

臓器アレルギーに関する研究

第 1 編

肝同種並に自己抗体の産生について

岡山大学医学部第一内科教室（主任：小坂教授）

和 泉 正 昭

〔昭和 34 年 8 月 7 日受稿〕

I. 緒 言

臓器 Allergy の研究は 1899 年の Bordet, Tichistovitch などのそれに端を発し主として異種抗原による研究が行われていたが、最近では同種並に自己抗原による現象の研究にまで進展している。ところで抗原となり得る物質は異種のものでなければならぬとの考え方に対して、この同種乃至自己抗原という呼称は多少の混乱を惹起しているようである。著者は臓器 Allergy の問題を主として肝疾患について研究したいと考え、特に自己肝の障害に基ずきいわゆる肝自己抗体が産生されるか否か、又該抗体がその後の肝の病態に如何なる影響をもたらすかなどを解明する目的で、先ずその前提として肝による同種並に自己抗体の産生の問題を解決する必要を感じ以下の実験を行った。

II. 実験材料と実験方法

1. 使用動物：後述の同種臓器に対する抗体を証明しない体重 2.5kg 内外の健常雄性家兔、体重 350g 内外の健常雌性海猿、体重 10g 内外の Mouse を用いた。

2. 感作及び反作用抗原の作製：健常家兔肝、腎、脾、胆嚢、胃、大腸、脾、健常 Mouse 肝乳剤を用いた。肝乳剤の調製には、先ず被検動物の頸動脈から放血致死させ、生理的食塩水を腹部大静脈から注入して肝が固有色を示すまで灌流し、肝を取出して細切し更に充分脱血してその 10g に生理的食塩水 100 ml を加え Homogenizer で乳化し、凍結融解を数回繰返し、24 時間氷室放置後 3,000 r. p. m. 30 分間遠心沈澱してその上清を取り、生理的食塩水で倍量に稀釈し 5% 乳剤として使用した。なお肝を細切する時被膜、血管はできるだけ除去し、又以上の操

作は総て無菌的に行つた。肝以外の臓器についても同様に行つたが、胃と大腸とは粘膜組織だけを使用した。

3. 抗血清の採取：実験動物を 24 時間絶食させた後型の如く行つた。

4. 抗体価測定法：米陸軍々医学校法による補体結合反応を用いた。なお肝自己抗体の測定には抗原として同種肝抗原を用いた。このことは真の意味での肝自己抗体の測定とはならないが、岸岡及び著者の研究からも測定結果は同一であることが証明されているので、便宜上同種肝抗原の使用で満足することとした。

III. 実験成績

1. 同種肝での感作：家兔は A, B, C, K の 4 群に分ち各 3 匹宛とし、A 群に 5% 同種肝乳剤 2 ml/kg 9 回、B 群に 6 回、C 群に 3 回隔日静注した。K 群は対照として生理的食塩水 2 ml/kg 隔日 9 ~ 3 回静注した。この注射開始前と以後経時的に測定した抗体価は Table 1 の通りであり、明かに感作家兔の血中に肝同種抗体が認められた。しかも抗体価は注射回数増加に伴つて上昇し、最終注射後 1 週間目あたりで最高を示し以後遞減した。最高抗体価及び血中抗体証明期間は注射量に相応している。

この実験中のある時期の家兔肝機能を塩化 Cadmium 反応で測定した結果は Table 2 の通りであり、感作による肝機能障害は該法では認められない。

2. 自己肝での感作：家兔を D 群 9 匹、K 群 3 匹とし、D 群には肝内に滅菌した 10% 食塩水を 2 ml/kg 隔日無菌的に注入 9 回、次いで 2 週間休止後 6 回実施した。K 群は無処置対照とした。この経時的に同種肝抗原を用いて測定した抗体価は Table 3 の通りで、家兔の血中には処置後 1 週間目あたりから

Table 4. Liver function of rabbits sensitized with autoliver tissue.

