

尿ムコ蛋白に関する研究

金沢大学大学院医学研究科第二病理学講座(主任 石川教授)

金沢大学大学院医学研究科第一内科学講座(主任 武内教授)

船 木 悦 郎

(昭和37年1月24日受付)

1892年 Freund が血液中に糖結合蛋白の存在を指摘したのを初めとして、その後1932年には Katzman 及び Doisy によつて Gonadotropin, 更にヘパリン, コンドロイチン 硫酸, 血液型物質, コリンエステラーゼ, トロンボゲン等が糖蛋白として見出されると共に、血清中の蛋白結合多糖類に関する研究が盛んになって来た。しかし血清中の糖蛋白の化学的及び生理的意義についてなお未解決な点が多いが、最近 Winzler 一派¹⁾²⁾³⁾⁴⁾, Greenspan⁵⁾ の研究によつて次第に糖蛋白の生体における意義が明らかになりつつある。彼らは比較的容易な測定法を案出し、各種疾患における特徴的な変動を明らかにした。一方、尿中の糖蛋白に関する最初の業績は前述の Katzman 及び Doisy の Gonadotropin の抽出であるが、最近 Tamm⁶⁾⁷⁾ らが正常人尿中にインフルエンザ・ビールスやその他のビールスによる血球凝集作用を抑制する糖蛋白 (inhibitory mucoprotein) を証明し、尿中糖蛋白の臨床的意義を再認識させている。更に、1955年 Anderson 及び Maclagan⁸⁾ らによつて安息香酸で吸着して抽出する優れた方法が確立されると共に、その研究も一段と活潑になって来た。即ち、諸種疾患の血清及び尿糖蛋白分画に関して化学的分析¹⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾、電気泳動法¹⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾、超遠心法⁴⁾¹¹⁾、生物学的方法¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾ により行なわれている諸研究がそれである。しかしながら、尿糖蛋白の由来 或いは 生成機序については不明な点が多く、また種々の抽出法による血清糖蛋白分画と尿糖蛋白との関連性についても十分に解明されていない。これは純粋な糖蛋白分画を多量に分離することの困難さと、分離に当つて酸、アルカリ、アルコールその他の沈澱剤、熱、凍結乾燥等による変性の可能性等に因るものであろう。

一方、最近 Grabar¹⁵⁾ らが創案した免疫電気泳動法によつて従来の電気泳動法に基づく各成分の分離に加

えて、免疫学的にそれらの成分の有する抗原性を検討することによつて、更に詳細に組成分析或いは同定をも行なうことが可能となつた。高井¹⁶⁾は既にこの方法を利用して癌患者血清並びに尿ムコ蛋白について検討し、尿ムコ蛋白中には血清との間に二、三の共通抗原があるとし、更に癌尿においては正常人尿に対して特異な因子がムコ蛋白分画中に存すると報告している。

しかしながら、尿糖蛋白の抗原組成或いはその起源について考察を進めようとするれば、当然血清糖蛋白との関連性が問題となり、このことはまた Winzler¹⁶⁾も指摘する如く、血清糖蛋白の代謝経路の問題とも結びついて来る。しかも臨床化学的な面からは、血清糖蛋白及び尿糖蛋白の量的並びに質的変動の相互関係が甚だ興味深い。従つて本研究では、正常人並びに諸種疾患の各症例について、血清糖蛋白分画 (Winzler) 及び尿糖蛋白の二分画 (Anderson 及び Tamm) を測定し、その相互関係を量的に観察し、更に糖蛋白に特徴的な変動を来す数種の疾患について検討を加えてみることにした。次いで癌尿糖蛋白分画を抗原として家兎に注射し、その抗血清を用いてその抗原性を吟味し、更に抗尿糖蛋白 (Anderson) 血清及び抗血清糖蛋白 (Winzler) 血清を用いて、諸種疾患における血清及び尿糖蛋白を試験抗原として、血清及び尿糖蛋白の質的關係を免疫化学的方法で観察した。

なお糖蛋白の分類と命名に関して従来多くの研究者により提案され、種々論議されているが、今日なお統一されたものがない。本研究では、一般的名称であるムコ蛋白 (mucoprotein) の名称を用いる。

I 各種疾患における血清及び尿ムコ蛋白の変動

諸種疾患時に血清ムコ蛋白値が変動することはよく知られており、その報告^{2)5)17)~20)}も多いが、尿ムコ蛋白の排泄量の変動についての報告¹⁸⁾¹⁹⁾²¹⁾は比較的少な

Studies On The Urinary Mucoproteins. Etsuro Funaki, Department of Pathology (II) (Director: Prof. T. Ishikawa), School of Medicine Kanazawa University. Department of Internal Medicine (I) (Director: Prof. J. Takeuchi), School of Medicine Kanazawa University.

い。著者は正常人及び入院患者を主とした諸種疾患々者の血清ムコ蛋白値を測定すると同時に、尿ムコ蛋白の2分画 (Anderson並びに Tamm) についてその排泄量を測定し、その相互関係を量的に観察した。被検材料の採取は入院後できるだけ早期に行ない、治療等による影響を少なくするよう努めた。

実験方法

1. 血清ムコ蛋白 (Winzler) の測定

血清ムコ蛋白の測定は先ず過塩素酸、三塩化醋酸、スルフォサリチル酸等の所謂除蛋白剤によつて熱凝固蛋白を沈澱させ、その濾液に燐タングステン酸、硫酸ソーダ、エタノールを加えてムコ蛋白を沈澱させ、蛋白質、チロジン、窒素、ヘキソース、シアール酸等に関する反応を行ない定量するものである。著者は Winzler¹⁾ 並びに Ayala²⁾ らの方法に基づいた Lockey, Anderson³⁾ 及び Maclagan⁴⁾ の方法によつた。採血は早朝空腹時に行ない、血清を分離、測定に供した。

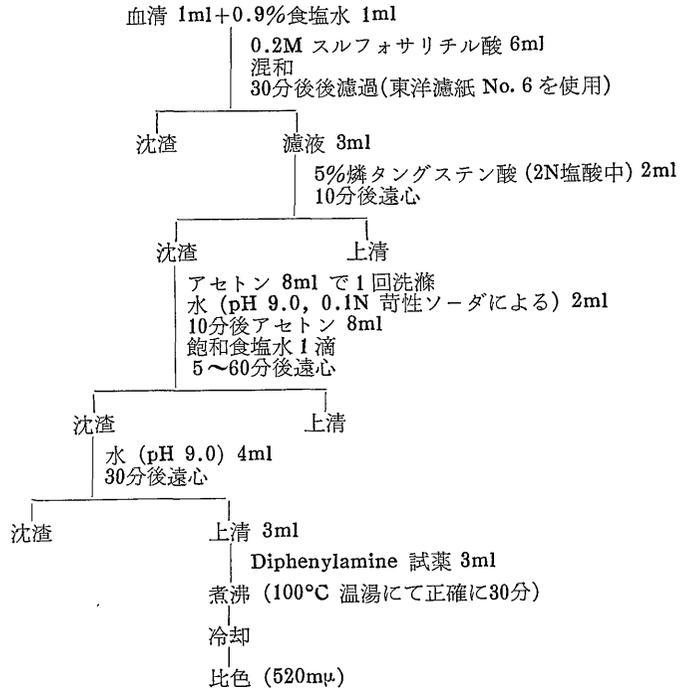
血清ムコ蛋白の測定法の概要を図1に、標準曲線を図2に示す。

2. 尿ムコ蛋白 (Anderson) (以下尿ムコ蛋白 (A) と略す) の測定

今日尿ムコ蛋白測定の最も優れた方法として Anderson⁵⁾ 及び Maclagan⁶⁾ の方法が用いられる。即ち彼らは尿ムコ蛋白を安息香酸に吸着させて分離し、これに Diphenylamine 試薬を加えて煮沸し、発色させる比色定量法を提唱している。なお吸着方法として安息香酸のアセトン溶液を用いる方法と、安息香酸ソーダと塩酸を用いる方法があり、前法で得たものを A₁、後法で得たものを A₂ としている。A₁ と A₂ の分析値は大差なく、大体同じ物質とみられている。著者は彼らの方法に従つて A₂ を分離・測定した。被検材料は24時間尿の一部を採り測定し、得られた値より1日量を算出した。

Maclagan²¹⁾³¹⁾ によると、尿中ムコ蛋白の排泄は血清ムコ蛋白と同様各種疾患についてかなりの変動を示す。彼は尿中ムコ蛋白濃度と尿比重との間には一定の

図 1 血清ムコ蛋白の測定法



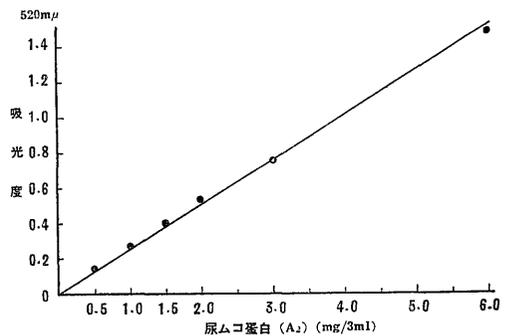
標準曲線: 尿ムコ蛋白 (A₂)—後述一により作成

対照: 血清 1ml の代りに0.9%食塩水

Diphenylamine 試薬:

Diphenylamine	1.0g
氷醋酸	90ml
濃硫酸	10ml

図 2 血清ムコ蛋白及び尿ムコ蛋白 (A) 測定用標準曲線



関係があり、尿ムコ蛋白濃度を尿比重の下2桁で除した値を Relative Urine Concentration (R.U.C.), 相対尿排泄濃度として表わし、この函数を用いて、各種疾患における尿ムコ蛋白量の比較をするのが妥当であるとしている。よつて著者も尿ムコ蛋白濃度より R.U.C.

を算定し、比較検討した。

尿ムコ蛋白 (A) の測定法の概要を図 3 に示す。

3. 尿ムコ蛋白 (Tamm) (以下尿ムコ蛋白 (T) と略す) の測定 Tamm 及び Horsfall の⁷⁾ は尿に食塩を加え、その終末濃度を 0.58 M とし、放置して生ずる沈澱を 0.58M の食塩水で洗滌し、透析・凍結乾燥して一種のムコ蛋白を得、これがビールの血球凝集作用を抑制するムコ蛋白を含むことをみ、Boyce³²⁾³³⁾ らは 1M 食塩水 (または 0.1M ペロナール緩衝液 pH 8.6) に対する溶解性により尿膠質を 2 群に分ち、不溶性膠質を Tamm らの得たムコ蛋白と同一物質としている。著者はこの尿ムコ蛋白 (T) を Engel³⁴⁾ の方法に準じて分離・測定した。被検材料は尿ムコ蛋白 (A) と同様で、ムコ蛋白濃度、1 日排泄量及び R.U.C. を算定した。

尿ムコ蛋白 (T) の測定法の概要を図 4、標準曲線を図 5 に示す。

実験成績

1. 正常人の測定成績 (表 1, 図 6~14 に○印にて示す)

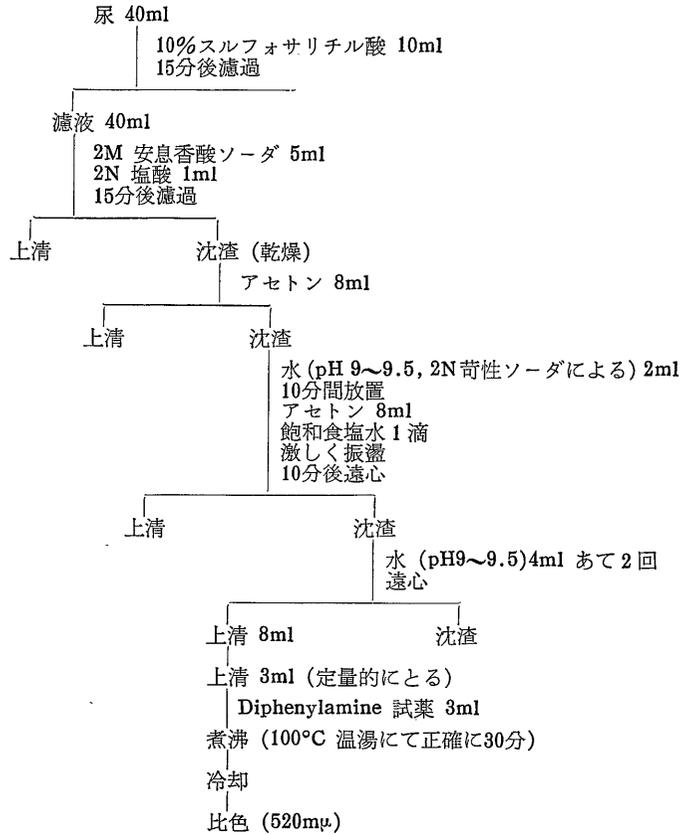
正常人 21 例の血清ムコ蛋白値は 83.0~144.8mg/dl, 平均 115.3mg/dl であつた。同時に測定した尿ムコ蛋白 (A) は 9.25~26.66mg/dl, 平均 17.74mg/dl, 平均 92.5~200.0 mg/day, 平均 143.3mg/day, R.U.C. は 0.46~0.98, 平均 0.74 であつた。尿ムコ蛋白 (T) は 3.52~8.97mg/dl, 平均 6.56mg/dl, 25.0~88.6mg/day, 平均 55.6mg/day, R.U.C. は 0.15~0.41, 平均 0.29 であつた。

次いでムコ蛋白値にかなりの変動を示すといわれている数種の疾患の血清ムコ蛋白及び尿ムコ蛋白 (A) についてみると、

2. 膠原病 (表 2, 図 6)

