

第 7 回 補 体 シ ン ポ ジ ウ ム
予 稿 集

於 石 川 県 立 社 会 教 育 セ ン タ ー
(金 沢 市 本 多 町)

昭 和 4 5 年 6 月 1 2 日 ~ 1 4 日

1 2 日 1 3 : 0 0 - 1 7 : 0 0 (P . 1 ~ 1 1)
1 3 日 9 : 3 0 - 2 1 : 0 0 (P . 1 2 ~ 3 1)
1 4 日 9 : 3 0 - 1 3 : 3 0 (特 別 シ ン ポ ジ ウ ム
「 拡 体 の 構 造 と 補 体 結 合 性 」 P 3 2 - 5 2)

1. 演題(邦文) 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

(英文) Low activity of serum complement in patients with atopic diathesis

出題者名(ローマ字併記) 河島敏夫, 橋山文男, 直る志
 TOSHIO KAWASHIMA FUMIO YOKOYAMA MAKOTO MAYUMI
 津田文男 * 山田孝吉 岡根輝彬 **
 FUMIO TUDA KOUKICHI SIMADA TERUAKI SEKINE

所属機関名 都立大久保病院*

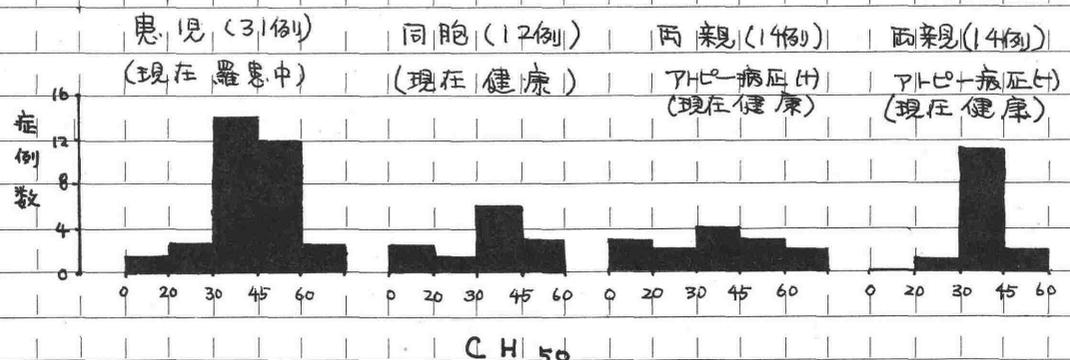
国立ガンセンター ウイルス部**

临床上人血清補体価(CH50)の測定目的の大部分は、CH50の低下を見出すことによる抗原抗体反応の確認であった。しかし Donaldson, 鳥巣ら, その他の報告をみるに及び、抗原抗体反応と関聯のない低補体価血清症例が次第に明らかになってきた。

今回われわれはアトピー性皮膚炎^{皮膚炎}児の母親で、現在健康である者に低補体価血清例を見出し、この低下につき過去の罹患疾患、Tub-R異常等との関係につき検索した。しかしこの低補体価と過去に罹患した疾患や、Tub-Rとの関聯性は全く認められなかった。本例では3人の子供がいずれもアトピー性疾患(皮膚炎及び鼻炎)に罹患していた。そこで特にアトピー性皮膚炎児及びその家族31家系71例につき、CH50, AH50, C1, C4, C3値等を測定した。その結果補体価(CH50)は表の如く、(1)患児31例では一般に高値を示すが、時に異常低値(20 CH50以下)または異常高値(60 CH50以上)も見出した。(2)同胞12例では異常低値2例を認め、(3)患児の両親でアトピー病歴(+)⁽⁺⁾のもの4例は現在健康であるにも拘らず、正常値は僅か4例で、異常低値3、異常高値2例を認めた。(4)アトピー病歴のない両親4例では異常値を認めず、すべて正常値を示した。また補体成分中では補体価の高値と平行してC4値が変動しているが、C3値や他の補体成分値はそれほどの相関を示していない。このことはアトピー性素因者の補体価の高値は、C4値の変動によつて起ることを示唆している。

以上のようアトピー性素因のある者では血清補体価の異常を示すことが多く、しかも採血時健康でも異常値を示すことが多い。この異常補体価は免疫反応と関係づけて考へることには出来ない。アトピー素因者には補体の生産の異常があるものと考へられる。この補体の生産異常がアトピー性疾患とどのように関聯するか現在検討中である。結論: アトピー性素因者には健康時でも血清補体価の異常を示すものが多く、この補体価の異常は補体生産の異常によつて起るものと考へられる。

アトピー性皮膚炎家系の血清補体価



P.1

2. 演題(邦文) 乳幼児期アレルギー性皮膚炎に伴う補体系の変化
 (英文) Complement in infantile atopic dermatitis
 出題者名(ローマ字併記) ○山本一哉 (YAMAMOTO KAZUYA),
福井啓生 (FUKUI HIRO), 山田純子 (YAMADA JUNKO)
 所属機関名 国立小児病院 皮膚科

目的:

血清中免疫グロブリン, プロテアイン系および補体系の変動をアレルギー性皮膚疾患については、湿疹群に肉芽子の存在をめぐり報告が増加してきている。これらの系は、いざい乳児期より幼児期に到る間に、特徴ある経路の経過を辿るようになる。したがって、この時期の経過の時期に特徴した疾患が示される、これらの系の病態に興味がある。

このアレルギー性皮膚炎は、小児皮膚疾患中で日常最も問題となる疾患であり、しかもその病像が乳児期、幼児期、成人期と加齢と共に変化すること、特徴は異なる。このため各種々の異なり、乳幼児期の本態を成人とは別に検討することを目指した。

方法:

今回は検査の対象を免疫グロブリンおよび補体系とし、免疫拡散法および Mayer 法にて検討した。

結果:

1) IgG は一般に増加の傾向があり、IgM は正常範囲内にある。IgA は 6 未満の患児では、増加の傾向がある。

2) 血清β₂C 含量は、健康成人値より増量しているものが多かった。

3) CH₅₀ の低下があり、補体系各成分では C₄ よりも、C₃ に低値が認められた。C₅-C₉ は正常であり、また、C₃ inactivator も正常であった。したがって inactive form C₃ の増量が推定される。

P.2

3. 演題(邦文)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

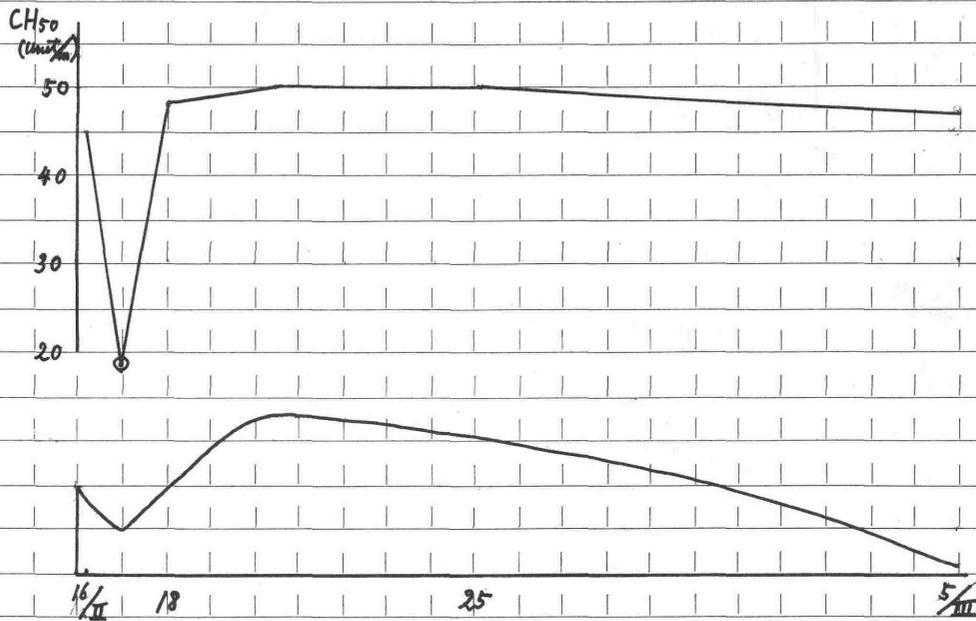
(英文) Complement in serum of patients with allergic disease in skin.

出題者名(ローマ字併記) 横山文男 河島敏夫 津田文男
 Fumio Yokoyama Toshi Kawachima Fumio Tsuda.
 嶋田孝吉* 宮沢政栄
 Kohkichi Shimada Masao Miyazawa.

所属機関名 都立大久保病院皮膚科.
 * 国立がんセンター がん部

我々は、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IAs₅₀及び補体成分値(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、炎症発現直前或は、炎症初期に低く、炎症の増悪して行くにつれ上昇し、炎症極期には、正常より高値を示す。炎症の軽快とともに正常値に戻ると云う 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、一般に血清補体価は、高値を示すか、軽快につれて漸次正常値に復帰する。発作を繰返した症例で、左またま発作直前に測定し得た症例では、図の如く、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及びC₃系系の動態を調べ、上述の推論の正しいことを証明し得たので報告する。

結節性紅斑症例 30才 男



4. 演題(邦文) 2,3の皮膚疾患における血清補体価とキニン様物質

(英文) Relationship between serum complement level and kinin-like substance in a few skin disease

出題者名(ローマ字併記) 白石 聡 (Satoshi Shiraishi)

重見文雄 (Fumio Shigemi) 武田克之 (Katsuyuki Takeda)

所属機関名 徳島大学医学部 皮膚科学教室

アレルギー性皮膚疾患の発症には、抗原・抗体反応のみならず、補体系、酵素系などが複雑にからみあった結果と推察されるが、その詳細は明確にされてはいない。しかし、補体の分解・精製が進むにつれ、抗原・抗体結合物に反応する態度、その際、補体成分が fragmentation されて polypeptide が作られ、これが炎症をひき起こす mediator として働くことが明らかにされている。とはいえ、これらの実験の多くは、in vitro で行なわれたものであり、in vivo で、とりわけ症状と平行して検討された例は少ない。演者らは、皮膚疾患の経過とともに、血清補体価 (CH₅₀) と補体成分力価を測定してきたが、補体成分から polypeptide が遊離されるならば、それが血中に増加し、補体価との平行関係がみられると推測し、両者を測定して興味ある知見を得たので報告する。

方法: CH₅₀ は Malyer 法で求め、補体成分力価は Nelsone の方法を用いて、Mibro-titer で測定した。キニン様物質は、ラット子宮筋を使用し測定したが、血清の前処置はしていない。

結果: 全身性皮膚疾患の CH₅₀ は、多くの場合、正常値に比して高く、とくに、じんま疹のように、症状が経時的変化を示す疾患では、その日差変動も大きい。S.L.E. では、発作前、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、キニン様物質と CH₅₀、補体成分との関係は図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った自家感受性皮膚炎症例では、キニン様物質の変動も見られなかった。

以上、少数例ではあるが、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、血清を前処置してはいない故、他の物質による子宮筋収縮も考慮せねばならず、また、補体成分より遊離した以外の polypeptide も含まれているから、これらの点を改め、今後、さらに検討をかさねたい。

P.4

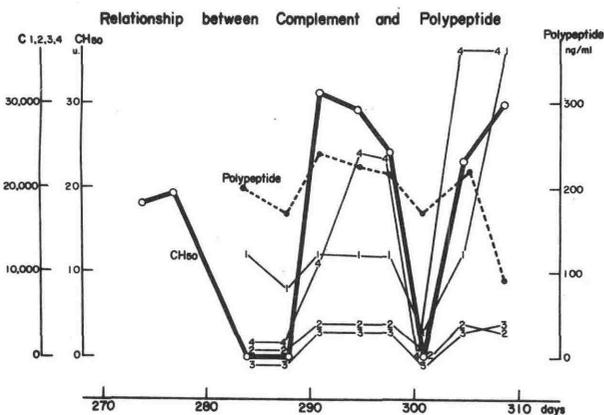


図1

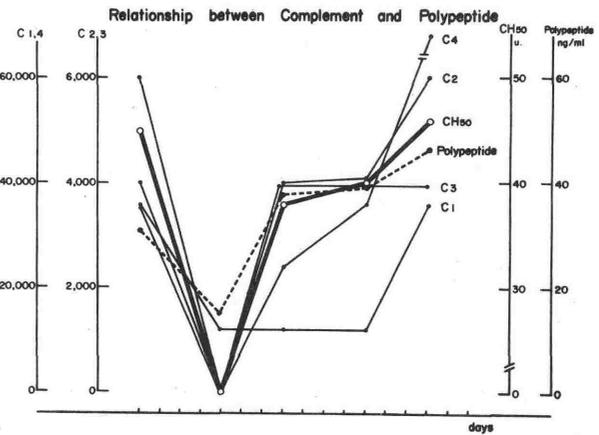


図2

5. 演題(邦文) 汎補体成分の欠損をきたした慢性肝炎の一症例

(英文) A case report of chronic hepatitis with panhypocomplementemia

出題者名(ローマ字併記) 〇佐藤 公身(Masami Sato), 馬場 徹(Tohru Baba)

所属機関名 岡山大学医学部オ一内科

横浜市立大学医学部 皮膚科

目的: 慢性肝疾患において血清補体価が低下する症例がしばしばみられることは演者らもすでに報告している。今回は汎補体成分の低下とC₁-inactivatorの欠損とC₄-inactivatorの出現を一過性に認めた慢性肝炎の一症例について報告する。

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, 入院時所見は特になく, 入院時検査成績としてはS+GOT: 123 k.u., S+GPT: 255 k.u.,

S+B₁: 1.20 mg/dl, Al-pase: 2.4 B.u., S-r globulini: 2.4 g/dl, RAテスト: (+), 膠質反応異常なく, 肝生検による肝組織像はが顕に注として円形細胞浸潤を認め, とくにより境界板の破壊をともなした典型的な慢性肝炎像を示していた。

方法: CH50はMayerの原法にもとづき, 各補体成分およびC₁-inactivator, C₄-inactivatorの測定はmicro-plateを用いて行なった。

材料としては, 本症例について昭和44年1月より昭和45年3月までに8回採血をおこなって, その血清について補体系の測定を検討した。

結果: 血清トランスアミナーゼと血清補体価の間には負の相関がみられた。CH50が極度と低下している時期にはC₁, C₂, C₃, C₅, C₆, C₉とC₁-inactivatorの欠損, C₇の増加およびC₄-inactivatorの出現を認めながら, C₇のみは正常であった。CH50の正常化とともに各補体成分の正常化もみられはじめて, C₁, C₂, C₃の正常化は遅れた。

慢性肝疾患における補体価変動の要因

6. 演題(邦文) — β_{1c} および β_{1E} -globulin の Immunoassay と抗補体作用因子について —
 (英訳) Immunochemical studies of fluctuation of complement activity in serum from patients with chronic liver disease — Immunoassays of β_{1c} - and β_{1E} -globulins and anti-complemental factor (AC) —

出題者名(ローマ字併記)

○ 辻孝夫 (Takao Tsuji), 佐藤昌身 (Masami Sato), 小坂淳夫 (Kiyowo Kosaka)

所属機関名

野崎肇 (Hazime Nozaki)

水野保夫 (Yasuo Mizuno)

岡山大学医学部第一内科

目的: 肝疾患の慢性化に伴う免疫現象が関与するニとほすニ
 に諸家書讀者より報告レシキ。なかニシテ S L E に似た
 全身症状を呈シ、L E 細胞の出現ニシテ、ルボソド肝疾患
 肝疾患の中ニ自己免疫病の頂尖トシテ、補体系ニツイテ
 も、C H 50 の低下、 β_{1c} -globulin の消失等から抗原抗体反応
 による単なる消費等の容易な考え方による報告がみられ
 ず。今回、讀者より以上の免疫現象解析の一環トシテ、
 補体価低下の要因を明らかにするに若干の検討を行
 ったニ報告する。

方法: 材料は岡山大学第一内科に入院中腹腔鏡下肝生
 検をうけ、組織診断のついで慢性肝疾患 25 例と対照ト
 シ健康人 5 例の血清にツイテ以下の実験を行なった。

- 1) micro-plate による C H 50 の測定。
- 2) β_{1c} および β_{1E} -globulin の測定 (抗血清は Hyland 社, Behringwerke 社および国立がん
 中心一鳥柴博士より提供をうけ、immuno-plate は自家製)。
- 3) γG , γA , γM , transferrin および Fab, Fc fragment, L-鎖の
 K 不対 L の定量 (Hyland 社, Behringwerke 社および讀者
 からの報告 (F Heavy-chain 病 Y 蛋白により自家製))。
- 4) 抗補体
 作用因子 (以下 AC と略す) F A B 型健康人血清に補体
 とシ、若患者血清を 56°C, 30 分間処理シ micro-plate
 による測定。
- 5) 抗原抗体複合体の関与を調べるためにオース
 トリン中抗原および抗体 (試薬血清は東大大河内博士の
 提供) の検出を行なった。

結果: ① C H 50 が著明に低下シ 11 例 11 例に
 ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ ㉕ ㉖ ㉗ ㉘ ㉙ ㉚ ㉛ ㉜ ㉝ ㉞ ㉟ ㊱ ㊲ ㊳ ㊴ ㊵ ㊶ ㊷ ㊸ ㊹ ㊺ ㊻ ㊼ ㊽ ㊾ ㊿
 ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ ㉕ ㉖ ㉗ ㉘ ㉙ ㉚ ㉛ ㉜ ㉝ ㉞ ㉟ ㊱ ㊲ ㊳ ㊴ ㊵ ㊶ ㊷ ㊸ ㊹ ㊺ ㊻ ㊼ ㊽ ㊾ ㊿
 ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ ㉕ ㉖ ㉗ ㉘ ㉙ ㉚ ㉛ ㉜ ㉝ ㉞ ㉟ ㊱ ㊲ ㊳ ㊴ ㊵ ㊶ ㊷ ㊸ ㊹ ㊺ ㊻ ㊼ ㊽ ㊾ ㊿
 ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ ⑬ ⑭ ⑮ ⑯ ⑰ ⑱ ⑲ ⑳ ㉑ ㉒ ㉓ ㉔ ㉕ ㉖ ㉗ ㉘ ㉙ ㉚ ㉛ ㉜ ㉝ ㉞ ㉟ ㊱ ㊲ ㊳ ㊴ ㊵ ㊶ ㊷ ㊸ ㊹ ㊺ ㊻ ㊼ ㊽ ㊾ ㊿

Table 1. Results of Immunoassays and Anti-complemental Factor

Case	Diagnosis	CH50	γG	γA	γM	β_{1E}	β_{1C}	Tf	AC	Au-1 antigen
Ni, T.	CH(IIB)	14	1500	190	140	20	58	230	9	(-)
Ku, A.	CH(IIAe)	14	1550	130	130	31	64	330	14	/
Ya, K.	CH(IIAe)	<2	1200	190	105	17	61	260	30	(-)
I, T.	CH(Rec.)	5	1050	380	440	60	75	230	80	(-)
Shi, K.	CH(IIAb)	<2	1250	450	165	44	90	260	30	/
Me, T.	CH(IIB)	2	1100	330	165	32	50	280	30	/
U, T.	CH(IIAe)	14	980	350	480	38	68	290	9	(-)
Ha, K.	LC(B)	<2	1750	90	150	20	44	220	30	(-)
Shi, M.	CH(IIAe)	5	680	155	120	21	58	260	30	(-)
Ku, H.	CH(IIAf)	9	1200	230	330	7	42	200	30	/
Sa, G.	LC(A')	<2	1400	230	280	11	66	320	80	(-)

