免疫家兔血清の電気泳動的研究

第III報 沈降素について

山 根 徳 治

京都大学医学部微生物学教室 (主任 木村教授)

〔受付: 6月22日 1954年〕

I. 緒 言

抗原抗体反応を沈降反応を通してみるころみは古く R. Kraus (1897) にはじまるが、其の後免疫の研究にこの沈降反応も広く用いられて来ている。又 Tiselius and Kabat¹⁾ の電気泳動的分析により家兔血清中の抗卵アルブミン抗体は γ -globulin の増量と密接な関係にあると指摘された事は周知の通りである。およそ抗原抗体反応に於て両者の量的関係が考慮されなければならない事は云うまでもない事で、これに就いては古く Dean and Webb²⁾ の沈降反応に於ける最適比の観察があるが更に Heidelberg³⁾ 等は抗原抗体の定量的測定法によつて抗体の免疫時期的相違に就いて精細な研究を行った。即ち免疫の進行に伴つて当量帯が広がる事と、沈澱中の抗体の抗原に対する割合が当量帯の抗体過剰域側においては免疫と共に増加し抗原過剰域においては反対に減少する事を示した。これは免疫の進むにつれて抗原(卵白アルブミン)中の多数の反応簇と反応する抗体が産生されることが考えられる。又 Pauling⁴⁾ によれば抗原の表面が漸次広く型板として使用される事によつて説明される。即ちこのような抗体の充分ある場合には一定量の抗原に対して結合する抗体量は増し、逆に抗体が少なく抗原の充分ある場合には一定量の抗体に対して結合する抗原量が増加する訳である。然し常にこのような変化が起こる訳ではなく、当量帯の幅並びに抗原抗体比の変化の認められない場合がある事は Heidelberg 等自身の実験、Taylor, Adair and Adair⁵⁾ の成績にも示されている。なお Pappenheimer,⁶⁾ Heidelberg, Treffers and Mayer⁸⁾ は免疫初期には抗原と結合しても沈澱を形成しない抗体の存在する事を示し、Van der Scheer, Lagsdin and Wyckoff⁹⁾ は免疫初期の抗体 globulin は後期に産生されるものと globulin の種類を異にする事を示し、Pappenheimer and Lundgren¹⁰⁾ は α -globulin が抗体と関係すると云つてゐる。又 Wuhrmann¹¹⁾

は電気泳動的分析の立場から血清中に Frühantikörper の存在を指摘している。

以上の諸事実は免疫動物の血清中には正常 globulin から抗原に充分適合した抗体 globulin に至る間のあらゆる段階のものが存在するという事を示している¹²⁾

著者はすでに第1報¹³⁾に於て凝集素について、第II報¹⁴⁾に於て溶血素について Tiselius の電気泳動装置を使用して、その抗血清を検索し γ -globulin は何れも免疫経過と共に増加するが、それは必ずしも血中抗体価の増加と並行しない事を指摘して来た。今回も引きつぎ家兔を使用し、各種異種蛋白を接種してその抗体産生時の血清中の各蛋白成分の量的変動を一定間隔のもとに単に γ -globulin のみならず他の成分の変動も考慮して観察し、これを沈降反応と比較検討した。又抗原接種回数による影響をしらべ、更に抗体の局在を知る一つのころとして電気泳動分離法も併せ行つたのでこゝに報告する。

II. 実験材料並びに実験方法

使用家兔: 使用家兔は2kg 前後の外見上、健康と認められる白色雄性を用いた。家兔の飼育には細心の注意を払つた。

抗原: 抗原としては馬血清、牛血清、山羊血清及び卵アルブミン溶液を用いた。血清は新鮮な血液を一夜氷室に静置し、溶血の起らぬ様注意して翌朝遠心器にかけて分離した。次いで 56°C 30分間加温非働化し氷室内に貯え、免疫抗原並びに反応抗原として使用した。卵アルブミンは生理的食塩水で1%溶液とし、「ザイツ」濾過器を通した後、1:10,000の割にマーズニンを加え氷室内に貯えた。

免疫並びに採血方法: 1) 頻回免疫の場合は3日目

YAMANE Tokuzi: Electrophoretic studies of immune rabbit sera. III. On the precipitin. Microbiological Institute, Faculty of Medicine, Kyoto University. — Jap. J. of Bact., 9(11), 997-1008, 1954.

