^{HU} cell または EA₄^{FP} cell に作用し C4C2-complex を作る作用があるが EAC₁ cell 形成能力は有さない。電気泳動的には α 領域に易動性を示しその補体的性格は永木、Stroud が最近ヒト血清より分離した C1s ときわめて近似するものである。

また、われわれは 5 年前集団検診の際集めた正常ヒト血清、補体価 (当時 25 CH50~50 CH50, 6000 IA50~12000 IA50, RF (-)) を -10°C~120°C に 5 年間保存したものの溶血活性が全く失なわれていることに気づき補体成分測定の結果 C₄ の溶血活性が全くないことを確かめた。この血清より同じく C₄ 活性化因子を取り出した。このことは血清の補体価が採血後時間とともに低下する機序の解明に役立つであろう。

14. 第 4 成分阻害因子と C1s の関係について

国立がんセンターウイルス部 鳥巢要道
大阪成人病センター 永木和義, 稲井真弥
三井記念病院 園崎秀吉
横浜市大皮膚科 鳥場 徹

補体第 4 成分欠如血清 (C4 deficient serum) より分離精製した C4 不活性化因子 (C4 inactivating factor) は補体の第 4 成分の溶血活性を失わしめるものであり、また一方 EA₄ cell および C2 に作用して EA₄₂ site を形成する能力を有するものである。現在まで C4 inactiv-

ator として報告されているものは

- 1) Klein 等のモルモット血清 euglobulin 分画に存在するもの
 - 2) Jensen 等のサメの血清 euglobulin 分画にあるもの
 - 3) 鳥田等のモルモット血清の C4 精製過程に見出されるもの
- 1) および 2) は C1 とは全く別のものであると述べ、3) は区別がつかないと述べている。

一方 C1 は EDTA 存在下において C1q, C1r, C1s よりなることが 1963 年 Lepow 等により報告され、それぞれの成分のもつ物理化学的または病態生理的意味の解明に多くの研究者が努力をはらっている。1969 年に至り共同研究者の 1 人である永木は Stroud と一諸にヒト血清 C1s の物理化学的性格を追求、免疫電気泳動的にも補体的にも純粋な C1s を分離することに成功した。

この時点においてわれわれは C1s および C4 inactivating factor (C4 INF) がどのような関係にあるかを追求することはきわめて重要であると考えた。その結果以下に示す事実に関し C1s と C4 INF は全く共通の態度を示すことが明らかとなった。

- 1) EA₄ cell および C2 に反応して EA site を形成し得る。
- 2) 単独では EA₄ cell を作り得ない。
- 3) DFP に対し感受性がある。
- 4) TAME の分解能力を有する。
- 5) 強力な C4 不活性化作用を有する。
- 6) C2 不活性化作用を有する。
- 7) 精製 C4 に対する電気易動度を変化せしめる。
- 8) 56°C30 分で活性を失う
- 9) 抗原性において anti C1s に対し共通である。

その他 2, 3 の事実より C4 不活性化因子と C1s はきわめて共通の性格を有する物質であろう。

岡田

C4 inactivating factor (C4 INF) が C1s ならば、C1 inactivator に sensitive だ。C4 deficient serum 中にもじゆうぶん含まれる C1 inactivator が C4 INF がもし C1s なら活性をおさえてしまうのではないか。

鳥巢

C1 inactivator は C1, C1s, C4 INF に作用させた場合には C1 に対してもつとも sensitive であります。C1 inactivator と C1s または C4 inh の量的関係は今後問題でしょう。

C4 deficient serum の中より分離したC4 INFはC1sときわめて似た物質であることはまちがいない。

嶋田

C4 deficient serum 中のC4 inactivating factorはserumにDFPを作用させてもinactivateされないということが、精製したC4 inactivating factorはC1sらしく、DFPよりinactivateされたとのお話ですが、この違いをどう説明されるか。

鳥巢

C4 deficient serum 中のC4 inactivating factorはC4をおさえる活性は、たしかにDFPにnonsensitiveである。PureにとつたC4 inactivating factorはDFPにsensitiveなので全血清でみたときは、DFPが特異的に作用しなかつたものであろうと考える。

高見沢

- 1) C4 deficient serum は遺伝的にみるとどうか。
- 2) この serum のC1 titerはどうか。
- 3) 上の関係をも含め、C4 deficient の理由をどう考えるか。

鳥巢

- 1) 遺伝に関係あるように思うがはつきりしない。
- 2) この serum のC1価は正常値でした。
- 3)
 - i) 溶血活性のない β_1 E-globulinを産生している。
 - ii) Normalな β_1 E-globulin(C4活性も有るもの)を産生するが何らかのメカニズムにより体内にある間にすでに溶血活性を失っているものである。
 - iii) C4 deficient serum 体内に抗原抗体反応があり全ての β_1 E-globulinはinactiveなformになっている。等考えられるが原因はまだ不明である。

真弓

血清中のC4 destroying activity全部がC1sか。

鳥巢

C4 deficient serum にあるC4 inactivating factorはC1sときわめてよくにている。他の血清中にあるもの全部がこれかどうかわからない。

横張

- 1) C4欠除症とC1 esterase inhibitor欠除症(HANE)との関係は
- 2) C1活性が落ちると思われる0.04MPO₄ dialysis pptからではなくSupの方からC1sと同じC4 inhibitorが得られるのはなぜか？

鳥巢

1) C4 deficient serumはC1 esterase inhibitorは欠如していない。

2) 永木によるとC1を除いたSupにもC1が多くある。

河島

血清を保存するとC4 inactivating factorが増加するとすると、採血から測定までの間にC4値が変化したという可能性は考えられるか。

鳥巢

C4 deficient serumはきわめて特殊な血清でありnormalのserumとは全く異なっているので同一レベルでは考えにくい。

座長(井上)

C4 deficient serum 中のC4 destroying factorがC1sであるかどうか、あるいはC1s以外にも何らかのfactorが存在するかどうかという点に対しては、このまま議論を続けても結論は出ないし、たとえ演者がどちらかにいい切つたとしても何の解決にもならないと思われるので、この点は次回への宿題ということにしてここで議論を打ち切りたいと思う。

15. モルモット補体第3成分の精製法の検討

—— 特に C5 inhibitor の除去 ——

金沢大学医学部癌研究所分子免疫部 高橋セイ
国立がんセンターウイルス部

岡田英親, 西岡久寿弥

補体第3成分(C3)の精製にあたっては、C7およびC5 inh(C5 Site generation inhibitor)との分離がきわめて困難であり、かつまた重要な問題点であることを知つたので、そこに主点をおいて検討した結果について報告する。

C7およびC5 inhの除去には、I. Electrofocusingを使う等電点分画法によりC3を得る。

等電点分画法でC3はpH 6.2付近C7はpH 5.7付近C5 inhはpH 5.1付近に分離された。

II. pH 6.2のカラムクロマトグラフィーに通ず。または、pH 6.2 i.s. 0.014 PBS-EDTA (phosphate buffered satine-EDTA) に対して透析操作を行なうことによつてC5 inhを除去pptとしてC3を得る。この場合、C5 inhの活性は上清の方にも検出されず、そのゆくえについては究明できなかつた。

