

Azo 蛋白質の血清学的研究

第 2 編

Azo 蛋白質の皮膚局所過敏症に於ける生体内分布について

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (主任: 大田原一祥教授)

助手 齒 朶 尾 正 幸

〔昭和 34 年 6 月 15 日受稿〕

目 次

第 1 章 緒 言	第 2 項 回収率
第 2 章 実験材料並びに実験方法	第 2 節 能働感作動物に於ける皮膚局所過敏症
第 1 節 実験材料	第 1 項 EB-azo-人血清アルブミンによる実験
第 1 項 EB-azo-人血清アルブミンの精製	第 2 項 Atoxyl-azo-人血清アルブミンによる実験
第 2 項 抗 EB-azo-人血清アルブミン家兔血清の作成	第 3 節 被働感作動物に於ける皮膚局所過敏症
第 3 項 Atoxyl-azo-人血清アルブミンの精製	第 1 項 EB-azo-人血清アルブミンによる実験
第 4 項 抗 Atoxyl-azo-人血清アルブミン家兔血清の作成	第 2 項 Atoxyl-azo-人血清アルブミンによる実験
第 5 項 実験動物	第 4 章 総括並びに考按
第 2 節 実験方法	第 5 章 結 論
第 1 項 皮内注射法	文 献
第 2 項 砒素定量法	欧文抄録
第 3 章 実験結果	
第 1 節 予備実験	
第 1 項 検量線の作製	

第 1 章 緒 言

Arthus¹⁾ は家兔に馬血清を数回皮下注射したところ、第 4 回又はそれ以後に於て注射部位に局所的炎症を起し、発赤、浮腫、壊疽の生ずることを発見し、又腹腔内に前処置を施した後皮下に再注射を行った場合にも同様の現象を認め、之を全身過敏症と區別して局所過敏症と称した。Pirquet u Schick²⁾³⁾ は人体に於て類似の現象を認め、又 Nicolle⁴⁾ も海溟を使用して Arthus と同様の現象を認め、之を Arthus 氏現象と名づけた。その後 Lewis⁵⁾, Lucas u Cay⁶⁾, Rössle⁷⁾ 等能働性局所過敏症に関する研究は数多くなされている。一方被働性過敏症については Otto⁸⁾ が最初に海溟を使つて実験に成功し、

被働性過敏症の潜伏期は抗体を腹腔内注射後 24 時間が最適であることを認めた。又之と相前後して Nicolle も家兔を用いて被働性過敏症につき研究している。

その後次第に Arthus 現象に関する研究の分野が広められ Opie⁹⁾ は皮下組織内又は腹腔内に注射せられた抗原は免疫の進行と共に血液中に入り難くなり、強度に免疫された家兔に於ては注射後 1~24 時間で既に沈降反応では証明し得ないことを認め、Kahn¹⁰⁾ は馬血清にて免疫した家兔の皮内に少量の馬血清を再注射した場合には抗原が対照に比し長く且つ多量に皮内に残存すると述べている。最近に至り Korngold¹¹⁾ 等は I¹³¹ でラベルした卵白アルブミンを用いて Arthus 現象についての実験を行い、

ほぼ同様の結果を得ている。

又色素を使用した研究としては緒方等¹²⁾、茂貫¹³⁾、八辻¹⁴⁾¹⁵⁾、は青色色素を指示薬として Arthus 現象の観察に利用しており、Claude¹⁶⁾ は Azo 蛋白に India ink を加えて之を非感作家兎の皮内に投与しその拡散度を調べているが EB-azo-蛋白を Arthus 現象の観察に利用した例は未だ見ない。

著者は Arthus 現象時に於ける抗原の行方を追求するに当つて青色色素が生体内の観察に極めて容易なることに着目して EB-azo-人血清アルブミンを使用し、抗原の拡散度を観察すると共に、更に之を定量的に測定する為 Atoxyl-azo-人血清アルブミンを調製して実験に供し、又能働感作の場合と被働感作の場合を比較検討し、いささか知見を得たので報告する。

