

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4篇〕 血清アルブミン分割の輸血効果に及ぼす影響に関する実験的研究

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 自家血清アルブミン分割の輸血効果に及ぼす影響	
第1節 実験材料並びに実験方法	
第1項 実験材料	
第2項 実験方法	
第2節 実験成績	
第3節 小 括	
第2章 アミノ酸混合輸血の血清蛋白及びその分割に及ぼす影響	
第1節 実験材料並びに実験方法	
第2節 実験成績	
第3節 小 括	
第3章 総括並びに考按	
結 論	
全 篇 総 括	
結 論	

緒 言

著者は第1篇に於いては、瀉血及び輸血が血清蛋白濃度並びにその分割に及ぼす影響を検討し、その際の血清蛋白の変動が主としてアルブミン分割に基因しており、しかも自家血輸血によればその変動をほぼ完全に防止し得る処より、血清アルブミン分割中には個体に特異的なものが存在するのではないかと推定した。

第2篇ではアルブミン分割法について検討を加えた結果、簡単にしかも大量に得る方法として塩析法、就中硫酸法が適切なものであることを知ると共に、それらの操作を経たアルブミン分割の変性は、殆んど考慮する必要のないこと

を知つた。

第3篇においては、その方法で得られたアルブミン分割を使用してアルブミンの個体特異性の有無を免疫血清学的に追究した。即ち、沈降、凝集抗体は上記実験では証明し得なかつたが、これが電気泳動学的にみて何等かの差異が認められないかと追究したところ、 β グロブリン分割に多少の変位が認められた。之が如何なる意味をもつかは今後の研究に俟つべきものである。

近時輸血は一種の同種異体臓器移植と考えられているが、同種異体植皮拒否の事実²³⁾等から併せ考えて、本篇ではアルブミン分割の個体特異性の有無を生物学的に追究することを目的として、自家及び他家アルブミン輸液及びアミノ酸加輸血が生体において、如何なる差異を生じるかを、それらの蛋白濃度及び各分割について検討した。

第1章 自家血清アルブミン分割の輸血効果に及ぼす影響

第1節 実験材料並びに実験方法

第1項 実験材料

正常雑種成犬を用い、血液成分の交換に用いられた相互の犬は交叉試験を行って異型でないことを確めた。

第2項 実験方法

混合血自家血清アルブミン液作成

雑種成犬2匹を一群とし、瀉血前日5cc程度採血し

て蛋白濃度及び Ht 値, 分割等を検査しておき, 2 匹を血球蛋白濃度及び A/G 比等がほぼ同じものを一群とした。瀉血時は血液凝固阻止のためにヘパリンを 1cc/dl の割合に用いて 20cc/kg の採血を行い, 第 2 篇に於ける方法に準じて血清アルブミン液を調整した。一方グロブリンはアルブミン分離時 7~8,000 R. P. M. で 30 分間遠心沈澱し, この沈澱を生食水に溶解しアルブミンと同様透析した。血球は生食水にて数回洗い, 殆んど無血清蛋白血球とした。以上の方法で分離した諸成分を自家血清アルブミン, 他家血清グロブリン及び他家血球という組合せで按配した。血液成分に多少の相違のあるものは混合血作成時に可及的同一条件に調整した。

他家血清アルブミン液

これは自家血清アルブミンに対応するためのものであるから, 他家全血を用いても差支えないと考えられるので, 人の保存血作成に準じて ACD 液を用い第 1 篇に準じて作成した。

実験方法は, 第 1 篇の方法に準じて自家血清アルブミン液及び他家血清アルブミン液の輸血を行い, 輸血後は 60 分, 3 時間, 1 日, 3 日, 1 週間と経時的に採血し, 血清蛋白濃度並びに分割を測定した。測定方法は屈折蛋白計, Beckmann 分光光度計及び Tiselius 電気泳動装置を用い第 1 篇に準じて測定した。