Ⅲ. CMセルローズカラムクロマトグラフィーを通すことによつて、C3活性分位とC5inhとを分ける。C5inhはC3分画のはじめの部分にくるので、C3をpoolするときに、この部分を除去しなければならない。

I, II, Ⅲの方法によつて、C7およびC5inhの活性を含まない補体第3成分が精製分離された。さらに精製されたC3を使つて、放射性免疫電気泳動法で確かめた。

16. モルモット補体第3成分の分子構造

愛知がんセンター超微形態部 鈴木郁男

国立がんセンターウイルス部

岡田英親, 西岡久寿弥

金沢大学医学部癌研究所分子免疫部

高橋セイ, 高橋守信

補体を分子構造論的立場より解析するための端緒として、補体第3成分の電子顕微鏡的ネガティブ染色像による分子形態学的アプローチを試みた。モルモット補体第3成分の精製の詳細は演題15に述べてあるとおりである。精製したC3は、免疫電気泳動上で、抗モルモット全血清に対し、単一の β_2C の沈降線を示した。 ^{131}I をラベルした同標品をradioimmuno-electrophoresisで検定したところ99%以上の純度をもつことがわかった。

ネガティブ染色法は2%隣タングステン酸(PTA), 4%モリブデン酸アンモン(MA), 飽和酢酸ウラン水溶液(UA), シリコタングステン酸(STA)などを用いたが、2%PTA(pH 5.3)により好結果が得られた。

2%PTAによるネガティブ染色法により得られたC3分子は、200Å前後(多少の偏倚がある)の円形構造として認められた。PTA以外のネガティブ染色剤によつても、このことは確認された。高分解能写真によりこの径200Åの分子内部には、さらに微細な構造が認められた。すなわち経約20Åのsubunit構造とそのまわりに一見不規則な空隙部分から形成され、全体として、ほぼ円形ないし類円形をなす。またsubunitの数は個々の分子により必ずしも一定しないが最大16ないし17個と測定された。このようなネガティブ染色像からその立体構造を推定すると、17個のsubunitが立体対称に配列し、全体として、球状をなすと考えると、ほぼネガティブ染色像と一致する。ネガティブ像における個々の分子によるsubunitの個数の差は、実体と観察する位置の相互関係により、異なることがわかる模型により確認された。こ

のモデルの中心部(コア)にも同様ディメンジョンのsubunitが存在するか否かは判然としない。

C3分子の分子量は17ないし18万とされているが、経20Åの球状タンパクの分子量は、数種の計算法を適用すると、ほぼ5000ないし12,000と考えられる。もしsubunitを17個とすれば、従つてその分子量は85,000ないし204,000となり、測定された分子量17~18万と大きく矛盾しないと考えられる。

今後さらにC3分子の物理化学的検索結果などによつても、このモデルの当否は検討されねばならぬし、また、抗原、抗体、補体の3者の関与する免疫反応の場における電子顕微鏡による形態的解析が必要と思われる。

吉田

1) 95~99% pure C3にした場合、活性化しているとC3は何%くらい含まれているのですか。

2) EAC14, EAC142にC3を反応させた後に撮つた写真で、160~170Åのものが見えていたが、もつと小さい粒子はなかつたか。

鈴木

1) 補体反応系における反応としての意味での活性化されたC3分子は考えなくてもよいと思います。C3分子の一部が変化して、たとえばIA reactivityだけは活性化された(補体反応系における活性化とは異なつた形において)ようなものもいくぶんあるのではないかということ、タンニン酸処理赤血球にC3をつけただけでIAをおこすことから、考えなければならないかもしれません。

2) C3a fragmentは小さく見えない。見えているのはC3iと考える。

岡田

C3がC3 convertaseの作用をうけてcell membraneにつくのは高々50%で、残りは、つきそこなつてC3iになると考えられます。この場合、C3の活性は約1/100におちていますので、intactなC3として残つてるのは高々数%であろうと考えます。

西岡

Cell上のactivated C3, C3のfunctionにもとづいたsubunitは今後追求すべき問題であるが、C3aだけがはずれたかたちのC3分子の分子量上の関係は、鈴木博士の所見とよく一致すると思う。

内海

多数のサブユニットがルーズにasso-ciateしたモデルはじゆうぶんうなずける。ばらばらになつたサブユニッ

トは見られたか。

鈴木

サブユニットが20Åということから negative staining の限界に近く、判定がむずかしい。

尾上

中心に存在する1個のサブユニットのまわりに17個のサブユニットが配置しているモデルだが、中心にサブユニットが存在することは電顕像から判定したのか。

鈴木

中心に1個のサブユニットを置いたことにはあまり大きな理由はありません。最大17~18個の sabunit が観察されますので18個の場合はシンメトリカルに並べるには一個中心部に置いた方が具合がよくなります。

17. C3 活性 (モルモット) におよぼす dithiothreitol の作用

国立がんセンターウイルス部

西岡久寿弥, 岡田英親, 山主公子

Immune adherence (IA) は感度の高い抗原抗体反応として広く用いられてきているが、微量の抗体を、過剰の補体血清を加えて測定する場合、時間の経過とともに、陽性反応が陰転化することが、長時間観察しなければならぬときに問題となり、定量性の面からも、感度の上からも克服されなければならない課題となっている。

この現象は、形成された抗原抗体-C1, C4, C2, C3 結合物に作用する C3 inactivator (C3 I) の作用によるものと推定し、限量の C3 で作成した EAC4 C3 に対し作用して C3 の IA 活性を失活させる C3 I の阻害剤を捜したところ、最も有効な C3 I の阻害剤として Dithiothreitol (DTT) が、1.8 mM で作用することが判明した。

この結果 (1)最も効率よく、反応のパターンを明確に読み、経時的な陽性反応の陰転化のみられない、ルーチンの実験条件の設定、(2)DTT の作用機序、(3)C3 site の溶血活性基と IA 活性基の差が明らかにされてきたので報告する。

(1) ヒツジ赤血球-ウサギ抗体、あるいは Burkitt 培養細胞-上咽頭がん血清にヒトあるいはモルモット補体系で immune adherence をわれわれの行なってきた試験管法あるいは Microplate 法で行なうとき、抗原抗体結合物を形成させてから、補体血清を加えて、37°C で 20~30分後に、15mM の DTT を添加、ただちにヒト

赤血球を加えて、37°C で 10分振盪させて、その後結果を判読すると、37°C 60分 180分後でも、20°C で 15時間後でも、陽性反応の陰転化は起こらず抗体検出の感度も最高値を示した。

(2) DTT と C3 I を反応させ、透析あるいは希釈により DTT の作用を除去しても、C3 I の活性には変化がなかった。また、DTT は、EAC4 cell の C4 site には全く影響を与えない。しかし DTT を EAC4 C3 と反応させた後、遠心洗滌で DTT を除去してから C3 I を作用させると、C3 I の EAC4 C3 の IA 活性を不活化させる能力は発揮されなくなった。この結果 DTT の作用は形成された限量の C3 site の IA 活性を C3 I の不活化作用から防御するものであることが示された。

(3) EAC4 C3 上の C3 の溶血活性は、DTT 処理後ただちに、アルキル化することによつてほとんど完全に失われるが、酸化あるいは PCMB 処理によつて溶血活性は、60~70%回復する。このように DTT 処理によつて、C3 の溶血活性や C3 I 感受性は顕著な影響をうけるのに対し、ヒト赤血球と IA を起こす C3 の活性はこれらの化学的修飾によつて全く変化をうけないことが示された。

この事実は C3 分子中の溶血に必要な活性基あるいは C3 I との反応基は、S S 結合と密接な関係があるのに IA の反応性はそれと全く independent な作用基であることを示している。

横張

Australia 抗原等、cell membrane のない場合 C3 はどこにつくか?

