

抗体及び抗原の実験的研究

第3編 同種抗体相互間の抗原性について

岡山大学医学部衛生学教室（主任：緒方教授）

専攻生 佐々木 峻

〔昭和29年9月15日受稿〕

第1章 緒論及び文献の概要

抗原、抗体共存に関する学説を瞥見するに1902年 Linossier et Lemonie¹⁾, Eisenberg²⁾, Ascoli の諸氏が沈降反応に於て反応物質たる沈降物の外に其の上清に於て沈降原及び沈降素の過剰が相反する事なく遊離の状態に於て共存し、而も他より新たに沈降原又は沈降素を加うる時は容易に反応して沈降物を生ずる事の実を注目せし以来既に30余年其の間此の現象は多くの学者に依りて研究論議されたるも其の本態に関しては定説なく、或は膠様2硫化砒素と「ゲラチン」との混合に依りて生ずる沈澱を「アラビアゴム」液にて妨げ得るが如く沈降原、沈降素の反応を血清中の第3膠質が保護的に妨ぐるが故に抗原、抗体が共存すると云う膠質保護作用を以て説明せんとし (Zinsser and Young³⁾, Bayne-Jones⁴⁾) 或は沈降原と沈降素とが或る濃度に於ては液体中に恰も化学反応に於けるが如く平衡状態を保ちて存在し Guldberg und Waage の質量作用の定律に従うものにして、従つて2物質の一方を過剰に加うれば平衡状態破綻して沈降反応を起すに至り、沈降素が一定度以上の濃度に到達するに及びて始めて沈降原は忽然として消滅すると云う定量作用に従はんとし (Linossier et Lemonie, Eisenberg, Müller⁵⁾, Mackenzie and Leake⁶⁾, Foster⁷⁾, 今井) 或は卵白血清等は多種の蛋白質の複合体なるを以て其の免疫血清中には夫々の蛋白質に相当する沈降素を形成すべく、其の沈降素の発生に難易、遅速あるがため複合抗原の中、抗体発生困難なるか若しく

は迅速なる抗原に相当する抗体と同時に同一血清中に存在するものにして、従つて同一血清中に共存する抗原と抗体とは根本的に相異なる抗原性のものなりと主張する沈降素多種説 (Dungern, Müller, Weil⁸⁾, Opie⁹⁾, 西尾¹⁰⁾, 齊藤, 操¹¹⁾, 小口¹²⁾, 浜野¹³⁾) がある。

抗原と抗体と共存する間は抗体は多くは沈降素価上昇せず、抗原が血清より去るに及んで忽然として抗体価の上昇を見る事は屢々吾人の経験する所にして、今井¹⁴⁾ は抗体最高潮期は即ち造抗原消滅期なりと云い、熊谷, 齊藤¹⁵⁾ も之を実験している。

以上は主としてウ氏法に於て行はれたるものにしてウ氏価と共存抗原との間には離す可からざる因縁の存する事を思はしめる¹⁶⁾。

余は先に大腸菌O並びにH型菌に依る抗体加熱の影響について実験的研究を試みたが細菌体の抗原には100°C加熱で被凝性を消失するもの、即ち易熱性のものと100°C加熱に不変なもの即ち耐熱性のものがある。

易熱性抗原は鞭毛菌で云へばh抗原であり、耐熱性のものはo抗原であつてこの両抗原を以て免疫して生ずる抗体の熱に対する関係は全く反対でh抗原に対するH抗体は90°C20分の加熱に耐へるが、o抗原に対するO抗体は同じ操作で既に75°C20分の加熱に耐へない事が分つた¹⁷⁾。

何故この様な現象を生ずるかについて余は疑問を持つていたが、最近の研究に依れば抗体には必然的に抗原が共存すると云われ、この共存抗原に依る影響ではなからうかと思料されたので抗体相互間の抗原性について実験を試み興味ある成績を得たので報告致します。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 免疫抗原

免疫抗原は Kauffmann-Knipschild-Vahlne の抗原構造として No. 5 に相当する Coli-Strains を用いた。

第1項 大腸菌 O 型菌抗原

上記免疫抗原を石炭酸加寒天培地に培養した人工的 O 型菌の 60°C 30 分加熱の食塩水浮游液を使用した。

第2項 大腸菌 H 型菌抗原

上記免疫抗原 Coli-Strains を Craigie の方法で得た鞭毛を豊富に有する S 型 H 型菌の 60°C 30 分加熱の食塩水浮游液を使用した。

第2節 免疫動物

免疫動物としては体重 2.5~3.0kg の強健なる家兎 4 頭を使用した。

第3節 免疫方法及び免疫抗体

上記大腸菌 O 並びに H 型菌抗原を型の如く夫々家兎 2 頭宛に免疫する。

最後の免疫より 7 日目に全採血し之より分離して得た血清を O₁, O₂, H₁, H₂ と称す。

第4節 反応抗原 (沈降原)