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験材料

第1項 EB-azo-人血清アルブミンの精製

第1編と同じ方法にて精製した。

第2項 抗 EB-azo-人血清アルブミン家兎血清の作成

第1編と同じ方法にて免疫した。その抗体価並びに抗原価は次の如くである。

Uhlenhuth 価	1 : 50,000
結合帯	1 : 1,000
抗体価	1 : 160

第3項 Atoxyl-azo-人血清アルブミンの精製

1.0g の P-Arsanil 酸に 1N HCl 12cc と 70cc の蒸溜水とを加えて溶解し、更に 10% Na NO₂ 2.9cc を加えてよく攪拌しチアゾ化した後 10°C の低温にて 30 分間保存する。一方 3% 人血清アルブミン 100cc に 1N NaHCO₃ を加えて pH を 8 に調整した後両液を混合し、10°C にて 24 時間保存する。次にこの粗 Atoxyl-azo-蛋白溶液に塩酸を加えて pH 4.6~4.2 にすると沈澱があらわれて来るが、3,000 回転/分 5 分間遠心分離によつて Azo 蛋白を集め、上清をすてる。之に 1N Na₂ CO₃ 溶液を加えて溶解せしめる。同様の操作を更に 3 回繰返した後、Azo 蛋白液をセロファン膜に入れ流水中にて 24 時間透析して塩類を除去した後氷室に保存する。

第4項 抗 Atoxyl-azo-人血清アルブミン家兎血清の作成

Atoxyl-azo-人血清アルブミンに等量の生理的食塩水を加えたものを最初 1.0cc より始めて 1 回毎に

1.0cc 宛増量し 5 回目より以後は 5.0cc を成熟家兎の耳静脈に除々に注射する。3 日間隔で 12 回注射を行い、最後の注射日より 5 日後試験採血を行い所期の力価を示すならば更に 2 日後無菌的に全採血を行い、血清を分離し、1 : 10,000 の割合に Merzonin を加えて氷室に保存する。本編に於て使用した抗 Atoxyl-azo-人血清アルブミン家兎血清の抗原価並びに抗体価は次の通りである。

Uhlenhuth 価	1 : 50,000
結合帯	1 : 1,000
抗体価	1 : 160

第5項 実験動物

実験動物としては体重 2,000~2,500g の健康成熟家兎及び体重 300g 前後の健康海狸を使用し、皮膚反応には特に腹部の白色のものを選んだ。

第2節 実験方法

第1項 皮内注射法

皮内注射の部位はなるべく平坦な場所が抗原の拡散を観察するに便利なので腹部並びに胸部を選んだ。動物を背位に固定し、腹部の毛を剪刀にて皮膚に損傷を与えぬように注意してなるべく短く切り、50% アルコールにて消毒し、ツベルクリン注射器に 1/3mm 注射針を附したもので皮内に注射する。注射量は 0.1cc にて注射液が皮内に入れば半球状の膨隆を認める。

第2項 砒素定量法¹⁷⁾¹⁸⁾

Atoxyl-azo-蛋白を含む試料を Kjeldahl フラスコにとり濃硫酸と過酸化水素で分解して無機砒素にした後、モリブデン青法により比色定量した。Sandell の原法¹⁹⁾ と若干異なるところがあるのでその方法を述べる。

試薬

- 1) 稀塩酸 (濃塩酸 1 : 蒸溜水 1 の割合に稀釈)
- 2) ヨードカリ溶液 (KI 15.0g を蒸溜水 100cc に溶解)
- 3) 塩化第一錫溶液 (Sn Cl₂ · 2H₂O 40.0g を塩酸にとかして 100cc とする)
- 4) 粉状亜鉛
- 5) 5% 醋酸鉛溶液
- 6) 1.5% 塩化第二水銀
- 7) 6N H₂ SO₄ 溶液
- 8) 過マンガン酸カリ溶液 (KMnO₄ 0.1g を蒸溜水 100cc に溶解)
- 9) モリブデン酸アンモニウム、硫酸ヒドラジン液

次の i) 及び ii) 液を夫々 10cc ずつ混和し、之に水を加えて 100cc とする。毎日新しく作る。

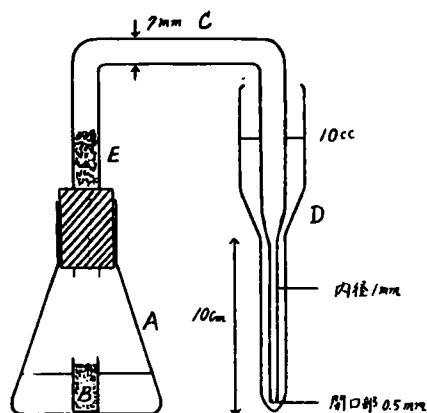
i) モリブデン酸アンモニウム 1.0g を蒸留水 10cc に溶かし、之に 6 N 硫酸 90cc を加える。

ii) 硫酸ヒドラジン 0.15g を蒸留水 100cc に溶解する。

10) 砒素標準液 (As_2O_3 0.1320g を 1 N NaOH 3.0cc に溶かし酸性にした後蒸留水を加えて 100cc とし、之を 100倍稀釈して砒素含量 10 γ /cc とする)