西岡

抗原分子上に C3 の結合 site があると考えておりますが、membrane の場合のような直接証明はありません。

永木

西岡氏の C3 の fragment a,b,c,d は Müller-Eberhard の a,b,c,d と同じものか。

西岡

Müller-Eberhard はヒトの C3 の subunit について抗原性をもとにわけていますが、私どものモルモットの系では、C3_b は溶血活性、C3_c は IA 活性、C3_d は抗原膜に結合するものとしてわけてみておりますので、分割している立場が違うわけですから、照合して実験を進めたいと思つています。

18. 補体第3成分の産生——蛍光抗体法による観察

東大医科学研究所病理 林皓三郎

金沢大学医学部癌研究所分子免疫部 高橋守信

免疫組織学的手法によつて補体成分産生の研究を進め、蛍光抗体法によつてモルモット肝実質細胞がG P C 3の産生に参与していることを認めたので報告する。

G P C 3は精製したG P C 3をウサギに免疫して得た。免疫電気泳動上この抗血清は精製G P C 3, モル全血清に対して1本の典型的 β_1C の沈降線を示した。(田村, 島田, 第2回免疫化学シンポジウム 2, 59, 1968) 蛍光標識および標識抗体の精製は川村らによつて既述されているごとく行なつた。(A. Kawamura, Jr. 編, *Fluorescent Antibody Techniques and Their Applications*, 東大出版会, 1969)

モルモット(純系 Strain 2 および雑系)の各種組織は、麻酔下で大量の生食水の灌流後にとり出し、クリオスタットで約4 μ の凍結切片をつくつた。Acetone 前処理(室温10分)後蛍光抗体(0.3mg/ml)を反応(37°C 1時間), P B Sで洗つたあと蛍光顕微鏡(Tiyoda FM-200A)で観察した。

観察した各種組織のうちで、肝だけが強陽性を示した。他に、脾、上部小腸、下部小腸、虫垂、腸間膜リンパ節のリンパ濾胞の細胞間隙が非常にうすく瀰漫性に染つたが、これはおそらく血清成分の浸透沈着によるものと思われる。胃、肺、腎、脳、皮膚およびその付属器、骨格筋等は全く陰性であつた。カゼイン大量腹腔内注入によつて集めた多核球、単核球なども陰性であつた。反応の特異性は次の諸点について確かめた。1) 蛍光をラベルした正常グロブリン、抗G P C 4, 抗G P C 9では全く陰性であつた。2) 蛍光をラベルしない抗G P C 3で反応は完全に阻止された。3) C 3分画中に最も混入しやすいC 7で肝組織を処理し、蛍光標識抗G P C 3を反応させても、また蛍光標識抗G P C 3をC 7で吸収して反応させても、肝の蛍光像に変化はなかつた。

ところで、蛍光陽性を示したのは肝実質細胞だけで、血管周囲の細胞や Kupfer 細胞では陰性であつた。陽性細胞は、細胞質内に顆粒状の蛍光が瀰漫性にみられ、肝実質細胞体の10%以下であるが、その数は個体によりかなり差がある。あるものは肝小葉内で孤立して存在するかまたは集落をなしており、また Glisson 鞘に近い血管周囲に focus をつくつている。

稲井

ラベルした抗C 4血清では肝で陰性であつたといわれたが、他の組織、臓器ではどうか。

林

他の臓器でも(一)であつた。

岡田

血管の内皮細胞が光るのはどう考えるか。

林

血液中の β_1C が沈着、浸潤しているのではないかと(灌流してもとれなかつた)と考えられる。

森田

生食にて灌流した場合他の血清成分は除去できるか、対照として albumin, globulin などの局在を確かめているか。

林

たとえば、皮膚毛根は非灌流のものでは、anti GP β_1 C で強く光るが灌流後は全く(一)であつた。また anti GP γ -globulin でも灌流後は肝はほとんど光らない。

19. 慢性肝炎における β_1C および β_1E グロブリンの肝組織の局在について

岡山大学医学部第一内科

水野保夫, 野崎 肇, 平田引昭

佐藤公身, 辻 孝夫, 小坂淳夫

β_1C/A -globulin ならび β_1E -globulin の慢性肝炎患者の肝組織内局在および対照例の全身臓器内の局在を蛍光抗体法で検討するとともに、すでに Alner S³⁾ の肝移植によるC 1肝のC 3合成の報告が認められるが、演者らもC 3およびC 4の産生部位を検討した。

対象は本医学部第一内科教室で腹腔鏡下に肝生検を受けた慢性肝炎6名ならび甲型肝硬変1名の肝組織、また本医学部第一外科で摘脾手術を受けた乙型肝硬変1名の肝ならびに脾組織、さらに対照として本学第二病理学教室で剖検を受けた甲型肝硬変、胎生34週の未熟死産児および脳腫瘍のそれぞれの屍体の全身臓器を用いた。

組織は冷 ethanol で固定後、低温 paraffin 切片にするかまたは dry-ice アセトンで凍結切片後アセトン固定をした。

なお β_1C/A -globulin ならび β_1E -globulin は免疫電気泳動法でそれぞれヒト全血清に対して1本の沈降線を示し、また抗ヒツジ gamma-globulin ウサギ血清ならび抗ウサギ gamma-globulin ニワトリ血清は Ouchterlony

法で抗体稀釈により80倍の titer を示した。

さらに染色対照として直接法では抗原と抗体を反応させた後、標識抗体を加え、また間接法では1次抗体を省略して標識2次抗体を反応させる等の inhibition テストを行なった。

慢性肝疾患では肝組織病型にかかわらず巣状壊死部、境界層破壊部および帯状壊死部の壊死性肝細胞原形質ならび好酸体に強く認め、また Glisson 氏鞘膨化組織間隙に中等度存在した。胎生34週未熟死産児ならび脳腫瘍屍体のそれぞれ、肝小葉内正常肝細胞にも軽度認めた。しかし免疫 globulin と異なり肝内浸潤細胞には存在しなかつた。乙型ならび甲型肝炎、34週未熟死産児および脳腫瘍屍体のリンパ節ならび脾組織に中型単核細胞の原形質および脾赤髄内網目状にわずか認めた。

さらに甲型肝炎、34週未熟死産児および脳腫瘍屍体の胃、小腸、大腸のおのおの腺細胞にも非常にわずかに存在した。しかし心臓、肺臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、甲状腺、横紋筋、睪丸等は認められなかつた。

従来 in で Colten ら⁴⁾ がモルモット腸粘膜に C 1 の産生を報告、Rother ら⁵⁾ はウサギ肝の C 6 合成を証明した。また Rodman ら⁶⁾ はリウマチ性関節炎患者の関節滑膜に蛍光抗体法で線維芽細胞の核および結合織間に C 3 ならび C 4 の局在を証明した。一方 Fireman ら⁷⁾ は胎児、新生児等のヒト補体系の発達を、Adinolfi ら⁸⁾ はヒト胎児での C 3 ならび C 4 合成の時期を報告している。

