

ヒツジおよびヤギ赤血球のフォルスマン 抗体による被凝集性の差異について*

金沢大学結核研究所病態生理部（主任：西東利男教授）

一 柳 兵 藏

(受付：昭和39年8月25日)

緒 言

1911年 Forssman⁽¹⁾ はモルモット臓器の水抽出液をウサギに注射するとヒッジ赤血球（ヒ血球）を溶解する強力な抗体がえられることを報告した。この抗体産生のきっかけとなった抗原を一般に Forssman 抗原（F），対応する抗体を Forssman 抗体（anti F）と呼ぶことは周知のところである。

さて anti F はヒ血球のみならずヤギ赤血球（ヤ血球）に対しても強い溶血性を有しているが、これはヤ血球にもヒ血球同様 F が存在するためと解されている。しかるにヒ血球およびヤ血球に対しきわめて強い溶血能を示す anti F がヒ血球に対し弱い凝集作用を示すにすぎないの

みならず、ヤ血球を全く凝集しない。このように同じく F を有するヒ血球およびヤ血球と anti F との血清学的反応において、溶血反応と凝集反応が顕著に不均衡である点、更にヒ血球とヤ血球の被凝集性の相異する点がいかなる原因に由来しているかを追究することは、血清学的分野において興味あるところであるとともにまた誠に重要なことでもある。よって種々検査を進めたところ、抗体側に問題があるのではなく、両種血球における F の存在部位と密接な関係があるとの結論に達した。以下はその成績の概要である。

実験材料および実験方法

I 実験材料

1) 動物：一定期間一定条件下で飼育した2.5～3.0 kg の健常白色ウサギを用いた。

2) 使用抗原

i) Forssman 抗原（F）：モルモットを出血致死させ、摘出した腎を細切し流水中に数時間放置した後評量し、その5倍量の生食水を徐々に加えながらホモジナイザーにかけ

a) 注射用にはこれを一夜氷室において遠心してその上清を

b) 吸収用にはこれをただちに遠心して(8,000 rpm) その沈渣を用いた。

ii) ヒツジ赤血球（ヒ血球）およびヤギ赤血球（ヤ血球）：それぞれほぼ同量の alsever 液中に採取し、生食水で繰り返し充分洗浄した後所要濃度浮遊液として用いた。

iii) Formalin 处理血球：alsever 液中に採取された血液をただちに繰り返し遠心洗浄し、最後の遠心沈渣を pH 7.3 の生食水に加えて 50% 血球浮遊液とする。1ないし4°Cに冷したこの 50% 血球浮遊液 1 容に、同様 1~4°C とした 10

* 本論文の要旨の一部は第15回日本細菌学会北陸地方支部集会において発表した。

% formalin 生食水液(食塩濃度0.85%に調製)
4容を混じ, 1~4°C の冷蔵庫に 7~10日間
——その間毎日1回よく混和し血球を再浮遊さ
せる——放置しておく。その後用にのぞんで生
食水で充分洗浄して使用した。

3) F, ヒ血球およびヤ血球に対するそれぞれの免 疫ウサギ血清の作製

上記注射用 F 1回 5ml, 10%ヒ血球生食水浮
遊液 2ml および10%ヤ血球生食水浮遊液 2ml を
それぞれウサギに3ないし4日の間隔で4回耳静
脈内に注射し, 最終注射より7~10日の間に抗体
価の上昇を確かめた後全採血し, 型のごとく血清
を分離し, 使用に供した。

4) Antiglobulin 血清

繰り返し洗浄したヤ血球遠心沈査 2ml に充分
量の抗ヤ血球ウサギ免疫血清を加え, 37°C 2時
間放置する。ついで凝集塊をよくふりはぐして生
食水で2~3回洗浄した後 3ml の生食水に浮遊
し, ヤギの皮下に注射する。注射は3~4日の間
隔で6回行い, 最後にウサギ血清 2ml を静脈内
に1回注射し, その1週間後に採血し, 力値検定
後使用に供した。

5) ^{131}I -anti F, ^{131}I -ヤギ血清および ^{131}I - antiglobulin 血清

^{131}I 溶液 0.5mg (^{131}I 0.57 μg) に KI 5mg
を混じ, ついで 0.08 N H_2SO_4 1ml を加えて
酸性とし, 更に 4.0% H_2O_2 1ml を加えて 1
時間室温にて放置する。この混合物に血清 10ml
および 7% NaHCO_3 液 10ml を加え, 室温で
時々振とうしながら 12 時間放置しておく。その後
48~96 時間流水で, 更に 48 時間生食水で透析して
使用に供した。

II 実験方法

1) 血球凝集反応

内径約 12mm の試験管を用い, 血清を原液より
順次倍々希釈した 0.25ml の系列を作り, これに
0.5% 血球浮遊液 0.25ml ずつを加え, よく振とうし,
37°C に 20 分置いた後, 1,000~1,200 rpm
で 2~3 分遠心して判定した。