操作

第1図 砒素定量装置



- A) 50cc 三角フラスコ
 B) 長さ 3cm 内径 1cm 底面平なガラス管
 C) 連結管
 D) 吸収管
 E) 5% 酢酸鉛を含むガラス綿

Kjeldahl フラスコ中の試料を第1図に示す如き三角コルベンに移し蒸留水を加えて全量を 20.0cc とする。之に稀塩酸 10.0cc, ヨードカリ溶液 2.0cc 及び塩化第一錫溶液 1.0cc を加え軽く振盪した後 80~90°C にて 5分間加熱した後放冷する。受器 D に塩化第二水銀液 1.0cc, 6 N 硫酸 0.2cc 及び過マンガン酸カリ溶液 0.15cc をとつて混和する。小ガラス管 B に粉状亜鉛 3.0g を入れて之をピンセットにて静かに倒れないように注意しつつ三角コルベンの中に入れる。三角コルベン A を連結管 C にて吸収管 D に連結し、C 管の先端を D 管の底から 1mm のところに位置せしめる。直に全体を振つて B 管を倒すと反応が開始される。この際 1時間室温に放置しても過マンガン酸カリの色が残っていない。1時間後装置をはずして吸収管にモリブデン酸アンモニウム硫酸ヒドラジン液 5.0cc を加え、よく混和した後 100°C にて 15分間加熱する。放冷後

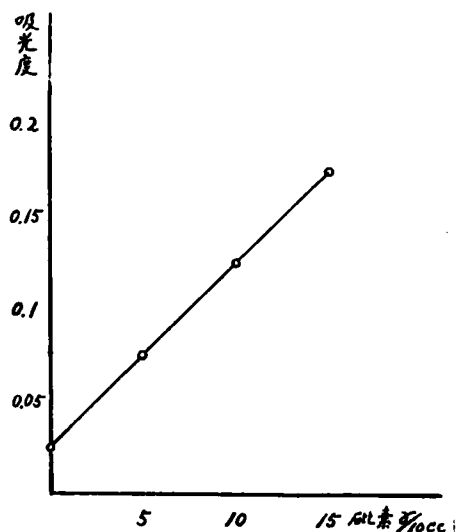
吸収管に 10.0cc の線まで蒸留水を加え、之を Beckmann 型分光光度計にて波長 700 m μ で吸光度を測定する。

第3章 実験結果

第1節 予備実験

第1項 検量線の作製

第2図 検量線



100倍稀釈砒素標準液 0, 0.5cc, 1.0cc 及び 1.5cc をメスピペットで吸つて試験管に入れ、1.5% 塩化第二水銀 1.0cc, 6 N H_2SO_4 0.2cc, 過マンガン酸カリ溶液 0.15cc を加え、95°C 温浴中にて 5分間加熱し、試料の場合と同じくモリブデン酸アンモン、硫酸ヒドラジン液 5.0cc を加え、100°C にて 15分間加熱し、放冷後各試験管の全量を蒸留水を加えて 10.0cc にした。之を Beckmann 型分光光度計にて比色し第2図に示す如き検量線を作製した。本法では砒素 0~15.0 γ の範囲は Lambert-Beer の法則に従つた。

第2項 回収率

燃焼による砒素の回収率を測定する為に、100倍稀釈砒素標準液 0.1cc, 0.5cc, 1.0cc 及び 1.5cc を Kjeldahl フラスコ中にて硫酸と過酸化水素で分解し、前述の操作方法を行つた後、比色定量し、回収率を求めた。その結果は次の如くである。

標準液砒素含有量	実験値	回収率
1.0 γ	0.9~1.0 γ	90%以上
5.0 γ	4.8~5.0 γ	96 γ
10.0 γ	9.8~10.0 γ	98 γ
15.0 γ	14.5~15.0 γ	97.3 γ

