免疫体動員物質に関する研究

(2) 動員素の理化学的性状

吉 田 貞 一

大阪学芸大学衛生学研究室 (指導 榊原栄一)

[受付: 3 月 10 日・1958 年]

緒 言

さきに私は、腸チフスワクチン(以下 T.V. と略称)感作家兎の早期の血清中に凝集素抗体を急増せしめる物質が出現することを認めることが出来た¹⁾(免疫体動員素—榊原・吉田の命名)。

本物質は家兎の T.V. 第 2 回感作後 2 時間目の血清中に最も多量に含有されているごとく、前期感作(第 1 ~ 第 3 回感作位まで)において、しかも感作後血流中に数時間出現する物質であり、また免疫感作終了後には殆んど認められない物質である。この物質を最も大量に含むと思われる T.V. 第 2 回感作後 2 時間目の家兎血清を活動免疫獲得家兎や正常家兎に注射すると凝集素抗体の急増と同時に白血球も末梢血流中に急増せられ²⁾、武藤教授の白血球急増物質 *neutrophilin* と近似性を有することについてはすでに報告した。

そこで今回は T.V. 感作後初期の家兎血清に含まれる動員素の理化学的性状について実験を行い、いささか所見を得たのでその概要について報告する。

実験方法

(1) 本実験には体重 2500 gr 前後の雄性家兎を用いて T.V. を pro kg 0.5 cc の割に耳静脈内に注射し、2 日間隔 5 回感作を行い、T.V. の活動免疫家兎を準備した。

(2) 動員素含有血清の分離: 前項とは別に正常家兎耳静脈内に pro kg 1.0 cc の割で第 1 回注射後 3 日目に第 2 回注射を行い、注射後 2 時間目に頸動脈より無菌的に全採血を行い、血清を分離し 56°C 30 分間加温処置を施した後、活動免疫家兎に pro kg 1.0 cc の割合に注射して急増作用を確認した後、残部血清を生理的食塩水にて 5 倍に稀釈し、前血清 10.0 cc に対し 36% 醋酸を 1 滴の

割合に添加した後、100°C 30 分間重湯煎上にて時々撈拌しながら加熱し、ついで冷却後濾過して凝固蛋白を除去し、次の実験に備えた(以下濾液と称す)。この濾液の作用を基準として種々の理化学的操作を加えた濾液を前述の活動免疫家兎の耳静脈内へ、処置前血清に換算して pro kg 1.0 cc の割合で注射し、注射後 1, 2, 3, 5 時間目毎に採血、凝集価および白血球数の変動を測定した。正常家兎血清自体には動員作用もなく、また上記操作を施しても本実験成績に認められたような性質は発見出来なかつたことを附記しておく。

実験成績

I 理化学的性状

(1) 未処置の動員素(対称)

実験方法において述べた如く、動員素含有血清並にその濾液を活動免疫家兎に静注した場合には前報において報告したと同様に注射後 1 乃至 3 時間にわたり凝集素抗体価が 2 乃至 4 倍に増加し、白血球も 1 乃至 3 時間にわたり著明な白血球増多症を示した。

(2) 動員素を放置した場合

前述濾液を室温(15°C~30°C)氷室(2°C~4°C)にそれぞれ 24 時間放置した後に前者同様実験を行つた結果、対照と同様の成績を得た。即ち動員素は室温及び氷室に 24 時間放置した場合その効力に変動を起さなかつた。

YOSHIDA Teiichi: Studies on the Promoting-Substance of Immune Body. (2) On the Physico-Chemical Character of the Promoting Factor. Hygienic Laboratory of the Osaka University of the Liberal Arts and Education. — Jap. J. of Bact., 13(8), 700-703, 1958.

表 (動員素の理化学的性状)