2) 溶血反応

1)と同様の血清希釈系列に型のごとく 1:10 モ
ルモット補体 0.25ml と 1% 血球浮遊液 0.25ml
を加え, 37°C に 30 分保った後判定した, なお溶血
反応に用いる生食水には $20\mu\text{g}/\text{ml}$ の割に Mg^{2+}

を加えた。

3) Antiglobulin 試験

血球凝集反応陰性であった場合, 各試験管に生
食水 5~6 ml を加えて血球を浮遊させ, これを
遠心する。更に同様操作を 2 回繰り返し, 最後の
血球沈査に 1:10 antiglobulin 血清 0.5ml を加
え, 37°C に 20 分置いた後 1,000 rpm 1 分間遠心
して判定した。

4) Trypsin 处置血球の凝集反応

5%赤血球浮遊液 10容に対し 1% trypsin 生
食水溶液 (pH 6.2~6.5) 1容を加え 37°C に 1
時間放置, その間ときどき振る。ついで約100容
の生食水で遠心洗浄を 3 回繰り返す。最後の沈査
に生食水を加えて 0.5% 血球浮遊液とし, その凝
集反応は 1) に準じて行った。

5) 膜質溶液を希釈液とした凝集反応

血清希釈に膜質溶液を用い, 血球も膜質溶液に
浮遊し, 1) に準じて凝集反応を行った。

6) Conglutination test

抗血清の 0.25ml 倍々希釈系列に 0.5% ヤ血球
生食水浮遊液, 補体, 更に 56°C 30 分加温ウシ血
清の 1:20 希釈液をそれぞれ 0.25ml 加え, 37°C
30 分おいた後 1,000~1,200 rpm 2~3 分遠心して
判定した。補体は formalin 处置血球を用いた場
合はモルモット血清を, 新鮮血球を用いた場合は
ウマ血清を使用した。補体の使用濃度は各実験項
目のところに記載した。また補体ならびにウシ血
清は血球で吸収して用いた。

7) Complement fixation test

抗血清の 0.25 ml 倍々希釈系列に 1% formalin
処理ヤ血球生食水浮遊液 0.25ml と緒方法に準じ
て希釈したモルモット補体 0.25ml をそれぞれ加
え, 2~4°C の氷室に 3 時間保った後 37°C
15 分加温し, 緒方法のごとく溶血系を加え 37°C
30 分おいた後, 遠心し判定した。

8) デン粉を支持体とする分域電気泳動

バルビタール 緩衝液 (pH 8.6 $\mu=0.05$) でよ
く洗浄したデン粉を巾 3cm 深さ 1cm 長さ 40cm
のプラスチックの容器につめた後, あらかじめ同じ
緩衝液に対して透析しておいた試料 2.5ml を
1cm 巾に充填した。4°C の低温で 7mA の電
流を 24 時間通電して泳動を行った。泳動後デン粉
を 1cm 巾に切断し各部分を生食水 5ml で抽出
して反応に用いた。

実験成績

I. 無処置ウサギ血清とヒツジおよびヤギ赤血球との血清学的反応
40羽の無処置ウサギ血清（ウ血清）について

4匹のヒツジ赤血球（ヒ血球）および4匹のヤギ赤血球（ヤ血球）の溶血ならびに凝集反応を行ってみた。その結果を一括して第1表に示した。

Table 1. Hemolysing and hemagglutinating titer of non-treated normal rabbit sera against sheep and goat red cells

No. of animals tested	Hemolysis of		Hemagglutination of	
	Goat red cells	Sheep red cells	Goat red cells	Sheep red cells
40	1:32~1:256	1:64~1:512	1:1>	1:4~1:16

この表からいずれのウ血清もヒ血球を溶解し、かつ凝集するが溶血価に比し凝集価はかなり低いこと、またヤ血球を溶解するが凝集しないことが看取される。そこでこれらのウ血清を

ヒ血球、ヤ血球あるいはモルモット腎（モル腎）で吸収して試験に供した。第2表はその成績の一つである。

Table 2. Hemolysing and hemagglutinating titer of a non-treated rabbit serum absorbed with GPK, sheep red cells or goat red cells

Absorption	-				+					
	Absorbed with		Antigen		G P K		G R C		S R C	
Absorbed with	G R C	S R C	G R C	S R C	G R C	S R C	G R C	S R C	G R C	S R C
Reaction	L	A	L	A	L	A	L	A	L	A
Antibody titer ($1:2^n$) : n	7	<0	8	3	<0	<0	<0	<0	<0	<0

G P K : guinea pig kidney,

G R C : goat red cell,

S R C : sheep red cell

L : hemolysis

A : hemagglutination

この表を一見して明らかのようにウ血清をヤ血球で吸収すると、ヤ血球に対する溶解能のみならず、ヒ血球に対する溶解ならびに凝集能とも消失する。またモルモットによる吸収試験の成績

