

# 抗水酸化アルミニウム処置血清蛋白沈降素の特異性に関する研究補遺

## 第 I 編

### ウシ血清および同血清蛋白各分割の沈降素 産生ならびに種属特異性

鹿児島大学医学部法医学教室 (前主任: 三上芳雄教授)

種子田 秀二郎

〔昭和34年3月19日受稿〕

#### 緒 言

Bordet および Tchistovitch (1899)<sup>3)68)</sup> らにより提唱された当時の免疫沈降素は当該注射抗原にのみ作用してその他の異種血清抗原とはまったく作用せず、絶対種属特異性を有するものと信ぜられ Uhlenhuth (1900, 1901)<sup>65)</sup>, Wassermann (1901)<sup>66)</sup>, Schütze (1901)<sup>51)</sup> らもこれを見とめたが、その後 Uhlenhuth (1900, 1901)<sup>65)</sup>, Nutall (1901)<sup>38)</sup>, Stern (1901)<sup>47)</sup>, Mertens (1901)<sup>31)</sup>, Strube (1902)<sup>48)</sup>, Wassermann (1901)<sup>66)</sup>, Schütze (1901)<sup>51)</sup>, Kratter (1903)<sup>23)</sup>, Kister u. Wolf (1902)<sup>24)</sup>, Manteufel u. Berger (1922)<sup>29)</sup>, Neumark (1919)<sup>39)</sup> らの研究はその絶対種属特異性を否定し、一部発生学上近縁関係にある動物ともなほよく反応することがわかり、これを近縁反応と呼んだ。ことに Nutall (1901~1905)<sup>38)</sup> は30余種の抗血清をもつて800余種の血清について研究をおこなつて近縁反応の存在を見とめ、動物は発生系統学上たがいに相へだたるものほど近縁反応はよわいことを指摘し、この近縁反応を除外視してはじめて血清の沈降素は絶対種属特異性を有するものであると訂正した。しかるに Strube (1902)<sup>48)</sup>, Kister & Wolf (1902)<sup>24)</sup>, Kratter (1902)<sup>23)</sup> らにより血清沈降素は発生学上近縁にあらざる動物血清とも相当強度に反応することが認められ、この非特異性反応を副反応と呼称された。かくのごとく、血清沈降素には非特異性副反応の存在が判明したが Uhlenhuth (1901, 1902)<sup>65)</sup>, Stern (1901)<sup>47)</sup>, Nutall (1902)<sup>38)</sup>, Strube (1902)<sup>48)</sup> らはこの非特異性副反応がいずれも主反応におと

かつ反応出現時間も延長することをみとめ、同じく Neumark (1919)<sup>39)</sup>, Manteufel & Berger (1922)<sup>29)</sup> は主反応の沈降素価はたかく、赤松 (大14)<sup>1)</sup>, 三好 (昭5)<sup>37)</sup> も副沈降素はつねに主沈降素よりもひくく、さらに注射回数に反復は主・副沈降素の差を著しく減ずるとのべた。また Friedberger u. Collier (1918, 1919)<sup>6)</sup>, Meissner (1923)<sup>33)</sup> は沈降反応の際におこる沈澱粒子の性状について系統的な観察をおこない、主反応においては粗大、蜂窩状にしてやわらかい感じをあたえるが、副反応の場合は微細繊弱にして、かつかたい感じをあたえるとのべ、堺 (大15)<sup>53)</sup>, 山崎 (昭3)<sup>72)</sup> および熊田 (昭3)<sup>25)</sup> らも同様の事実を指摘した。而して山崎<sup>72)</sup> は血清は種属特異性を有するのみならず臓器特異性をも具有することをみとめ、さらに佐藤教授 (昭5)<sup>56)</sup> は注射回数と血清の特異性に関する研究において、ただ一回の注射抗血清は沈降素量はすくないがほぼ絶対種属特異性を有し、さらに注射回数を増加することにより沈降素量は増加して漸次種属特異性は消失して臓器特異性をあらわすことを報告し、沈澱粒子の形態学的差異もななら主反応と副反応との本質的な差を示すものではなく、沈降素量の大小に関係するものであるとのべた。

以上の如き諸研究により血清蛋白沈降素には特異性反応(主反応)と非特異性反応(副反応)の存在があらかとなつたが、これらの諸研究はいずれも血清そのものを実験材料としたものであるが、血清蛋白は単一ではなく、いくつかの蛋白部分から成立することはふるくから知られている。これについて Nolf (1900)<sup>40)</sup> は血清をアルブミンとグロブリンに分割

