

氏 名	小 林 陽 之 助 こ ばやし よう の すけ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 377 号
学位授与の日付	昭 和 43 年 11 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON THE BACTERICIDAL COMPLEMENT OF HUMAN SERUM (正常人血清の殺菌補体に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 奥 田 六 郎 教 授 岡 本 耕 造 教 授 田 部 井 和

論 文 内 容 の 要 旨

〔序論〕 正常ヒト血清のグラム陰性桿菌に対する殺菌補体の研究に溶血補体の解析方法を導入することにより、ヒトの殺菌補体の作用機序を解明しようとした。元来補体の概念は新鮮血清中において殺菌作用を有する易熱性因子として導入されたものであるが、溶血系においてヒツジ赤血球、これに対するカト溶血素血清および補体源としてのモルモット血清というモデル・システムの確立以来、溶血補体の研究は著しく発達してきた。これにたいして殺菌補体においては操作の複雑さ、システムの不統一も手伝って、殺菌補体自身の研究はまだ不充分であり、溶血補体の知見をそのままもちこんで論じようとする傾向がある。しかし著者の研究で、ヒト血清の補体活性を溶血系と殺菌系において比較、検討してみると必ずしも同じ態度を示さないことがわかった。本論文においては殺菌補体価表現法を確立した上で、溶血補体と関連した基礎的観察、それとの相関関係ならびに量的比較についてのべた。

〔方法〕 ヒト血清に感受性を有する大腸菌、同菌にて感作したカト抗血清および新鮮ヒト血清を使用した。殺菌反応実施に際してはヒト血清希釈液に感作菌液を加え、37℃ の水槽にて60分間反応せしめ、反応終了後シャーレに移し、普通寒天を加え混釈後 37℃ にて培養した。翌日菌集落数を数え殺菌率をもとめた。溶血反応は Mayer の方法で行ない、C'H₅₀ (50%溶血補体価) で表現した。

〔結果〕 (1) 殺菌反応において殺菌率と補体量の間に溶血系の von Krogh の式、 $X = K \left(\frac{y}{1-y} \right)^{1/n}$ (y : 殺菌率, X : 補体価) が成立することが確認され、これを用いて50%殺菌補体価 (仮りに C'C₅₀ と名付ける) が算出された。(2) 溶血系では一定の条件下では加えられた感作赤血球の量に関係なく一定の量の血球しか溶血されないが (one-hit theory), 殺菌系では血清量が一定ならば、加えられた菌量に関係なく、つねにほとんど一定の割合で殺菌された。

(3) 同一正常新鮮ヒト血清について C'H₅₀ と C'C₅₀ との関連をみると、両者間に直線関係が得られ C'C₅₀ は C'H₅₀ の約 2 倍の値を示した。

(4) 各種哺乳動物血清について C'H₅₀, C'C₅₀ を測定し、比較してみると、両者の比率は動物種によっ

て非常に異なる。たとえばモルモットの C/H_{50} はヒトの約 7~8 倍であるが、 C/C_{50} は約 1/3 である。このように動物種が異なれば全く逆の関係も成立し、同じ補体依存性生理学的反応でも系が異なれば関与する補体成分の少くとも量的な差またはそれぞれの系での limiting factor の違いが推定された。

(5) 一連の補体活性不活化・阻害実験（血清の加熱、透析、EDTA 塩や銅クロロフィリンによる処理等）では両者間に著しい差は認めなかった。

(6) 37°C における孵置時間の両反応系におよぼす影響を 18 時間にわたって調べたところ 溶血系では 2 時間以降溶血率の変動はみられなかった。これに対して殺菌系では最初の 4 時間まではほぼ直線的に殺菌率は上昇するが次第にゆるやかとなり 6 時間目にはほぼ plateau に達して以後ほとんど変動を認めなかった。

(7) 感作菌と R_3 （補体第 3 成分を欠く血清）と反応せしめることにより、溶血系における $EAC'_{1,4,2}$ （感作赤血球に補体第 1, 4, 2 成分が反応して出来た中間生成物）に相当する中間生成物、 BAR_3 の存在が確認された。 $EAC'_{1,4,2}$ は 37°C に放置すると C'_3 が分離され 7 分以降、次に反応する C'_3 との反応性がすみやかに失われ 20 分後にはほとんど反応しない（“decay” 現象）。 BAR_3 と C'_3 との反応性は 20 分で最高に達し、そのまま約 120 分間維持され、その後ゆるやかに減少した。溶血系と同じとは断定出来ないが、類似の現象がおこっていると考えられた。

(8) ヒト血清のオイグロブリンの DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーによる分画中に上記 BAR_3 に殺菌的に作用する二つの分画群が見出され、一定の順序で反応した。これらは溶血系について観察した現象と一致した。

論文審査の結果の要旨

グラム陰性桿菌に対する正常人血清の殺菌系に関与する二因子のうち、一つは比較的耐熱性で、他は補体であると考えられている。本論文では殺菌補体価表現法をまず確立後、溶血補体との比較検討を行なった。使用菌は人血清感受性菌 *E. Coli* 3544 株、同菌の家兎抗血清、人新鮮血清を使用し、Colony Count から殺菌率を求めた。溶血系は Mayer の C/H_{50} で表わされている。まず殺菌反応でも殺菌率と補体量の間に溶血系と同じく von Krogh の式が成立し、50% 殺菌補体価 (C/C_{50}) が計算されることを明らかにした。次に、殺菌と溶血両補体系の相違点は、1) 血清量が一定量なら菌量と無関係に一定率で殺菌される。2) 同一人新鮮血清では $C/H_{50} : C/C_{50} \approx 1 : 2$ で直線関係であるが、これは動物種間で著差があるゆえ、両系間の関与補体成分の量的ならびに limiting factor 差が推定れる。3) 37°C 孵置の影響は溶血系は 2 時間で plateau に達するが、殺菌系では 6 時間迄反応が進行する。4) 中間生成物 BAR_3 の存在が確認された。 $EAC'_{1,4,2}$ では 37°C で “decay” 現象が 7' 以降進行し、20' でほとんど C'_3 との反応が消失するが、 BAR_3 では 20' で反応最高、120' 持続し以後漸減する。また両補体系の類似点としては、1) 補体の不活化、阻害実験では両系に差がなく、2) 人血清中の Euglobulin の DEAE cellulose column chromatography の分画中で BAR_3 に殺菌的に作用する 2 分画群の存在と一定の順序で反応することは溶血系とほぼ同様であった。以上の研究結果は正常人血清の殺菌補体系と溶血補体系との相関関係や相違点を明らかにしたものである。

以上本論文は学問的に有益であって医学博士の学位論文として価値あるものと認める。