

全身性エリテマトーデスの抗補体作用 に関する研究

第 2 編

基礎的考察

岡山大学医学部第三内科学教室（主任：大藤 眞教授）

天 野 哲 基

（昭和53年1月18日受稿）

内容目次

- I 緒 言
- II 材料並びに方法
- III 結 果
 - 1. SLE 血清の各蛋白分画の ACA
 - 2. 温度処理による ACA の変化
 - i) SLE の γ -G1 分画の温度処理による ACA の変化
 - ii) cryoglobulin の温度処理による ACA の変化
 - iii) 実験的に作製した immune complex の温度処理による ACA の変化
 - 3. Soluble 及び insoluble immune complex の ACA
 - 4. DNA の ACA
 - i) native 及び denatured DNA の ACA
 - ii) DNA の補体分画への影響
 - iii) 血清に混合した DNA の分布
 - 5. SLE 血清の DNase 処理
 - i) SLE 血清の DNase 処理による ACA の変化
 - ii) SLE 血清の各蛋白分画の DNase 処理による ACA の変化
 - 6. SLE 関節液の DNase 処理による ACA の変化
- IV 考 按
- V 結 語

I 緒 言

全身性エリテマトーデス(SLE)にみられる低補体価はその変動が臨床症状や他の血清学的所見, 組織学的所見とよく一致する点より生体内における抗原抗体反応を反映するものであろうと推察され, 血中或いは組織中の immune complex の証明やその抗原の証明と共に低補体価の原因の究明に努力が払われてきた事は周知の事実である. しかし乍ら, SLE における低補体価は血清病¹⁾と異り臨床的に寛解してもなかなか正常域迄には回復しない事等より, SLE の低補体価の原因も従来考察されていた以上に複雑であると考えられる.

この様な低補体価の原因追求の一環として著者は第1編²⁾において, SLE 血清中にみられる抗補体作用に着目し, 抗補体作用を数量的に測定し, その抗補体作用が臨床症状や他の血清学的所見, 免疫組織学的所見とよく一致する為, 抗補体作用が血中の immune complex の存在を示唆するのではないかと考察した.

しかし乍ら, SLE 血中には抗補体作用を有する物質としては immune complex 以外にも cryoglobulin や DNA 等が推察されるし, 抗補体作用の測定時に血清中の補体系を不活化する目的で56℃, 30分の温度処理を行うが, この為に血清中の IgG が aggregation をおこし, その結果として抗補体作用が出現するのではないかという疑問や, 又, 抗補体作用を有する物質が血清中に存在し, なおかつ, その血清に

補体も存在するという矛盾に対する疑問が生ずる。この様な疑問を解明する為、以下、本編においてはSLEにおける抗補体作用を有する物質の追求と共に、実験的に作製した immune complex の抗補体作用の検討、更にはDNA, cryoglobulin の抗補体作用やSLE血清中のDNAの存在の可否につき基礎的検討を行った。

II 材料並びに方法

- SLE血清はアメリカリウマチ協会のSLE診断予備基準⁹⁾を満すSLE 52例より採取した。

- cryoglobulin はSLE患者より採血後、37℃, 24時間静置して血清を分離し、更に4℃, 48時間静置して得られた寒冷沈降物を4℃にてPBSで3回洗滌後、原血清量のPBSを加えて37℃, 2時間放置して溶解し、不溶物を遠心沈澱、除去して使用した。⁴⁾

- immune complex の作製はhuman albumin (human Fr. V, Sigma社), human globulin (human Fr. II, Sigma社) と各々自家製の家兎抗血清を37℃, 1時間及び4℃, 1週間反応後、得られた immune precipitate をPBSにて洗滌して使用した。なお, soluble 及び insoluble immune complex の作製は前記の抗ヒト・アルブミン家兎血清一定量にそれぞれ倍数希釈した human albumin を加え、37℃, 1時間及び4℃, 1週間反応後、沈降物の量より抗原抗体至適域を求め、その前後の試験管を抗原過剰或いは抗体過剰の total immune complex として用いた。又, soluble immune complex は各々の試験管を3000 rpm, 30分、遠心沈澱して immune precipitate を除去した上清を用いた。

- soluble DNA-anti DNA immune complex の作製は native DNA (後述) に56℃, 30分、非動化した急性期SLE血清を加えて、前項で述べた如く抗原抗体至適域より immune precipitate を作り、pH 3.0 glycine HCl Buffer 中で10倍の抗原過剰となる様に native DNA を加えて、pH 7.4 PBS で充分透析した後、不溶物を除去し、陰圧法にて濃縮して使用した。