尚先に精製した Atoxyl-azo-人血清 アルブミン液 1cc 中には砒素 300γ を含有していた。

第2節 能働感動物に於ける皮膚局所過敏症

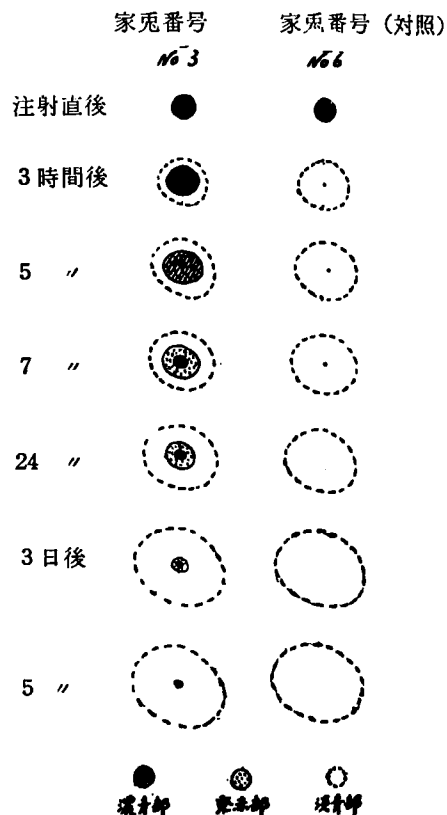
第1項 EB-azo-人血清アルブミンによる実験

健康白色家兎3頭に EB-azo-人血清アルブミンを体重1kg 当り 1.0cc 隔日毎に10回耳静脈より注射し最後の注射日より5日後に採血、抗体価を測定し、14日目に EB-azo-人血清アルブミン0.1cc を夫々の腹部皮内に注射し、又対照として非感作家兎にも同様 0.1cc を注射して、着色抗原の拡り方を時間を追つて観察した。

結果は第1表に示す如くであるが更に家兎番号 No. 3 の結果を模写したのが第3図である。抗原注射直後は何れも直径1cm 程度の濃青色、円形をなしているが時間の経過と共に次第に周囲に拡り、対照例に於ては注射局所に点状の濃青部を残すのみにて一様に周囲に拡るのに比し、感作例にては色素の拡り方は一様でなく、3時間後には中心濃青部と周囲淡青部の2色に分別された。5時間後には中心濃青部に一致した部位に発赤を伴い、濃青部淡青部共に拡りを見せた。7時間後に皮膚反応は最高を示し、面積はほぼ同じであるが発赤の度が強くなった。この時期に至り濃青部は中心部に濃縮された型となつて濃く且つ面積は縮小した。但し周囲淡青部及び対照例に於ては之と関係なく次第に青色度を減じ乍ら周囲に拡散した。尚感作例の周囲淡青部と対照例の拡りとは常にほぼ同面積であつたが対照例の方が

青色度が強かつた。24時間後には発赤は軽度となり濃青部もやや縮小し、3日後に至つては発赤は僅に認められる程度であつた。5日後に至り No. 3, No. 5 に於ては発赤全く消失し、No. 4 に僅かに認められ、中心部は次第に縮小して黒青色を呈した。その後中心部は黒色 Narbe 様となり、3週間後ま

第3図 EB-azo 蛋白質による皮膚局所過敏症



第1表 EB-azo 蛋白質による皮膚局所過敏症 (能働感作)

家兎番号	部位	時間						
		注射直後	3時間	5 "	7 "	24 "	3日	5 "
No. 3 体重 2,100g 抗体価 1:80 結合帯 1:1000	a 中心濃青部	10×10	14×13	15×14	7×5	6×4	3×2	3×2
	b 発赤部	—	—	15×14	15×14	13×12	7×5	—
	c 周囲淡青部	—	20×19	27×24	28×25	30×28	40×32	40×32
No. 4 体重 2,300g 抗体価 1:160 結合帯 1:1000	a	12×10	15×14	17×15	6×5	5×3	3×2	2×2
	b	—	—	17×15	17×15	15×13	8×6	5×4
	c	—	—	19×18	20×19	23×21	26×24	26×24
No. 5 体重 2,200g 抗体価 1:80 結合帯 1:1000	a	10×11	13×14	14×15	6×8	4×5	2×3	2×3
	b	—	—	14×15	14×15	11×13	5×6	—
	c	—	—	21×23	22×25	29×32	33×37	33×35
No. 6 体重 2,150g 対照	a	10×10	—	—	—	—	—	—
	b	—	—	—	—	—	—	—
	c	—	22×20	27×25	29×26	32×29	40×34	40×34