Normal adults = γG 1193±157, γA 293±82, γM 94±55, β_{1E} 15±4, β_{1C} 51±8, Tf 152±24. (mg/dl)

7. 演題(邦文) 慢性肝疾患における補体成分の研究

(英文) Studies of components of complement in serum from patients with chronic liver disease

出題者名(ローマ字併記) ○ 佐藤 公身 (Masami Sato), 野崎 肇 (Hazime Nozaki), 辻 彦夫 (Takao Tsuji), 小坂 淳夫 (Kiyowo Kosaka)

所属機関名

岡山大学医学部第一内科

目的: 肝疾患における補体価の低下は1953年 Jordan によつて報告された。その後 Mackay と Popper の慢性化における自己免疫現象 ^{self-perpetuation} が唱えられた。従つて、慢性肝炎における補体価の低下も in vivo における抗原抗体反応による消費によるものかと言ふ研究が報告された。不十分である。

今回は、二のよりな肝疾患の補体価の変動が他の疾患と同様の要因に非づくものか、また臨床的に如何なる意義を持つ二のよりのかを探る目的に補体の各成分中 C1-inactivator, C4-inactivator の活性を測定し興味ある成績を得たので報告する。

方法: 研究対象を慢性肝炎57症例(98検体)とし、血清補体価、各補体成分、C1-inactivator および C4-inactivator についで、マイクロプレートを用いて測定を行った。Reagent はヒトおよびウシモルモットを用いたが、二のよりの原因は五ヶ年を要する一ツツ山入部島榮博士研究グループの援助を受けた。

結果: 1) 一般に慢性肝炎では CH50 が低下した二のよりのものがしばしばみられ、肝硬変ではこの傾向が強くなる。2) 慢性肝炎および肝硬変においては、CH50 と各種肝機能検査成績はよく R.A. および γ -globulin とは一定の相関がある。3) 慢性肝炎では経過を観察できた22症例中、CH50 と血清トランスフェリンの活性値が明らかに関係を不有するものが8症例あり。4) 慢性肝炎および肝硬変症の CH50 低下例では、そのほとんどが C2, C4 の低下とみられ、C7, C8, C9 は正常にたまたま低下するものが多い。5) 慢性肝炎および肝硬変症の CH50 低下例の一部のものは C4-inactivator の出現を認められ、二のよりに C1-inactivator の欠損がみられる症例がある。

8. 演題(邦文) 肺疾患における血清補体の変動と肺癌について

(英文) Change of serum complement in Lung disease

出題者名(ローマ字併記) Ichita Kawamura, Keitarou Izui, Koshiro Hayata,

河島 敏夫**, 嶋田 孝吉***, 関根 暉彬***
Toshio Kawashima, Kohkichi Shimada, Teruaki Sekine,

所属機関名 * 東京医大外科, ** 都立大久保病院, *** 立カマセンター・心臓部

肺癌, 非癌性肺疾患および他臓器癌患者における血清補体価, CH₅₀, C₁値, C₄値, C₃値を測定した。肺疾患では, CH₅₀, C₄値の高い症例が多く, CH₅₀では, 肺癌 19例中 78.9%, 非癌性肺疾患 20例中 55.5%, また C₄値では, 肺癌 15例中 73.3%, 非肺疾患 18例中 50% に高値と認められた。特に肺癌ではその傾向が著明であった。肺癌の病期と血清補体価との関係を見ると, 病期の進展にともない血清補体価が上昇し, 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, および非病巣部の肺静脈血清中の補体の変動を見たが, その結果, 病巣部では, 肺動脈血清補体価に比して, 肺静脈血清補体価は低値を示し, 更に病巣部と非病巣部の静脈血とでは, 病巣部の血清のものが補体価が低かった。このことから, 肺病巣部では補体が消費されているものと推定された。肺疾患における血清補体価の高値は, この結果より, 肺局所での産生によるものとは考えられない。他の臓器における補体産生増加につき, 現在検閲中である。

9. 演題(邦文) 胃疾患と補体について

(英文) Gastric Diseases and Complement

出題者名(ローマ字併記) 関野 壯 谷本 潔昭

Takeshi Sekino Kiyooki Tanimoto

所属機関名 東京大学医学部 物療内科

〔研究目的〕

悪性貧血においては、自己抗体の証明がすでに幾多の方法で行われており、萎縮性胃炎も同様な見地からの試みが行われてゐる。そこで萎縮性胃炎をはじめ、他の胃疾患(表層性胃炎、胃潰瘍、胃癌など)において、抗胃抗体(その中でも補体結合性抗体)と補体との関連につき、比較検討した。

〔研究方法〕

対象はすべて胃シ線検査、胃内視鏡検査を施行したもので、約半数は生検を行った。胃潰瘍は新鮮潰瘍と慢性潰瘍に分けた。

①補体結合性抗体: 血液型O型の十二指腸潰瘍患者の胃切取により得た胃粘膜を抗原とし、対象患者血清との反応をMicromethodにより補体結合反応を行った。

②血清補体価: Mayerの50%溶血法により測定した。

③胃組織のC₃結合能力: Biopsyにより得た胃粘膜を細切、homogenizedし、この組織液に同一患者の新鮮血清を作用させ、洗滌後、西岡等の方法に従って測定した。

④抗β₂Cによる蛍光抗体法: 胃組織におけるβ₂C存在部位をみるため、FITC標識抗β₂C血清を作用させ、Biopsyで得た胃粘膜の凍結切片を処理し、観察した。

〔結果〕

①補体結合性抗体: 血清稀釈8倍以上を陽性とするとき、萎縮性胃炎、胃潰瘍では正常と比較して、明らかに高い陽性率を示した。

②血清補体価: 萎縮性胃炎は正常例と差がなく、胃癌が最も高値を示し、ついで新鮮潰瘍が高く、慢性潰瘍は低値を示した。

③胃組織のC₃結合能力: 正常例と比較し、萎縮性胃炎、慢性潰瘍では高値を示した。

④抗β₂Cによる蛍光抗体法: 幽門部粘膜では蛍光陰性で、胃底腺部において蛍光陽性を認めた。萎縮性胃炎、胃潰瘍において陽性率が高かったが、主細胞、壁細胞のいずれにも蛍光を認めないので検討中である。

P.9

10. 演題(邦文) 各種腎炎における血清補体価

(英文) Serum Complement Levels in Nephritis

出題者名(ローマ字併記) 倉田 要* (Kaname, Kurata.) 大久保 充人* (Michihito, Okubo.) 河合 清隆** (Kiyotaka, Kawai)
 田村 寿夫* (Toshio, Tamura.) 井垣 嘉之* (Yoshiyuki, Igaki) 丸茂 菊男* (Kikuo, Marumo) 浅野 誠* (Seiichi, Asano) 宮沢 政栄*** (Masue, Miyazawa)
 所属機関名 * 慶応病院内科 ** 慶応病院耳鼻科 *** 大久保病院

<研究目的> 各種腎炎の発症、遷延、増悪又は治療の機序を補体の面から追求したい。

<研究方法> 急性腎炎、慢性腎炎、ネフローゼ症候群(以下、ネ症候群)、及び全身性紅斑性狼瘡(以下、SLE)の患者の血清について、~~Mayer~~の方法により、CH50、C1、C4を測定した。

<結果> 1) 各種腎炎におけるCH50; 急性腎炎初期では極めて低値、SLEではやや低値、ネ症候群では一般に高値を示した。SLEにおいて高値を示した例は全て非活動期のものであった。ネ症候群において非常に高い値を示した2例はいずれも、ステロイドが著効を示した例で、利尿期に測定したものである。(表1図)

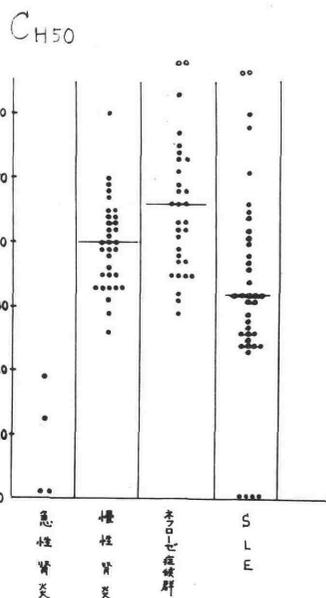
2) 各種腎炎におけるC1; SLEでは低値を示すものが多い。急性腎炎では1例であるが、CH50が低値を示しているにも拘らず、C1は正常値を示していた。(表2図)

3) 各種腎炎におけるC4; CH50と大体同じ傾向を示しているが、急性腎炎の1例において、CH50は極めて低値であるのにC4は正常値を示していた。(表3図)

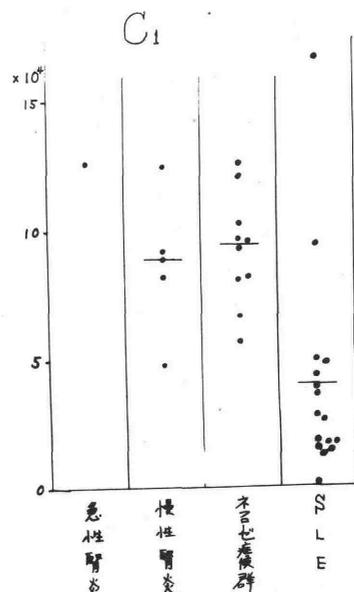
4) CH50とC4について経過を追ったSLEの症例を挙げてみる。症例1; ステロイドの大量療法で軽快した症例であるが、CH50が37uに回復した時期においてC4はまた3.7%と低値を示していた。(表4図) 症例2; 発病は昭和41年7月で、以後ステロイドにより軽快。ステロイド減量すると再発する状態をくり返している症例であるが、CH50は正常範囲にあった時期にもC4はかなり低値を示したものである。(表5図) 症例3; C4の回復が前二者に比し早い症例。但し、抗核抗体が証明されていない。SLEとするにはやや疑問のある症例である。(表6図)

5) 急性腎炎の症例で、現在経過を追っている症例についてもCH50と~~血清補体成分値~~補体成分値の変動を検討する予定である。

P.10



<表1図>



<表2図>

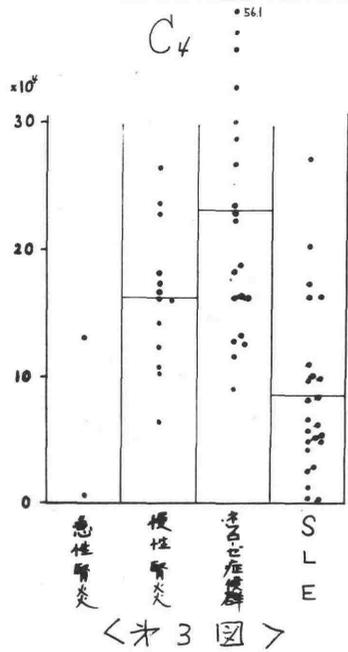
10. 演題 (邦文) 各種腎炎における血清補体価 (続)

(英文)

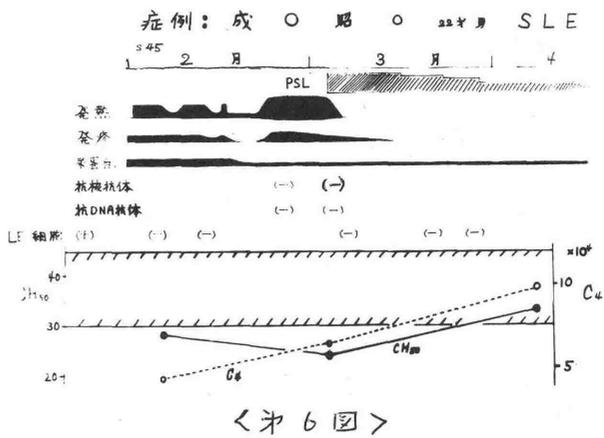
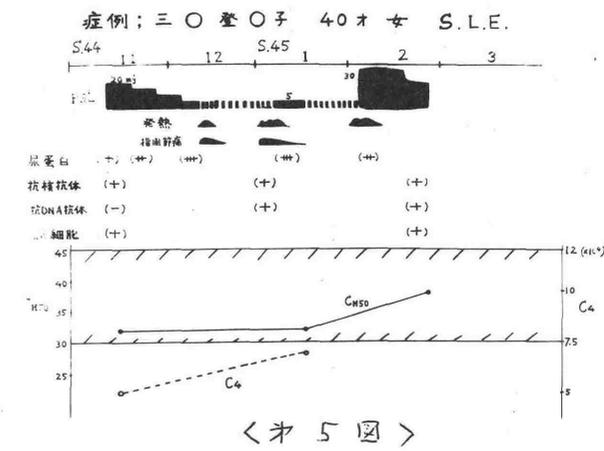
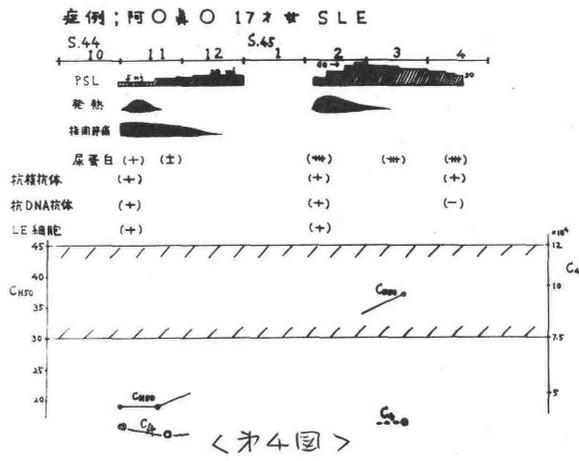
出題者名 (ローマ字併記)

所属機関名

Blank grid for writing answers.



Blank grid for writing answers.



11. 演題(邦文) モルモット補体第一成分の多様性

(英文) Various State of the First Component of Guinea Pig Complement

出題者名(ローマ字併記) 奥田 智子 (Tomako Okuda)

所属機関名 国立がんセンター研究所, ウイルス部

目的

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)上の電気泳動によって三つのバンド(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Cl精製の条件, 保存時間, 化学試薬, 泳動条件によって変化する。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って, gpC1の性質, 特にそのsubcomponentの性質を明らかにしようと試みた。

方法と結果

血清を3容の水で希釈し pH 7.5で euglobulin fraction を沈殿させることにより得られた gpC1 は PAAゲル上で S, Mバンドのみで Fバンドは見られなかった。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 gpC1 は, 最初から S, M, Fの三つのバンドが見られる。メルカプトエタノール, PCMB, LiBr, エチレンジアミン, EDTA 等と作用させても PAAゲル上で大きな変化は見られなかったが, 尿素, SDS, あるいは DDC と作用させると S, Mバンドが消失し, Fバンドが強くなる。Fバンドは更に三つに分れる。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 (0.08) である。gpC1 を DDC および EDTA で処理した後, セファテックスクロマトグラフィー, ギーン電気泳動, 密度勾配超遠心によって F3 を単離した。同様に gpC1 を低いイオン強度 (RSIC=0.04) の Veronal Buffer に透析した際の上清を DDC, EDTA と処理したところから 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, 溶血活性は示さなかったが, 抗Cl抗体と反応する沈降係数 1.5 のタンパク (g') を得た。F3 に g' と作用させると PAAゲル上で新たなバンド (Rf=0.31) が M 領域に生じる。g' は抗Cl抗体の Cl 溶血阻害作用を阻害するもので, gpC1 の溶血に関与する構成因子の一つと考えられる。

1.3% のキャリヤーアンプルライトを含む PAAゲル上で electrofocusing を行おうと, 血清蛋白を極めてよく分離できることがわかった。F-F と之はモルモット血清の場合, β PIB で染色後 20本の線が認められた。この方法で gpC1 を泳動した後, EAC4セルを重層してゲル上の Cl の溶血活性をみるに当たり, 適当な pH 範囲 (5.4~5.7, 6.4~6.7) に活性が見られた。

P.12

12. 演題(邦文) C₁I及C₁Sを非特異的に結合した羊赤血球の溶血に関する研究(続報)

(英文) Hemolytic Behavior of Sheep Erythrocytes Non-Specifically Coupled with Human

出題者名(ローマ字併記) 上野美智子(Michiko Ueno) O 永木和義(Kazuyoshi Nagaki) C₁I and C₁S

稲井真弥(Shinya Inai)

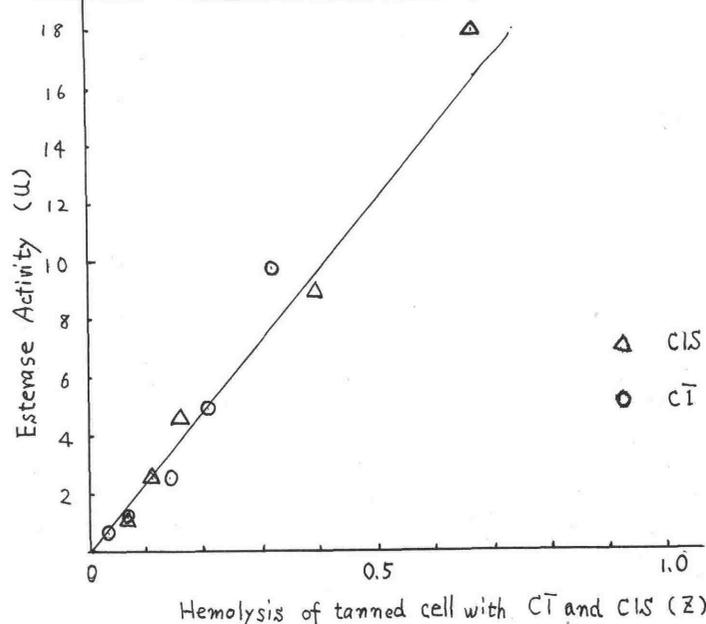
所属機関名 大阪府立成人病センター

(目的) 一昨年、日米補体セミナーにおいて稲井らは、CrCl₃を介して、C₁Iを非特異的に結合させた赤血球ECIはC₁H、C₁Z、C₁EDTAを、順次加える事によつて溶血する事を報告した。この中でECIが63%溶血を示す為には、cell当り、200 μg mol.のC₁Iが必要である事を述べた。又、昨年、補体シンポジウムにおいて、永木らの方法で作製したC₁Sをタンニン酸処理によつて結合させたETAC₁Sも残りの他の成分を順次反応させる事によつて溶血し、しかも、赤血球に結合させるC₁Sの量が非常に少く、この事を報告した。C₁Sの場合に比較してETAC₁Iが、同一の溶血活性を示す為には、大量のC₁Iを結合させる必要がある事の原因について検討した。

(方法) 羊赤血球のタンニン酸処理、タンニン酸処理血球(ETA)へのC₁I及C₁Sの結合、Normal Antibodyを含むC₁I及C₁Sの精製法は、前回の通りである。Esterase活性は、Robertsの方法を若干変更した、EPIS TAME 或いは、ATEeと、C₁I esteraseとを反応させた後、残った基質をhydroxylamineと、NaOHの存在下で、結合させ、更に酸性で、塩化銅=鉄で発色させた方法である。

