

第8回補体シンポジウム

予 講 集

場 所 大阪府医師会館

期 日 昭和46年11月28日～29日

1. 日 時 第1日 昭和46年11月28日(日)午後1時～5時30分
第2日 昭和46年11月29日(月)午前9時30分～午後5時45分

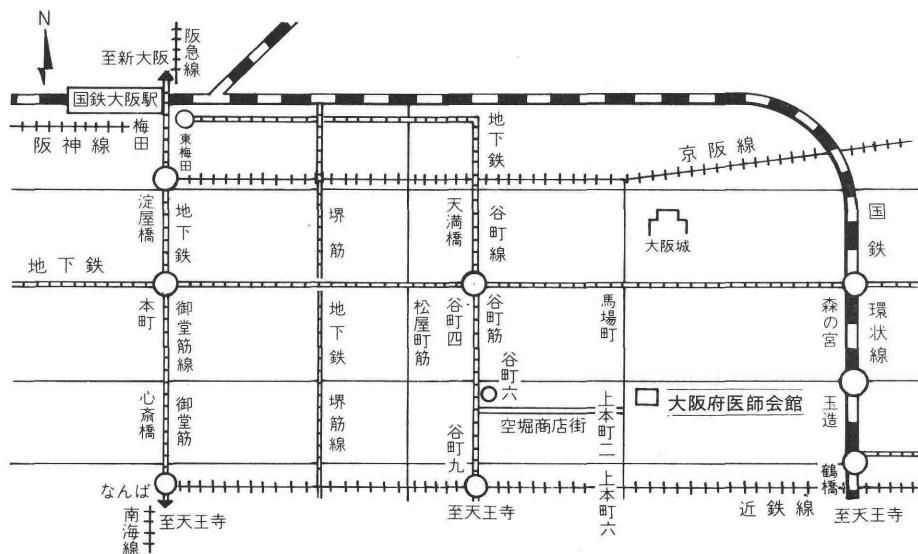
2. 会 場 大阪府医師会館

大阪市天王寺区上本町3丁目1-9

TEL (768) 1451

地下鉄 谷町線、谷町6丁目下車

空堀商店街を通って徒歩5分



お知らせとお願い

- 各演題の講演時間は15分です。
- 幻灯器は35mm用を1台用意します。
- 30分前までにスライドを会場受付に提出して下さい。

司話人

大阪府立成人病センター

稻井真弥

第 1 日

午後 1:00~3:00

座長 高橋 守信

1. 赤血球沈降速度促進因子に関する研究(第1報)

都立大久保病院

河島敏夫、大山俊郎、津田文男、
宮沢政栄、

国立がんセンター研究所

関根暉彬 西岡久寿弥

1

2. Single radial immunodiffusion 法による日本人血清の β 1C/1A-globulin および β 1E-globulin 値について、

大阪府立成人病センター

平松誠一、北村肇、永木和義、
飯田恭子、笠井よし子、寺井たみ子、
稻井眞弥

3

座長 真弓忠

3. 発作性夜間血色素尿症と補体

北海道大学第二内科

今野孝彦、大橋晃、渡辺武史、
安河内太郎、

5

4. 若年性関節リウマチにおける補体系の動向

都立豊島病院整形外科

松浦美喜雄

7

ハーバード大学 R.B.Brigham 病院

Shaun Ruddy, J.S.Stillman,
K.F.Austen.

5. 腎移植患者における血清補体価の変動

9

都立大久保病院内科

倉田要、

慶應義塾大学病院内科

大久保充人、田村寿夫、井垣嘉之、

丸茂菊男

東京電力病院泌尿器科

中村宏

3:30~3:45 休憩

3:45~5:30

座長 橘 武彦

6. SLEの補体(抗補体性を中心に)

11

岡山大学医学部第三内科

天野哲基、森田実、西下駿三、
河野勝昭、大藤真

7. 蛋白尿中の補体成分及びそのinactivatorについて	13
大阪府立成人病センター	北村肇、笠井よし子、稻井眞弥
座長 岡田秀親	
8. Non-functional C1 inactivatorを有する血管神経性浮腫の一症例	15
九州大学医学部心療内科	手嶋秀毅、井上貞久
大阪府立成人病センター	永木和義、飯田恭子、稻井眞弥
9. ヒト、リンパ球のE, EAC4C3結合性とその起源	17
国立がんセンター研究所	
東邦大学医学部小児科	橋武彦、矢田純一、西岡久寿弥

第 2 日

午前 9:30~10:45	
座長 田村昇	
10. IgGの熱によるPolymerizationとPolymerized IgGの補体結合性	19
東京大学物療内科	横張龍一
11. C1エステラーゼおよびプロC1sの精製	21
徳島大学医学部酵素生理	村松睦、須見洋行、岡村和子、 藤井節郎
徳島大学医学部皮フ科	白石聰
12. ヒト C1とC1 inactivatorとの反応について	23
大阪府立成人病センター	永木和義、飯田恭子
10:45~11:00 休憩	
11:00~12:15	
座長 永木和義	
13. 補体第1成分と第4成分との間の反応に及ぼすTAME及びATEeの影響についての比較	25
国立がんセンター研究所ウィルス部	島田彰子、田村昇
14. C1 INHに関する研究	27
京都府立医科大学増田内科	近藤元治、細川計明

15. C1 inactivatorを欠如したモルモット血清	29
国立がんセンター研究所	田村昇、奥田智子
東京大学医科学研究所	成内秀雄、臼井美津子
12:15~1:30 昼食	
午後 1:30~2:45	
座長 井上公蔵	
16. Dithiothreitol(DTT)によるGPC3の特異的結合能の阻害	31
金沢大学がん研究所分子免疫部	高橋セイ、田中清子、河野寛一、 高橋守信
17. モルモット補体第3成分の構造と活性	33
国立がんセンター研究所ウィルス部	奥田智子、山主公子、西岡久寿弥
東京大学理学部生物化学	高橋健治
18. Ghost ヒツジ血球を用いたImmune Adherenceの定量的解折	35
国立がんセンター研究所ウィルス部	西岡久寿弥、奥平陽一、奥田智子
2:45~3:00 休憩	
3:00~4:15	
座長 西岡久寿弥	
19. (Fab')2によるCytotoxicity	37
国立がんセンター研究所	岡田秀親
20. 免疫溶血反応の終末反応段階に及ぼすsoluble ATPaseの作用	39
奈良県立医科大学細菌学教室	上田浩、深山昭雄
21. 免疫溶菌による大腸菌菌体成分の変化について(第2報)	41
大阪大学医学部細菌学教室	井上公蔵、矢野健一、高見沢昭久、 天野恒久
4:15~4:30 休憩	
4:30~5:45	
座長 近藤元治	

22. PCA反応の免疫組織化学的研究

43

横浜市立大学形成外科

西岡久寿樹

横浜市立大学第二病理

田中俊夫

23. 創傷治癒とPCA反応

45

横浜市立大学第二病理

田中俊夫

同 形成外科

西岡久寿樹

24. Passive Mucocutaneous Anaphylaxis (PMA)

47

(第1報)

横浜市立大学形成外科

西岡久寿樹

同 第二病理

田中俊夫

赤血球沈降速度促進因子に関する研究（第一報）

都立大久保病院

河島敏夫 大山俊郎 津田文男 宮沢政栄

国立ガンセンター

関根暉彬 西園久寿弥

赤血球沈降速度(以下血沈と略称)については古くから極めて多くの研究報告があり 今日では臨床上面最も手近かな検査として日常広く利用されてい る。しかしこの反応の意味づけは必ずしも明らかでない。われわれは免疫 反応の立場から 血沈と補体との関係に注目し 検索を続け 多少の知見を得たので第一報として報告する。

被験者及び測定方法： 被験者として諸種アレルギー性皮膚疾患、SLE をとりあげた。即ちこれら疾患患者で血沈値の亢進している症例を選択し、又对照として健康成人血液用い型の如くクエン酸リーダーを加え Westergren 法によつた。補体価は血清補体価(以下特に SCH₅₀と略記)、更にクエン酸リーダーを加えたプラズマの補体価(以下 PCH₅₀と略記)を測定した。

I. 血清補体価(SCH₅₀)と血沈値

各種アレルギー性皮膚疾患及びSLE患者50例につき SCH₅₀と血沈値との相関をみると、両者の間には全く相関関係が見られなかつた。しかし SLE患者で、同一症例につき経時的に SCH₅₀と血沈値の変動を追跡すると両者の間に極めて密接に関連しながら変動する patternを得た。(Fig 1)

II. 血沈の交換試験

SLE患者血液とこれと homo (同一血液型)の健康成人血液を用いて実験を行つた。それぞれの3.8% クエン酸リーダーを加えた血液をプラズマと赤血球に分離し、赤血球は $\frac{1}{200}$ M P.B.S で 2000 rpm, 10分, 4°C の条件下に3回 wash したものを利用した。それぞれのプラズマと赤血球を交換して血沈を測定すると SLE プラズマでは健康人赤血球の沈降を著明に亢進させたが SLE 赤血球と健康人プラズマではそれが見られなかつた。(Fig 2)

又 Myositis 患者血液を用いての auto(即ち同患者の血沈亢進時期の血液と血沈軽快時血液)の交換実験にても同様の事実が得られた。(Fig 3)

III. homo 健康人赤血球による血沈促進因子の吸収

上述 SLE患者プラズマ中には血沈を促進させる factor の存在が考えられこの factor と赤血球との関係が検討された。即ち 予め homo 健康人赤血球

と 37°C , 30分 インキュベーションされた PLE プラズマは、その血沈促進能が失はれた。(Fig 4). 更に血沈促進能の低下は、加える赤血球の量に従い (Fig 5) の如き結果を得た。

IV. 吸收後の プラズマ補体価 (PCH₅₀) と赤血球上の補体
Ⅲの吸收に用いた プラズマの PCH₅₀ は 吸收に使用した 血球量に応じて 低下
が見られた。吸收に用いた 赤血球を 葉巻抗体法により、抗 C₃、抗 C₄ E 検索したところ 発光陽性を示す 赤血球が Partial に見られた。

以上の実験事実より 被験例の 赤血球沈降速度促進因子が 主に プラズマ
側にあり、(赤血球側にも若干あり) その促進因子は 健康者 homo 赤血球で吸
収され、吸收後の プラズマの 補体活性が 低下すること、赤血球上に 補体が
認められることなど 血沈促進因子の 1つに 補体が関与している可能性を得た。
長屋らは 動物の 実験的アレルギー 疾病にて 血沈の亢進は 見られないが
諸種の 動物の 赤血球を 用いて 交換試験を行い、人赤血球のサガ連鎖形成をす
る こと に 人と 動物との 血沈の 有無の 原因を 来めて いる。このこと は 血沈促
進因子として 補体あるいは I·A との 因縁を 追求しなければならぬ 問題
を 提供して いる。

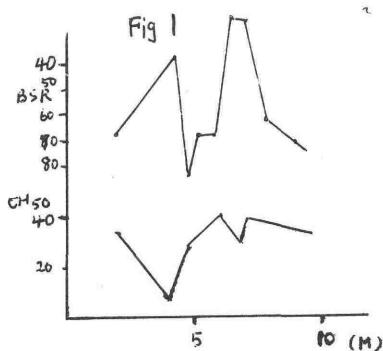


Fig 1

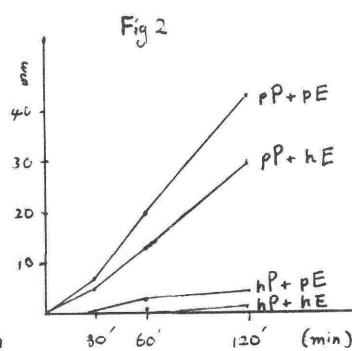


Fig 2

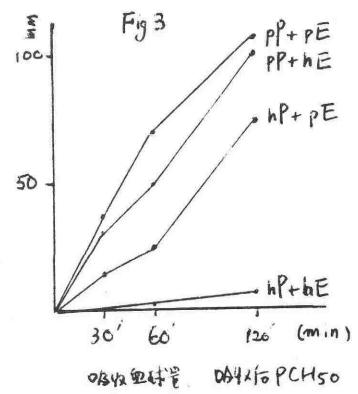


Fig 3

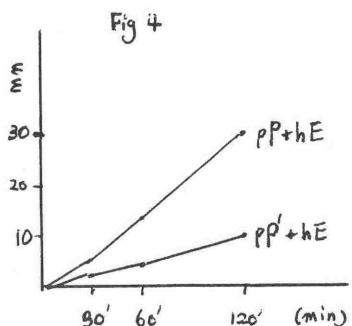


Fig 4

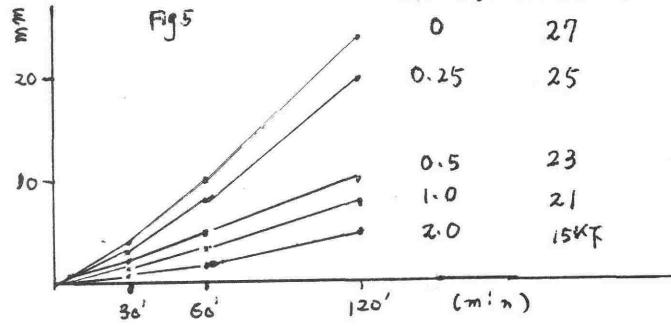


Fig 5

Single radial immunodiffusion 法による日本人血清の
 $\beta_{1c/1A}$ -globulin および β_{1E} -globulin 値について
大阪府立成人病センター

平松誠一, 北村 肇, 永木和哉,
飯田恭子, 笠井よしこ, 李井たみ子,
猪井真弥

近年, 血清蛋白分画の定量に免疫学的方法が応用されるようになり, これ, Mancini らによつて Single radial immunodiffusion 法が考案され, 容易に血清中の微量の蛋白分画の定量が行なわれるようになつた。すなまち, 免疫 globulin の定量に関しては, 内外の多くの報告があり, その変動の意義についても論じられているが, 一定した結論は得られていないようであるし, またその正常値についても報告者により区々である現状である。さらに, 免疫 globulin 以外の各種血清蛋白分画の免疫学的定量についての報告はまだ多くなく, これに日本人のそれについては甚だ少ない。また, 免疫 globulin を含めて, いずれの分画値についても, 正常対数の探し方に明確な説明のあるものが甚だ少なく, さらに, その例数が極めて少ないものが多いた。

このことは, 血清 $\beta_{1c/1A}$ -globulin と β_{1E} -globulin 値についても言えるので, この観点に着付いて, 判定基準を設けて対象を選び, これを性別, 年代別に, しかも各群の数を多くとってその標準値を出そうという試みを行はつた。

対象は, 日本赤十字社大阪血液センターに供血の目的で訪れ, 血液比重, 血清 GPT 測定, 血清梅毒反応, Au 抗原の検索の 4 項目の検査に合格した, 20 才代, 30 才代, 40 才代の男女各 50 名と, 50 才代の男子 50 名, 50 才代の女子 37 名, 総計 387 名の血清である。