もこれと全く同様である。ここにウ血清中のヒ血球凝集因子はモル腎と親和性を有し、かつヤ血球と結合しながらヤ血球凝集反応をじやっ起しないという知見がえられた。

II. モルモット腎水抽出液注射ウサギ血清とヒ

ツジおよびヤギ赤血球との血清学的反応

第3表にその成績の1つを示した。

Table 3. Hemolysing and hemagglutinating titer of an anti GPK
rabbit serum absorbed with GPK, sheep
red cells or goat red cells

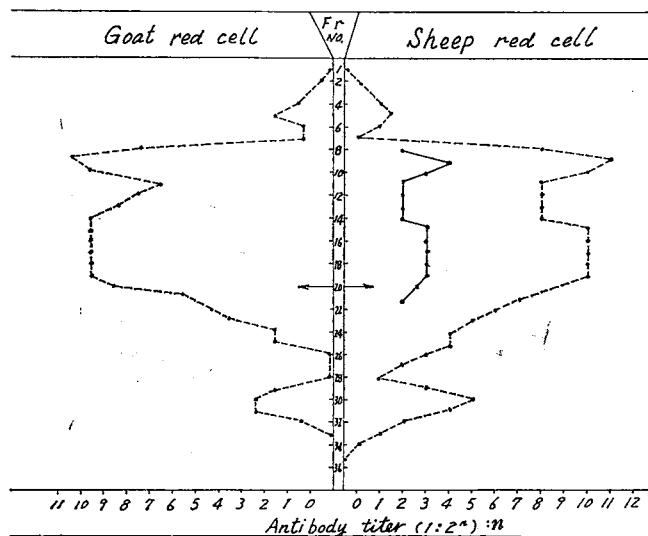
Absorption	-				+							
Absorbed with	.		G P K		G R C				S R C			
Antigen	G R C		S R C		G R C		S R C		G R C		S R C	
Reaction	L	A	L	A	L	A	L	A	L	A	L	A
Antibody titer ($1:2^n$):n	13	<0	15	7	<0	<0	<0	<0	<0	<0	<0	<0

この表から明らかなように、モル腎注射ウサギではヒ血球に対する溶血価のきわめて高い上昇があり、これに伴なってヒ血球凝集価にも大巾な上昇が認められた。しかし溶血価と凝集価の差は依然として短縮されるに至らない。またヤ血球に対する溶血価の上昇はヒ血球に対する

それに匹敵するにもかかわらず、ヤ血球凝集反応は注射前と同様全く陰性にとどまった。

このような関係はこの血清のゾーン電気泳動でえられた各分画についての検討でもほぼ同様で、第1図はその成績を示したものである。

Fig. 1 Zone-electrophoretic distribution of hemolytic and hemagglutinating activities of an anti GPK rabbit serum



--- : hemolysin titer — : agglutinin titer ←→ : starting point

Fr : fraction

GPK : guinea pig kidney

すなわちヒ血球とヤ血球に対する各分画の溶血能はほぼ同一であるといえるが、凝集能は異なっていて、ヤ血球に対してはいずれの分画にも認められないが、ヒ血球に対しては溶血能の高い分画にのみ認められる。またこの血清のヤ血球あるいはモル腎による吸収試験の成績は実験Ⅰ項の正常抗体のそれと少しも異なるところがなかった。すなわちヤ血球あるいはモル腎による吸収の後は、ヤ血球溶血反応はいうまでもなく、ヒ血球に対する溶血、凝集両反応をも完全に示さなくなつた。ここでもモル腎注射によって生じた高いヒ血球凝集因子はヤ血球と結合

しながらその凝集反応をじやっ起しないという知見がえられたのである。

III. ヒツジおよびヤギ赤血球に対する無処置ウサギ血清とモルモット腎水抽出液注射ウサギ血清（抗モル腎ウ血清）の反応性の比較

実験Ⅰ項およびⅡ項において無処置ウ血清と抗モル腎ウ血清はともにヒ血球ならびにヤ血球を溶解し、ヒ血球を凝集するのを認めた。その際、溶血反応あるいは凝集反応を詳細に観察すると次のような現象が明らかに認められた。第4表および第5表はその成績の一部である。

Table 4. Hemolysing and hemagglutinating activities of normal rabbit sera against sheep red cells

Animal No.	test serum dilution (1:2 ⁿ)	Hemolysis									Hemagglutination								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	
1	3	2	2'	1	0							2'	1	0					
3	3	3'	2	2'	0							3'	2	1	0				
7	3	3	3	3'	2	1'	0					3	3'	2'	1'	0			
10	3	3	3	3	3'	2'	1	0				3	3	2	2'	1	0		
12	3	3	3	3	3'	2	0					3	3	2	1	0			
15	3	3	3	3	3	2'	1	1'	0			3	3	2	2	1	0		
24	3	3'	2	2	1	0						3'	1	1	0				
32	3	3	3	3	3	2	1	1	1'	0		3	3	3	3	2	1	0	
38	3	3	3	3	3	2'	1	1	0			3	3	3'	3'	2	1	0	
40	3	3	3	3'	2	1	1	0				3	3	2	2'	1	1	0	

