

# 免疫溶血反応の溶血速度に関する研究

(續報)

金沢大学医学部細菌学教室(主任 谷教授)

河 原 勳

*Isao Kawahara*

(昭和29年1月5日受附)

(本稿は昭和23年第21回細菌学会で発表せり)

## 緒 言

自然放置による補体の溶血能力の低下に関しては不安定な蛋白構造による補体自身の部分的変性の結果、補体以外の抗補体作用物質の発生、血清内の破壊酵素作用等が挙げられるが、低下の途中において時々補体の單位が新鮮時よりも却つて高くなることがあると報告<sup>1)</sup>せられているのは前記破壊作用の原因の羅列では説明がつかない。Bruediger<sup>2)</sup>(1919)は分離後24時間以内に冷凍した補体血清は1週間後には同じ補体血清の新鮮価より強い価を示し2週間後

新鮮価と同じ反応を示し、それ以後では溶血能力が徐々に減弱して行くのを認めた。

余は先に「溶血速度に関する研究」で発表した如く完全溶血量のみにて溶血能力を表現することは不備であることを指摘したので自然放置した補体の溶血能力の低下を追求して溶血速度係数0.5における溶血能力を表現し、自然放置による溶血能力低下を再検討すべく次の実験を行つた。

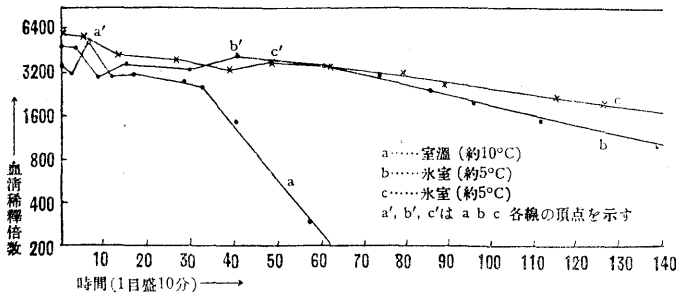
## 実験及び結果

実験 1. 補体は数匹混合海狸血清を採りこれより25°C室温(約10°C)及び氷室(約5°C)の3箇所に分けて保存し、時間を置いて取出し溶血反応の速度を測定した。溶血反応の術式は5%山羊赤血球4cc、家兎免疫溶血素の倍々稀釈各0.5ccに上記保存補体の原液約0.5cc宛を加え37°C水浴中にて行つた。この実験成績より溶血速度係数0.5における免疫血清稀釈倍数を計算し、これを縦軸に取り、且つ時間を横軸に取ると第I図及び第II図の如し。第I図は氷室及び室温第II図は25°の場合で時間は1目盛1時間とする。但し氷室及び25°の場合は2回実験を行つた。この二つの図より補体の單位

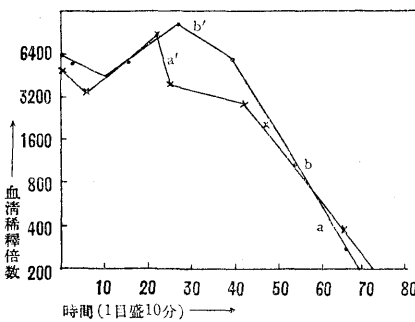
は時間の経過と共に低下し最初に起る低下は著しく落ちないうちに逆に向上する時期があり、時には高温部において見られる如く新鮮補体の力を凌駕するに至り爾後低下の一路をたどる。

即ち補体單位の経過は極大(第I, II図a', b', c')極小点を有する一つの波型の変化を呈するものである。極大、極小点の高さの差は氷室及び室温放置の場合よりも25°Cに放置せる血清において大であり甚だしい時は4倍の能力差を生ずる。最初の波型の経過時間はこの三つの保存温度の高低による著しい差は認められず、大体30時間~40時間保持せられるが、下降部(第I, II図a, b, c)は保存温度により著

第 I 図



第 II 図 (25°C)



しい影響を受け、25°C、10°C 保存のものを横軸に対する角度にて表現すれば50~60度であるに反し、氷室(約5°C)に保存のものは5~10度の差である。この下降部は自然放置補体による溶血能力の低下する部分である。元來色々の原因による不活化の本態は現在においても明らかでないが、自然放置の場合は補体血清の保存法を検討することによつて共通せる一端が窺われ、このような所に原因を連想させる。即ち主なる保存法<sup>3)</sup>は乾燥による法、濃厚なる塩を混入する法、pHの修正により(炭酸ガスの通気、塩酸の混入等)蛋白質の沈澱を生ぜしめ保存する法等全体を通じて見ても水の脱水という点において共通である。何故ならば蛋白質は元來親水性膠質である以上、水を強く吸着し、恰も水の被膜を被つたような状態にあるので或る種の電解質の添加によつて水を奪うことが出来、又蛋白質の析出又は沈澱は明らかに水との分離を意味するからである。従つて一応水による変化又は変性と看做すことが考えられる。Buchner