測定は, Behringwerke 社製の Partigen[®] を用いて施行した。標準血清は, 同社で用意された $\beta_{1c/1A}$ -, β_{1E} -globulin 量既知のもの (Op. Nr. 570; $\beta_{1c/1A}$ 含有量 75 mg/dl, β_{1E} 含有量 18 mg/dl) のもので, 標量線の作成には, $\beta_{1c/1A}$ -globulin については, $\times 9$, $\times 5$, $\times 2$ \times , β_{1E} -globulin については, $\times 6$, $\times 2$, $\times 1$ \times 生理食塩水を以て稀釀して使用し, 被検血清は, 何れも $\times 3$ に稀釀して使用した。

稀釀された血清は, それを各 2 μ l を抗原孔に添加し, 恒温箱中で, 室温より 48 時間反応させたのち, 1 度大量の生理食塩水で洗浄し, 翌日 0.05% の Amido black 10 B 溶液にて染色し, 形成された沈降輪の直径を計測した。

該蛋白の定量値の算定は, 標準血清のそれぞれの濃度のものの沈降輪の

直徑の自筆でグラフ用紙の縦軸で、横軸の含有蛋白量に對して plotting 得た表を結んで検量線を作成し、これを用いて被検血清の蛋白量の測定を行なつた。

以上の操作によつて得られた蛋白量は、下の表に示す通りで、性別、年令別に各測定値を、 χ^2 検定によつて正規分布の有無を検定し、正規分布なれば平均値、標準偏差を算出、もし正規分布でなければ、各値の対数について再び χ^2 検定を行ない、正規分布すれば対数正規分布として平均値、標準偏差を計算したのち、平均値の真数と、平均値に標準偏差を加減した値の真数を算出し、前者を平均値、後者を範囲とした。すなはち、20才男子についてみると、 $\beta_{1c/1A}$ -globulin は、正規分布し、 $86 \pm 15 \text{ mg/dl}$ であり、 β_{1E} -globulin は対数正規分布し、平均値が 30 mg/dl 、その範囲は $23 \sim 40 \text{ mg/dl}$ であった。なお、各年代間および各性別間の有意差は、 t 検定または Cochran-Cox の近似法を用いてしらべ、有意差なし場合は一括して平均値、標準偏差または平均値、範囲を計算して表に示した。ただし、男女間の有意差については右端の欄に記入した。すなはち、 $\beta_{1c/1A}$ -globulin については、男子では年代間に有意差がなく、男女間の有意差は、40才代および50才代にみられた。 β_{1E} -globulin については、年代により分布状態が異つてゐるので、有意差の検定に当つては、何れも対数値によつて行なつた。

以上の測定結果をみると、女子においては、 $\beta_{1c/1A}$ -globulin、 β_{1E} -globulin は共に高令者へ高値を示し、また β_{1E} -globulin は、男子と異つて分布状態を示すことから、女子ではこれらの蛋白が加令により増加し、かつその產生機構は男子とはちがつて操作が付いてゐるものと想像される。即ち、従来いわれてゐる α_2 macroglobulin の女子における高値、しかも年令と共に増加するところは、hormonal な要因が考えられてゐるようだ。これらの蛋白についても、その產生に内分泌的体機序が関与してゐるのではないかと考えられる。

	年令	例数	男子		女子		男女間の有意差
$\beta_{1c/1A}$ globulin (mg/dl)	20~29	50	82 ± 17	86 ± 15	88 ± 19	87 ± 17	なし
	30~39	50		99 ± 20		84 ± 19	なし
	40~49	50		99 ± 20		92 ± 21	$P < 0.05$
	50~59	37		82 ± 14		104 ± 21	$P < 0.05$
β_{1E} globulin (mg/dl)	20~29	50	$(23 \sim 36)$	$30(23 \sim 40)$	$(20 \sim 39)$	$29(22 \sim 40)$	なし
	30~39	50		29 ± 9		28 ± 9	なし
	40~49	50		29 ± 8		29 ± 9	なし
	50~59	37		$30(23 \sim 29)$		37 ± 10	$P < 0.05$

発作性夜間血色素尿症と補体

北大2内 今野彦彦 大橋晃 渡辺武史 安田内太郎

発作性夜間血色素尿症(pNH)は、抗体の関与しない補体による溶血を特徴とする疾患であり、正常赤血球より、補体のpNHの赤血球への親和性が強めて強いことが立証されている。血清補体価と溶血との関連についての報告は少ない。今回、われわれは、3例のpNHの血清補体価(CH50)を測定し、1例のCH50の低下と著明なCH50の日内変動を認めた。本シンポジウムでは 1) 第四とCH50、C3、C4の関係 2) 补体価を示した1例の血清補体価の原因と、CH50の日内変動に影響を及ぼす因子について報告する。

(I) 材料。

症例1、2、3は各々 36歳女子、18歳女子、50歳男子で、いずれもHam test, Cross-Gy test陽性又赤血球膜の酵素学的異常により、pNHと診断された症例である。症例1は、CH50の低値を示し、この症例の血清を検索するうち、低濃度のCryoglobulinを含むことと判明した。

(II) 研究方法。

- 1) 培血素は、羊赤血球のstromaを抽出してえたForssman 抗原とMayer⁽¹⁾の方法により作製し、室温にて保存してえた加熱を用いた。
- 2) CH50と免疫粘着法による血清カロリ(CCIAs)は、各々Mayerの方法の1/2.5倍法と西園⁽²⁾の方法によった。
- 3) CH50の日内変動は、午前7時、10時午後2時、6時及び10時の5回採血し、ただちに測定した。
- 4) 補体成分C4, C3の活性の測定は、東大物療内科より供与されたIgG EA 1(モル)4(ヒト)cell、精製C2を用いておこなった。C1は硫酸ナトリウムで血清を溶解後、C3は免疫粘着法を用いて測定した。
- 5) Cryoglobulin(Cryo.)の精製は、嫌内⁽³⁾の方法によった。
- 6) Cryo.の溶血阻止作用は、CH50 = 34Y/mlの正常O型ヒト血清0.2mlと非凍結稀釈した血清0.2mlを加え、一晩時間 incubate 后、3mlのGVB⁺を加え(即ち2CH50と1) 5×10⁸/mlの感作羊赤血球の溶血を阻止する%を表記した。7) C3, C4の半定量は、抗血清 3IC/3IA-βIE (Bohring-werke社)を用いて Mancini⁽⁴⁾の平板免疫拡散法によった。又C4s inactivatorの半定量は、抗C4s inactivator血清(Bohring-werke社)を用いて零点内標準反応を行なった。8) Cryo.の半定量は、Mackay⁽⁵⁾の方法によった。
- 9) 血清ヘモグロビンは、シアン・カルバモーフィンに変化させ、540μmの吸光度を日立139分光度計を用いて測定し $E_{1\text{cm}}^{1\text{cm}}(\text{AL}) = 11.4$ とし計算した。

(III) 結果

(表2)

	AM 7	AM 10	PM 2	PM 6	PM 10
Case 1	14.7	0	0	32.0	12.0
Case 2	5.0	51.5	49.0	46.0	42.0
Normal	36.0	34.5	32.0	35.0	33.0

(表1)

	CH50 (U/ml)	CIA50 (U/ml)	Hb (mg/dl)
Case 1	8.0	500	13.6
Case 2	46.0	5,000	17.9
Case 3	30.0	4,000	50.7
Normal	35.9±4.6 ~5.000	4,000 57±2.8	57±2.8

(表3)

	AM 7	AM 10	PM 2	PM 6	PM 10
CH50(U/ml)	4.6	46.5	36.0	0	29.4
C3(mg/dl)	90.0	144.0	144.0	36.0	76.0
C4(mg/dl)	17.6	21.2	31.6	17.2	18.0
Hb(mg/dl)	13.6	10.2	10.2	23.8	20.4
Cryocrit (%)	0.12	0.15	0.50	0.18	0.10

(表4)

	CH50	CIA50	C1	C3
①	8.0	500	13800	4,000
②	20.0	2,000	48,000	4,000
Normal	35.9±4.6 ~5.000	4,000 ±5,000	80,000 ±15,000	4,000 ~5,300

(表5)

	Protein Conc (mg/ml)	Temp (°C)	Incubation Time (min)	Inhibition (%)
Serum	76.0	20	0	0
		37	30	8
		4	12(hrs)	88.1
Supernatant	74.6	20	0	0
		37	30	8
		4	12(hrs)	0
Cryo	2.85	20	0	0
		37	30	88.9
		4	12(hrs)	88.0
Cryo	0.281	20	0	0
		37	60	0
		4	12(hrs)	0

(1) 表1は、pNHの溶血(血清入E7ロビン)とCH50, CIA50の関係を示してあるが、特別な相関性はない。た。

(2) 表2は、症例1と2のCH50の日内変動を示してあるが、症例1では、著明な日内変動を示すが、症例2では有意の変動を認めない。同時にC3, C4, 血清Hbの定量を行なったが、相関性は示さなかった。

(3) 別の日に症例1のCH50, C3, C4, 血清Hb, Cryoの日内変動を測定した結果を表3に示してある。(2)の結果とは異なり、時間的ずれがある。CH50は著明な変動を認めた。しかしC3, C4, 血清Hb, Cryocritとは相関性を認めない。た。(4) 表4は症例1のC1, C3活性と2度測定した結果であるが、C1の活性がCH50価値と平行して低下と示した。(5) C1s-inactivatorは寒天内沈降反応で正常

人アーレ血清と同じ活性まで、半強度を示した。(6) 精製したCryoは、IgGとIgMの混合型である。た。(7) Cryoの補体活性は溶血に対する阻止能を有する。又ヒト血中に認めない。た。

2.85 mg/ml Cryoは約90%の溶血阻止を示し、その1/10量では溶血阻止を示さず、又ヒト血中に認めない。た。

以上より症例1は、IgG = IgM Complex型(C1q)の活性化した低補体活性を示したと推察される。これらCH50の日内変動との因果関係を参考しておこう。

文献) 1) Mayer: Experimental Immunology 2nd ed. 2) 国際標準: 寒天内沈降法 11.1965 1966

3) 増内他: 最新医学 16 2334 1961. 4) Mancini: Immunodiagnostics 2. 235 1965 5) Mackay: Amer J. Med 18 564. 1956.

若年性関節リウマチにおける補体系の動向

松浦美喜雄（東京都立豊島病院整形）

Shaun Ruddy, J. S. Stillman,

K. F. Austen (ハーバード大, R.B.

Brigham 病院)

慢性関節リウマチ患者の関節液中で補体活性が低下していることは、1964年のPekin, Zvaifler(米国)またHedberg(北欧)の報告によつて明らかにされ、この疾患の炎症の場である関節において補体系が関与していふことは証左と考えられてきた。さらに、この補体活性の低下はC4活性の減少に伴なうといふことも、Festiropolous, Austen(1965), 原義, 園崎(1968), Ruddy, Austen(1970)らにより明らかになつてゐる。しかしながら、いくつかの点で成人の慢性関節とは異なる若年性関節リウマチにおける補体系の動向については、それについての報告を、Hedbergのものを除いてはみない。

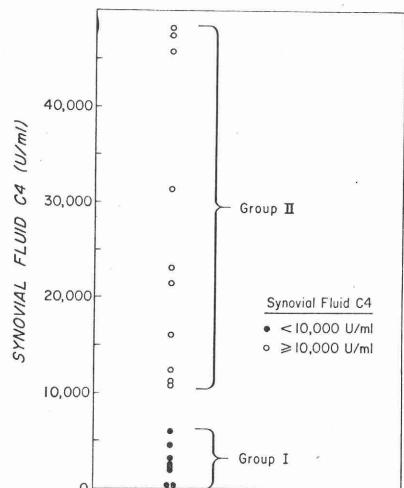
BostonにあるリウマチクリニックであるRobert B. Brigham病院において、1968年から1970年の間にあつめられた若年性関節リウマチの患者よりの血清、関節液について、それらの試料における補体系の活性を検討した。これらの試料は、16名の患者よりえられた、16組の同日採取された血清と関節液のPairsであり、これにつきC1, C4, C2, C9の活性を測定した。

若年性関節リウマチでは、RA因子の出現率は約20%といわれてあり、対象となつた患者群においてもわずかに3名のRA因子陽性者をみるとあるので、たゞこのグループを関節液中のC4活性によって2群にわけた。すなわち、関節液C4の低い群(10000単位/ml以下, Group I)ならびに関節液C4の高い群(10000単位/ml以上, Group II)とにわけた。(図1)

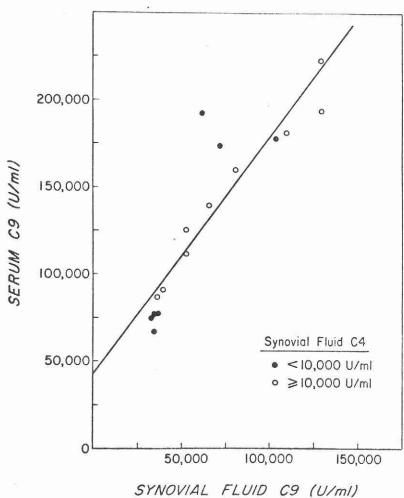
その結果、Group IにはRA因子の出現した患者3名が含まれ、Group IIに比して病型が比較的重症(polyarticular, systemic, pauciarticularの3型にわけた場合)で、発症年令の平均も高めといふことが、観察された。抗核抗体は、Group Iの4名(うち3名はRA因子陽性)Group IIの1名に認められた。Group Iでは、関節液中のC1活性、血清中のC4活性の平均は、統計的処理によりGroup IIのそれに比して、有意に低くなるがかった。

C9活性については、血清中のC9活性と関節液中のC9活性とを対比すると、これらは高度の一次相関を示し、対象となつた患者群にあつては

C9活性という点からみた滑液膜の態度がほぼ正常かつ類似であることを推察させた。なお、これはRA因子陰性の慢性関節リウマチ患者においても観察された現象である。(図2)

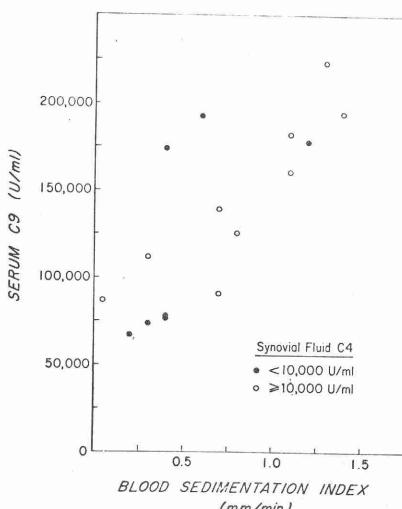


(図1)



(図2)

血清中のC9活性は、これらの患者にあっては、正常より高いことがわかった。BSI値 (Rourke-Ernsteinにより考案された血沈値)との相関を検討した。その結果、C9値とBSI値とは、対象患者にあっては、相関関係を示した。 $P > 0.02$ これは、補体系の最終成分であるC9活性が炎症の動向とともに動くindicatorである可能性を示唆するものかもしれない。



(図3)

腎移植患者における血清補体価の変動

都立大久保病院内科、倉田 要、

慶應義塾大学病院内科、大久保充人、田村寿夫、井垣嘉之、

九茂菊男、東京電力病院泌尿器科、中村 宏。

我々は、腎移植患者について、移植後の血清補体価の変動を経時的に観察して拒否反応との関係を検討した。既に第5回補体シンポジウムにおいて、1例報告を行ったが、その後慶大泌尿器科及び東京電力病院泌尿器科において施行された腎移植3例を加え併せて検討した。