- native DNA はSigma社製の calf thymus DNA をPBSに溶解して使用し、denatured DNA は溶解した native DNA を100℃, 10分、煮沸後、氷水中で冷却して作製した。

- DNase はSigma社製の bovine pancreas DNase I をPBSに溶解して使用し、検体のDNase処理はpH 7.5 GVB (0.0005 M Mg⁺⁺を含む) 中で検体

0.1mlに対しDNase 20 γ を用い、37℃, 30分、反応せしめた。

- 血清の蛋白分画の分離は硫酸アンモニウムによる塩析沈澱法(硫酸法)により分離後PBSにて充分、硫酸アンモニウムの透析除去を行い原血清量に調節した。

- 抗補体作用(ACA)の測定は第1編に述べた如く行った。immune complex のACAが高い場合、抗補体作用の強さはACAが50%を示す検体の希釈倍数とし、「ACA 50」と表した。

- 補体分画の測定は各々の intermediate cell を用い既報の如く行った。⁵⁾

III 結 果

1. SLE血清の各蛋白分画のACA

SLE血清中の抗補体作用を有する物質を明らかにする為、ACAが高値を示す血清を硫酸法にて蛋白分画し、各々のACAを測定したところ図1に示す如く、 γ -G1分画のACAが最も高く、次いで β -G1分画が高値を示した。Al分画、Fibrinogen分画のACAは低値であった。

2. 温度処理によるACAの変化

i) SLEの γ -G1分画の温度処理によるACAの変化(図2)

前項のSLE血清の γ -G1分画を56℃, 30分、温度処理を行うと無処置の γ -G1分画に比してACAの低下が認められた。又、100℃, 30分、煮沸するとACAは消失した。

ii) cryoglobulin の温度処理によるACAの変化(図3)

SLE血清より採取した cryoglobulin のACAは

図1 SLEの各血清蛋白分画のACA

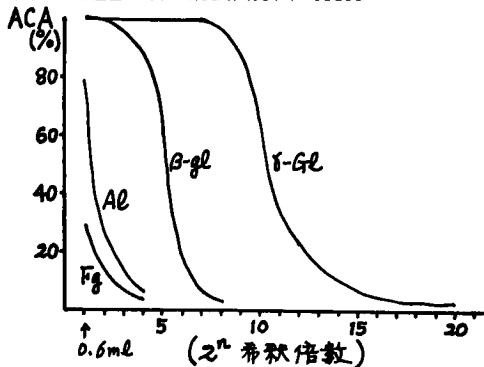


図2 SLEの γ -G1の分画の温度処理によるACAの変化

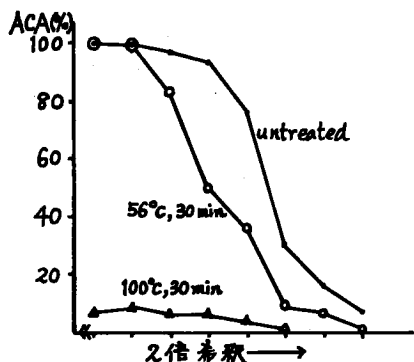


図3 Cryo. の温度処理によるACAの変化

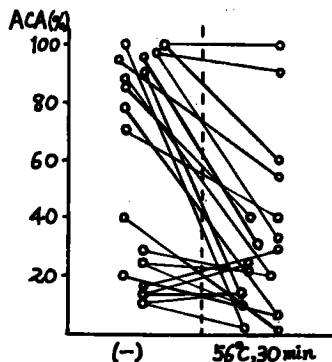
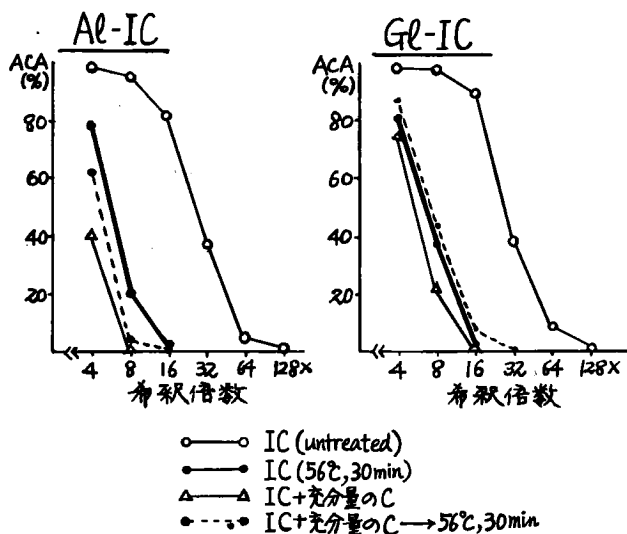


