

血清アルブミンに於ける個体特異性分層の 有無に関する実験的研究

〔第3篇〕 所謂個体特異性血清アルブミンに関する
免疫血清学的検討

京都大学結核研究所外科療法部（主任 教授 長石 忠三）

馬 渡 誠

目 次

緒 言

第1章 血清アルブミン中に於ける完全抗体産生
能に関する検討

第1節 実験動物

第2節 実験方法

第1項 沈降反応よりする検討

第2項 赤血球凝集反応よりする検討

第3節 実験成績

第4節 小 括

第2章 血清中に於ける不完全抗体産生能の有無
に関する検討

第1節 実験動物

第2節 実験方法

第3節 実験成績

第4節 小 括

第3章 綜括並びに考按

結 論

緒 言

第1篇でも記述したように、著者は教室の小笠原の実験を追試している間に、小笠原と同様に各種成績から各個体共通に利用される血清アルブミン劃分と各個体に於いて特異的に利用される劃分とが存在するのではなかろうかと推定するに到つた。即ち、大量の出血後如何に適量の輸血を行つても、それが新鮮、保存血何れをとわず他家血である限り、蛋白濃度、就中血清アルブミン劃分の回復は果されないことを知ると共に、これが自家血の場合にのみそれらの減少が防止されることから、血清アルブミンに於いては各個体に特異的な化学構造その他の点で

差異を有する分層が存在していることを推定したのである。その為にこれらの輸血された他家血液中のアルブミンの一部はその特異性の故にそのまま流血中を循環出来ず、ある種の臓器に特異的に止めおかれるのであるか、又は速かに分解排泄されるのであるか等の経路が考えられるのである。従つてこれらがある臓器組織に於いて、その抗原性（もしも所有するならば）を発揮するに至る過程を想定することも可能であると考えられる。

従来同種間に於いて行われる初回皮膚移植に於いては、その移植された皮膚は約2週間は正常状態を持続し、その後壊死脱落するのであるが、同じ個体間に於いて2度目の植皮を行つた際には、約4～7日で脱落壊死するということが報告されており、その初回と異なる第2回目の反応に対してアレルギー機序が関与するものであろうと早くから推定されている。即ち、その被植皮動物体内に於ける抗体の存在を証明せんとする従来の血清学的技術を用いた多くの実験が、流血中、或いは組織滲出液⁴⁾について行なわれている。

Gorer¹⁶⁾ は、この同種異体間植皮施行時にみられる反応機序を追究して、その原因は不完全抗体産生によるものであり、更にその抗原物質は DNA Nucleoprotein であろうという点まで言及している。然しその抗原性に関しては他の種

々の実験よりして、これにあずかる抗原は細胞内各種成分の如何なるものと特異的関連を持つものか、又は更にこれらの細胞内成分と無関係なものであるか、現在のところあきらかではない。従来同種共有の血漿、ホルモン等については、その同種に対する抗原性はないということが一般に認められているのであるが、前述の如き著者等の実験よりして個体に特異的な血清アルブミン分屑の存在が想定されるのであるから、前記のような同種属間動物内に於ける皮膚移植実験の際の抗体産生と同様に輸血の場合にも個体特異性アルブミン分屑の同種間個体相互に於ける抗原性が認められてもよいわけであり、この意味から、個体特異性アルブミン分屑の確認にその抗原性を中心とした検討を試みることも無意味ではないと思う。

第1章に於いては沈降反応により検討を行い、更にこれを別の面より検索するため赤血球凝集反応を行つた。従来、抗原抗体反応に関する現象として、凝集反応、沈降反応、補体結合反応等々が知られているが、これら各種反応にあずかる抗体については種々の論議がたたかわされて来た。即ち、研究当初はこれらの抗体はすべて互いに異つたものであるという抗体の多元論が優位を占めていたのであるが、研究が進むに従い、これらを同一視する傾向が現れ、近時更に、これらの抗体の電気泳動的分析より若干の不同を唱える研究者も現れるに至つたのである。従つて著者はこれらのことを考慮におき、又その反応性の感度等も併せ考え、更に Middlebrook-Dubos²⁴⁾ の赤血球凝集反応を模した反応を試みたのである。