3 : complete hemolysis or strong hemagglutination

3'~1' : incomplete hemolysis or weak hemagglutination

0 : no hemolysis or no hemagglutination

Table 5. Hemolysing and hemaggultinating activities
of an anti GPK rabbit serum

Red cell	Reaction	Serum dilution ($1:2^n$):n															C
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Sheep red cell	L	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3'	2	2'	1	0	0
	A	2'	2'	2	3	3	3'	2	2'	1	1	0	0	0	0	0	0
Goat red cell	L	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3'	3'	2	1	1'	0	0
	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

C : control without serum

すなわち溶血反応では両血清、両種血球のいずれの組み合わせにおいても prozone が認められなかつたが、凝集反応についてみると、その間の事情がかなり異なつていて、ヒ血球-無処置

ウ血清間反応には prozone が認められなかつたにもかかわらず、ヒ血球-抗モルヌウ血清間反応では prozone の明らかなものが多かつた。

Table 6. Comparison of hemagglutinating activities between an anti GPK rabbit serum and supernatant taken from the anti GPK-sheep red cell hemagglutination test tube

Hemagglutination of	by Serum (dilution $1:2^n$)											
	n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Sheep red cells	2'	2'	2	3	3	3'	2	2'	1	1	0	0
by Supernatant taken from above each test tube												
Sheep red cells	3	3	3'	2	2'	1	1'	0	0	0	0	0
Goat red cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3, 3'~1' and 0 : see Table 4.

また第6表はこの prozone 区域の反応上清をとつて、これにヒ血球を加えると今度は前より強い凝集反応を呈する成績を示したもので、このことからこの prozone 部分に bivalent 抗体の充分に存在していることが看取される。しかるにこの上清にヤ血球を加えた場合、あるいは陰性にとどまつたヤ血球凝集反応の各試験管

から上清を分離して、これにヤ血球を加えた場合にも凝集反応は依然としてじやっ起きれない。さてヒ血球、抗モルヌウ血清間凝集反応で、bivalent 抗体のみの過剰が prozone を現出したのか、あるいは univalent 抗体の存在が一 univalent 抗体は反応速度が大で bivalent 抗体に先立つて determinant group と結合しやす

いと一般にみなされている—prozone 形成に与っているのかの問題が残されているわけであって、この点に関してはいずれ別のところで検討した結果を述べる積りでいるが、ここでは

抗モルヌウ血清はヒ血球凝集反応において prozone を形成する因子を除いてもヤ血球凝集反応をじやっ起しえないということを指摘するだけにとどめておく。

Table 7. Hemagglutination of mixed suspension of sheep red cells and goat red cells previously sensitized with anti GPK

Hemagglutination of	Serum dilution ($1:2^n$):n								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Goat red cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Washing of goat red cells									
Sensitized goat red cells added with sheep red cells	2	2	2'	1	1'	0	0	0	0

3, 3'~1' and 0: see Table 4.

ここで更に重要な示唆を与えるものは第7表に示した実験成績である。すなわち無処置ウ血清あるいは抗モルヌウ血清でヤ血球凝集反応を行い、その陰性であることを確かめた後、ヤ血球をよく洗ってこれにヒ血球を加えると凝集反応のじやっ起されることである。このことはおそらく一端の reactive group を一個のヤ血球の determinant group に結合した抗体の

他端の reactive group は別個のヤ血球の determinant group にとどきえないがヒ血球の determinant group には到達しうることを示しているのであろう。

IV. ヤギ赤血球と無処置ウサギ血清およびモルヌット腎水抽出液注射ウサギ血清との反応の吟味

実験 I 項および II 項において生食水中では無

Table 8. Hemagglutination of goat red cells by a non-treated rabbit serum in various diluents

Antigen	Diluent of serum	Serum dilution ($1:2^n$):n						C
		0	1	2	3	4	5	
Non-treated goat red cells	Saline	-	-	-	-	-	-	-
	(Coombs reaction)	+	+	+	+	+	-	-
	Colloid	-	-	-	-	-	-	-
	Goat serum	-	-	-	-	-	-	-
Trypsinized goat red cells	Saline	+	-	-	-	-	-	-
	Colloid	+	+	+	-	-	-	-
	Goat serum	+	+	-	-	-	-	-

処置ウ血清および抗モル腎ウ血清はヒ血球を凝集するがヤ血球を凝集しないことを明らかにした。そこでここではヤ血球とこれらの血清について血清学的分野で常用される各種試験を行った。