蛍光抗体の成績では胎生34週未熟死産児の肝細胞原形質および脳腫瘍屍体の正常肝細胞原形質内に β_1C_1A -globulin ならび β_1E -globulin を認め、これらの肝細胞での産生を示唆するものと考えた。

また各慢性肝炎中境界層破壊部ならび巣状壊死部および各肝硬変中帯状壊死部等の壊死肝細胞や好酸体および Glisson 氏鞘の組織間隙での β_1C_1A -globulin ならび β_1E -globulin の局在は、演者らがすでに報告した免疫 globulin (IgG, IgA, IgM) の局在とは肝内浸潤細胞を除いて一致することより、これらの局在部位が抗原抗体反応の場と考えたい。

なお、わずかながら存在した胃、小腸、大腸、脾臓、リンパ節での局在の意義については、産生場所かまた抗原抗体反応の場なのか、あるいは貯蔵所なのか検討中である。

平松

β_1C -globulin, β_1E -globulin の存在を示す細胞は同一

のものかどうか。

辻

二重染色はしておりませんが、一コノ肝細胞が β_1C_1A -globulin と β_1E -globulin の両方をもっているように思われる。

20. ヒト由来株化細胞の培養液中の C4 活性について

大阪成人病センター

稲井真弥, 青木行俊, 後藤田暁子

ヒト由来の株化細胞の培養3液中にC4の溶血活性が認められるか否かを検討した。8種類の cell line を使用したが、これらはいずれも establish されて以来数年以上を経過したものである。培養液は Eagle の medium に10%の割合で calf serum albumin, あるいは fetal calf serum albumin を加えたものを用いた。

C4の定量はEAC1 cell を用い、緩衝液としては、イオン強度 0.082 の sucrose-gelatin-veronal buffer を用いた¹⁾。この実験に用いた細胞培養液は5倍稀釈液で、それ自身C4活性をもたず、また精製ヒトC4の溶血活性を抑制あるいは増強することはなかつた。そこで各種 cell line の培養濾液を5倍~40倍に稀釈し、それぞれのC4活性を測定した。

悪性腫瘍組織由来と考えられる4種類の monolayer cell line のうち、HeLa S3とRPMI 3236の両者の培養濾液中には、明らかなC4活性を認めたが、他の2種類すなわち dalsis とKBには全くC4活性を認めなかつた。

3種類の suspension cell line は、いずれも形態学的に lymphoblast 様であるが2種類の Burkitt 由来の cell line (HR-I および Raji) には全くC4活性を認めなかつたが、RPMI 4666では明らかなC4活性を認めた。RPMI 8226は Bence Jonse 型骨髄腫の末梢血から分離された細胞で plasmablast 様の形態をもち、その培養状態は monolayer と suspension の混合型を示したが、この細胞の培養濾液中にもC4活性を認めた。

またこれら培養濾液中にC4活性を認めた4種類の cell line について、培養開始後、24時間、48時間、72時間と時間をおつて、培養液中の細胞数と、C4活性とをしらべると、図1に示したように、C4活性は細胞数の増加とはほぼ平行して上昇した。他の4種類の cell line では培養72時間後、細胞数の著明な増加が認められたにもかかわらず、培養濾液中にはC4活性は全く認

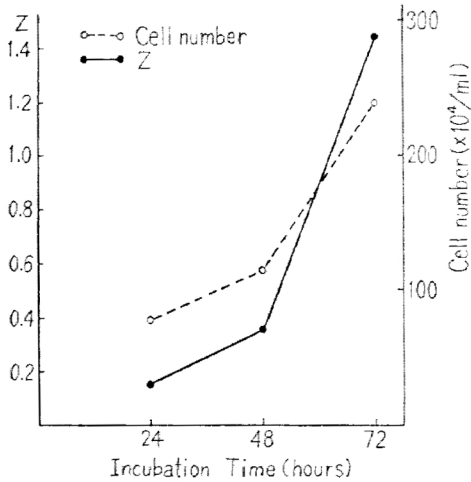


図1. Increase of C4 activity in culture media of RPMI 4666.

表1 Character of Established Human Cell Lines and C4 Production

Cell line	Origine	Culture condition	Morphological appearance	C4 activity
HeLa S3	Oervical ca.	Monolayer	Epithelial	+
RPMI 3236	Hodgikin's disease	Monolayer	Epithelial	+
Dalsis	Osteosarcoma	Monolayer	Fibroblastic	-
KB	Maxillary sinus ca.	Monolayer	Epithelial	-
Raji	Burkitt's Lymphoma	Suspension	Lymphoblastoid	-
HR-1	Burkitt's Lymphoma	Suspension	Lymphoblastoid	-
RPMI 4666	Peripheral blood of CML	Suspension	Lymphoblastoid	+
RPMI 8226	Peripheral blood of myeloma	Mixed (suspension monolayer)	Plasmablast like	+

められなかつた。

総括および考案：以上の実験結果から HeLa S3, RPMI 3236, RPMI 4666, RPMI 8226の4種の cell line は活性をもつたC4を産生しているということが示唆された。他の4種類の cell line はC4産生能を示さなかつたが、これら cell line は、もともとC4産生能をもつていなかつたか、in vitro でその産生能を失つたかは即断し得ない。しかし比較的多数の cell line にC4産生能が認められたことは、in vivo においても相当多種の細胞がC4産生能をもつていることを示唆する

ものとする。monolayer cell line, suspension cell line ともC4産生能を示すものがあつたが、培養条件、形態学的性状の全く類似した3種の suspension cell line のうち、ヒト末梢血由来の cell line がC4産生能を示したが、2種の Burkitt リンパ腫由来の cell line ではC4産生能が認められなかつたことは興味深い。

高橋

1) Raji 株と HR-1 株の細胞がC4を作っていないのは、これらがパーキット、リンパ腫細胞であつて癌化の過程でC4産生機能の脱落をきたしたのか、あるいはこれらの細胞は蛋白合成能力が一般的に高くないためですか。

2) 松岡によると RPMI 4666と RPMI 8226の免疫グロブリン産生量は、1日当たり10~40 μg/10⁶ cell くらいである。C4の産生量はどのくらいか。

3) 免疫グロブリンと補体成分という2種類の血清蛋白を1種類の cell が作っていることは非常に興味深い。これらは同時に(1つの cell cycle 中の phase で)作られているのか、または継時的に作られるのか。

稲井

1) C4活性を認めない cell line は、いずれも絶対に産生しないと断言できない、培養条件の検討等にまたねばならない。ただパーキット由来の2つの cell line では、細胞の腫瘍化によつて、生体内でもついていた機能を欠落したものかもしれない。

2) 1日当たりのC4産生量は計算していないが、免疫グロブリンの産生量よりもはるかに少ないと思われる。

3) 現在私たちは免疫グロブリンの産生を同時に見えないので、この点はよくわからない。

21. 有茎皮弁の生物学的反応性について

— PCA 反応の低下—

虎の門病院整形外科

西岡久寿樹, 南条文昭

皮弁内の生物学的反応性のアプローチの方法の手段として pedicle flap 内の免疫反応性の経時的变化を定性、定量的に測定する方法を考案した。

300~400 gr の Hartley モルモットを使用。側腹部に、頭側に pedicle を有する 8×5 cm の flap を作成：2 cm 間隔に flap の尾側に向つて PCA 反応を施行し、反対側の control 群と同じ強さに回復してくるのを

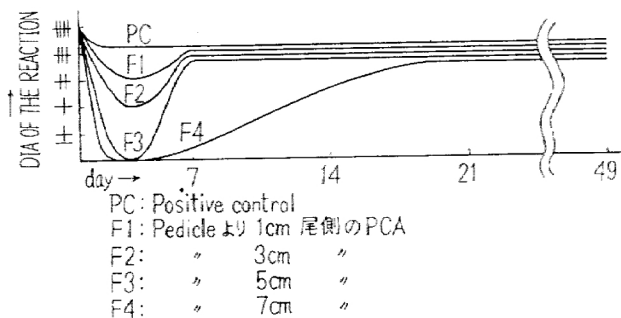


図1. 実験結果.