毎に2ccずつ5回静注し、採血は免疫前、免疫7日後14日後、21日後及び28日後の5回に行い、 α_1 1回免疫の場合は採血後5cc 静注し、次いで免疫3日後、6日後、10日後及び15日後の5回に何れも早朝空腹時に心臓穿刺により採血した。

沈降反応：沈降反応に用いた抗血清は56°C 30分間加温非働化した。沈降反応は抗血清稀釈及び抗原稀釈何れも重層法を用い、緒方¹⁵⁾により夫々抗体価及び抗原価とした。反応は室温で行い、その成績は抗原抗体重層後5時間まで観察し判定した。尙抗血清稀釈には常に1.5%アラビヤゴム加生理的食塩水を用いた。本報では反応の程度より抗体価及び抗原価を特に重視した関係上、結果の判定は沈降物の量はなほ多く、厚い円板をなし、またその一部が管底に沈んだり、液中にういたりしている程度のものから抗原抗体接触面にうすい円板をなしているものまでを陽性(+)とし、他は陰性(-)と記載した。

電気泳動：電気泳動は前報¹³⁾¹⁴⁾と同様にして行つた。テセリウス装置は日立製作 HT-A 型 Schlieren-Diagonal 法による。泳動時間80分。泳動温度4°C 以下。使用緩衝液は pH 8.6, イオン強度0.1のバルビタール緩衝液である。泳動には三節型長脚セルを使用した。面積計算は下降脚を用い、Planimeter を使用した。蛋白濃度測定は日立蛋白計によつた。

電気泳動分離法：前報¹³⁾¹⁴⁾と同様にして行つた。上昇脚より albumin α_1 -globulin (分層 I), albumin+ α_1 + α_2 -globulin (分層 II), albumin+ α_1 + α_2 + β -globulin (分層 III), albumin+ α_1 + α_2 + β + γ -globulin (分層 IV), 下降脚より γ -globulin (分層 V) を取り出し試料稀釈によりその抗体価を測定した。

III. 実験成績

〔1〕免疫経過による総蛋白量及び各蛋白成分の消長について

先ず沈降素産生時の各蛋白成分変動の特徴を知ろうとして次の実験を行つた。

1) 頻回免疫の場合

a) 馬血清を用いた場合

馬血清を用いて家兎 No. 7, 8 及び 9 を免疫して血清の各蛋白成分の変動をみた。その電気泳動図は写真 1 に示した。各蛋白成分濃度比並びに濃度は第 1 表である。(第 2 表参照) 総蛋白量は 7 日乃至 14 日後より増量を示し, albumin+ α_1 -globulin は 14 日後より減少を示す。 α_2 -globulin は No. 7 及び 9 に於ては 14 日後に軽度の増量を示す外は概ね著明な変動を示さない。 β 及び γ -glo-

bulin も 14 日後より著明な増量を認める。而も γ -globulin の増量と時を同じくして β -globulin の増量も著明となる事を知つた。

第 1 表 馬血清免疫による総蛋白量及び各成分濃度の変動

家兎番号	日	各成分濃度比%				総蛋白量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ α_1	α_2	β	γ		A+ α_1	α_2	β	γ
No. 7	前	61.2	12.8	10.8	15.2	6.13	7.40	0.78	0.65	0.93
	7	57.7	12.5	12.9	16.9	6.53	7.50	0.81	0.84	1.10
	14	40.5	13.3	17.5	28.7	7.83	16.1	0.41	3.62	2.24
	21	38.6	10.0	17.4	34.0	8.63	32.0	0.86	1.50	2.92
	28	52.9	14.1	13.6	19.4	6.43	39.0	0.90	0.87	1.24
No. 8	前	59.5	7.1	17.9	15.5	6.03	5.70	0.43	1.07	0.93
	7	65.2	7.6	14.3	12.9	6.03	9.10	0.46	0.86	0.77
	14	50.5	7.0	19.1	23.4	6.83	4.30	0.48	1.30	1.59
	21	54.4	8.5	15.4	21.7	7.03	8.10	0.59	1.08	1.52
	28	56.1	13.1	14.9	15.9	5.43	0.30	0.71	0.80	0.86
No. 9	前	62.1	10.6	16.1	11.2	6.33	9.10	0.67	1.01	0.71
	7	66.7	8.3	13.7	11.3	6.14	0.70	0.51	0.83	0.69
	14	46.3	10.3	19.8	23.6	7.03	2.40	0.72	1.39	1.65
	21	51.9	6.4	12.9	28.8	7.43	8.40	0.47	0.96	2.13
	28	55.4	7.1	15.5	22.0	6.03	3.20	0.43	0.93	1.32