	Rabbit No.								
	D1	D2	D6	D7	D8	D9	K4	K5	K6
After the first sensitizing injection (wks)	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Liver function (Cd Cl ₂ reaction)	R6	R6	R6	R6	R6	R6	R4	R4	R4

肝自己抗体の出現を認め、3~4週に第1の抗体価上昇のPeakを、次いで7~8週に第2のPeakを示す増加を認め、以後漸減して14~15週間後に消失した。この2つの抗体価の上昇のPeakは夫々前述の肝傷害操作に対応して認められている。

この際肝機能を塩化Cadmium反応で測定するとTable 4の通り肝障害を認めた。かくて肝障害を起す操作を加えると初めて肝自己抗体の出現を証明し得ることが明かとなった。

3. 同種肝抗体と感作抗原との生体内結合：補体結合価32倍を有する前記Ⅲの1の項で赤べた方法で得られた肝同種抗血清と感作に用いた5隻家兎肝乳剤とは夫々非働化し、海狸4匹宛のE, F, G群のうちE群には抗原と抗血清1ml宛、F群には抗原と生理的食塩水1ml宛、G群には抗血清と生理的食塩水1ml宛を混じたものを腹腔内に注射し、注射前と注射後経時的に海狸血清補体価を測定した。この結果はTable 5の通りで、E群に於ては他群に比し著明な補体価の減少を認めた。

Table 5. Interaction of homologous rabbit liver antigen and antibody in guinea pig bodies.

Guinea pig No.	Complement titer (ml)						
	Before injection	After injection					
		3	6	12	24	48	96hrs
E1	0.25	0.40					0.30
E2	0.35	0.55					
E3	0.25		0.60				0.30
E4	0.35			0.50			
F1	0.35	0.30					0.35
F2	0.25	0.35					
F3	0.25		0.25				0.30
F4	0.30			0.35			
G1	0.40	0.45					0.45
G2	0.25	0.25					
G3	0.35		0.30				0.30
G4	0.30			0.35			

4. 肝自己抗体と自己肝抗原との生体内結合：補体結合価32倍を有する前記Ⅲの2の項で述べた方法で得られた肝自己抗血清と感作原となつた自家兎肝の5隻乳剤とを非働化し、海狸2匹宛のH, I, J群のうちH群には抗原と抗血清1ml宛、I群には抗原と生理的食塩水1ml宛、J群には抗血清と生理的食塩水1ml宛を混じたものを腹腔内に注射し、注射前と注射後12時間目に海狸血清補体価を測定した。この結果はTable 6の通りで、H群に於ては他群に比し著明な補体価の減少を認めた。

Table 6. Interaction of rabbit autoliver antigen and antibody in guinea pig bodies.

Guinea pig No.	Complement titer (ml)	
	Before injection	12 hrs af er injection
H1	0.25	0.60
H2	0.35	0.65
I1	0.35	0.40
I2	0.25	0.25
J1	0.35	0.30
J2	0.30	0.35

5. 同種肝抗体の同種諸臓器抗原に対する反応態度：肝同種抗体を有する3匹のL群家兎血清と同種肝、腎、脾、胆嚢、胃、大腸、膀胱抗原との反応状態を抗体価測定の結果で検討した結果はTable 7の通りである。即ち肝抗原で抗体価が最も高いことは勿論であるが、腎、脾、胃等の抗原でもかなり高価で、他の臓器抗原でも夫々相当度の抗体価を証明した。これによつて同種肝抗原には肝としての特異抗原成分の他に肝以外の諸臓器抗原成分と共通するものを含むこと、従つて同種肝感作によつて特異抗体と共に非特異抗体をも産生することが判つた。しかし肝同種抗体が肝抗原に対し比較的親和性のあることも明かである。

6. 自己肝抗体の同種諸臓器抗原に対する反応態度：肝自己抗体を有する3匹のM群家兎血清と同種肝、腎、脾、胆嚢、胃、大腸、膀胱抗原との反応状態

Table 7. Interaction of homologous rabbit abdominal organs emulsions and liver antibody in vitro.