第1項 o 抗原

第1節第1項に於て作製した抗原を「ザイツ」濾過器にて濾過して得た濾液を使用する。

第2項 h 抗原

第1節第2項に於て作製した抗原を上記同様濾過して得た濾液を使用する。

第5節 沈降反応及び判定方法

本実験に於ては O₂, H₂ 血清を抗原と見做し之等の血清や上記 o, h 抗原を倍数稀釈し、之等を免疫血清に重層し境界面に生ずる白濁輪を判定する「ウーレンフト」氏法を用いた。15, 30, 60, 120 分迄の陽性を夫々卍, 卅, 卅, 卅, + とし、疑はしいのを ± とし、以外を - とする。

第3章 実験成績

第1節 原免疫血清の沈降素価

第1項 大腸菌 O 型菌免疫血清

該免疫血清 O₁, O₂ のウ氏価は第1表に示すが如き成績にして O₁ は 1:4, O₂ は 1:8 であつた。

第1表 単一原血清ウ氏価

抗体	抗原	抗原稀釈							対照
		1	2	4	8	16	32	64	
O ₁	o	卍	卅	+	-	-	-	-	-
O ₁	h	卍	+	-	-	-	-	-	-
O ₂	o	卍	卅	卅	+	-	-	-	-
O ₂	h	卍	卅	+	-	-	-	-	-
H ₁	o	卍	卅	+	-	-	-	-	-
H ₁	h	卍	卅	卅	卅	+	-	-	-
H ₂	o	卍	卅	+	+	+	-	-	-
H ₂	h	卍	卅	卅	卅	+	+	-	-

第2項 大腸菌 H 型菌免疫血清

該免疫血清 H₁, H₂ のウ氏価は第1表に示すが如き成績にして H₁ は 1:16, H₂ は 1:32 であつた。

第2節 抗体の抗原含有測定

第1項 大腸菌 O 型菌免疫血清

該免疫血清 O₁, O₂ に抗原を含有するか否かを検するため O₁ を抗体とし O₂ を抗原と見做して沈降反応を行つた。その成績は第2表に示すが如く沈降反応陽性を呈し O₁ のウ氏価は 1:8 であつた。

第2表 抗体の抗原含有試験

抗体	抗原(血清)	抗原稀釈(血清)					対照
		2	4	8	16	32	
O ₁	O ₂	-	-	+	±	-	-
H ₁	H ₂	-	-	+	±	-	-

第2項 大腸菌 H 型菌免疫血清

該免疫血清 H₁, H₂ に抗原を含有するか否かを検するため、H₁ を抗体とし H₂ を抗原と見做して沈降反応を行つた。その成績は第2表に示すが如く沈降反応陽性を呈し H₁ のウ氏価は 1:8 であつた。

第3節 ウ氏価上昇の検索

須磨はウ氏価上昇の原因が共存する抗原の変化に非ざるやを考へて之に共存する抗原を吟味する必要を思い共存せる抗原を追求した。

氏に依れば A, B 両血清を混合し 2 時間孵育に置き、後強力遠心せるに極僅の沈降物を認めた。斯る事實は今井も認めている。

今井は各種の抗原共存血清を無菌的に採取して混合し、硝子管内に密封し菌芽の迷入を防ぎ氷室内に貯蔵し、後日各血清の沈降反応を検するに殆んど全部、例へ強弱の差はあれど沈降物を生じた。斯る事實より氏は抗原を共存する抗体はその共存抗原よりも有力なる他の抗原に遭遇する時は直ちに之と相反応し、又同時に共存抗原は抗原を共存する抗体よりも有力なる他の抗体に遭遇する時は直ちに之と相反応する能力を有するものとしている。

第1項 対照試験

余は O₁, O₂, H₁, H₂ の 4 種の各血清を用い O₁, O₂, H₁, H₂ を各々同量に混じて試験するため其の対照として第 3 表の如き試験をなした。即ち単に正常家兎血清を混合してもウ氏価上昇するや否や、又単に食塩水にて稀釈してもウ氏価上昇するや否やを検した。