図4 Immune ComplexのACA (1)



56°C, 30分, 温度処理により明らかに低下した. 又, その寒冷沈降性も殆んど失われた.

iii) 実験的に作製した immune complex の温度処理による ACA の変化 (図4)

human albumin-antihuman albumin immune complex (Al-IC) や human γ -G1-antihuman γ -G1 immune complex (Gl-IC) は 56°C, 30分, 温度処理する事により ACA の明らかな低下が認められた.

これらの immune complex に ACA が消失するのに充分量の補体を感作した後に再び ACA を測定すると, 図の如く低値ながら ACA が認められた. 更にこの補体が充分感作してある immune complex を 56°C, 30分, 温度処理を行っても ACA の上昇は軽度

であり, Al-IC では対照の 56°C, 30分, 温度処理した immune complex の ACA に比し低値を示した.

3. Soluble 及び insoluble immune complex の ACA (図5)

実験的に抗原抗体比を変えて作製した immune complex の ACA を total immune complex と soluble immune complex に分けて測定し, 両者を比較した. total immune complex の ACA 50 は抗原抗体比が至適域で最高値を示し, 比の変化と共に低下する. しかし, 各試験管の上清中の soluble immune complex の ACA 50 は図の如く至適域の 8~16 倍の抗原或いは抗体過剰領域でピークを示す. soluble immune complex の ACA 50 は total immune com-

図5 Immune ComplexのACA (2)

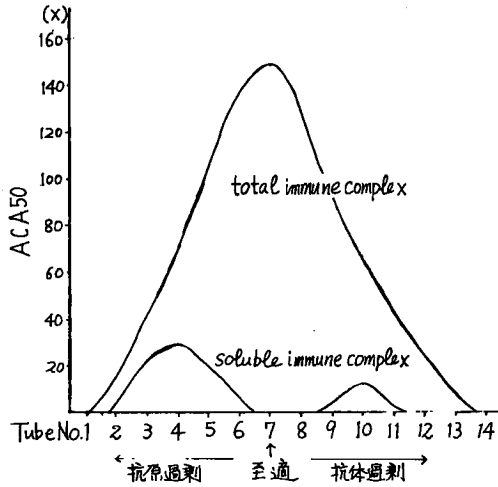
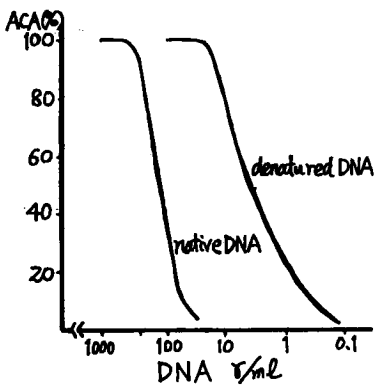


図6 DNAのACA



plex の ACA 50 に比し約 1/3 と低値であり、抗原過剰の soluble immune complex の ACA 50 は抗体過剰の soluble immune complex に比し高値を示した。

4. DNA の ACA

i) native 及び denatured DNA の ACA (図 6)
native DNA と denatured DNA の ACA を比較すると図 6 の如く denatured DNA の ACA は native DNA に比し約 25~32 倍高値を示した。

これらの DNA の ACA は DNase 処理により完全に消失する。

ii) DNA の補体分画への影響 (図 7)

DNA の抗補体作用がいかなる補体分画の不活性化によるものかを検討する為、ヒト血清に denatured DNA を加え、15℃、18 時間感作後、補体各分画の溶