経時的に観察した.

上図のごとく pedicle flap が完全に control group と同じ強さに回復するまでには flap 作成後3週間を要した. また3~4日間には flap の PCA が著しく低下することは, これまでの循環動態の研究において24時間以降から皮弁の血行が回復するという説とは全く違つた知見を得た.

PCA は免疫グロブリンの tissue fixation とその antigen の反応の2つのメカニズムから成立していると考えられており, pedicle flap の PCA の反応性の変化が, 抗原の permeability の inhibition によるものか, あるいは抗体の tissue fixation の低下によるものかについては, 抗体 ^{131}I でラベルし, 抗原に ^{125}I をラベルするわれわれのいわゆる「定量PCA」法により検討した.

22. 定量 Passive cutaneous anaphyraxis

国立がんセンターウイルス部 岡田英親

虎の門病院整形外科 西岡久寿樹

PCA 反応をより定量的に解析する試みとして radioactivity を用いる方法を考案した.

抗原抗体系としては BSA および Hartley モルモットの anti BSA を用いた.

BSA-Ag に ^{125}I をラベルし 7 Sr. 抗体分画に ^{131}I をラベルしてモルモットの皮内で型のごとく PCA 反応を超えさせ, 30分後局所の皮膚を切り取り, その中に含まれる ^{131}I -Ab, ^{125}I -Ag の γ 線を 2-channel の Auto- γ を用いて抗体の皮内注射から抗原の全身投与までの期間を変えて検討した結果, 局所に吸着している Ab-globulin は経時的に暫減してゆくが PCA 反応により局所に滲出する ^{125}I -BSA の量は8時間~24時間の間で高値を示した. この結果はこれまでの PCA の報告とはほぼ一致していた. 抗体注射後, 24時間後に抗原を投与した場合につ

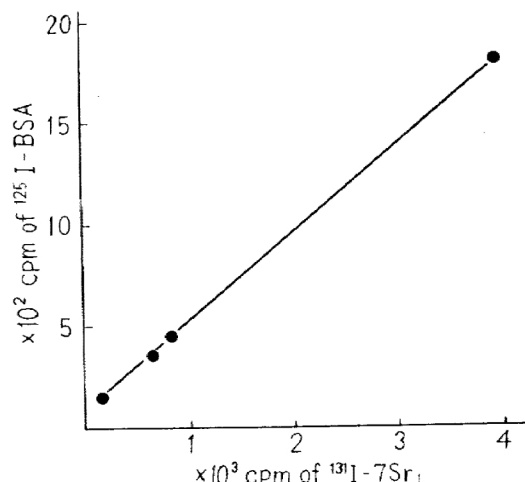


図1. 24時間目における PCA 反応の定量性についての検討.

いて抗体量 (^{131}I -7 γ_1) と抗原量 (^{125}I -BSA) の相関性について検討したところ図に示すように直線関係が得られた.

従つてこの方法により PCA の定量化が可能であると考えられる.

しかしながら注射した抗体量と組織に固着する抗体量との相関性について必ずしも比例関係を示さない場合があつたので (時間によつて) 皮内注射をする位置および他の factor に関して検討中である.

抗原である BSA に ^{125}I をラベルしたので Specific な抗原-抗体反応による局所への抗原の集積と non-specific な permeability との判別のため, さらにモルモットの serum-albumin (GPA) を精製し, これに ^{125}I をラベルした ^{125}I -GPA を抗原 (BSA) に混ぜて静注し定量比較した.

井上

PCA 発現後, 抗原 label の分布と色素の広がりとの関係はどうか.

岡田

その点については調べていない.

23. 免疫溶菌による大腸菌菌体成分の変化について

大阪大学医学部細菌学教室

井上公蔵, 高見沢昭久

われわれはさきに, lysozyme-free の抗血清および補体血清により Escherichia coli B の細胞壁に holes or channels が形成され, それを通じて alkaline phosphat-

ase のごとき表在性酵素は菌体外に游出される。しかし cytoplasmic membrane より内側に存在する β -galactosidase のごとき高分子物質は游出されない。もし反応系にさらに lysozyme または plakin (phospholipase A) を加えるとこれらの酵素は抗体および補体により形成された cell wall 内の channels を通つてそれぞれの基質に達し、lysozyme の場合には micropeptide rigid layer を破壊することにより spheroplasts を形成し、plakin の場合には cytoplasmic membrane を破壊して rod shape ghost を形成することを報告した。今回はこれら高分子物質の出入りを許す channels 形成に伴なう菌体成分の変化を追及するため ^{14}C -glucose を含む合成培地で *E. coli* を培養し、本菌に対するウサギ抗血清およびモルモット補体による溶菌に際し菌体成分が受ける変化を種々の分画法により追及した。抗血清および補体血清は Bentnite 吸着法により lysozyme を除いたものを用い、serum spheroplast 形成のためには結晶卵白 lysozyme を添加した。

抗血清および補体により radioactivity が大腸菌体から溶出してくる。この場合 trichloroacetic acid soluble fraction が上清に増え遠沈沈渣に減少している。

Bligh and Dyer 法により lipid を抽出すると反応系からの遠沈上清には chloroform phase にも methanol-

water phase にも radioactivity が対照系(加熱非働化補体を用いた)に比して著しく増大しており、遠沈沈渣の methanol-water phase の radioactivity は減少する。

Chloroform phase を濃縮して thin-layer-chromatography (TLC) を行ない菌体 lipid の分布をしらべると TLC で2つの新しい spots を与える成分が上清中に出現している。その1つは遊離脂肪酸に相当し、他の1つは phospholipid で現在同定中である。

Methanol-water phase も濃縮後 TLC または paper chromatography により現在追及中である。

これらの諸変化は lysozyme 添加による spheroplast 形成に伴なつて増強される。

24. 補体成分結合感作血球の電気泳動度

愛知県がんセンター 小島清秀, 吉田孝人

国立がんセンター 岡田英親, 西岡久寿弥

抗体補体各成分を結合した中間細胞の膜表面の荷電の変化を細胞電気泳動的に検索した。

実験方法: ヒツジ赤血球 (E), 抗体感作赤血球 (E A), E A C14, E A C43, E A C143.