処 理 法	採血時間 家兎番号	凝 集 価					白 血 球 数				
		前	1 時間	2 時間	3 時間	5 時間	前	1 時間	2 時間	3 時間	5 時間
室温放置	1	3200	12900	12800	6400	33200	9700	12900	10600	5000	5000
	2	3200	3200	12800	12800	6400	6600	8800	10400	11800	12300
	3	3200	3200	3200	12800	12800	4400	12600	12200	6000	9000
氷室放置	4	3200	3200	12800	12800	3200	4800	4800	6500	14000	14400
	5	3200	6400	12800	12800	6400	3400	3200	9600	10000	5800
	6	3200	3200	12800	12800	3200	4400	4800	14200	6400	4600
五倍稀釈	7	3200	6400	12800	12800	3200	7600	8000	16200	15800	12000
	8	3200	3200	6400	6400	3200	7400	7000	14000	14000	13000
	9	3200	6400	6400	12800	3200	5200	6600	12000	12400	6000
十倍稀釈	10	3200	3200	3200	3200	3200	5800	4600	6600	6800	5400
	11	3200	3200	3200	3200	3200	3600	3000	2800	4400	2400
	12	3200	3200	3200	3200	3200	6000	6400	6500	7000	6300
耐 熱 性	13	3200	6400	6400	6400	3200	6600	6800	6800	12800	12800
	14	3200	3200	12800	12800	6400	3400	3000	14400	14200	17600
	15	3200	3200	12800	12800	3200	4600	5000	4600	4800	6000
エーテル 溶 解 性	16	3200	3200	3200	3200	3200	5000	4000	6000	4800	5200
	17	3200	3200	3200	3200	3200	4000	4800	4200	4000	3800
	18	3200	3200	3200	3200	3200	6600	6800	7800	6200	6600
アルコー ル溶解性	19	3200	3200	3200	3200	3200	6600	6800	9200	5200	8000
	20	3200	3200	3200	3200	3200	9400	7400	6800	6400	9200
	21	3200	3200	3200	3200	3200	4400	3800	4000	4200	5000
水 溶 性	22	3200	6400	6400	6400	6400	4400	4000	4400	12000	7600
	23	3200	3200	3200	6400	6400	6600	8800	3000	9000	6200
	24	3200	3200	12800	12800	6400	4800	8200	17200	4800	6200
アセトン 溶 解 性	25	3200	3200	3200	3200	3200	8400	10000	8600	4000	6000
	26	3200	3200	3200	3200	3200	3600	5600	5200	3200	3600
	27	3200	3200	3200	3200	3200	6000	7200	7000	6400	5800
クロロホル ム溶解性	28	3200	3200	3200	3200	3200	6000	5600	3000	3600	5600
	29	3200	3200	3200	3200	3200	8000	6200	4800	8200	8200
	30	3200	3200	3200	3200	3200	10100	9000	8400	9000	9200
獣炭末 吸 着 性	31	3200	3200	3200	3200	3200	7200	3600	4800	4000	5800
	32	3200	3200	3200	3200	3200	6600	5000	5200	6600	8400
	33	3200	3200	3200	3200	3200	5400	4800	4400	5600	7200
カオリン 吸 着 性	34	3200	3200	3200	3200	3200	7000	6000	5800	6400	7400
	35	3200	3200	3200	3200	3200	4800	3600	2400	2600	4800
	36	3200	3200	3200	3200	3200	6600	6200	5800	6400	7200
耐 酸 性	37	3200	3200	6400	6400	3200	9400	15400	9400	9000	7400
	38	3200	3200	6400	6400	3200	6800	6800	12800	9600	7200
	39	3200	6400	6400	6400	6400	5200	4800	11600	10600	5000
耐アルカ リ性	40	3200	3200	3200	3200	3200	7600	6800	6200	5400	5800
	41	3200	3200	3200	3200	3200	4400	2800	2600	4200	6400
	42	3200	3200	3200	3200	3200	4800	3000	6000	6600	5200
動 物 膜 通 過 性	43	3200	6400	6400	6400	3200	7000	7400	14000	13800	9000
	44	3200	3200	6400	6400	6400	5600	5200	12000	10000	8000
	45	3200	6400	6400	6400	3200	6400	6600	15200	13200	9600
紫 外 線 影 響	46	3200	6400	12800	12800	6400	5200	6400	12000	14800	14000
	47	3200	6400	6400	6400	3200	5600	8800	11000	10800	6600
	48	3200	6400	6400	6400	3200	7000	7400	13000	14000	11800
未 処 置 (対 称)	49	3200	3200	12800	12800	3200	5800	6000	12000	12000	5800
	51	3200	3200	12800	12800	6400	6400	8800	6400	15000	12000
	52	3200	3200	6400	12800	3200	5600	6600	12000	17000	15000

次に濾液を生理的食塩水にて5倍乃至10倍に稀釈して同様実験を行った結果、5倍稀釈の場合には注射後1乃至3時間にわたり凝集素抗体は2乃至4倍に、白血球は著明な増多症を示し効力の低下を示さなかったが、10倍稀釈の場合には凝集素抗体の場合は認められず白血球の著明な変動も認められなかった。

(3) 耐熱性

実験方法において述べた如く、濾液を採取するにあたり100°C30分加熱して除蛋白を行っており、従つて濾液中の動員素は熱に対して可成り安定であることがわかる。斯様に処置した濾液をさらに100°C1時間加熱した後も効力の消失は現れなかった。このことは動員素は可