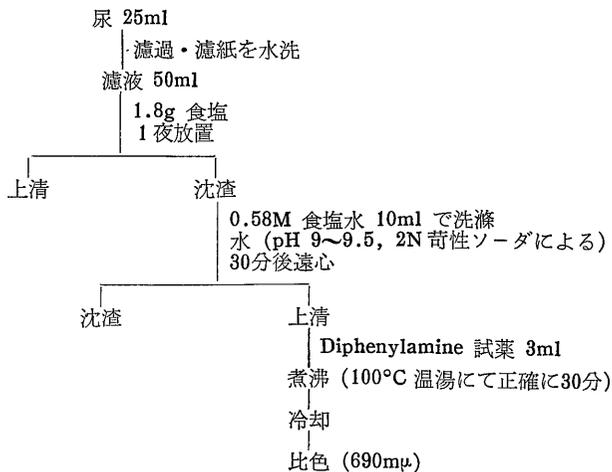
汎発性鞏皮症 1 例, リウマチ性關節炎 1 例, リウマチ様關節炎 3 例の

図 3 尿ムコ蛋白 (A) の測定法



標準曲線: 尿ムコ蛋白 (A₂) により作成

図 4 尿ムコ蛋白 (T) の測定法



標準曲線: 尿ムコ蛋白 (T) により作成

膠原病の血清ムコ蛋白値は 213.0~690.1mg/dl, 平均 365.1mg/dl で全例高値を示し, 尿ムコ蛋白 (A) は 11.56~39.92mg/dl, 平均 30.39mg/dl, 196.4~479.0 mg/day, 平均 335.4mg/day で 1 例を除いていずれも高値を示し, R.U.C. も 1.77~2.38, 平均 2.20 で全例高値を示した。

3. 悪性腫瘍性疾患 (表 3, 図 7)

白血病を悪性腫瘍とみるか否かは問題であるが白血病 2 例, 癌 8 例, その他 1 例 (悪性腫瘍による閉塞性黄疸) を一括してみると, 血清ムコ蛋白値 110.8~106.7mg/dl, 平均 204.2mg/dl で 10 例中 9 例が高値を示し, 尿ムコ蛋白 (A) は 9.66~32.49mg/dl, 平均 19.15mg/dl, 113.9~283.4mg/day, 平均 173.8mg/day で 9 例中 3 例が高値を示したに過ぎないが, 低

図 5 尿ムコ蛋白 (T) 測定用標準曲線

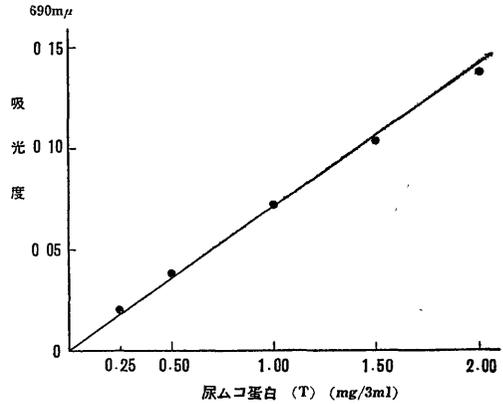


表 1 正 常 人

番号	氏 名	年齢	性	血清ムコ蛋白値 (mg/dl)	尿 (cc) 量	比 重	尿ムコ蛋白 (A)濃度 (mg/dl)	尿ムコ蛋白 (A)量 (mg/day)	R.U.C. (A)
1	○村○治	25	♂	88.4	1,000	1020	9.25	92.5	0.46
2	○木○郎	28	♂	115.2	550	1030	29.40	161.7	0.98
3	○田○成	31	♂	83.0	800	1028	17.33	138.6	0.62
4	○田○	31	♂	115.1	1,150	1019	13.16	151.3	0.69
5	良○田○	25	♂	144.8	1,150	1018	16.08	184.9	0.89
6	○田○雄	28	♂	124.6	750	1031	26.66	200.0	0.86
7	○野○郎	29	♂	99.4	750	1020	14.61	109.6	0.73
8	○出○二○	26	♂	130.2	700	1022	15.41	107.9	0.70
9	○浅○也	27	♂	117.2					
10	○山○一	26	♂	127.8					
11	○幡○次	28	♂	95.9					
12	○野○	35	♂	127.8					
13	○池○春○	28	♀	103.4					
14	○松○明	25	♂	98.0					
15	○月○え○	29	♂	93.7					
16	○田○子	21	♀	98.0					
17	○田○夫	24	♂	136.3					
18	○橋○代○	24	♀	94.0					
19	○谷○玲○	26	♀	140.6					
20	○田○	25	♂	144.8					
21	○倉○	31	♂	142.2					

表 2 膠 原 病

症例番号	氏 名	診 断	年齢	性	血清ムコ蛋白値 (mg/dl)	尿 量 (cc)	比 重	尿ムコ蛋白 (A)濃度 (mg/dl)	尿ムコ蛋白 (A)量 (mg/day)	R.U.C. (A)
1	○内○作	汎発性皰皮症	60	♂	213.0	1,250	1018	31.81	407.6	1.77
2	○秀○	リウマチ性関節炎	21	♀	369.2	1,200	1017	39.92	479.0	2.35
3	○田○美	リウマチ様関節炎	51	♀	690.1	700	1014	32.49	227.4	2.32
4	○本○イ○	"	42	♀	324.5	750	1011	26.18	196.4	2.38
5	○本○松	"	48	♂	228.8	1,700	1010	21.56	366.5	2.16

図6 膠原病

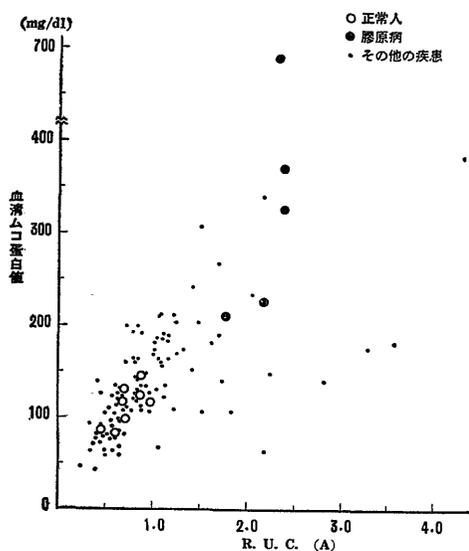


図7 悪性腫瘍性疾患

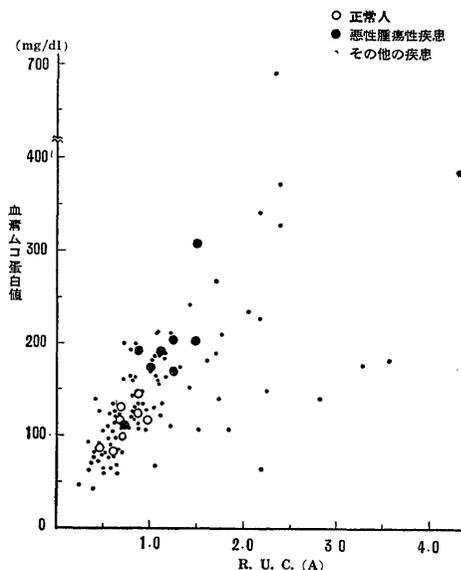


表 3 悪性腫瘍性疾患

症例番号	氏名	診断	年齢	性	血清ムコ蛋白値 (mg/dl)	尿量 (cc)	比重	尿ムコ蛋白(A)濃度 (mg/dl)	尿ムコ蛋白(A)量 (mg/day)	R.U.C. (A)
1	○川○治	喉頭癌	43	♂	191.8	2,100	1011	9.66	202.9	0.88
2	○田○二	閉塞性黄疸(悪性)	75	♂	268.4					
3	○村○象	肝癌	71	♂	174.7	800	1014	14.24	113.9	1.02
4	○賀○吉	慢性骨髄性白血病	33	♂	204.5	700	1022	32.49	227.4	1.48
5	○村○久	胃癌・癌性腹膜炎	50	♀		500	1012	26.59	133.0	2.22
6	○田○作	転移性肝癌	59	♂	204.5	1,000	1023	28.36	283.4	1.23
7	○野○ン	両側癌性胸膜炎	45	♀	169.9	900	1012	16.66	149.9	1.25
8	○井○太○	噴門部癌	56	♂	306.7	1,000	1010	14.99	149.9	1.50
9	○江○男	急性骨髄性白血病	14	♂	191.8	100	1012	13.49	121.4	1.12
10	○口○フ	子宮癌	37	♀	219.1					
11	○中○男	胃癌	57	♂	110.8	1,150	1022	15.83	182.0	0.72

表 4 肝実質障碍

症例番号	氏名	診断	年齢	性	血清ムコ蛋白値 (mg/dl)	尿量 (cc)	比重	尿ムコ蛋白(A)濃度 (mg/dl)	尿ムコ蛋白(A)量 (mg/day)	R.U.C. (A)
1	○間○枝	肝硬変症	50	♀	49.7	1,100	1017	4.25	46.8	0.25
2	○崎○久○	"	42	♂	42.6	400	1027	10.83	43.3	0.40
3	○田○治	"	44	♂	60.4	900	1030	20.58	185.2	0.65
4	○田○登	肝硬変症疑	47	♂	105.7	800	1024	14.40	115.2	0.60
5	○木○よ	"	61	♀	81.0	2,100	1015	7.75	162.8	0.52
6	○本○則	肝炎	15	♂	67.5	400	1035	22.66	90.6	0.65
7	○田○代○	慢性肝炎	32	♀	63.9					
8	○森○二	"	35	♂	65.4	1,400	1025	14.49	202.9	0.58
9	○畠○秀	"	38	♂	78.1	800	1024	14.99	119.9	0.62
10	○成○子	血清肝炎	22	♀	78.6	1,100	1020	10.00	110.0	0.50
11	○沢○子	"	52	♀	82.1	1,600	1016	6.42	102.7	0.40
12	○明○雄	"	31	♂	102.3					

値を示した例はなく、R.U.C. は0.72~2.22, 平均1.27で9例中7例が高値を示し、低値を示した例はなかつた。

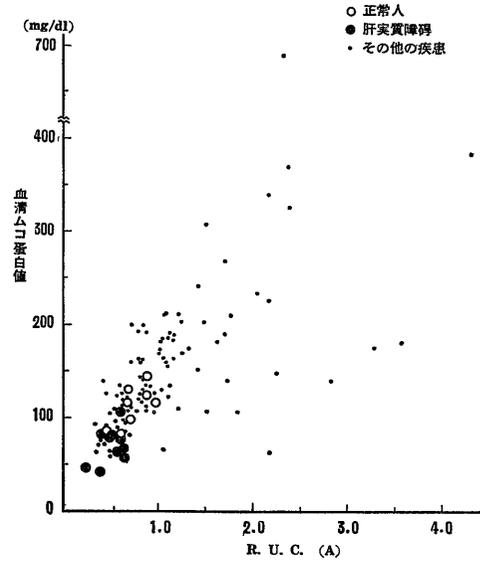
4. 肝実質障害 (表4, 図8)

肝実質障害12例中, 肝硬変症3例, 肝硬変症疑い2例, 肝炎1例, 慢性肝炎3例, 血清肝炎3例で肝硬変症疑いの2例はいずれも肝機能障害を明らかに有するが慢性肝炎との鑑別が困難であつたものである。また肝炎においてビリルビン尿を示したものは比色が妨げられ測定し得なかつた。血清ムコ蛋白値は42.6~105.7mg/dl, 平均73.1mg/dlで12例中10例が低値を示し, 他の2例も正常の平均より低値であつた。尿ムコ蛋白(A)は4.25~22.66mg/dl, 平均12.64mg/dl, 43.3~202.9mg/day, 平均117.9mg/dayで10例中3例が低値を示し, 高値を示した例は1例のみであり, R.U.C. は0.25~0.65, 平均0.52で3例が低値を示したが, 高値を示した例はなかつた。

5. 腎疾患 (表5, 図9)

著明な蛋白尿を呈した腎疾患例中, 慢性腎炎10例, 急性腎炎4例, ネフローゼ症候群1例, 他4例であつた。血清ムコ蛋白値は63.9~383.4mg/dl, 平均173.3mg/dl, で19例中12例が高値を, 1例が低値を示した。尿ムコ蛋白(A)は8.50~74.12mg/dl, 平均36.36mg/dl, 63.8~572.8mg/day, 平均288.4mg/dayで

図8 肝実質障害



18例中11例が高値を, 1例が低値を示し, R.U.C. は1.14~4.31, 平均2.03でいずれも高値を示した。慢性腎炎についてみると血清ムコ蛋白値は106.6~183.2mg/dl, 平均160.6mg/dlで10例中8例が高値を示した。尿ムコ蛋白(A)は15.58~74.97mg/dl, 平均39.38mg/dl, 143.7~524.8mg/day, 平均309.8mg/day

表5 腎疾患

症例番号	氏名	診断	年齢	性	血清ムコ蛋白値 (mg/dl)	尿量 (cc)	比重	尿ムコ蛋白(A)濃度 (mg/dl)	尿ムコ蛋白(A)量 (mg/day)	R.U.C. (A)	N.P.N. (mg/dl)
1	○代○雄	慢性腎炎	25	♂	106.6	1,000	1022	40.57	405.6	1.84	31
2	○川○憲	"	53	♂	183.2	700	1021	74.97	524.8	3.57	55.5
3	○崎○枝	"	28	♂	149.2	850	1017	38.15	324.3	2.24	22.0
4	葉○兵○	"	27	♂	140.6	800	1033	57.08	486.6	1.73	35.0
5	○多○靖○	"	21	♂	174.9	700	1027	35.40	247.8	1.31	38.5
6	○田○	"	29	♂	183.2						
7	○田○美○	"	40	♀	152.7	1,000	1011	15.58	155.8	1.42	16.0
8	○須○	"	28	♂	149.2	850	1017	38.15	324.3	2.24	44.5
9	○崎○	"	23	♂	182.8	680	1016	25.82	175.6	1.61	49.0
10	○子○八○	"	18	♂	183.2	500	1025	28.74	143.7	1.15	28.0
11	○田○苗	急性腎炎	16	♀	106.6	750	1014	21.03	159.8	1.52	18.5
12	○林○	"	20	♂	144.1	700	1018	14.58	102.1	0.81	25.0
13	○山○一	"	52	♂	136.3	750	1027	30.82	231.2	1.14	28.5
14	○峯○智○	"	17	♀	140.6	750	1003	8.50	63.8	2.83	16.0
15	○居○太○	ネフローゼ症候群	19	♂	63.9	350	1034	74.12	259.4	2.18	40.0
16	○上○	腎盂腎炎	30	♀	340.8	1,600	1010	21.74	347.8	2.17	51.0
17	○田○子	腎盂腎炎疑	37	♀	191.8	800	1020	22.91	183.3	1.15	31.0
18	○柳○一	腎不全	54	♂	178.9	1,250	1014	45.82	572.8	3.27	45.0
19	○本○子	腎炎	18	♀	383.4	800	1014	60.31	482.5	4.31	62.0