& Ortenberger (1890)<sup>4)</sup>が血清を蒸留水で薄めると補体作用が消失することを見出してより、水の作用点は幾多の学者の手を経て研究され Leschly (1916)<sup>5)</sup>によりアルブミン分解の作用が犯されていると証明されている。我々はこれらの事実によつて第 I 図及び第 II 図で下降部の解釈は水による変化として

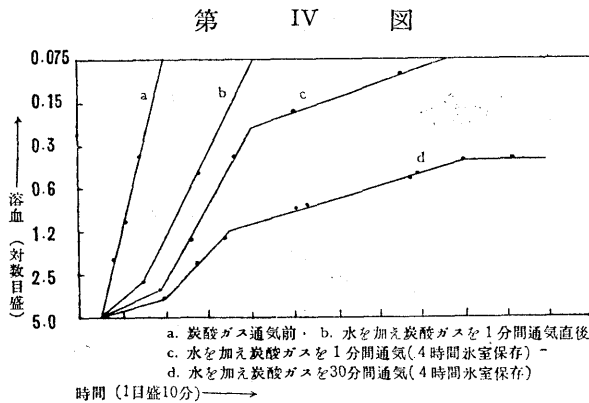
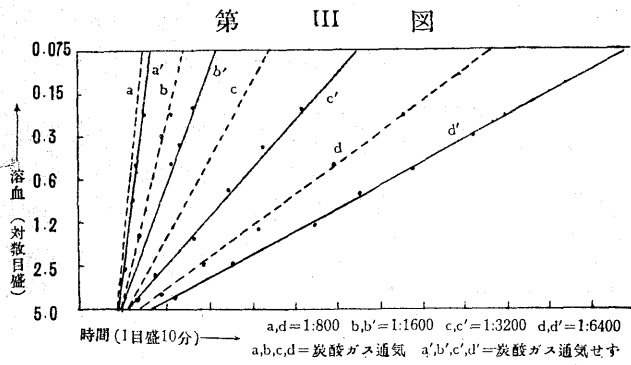
容易に了解出来るので上昇する現象の方に眼を向けねばならない。

実験 2. 新鮮海猿血清 1cc を 50cc 容量の太い遠心沈澱管にとり、泡立にて外にこぼれぬよう噴出を加減しながらキップの装置より導いた炭酸ガスを30分間通じこれを補体として用い、実験 1. と同様な組合せにて溶血速度を測定し、第 III 図の如き結果を得た。即ち a, b, c, d は炭酸ガスを通じた補体を使用し、a', b', c', d' は炭酸ガスを通じない補体を用い、家兔免疫血清の稀釈倍数は各々 800, 1600, 3200, 6400 と爲した。

Valley Mc Alpin (1925)<sup>6)</sup>によつても炭酸ガスを通ずることにより一時的ではあるが逆に補体能が2倍にもなることが報告されている。第 III 図の如く炭酸ガスの通気は明らかに補体能の増大を意味するが、これは決して炭酸ガスが補体能を賦活したものとは考えられない。何故ならば次の実験(第 IV 図)が示す如く水を加えた場合は炭酸ガスの通気時間が長い方に能力低下を來している。

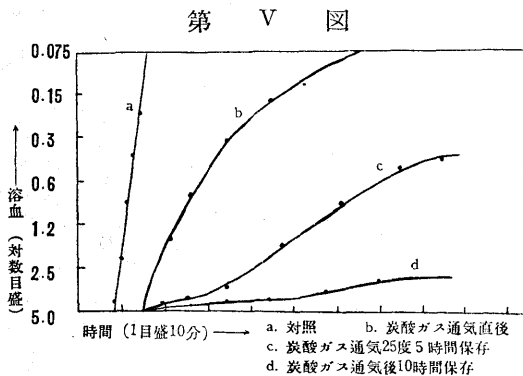
実験 3. 2本の遠心管に取つた各 1cc の海猿血清に蒸留水 8.5cc 宛入れ夫々炭酸ガスを1分間と30分間通じ4時間氷室に保存の後これに濃厚食塩水(15.3%)を0.5cc 加えて補体と爲し、家兔免疫血清3200倍稀釈、山羊赤血球と組合せ実験したものが第 IV 図である。

即ち第 IV 図においては海猿血清に水を加えて炭酸ガスを通ずるとアルブミン及びグロブリンの分離が行われる。勿論分離の程度に關聯し



ていると思われるが、1分間通気した場合よりも30分間通気した方に補体能力の低下が見られるのは実験ガスの存在が常に補体能力上昇に作用しているというようには考え難い。