第 2 節 実 験 成 績

所謂自家血清アルブミン加血液輸血後の血清蛋白濃度の推移をみると第 14 図に示す通りであ

る。

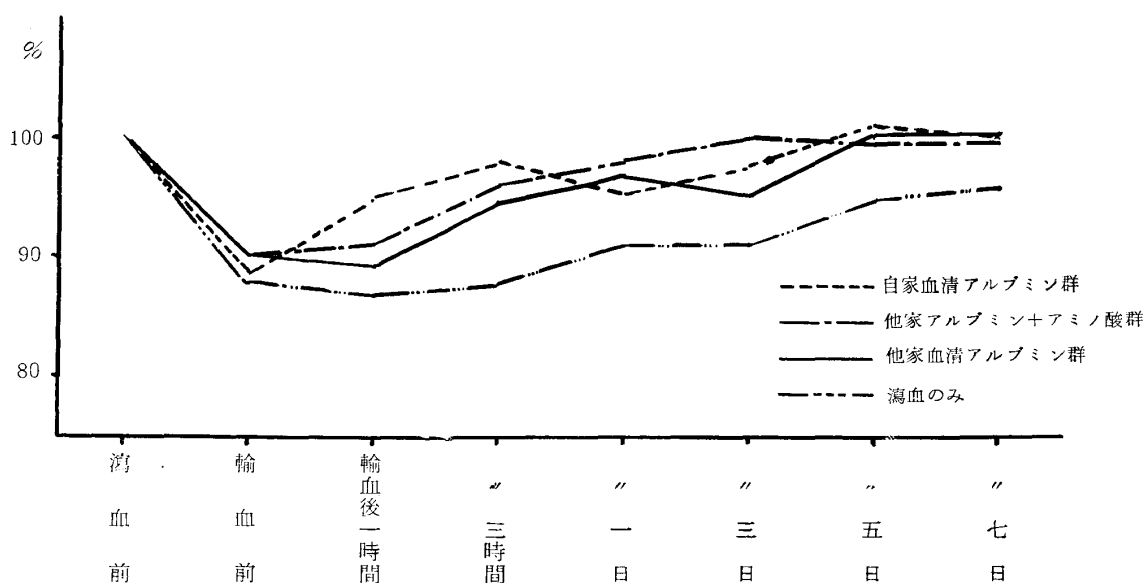
即ち, 自家血清アルブミン加輸血によれば血清蛋白濃度は比較的短時間にして上昇, 24 時間以内に回復して来る。しかしこれは 1~3 日には再び減少し, その後再び徐々に増加し, 5 日目にはほぼ瀉血前値に復帰する。