(結果) 1. タンニン酸によるC₁I及C₁Sのinactivation
ETAとC₁I或いは、C₁Sを作用させた後、遠心し、その上清中のC₁I或いは、C₁SとETAに付したC₁I及C₁SをEAC₁にtransferさせたものを合計すると、inputの量に比べて、C₁Iは、約90%、C₁Sは、約75%が、破壊された。2. ETAに、結合させて、同一溶血を得る為には、溶血活性より見たC₁Iの量は、C₁Sに比べ、約9倍必要とし、この差は、上記の破壊のみでは、説明できない。そこで、次に、C₁IとC₁Sの溶血活性及び、エステラーゼ活性を、比較した所、esterase/μ当りのC₁I溶血活性は、C₁Sのそれに比べて約9倍であった。そこでETAにC₁I或いは、C₁Sを結合させた時の溶血を横軸に、加えてesterase活性を縦軸にとると、図の如く、ETAC₁I及ETAC₁Sの二つの直線は、一致した。この事より、ETAに、C₁I或いは、C₁Sを結合させた時の溶血は、C₁I或いは、C₁Sの溶血活性に、等しく、夫々のエステラーゼ活性によつて反比例される事が判明した。

P.13



13. 演題(邦文) C₄不活性化因子の分離精製

(英文) Purification of C₄ inactivating factor from C₄ deficient and Aged sera

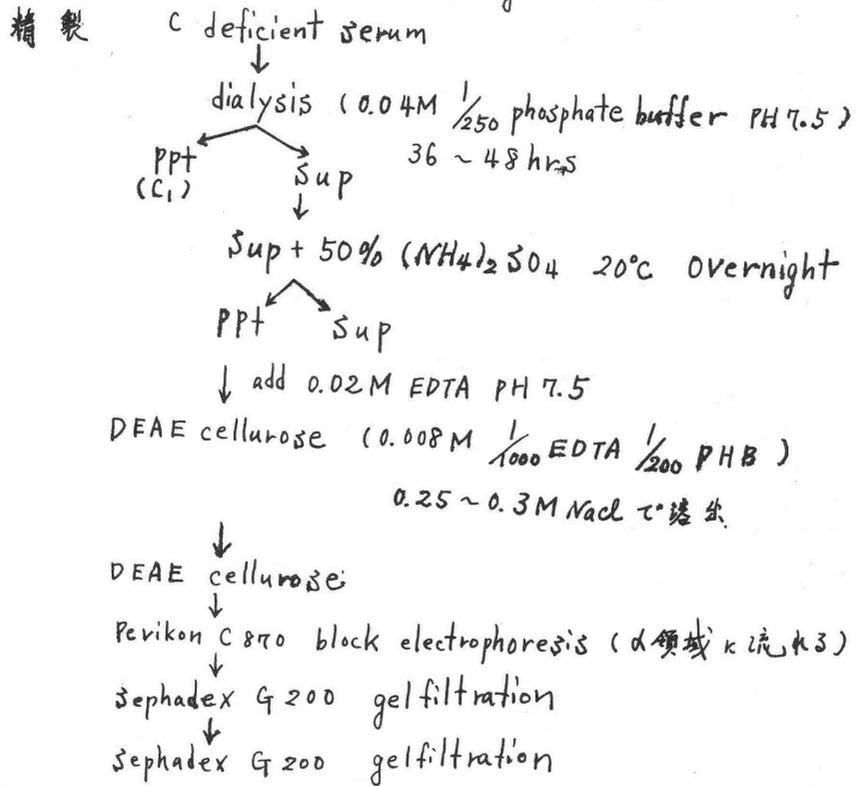
出題者名(ローマ字併記) M. Torisu, M.D. H. Sonozaki, M.D. T. Baba, M.D.

¹鳥巣要道 ²園崎孝吉 ³馬場敬

所属機関名 1. 国立がんセンター 2. 三井記念病院 3. 横浜市大皮膚科

新しい補体成分欠如血清として我々が発見したC₄成分欠如血清(C₄ deficient human serum)は新鮮血清の時に、C₄成分の溶血活性を全く有せずCH₅₀, 及びIA₅₀も全く示さない。このC₄ deficient human serumの一つの特異的性質として人血清より精製した補体成分C₄を、C₄ deficient serumに加えると短時間の内に加えたC₄の溶血活性を失わせる事実に気付いた。この事は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起きる現象でありこの因子を精製分離する事は生体内における補体の役割を解明する上の一の手掛になるのではなからぬと考へた。

材料: C₄ deficient serum, Aged serum



P.14

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45である。又56°C 30分の加熱によりその活性を失うが56°C 2分では安定である。EA₄⁴⁴ cell 又はEA₄^{3P} cellに作用しC₄ Ca-Complexを作る作用があるがEA₄ cell形成能力は同じでない。電気泳動的にはα領域に移動度を示しその補体学的性質は永木, JHoudが最近人血清より分離したC₁sときちめて近似するものである。

又我々は5年前集団横断の際集めた正常人血清, 補体価(当時25CH₅₀~50CH₅₀, 6000IA₅₀~12000IA₅₀, RFA+)を-10°C~-20°Cに5年間保存したものの溶血活性が全く失われ水に沈める事実に気付き補体成分測定の結果C₄の溶血活性が全くない事を確かめた。この血清より同じくC₄不活性化因子を取り出した。この事は血清の補体価が採血後時間と共に低下する機序の解明に役立つであろう。

演題 (邦文) C4成分不活性化因子とCISについて

(英文) Relationship between C4 inactivating factor and CIS

出題者名 (ローマ字併記) 島原要道 永不和義, 稻井真彦, 園崎秀吉
島崎淑

所属機関名 国立公衆衛生院, 大阪成人病センター, 三井記念病院
横浜市大付属科

補体成分C4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)は補体成分C4成分の溶血活性を失わせしめその作用を有する。一方EA4 cellはvC2に作用してEA42 mitEを形成する能力を有する。この点から、現在因子C4 inactivatorとして報告されたものは

- 1) Klein 等の毛ル毛ツト血清 euglobulin 分画に存在するもの
 - 2) Jensen 等のサメ血清 euglobulin 分画にあるもの
 - 3) 島田等の毛ル毛ツト血清のC4精製過程から見出されたもの
- 1)はvC2)はC1とほぼ全く別ものものと述べ、3)は區別がつかないものと述べている。

一方C7はEIDTA存在下にはC1q, C1r, C1sより成る事が1963年Lepow等により報告された。それ以外の成分の物理化学的又は病態生理的意味の解明に多くの研究者の努力を要している。1969年に創り共同研究者の一人である永不和Stroudと一緒に人血清C1sの物理化学的性状を追求、量電泳泳動的に補体因子の純粋なC1sを分離する事に成功した。

P.15

この時点に於て我々のC1sはvC4 inactivating factor (C4INF)の因子の同定に成功する事に成功した。この重要な点から考察する。この結果以下に示す事実から、C1sとC4INFは全く異なる能力を有する事が明かされた。

- 1) EA4 cellはvC2に反応してEA42 mitEを形成し得る。
- 2) 単独ではEA4 cellは作用し得ない。
- 3) DFPに反応して感受性がある。
- 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に反応する電泳泳動度を変化せしめる。
- 8) 56°430分不活性を失わす。
- 9) 抗因子に於てAntiC1sに於ては反応しない。

この他に示す事実よりC4不活性化因子とC1sは多少の共通の性状を有する物であると考察された。

16. 演題(邦文) マウス補体第三成分の分子構造

(英文) Molecular Structure of the Third Component of Guinea Pig Complement

出題者名(ローマ字併記) 鈴木郁男 岡田英親 高橋 聡 高橋 博信 西岡 久寿弥

Ikuo Suzuki Hidechika Okada, Sei Takahashi Masinobu Takahashi Kuzuya Nishioka

所属機関名 愛知カンセン-研究所超微形態学部

国立カンセン-研究所ウイルス部 金沢大-癌研分子免疫部

高分子物質(酵素系抗体のウイルス粒子など)の分子構造の研究には電子顕微鏡が有用な知見を深めている。補体は多成分からなる特異な chemical effector system であり、補体成分相互間の作用機構について知られることが少ない。最近我々は高純度の GPC3 の標品を得たのでこれに基づいて電顕的観察を行い知見を得たので報告する。GPC は DEAE-セルロースと CM-セルロースカラムクロマトグラフによって精製した。精製した C3 は免疫電気泳動上で抗マウス血清に対し、単一の pI の沈降線を示した。I¹³¹ でラベルした同標品を Radioimmuno-electrophoresis で検定したと、99% 以上の純度をもつことがわかった。

電子顕微鏡による観察には、ネガティブ染色法を行った。このネガティブ染色剤には、2% 燐タングステン酸溶液(2% のナトリウムアセテート溶液(それぞれ pH 3.2 及び pH 6.2 までの種々の pH で行った)) 観察は Hitachi 11C 型電子顕微鏡で行った。

ネガティブ染色法で観察した C3 は、ほぼ円形の形態を示し、その直径は 200 Å のものが最も多くみられた。可成りの偏位が認められ、最大のものは 400 Å 程度の類円形を示した。この内部には、更に微細な構造が認められた。即ちネガティブ染色法において、重金属をほとんど排除する 20 Å の実体の集合像が全体として 200 Å のほぼ円形の unit を形成すると思われる像が基本となる。

最近、Malyen は C3 分子をトリプシン処理によっていくつかの subunit に分解し、その分子量 1 万の C3a がアトキシン活性をもつことを報告した。

西岡は C3 の 4 種の subunit を分解し、各々が特有の生物活性を持つことを証明している。トリプシン処理後のネガティブ染色像について観察を加え、このように諸家の結果と我々の形態観察の結果とを対比し、考察を加える。

P.17

17. 演題(邦文) C3 活性に及ぼす Dithiothreitol の作用

(英文) Effect of Dithiothreitol on C3 activities

出題者名(ローマ字併記) 西岡久寿弥, 岡田英親, 山主公子

Kusuya Nishioka, Hidechika Okada, Kimiko Yamanushi

所属機関名 国立ガンセンター研究所

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来ているが、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に似て、長時間観察しなればならぬといふときに問題となり、定量性の面からも、感度の上げからも克服されなければならぬ課題となっている。

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 (C3I) の作用によるものと推定し、限量の C3I で作成した EA-C4-C3 に対し作用して C3 の IA 活性を失活させる C3I の阻害剤を探したところ、最も有効な C3I の阻害剤として Dithiothreitol (DTT) が、1.8 mM で作用するに示唆が判明した。

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来たので報告する。

(1) ヒト赤血球-ウサギ抗体、あるいは Burkitt 培養細胞-鼻咽頭がん血清にヒトあるいはモルモット補体系で Immune Adherence を行うに試みた。Microplate 法で行うとき、抗原抗体結合物を形成させ、補体血清を加えて、37°C で 20~30 分後に、15 mM の DTT を添加、直ちにヒト赤血球を加えて、37°C で 10 分振盪させ、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らず抗体検出の感度も最高値を示した。

(2) DTT と C3I 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、C3I の活性には変化がなかった。また、DTT は EA-C4 cell の C4 site には全く影響を与えない。しかし DTT を EA-C4-C3 と反応させた後、遠心洗浄で DTT を除去してから C3I を作用させると、C3I の EA-C4-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 C3I の不活化作用から防禦するものであることが示された。

(3) EA-C4-C3 上の C3 の溶血活性は、DTT 処理後直ちにアルキル化することによって殆んど完全に失われるが、酸化あるいは PICMB 処理によって溶血活性は、60~70% 回復する。このように DTT 処理によって、C3 の溶血活性や C3I 感受性は顕著な影響をうけるのに対し、ヒト赤血球と IA を起す C3 の活性は、これらの化学的修飾によって全く変化をうけないことが示された。

この事実が C3 分子中の溶血に必要な活性基あるいは C3I 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。

P. 18

18. 演題(邦文) 補体第三成分の産生 1. 蛍光抗体法による観察

(英文) Production of the third component of Complement I Immunofluorescence

出題者名(ローマ字併記) 〇林 皓三郎* 高橋 守信**

Study

(KOZABURO HAYASHI) (MORINOBU TAKAHASHI)**

所属機関名

東大医科研病理* 金沢大がん研分子免疫**

補体成分の産生部位については近年になって活発な研究がなされている。その際に用いられる方法としては、各種組織切片の短期間の培養を行い、培養液に放出されたり組織片の表面に出てくる補体成分の溶血活性の増加や抗原の増加と定量するものであった。例えば Borsosら¹⁾は小腸粘膜が C1 の産生部位であることを報告、一方 Thyrbeck らのゲル-70 は、C₁ アミノ酸の補体分子への取り込みの系統的研究により、種々の組織(マクロファージなど)が補体成分の産生に関与していることを証明している。ところでこれらの方法では何れも産生している細胞の同定が困難であった。われわれは免疫組織学的手法によって補体成分産生の研究を進めているが、現報では蛍光抗体法によってモルモット肝实质細胞が GPC3 の産生に関与していることを認められたので報告する。

抗GPC3 は DEAE-セルロースクロマトなどで精製した GPC3 と家兔に免疫して得た。免疫電気泳動上の抗血清は精製 GPC3、モルモット全血清に対して一本の典型的β₁ 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) 蛍光標識及び¹²⁵I 標識抗体の精製は川村らによって既述されている如く行った。(A. Kawamura, Jr., 編; Fluorescent Antibody Techniques and Their Applications, 東大出版会, 1969)。

P.19

モルモット(純系 Strain 2 及び雑種)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4μの凍結切片をつくり、Acetone 前処理(室温10分)後蛍光抗体(0.3mg/ml)と反応(37°C 1時間)、PBS で洗ったあと蛍光顕微鏡(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、腸粘膜リンパ節のリンパ細胞の細胞間隙が非常にうすく瀰漫性に染まったが、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、皮膚及びその付属器、骨格筋等は全く陰性であった。カゼイン大量腹腔双注入によって集めた多核球、単核球なども陰性であった。反応の特異性は次の諸点について確かめた。1) 蛍光ラベルした正常グロブリン、抗GPC4、抗GPC9 では全く陰性であった。2) 蛍光をラベルした抗GPC3 で反応は完全に阻止された。3) C3 分画中に最も混入しやすき C₁ で肝組織を処理し、蛍光標識抗GPC3 と反応させても、又蛍光標識抗GPC3 と C₁ で吸収して反応させても、肝の蛍光像に変化はなかった。

ところで、蛍光陽性を示したのは肝实质細胞だけでなく、血管周囲の細胞や Kupfer 細胞では陰性であった。陽性細胞は細胞境に顆粒状の蛍光が瀰漫性にみられ、肝实质細胞全体の10%以下であるが、その数は個体によりかなり差がある。あるものは肝小葉及び孤立して存在するかまはな集落をほしきおり、また Glisson 鞘に近い血管周囲に foci をつくりつてゐる。

19. 演題(邦文) 慢性肝疾患における β_c -および β_E -グロブリンの肝組織内局在について

(英文) Localizations of β_c - and β_E -globulins in the liver of chronic liver diseases.

出題者名(ローマ字併記) 水野保夫(Yasuo Mizuno), 平田弘昭(Hiroaki Hirata)

佐藤公身(Masami Sato), 辻寿夫(Takao Tsuji), 小坂淳夫(Kiyowo Kosaka)

所属機関名 岡山大学医学部 第一内科教室

目的: 慢性肝疾患の経過中に高 β グロブリン血症、RA因子、LE細胞、抗肝抗体等の出現とともに血清補体価の変動より、肝炎慢性化に種々の免疫現象の関与が予想される。演者らは前18回日本アレルギー学会等で発表した肝疾患時の免疫 β グロブリン($\beta_A, \beta_G, \beta_M$)の血中量と肝組織内局在に次いで、Müller-Eberhardらの報告したC3及びC4におのおの相当する β_c -および β_E -グロブリンの肝組織内局在を検討した。

方法: 対象は岡大医学部第一内科教室に入院の腹腔鏡下肝生検を受けた活動性慢性肝炎7名、斑状大壊死1名、肝硬変(乙型)1名の各肝組織、また比較として岡大医学部第二病理学教室で病理解剖を受けた胎生34週未熟死産児および脳腫瘍の疑いで検査中死した成人屍体について、おのおの全身臓器を冷エタノールで固定後蛍光抗体用パラフィン切片とした。また家兔抗羊ガンマグロブリンおよびニワトリ抗家兔ガンマグロブリンにfluorescein isothiocyanateを標識し、さらにハイランド社製羊抗ヒト β_c グロブリン血清および国立がんセンターウイラス部の鳥巢博士らに提供を受けた家兔抗ヒト β_E -グロブリン血清を特異血清として蛍光抗体直接法をおこなった。

結果: 活動性慢性肝炎では葉状壊死部および境界層破壊部の変性肝細胞ならぬに膨化組織間隙、小葉内正常肝細胞、 β 単葉内田型細胞浸潤部の組織間隙ならぬにリンパ細胞様構造部の網目状組織間隙、一部の類洞壁に、また斑状大壊死では帯状壊死部の膨化組織間隙、変性ならぬに壊死肝細胞に、さらに肝硬変では小葉及び中心静脈周辺の変性肝細胞、一部の β 単葉延長部組織間隙におのおの β_c および β_E -グロブリンの局在を認めた。なお胎生34週未熟死産児および脳腫瘍の疑いの成人では肝細胞に主として、また脾小節の網目状組織間隙、脾静脈洞にわずかに認められた。しかし前者では心臓、肺臓、脾臓、胃、腸、腎臓、胸腺に、後者では心臓、肺臓、脾臓、甲状腺、胃、小腸、大腸、腎臓、副腎、リンパ節、横紋筋にはおのおの認められなかった。

20. 演題(邦文) ヒト由来株化細胞の培養3液中のC4活性について

(英文) C4 activity in culture media of established human cell lines

出題者名(ローマ字併記) 稲井 真 弥 Shinya Inai

青木 行 俊 Yukiozoshi Aoki, 後藤 田 曉 子 Satoko Gotoda

所属機関名 大阪府立成人病センター

ヒト補体成分の産生細胞に関する研究としては、Stecker
とThonbeckeが、数種の株化細胞を用い、その培養3液中
にβ1c-globulin及びβ1E-globulinが産生されてくることを
Radioimmuno-electrophoresisで証明した研究が主たるものであ
る。しかしながら、彼らの用いた細胞が果して溶血活性
をもつたCB, CAを産生しているか否かについては問題が
残されている。

そこで我々は下の表に示したように、HeLa S3等の8種類
のヒト由来の株化細胞を用い、その培養3液中にC4の
溶血活性が認められるか否かを検討した。

その結果、悪性腫瘍組織由来と考えられる8種類の
monolayer cell lineのうち、HeLa S3とRPMI 3236の両者の
培養3液には明らかにC4溶血活性を認め、他の2種類の
cell line即ちDalsisとKBには全く活性を認めなかった。一
方3種のSuspension cell lineのうち、2つのBurkitt cell line
には全くC4活性を認めなかったが、RPMI 4666では明ら
かなC4活性を認めた。他の1つのcell line ^{RPMI 8226} ~~Suspension~~

の培養状態はmonolayerとSuspensionの中間型を示したがい
この細胞の培養3液にもC4活性が証明された。又これらの
cell lineの培養3液中に証明されたC4活性は、細胞の培
養時間とともに上昇し、又C4活性の上昇は細胞数の増加
とほぼ平行した。この実験結果はこれらのcell lineは
溶血活性をもつたC4を産生し、このC4が培養液中に出て
くることを示唆している。