(方法) Mayer の方法により CH50 を、Nelson の方法により C_I, C₄ を、Radial immuno-diffusion 法にて β_{1c} - β_{1A} globulin を測定した。

(結果) 症例1. Y.T. 28才男、慢性腎不全。(図1)

移植に備えて計13回の血液透析を施行、移植前日より、プレドニン、イムラン投与を行って両側腎摘、
次いで実弟より同種腎移植をうけた。移植後約2週間殆んど無尿状態を続いたが、以後漸次尿量増加した。移植後、

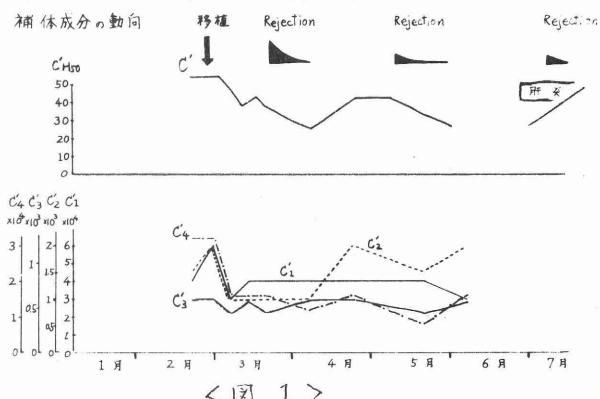
1, 3, 5ヶ月目に rejection の徵候を認めたが、その都度免疫抑制剤を增量して防止に成功している。CH50は移植前後に高値を呈したがその後正常範囲迄低下している。第1回、第2回目の rejection の際、いずれも rejection に続いて正常範囲内の変動であるが、一時的な低下がみられた。第3回目の rejection は、時期的に肝炎の併発と一致するが、その際再度CH50は上昇を認めた。 β_{1A} - β_{1C} (C_3) の推移は CH50 とはほぼ平行した。

症例2. (図2) O.K. 25才男。

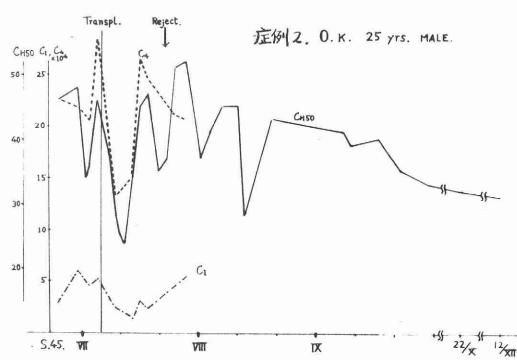
慢性糸球体腎炎、■先かじめ、

抗リンパ球グロブリン(以下 ALG), イムランの投与を行ってから両側腎摘、脾摘に統いて実兄より同種腎移植を受けた。術後尿管壞死を併発した以外は順調な経過を辿り、尿量も一日 2000~3000 ml に保たれた。

ALG を減量する過程で rejection



<図1>



<図2>

が疑はれたが、プレドニン投与により防止し得た。それ以後の経過は順調である。 CH_50 は移植前、血液透析の影響もあるのか、変動を示し、移植直後には一旦低下を示している。rejectionの際には、一旦初期に上昇を示し、次いで低下を示し、それ以後はほぼ安定した値をとっている。 C_s 、 C_I はほど CH_50 と平行した変動を示した。

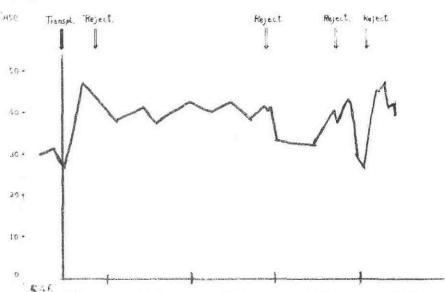
症例3. (図3) K.M. 15才男、慢性系球体腎炎、型の如く ALG, イムランを投与後、実父より同種腎移植を受けた。術前両側腎摘、脾摘を行った。本症例は他の症例に比し、組織適合性の良さでやゝ劣っていた。術後、容易に利尿を認めず頻回に rejection を起し、プレドニン等を併用して抑制につとめたが、第4回目の rejection でついに抑え切れず高K血症で死亡した。 CH_50 は移植後一旦低下し、第1回目の rejectionでは、初期に上昇した。その後しばらく安定した値を示したが

第2回目の rejectionに統いて低下を認め、第3回目の rejectionの際に再び正常値迄上昇している。

症例4. 10才男児、慢性系球体腎炎、先からアレドニンとイムランの投与を行い、両側腎摘、脾摘に統いて、実兄より同種腎移植を施行、術後、尿漏を呈した以外は順調な経過を辿り、rejectionも認めていない。リンパ球細胞毒試験では完全な適合性を示した。本症例で数回にわたり、 CH_50 を測定した結果いずれも正常値に安定していた。

(結論) 移植の直前、直後は一般に、血清 CH_50 及び各補体成分の変動が強かった。その後は比較的安定した値を示すが、rejectionが起きると、その直前ないし、rejection初期に CH_50 の上昇を認め、統して一時的に低下するのが認められた。順調な経過を辿っている症例では血清 CH_50 の変動は少くなつていく傾向がみられた。Rejection の際関与しているであろう補体の変動は、血清レベルである程度観察出来、血清補体値の変動を知ることは臨床的にも有意義であると考える。

症例3. K.M. 15 yrs. MALE.



<図3>

演題(邦文) SLE の補体(抗補体性を中心とする)

英文 Serum complement in patients with SLE

(with special reference to anticomplementary activity)

出題者名 天野哲基(TETUKI AMANO), 森田実(MINORU MORITA),

西下駿三(SYUNZO NISHISHITA), 河野勝昭(KATUAKI KONO),

大藤真(TADASHI OFUJI)

所属機関名 国立大学医学部第三内科

全身性エリテマトーデス(SLE)の低補体血症の原因究明の一環としてCH50と各種自己抗体との関係について昨年本シンポジウムにて報告した。

今回はSLE血清が強い抗補体性を示すものが多い事に着目し、この抗補体性の原因、CH50との関係につき各種疾患と比較し考察してみた。

対象) SLE 52例、関節リウマチ 30例、橋本病 22例、ベーチェット病 20例、その他慢性感染症、肝硬変症、多発性筋炎数例を対象とした。

方法) 抗補体活性(ACA)は非凍結血清とセルヒット補体一定量を4°C、20時間反応させ補体消費率を%で表した。DNA抗体測定はActinomycin-D-DNA法によつた。Immunoconglutinin血はCoombs等の変法を用いて測定した。

結果) 自己免疫疾患中の他のACAを α -gel

まずSLEその他の自己免疫疾患のACAは表1に示すように肝硬変症、橋本病、関節リウマチSLEが高くACAを示した。次に α -gel量とACAの関係をみると正常疾患は α -gel量も高いACAを示したが、 α -gel量の少く多発性筋炎、ベーチェット病はACAも低い。SLEでは表2に示すように α -gel量と相関する。免疫グロブリンでは特にIgGと関係が深く。

2) SLEのACAとDNA抗体との関係

SLEのACAとCH50は相関が認められない。だがCH50 20%以下で急性期のACAはCH50 20%以上で覚解期に比べて高値を示すものが多い。SLEのACAとDNA抗体血清は $r=0.80$ にて正の相関を示す。^(表3)しかしこれらはDNaseにより減少するものが多いためにDNA抗体血清の高値血清に減少する率が大きい。DNaseによりACAが減少するSLE血清の各蛋白分画のACAをみると α -gel分画がもっとも高く、DNaseにより減少する。以上よりSLE血清の抗補体性にDNA-DNA抗体複合物が関与していると言える。又DNA抗体血清ACAの高値例では低補体血症を示すものが多く、これらの腎障害をみると高度なものが多く、SLEの腎障害の一因に補体結合性抗原抗体複合物が関与していると言える。

3) SLEのACAとImmunoconglutininおよびRA factor

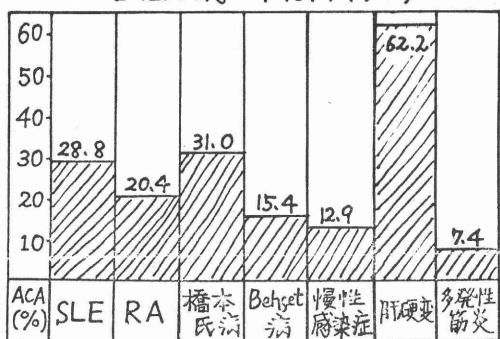
Immunoconglutinin(I.C)はその出現の意味はまだ不明であるが抗原抗体複合物上に補体が附着し、補体の抗原性を有してくれる結果生ずる抗体ではない。

かと考えられる。各種疾患のI-C価を比較してみるとSLE、関節リウマチは他疾患に比べて高値を示す。SLEのI-C価はACAとは相関しないが長期観察例では急性期にI-C価が上昇し覚解とともに下降する傾向がありCH50とは逆の相関を示す例が多い。RA factorとACAの関係はRA factorが強くなるに従いACAも又高値を示す。

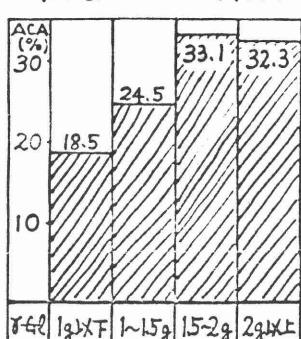
以上SLEのACAは γ -gl, IgG, IgM-DNA抗体complexを主体とするものと考えられる。SLEのImmunoconglutininはRA以上に高値を示しCH50と相関するがACAとは相関しない。このことよりSLEではI-C価, RA factorとともに高値を示し、これらがDNA抗体価と平行して変動するところからSLE血中にだけimmune complexの存在が示唆される。

(表2)

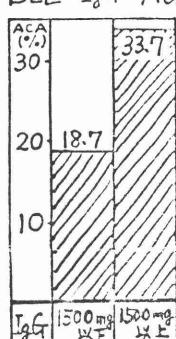
各種疾患のACA(表1)



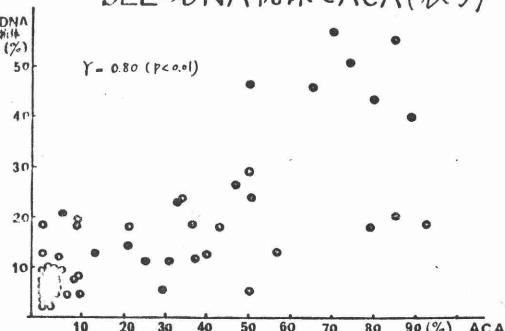
SLEの γ -GlとACA



SLEのIgGとACA



SLEのDNA抗体とACA(表3)



蛋白尿中の補体成分及びそのinactivatorについて

北村肇 笠井よしこ 稲井真弥

大阪府立成人病センター

尿中への補体成分の排泄は血清中の補体成分の変動の1つの因子として無視できないものと考えられる。われわれは1967年C4について尿中へ多量排泄されても必ずしも血清C4値は低下しないことを発表した。今回は蛋白尿中のC1~C9の溶血活性及びC1g, C1inactivator, $\beta 1C$, $\beta 1E$ -globulinの蛋白量について検討した。対象は蛋白濃度50mg/dl以上の尿(主として各種腎疾患患者尿)で、検体を遠心及び透析(一部は濃縮も)の後測定した。C1~C9の溶血活性はmicrotiter法で種々のintermediate cellとC1~C9のreagentを用いた。尚、 α と γ EAC1.4.2はEAC1gp.1=C4 hu.とC2hu.を、EAC7はEAC1gp.4gp.1=ヒトのC7cell reagentを加え作った。C1g, C1inactivator, $\beta 1C$, 及び $\beta 1E$ -gl.の蛋白量はsingle radial immuno diffusion法で測定した。まず原尿で13検体を測定し2みこと、溶血活性ではC4, C7, C8及びC9はほとんどの検体に、C2, C3, C5及びC6は約半数に検出され、C1は1例を除いて検出されなかつた。又、C1gは全検体ともに検出されず、C1inactivatorは8例、 $\beta 1C$ -gl.と $\beta 1E$ -gl.は6例に検出された。このとき、蛋白濃度の低い検体では補体成分を検出できないものが多く、これは補体成分が存在しても微量のため検出できない可能性を考慮し、それ以後は尿を10~20倍に濃縮して測定した。[表1]は原尿蛋白濃度別にC1~C9の溶血活性について検出された検体数を示した。各component別にみるとC7が一番多く44例中42例、次いでC9 40例、C4 37例、C8 31例と多く、C2, C3, C5, C6は10例~19例で半数以下、C1は1例のみが検出された。尚、このC1が検出された例は60歳の糖尿病性腎症の男子で尿蛋白濃度は3.0gr/dlと大変多く、尿蛋白中にC1~C9すべての溶血活性、C1inactivator,

[表1] 蛋白尿中 C1~C9 溶血活性

原尿蛋白濃度 (mg/dl)	全検体数	C1	C4	C2	C3	C5	C6	C7	C8	C9
50 ~ 90	11	0	7	0	2	3	1	10	4	7
100 ~ 190	12	0	10	0	3	4	3	12	9	12
200 ~ 440	10	0	10	2	2	4	2	10	7	10
450以上	11	1	10	8	10	8	7	10	11	11
計	44	1	37	10	17	19	13	42	31	40

β 1C- β 2 α - β 1E-globulin も検出された例がある。又、この表から C1, C2 や C6 などの component は原尿蛋白濃度がかなり高くても限り尿中へ排泄されにくくないと考えられる。同一尿につれてみると C7 だけ検出されたものから C1～C9 すべて検出されたものまで種々あるが、尿中蛋白濃度の高い検体ほど多種の component が検出されることが多い。C1 inactivator 蛋白量につれては [表2] に示すごとく検出されたのは 19 例中 11 例で、200 mg/dl 以上の蛋白濃度の高い検体のほとんどは 20% 以上で最高値は尿蛋白 2.2 g/dl の 3 例で 74.8% である。C1g は 19 検体すべて検出されたかった。 β 1C- β 2 α - β 1E-globulin の蛋白量は [表3] に示す。検出されたのは 42 例中 25 例で、21 例で最高値は共に尿蛋白 6.0 g/dl の例で β 1C-globulin が 12 mg/dl, β 1E-globulin が 6.2 mg/dl であった。 β 1C-globulin と C3 滲血活性及び β 1E-globulin と C4 滲血活性の関係をみると β 1C-globulin は検出されたも C3 滲血活性が検出されなかつた例 (7 例) があつたのに反し β 1E-globulin が検出されたなかつた例が多數 (18 例) である。以上より次の事が考えられる。① 尿中には全補体成分が排泄され得る。② C7, C9, C4, C8 はほとんどの例に検出された。③ C1, C1g は検出されにくく。④ C3 滲血活性より β 1C-globulin が、 β 1E-globulin より C4 滲血活性の方が検出されやすい。又、C8 滲血活性について、尿への排泄による血清中補体の変動についても検討する。

原尿蛋白濃度 (mg/dl)	全検体数	-	+		※
			19%以下	20%以上	
50～90	5	5	0	0	
100～190	7	2	5	0	
200以上	7	1	1	5	
計	19	8	6	5	

[表2]
蛋白尿中の
C1 inactivator

* 正常血清に対する百分比

[表3] 蛋白尿中の β 1C- β 2 α - β 1E-globulin.