一方, 他家血清アルブミン液即ち, 保存血では急激な回復はみられないが, 徐々に血清蛋白濃度は増加し, これもほぼ 5 日にして瀉血前値に復帰している。

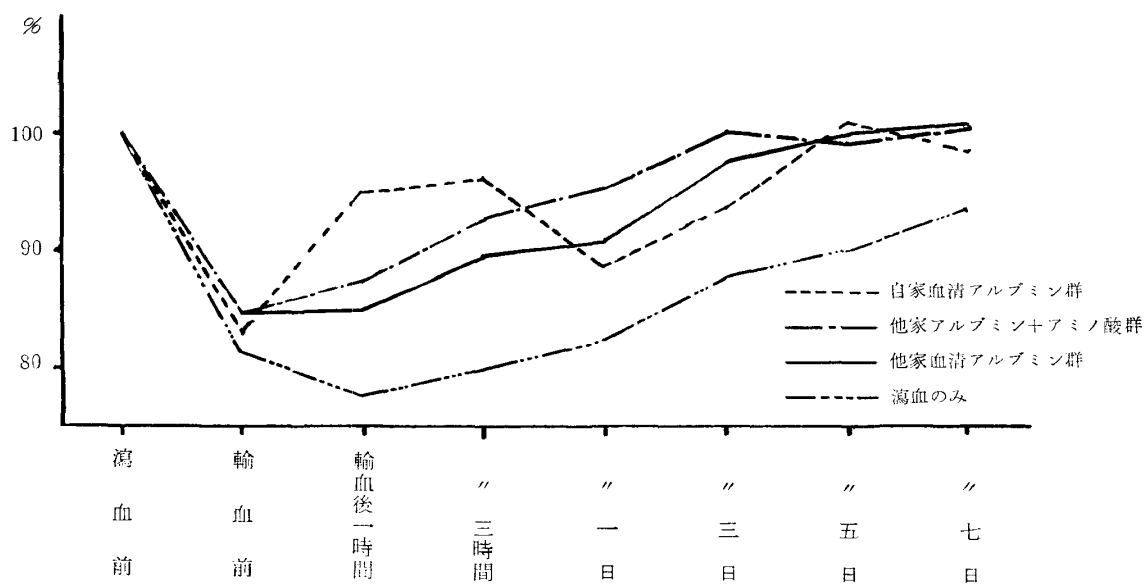
次に血清蛋白分割の変動についてみると, 第 15 図に示すように自家血清アルブミン加輸血群ではアルブミンの分割が 1 日以内では 95% まで回復し, 他家血清アルブミン輸血群ではアルブミン分割の回復の程度は自家血清アルブミン加輸血群の場合に比較して 10~15% 程度低値を示す。

アルブミン絶対量は第 16 図に示すように自家血清アルブミンでは, 輸血直後から増加し 3 時間後には 96% まで回復するが, 1~3 日では一度 85% まで減少し, 後次第に回復する。他家血清アルブミンでは 3 時間にして未だ 85% の回復しかみられず, その後徐々に回復し, 5 日目頃には瀉血前値に戻る。