成り熱に抵抗性があることを意味する。

(4) 溶解性

濾液の有効成分動員素のエーテル、アルコール、アセトン、クロロホルム等の有機溶媒に対する移行性について実験した。

本実験には分液漏斗中の濾液に同量の前記有機溶媒を夫々別個に加え、よく振盪した後放置して置き、3時間後に分離し、蒸発皿に移し、重盪煎上にて加熱し有機溶媒を蒸発分離した後生理的食塩水を加えて溶解し、各々

第1図 頸動脈球摘出家兎

第2図 頸動脈球摘出家兎

原血清量に換算して pro kg 1.0 cc の割合で活動免疫家兎の耳静脈内へ注射した。一方各溶媒を分液漏斗にて分離した残存血清は同様蒸発皿にて乾固した後、蒸留水にて溶解し、その濾液を血清量に換算 pro kg 1.0 cc の割合で注射し、各々について活動免疫家兎に注射して凝集素抗体および白血球数の変動を測定した。

以上の実験成績は表示したように動員素はアルコール、アセトン、エーテル、クロロホルムには殆んど移行しないことが証明された。

(5) 吸着性

濾液10.0cc に対し、精製獣炭末及びカオリンを各々 0.5 gr の割合に加えてよく攪拌した後1時間放置して濾過し、その濾液を各々 pro kg 1.0cc の割合で活動免疫家兎の耳静脈内に注射して各々の凝集素抗体の力価及び白血球変動を観察した。表に明な如く獣炭末やカオリンに吸着されることが認められた。

(6) 酸及びアルカリに対する抵抗

濾液 10.0 cc に対し n_{10} , n_{20} の塩酸をそれぞれ 1.0 cc 加え、24時間放置した後 pH を測定し重曹にて中和して酸に対する抵抗を測定した。

アルカリは苛性曹達を用い n_{10} , n_{20} の規定液を酸におけると同様の割合に加え、24時間放置した後、醋酸にて中和し活動免疫家兎に静注した。

以上の成績は表示したように、酸処理の場合には注射後 1 乃至 5 時間にわたり凝集素抗体が 2 倍に増加し、又白血球急増現象も認められた。この作用は濾液自体より多少の減少が認められたが、アルカリ処理の場合には凝集素抗体の増加は全く認められなかった。これによつて動員素は酸には比較的強く、アルカリには弱いことが明らかになった。

(7) 動物膜通過性

豚の膀胱膜を水洗した後、24時間水槽中に放置し水槽中の水がズルフォサリチール酸検査にて陰性であることを確認した後、血清 20 cc を膀胱膜中に入れ同量の生理的食塩水中にて 24 時間透析した後、外液を 2.0 cc 活動免疫家兎に注射した。

表示した如く凝集素抗体価は 1 乃至 5 時間にわたり 2 倍に増加した。すなわち動員素は動物膜の通過性を有することが認められた。

(8) 紫外線の影響

鑑識用の紫外線を用い濾液を光源より 20 cm の距離に置き、30 分間隔 60 分ずつ 3 回照射した後効力を測定した結果表示する如く、注射後 1 乃至 3 時間にわたり凝集素抗体が 2 倍乃至 4 倍に増加し、この間また白血球も増多症を起した。

すなわち動員素は紫外線の影響を受けないことが確認出来た。

II 動員素の直接的効果について

前条記載のごとく調製した濾液を pro kg 1.0 cc の割合に活動免疫家兎の頸動脈球を両側出した家兎の耳静脈内に注射し、注射後 1, 2, 3, 5 時間目毎に採血して、その凝集素抗体価の変動並びに白血球数の変動を測定し、頸動脈球非側出活動免疫家兎に対する動員素の作用と比較検討した。

頸動脈球側出家兎に対して濾液を投与した場合、注射後 1 乃至 3 時間にわたり凝集素抗体が 2 倍乃至 4 倍に増加し、白血球数も著明な増多を示した。この成績は頸動脈球非側出家兎に対しても濾液の作用は全く同様の直接作用を示すことを物語るものである。

考按並びに総括

活動免疫獲得に際して、古くから自律神経系の関与や³⁻⁶⁾ 肝機能との関係⁷⁾ がとりあげられているが免疫体の獲得機作は勿論のこと、産生抗体の血中移行に関しては理論の一貫性が全く認められなかった。しかしながら榊原研究室において産生抗体の血中移行への機作が漸く解明せられて来た。これは誠に興味ある問題と云わねば