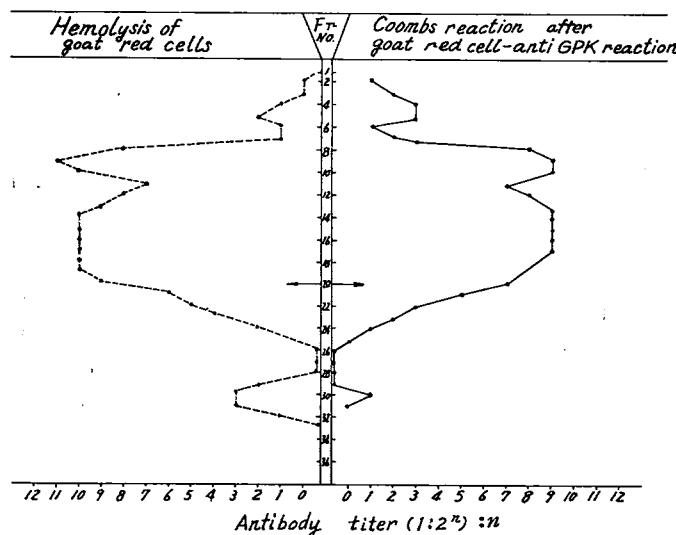
1) Antiglobulin 反応, 膠質溶液内凝集反応および Trypsin 処置ヤ血球凝集反応

第8表および第9表はその成績の概要である。

Table 9. Hemagglutination of goat red cells by an anti GPK rabbit serum in various diluents

Antigen	Diluent of serum	Serum dilution ($1:2^n$):n										C
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Non-treated goat red cells	Saline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	(Coombs reaction)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Colloid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Goat serum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trypsinized goat red cells	Saline	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Colloid	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	Goat serum	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Fig. 2 Zone-electrophoretic distribution of hemolysing and Coombs reaction-causing activities of an anti GPK rabbit serum



Fr : fraction ←→ : starting point

GPK : guinea pig kidney

これらの表からわかるように、antiglobulin 反応は血清の高希釈まで明らかに陽性を示し、また trypsin 处置血球の食塩水内凝集反応も血清の低希釈のところでは認められるが——ただし無処置ウ血清では認められない——、特にその膠質溶液内反応は antiglobulin 反応に近い陽性度を示した。またいずれの反応でも無処置ウ血清に比べて抗モル腎ウ血清の方が高い抗体価を示した。ここで抗モル腎ウ血清の分域電気泳動各分画についてヤ血球の溶血反応と antiglobulin 反応を比較検討した。第2図はその成績を示したものである。この図から各分画の溶血能と antiglobulin 反応じやっ起能とがほとんど完全に並行関係

にあることが実証された。

2) Conglutination test

抗原抗体の結合がありながら凝集反応がきわめて弱いかあるいは全く認められないときこの複合体に補体としてウマ血清および conglutinin 含有血清として非働化ウシ血清を加えると強い凝集反応を呈するに至る事実は古くから知られている。そこで凝集反応を呈しないヤ血球と抗モル腎ウ血清あるいは無処置ウ血清の混合液に新鮮ウマ血清と加温ウシ血清を加えて凝集がじやっ起されるかどうかを観察した。その成績を示したのが第10表である。

Table 10. Result of conglutination test showing goat red cell-anti F complex formation

Experimental Condition				Result															
Serum 1 volume of	Antigen 1 volume of	Conglutinin 1 volume of	Complement 1 volume of	Serum dilution ($1:2^n$):n															
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Anti GPK rabbit serum	0.5 percent goat red cell	1 : 20 diluted bovine serum	Horse serum 1 : 40	L	L	L	L	L	L	L(L)	+	+	+	+	+	+	+	-	
				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
Non-treated rabbit serum				+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

L : complete hemolysis
(L) : incomplete hemolysis
+ : positive reaction
- : negative reaction

これによると conglutination は明らかに陽性である。ここでついでに少しばかりこの術式について検討を加えてみると、1:10 ウマ血清を用いた場合抗モル腎血清の高希釈まで陽性反応を呈するが、低希釈のところで溶血が起ることを考慮に入れて新鮮血球のかわりに formalin 处理血球を抗原とした場合の成績を一括したものが第11表である。

は認められない。さて新鮮ヤ血球と 1:10 ウマ血清を用いると抗血清の高希釈まで conglutination 陽性であるが、低希釈のところで溶血が起ることを考慮に入れて新鮮血球のかわりに formalin 处理血球を抗原とした場合の成績を一括したものが第11表である。

Table 11. Result of conglutination test showing goat formalinized red cell-anti F complex formation

Experimental condition					Results													
Antiserum 1 volume of	Antigen 1 volume of	Conglutinin 1 volume of	Complement 1 volume of		Antiserum dilution ($1:2^n$):n													
					0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Anti GPK rabbit serum	0.5 percent formalinized goat red cell	1 : 20 diluted bovine serum	GPS 1 : 20 HS 1 : 10 1 : 20	Incubation at 37°C for 30 min and centrifugation	+ + + + + + + + + + ± -													
					+ + + + + + + + + + -													
					+ + + + + + + -													
					+ + + + + + + + + + + + + -													
					± + + + + + + + -													

G P S : guinea pig serum

H S : horse serum

Table 12. Result of complement fixation test showing sheep or goat formalinized red cell-anti F complex formation

Serum	Formalinized red cell of	test	Serum dilution ($1:2^n$):n							
			3	4	5	6	7	8	9	10
Non-treated rabbit serum	Sheep	A	+	+	-	-	-	-	-	-
		CF	2	0	0	0	0	0	0	0
	Goat	A	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	±	-	-	-	-	-
		CF	2	0	0	0	0	0	0	0
Anti guinea pig kidney rabbit serum	Sheep	A	+	+	+	+	+	+	+	-
		CF	3	3	3	2	0	0	0	0
	Goat	A	-	-	-	-	-	-	-	-
		C	+	+	+	+	+	+	-	-
		CF	3	3	2	0	0	0	0	0