原尿蛋白 濃度 (mg/dl)	全 検体数	β 1C-globulin			β 1E-globulin		
		-	+		-	+	
			0.19×T	0.2～0.9		0.19×T	0.2～0.9
50～90	8	6	2	0	0	7	1
100～190	15	9	2	3	1	9	3
200～440	9	1	1	6	1	4	2
450以上	10	1	0	2	7	1	0
計	42	17	5	11	9	21	6
						10	5

Non-functional C1 inactivator を有す
血管神経性浮腫の一症例

A case of angioneurotic edema with high content of
non-functioning C1 inactivator

○手嶋 秀毅 井上 貞久 (九州大学医学部心療内科)
永木 伸義 飯田 茉子 稲井 貞殊 (大蔵府立成人病センター)

Hereditary angioneurotic edema (HANE) はその病態像に補体系の異常⁵として Donaldson 等によって定められ、C1 の酵素学的的作用、C1 inactivator の作用、更に補体系と線渦系、チニン系との関係が明かとなり(手嶋ら)と与えられた疾患として注目されたり。しかし本邦における報告はまだない。

最近我々は、呼吸困難、腹痛發作、四肢の深部浮腫といふ classical な HANE の臨牀症状を持ち、補体系に異常を認めた症例を経験したので報告する。

患者 K.T. 男子 43才 職業 土建業

主訴 呼吸困難及び腹痛

病歴 生来健康であったが、昭和34年より35年頃迄は口唇の浮腫を有しにすれども呼吸困難や腹痛發作はなかった。発作後1週間以内には多少以上の全身倦怠感及び食慾不振があるが呼吸困難は左よりいた。昭和36年4月、突然して入院中のときに「痛くなく耳鼻科を受診して喉頭部の浮腫を認めた」治療を受けたが漸次増悪して呼吸困難を認めた所であった。昭和36年6月より8月迄と昭和36年11月より1月迄の間に「症状が強くなる毎月の筋肉、呼吸困難と腹痛がありまた喘息の診断を受けて治療し、又ストロロイドホルモンの内服を行なつてある。昭和36年7月、8月および9月に血清補体活性が全く認められず精査の為九大心療内科に入院した。

既往及び検査所見 呼吸数の増加、喘鳴及び四肢の浮腫((わざうき))が主たる著変を認めた。検尿、検便、末梢白血球像、止血時間、血清蛋白分画、肝機能、血清電解質等はすべて正常を認めた。梅毒血清反応(TPHA)は陰性である。胸、腹部レ線検査、心電図、超音波による異常を認めない。

治療 ϵ -aminocaproic acid (イオシン) の5%溶液20mlを今前半に持注入と夕方迄呼吸困難は消失する。現在イオシン8gmを四肢

中止。呼吸困難は消失し、又四肢の浮腫も消失した。

補体系検査

1 CM50 肝臓 8月7日 31日， 8月16日 8月9月6日 術前 10月10日 (12時半～14時半) 25.3年既往。

2 補体成分活性

	正常	7/31	8/16	9/6	10/10
C1	$160,000 \times 1.5 \times 10^8$	$82,500 \times 1.5 \times 10^8$	$56,900 \times 1.5 \times 10^8$	$11,000 \times 1.5 \times 10^8$	
C4	64,000 ~	63 ~	60 ~	32 ~	
C2	1,060 ~	68 ~	67 ~	6 ~	
C3	800	800	800	800	
C3 (IA)	3,200				1,600
C5	25,600	25,600	25,600	25,600	
C6	25,600	25,600	25,600	14,800	
C7	12,800	12,800	12,800	12,800	
C8	102,400	102,400	51,200	102,400	
C9	3,200	6,400	3,200	6,400	

(C3～C9 は 12 microtiter plate で測定)

C1 inactivator 252,000 68,000 32,000 81,000

R. βIC は βIC の蛋白量は正常であるが、C1 inactivator の蛋白量は正常の約2倍と著しい増加している。

以上の結果、本症は Classical HANIE の疾患である。補体活性の消失、補体第1回廊活性の著しい低下、C1 inactivator の蛋白量の著しい増加（大症例では強度の大つぶれを示す）。

ヒト・リンパ球のE, EAC4C3結合性とその起源

橋 武彦, 矢田純一, 西岡久寿弥

国立がんセンター研究所, 東邦大学医学部小児科

昨年のシンポジウムで西岡・橋らが報告したように, Burkittリンパ腫および上咽頭がんの生検材料由来の培養細胞はともにリンパ芽球様形態を呈するが, 抗原抗体複合物(EA)及び抗原抗体補体結合物(EAC4C3)との結合性に明らかな相違を示し, これが免疫学的な細胞のマーカーとなることを述べた。

今回我々はこれら培養細胞の起源をしらべるために, 細胞マーカーを用いてヒト小児の小リンパ球を中心としたリンパ球のpopulationをじらべた。この間にヒト胸腺の小リンパ球はヒツジ赤血球を自体を強く結合することを認めた。一方, 矢田らは既に蛍光抗体法により「ヒト胸腺リンパ組織抗原」と呼ぶ細胞質内抗原がヒト胸腺由来リンパ球に存在することを報告しており, この抗原の存在と上述の細胞マーカーとの関連性をしらべ興味ある成績をえたので報告する。

ヒツジ赤血球(E)はGV B[#]で3回洗い, 1×10^8 個/ml濃度で使用した。EAC4C3は至適濃度の抗ヒツジ赤血球ウサギIgM抗体で作った感作赤血球に血球1個当り C1^{gp}(1000 SFU), C4^{hu}(300 SFU), C2^{gp}(200 SFU) 及び C3^{gp}(500 IA50) を型の如く逐次加えて反応させた後, EDTAおよび37°Cの温度処理をして作製した。被検材料はすべて乳児及び小児から採取し, 各リンパ組織は生検又は剖検材料から集められた。反応は37°Cで1hr振とうし更に室温に1hr放置したのち上清を除き, 細胞を4%BSAを含むPBSに静かに再浮遊し, スライドグラス上に塗抹標本を作り急速乾燥した。塗抹標本はギムザ染色又は蛍光抗体法により染色を施した。Eとの反応は牛胎児血清中で行った。反応の判定は1検体300個以上のリンパ球について結合した赤血球の数および蛍光顕微鏡下に蛍光の有無を観察した。

実験結果を要約すると次の通りである。

(1) 各リンパ組織でみられる各マーカー陽性のリンパ球の百分率は表1に示した。胸腺抗原, E結合性に關しては胸腺リンパ球の大多数, 末梢リンパ組織では20-40%が陽性であった。EAC4C3結合陽性のものは末梢リンパ組織で20

表1 各種リンパ組織における各マーカー陽性
リンパ球の百分率

	E結合*	EAC4C3結合*
胸腺	94(3)	73(2)
脾	34(3)	7(3)
リンパ臍	39(2)	22(1)
扁桃	25(3)	21(2)
末梢血	36(26)	16(4)
骨髄	1(3)	2(3)

() 検査例数; * 2個以上結合を陽性

-30%にみられた。骨髄リンパ球はいずれのマーカーについても陽性のものは極く少數であった。

(2) E結合性リンパ球は殆ど胸腺抗原陽性で、逆に胸腺抗原陰性のものはE結合性陰性であった(表2および表3)。従つてこの2つのマーカーは同一のリンパ球population(T cell?)の性質と考えられる。

(3) EA C4C3結合リンパ球は殆んどすべて胸腺抗原陰性であり、胸腺抗原陽性細胞は殆んどEA C4C3を結合しなかつた(表4および表5)。従つて EA C4C3結合性はT cellとは異つたpopulationのリンパ球の性質と考えられる。

なお、EA結合性リンパ球については更に検討中である。

表2. 異った数のEを結合するリンパ球中胸腺抗原陽性細胞の百分率(末梢リンパ組織3例の平均)

結合E数	0	1	2	3	4	5≤
陽性リンパ球(%)	29	59	82	90	87	100

表3. 胸腺抗原陰性リンパ球のE結合性

結合E数	0	1	2	3	4	5≤
陰性リンパ球(%)	86	9	3	1	1	0

表4. 異った数のEA C4C3を結合するリンパ球中胸腺抗原陽性のものの百分率

結合EA C4C3数	0	1	2	3	4	5≤
陽性リンパ球(%)	26	6	3	0	0	0

表5. 胸腺抗原陽性リンパ球のEA C4C3結合性

結合EA C4C3数	0	1	2	3	4	5≤
陽性リンパ球(%)	99	1	0	0	0	0

IgG の熱による Polymerization と Polymerized IgG の補体結合性

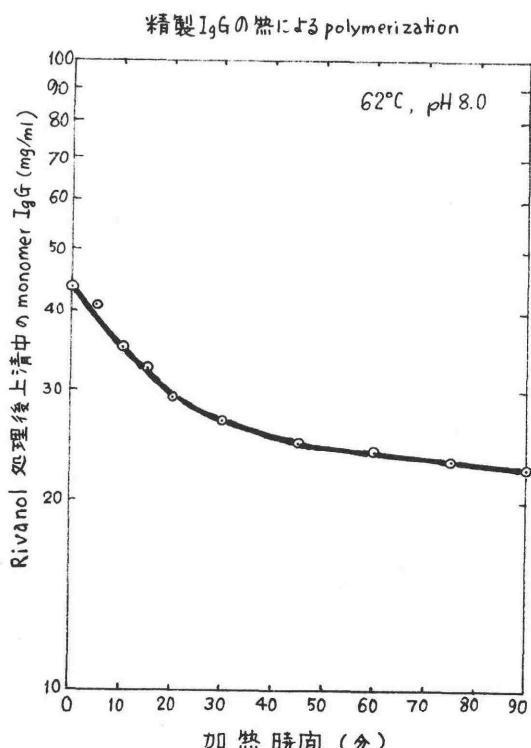
東京大学・物療内科 横張龍一

(1) Rivanol による polymerized IgG の沈殿

血清に rivanol を加えると、主として IgG が上清に残りて他の血清タンパクが沈殿する。したがって、精製 IgG に rivanol を加えても変化はみられない。しかし、IgG を加熱して一部を polymerize したものに rivanol を加えると、混濁がみられる。これを遠沈によって取除くと、上清中には unpolymerized (monomer) IgG のみが残っていることが、上清の Sephadex G-200 による ゲル沈過で確かめられた。また rivanol による polymerized IgG の沈殿に際しては、unpolymerized IgG のまきこみはないことも、 I^{131}IgG を用いての実験で確かめた。

(2) IgG の加熱による polymerization の Kinetics

1% 前後の IgG 溶液 (pH 8.0 M/10 ベロナール緩衝液) を 62°C に加熱し、0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90 分に sampling を行い、3.5 vol. の 0.5% rivanol を加えて遠沈し、上清に残る unpolymerized (monomer) IgG の量を immunoplate を用いて測定した。この測定値の logarithm と加熱時間に対し

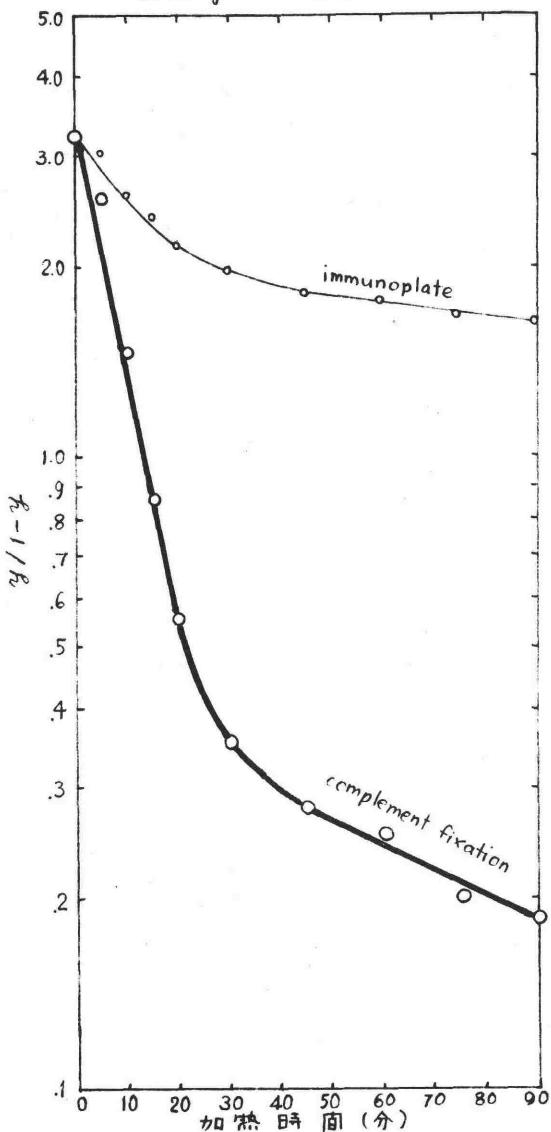


てプロットすると biexponential な曲線が得られた（図）。このことは、IgG の熱による polymerization が速いものと遅いものからなる二つあることを示している。換言すれば、IgG には熱に対する反応性と 13 physicochemical な異なる 2 つの成分のあることが想定される。

(3) Polymerized IgG の補体結合性

加熱した IgG を Sephadex G-200 で ゲル沈過を行うと、polymerized IgG と unpolymerized (monomer) IgG の 2 つのピーカーに分けられる。monomer IgG は補体と結合しないが、polymerized IgG は補体を結合する。色々な濃度の polymerized IgG に一定量の補体を加え、37°C、60 分処理後 EA を加え、更に 37°C、

加熱 IgG の補体結合性の kinetics



60分 incubate で 溶血を起させ,
 $\log(Y/1-Y)$ をプロットすると,
 polymerized IgG の量との間に直
 線関係が得られる。

(4) 加熱 IgG の補体結合性の kinetics

上記の所見は、補体結合反応
 による polymerized IgG 測定を容
 易にしたので、IgG を 62°C に加
 热、経時的に Sampling を行い、
 その補体結合性を追ったところ
 図のような曲線が得られた。こ
 れも biexponential なものであり、
 immunoplate で測定された結果
 とよく平行する。

C1 エステラーゼおよびプロ C1s の精製

村松 瞳，須見洋行，岡村和子，藤井節郎（徳大・医・酵素生理）白石 聰（徳大・医・皮フ科）

生体内において抗原抗体結合物が生じると、種々のプロ酵素が活性化されると云われている。補体系においては、C1が活性化され、C4、C2の存在下にC3およびC5からAnaphylatoxinを形成することが知られている。PlasminogenはPlasminに活性化され、Hageman因子は活性型になり、それは更にKallikreinを活性化してKinin形成に関与すると云われている。Ratnoffらによると、C1sはC1tによって活性化され、またTrypsinやPlasminによっても活性化されるという。TrypsinおよびPlasminはいずれも類似した基質特異性を有していることから、同じく似た基質特異性を有するKallikreinもまたC1sの活性化に与かることが考えられる。さらにCleteraseにはAcetyl-L-tyrosine-ethyl ester(ATE)のみならず、弱いながらもTosyl-L-arginine methyl esterをも水解するので、CleteraseによるKinin形成も期待される。従って、それぞれのプロ酵素を精製し、これら各種酵素の相互関係を明らかにすることは、生体内における蛋白分解酵素の制御機構を明らかにする上に重要なことと考えられる。われわれは先に、Hageman因子はKallikreinogenを活性化するが、Plasminogenの明確な活性化は認められず、PlasminはKallikreinを介することなく直接Kininを形成することを報告して来た。今回CleteraseおよびC1sを單一にまで精製できたので、精製法およびそれらを用いて得られた結果について報告する。