し免疫した抗グロブリン血清はグロブリンにのみ反応しアルブミンには反応せず、抗アルブミン血清を得ることはできないとのべたが、まもなく Mertens (1901)<sup>31)</sup>はアルブミンもまた抗原性を有することを証明した。さらに Myers (1900)<sup>32)</sup>はウシおよびヤギより得た血清グロブリンの抗血清は同種グロブリンにつよく、異種グロブリンにもよわく反応するとのべ Linossier & Lemoine (1902)<sup>28)</sup>および Ascoli (1902)<sup>2)</sup>もこれに賛成した。わが国では田口(大8)<sup>26)</sup>がヒト血清アルブミンおよびグロブリンにたいする抗血清は例外なくサル血清と反応し、ときにウシ、ウマ、イヌ、ニワトリなどの血清とも反応することをみとめ、種属特異性については両者間にほとんど優劣の差はないがときに抗アルブミン血清に比較的顕著な場合があることを報告している。また操(大14)<sup>34)</sup>はウシおよびヤギ血清の各分割の抗血清はたがいに副反応を呈することをみとめた。斎藤(昭8)<sup>37)</sup>は種々の動物の血清にたいする抗血清と血清各分割の反応を検査し、グロブリンがアルブミンに比しよりつよく反応することを報告し、その後萩森(昭10)<sup>19)</sup>も同様な事実をたしかめ、かつグロブリン分割は種属特異的に作用する性質とともに類属反応的にも作用する性質をも併有し、アルブミン分割は種属特異的に作用する性質つよく、類属反応的に作用する性質はきわめてよわく、近親反応は主としてグロブリン分割によつておこるとのべた。Grillo & Grützner (1934)<sup>14)</sup>はウシ、ヒツジおよびヤギの各血清から種属特異的の成分のみをとり出さんとして複雑な操作を施行して血清を11の分割にわち、これらの抗血清について検査したが副反応は充分に除外することができず、期待したような成績は得られなかつた。また嶋田(昭16)<sup>56)</sup>は硫酸アンモン分割法により血清をオイグロブリン、プソイドグロブリンおよびアルブミンにわけ、沈降反応の場の形からこれら3つの分割を観察し、各分割は血清学的にはさらにいくつかの単位的な物質の集つたものであること、而も単位的な物質がそれぞれ血清学的に対応し、たがいに反応しあうことをあきらかにした。田代(昭17)<sup>63)</sup>はヤギ血清について非特異性反応の主体は主として血清蛋白中オイグロブリンおよびプソイドグロブリン両分割に属する部分に存在し、フィブリノグロブリンおよびアルブミン両分割はこれに関与せずして種属特異性つよく、とくにアルブミン分割の有する種属特異性はきわめて安定顕著であるとのべたが、村越(昭19)<sup>36)</sup>、岩永(昭

25)<sup>21)</sup>も同様な事実を指摘し、とくに岩永<sup>21)</sup>は非特異性副反応の主体はオイグロブリン分割よりプソイドグロブリン分割に多量にふくまれているとのべ、間世田(昭29)<sup>35)</sup>、池平および本庄(昭30)<sup>20)18)</sup>も同様な事実をみとめている。

さて著者はウシ血清を使用してこれらの成績を追試するとともに、さらに同血清蛋白を水酸化アルミニウムをもつて特異化して免疫し、その免疫学的性状に関して種々実験したが、第1編においてウシ血清および同血清蛋白各分割の沈降素産生ならびに種属特異性について報告する。

### 実験材料ならびに実験方法

#### 実験材料

a) 抗原・免疫抗原としてはウシ血清ならびに同血清オイグロブリン、プソイドグロブリンおよびアルブミン各分割を使用し、試験管内抗原としては主抗原のウシ血清のほか副抗原としてヤギ、ブタ、ウマ、ニワトリおよびヒトの各血清とその各血清分割を使用した。これらの免疫抗原ならびに試験管内抗原各血清は56°C30分間非働化し、0.5%のわりに石炭酸をくわえ、実験の全経過を通じ同一血清を使用した。

b) 分割方法：分割は Hektoen & Cole 法を改良した緒方法の硫酸アンモン分割法によつた。純粋な蛋白各分割を得ることはきわめて困難であるが、本実験の主眼は副反応がいつれの部分に存在するかを追及することにあるから、各分割の沈降度には厳密な注意をはらい、その境界濃度にまたがる移行部はすて、いずれも2回以上精製し、最後に定量して1%の生理食塩水溶液(オイグロブリンは10%食塩水にとかず)となし、0.5%のわりに石炭酸をくわえ、これを免疫用および試験管内抗原とした。

#### 実験方法

a) 免疫方法は成熟ウサギを使用し、血清は1回1cc、血清各分割溶液は1%溶液2ccを2日間隔に耳静脈内にそれぞれ1, 3, 5および10回反復注射し、最後の注射から7~10日目に採血し、血清を分離、非働化した後0.5%のわりに石炭酸をくわえて氷室に保存した。

b) 沈降反応の術式は当教室慣用にしたい抗原重層法により主・副沈降素価および主・副沈降素量測定した。抗原はいずれも Merck 製食塩水から製した生理食塩水をもつて希釈した。抗血清希釈には1.5%アラビヤゴム溶液を使用し、反応はすべて室

温においておこなつた。判定は抗原重層後15分後に沈降反応陽性なものを(卅), 30分を(卍), 60分を(+), 60分を(+)をもつてあらわし, 抗原重層後2時間を経過するも陰性なものは(-)をもつてあらわした。また対照の記載はすべて省略した。

なほウサギ是一群5頭あて使用したが, 成績は簡略のため特殊のものをのぞき類似成績を示すものはその代表的なもの1~2例をもつて表示説明した。

## 実験成績

### A. ウシ血清および同血清蛋白各分劃の沈降素産生ならびに種属特異性

ウシ血清および同血清蛋白各分劃をもつてウサギに1, 3, 5および10回注射して得た抗血清についてそれぞれ沈降反応を施行したが, いづれの場合においても沈降素の産生がみられ, その成績はつぎのごとくである。

#### 1. ウシ血清を抗原とした場合

##### a) 抗原1回注射の場合

一般に抗原の注射回数が増えないときには沈降素量がひくく, また副反応の発現もすくないことは一般にみとめられている。すなわち, 本実験においてウシ血清を1回注射した抗血清についてその主抗原にたいする沈降素価および沈降素量ならびに副反応の発現状態を検査した成績は表1, 第1および3号のごとくである。すなわち, 第1および3号ともに主抗原にたいする沈降素価4,000, 沈降素量40, 副反応はヤギ血清にたいして沈降素価500, 沈降素量1, ブタ血清にたいして沈降素価50, 沈降素量1, ウマおよびニワトリ血清にたいしてはいづれも陰性であつた。