図9 腎疾患

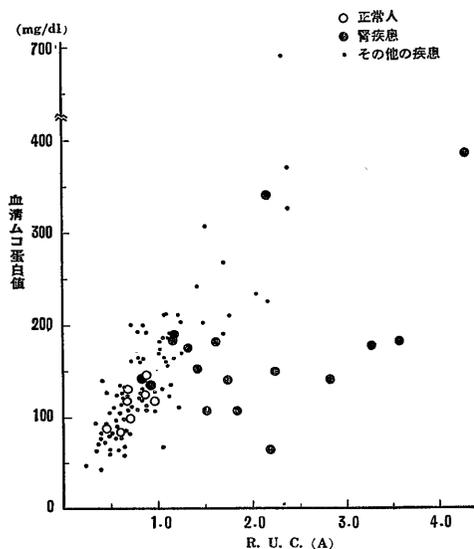


図10 慢性感染症

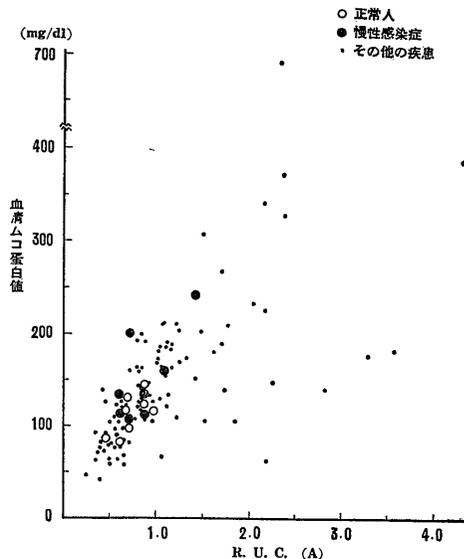


表 6 慢性感染症

症例番号	氏名	診断	年齢	性	血清ムコ蛋白値 (mg/dl)	尿量 (cc)	比重	尿ムコ蛋白(A)濃度 (mg/dl)	尿ムコ蛋白(A)量 (mg/day)	R.U.C.(A)
1	○匠○郎	肺結核	44	♂	136.3	1,000	1020	17.33	173.3	0.87
2	○田○太○	"	47	♂	113.5	1,800	1024	21.16	380.9	0.88
3	○田○枝	"	40	♀	106.6	1,600	1012	8.41	135.6	0.70
4	○村○栄	"	34	♀	160.1	1,400	1016	17.08	239.1	1.07
5	○名○栄	"	28	♀	200.3	1,200	1032	22.66	271.9	0.71
6	○田○	"	61	♀	136.3	2,100	1014	3.49	178.3	0.61
7	○岡○子	肺結核 気管支喘息	34	♀	115.1	500	1015	9.41	47.1	0.63
8	○林○雄	"	49	♂	242.8	1,100	1020	28.49	313.4	1.42

day で9例中6例が高値を示した。R.U.C. は 1.15~3.57, 平均1.90でいずれも高値であつた。急性腎炎においては血清ムコ蛋白値 106.6~144.1 mg/dl, 平均 131.9mg/dl で4例とも正常域にあり, 尿ムコ蛋白(A) は 8.50~30.82mg/dl, 平均 18.73mg/dl, 63.8~231.2mg/day, 平均 175.2mg/day で4例中1例が高値を, 1例が低値を示し, R.U.C. は0.81~2.83, 平均1.58で3例が高値を示した。

6. 慢性感染症 (表6, 図10)

慢性感染症として肺結核8例, 内2例は気管支喘息を合併した。血清ムコ蛋白値は 106.6~242.8mg/dl, 平均 151.4mg/dl で2例が高値を示した。尿ムコ蛋白(A) は 8.41~28.49mg/dl, 平均 16.63mg/dl, 47.1~380.9mg/day, 平均 217.5mg/day で4例が高値を, 1例が低値を示し, R.U.C. は 0.61~1.42, 平均0.86で2例が高値を示した。気管支喘息の合併は2例で-

定の傾向を見出し得なかつた。

尿ムコ蛋白(T)は腎疾患9例では 3.33~8.78mg/dl, 平均 5.91mg/dl, 27.4~73.9mg/day, 平均 49.5mg/day, R.U.C. は0.15~0.54, 平均0.29であり, 腎以外の諸疾患37例では 2.68~12.32mg/dl, 平均 6.29mg/dl, 17.6~104.9mg/day, 平均 56.1mg/day, R.U.C. は 0.13~0.74, 平均0.30でいずれも正常人との間に差を認めなかつた。

小 括

1. 以上数種の疾患にみられる傾向を疾患別に考察すれば

1) 膠原病では血清ムコ蛋白値, 尿ムコ蛋白(A)量, R.U.C. とも高度の上昇を示した。

2) 悪性腫瘍性疾患では, 血清ムコ蛋白値及びR.U.C. は中等度の上昇を, 尿ムコ蛋白(A)量は軽度

の上昇傾向をみた。

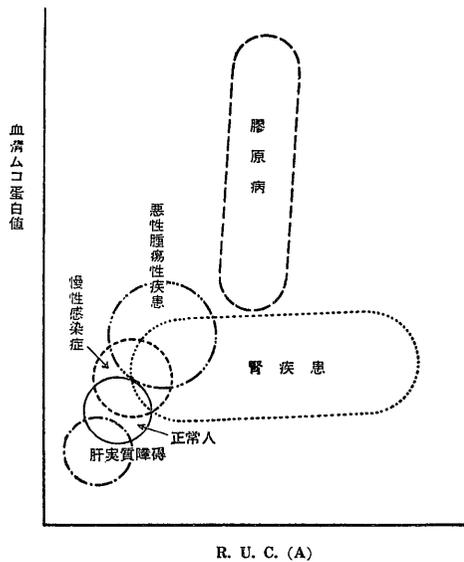
3) 肝実質障害では血清ムコ蛋白値及び R.U.C. はかなりの減少を, 尿ムコ蛋白 (A) 量は軽度の減少傾向を示した。

4) 腎疾患では血清ムコ蛋白値は中等度の上昇を, 尿ムコ蛋白 (A) 量及び R.U.C. は高度の上昇を示し, 急性腎炎では R.U.C. が中等度の上昇を示し, 血清ムコ蛋白値及び尿ムコ蛋白 (A) 量は大略正常域にあつた。

5) 慢性感染症では血清ムコ蛋白値及び尿ムコ蛋白 (A) 量が上昇傾向を示し, R.U.C. も僅かに上昇傾向を示した。

6) 以上数種の疾患及び正常人の血清ムコ蛋白値及び R.U.C. の大体の分布を 図示すれば 図11の如くなる。

図 11



2. 次に血清ムコ蛋白と尿ムコ蛋白との量的相関々係を正常人及び諸種疾患について考察すれば

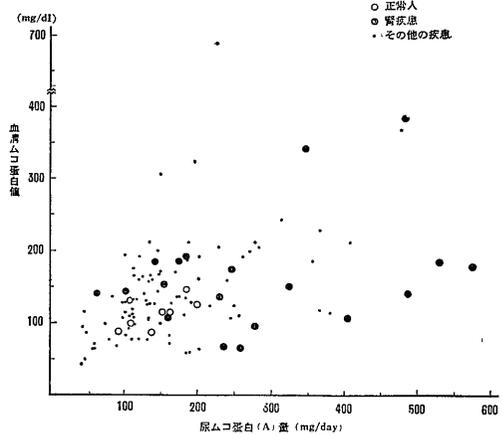
1) 血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白 (A) 量

116例について血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白 (A) の1日排泄量を同時に測定したが, 図12に示す如く, 正常群, 諸種疾患群とも各々その分布が粗であり, 相関々係を見出すのが困難であつた。但し腎疾患群以外では僅かに血清・尿ムコ蛋白量の比例傾向が認められる。

2) 血清ムコ蛋白値と R.U.C. (A)

前述の如く, 尿ムコ蛋白濃度を Maclagan に従つて R.U.C. に換算し, これと血清ムコ蛋白値との関係を見るに, 図6~図10からも明らかなように, 各プロッ

図12 血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白 (A) 量



トの分布は著しく密となる。即ち両ムコ蛋白に一定の相関々係を認める。この関連性は正常群においても, 疾患群においてもほぼ同様である。但し, 腎疾患のみには例外で, 一般に血清ムコ蛋白値は正常値乃至中等度の増加をみるに過ぎないが, R.U.C. は著しく高く, これは腎の尿排泄機能の障碍に基づくものと解釈される。

3) 血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白 (T) 量

血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白 (T) の1日排泄量を同時に測定すると, 54例の症例については図13に示す如く, 相関々係を認めない。なお腎疾患についても, 他の疾患群或いは正常群との間に差異を認めない。

4) 血清ムコ蛋白値と R.U.C. (T)

図14に示す如く, いずれの被検群においても相関々

図13 血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白 (T) 量

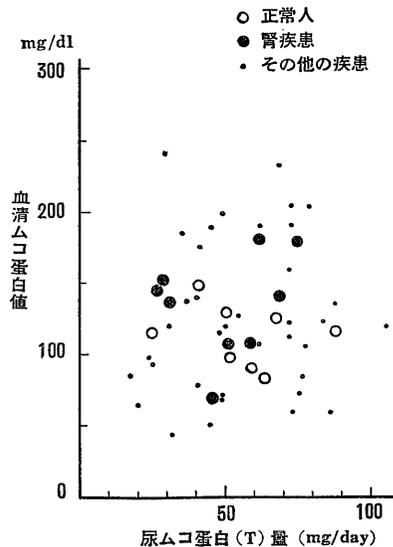
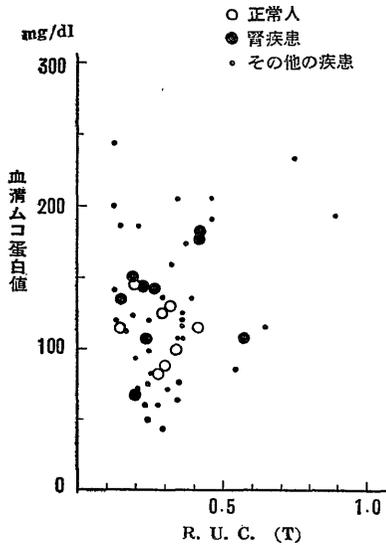


図14 血清ムコ蛋白値と R.U.C. (T)



係を見出せない。

以上の成績は抗原分析の結果とあわせて、後に論ずることとする。

II 尿ムコ蛋白の免疫学的考察

抗原抗体反応に基づいて尿ムコ蛋白を解析する場合、まず第一に注射抗原としての尿ムコ蛋白分画の調製、次にそれに対応した抗体が必要である。諸種疾患に際して尿ムコ蛋白が量的に増減することは前節の実験からも明らかであり、更に疾患、殊に癌尿では正常人尿にみられない、即ち質的に異なつたムコ蛋白も存在すると示唆されている¹⁸⁾³⁵⁾³⁶⁾。一方、ムコ蛋白の抗原分析に用いる抗血清はできるだけ種々の抗原に対する抗体を多く含んでいる方が望ましいことはいうまでもない。この点から抗原用ムコ蛋白調製には収量のよい、しかも種々の抗原成分を含んでいると考えられる癌尿について行なつた。

免疫に際しては、Freund³⁷⁾の Adjuvant 法を用いた。いうまでもなく、Adjuvant 法は抗体生産の増強・延長をもたらす、しかも少量の抗原量でこれを達成することができるという優れた利点をもっている。このことは教室同人三宅³⁸⁾が卵白アルブミンを抗原として実証し、2回筋肉注射法がよいとしている。本研究においてもその術式に準拠した。

次に免疫によつて得られる抗血清もその採血時期によつて、含有する抗体に量的並びに質的にかなりの変動のあることが認められており³⁹⁾、このことはいかなる時期に採取した抗血清が最も良い抗原分析成績を

げうるか、その時期の選択の必要なことを指向している。

以上の観点から、癌尿ムコ蛋白 (A) を抗原とし、Freund の Aduvant 2回筋注法によつて家兎を免疫し、得られた抗血清を経時的に比較・観察し、また抗原組成を解析した。

実験方法

1. 抗原の作製

Anderson 及び Maclagan⁸⁾の方法に従つて癌尿ムコ蛋白 (A₂) を抽出し、感作抗原及び試験抗原として使用した。尿ムコ蛋白 (A₂) の抽出法を図15に示す。

2. 抗血清の作製

抗原液 (35mg/ml) 1 ml, 流動パラフィン 2 ml, 乾燥 B.C.G. 4mg, Falba 油 1ml を混合して乳剤とし、これを家兎の両肩胛骨下腔に分割注射し、1週間後に再び同量を注射した。最終注射4週間後より24週間まで毎週、空腹時耳朶より採血し、血清を分離して氷結保存し、用に臨み溶解使用した。