CF : complement fixation test

C : Coombs test

この表から formalin 处理血球を用いると溶血はもちろん認められず新鮮血の場合と同一程度の抗血清希釈まで conglutination が認められた。とくにこの際は補体としてモルモット血清も使用可能であるが conglutination を示す抗血清希釈はウマ血清を用いた時より低いという結果がえられた。しかしながらこのような程度の差はあるとしてもヤ血球、抗モルヌウ血清あるいは無処置ウ血清、補体およびウシ血清でヤ血球の凝集が認められるということが重要な知見であって、これによってヤ血球—無処置ウ血清およびヤ血球—抗モルヌウ血清複合体の形成が明らかに推定されるわけである。

3) Complement fixation test

第12表にその成績を示した。ここでも formalin 处理ヒ血球およびヤ血球とも無処

理ウ血清あるいは抗モルヌウ血清と複合体をつくり、補体をとることが実証された。

V. Isotope 標識法による反応の証明

抗原抗体反応の過程を便宜的に二つの段階に区別すると、その第一は抗原抗体複合体の形成、その第二は抗原抗体複合体の反応、すなわち可視的反応のじやっ起される段階とみてよい。抗モルヌウ血清あるいは無処置ウ血清とヤ血球との反応は第一段階にとどまって第二段階へ進行しないでいることは Coombs test によって可視的反応をじやっ起しうることで実証した。ここでは抗モルヌウ血清とヤ血球の複合体形成の有無を¹³¹I—標識 Coombs 血清、あるいは¹³¹I—抗モルヌウ血清を用いて直接察知しようと試みた。第13表および第14表はその成績の概要である。

Table 13. Result of radioisotopical examination of goat red cell-rabbit serum complex formation

Experimental condition			Counts per minute
10% goat red cell suspension (5 ml)	+		
	¹³¹ I-rabbit serum (1 ml)	37°C, 2h	4, 344
10% goat red cell suspension (5 ml)	+		
	¹³¹ I-goat serum (1 ml)	Washing	596

Table 14. Result of radioisotopical examination of antiglobulin reaction

Experimental condition			Counts per minute
10% goat red cell suspension + rabbit serum		¹³¹ I-Coombs serum + (1mg/ml)	
2 ml	0.4 ml	37°C 2h	6, 545
2 ml	*	Washing	640

これによっても明らかに抗モル腎ウ血清とヤ血球は複合体を形成したと考えられ、かつその複合体と Coombs 血清との結合がきわめて明瞭に推定されるのである。

VI. ヒツジ血球注射ウサギ血清とヒツジおよびヤギ血球との血清学的反応 第15表にその成績を一括した。

Table 15. Hemolysing and hemagglutinating titer of an anti-sheep red cell rabbit serum absorbed with GPK, sheep red cells or goat red cells

Absorption	-				+			
	Absorbed with		GPK		GRC		SRC	
Antigen	GRC	SRC	GRC	SRC	GRC	SRC	GRC	SRC
	L	A	L	A	L	A	L	A
Antibody titer ($I : 2^n$) : n	15	8	17	10	7	7	8	<0
							8	8
							<0	<0
							<0	<0

ヒ血球の注射によってヒ血球に対する溶血価ならびに凝集価、更にはヤ血球に対する溶血価の上昇の認められるのは当然のこととして、ヤ血球凝集反応を呈するに至る事実には充分な注意がはらわれてよい。ここで吸収試験を行ってみた。すなわちこの抗血清はヒ血球による吸収でヒ血球およびヤ血球に対する反応性を完全に喪失するが、ヤ血球による吸収によってはヤ血球に対する反応性を完全に失っても、ヒ血球に対してはなお溶血および凝集能を残存しており、一方モル腎による吸収によっては両種血球に対する溶血ならびに凝集能が完全には消失しなかった。しかも非吸収血清では溶血価と凝集価との間に顕著な差が認められたのに反して、ヤ血球あるいはモル腎のいずれによる吸収血清でも両抗体価間にほとんど有意と思われる差が認められなくなったことは注目に値する事実である。

これらの諸点を総合するとヒ血球の注射によって、少なくともヒ血球のみと反応する抗体、モル腎で吸収される抗体の外更にヒ血球とヤ血球に共通な抗原に対する抗体がえられたことが

推定されるところである。

VII. ヤギ血球注射ウサギ血清とヒツジおよびヤギ血球との血清学的反応 第16表はその成績の概要である。

ヤ血球の注射によってヤ血球に対する溶血価ならびに凝集価、更にはヒ血球に対する溶血価の上昇の認められるのは当然のこととして、ヒ血球凝集反応を呈するに至る事実は注目を要する。