第2章に於いては近時問題になつている不完全抗体についての検討を加えてみた。不完全抗体の証明法としては Coombs⁶⁾ 等の方法が考案されているが、著者の実験様式からはこの方法は困難と思われるので、実験の過程では取り上げなかつた。しかし不完全抗体が存在し、抗原抗体反応がおこり、何等かの形で結合が行われているとすれば、その分子量或いは物理化学的性質に変調を来し、電気泳動上に於ける変化が認められる可能性があると考えた。そこで著者

は Tiselius 電気泳動装置を用い、感作前の血清、感作後の血清、並びに感作後の血清及び抗原の混合液の3者について電気泳動を試みた。

第1章 血清アルブミン中に於ける完全抗体産生能に関する検討

第1節 実験動物

正常雑種成犬 8~12kgを用いた。4頭を用いこれを2群に分け、1群の犬を A. B. 他の1群の犬を C. D とした。犬は相互の血球血清の交叉試験を行い異型血液でないことを確かめておいた。

感作抗原

各 A. B. C. D の犬より 100~150cc の血液を採り、第二篇の操作によりアルブミンを分離し、Handex の真空凍結乾燥器を用い、変性を防ぎ長期保存に耐えるべくそれらを結晶化した。

感作方法

1.5g の上記アルブミン結晶をとり、流動パラフィン2容、脱水ラノリン1容の混液5ccに加え、ガラスホモゲナイザーを用いて十分に混和、犬の大腿部皮下に注射した。注射方法はA犬に対してB犬より得た血清アルブミン流パララノリン混液を注射、B犬に対してはA犬より得た血清アルブミン流パララノリン混液を注射し、他の1群はこれを対照群とし、C. D 両犬に対して各自家より得た血清アルブミン流パララノリン混液を注射した。以上の前処置(注射)より3週間経過後の犬血清について、以下の実験を行った。被検血清は56°C 30分加熱、非働化して用いた。

第2節 実験方法

第1項 沈降反応

沈降反応³⁶⁾は村田の試験管を用い、被検血清は1.5%アラビアゴム加生食水に2倍数稀釈を行い、順次注入した。沈降抗原としては感作に用いたアルブミン結晶0.1%生食水を用いた。判定は重層後孵卵器内で37°Cに保ち、2時間後に行った。

第2項 赤血球凝集反応

被検血清の作成

非働化した血清を更に非特異性凝集反応を防ぐために、緬羊非感作血球(3.8% チトラート液に同量の採血を行い、血球を Alsever 浮遊液として3日以上保存せるもの)で被検血清中の非特異性凝集素⁷⁾を吸収除去しておく。即ち、4倍稀釈液4ccを小試験管にとり、緬羊赤血球浮遊液0.2ccを加え、沈澱した赤血球を害わないように上清に更に0.2ccを混じ、10分間放

置した後遠沈し上清を被検血清とした。

血 球 感 作

抗原液 0.1% 5cc に緬羊赤血球浮遊液 0.1cc を加え、37°C 恒温槽にて2時間放置し、15分毎に振盪して感作を確実にし、2000R. P. M 10分間遠沈し、磷酸緩衝生食水で洗い、この操作を3回繰返して行った。洗滌血球を同じく磷酸緩衝生食水 20cc に浮遊せしめ、0.5%感作血球浮遊液として用いた。

凝集反応術式

非働化し、非特異的凝集素を吸収除去した被検血清を磷酸緩衝生食水で4倍を出発濃度として培数稀釈を行い、その0.3cc 宛を中試験管にとる。次に感作抗原として用いた犬の血清アルブミンにて前処置した感作緬羊血球 0.5% 浮遊液 0.3cc 宛を各試験管に添加、よく振盪混合して37°C の孵卵器内に2時間保ち、後室温に24時間放置して成績を判定した。