Rabbit No.	Complement fixing antibody titer						
	Organ emulsion						
	Liver	Kidney	Spleen	Gallbladder	Stomach	Colon	Pancreas
L 1	1 : 32	8	8	4	8	4	4
L 2	32	16	16	8	16	32	8
L 3	64	32	32	16	64	16	16

Table 8. Interaction of homologous rabbit abdominal organs emulsions and autoliver antibody in vitro.

Rabbit No.	Complement fixing antibody titer						
	Organ emulsion						
	Liver	Kidney	Spleen	Gallbladder	Stomach	Colon	Pancreas
M 1	1 : 8	0	2	0	0	2	0
M 2	8	0	0	0	0	0	0
M 3	16	0	0	0	0	0	0

を抗体価測定の前で検討した結果は Table 8 の如く肝抗原では最も高価を示し、脾及び大腸抗原では極めて低価で、その他の臓器（腎、胆嚢、胃、膵等）抗原では反応しなかつた。これによつて自己肝傷害の結果は肝としての特異抗原成分の他に肝以外の臓器抗原成分と共通するものを生じること、従つて自己肝感作によつて特異抗体と共に非特異抗体をも産生することが判る。しかも肝自己抗体が肝抗原に対し肝同種抗体よりも高度の親和性のあることも推定できる。

7. 同種及び自己肝抗体の同種肝組織成分抗原に対する反応態度：同種及び自己肝抗原のうち主役を演じる成分は何であるかを知る目的で、組織成分について検討を試みた。家兎肝組織成分抗原の作製は Hogeboom 等の方法に倣い、生理的食塩水の代わりに滅菌した 5% 蔗糖液を使用して 10% 同種肝乳剤を作り、凍結融解を数回繰返し、次いで日立製作所製 40 P 型超高速遠心分離機を用いて 5,000 r. p. m. 8 分間、10,000 r. p. m. 10 分間、27,500 r. p. m. 35 分間遠心沈澱して夫々の沈澱物及び最終上清をえ、夫々第 1、第 2、第 3 及び第 4 成分と名付けた。原液中の肝成分 100.0 g から第 1 成分 78.0 g、第 2 成分 11.0 g、第 3 成分 5.5 g、第 4 成分 5.5 g がえられたが、この各成分は夫々核と細胞膜その他の粗大片、Mitochondria, Microsome, 可溶性蛋白をその

主体とするものと考えられる。この各成分は 5% 蔗糖液を用いて 10% 乳剤とし、用に臨み生理的食塩水で希釈して 5% 乳剤とした。これと同種肝抗体を有する 3 匹の N 群家兎血清、自己肝抗体を有する 3 匹の O 群家兎血清との反応状態を抗体価測定の前で検討した結果は Table 9、10 の通りであり、必ずしも明確な結論をえなかつたが、肝同種抗体に比し肝自己抗体の第 3 成分に対する補体結合抗体価は高く、注目に値する。

Table 9. Interaction of homologous rabbit liver fractions emulsions and liver antibody in vitro.

Rabbit No.	Complement fixing antibody titer				
	Liver emulsion	Fraction I emulsion	II	III	IV
N 1	1 : 16	16	8	0	16
N 2	16	16	16	2	16
N 3	16	32	16	8	32

8. その他の同種抗原感作例：家兎 3 匹に対し前述同種肝組織第 3 成分を 5% 乳剤とし 2 ml/kg 隔日 9 回静注し、最終注射後 1 週間目に採血してその同種抗体を測定したところ 1 匹に 256 倍、他の 1 匹に 128 倍、残りの 1 匹に 64 倍の抗体価を認めた。

Mouse 20 匹を 5 匹宛の 4 群に分け同種肝の 5% 乳剤を 0.1 ml 宛隔日に腹腔内注射して 1 群に 9 回

Table 10. Interaction of homologous rabbit liver fractions emulsions and autoliver antibody in vitro.