C1-esteraseの精製：ヒト血清よりLepowらの方法によつてEuglobulin分画を得、それをpH7.4, $\mu=0.15$, 37°, 15分間加温して活性化しに後、0.05Mリニン酸緩衝液、pH7.4で平衡化しにDEAE-celluloseカラムに吸着させた後、0.25Mの食塩を含む同じ緩衝液で勾配溶出を行う。ついで、pH6.8, 0.05Mのリニン酸緩衝液で平衡化したHydronylapatiteのカラムに吸着させ、0.25Mの緩衝液で勾配溶出する。更に0.02M Glycine緩衝液pH9.0で平衡化しにTEAE-celluloseカラムに吸着させ、0.5MのNaClを含む同じ緩衝液で勾配溶出を行つて。Table Iに精製過程の結果を示した。得られに標品は超遠心、Disc電気泳動により單一であり、S=4.3、分子量は約11万と推定された。
C1-esteraseによるキニン形成：ヒト血漿よりKininogen IおよびIIを分離し、精製C1-esteraseのキニン形成能を調べた。Fig.1および2に示すごとく、Trypsinによるキニン形成が数分間に最大に達するのに対し、C1-esteraseによるキニン形成は、極めて緩序であることがわかつた。

C1sの精製：前と同様Euglobulin分画を得、pH7.4, $\mu=0.15$, 1mM EDTAを含む

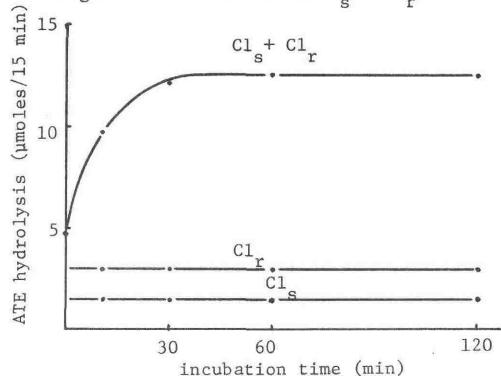
Table I PURIFICATION OF C1-ESTERASE FROM HUMAN PLASMA

	total protein	total activity	specific activity	yield	ATE/TAME
Euglobulin	3330mg	21645	6.5	100	2.50
DEAE-cellulose	80	12970	162	59.9	3.80
Hydroxylapatite	10.4	7912	761	36.6	3.89
TEAE-cellulose	2.9	3350	1155	15.5	3.89

Table II

PURIFICATION OF PROC1-ESTERASE FROM HUMAN PLASMA

	total protein	total activity	specific activity	yield
Euglobulin	1400mg	11500	8.2	100
Ist DEAE-cellulose	42	4860	118	42.3
IIInd DEAE-cellulose	12.6			
Hydroxylapatite	2.8	1250	446	10.9

Fig.3 ACTIVATION OF PROC1_s BY Cl_r

リン酸緩衝液で平衡化したDEAE-cellulose

カラムを用い、0.5M NaClを含む同じ緩衝液で勾配溶出する。Trypsin で活性化し、ATE水解能を有する分画を集め、pH7.4, $\mu=0.15$, 2mM EDTAおよび0.1M NaClを含むリン酸緩衝液で平衡化したDEAE-celluloseカラムに吸着させ、0.5M NaClを含む同じ緩衝液で勾配溶出する。非吸着の分画はCl_sを含む分画として集める。ついで0.05Mリン酸緩衝液、pH7.4で平衡化してHydroxylapatiteカラムに吸着させた後、緩衝液の濃度を段階的に上げると、0.15Mで溶出され。各精製過程の結果をTable IIに示した。得られた標品は、超遠心、Disc電気泳動、免疫電気泳動により单一であった。 $S_{20}^{20}=6$ 、分子量は約16万と推定された。Fig.3に示すごとく、Cl_rと思われる分画を加えると活性化が起こるが、Cl_s単独での活性化はみられなかつた。Plasmin, KallikreinによるCl_sの活性化: 精製したPlasminogenをStreptokinaseで活性化したPlasminおよびAcetoneで活性化したKallikreinによるCl_sの活性化について調べて結果をFig.4に示した。弱いながらいずれも活性化がみられた。

Fig.1 KININ FORMATION FROM KININOGEN I

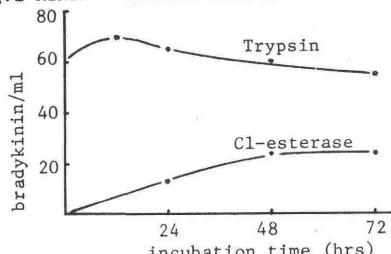
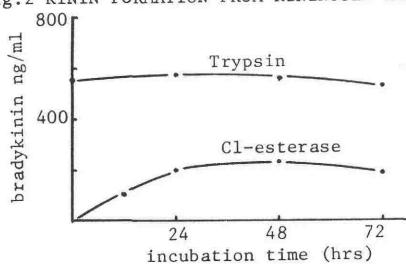
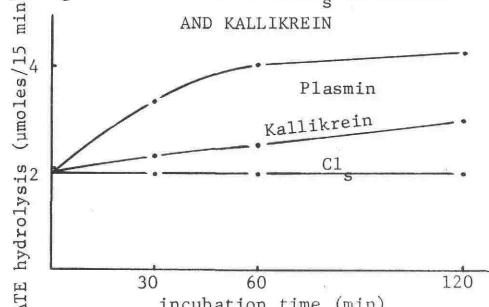


Fig.2 KININ FORMATION FROM KININOGEN II

Fig.4 ACTIVATION OF PROC1_s BY PLASMIN AND KALLIKREIN

$C1 hu \times C1 INA \times$ 反応 \rightarrow

反応 \rightarrow

Interaction of Human C1 and C1 inactivator

大阪府立成人病センター

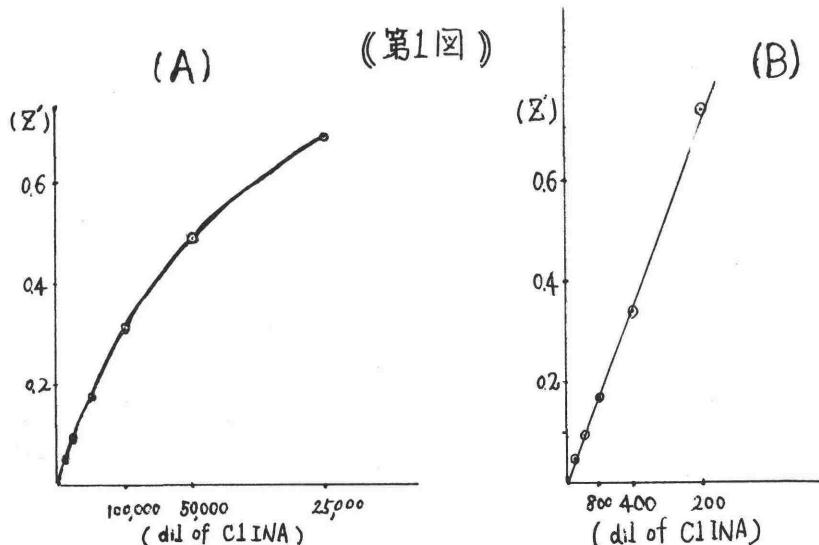
永木 伸義

飯田 茉子

$C1 hu \times C1 INA \times$ 反応 \rightarrow 1962年 Lepow 等の報告によると、数多くの研究がなされてきた。Gigli 等は 1968 年、モル比 1:1 の $C1 \times C1 INA$ の fluid phase で反応させた $C1 INA$ の stoichiometric は、deplete と報告している。一方では、これは一級反応の結果を得たとする報告がある。

$C1 hu \times Nelson$ 等の半透過膜で得た 1:2 比で Sephadex G-200 で洗浄して、2 回通して分離した。 $C1 INA$ の半透過膜を除いた上清を “粗物” とし、 $C1 hu \times C1 INA$ の反応は 37°C 30 分間 18 克で行う。

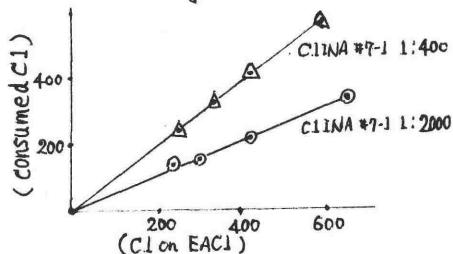
I. $C1 hu \times C1 INA$ の fluid phase で反応させた時の $C1 INA$ に対する $C1 hu$ の dose-response curve は、Fig. 1 に示すとおり。Gigli 等の報告によると、stoichiometric は反応時間 1 分。一方では、飯田等の報告によると、 $C1 hu \times C1 INA$ の反応は半透過膜で洗浄して、30 分間で反応が終了する。



II. EA C1 cell に $C1 INA$ 一定量作用させた後、初めに cell 上にあつた $C1$ の量と $C1 INA$ によって消費された $C1$ の量を plot すると

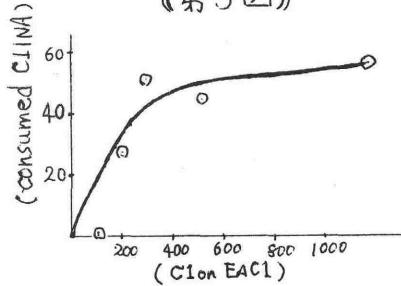
第2回の如く原点を通る直線關係が成立す。即ち、一定量の CLINA
A 12 cell 上に何ヶ所 CLIN が付着しても常に一定の割合で CLINA
消費する。

(第2図)

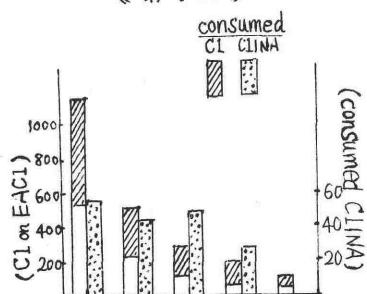


次に更に同様の実験。初めに cell 上に付ける CL の量と消費される CLINA の量を plot すると又第2回と同様の直線関係が得られる。第3回、第4回も同様の結果を得た。cell fixed の CL 加入量を倍以上増加しても CLINA の消費量は増加せず一定となる。遂に一定量の CLINA の消費量は一定であるとする。即ち CLINA の絶対量は大きくなるほど多くなる。

(第3図)



(第4図)



以上的事実より CLIN と CLINA との反応は單純な stoichiometric 反応ではない。即ち複数存在する二つの反応が混在する。両者の protein-protein complex が付いている。且つは enzymatic 反応ではあるが付いていた。

補体C1成分とC4成分との間の反応に及ぼす

TAME及びATEEの影響についての比較

島田彰子、田村昇(国立がんセンター研究部 ウィルス部)

TAME及びATEEはヒト血清モルモットのCIによつて加水分解される。このCIの酵素活性が補体溶血反応に関与していふことは、Stroudらによつて示唆されてゐる。つまりEAC14とC2の反応において、C2の合成基質であるTAMEが本来の基質であるC2と拮抗的に反応して、SAC142の形成を阻害するといふ報告である。そこで我々は、ATEEについても、同様の実験を試みたところ、図1に示すごとく、ATEEはSAC142の形成には全く影響しないといふ結果を得た。

さらに我々は、CIとSAC14の本来の基質であるC4との反応に、TAMEとATEEがいかなる影響を及ぼすかを、比較検討してみた。まず、EAC14とC4の反応によつてSAC14の形成においては、図2に示すごとく、TAMEはEAC14に対するC4と拮抗的に作用してSAC14の形成を阻害している。これに反して、ATEEの存在下ではあいかげ、反応性の低いEAC14、あるいは、より低濃度のC4を用いたようなSAC14の形成曲線が得られた。

次にSAC14の形成中ににおけるC4の消費量はどのようになつてゐるかを検討してみた。図3に示すごとく、TAMEでは、SAC14の形成の遅れと一緒にして、C4の消費速度が遅延される。

ATEEでは、SAC14の極大形成量が対照に比べて著しく低いにもかかわらず、反応液中のC4の消費は対照とほぼ同程度である。更に、液相中のCIはよしC4

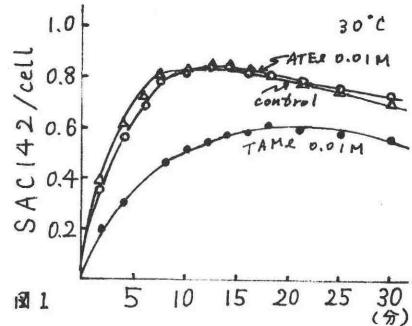


図1

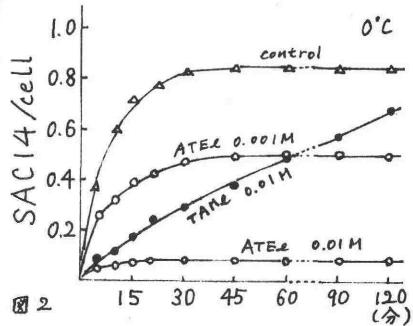


図2

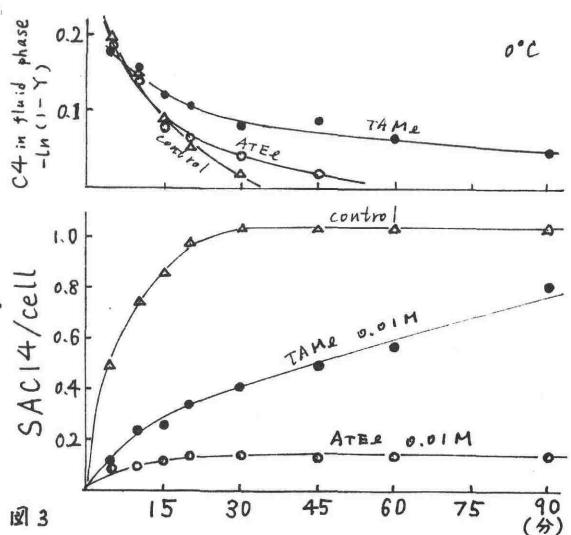


図3

の不活性化に対する TAME_e と ATEE_e の影響は、図 4 に示すごとくである。TAME_e は C1 による C4 の液相での不活性化を阻害して C4 が ATEE_e ほどほとんど影響を及ぼさない。だが EAC1 が C1 と同様に TAME_e と ATEE_e を加水分解することは、図 5 に示すごとくである。モルモット皮膚では、C1 でも EAC1 も TAME_e の方が ATEE_e より、よく分解するが、EAC1 では、その差が小さくなる傾向が常にみられる。これについては日下検討中である。

以上 1 語反応における TAME_e と ATEE_e の差異を解明する手立ての 1 つとして、それが他のエステルのアミノ酸残基であるトシリアルギニニヒアセチルチロシンについて、各反応における影響を調べてみると、トシリアルギニンは、すべての反応に対して、全然影響を及ぼさないが、アセチルチロシンは、ATEE_e と全く同様の作用を及ぼす。この事実が前述の実験結果より、TAME_e はそのエステル部分が C1 と C4 との反応に対して抵抗阻害剤として働くが、ATEE_e はそのエステル部分が影響を及ぼすとしても、極くわずかで、主としてアセチルチロシンが、C1 と C4 との反応に影響を及ぼすものと考えられる。ATEE_e の存在下では、SAC1₄ の形成が低いにもかかわらず、対照と同じように C4 が消費されたといふことは、ATEE_e が C1 の C4 に対する作用を阻止しないが、C1 の作用を受けた C4 が、血球膜あるいは、免疫グロブリン上に存在すると假定されればレセプターに結合するのを阻止すると言えれば、説明できよう。

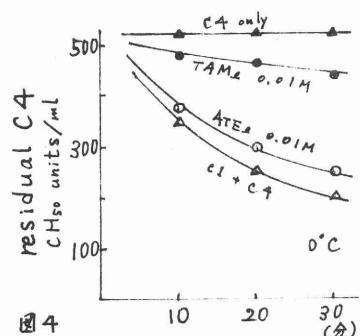


図 4

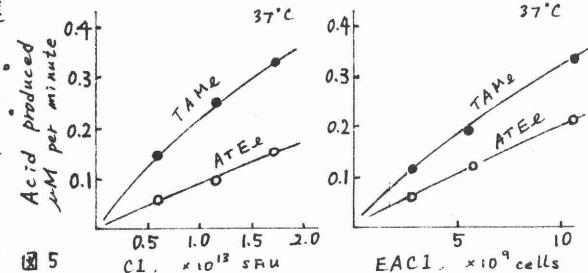


図 5

- 1) Becker, E.L.: Concerning the mechanism of complement action. II. The nature of the first component of guinea pig complement. J. J. Immunol., 77; 469, 1956.
- 2) Lepow, I.H., Ratnoff, O.D. and Pillemer, L.: Elution of an esterase from antigen-antibody aggregates treated with human complement. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 92; 111, 1956.
- 3) Stroud, R.M., Austen, K.F. and Mayer, M.M.: Catalysis of C'2 fixation by C'1a. Reaction kinetics, competitive inhibition by TAME_e, and transferase hypothesis of the enzymatic action of C'1a on C'2, one of its natural substrates. Immunochemistry, 2; 219, 1965.

