モルモット補體成分構造の季節的變動

ミワツセルマン反應との關係に就て

On the Seasonal Rise and Fall in Some Components of Guinea
Pig's Complement and its Relation to Wassermann's Reaction

豫防衛生研究所血清學部

(部長 中村敏三博士指導) 田 崎 瑛 生

Tasaki Eisei

緒 言

補體 (補體に就いての今日までの主なる研究は、文献 1) 及び 2) に綜説されてある。) は周知の如く、單一のものでなく、溶血反應に於ては、易熱性の中節、末節耐熱性の第 3 成分、第 4 成分の秩序立つた協同作用により溶血現象を呈するものである。^{3) 4)}

又「ワツセルマン」反應 (以下ワ氏反應と記載) を含めて、一般に補體結合反應の第一段階に於ける補體の結合に關しては、補體が現在の如く 4 つの成分として取扱われる様になつた以前の研究は暫くおき、一般に最も著明に結合せられるのは第 4 成分であつて、特に甚だ弱い第一段階の反應に於ては、補體はその第 4 成分のみが關與するといふのである。^{5) 6)}

このような事實が、溶血反應を支配する補體の最少成分と如何なる關連をもつか、又夏には補體價が低く、冬には高いといわれているが、その場合に補體成分の構造が如何に變化するものであるか、又その弱い夏の補體がワ氏反應には條件の悪い補體といわれる所以がモルモット血清を濃厚に使用するために起るものであるか、それとも補體成分の構造と何等かの繋がりがあるものであるかを知ることは、ワ氏反應の理論的方面からも又その實際的な技術の面より見ても考察に値することと考えられる。

既に Hegedüs u. Greiver⁷⁾ は各種動物の補體成分をその作明の上から研究し、モルモットに於ては各成分が最も多量に且つ可成平均して

存在すること、補體の所謂「價」と稱されるものはその補體の有している 4 つの成分の内の最も低い成分の「價」に支配されること、その最も低い「價」の成分はモルモットに於ては中節であると述べている。又大谷⁸⁾ はモルモットに於ては、第 4 成分甚だ多く中節之に次ぎ、末節と第 3 成分が比較的少ないといつてゐる。然しながら、兩者の實驗は共に余の企圖するモルモット補體とワ氏反應との關連に於て、特にワ氏反應の成績の季節的な優劣との關連に於ての實驗としては、當然その意が深く拂われていないのである。

余は補體成分の構造を季節的に觀察した處、興味ある新知見を得、且つそれがワ氏反應の成績と密接なる關係を有することを知つたのでここに報告する。

〔I〕 モルモット補體成分構造の季節的變動に就て

(A) 實驗材料及方法

1) モルモット血清：一般にワ氏反應を行う場合の如く、前日 3—5 匹のモルモットより採血、氷室に保存したものから血清を分離、混合してその一部を被檢材料とし、他を各成分の分離に用いた。

2) 感作血球浮遊液：7 單位溶血素で感作した 2.5% 山羊血球浮遊液を使用した。

3) 各成分の分離：

(イ) アルブミン屑、グロブリン屑の分離
Liefmann の炭酸ガス導入法に従い、豫備試

験の結果、第3成分の歸趨を考慮して通氣時間を20分とした。上澄のアルブミン屑及び沈澱のグロブリン屑を夫々10倍に稀釋し等張液として使用に供する。

(ロ) 加熱血清：56°C、30分水浴中に加熱し、10倍稀釋液とする。

(ハ) アンモニヤ處置血清：血清2容にN/10 NH₄OH 溶液1容を加え、32°Cに1時間15分保ち、N/10 HCl 溶液1容で中和した後、10倍稀釋液とする。

(ニ) 酵母處置血清：血清に培養酵母を加え、37°C、35分間保ち、遠心後上澄を10倍稀釋液とする。この第3成分破壊は最も困難で充分な豫備試験を行い、第3成分のみを完全に破壊し他の成分を害わない酵母の量と作用時間を決定し、且つ本試験直前に行つた。