培養株細胞の由来組織とC4産生能との相関については
未だ確定的な結論を出せないが、形態上も培養条件も全
く同一な3種のSuspension cell lineのうち、Burkitt cell lineの
培養3液中にC4活性を認めなかったことは興味ある事
実と考えられる。

P.21

Cell Line	Origine	Culture Condition	Morphological Appearance	C4 activity
HeLa S3	cervical ca.	monolayer	epithelial	+
RPMI 3236	Hodgkin's disease	monolayer	epithelial	+
Dalsis	osteosarcoma	monolayer	fibroblastic	-
KB	ca. of maxillary sinus	monolayer	epithelial	-
Raji	Burkitt's Lymphoma	suspension	lymphoblastoid	-
HR-I	Burkitt's Lymphoma	suspension	lymphoblastoid	-
RPMI 4666	peripheral blood of CML	suspension	lymphoblastoid	+
RPMI 8226	peripheral blood of myeloma	mixed (suspension + monolayer)	plasmablast like	+

21 演題(邦文) 有茎皮弁の生物学的特性: PCA反応による解析

(英文) Biological Reactivity of pedicle skin Flap and

出題者名(ローマ字併記) analysis by PCA

〇 西園之壽 穂子 (KUSUKI, NISHIOKA)

所属機関名 南 泰 文 昭 (BUNSHO, NANJOH)

虎の門病院 整形外科, 形成外科部門

有茎植皮 (Pedicle Skin Graft) は、形成再建外科領域では、最も頻繁に利用される皮膚移植法である。特に Pedicle-graft は、悪性腫瘍摘出後や、感染を併う広大な開放創、さらには、腱骨組織の露出部位等、recipient の条件の悪い状態で graft を施行せねばならないことが多い。

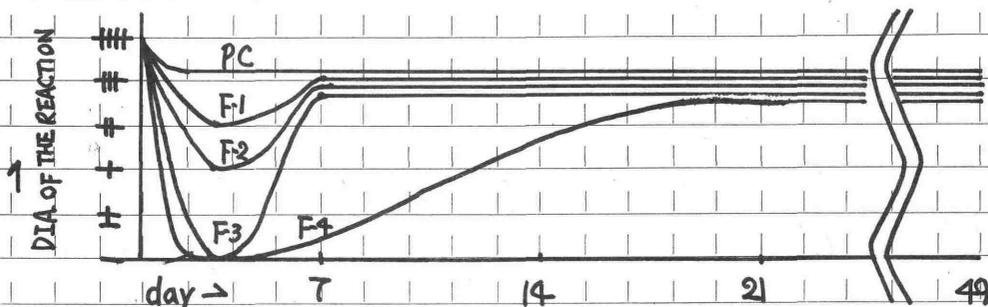
そのため Pedicle Skin Graft に対する基礎的研究、特に生物学的な面よりの Approach が要求されて来ている。従前の研究は主として、血行の再編成に対する形態学的立場、及び皮弁局所の酸素分圧と、生生理学的立場の方法論が主流を占めて来た。

今回、我々は皮弁内の生物学的反応性のアプロローチの方法の一手段として in-vivo にあける免疫反応のである PCA を利用して、一連の興味深い実験結果を得た。

即ち PCA 反応が皮膚組織への Antibody の fixation Block などに併う局所血行の透過性の亢進と、Biological Reaction に起因していることに着目し Pedicle flap 内の免疫反応性の至時的変化を定性、定量的に測定する方法を考案した。

《実験方法》 300~400gr の Hartley モルモトを使用。側腹部に、随所に pedicle を有する 8x5cm の flap を作成。2cm 幅に、flap の尾側に向、2 PCA 反応を施行し、反対側の Control 群と同じ強さに回復して来るのを至時的に観察した。

《実験結果》



PC: POSITIVE CONTROL
 F1: pedicleより 1cm 尾側の PCA
 F2: " 3cm "
 F3: " 5cm "
 F4: " 7cm "

上図の如く pedicle flap が完全に Control group と同じ強さに回復するには flap 作成後、3週間を要した。又3~4日間には flap の PCA が著しく低下するに、これまでの循環動態の研究は、24時間以降から皮弁の血行が回復するとの説とは全く違つた知見を得た。

PCA は免疫反応の組織固定と抗原の反応の二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、抗体に¹³¹I をラベルし、抗原に¹²⁵I をラベルする我々のいわゆる「定量 PCA」法により検討中である。

(英文) Quantitative Passive Cutaneous Anaphylaxis

出題者名(ローマ字併記) 〇 岡田秀親* (HIDECHIKA, OKADA)

西園又寿樹** (KUSUKI NISHIOKA)

所属機関名 * 国立がんセンター研究所内臓部

** 虎の内病院整形外科: 形成外科部門

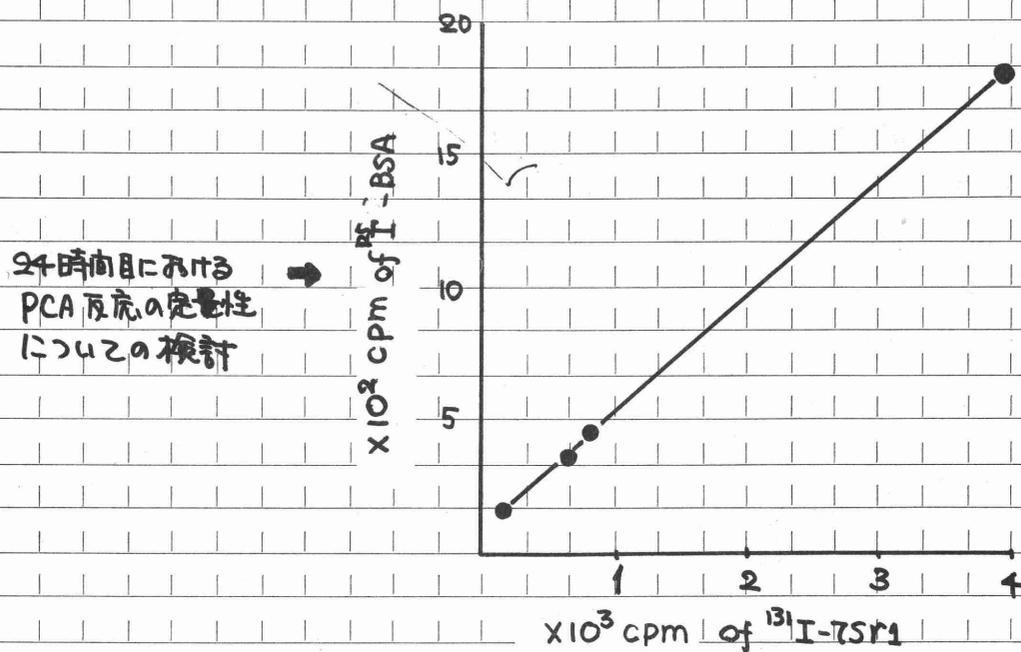
PCA反応は高感度な免疫反応の一つであるが、定量性に若干欠ける点がある。PCA反応のメカニズムの解析への障害でもあった。

今回PCA反応をより定量的に解析する試みとしてRadioactivityを用いる方法を構築した。

抗原抗体系としてはBSA及びHartleyモルモットのantiBSAを用いた。

BSA-Agに¹²⁵IをラベルしたDST, 抗体分画に¹³¹Iをラベルしたモルモットの皮肉で型のDST PCA反応を起こし、30分後局所の皮肉を切り取り、その中に含まれる¹³¹I-Ab, ¹²⁵I-Agのr線計測を2-channelのAuto-rを用いて抗体の皮肉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は部分的に脱落してゆくがPCA反応により局所に滞留する¹²⁵I-BSAの量は8時間〜24時間の間で高直を示した。この結果はこれまでのPCAの報告とほぼ一致していた。抗体注射後、24時間後に抗原を投与した場合について抗体量(¹³¹I-DST)と抗原量(¹²⁵I-BSA)の相関性について検討したところ、図に示す様に直線関係が得られた。

P.23



従ってこの方法により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同着する抗体量の相関性について、必ずしも比例関係を示す場合がある。この中で(時間におよび)皮肉注射をする位置及び他のfactorに関して検討中である。

抗原であるBSAに¹²⁵Iをラベルした上で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、更にモルモットのSerum Albumin (GPA)を精製し、これに¹²⁵Iをラベルした¹²⁵I-GPAを抗原(BSA)に混ぜて静注し、定量的に比較する実験結果を報告する。

23. 演題(邦文) 免疫溶菌による大腸菌菌体成分の変化について

(英文) *Chemical Studies on the damages of Escherichia coli by immune bacteriolysis.*

出題者名(ローマ字併記)

井上公蔵, 高見沢昭久, Kozo Inoue and Akihisa Takamizawa

所属機関名

大阪大学 医学部 細菌学教室

我々は、lysozyme-freeの抗血清及び心補体血清により *Escherichia coli* Bの細胞壁に holes or channels が形成され、それを通じて alkaline phosphatase の如き表面性酵素は菌体外に遊出される。併し cytoplasmic membrane より内側に存在する β -galactosidase の如き高分子物質は遊出されない。併し、底液系に更に lysozyme 又は plakin (phospholipase A) を加えるとこれらの酵素は抗体及び心補体により形成された cell wall 内の channels を通って夫々の基質に達し、lysozyme の場合は micropeptide rigid layer を破壊するに依り spheroplasts を形成し、plakin の場合は cytoplasmic membrane を破壊して rod shape ghost を形成するに依り報告した。今回はこれらの高分子物質の出入りを許す channels 形成に伴う菌体成分の変化を追及するべく次の如き実験を行った。

^{14}C -glucose を含む合成培地に *E. coli* を培養し、本菌に対するウサギ抗血清及び心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析法により追及した。抗血清及び心補体血清は Bentrinite 吸着法により lysozyme を除くものを用い、Serum Spheroplast 形成の為に結晶卵白 lysozyme を添加した。

抗血清及び心補体により 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居る。

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對し 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居り、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) を行い菌体 lipid の分布を知らねると TLC 上2つの新しい spots を与える成分が上清中に出現して居るその一つは遊離脂肪酸に相当し、他の一つは phospholipid に現在固定中である。

Methanol + water phase も濃縮後 TLC 又は 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 形成に伴って増強される。

出題者名(ローマ字併記) 小島清彦* 岡田秀親* 吉田孝人* 西岡文壽弥**
 K. Kajima H. Okada T. Yoshida H. Arishioaka
 所属機関名 * 愛知県がんセンター研究所
 ** 国立がんセンター研究所

免疫溶血反応は種々の免疫反応中最も解析の進んでい
 る分野であり、是れに際しては補体各成分の単離純化も進
 んで来ている。溶血反応は抗体補体の結合により膜に起
 る一連の変化であり、特に補体の結合による細胞膜の物理
 化学的変化を知る事は細胞膜と既知の高分子物質との相
 互作用の解析に役立つのみならず、補体の作用機作の解析
 にも示唆に富んだ資料を提共するものと考へられる。私
 共は以上の観点から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興味深
 い成績を得たので報告する。

実験方法: 羊赤血球(E), 抗体感作赤血球(EA), EAC14, EAC43
 及び精製した各補体成分を用い、

表1に示す如き方法で、各中間細胞
 を作製し、細胞電気泳動時に表層荷
 電を検索した。電気泳動に用いた
 Medium はこの実験系に於て普通に
 使用されてゐる Ca^{++} , Mg^{++} を含む Veronal
 Buffer (イオン強度 0.15) である。測
 定温度は 25° 及び $0.5^{\circ}C$ 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。

(表1)

Preparation of Intermediate Cells

Intermediate cells	Starting cells	Component of complements*	Notes
E	E	—	
EA	EA	—	
EAC1	EA	C1	
EAC14	EAC14	—	Nakabe & Lincent
EAC4	EAC14	—	Treatment with EDTA
EAC142	EAC14	C2	
EAC14 (decayed from EAC142)	EAC14	C2	Incubation at $37^{\circ}C$ for 4 hrs.
EAC1423	EAC14	C2, C3	
EAC143	EAC43	C1	
EAC1423	EAC143	C2	
EAC14235	EAC143	C2, C5	
EAC142356	EAC143	C2, C5, C6	
EAC1423567	EAC143	C2, C5, C6, C7	
EAC14235678	EAC143	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).

P.25

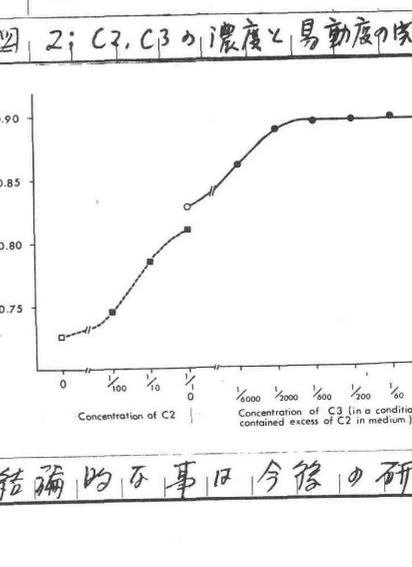
実験結果: 各中間細胞の電気易動度は表1に示した如
 くである。図1は洗水セル30ヶの細胞 (図1: 中間細胞の電気易動度)

を測定し、その平均値を片バツとした
 信頼限界(危険率1%)を表示して
 ある。図に見られる如く、E, EA, EAC1
 EAC14 及び EAC4 の細胞表面の荷電に
 は変化が見られないが、EAC142 及び
 反応が進むと急激に表層の net の陰性
 荷電が上昇し、更に C3 の附加により
 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が
 ある。即ち E+EAC14, EAC142, 及び
 EAC1423+EAC1423... の三群に表層荷電
 の変動から分けられる。この事は
 血球表面の物理化学的性状が (図2: C2, C3 の濃度と易動度の関係)

Mobility of cells ($\mu sec/V/cm$)

Intermediate cells	0.75	0.80	0.85	0.90
E	—			
EA	—			
EAC1	—			
EAC14	—			
EAC4	—			
EAC142	—			
EAC14 (decayed from EAC142)	—			
EAC1423	—			
EAC143		—		
EAC1423		—		
EAC14235		—		
EAC142356		—		
EAC1423567		—		
EAC14235678		—		
EAC142356789		—		
EAC43		—		
EAC43 & (2)		—		
EAC43 & (2,5)		—		
EAC43 & (2,5,6)		—		
EAC43 & (2,5,6,7)		—		
EAC43 & (2,5,6,7,8)		—		
EAC43 & (2,5,6,7,8,9)		—		

C2, C3 の附加により段階的に
 変化を起す事を示している。
 図2は C2 及び C3 の濃度と易動度
 の関係を示すものであり、是れが
 濃度 dependency を有する事が明
 らかである。更に EAC143, 及び
 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
 めると共に、C1 成分が何らかの段
 割を果している事が推定されるが、結論的事は今後の研
 究に待たたい。



(英文) Adherence of HTV carrying cell lines with EA (195) C43 and EA (75)

Nishioka Kusuya Takehiko Tachibana Takeshi Hirayama Masaharu Inoue
出題者名 (ローマ字併記) 西岡久寿弥 橋 武彦 平山 雄 井上 雅晴
Teruaki Sekine Takato Yoshida Mitsuru Takeda Akiyoshi Kawamura Chu-hwa Wang
岡根 暉 林 杉 吉田 寿人 高田 満 川村 明義 王 秋華 G.B. de The'

所属機関名 国立がんセンター 研究所, 愛知がんセンター 研究所, 北里研究所,

東大医学研究所, 国立台湾大学, 国際対がん研究所 (WHO).

Burkitt リンパ腫 (BL) 及 2 上咽頭癌 (NPC) の患者血清は異常に HTV (Epstein Barr Virus 又は Herpes Type Virus) に対する抗体の高濃度を示し、比較血清疫学的知見から、HTV がその病因として有力視され、HTV 含有細胞系がそれぞれ癌組織より培養され維持されて、ウイルス学的、免疫学的に病因究明の材料となっている。

NPC 培養細胞系は de The', 高田, 川村らにより樹立されて来た。現在迄樹立されている BL 細胞系との間に本質的な差を求めるとは、両疾患との病理学的所見との関連 (陳, 劉の suggestion に基づく) 病因究明の基礎的所見として要求されている。

IA Receptor や IgG Receptor が、各種の細胞の immunological marker として用いられて来ているので、その指標による差が両者の培養系細胞に存在するか否かを検討した。

(1) 我々には HTV の存在が蛍光抗体で確認されている NPC の培養系 204 R, 204 M, 204 ~ 208 (台湾), Ly2, Ly11, Ly14, Ly20 (香港), Ly12, Ly13 (P フリカ, ナイロビ) の夫々の細胞はいずれも EA (195) 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 の夫々の代表的な BL 系はこの反応は全くみとめられなかった。NPC と BL の培養細胞系の相違点が明瞭に示された。この所見は又菅野らと平行して行っ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 γ5 抗体の凝血反応至通感作量の三倍量で感作した EA (75) が結合することから、HTV の検出されている P3HR-1, Jijoye, Maku について見出され、HTV の殆んど検出されない Raji についても見出された。この EA-γ5 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って検討した。NPC の EA (195) C4, C3 との反応は、アセトン (50%)、トリプシン (0.2 mg/ml) で除去され、Iodacetamide (0.5 mM)、フェノール (1.25%) で inactivated、正常ウサギ γG で阻止されない。英から、今迄記載されている IA Receptor であると考えられる。

BL 細胞系の EA (75) との反応性は 50% アセトン、フェノールで消失し、Trypsin, Iodacetamide の作用をうけず、正常ウサギ γG で阻止も受けない。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、林らとともに行つた Herpes Simplex He La 系との対比実験の結果示されて来た。

26. 演題(邦文) リウマチ因子の補体系に対する影響

(英文) Influence of RA factor upon Complement System

出題者名(ローマ字併記) 松浦美長雄, 園崎香吾, 馬場信敬, 鳥巣要道

M. Matsuura, M.D., H. Sonzaki, M.D., T. Baba, M.D. and M. Torisun M.D.

所属機関 整形外科, 種痘部内科, 国立大医学部, 儿科学科

Romyer等は Anti-pennitiger (ウツギα-グロブリン) に対する抗体をト抗(補)のセルをト補体系の溶血作用を抑制する事。又人内血清に於ては、抗Cトα-グロブリン抗体と考之し、リウマチ因子と特異血清に抗補体系作用の事(セル)を、リウマチ因子の補体系への影響に注目して来た。

我々のリウマチ患者血清(CRA陽性者)より関節液を採取し、C D E A E cellulose, C M cellulose, Sephadex G200 gel filtration) を用いて、電泳液の手段で組合せ、事にし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三つの標品を得た。出来た。二つの標品を用いてセル血清の溶血補体系に、その影響。又セル C1 (C1^{hu}), セル C4 (C4^{hu})、セル EDTA Complement に対する影響を観察した。

リウマチ因子は全 256°C 30分 の熱処理を行ない、指示細胞(Indicator cells) は羊赤血球(E)にウツギα抗体(A)を用い、又抗抗体補体系結合物(Intermediate cells) は EA C1^{hu} cell, EA C4^{hu} cell, 等を用いた。又溶血の抑制度合を E とし、control とし、指示細胞の 60% ~ 80% 溶血量と至高量とを比較し、その実験に供した。