第 2 表 平均 値

日	総蛋白量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ α_1	α_2	β	γ
前	6.1	3.74	0.63	0.91	0.86
7	6.2	3.91	0.59	0.84	0.85
14	7.2	3.28	0.75	1.35	1.83
21	7.7	3.66	0.64	1.18	2.19
28	5.9	3.25	0.68	0.87	1.14

b) 牛血清を用いた場合

次に接種抗原たる動物血清の種類により上記の各蛋白成分の変動に差異のないことを確かめるため以下牛血清及び山羊血清について同様の実験を繰返した。

牛血清を用いて家兎 No. 10, 11 及び 12 を免疫した成績は第 3 表に示した(第 4 表参照)。総蛋白量は 7 日乃至 14 日後より増量する。ただ No. 12 のみ例外的に 21 日後にやゝ遅れて増量した。albumin+ α_1 -globulin は 7 日乃至 14 日後に減少を認める。 α_2 -globulin は減少傾向を示す。 β 及び γ -globulin は 7 日乃至 14 日後より増量を認める。本実験に於ても馬血清の場合と同様に γ -glo-

lin の増量時に β -globulin の増量を伴うことが分かる。

第3表 牛血清免疫による総蛋白量及び
各成分濃度の変動

家兎 番号	日	各成分濃度比%				総蛋白 量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ a_1	a_2	β	γ		A+ a_1	a_2	β	γ
No. 10	前	58.6	16.8	13.0	11.6	6.63	8.71	1.11	0.86	0.76
	7	55.0	14.7	15.5	14.7	6.23	4.10	0.91	0.97	0.91
	14	53.3	9.5	12.9	24.3	7.13	7.80	0.67	0.92	1.73
	21	50.7	8.7	11.4	29.2	7.63	8.50	0.66	0.87	2.22
	28	51.5	11.5	13.7	23.3	7.23	7.10	0.83	0.98	1.68
No. 11	前	54.6	17.1	13.2	15.1	6.83	7.11	1.16	0.90	1.03
	7	49.0	15.4	16.4	19.2	7.03	4.31	0.81	1.15	1.34
	14	42.5	13.2	17.8	26.5	7.43	14.0	0.98	1.32	1.96
	21	40.5	12.1	13.5	33.9	8.03	24.0	0.97	1.08	2.71
	28	46.5	10.1	14.8	28.6	7.23	35.0	0.73	1.06	2.06
No. 12	前	55.3	16.3	13.2	15.2	7.03	8.71	1.14	0.93	1.06
	7	57.2	15.9	13.0	13.9	6.93	9.41	1.10	0.90	0.96
	14	49.8	16.5	18.2	15.5	6.63	29.1	0.91	1.20	1.02
	21	52.1	15.9	14.9	17.1	7.33	8.01	1.16	1.09	1.25
	28	57.3	8.1	16.5	18.1	7.14	4.07	0.58	1.17	1.28