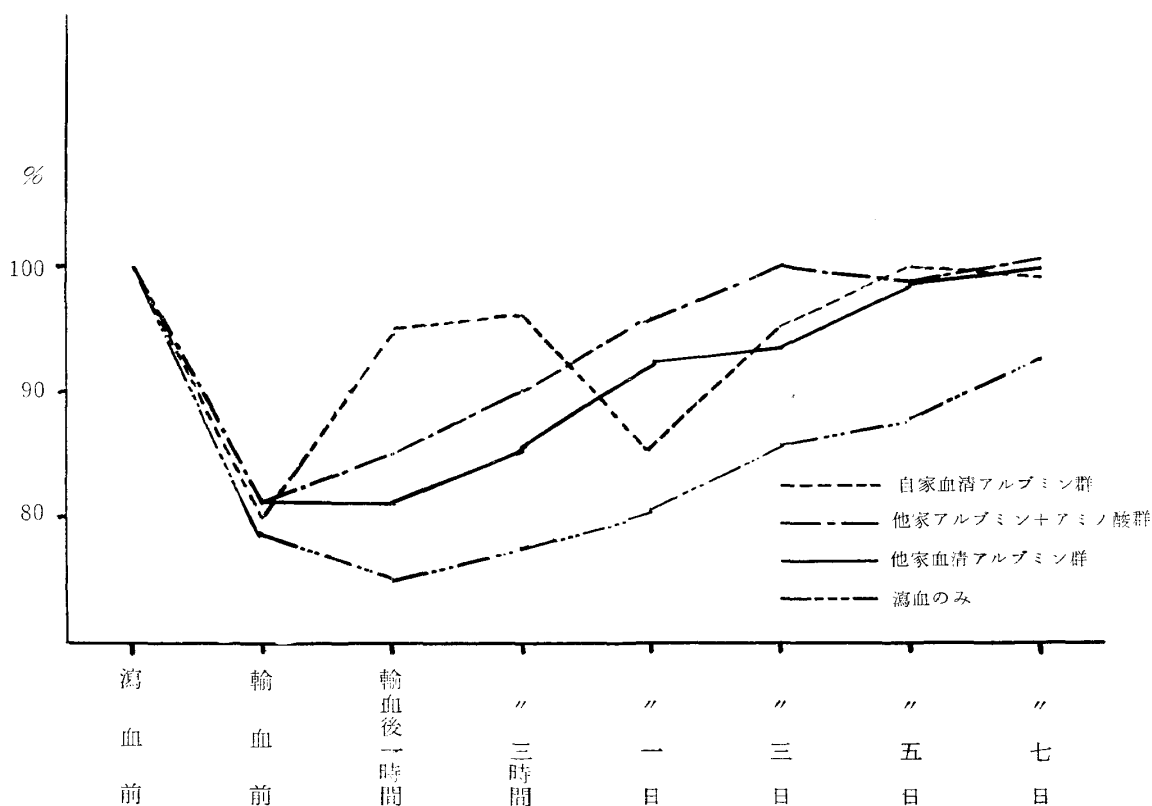
A/G 比に於いても第 17 図にみられるように同様な傾向を示している。



第 14 図 各種輸血後の血清蛋白濃度 (瀉血前値 100 とする)



第 15 図 各種輸血後のアルブミン相対比の変動（瀉血前値を 100 とする）



第 16 図 各種輸血後の血清アルブミン絶対量の変動（瀉血前値を 100 とする）

第 3 節 小 括

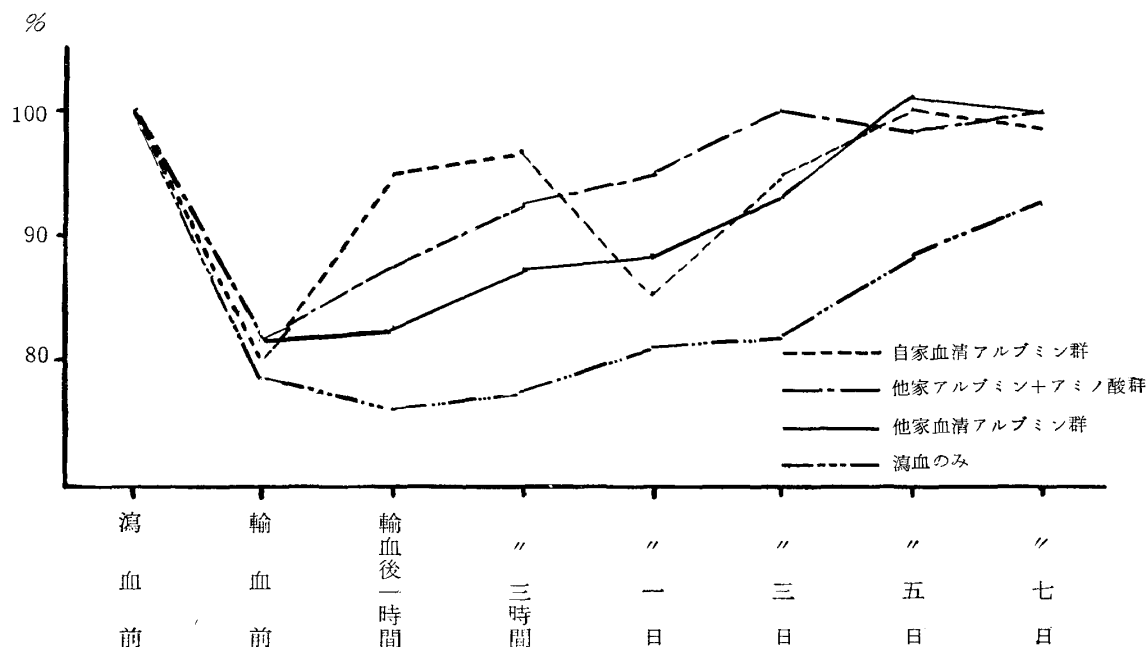
自家血清アルブミン加血液を作成し、これを瀉血後の犬に輸血して血清蛋白濃度の変動を追求した。