其の他、以上の方法を組合せて

(ホ) アンモニヤ處置血清からアルブミン屑を作り、

(ヘ) アンモニヤ處置血清の加熱

(ト) アルブミン屑の加熱

を行つた。夫々に含まれている成分は第2表を参照され度い。

(4) 對照試験に就て：

次の本試験の成績が眞實であるか否かは、全て實驗材料中に記載した方法で分離し得た各成分が希望の如き成分を完全に含み、他の成分を全く含まないか否かにかかつていたのであつて、本試験の度に毎回第1表に示すような對照試験を行つてこれを確認した。(表には夏の場合一のみを收録する) 即ち、各成分を0.5 cc より0.1 cc まで漸減的に並べて置き、食鹽水で全量を0.5 cc とし、夫々に感作血球0.5 cc を加え、37°C、1時間後に判定する。1—5 は非溶血なること、6—8 は0.3 cc の管までは完全溶血なることが必要である。

(5) 本試験に就て：

第2表に示すように、非處置血清(被檢血清)の20倍から320倍まで階段稀釋したものの各0.5 cc に、前節に於て述べた方法で作つた處置血清(各成分或はその組合せ)の0.25 cc 宛

を加えた10列とその他に對照(そのときの被檢血清の補體價がこれで分る。)として食鹽水0.25 cc 宛を加えた1列を用意し、その全てに感作血球0.5 cc 宛を加え、1時間、37°C に保ち判定する。溶血の程度を完全溶血を卅、非溶血を一、不完全溶血を程度に應じて卅、+、±と記載した。第2表には冬、春の場合は完全溶血を起した管數を以て表示した。

表中に記載した成績は全て、對照試験と本試験の成績が互に矛盾せず、且つ一定の成績を示す様に手技が習熟したる後、5—10回の實驗を行い全く同一の成績を得たものである。

(B) 實驗成績

1) 夏(8月)に於ける實驗成績

第2表の成績に就て見るに、第11列の對照に比して第1、4、5、6、9列に於て補體價の上昇が認められ、それがためには末節の添加が必要にして且つ充分な條件であることを示している。云いかえれば、被檢補體(8月採取のもの)では末節のみが他の成分に比して少ないことが分る。且つ末節及びその他の種々な成分の組合せによつても、1管以上の補體價の上昇を見ないのは、他の成分は殆んど等しく、又冬、春に比較すれば各成分が總體に少ないがためと思われる。

2) 冬(12月)に於ける實驗成績

第2表の(12月)の欄に示した數字は、完全

第 1 表

處置血清	量				
	0.5 cc	0.4 cc	0.3 cc	0.2 cc	0.1 cc
1 アルブミン屑	—	—	—	—	—
2 グロブリン屑	—	—	—	—	—
3 加熱血清	—	—	—	—	—
4 アンモニヤ處置血清	—	—	—	—	—
5 酵母處置血清	—	—	—	—	—
6 アルブミン屑+ グロブリン屑	卅	卅	卅	+	±
7 アンモニヤ處置血清 + 加熱血清	卅	卅	卅	卅	+
8 酵母處置血清+ 加熱血清	卅	卅	卅	卅	+

溶血の最高稀釋を意味するのであるが、これによつて見ると、末節及び第4成分が中節及び第3成分に比較して同じ程度に少くなつており、多い方の成分である中節及び第3成分もその量は互に略々等しくなつておる。

3) 春(4月)に於ける實驗成績

第 2 表

列	試験管番號 非處置血清稀釋 倍數(全管 0.5cc宛) 處置血清の液 10 倍 稀釋液 0.25cc宛 ()内は含まれる成分	8 月					12月	4 月		
		1	2	3	4	5	左結 の成績 の果	成績 の結果	成績の結果	
		×20	×40	×80	×160	×320			1 型	2 型
1	アルブミン層(末・4)	卅	卅	+	-	-	2	3	3	3
2	グロブリン層(中・3)	卅	卅	±	-	-	1	2	2	2
3	加熱血清(3・4)	卅	+	-	-	-	1	2	2	2
4	アンモニヤ處置血清(中・末・3)	卅	卅	卅	±	-	2	2	2	3
5	酵母處置血清(中・末・4)	卅	卅	卅	-	-	2	3	3	3
6	アンモニヤ處置のアルブミン層(末)	卅	卅	+	-	-	2	2	2	3
7	アンモニヤ處置の加熱(3)	卅	+	-	-	-	1	2	2	2
8	アルブミン層の加熱(4)	卅	+	-	-	-	1	2	2	2
9	アルブミン層+加熱血清(末・4+3・4)	卅	卅	卅	+	-	2	3	3	3
10	グロブリン層+加熱血清(中・3+3・4)	卅	+	-	-	-	1	2	2	2
11	食鹽水 0.25 cc (對照)	卅	+	-	-	-	1	2	2	2
							夏型	冬 型	春型	