第3節 実 験 成 績

第8表にみられるように少なくとも沈降反応を呈する程の沈降抗体はみられなかった。対照としての自家アルブミンを抗原とする群に於ける沈降反応も(－)であつた。

一方、抗原犬血清アルブミン感作緬羊血球を用いた赤血球凝集反応を試みたが、判定は第9表に示すように何れの場合も陰性の結果が現われた。即ち、この方法により証明し得る抗原抗体反応はおこらないことが判明した。

第4節 小 括

本編に於いて所謂個体特異的血清アルブミンが同種異体に対し、抗原性を有するか否かを沈降反応及び凝集反応により検討したが、沈降抗体及び凝集抗体の産生はみられなかった。

第2章 血清中に於ける不完全抗体産生能の有無に関する検討

第1節 実 験 動 物

前章に準じて正常雑種成犬を用いた。

第2節 実 験 方 法

感作前及び感作後3週間経過したものについて採血し、これらの血清総蛋白量を測定しておき、次に pH 8.6 イオン強度 0.1 のペロナール緩衝液を用いて16時間以上セロファン膜にて透析を行い、Tiselius 電気泳動装置により電気泳動を行った。負荷電流は 100～150V、5～7mA で約30分間泳動しその上昇脚を約5

第8表 沈 降 反 応 (重層法)

抗原 B-Alb → 抗 B 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
B-Alb→									
A 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 A-Alb → 抗 A 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
A-Alb→									
B 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 B-Alb → 抗 A 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
B-Alb→									
B 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 A-Alb → 抗 B 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
A-Alb→									
A 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 C-Alb → 抗 C 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
C-Alb→									
C 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 D-Alb → 抗 C 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	512
D-Alb→									
C 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 C-Alb → 抗 D 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	512
C-Alb→									
D 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 D-Alb → 抗 D 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	512
D-Alb→									
D 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

第9表 赤血球凝集反応
抗原 B-Alb → 抗 B 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
B-Alb→ A 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 A-Alb → 抗 A 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
A-Alb→ B 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 B-Alb → 抗 A 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
B-Alb→ B 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 A-Alb → 抗 B 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
A-Alb→ A 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 C-Alb → 抗 C 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
C-Alb→ C 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 D-Alb → 抗 C 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
D-Alb→ C 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 C-Alb → 抗 D 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
C-Alb→ D 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

抗原 D-Alb → 抗 D 犬血清

時間	稀釈	1×2	4	8	16	32	64	128	256
D-Alb→ D 犬 2時間		—	—	—	—	—	—	—	—
24時間		—	—	—	—	—	—	—	—

倍に拡大し、プランニメーター法にて計算した。

一方感作後の血清 5cc に抗原としてこの血清アルブミンを 50mg 加え、37°C に於いて 2 時間保ち、後室温に 24 時間放置した後、上記と同一条件にて電気泳動を行った。

第3節 実験成績

先ず A 犬の感作前、感作後及び抗原添加時に於ける各々の血清の電気泳動像は第10表の如くであり、蛋白濃度及びそれらの分割については β グロブリン以外には殆んど差異はなく、 β グロブリンの約 10% の上昇がみられるのみである。第11図からみると感作後 β グロブリンの右肩部に若干の山を見るが、これに抗原 B 血清アルブミンを添加しても殆んど変化は認められない。

次に B 犬では第11表にみられる如く感作前、感作後及び抗原添加後に於いて、分割に殆んど変化がみられない。第12図からみると B 犬の感作前と比較して β グロブリンのピークがシャープに表われている以外はあまり変化はみられない。