C₁INH の実験的研究

京都府立医科大学 増田内科

近藤元治 細川 計明

C₁INH (C₁-esterase inhibitor) は、補体第1成分のα₂部分、plasmin, kallikrein に対する inhibitor として、その作用機序が同心円的に見てわかる。C₁INH は、C₁ と C₂ と EACT 等の活性 C₁ α enzymatic active center に結合する。C₁ は natural substrate C₄, C₂, または synthetic substrate の分解を阻止するが知られてる。

C₁ + C₁INH の関連につき、2. 3 の知見を得てので報告する。

1) C₁ と AAME の濃度の C₁INH と incubate した後、C₄, C₂ BC-TAME に対する C₁ α residual activity を測定し、C₁INH の濃度の增加に伴う C₁ α hemolytic activity, C₂ BC-TAME に対する作用が著しく低下したことに対して、C₄ BC-AAME に対する作用は、比較的障害されにくく大きい。この理由、C₁INH に対する C₁ α enzymatic activity は dissociation せず、C₁ は 52°C で加熱した時、hemolytic activity, C₂ BC-TAME 破壊作用が速やかに失われるが、C₄ BC-AAME に対する作用の障害されにくく、同様の解離現象不示すことが考へられる。C₁ α enzymatic site, 或は C₁ molecule a conformational change の問題、解決の糸口を与えないと思われる。

2) C₁INH と C₁ inhibition は、1 molecule と 1 molecule の結合であるから stoichiometric な C₁INH の測定が出来ると報告されている。しかし、C₁INH と C₁ α 反応は、大の濃度で影響され、又温度や時間の影響があるが明らかとなり、單なる site × site の結合以外ではなく、何らかの enzymatic process の効果で“”の可能性が出て来る。

3) C₁INH は、電気泳動的α₂-globulin とされており、α₁-antitrypsin deficient serum は、凍結保存中に C₄ BC-C₂ の titer の程度で低下し、同時に C₁INH の活性も著しく低下するが原因は、C₁ が他の α₁-antitrypsin の欠除により因子として C₁ の活性化が起り、これが C₄, C₂ を破壊し、更に C₁INH の機能を奪い、これが原因となる。この血清は、免疫電気泳動で下り、C₁INH の沈降線が β 領域へ位置し、C₁ と結合しない為か、或は C₁INH の分解が起り、以為と考えられ、C₁INH に対する各種炎症性影響につき検討中である。

C1 inactivator を欠如したモルモット血清

国立がんセンター研究所 田村 春, 奥田 智子
東京大学医学研究所 成内孝雄, 白井美津子

C1 inactivator の欠如が先天性血管神経性浮腫 (HANE) の病因であることは、すでに知られておりが、我々は C1 inactivator を欠如していると思われるモルモット血清を見出した。

補体血清を得た目的で全採血したモルモット血清の中に全く溶血活性のないものがあり、その血清について補体各成分の溶血活性を調べると、表1のように、C4とC2の活性は $\frac{1}{2}$ 希釈でも全く認められなかった。また C1 inactivator の活性も $\frac{1}{20}$ 希釈でも全く検出されなかった。

Immunolyso-electrophoresis 法で、C1 の溶血活性をみると、図1のようすに、正常モルモット血清では C1 は、S と M の 2 つの溶血帯に分かれますが、この血清では、C1 は S と M と F の 3 つの溶血帯に分かれた。これは HANE に特有の像として、橋梁によりうでに認められていましたのである。

C1 inactivator は C1 のエステラーゼ活性を阻止する。表2 は、この血清が C1 のエステラーゼ活性を阻止するか否かを、正常血清と比較検討した結果である。正常血清の 0.3 ml は C1 (約 2.5 万 C₁H₅₀ 単位) のもつエステラーゼ活性を完全に阻止する。これに対してこの血清の 0.3 ml は全く阻止しないばかりではなく、それ自身でもわずかではあるがエステラーゼ活性がある。

なお、抗ヒ女神清で検出でき C4 分子はこの欠如血清にも存在してい。従ってこの C4, C2 の溶血活性の低下は HANE の場合と同様に、C1 inactivator の欠如によるものであろうと考えられた。

表1. 補体成分比とのinactivator活性

	正常血清	欠如血清
C1	12000	4000
C4	24000	<2
C2	6000	<2
C3	12000	12000
C5	64000	64000
C6	8000	12000
C7	128000	64000
C8	256000	256000
C9	64000	64000
C1 inact.	16000	<20

図1. Immunolyso-electrophoresis



表2. C1 エステラーゼ活性の全血清による阻止

C1	正常血清	欠如血清	*ATEE分解活性
1.0 ml			1.94
1.0	0.1 ml		0.51
1.0	0.3		0
1.0	0.5		0
	0.5		0
1.0		0.3 ml	2.10
		0.3	0.24

* 全量 3 ml, ATEE 最終濃度 0.01 M, 37°C での 20 分間に産生された酸の総量 (μM)

Dithiothreitol (DTT) は GPC3 の特異的結合能の阻害

金沢大学がん研究センタ免疫部

高橋セイ 田中清子 河野寛一 高橋守信

昨年カラ回補体シンポジウムにおいて、西園らは、DTT が C3 INA の活性を阻害すること、また、bound C3 (EAC43) に対しては DTT を処理した後、アルキル化することによって、C3 の溶血活性が、阻害されることが表明した。われわれは、西園らの追試を行なって、その過程で、DTT の液相にかけた C3 への直接作用を見出した。即ち、

1. DTT が EAC142 cell と C3 による反応を阻害する。
2. このような C3 活性の阻害は、膜表面への結合を阻害するものによる。したがって、C3 の膜表面への結合には、1 個以上の labile な -SS- 結合が必要であると思われる。

材料及び方法 モルモット C3 の精製その他補体研究用 reagents の調製は、全て既報通りである（アレルギー、19(12) 1970）。DTT (半井化成) は、全て使用直前に溶解してからを使用した。ウサギ抗 GPC3 血清は、国立がんセンター、田村先生から分与されたもので、GPC3 に対して、monospecific である。

成績 (1) DTT 存在下で EAC142 と C3 との反応が、阻害される。マイクロタイマーにて DTT を GVBT で階級希釈した後、C3 (1200 IA₅₀/ml) の 1/10, 1/40, 1/100, 1/400 の希釈液とそれを 1 滴づつ各列に加え 37°C 15' 反応させた後、EAC142 cell (1×10^8 /ml) を 1 滴加え、更に、37°C 20 分間反応させた。その後、HuE (1×10^8 /ml) を 1 滴づつ加えて 37°C 30 分（こうう）、90 分静置して IA pattern をみると、C3 IA titer は著しく低下した。

C3 (1200 IA ₅₀ /ml)	IA pattern									
	DTT の濃度									
	1/50	1/75	1/37.5	1/18.75	1/9.37	1/4.68	1/2.34	1/1.17	1/0.58	0
1/10	lysis	lysis	3	4	4	4	4	4	4	4
1/40	lysis	lysis	1	3	4	4	4	4	4	4
1/100	lysis	lysis	trace	2	3	4	4	4	4	4
1/400	lysis	lysis	lysis	1	1	1	2	3	3	4

しかし、西園らの成績と一致して、bound C3 (EAC43 cell) の IA 活性には、1/10 以上に阻害が認められるが、下。

(2) DTT による C3 活性の阻害は可逆的であって、透析によって、DTT 阻害作用はとりのものが C3 活性はほぼ元のレベルまで回復した。

DTT 濃度 mM	Residual C3 titer (CIA _{50/ml})	
	C3 + DTT	C3 + DTT / 透析
15	256	720
5	818	720
1	946	720
Phosphate Buffer	1127	720

(3) しかし、DTT 处理後、ヨードアセトアミドによるアルキル化を行なった後、透析によっても C3 活性の回復が認められなかつた。

- A. C3 + DTT, 15mM / 37°C 15' / + ヨードアセトアミド, 15mM / 37°C 15' // 透析 80 (CIA_{50/ml})
 B. C3 + DTT, 15mM / 37°C 15' / + Phosphate Buffer / 37°C 15' // 透析 480
 C. C3 + DTT, 15mM / 37°C 15' / + Phosphate Buffer / 37°C 15' // 透析 600

(4) DTT の作用機序としては、C3 の EAC142 cell への特異的結合を阻止するとして示された。DTT の存在下で、EAC142 cell と C3 (1200 CIA_{50/ml})₄₀₀ を反応させた後、wash してから再浮遊し C3 が EAC142 cell に結合していなかったかを、Anti GPC3 を用いて調べた。

抗体希釈	Anti C3 t = 5 分凝集 pattern						
	2	4	8	16	32	64	128
EAC142 + C3 ₄₀₀ + DTT 15mM	0	0	0	0	0	0	0
EAC142 + C3 ₄₀₀ + DTT 5mM	0	0	0	0	0	0	0
EAC142 + C3 ₄₀₀ + DTT 1mM	0	0	0	0	1	2	2
EAC142 + C3 ₄₀₀ + GVB [#]	0	trace	2	3	4	4	4

(5) DTT を作用させた後の C3 を ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で調べたが、分子量の変化や易動度の変化は認められなかつた。

結論 これらの実験成績から、DTT は、C3 分子の -SS- 結合を開裂し、その結果、C3 分子の conformation の変化が起こつて、C3 分子と EAC142 cell への結合を阻止することができなかつた。このことから、C3 と EAC142 cell の特異的結合には 1 個以上の -SS- 結合が重要な役割を果していなかつたが、示唆された。

モルモット補体C3成分の構造と活性

奥田智子* 高橋健治† 山主公子* 西岡久寿彌*

* 国立がんセンター研究所ウイルス部

† 東京大学理学部生物化学

補体C3成分は種々の生物活性を有し、生体にとって有利な反応にも不利な反応にも関与していることが知られている。これらの多様な反応がどのような構造に由来し、どのような機構で起るかを知ることは極めて興味ある重要な問題である。我々はC3に様々な化学試薬を作用させ、C3の溶血活性とImmune Adherence (IA) 活性への影響を調べ、その際の分子の変化を考察した。

C3を同容の化学試薬とPH 7.5 で30°C に90分反応させ、反応混合物を透析した後、残存する溶血・IA活性を測定した。C3の活性に影響のみられなかったものには、モノヨード酢酸、ヨードアセトアミド (IAA)、無水コハク酸、PCMB、DNFB、グリオキサール、システイン、シスタミン、TPCK、DFPがある。すなわちSH基、NH₂基の修飾試薬や弱いS-S試薬では影響がない。またEACI423はキモトリプシンと類似の基質特異性を示すが、トリプシンやキモトリプシンのinhibitorはC3の活性に影響を与えないかった。活性の低下が見られたものを表1に示す。

カ7回補体シン

表1

ポジウムで西岡は
血球に結合したC3
にDTTを作用させ
るとC3の溶血活性
は失われるが、IA
活性は影響をうけ
ず、C3 Inactivator
の作用もうけなく
なることを報告し
たが、液相で試薬
を作用させた場合
は溶血、IAいずれ
の活性も低下する
ことがわかった。

化学試薬	濃度	残存活性	
		HL	IA
ジチオスレイトール + IAA (DTT)	1.5 mg/ml	24%	16%
	1.0	32	50
	0.2	57	100
	0.04	74	100
アセチルイミダゾール (AI)	6.0	42	24
	3.0	80	100
テトラニトロメタン (TNM)	4.0	70	100
	1.0	65	100
ヒドロキシルアミン	0.5	89	100
	N-ブロムコハク酸イミド (NBS)	0.008	1
クロラミント	0.004	5	24
	0.015	36	

表1の結果からDTTによるS-S結合の切断、AI、TNMによるチロシンの修飾、NBSによるトリプトファン、チロシンまたはメチオニンの修飾、あるいは結合の切断が活性部位に影響を与えるのであろうと推定される。

C3を封管中で加水分解(6N-HCl, 110°C, 24時間)した場合のアミノ酸組成を表2に示す。DAB法でトリプトファンを定量すると25エダであるが、NBSで処理して活性を失ったC3はトリプトファン含量が著しく減少している。C3を過ギ酸で酸化した後、システイン酸として定量するとS-Sは約12個である。

C3をNBSで処理するとEAC142に結合しなくなることがC3を¹²⁵Iで標識することによって確かめられた。EAC1423にNBSを作用させるとその量に対応してEAC1423の溶血活性が低下するが、IA活性の低下は見られなかった。

EAC1423をNBSで処理した後、C3 Inactivatorを作用させてもEAC1423のIA活性の低下は見られなかった、すなわち非常に微量のNBSで処理することによって、DTTの場合と同様EAC1423はC3 Inactivatorの作用をうけなくなる。NBS処理によってEAC1423-¹²⁵Iから低分子量のC3フラグメントが脱離してくることが示唆された(図1)。

表3. EAC1423*とNBS, DTTの反応

	Sup, cpm	Ppt., cpm	% Liberated
NBS	10 ⁻⁸ /ml	9110	16248
	6 ⁻⁸ /ml	5380	15472
DTT	20 mg/ml	2606	16042
	10 mg/ml	2162	13649
buffer (PBS)	1400	17781	8

