末梢および中枢神経系の可溶蛋白の 電気泳動分画と免疫学的活性*

江 上 昌 三**

Summary

Water-soluble and acid-soluble proteins were extracted successively with deionized water and dilute hydrochloric acid from the tissue residues of the peripheral nervous tissue (sciatic nerve) and the cerebral white matter of bovine, which had been preliminarily defatted with chloroform-methanol (2 : 1) mixture and acetone.

1) The water-soluble proteins extracted from the peripheral nervous tissue mainly consisted of the fraction which corresponded in electrophoretic mobility to serum albumin, while, those from the central nervous tissue consisted of three fractions which corresponded to serum albumin and α - and β -globulins.

2) The two components of the acid-soluble proteins from the peripheral nervous tissue were arbitrarily designated as L and N fractions. The electrophoretic mobilities of the L and N fractions corresponded to those of egg white lysozyme and serum albumin, respectively. The major part of the acid-soluble proteins from the cerebral white matter was arbitrarily designated as M fraction, which located in the midpoint between L and N fractions in the disc electrophoresis carried out at pH 4.2, but close to the L fraction in the thin layer polyacrylamide gel electrophoresis at pH 8.2.

3) The L and N fractions of the peripheral nervous tissue and the M fraction of the cerebral white matter could be appreciably purified by ion exchange chromatography. Immunological activities of these fractions were estimated according to the severity of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) and neuritis (EAN) induced in experimental animals. The M fraction showed a high potency of EAE induction, while, the L and N fractions showed a low potency.

The N fraction actively produced the antibody, which was detectable by the double diffusion test. Antibodies against the L and M fractions were not proven by the double diffusion test, but by the complement fixation test.

はじめに

自己免疫による発生機転が疑われている神経系の疾患（ギラン・バレー型の多発神経炎、多発硬化症、Devic病、Schilder病など）が、末梢又は中枢神経系のいずれかに限局して起こることは、それぞれの神経系に特有な抗原を推測させる。しかし、神経系を構成している蛋白についての知見は頗る貧弱である。

末梢神経線維は、軸索、髄鞘、Schwann細胞など外胚葉性の成分の他に、中胚葉性の結合組織の被膜によって包まれ、束ねられて「末梢神経」を形成している。中

枢神経線維は、軸索、髄鞘、グリア細胞など外胚葉性成分から構成され、結合組織の被膜はみられない。これらが集って「白質」を形成している。末梢神経の蛋白の約75%は結合組織に由来しているという¹⁾。末梢神経の水可溶蛋白の電気泳動分画は、白質の水可溶蛋白に比べて、alb相当分画が著しく多い²⁾ことが知られている。これは神経線維固有の蛋白と考えられているが、結合組織または、混入した血清albに由来するのかわかり、詳細は明らかでない。主に髄鞘に由来すると考えられている proteolipid proteinの量は、末梢神経系の部位によって、根は坐骨神経の4倍、上腭神経の15倍というように、著しい差異が

* Electrophoretic fractions and immunological activities of the soluble proteins from the peripheral and central nervous tissues.

** Shozo Egami, 熊本大学医学部神経精神医学教室。

みられるが、末梢神経全体として、大脳白質や視神経の1/15~1/20であるという。¹⁾ Proteolipid protein には、脂溶剤に可溶なものと不溶なものとがあるが、脂溶剤又は水によって抽出されない蛋白の大部分は neurokeratin で、これは白質よりも末梢神経に多い。¹⁾ 髄鞘染色で染色される蛋白は、末梢神経線維では neurokeratin、中枢神経線維では proteolipid protein が主であるという。¹⁾ 最近 Wolfgram と Kotorii³⁾ は、比重遠沈法で、末梢神経および大脳白質から髄鞘を分離し、クロロフォルム：メタノール、2：1 混液（以下 CM と呼ぶ）への溶解性に著しい差異があることを見出した。即ち、末梢-髄鞘は CM 不溶性で、中枢-髄鞘は CM 可溶性であるという。中枢神経系から髄鞘を分離する操作で電解質が除かれるために CM 可溶性になるという主張⁴⁾ もあるが、同じ操作で分離された末梢-髄鞘が CM 不溶であることからみると、恐らく、髄鞘を構成している多糖体-脂質-蛋白複合体の組成が、末梢と中枢では差異がある⁵⁾ ためであろう。彼等は、分離した髄鞘から直接塩酸酸性の水で抽出される酸可溶蛋白について、末梢-髄鞘から得られるものの大部分は、その電気泳動速度が、卵白リゾチームより速いこと、中枢-髄鞘から得られるものには、リゾチームより速い電気泳動速度を持つものはないことを述べている。