3. 沈降反応重層法³⁹⁾

a) 抗原価測定: 沈降反應用の毛細試験管 (内径 1 mm, 長さ 1.5cm) に抗血清原液を入れ、その上に1%抗原液2倍連続稀釈液を重層し、陽性反応を示した最終抗原稀釈倍数 ($\times 2^n$) の n で抗原価を表わした。反応の判定は抗原を重層した後、37°C に1時間、4°C に30分入れた後行なつた。

b) 抗体価測定: 抗原価測定と同様の毛細試験管に1.5%アラビヤ・ゴム液で2倍連続稀釈した抗血清を入れ、その上に0.1%抗原液を重層し、陽性反応を示した最終抗血清稀釈倍数 ($\times 2^n$) の n で抗体価を表わした。反応の判定は前記と同様である。

c) 反応の場 (緒方) 測定: 1%抗原液を原液としてその2倍連続稀釈列と家兎抗血清の2倍連続稀釈列とのすべての組合せについて両者を重層して、陽性反応を示した範囲を囲み、抗原の稀釈度 ($\times 2^n$) を横軸に、抗血清の稀釈度 ($\times 2^n$) を縦軸にとつて反応の場とした。

4. Immunoelectrophoresis (免疫電気泳動法)

Graber¹⁵⁾によつて創案された Immunoelectrophoresis は寒天板中に抗原を電気泳動によつて分画し、これに抗血清を作用させて拡散による沈降反応を行なうものである。従つて、抗原組成の数の指摘が比較的容易であり、また沈降線の弧の頂点の位置によつて抗原組成の電気泳動の性質を決定し得る。免疫電気泳動法には種々の変法が考案されているが、著者は教室での術式⁴⁰⁾に従い、判定、切片化、染色等もその記

載に従った。

a) 寒天平板の作製: (図16) 4% 固形寒天 30g, マーゼニン (1:1000) 9ml, ペロナール緩衝液 ($\mu=0.1$, pH 8.3) 22.5ml に水を加えて 90ml とし, 加熱溶解後濾過し, 予め作製したガラス板 (1% 寒天液を塗布, 乾燥して coating せるもの) にパラフィンにて固定したアクリライト製の枠 (f) 内に 23ml 注加し, 固まらぬ間に, 濾紙片 (c) (東洋濾紙 No. 50) を寒天メジウム内に挿入する。更に濾紙片上も前記寒天液にて被う。寒天メジウムが固まった後, 図の如く抗原池 (a) を設け, 寒天板を水平に電極槽 (d) に載せ, 濾紙片の遊離端を電極槽内の緩衝液 (ペロナール・塩酸緩衝液: $\mu=0.05$, pH 8.3) 中に浸し 銀電極 (e) を入れる。

b) 電気泳動: 寒天平板と両端の電極槽を連結した後20~30分放置, 更に電流を10分間通じてから一旦, 電流を切り, 抗原池に試験抗原 (1% 水溶液, 0.02ml) を入れ, 定電流とし, 15mA, 80~90 Volt, 2時間30分泳動する。泳動中は泳動部分はすべて密閉箱中に置かれる。泳動終了後直ちに寒天平板を泳動装置よりはずし, 抗血清溝 (b) を掘り, 抗血清を 0.4ml 入れる。抗血清溝を泳動後に掘ることによつて泳動が均一に行なわれる。

電気泳動で展開された抗原と後で加えられた抗血清が寒天層中に拡散して弧状の沈降線を形成する。4~5日後, 寒天板を抗血清溝に沿つて帯状の切片に切り, 生理的食塩水にて4~5回洗滌し, 免疫反応に関与しない蛋白を除く。薄片をガラス板上に載せ, 濾紙にて被つて室温乾燥固定する。乾燥後 Thiazin Red 液にて20分間染色する。沈降線は赤色に染まる。2% 醋酸液にて2~3回洗滌, 沈降線を観察し或いは写真撮影を行なつて記録する。

実験成績

1. 抗原価の推移

抗癌尿ムコ蛋白血清に対し, 抗原として癌及び正常人尿ムコ蛋白を用いた。代表的な抗原価の推移を図17に示す。抗原価は家兎 No. 23 の抗血清に対し最終感

図15 尿ムコ蛋白 (A₂) の抽出法

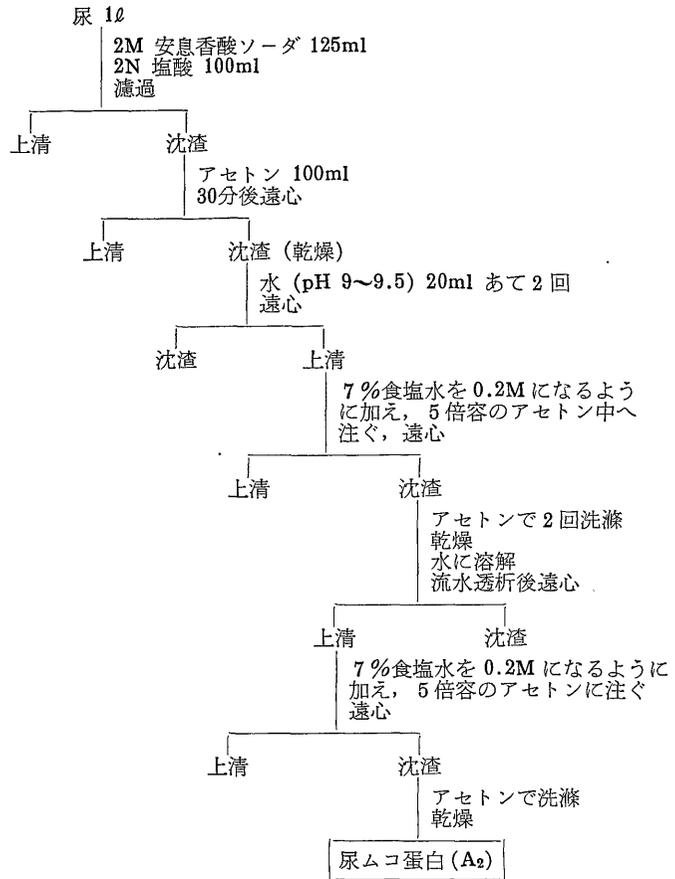
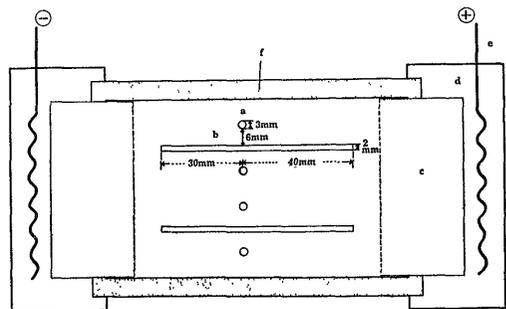


図 16



作後, 癌尿ムコ蛋白では7週以後, 正常人尿ムコ蛋白では6週以後 $n=7\pm 1$ であった。家兎 No. 24 の抗血清に対して, 癌尿ムコ蛋白は6週以後, 正常人尿ムコ蛋白は7週以後 $n=8\pm 1$ であった。11匹の家兎に対し, 癌尿ムコ蛋白を抗原として感作し, 抗血清を得た。いずれも家兎 No. 23 及び24と大略同様の抗原価の推移を示したが, その中でも比較的安定した値を示

図17 抗原価の推移

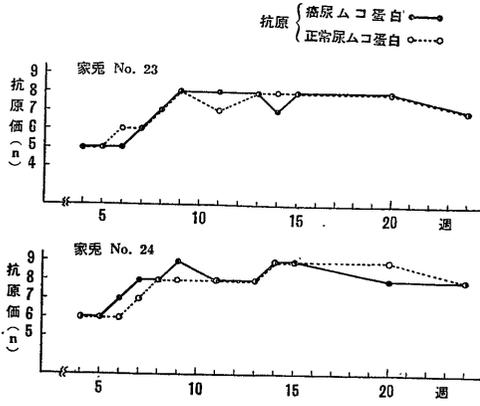
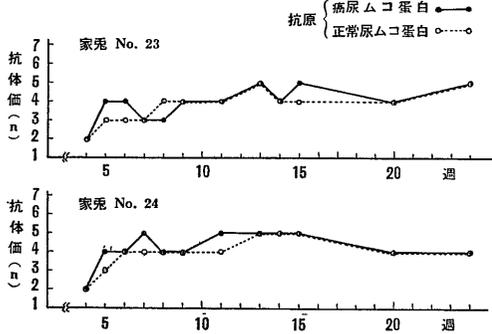


図18 抗体価の推移



した上記家兎抗血清を以後用いることとした。

2. 抗体価の推移

抗原価測定と同様、抗原として癌及び正常人尿ムコ蛋白を用いたが、抗体価の推移を図18に示す。抗体価は家兎 No. 23 抗血清では癌尿ムコ蛋白に対して5週以後、正常人尿ムコ蛋白に対しても5週以後 $n=4\pm 1$ を示した。家兎 No. 24 抗血清でも同様いずれも5週以後 $n=4\pm 1$ であつた。

3. 反応の場の推移

抗原として癌及び正常人尿ムコ蛋白を用い、各々に対する反応の場の推移を図19に示す。いずれも左下方に抗原過剰の反応抑制帯を示し、一部右下方に鉤形を示した。

緒方によれば、抗原価における $n\pm 1$ の増減は、手技、抗血清の膠質状態その他による当然の動揺範囲と考えられるという。この見地よりすれば、抗原価は6~7週以後24週まで安定した値といえよう。同様に抗体価及び反応の場も比較的安定した成績を示した。以上抗原価、抗体価及び反応の場を通じて、抗癌尿ムコ蛋白血清に対し、抗原として癌尿ムコ蛋白と正常人尿

図19 反応の場の推移

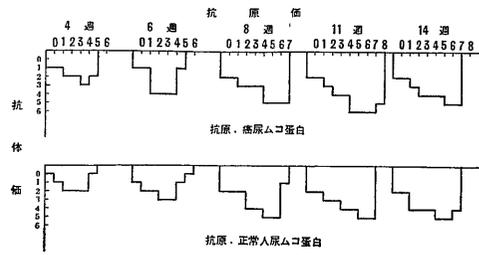


図20 免疫電気泳動法による抗血清の経時的解析

抗原：癌尿ムコ蛋白 (A)					抗血清	抗原：正常人尿ムコ蛋白 (A)				
-	+	-	+	-		+	-	+	-	+
γ-gl.	β-gl.	α ₁ -α ₂	Pre-gl.	alb.		γ-gl.	β-gl.	α ₁ -α ₂	Pre-gl.	alb.
1)					4週	1)				
2)					6週	2)				
3)					8週	3)				
4)					11週	4)				
5)					14週	5)				
6)					20週	6)				
7)					24週	7)				

ムコ蛋白を用いたが、両者の間に著明な差異を認めなかつた。

4. Immunoelectrophoresis による抗血清の経時的解析

癌及び正常人尿ムコ蛋白の一定量 (1%, 0.02ml) を抗原として、抗血清の経時的変動を解析した。成績の1例を図20, 写真1, 2に示す。

最終注射後4週に得た抗血清は $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位に1本の強い沈降線を形成し、 β -globulin 位に1本の中等度の強さのかなり巾広い沈降線を、他に prealbumin 位に1~2本の、 $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位に1本の、 β -globulin 位に1本の、 γ -globulin 位に1本のそれぞれ微弱な沈降線が得られた。6週では全般にややこのパターンが増強されるが、8週から11週にかけて更に prealbumin 位の沈降線が鮮鋭、明瞭となり、 γ -globulin 位のはかえつて巾広く不鮮明となつて来た。14週以後24週に至るまで prealbumin 位に2本、 $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位に2本、 β -globulin 位の2本の計6本の沈降線は鮮明で、しかもほぼ同一の強さを保っている。ただ γ -globulin 位だけは巾広い、不鮮明な沈降線を形成し、抗体過剰の像を呈している。

従つて最終注射後4週において殆んどすべての抗体組成が抗血清に含まれており、それが14週以後に充分量に存することが明らかとなつた。

また同一の抗血清に対する癌患者と正常人の尿ムコ蛋白抗原のそれぞれのパターンは幾分異なつており、

総体的にみて、癌尿ムコ蛋白抗原との沈降線はアークも大であり、沈降量も多いことが認められ、また11週目の抗血清との反応では $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位に1本の新たな沈降線が見出された。しかしながら抗血清を正常人尿ムコ蛋白により吸収することによつて、いずれの沈降線も消失した。このことは癌と正常人尿ムコ蛋白ではそれぞれの抗原組成に量的差は認められるが、本実験においては癌尿ムコ蛋白の特異的抗原組成のないことを示している。

なお本抗血清中には血清アルブミンに対する抗体は証明されなかつた。

Ⅲ 血清ムコ蛋白及び尿ムコ蛋白 (A並びにT)の抗原分析

正常尿にも血清蛋白や尿路粘膜上皮に由来する蛋白が含まれていることは、今世紀の初め頃既に知られていたが⁴²⁾、これら尿中の蛋白と血清蛋白との性状が詳しく比較検討されたのは、比較的最近の Rigas 及び Heller⁴³⁾ による電気泳動的研究に始まつている。彼らによれば、尿蛋白成分は血清蛋白成分とほぼ同程度の易動度をもつており、血清とは逆にアルブミンよりもグロブリン分画に富み、グロブリン分画では α -グロブリンが最も含量が高いとしている。その後 Slater 及び Kunkel⁴⁴⁾ が濾紙電気泳動法に基づいて分析し、疾患時の尿には血清の電気泳動的分画の殆んどすべてが含まれていることを明らかにした。Graber¹⁵⁾ らによつて免疫電気泳動法が創案されるに及んで、Grant⁴⁵⁾ は初めてこの方法を応用して尿蛋白について研究し、特定の血清蛋白分画、殊に macroglobulin と lipoprotein は尿中に排泄されないことを認めている。その後二・三の研究者¹⁴⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾によつて諸種疾患時の尿蛋白の免疫電気泳動のパターンが見出され、それらの結果を総括すると、a) 量的にも、質的にもその組成が正常尿蛋白に非常に似ているものと、b) 質的組成が正常尿蛋白のそれとは異なつており、量的組成ではむしろ正常血清の組成に近似しているものに大別されるという。

以上のことから尿蛋白は血清蛋白密接な関係をもつものと判断されよう。

ところで諸種疾患において(特定疾患を除く)、総じて血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白(A)量との間には、その増減による程度の平行関係があり、また一方尿ムコ蛋白(T)量との間には特定の関係を見出せなかつたことは、既に本研究Ⅰにおいて記述した通りである。