第4表 平 均 値

日	総蛋白量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ a_1	a_2	β	γ
前	6.8	3.82	1.14	0.90	0.95
7	6.7	3.59	1.03	1.01	1.07
14	7.0	3.40	0.91	1.15	1.57
21	7.6	3.63	0.63	1.01	2.06
28	7.2	3.71	0.71	1.07	1.67

c) 山羊血清を用いた場合

更に山羊血清を用いて No. 13, 14 及び 15 を免疫した成績は第5表に示した。(第6表参照)総蛋白量は7日後より増量を示す。本実験に於ては albumin+ a_1 -globulin の減少は著明でない。 a_2 -globulin は14日後に軽度の増量を認めるが外は概ね著明な変動を示さないか、或は軽度の減少傾向を示す。 β 及び γ -globulin は7日乃至14日後より増量を示し両者の量的変動は前実験と殆んど同様である。

以上の実験により家兎に馬血清、牛血清及び山羊血清の異種動物血清を接種すれば、総蛋白量は牛血清を用いた No. 12 に於てやゝ増量が遅れたが他は7日乃至14

第5表 山羊血清免疫による総蛋白量及び
各成分濃度の変動

家兎 番号	日	各成分濃度比%				総蛋白 量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ a_1	a_2	β	γ		A+ a_1	a_2	β	γ
No. 13	前	63.4	11.5	13.9	11.2	5.53	3.49	0.63	0.76	0.62
	7	62.8	9.5	14.8	12.9	6.54	0.08	0.62	0.96	0.84
	14	48.1	10.0	18.3	23.7	8.44	0.04	0.83	1.54	1.99
	21	47.0	8.7	18.4	25.9	7.83	0.67	0.68	1.43	2.02
	28	50.9	7.7	14.4	27.0	6.73	0.41	0.52	0.96	1.81
No. 14	前	60.7	11.4	14.4	13.5	6.13	3.70	0.70	0.88	0.82
	7	59.5	11.6	16.2	12.7	6.63	0.93	0.76	1.07	0.84
	14	54.3	11.0	13.0	21.7	8.24	0.45	0.90	1.07	1.78
	21	59.0	8.8	10.0	22.2	6.84	0.01	0.60	0.68	1.51
	28	61.2	9.8	11.5	17.4	6.43	0.92	0.63	0.74	1.11
No. 15	前	56.7	12.3	21.5	9.5	6.73	0.80	0.82	1.44	0.64
	7	60.2	10.5	16.5	12.8	6.84	0.09	0.72	1.12	0.87
	14	50.5	11.0	15.8	22.7	9.14	0.60	1.00	1.44	2.06
	21	51.1	9.2	13.0	26.7	8.54	0.34	0.78	1.11	2.27
	28	54.7	10.4	15.1	19.8	6.03	0.28	0.62	0.91	1.19

第6表 平 均 値

日	総蛋白量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ a_1	a_2	β	γ
前	6.1	3.66	0.72	1.03	0.69
7	6.6	4.03	0.70	1.05	0.85
14	8.6	4.36	0.91	1.35	1.94
21	7.7	4.01	0.69	1.07	1.93
28	6.4	3.54	0.59	0.87	1.37

日後に増量を示す。albumin+ a_1 -globulin は7日乃至14日後に減少傾向を示す。但し山羊血清を用いた場合はこの減少傾向は著明でなかつた。 a_2 -globulin は14日後に一過性の軽度の増量を示すものもあるが一定した変動は示さず、特に著明な増量は認められない。 β 及び γ -globulin は殆んど時を同じくして増量し而も後者の増量が前者より大である。

d) 1%卵アルブミン溶液を用いた場合

さて次に単一抗原たる1%アルブミン溶液を用いて上記の実験と同様な変動が見られるかを検討するため家兎 No. 16 及び 17 を免疫した。その成績は第7表に示した(第8表参照)総蛋白量は7日乃至14日後に増量を示し albumin+ a_1 -globulin は No. 16 に於ては7日後より減少を示すが No. 17 に於ては減少像は認められない。

α_2 -globulin は 14 日後に軽度の増量を認めるが外は免疫前に比較して同値か或は減少の傾向を示す。 β 及び γ -globulin は 14 日後より増量を認める。而も β 及び γ -globulin は時を同じくして増量し γ -globulin の増量の方が大である。