(II) 苛性曹達處置による第3成分破壊に就て

大谷⁸⁾は第3成分破壊に苛性曹達を使用してゐるが、苛性曹達によつては第3成分と同時に中節、末節も共に破壊されることを明らかにした。(實驗の詳細は省略する)

(III) モルモット補體最少成分の變動がワ氏反應の陽性度に及ぼす影響に就て

(A) 實驗材料及方法

1) 末節を最少成分とする補體(夏型補體の模型)及び第4成分を最少成分とする補體(冬

第2表に就て見るに、明らかに冬に於けるものと全く同様な場合と、各成分の量から云えば冬と同様に多いが、各成分相互間の割合に於ては夏の場合に等しいという2つの型の存在することが分る。

型補體の模型)を人工的に製造したものを夫々「末節補體」、「第4成分補體」と假に名づけておく(第5表参照)。

末節補體は加熱血清1容に無處置血清1.5容を加え、第4成分補體はアンモニヤ處置血清1容に2倍稀釋無處置血清1.5容を加えて得られる。勿論充分なる豫備試驗により兩者の容量を加減して、末節補體と第4成分補體の補體價は無處置補體の補體價より可成り低く、且つ前2者は等しくなる様にした。

2) ワ氏反應術式: 溶血素の4單位を以て感作した5%血球浮遊液を以て補體價を測定し、

その補體の2單位を本試験に使用する。本試験は梅毒反應陽性の血清2.5倍(血清對照), 5倍10倍, 20倍の各0.5ccに2單位補體を夫々0.5cc加え, 更に抗原0.5ccを2.5倍の第1管目を除く他の3管に入れ, 1時間37°Cに保ち, 次で感作血球液1.0cc宛を加え, 37°C, 30分乃至1時間後に溶血の程度により判定する。本實驗に於ては, 無處置補體, 末節補體, 第4成分補體の3種の補體を以て同一梅毒血清を同時に試験した。

3) 被檢血清: ワ氏反應弱陽性, 或はワ氏反應陰性にして村田反應陽性の血清を豫め試験して用意した。尙中等陽性, 強陽性の數例についても試みた。

(B) 實驗成績

第3表に示すように, 弱陽性例に就ては第2

第 3 表

被檢血清	被檢血清 稀釋倍數	補體2單位 使用稀釋度	血清 對照	本 試 驗			
				2.5	5	10	20
No. 1	無處置	17倍	K	m	K	K	K
	末節	10	K	st	K	K	K
	第4成分	10	K	w	K	K	K
No. 2	無處置	17	K	sp	K	K	K
	末節	10	K	w	K	K	K
	第4成分	10	K	sp	K	K	K
No. 3	無處置	17	K	fgk	K	K	K
	末節	10	K	K	K	K	K
	第4成分	10	K	fk	K	K	K
No. 4	無處置	17	K	st	K	K	K
	末節	8.5	K	fgk	K	K	K
	第4成分	10	K	st	K	K	K
No. 5	無處置	17	K	st	K	K	K
	末節	8.5	K	fgk	K	K	K
	第4成分	10	K	st	K	K	K