しかしながら、これら血清・尿ムコ蛋白の質的關係

を追求した報告は現在迄甚だ乏しい。その点を考慮して、著者は血清ムコ蛋白分画と尿中ムコ蛋白中の2分画(A及びT)の関連性を更に免疫化学的方法によつて、その抗原組成から比較してみることにした。

実験方法

1. 抗原の調製

感作抗原または試験抗原として使用した血清ムコ蛋白並びに尿ムコ蛋白(A)及び(T)はすべて癌患者より採取し、次の方法により抽出・分画した。

a) 血清ムコ蛋白: 註)

Winzler¹³⁾の方法に従つて抽出した。その概要を述べると、血清にそれと等容の蒸留水を加え、更に血清と等容の1.8M 過塩素酸を攪拌しながら徐々に加える。5分間放置後濾過し、濾液を中和して流水に対して透析する。透析内液に醋酸を加えてpH 4.0とし、硫酸を加えて飽和せしめ、4°C に一夜放置、沈澱を集めて水に溶解し、蒸留水に対して透析後凍結乾燥する。

b) 尿ムコ蛋白(A):

Ⅱに記載した Anderson⁸⁾らの方法によりA₂分画を抽出した。

c) 尿ムコ蛋白(T)

Tamm⁷⁾らの方法に従つて抽出した。その概要は、尿1000mlを等容の蒸留水で稀釈する。この稀釈尿に食塩を0.58Mになるよう加える。この際生じた沈澱を完全に沈め、上清を除き、0.58M 食塩水を加え、2000r.p.m. 30分遠心し、この沈澱を0.58M 食塩水で2回洗滌後に懸濁し、120倍容の蒸留水に対し4~5日間透析する。その透析液を7000r.p.m. 30分間遠心し、沈澱を蒸留水で1回洗滌し、その洗液と最初の上清を合し、凍結乾燥して尿ムコ蛋白(T)を得る。

2. 抗血清の作製

Ⅱにおいて記載した如く、Freund³⁷⁾のAdjuvant法によつて、尿ムコ蛋白(A)及び血清ムコ蛋白を感作抗原として家兎に注射した。抗尿ムコ蛋白(A)血清はⅡにおいて確認された通り、安定した力価を示す14週より24週の間採血した抗血清を用いた。

なお吸収抗血清の調製は次の如く抗血清1mlに対し、種々の濃度の吸収抗原液を0.2ml加え、混合して37°C 2時間、4°C に1昼夜放置し、沈澱を遠心により除き、該抗血清が最早や加えられた抗原に対して反応しない濃度の抗原液を加えた抗血清を吸収抗血清

註) 腹水ムコ蛋白も血清ムコ蛋白と同様の方法で抽出・分離された。その抗原組成は血清のそれと著しく類似している。

として使用した。

3. Immunoelectrophoresis

IIに記載した方法に準じて行なった。試験抗原はすべて1% (乾燥重量) 水溶液として用いた。

実験成績

1. 抗血清として抗尿ムコ蛋白 (A) 血清を用いた場合

a) 尿ムコ蛋白 (A) との反応: (図21-a), 写真5-a)

IIにおいて観察されたとほぼ同様のパターンが得られる。即ちこの沈降線パターンを抗血清蛋白血清に対する血清との沈降線パターンと比較すると (写真3-1) 2)), 最も陽極に近く位置する太い沈降線は血清アルブミンのそれより早い電気移動度を有する prealbumin 位にあり、その位置でこれより僅かに遅い、細い小アークを形成する組成がみられる。α₁~α₂-globulin 位には大きな主沈降線アークと、それとほぼ同じ移動度を有する細いアークとが認められ、β-globulin 位にはほぼ原点の位置に頂点を有するアークと、それよりやや陰極側に泳動するアークの2本が認められる。濾紙電気泳動図上では、尿ムコ蛋白 (A) は α₁-globulin と α₂-globulin の中間位に1つのスポットを呈するに過ぎないが (写真4-1) 2)), 免疫泳動図上では、prealbumin 位に2成分、α₁~α₂-globulin 位に2成分、β-globulin 位に2成分の合計6成分が最小限認められる。従つて濾紙電気泳動法では1つのスポットでも尿ムコ蛋白 (A) 分画は、最少6個の異なった抗原組成を有するといえる。なお既述した如く該抗尿ムコ蛋白 (A) 血清は抗血清アルブミン抗体を含んでいないことを、精製人血清アルブミン (日本ブラッド・バンク製) を用いて重層沈降反応、免疫電気泳動法によつて別に確認した。

b) 尿ムコ蛋白 (T) との反応: (図21-b), 写真5-b)

写真からも明らかなように2つのピークをもつ1本

の沈降線が得られる。泳動の速いものは α₁~α₂-globulin 位にピークを有し、遅い泳動成分は β-globulin 位に位置する。これは電気的性質を異にし、しかも共通抗原基を有する幾つかの成分が存在することを示している。

c) 尿ムコ蛋白 (A)+(T) の混合系に対する反応: (図21-c), 写真5-c)

この場合に得られた沈降線パターンは上記の a) と b) で得られた沈降線パターンの合成したものにほぼ一致した。唯尿ムコ蛋白 (T) に相当する2峰性の沈降線は著しく強調され、その陽極端は prealbumin 領域にまで進み、しかも尿ムコ蛋白 (A) 分画で認められた弱い prealbumin 位の沈降線は消失している。

d) 血清ムコ蛋白との反応: (図21-d), 写真5-d)

prealbumin 位に泳動する唯1本の沈降線を認めるのみである。抗原濃度を種々変えてみたが新たに沈降線の出現はみられなかった。

2. 抗血清として抗尿ムコ蛋白 (A) 血清を尿ムコ蛋白 (T) で吸収した吸収抗血清を用いた場合

e) 尿ムコ蛋白 (A) に対する反応: (図21-e), 写真5-e)

この沈降線パターンでは prealbumin 位に強い1本とそれよりやや泳動の遅れた弱い1本の沈降線、α₁~α₂-globulin 位に大きなアークの主沈降線とそれとほぼ同じ移動度の細い1本の沈降線、β-globulin 位には中等度の強さの1本とやや陰極側に位置する弱い1本と2本の沈降線が認められる。即ち抗尿ムコ蛋白 (A) 血清と尿ムコ蛋白 (A) との反応と全く同じである。このことについては c) について得た知見と併せて後に論ずることとする。

3. 抗血清として抗尿ムコ蛋白 (A) 血清を血清ムコ蛋白で吸収した吸収抗血清を用いた場合

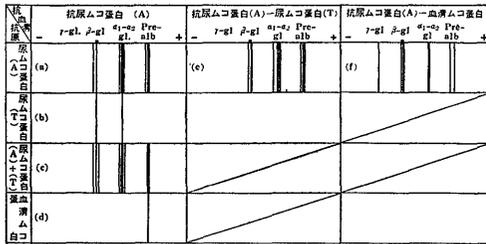
f) 尿ムコ蛋白 (A) との反応: (図21-f), 写真5-f)

上部の抗血清溝には吸収抗尿ムコ蛋白 (A) 血清を、下部の抗血清溝には抗尿ムコ蛋白 (A) 血清を入れ、尿ムコ蛋白 (A) との沈降線パターンを比較した。写真5-f) から明らかなように、血清ムコ蛋白で吸収した抗血清とのパターンでは未吸収の抗血清との反応における α₁~α₂-globulin 位の1本の沈降線は消失し、その他の沈降線はいずれも強さを減じている。

4. 抗血清として抗血清ムコ蛋白血清を用いた場合
g) 血清ムコ蛋白との反応: (図22-g), 写真6-g)

α₁-globulin 位の1沈降線が主成分によるもので著

図 21



bumin 位にあり、その位置でこれより僅かに遅い、細い小アークを形成する組成がみられる。α₁~α₂-globulin 位には大きな主沈降線アークと、それとほぼ同じ移動度を有する細いアークとが認められ、β-globulin 位にはほぼ原点の位置に頂点を有するアークと、それよりやや陰極側に泳動するアークの2本が認められる。濾紙電気泳動図上では、尿ムコ蛋白 (A) は α₁-globulin と α₂-globulin の中間位に1つのスポットを呈するに過ぎないが (写真4-1) 2)), 免疫泳動図上では、prealbumin 位に2成分、α₁~α₂-globulin 位に2成分、β-globulin 位に2成分の合計6成分が最小限認められる。従つて濾紙電気泳動法では1つのスポットでも尿ムコ蛋白 (A) 分画は、最少6個の異なった抗原組成を有するといえる。なお既述した如く該抗尿ムコ蛋白 (A) 血清は抗血清アルブミン抗体を含んでいないことを、精製人血清アルブミン (日本ブラッド・バンク製) を用いて重層沈降反応、免疫電気泳動法によつて別に確認した。

図 22

血清ムコ蛋白	抗血清ムコ蛋白				抗血清ムコ蛋白-尿ムコ蛋白(A)				抗血清ムコ蛋白-尿ムコ蛋白(T)			
	γ -gl.	β -gl.	α_1 - α_2 -gl.	Pre-gl. alb.	γ -gl.	β -gl.	α_1 - α_2 -gl.	Pre-gl. alb.	γ -gl.	β -gl.	α_1 - α_2 -gl.	Pre-gl. alb.
(g)												
(h)												
(i)												

しく強く、ほぼ同じ位置に比較的弱い鮮鋭な沈降線が随伴している。 α_1 ~ α_2 -globulin 位に巾広い diffuse な沈降帯がみられ、これは抗体過剰によるものである。更に β -globulin 位に 1 本の沈降線がみられる。

h) 尿ムコ蛋白 (A) との反応: (図22-h), 写真6-h))

写真に明らかな如く、 α_1 ~ α_2 -globulin 位にピークを有する沈降線が 1 本形成される。

i) 尿ムコ蛋白 (T) との反応: (図22-i), 写真6-i))

抗原濃度を種々変えて色々な条件で反応させたが沈降線は認められなかった。

5. 抗血清として抗血清ムコ蛋白血清を尿ムコ蛋白 (A) で吸収した吸収抗血清を用いた場合

j) 血清ムコ蛋白との反応: (図22-j), 写真6-j))

吸収抗血清ムコ蛋白血清と血清ムコ蛋白との反応パターンを、未吸収抗血清との反応で認められたもの g) と比較すると、 α_1 ~ α_2 -globulin の巾広い diffuse な沈降帯はすべて消失し、また主成分である α_1 -globulin 位の著明な沈降線はかなり減弱した。また β -globulin 位の沈降線も減弱している。

6. 抗血清として抗血清ムコ蛋白血清を尿ムコ蛋白 (T) で吸収した抗血清を用いた場合

k) 血清ムコ蛋白との反応: (図22-k), 写真6-k))

得られたパターンは未吸収の抗血清について認められたもの g) と同一である。即ち強大なる α_1 -globulin 位の沈降線とそれに随伴する他の α_1 -globulin 位の沈降線及び巾広い diffuse な α_1 ~ α_2 -globulin 位の沈降帯、 β -globulin 位の沈降線のいずれも変化をうけていないことが明瞭に認められる。従つて抗血清ムコ蛋白血清中には尿ムコ蛋白 (T) と反応する抗体を含んでおらず、ひいては尿ムコ蛋白 (T) は血清ムコ蛋白中に存在しない尿特異のムコ蛋白であることは明らかである。

以上の実験はすべて材料を癌患者より得て行なわれたが、著者は更に I においてとりあげた数種の疾患々々より、前述と同様の方法により各々血清ムコ蛋白及

図 23

抗血清 抗原	抗尿ムコ蛋白 (A)				
	γ -gl.	β -gl.	α_1 - α_2 -gl.	Pre-gl. alb.	
リウマチ 尿ムコ蛋白	(1)				
白血病	(2)				
肝硬変症	(3)				
慢性腎炎	(4)				
肺結核	(5)				

び尿ムコ蛋白 (A) を抽出し、次の実験を行なつた。

7. 抗血清として抗尿ムコ蛋白 (A) 血清を用いた場合

1) リウマチ様関節炎、急性骨髄性白血病、肝硬変症、慢性腎炎及び肺結核患者の尿ムコ蛋白 (A) との反応:

一括して図23-1)~5), 写真7-1)~5) に示す。癌及び正常人におけると同様に prealbumin 位に 2 本、 α_1 ~ α_2 -globulin 位に 2 本、 β -globulin 位に 2 本の沈降線がいずれの症例においても認められる。更に症例によつては、 α_1 ~ α_2 -globulin 位に 1 本、 γ -globulin 位に 1 本の沈降線が加わる。しかしこれらの沈降線は既に II において観察した如く、癌尿においても出現をみたものであり、尿ムコ蛋白 (A) は各種疾患或いは各症例によつてその抗原組成に量的差異があるが、多くの共通の抗原組成を有するといえよう。

m) 正常人、リウマチ様関節炎、急性骨髄性白血病、肝硬変症、慢性腎炎、肺結核患者の血清ムコ蛋白並びに癌患者腹水ムコ蛋白との反応:

一括して図24-1)~7), 写真8-1)~7) に示す。正常人及び各種疾患に共通して prealbumin 位に 1 本の

図 24

抗血清 抗原	抗尿ムコ蛋白 (A)				
	γ -gl.	β -gl.	α_1 - α_2 -gl.	Pre-gl. alb.	
正常人 血清ムコ蛋白	(1)				
リウマチ	(2)				
癌 腹水ムコ蛋白	(3)				
白血病 血清ムコ蛋白	(4)				
肝硬変症	(5)				
慢性腎炎	(6)				
肺結核	(7)				