P.27

1) 全補体系とリウマチ因子を混合し 37°C 10分 恒温培養後 EA cells (1x10⁸/ml) を加えて 37°C 60分 の判定を前記の三つの標品との溶血活性を抑制する。

2) C1^{hu} に対する影響は C1^{hu} とリウマチ因子を混合し 37°C 10分 後 EA C4^{hu} cell (1x10⁸/ml) を加えて更に C2^{hu} EDTA Complement を加えて実験し C1^{hu} の溶血活性を著明に抑制した。

3) C4^{hu} に対する影響は認められなかった。

4) EDTA Complement に対する影響も認められなかった。

これらの事より、リウマチ因子の補体系に対する影響は、成り C7 血球(EA cells) に補体系の作用が二段階に及ぶ。第一は、リウマチ因子と結合し、第二は、溶血作用を抑制する。

実験の結果、リウマチ因子標品は C3 inactivator, C4 inactivator (56°C 2時間) による C4 inactivating activity は認められなかった。

(英文) Study on RA factor and C₁g in R.A. Synovial Fluid

出題者名(ローマ字併記) 園崎 秀吉 Sonozaki Hidekichi *

鳥巢 要道 Torisu Motomichi **

所属機関名 〇山 本利幸 Yamamoto Toshiyuki **

* 三井記念病院整形外科 ** 国立がんセンター、九大第一外科

補体系成分は周知の如くEDTA処理等によつて、Subcomponentsに分解する。これらにはC₁g, C₁r, C₁sと名付けられるが、このうちC₁gは変性ヒト血清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(変性ヒト血清で被覆されたもの)を凝集する。従つてこのLatex Fixation TestによりC₁gの存在が検定されるわけであるが、C₁gはリウマチ因子とは異り、易熱性であるため、56°C 30分の処理によつてLatex凝集能は消失する。

我々は各種関節疾患患者より関節液を採取し、その中のC₁gの存在を検討した。即ち、関節液を連続稀釈し、Latex Fixation Testを行ひ、しかる後各検体を56°C 30分間熱処理し、再びLFTを行つて、Titerの変動をみた。

変形性関節症では全例においてLFT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、非効化によつて陰性化した。また残りの約半数例では、非効化によつて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共に、C₁gもかなり存在する可能性を示している。その他に、非効化によつて、かえつてLFT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(単純性膝関節炎)の関節液中にも全例C₁g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LFT陽性因子が果してC₁gであるかを同定するため、56°C 30分処理前後でLFTのTiterに大きな変動のある3検体を選り、33%蔗糖濃度勾配超遠心沈澱分析を行つた。易熱性因子は195分画にあつてリウマチ因子とは分離し、C₁gとほぼ同じと思われ、115分画に沈澱した。更に詳細な検討が必要であるが、恐らく、この易熱性LFT陽性因子はC₁gであると推定される。

非炎症性疾患と考へられる変形性関節症の関節液中にはC₁gが存在せず、炎症性疾患と考へられる疾患ではC₁gの存在が想定されたことは非常に興味深い。

尚関節液中の補体系、補体系成分について検討した。例数も充分でないため、一定の関連は見出すに至らなかつた。

28. 演題(邦文) 変性IgGのリウマトイド因子に対する抗原性 ならびに補体の関係について

The Antigenicity of Aggregated IgG to Rheumatoid Factor and its Relationship with Complement

TANI MOTO KIYOAKI HIROSE SHUNICHI

出題者名(ローマ字併記) 谷本 潔 昭 広瀬 俊一

所属機関名 東大物産内科

ヒト変性IgG (pU-IgG) ヒトのIgG と尿系変性を行なう
 ために polymer-type である (2-Mercaptoethanol
 で還元し Monocloabaceticamide でアルキル化を行う) (pU-IgG(M.M))
 と、それをもつもの、それらモノクロトの皮膚血管透過
 性の亢進 ならびに皮膚回着性 及び 補体結合能力は
 失われず、リウマトイド因子(RF)に対する抗原性は
 保持される。このよき変性IgG (pU-IgG(M.M)) を用い
 た従来の抗原と異なり、抗補体作用を示すこと、補
 体とRFとの関係により明確にしようとするため、実験を
 行ない、その結果は以下の如くである。

1) pU-IgG(M.M) とRFの補体結合性は、各々単独
 に加えても、また、両者を一括に加えても、通常みられ
 るよき補体結合反応を示さなから、

2) pU-IgG 及び pU-IgG(M.M) を抗原として、
 フェニルヒンジ酸処理羊血球を感作し、リウマチ患者血清(RF)
 を加えて凝集反応(PHA)を行ない、さらに補体と
 2充粉量のもモノクロト新羊血清を加えて溶血反応(
 PHA)を行ない、結果は pU-IgG の場合は、感作量を概
 率的に変化したとも、pU-IgG 自身に補体を結合するに
 対して完全な溶血反応を示し、凝集反応の価も Rade 反
 応と平行して高値を示す。このことより、pU-IgG(M.M)
 の場合の凝集反応は pU-IgG と全く同様に抗原反
 応を示すものもみられる。溶血反応は感作量を減らすと
 極端に低値を示す傾向を認められた。

3) 興味あることは、上記の溶血反応において、特に
 リウマチ患者血清(リウマチ反応陽性のもの)の濃度
 の高くなるほど、溶血阻止活性を示し、~~この濃度と溶血阻止~~
~~活性との関係は~~この溶血阻止活性は Sephadex 200 分離範囲の
 19S Fraction に属し、7S Fraction に認められた。また
 加熱変性したヒトIgG を抗原として、特異的凝集反応
 分離精製したRFでは、この抑制はさかたに弱く、この
 ことよりRF(正確なリウマチ反応陽性血清)の溶血
 阻止活性は、少くとも主なるものは、RFでは、~~この~~
 可能性を示唆し、この溶血阻止の原因は、~~この~~更に検査を
 進めたい。

P.29

29. 演題(邦文) SLEの補体

(英文) Serum Complement in SLE

出題者名(ローマ字併記) 森田 翼(MORITA MINORU) 西下 駿三(NISHISHITA SYUNZO)

天野 哲基(AMANO TETUKI), 大藤 真(OFUJI TADASHI)

所属機関名 岡山大学医学部才三内科

40例のSLEについてCH50, C1, C4, C2, C3, Bic/rioglobulin, 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に及ぼす影響を検討した。又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、それがCH50に如何なる影響を及ぼしているかを検討した。方法 CH50, 各成分の測定には Mayer の原法及び各 intermediate cell を用いた。Bic/ria globulin は Hyland 社製の immuno plate 法を用い、DNA, DNA抗体価の測定には ジェラシン法, アザリマイン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。結果 各種膠原病中のSLEのCH50はもっとも低値を示す。特に急性期に著明である。蛋白尿との関係は1日5.0以上の群はそれ以下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 の順であった。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であった。又血中DNAとCH50は相関を認めなかった。補体成分では急性期SLEはC1を除いていすれも極度に低下し特にC4の低下が著明、Bic/ria 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治性の低下と並行した。次にステロイド治療によるCH50, 各成分の変動を他の血清学的検査成績の推移と対比して見ると各種検査成績の改善より以前に補体活性は反転して上昇する。しかし正常値に回復する迄には4~6月のステロイド治療を必要とする。次にCH50と56°30'非加熱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'非加熱血清にDNase処理を行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。

30. 演題(邦文) 自己免疫性溶血性貧血に伴う補体-補体阻害系

(英文) Complement-Complement Inhibition System in Autoimmune Hemolytic Anemia

出題者名(ローマ字併記) 酒井好古*(kouko sakai), 手嶋秀毅(HIDEKI TESHIMA)**

尾木幸八(KOUHACHI OGI)* 小鶴三男(MITSUO KOBURA)* 柳屋宣-(TOMICHI MASUYA)*

所属機関名 * 九大第3内科

** 九大心療内科

(目的) 自己免疫性溶血性貧血に伴って、低補体血症、低補体成分血症がみられることが、従来知られてきたことが、細胞結合性C1a証明、同症赤血球上のAIE、AICの証明、赤血球結合抗体の補体結合性、同症赤血球の超微形態学的観察、同症in vivoに於けるC3のcatabolismの亢進などの知見によつて示されてきたように、補体系が同症に於ける溶血発症に關与して、同症赤血球に動員される結果であることが一般に理解されてきた。かかる今回、同症に於ける低補体血症を惹起する他の因子として、補体阻害系の役割を重視し、同症に於ける阻害系の動態を追跡し、その物理化学的性状について検討を加え、症像成立との関連性を追示することを目的とした。

(方法) 対象は、九大内科で経験された、以下各型自己免疫性溶血性貧血症5例。C3 inactivator、C1 inactivatorの測定には、夫々被検血清に兩つEAC細胞のIAHA阻害、被検血清 paduoglobulin 分画によるC1溶血阻害を指示系とした。また抗補体活性に非動化血清による溶血阻害をもつて測定した。また同症に伴う抗補体活性を示す血清を試料として、Gel Filtration (Sephadex G 200, 0.01M NaCl 加 0.02M Tris-HCl buffer, pH 8.0) による各分画の阻害活性を検討した。

(成績) 自己免疫性溶血性貧血に伴うC1 inactivator の高値を示し、C3 inactivator の活性は一般に正常域内にある。また溶血阻害活性は高値を示した。同症血清の補体阻害活性は、特に濾過による47S分画と一致してみられ、一方4Sと相互する溶血促進分画も得られた。この補体阻害因子の物理化学的性状について検討を加える。

P.31

このシンポジウムは補体のグループが、補体と抗体の相互関係を、分子的基础にまで掘り下げて解明して行くとする方向に沿って、抗体の構造を研究している人々から、多少とも補体に関係をした抗体の話を引きたいという集りであろうと考えます。このような中間的な領域は最初から話がかみ合つて、何かが解決されるといつたものではなく、むしろ相互に理解が不十分なところから出発して、問題点を明らかにし、今後の発展の糸口をみつめる。また共同研究の発端を作るようになれば幸と思ひます。その意味で私と稲井先生が抗体と補体の側からの解説的総論をのべ、次の4人の主演者の方にIgのFc部、Igの生物学的活性、JMの構造と活性などについてお話を願ひして、本日の討論の話題提供を願ひしたいと思ひます。

私は免疫グロブリンの分類と系統発生という、他人のデータを寄せ集めた話ですが、これで見とり図を作ることが出来ればと思ひます。

抗体の分類

抗体は抗原と結合する性質のほか、そのひきおこす反応の生物学的作用により分類される。

1. 沈降反応とひき起す性質 precipitin
2. 凝集する性質 agglutinin
3. 溶血、溶菌をおこす性質 hemolysin, bacteriolysin
4. 毒素、酵素活性を中和する。antitoxin, 中和抗体
5. 同種細胞に結合する性質 reagin
6. 異種細胞に結合する性質
7. Opsonin 貪食能を亢進させる性質

抗体そのものの物理化学的性質による分類

11. 19S, 11S, 7S, 3.5Sなど沈降定数
12. 重合度 monomer, 2量体, 3, 4, 5量体
13. 易動度 $\alpha_2, \beta_1, \beta_2, \gamma, \gamma_2$
14. 糖蛋白質含量及び組成
15. 酵素分解性 パパイン, ペプシニンに対する被分解性

抗体そのものの抗原性による分類

21. JM, JA, JG, JD, JEなどのクラス
22. サブクラス
23. アロタイプ

代謝に関係した分類

31. 産生速度, 産生時期, 産生臓器
32. 半減期

これらの分類は数10万から100万種に及ぶといわれる抗体分子を秩序づけようとした歴史そのものであつて、その中ではつきりしてきたことは、各種の分類法が万字巴と入り組んだ結果とならぬに、分類はいくらでも出来るけれど一致して、つきりした結果がえられる。それは免疫グロブリンの一次構造によつて要約される。つまり抗原結合部位に関して対応する可変部があり、ここへの分類に関しては対応する不変部があることであつて

終局的にはこれらの一次構造が解明されると最終的な分類となり、これによつて高次構造も決定され、機能はこれに附随した反応ということになると思われる。しかしこれらの分類に関係した多数の項目は大部分は、不変部のなかでよこりうる限られたアミノ酸の置換によつて担われているわけであるから、荷が重いわけで、その部分が免疫グロブリンの基本分子H-L monomer 分子量8万のなかの $\frac{2}{3}$ を占め、残り $\frac{1}{3}$ は、アミノ酸の置換が大きい可変部で、ここが抗原結合部位を担っていると去う割合も妥当なものと思われる。

将来は免疫グロブリンのheavy chainの $\frac{3}{4}$ のアミノ酸の配列の上に多くの活性が地図のように書き入れられることが予想される。補体の結合は、分子的に解明しやすい最も手近な例であつて、その意味では補体の方の構造の解明、特にC1の構造が相互作用を解明するには必要とされていると思われる。

しかし一次構造だけですべて解決する問題でないことは、例えば抗原抗体結合物になつて始めて補体がこれに結合する問題がある。その構造については殆んど解明されていないが抗原抗体結合物となつて、抗体の高次構造に一定の変化をきたした状態が補体の結合には必要であると思われる。しかし抗原抗体結合によつて高次構造が変化するかは、兎の抗DNP抗体とDNP-リジンの反応を円偏光二色性でしらべた結果では認められていない。¹⁾これは可溶性の抗原抗体結合物には、補体は結合しないことに対応するかもしれない。しかし免疫グロブリンをH鎖とL鎖に分けたり、再結合させたりすると高次構造に変化を生ずることも、旋光分散により認められているので²⁾ Fragmentになると失われ、全体のままとしめか修蝕された状態を捉えねばならないところに、困難があると考えられる。

抗体の系統発生

前に述べた多種類の抗体が存在することほどの様を意味があるのか考えると、これは生体の防衛の機能として発達したもので、長年月がかつて、適者生存の選択をうけ、系統発生または個体発生の過程に作り上げられて、個体を二重にも三重にも防衛するいみで複雑に発達したと考えざるをえない。

その過程のなかで補体の役割がどの附近からあらわれたものであるか、19つの成分がある複雑な反応であるので、非常に分化して、モルモットやヒトを³⁾始めてあらわれる機能かむ知れないうも考える。

Good一派その他により明らかになつたことは³⁾抗体の発生は、細胞性抗体が最初である。同種間の接合と異種間の排除はアカパンカビやホヤでも見ることが出来るが、これらはallogenic inhibitionの段階であつて、移植免疫はミミスズやメクラウナギなどでも明らかに認められている。しかし血清抗体はヤツメウナギ(円口類)からあ

らわれ始め板鰓類(サメ・エイ)になって、 γM の抗体が確認される。 γG の抗体があらわれ始めるのは兩棲類(爬虫類)からで、ヒトにおけるサブクラス γG_1 、 γG_2 、 γG_3 、 γG_4 のあらわれは、 γG_1 、 γG_3 が猿から認められてより、 γG_4 は量も少なく、もつとも後に分化したと考えられる。 γA の分化して行くのは鳥類から哺乳類にかけてであり、 γD は哺乳類からであろう。補体結合能をもつ抗体のクラスは、発生の初期のものに限られる。それでは補体自身の発生はどうか。あるいはサメやエイの γM は補体を結合する能力があるかについては、やはり Good-一派により⁴⁾補体の各成分はヘラチョウザメ(硬骨軟骨類)では完全に揃ってより、ヘラチョウザメの γM はモルモットの補体と結合しうる。ヤツメウナギには、全く補体は認められず、板鰓類はヘラチョウザメに次ぐ結果である。即ち補体の発生は γM の発生とほぼ時を同じくしておこる。このことは個体発生においても認められている。⁵⁾ウシの体長12cmの胎児(生下時は80cm)やブタの40日の胎児(生下時120日)より血清中に補体の出現が認められている。これらの時期は γM の出現時期と大体一致する。それは勿論最初より充分量の補体をもっているのではなく、量的にはその頃から次第に増加して行くという意味で、その頃から発生が始まると考えられる。それは何を意味するのか、Tolerantの成立に意味があるともいわれるが、補体成分の種属を越えた互換性、さまざまな生物学的活性をうみだす微量活性物質としての興味と共に、発生学的な事実は一つの道標としての意味をもつと考える。

P.34

Reference

- 1) R.E.Cathou, A.Kulczycki, E.Haber; Structural features of gamma-immunoglobulin, antibody and their fragments. Circular dichroism studies. Biochemistry, 7; 3958-3964, 1968
- 2) K.J.Dorrington, M.H.Zarlengo, C.Tanford; Conformational change and complementarity in combination of H and L chains of immunoglobulin G. Proc. Nat. Acad. Sci., 58, 996-1003, 1967
- 3) 村松繁: 抗体蛋白質の系統発生, 臨床科学 4, 468-475, 1968
- 4) H.Gewurz, J.Finstad, L.H.Mushel, R.A.Good; Phylogenetic inquiry into the origins of the complement system. Phylogeny of Immunity, 105-117, Univ.Florida Press, 1966
- 5) N.K.B.Day, R.J.Pickerling, H.Gewurz, R.A.Good; Ontogenetic development of the complement system. Immunology, 16, 319-326, 1969

出題者名(ローマ字併記)

○ 稲井 眞弥 Shinya Inai 平松 誠一 Seiichi Hiramatsu

所属機関名 大阪府立成人病センター

赤血球にその抗体(Hemolyzin)が特異的に結合したいわゆる感作赤血球が補体により溶血することはいままでいかにいかに赤血球に細菌多糖体やHaptenを結合させさらしにこの抗原に対応する抗体を結合させた赤血球も補体により溶血することはいPassive immune hemolysisとして知られている。すなわち赤血球表面で抗原抗体反応がおこると補体はこの抗体分子と結合し、溶いておこる補体各成分の一連の反応によつて溶血がおこると考えられている。

しかし一方では抗体の関与が不明確な補体による溶血現象が報告されている。即ちCowahは赤血球がPolyethylenglycolの存在下で新鮮血清によつて溶血することと報告し、又Paroxysmal nocturnal hemoglobinuriaの赤血球は抗体の関与なしに補体が直接赤血球に結合し、特定の条件下で溶血がおこることと報告されている。

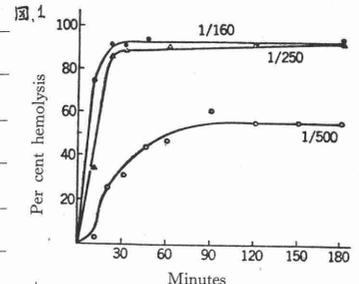
そこで特異的な抗体活性を欠く強い補体結合性をもつ aggregated γ -globulin を行うかの方で赤血球に結合させると抗体抗原反応が関与しなくても補体による溶血が起るのでないかと考へて実験を行った。

実験方法: IgG は市販の Cohn Fraction II を用い、石坂、Christian の方法によつて aggregated IgG を作った。羊赤血球への免疫グロブリンの結合は CrCl₃ を用いる岸本、露口等の方法に従った。免疫グロブリンを結合した赤血球の溶血は Mayer の CH₅₀ 測定法に準じ、スケールを原法の 1/5 として行った。

I) Aggregated IgG を結合した羊赤血球(EagG)のモルモット血清による溶血

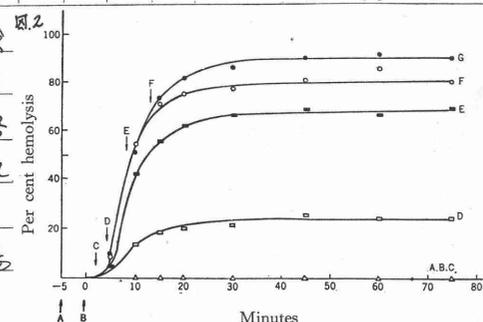
EagG は感作羊赤血球(EA)と同様稀釈したモルモット血清によつて溶血し、その溶血曲線は EA の場合と非常によく似た sigmoid 曲線を示した。この EagG を用いて補体価を測定すると、EA によつて得られる価の約 2/3 に相当した。

稀釈したモルモット血清を EagG に加えて、EagG の溶血の kinetics を検討すると、得られる曲線は右の図1のように、至適感作した EA の場合と同様な型を示した。以上のことから EagG のモルモット血清による溶血は補体によるものであることが示唆された。



Kinetic hemolysis curves of EagG with varying dilutions of guinea pig serum.