注：単位は mm

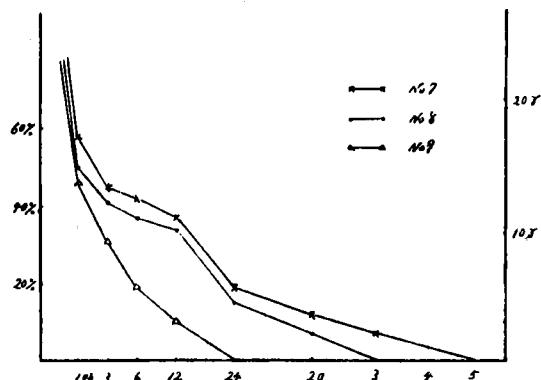
で認められたが対照例及び周囲淡青色は15日後には既に認められなかつた。

第2項 Atoxyl-azo-人血清アルブミンによる実験

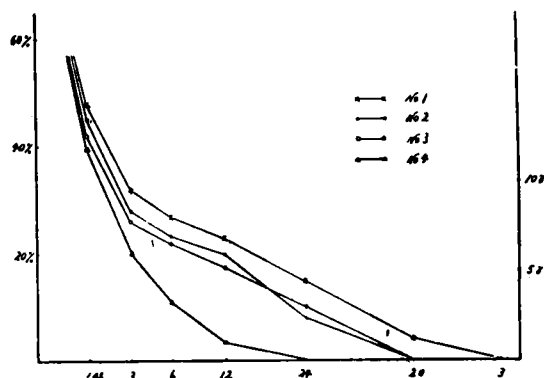
先に EB-azo-人血清アルブミンにより抗原の態度を肉眼的に観察したが、更に之を定量的に観察した。即ち2頭の成熟家兎に耳静脈より Atoxyl-azo-人血清アルブミンを1~3cc 宛漸次増量しつつ10回注射を行い、抗体価を測定した後、最終回の注射日より14日後に Atoxyl-azo-人血清アルブミン0.1cc (砒素含有量 30%) を腹部8ヶ所に再注射した。又対照として非感作家兎にも同量の抗原を再注射し、注射後1時間、3時間、6時間、12時間、24時間、2日、3日、5日毎に夫々局部を丁寧に切除し、Kjeldahl フラスコ中にて湿性灰化後モリブデン青法にて皮膚中に含まれている砒素量を測定した。

結果は第2表及び第4図に示す如く抗原再注射後1時間にて既に50~60%に減少し3~12時間の間はやや緩徐となり、24時間迄はやや急速に減少し、No. 7 に於ては5日後に、No. 8 に於ては3日後に消失した。之に比し非感作家兎に於ては概ね一樣の速度で減少し注射後24時間で既に消失した。即ち抗体価の高い家兎程抗原が永く皮膚中に残留する結果を得た。

第4図 皮膚局所過敏症時に於ける抗原含有量 (家兎能働感作)



第5図 皮膚局所過敏症時に於ける抗原含有量 (海猿能働感作)



第2表 Atoxyl-azo-蛋白質による皮膚局所過敏症時の抗原含有量 (家兎能働感作)

家兎番号	体重 (g)	潜伏期 (日)	結合帯抗体価	再注射量 (cc)	1時間後 (%)	3時間	6 "	12 "	1日	2 "	3 "	5 "
No. 7	2500	14	1:1000 1:80	0.1	17.4 (58)	13.5 (45)	12.6 (42)	11 (37)	5.7 (19)	3.7 (13)	2 (6.5)	0
No. 8	2450	14	1:500 1:40	0.1	15.2 (50.5)	12.2 (41)	11 (37)	10 (34)	4.5 (15)	2 (7)	0	0
No. 9	2400	14	非感作	0.1	14 (47)	9.4 (31.5)	6 (19)	3 (10)	0	0	0	0

第3表 Atoxyl-azo-蛋白質による皮膚局所過敏症時の抗原含有量 (海猿能働感作)

海猿番号	体重 (g)	感作注射	潜伏期 (日)	結合帯抗体価	再注射量 (cc)	1時間後 (%)	3 "	6 "	12 "	24 "	2日後	3 "
No. 1	390	抗原1ccを2回皮下注	21	1:50 1:32	0.1	14.5 (48)	9.6 (32)	8 (27)	7 (23.5)	4.5 (15)	1 (3.5)	0
No. 2	410	"	21	1:50 1:16	0.1	13.6 (45)	8.6 (28)	7 (23.5)	6 (20)	2.5 (8)	0	0
No. 3	380	"	21	1:50 1:16	0.1	12.5 (42)	8 (26)	6.5 (22)	5 (17.5)	3 (10)	0	0
No. 4	400	非感作			0.1	12 (39.5)	6 (20.5)	3 (10.5)	1 (3.5)	0	0	0

次に海狸を使用して同様の実験を行つた。体重400g前後の海狸3頭に夫々 Atoxyl-azo-人血清アルブミン1ccを皮下に注射し、更に2日後1cc皮下注射を行い、2回目の注射日より21日後に同抗原0.1ccを各々の海狸腹部皮内に再注射した。対照として非感作海狸にも同量の抗原を投与し、家兎で行つたと同様の方法にて皮膚中の砒素を定量した。結果は第3表及び第5図に示す如く家兎に於ける場合とはほぼ同様の経過を辿つたが、海狸の場合には高き抗体価を得ることが困難な為か早く皮膚中より消失した。然し乍らこの実験に於ても家兎に於ける場合と同じく皮膚の砒素含有量は抗体価に比例した。