沈降線を認める。

以上のように沈降反応に基づく沈降線の解析から、血清及び尿中のムコ蛋白分画はそれぞれ異なつた抗原組成を有するものであることが明らかとなつた。

総括並びに考按

血清ムコ蛋白や尿ムコ蛋白が炎症、癌、妊娠等の組織の器質的変化の他に、内分泌障害やストレス等の機能的変化に際して、著しい変動を示すことが今日まで多くの研究者によつて明らかにされ、その臨床的意義についても種々考察されている。血清の蛋白結合糖については最近特に各方面で研究され、1955年までの足跡は Winzler⁴⁸⁾ によつて総説され、その他 Schulze⁴⁹⁾、Greenspan⁵⁾ 等があり、わが国では鶴見¹⁶⁾、正宗⁵⁰⁾、橋¹⁷⁾等の総説がある。例えば Winzler は特に血清蛋白の糖成分の分析或いはその抽出・分画等に詳しく、Greenspan は1533例について血清ムコ蛋白値を測定し、広汎な疾患についてその変動を報告している。今日までのところ血清ムコ蛋白の上昇に電気泳動的には α_1 または α_2 -globulin の増加が特に著しいといわれ、これらのムコ蛋白のレベルの変動を来たす因子として一般に認められているものは、次のように要約される。

- 1) 肝におけるムコ蛋白の生産とその血中への放出
- 2) 内分泌系、特に脳下垂体、副腎皮質及び甲状腺機能による調節
- 3) 腎における尿への排泄
- 4) 組織の細胞増殖と破壊に伴う未知の機構によるムコ蛋白の血中への放出

血清ムコ蛋白レベルの変動する疾患としてあげられる悪性腫瘍、炎症、心筋梗塞等は主として 4) の機構が因となり、一般に著しい増加を示し、また亜急性甲状腺炎における増加及び甲状腺機能低下にみられる減少は 2) の機構が最も密接な関係があるとみられる。また肝実質障害(肝炎、肝硬変症等)時の血清ムコ蛋白値の低下には恐らく 1) の機構が関与し、尿毒症時の増加、ネフローゼ症候群における低下は 3) の機構と関連をもつと考えられる。

ところで血清ムコ蛋白値はその測定法によつて幾分異なることはいうまでもない。Winzler¹⁾ によつてスルフォサリチル酸或いは過塩素酸で除蛋白した濾液から分離したものが比較的均一な成分を有し、糖含量も均一なことが見出されて以来、この操作によつて分画したのものについて、その蛋白部分を Biuret 法によつて、或いはチロジン含量より測定する方法、その糖部分を Orcin 或いは Anthrone によつて発色定量す

る比色法が常用されている。

Lockey, Anderson 及び Maclagan²¹⁾ は血清ムコ蛋白と尿ムコ蛋白(A)との関係を見るために、Anderson 及び Maclagan⁸⁾ の方法で抽出・分離した尿ムコ蛋白(A₂)を規準にして、血清ムコ蛋白をスルフォサリチル酸濾液から燐タングステン酸(2N 塩酸中)で沈澱せしめ、これをアルカリに溶かし、Diphenylamine 試薬で発色させ、比色定量している。これによつて得られる結果はムコ蛋白の絶対値に近い値として比較することができる³¹⁾としている。この定量法はムコ蛋白中の糖構成成分である sialic acid に基づくものである。鶴見⁵¹⁾によれば癌患者の血中及び尿中に sialic acid に富む特殊のムコ蛋白分画が出現する可能性があるという。このようにムコ蛋白の種類によつてはその sialic acid の含量にかなりの差があることも予想され、sialic acid に基づく測定は必ずしも異なつたムコ蛋白分画の絶対値を比較することにはならないと考えられる。しかしながら、いずれの定量法にしても単一の蛋白質構成成分、糖等を規準として比較定量している点から考えて、尿ムコ蛋白(A₂)を規準として測定する上記の方法も尿ムコ蛋白と血清ムコ蛋白との比較定量として妥当であろう。更に著者は Lockey, Anderson 及び Maclagan の研究より発して、両ムコ蛋白の免疫化学的相関々係を求めたために彼らの方法に準拠した。

著者の血清ムコ蛋白値の測定は尿ムコ蛋白との関連において測定されたため、対象が主として1日の全尿の得られる入院患者に限られ例数が少ないが諸家の成績とはほぼ一致した傾向を示した。正常人についてはその測定値は 83.0~144.8mg/dl、平均 115.4mg/dl であつた。この値は同一の方法による Anderson 及び Maclagan²¹⁾ らの平均値 136.5mg/dl に比しやや低い。なお Biuret 法より測定した蛋白値は Winzler¹⁾ らの 86.7mg/dl、Greenspan⁵²⁾ らの 57.6mg/dl、Simkin²⁰⁾ らの 40~90mg/dl、田坂⁵³⁾ らの 37.5mg/dl (30~45)、橋¹⁷⁾ らの 71.4mg/dl (94~56) である。諸種疾患については、膠原病では高度の増加を示し、悪性腫瘍性疾患では中等度の増加を、肝実質障害ではかなりの減少を、慢性感染症では軽度の増加傾向を示した。また腎疾患については、著者の測定した慢性腎炎例(一部は軽度の NPN の上昇を伴つた)の平均値は 173.3mg/dl で中等度の増加を示した。Greenspan⁶⁾ の測定によれば急性または慢性活動性腎炎 8 例及び尿毒症を伴う腎硬化症 8 例の全例に増加を認めている。しかし橋¹⁷⁾ らは尿毒症を除いた急性及び慢性腎炎は著変を示さないとしている。著者の測定した慢性腎炎は

大多数が慢性活動性腎炎であり、一部に軽度の NPN の上昇を伴ったことより血清ムコ蛋白値の増加が説明されよう。同様に急性腎炎の 4 例がいずれも正常域にあつたことは症状がいずれも軽度であつたことにより説明される。一疾患について経過に従つて血清ムコ蛋白がかなりの変動を示すことはよく知られており、対象となる患者の症状・時期による測定値の差異は当然と考えられる。

尿ムコ蛋白 (A) を測定した報告は比較的少ないが、著者の測定した正常人の平均値は 143.3mg/day で橋¹⁷⁾らの 87.8mg/day、塩川¹⁸⁾らの 60~140mg/day より高く、Anderson²¹⁾らの 134.5mg/day に大略一致するものである。

血清ムコ蛋白値と尿ムコ蛋白 (A) 量との関係について塩川¹⁸⁾らは著明ではないが或る程度の平行関係を認めるとしており、著者の測定成績も、著明な蛋白尿を示した腎疾患の大部分を除いて、多少の関係を認めた。この事実は血清ムコ蛋白が腎より排泄される可能性を暗示するが、R.U.C. を算定することによつて更に明らかとなる。即ち Anderson 及び Maclagan²¹⁾らは尿ムコ蛋白濃度と尿比重より R.U.C. を算定し、それと血清ムコ蛋白値との間に高い相関々係を認め、血清ムコ蛋白の尿への移行を強く示唆している。著者の測定成績もこのことを支持するものである。

Maclagan³¹⁾⁴⁹⁾は更にムコ蛋白の腎クリアランスは血清アルブミン及びグロブリンより著しく高く、その差を分子量の小さいこと、分子構造の異なることに帰している。

著明な蛋白尿を示した腎疾患において、尿ムコ蛋白 (A) 量及び R.U.C. が高値を示したに拘らず、血清ムコ蛋白値が正常域か、中等度までの増加を示したことは興味深いことであるが、この機転は十分説明されない。あたかもネフローゼにおいて肝の代償性蛋白産生過剰の結果として血清コリンエステラーゼの活性度の上昇をみる⁵⁴⁾如く、尿中への消失をカバーするため肝におけるムコ蛋白の代償性産生が考えられるが、血清ムコ蛋白の産生母地については議論の多い所であり、肝以外の因子の関与も考慮されねばならない。

一方、尿ムコ蛋白 (T) については、血清ムコ蛋白値との間に、1 日排泄量及び R.U.C. のいずれにも何ら相関々係を認めず、また正常人、腎疾患並びに諸種疾患の間に差異を認めなかつたことは、Tamm らの尿ムコ蛋白は血清より移行するものでないことを示唆している。

Engel³⁴⁾³⁵⁾ がラッテに副甲状腺エキスを注射して血清ムコ蛋白の増加を認め、細尿管が periodic acid

leucofuchsin 反応陽性の水溶性、アルコール不溶性の物質で充たされ、細尿管細胞にムコ蛋白顆粒の出現を認め、尿ムコ蛋白 (T) の排泄増加をみたと報告している。このことは副甲状腺ホルモンが直接または間接に腎に影響を与え、尿中のムコ蛋白の排泄増加を来したもので、血清よりの移行によるものでないと考えられる。Porter と Tamm⁵⁶⁾はこの尿ムコ蛋白を超速心法及び pH 8.6 での電気泳動法によつて研究し、それが homogeneous な蛋白であり、恐らく膀胱粘膜上皮細胞に基づくものであろうとしている。事実尿ムコ蛋白 (A) は約 20000 の分子量を有するものを主成分とする不均一な分画であり、尿ムコ蛋白 (T) の分子量は 7×10^6 といわれ⁵⁷⁾、物理化学的にも性状の相違があげられている。

ところで、尿ムコ蛋白 (T) は Boyce, Gravey 及び Norfleet³⁸⁾によつて uromucoid と命名され、Vaerman 及び Heremans¹⁴⁾によつて免疫学的に研究され、尿路由来のものであることが明らかにされた。

著者の実験においても、血清ムコ蛋白を抗原として作製した家兎抗血清と尿ムコ蛋白 (T) を抗原として反応させると全然沈降線の出現が認められず、また抗血清を尿ムコ蛋白 (T) で吸収した後、この吸収抗血清を血清ムコ蛋白と反応させたが、得られた沈降線パターンは未吸収抗血清との反応で得られたパターンと同一で、従つて尿ムコ蛋白 (T) による吸収は抗血清中に含まれる抗体に何らの影響を与えないといえる。換言すれば、著者の分離した血清ムコ蛋白中に尿ムコ蛋白 (T) と抗原構造を同じくする蛋白は存在しないといえる。

次に尿ムコ蛋白 (A) と尿ムコ蛋白 (T) との関係を沈降線パターンから解析してみると、抗尿ムコ蛋白 (A) 血清と尿ムコ蛋白 (T) との反応では、 $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -globulin 位と β -globulin 位にそれぞれピークを有する、いわば 2 峰性の連続した沈降線が得られる。この抗血清を尿ムコ蛋白 (T) で吸収しても尿ムコ蛋白 (A) との沈降線パターンには影響は認められない。ところが抗尿ムコ蛋白 (A) 血清に尿ムコ蛋白 (A) と尿ムコ蛋白 (T) を、それぞれ単独に抗原として用いたと同一量を混合して反応させると、尿ムコ蛋白 (T) による特徴ある 2 峰性の沈降線が増強され、しかも陽極側に延長し、 $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -globulin 位にあつたピークが更に陽極側に位置を変えることが認められる。と同時に尿ムコ蛋白 (A) のみとの反応において存在していた prealbumin 位の 1 沈降線が消失する。以上の 3 種の実験を総括してみると、尿ムコ蛋白 (A) 分画中には微量ではあるが尿ムコ蛋白 (T) が含まれ、そのた

め抗尿ムコ蛋白 (A) 血清中に抗尿ムコ蛋白 (T) 抗体が含まれ、尿ムコ蛋白 (T) を抗原として反応させると沈降線が形成される。従つて、尿ムコ蛋白 (A) 分画を抽出する際に尿ムコ蛋白 (T) の混入する可能性を示唆するものといえよう。然らば両尿ムコ蛋白分画を混合して得られる沈降線パターンはどう理解されるべきであろうか。ここに考慮すべきは尿ムコ蛋白 (T) の性状であろう。先述の如く、Porter と Tamm はこの蛋白分画は超速心法並びに電気泳動法によつて均一なものとしている。ところが著者の免疫電気泳動図では 2 峰性の連続した 1 本の沈降線として得られ、これはまた Vaerman 及び Hereman¹⁴⁾ によつても認められており、彼らはこのことから、uromucoid は 2 つのピークに相当する一連の polymer の形で存在しているのであろうと推論している。また Maxfield⁵⁸⁾ は Cetyltrimethylammonium bromide を用いて Di Ferrante の尿ムコ蛋白を抽出し、その物理化学的性質を調べ、その結果 Di Ferrante の尿ムコ蛋白の 2 分子が互いに末端で結合して Tamm の尿ムコ蛋白を形成するものであろうとしている。

以上の点を考慮して、著者は本実験結果を次のように理解する方がより妥当であろうと考える。即ち、尿ムコ蛋白 (A) 中に含まれる prealbumin 位に泳動する抗原分子は、Tamm の尿ムコ蛋白と共通抗原決定基を有する以外、それ独自の抗原決定基の少なくとも 1 個を有しているものであろう。かく見做すならば、抗尿ムコ蛋白 (A) 血清と尿ムコ蛋白 (T) との反応は、尿ムコ蛋白 (A) の組成である該 prealbumin によつて生成された交叉反応性抗体によるものであると説明される。従つて抗血清を尿ムコ蛋白 (T) で吸収すると交叉反応性抗体のみが吸収され、prealbumin 位の沈降線は消失しない。一方、尿ムコ蛋白 (A) と尿ムコ蛋白 (T) とを混合すれば当然共通抗原基によつて連続した沈降線を形成し、しかも prealbumin 自体の沈降線の消失と共に、それが尿ムコ蛋白 (T) に基づく沈降線に関与することによつて、陽極側への 1 ピークの移動と沈降線の延長という結果が得られる。従つて尿ムコ蛋白 (A) 中には、Tamm の尿ムコ蛋白と交叉反応する 1 成分があることになる (この成分は尿ムコ蛋白 (A) 分画自体に含まれているものであるか、或いは分画操作中に尿ムコ蛋白 (T) の 1 成分が夾雑してきたものかはなお不明である)。

Tamm はインフルエンザ・ビールスやその他のビールスによつて生ずる血球凝集作用を抑制するという特異な生物学的活性を、尿ムコ蛋白 (T) がもつていることを見出し、この抑制作用物質を純粋に単離し