第7表 1%卵アルブミン溶液免疫による
総蛋白量及び各成分濃度の変動

家兎 番号	日	各成分濃度比%				総白 蛋白量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ α_1	α_2	β	γ		A+ α_1	α_2	β	γ
No. 16	前	61.7	15.8	13.0	9.5	6.84	4.20	1.07	0.88	0.65
	7	67.2	13.0	11.2	8.6	5.73	3.83	0.74	0.64	0.49
	14	53.8	18.8	18.9	8.5	7.43	981.39	1.40	0.63	
	21	61.3	8.9	16.6	13.2	7.04	290.62	1.16	0.93	
	28	59.3	13.2	12.1	15.4	6.13	620.80	0.74	0.94	
No. 17	前	59.9	12.8	19.7	7.6	7.04	190.90	1.38	0.53	
	7	61.1	13.0	15.9	10.0	7.44	520.96	1.18	0.74	
	14	55.9	12.9	17.6	13.6	9.35	201.20	1.64	1.26	
	21	60.8	10.4	14.1	14.7	7.44	500.77	1.04	1.09	
	28	58.3	10.6	17.0	14.1	7.24	200.76	1.22	1.02	

第8表 平 均 値

日	総蛋白量 g/dl	各 成 分 濃 度 g/dl			
		A+ α_1	α_2	β	γ
前	6.9	4.20	0.99	1.13	0.59
7	6.6	4.18	0.85	0.91	0.62
14	8.4	4.59	1.30	1.52	0.95
21	7.2	4.40	0.70	1.10	1.01
28	6.7	3.91	0.78	0.98	0.98

以上の実験は馬血清、牛血清及び山羊血清の異種動物蛋白抗原を用いた場合も卵アルブミンの単一抗原を用いた場合に於ても家兎血清中の各成分の変動は殆んど同様である事を示している。

2) 1回免疫の場合

次に 1 回免疫で同様の変動を認めるや否やを実験した即ち馬血清 5 cc を用いて家兎 No. 18 及び 19 について行つた電気泳動は写真 2 に示した。その各成分濃度比及び濃度は第 9 表に示した。(第 10 表参照) 総蛋白量は No. 18 に於ては 6 日後より No. 19 に於ては 3 日後より増量を認める。 $\text{albumin} + \alpha_1\text{-globulin}$ は 10 日後に減少を認める。 $\alpha_2\text{-globulin}$ は 3 日後乃至 6 日後より減少の傾向を示す。 $\beta\text{-globulin}$ は 3 日後より $\gamma\text{-globulin}$ は 3 日後乃至 6 日後より増量を認める。即ち 1 回免疫の場合も頻回免疫の場合と同様に総蛋白量、 β 及び $\gamma\text{-globulin}$ の増

量及び $\text{albumin} + \alpha_1\text{-globulin}$ の減少傾向を認めるが、本実験に於て注目すべき事は $\alpha_2\text{-globulin}$ の減少がやゝ明らかに現れる事と $\beta\text{-globulin}$ の増量が $\gamma\text{-globulin}$ の増量と同様に可成り著明な点である。

第9表 1回免疫による総蛋白量及び
各成分濃度の変動

家兎 番号	日	各成分濃度比%				総白 蛋白量 g/dl	各成分濃度 g/dl			
		A+ α_1	α_2	β	γ		A+ α_1	α_2	β	γ
No. 18	前	57.8	17.8	8.4	16.0	6.43	3.70	1.14	0.54	1.02
	3	60.2	16.0	12.9	10.9	6.23	3.73	0.99	0.80	0.68
	6	58.6	11.3	15.9	14.1	6.63	3.87	0.75	1.05	0.93
	10	45.8	7.2	21.6	25.4	6.83	3.11	0.49	1.46	1.73
	15	50.2	5.9	17.8	26.1	7.03	3.51	0.41	1.25	1.83
No. 19	前	65.5	10.6	10.4	12.5	6.44	2.60	0.68	0.66	0.80
	3	62.0	10.4	15.8	11.8	7.04	3.40	0.73	1.11	0.82
	6	65.7	7.8	14.4	12.1	8.45	5.20	0.65	1.21	1.02
	10	57.3	7.2	20.7	14.8	7.04	0.10	0.50	1.45	1.04
	15	64.4	6.3	16.4	12.9	6.84	3.80	0.43	1.11	0.88