Rabbit No.	Complement fixing antibody titer				
	Liver emulsion	Fraction I emulsion	II	III	IV
O 1	1.8	8	16	8	8
O 2	8	16	16	16	16
O 3	32	64	8	8	64

他の1群に6回、別の1群に3回実施、残りの1群は対照として生理的食塩水 0.1 ml 宛隔日に9乃至3回腹腔内注射したところ前3群では最終注射後1週間目の平均抗体価が同種肝抗原で測定して夫々64倍、32倍、8倍となった。これに反し対照群の血清には肝同種抗体は証明されなかつた。

IV. 総括と考案

緒言に述べたように臓器 Allergy の問題は始め専ら異種臓器による抗体の産生とその異種臓器抗体の作用就中夫々の臓器に対する傷害作用について研究が行われ、前者については疑う余地のないくらい多数の偉大な業績があり異種臓器が抗原となりうることは明白となつてゐる。ところが後者については特異的な臓器傷害作用があるとする Joannovics, Beebe, 岸岡, Meyer-Krahmer などに対し特異性の認められないとする Pierce, 辻, Spühler などの報告があつて一定しない。

次いで同種乃至自己臓器が抗原性を有するか否かの問題及び抗原性ありとする場合にその臓器抗体が夫々の臓器に傷害作用を示すか否かの問題についてみれば、後者の未確定であることは勿論、前者についても Castaigne 以来多くの抗原ありとする報告と Schultz 以来の反対論とが並存している。

著者の行つた第1の実験では明かに同種肝抗原で抗体が産生されたのである。自己肝を傷害する方法は岸岡の行つたような薬物（例えば Chloroform, 四塩化炭素, 磷など）乃至観血的操作（開腹後圧挫, 加熱, Röntgen 線照射など）は生体の多臓器に影響するから純粋な意味での肝組織変質破壊実験にならない。感染も同様である。従つて著者は生体に及ぼす影響の最も少く撰択的に肝組織を破壊すると考えられること、又血中に流出しても稀釈されて無害である点から高張食塩水の肝内注入という方法が目的に最も合致するものと判断し、これによつて家免体

内に肝自己抗原を作らせた。この方法で肝組織の限局性破壊変性を来し得たことは剖検により確かめてある。第2の実験でも明かに肝自己抗体が産生された。第1の実験で抗原注射回数に応じて抗体価の上昇、血中抗体証明期間の延長が見られたこと、第2の実験で抗体価の消長が肝破壊の実施、休止に相応じたこと、何れも感作操作終了後1週間目あたりで最高抗体価を測定しえたことなどは、同種乃至自己肝での感作が一般免疫現象と同じ枠に当て嵌まるものといえよう。肝機能障害が同種肝感作では見られず、自己肝感作で見られたことは、臓器抗体の作用という問題とも関聯するが、著者の行つた肝破壊が的確であつた一証左ともいえよう。ここで同種並びに自己抗原という名称について考えたい。著者の行つた方法も含めて同種、自己肝抗原の作成は総て人工的操作であり、従つて生体内で日常進行している生理的現象とは縁遠いものであるし、又各種の病的現象例えば外傷、炎症、変性、腫瘍などは生体が常には経験しない異例のことである。即ち諸種疾患時に見られる変化は正常の代謝過程とは別種のものでありその産物は体異種のものであるとも考えられる。従つてかかる意味からすれば同種乃至自己抗原といつても実は生体にとつては異種抗原と考えることもでき、これによる感作も可能と考えられる。

斯様な同種又は自己抗体が試験管内で抗原と結合することは明白であるが、生体内でも結合するかどうか問題なので、第3と第4の実験でこれを確かめることとした。その結果は対照海狸の補体価変動が生理的範囲内と考えられるのに比べ明らかに有意の差のある補体価減少が見られ、生体内で両者の結合が立証された。