##### b) 抗原3回注射の場合

つぎに3回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表1, 第6および7号のごとく, 第6号は主抗原にたいする沈降素価8,000, 沈降素量80, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいしてそれぞれ沈降素価2,000, 500, 500および500, 沈降素量10, 5, 5および5で, ニワトリ血清には陰性であつた。第7号は主抗原にたいする沈降素価8,000, 沈降素量80, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいしてはそれぞれ沈降素価2,000, 1,000, 500および500で, 沈降素量10, 5, 5および5で, ニワトリ血清にたいしては陰性であつた。

すなわち, 1回注射抗血清の場合に比較して沈降

素価, 沈降素量は増加し, とくに副反応は1回注射の場合にはヤギ, ブタおよびヒト血清にたいして反応を示したが, 3回注射抗血清はヤギ, ブタおよびヒト血清にたいしてはもちろんウマ血清にたいしても反応した。

##### c) 抗原5回注射の場合

5回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表1, 第12および15号のごとくで, ともに主抗原にたいする沈降素価10,000, 沈降素量160, 副反応はヤギ・ブタ・ウマおよびヒト血清にたいしてそれぞれ沈降素価8,000, 4,000, 2,000および2,000, 沈降素量40, 20, 20, および20にして, ニワトリ血清にたいしてはいづれも陰性であつた。

すなわち, これを3回注射抗血清に比較すると5回注射の場合には主・副沈降素価ならびに量ともに各著明に増加している。

##### d) 抗原10回注射の場合

さらに注射回数を増加して10回注射の抗血清について, その主・副沈降反応を検査した成績は表1, 第18および19号のごとくで, 第18および19号ともに主抗原にたいする沈降素価10,000, 沈降素量320, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいしてそれぞれ沈降素価8,000, 4,000, 4,000および4,000, 沈降素量80, 40, 40および40であつてニワトリ血清にたいしてはいづれの場合も陰性であつた。

これを5回注射抗血清に比較すると, 10回注射の場合主抗原にたいする沈降素価は5回注射のそれと同価であるが, 沈降素量および副反応はやや高度である。

## 小 括

ウシ血清抗原を1, 3, 5および10回注射し, その抗血清について主・副沈降素価ならびに主・副沈降素量を検査した成績を小括するとつぎのごとくである。

抗原の注射回数のすくないときは沈降素量ひくく, 非特異性副反応の出現のすくないことは一般にみとめられている。すなわち, 1回注射抗血清においても沈降素の産生はみとめられるが沈降素量はひくく, 副反応もヤギ, ブタおよびヒト血清にたいしてわづかに反応をあらわしたのみで, その種属特異性はたかい。3回注射抗血清は1回注射の場合に比較して主沈降素価8,000, 主沈降素量80とともに上昇したが, 副反応においても著明な増加を示した。

すなわち, 1回注射抗血清において副反応はヤギ,



ブタ, およびヒト血清にわづかにあらわれたものが3回注射の場合はニワトリ血清をのぞいてヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいしてすべて反応をあらわすようになり, とくにヤギ血清にたいしては沈降素価ならびに量ともに著明に増加する。

注射回数をさらに増加して5回注射になると主沈降素価10,000, 主沈降素量160と増加したが, 副反応においても各副抗原にたいして沈降素価ならびに量ともにいづれも著明に増加する。さらに抗原10回注射においては注射回数を増加することにより主沈降素価がとくにたかまるがごときことはみとめられなかつたが, 主沈降素量は360とさらに上昇し, 副反応においては各副抗原にたいする沈降素価ならびに量ともにさらに増加した。とくにヤギ血清にたいする副沈降素価は主沈降素価にちかく, 沈降素価のみをもつては主・副反応の区別は困難であつたが, 沈降素量を比較すればその区別は容易である。また同一沈降素価を有する抗血清においても主抗原にたいする沈降素量の多いものほど副反応はつよく, かつ同一沈降素量を有する抗血清においてはその場の形が複雑な階段状をなすものほど副反応の出現は著明であつた。

## 2. ウシ血清蛋白オイグロブリンを抗原とした場合

### a) 抗原1回注射の場合

ウシ血清蛋白オイグロブリン1回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表2, 第22および23号のごとく, とともに主抗原にたいする沈降素価8,000, 沈降素量10, 副反応はヤギ血清にたいして沈降素価500, 沈降素量1で, ブタ, ウマ, ニワトリおよびヒト血清にたいしてはいづれもまったく反応をみとめられなかつた。

### b) 抗原3回注射の場合

つぎにウシ血清蛋白オイグロブリン3回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表2, 第26および29号のごとく, 第26号においては主抗原にたいする沈降素価10,000, 沈降素量40, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいして沈降素価はそれぞれ4,000, 1,000, 500および500, 沈降素量は10, 5, 5, および5で, 第29号においては主抗原にたいする沈降素価10,000, 沈降素量40, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいして沈降素価はそれぞれ8,000, 2,000, 1,000および1,000, 沈降素量は10, 5, 5および5でニワトリ血清にたいしてはいづれも陰性であつた。これを1回

注射抗血清に比較すると主沈降素価ならびに量はいづれも増加したが, 副反応においても1回注射の場合はヤギ血清にたいしてのみ反応を示したが, 抗原3回注射の場合はニワトリ血清をのぞいて各副抗原血清にたいしてはいづれも反応を示した。