および精製した各補体成分を用い、表1に示すごとき方法で、各中間細胞を作製し、細胞電気泳動的に表層荷電を検索した。電気泳動に用いた medium はこの実験

表1 Preparation of Intermediate Cells

Intermediate cell	Starting cell	Component of* complements	Notes
E	E	—	
E A	E A	—	
E A C1	E A	C1	
E A C14	E A C14	—	Nishioke & Linscott
E A C4	E A C14	—	Treatment with EDTA
E A C142	E A C14	C2	
E A C14(decayed from EAC142)	E A C14	C2	Incubation at 37°C for 4 hrs.
E A C1423	E A C14	C2, C3	
E A C143	E A C43	C1	
E A C1423	E A C143	C2,	
E A C14235	E A C143	C2, C5	
E A C142356	E A C143	C2, C5, C6	
E A C1423567	E A C143	C2, C5, C6, C7	
E A C14235678	E A C143	C2, C5, C6, C7, C8	

* Each sample of intermediate cells was prepared by adding 3 ml of mixture of complement components into 2 ml of cell suspension (10^8 cells/ml).

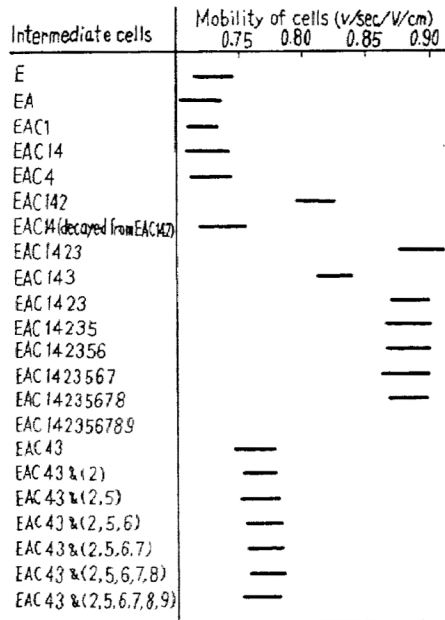


図1. 中間細胞の電気易動度.

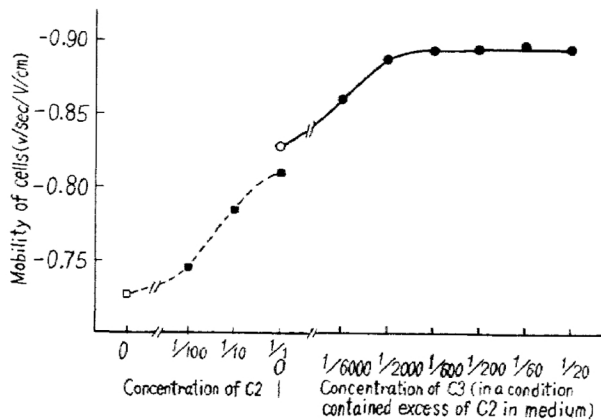


図2. C2, C3の濃度と易動度の関係.

系において普通に使用されている Ca^{2+} , Mg^{2+} を含む veronal buffer (イオン強度0.15) である. 測定温度は $25^{\circ} \pm 0.5^{\circ}C$ である. この条件下で正常ラット赤血球 (standard) は $-1.100 \mu/sec/V/cm$ の易動度を示す.

実験結果: 各中間細胞の電気易動度は図1に示したごとくである. 図はそれぞれ30コの細胞を測定し, その平均値を中心とした信頼限界 (危険率1%) で表示してある. 図に見られるごとく E, EA, EAC1, EAC14 および EAC4 の細胞表面の荷電には変化が見られないが, EAC142 まで反応が進むと急激に表層の net の陰性荷電が上昇し, さらに C3 の付加により陰性荷電は上昇する. C5~C8 までの反応ではもはやそれ以上の変化は見られない. C9 の反応は現在検索中である. すなわち, E~EAC4, EAC142, および EAC1423

~EAC1423C8, の3群に表層荷電の変動から分けられる. このことは血球表面の物理化学的性状が, C2, C3 の付加により二段階的に変化を起こすことを示している.

図2はC2およびC3の濃度と易動度の関係を示すものであり, それぞれ濃度 dependency を有することが明らかである. さらに EAC143, および EAC43 の細胞の解析より, C3 の結合が表層の陰性荷電を増加せしめるとともに C1 成分が何らかの役割りを果たしていることが推定される.

25. HTV 含有細胞系と EAC (19S) C43, EA (7S) との結合

国立がんセンター

西岡久寿弥, 橋 武彦, 平山 雄

井上雅晴, 関根輝彬

愛知がんセンター 吉田孝人

北里研究所 高田 満

東大医科研 川村明義

国立台湾大 王 秋華

国際対がん研究所 WHO G. B. de The

IA receptor や Ig receptor が, 各種の細胞の immunological marker として用いられてきているので, その指標による差が NPC と BL との培養系細胞に存在するか否かを検討した.

(1) われわれには HTV の存在が 蛍光抗体で確認されている NPC の培養系 204R, 204M, 204~206 台湾, Ly2, Ly11, Ly14, Ly20 (台湾), Ly12, Ly13 (アフリカ, ナイロビ) のそれぞれの細胞はいずれも EA (19S) C4, C3 と結合することを見出した.

BL 細胞系については先に吉田, 今井らが IA receptor の存在しないことを報告しているが, P3HR-1, Maku, Raji, Jijoye のそれぞれの代表的な BL 系にこの反応は全く認められなかつたので, NPC と BL の培養細胞系の相違点が明瞭に示された. この所見はまた菅野らと平行して行なつた超生体染色の所見とも一致する.

(2) 一方 BL 細胞系については, ウサギ 7S 抗体の溶血反応至適感作量の3倍量で感作した EA (7S) が結合することが, HTV の検出されている P3HR-1, Jijoye, Maku について見い出され, HTV のほとんど検出されない raji についても見い出された. この EA

7 SはNPC培養細胞系とは結合しない。

(3) これらの培養細胞膜の結合する site を各種の化学的処理を行なつて検討した。NPCのEA (19 S) C4, C3との反応は、アセトン (50%), トリプシン (0.2mg/ml) で除去され、iodoacetamide (0.5mM), フェノール (1.25%) で intact, 正常ウサギ γ G で阻止されない点から、今まで記載されている IA receptor であると考えられる。

BL細胞系のEA (7 S) との反応性は、50%アセトン, フェノールで消失し, trypsin, iodoacetamideの作用をうけず, 正常ウサギ γ G での阻止もうけないので, 現在まで知られている monocyte の IgG receptor とは異なり, Watkins の記載した herpes simplex virus の感染による膜変化と近い性状を示していることが, 林らとともに行なつた herpes simplex-He La 系との対比実験の結果示されてきた。

26. リウマチ因子の補体系におよぼす影響

東京大学医学部整形外科

松浦美喜雄, 園崎秀吉

横浜市立大学医学部大皮膚科 馬場 徹

国立がんセンターウイルス部 鳥巢要道

リウマチ患者血清 (R A陽性者) および関節液を採取カラムクロマトグラフィー (DEAE cellulose, CM cellulose, sephadex G-200 gelfiltration) や塩析, 電気泳動の手技を組み合わせるることによつてリウマチ因子の精製を試みた。その結果 IgA に属するもの, IgM, IgG を含むもの, IgA, IgG, IgM を含むものと部分精製された3つの標品を得ることができた。これら標品を用いてヒト血清の溶血補体価におよぼす影響, またヒト C1 (C1^{hu}), ヒト C4 (C4^{hu}), ヒトの EDTA complement に対する影響を観察した。