さらに EagG の溶血に補体が関与していることは次の実験結果から確認された。すなわち EagG のモルモット血清による溶血は EDTA によつて阻止され、その阻止の状態は図2のように EA とモルモット血清の場合と同様であった。



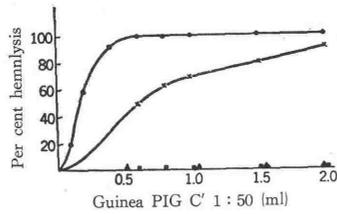
The effect of EDTA on the hemolysis of EagG by guinea pig serum. EDTA was added to A, B, C, D, E, and F at -5, 0, 2, 4, 8 and 13 minutes after addition of guinea pig serum, respectively, as indicated by arrows. Curve G represents the course of hemolysis in a control reaction mixture which did not receive EDTA.

1) 2) に EA に精製した補体成分を加えることにより、
 補体の intermediate cell を作ることも出来るが、同様な方
 法により、EagG C1, EagG C1, 4, EagG C1, 4, 2, EagG C4 等の
 intermediate cell を作ることも出来る。

II) その他の免疫グロブリンを結合した赤血球の補体による溶血 (図3)

Macroglobulinemia の患者血清から分離した IgM, 骨髄腫造
 者の血清から分離した IgA, IgD を同様な方法で羊赤血
 球に結合せしめ、補体による溶血がおこるかどうかをしら
 べた。IgM を結合した赤血球は EagG の場合より程度は弱
 いが明らかに溶血を示し、IgA を結合した赤血球は高濃
 度の補体によっても全く溶血せず、従来報告されてい
 る免疫グロブリンの補体結合性に関する成績とよく一致し
 た。IgD の補体結合性については、従来未だ明らかにはな
 っていないが、IgD を結合させた赤血球は、IgA の場
 合と同様な高濃度の補体によっても全く溶血せず、Mayer の
 変法で検討した IgD の補体結合性の成績と合せて、
 IgD は補体結合性をもたないことがわかった。

図 3



Hemolysis of erythrocytes coupled with various immunoglobulins by guinea pig serum.
 ●-● E-G ▲-▲ E-D
 ×-× E-M
 ■-■ E-A

E₁とG免疫グロブリンFc-Fragment

シボツク43 演題(邦文) CARBOXYTERMINAL HALF について

(英文) Studies on Carboxyterminal Half of the Fc Fragment from Human

出題者名(ローマ字併記) 入交昭一郎 Shoichiro IRIMAJIRI Immunoglobulin G

所属機関名 慶應義塾大学医学部 内科

緒言

Immunoglobulin 各クラスの特異性は其のFc Fragment に存在するに如く知られ、今迄にFc Immunoglobulin (以下 IgG) について数年来 IgG の生物学的諸活性を其の抗体構造との関連から解明しようとする試みが行われてきた。抗体活性、胎盤通過性、移行因子の反応性、補体結合能、皮膚結合能、Gm 活性等々。これら IgG の有する重要な活性であり、その抗体活性を除くにはその Fc Fragment を見出す。従って、この諸活性の Fc Fragment に対する局在を解明する目的で、酵素消化に対して一般に安定な IgG を比較的容易に分離し、その Fc Fragment の Carboxyterminal Half について検討を加えてきた。この成果を中心として報告する。

材料並に分離方法

DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーを用いて市販の免疫グロブリン (ニッポン化学社製) を精製して 10% イソプロピルアルコールによる酵素消化を行った。10% イソプロピルアルコールは Ponten の方法に従って pH 7.0 Phosphate Buffered Saline 中で 37°C 18 時間消化を行った。10% シンナー 0.1M, pH 4.0 Acetate Buffer 中で 37°C 18 時間消化を行った。

10% シンナー消化 IgG は澱粉を用いた Zone Electrophoresis により Fab, Fc, Fc 各 Fragment を分離後、Sephadex G 100 にて精製した Fc Fragment を用いた。10% シンナー消化 IgG は Sephadex G 100 にて Fab' と Fragment と Fc Fragment と免疫学的に部分共通抗原性を有する Fragment (P Fc Fragment) を分離し、これを用いた。この Fc Fragment と P Fc Fragment とは免疫電気泳動法では異なる移動度を示す。Duchterlony 法では抗 Fc Fragment 抗血清に対して沈降線は互に一致し、また Fc Fragment の部分共通性の反りにも一致した。

成績

分離した FIC Fragment は分子量約 21,000, 沉降恒数 2.1 S. PFC Fragment はよりやや大きい。アミノ酸分析では変性 2 個の半 Cystine を有し、また 1 個の鎖内 S-S 結合を形成し、これらを示す。含炭素量は高くない、顧此、トリプトファン消化後のトリプトファン分布型を Gm (a) (non-a) のトリプトファン 2 つの Fragment に含ませることを示す。更に Carboxyterminal End の分析を行う。FIC Fragment は PFC Fragment と比して約 1/4 個のアミノ酸残基を含有していることを明らかにした。以上より FIC は PFC Fragment から FIC Fragment の Carboxyterminal Half の部分に由来していることを裏付けている。この FIC Fragment を用いて諸生物学的活性の有無を検討した。

- i) Gm (a) (non-a) のトリプトファン含有率、Gm 活性の存在を示す。Gm (a) (b) 共に明らかには証明し得ない。
- ii) 補体結合能は熱変性を行うと FIC Fragment と同じに行い、陰性であったことを報告した。今回は内海、Kehoe 等の方法に準じて Polystyrene Latex 粒子を FIC 又は PFC Fragment で Coating した粒子を用いて補体の吸収試験を行う。その後 CH50 を測定した。
- iii) リンゴ因子への反応性は熱処理を行った FIC Fragment と凝集価を示す凝集価調節リンゴ因子患者血清とを用いて毛細管法を行う。軽度の沈降物を認められた。今回は Polystyrene Latex 粒子を用いた Latex 結合反応を再検討を行った。
- iv) 皮膚結合能は逆変身皮膚反応 (RPCA) を用いた。FIC, PFC Fragment 共に陰性であった。

P.38

摘要

以上より FIC Fragment の Carboxyterminal Half は Gm 活性とリンゴ因子への反応性の両方から示す。補体結合能を示す活性は内海、Kehoe の報告と同様 Amino terminal Half に存在するに示す。これは明らかに示された。この FIC の活性の表現は二次、三次構造が大きい。従って果してはこれを考慮して、その基本となる PFC の一次構造の分析と共に今後の課題とすべき。

シボシム4. 演題(邦文) 抗体の可変領域構造と補体結合性

(英文) The hinge-conformation of antibody and its effect on the complement binding

出題者名(ローマ字併記) 内海 英 Sanyka Utsumi

所属機関名 大阪大学医学部 細菌学教室 (阪大微研四)

N端部分とC端部分でFabとFcの二つの構造単位とよび
 かつて組入れられるH chainには、三時元構造の欠陥があるいは
 不安定な中間部分が残る。この領域、hinge部分に存在
 し、二本のH chainと結合するジスルフィド結合は、
 不安定で、温和な還元条件で選択的に切断されやが、
 IgG抗体の補体結合能がこのような還元処理によって低
 下するこはあてに知られており、他方Fabも、Fcと共に
 あるいはFcと付随してFc₂のみ、補体結合部を形成する
 という報告がある。しかし、全能に反して、Fab単独
 に対する活性については確証が無く、そこにはad hocな結合部
 構造が関与するかどうか、どうかは疑わしい。H-H間ジスルフィ
 ドの切断による活性低下の原因がFc部分に及ぼされる構
 造変化にあるのか、あるいはhinge領域が補体結合部と
 して何らかの役割をもつのかどうか、そして抗体の特異
 的抗原結合によって起る構造変化が果して補体結合と何
 か関係をもつのかどうか、などは未解決の問題が多い。
 本報告では、H-Hジスルフィドの切断による補体結合
 能や沈降反応性の変化、p-azophenyl-β-D-lactoside (Lac) 抗
 体のH-プロテイン結合に伴う補体結合の増加、及びintact
 IgG分子とFc分子の補体結合能の相異などについて、
 これらの事実を満足させるIgGのhinge構造と補体
 結合との関連について考察する。

P.39

実験法

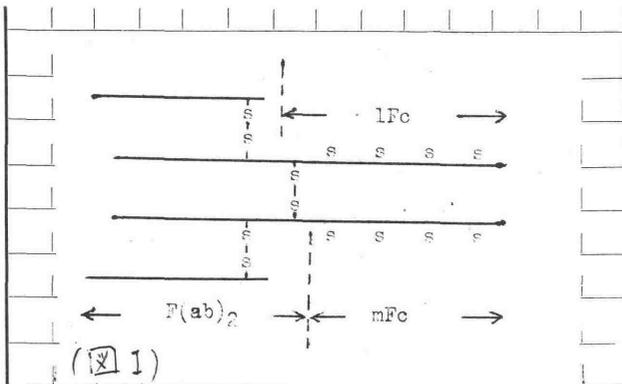
補体結合の測定(ラテックス法)(Biochem. J. 12: 343 1949)²
 一定量のタンパク試料(50μg)と変量polystyrene latex
 (直径0.089μ)とを中性緩衝食塩水1ml中に1:24に混合、約
 50℃で10分を待たせ、1mlを10ml血清を加え、10℃に
 放置、15分後遠心し清に於いて残余補体活性を常法に従っ
 て測定した。

精製Lac-抗体——Lac-BGGを抗原とし、Freund's
 adjuvantを用いてウサギを免疫してえられた二次免疫血清か
 ら、Lac-特異的に精製された抗体には、IgGクラス免疫
 ケタブリンのみが含まれていた。

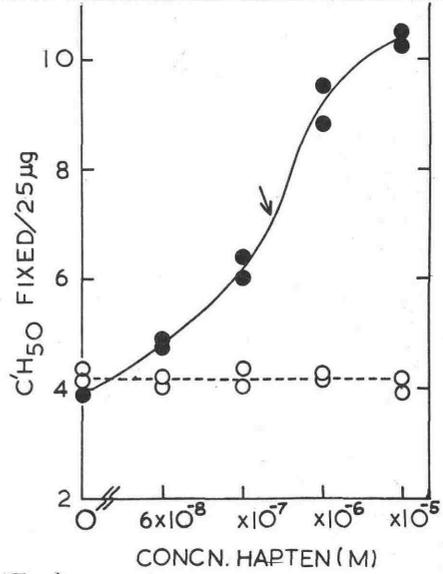
F(ab)₂、hinge領域とそのH-H間ジスルフィドを含む
 Fc、これらに欠陥するmFcなどは文献¹⁾に従い、それぞ
 れ1mg IgG又は1mg Lac-抗体IgGの酵素消化によって調製さ
 れた。

実験結果

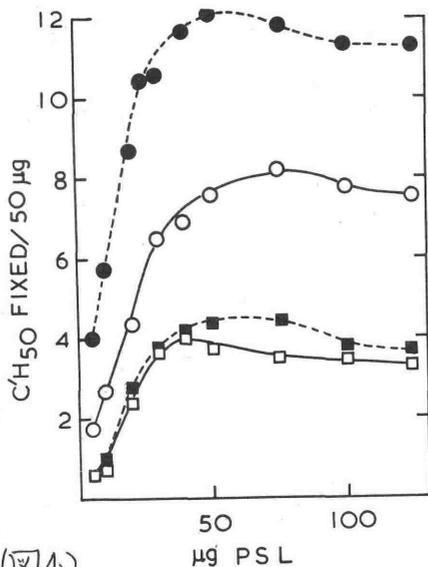
Fcの補体結合能——化学構造上hinge領域の有無及び
 の相違をもつFcの補体結合能に全く相違が
 みられない(図2)。intact IgG分子と比べると、これら二種
 類のFcの活性は明らかに低下している。一定量のlatex
 に漸増量の試料を加えた場合(図3)、IgGとFcの間の元々
 活性の比は2:1は全ての試料濃度において一定の2:1
 latex表面での分子配列の物理的条件とは無関係にこれら
 分子間に決定的な補体結合能の差がある結論が得られる。



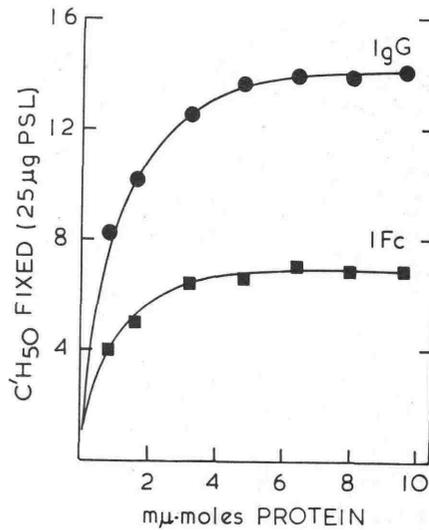
H-H間ジスルフィド切断の影響
 0.01M mercaptoethanolによる
 H-H間ジスルフィドの選択的切
 断は、IgGの補体結合能を約50%
 低下させる(図4: ○-○, intact Lac-



抗体)。これに反し、LFcはその
 H-H間ジスルフィドの完全還元
 後も全く活性変化を起さず可
 なり。還元後のIgG補体結合
 能はLFcのそれと同程度であ
 る。



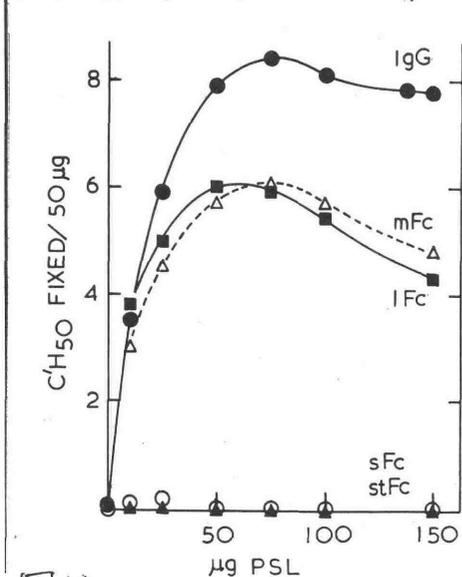
(図4)



(図3)

p-dimethylaminophenylazophenyl
 β -lactoside (Lac dye) の17°
 テン結合によるLac-抗体の
 補体結合能増強

Lac-dye の存在は抗体IgGの活
 性には全く影響を及ぼさない(

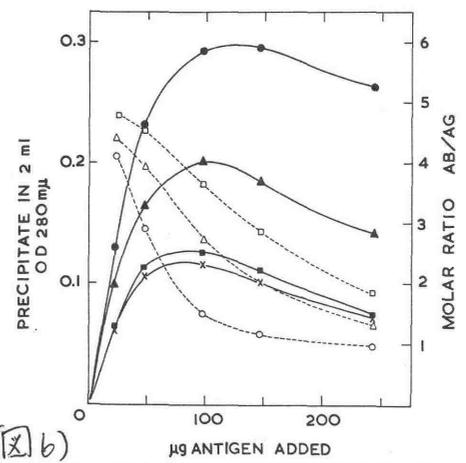


(図5)

10⁻⁴~10⁻⁵)の区、17°テン結合に
 による特異的増強効果は、
 17°明らにみられる。この抗体試
 料のLac-dyeに対する親和性
 は、 $K_A = 4.8 \times 10^5 M^{-1}$ であること
 は、補体結合の増強は抗体結合部
 の17°テン結合部位と平行関係
 にあることを示している。
 この抗体DNP-抗体に7.12%
 のDNPアミンのカップリングを
 17°テン結合の特異結合による
 7.12%の増強効果はみられる。

か、k。
 Lac-抗体とLac-dyeとの特異結合に於ける二重結合の性質
 は、H-H間ジスルフィド切断後には、殆んど消失しない。
 (図4: ●-●, intact 抗体 + 4×10^6 M Lac-dye; ■-■, 還元抗体
 + 4×10^6 M Lac-dye).