第10表 平 均 値

日	総蛋白量 g/dl	各 成 分 濃 度 g/dl			
		A+ α_1	α_2	β	γ
前	6.4	3.98	0.91	0.60	0.91
3	6.6	4.06	0.86	0.96	0.75
6	7.5	4.70	0.70	1.13	0.98
10	6.9	3.56	0.50	1.46	1.39
15	6.9	3.95	0.42	1.18	1.36

〔2〕 免疫経過による沈降反応の消長と各蛋白成分の消長との関係について

電気泳動に使用した血清と同じものを 56°C 30 分間加温非働化して沈降反応を実施した。

その代表例たる No. 7, 8, 9, 18 及び 19 の血清の沈降反応と各蛋白成分の消長とを比較した。

a) 頻回免疫の場合

家兎 No. 7, 8 及び 9 に於ける沈降反応の免疫経過による消長は第 11 表に示した。即ち抗体価は免疫前 0 倍 7 日後 0 倍, 14 日後 10 乃至 20 倍, 21 日後 40 乃至 160 倍, 28 日後 20 乃至 80 倍である。抗原値は免疫前 0 位, 7 日後 0 乃至 8 位, 14 日後 512 乃至 2048 位, 21 日後 1024 乃至 16384 倍, 28 日後 1024 乃至 16384 倍である。これ等を各蛋白成分と比較すれば第 1, 2 及び 3 図の如くである。これ等の図から抗体価が $\gamma\text{-globulin}$ の消長と殆

第 11 表 頻回免疫による抗血清の沈降反応

家兎番号	日	血 清 稀 釈 倍 数								抗 元 稀 釈 倍 数															
		5	10	20	40	80	160	320	対照	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16384	32768	対照	
No. 7	前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	14	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
	21	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
	28	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
No. 8	前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	14	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
	21	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
	28	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
No. 9	前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	14	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
	21	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
	28	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	

第 1 図

第 2 図

第 3 図

んど並行していることが分かり、更に β -globulin の増量と β -globulin の増量の関係が明らかとなる。

b) 1 回免疫の場合

家兎 No. 18 及び 19 に於ける沈降反応の消長は第 12 表に示した。即ち抗体価は免疫前、3 日及び 6 日後何れも 0 倍、10 日後 5 乃至 10 倍、15 日後 5 乃至 10 倍であ

る。抗原価は免疫前及び 3 日後 0 倍、6 日後 0 乃至 8 倍 10 日後 64 乃至 1024 倍、15 日後 1024 乃至 4096 倍である。これ等を各蛋白成分の免疫経過による消長と比較したのが第 4 図及び第 5 図である。即ち頻回免疫の場合と同様に抗体価が γ -globulin の消長と殆んど並行していることが分かる。而も β -globulin の増量と γ -globulin の増量の時期的関係及びそれ等の増加度の関係も明らかとなる。

第 4 図

第 12 表 1 回免疫による抗血清の沈降反応

家兎番 号	日	血 清 稀 釈 倍 数								抗 元 稀 釈 倍 数																
		5	10	20	40	80	160	320	対 照	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16384	32768	対 照		
No. 18	前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	6	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	10	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
	15	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
No. 19	前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	10	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	15	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		

第 5 図

【3】電気泳動分離法による各分層の抗体価について
No. 7, 8 及び 9 の免疫 28 日後の血清について写真 3 の如く各蛋白成分を分離せしめ、各分層を取り出してその抗体価を測定すれば第 13 表の如くなり、各分層の濃度を泳動前の濃度に換算したのが第 14 表で分層 V 即ち γ -globulin 層が高い数値を示す成績を得た。