C 犬については分割の相対比は第12表のよう

第10表 抗原 B-Alb → 抗 B 犬 A 血清の分割像

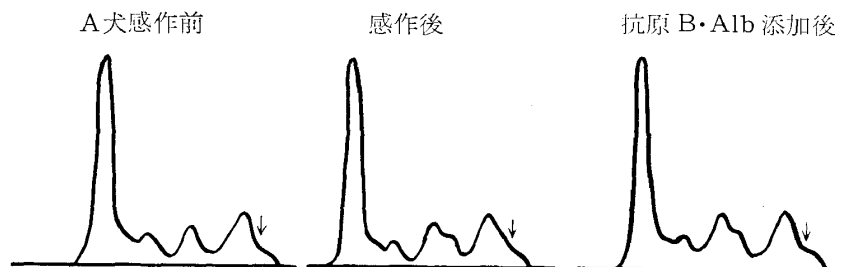
	総蛋白量	Alb	α Glob	β Glob	γ Glob	A/G
A 犬 感作前	6.1	50.5	10.3	14.4	22.3	1.02
A 犬 感作後	6.3	49.0	5.5	25.2	20.5	0.89
B-Alb 添加		47.8	6.0	23.0	24.3	0.9

第11表 抗原 A-Alb → 抗 A 犬 B 血清の分割

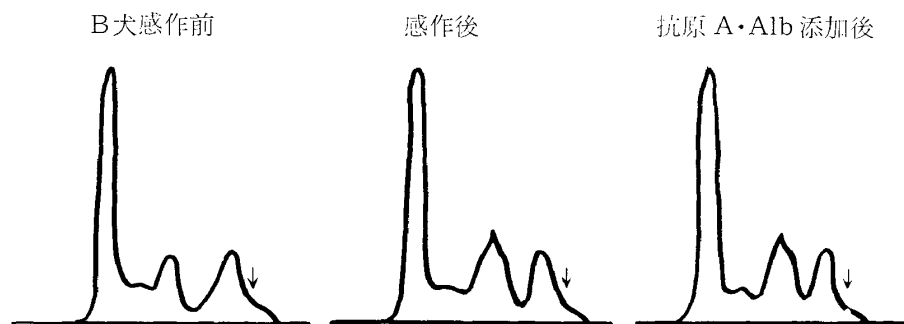
	総蛋白量	Alb	α Glob	β Glob	γ Glob	A/G
B 犬 感作前	6.4	48.5	4.4	25	22.3	0.94
B 犬 感作後	6.3	49	6.7	25.4	18.8	0.96
A-Alb 添加		49	5.51	25.4	21.0	0.96

第12表 抗原 C-Alb → 抗 C 犬 C 血清の分割

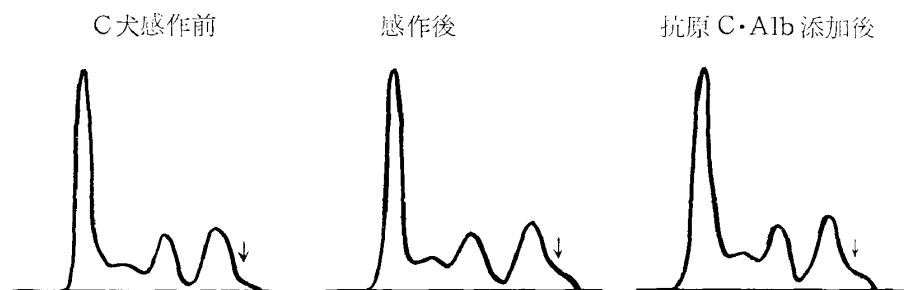
	総蛋白量	Alb	α Glob	β Glob	γ Glob	A/G
C 犬 感作前	6.5	50.0	5.7	23.5	20.7	1.0
C 犬 感作後	7.5	50.5	6.4	19.5	23.6	1.02
C-Alb 添加		50.5	7.15	20.6	20.6	1.02



第 11 図



第 12 図



第 13 図

に殆んど差がみられないし、又第13図のように型の変化もみられない。

第4節 小 括

感作前、感作後及び抗原を加えた後の血清蛋白の変化を電気泳動法により追求した。その結果、感作前及び感作後の血清蛋白の泳動像に於いてはプソイド域の β グロブリンに於いて多少の変化を認めたが、抗原添加後と感作後の血清蛋白分割の間には有意の差を認めなかった。