血清蛋白濃度は自家血清アルブミン加血液により比較的短時間に瀉血前値に復帰するが、1～3日には一旦減少し、しかる後に徐々に増加

して5日で瀉血前値に復帰する。

他家血輸血ではかゝる一時的な増加はみられず、輸血後より徐々に増加してほゞ5日で瀉血前値に復帰する。

これら血清蛋白の変動を分割の面よりみると、自家血清アルブミン加輸血と他家輸血との差はアルブミン分割の差が主である。それらの



第17図 各種輸血後の A/G 比の変動 (瀉血前値を100とする)

輸血1時間後の相対比及び絶対量の差は10~15%である。

第2章 アミノ酸混合輸血の血清蛋白及びその分割に及ぼす影響

第1節 実験材料並びに実験方法

実験動物は正常雑種成犬を用いた。

実験方法

犬をラボナールで全身麻酔した後、股動脈より体重1kg 当り 20cc 瀉血を行い、30分放置した後予め作成しておいた保存血にアミノ酸液を体重1kg 当り 5cc を更に添加して静脈内注入した。輸血後は1時間、3時間、1日、3日、5日と経時的に採血し、血清蛋白濃度並びにその分割の変動を追究した。

血清蛋白濃度並びにその分割の測定方法は第1篇と同様である。実験に使用したアミノ酸液 (モリアミンS 森下製薬) は Howe の VUJ, N, Amino Acid Mixture を改良した処方第13表に示すような組成である。

第2節 実験成績

アミノ酸加輸血による血清蛋白濃度の推移は第14図のようである。

即ち、アミノ酸加輸血により1時間後より血清蛋白濃度は上昇しはじめ、自家血清アルブミン加輸血群と他家血清アルブミン輸血群との中間的な回復状態を示し、瀉血前値とほぼ等しくなる。

第13表 必須アミノ酸液組成

アミノ酸名	結晶配分 100分率	100cc 中成分 (%)
L アルギニン HCl	8.77	0.80
L ヒスチジン HCl·H ₂ O	4.39	0.55
L イソロイシン	6.03	1.23
L ロイシン	13.49	2.23
L リジン HCl·2H ₂ O	24.45	0.71
L メチオニン	7.79	0.87
L フェニールアラニン	9.54	0.54
L スレオニン	5.92	0.18
L トリプトファン	1.97	0.61
L バリン	6.69	1.00
グリシン	10.96	0.40
計	100.00	9.12

これを蛋白分割の面より追求すると第17図のように A/G 比は低下するが、アミノ酸加輸血によりアルブミンが比較的速かに増加するため A/G 比も回復が早い。

即ち、アルブミン相対比及び絶対量共、輸血後1時間にして上昇を示し、85~87%にまで回復する。 α グロブリン及び γ グロブリン共輸血後1~3時間にして相対的増加を示し、その後も経時的にみると相対比及び絶対量共にかなり高値を保っており、5~7日にして瀉血前値に復帰する。