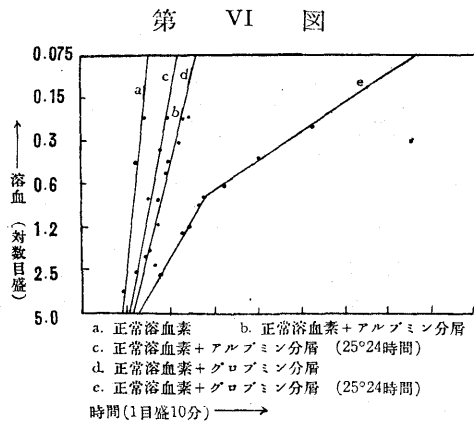
更に水を加えて炭酸ガスを30分間通気した海猿血清を25°Cに保存すると第V図の如き急速な溶血能力低下が見られる。これらは実験1の場合よりも遙かに低下している。



勿論この場合は Brand の Modifikation によるグロブミン分層中に抑制物質が出来るとの解釈もあるが、次の実験で見られる如く25度で24時間置いたグロブリンでさえも、このような大きな抑制作用が出ないのでこの場合は能力の低下と看做すべきであろう。

実験4. 新鮮海猿血清1ccを50cc容量の太い遠心沈澱管にとり蒸留水8.5ccを入れ、炭酸ガスを30分間通気し25°Cで24時間保存す。次いで遠心沈澱し、上清は直ちに15.3%の濃厚食塩水0.5ccを加え10倍稀釈等張液とし、沈澱物は蒸留水を静かに流し込み沈澱管一杯に満たし、そのまま蒸留水を捨てる。これを2回繰返し、沈澱だけを硝子棒でよく粘り最後に10ccの生理食塩水を加えてよく攪拌しグロブリン浮游液とする。

正常溶血系にこれらのアルブミン及びグロブリン0.5cc宛加えて実験し第VI図を得た。



即ち溶血速度は時間を経過した海猿血清のグロブリンを加えることにより抑制される。(第VI図e)

余のここで主張したい点は補体能力の増大が決して補体を賦活したりする純粹の増大を意味

する実験は少ないので実験 1. の結果を賦活と  
考え難いということ。そこで補体を賦活するこ  
となく能力が増大することは補体の作用を抑え  
る因子があり、この抑えが取れたというように  
考えれば良い。それならば補体能を抑える事実  
があるかどうかの問題が起る。

Manninger<sup>8)</sup>によると抗補体作用は各動物の  
種類によつて異なり、且つその作用の耐熱度  
が異なる(馬血清 56度 30分、驢馬血清 60度 30  
分、驢60度40分)これらの原因は遺伝的のもの  
を考えるより代謝の差によるアルブミン：グロ  
ブリンの差による物理作用であると報告してい  
るが、これらはグロブリンによつて溶血作用を  
抑え、且つ熱によつて壊され易いことを意味し  
ている。又 Anguste (1934) はモルモット血清の  
グロブリン分層には溶血抑制作用があり、56度

以上の加熱でその作用が減弱すると報告した。  
グロブリンは補体の重要な構成成分でありなが  
ら同時に又補体作用を充分に發揮せしめること  
を抑えつける要素を持つ。これが同じグロブリ  
ン分子内における異なつた面であるか、他のグ  
ロブリンであるかは明らかでないが、変性の温  
度に対する抵抗差が少しでも両者の間に存在し  
ていたとするならば、この現象は簡単に説明づ  
けられる。即ち前記波形の部分は賦活されたと  
考えるより、元來所持していた能力がグロブリ  
ンによつて抑えられていた。これが先ずこの変  
性によつて補体作用の隠された部分が現われ、  
更に補体自身の変性によつて作用力が低下して  
行くと考えたのが保存する温度による差も同時  
に説明づけるのに自然であると考えられる。

結

自然放置による補体の溶血能力が低下する経  
過を溶血速度係数 0.5 にて表現し次の結果を得  
た。即ち時間の経過と共に低下し、途中著しく  
落ちぬ中に逆に向上する時期があり、時には高  
温部保存のものにおいて見られる如く新鮮補体  
の力を凌駕するに至り爾後低下の一路をたど  
る。

文

1) Budiger E H : J. Inf. Dis 25, 269 (1919)  
2) 柿下正道 : 十全医学会雑誌, 35, 773 (1930)  
3) 大田棧之 : 日新医学, 23, 7 昭14. 血清学  
免疫学雑誌, 1, 123 昭15. 4) Buchner  
Von Hanrd : Ovthenberg Jr, Arch. Hyg. 10,  
149 (1890) 5) W. Laschly : Z. Immur.

論

この極大、極小点を有する波型の変化はグロ  
ブリン：アルブミンの変性に温度の抵抗差があ  
り抑えられた溶血能力の隠された部分が現わ  
れ、次に補体の変化が起り、低下して行くと思  
える。

終りに臨み終始御指導と御校閲を賜つた細菌学教  
室谷教授に感謝致します。

献

forschg. 25, 44 (1916) 6) Valley & mc  
alpin : J. Immun. 15, 313 (1928) 7)  
O. Thomsen V W. Lechly : Z. Immun.  
forschg. 11, 216 (1911) 8) R. Monninger :  
Z. Immun. forschg. 31, 222 (1921)