可検抗体、添加物各 1cc 宛、全量 2cc とし 37°C に 2 時間保存した後遠心沈澱して其の上清について検した。

但しこの場合は遠心するも何等沈澱物を認めなかつた。

各血清は原血清及び正常家兎血清、生理食塩水を各々同量混和によりウ氏価を測定したがウ氏価に何の変化も生じなかつた。

その成績は第 3 表の通りである。

第2項 O₁, O₂, H₁, H₂ 各同種血清を 2 つづゝ同量に混じた場合

O₁, O₂ を 1:1 の割合、H₁, H₂ も同じ割合に混じ之等と O₁, O₂, H₁, H₂ を単独に用いて抗体となし、既述の大腸菌沈降原 o, h を用いて沈降反応 (ウ氏法) を行つたが第 4 表に見られる通り O₁+O₂ は O₁, O₂ より又 H₁+H₂ は H₁, H₂ よりウ氏が何れも上昇した。

O₁, O₂, H₁, H₂ の各同種血清を 2 つ宛同量に混じ全量を 2cc ならしめ 37°C に 2 時間保存し後強力遠心し其の上清につきウ氏価を

第 3 表 対照試験

抗体	抗原稀釈 抗体	抗原稀釈								対照
		1	2	4	8	16	32	64	128	
O ₁	o	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₁ +NaCl (1:1)	o	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₁ +N.K.S. (1:1)	o	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₁	h	++	+	-	-	-	-	-	-	-
O ₁ +NaCl (1:1)	h	++	+	-	-	-	-	-	-	-
O ₁ +N.K.S. (1:1)	h	++	+	-	-	-	-	-	-	-
O ₂	o	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
O ₂ +NaCl (1:1)	o	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
O ₂ +N.K.S. (1:1)	o	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
O ₂	h	++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₂ +NaCl (1:1)	h	++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₂ +N.K.S. (1:1)	h	++	++	+	-	-	-	-	-	-
H ₁	o	++	++	+	-	-	-	-	-	-
H ₁ +NaCl (1:1)	o	++	++	+	-	-	-	-	-	-
H ₁ +N.K.S. (1:1)	o	++	++	+	-	-	-	-	-	-
H ₁	h	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
H ₁ +NaCl (1:1)	h	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
H ₁ +N.K.S. (1:1)	h	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
H ₂	o	++	++	+	+	+	-	-	-	-
H ₂ +NaCl (1:1)	o	++	++	+	+	+	-	-	-	-
H ₂ +N.K.S. (1:1)	o	++	++	+	+	+	-	-	-	-
H ₂	h	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-
H ₂ +NaCl (1:1)	h	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-
H ₂ +N.K.S. (1:1)	h	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-

検したが各遠心沈澱管底部に各々多少の差はあつても極僅微の沈澱物を生成した。この沈降物形成の際、含有抗原も夫に関与し、従つて全体として含有抗原の減少を起し遂に其の抑制作用も亦減弱してウ氏価の上昇を来すものと思はれる。

第4表 各同種血清を2つ宛同量に
混ぜる場合のウ氏価

抗体	抗原	抗原稀釈								対照
		1	2	4	8	16	32	64	128	
O ₁	o	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₁	h	++	+	-	-	-	-	-	-	-
O ₂	o	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₂	h	++	++	+	-	-	-	-	-	-
O ₁ +O ₂	o	+++	++	++	+	+	-	-	-	-
O ₁ +O ₂	h	++	++	+	+	-	-	-	-	-
H ₁	o	++	++	+	-	-	-	-	-	-
H ₁	h	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
H ₂	o	++	++	+	+	+	-	-	-	-
H ₂	h	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-
H ₁ +H ₂	o	+++	++	+	+	+	-	-	-	-
H ₁ +H ₂	h	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-

第4章 考 察

2種免疫血清を混合し2時間 37°C に置き然る後強力遠心せるに各遠心沈澱管底部に多少の沈降物の形成せられたるを見た。沈降物の形成は免疫血清を単独に長時間放置し陳旧になれば「グロブリン」沈澱すれども、斯の如く2時間に於ては認むる事は出来ない。斯る沈降物は2つの血清が交互に作用して沈降物を形成せるものと考へられる。

一般に免疫血清中には抗体と抗原は共存するもので該免疫血清中の抗体と抗原とは相反する能力無き様である。

単独血清にては2時間 37°C で沈降物生ぜざりしに2種免疫血清混合により、沈降物を生ぜるは共存抗原、抗体が他の免疫血清中の共存抗原、抗体と夫々相互的に作用したものであろう。斯る事実は今井も認め氏は共存抗原は其の共存抗体よりも他の有力なる抗体に遭遇する時は直ちに之と相反する能力を有するものとした。

而して余は2種免疫血清を混合し其の上清についてウ氏価を測定せるに両免疫血清の夫々のウ氏価以上に上昇するを見た。

このウ氏価上昇は主として共存抗原の減少に由来するものと考へられる¹⁸⁾。

翻つてこの共存せる抗原、抗体の理論を凝集反応に応用する事によつて抗体加熱の影響

を説明せんとす。

細菌凝集反応の起る過程は明確に2段に分れている。先づ凝集素が菌体に結合して起るが之は該当する抗原抗体間にのみ起る特異現象で続いて特異性と関係のない物理化学的過程で菌の凝集が起る。