第3節 小 括

犬をラボナールで全身麻酔し、体重 1kg 当り 20cc の瀉血を行つた後、アミノ酸加輸血を行い、血清蛋白濃度並びにその分割の変動を経時的に追究した。

血清蛋白濃度は瀉血後、アルブミン濃度の低下と共に減少し、アミノ酸加輸血により比較的速かに増加し、3日で略々瀉血前値に復帰する。

A/G 比もアミノ酸加輸血により上昇し、3日後には回復する。

γ グロブリンは略々増加の傾向を示す。

第3章 総括並びに考按

自家血清アルブミン加輸血並びにアミノ酸加輸血が血清蛋白並びにその分割に与える影響を総括し乍ら考按を加える。

第1篇に於いて著者は瀉血により血清蛋白濃度は低下し、しかもそれが主としてアルブミン分割の減少に基因しており、個体特異性アルブミン分屑の減少によるものであることを論じた。そこで自家血清アルブミン加血液を作成し、犬を瀉血した後これを輸血して血清蛋白濃度を検討したところ、その回復が速かつた。これは自家血清アルブミンが最も適合し易い形のまゝであり、輸血後速かに血漿蛋白として体循環にあずかるものと思われる。しかし1日経つて再びアルブミン分割の減少を見る事は、瀉血侵襲によるものか、或いは個体に適合した形の自家血清アルブミンであつても塩析操作を経た事により、生蛋白の状態を保つてはいても比較的分解され易い状態のものであるためと考えられる。之が他家血の場合、輸血後アルブミン濃度は急激な増加を示さず徐々に回復してゆくことは、個体に利用されない劃分が分解され、特異的なものへ再合成されて行く過程を示したものである。

次にアミノ酸加輸血を行うと、他家血輸血のみを行つた場合に比較して血清蛋白濃度の増加が速かで、輸血直後より増加しはじめ、他家血輸血の場合を上回る回復を示し、3日にして瀉血前値に復する。他家血輸血の際にみられるアルブミン劃分の減少が、所謂個体特異性アルブミ

ン分屑の減少によるものと考え、その合成素材としてアミノ酸液を保存血に添加した。添加するアミノ酸液量を 5cc/kg としたのは、20cc/kg の瀉血によりアルブミン分割の減少が瀉血前値に比較して約15~20%の減少をみることから、瀉血量の約20%となるよう添加した。アミノ酸輸液が蛋白合成を促進することは Elman¹⁰⁾, Madden⁴⁰⁾ 等により認められているところである。又、福田¹⁴⁾及び松下²⁵⁾等はアミノ酸の輸液は肝蛋白の減少を防止するといっている。一方他家血輸血では血清蛋白濃度は速かに回復しないのに反し、自家血清アルブミン加輸血及び必須アミノ酸加輸血により速かに回復することより、他家血清アルブミンは即時利用することが出来ず、徐々にではあるが分解し、個体に特異的なものに変つた後にはじめてその個体に対してアルブミンとしての作用をなすのではないかと考えられる。

以上の所見より瀉血により招来される血清アルブミンの減少は自家アルブミンによれば、即時補填し得る。しかし他家アルブミンではそれが出来ず、一定時間経過した後アルブミンが増加しはじめ瀉血前値に復帰する。しかるにアミノ酸液を添加した輸血を行えば比較的速かに減少したアルブミンを補填し得る。これは輸注されたアミノ酸を材料として血清アルブミン、特に所謂個体特異性アルブミン分屑が合成されていくためではないかと考えられる。

結 論

1) 自家アルブミン輸注と他家アルブミン輸注とでは血清蛋白及びアルブミン分割に与える影響は明らかな差異があることを認めた。

2) 瀉血により招来されたアルブミンの減少は自家アルブミン加輸血ならば速かに瀉血前値に回復するがこれは1~3日にして一旦減少し、以後次第に瀉血前値に復帰する。この一時的な減少を来す理由に関して尚研究する余地がある。

3) 他家アルブミン血では自家アルブミンの如き回復経過はみられず、輸血後かなりの時間を経て徐々に回復して行く。

4) アミノ酸加輸血では他家血輸血に比して血清蛋白、特にアルブミン分割の回復が速かである、

5) 以上の諸知見よりアルブミン分割には個体特異性が存在すると考えられる。

全 篇 総 括

著者は第1篇に於いて教室の小笠原が行った大量瀉血及び輸血の血清蛋白濃度並びにその分割に及ぼす影響に関する実験的研究を更に補充し、再検討を加えてみた結果、小笠原同様に血清アルブミン中には個体に共通なものと、個体に特異的なものとが存在することを推定するに至った。

併しながら個体特異性アルブミンは、電気泳動法、塩析法及び超遠心法等現今の血清蛋白分割法にては、証明し得ないのである。従つて、アルブミンの個体特異性の証明には免疫血清学的、及び生物学的に検討を加える必要があると考えた。