表2. アミノ酸組成

Lys	119
His	29
Arg	72
Asp	158
Thr	94
Ser	96
Glu	176
Pro	93
Gly	119
Ala	114
Val	130
Met	35
Ileu	83
Leu	132
Tyr	56
Phe	49
CysO ₃ H	24
Trp	25

Ghost ヒツジ赤血球用いた IMMUNE ADHERENCE の
定量的解析 口立かくセンター 研究所ヘルス部
西岡久壽彌、奥平房一、奥田智子。

Immune Adherence 反応 (IA) は、抗原、抗体、補体活性を測定する高度の感度をもつて反応として血清診断の上に、また各種の免疫現象の解析に利用されて来ている。反応の最終結果の判定は①粒子抗原のヒト赤血球 (HuE) への接着②上清より、粒子抗体の消失の顕微鏡的観察及び③ HuE 凝集像の肉眼的判定によつて來た。

この反応機構をさらに免疫化学的に解析する目的にもより精度の高い簡単な定量的方法が要求されてゐる。さきに井上(著)らは牛血清アルブミンを標識した抗原として用いた IA の定量化を試み、実際はさらに高度にラベルした微量の牛血清アルブミンを用いた Radioimmune adherence 法の確立に成功した。

補体成分、とくに C3、IA 又は溶血活性と構造の關係を追究して行く目的にて、更衣液血系と同じヒツジ赤血球 (E)-ウサギ抗体と抗原抗体系に用いた定量 IA 法を樹立することが少要があり、あわせて、上咽頭癌、伝染性单核球病由來の培養細胞やリンパ系の B 細胞等の IA Receptor の迅速定量法を企図して以下の実験を進めた。

① 各種 Intermediate 感作血球の Ghost 化と IA 反応性

I^{125} ラベルしたウサギ IgM 抗体 (M^*) で感作した E を抗原抗体と共に、 $1000 S_{FU}$ の C1, $300 S_{FU}$ の C4, C2; $300 CIA_{50}$ の C3 を ~~1個~~ 1 個の細胞あたりに反応させた各段階の中の反応体をつくり、GVB[#] にて蒸溜水で洗血し、5倍等張の VB 食塩水を加えて等張化 (以下 Ghost Cell とする)、ヒト赤血球や培養細胞 N-37, P3HR1 を 37°C 30 分反応させ、10 ml の冷 GVB[#] を加え $750 \times g$ 10 分遠心すると、IA 反応性をもつた EM* の中向反応体が IA Receptor をもつた細胞とともに沈殿するのでその I^{125} を Auto-γ で測定するのが一般原理である。この系ではヒト赤血球、N-37 細胞のみが EM* C423 と反応し、他の組合せにおいては Back Ground 値 (EM* のみで約 10% が)、上述の細胞と非特異的反応 (2%) 以上、放射活性を示さない。

② 形成された EM* C423 とヒト赤血球の反応

3×10^5 の Ghost EM* C423 は $1.25 \times 10^7 - 2 \times 10^8$ マウナ HuE を添加して加熱 37°C 30 分反応させると、 1×10^8 マウナ HuE の時に右の直線關係に近い Dose-Response を示し、それ以上は plateau となる。

限量の C3 で感作して Ghost EM* C423 3×10^7 と HuE 2×10^8 を反

反応温度を 37°C 15分後 peak は達するが、 2°C では反応速度が遅めで4時間後でも peak は達しない。

③ Ghost EM* 1423ヒト血清のIA反応性の測定

4×10^7 の Ghost EM* に $1/1500$ の新鮮ヒト血清を加え過時的に 37°C で反応させ、 2×10^8 の HuE を加えさせたり 37°C 15分反応させて。HuE を洗浄したEM*補体結合物を測定する。ヒト血清と EM*の反応時間は、 37°C 5分で plateau は達しない。

以上の実験にてすき、ヒト血清のIA反応性を測定する方法を組立てた。GVB[#] × iウケ[#]。 2×10^7 の Ghost EM* 0.2ml に希釈血清 0.2ml を加え 37°C 5分后。HuE 2×10^8 (0.2ml) を加え。 37°C 15分后。冷GV[#] 10ml 加、 $750 \times g$ 10分遠心して HuE を結合したEM*を測定する。補体との Back Ground ($10\% \sim 15\%$) を差引き、ghost EM*の HuE と反応後減じた割合 y を計算すると、補体量(X) IF 対皮膚反応にて Von Knoph の実験式 $X = (\frac{y}{1-y})^{\frac{1}{2}}$ に従つてなる。両項を対数方程紙に plot すと $\log \frac{y}{1-y} = 10$ 以上 の血清希釈度には直線性を示し、半は健康成人では $0.24 \sim 0.26$ 、 $\log \frac{y}{1-y} = 10$ を示す CIA 50% の系では $1/1200 \sim 1/1800$ の値を示してなる。

④ 結合 C3 の IA活性と溶血活性の比較

Ghost EM* C14 4×10^7 (0.2ml) に $1/20$ C3 0.2ml を加え 37°C 30分后 HuE 2×10^8 (0.2ml) を加え 15分后 $750 \times g$ 10分遠心して HuE 12結合したEM* C1423 を測定する。一方同じ lot の同量の EM* C14 1/2 C3 0.2ml を同濃度同量加えて。C5-9を過剰加え溶血活性を比較測定して $\text{S} = \frac{\text{HuE} - \text{結合}}{\text{HuE}}$ 求め plot すと。溶血反応で測定した C3 の Hemolytic Site/cell と C3 の dose-response とはほぼ一致し。高濃度の C3 で若干低下する反応曲線を示す。

このように限量の C3 で作成した EM* C43 の C3 site を 1mg 及び 3mg の dithiothreitol 及び 3γ , 4γ , 5γ の N-フロムコハリ酸イミドにて 37°C 60分処理すると。溶血活性は、C3 の反応基の数と不活性剤の dose にて破壊されるが、IA活性は変化をうけない。

以上の事実から、これら不活性剤の IA活性と溶血活性に対する反応の差異は、溶血反応と IA反応の底度の差によるものではなく。EM* 142 に結合して解放する下 C3 の溶血反応活性と IA反応活性とが異なるものであることが確認された。

(Fab')₂による Cytotoxicity

国立がんセンター研究所 岡田秀親

血清補体価を、感作ヒツジ赤血球の溶血反応で測定した場合、モルモット血清の補体価は、ウサギ血清のそれのほど5倍の力価を示す。これに対し、有核細胞、例えば、腹水形腫瘍細胞を抗体で感作し、これに新鮮血清を添加して Cytolysis を起こす系に於ては、溶血反応系の場合とは逆に、ウサギ血清の方が、モルモット血清よりも効率が良いことが知られている。

この理由については、有核細胞膜には、赤血球膜にはない何らかの構造があり、これを破壊するには、補体の成分以外に、例えば殺菌作用における Lysozyme の様な何らかの酵素が必要であり、モルモット血清中には、それが欠乏している為に、Cytotoxic activity が低いのではないかというような推測もなされている。しかし、今までの所、そのような酵素を明確に立証する実験結果は知らない。

最近、Osler 等のグループから、補体系の活性化が Fc 部分でなされる旧来の反応様式の他に、Fab 部分でも補体系の活性化がなされ、この場合には、C1, C4, C2 等を介さずに C3 以下の補体成分と反応する事が報告された。Fab 部分と C3 とか直接反応するのではなくて、その間を仲介する因子が血清中に存在すると考えられてる。(それは、Lipopolysaccharide による Alternate pathway の事で、Mayer 等が Cx と呼んでいる因子と同様なものだと考えて以下、仮に Cx と呼ぶことにする)

演者は、上述の $Ag:(Fab')_2:Cx$ による反応系が、Fc 部分で活性化される旧来の補体反応系に比較して、有核細胞の Cytolysis に効率高く働くのではないか?、そして Cx の量か、ウサギ血清中には、モルモット血清中のそれに比べて、比較的多い為に、最初に挙げた様な現象がみられるのではないか? といふ仮説を立ててみた。

この仮説を検討する為に、C3H/He マウスの腹水形腫瘍の MM₁₀₂ に対するウサギの抗血清から得た IgG(γG) 分画と Pepsin 消化して (Fab')₂ を作製した。これを MM₁₀₂ に作用させ、MM₁₀₂:(Fab')₂ complex をつくり、これにウサギ血清を加えることによって起る Cytotoxicity と、その complex を 1/500 に稀釀したモルモット血清に加えた時に起る補体結合性 (37°C 60 分反応させた後に EA を添加し、その EA の溶血度を測定) とについて実験を行った。これを MM₁₀₂:γG complex の場合と対比させてみたのが、表 1 に示したものである。(Fab')₂ は Cytotoxic activity は持っていないが、補体結合反応(CFT; この場合、Cx は dilute out されると考えられる)

は、陰性であり、現在の所、先に挙げた仮説を否定する結果であると考えられる。

表1. 細胞障害性と補体結合性。

Sensitizer	Cytotoxicity*		CFT (%hemolysis)**
	Exp1	Exp2	
(Fab') ₂			
1:1	66.9		98.7
1:2			101.6
1:3	53.1		
1:5	39.2		100.5
1:9		36.9	
1:10	21.7		
1:20	12.9		
1:27		2.5	
γG	1:40	97.7	1.3
	1:80	88.4	0.8
	1:100		90.3
	1:160	81.0	5.8
	1:300		87.5
	1:320	81.8	65.0
	1:640	33.3	85.7
	1:900		16.7

* $\frac{(X-B)}{B} \times \frac{100}{100-B}$, X; % cytolysis of a sample,
 B; % Cytolysis without sensitizer
 B for Exp 1 and Exp 2 were 12.1% and 33.1 %
 respectively

** 0.5 ml of 1/500 GPS was used when 0.2 ml
 of the dilution showed 87.5 % hemolysis.

なお、Cytotoxicity testは

$\left\{ \begin{array}{l} 2 \times 10^6 \text{/ml MM102 } 0.2 \text{ml} \\ + \\ \text{rgf or (Fab')}_2 \text{Fr. } 0.2 \text{ml} \end{array} \right\}$

↓ 37°C 20 min

+ 0.2 ml of NRBS (1/10)
 (ウサギ血清)

↓ 37°C 60 min

+ 0.1 ml of 1% Tripan blue

の術式で行い、染色されたCellの割合を観察した。

CFTは、以下のとく行いた。

$\left\{ \begin{array}{l} 2 \times 10^6 \text{/ml MM102 } 0.2 \text{ml} \\ + \\ \text{rgf or (Fab')}_2 \text{Fr. } 0.2 \text{ml} \\ 1/500 \text{ GPS } 0.5 \text{ml} \end{array} \right\}$

↓ 37°C 60 min

+ 0.2 ml of 1×10⁸/ml EA

↓ 37°C 60 min.

+ 4.0 ml of EDTA-GVB
 csg, 2000 rpm, 10 min.

上清の OD₄₁₄ を測定

演題 免疫溶血反応の終末反応段階に及ぼす soluble ATPase の作用 (Inhibition of lysis of terminal intermediate cells by soluble ATPase)
出題者名 上田 浩, 深山昭雄
Hirosaki Ueda and Akio Miyama
所属 奈良県立医科大学 細菌学教室

ヒト赤血球の免疫溶血反応で、血球膜 ATP-ATPase 系が溶血反応と密接な関係にあることを示し、その影響が E^{*} transformation の step で現れるという実験結果を過去に示した。一方羊赤血球では、同じようない ATP の効果が見られず、E^{*} transformation に及ぼす ATP-ATPase 系の反応を人赤血球を用いて詳細な解析をすることが困難であったから、今回我々は、soluble ATPase を用いて羊赤血球の溶血反応に及ぼす影響を見た。Hoffman 等は、ヒト赤血球膜より Butanol 抽出により得た fraction が immune hemolysis を阻害することを示しているが、この方法は、M. lysodeikticus の cytoplasmic membrane との soluble ATPase を分離する方法と全く同じであること、又現在血球膜との soluble ATPase を分離する方法がないことから、我々は、soluble ATPase と M. lysodeikticus の cytoplasmic membrane より抽出精製して、それが immune hemolysis にどのような影響を及ぼすかを研究した。

材料: Bacterial ATPase は M. lysodeikticus の cytoplasmic membrane より Fukui 等の方法で得た。この ATPase は、cytoplasmic membrane に対する免疫血清と、免疫電気泳動上、陽極側に移動する 2 本の沈降線を示す。

使用した羊赤血球は、出来る限り新鮮なものを食塩水で洗浄後、イノシン、アデニン存在下で岩返らせ、intermediate cell の作成に用いた。

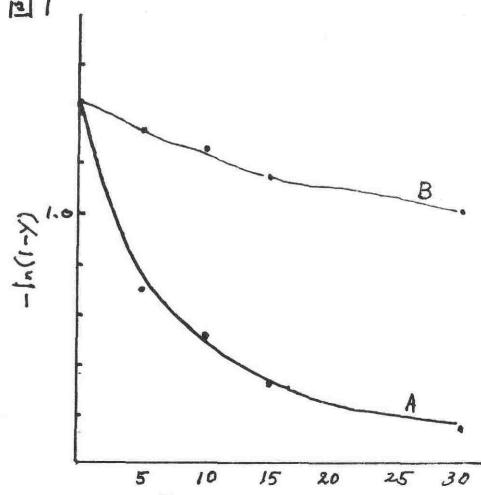
実験結果: Bacterial ATPase と gpc' と 37°C で 1 分間感作し、その補体価を対照に比較すると、ATPase 感作補体の補体価に変化は見られない。むしろ、やや高値を示すところから用いて ATPase の抗補体作用はないといえる。又 C₆C₈K に対しても、この ATPase の阻害作用は認められなかった。

intermediate EAC₇ と ATPase 感作した後、C₈C₉K を加え、見られる溶血阻止は、その Preincubation time と共に増加することから (図 1)、ATPase による阻害は cellular level で起つていると考えられる。EAC₇ cell で Cr-plate を置いた時の、C₈C₉K による lysis が、ATPase 作用によってどのようになるかを見たのが図 2 である。EAC₇ cell も又 ATPase の存在で、C₉ による lysis が阻害を受けるが、その程度は EAC₇ cell で見られるよりも小である。