### c) 抗原5回注射の場合

ウシ血清蛋白オイグロブリン5回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表2, 第31および33号のごとく, とともに主抗原にたいする沈降素価40,000, 沈降素量80, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいする沈降素価はそれぞれ10,000, 4,000, 2,000および2,000, 沈降素量は20, 10, 10および10でニワトリ血清にたいしてはいづれも陰性であつた。これを3回注射抗血清に比較すると主・副抗原にたいしいづれも著明に増加し, とくに副反応はつよくあらわれた。

### d) 抗原10回注射の場合

さらに注射回数を増加しウシ血清蛋白オイグロブリン10回注射の抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表2, 第37および38号のごとく, とともに主抗原にたいする沈降素価40,000, 沈降素量160, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいして沈降素価はそれぞれ20,000, 8,000, 4,000および4,000, 沈降素量は40, 20, 20, でニワトリ血清にたいしてはいづれも陰性であつた。これを5回注射抗血清に比較すると主沈降素価の増加はみとめられなかつたが, 沈降素量および副反応はさらに増加した。

## 小 括

ウシ血清蛋白オイグロブリンを1, 3, 5, および10回注射してその抗血清について主・副沈降反応を検査した成績を小括するとつぎのごとくである。

抗原の注射回数のおくないときは種属特異性のつよいことは一般にみとめられているごとくである。

すなわち, 1回注射抗血清においても沈降素の産生はみとめられ, 主沈降素価8,000, 主沈降素量10, 副反応はヤギ血清にたいしてのみ沈降素価500, 沈降素量1で, ブタ, ウマ, ニワトリおよびヒト血清にはいづれもまったく反応しなかつた。3回注射抗血清においては主沈降素価は上昇したが主沈降素量も増加し, 副反応においてもニワトリ血清をのぞいて各副抗原血清に反応を示した。さらに5回注射抗血清においては主沈降素価および量ともに増加したが, 副反応においても著明に増加をみとめた。10回

表

注射回数		1				3											
ウサギ番号		22		23		26		29									
血清種類	抗原 稀釈	50	100	500	1,000	50	100	500	1,000	50	100	500	1,000	50	100	500	1,000
	抗体 稀釈	1	2	4	8	1	2	4	8	1	2	4	8	1	2	4	8
ウ	1	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
	5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	80																
シ	160																
	320																
	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20																
ギ	40																
	80																
	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20																
ブ	40																
	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20																
	40																
ウ	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20																
	40																
	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
20																	
40																	
ヒ	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20																
	40																
	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
20																	
40																	
ニフ トリ	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

注射抗血清においては主沈降素価の上昇はさらにみとめられなかつたが主沈降素量は増加し、副反応においても各副抗原血清にたいして沈降素価ならびに量ともに増加した。しかしウシ血清注射抗血清のそれと比較すると沈降素量の産生はひくく、沈降素価に比し副反応の出現もよわかつた。また沈降素価においてウシ血清注射の場合10,000以上の抗血清をうることは容易でなかつたが、同血清蛋白オイルグロ

ブリン注射の場合は沈降素価10,000以上の抗血清を容易にうることができた。

3. ウシ血清蛋白プソイドグロブリンを抗原とした場合

a) 抗原1回注射の場合

ウシ血清蛋白プソイドグロブリン1回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表3, 第41および45号のごとく、ともに主抗原にたいして



表

注射回数		1				3			
ウサギ番号		41		45		47		50	
血清種類	抗原 稀釈	50	100	500	1,000	50	100	500	1,000
	抗体 稀釈	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000	1, 2, 4, 8, 10, 100, 1,000
ウ	1	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
	5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20	---	---	---	---	---	---	---	---
	40								
	80								
ヤ	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	---	---	---	---	---	---	---	---
	10								
	20								
	40								
	80								
ブ	1	++	++	++	++	++	++	++	++
	5	---	---	---	---	---	---	---	---
	10								
	20								
	40								
ウ	1	++	++	++	++	++	++	++	++
	5	---	---	---	---	---	---	---	---
	10								
	20								
	40								
ヒ	1	---	---	---	---	---	---	---	---
	6								
	10								
	20								
	40								
ニワトリ	1	---	---	---	---	---	---	---	

および量ともに増加したが副反応も1回注射抗血清に比較して著明に増加した。

c) 抗原5回注射の場合

ウシ血清蛋白プソイドグロブリン5回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表3, 第52および53号のごとく, 第52号は主抗原にたいしては沈降素価20,000, 沈降素量80, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいして沈降素価はそ

れぞれ8,000, 4,000, 1,000および1,000, 沈降素量は20, 10, 10および10で, 第53号は主抗原にたいして沈降素価20,000, 沈降素量80, 副反応はヤギ, ブタ, ウマおよびヒト血清にたいして沈降素価はそれぞれ10,000, 4,000, 2,000および2,000, 沈降素量は20, 10, 10, および10にして, ニワトリ血清にたいしてはいづれも陰性であった。

すなわち, 5回注射抗血清においては主沈降素価



表

注射回数		1				3											
ウサギ番号		63		64		67		69									
血清種類	抗原 稀釈	50	100	500	1,000	50	100	500	1,000	50	100	500	1,000	50	100	500	1,000
	抗体 稀釈	1	2	4	8	1	2	4	8	1	2	4	8	1	2	4	8
ウ シ	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	40	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	80	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
160	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
ヤ ギ	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	10	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	20	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ブ タ	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	10	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ウ マ	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	10	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ヒ ト	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	10	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ニワ トリ	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