この抗血清の吸収試験の成績は抗ヒ血球ウ血清の吸収試験の成績と全く相似の関係にある。すなわちヤ血球による吸収でヤ血球およびヒ血球に対する反応性を完全に失うが、ヒ血球による吸収によってはヒ血球に対する反応性を完全になくしてもヤ血球に対してはなお溶血および凝集作用を残存しており、一方モル腎による吸収によってはヤ血球のみならずヒ血球に対する溶血ならびに凝集能を完全には喪失しなかった。しかも非吸収血清では溶血価と凝集価の間に顕著な差が認められたのに反して、ヒ血球あるいはモル腎のいずれによる吸収血清でも両抗体価間にほとんど差が認められないようになった。

Table 16. Hemolysing and hemagglutinating titer of an anti-goat red cells rabbit serum absorbed with GPK, sheep red cells or goat red cells

Absorption	-				+							
Absorbed with	•				GPK		GRC		SRC			
Antigen	GRC	SRC										
Reaction	L	A	L	A	L	A	L	A	L	A	L	A
Antibody titer ($1:2^n$):n	16	9	16	9	7	8	7	8	<0	<0	<0	<0
									7	8<	0<	0

以上の成績は抗ヒ血球ウ血清の場合と全く相似の意義を有するものであって、ヤ血球注射によって、少なくともヤ血球のみと反応する抗

体、モル腎で吸収される抗体の外更にヤ血球とヒ血球に共通な抗原に対する抗体がえられたことを示していると解される。

総括ならびに考察

ウサギは Forssman 抗原 (F) を有せず自然に Forssman 抗体 (anti F) を保有する動物であることは古くから知られているところである⁽¹⁾。モル腎水抽出液を注射されたウサギの血清が注射前と対比してはるかに高いヒ血球溶血能を有するに至ることもまた周知のことろ

で、モル腎に存する F の作用によることは既知の事実である。

ところで無処置ウ血清ならびに抗モル腎ウ血清はヒ血球に対し明らかに溶血反応および凝集反応をじやっ起するが、ヤ血球に対しては溶血反応のみで凝集反応を呈しなかった（第17表参

Table 17. Summary of hemolysing and hemagglutinating activities of normal, anti GPK, anti sheep red cells and anti goat red cells rabbit sera against sheep and goat red cells

Antigen	Goat red cells		Sheep red cells	
	Hemagglutination	Hemolysis	Hemagglutination	Hemolysis
Serum	Reaction			
Non-treated rabbit serum	-	+ ~ ++	± ~ +	+ ~ ++
Anti guinea pig kidney rabbit serum	-	++ ~ ■	++	■
Anti goat red cells rabbit serum	++	■	++	■
Anti sheep red cells rabbit serum	++	++ ~ ■	++	■

-; $1:1>$

±; $1:4 \sim 1:16$

++; $1:32 \sim 1:128$

++; $1:256 \sim 1024$

++; $2,048 \sim 8,192$

■; $16,384 \leq$

照)。このヒ血球とヤ血球の凝集性の相違の原因に関して検索を進める第一歩として、無処置ウ血清および抗モル腎ウ血清をヤ血球で吸収してみた。その結果これらの吸収血清は完全にヒ血球に対する溶血ならびに凝集能を示さないという誠に重要な知見がえられた。このことは無処置ウ血清および抗モル腎ウ血清中に特にヒ血球に対してのみ特異的な凝集素が含まれているのではないかという疑いを否定する根拠として充分であろう。更にヒ血球を凝集する抗体とヤ血球が結合しておりながらこの複合体は可視的凝集反応を呈しない。しかも無処置ウ血清および抗モル腎ウ血清のヒ血球凝集能および溶血能はヤ血球のみならずモル腎で吸収することによっても消失する。以上列記したような所見から、この両血清中のヒ血球溶血ならびに凝集に関与する因子は anti F であると考えて誤りないであろう。分域電気泳動でえられた各分画とヒ血球との反応では、高い溶血能を示す部分のみに凝集能が認められるのであるが、このことについては、この部分には 2 つの異なる抗体—すなわち bivalent anti F および univalent anti F —が存し、溶血能の低い分画には 1 つの抗体—univalent anti F —しか存在しないとする考え方、あるいは bivalent anti F のみであるが両反応の鋭敏度の相違でその少ないところでは溶血反応のみ、多いところでは凝集反応も認められるとする考え方、のいずれも一應えられた結果と矛盾しないであろう。しかしヤ血球に対する反応を検討するとほとんどヒ血球に対すると同様高い溶血能を示す分画でもヤ血球を凝集しない事実は注目さるべきである。さてここまで問題を追究していくと、anti F が bivalent のもののみであろうが、それに univalent のものが混在しておろうが、この anti F と両血球との凝集反応の相違は血球側に原因を求めた方が妥当と思われる。

ここで両血球の血清学的抗原構成を比較検討すると実験 VI 項および VII 項からヒ血球およびヤ血球はそれぞれに特異的な抗原 (S および G) の外、F ならびにその他にもう一つ共通な抗原 (B) を有していると仮定してよいようである。