第3節 被働感作動物に於ける皮膚局所過敏症

第1項 EB-azo-人血清アルブミンによる実験
 感作注射量を少なくする為に尠若健康なる家兎を用い、体重を13にて除し、概算推定した血液量と抗血清の緒方氏法²⁰⁾による抗体稀釈価とより感作量を推定した。即ち体重600g、750g及び730gの家兎に先述の抗EB-azo-人血清アルブミン家兎血清を夫々28.8cc、18.0cc及び3.5cc耳静脈より投与し、24時間後に採血して、血清の抗体価を測定した後、夫々の腹部皮内にEB-azo-人血清アルブミン0.1ccを再注射し、対照として非感作正常家兎にも同量の抗原を皮内注射し、夫々の皮膚反応を観察した。以上の感作量は家兎の血液1ccに対して夫々100単位、50単位、10単位に感作したことになる。

結果は第4表に示す如く100単位の感作を行つた

家兎にのみ陽性に現れ、他の2例に於ては皮膚反応は陰性にて発赤も中心えの色素濃縮も認められず、唯周囲えの色素の拡りが抗体価の高いもの程遅く、非感作例に於て最も早い結果を得た。皮膚反応陽性例に於ては抗体価は1:80を示したが同じ抗体価を示す能働感作の場合に比し反応の現れ方はやや早かつたが、その程度は弱く発赤も2日後には既に陰性であつた。

第2項 Atoxyl-azo-人血清アルブミンによる実験

先に着色蛋白を用いて被働性皮膚過敏症に於ける抗原の拡り方を肉眼的に観察したが、更に之を定量的に測定する為に Atoxyl-azo-人血清アルブミンを用いて実験を行つた。即ち380g、360g及び400gの健康海狸に夫々6.0cc、3.0cc及び1.5ccの抗Atoxyl-azo-人血清アルブミン家兎血清を頸静脈より投与し、24時間後採血して抗体価を測定した後Atoxyl-azo-人血清アルブミン0.1ccを夫々の海狸腹部皮内に6ヶ所宛再注射した。対照として非感作海狸にも等量の抗原を皮内に注射した。再注射後1時間、3時間、6時間、12時間、24時間、2日毎に注射局部を切除し、之を湿性灰化後、モリブデン青法により皮膚中に残存する砒素量を測定した。

結果は第5表及び第6図に示す如く抗体価の比較的高いNo. 5, No. 6に於ては砒素含有量は対照例に比して明かに多く、且つ24時間丈長く残存した。No. 7に於ては抗体価も低く砒素含有量は対照例と変わりなく肉眼的にも皮膚反応は認められなかつた。

第4表 EB-azo-蛋白質による皮膚局所過敏症 (被働性感作)

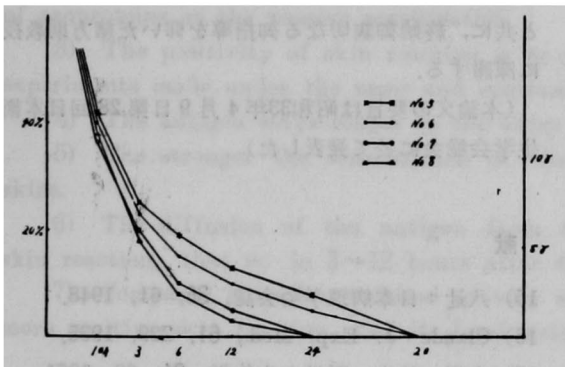
家兎番号	体重 (g)	推定血 量 (cc)	感作注 射量 (cc)	結合帯 抗体価	再注射 量 (cc)	時間 部位	注射直後	3時間	5 "	1日	2 "
							No. 10	600	46.1	28.8	1:1000 1:80
No. 11	750	57.6	18.0	1:500 1:40	0.1	a — b — c —	10×10 — 18×21	— — 25×29	— — 28×30	— — 33×36	
No. 12	730	56.1	3.5	1:250 1:10	0.1	a — b — c —	11×10 — 20×19	— — 26×24	— — 29×27	— — 33×31	
No. 13	740	56.9	非感作		0.1	a — b — c —	10×10 — 22×24	— — 29×32	— — 33×35	— — 38×42	

注・単位は mm

第5表 Atoxyl-azo-蛋白質による皮膚局所過敏症時の抗原含有量 (海狸被働感作)