## 小 括

ウシ血清蛋白プソイドグロブリンを1, 3, 5および10回注射し, その抗血清について主・副沈降反応を検査した成績を小括するとつぎのごとくである。

抗原1回注射の場合は主抗原にたいしては抗オイグロブリン血清のそれと大差はみとめられなかつたが, ヤギ血清のほかブタ, ウマおよびヒト血清にたいして一部副反応の出現がみとめられた。抗原を3および5回と注射回数を増加することによつて主沈降素価は上昇したが, これにともなつて沈降素量および副反応の増加が著明となり, これは抗オイグロブリン血清の場合と同様である。さらに10回注射抗血清においては, 沈降素量および副反応の増強がみとめられた。ウシ血清蛋白プソイドグロブリン抗血清は同血清蛋白オイグロブリン抗血清に比較

して1回注射においてすでにヤギ血清のほかブタ, ウマおよびヒト血清にたいしても副反応をあらわし, さらに注射回数を増加することにより主沈降素価においては抗オイグロブリンとほとんど差異はなかつたが, 副反応の出現は抗プソイドグロブリン血清において優るごとくであつた。

すなわち, 抗プソイドグロブリン血清は抗オイグロブリン血清に比較して種属特異性のよわいことが判明した。

4. ウシ血清蛋白アルブミンを抗原とした場合  
a) 抗原1回注射の場合

ウシ血清蛋白アルブミン1回注射抗血清についてその主・副沈降反応を検査した成績は表4, 第63および64号のごとく, とともに主抗原にたいする沈降素価8,000, 沈降素量10にして, 各副抗原血清にたいする反応はいづれもまつたくみとめられなかつた。





射抗血清に比較すると主沈降素の上昇はみとめられないが沈降素量は増加し、また5回注射抗血清の場合同様副反応も出現し、その程度は5回注射の場合よりまさる。

### 小 括

ウシ血清蛋白アルブミンを1, 3, 5および10回注射しその抗血清について主・副沈降反応を検査した成績を小括するとつぎのごとくである。

すなわち、ウシ血清蛋白アルブミン抗血清はウシ血清、同血清蛋白オイグロブリンおよびプソイドグロブリン各抗血清に比較すると、各場合において主沈降素価においてはなんら遜色なく、沈降素量ははるかにすくなく、種属特異性は3者に比較してもつともたかいことが判明した。しかれども副反応については3回注射までは各副抗原血清にたいして反応しなかつたが、5および10回と注射回数を増加すると多少非特異性副反応があらわれた。

#### B. 抗ウシ血清蛋白沈降素にたいする異種血清蛋白各分割の副反応部分について

異種動物血清にたいして充分副反応をあらわすウシ血清10回注射抗血清について主抗原ウシ血清、副抗原ヤギ、ブタ、ウマおよびヒト血清ならびにその各血清蛋白分割を抗原として沈降反応を施行し、副反応部分は副抗原のいかなる分割に存在するかを検査した成績は表5のごとくである。

すなわち、主抗原ウシ血清にたいしては沈降素価10,000、沈降素量320、同血清オイグロブリンにたいしては沈降素価4,000、沈降素量160、同血清プソイドグロブリンにたいしては沈降素価4,000、沈降素量160、同血清アルブミンにたいしては沈降素価4,000、沈降素量80であり、ウシ血清蛋白各分割にたいする沈降素価はほぼ同価であるが、沈降素量はアルブミンにたいする場合はオイグロブリンおよびプソイドグロブリンに比較してややひくい。

つぎに本抗血清は副抗原たるヤギ、ブタ、ウマおよびヒト血清にたいして副反応をあらわすのみならず、副抗原血清蛋白各分割にたいしても反応を示すが、副抗原血清蛋白分割中アルブミンにたいする反応は他の2分割に比較するとその反応はきわめてよい。すなわち、ヤギ血清にたいして沈降素価8,000、沈降素量80、同血清オイグロブリンにたいして沈降素価1,000、沈降素量40、同血清プソイドグロブリンにたいして沈降素価2,000、沈降素量

40、同血清アルブミンにたいして沈降素価50、沈降素量10であつて、アルブミンにたいする反応はきわめてひくく、ブタ、ウマおよびヒト血清ならびにその各分割を使用した場合にもほぼ同様の関係をみとめた。

以上の成績から非特異性副反応部分は主としてグロブリン分割中に存在することをみとめるものであるが、このことはすでに岩永<sup>21)</sup>、間世田<sup>26)</sup>、本庄<sup>18)</sup>および池平<sup>20)</sup>らもこれを確認している。

### 総括ならびに考按

ウシ血清ならびに同血清蛋白オイグロブリン、プソイドグロブリンおよびアルブミンを抗原とした抗血清について、免疫注射回数と沈降素価、沈降素量ならびに副反応との関係、さらに副反応を充分あらわす抗血清について副抗原たるヤギ、ブタ、ウマおよびヒト血清ならびにその各血清蛋白分割を作用せしめて副反応部分はいつれの分割に存在するかについて実験した結果を総括考按するとつぎのごとくである。

1) ウシ血清ならびに同血清蛋白各分割を抗原としてウサギに各1, 3, 5および10回免疫注射し、いつれの場合においても沈降素の産生をみとめることができた。この場合免疫注射回数がすくないときは沈降素量の産生はすくなく、また副反応の出現もすくない。而して注射回数の増加にともなつて沈降素価および沈降素量は上昇し、副反応は沈降素量の増加に比例して増強することは先人のみとめるごとくであつた。また主沈降素価は5回注射によりほぼ最高値に達したが、沈降素量は10回注射の場合においてなお幾分の上昇がみとめられ、本庄<sup>18)</sup>および池平<sup>20)</sup>らの成績と一致した。しかしこれについては鈴木<sup>52)</sup>は主沈降素価は3回免疫において、沈降素量は5回免疫においてほぼ最高値に達すると報告している。