IV. 総括並びに考按

以上の実験成績を総括並びに考按すれば次の如くなる。

家兎に各種動物(馬, 牛, 山羊)の血清及び卵アルブミンの異種蛋白を接種して沈降素を産生せしめ、各々を一定間隔のもとに採血し、その各蛋白成分の変動を Tiselius の電気泳動装置を用いて検討すれば、抗元の種類による大なる差異はなく頻回免疫の場合は総蛋白量、 β 及び γ -globulin の増量並びに albumin+ α_1 -globulin の軽度の減少傾向を認める。 α_2 -globulin は一定の変動を示さない。即ち総蛋白量は 7 日乃至 14 日後より増量を示す。然し例外的に牛血清を用いた場合の No. 12 の如く増量のやゝ遅れて出現するものもある。albumin+ α_1 -globulin は山羊血清を用いた場合及び卵アルブミンを用いた場合の No. 17 の如く減少の著明でないものもある

第 13 表

家兎番号	濃度 泳前 各層分	分層	試料稀釈倍数						
			1	2	4	8	16	32	64
No. 7	2.8	1.7 I	—	—	—	—	—	—	—
		2.1 II	+	+	—	—	—	—	—
		2.3 III	+	+	—	—	—	—	—
		2.1 IV	+	+	+	—	—	—	—
		1.3 V	+	+	+	—	—	—	—
No. 8	2.8	1.9 I	—	—	—	—	—	—	—
		2.1 II	—	—	—	—	—	—	—
		2.2 III	+	—	—	—	—	—	—
		2.4 IV	+	+	—	—	—	—	—
		1.2 V	+	+	—	—	—	—	—
No. 9	3.0	1.6 I	—	—	—	—	—	—	—
		2.0 II	+	—	—	—	—	—	—
		2.0 III	+	+	+	—	—	—	—
		2.3 IV	+	+	+	—	—	—	—
		1.5 V	+	+	+	+	—	—	—

第 14 表

	I	II	III	IV	V
No. 7	0	3	2	5	9
No. 8	0	0	1	2	5
No. 9	0	2	6	5	8

が概ね減少の傾向を示す。これらの例外的と思われるものは何れも総蛋白量の著明な増量例にのみ見られたことより albumin+ α_1 -globulin の軽度の減少が総蛋白量の著明な増量によつて覆われた結果と解すべきであろう。 α_2 -globulin は 14 日後に一過性に軽度の増量を示すもの、殆んど変動の認められないもの及び減少傾向を示すもの等一定した著明な変動を示さない。 β 及び γ -globulin は 7 日乃至 14 日後には増量を認める。頻回免疫を行えば血清中の変動が著明に現われる代りに生体内抗元抗体反応による種々なる影響^{16) 17) 18)}の加わることも考えられる故に 1 回免疫の場合について観察した結果、総蛋白量、 β 及び γ -globulin の増量並びに albumin+ α_1 -globulin 及び α_2 -globulin の減少を認めた。即ち頻回免疫の場合と比較すると α_2 -globulin の減少がやゝ著明になる他は同様の変動を示すことが分かった。而も抗元注入の影響の少い 1 回免疫の場合に於て β -globulin の増量が γ -globulin の増量と同様に極めて著明なことを知つた。

次にこの様に抗元注入により変動する各蛋白成分に血

中沈降反応の消長とを比較した結果、その抗体価の消長が γ -globulin の増量の消長と並行し而も γ -globulin を免疫前と比較した その増加度から見ても第15表に示す如く抗体価の高いもの程 γ -globulin の増加度も高い。

第 15 表

家兎番号	日	γ -globulin 増加率%	抗 体 価	抗 元 価
No. 7	前	—	—	—
	7	+ 18	0	8
	14	+ 141	20	1024
	21	+ 214	160	8192
	28	+ 33	40	4096
No. 8	前	—	—	—
	7	- 17	0	0
	14	+ 71	10	512
	21	+ 63	40	1024
	28	- 8	20	1024
No. 9	前	—	—	—
	7	- 3	0	0
	14	+ 132	20	2048
	21	+ 200	80	16384
	28	+ 86	80	16384
No. 18	前	—	—	—
	3	- 33	0	0
	6	- 9	0	8
	10	+ 70	10	1024
	15	+ 79	10	4096
No. 19	前	—	—	—
	3	+ 3	0	0
	6	+ 28	0	0
	10	+ 30	5	64
	15	+ 10	5	1024