図7 DNAの補体各分画への影響

	20	40	60	80	100	ACA (%)
C1						71%
C4						97%
C2						0%
C3-9						35%

血活性を測定すると C1 は 71.3%、C4 は 97.4%、C3~9 は 34.6% 不活性化されたのに比し C2 には殆んど影響は認められなかった。又、DNA を感作した血清の C4、C3 の免疫電気泳動上の易動度にも変化は認められなかった。

iii) 血清に混合した DNA の分布

正常血清に DNA を混合した場合、DNA はどの蛋白分画に移行するかにつき検討した。

大量の denatured DNA を混合した正常血清 (denatured DNA 1000 γ/serum 1 ml) を硫酸法で蛋白分画し、夫々の ACA が DNase により低下するか否かを観察すると、Fibrinogen 分画と γ-G1 分画の ACA は DNase により低下したが、A1 分画、β-G1 分画の ACA には殆んど変化が認められなかった。中等量 denatured DNA を混合した正常血清 (denatured DNA 100 γ/serum 1 ml) の場合には、明らかな分布は不明であった。

5. SLE 血清の DNase 処理

i) SLE の血清の DNase 処理による ACA の変化

SLE 血清中の DNA の有無を検討する為、56℃、30 分、非働化血清の DNase 処理前後の ACA を比較すると図 8 の如く ACA が高値を示す検体の内に DNase 処理により ACA が低下するものが散見された。

図8 DNaseによるACAの変化

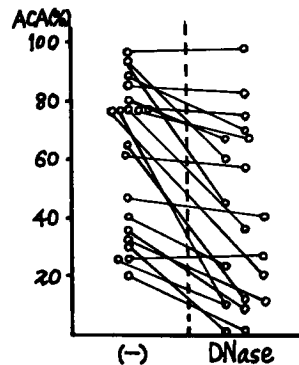
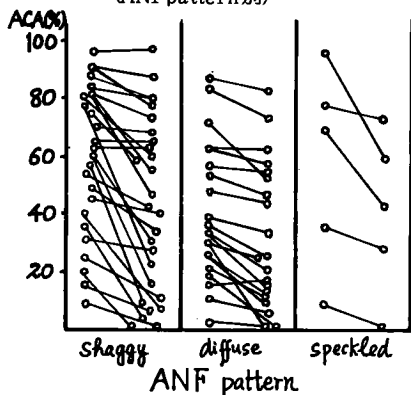


図9 DNaseによるACAの変化
(ANF pattern別)



これらのACAが低下する血清の抗核抗体(ANF)の pattern 別による比較では図9の如く diffuse pattern や speckled pattern に比し shaggy pattern のACAの低下率が大きい傾向が認められた。

ii) SLE 血清の各蛋白分画の DNase 処理によるACAの変化

DNase 処理によりACAの低下する血清を蛋白分画し、各分画のDNase処理によるACAの低下を観察すると図10の如くγ-GI分画, Fibrinogen 分画に顕著でA1分画, β-GI分画では殆んど影響が見られなかった。

又, SLE の cryoglobulin のACAはDNase処理にても低下は認められなかった。

6. SLE 関節液の DNase 処理によるACAの変化

関節液のCH50が0で, ANF陰性のSLE関節液のACAは56°C, 30分, 非働化にて低下し, 更にDNaseにても低下する傾向が認められた。(図11)

IV 考 按

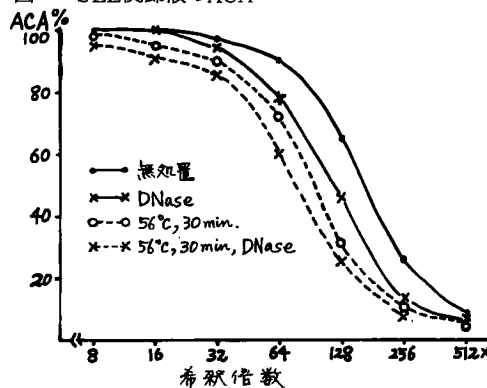
Wasserman & Levine により確立された micro-complement fixation test⁹は in vitro における抗原抗体反応を証明する為に考案されたものであるが, 検体中に抗補体作用を有する物質が存在する場合, この方法は無効である事は周知の事実である。著者は第1編⁸においてSLEの血清の抗補体作用が強い事に着目し, 抗補体作用を数量的に表す方法を考案し, この抗補体作用(ACA)が他の血清学的所見とよく一致する事等より, 抗補体作用を有する物質はSLE血清中に存在する種々の immune complex で

図10 SLE 血清蛋白分画のDNase処理

	20	40	60	80	100	ACA(%)
全血清						48%
Albumin						0%
Fibrinogen						67%
β-globulin						16%
γ-globulin						92%