この阻害効果は、新鮮羊血球を更にイノシン、アデニン存在下で岩返ら

せて使用した時に、特に著明であることから、膜の ATP-ATPase 系と何らかの関係があるのではないかと考え、更に検討中である。

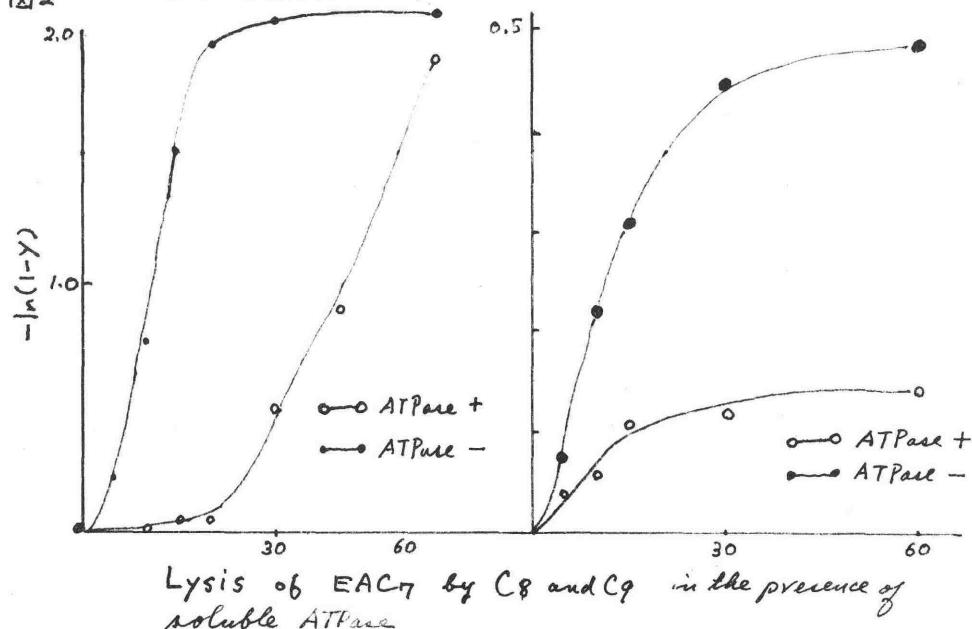
図1



A : soluble ATPase + EAC₇ を 37°C で
横軸に示した時間加温し、過剰
の C8 及び C9 を加え、60 分後の溶
血を求めた。

B : 対照として buffer + EAC₇ を 37°C
で加温し、Aと同じ処理をした。

図2



免疫溶菌による大腸菌菌体成分の
変化について（第2報）

大阪大学医学部 細菌学教室 井上公藏、矢野健一
高見沢昭久、天野恒久

我々はさきに、抗体及び補体によつて、グラム陰性菌は殺されるが、Spheroplast形成には更に lysozyme の関与が必要なことを見出しました。（Biken J. 2: 1-20, 1959）。更にこの際、補体9成分総てが必要であることも確かめた。（Biken J. 11: 203-206, 1968）。更に、抗体及び補体の作用によつて大腸菌は、光学顕微鏡下では形態変化を示さないにもかかわらず、その菌体壁に蛋白分子を出入せしめたりに足る "channels" 又は、"holes" が形成され、それを通じて菌の細胞質膜より外側に存在する、いわゆる perienzymes (e.g. alkaline phosphatase) が遊出すること、又、lysozyme が共存する場合にはこの酵素はこの "channels" を通じて菌体壁内へ侵入し、その基質による mucopeptide rigid layer を破壊して spheroplast 形成を来たすことを明らかにした。（Biken J. 11: 193-201, 1968）。従つて、補体の侵襲点は Muschell らの考える如く細胞質膜ではない。即ち、抗体及び補体のみで "channels" は形成されても、細胞質膜内に存在する菌体内酵素 (e.g., β -D-galactosidase) は遊出して来ない。lysozyme により spheroplast 形成が起り、菌体壁による機械的保護作用が失われると、細胞膜は破れ、菌体内酵素が遊出し始める。あるいは、菌体外に plakin (a phospholipase A from rabbit or horse platelets) を共存せしめると、この酵素は補体により形成された菌体壁の "channel" を通じて侵入し、細胞質膜を直接侵襲して破壊し、菌体内酵素は容易に遊出する。（Biken J. 11: 193-203, 1968）。

このように抗体及び補体による菌体壁の "channel" 形成に伴う化学変化を知るために、我々は E. coli B を ^{14}C -(II)-glucose を含む合成培地で培養し、この菌を抗体で感作し、lysozyme を除いたモルモット補体血清 (RL) を用いて免疫溶殺菌に伴う菌体成分の変化を追及し、前回の本シンポジウムに於て、免疫溶殺菌に伴う菌体壁の phospholipids、就中 phosphatidylethanolamine (PE) が補体作用に伴つて lysophosphatidylethanolamine (LPE) 及び游離脂肪酸 (FA) として反応上清の lipid 抽出物 (Chloroform 相) 中に見出されることを報告した。

今回は、本研究のその後の進展を報告する。

- 1). 補体作用により、感作菌からます PE を含む成分が遊出し、時間の経過と共に菌体外への PE の增量は余りないが、LPE 及び FA が反応上清中に増大する。
 - 2). 反応初期に遠沈により上清と菌体とを分離し、後者は洗浄後更に緩衝液に再浮遊して incubate を続行すると、lipid 成分の上清中への遊出はみられるが、反応期間を通じて補体と共存せしめた系に比べマサない。
 - 3). 反応上清中に遊出して来る ^{14}C を、Sephadex G 50 或いは G 200 column による gel filtration により分画し、更に chloroform-Methanol 抽出により分画すると、Methanol-水相に来る成分は主として比較的小分子量の小さいものであり、chloroform 相に来るものは、反応上清中には、4S 蛋白程度の大きさの成分として存在する。
 - 4). *E. coli* から分離精製せる ^{14}C -PE に補体あるいは、cold の感作菌と補体を加えても LPE 及び FA への分離はみられない。
 - 5). 比較のため、ハブ (*Trimeresurus flavoviridis*) 毒より分離精製せる phospholipase A を *E. coli* に作用させると、菌はこの酵素によつて殺されず、又菌体の PE は LPE と FA に分解されるが、菌体外へは放出せず菌体中に留まつてゐる。
- 以上の結果から、補体の活性化に伴い、菌体壁の PE を含む、かたり大きな構成成分が切り出され、菌体外へ遊出し、更に PE は LPE 及び FA へと分解される。但しこの場合、phospholipase A 作用による菌体壁内 micel の変形及至崩壊が補体作用の本態であるのか、あるいは、上清中に見出される LPE 及び FA はむしろ補体作用により一次的に生じた構成物に、phospholipase A が二次的に働くに結果生じたものかは明らかでない。更に、この phospholipase A 活性が補体成分から由来したものか、補体以外の血清成分によるものか、あるいは、菌体由来のものかも現在不明である。又前記の plakin 共存下の免疫溶菌実験の成績を念頭に置いて考えると、補体活性化に伴つて生じた phospholipase A は、たゞえ、それが補体成分乃至血清由来のものとしても、生じた "channels" を通過しないと考えられる。従つてこの phospholipase A は菌体外へ切り出され、また構成成分のみに働くのか、あるいは、補体侵襲点 (site) に留め、菌体壁表層の極めて限局した部位にのみ働くのかも知れぬ。

PCA 反応の免疫組織化粧的研究

横浜市立大学形成外科、西園久春 植下

(3) 先正病理、甲牛 優夫

1958年2月より提唱されたPCA反応はpassiveに接觸した抗体が組織固着というアレルギー反応の第一歩といふべき重要な要素と第二歩といふ反応が始まる事から、被膜がin-vivoにおけるアレルギー反応を解釈していく上にあたり絶好的のモデルとええよう。又モルモットの抗抗体がモルモットに対してアヤシイ本抗体としての作用を有することから注目されるおり、一方最近になり、ようやくこの本抗体と補体系の反応が明らかとなり“alternative pathway”と介して反応することが明らかにされ、homologous system上で、本抗体により生じるPCA反応はT抗原の組織固着におけるTarget cell (or Tissue) の内臓や、血管壁等に際し補体系の関与の定跡となり、たとえば内臓を含んでいる。昨年患者は岡田とともにRIで用いPCA反応を検討すべく定量PCA法を報告しさうに本年9月アレルギー学会総会にありて、さうして抗体の組織固着の時間的推移及びPCA反応による血管壁性の変化の強さを定量的に解析し報告した。さうに今回組織形態学的意義抗体法及びHorseradish Peroxidase (H.P.O) の抗体を製造し幾つかの知見を得たので報告する。

《方法及び結果》

まず嵌入抗体内挿法を Heterologous Tと Rabbit IgGに用いていた。PCA反応に生じさせ特異的反応の浮遊が Venuleを中心とした血管壁に浮遊している事實を確かめ次ぎに Rabbit にモルモットのβICを投与した得た抗βIC血清を用いて下工Tとラベルし homologous Y₁G, heterologous Y₂Gに於ける一定時間後感作させた後又同じPCA反応を生じた後又にありて観察した結果抗βIC血清と特異的に反応する蛍光像を得たのが現在 H-E染色と比較の上よりの局在性及び補体系成分との関連性について検討を加えていた。

一方さうに検討を加え、Horseradish Peroxidase Type II (SIGMA) を溶解し Sephadex G-50を通して純化しpurifiedしたH.P.OをウサギBUNモルモットに Freund's Complete Adjuvantと共に免疫したHPO Rabbit 血清、モルモット血清によ、モルモットにPCA反応を生じせる事に成功して92%発現しラベルの上で解剖出来得るモデルとして定跡中であるので報告する。

以上著者らはPCA反応を in-vivoにおいて極めて優れたアレルギー反応の解剖モデルとして提唱し、その反応の場合における補体系の関与が形態学的にも否定出来得ないものと著之能組織化粧の方法論よりアプローチを一つと二つと三つとの内臓を想起したいと著える。

創傷治癒と P.C.A 反応

横浜市立大学第二病理学教室 田中俊夫
同 形成外科 西園久寿樹

創傷治癒過程(Wound healing process)は、臨床的にも外科領域に亘りて大前提である一方、組織修復における肉芽組織形成過程を探究するさかみて、単純なモデルでありますからその概り工学的研究は近年まで比較的少ない。

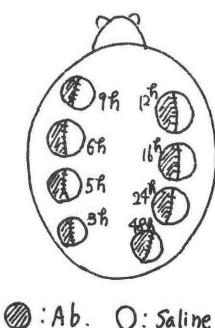
その様な外科的手術創や皮膚切開創の治癒過程に亘りて現在までに明らかになつたことを、3事実は必ず機械的刺激を受けて組織の血管より血清タンパク、血球成分の漏出といった事実に基づきわざる一連の「炎症」にあける Chain Reaction の1つとして考えらるゝ事であり、又その組織反応の主体となる可代表的細胞は、線維芽細胞、Macrophage 及び毛細血管内皮細胞の3種である。これららの細胞は、組織修復過程に亘りて極めて重要な役割をなしてゐると考えられ、特にその中で毛細血管の新生に亘りて、血管内皮細胞の遊走および増殖分裂は極めて重要な役割をなしてゐるといえる。

これららの細胞の活性化はいかゆる創治癒12時間頃より始まる増殖期に亘りて生じてゐることである。この様な創修復の一連の過程に亘りて、臨時に P.C.A 反応を起し、その反応の強度及びそれに伴う組織像を比較検討したので報告する。

方法及び結果

この実験の目的には latent period の短かり抗体が必要であるため、家ウサギの抗BSA 抗体よりモルモットの皮膚感作能を有する IgG Fraction 及 D.E.A.T.カラムクロマトゲラフィー、磷酸濃度勾配法により分離した。

次いで 300~400 gr の Hartley 雌系モルモットの背部に八卦形巻丈 1 cm の創を作成。6-0+1 ロン手にて縫合後、24時間目から 5 日目まで a Time course を比較、さらに他の群には Short Time Course として 3 時間、5 時間、9 時間、12 時間、16 時間、24 時間に a Time course を比較検討した。この場合図-1 に示す様に創の内側に抗体(抗 BSA 量 300)を感作し、反対側には 0.15 M NaCl を 0.1 ml 皮内注射し、30 分後後に、2.5 mg/ml の BSA と 1% Evans Blue の等量混合液を静脉的に全身投与し、その activity を Evans Blue の褪く青いスポットにより測定した。又それまでの組織学的検査を施行した。その結果 3 時間から 5 時間の Time course ではほとんど P.C.A 反応が生じずから 9 時間目から 12 時間目にかけて P.C.A 反応の亢進を認め、24 時間目から 1 週間目の間は、



●: Ab. ○: Saline

その差を PCA 反応における Evans Blue の滲出でほほとんと認められたので現在「完量PCA」により直跡中である。又組織学的には内皮細胞の増生を主時時に認め、それよりやや遅れて血管の透過性が亢進して来るのを認めた。又抗体感作後 2 日目、非感作後 2 の組織学的所見では H-E のレベルでは著明な差を認めず重ね困難である。だが、当然のことながら抗体感作後群の方が Macrophage 及び PMN の滲出が多め印象を受けた。

以上創傷治癒過程における PCA 反応を生じさせた結果、形態学的に内皮細胞の増生(道)時期にこの亢進がある一事は既に認められ在實は PCA 反応において抗体の Target Cell としての内皮細胞系を表すものと興味ある知見といえよう。

Passive Mucocutaneous Anaphylaxis (PMA) 《第一報》

横浜市立大学形成外科 西田久美樹

同 第二病室 田中俊夫

Passive Cutaneous Anaphylaxis (PCA) をアレルギー反応の上で実験モデルとして著者らが確立するには Passive に接した抗体がその組織(粘膜)において一定時間後、被験動物の補体の作用を受けて、血管壁及びその周囲の結合組織と奥から部分に Anchor する量である。又が全身抗体伝導、血管の permeability change が生じた際アラトマシン杯物質が漏出してくる量実からも、in-vitro の段階で急速に解析。進歩した補体系の役割を in vivo に置きし複雑なアレルギー性炎症を解析する一手段として極めてすぐれた方法論の一つと考えるからである。

従来 PCA 反応はその名の通り杯に皮付を感作組織として用いられてきたが今回著者はモルモットの口腔粘膜、胃粘膜、大腸粘膜、膀胱粘膜における感作能を有するモルモットの homologous IgG 及びラットの heterogeneous IgG Fr. (即 BSA 抗体) 用い PCA 杯反応を生じさせてみると試みたのでこれも Passive Mucocutaneous Anaphylaxis (PMA) と提唱し各粘膜組織における Latent period の差異の組織学的所見を PCA と比較検討しさらには Arthus 反応との組織学的所見の差をも検討したので報告する。

方法及結果

抗体はすべて抗 BSA モルモット IgG Fr. (以下 IgG) 及びラット IgG (以下 Ig) を用いた。被験動物はモルモット (♂) 300 g 前後を用い、ネンフタール麻酔下に、口腔粘膜、開腹左、直視下に胃粘膜、小腸粘膜、膀胱粘膜に上記 2 種の抗体を約 25~30 μl/ml 感作し、約 4 時間後、抗体を 2.5 mg/ml と Evans Blue (1%) の等量混合液を 1 ml 静脈内投与した。この際皮下にも同量の抗体を感作した。R II のモルモットを満血後感作粘膜組織を肉眼的、組織学的に左、右のものについて比較検討した。現在までの知見では各組織全体的に左、右にさほど PMA 反応による血管透過性は抗体により弱めり。(同一時間の latent periods における) 左抗体の場合、口腔粘膜、胃粘膜、小腸粘膜に著明な血管透過を認め、特に胃粘膜において左、季脛、一部には出回り葉下してありその反応は極めて強い印象を受けた。膀胱粘膜は感作条件が一定でなく現在検討中である。又組織学的にも Submucous layer に赤斑 (リニル斑) 一部 PMN の浸潤を認めた。胃粘膜における PCA 杯反応は 2.3 の報告を参考したが、著者らは、今回、全身の粘膜にて可及的に homologous Ig heterogeneous Ig 抗体を用いて感作し、その組織学的所見及 latent period を検討しさらに、Peritoneum においても興味ある PCA 杯反応を惹起せしめたのでまとめ報告する。