さて S-anti S, G-anti G および B-anti B 反応における溶血価と凝集価の間にはほとんど有意の差がないとみられるのに反して F-anti F 反応においては、ヒ血球の場合溶血価と凝集価の間に格段の差が認められ、ヤ血球ではついに溶血反応のみで凝集反応は認められないという結果がえられた。ここにヒ血球では S, B は主として浅在性に、F は主として深在性に分布し、ヤ血球では G, B は主とし浅在性に F は深在性にのみ存在するとの結論に到達せざるをえなくなった。かくてヒ血球を凝集することから bivalent と考えられる anti F はその一方の reactive group のみ一個のヤ血球の深在性の F determinant group と結合しても、他方の reactive group が別個のヤ血球の深在性の determinant group に到達できないのであろうと推定される。なお、anti F 感作ヤ血球にヒ血球を加えることによって凝集反応の認められるようになる事実は一層明確にヒ血球とヤ血球の表層における F determinant group の深浅分布度の差を示唆しているものといえるであろう。かくて anti F ヤ血球関係は非定型抗体と対応抗原との関係と本質的には異なっていても、その反応の表現は同じである。この推論が正しければヤ血球-anti F 複合体は Coombs test によって凝集反応を呈するはずである。この想定のもとに試みられた Coombs 反応は陽性であり、かつ該複合体形成の事実は ^{131}I 標識 anti F あるいは conglutination test 更に complement fixation test によっても実証されるなど多方面からこの推論の正当性が確かめられたのである。

Coombs ら^{2) 3)}は Paul-Bunnell antibody あるいは anti-ox red cell serum によって感作されたウシ血球の antiglobulin test を行っていた際、多くのウシのそれぞれの感作血球の被凝集性からウシを inagglutinable, moderately agglutinable and markedly agglutinable の血球をもつ 3 群にわけうとした。しかしこの test で inagglutinable の感作血球も、これに antiglobulin の属する種の globulin に対する抗体で更に antiglobulin test を行うと agglu-

tinable であることを実証し、ウシによって血球の凝集に関与する抗原部分から表面までの距離が異なるのであろうとしている。

さて本報における実験成績のうち anti F とヤギ血球の反応のみをとりあげてみると、anti F が、univalent ではないかと疑われる所以あるが、ここに血清学的に近縁であるヒ血球との反応性を考慮すると univalent anti F の混在のいかんをとわず bivalent anti F の存在は確かである。しかもこの bivalent anti F と両種血球との反応を比較検討するという新しい研究方式が用いられるに及んで、はじめて両種血球に

結

Forssman抗体(anti F)によってヒツジ赤血球およびヤギ赤血球はともに強い溶血反応を呈するにもかかわらず、ヒツジ血球は弱い凝集反応を示すのみであり、ヤギ血球はついに凝集反応を示さない原因を追究するため、無処置ウサギ血清、モルモット腎水抽出液注射ウサギ血清、ヒツジ血球注射ウサギ血清およびヤギ血球注射ウサギ血清について、モルモット腎、ヒツジ血球あるいはヤギ血球による吸収を行い、吸収の前後におけるヒツジ血球およびヤギ血球に対する溶血ならびに凝集反応の相違を検討して(1)ヒツジおよびヤギ血球にはともに Forssman 抗原 (F) と更に両血球に共通な抗原 (B) の外それぞれに特異的な抗原 (S および G) が存在し、(2) ヒツジ血球では S, B は主として浅在性に、F は主として深在性に存在するのに反し、(3) ヤギ血球では G, B は主とし浅在

文

- 1) Forssman, J. : Biochem. Zschr., 37, 78, 1911.
- 2) Gleeson-White, M. H., Heard, D. H., Myntons, L. S. and Coombs, R. R. A. ;

おける F 分布の差を明確に指摘することに成功した。

また抗体がたとえ bivalent であっても抗原の determinant group の位置によって一方の reactive group のみしか結合していない複合体も antiglobulin test で証明されるのであってみれば、抗原構造の追究なくして、対応する抗体の valence を論ずることには大きな疑問があるといわざるをえない。このことは血清学の上で誠に重要な問題点であって今後充分な注意がはらわれなければならないことであると信ずる。

論

性に F は深在性にのみ存在すると推測しうる成績がえられた。しかもヤギ血球と anti F の結合は ^{131}I -labelled anti F の使用により、あるいは吸収試験、Coombs test, conglutination test, complement fixation test などで実証され、

ここに

- I ヒツジ赤血球およびヤギ赤血球の anti F による溶血反応と凝集反応の顕著な差は両血球表層における F 存在部の深浅度の相違に一因があり、かつ
 - II ヒツジ赤血球とヤギ赤血球の anti F による被凝集性の差は両血球表層における F 存在部の深浅度の相違による
- との結論に達した。

献

- 1) Brit. J. Exp. Path., 31, 321, 1950.
- 3) Coombs, R. R. A., Gleeson-White, M. H. and Hall, J. G. : Brit. J. Exp. Path., 32, 195, 1951,