■ DNase処理により減少したACA

図11 SLE 関節液のACA



あろうと推察した。しかし抗補体作用を有する物質としては immune complex 以外にも cryoglobulin, DNA, 脂質, 補体 inhibitor, C3 nephritic factor (C3 NeF) が推察されるし, 抗補体作用(ACA)を測定する際の温度処理による native IgG の heat aggregation の結果, 生じるかも知れない aggregated IgG の存在も考慮しなければならない。この内, 脂質と補体 inhibitor, C3 NeF の問題については第1編にも述べた如く本法で測定したACAの値には殆んど影響を及ぼさないと考えられる。cryoglobulin には抗補体作用はあるが, SLE の cryoglobulin のACAは, 56°C, 30分, 温度処理する事により殆んど消失する傾向にあり, 非働化血清のACAに cryoglobulin のACAは殆んど影響は与えていないと考えられる。

heat aggregated IgG の問題であるが通常, native IgG は56°C, 30分の温度処理では aggregation はおこさないと考えられる。しかし乍ら, 一般にSLEは高γ-GI血症であり, IgGの濃度が高い為, 56°C, 30

分という条件下でも aggregation がおこりやすいという可能性や、或いは免疫異常下に産生された IgG は aggregation をおこしやすいという可能性⁹⁾も否定出来ない。第1編で述べた如く、高 γ -G1血症を呈する疾患が全てACAが高値を示す訳ではないので前者の可能性は否定される。後者の可能性を追究する為、SLE血清の γ -G1分画をとり出して56°C、30分温度処理してACAを測定すると未処理に比してむしろ低下する傾向が認められた。この事実は実験的に作製した immune complex のACAの温度処理による態度とよく一致している。全てのSLEの γ -G1分画のACAが温度処理により低下するか否かは不明であるが、SLEのIgGが56°C、30分温度処理で aggregation をおこしやすいとは言いがたい。以上の点からSLEの γ -G1分画のACAは immune complex に由来するものが大部分であろうと考えるのが妥当である。この実験で認められた immune complex の温度処理によるACAの低下の原因は不明であるが、immune complex の補体結合部位であるFc部分が温度処理により破壊されるという可能性はFc部分は63°C、20分という温度処理により抗補体作用を有する様になるという石坂らの実験⁸⁾より否定される。又、immune complex は温度処理により肉眼的にも solubilize されているのでおそらく、その構成に一部変化が生じてACAが低下するものと考えられる。

血清中に immune complex が存在し、その為にACAが高値を示すにも拘らず、その血清の補体価も測定出来るという想定や第1編におけるACAが補体価と逆相関関係を示さなかったという事実は矛盾する現象の様に考えられる。実際に immune complex が血清中に存在していると仮定すると immune complex には補体は充分付着していると考えられる。この immune complex にはACAは認められるのか。或いは、この補体が充分付着した immune complex を56°C、30分、温度処理して果してACAは測定出来るのか。又、そのACAは元々の immune complex のACAと同値であるのかという点の検討が上記の矛盾を解明する上に必要である。実験的に作製した immune complex に補体を充分感作した後にも、尚、ACAは低値ながら認められた。この事は immune complex の補体結合部位は補体(C1q)が充分付着していても更に新しい補体(C1q)を付着、活性化せしめる能力のある事を示す。C1qは補体結合部位であるFc部分に一時、付着しても時間が経つと再び液相に遊離するのもかも知れない。又、補体を充分感

作した immune complex (AI-IC) を56°C、30分非働化すると非働化前に比してACAは上昇するが、対照とした56°C、30分非働化した immune complex のACAの値と比較すると低値であった。GI-ICでは抗原である γ -G1にも元々、ACAがあるので明確な結果が得られなかった。以上は immune complex に付着した補体(C1q)は56°C、30分非働化によっても完全に除去しえない事を示す訳であり、ACAを測定する際の56°C、30分非働化という処理は、血清中の immune complex の有する元々のACAのごく一部を再現せしめるにすぎない。又、補体価は補体の産生と消費とのバランスの上になりたつ訳であり、この補体価と消費の一部の反映であるACAが逆相関関係を示さない事は矛盾しないと考えられる。