免疫血清学的検討を加えるに先だち、血清蛋白の分割法につき、考察を加え、塩析法が本目的にかなつた方法であることを知り、本実験に必要なアルブミンは硫酸法により得た。大量を簡単に、しかも変性させずに得ることは仲々困難であるが、硫酸法につきそれらの点を検討してみるに、ほゞ満足な結果を得た。硫酸法により得たアルブミン分割には毒性があると言われるが、頻回の透析を行い硫酸を除去すれば生物学的検定にてはなんら毒性の反応は示さない。蛋白の変性の定義は極めて困難ではあるが、著者は硫酸塩析により得られたアルブミン分割の変性の有無を電気的性状、化学的性状及び生物学的性状の諸点より検討した。

そこで硫酸法により得られたこれらのアルブミンが、個体に特異的であり、且つ抗原性を有するか否かを抗原抗体反応、特に重層法による沈降反応及び Middlebrook-Dubos の方法を模した赤血球凝集反応を行い、併せて電気泳動法からも検討したが、今迄通常行われている沈降反応では抗体の産生は証明されず、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

性であつた。これから見ると少なくとも完全抗体の産生能を有する抗原性は有していないことになる。しかしこれ等の反応をおこした場合につき電気泳動的に検討を加えると、 β グロブリン即ち、 β ソイドグロブリンの域に多少の変位を認めたが明確な個体特異性は把握出来なかつた。そこで更にアルブミンの個体特異性を生物学的に検討してみた。即ち、所謂自家アルブミン加輸血では他家アルブミン加輸血に比して輸血直後では血清蛋白並びにアルブミンの回復が速かである。しかし自家アルブミン加輸血で1～3日にして一旦蛋白濃度並びにアルブミンは減少する。この理由に関しては尚研究の余地が残されている。

他家アルブミンは、Eckhardt が報告しているように直接的にたゞちに分解されることはないが、ゆつくりと構成アミノ酸に分解されて、しかる後に再び血清蛋白に合成されるために血清蛋白の回復が遅れるのである。必須アミノ酸加輸血ではアミノ酸は Wipple⁴⁰⁾ 41) 等が報告しているように肝臓に於いてアルブミン構成の基材として利用されるためアルブミンの生成が促進され、その結果血清蛋白の回復が比較的速かになるものと思われる。

自家アルブミン加血輸血ではかゝるアルブミンの再合成が行なわれる必要がないために、血清蛋白の術直後の回復が良好となるのであろう。

以上血清蛋白分割法、及び免疫血清学的にはアルブミンの個体特異性を明確には把握出来なかつたが生物学的検討により自家アルブミンと他家アルブミンとの間に明らかな差異を認めた。

尚、血清アルブミンの個体特異性に関しては諸種の観点より検討を加え、更にその本体を究明する必要があると考える。

全 篇 結 論

1) 著者は小笠原の行つた瀉血及び輸血が血清蛋白に及ぼす影響に関する実験を更に補足、再検討し、個体特異性アルブミンの存在を推定した。

2) 各種現今の蛋白分割法では個体特異性アルブミン劃分の存在を証明し得ないので免疫血清学的並びに生物学的に究明する必要を感じ、それに先立ちアルブミン劃分の分離法を検討した。

その結果、硫酸法によれば血清アルブミンを大量に比較的簡単に得ることが出来、しかも得られたアルブミンは電気泳動的性状、化学的性状及び生物学的性状に殆んど変性を来たしていないことを知つた。

3) 血清アルブミンの個体特異性を免疫血清学的に検討したが、その存在を明確に把握することは出来なかつた。

4) 生物学的に自家アルブミンと他家アルブミンとを輸注し血清蛋白及びその分割の変動を追究し、両者の間に明らかな差異のあることを認めた。

5) アミノ酸添加輸血を行えば瀉血により招来されるアルブミンの減少を比較的速かに回復せしめることが出来る。これはアミノ酸が基材となり個体に特異的なアルブミンの合成が促進されることによるものと思われる。