溶血度の表示は Sachs の法に従う

管目に於ける溶血の程度は, 末節補體に於て最も強く, 次いで無處置補體, 第4成分補體の順序となつた。強陽性, 中等度陽性例に於ても,

その反應の終末稀釋管に現われる溶血程度の比較は弱陽性例に於けると全く同様であることが認められた。

IV 總括並びに考按

梅毒血清診斷法は沈降反應と補體結合反應に屬するワ氏反應の2種に大別出来るが, 補體價の低い夏に於ては, ワ氏反應の成績が沈降反應のそれに比較して可成り低下するという經驗的事實がある。そして補體價の低いことがワ氏反應の成績を低下させるのは, 毎回同一單位を使用するため, 反應の媒質中に補體としてのモルモット血清を濃厚に使用せねばならないことがワ氏反應の鋭敏度を低下させるものであらうということを理由の一つに考へて來たのである。が濃厚なるモルモット血清を使用することがワ氏反應の成績を低下せしめる眞の理由に就ては判然としていた譯ではない。緒言に於て述べたように, 補體結合反應に於て極めて弱い反應は第4成分のみが關與するから, 補體成分の構造が所謂補體價の低い夏と高い冬との間には何等かの差異を有し, それがワ氏反應に影響することは當然推論され得る處である。然るに文献上, 季節的に補體成分の構造を觀察したものは見當らないので〔I〕に於けるが如き實驗を試みたのである。

補體成分の構造を見た文献の内, 第4成分の破壊法として苛性曹達を用いた實驗⁹⁾に就ては〔II〕に於て追試を行い, その方法の不可なることを明らかにした。

次いで補體成分の構造が季節的に變動することを知り得たので, 夏及び冬に於ける状態の補體を模型的に再現し, ワ氏反應に於けるそれらの補體の態度を觀察したのが〔III〕に記載した實驗である。

余の實驗成績より知り得たモルモット補體成分の構造の季節的變化を模型的に第4表に示してみた。即ち 1) 8月の實驗に於ては, 各成分ともに他の季節に比して少なく, 特に末節が少ない。〔「夏型補體」と名づく〕。2) 12月の實驗に於ては, 中節, 第3成分に比して末節, 第4成分が同じ量に於て稍く少ない。〔「冬型補體」

第 4 表

と名づく)。3) 4月の実験に於ては、冬型補體と全く同じ場合と、補體價は冬型補體のように高いけれども各成分相互の關係は夏型補體と同じ場合（この後者の場合を「春型補體」と名づく）の2型が存在する。4) 以上のように各成分間にいくらかの差はあるとしても、モルモットに於ては各成分が可成り平均している。ということが出来る。

勿論この實驗は、後述のワ氏反應との關連に於て爲されたのであるから、補體の採取及び分離使用は全てワ氏反應を行う時の慣習に従つて行つた。補體成分の構成は是のように季節的に變化するし、又室温に放置した場合補體價の低下するのは4成分が等速に低下するのではないから、これ等の事實からしても、補體成分の研究は常にその採取の季節、實驗に供用する時間的關係、その放置の條件等が嚴格に考慮されねば全く無意味に近いということが出来る。

次に第4成分より末節が少ない場合には、極めて弱い第1段階の反應に於て、末節より第4成分が少なくなる程度に第4成分が結合されなければ、ワ氏反應は抗原抗體反應が行われておりながら、溶血反應の結果としては陰性に終るわけである。かような論據が實驗的に再現し得るであらうか (1)：又補體價が低い場合には、補體としてのモルモット血清を濃厚に媒質中に使用するためにワ氏反應の成績を悪くすることがあるであらうか (2)：補體價の低い場合には所謂夏型補體のように末節を最少成分とする關係上、かような補體が理論的にはワ氏反應の成