同一血清に補体と抗補体性物質が併存するか否かについては非常に古くより議論があり Ehrlich & Sachs¹⁰⁾は非働化により補体が抗補体性物質になると述べており、Nattan-Larrier ら¹¹⁾は非働化により補体は不活性化されるが、抗補体性物質も生じてくると述べている。これに比して Mueller¹²⁾は補体と抗補体性物質は共に存在し通常は抗補体作用を補体が蔽っているが非働化により補体の作用が消失する為、抗補体作用が表面に出てくると述べ、その後の検討¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾も Muellerの説を肯定している。筆者の実験では Muellerの想像する程には、非働化により抗補体作用が出現してくるものでない事が明らかとなった。むしろ、非働化する事により immune complex 自身の抗補体作用は低下する上に補体が完全に除去出来ない為に in vitro で測定しうるACAは生体内で immune complex が示す抗補体作用のごく一部のみを測定している事となる。

又、本法によって測定される抗補体作用が血中の immune complex によるものであるならば、当然の事ながらその immune complex の組成は抗原の分子量にもよるが、抗原過剰或いは抗体過剰の soluble immune complex でなければならぬ。実験的に作製した immune complex では insoluble immune complex のACAは soluble immune complex のACAに比して非常に高値であった。更に、生体内に immune complex が出来る場合、soluble immune complex 以外に insoluble immune complex も出来る筈である。この抗補体作用の強い insoluble immune complex は生体内では血管壁に沈着したり、網内系にとり込まれ、¹⁶⁾血中には存在しないが局所においては相当強力な抗補体作用を有していると考えられる。

この点も考慮するならば、生体内の immune complex の抗補体作用は in vitro で測定する ACA 値からは予想しがたい程度の膨大なものであり、持続的な低補体価の原因となりうるかと推察される。

次に DNA に関して、Tan ら¹⁷⁾は急性期 SLE の血清中に DNA が存在する事を報告しているし、Yachnin¹⁸⁾は DNA に抗補体作用がある事を報告しており、もし SLE 血清中に DNA が存在すれば ACA に何らかの影響を与えると考えられる。更に血中の DNA 量より考えても ACA に影響を与えるとすれば図 6 より denatured DNA である可能性が高い。今回の実験で、denatured DNA の抗補体作用は主に C4 を不活性化する為に見られる現象である事が明らかとなった。SLE 急性期の補体分画像で特に C4 が低下しているという筆者らの成績⁹⁾からも低補体価への DNA の関与という点で興味を持たれるが、SLE の補体分画像では C4 以外に C1, C2, C3~9 も共に低下するので DNA の抗補体作用のみで SLE の低補体価を説明する事は困難である。

SLE 血清中の DNA の存在を証明する為、血清を DNase 処理すると ACA が低下する例が認められた。対照実験として heat aggregated IgG や実験的に作製した human albumin-antihuman albumin antibody immune complex 等の ACA が DNase 処理にて低下しないので、DNase 中に混在する蛋白分解酵素等が Fc 部分を破壊する為 ACA が低下するという可能性や、感作血球 (EAccl) に DNase が直接作用して溶血を促進する為 ACA が低下するという可能性は否定される。DNase 処理にて ACA が低下した血清中に DNA が存在する事は明らかであるが、これらの血清中に DNA 抗体が存在する事、DNase で ACA が低下する蛋白分画は主に γ -G1 分画である事、更に血中に投与した少量の DNA は γ -G1 分画のみに移行しない事、又、DNA は非特異的に γ -G1 と結合しないという Pincus の実験¹⁹⁾などから、SLE 血清中に認められる DNA は特異的に γ -G1 と結合していると考えられる。即ち、DNA-抗 DNA 抗体 immune complex が存在し、その抗原である DNA が DNase により分解される為、immune complex の抗補体作用が消失するのではないかと推察される。Bluestone²⁰⁾は cryoglobulin と結合した DNA は pH 7.0 では DNase で分解されず、pH 3.0 で分解しうると報告しており、抗体と結合した DNA が果して DNase により pH 7.5 という条件下で分解されうるか否か疑問であるが、先に述べた如く、56°C、30分温度

処理により抗原、抗体間の結合に軽度の変化が生じ、DNase による DNA の分解が容易となったのかも知れない。又、DNA-抗 DNA 抗体 immune complex が存在するとしても soluble immune complex である為には抗原或いは抗体過剰でなければならない。もし抗原過剰の immune complex であるならば、先述の如く抗原である DNA のみでも充分、ACA の原因となり、DNase 処理によりその ACA は低下すると考えられる。実際、実験的に作製した抗原過剰の DNA-抗 DNA 抗体 immune complex の ACA は DNase 処理により低下したが、DNA 自身の ACA が低下した為か、immune complex の ACA が低下した為かは本実験では明らかに出来なかった。DNase により ACA が低下する血清に DNA 抗体が検出されるという事実は、soluble DNA-抗 DNA 抗体 immune complex の組成は抗原過剰ではなく、実は抗体過剰である事を示唆するのもかも知れない。