臓器抗原を論ずる場合にその特異性は重大である。一般に臓器抗原は複雑な組成を有するから特異成分以外にも他臓器と共通な成分もあることは Guerini 以来多数研究者の報告がある。但し抗原作成時期、方法の差により結論の異なることはやむを得まい。種族特異性については著者の目的とやや縁遠いから別として、臓器特異性の観点から行つたのが第5、第6の実験である。臨床的に肝疾患は腹部他臓器疾患との比較に於て問題となることが多いから、ここでは腎、脾、胆嚢、胃、大腸、膀胱を取上げた。その結果は肝抗原には他と共通成分があるけれども肝としての比較的特異性のあることも明白である。注目すべきは、同種肝抗原は自己肝抗原に比しその抗体に他臓器抗原と反応する成分を多く有することである。

この成績は岸岡のそれと一致するが、人工的操作が体異種の抗原を作り出しているとの考えを多少裏書きするものであろう。

肝抗原のうちどの成分が重要な意義を有するかを組織成分の側から検討したのが第7の実験である。Furth, Henle などは細胞の抗原性が Microsome に在るとしているが、著者の成績では余り明白な結論が得られなかつた。

V. 結 論

家兎、海猿、Mouse を用い、その各種臓器抗原を調製して同種動物を感作し乃至は無菌的操作による高張食塩水の肝内注入によつて肝同種並びに自己抗

体の産生を検討し、次の結果を得た。

1. 肝同種並びに自己抗原による抗体産生は可能である。
2. この抗体は同種又は自己肝抗原と生体内でも結合し得る。
3. 肝同種並びに自己抗原には臓器特異性が認められるが比較的のものに過ぎない。そのうちでも後者に著明である。

稿を終るにあたり小坂教授、長島助教授の御指導及び御校閲に深謝いたします。

(本論文の要旨は第42, 43回日本消化器病学会、第5, 6回日本アレルギー学会で報告した)

主 要 文 献

- 1) 岸岡精華：岡山医学会雑誌, 45 (1933), 1640, 1782, 2295.
- 2) 辻昇三：日本内分泌学会雑誌, 17 (1941), 603.
- 3) 伝染病研究所学友会：細菌学実習提要, 東京 (1955).
- 4) Beebe, S. P.: J. Exp. Med. 7 (1911), 750.
- 5) Bordet: Ann. Inst. Pasteur (1899), 240.
- 6) Castaigne, J. & F. Pathery: Press. Med. 10 (1902), 771.
- 7) Furth, J. & E. A. Kabat: Science 91 (1940), 483, J. Exp. Med. 74 (1941), 249.
- 8) Guerini: Z. Immun.forsch. (1912).
- 9) Henle, W. & L. A. Chambers: Science 42 (1940), 313.
- 10) Henle, W., L. A. Chambers & G. Vincent: J. Exp. Med. 74 (1941), 495.
- 11) Hogeboom, G. H., W. C. Schneider & G. E. Pallade: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 65 (1947), 320, J. Biol. Chem. 172 (1948), 619.
- 12) Joannovics, G.: Wien. Klin. Wschr. 22 (1909), 228.
- 13) Lindemann, W.: Zbl. Allg. Path. 2 (1900).
- 14) Meyer-Krahmer, H. G.: Z. Exp. Med. 116 (1950), 390.
- 15) Pierce, R. M.: J. Exp. Med. 14 (1911), 44.
- 16) Schultz: Zbl. Bakt. 36 (1906), 612.
- 17) Tichistovitch: Ebenda (1899), 406.

Studies on Organ Allergy

Part 1. On the Production of Homologous-Liver-Antibody and Auto-Liver-Antibody

By

Masaaki Izumi

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyowo Kosaka)

Using rabbits, guinea pigs, and mice as the test animals, the author studied the production of homologous-liver-antibody and auto-liver-antibody by preparing various organ antigens of these animals and injecting a hypertonic physiological saline solution of these

antigens into the liver of respective animals aseptically so as to avoid the sensitization of homologous animals; and obtained the following results.

1. It is possible to produce auto-liver-antibody by injecting homologous-liver-antigen and auto-liver-antigen.

2. These antibodies can combine with homologous- and auto-liver-antigens *in vivo*.

3. The homologous-liver-antigens and autoantigens have been found to have a specificity to organs, but this is just a matter of comparison. Of the two the specificity of the latter is more marked.