6) 以上の所見よりアルブミンの個体特異性は現今の諸種血清蛋白分割法、及び免疫血清学的には把握出来ないが、生物学的検討では明らかに存在すると考えられる。

文 献

- 1) 雨宮三代次：輸血・輸液の常識，金原出版株式会社，昭和31.
- 2) 荒谷真平：綜合医学新書 8. 蛋白質とその変性，医学書院，1953.
- 3) 阿部正和，他：日本臨床，17. 4. 2，昭和34.
- 4) Billingham, R. E.: Embryol. & Exp. Morph. 3, 265.
- 5) Cohn, etc: J. Am. chem, 62, 3386, 1940.
- 6) Coombs. R. R. A, Mourant. A. E. & Race. R. R: Lancet, 2, 15, 1945.
- 7) 伝染病研究会，細菌学実習提要.
- 8) Döring, et al; Pflügers. Arch, 253, 265. 1950.
- 9) Deutsch, H. F, and M. B. Goodloe: J. Biolog. chem, 161. 1, 1945.
- 10) Elman, R. et al: J.A.M.A, 122, 796, 1938.
- 11) 江口：京都府立医大誌，55, 843. 1954.
- 12) 福山，他：医学と生物学，12. 31. 1954.
- 13) 福田保，他：外科と栄養.
- 14) 福田保：外科研究の進歩，第2集. 3, 昭和32.
- 15) 藤田篤雄：血漿蛋白の臨床，文光堂，昭和31.
- 16) Gorer, P. A.: Ann. Newyork. Acad. Soc, 63, 882, 1956.
- 17) 平井秀松，他：電気泳動法，共立出版.
- 18) F. Hawrowitz; The chemistry and Biology of prot, P. 3, Academic. press. Newyork., 1950.
- 19) 角田昭夫：メタボリズム，第1集，医歯薬出版.
- 20) 加藤幹夫：京大結研紀要，7. 3, 増刊号Ⅱ，104, 昭和34.
- 21) Lewis, L. A. et al: Am. J. Physiol. 161. 101, 1950.
- 22) Luetscher, J. A: J. Am. chem. Soc. 16. 2888, 1954.
- 23) Medawar, P. B., Billingham, R. E: Proc, Royalsoc. 143, 58, 1954.
- 24) Middle. Brook, G. Dubos, R. J: J. Exp. Med 88, 521, 1948,
- 25) 松下良司，他：外科，20, 4, 277, 昭33.
- 26) 内藤良一：輸血の手技，医学書院，1958.
- 27) 小笠原久三：京大結研紀要，8, 1, 増刊号. 昭和34.
- 28) Pappenheimer, A. M. J r, Lundgren, H. P and Williams. J. W. 1940.
- 29) R. Eckhardt; N. Zamcheck; R. L, Sidmar; G. J. Gabuzda. S. C. S. Davidson: J. clin. invest. 29. 227, 1950.
- 30) Raudin. J. S.: Arch. Surg. 48. 501, 1944.
- 31) 齊藤正行：光電比色計による臨床化学検査，南山堂，1944.
- 32) Sverdberg. P, et al; J. Am. chem. Soc. 50. 3318, 1928.
- 33) 杉本，他：最新医学，10. 10. 123, 昭和30.
- 34) 齊藤，他：日本生理誌，12. 49, 1950.
- 35) 杉本研究室編：電気泳動技術，納谷書房，1955.
- 36) 進藤宙二：血清反応とその実際，医学書院，1956.
- 37) Tiselius. A: Biochem. T. 31, 1464, 1937.
- 38) Tiselius. A: Trans. Faraday. Soc, 33. 524, 1937.
- 39) H, Wu. chinese: J. physiol, 5, 321, 1931.
- 40) Whipple, G. H. and S. C. Madden: Physiol. Rev. 20, 195, 1940.
- 41) Whipple, G. H.: Medicine 23, 215, 1944.