2) 免疫注射回数と副反応の関係については副沈降素価および副沈降素量は注射回数の増加に比例して上昇し、主沈降素価および量におけるごとく最高値に達する免疫注射回数と云うがごときものは見出されなかつた。而して副沈降素価は注射回数の多い場合は主沈降素価に近接したが、沈降素量は両者間に差異があり、沈降素量を比較すれば主反応および副反応の区別は容易である。またいつれの抗血清においても副反応はヤギ血清にたいする反応が主反応についてつよく、ブタ、ウマおよびヒト血清がこれ

につき、ニワトリ血清にたいしてはまったく反応はみとめられず、各動物血清により著明な差異がみとめられた。

3) 一般にウシ血清蛋白各分劃を免疫抗原とした抗血清はウシ血清そのものを使用した場合に比較しつねに沈降素価たかく、沈降素量はひくく、一般に種属特異性のつよい抗血清をうることができた。

4) ウシ血清蛋白各分劃の抗原性については異説が多く、多くの学者はグロブリンの抗原性についてはみとめているが、アルブミンの抗原性については一致せず、田口<sup>62)</sup> はよわいと称し、村越<sup>36)</sup> および岩永<sup>21)</sup> らはグロブリンに比してなんら遜色なく、むしろまさる場合すらあるとのべている。著者の実験においては3者とも優劣の差はつけがたいが、しいて云えばオイグロブリンが3分劃中もつとも抗原性つよく、アルブミンの抗原性はオイグロブリンおよびプソイドグロブリンに比しておとるものではないことがみとめられ、本庄<sup>18)</sup> および池平<sup>20)</sup> らの成績と同様の結果が得られた。

5) ウシ血清蛋白オイグロブリン、プソイドグロブリンおよびアルブミン抗血清の沈降素量を比較すると、アルブミン抗血清がもつともひくく、また副反応の出現もよわく、アルブミン抗血清の種属特異性は他の2者に比しきわめてたかいことがみとめられた。これは佐藤教授<sup>56)</sup> ものべる特異性のつよい抗血清は沈降素量ひくく、特異性よわい抗血清は沈降素量がたかいと云う点に一致した。而してアルブミン抗血清の種属特異性がきわめてたかいことは田口<sup>62)</sup>、田代<sup>63)</sup>、村越<sup>36)</sup>、岩永<sup>21)</sup>、本庄<sup>18)</sup> および池平<sup>20)</sup> らによつてみとめられているが、著者の実験においては村越<sup>36)</sup> の報告するとき副反応絶無と云うような成績は得られず、なほ幾分の副反応の出現がみとめられ、これは血清蛋白の分劃方法、すなわち、分劃沈澱または電気泳動法のいづれをもつてしてもまったく純粋な血清蛋白各分劃を得ることは困難であり、Tiselius<sup>59)</sup> は従来の分劃沈澱による硫酸安門飽和度55~100%の所謂アルブミン分劃は電気泳動法によるアルブミン75%と $\alpha$ -グロブリン25%より形成されると称している点などより考えるとき、純粋な蛋白分劃を得ることはきわめて困難であり、アルブミン分劃になほいくらかのグロブリン分劃の混入はさけ得られぬためアルブミン抗血清が弱度ながら副反応をあらわすものと思考される。これに反してオイグロブリンおよびプソイドグロブリン抗血清においては毎常煩多な副反応の出現がみられ、

沈降素量および副反応はアルブミン抗血清に比較して著明に多くみとめられ、その種属特異性はよわい。

6) つぎに副反応と主沈降素量および緒方の所謂反応の場の形の関係をみると佐藤教授<sup>56)</sup> の報告するごとく、同種抗血清間においては沈降素量の大きなものほど副反応はつよく、同一沈降素量を有する抗血清間においては反応の場の形が複雑な階段状をなすものほど副反応はつよくあらわれることがみとめられた。

7) ウシ血清10回注射抗血清を使用しこれに異種血清蛋白各分劃を作用せしめ、沈降反応により副反応部分は各副抗原血清のいかなる分劃部分に存在するかを検査した結果は、各血清蛋白オイグロブリンおよびプソイドグロブリン分劃部分に存在することをみとめ、プソイドグロブリンにおいてオイグロブリンよりやや強度に反応する傾向がみとめられた。一方アルブミンにたいしては大部分反応は陰性であり、アルブミンは副反応にはほとんど関与しないことが判明した。

## 結 論

1) ウシ血清ならびに同血清蛋白各分劃を抗原とする抗血清は免疫注射回数増加にともない沈降素量の増加がみられ、これにともない毎常煩多な非特異性副反応が出現する。而してこの副反応は近親関係にあるヤギ血清は主抗原ウシ血清についてつよく出現し、ブタ、ウマおよびヒト血清がこれにつき、各動物血清により著差がみとめられた。

2) 副反応ならびに沈降素量の増加は1および3回免疫注射においては著差がみとめられるが、5および10回免疫注射においてはほとんどその差はみとめられなかつた。また主沈降素価はほぼ5回免疫注射において最高値に達し、その後においては免疫注射回数増加によつてとくにたかまることはなかつた。

3) 副沈降素価および量は主沈降素価および量に比較してつねにひくく、頻回注射抗血清において沈降素価のみをもつては主・副反応の区別が困難な場合でも沈降素量をもつてすればあきらかに区別できた。