SLE の血清以外にも胸水や関節液²¹⁾や更には手術後の血漿²²⁾にも DNA が遊離している事が報告されている。SLE の ACA が非常に高値を示す関節液を 56°C、30分非働化後、ACA を測定すると、明らかに DNase による ACA の低下が認められた。この関節液の抗核抗体は血清と異り非常に弱かったので、関節液中の DNA は遊離しているか、或いは抗原過剰の immune complex を形成しているものと考えられた。通常、紫外線に暴露すると DNA は血中に遊離してくる²³⁾が血中には多量の DNase が存在する為、遊離した DNA が単独で血中に存在する可能性は肯定しがたい。DNA 抗体を多量に含む SLE 血清を DNase 処理する事によりその抗補体作用が低下したという事実から認められる DNA は種々の量の抗体と反応した、soluble immune complex 中の抗原であると理解するのが最も妥当であろう。

V 結 語

1. SLE 血清の抗補体作用は主として γ -G1, β -G1 分画に認めた。
2. DNA (特に denatured DNA) には主として C4 に対する抗補体作用があり、DNase 処理によりその抗補体作用は消失する。又、DNA は非特異的に γ -G1 とは結合しない。
3. SLE 血清の内に、DNase 処理により抗補体作用が低下するものが認められた。この DNase 処理により抗補体作用が低下する血清の蛋白分画は主として γ -G1 分画であった。

4. 抗補体作用を測定する際の56℃, 30分という温度処理は cryoglobulin の抗補体作用を殆んど消失せしめ, 実験的に作製した immune complex や SLE 血清の γ -G1 分画の抗補体作用も明らかに低下せしめる.

5. Immune complex の抗補体作用は充分量の補体を感作すると低下するが消失はしない.

6. Soluble immune complex の抗補体作用は insoluble immune complex の抗補体作用に比して非常に弱い.

以上より, SLE 血清で測定しうる抗補体作用は

cryoglobulin や遊離 DNA 或いは測定時の温度処理で生ずる非特異的な aggregated IgG に起因するものでなく, 血中の soluble immune complex, 特に DNA-抗 DNA 抗体 immune complex に起因する事が強く推察される. 更に, SLE 血清の抗補体作用は生体内の抗原抗体反応の極く一部の表現であり, 生体内の抗原抗体反応による真の抗補体作用は, SLE の低補体価を招来するに充分であろうと推察される.

稿を終るにあたり, 本研究の御指導, 御校閲を受けた恩師大藤眞教授に深甚なる感謝の意を表す.

文 献

- 1) Rhyne, M. B. and Germuth, F. G. Jr. : The relationship between serum complement activity and the development of allergic lesions in rabbits. *J. Exp. Med.*, **114** : 633—646, 1961.
- 2) 天野哲基 : 全身性エリテマトーデスの抗補体作用に関する研究. 1. 臨床的考察. *岡山医学会雑誌* **90** : (515—525), 1978
- 3) Cohen, A. S., Reynolds, W. F., Franklin, E. C. F., Kulka, J. P., Pope, M. W., Shulman, L. E. and Wallace, S. L. : Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.* **21** : 643—648, 1971.
- 4) 石田豊 : 全身性エリテマトーデス (SLE) における血清クリオグロブリン : I. その特徴および他の膠原病との比較. *アレルギー*. **23** : 666—675, 1974.
- 5) 森田実, 西下駿三, 天野哲基, 大藤眞 : SLE の血清補体価に関する研究. *アレルギー*, **20** : 159—169, 1971.
- 6) Wasserman, E. and Levine, L. : Quantitative micro-complement fixation and its use in the study of antigenic structure by specific antigen-antibody inhibition. *J. Immunol.* **87** : 290—295, 1961.
- 7) Yokohari, R., Takeda, K. and Imamura, Y. : Heat-polymerization of human immunoglobulin G. *Immunochemistry*, **10** : 583—589, 1973.
- 8) Ishizaka, T. and Ishizaka, K. : Biological activities of aggregated gamma globulin. I. Skin reactive and complement-fixing properties of heat denatured gamma globulin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **101** : 845—850, 1959.
- 9) Ishizaka, T., Ishizaka, K. and Borsos, T. : Biological activities of aggregated γ -globulin. IV. Mechanism of complement fixation. *J. Immun.* **87** : 433—438, 1961.
- 10) Ehrlich, P. and Sachs, H. : Ueber den Mechanismus der Amboceptorenwirkung. *Berl. Klin. Woch.*, **39** : 492—496, 1902.
- 11) Nattan-Larrier, L., Grimard, L. and Dufour, M. J. : Relations entre l'alexine et le pouvoir anticomplémentaire du sérum. *C. r. soc. de biol.*, **125** : 850—853, 1937.
- 12) Mueller, P. T. : Ueber die Antihæmolyse normaler Sera. II. Mitteilung. *Centralbl. f. Bacteriologie*, **29** : 860—873, 1901.
- 13) Davis, B. D., Kabat, E. A., Harris, A. D. and Moore, D. H. : The anticomplementary activity of serum gamma globulin. *J. Immun.*, **49** : 223—233, 1944.
- 14) Hook, W. A. and Muschel, L. H. : Anticomplementary effects and complement activity of hum-