て、その性状から逆に赤血球とビールスとの反応機構や蛋白構造を明らかにせんと試みた。しかしその後尿ムコ蛋白 (T) は均一な蛋白ではなく、幾つかの polymer が含まれていることが明らかにされてきた。以上の現状からみれば、この泳動の早い尿ムコ蛋白 (A) 中の 1 成分が尿ムコ蛋白 (T) と共通抗原性を有する事実は、どの抗原 polymer がその特異な活性の担い手であるかという分析に関連して甚だ興味深い。

次に、血清ムコ蛋白と尿ムコ蛋白 (A) との関係を考察しよう。

抗尿ムコ蛋白 (A) 血清と血清ムコ蛋白を反応させると prealbumin 位に 1 本の沈降線が形成されるのみである。この沈降線は癌血清ムコ蛋白の代りに、同一方法で抽出した各種疾患、即ち急性骨髄性白血病、慢性腎炎、肺結核、リウマチ様関節炎、肝硬変症の血清ムコ蛋白及び癌腹水ムコ蛋白を用いた場合にも認められ、正常血清から抽出した同一分画に対しても同じ反応をする。次に抗尿ムコ蛋白 (A) 血清を血清ムコ蛋白で吸収し、最早や血清ムコ蛋白に対して反応を示さない吸収抗血清を用いて、尿ムコ蛋白 (A) と反応させると、写真 5-f) で明らかなように、 $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位の 1 本の沈降線が消失し、他の沈降線はいずれその濃度を減ずるが消失しない。即ち以上の事実は、尿ムコ蛋白 (A) 中の $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin の 1 成分は血清ムコ蛋白分画中の prealbumin の 1 成分と抗原組成に共通なものを有しているといえよう。

ところで、抗血清ムコ蛋白血清と尿ムコ蛋白 (A) とを反応させると、 $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位に 1 本の沈降線が形成される。また抗血清ムコ蛋白血清を尿ムコ蛋白 (A) で吸収し、血清ムコ蛋白と反応させると、 $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位の diffuse な沈降帯は完全に消失し、他の沈降線即ち、主成分である α_1 -globulin 位の沈降線及び副成分である β -globulin 位の沈降線はいずれもその強さを減ずる。従つて、抗血清ムコ蛋白血清に対する血清及び尿ムコ蛋白の反応態度から、 $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin 位の成分は共通するものであり、明らかに血清と密接な関係を有するものである。その他の成分は、相互の吸収実験で沈降線の強さの減弱がみられ、この実験条件では稀釈効果を除去してあるので、相互に部分的共通性を示すものであろうと見做される。

Grant⁴⁰⁾によると、尿蛋白の大部分は血清蛋白由来のものであることを免疫学的に認めており、また Vaux St-Cyr らによれば、安息香酸ソーダによる尿ムコ蛋白分画は変性を起し易く、選択的にも乏しいので、物質の同定は困難であるとしている。

いずれにせよ、法の如く処置した Winzler の血清ムコ蛋白の主成分は α_1 -globulin (Orosomucoid と α_1 -glycoprotein) 分画であるに反して、Anderson 及び Maclagan の尿ムコ蛋白は $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -globulin 分画を主成分とし、prealbumin 分画にもかなりの成分があるといえよう。

ムコ蛋白構成成分である糖の 1 成分 sialic acid を中心に、血清ムコ蛋白 (Winzler) 及び尿ムコ蛋白 (Anderson) を定量すると、その間に比例的関係がみられたが、しかし、両ムコ蛋白は免疫学的にはその組成に差があるという事実は、両者を構成する糖、就中 sialic acid は血清及び尿ムコ蛋白中にほぼ同一の割合で存在することを示すといえよう。

最後に、尿ムコ蛋白 (A) の諸種疾患における変動、殊に癌特異抗原組成について、高井¹⁹⁾はその存在を認めており、著者はかなりの実験をくり返して、比較検討したが、質的な相違を見出すには至らなかった。

最近、箱守⁶⁰⁾らは Anderson 及び Maclagan の尿ムコ蛋白分画から出発して、癌尿中には特異な糖蛋白 (κ -glycoprotein と呼称) を見出している。更に彼らはこの特異蛋白に対する抗体を作り、その特異性をみたが、交叉反応が存すると報告している。本実験において癌性尿ムコ蛋白を免疫学的に把握できなかつたのは上記のような交叉反応性によるものかも知れない。

以上の如く、本研究においては、主として血清ムコ蛋白と尿ムコ蛋白の関係を、今日繁用されている Winzler 法と Anderson 及び Maclagan 法並びに Tamm 法に従つて抽出して得られたムコ蛋白分画を用いて、量的並びに質的な面から吟味し、諸種疾患時における血清・尿ムコ蛋白の変動についても考察した。

結 語

諸種疾患における尿ムコ蛋白を血清ムコ蛋白との関連において、化学的方法により量的に、免疫学的方法により質的に検索した。

まず、正常人及び諸種疾患々者の同一人について、血清ムコ蛋白分画 (Winzler) 及び尿ムコ蛋白の 2 分画 (Anderson & Maclagan 並びに Tamm) を、Diphenylamine 法により測定し、それらの分画の相関々係を調べ、その臨床的意義を考察した。

1) 血清ムコ蛋白値は膠原病、悪性腫瘍では中等度乃至高度の増加を、腎疾患、慢性感染症では軽度乃至中等度の増加を、肝炎・肝硬変症等の肝実質障害では減少の傾向を認めた。また尿ムコ蛋白 (A) 量は、血清ムコ蛋白値と著明ではないが、或る程度の相関々係

を認め、更に、尿中濃度と尿比重より R.U.C. を算出し、血清ムコ蛋白値との間に、腎疾患を除いて著明な相関々係を認めた。一方、尿ムコ蛋白 (T) は 1 日排泄量及び R.U.C. において、血清ムコ蛋白値との間に何らの関係を認めなかつた。

次に、血清ムコ蛋白及び尿ムコ蛋白を抗原として、それらの抗原組成を免疫学的に調べた。

2) 癌尿ムコ蛋白 (A) を抗原として、Freund の Adjuvant 法により、家兎抗血清を作製し、その抗原性を追求した。試験管内沈降反応にて、抗原価、抗体価とも最終感作後 6~7 週より、24 週まで比較的安定した値を示し、更に免疫電気泳動法により、尿ムコ蛋白 (A) の抗原分析を行ない、各組成に対する抗体の形成には時期的にずれのあることを認めたが、14 週より 24 週までは安定した沈降線パターンが得られた。尿ムコ蛋白 (A) は、prealbumin と、 $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -, β -及び γ -globulin の各位置に最小限 6~7 個の抗原組成を有する。

3) 抗癌尿ムコ蛋白 (A) 血清を中心として、一部、抗血清蛋白血清、抗血清ムコ蛋白血清を用い、或いは各種吸収抗血清を用いて尿ムコ蛋白 (A) 及び (T) の抗原分析を行なつた。

a) 尿ムコ蛋白 (T) は、血清ムコ蛋白と共通する抗原性を有しない。

b) 尿ムコ蛋白 (T) は抗尿ムコ蛋白 (A) 血清との間に、2 峰性の連続した 1 沈降線を形成する。即ち、電気泳動度を異にし、抗原組成を同じくするいくつかの物質からなる。

c) 尿ムコ蛋白 (T) は尿ムコ蛋白 (A) 中の prealbumin 位に泳動する 1 分画と一部共通抗原決定基を有する。

d) 尿ムコ蛋白 (A) の主成分は、 $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -globulin 位にあり、血清ムコ蛋白の主成分は、 α_1 -globulin 位にある。尿ムコ蛋白 (A) の $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -globulin 位の 1 成分は、血清ムコ蛋白の $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -globulin 位の成分と同一であり、また別の $\alpha_1 \sim \alpha_2$ -globulin 位の 1 成分は、血清ムコ蛋白の prealbumin 位に泳動する 1 成分と共通抗原性を有する。

4) 尿ムコ蛋白 (A) 分画について、免疫学的に癌と正常とを比較し、癌においては正常に較べて、量的に各抗原組成の増加がみられるが、癌に特異的な組成は見出されなかつた。

終りに、御指導・御校閲を得た第二病理学教室石川教授、第一内科学教室谷野名誉教授、武内教授に深く感謝します。また絶えず御教示と御援助を頂いた橋博士並びに第二病理学教室各位、第一内科学教室各位に厚く感謝します。

文 献

- 1) Winzler, R. J., Devor, A. W., Mehl, J. W. & Smyth, I. M. : J. Clin. Invest., 27, 609 (1948). 2) Winzler, R. J. & Smyth, I. M. : J. Clin. Invest., 27, 617 (1948).
- 3) Weimer, H. E., Mehl, J. W. & Winzler, R. J. : J. Biol. Chem., 185, 561 (1950).
- 4) Smith, E. L., Brown, D. M., Weimer, H. E. & Winzler, R. J. : J. Biol. Chem., 185, 569 (1950). 5) Greenspan, E. M. : Arch. Intern. Med., 93, 863 (1954). 6) Tamm, I. & Horsfall, F. L. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 74, 108 (1950). 7) Tamm, I. & Horsfall, F. L. : J. Exp. Med., 95, 71 (1952). 8) Anderson, A. J. & Maclagan, N. F. : Biochem. J. 59, 638 (1955).
- 9) Schmid, K. : J. Am. Chem. Soc., 75, 60 (1953). 10) Boyce, W. H. & Swanson, M. : J. Clin. Invest., 34, 1581 (1955). 11) Schmid, K. : J. Am. Chem. Soc., 77, 742 (1955). 12) 後藤茂・関本 博・清宮 寛・山添三郎 : 医学と生物学, 35, 202 (1955). 13) 高井 寛 : 十全医会誌, 64, 414 (1960). 14) Vaerman, J. P. & Heremans, J. F. : Experientia, 15, 226 (1959). 15) Williams, C. A. & Grabar, P. : J. Immunol., 74, 158 (1955). 16) 鶴見膠一 : 日本臨床, 17, 687 (1959). 17) 橋 敏也・安藤幸夫・増山幸男・五十嵐正男・長野 博・村井俊介・玉井温子・飯田貞子・橋本のぶ子 : 最新医学, 15, 358 (1960). 18) 塩川優一・浪久利彦・田中 武・江里川義夫・小川良之・宮本 薫・鈴木 隆 : 内科, 3, 165 (1959). 19) 塩川優一・辻恒太・田中 武・江里川義夫・小川良之・宮本 薫・田中一郎 : 総合臨床, 7, 2138 (1958).
- 20) Simkin, B., Bergman, H. C. & Prinzmetal, M. : Am. J. Med., 6, 734 (1949). 21) Lockey, E., Anderson, A. J. & Maclagan, N. F. : Brit. J. Cancer, 10, 209 (1956). 22) Shetlar, M. R., Bullock, A. J., Shetlar, C. L. & Payne, R. W. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 88, 107 (1955). 23) Shetlar, M. R. : J. Clin. Invest., 32, 1208 (1953). 24) 塩川優一・浪久利彦 : 最新医学, 9, 1466 (1954). 25) 吉田常雄・熊原雄一 : 臨床消化器病学, 2, 399 (1954). 26) Kelley, V. C., Good, R. A. & Glick, D. : J. Clin. Invest., 29, 1500 (1950). 27) 村上元孝・岸本道太・関本 博 : 日循誌, 19, 123 (1955). 28) 清水良雄 : 医学と生物学, 15, 29 (1949). 29) Berkman, J., Rifkin, H. & Ross, G. : J. Clin. Invest., 32, 415 (1952). 30) Ayala, W., Moore, L. V. & Hess, E. L. : J. Clin. Invest., 30, 781 (1951). 31) Maclagan, N. F. : Clin. Chemistry, 3, 548 (1957). 32) Boyce, W. H., Gravey, F. K. & Norfleet, C. M. : J. Clin. Invest., 33, 1287 (1954). 33) Boyce, W. H., Garvey, F. K. & Norfleet, C. M. : J. Urol., 72, 1019 (1954). 34) Engel, M. B. & Catchpole, H. R. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 84, 336 (1953). 35) Waterman, N. : Immunologia, 17, 305 (1956). 36) Nagai, Y. : Fukushima J. Med. Sci., 3, 13 (1956). 37) Freund, J. : Am. J. Clin. Path., 21, 645 (1951). 38) 三宅康夫 : 倉敷中央病院年報, 28, 38 (1959). 39) 緒方富雄 : 血清学実験法, 第2版, 東京, 南山堂, 1947. 40) 橋 武彦 : 未発表. 41) 緒方富雄 : 東医会誌, 54, 71 (1940). 42) 山添三郎 : 医学のあゆみ, 21, 303 (1956). 43) Rigas, D. A. & Heller, C. G. : J. Clin. Invest., 30, 853 (1951). 44) Slater, R. & Kunkel, H. : J. Lab. Clin. Med., 41, 619 (1953). 45) Grant, G. H. : J. Clin. Path. 10, 360 (1957). 46) Patte, J. C., Baldassaire, G. & Loret, J. : Rev. Fr. Ét. Clin. Biol., 3, 960 (1958). 47) Hartmann, L., Lagrue, G. & Moretti, J. : Rev. Fr. Ét. Clin. Biol., 3, 1052 (1958). 48) Winzler, R. J. : Method of Biochem. Analysis, 2, 279, Intersci, Pub, New York, London, (1955). 49) Schulze, H. E. : Scand. J. Clin. Lab. Invest., suppl. 1. 31, 135 (1958). 50) 正宗一・箱守仙一郎 : 医学のあゆみ, 30, 471 (1959). 51) 鶴見膠一 : 生体の科学, 7, 88 (1955). 52) Greenspan, E. M., Tepper, B., Terry, L. L. & Schoenbach, E. B. : J. Lab. Clin. Med., 39, 44 (1953). 53) 田坂定孝・吉岡昭正 : 内科, 1, 711 (1958). 54) 日野原重明・橋 敏也 : 総合臨床, 7, 1122 (1958). 55) Engel, M. B. : Arch. Path., 53, 339 (19-

- 52). 56) Porter, K. R. & Tamm, I. :
 J. Biol. Chem., 212, 135 (1955). 57)
 Tamm, I., Bugher, J. C. & Horsfall, F. L. :
 J. Biol. Chem., 212, 125 (1955). 58)
 Maxfield, M. : Arch. Bioch. Biophys., 85, 382
 (1959). 59) De Vaux St-Cyr, C. &
 Patte, J. C. : Analyse Immuno-électrophoréti-
 que, (Ed. Grabar, P. et Burtin, P.) p. 231, Paris,
 Masson & Cie, 1960. 60) Hakomori, S.,
 Kawauchi, H. & Ishimoda, T. : Nature, 191,
 265 (1961). 第19回日本癌学会総会, 東京, (1960).