海狸番号	体重 (g)	推定血量 (cc)	感作注射量 (cc)	潜伏期 (時)	結合帯抗体価	再注射量 (cc)	1時間後7 (%)	3 "	6 "	12 "	24 "	2日後
No. 5	380	29.2	6	24	1:50 1:32	0.1	12.6 (42)	7.5 (25)	5.6 (19)	4 (13)	2.4 (8)	0
No. 6	360	27.6	3	24	1:25 1:16	0.1	12 (40)	7 (23)	4.5 (15)	3 (10)	1.5 (5)	0
No. 7	400	30.7	1.5	24	1:25 1:8	0.1	11 (36.5)	6 (20)	3 (10)	1.5 (5)	0	0
No. 8	380	29.2	非感作			0.1	11.6 (38)	5.5 (18)	2.7 (8)	1 (3.3)	0	0

第6図 皮膚局所過敏症時に於ける抗原含有量 (海狸被働感作)



この実験に於ても被働性感作の場合には同じ抗体価を示す能働感作の場合よりも皮膚反応の程度が弱く、定量的にも早く皮膚中より消失することが認められた。

第4章 総括並びに考按

正司²¹⁾は家兎を皮下注射により人血清で免疫した場合第1回注射では約5日間抗原が血中に残存するに比し、回を重ねて抗体価が高くなるにつれて抗原は血中より早く消失すると述べている。Opie⁹⁾, Kahn¹⁰⁾も又同様の実験結果を得ている。著者のEB-azo-人血清アルブミン及びAtoxyl-azo-人血清アルブミンを用いて行つた実験に於て何れの場合にも免疫した方が正常時よりも注射部位に多量の抗原を認め、時間的にも長く皮膚中に残存する結果を得たのであるが、この事実は上述の実験例と間接的に一致するものである。局所皮膚過敏症に於ては正常時よりも長く抗原が皮膚中に残存するのは、局所過敏症時には局所の炎症により血管が破壊され抗原の血管内移行が妨げられる為と思われる。

Friedberger²²⁾²³⁾, Friedmann²⁴⁾は血中の沈降素

量と局所過敏症状とは平行すると述べ、Doerr u Russ²⁵⁾も被働性過敏症の場合にも之は同様であると云い、又景山²⁶⁾, 遠藤²⁷⁾, 城²⁸⁾, 緒方²⁹⁾³⁰⁾も之を認めている。著者の行つたAzo蛋白質による実験でも抗体価と皮膚反応の程度並びに抗原の皮膚残留度は何れの場合にも平行関係を示した。又能働感作と被働感作とを比較した場合、同じ抗体価を示しても能働感作の方が抗原が長く皮膚中に残留する結果を得たが、之は血中の抗体価が同じであつても局所過敏症の程度は能働感作の方が被働感作よりも強いと述べている城²⁸⁾の結果に一致する。

EB-azo-人血清アルブミンを使用した実験に於てArthus時には中心に濃青色を生ずること、抗原再注射後5~7時間の間に中心濃青色が急に中心部に濃縮されるということ、更に之は発赤の度に比例するという事は、皮膚中に於ける抗原残留が単に血行障害のみに基くのみでなくArthus時、特にその最盛期には抗原抗体反応により注射された抗原を局所に留めようとする何等かの力が作用するものと思われる。そしてArthus反応時に於ける周囲の淡青色を呈した部分は完全に蛋白と結合しない色素か或は注射後組織内で蛋白との結合が解かれた為に抗原抗体反応の作用を失い次第に周囲に拡つて行くものと解釈される。

Atoxyl-azo-人血清アルブミンを用いた実験によつては発赤を生じた場合、色素との鑑別が困難なのでEB-azo-蛋白の如き肉眼的観察は不可能であつたが能働感作の砒素定量試験に於て抗原再注射後3時間迄は急速に減少するが3~12時間ではやや緩徐となりそれ以後再び急速に減少する結果を得た。再注射後7時間を中心とする3~12時間の抗原減少の緩徐な時期はEB-azo-蛋白を用いた実験に於ける抗原の拡りの最も抑制される時期と時間的に一致する。

即ち Arthus 反応の全経過を通じて皮膚反応の強い時期程皮膚からの抗原の減少率は少くなるようである。尚被働性感作の場合には EB-azo-蛋白による中心濃青部の反応最盛期に於ける濃縮度も少く、又 Atoxyl-azo-蛋白による実験でも概ね一定の速度で抗原が減少した。之は前述の被働性感作の場合には同じ抗体価を示す能働感作よりも反応が弱く且つ抗原の皮膚残留期間が短いという事実と相関連するものである。