- an sera. *Pros. Soc. Exp. Biol. Med.*, **117** : 292—297, 1964.
- 15) Castaneda, J. P. and Williams, R. C. Jr. : Anticomplementary activity of sera from patients with connective tissue disease and normal subjects. *J. Lab. Clin. Med.*, **69** : 217—228, 1967.
 - 16) McCluskey, R. T., Benacerraf, B. and Miller, F. : Passive acute glomerulonephritis induced by antigen-antibody complexes solubilized in hapten excess. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111** : 764—768, 1962.
 - 17) Tan, E. M., Schur, P. H., Carr, R. I. and Kunkel, H. G. : Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.*, **45** : 1732—1740, 1966.
 - 18) Yachnin, S. : Biologic properties of polynucleotides. 1. The anticomplementary activity of polynucleotides. *J. Clin. Invest.*, **42** : 1947—1955, 1963.
 - 19) Pincus, T. and Kaplan, A. P. : True antibodies to DNA in systemic lupus erythematosus: activity of Fab and F(ab')₂ fragments. *Nature*, **227** : 394—395, 1970.
 - 20) Bluestone, R., Goldberg, L. S., Cracchiolo, A. III. and Barnett, E. V. : Detection and characterization of DNA in mixed (IgG-IgM) cryoglobulins. *Int. Arch. Allerg.*, **39** : 16—26, 1970.
 - 21) Hughes, G. R. V., Cohen, S. A., Lightfoot, R. W. Jr., Meltzer, J. I. and Christian, C. L. : The release of DNA into serum and synovial fluid. *Arthritis Rheum.*, **14** : 259—266, 1971.
 - 22) Davis, G. L. and Davis, J. S. IV. : Detection of circulating DNA by counterimmunoelectrophoresis (CIE). *Arthritis Rheum.*, **16** : 52—58, 1973.
 - 23) Natali, P. G. and Tan, E. M. : Experimental skin lesions in mice resembling systemic lupus erythematosus. *Arthritis. Rheum.*, **16** : 579—589, 1973.

**Studies on anticomplementary activity
in systemic lupus erythematosus:
Part 2. Experimental studies**

By

Tetsuki AMANO

The 3rd Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Tadashi OFUJI)

The anticomplementary activity (ACA) of immune complexes or DNA was measured, then those data were compared with that in SLE sera.

1. High ACA was detected mainly in γ -G1 and β -G1 fractions of SLE sera.
2. DNA (especially denatured DNA) showed high ACA, and the treatment with DNase eliminated its ACA. DNA did not bind nonspecifically to normal γ -G1.
3. ACA in some SLE sera was reduced after DNase treatment. This treatment worked mainly on ACA of γ -G1 fraction.
4. The procedure of complement inactivation which is employed in measurement of ACA, depressed ACA of cryoglobulin, experimental immune complexes and SLE γ -G1 fraction. This indicated that heat aggregation of native IgG could not account for high ACA in SLE sera.
5. The addition of enough amount of complement reduced ACA of immune complexes, but a certain level of ACA was still retained.
6. ACA of insoluble immune complex was much higher than that of soluble immune complex.

These data may suggest that ACA in SLE sera originates from the circulating immune complexes, especially DNA-antiDNA antibody immune complexes and this ACA detected is the reflection of only a part of ACA caused by immune reaction *in vivo*.