抗体には共存する抗原が附着している。

抗体無加熱の場合は共存する抗原は失はれなくとも蛋白変性が起らず新に他の有力なる抗原を附着せしめた場合その新たなる抗原と抗体が結合する。

然るに抗体を加熱すると共存する抗原は失はれるが抗体の蛋白変性が起りこのため抗体と抗原の結合する率が減少し、従つてその後の菌凝集が起らず凝集反応が阻止されるものと思はれる。

O, H両抗体を加熱した場合凝集反応に差異が起るのは共存する o, h 抗原の耐熱性、非耐熱性の相違によるものと思はれる。

即ちO抗体を加熱しても共存するo抗原は耐熱性であるのでo抗原は破壊されない。

そのため他の有力なるo抗原を新に附着せしめてもO抗体に共存するo抗原が元々附着している所以他の新なるo抗原は附着する余地がない。その結果抗原抗体結合の特異現象が起らず従つてその後の菌の凝集が阻止されるものと思はれる。

所がH抗体は共存するh抗原が非耐熱性であるのでh抗原はo抗原に比べて破壊され易いので他の有力なるh抗原を新に附着せしめた場合、抗原抗体結合の特異現象が起りその後の非特異的の菌の凝集が起るものと思はれる。以上の様な理由でO, H抗体の加熱による差異が生ずるものと思はれる。

第5章 結 論

1) 同種の2種免疫血清の内、一方を抗原と見做し他方に重層する時沈降反応陽性に現れた。

この事は免疫血清が抗原性を有す、つまり抗体に共存せる抗原が存在せるなり。

2) 同種の2種免疫血清を混合し、2時間

37°Cに放置し後強力遠心し其の上清に就き沈降反応を行うに2つの単独血清のウ氏価より上昇す。

3) 同種の2種免疫血清混合により沈降物を多少形成した。即ち両者相互反応を起し残存抗原量の減少を来せるなり。

4) 抗体が共存せる抗原を持つため、大腸菌免疫血清O, H抗体が加熱に際し夫々の抗原と逆の現象を起すものと思はれる。

摺筆に臨み恩師緒方教授の御懇篤なる御指導と御校閲の勞に対し謹んで深謝す。

尚御指導御助言を賜はりたる大田原教授に敬意を表す。

文 献

- 1) Linossier et Lemonie : Comp. rend. d. Soc. d. Biol., T. 54, P. 85, 1902.
- 2) Eisenberg Zentralbl. f. Bakt. Abt., 7, Bd. 31, S. 773, 1902.
- 3) Zinsser and Young · Journ. of. exp. med., vol. 17, P. 396, 1913.
- 4) Bayne Jones Journ. of. exp. med., vol. 25, P. 837, 1917.
- 5) Müller · Zentral. f. Bakt., Bd. 34, S. 48, 1903.
- 6) Mackenzie and Leake : Journ. of exp. med., vol. 33, P. 601, 1921.
- 7) Foster · Journ. of. inf. dis., vol. 32, P. 105, 1923.
- 8) Weil · Journ. of. Imm., vol. 1, P. 19, 1916.
- 9) Opie · Journ. of. Imm., vol. 8, P. 19, 55,
- 1923.
- 10) 西尾 : 成医会雑誌. 第44巻, 第6号, 311頁, 大正14年.
- 11) 操 : 福岡医科大学雑誌. 第18巻, 第6号, 98頁, 大正14年.
- 12) 小口 : 細菌学雑誌. 第332号, 309頁, 大正12年.
- 13) Hamano : The Japan med. world, vol. 5, No. 4, P. 86, 1925.
- 14) 今井 日本微生物学雑誌. 第9巻, 239頁, 大正8年.
- 15) 齊藤 : 社会医学会雑誌. 第486—489号, 昭和2年.
- 16) 18) 須磨 : 岡山医学会雑誌. 47年, 2号, 昭和10年.
- 17) 佐々木 : 第63回岡山医学会総会演説. 昭和28年.

Department of Hygiene, Okayama University Medical School.
(Director Prof. Dr. M. Ogata)

Experimental Study of Antibody and Antigen.

Report III. On the antigenistic quality between the same kind antibody.

By

K. Sasaki

Among the two same kind immune serum, I deemed one of them antigen and heaped up it upon another, and consequently precipitation of it was positive.

In a word, it seems to include antigen in antibody.

Therefore, when antibody immuned with Coli bacillus is heated, it seems to produce the paradoxe phenomenon compared with Coli bacillus antigen in correspondence for heat.