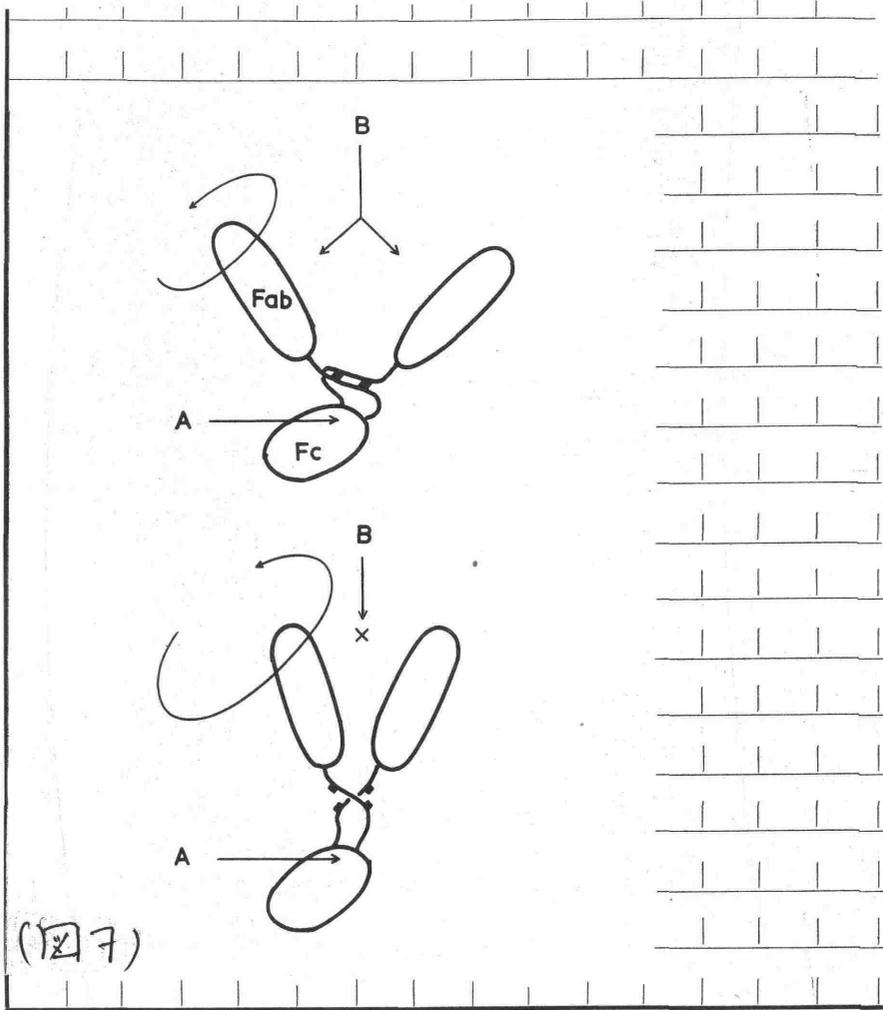
H-H間ジスルフィド切断に於ける沈降反応の低下 (図
 6) はLac-抗体とLac+HSAの沈降
 反応に及ぼす種々の濃度の
 mercaptoethanolの影響を示し、kも
 のである。intact 抗体の沈降反
 応に比して、 0.001 M (▲-▲),
 0.01 M (■-■), と還元剤濃度の増加
 に従って沈降量の減少がみられ
 る。 0.01 M H-H間ジスルフィド
 の完全切断後さらには濃度を 0.1 M
 に上げても (x-x) もそれ以上の沈
 降能低下はみられない。



討 論

抗体の補体結合部は、Fc
 分子のN端から約50個のアミノ (図6)
 酸に相当する領域に存在するであろうと既に報告
 が通りである。抗体の結合部(若し存在するならば)の
 可能性として、hinge 領域は除外するにたふさる。
 IgG 分子とFc 分子の活性の差はFabに抗体の部位が存
 在するに示し、H-H間ジスルフィド切断の影響は
 Fc領域の補体結合に於いては、Fab領域に及ぶ構
 造変化と関係があることを示唆された。しかし還元処理
 によってFabの肉因的な抗原結合能や抗原構造に全く
 変化が無く、むしろそのhydrodynamic 不安定性から考
 えれば、これは一対のFab分子の地理学的関係にもたら
 された変化と関係があると推察される。還元による沈降能
 の低下は、抗体と抗原とのcross linkageの形態に起因す
 ると考えられ、抗一分子上に複数個の同一特異性決定基を
 もつたような抗原の場合、抗体は二分子抗原内cross
 linkよりも、むしろ同一分子上に二つの決定基と結合し
 たりする、と考えられる。還元によるconformationの
 変化は図7に示す如く平均hinge 角度の減少とも知られ、
 抗体の補体結合を抑制されるものと推察され
 る。Lac-抗体とLac-dyeの結合時にみられる補体結合
 能の増強は一見特異結合に於ける構造変化がFabと補体と
 の結合を増強したかのように思えるが、抗体Fabは人
 テンに存在し、非存在に属する補体結合構造は存
 在するとは考えられない。むしろ抗体の補体分子(Cd)
 IgG分子(C1)と結合する過程で抗体の地理学的hinge
 角度の減少は二分子のFabの適當配置が抗体の補体分
 子の侵入に必要なのである。Lac-dyeは
 抗体結合部にあり、抗体分子と非特異的に結合
 するにたふさる、と考えられる。

P.41



(图7)

(英文) Antigenicity and Anti-complementarity of Aggregated IgG.

出題者名(ローマ字併記) 〇 広瀬 俊一 Shun-ichi Hirose

谷本 潔昭 Kiyooki Tanimoto

所属機関名

東京大学医学部物療内科

従来一ツツ抗原物質がもつ抗原決定群は複数であり、又その抗原構造が単に一ツツ平面的構造ばかりでなく、立体的なものも関与する事は多糖体抗原性物質で知られてゐる。我々は、ヒト IgG が種々変性処理をうけた時にその抗原性が変化すると共に種々生物学的活性、特に補体結合能が変化することをとらふべく、これを以下に述べたい。

ヒト IgG の変性処理については従来報告して来た如く尿素を用いた。即ち、6モル尿素中 (pH 7.0~8.0) 48時間室温放置後、72時間氷室で生食液で透析したものを、風乾により濃縮した。これを U-IgG とし、このものを Sephadex G+200 のゲル濾過により polymer と monomer と分けた。前者を pU-IgG, (polymerized urea-treated IgG), 後者を mU-IgG, (monomer urea-treated IgG) と略記する。

この水等により還元を行い、還元アルキル化を行つた。還元には 2-Mercaptoethanol (2-ME) を使用した。即ち、pH 8.2, 0.5 Mol/l Tris HCl buffer 中で IgG preparation の 20~30 mg/ml のものに 2-ME を 0.2 Mol/l にするように加えて室温4時間放置する。これを2つに分け氷水中にて冷却を行い、一部には 0.24 Mol Monoiodoacetamide (MIAA) の Tris buffer 液を当量加えて、他の半分は Monoiodoacetamide を加えない Tris buffer を同じように加えて共に冷却中で1時間反応させる。この両者を氷室中で生食液にて透析する。還元後アルキル化を行つたものを (MM), 還元だけのもつを (M) として記す。即ち、pU-IgG, mU-IgG, IgG の 2-ME による還元処理だけのもつを、pU-IgG (M), mU-IgG (M), IgG (M), 2-ME 処理還元後、MIAA によるアルキル化されたものを pU-IgG (MM), mU-IgG (MM), IgG (MM) として示してある。

P.43

H chain は、次の如くして精製した。IgG を 2-ME 還元、及び MIAA によるアルキル化を行つた後、1N 酢酸で透析、同じように 1N 酢酸中の Sephadex G+100 カラムで分画を行い、そのピークをとって氷室中に生食液に対して透析すると、沈澱が主なるが、これを冷却生食液で6回以上に亘って洗滌する。生食中には再浮遊したものは 1N NaOH を加えて pH を 11 以上にすると清澄な液となる。これは 0.1N HCl を加えて pH 5.0~5.5 にすると白濁する。このものは aggregated H chain として (tH と略記) 使用した。pH がアルカリ性においては、清澄な液として存在するがこれを clear H chain (cH) として使用した。cH は tH に比して Sephadex G-200 の分画で後部に流出される。

抗原性の検討。
主としてリウマチ患者血清中に存在するリウマトイド因子 (RF と略) は、変性 IgG に対する抗体と考へられている。従つて、ここでは変性 IgG の抗原性を検討するたぐは RA 患者血清を使用した。
血球凝集反応 (HIA) においては pU-IgG, mU-IgG の抗原特異

性は表1の如くであり、 $mU-IgG$ は一つの抗原特異性をもち、 $pU-IgG$ はこの他にもう一つの異なる抗原特異性をもち、これを示している。この $pU-IgG$ に特有の抗原性は、ゲル内沈降反応でも示されたが、 $mU-IgG$ とRFとの反応はHAで示された。

尿素処理によって生ずる IgG のRFに対する抗原性は、 IgG 分子内部にあるので、 IgG のaggregation等による IgG 分子の高次構造の変化によって生ずるものであることと考へられた。このことは、尿素中でRFとaggregated IgG ($pU-IgG$ 及び $heat$ aggregated IgG) との間で反応が消失すること、又papain分解された変性 IgG ではRFとの反応性が失われることにより推察される。(図1)

又 $pU-IgG$, $mU-IgG$ を還元し、還元アルキル化による $pU-IgG(M)$, $pU-IgG(MM)$, $mU-IgG(M)$, $mU-IgG(MM)$ を用いてRFとの反応をみると、何れもHAでの反応性は失われず、又 $pU-IgG$ はこれ等処理によってRFとの沈降反応性に変化を来さない。又 $IgG(M)$, $IgG(MM)$ は、あるRA患者血清に対して反応性をもちようとなる。(図2)

生物学的活性の検討

これ等サンプルの生物活性は、モルモット皮膚に対する親和性(RPCAによる)、血管透過性亢進作用、抗補体性について検討された。

RPCAによるG.P.皮膚に対する親和性の検討では、2-MEの還元処理では失われず、2-ME還元アルキル化では失われる。同じように、G.P.皮膚での血管透過性亢進作用は $pU-IgG(M)$ には残っているが $pU-IgG(MM)$ ではなく、又 $mU-IgG(M)$ には存在しない。すなわち、還元だけでの変化では出現せず、矢張りaggregateしている($pU-IgG$)ことが必要であり、しかも皮膚に対する親和性が得られることとなる。補体結合性では表2の如くで還元だけでは甚しい差はないが、還元アルキル化で殆んど抗補体性が失われる。

以上のことをまとめると表3の如くである。この場合RFに対する抗原性と抗補体性との間に解離のみられるが、 $pU-IgG$, $pU-IgG(M)$, $pU-IgG(MM)$ の各サンプルにおいて抗補体性とG.P.皮膚への親和性との間で平行しているように思われる。

この(1)はRFに対する抗原性を持ち(沈降反応、血球凝集反応共に)、抗補体性を示すのに、G.P.皮膚に親和性をもたない。このことはモルモット皮膚に対する親和性を示す構造と補体と結合する構造とが異なるものであることを示していることと考へられる。すなわち、変性 IgG の抗補体性は、Fc fragmentのinteractionというよりもH chain相互のinteractionによって出現するのではなかろうかと考へられる。尚、変性 IgG の物理化学的データを検討中である。

Anti-complementary activity. Influence of reduction with or without alkylation on IgG, mu-IgG and pu-IgG

Preparation	Amount needed to consume 50% of CH ₅₀ in the G.P. serum (gamma N)	C fixed with one gamma N of preparation (%)
IgG (M)	300	5.9
IgG (MM)	582	< 1
IgG (MMM)	> 1000	< 1
mu-IgG (M)	150	5.6
mu-IgG (MM)	52.4	4.5
mu-IgG (MMM)	> 1000	< 1
pu-IgG (M)	< 0.1	76.4
pu-IgG (MM)	< 0.1	84.3
pu-IgG (MMM)	> 1000	1.5

C titer of G.P. serum (CH₅₀) used in the experiment was 234 units and used in 100 times dilution. Mayer's method was used.

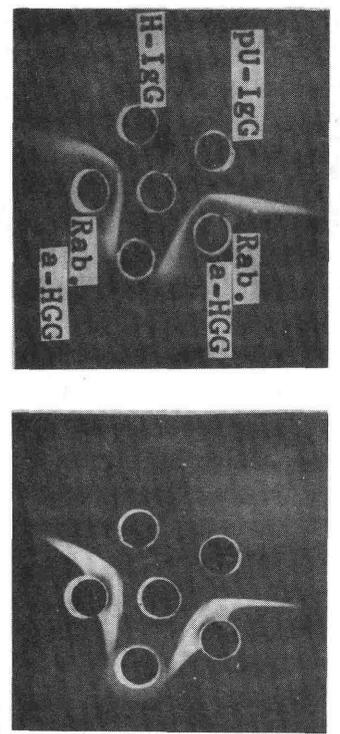
Biological activity of various IgG preparation

	IgG (M)	IgG (MM)	mu-IgG (M)	mu-IgG (MM)	pu-IgG (M)	pu-IgG (MM)	pu-IgG (MMM)
Vascular permeability	-	-	-	-	+	+	-
Skin fixation	+	-	+	-	+	+	-
R. F. HA	-	**	+	+	+	+	+
ppt	-	-	-	-	+	+	+
C-fixation** (hemolytic)	+	+	+	+	++	++	-

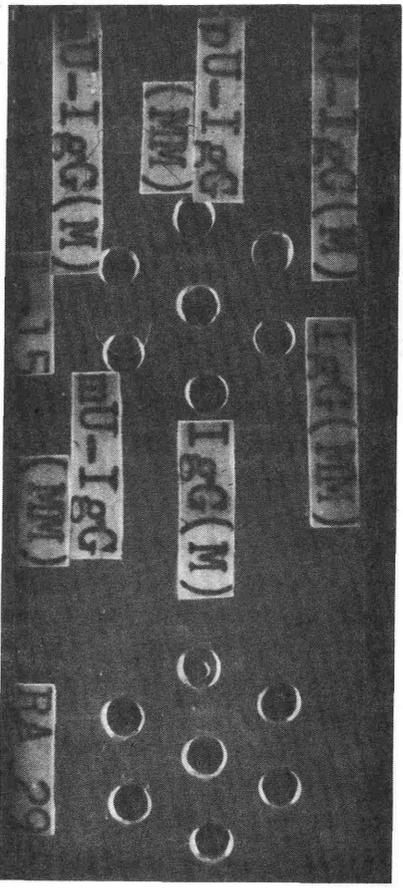
* not all
 ** -> 1000/N, -> 100/N, +> 10/N, ++> 1/N, +++< 1/N
 (50% Complement fixing dosis)

第二表

第三表



第一图



第二图

Inhibitory effects of polymer and monomer urea treated IgG on the hemagglutination of sheep red cell coated with these antigens

Serum No.	Materials which were added into serum	Hemagglutinin titers with	
		pu-IgG	mu-IgG
30	no	25,600*	6,400
	pu-IgG	3,200	1,600
	mu-IgG	12,800	3,200
34	no	6,400	3,200
	pu-IgG	1,600	800
	mu-IgG	6,400	400
37	no	800	-
	pu-IgG	400	-
	mu-IgG	800	-

* Reciprocal of serum dilution
 ** No hemagglutination observed at a 1-100 serum dilution.
 The concentration of an antigen solution which was used for the sensitization of sheep erythrocytes was 3% gamma N per ml.

第一表

シボシム 演題 (邦文) IgM 抗体の構造と活性

(英文) Structure and function of IgM antibody

出題者名 (ローマ字併記) 岸本 忠三 尾上 薫

Tadamitsu Kishimoto and Kaoru Onoue

所属機関名 九州大学 歯学部 生化学

IgM 抗体は 7S のサブユニットが 5 コ S+S 結合で輪状に連ったペンタマーであろうと云うことは 最近のいくつかのグループによる詳細な物理化学的研究及び電子顕微鏡を用いた研究により ほぼ確定したと考えられる。

我々が以前 ヒトのワルデンストレーム IgM を用いて行った IgM の構造に関する一連の研究結果を模式的に示したのが [図 I] である。この酵素分解及び還元分解による研究から得られた結果をまとめると次の様になる。(1-3)

1) IgM を還元すると 7S のサブユニットとなる。1M プロピオン酸中では H 鎖と L 鎖に分離する。その収量は夫々 81% と 19% であり、これから考えるとサブユニットは H 鎖 2 本 L 鎖 2 本からなるものと考えられるのが最も妥当と思われる。Suzuki 等が報告したような中性での L 鎖の遊離は認められなかった。又 IgM を低濃度の還元剤 ($1 \sim 3 \times 10^{-4} M$ Dithiothreitol) を用いて還元するとペプチド鎖内 S-S 結合が intact な 7S サブユニットが得られると共にこの 7S サブユニットが 3-4 コ連ったと考えられる中向の分子も存在する事を認めた。(4)

2) 7S サブユニットをパパインで分解することにより、IgG の Fab 及び Fc に相当するフラグメントを得た。(Fab_M, Fc_M) Fc_M はパパインで消化をうけやすく、低収量でしか得られな

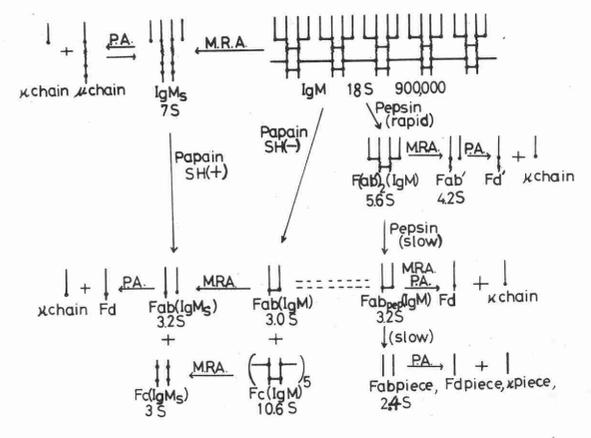


Fig. 1. Scheme for enzymatic fragmentation of the human IgM

かったが、IgM の Fc フラグメントを分離することに成功したのは我々が最初であった。又 Fab_M はその収量から考えると IgM 1 分子に 10 コ存在する二とがわかった。

3) IgM をペプシニで消化することにより IgG の Fc(ab')₂ に相当するフラグメント (Fc(ab')_{2M}) 及びパパイン消化で得られる Fab_M と同等のフラグメント (Fab_{pepM})、更にこれより小さい 2.3S のフラグメント (これは Fab_{pepM} の C 端側の一部が分解されたもの、Fab_{pieceM}) が得られた。Fc(ab')_{2M} の hinge 部には Fc 部分とは異なる M 鎖の抗原性の一部が存在し糖の一部もここに結合している。5.6S の Fc(ab')_{2M} は還元により 4.2S の Fab_M となり SH 基の定量より 2 つの Fab_M は 1 つの S+S 結合により連っている二とがわかった。(4)

4) IgM を還元剤の存在しない条件下でパパインで分解することにより Fc の抗原性を有する、分子量 320,000 のフラグメントを得、これが還元により 3S のフラグメントになる二と及び遊離する SH の分析よりこの大きな Fc フラグメントは 3 S-Fc が多分 5 コ S+S 結合で連ったものと考えられた。このことより IgM 分子内で各サブユニット

P.46

はFc間のS-S結合で連っていることが明らかになった。
このことは同様の方法で得られた大きいFcフラグメント
の電顕的観察によりSvehag等によって裏づけられた。⁵⁾
以上の構造研究の結果からIgM1分子中には10コのFab
が存在することが明らかにされたが、IgM抗体が何分子
の抗原を結合し得るかを調べた今迄の研究では大部分5
コしか抗原を結合しえないという結果が得られている。⁶⁾⁻¹⁰⁾
そしてこのことが換言すればサブユニットは univalent
であろうと云うことがIgM抗体の機能上の特殊性、即ち
還元により凝集、沈降、溶血等の活性を消失すると云う
今迄認められてきた実験結果をうまく説明出来るのでは
ないかと考えられた。それではFabが10コ存在するの
に何故抗原は5コしか結合しえないと云う結果が得られた
のであるか。Metzger等のグループはヒトのIgGのFc
部分に対して抗体活性を有するワルデンストレームIgM
を見出しこの抗体は5コの抗原しか結合しえないがそれ
をtrypsinで分解して得られるFab₂は全て抗原を結合し
うることを報告した。¹¹⁾即ち彼等はIgMのサブユニット内
における2つの抗原結合部位はIgGと異り近接して存在
するため蛋白抗原のような大きな分子を2つ同時に結合
することは出来ないと考えた。この考えを裏づけるよう
に、彼等は又Waldenström IgMでニトロフェニル基に
対して抗体活性を有する例を見出し、このIgMでは10コ
のハプトエンを結合することが出来、しかもそれらの結合部
位の抗原とのaffinityは低い(10⁴のorder)、10コとも均
一であることを報告した。¹²⁾一方尾上らはサルモネラ菌
にノアミノナフタレンスルホン酸をジアゾ結合したも
のを抗原として用い、静注法で免疫を免疫した時 booster
injectionで著明にIgM抗体の産生が増強されることを見
出した。¹³⁾(最近の我々のマウスを用いた実験に於ても
IgM抗体産生にMemoryの存在することが明らかとなっ
ている。)このようにしてかなり大量のIgM抗体を得る方
法を見出し、このIgM抗体を用いて抗原結合部位の数を
測定すると、1分子のIgM抗体に10分子の抗原が結合し
うるということが明らかとなった。しかし抗原結合部位総数の
うち約50%は抗原との結合力が他の半数の結合部位のそれ
に比して約100倍位強いという結果が得られた。(K=10⁶~10⁷と
K=10⁴~10⁵)¹⁴⁾