リウマチ因子は全て56°C30分の熱処理を行ない, 指示細胞 (indicator cells) はヒツジ赤血球 (E) にウサギの抗体 (A) を用いた抗原抗体補体結合物 (intermediate cells) は EAC1^{hu} cell, EAC4^{hu} cell, 等を用いた。また溶血の抑制割合を見るため control としては indicator cells が60%~80%溶血する経補体適量をあらかじめ定めたのち実験に供した。

1) 全補体とリウマチ因子を混合37°C10分恒温振盪後 EA cell (1 × 10⁸/ml) を加え37°C60分の判定では前記3つの標品とも溶血活性を抑制する。

2) C1^{hu} に対する影響は C1^{hu} とリウマチ因子と混

合し37°C10分後に EA4^{hu} cell (1 × 10⁸/ml) を加えさらに C2 および EDTA complement を加える実験で C1^{hu} のもつ溶血活性を著明に抑制する。

3) C4^{hu} に対する影響は認められない。

4) EDTA complement に対する影響もみられない。

これらのことよりリウマチ因子の補体系におよぼす影響は感作ヒツジ血球 (EA cells) に補体が作用するごく初期の段階で関与しているものと推察された。

実験に供したリウマチ因子標品は C3 inactivator, C1 inactivator (56°Cでこわれる) および C4 inactivating activity は混入していない。

広瀬

IgA の R F では Waaler-Rose 反応を起こしにくいどうか。

松浦

IgA の rheumatoid factor といったものは, 関節液を, DEAEセルロース, CMセルロース, セファデックスを通して精製した分画で免疫電気泳動では, anti-whole に対して IgA に対しての1本の沈降線しかみとめなかつたものである。

27. リウマチにおける補体系の研究—関節液内 RA 因子と C1q について

三井記念病院整形外科 園崎秀吉

国立がんセンターウイルス部 鳥巢要道

九州大学医学部第一外科 山本利幸

補体第1成分は周知のごとく EDTA 処理等によつて, subcomponents に分解する。これらは C1q, C1r, C1s と名づけられるが, このうち C1q は変性ヒト γ G と結合する性質があり, 通常リウマチ因子検出に用いられる latex 粒子 (変性ヒト γ G で被われたもの) を凝集する。従つてこの latex fixation test により C1q の存在が検定されるわけであるが, C1q はリウマチ因子とは異なり, 易熱性であるため, 56°C30分の処理によつて latex 凝集能は消失する。

われわれは各種関節疾患々者より関節液を採取し, その中の C1q の存在を検討した。すなわち, 関節液を連続稀釈し, latex fixation test を行ない, しかる後各検体を56°C30分間熱処理し, 再び L F T を行なつて, titer の変動をみた。

変形性関節症では全例において L F T は陰性であつ

た。リウマチでは全例において陽性であつたが、そのうち1例は、非働化によつて陰性化した。また残りの約半数例では、非働化によつて titer が半分に低下した。このことはリウマチの関節液中にはリウマチ因子とともに、C1q もかなり存在する可能性を示している。この他に、非働化によつて、かえつて L F T の titer が上昇する例もあり、リウマチ因子抑制因子の存在が示唆された。また興味深いことに、リウマチ以外の関節炎（単性膝関節炎）の関節液中にも全例 C1q の存在が認められたが、これら検体中にはリウマチ因子は1例も存在しなかつた。

ここで検出された易熱性の L F T 陽性因子が果たして C1q であるか否かを同定するために、56°C30分処理前後で L F T の titer に大きな変動のあつた検体を選び、 NaCl 糖濃度勾配超遠心沈殿分析を行なつた。易熱性因子は19S分画にあるリウマチ因子とは分離し、C1q とほぼ同じと思われる11S分画に沈殿した。さらに詳細な検討が必要であるが、おそらく、この易熱性 L F T 陽性因子は C1q であろうと推定される。

非炎症性疾患と考えられる変形性関節症の関節液中には C1q が存在せず、炎症性疾患と考えられる疾患では C1q の存在が想定されたことは非常に興味深い。

入交

1) R A 関節液中の C1q 測定と同時に血清中の C1q も測つたか。

2) R A で同一人の関節液中の L F T titer と血清の titer とがしばしば異なるが、このことと C1q との関係はあるか。

園崎

血清中の R A 因子との関連は見えていない。

高橋

C1q だけ特に多くなつているのか、または他の C 1 の subunit (C1r, C1s) も存在しているのか。

園崎

リウマチ関節液中には C 4 を不活化する C1s に似た物質があるので、C 1 はある程度 subunit に解離して存在するものかもしれない。

28. 変性 IgG のリウマトイド因子に対する抗原性ならびに補体との関係について

東京大学医学部物療内科

谷本潔昭, 広瀬俊一

リウマトイド因子 (R F) と補体との関係を解明する

にあつては、2つの隘路が存在する。1つは、R F の抗原とされている変性 IgG には非常に強い抗補作用が存在することであり、もう1つは、補体の検出系として、一般に用いられている溶血系感作ヒツジ赤血球 (E A) が、このまま R F の検出系として用いられており、R F と反応して凝集反応を起こすことである。このような難点を克服するためには、まず、抗原としての変性 IgG が R F の抗原性は保持しつつも、一方では抗補体作用を示さないものが望ましい。この点について、われわれは一応この目的にかなうような変性 IgG を作ることに成功した。次に、補体の検出系を E A を使用しないで行なえるならば、凝集反応と切離することができるが、現実には不可能に近い。従つて、現段階ではでき得るかぎり、凝集反応の影響を避け、また精製された R F を使つて、補体との関係を追求していくことが肝要であろう。

このような観点から、われわれは、抗原としての変性 IgG、および、抗体としての R F について、種々の工夫を加えて、両者の関係を追求したので報告する。

1) 変性 IgG について

ヒト IgG を、6 mol の尿素中に48時間放置して透析し、変性させた後、sephadex G 200のカラムにかけて polymer-type の変性 IgG (pU-IgG) と、monomer-type の変性 IgG (mU-IgG) に分けた。おのおのの R F に対する抗原性は、pU-IgG が沈降性および凝集性の強い抗原性を示すが、mU-IgG には、沈降性の抗原性はなく、凝集性の抗原性についても、Lot によつて認められるものと認められないものがあつた。一方、補体結合能力は、pU-IgG がきわめて強く、mU-IgG は弱い。このように、R F に対する強い抗原性を持ち、また、強力な補体結合能力を有する pU-IgG に対して、2-mercaptoethanol (2ME) を用いて還元し、さらに monidoacetamide を用いてアルキル化を行なつて、S H基をブロックしたもの (pU-IgG(MM)) について、R F に対する抗原性ならびに補体結合能力を調べた。

その結果、還元アルキル化された pU-IgG (MM) は補体結合能力を失うが、R F に対する抗原性は保持されることが明らかとなつた。したがつて、われわれが当初目的とした抗原の性質が変性 IgG を還元アルキル化することによつて得られ、これを用いて後記の実験を行なつた。