4) ウシ血清蛋白各分劃を抗原として免疫するときウシ血清そのものを抗原とする場合より抗原性はいづれもたかい。アルブミンの抗原性は他分劃に比較してなんら遜色なく、その種属特異性はきわめ

てつよい。

5) ウシ血清注射抗血清における非特異性副反応の主体は同血清蛋白中、オイグロブリンおよびプソイドグロブリン両分割中に属する部分に存在し、とくにプソイドグロブリン中に多く存在するものごとくである。

6) 副反応は同種抗血清間においては主沈降素量の多いものほどつよく、また同一沈降素量を有する

抗血清間においては反応の場の形が複雑な階段状をなすものほど副反応はつよい。

稿をおわるにのぞみ、指導ならびに校閲を賜わつた恩師三上芳雄教授に深謝する。

(本論文の要旨は第53および54次九州医学総会において発表した)

### 主 要 文 献

- 1) 赤松翁一：日本微生物学誌，19 (10)；833~847, 1561~1581, (大正14)
- 2) M. Ascoli : München med. Wochenschr. 49 (34) ; 1409, (1902)
- 3) J. Bordet : Ann. Ist. Pasteur, 13 ; 225~250, (1899)
- 4) H. W. Cromwell : J. Infect. Dis. 37 ; 321~328, (1925)
- 5) 江上不二夫, 八木康夫 : 免疫化学, 河出書房, (昭和24)
- 6) E. Friedberger u. A. Collier : Zeitschr. f. Imm. Bd. 28 ; S. 237, (1919) Deutsche med. Wochenschr. 44 (49) : 1374, (1918)
- 7) E. Friedberger & Meissner : Zeitschr. f. Imm. Bd. 36 ; 233~271, (1923)
- 8) Felix Haulowitz 生物物理化学の領域に於ける蛋白, 本田書店, (1953)
- 9) E. Friedberger & H. Jarre Zeitschr. f. Imm. Bd. 30 ; 351~372, (1920)
- 10) Friedberger ü. Lasvitzki : Kl. Wochenschr. Nr. 32 ; S. 1607 (1923)
- 11) Furth . Jour. of Immunität. 10 ; 775, (1925)
- 12) K. Fujiwara : Dtoch. Z. ges. gerichtl. Med. 1 ; 562 (1922)
- 13) 藤原教悦郎 : 国家医誌, 393 ; 451, (大正 8)
- 14) J. Grillo & Gruetzner Zeitschr. f. Imm. 83 ; 18~30 (1934)
- 15) J. Halbann u. K. Landsteiner : Münch. Med. Wschr. Nr. 12 ; S. 1682, (1902)
- 16) W. Halliburton : J. of physiol. Vol. 18, (1895)
- 17) F. Haurowitz : Chem. a. Biol. of Proteins.
- 18) 本庄重雄 : 鹿県大医紀要, 5 (2) ; 65~75, 6 (1) ; 139~167, 6 (2) ; 63~84, (昭和28)
- 19) 萩森寿 : 朝鮮医誌, 25 (9) ; 1189~1222, (昭和10)
- 20) 池平博・鹿県大医紀要, 6 (2) ; 86~102, 6 (4) ; 50~81, 7 (1) ; 19~37, (昭和29)
- 21) 岩永邦喜 : 久留米医誌, 13 (7~8) ; 70~80, 13 (9~10) ; 82~93, (昭和25), 14 (1~2) ; 57~70, (昭和26)
- 22) 石川光昭 : アナフィラキシー概論, 3 版, 杏林院, (昭和24)
- 23) J. Kratter : Wien Klin. Wochenshr. 53 (1) ; 24~26, (1903)
- 24) J. Krister & H. Wolf : Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. 41 ; 410~426, (1902)
- 25) 熊田修一 : 社会医誌, 501 ; 994~1024, (昭和3)
- 26) 国房二三 : 朝鮮医誌, 25 (11) ; 1527~1543 (昭和10)
- 27) 加藤義夫・東京医誌, 31 ; 1137, (大正 6)
- 28) G. Linossier & G. H. Lemoine : Compt. rend. Soc. de Biol. 54 ; 276~279, (1902)
- 29) P. Manteufel & Berger : Zeitschr. f. Imm. 33 ; 348~374, (1922)
- 30) P. Manteufel u. Tomioka : Zbl. f. Bkt. Bd. 100 ; S. 258, (1926)
- 31) V. E. Mertens : Deutsche med. Wochenshr. 27 ; 161~162, (1901)
- 32) W. Myers : Centralbl. f. Bakt. 28 ; 237~244 (1900)
- 33) G. Meissner : Zentralbl. f. Bakt., Abt, 1, Orig., Bd. 100, S. 258, (1926)
- 34) 操坦道 : 福岡医誌, 18 (11) ; 1~80, (大正14)
- 35) 間世田秀之助 : 鹿県大医紀要, 5 (3~4) ; 27~34, 6 (1) ; 173~180, (昭和28)
- 36) 村越久雄 : 熊本医誌, 20 (10, 11, 12) ; 897~902, 903~908, 909~914, (昭和19)
- 37) 三好毅一 : 日本微生物誌, 24 ; 445, 24 ; 1055, 24 ; 1153, 24 ; 1183, 24 ; 1779, (昭和 5)
- 38) G. H. F. Nuttall : Brit. med. J. 1 ; 1141~