P.47

我々はこの結果から次の3つの可能性を考え、その中
のどの可能性が最も妥当であるかを精製したIgM及びそ
のペプシンフラグメントを用いて種々の点から検討した。
第一の可能性は我々が用いているIgM抗体標品中の
Heterogeneityによるのではないか、即ち10コとも強い
結合力をもつIgM抗体と10コとも弱い結合力しかもたない
IgM抗体が偶々半数ずつ存在しているのではないか。
第二はFabは10コとも等しい結合力をもっているが、
半数は何らかの立体的障害によって抗原との結合力が弱
められるのではないか。

Fig. 1は1分子のIgM抗体中には抗原との結合力の異なる2種のFabが半數ずつ存在するのではないかと、そして弱い結合力をもつ半數のFabの結合力が極端に弱いことを測定上いつも5ユニットという結果が得られたのではないかと。

IgM抗体は兔の抗azo-NS+Salm. 血清より特異免疫吸着体、ゲルろ過、リオン電気泳動法を用いて精製した。精製

IgMは超遠心分析で17.9S、免疫電気泳動で単一の沈降線を示し、IgGの混入は0.26%、抗体としての純度は90~95%であった。(42) ヒトIgMのペプシン分解に用いたと同様の方法でこのIgM抗体のペプシン分解を行い、分解物をセファデックスG+150によるゲルろ過で43の如く分離した。超遠心分析及び免疫電気泳動の結果からFr IIはF(ab)₂、Fr IIIはFabpepに相当することを知った。(44) Fr IIIはゲルろ過により分子量約80,000と推定され、その抗原性と凝集活性を調べるとF(ab)₂よりFabpep一個が切り離されたものと考えられる。

nativeなIgM及びその

から得られたF(ab)₂、Fabpepの抗原結合部位の数及びその結合力を平衡透析法を用いて測定した。Fig. 5に示すごとくIgM抗体は1分子のサブユニット(M.W. 180,000)あたり1.8ユニットの結合部位が実測され、しかもカーブの形より明らかに結合力の異なる2種の結合部位の存在が推測され、これは前回報告の結果とも一致した。F(ab)₂ (分子量を117,000と仮定)には1分子当り1.6個の結合部位が実測され、カーブの形はIgMのそれとよく一致した。しかしIgMに比してハプロテニンの結合力の弱い部位が少し減少

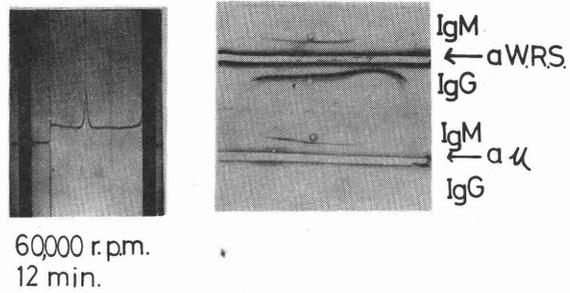


Fig. 2. Ultracentrifugal analysis and immunoelectrophoresis of purified anti-azo-NS IgM antibody

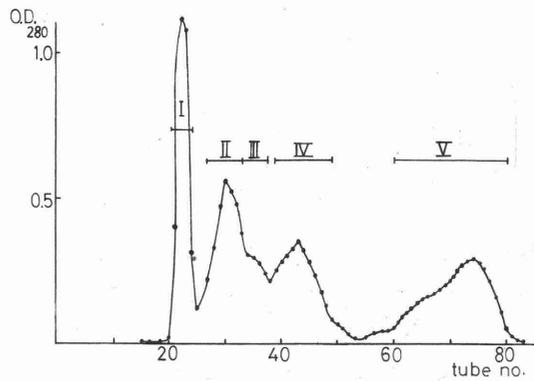


Fig. 3. Gel filtration of pepsin digests of anti-azo-NS IgM antibody on Sephadex G-150.

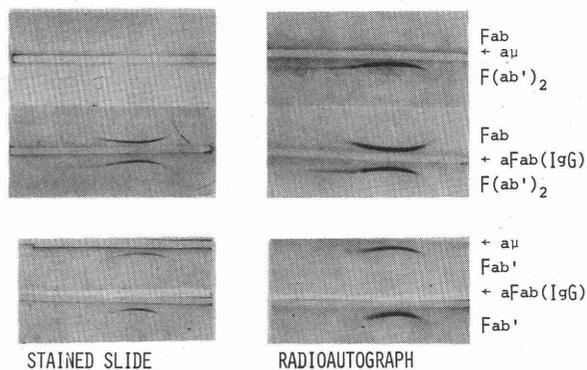


Fig. 4. Radioimmuno-electrophoresis of pepsin fragments of anti-azo-NS IgM antibody

していた。Fabpepは2分子当り(分子量を47,500と仮定)1.05分子のハプテンを結合した。ハプテンとの親和性の弱い結合部位は殆んど消失しているのが注目された。即ちFabpepの約半数はハプテンを結合しえないことから

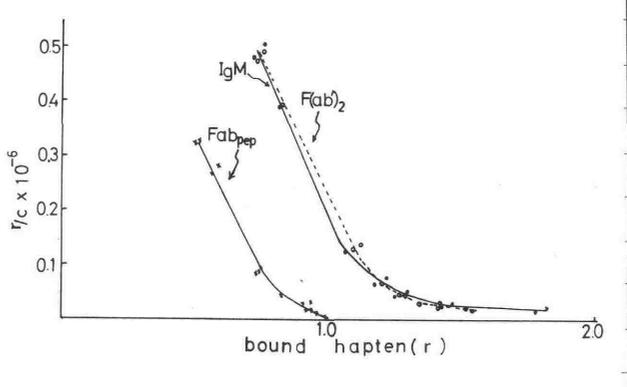


Fig. 5. Hapten binding of anti-azo-NS IgM antibody and its fragments.

して“FabはIgM分子内で全て等しい結合力をもちが何らかの立体障害等によって半数の結合力は弱められる”と云う可能性はこの結果からは否定的である。更にFabpepの半数には弱い結合力をもち部位が検出されないのは弱い親和性をもった部位がペプシン消化によって不活化されやすいという可能性を示していると考えられる。

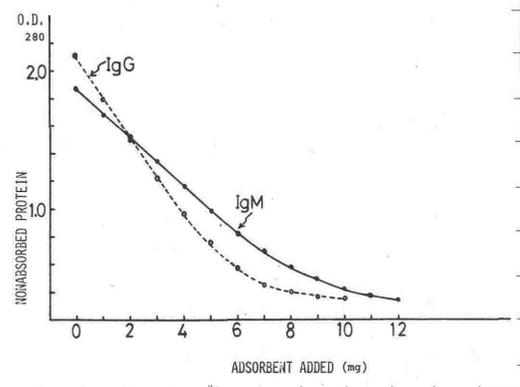


Fig. 6. Adsorption of anti-azo-NS antibodies on fractional addition of immunoadsorbent.

このようにIgMに結合力の異なる2群の結合部位が存在するのを用いたIgM抗体の不均一性によるものが否かを検討するため以下の実験を行った。一定量のIgM抗体に抗原(特異免疫吸着体)を順次その量を増しながら加え吸着される抗体量を測定し、2つのグループに分画出来るかどうかを調べた。図6

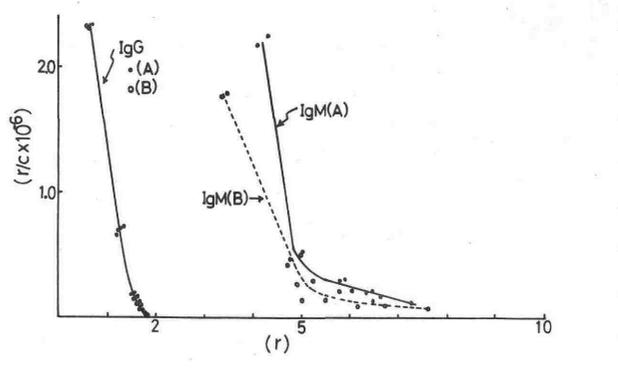


Fig. 7. Hapten binding of anti-NS antibodies separated by fractional adsorption.

に示すごとくIgM抗体はIgG抗体と同様な態度をとり2つのほゞ等しいグループには分画しえなかった。次にIgM抗体にその丁度50%が吸着される量の特異免疫吸着体を加えてIgM抗体を2つに分画し夫々について平衡透析法を行った。(47) 吸着体に吸着された画分にも、それなからた画分にもやはりもとのIgM抗体と同様に2種の結合力の異なる結合部位が半数ずつ存在した。以上の結果から、結合力の異なる2種の結合部位の存在は、2種の異なるIgM抗体分子が標品中に約半数ずつ存在したと考えるよりは、1つのIgM抗体分子中に2種の結合力の異なる結合部位が存在すると思われる。

この点を更に検討す
 るために、抗体の特異
 吸着体への吸着を種々
 の濃度のハプテンで阻
 止する実験を行った。
 図8に示す如く、IgM抗
 体、IgG抗体、 $F(ab)_2$ (Ig
 G)は殆んど同じ形のカー
 ブを示し、ハプテン濃
 度0では90%以上の吸
 着を示した。しかし
 $F(ab)_2$ は2つの等し
 い結合力をもった結合
 部位を有すると考えら
 れる $F(ab)_2$ (IgG)とは明
 らかに異なるパターンを
 示し、ハプテン濃度0
 に於てIgM抗体の吸着

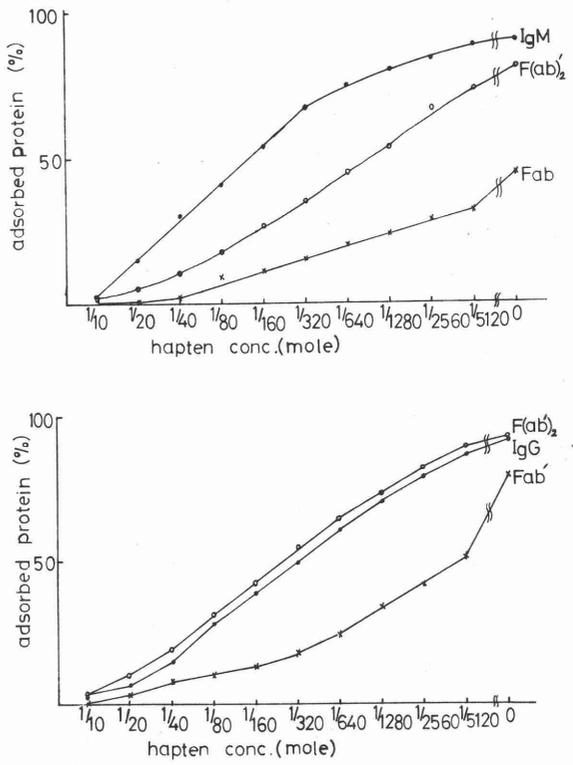


Fig.8. Adsorption experiments of diazo-NS-IgM and IgG antibody and their fragments.

量を100%として90%が
 吸着された。Fabpep_m
 はIgMや $F(ab)_2$ とは異
 なるカーブを示し、IgM抗体の吸着量を100%として50%し
 か吸着されなかった。それに対してFab(IgG)は吸着力
 ーブはFabpep_mのそれと似ていたが、ハプテン濃度0で
 IgGの吸着量を100%として85~90%が吸着された。

P.50

以上の結果から $F(ab)_2$ は殆んど全て結合部位をもつ
 ているが、2つの等しい結合部位をもつと考えられる F
 $(ab)_2$ (IgG)とは明らかに異なっていること、しかしほゞ等し
 かった2つのpopulationには分けえないこと、Fabpep_m
 は分子の半数しか吸着されえないこと(これは平衡透析法
 で1分子のFabpep_mが0.5分子のハプテンしか結合しえ
 ない結果ともよく一致する)、又IgM、IgGのパターンに殆
 んど差がなく、IgM抗体をほゞ等しい2つのpopulation
 に分けえないこと等が明らかにされた。これらの事実か
 らもIgM1分子中には抗原との結合力の異なる2種の結合
 部位が存在し、しかもそれが1つづつ対をなして $F(ab)_2$
 を形成しているのではなかろうか。我々の仮定は決して
 簡単に否定されるものではないと思われる。

以前からIgM抗体を還元すると凝集、沈降、溶血等の活性
 は消失するものと考えられてきた。しかし我々が現在用
 いている抗体のサブユニットや $F(ab)_2$ は結合力に差は
 あるとしても明らかにdivalentであることが平衡透析
 法で証明されている。この抗体のフラグメントやサブユ
 ニットを用いてこれらの活性の有無を精細に検討してみ
 た。

凝集反応はホルマリン処理赤血球にハプテンをジアゾ
 結合したものをを用いて行った。TABLE Iに示す如く、
 $F(ab)_2$ には明らかに凝集活性が認められ、これはしか

も IgG と同じオーダーの効率を示した。これがわずかに混入した IgM 抗体によるものでないかどうかを検討するために、I¹³¹I で標識した正常兔 IgM を加えてリクロマトグラフィーを行うと F(ab')₂ 分画に混入する IgM の量は 0.1

	MINIMUM CONCENTRATION (μgN/ML)		MINIMUM CONCENTRATION (μgN/ML)
IgM	0.0048	IgG	0.542
F(ab') ₂ (IgM)	0.930	F(ab') ₂ (IgG)	0.495
Fab _{pep} (IgM)	>10.5	Fab'(IgG)	>41.2

TABLE 1. Minimum requirements for hemagglutination of anti-azo-NS IgM, IgG antibody and their pepsin fragments.

0.1 であったが、F(ab')₂ の凝集に必要な最少量には変化がなかった。又 Suter¹⁵⁾ の方法を用いて、抗ハプロテイン抗体を精製したと同じウサギの抗血清より抗サルモ

	MINIMUM CONCENTRATION (μgI/ML)		MINIMUM CONCENTRATION (μgI/ML)
IgM	0.0037	IgG	0.345
R-A IgM	0.723	R-A IgG	0.345
RECHROMATO. R-A IgM	0.964		
R-REOXID. IgM	0.0074		
H CHAIN(IgM)	>120	H CHAIN(IgG)	N.D.
L CHAIN(IgM)	>150	L CHAIN(IgG)	>150

TABLE 2. Minimum requirements for salmonella agglutination of anti-salm. IgM, IgG antibody and their reduced products.

ネラ IgM 抗体を精製し、 2×10^{-3} M D.T.T. を用いてサブユニットを作製し、(このサブユニットは L+H, H+H 間の S-S 結合は全て切断されている) このサルモネラ菌凝集活性を測定するとやはり IgG と同じオーダーの活性を示した。還元后再酸化して reassociation した IgM 分子は IgM 抗体と同程度の高い凝集活性を示した (TABLE 2)。Cooper¹⁶⁾ はサブユニットの凝集活性には、ホリペプチド鎖内の S-S 結合が intact であるに必要であり、このようなサブユニットは IgM 抗体と等しい高い凝集活性をもつと報告しているが、我々のこの結果からはペプチド鎖内の S-S 結合が intact であるに必要凝集活性に必須な条件ではなく、又 S-S 結合が intact である F(ab')₂ でも IgG と同程度の効率を示さないことがわかった。Cooper の結果にはサブユニットに重合したものが存在しなかったかどうかがと云う点に検討の余地があるのではなからうかと思われる。

IgM, IgG 抗体及びそれらのフラグメント、サブユニットの溶血活性は現在検討中である。羊赤血球にハプロニをジアリール結合したものと、及び Landy¹⁷⁾ の方法によりサルモネラ菌の Lipopolysaccharide を羊赤血球に結合させたものを用いて抗ハプロテイン抗体、抗サルモネラ抗体の溶血活性を測定している。どちらの系に於ても IgM 抗体は IgG 抗体の約 700 倍の溶血活性を有している。 2×10^{-3} M D.T.T. で還元した IgM 抗体のサブユニットには溶血活性は認められなかったが 3×10^{-4} M D.T.T. で還元して得られたサブユニット (ペプチド鎖内 S-S 結合 intact) には IgG と同程度の溶血活性が認められるようである。IgG 抗体でも 5×10^{-4} M D.T.T. で還元すると溶血活性は消失する。従って補体の結合にはホリペプチド鎖内の S-S 結合が重要な役割を演じているのであらうことが推察される。

要約

IgM抗体は約90万と云う大きな分子量を有すると共に、凝集、溶血等の反応に於て非常に高い活性を有し、これが還元により一見消失するようにはみえるといふ機能上の特殊性が観察されてきた。

我々はWaldenström IgMを用いて、そのポリペプチド鎖構成を検討すると共に、ウサギのIgM抗体を用いて、その抗体機能を種々の点から検討した。

IgM 1分子中には10コのFab(抗原結合部位)が存在すること明らかとなった。我々が用いたIgM抗体には、その1分子中に抗原との結合力の点に於て異なる2種のFabが半数ずつ存在する可能性が示唆された。Metzgerらはニトロフェニル基と結合性を有するワルデニストレーム IgMでそのFab全てが同等の結合性を有するといふ結果を得ているが、ウサギ抗体についての上記の可能性は依然として否定出来ないと考える。

このIgM抗体のダイマーフラグメント(Fab)₂及びサブユニットにはIgGと同じオーダーの凝集活性が存在することを確認した。この点から考えてIgM抗体のサブユニット中の2つの結合部位は同時に2つの赤血球を結合出来る程度に働きうるということが想像出来る。しかしこのサブユニットが沈降を起し得ないのは何故か、尚今後検討の必要がある。1つのIgM分子中に2種の異なるFabが存在するか、それは一次構造の違いによるか等、今後更に追求される必要がある。

文献

- 1) Onoue, K., Kishimoto, T. and Yamamura, Y., J. Immunol., 98, 303 (1967)
- 2) Onoue, K., Kishimoto, T. and Yamamura, Y., J. Immunol., 100, 238 (1968)
- 3) Kishimoto, T., Onoue, K. and Yamamura, Y., J. Immunol., 100, 1032 (1968)
- 4) Kishimoto, T. and Onoue, K., unpublished data
- 5) Snehag, S. E., Bloth, B. and Seligman, M., J. Exptl. Med., 169 (1969)
- 6) Onoue, K., Yagi, Y., Grossberg, A. L. and Pressman, D., Immunochem., 2, 401 (1965)
- 7) Lindquist, K. and Bauer, D. C., Immunochem., 3, 373 (1966)
- 8) Voss, E. W. Jr. and Eisen, H. M., Fed. Proc., 27, 2631 (1968)
- 9) Clem, L. W. and Small, P. A. Jr., Fed. Proc., 27, 2633 (1968)
- 10) Voss, E. W., Russel, W. J. and Sigel, M. M., Biochemistry, 8, 4866 (1969)
- 11) Stone, M. J. and Metzger, H., J. Biol. Chem., 243, 5977 (1968)
- 12) Ashman, R. F. and Metzger, H., J. Biol. Chem., 244, 3405 (1969)
- 13) Onoue, K., Kishimoto, T., Yamamura, Y. and Grossberg, A. L., Proc. of the Symposium on Immunochem. (Tokyo), 2, 16 (1968)
- 14) Onoue, K., Grossberg, A. L., Yagi, Y. and Pressman, D., Science, 162, 574 (1968)
- 15) Robbins, J. B., Kenny, K. and Suter, E., J. Exptl. Med., 122, 385 (1965)
- 16) Cooper, A. G., Science, 157, 933 (1967)
- 17) Landy, M., Sanderson, R. P. and Jackson, A. L., J. Exptl. Med., 122, 483 (1965)