Abstract

Urine mucoproteins in various diseases were examined by chemical and immunological methods with relation to serum mucoprotein.

First, the serum mucoprotein fraction (Winzler) and the two fractions of urine mucoprotein (Anderson (A) and Tamm (T)) were determined by the diphenylamine method:

1) Serum mucoprotein values increased in collagen, malignant neoplastic, renal and chronic infectious diseases, and decreased in parenchymatous liver disease.

2) Daily excretion of urine mucoprotein (A) was, in a certain degree, quantitatively correlated with the serum mucoprotein value.

A marked positive correlation was observed between the serum mucoprotein value and relative urine concentration (R.U.C.) except in renal diseases. R.U.C. was obtained by dividing the urine mucoprotein concentration in mg. per 100ml. by the excess of specific gravity over 1000.

Daily excretion and R.U.C. of the urine mucoprotein (T) have no correlation with the serum mucoprotein value.

Secondly, serum and urine mucoproteins were experimented immunologically. Rabbit antisera were prepared by the Freund's Adjuvant method:

1) It was observed that urine mucoprotein fraction (A) contained at least 6 or 7 components in the prealbumin, $\alpha_1\sim\alpha_2$ -, β - and γ -globulin regions immunoelectrophoretically.

2) The urine mucoprotein (T) has no identical antigenicity with the serum mucoprotein. On the other hand, it forms a two-peaked precipitation line with anti urine mucoprotein (A) rabbit serum, and has presumably partial identity of determinant group with a prealbumin fraction of urine mucoprotein (A).

3) A component in the $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin fraction of the urine mucoprotein (A) is identical with one in the $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin fraction of the serum mucoprotein, and another component in the $\alpha_1\sim\alpha_2$ -globulin fraction has identical antigenicity with one in the prealbumin fraction of the serum mucoprotein.

写 真 説 明

写真 1

抗血清：抗癌尿ムコ蛋白 (A) 血清

抗原：癌尿ムコ蛋白 (A)

最終感作後 1) 4週, 2) 6週, 3) 8週,
4) 11週, 5) 14週, 6) 20週, 7) 24週に採血せ
る抗血清を使用

写真 2

抗血清：抗癌尿ムコ蛋白 (A) 血清

抗原：正常人尿ムコ蛋白 (A)

最終感作後 1) 4週, 2) 6週, 3) 8週,
4) 11週, 5) 14週, 6) 20週, 7) 24週に採血せ
る抗血清を使用

写真 3

1) 抗血清：抗血清蛋白血清

抗原：血清蛋白

2) 抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A) 血清

抗原：尿ムコ蛋白 (A)

写真 4

尿ムコ蛋白 (A) の濾紙電気泳動図

1) 尿ムコ蛋白 (A)

2) 血清蛋白

写真 5

a) 抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A)

抗原：尿ムコ蛋白 (A)

b) 抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A)

抗原：尿ムコ蛋白 (T)

c) 抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A)

抗原：尿ムコ蛋白 (A)+(T)

d) 抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A)

抗原：血清ムコ蛋白

e) 抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A) - 尿ムコ蛋白 (T)

抗原：尿ムコ蛋白 (A)

f) 抗血清：(上) 抗尿ムコ蛋白 (A) - 血清ムコ蛋白,
(下) 抗尿ムコ蛋白 (A)

抗原：尿ムコ蛋白 (A)

写真 6

g) 抗血清：抗血清ムコ蛋白

抗原：血清ムコ蛋白

h) 抗血清：抗血清ムコ蛋白

抗原：尿ムコ蛋白 (A)

i) 抗血清：抗血清ムコ蛋白

抗原：尿ムコ蛋白 (T)

j) 抗血清：抗血清ムコ蛋白 - 尿ムコ蛋白 (A)

抗原：血清ムコ蛋白

k) 抗血清：抗血清ムコ蛋白 - 尿ムコ蛋白 (T)

写真 7

抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A)

抗原：尿ムコ蛋白 (A)

1) リウマチ様関節炎

2) 急性骨髄性白血病

3) 肝硬変症

4) 慢性腎炎

5) 肺結核

写真 8

抗血清：抗尿ムコ蛋白 (A)

抗原：血清ムコ蛋白 (癌のみ腹水ムコ蛋白)

1) 正常人

2) リウマチ様関節炎

3) 癌

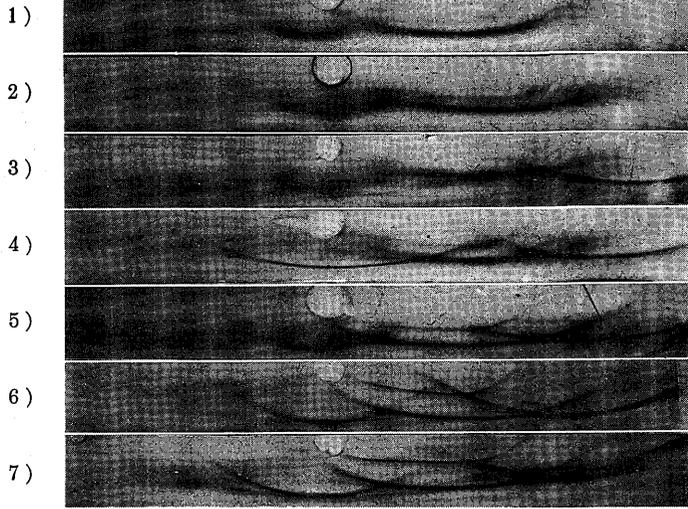
4) 急性骨髄性白血病

5) 肝硬変症

6) 慢性腎炎

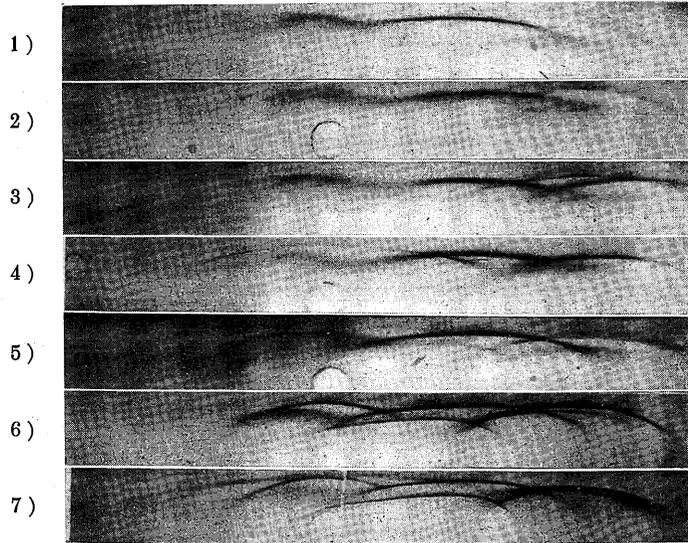
7) 肺結核

写 真 1



(图 20)

写 真 2



(图 20)

写真 3

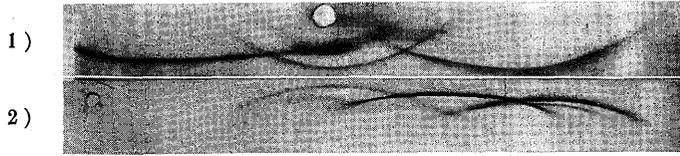


写真 4

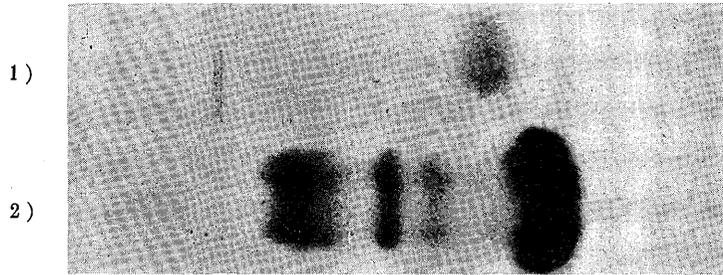
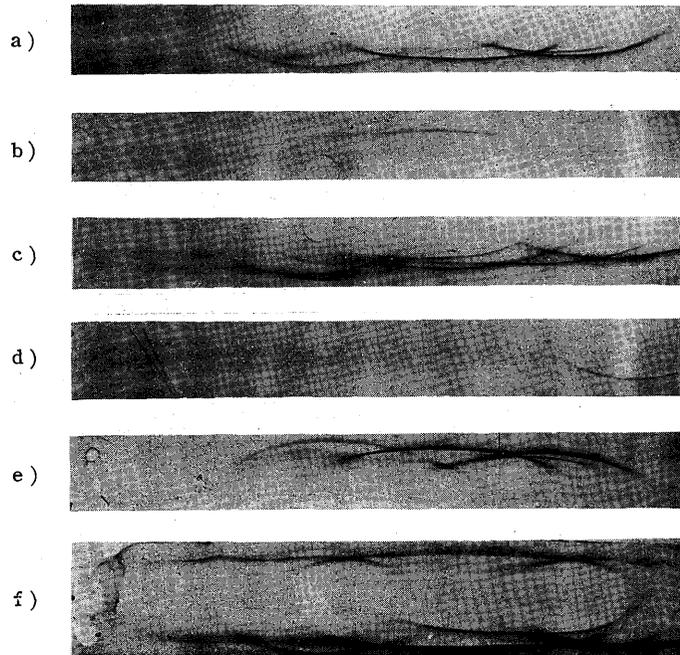
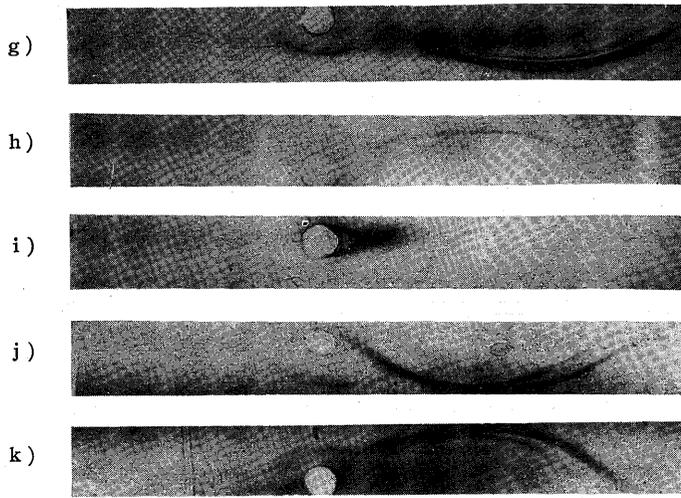


写真 5



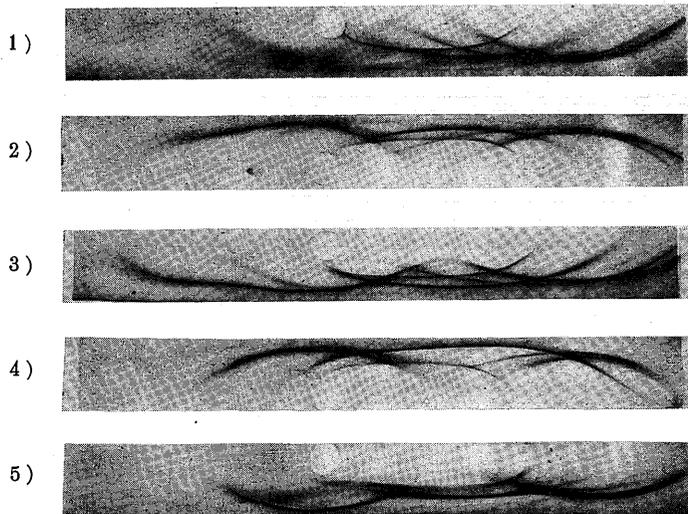
(图 21)

写 真 6



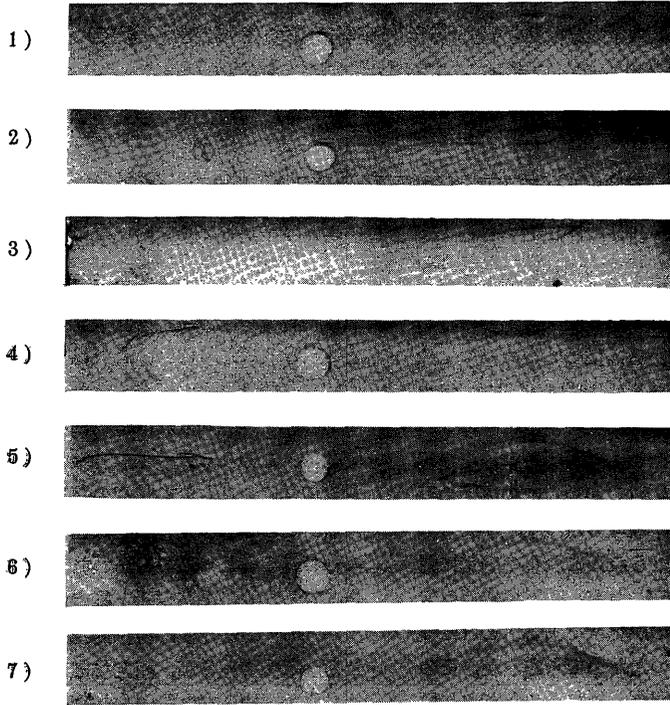
(图 22)

写 真 7



(图 23)

写真 8



(图 24)