第 5 章 結 論

Azo 蛋白質を用いて皮膚局所過敏症に関する実験を行い次の事実を確認した。

1) Azo 蛋白質で能働性又は被働性に感作した家兎或は海狸の皮内に同一抗原を再注射すれば皮膚局所過敏症を惹起する。

2) Azo 蛋白質により能働性感作した場合の皮膚局所過敏症症状は抗原再注射後 7 時間に於て最も強い。

3) Azo 蛋白質により同一条件で感作した場合、同一潜伏期後の能働及び被働感作動物の皮膚反応は血液中の抗体価に比例する。

4) 感作した動物の皮内に同一抗原を再注射した場合は非感作時よりも抗原は長く皮膚中に残存する。

5) 感作の程度が強い程抗原は長く且つ多量に皮膚中に残留する。

6) 皮膚反応の最も強い時期即ち 3～12 時間の間に於ては抗原の皮膚よりの拡散は遅れる。

7) 能働感作動物による皮膚反応の方が同じ抗体価を有する被働感作動物による皮膚反応よりも強く且つ抗原の局所残留時間も長い。

摺筆するに当り御懇篤なる御指導並に御校閲の勞を賜つた恩師大田原教授に対し深甚の謝意を表すると共に、終始御親切なる御指導を仰いだ緒方助教授に深謝する。

(本論文の要旨は昭和33年4月9日第28回日本衛生学会総会に於て発表した)

文 献

- 1) Arthus : Compt. rend. d. l. Soc. d. Biol., 55, 817, 1903.
- 2) Pirquet-Schick : Die Serumkrankheit. Wien., 1905.
- 3) Pirruet : Münch. med. Wochenschr., 30, 1457, 1906.
- 4) Nicolle : Ann. d. Inst. Past., 21, 128, 1907.
- 5) Lewis : J. Imm. Med., 1, 10, 1908.
- 6) Lucas-Gay : J. of Med. research., 20, 251, 1901.
- 7) Rössle : Verkanl. d. D. Path. Ges., No. 17, 2914.
- 8) Otto : Münch. Med. Woch., No. 34, 1907.
- 9) Opie : J. Imm., 9, 247, 1924.
- 10) Kahn : Tissue Immunity., 1937.
- 11) Korngold-Stahly : J. Imm., 70, 345, 1953.
- 12) 緒方(富)一茂貫 : 東京医学会雑誌, 50, 1719, 1936.
- 13) 茂貫 : 東京医学会雑誌, 52, 350, 1938.
- 14) 八辻 : 化学療法研究所彙報, 1, 134, 1947.
- 15) 八辻 : 日本病理学会会誌, 36, 61, 1948.
- 16) Claude : J. Exp. Med., 61, 229, 1935.
- 17) 山岡一鈴木 : 医学と生物学, 21, 68, 1951.
- 18) 大草一多田 : 環境の有害物測定法, 勞研出版部, 349, 1957.
- 19) Sandell : Ind. & Eng. Chem. Anal. Ed., 14, 82, 1942.
- 20) 緒方(益) : 第 1 回衛生学微生物学寄生虫学連合学会講演, 1927.
- 21) 正司 : 皮膚科紀要, 7, 541, 1925.
- 22) Eriedberger : Zeitsch. Imm., 2, 208, 1909.
- 23) Friedberger : Zeitsch. Imm., 3, 692, 1909.
- 24) Friedemann : Zeitsch. Imm., 2, 591, 1909.
- 25) Lucas-Gay : J. Med. research., 20, 251, 1909.
- 26) 景山 岡山医学会雑誌, 41, 392, 1929.
- 27) 遠藤 : 岡山医学会雑誌, 43, 2827, 1931.
- 28) 城 : 岡山医学会雑誌, 44, 2235, 1932.
- 29) 緒方(富) : 東京医学会雑誌, 50, 1917, 1936.
- 30) 緒方(富) : 東京医学会雑誌, 53, 1066, 1939.

Serological Studies on Azoproteins

Part 2 Distribution of Azoprotein in vivo on Allergic Dermatitis

By

Masayuki Sidao

Department of Public Health, Okayama University, Medical School
(Director . Prof. K. Ohtahara, M. D.)

The author made experiments on hypersensitiveness of the skin with azoprotein, and obtained the following results.

- 1) Positive effects can be observed on the skin of rabbits or guinea-pigs that have been sensitized with azoproteins actively or passively when injected with the same antigens.
 - 2) Hypersensitiveness of the skin is most positive in 7 hours after the injection in case of azoproteins as the passive sensitization.
 - 3) The positivity of skin reaction is proportional to the antibody value in the blood on experiments made under the same and constant conditions.
 - 4) The antigen stays longer in the skins of sensitized animals than of not sensitized.
 - 5) The stronger the sensitization is, the longer and the more the antigen stays in the skins.
 - 6) The diffusion of the antigen from the skin is slow at the time of the strongest skin reaction, that is, in 3~12 hours after the injection.
 - 7) Compared animals sensitized actively with those sensitized passively, the former have more positive skin reaction, and its local antigens stay longer.
-