第3章 総括並びに考按

血清アルブミンの同種異体に対する抗原性について、その各々の抗原により前処置された犬血清について沈降反応及び赤血球凝集反応を行い、それら抗体の有無について検討を加えたが、何れの場合も陰性の結果が得られた。併し乍らこれによつて抗体産生の全く行われていな

いと断言するのは早計であろう。一方、全血清中の抗体の物理化学的性状を考えるに当つて、免疫後の血清に於いては抗体蛋白の産生以外に抗体への変化並びに非特異性グロブリンの増加をも考慮に入れ、血清蛋白にしばしば変化を招来しているという事に注意をおく必要があるが、この場合、感作前、感作後並びに抗原抗体反応時と各々比較対照し検討を行えば有意の差を観察することは可能と考えられる。従来抗体蛋白について種々検討が加えられているが、抗原によりその抗体量にかなりの変動が認められており、著者の行つた Tiselius 電気泳動装置による泳動図からその有無を確認し得ない場合も当然あると考えられる。観察した各群についての組合せを代表するものをあげ、その実験成績をみながら若干の考按を加えてみる。尚蛋白質混合物の図形の変化を検討するには多少の任意

性を認めざるを得ないので、数%の差異は有意の差でないとして誤差の範囲として扱った。先ず、A犬の感作前、感作後及び抗原添加時の血清蛋白の泳動像では β グロブリンに約10%の上昇がみられ、これに抗原を加えても泳動像には殆んど変化が認められない。このことから少なくとも沈降抗体は産生されていないことは言えるが、しかし Pappenheimer²⁶⁾等は吸収沈降するとしないとにかかわらず、それらの抗体は電気泳動上の性質並びに沈降恒数上、正常グロブリンと均一であるとのべているので、抗原抗体反応時吸収された分劃がないからと云つて抗体否定の材料とはならない。

次に、B犬では感作前及び感作後のいずれにも変化はみられないし、C犬についても同じく変化がみられない。これらに考按を加えてみると、各蛋白分劃にとりたてゝ述べるべき相対比の変化はみられないが、抗体窒素は正常血清窒素の数拾パーセントを占める場合もあるが、1～2%を占め殆んどそれらの窒素量に変化のない場合も報告されているので、Tiselius 電気泳動上、カーブに変位を認めなくても抗体産生に対する否定とはなり得ない。むしろブソイド域の β グロブリンに多少の変位を認めた事は、たとえ吸収沈降しなかつたとしても何等かの抗体の存在を推定することは困難なことではなく、或いは溶解性の不完全抗体の存在を推定す

ることも可能であろう。

結 論

本篇に於いて、著者は輸血時の低蛋白血症、就中アルブミンの回復遅延が血清学的にみて個体に特異的であり、且つ抗原性を有するアルブミンの存在によるのではないかと考え、その存在を抗原抗体反応、特に重層法による沈降反応及び MiddleBrook-Dubos の赤血球凝集反応を行い、併せて電気泳動法からも検討し、次のような結論を得た。

1) 重層法よりする沈降反応では沈降はみられず、沈降抗体の産生は観察し得なかつた。

2) 抗原アルブミンを緬羊赤血球に感作して行つた赤血球凝集反応での成績も陰性であり、少なくとも凝集抗体の存在は実証されなかつた。

3) 感作前及び感作後の蛋白分劃の電気泳動像に於いては、ブソイド域即ち、 β グロブリンの一部に新しいピークを認めた。

4) 個体特異的血清アルブミン分劃による同種異体感作処置による抗体産生の有無について、この感作動物血清を抗原と混合し、抗原抗体反応による結合に伴い現われる変化について、Tiselius の装置を用いた電気泳動的検索を行つたが、その電気泳動上易動度の変化及び各分劃相互間の有意の量的変動はみられなかつた。