績を低下せしめる宿命的な缺陷を有するものであることは先に述べた通りであるから、これを實驗的にも再現せしめ得るものではなからうか (3)：このような3つの疑問に對して〔III〕に述べたような實驗を行つた。即ちまず 1) 無處置補體（本實驗は4月前後に行つたから冬型或いは春型補體の何れかを使用したことになる）。2) 第4成分補體（無處置補體にアンモニヤ處置血清を加えて最少成分が第4成分となるようにしたもの）3) 末節補體（無處置補體に加熱血清を加えて最少成分が末節となるようにしたもの）を用意し、次で第4成分補體と末節補體の補體價が出来るだけ相等しく、且つ無處置補體の略々半分の値を有するように加減して作つた。そして同一のワ氏反應弱陽性又は中等、強陽性血清につき以上の3種の補體で同時にワ氏反應を試みたのである。即ちその3種の補體を模型的に示したのが第5表である。實驗の結果は、無處置補體で弱陽性のものは末節補體では微弱陽性へ微弱陽性は陰性へと弱く現われ、一方末節補體と同じ濃度でしかも無處置補體よりも2倍程度濃厚な第4成分補體（以上3者のワ氏反應媒質中に於ける補體單位は何れも等しいことは前に述べた通りである）のワ氏反應では、無處置補體と同様か或いはむしろ強く反應が現われる。即ち補體價の低い場合に成績が悪いのは、媒質中に補體としてのモルモット血清が濃厚に入るからというよりはむしろ末節補體（實際問題としては夏型補體）を使用しているために、甚だ弱い第1段階の反應に於て第4成分

第 5 表

の一部のみが反應に參與し、而も補體價を左右している末節の作用閾以下になるほどには第4成分が減少しないことによるのである。

以上によつて、補體成分の構造が季節的に變動し、且つそのことがワ氏反應の成績に關係することを明らかにし得たと信ずる。

結 論

1) モルモット 3—5 匹より採血、翌日に於ける混合血清の補體成分構造を研索せるに

(イ) 各成分は可成り平均して存在する。

(ロ) 8 月に於ては各成分とも他の季節よりも減少しているが、特に末節が少ない(夏型補體と名づく)

(ハ) 12 月に於ては中節、第 3 成分に比して末節、第 4 成分が稍、少なく、末節、第 4 成分は等しい(冬型補體と名づく)

(ニ) 4 月に於ては冬型補體と全く同じ場合と、各成分は冬型補體のように増加しているが各成分間の關係が夏型補體のそれに等しい場合(春型補體と名づく)の 2 つの型が存在する。

2) 無處置の補體及び最少成分が末節であつて補體價は無處置の補體の半分位になるように人工的に製造した補體(末節補體)並に最少成分が第 4 成分であつて補體價は末節補體と等しくなるようにした補體(第 4 成分補體)、以上のような 3 種の補體を以てワ氏反應を行うとき

は、無處置補體では弱陽性、微弱陽性であるものが末節補體では微弱陽性、陰性へと弱化した、第 4 成分補體では、無處置補體と同様かむしろ反應が強化して現われる。

以上のように余は補體成分の構造が季節的に一定の變化があることを明らかにし、且つ夏に於けるが如く補體價の低い場合

にワ氏反應の成績が低下するのは、余の所謂夏型補體なるものがあつて、その構成成分の關係が、補體結合反應に使用される上に於て、不適當な理由を有するがためと考えられる。そして余は更に模型補體を用いて實驗的にも證明し得たのである。

(本論文の要旨は既に昭和 23 年 5 月 2 日日本細菌學會總會に於て發表した。)

終始御懇篤なる御指導を賜りたる中村部長に對し滿腔の謝意を表すると共に血清學部諸兄の御援助、特に本論文の一部を協同實驗された、石坂公成學士に對して感謝する。

重なる文献

- 1) Pillemer, L., (1943) Chem. Rev., 33(1), 1
- 2) 鈴木鑑, (昭和 22 年) 日新醫學, 35(1), 141
- 3) Pillemer, L., S. Seifer, Fey Chu & E. E. Ecker, 1942, J. Exper. Med., 76(1), 93
- 4) 上野正吉, (昭和 13 年), 東京醫學會誌, 52 (6), 596
- 5) Misawa, T., T. Ohta u. H. Imahori., (1935), Zeitschr. f. Imm., 86, 505
- 6) 大川富雄, (昭和 17 年), 岡山醫學會誌 54(10) 1711
- 7) Hegedüs, A., H. Greiver, (1938), Zeitschr. f. Imm. 92(1), 1
- 8) 大谷甫, (昭和 14 年), 千葉醫學會誌, 17(3), 654