- 1901, 1; 825~827, (1902); J. Hyg. 1; 367~387, (1901)
- 39) E. Neumark : Med. Klin. 15 (48); 1222~1224, (1919)
- 40) P. Nolf : Ann. Inst. Pasteur, 14; 297~330, (1900)
- 41) 緒方富雄 : 血清学実験法, 南山堂 (昭和19)
- 42) 緒方富雄 : 血清学の領域から, 河出書房, (昭和25)
- 43) 緒方富雄, 嶋田正雄 : 血清免疫誌, 2 (1); 17~29, (昭和16)
- 44) 緒方富雄, 石田栄次郎 : 血清免疫誌, 2 (4); 453~486, (昭和16)
- 45) Rosenberger : Zentralbl. f. Bakt. 98; 259, (1925)
- 46) Reeser : Zeitschr. f. Imm. Bd. 34; S. 355, (1922)
- 47) R. Stern : Deut. med. Wochenschr. 27 (9); 135, (1902)
- 48) G. Strube : Deut. med. Wochenschr. 28 (24); 425~429, (1902)
- 49) Schmidt : Zeitschr. f. Imm. 13; 166, (1912)
- 50) Scimone u. Topii : Zeitschr. f. Imm. 38; 264, (1923)
- 51) A. Schütze : Zeitschr. f. Hyg., Bd. 38; S. 487, (1901)
- 52) 鈴木重一 : 名古屋医誌, 52 (7); 597~723, (昭和15)
- 53) 堺善三郎 : 中外医事新報, 1103 : 367~368, 1104; 450~480, (大正15)
- 54) 管国孔 : 名古屋医誌, 49 (3); 477, (昭和14)
- 55) 嶋田正雄 : 血清免疫誌, 2 (1); 35~88, (昭和16)
- 56) 佐藤武雄 : 社会医誌, 517 : 126~188, (昭和5), 539; 831, (昭和6)
- 57) 齊藤行藏 : 千葉医誌, 11 (12); 2029~2042, (昭和8)
- 58) Tchistovitch : Ann. Inst. Pasteur. 13; 406~425, (1899)
- 59) A. Tiselius : Nova Acta Regide Soc. Sci. Upsaliensis Ser. IV, 7, (1930), Trans Frady Soc., 33; 524, 33; 954, (1937), Biochem. J., 31; 1464, (1937), Kolloid-Z., 85; 129, (1938)
- 60) Tsukasaki : Tohoku J. exper. Med. 3; 653, (1922)
- 61) 高橋重親 : 医学研究, 11 (4); 1017~1156, (昭和12)
- 62) 田口勝太 : 細菌誌, 287 : 537~558, 288; 701, 711, 289 : 719~742, (大正8)
- 63) 田代欽一 : 血清免疫誌, 2 : 366, (昭和16), 医事公論, 1573; 2410~2415, (昭和17)
- 64) 高山成久 : 朝鮮医誌, 32; 233, (昭和17)
- 65) P. Uhlenhuth : Deutsch. med. Wochenschr. 26 (46); 734~735, (1900), 27 (6); 82~83, (1901), 27 (30); 499~501, (1901), 28 (38); 679~681, (1902)
- 66) P. Uhlenhuth & Beumer : Zeitschr. f. Med. Jg. Nr. 5; S. 185 Nr. 6; S. 229, (1903)
- 67) 上原三雄 : 血清免疫誌, 2 (2); 261~294, (昭和16)
- 68) 上野正吉 : ミオグロビンの生理と病理その血清学的研究, 日本医書出版株式会社, (昭和26)
- 69) A. Wassermann : Berl. Klin. Wochenschr. 7 : 187, (1901)
- 70) Wolf : Klin. Wochenschr. 28 : 1304, (1923)
- 71) 横地順一 : 成医会誌, 57 (3); 482~510, (昭和13)
- 72) 山崎幸八 : 社会医誌, 500; 867~906, (昭和3)
- 73) 山元市範 : 京都医誌, 51 (6); 701~724 (昭和24)

Supplementary Studies on the Speciality of the Precipitin of  
Antiserum Protein Absorbed in Aluminium Hydroxide

Report 1 On the Precipitin Production and Race-speciality of the  
Bovine Serum and the Fractions of Its Serum Protein

By

Hidejiro TANEDA

Department of Legal Medicine, Kagoshima University Medical School  
(Director: Prof. Y. MIKAMI)

1) In case of antiserum as the antigen of bovine serum and its serum protein fractions, the quantity of precipitin seems to be increased more with addition to a number of injection and with this fact appears the non specific side reaction. Of the side reaction, the lamb serum reacts less strongly than bovine serum, the chief antigen because of the closeness of the zoological relationship; the serums of swine, horse and human react less strongly than the lamb serum. And it has been noticed that these antiserum are difference with one another in their side reaction.

2) The increase of side reaction and quantity of precipitin can be confirmed the difference in case of immunized injections once and three times, but not in case of five and times. The chief precipitin titer becomes the highest in case of immunized injection five times but afterwards it does not get high remarkably according to the increase of times of immunized injection.

3) The side precipitin titer and quantity are always lower than that of chief according to the repeated injection used as an antigen, there are difficult to be distinct the chief and side reaction with only precipitin titer, however are clearly distinct with precipitin quantity.

4) Immunized with bovine serum protein fractions, the antigenity is higher than that of bovine serum itself. And antigenity of albumin is not less than that of other patterns and race speciality is intensive.

5) The substance of the non specific side reaction in case of antigen of injected bovine serum exists in the protein which to the euglobulin and pseudoglobulin fractions, and seems to be more in pseudoglobulin.

6) The side reaction appears more clearly, according to the increase of chief precipitin quantity in case of the antiserum of the same species, and according to the increase of the frequency of the occurrence of the complex stair-like "form of reaction field" in the case of the antiserum that has the same precipitin quantity.

---