ならぬ。しかもその機作は **neural regulation** の結果肝臓より一種の物質免疫体動員素が産生されることに始まる⁸⁻¹³⁾。

抗原侵襲後早期の血清中に本物質は含有されるが、この血清を免疫獲得家兎に注射すると凝集素抗体のみならず、白血球も急増される。この現象は武藤や佐伯¹⁴⁾ の T.V. 注射による白血球急増物質 **neutrophilin** の性質を思わせるものである。氏等は T.V. 注射により間脳の白血球調節中枢が刺激されその興奮は下行神経線維、内臓神経に伝達されて肝臓に到り、肝臓より一種のホルモン様物質 **neutrophilin** が産生されると決定した。これが理化学的性状に関しては金¹⁵⁾の研究に詳しいが、T.V. を注射することによつて産生される白血球動員物質とわれわれの動員素と本質的な相違が存在するであろうか。小宮¹⁶⁾、佐伯¹⁴⁾の報告によると **neutrophilin** は T.V. 注射後 4～6 時間の頃に最も多量に出現することを述べている。しかしながら動員素の場合には前報の如く T.V. 注射後 2 時間前後が最高に含有されて、**neutrophilin** の最高含量に達する時間には殆んどその血清の凝集素動員力は消失される如く時間的にづれが生ずる。そこで **neutrophilin** と動員素の本質の相違を探究することが目的で本実験を行つたのであるが、しかしながら T.V. 注射後 2 時間目あるいは第 2 回感作後 2 時間目の動員素を最も多く含んでいる血清を処理した場合には、本論に詳述した如く動員素は室温および氷室に 24 時間放置した場合、100°C 1 時間加熱、紫外線照射等に対しては極めて安定であつた。獣炭末、カオリンには吸着され、動物膜は通過する、酸には比較的抵抗が強いが、アルカリには破壊せられ、アルコール、アセトン、エーテル、クロロホルム等の有機溶媒には移行しないことが明かとなり、金¹⁵⁾の報告している **neutrophilin** の理化学的性状と極めて類似した性状を有することが明かとなつた。勿論この定性実験の結果で **neutrophilin** と動員素は本質的に同じものであるかどうかは云えないし、私の実験成績では両物質の産生時間が可成り異なり、等電点において相違があるから両物質は異つたものであると考えているのである、が何れにしても重要な興味ある物質であると思われる。ともあれ、これらの現象は抗原侵襲に際して生体防禦機構の一つの新しい段階を示すものであることは間違いなく、抗原に対し生体は先ず免疫学的に適応し、次で白血球による異物攻撃へと転換してゆくものであることが想定されよう。両物質の相異については目下詳細研究中であるから次の機会に詳述する。

結 論

以上の実験成績により次の如く結論する。

- (1) 凝集素抗体を血中に急増せしめる動員素は T.V. 注射後の血清非蛋白部分に含有せられる。
- (2) 動員素は室温或は氷室に放置するも効力を失はない。
- (3) 動員素は耐熱性である。
- (4) 動員素はアルコール、エーテル、アセトン、クロロホルムには移行しない。
- (5) 動員素は獣炭末及びカオリンによく吸着される。
- (6) 動員素は酸には比較的抵抗強く、アルカリには容易に破壊される。
- (7) 動員素は動物膜を通過する。
- (8) 動員素は紫外線により破壊せられない。
- (9) 動員素は凝集素産生臓器に対し直接的作用を有する。
- (10) 動員素は T.V. 注射後の血中出现時間と等電点以外の点においては、**neutrophilin** (白血球急増物質、武藤氏命名) と極めて類似した理化学的性状を有した。

擲筆に当り終始御指導御校閲をいただいた恩師礪原栄一先生に深謝致します。

文 献

- 1) 吉田貞一：日本細菌学雑誌, 13 卷 7, 1958.
- 2) 武藤忠次：京城医学専門学校紀要, 6 卷, 2, 昭 11.
- 3) Stein Becker A.: Münch. med. Wsch. 93, 5, 1403, 1951.
- 4) Rosenthal, F., Holzer P.: Berlin. Klin. Wsch. S. 675, 1921.
- 5) Muller H.: Zscher. Kinder Heilk. 65, S. 75, 1948.
- 6) Bogendörfer L.: Arch. exper. Path. Pharmac. 124, S. 64, 1927. 126, S. 378, 1927. 133, S. 107, 1928.
- 7) 武藤忠次：京城医学専門学校紀要, 5 卷 10-12, 昭 10.
- 8) 芝 隆夫：日本細菌学雑誌, 10, 1035, 1955.
- 9) 芝 隆夫：日本細菌学雑誌, 11, 59, 1956.
- 10) 芝 隆夫：日本細菌学雑誌, 11, 297, 1956.
- 11) 芝 隆夫：日本細菌学雑誌, 11, 385, 1956.
- 12) 芝 隆夫：日本細菌学雑誌, 11, 521, 1956.
- 13) 塩谷 茂：日本細菌学雑誌, 12, 769, 1957.
- 14) 佐伯 穆：京城医学専門学校紀要, 7, 363, 昭 12.
- 15) 金 将星：京城医学専門学校紀要, 6, 148, 昭 11.
- 16) 小宮悦造：血球の神経性節, 1952.