即ち沈降反応に於ける抗体価は γ -globulin 量を一定の並行関係を以つて増減する事が考えられる。これは前報¹³⁾¹⁴⁾に於て凝集反応及び溶血反応による抗体価の増量が γ -globulin の増量と必ずしも並行関係を有しなかつた事と考え合わせて興味がある。勿論この差異は一方は液性抗原により他方は有形成抗原により生じた抗体という事及び凝集反応、溶血反応の所謂抗体価が必ずしも抗体の絶対量¹⁵⁾そのものを現わしてはいないという事も考慮すべきであろう。

なお本実験に於ける β -globulin の増量が γ -globulin の増量と同時に現われる事より β -globulin の増量は γ -globulin の増量と共通の原因で生起する事は考えられ

るが、両者が全く同様の機序で増量するものでなく β -globulin が抗体そのものでない事は抗体価の低い1回免疫の場合に於てもその増量が著明である事からも想像される。元来 β -globulin は必ずしも単一なものでなく物理化学的性質の類似した蛋白成分の集合体であると共に lipid その他種々の物質と結合しているものであるからその増量の意味づけには慎重を要し他の化学的検索の併用を必要とするが少くとも本実験の範囲では抗体産生時に何らかの重要な役割を演じているように思われる。

又電気泳動分離法により γ -globulin はその濃度が可成り稀釈されているにも拘らず高い数値を示すことを知つた。

V. 結 論

1) 家兎の各種抗沈降素血清を pH 8.6, イオン強度 0.1 のバルビタル緩衝液で電気泳動し、その各蛋白成分の変動と血中沈降反応を検討した。

2) 総蛋白量、 β 及び γ -globulin の増量を認めた。

3) albumin + α_1 -globulin は概ね減少傾向を示す。

4) α_2 -globulin は頻回免疫の場合は一一定した著明な変動を示さないが1回免疫の場合に於ては減少傾向がやや明らかとなる。

5) β -globulin の増量は1回免疫によつても著明に現われる。

6) γ -globulin の増量の消長及び増加度は血中抗体価と殆んど並行する。

擧筆するに臨み御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜つた恩師木村廉教授に深謝し併せて御助言を與えられた東助教に謝意を表する。

文 献

- 1) Tiselius, A. and Kabat, E. A. ; J. Exp. Med. 69, 119, 1939.
- 2) Dean, H. R. and Webb, R. A. : J. Path. Bact., 29, 473, 1926.
- 3) Heidelberger, M. and Kendall, F. E. : J. Exp. Med., 61, 559, 1935.
- 4) Heidelberger, M. and Kendall, F. E. : J. Exp. Med., 62, 697, 1935.
- 5) Pauling, L. : J. Amer. Chem. Soc., 62, 2643 1940.
- 6) Taylor, G. L., Adair, G. S. and Adair, M. : J. Hyg., 34, 118, 1934.
- 7) Pappenheimer, A. M. : J. Exp. Med., 71, 263, 1940.
- 8) Heidelberger, M., Treffers, H. P. and Mayer, M. : J. Exp- Med., 71, 271, 1940.
- 9) Van der Scheer, J., Lagsdin, J. B. and Wyckoff, R. W. G. : J. Immunol., 41, 209, 1941.

- 10) Pappenheimer, A.M. and Lundgren, H. P.: J. Exp. Med., 71, 247, 1940.
- 11) Wuhrmann, F.: Schweiz. Med. Wochens., 82 937, 1952.
- 12) 安東洪次: 感染と免疫, 昭和28年.
- 13) 山根徳治: 日本細菌学雑誌, 9, 329, 1954.
- 14) 山根徳治: 日本細菌学雑誌, 9, 485, 1954.
- 15) 緒方富雄: 血清学の領域から, 昭和25年.
- 16) Veil, W. H. and Buccholz, B.: Klin. Wochens., 11, 2019, 1932.
- 17) Coburn, A. F.: Lancet, 2, 1025, 1936.
- 18) Rachmilewitz, M. and Silberstein, W.: J. Lab. and Clin. Med. 22, 1240, 1937.
- 19) Heidelberger, M.: Bact. Rev., 3, 49, 1939.

写真 1

写真 2

写真 3