2) R F について

R F を純粹に特異的に精製することは、いまだ困難

である。そのため、今回は、リウマチ反応陽性血清を sephadex G 200 によつて 19S (macroglobulin, IgM), 7S (IgG), albumin の各 fraction に分けたもの、および、変性 IgG を抗原としてリウマチ反応陽性血清と反応させ、pH を酸性にすることによつて反応した RF を解離させたものを用いた。後者は RF の特異的精製を目的としたものである。

このおのこの preparation についても、補体結合能力はほとんど認められなかつた。

1) pU-IgG (MM) と RF との補体結合反応

pU-IgG (MM) の希釈列ならびに RF の希釈列、補体としてモルモット新鮮血清を加え、その後 E A を加えて補体結合反応を行なつたが、pU-IgG (MM) および RF 単独、ならびに両者を加えたものでも、反応は認められなかつた。

2) pU-IgG および pU-IgG (MM) を抗原とした場合の、RF との凝集反応ならびに溶血反応

pU-IgG および、pU-IgG (MM) をおのこの抗原として、タンニン酸処理ヒツジ赤血球に感作し、それにリウマチ反応陽性血清またはその分画を加えて凝集反応を行ない、さらに補体としてモルモット新鮮血清を加えて溶血反応を行なつた。

結果は、pU-IgG ならびに pU-IgG (MM) を抗原とした場合、両者とも Rose 反応と平行して強い凝集反応を示した。一方溶血反応は、pU-IgG がそれ自身で補体を結合するために、感作量を段階的に減じても (64~18u/ml) ほとんど完全な溶血反応を示す。これに反して、pU-IgG (MM) を抗原とした場合には、抗原の感作量を減ずると、溶血反応は極端に低値を示すようになる。このような結果から、RF は一般的には、補体を結合しないとつてよいが、弱いながらも受身の溶血反応がみられた点からは、全く補体とは無関係であるとはいへない印象を得た。

次に興味あることは、このような溶血反応においては、リウマチ反応陽性の濃度の濃いところでは、溶血阻止活性がみられたことである。この溶血阻止活性は、sephadex で分けた範囲では、19S fraction には認められず、7S fraction に認められた。また、加熱変性したヒト変性 IgG を抗原として特異的に精製した RF では、この抑制はきわめて弱い。このことは、リウマチ反応陽性血清の示す溶血阻止性が、少なくとも主たるものは、IgM RF には存在しない可能性を示唆している。

29. SEL の補体

岡山大学医学部第三内科

森田 実, 西下駿三, 天野哲基
大藤 真

40例の SLE について CH50, C1, C4, C2, C3, β_2C/β_2A globulin, C3 inactivator を測定し、臨床症状、検査成績との相関性を検討し、合わせてステロイド治療の CH50におよぼす影響を検討した。また低補体価の原因を究明する目的で血清の抗補体作用、DNA, DNA抗体価を測定し、それらが CH50に及ぼす影響をおよぼしているかを検討した。 β_2C/β_2A globulin は Hyland 社製の immunoplate を用い、DNA, DNA抗体価の測定にはジフェニラシン法、アクチノマイシンD法を用いた。抗補体作用の測定は Levine の micro complement fixation test を modify し測定した。各種膠原病中 SLE の CH50はもつとも低値を示す。特に急性期に著明である。蛋白尿との関係は1日50%以上の群はそれ以上の群に比べて低値を示しLE細胞陽性群は陰性群に比べて低値を示した。

抗核抗体の staining pattern の関係では CH50は shaggy pattern < diffuse pattern < speckled pattern の順であつた。抗核抗体価と CH50, DNA抗体価と CH50の相関係数はそれぞれ0.60, 0.52であつた。また血中DNAと CH50は相関を認めなかつた。

補体分画では急性期 SLE は C1 を除いていずれも極度に低下し特に C4 の低下が著明、 β_2C/β_2A globulin は寛解期には正常値を示すものが多いが急性期には全例低下を示し活性の低下と並行した。次にステロイド治療による CH50, 各分画の変動を他の血清学的検査成績の推移と対比してみると各種検査成績の改善より以前に補体活性は反応して上昇する。しかし正常値に回復するまでには4~6カ月のステロイド治療を必要とする。次に CH50と56° 30非働化後の血清の抗補体作用との相関性はない。SLE の血中DNAが抗補体作用の一因となっているかどうかを検討する目的で56° 30非働化血清に DNase 処置を行なうと抗補体作用の減少する例が多くみられた。血中のDNA量と DNase 処理による抗補体作用の減少との相関性を現在検討中である。

横張

DNAと抗DNAは血清中で共存するのか、共存するとすれば、結合した状態か、いずれにせよDNAが存在する血清に標識DNAが減ることにより抗DNAを測定

しているが、それはいかにして可能であるか。

森田

DNAと抗DNAは共存するか結合しているかは不明である。血中にDNAが存在する場合、標識DNAと競合的に抗DNA抗体と反応してもさしつかえないと思う。

園崎

SLEでは急性期だと否とを問わず、一般にC3活性に対する β_2C/A 蛋白質量の割合が、正常者より高いといつてよいか。

森田

SLEではC3活性は低下例が多く、 β_2C/β_2A 蛋白質量の割合が正常者より高いといえるが、推計学的にはまだしていない。

30. 自己免疫性溶血性貧血における補体—補体阻害系

九州大学医学部第三内科

酒井好古, 尾木幸八, 小鶴三男
榎屋富一

九州大学医学部心療内科 手嶋秀毅

自己免疫性溶血性貧血における補体系の特徴は血清補体活性が低値を示すことである。同症における自己抗体による感作赤血球に補体系が動員されることが、補体活性の低下の主因であると理解されている。今回細胞への補体の動員の他に、血清中の補体阻害系または抗補体物質が存在し、それが低補体血症を招来する可能性を示唆する成績を得、その物質の本態をより明らかにすること

およびその病像成立における意義について理解を深めるための作業の中間報告的データを示す。対象とした症例は網状赤血球増加を伴う貧血、骨髓赤芽球過形成、黄疸、尿便中ウロヒリノーゲン増加、haptoglobin, hemopexinの減少、PID T/2短縮、%RC Ut亢進、 ^{51}Cr 標識赤血球寿命の短縮を示す定型的な溶血性貧血であり、赤血球はcoombs試験陽性から赤血球はanti μ , anti γ , anti κ , anti λ のいずれかと凝集を示す自己免疫性溶血性貧血である。

自己免疫性溶血性貧血はいずれも低補体血症を示し、5例中3例はIA活性低下、3例はC1活性低下を示した。2例では赤血球結合性C1が証明され、1例はanti β_2C 血清で凝集したことは同赤血球溶血機序、補体系が動員されることを示している。C1 inhibitorは1例で明らかに高値、C3 inactivatorは1例が高値、2例がnormal rangeである。抗補体活性は3例のうち2例に明らかに認められた。C1 inhibitorはSLEの場合と同じく高値、C3 inactivatorは高い活性を示すSLEに比して溶血貧では正常域にある。

抗補体活性は自己免疫性溶血性貧血、汎発性紅斑性狼瘡、鞏皮症、潰瘍性大腸炎、胃癌で高値を示し、急性肝炎、慢性肝炎、肝硬変症においても認められる。気管支喘息15例中、4例は抗補体性を示し、9例には認められず、2例は補体活性のaccelerateが認められた。

自己免疫性溶血性貧血例の血清をsephadex G200のゲル濾過をおこなったところ、7S分画に強い抗補体活性を認めた。