Kiyota と Egami⁶⁾ は、新鮮な末梢神経を材料として、CM、ついでアセトンで脱脂後、塩酸酸性の水で抽出される蛋白から、実験的アレルギー性神経炎 (EAN) を起こす強力な生物学的活性を持った蛋白を分離した。

Wolfgram らが末梢-髄鞘から分離した塩基性蛋白の生物学的活性については、全く触れていないので明らかでないが、電気泳動速度からみて、彼等の蛋白と Kiyota らの塩基性蛋白 (EAN-抗原蛋白) とは異なる蛋白であると思われる。このことから、抽出条件によって、得られる酸可溶蛋白にかなりの差異があることが考えられる。実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) を起こす中枢神経系の酸可溶蛋白についての研究は多い⁷⁾ が、これも抽出条件によって単一ではないようである。EAE を起こすに必要な最小のペプチド⁸⁾ 構造が単一であるか、複数であるかまだ明らかでない。著者は、末梢神経と大脳白質から同一条件のもとに抽出される可溶蛋白を分画し、それぞれの蛋白で免疫した場合の活性を比較検討したので報告する。

材料および方法

1) 材料および脱脂操作

ウシの脳、坐骨神経は、屠殺してから2時間以内に採り出し、直ちにドライアイスで凍結し、-20℃のストッ

カーに保存した。

その後の操作は、すべて2~4℃の低温室で行なった。大脳半球の白質だけを採取し、少量の CM を加え Waring blender で均質化し、原組織重量の20倍容になるまで CM を追加し、magnetic stirrer で6時間攪拌する。これを Buchner ロートで濾過し、濾紙上の残滓を CM で洗浄濾過後、残滓を遠沈管に移し、アセトンを加えて、ガラス棒で攪拌し、4,000 rpm で遠心分離を行ない、アセトン可溶成分を除き、残滓を集める。この操作を3回反復した。

坐骨神経は、周囲の結合織や脂肪を出来るだけ取り除き、少量の CM に浸し、ハサミで小さく切る。それを Waring blender にかけて、回転軸にまきついた巻き糸状の組織をハサミで小さく切断し、再び Waring blender にかける。この操作を数回反復し、20倍容の CM を加えて強く振盪すると、組織は充分ふやけた状態で浮遊する。この状態で6時間攪拌し、その後は、脳の場合と同じ操作を行なう。

2) 脱脂残滓から「水可溶蛋白」の抽出

上述のように、CM 次いでアセトンで脱脂した残滓を遠沈管に移し、水を加えて、ガラス棒で攪拌し、4,000 rpm で遠沈し、上清と沈殿に分け、沈殿にはさらに水を加えて洗浄し、遠沈する。この操作を3回反復し、3回分の上清を合わせて、0.05M 酢酸を外液として透析を行ない、1時間毎に外液を変え、3時間透析する。その後凍結乾燥する。

これを「水可溶蛋白」と名づける。

3) 「酸可溶蛋白」の抽出

「水可溶蛋白」を除いた残滓を乳鉢に移し、pH 1.7~1.8 の塩酸酸性の水を徐々に加えて、すりつぶし、原組織の10倍容添加し、magnetic stirrer で2時間攪拌する。これを40,000 g、90分間遠沈し、透明な上清を採取する。これを「酸抽出液」と名づける。

この酸抽出液の1部は、0.05M 酢酸を外液として透析し、充分 Cl イオンを除き、凍結乾燥し、その重量を測定する。これを「酸抽出物」と呼ぶ。酸抽出液の他の大部分は、magnetic stirrer で攪拌しながら、徐々に1N 苛性ソーダを加える。pH 5 附近になると混濁を生じてくる。pH 6 附近まで加え、以後、0.1N 苛性ソーダを加え、pH 6.8 に至らしめ、約2時間静置すると、混濁は絮状の浮遊物となり沈降する。これを4,000 rpm で遠心分離し、上清を採取する。この沈殿を少量の水で洗浄し、遠心分離により上清を採り、前記の上清と一緒にする。これをそのまま、0.05M 酢酸を外液として透析し、外液中の Cl イオンが硝酸銀液で検出できなくなるまで

行なった後、凍結乾燥する。又は、上記の上清に室温で硫酸を徐々に加えて飽和塩析し、生じた沈殿物を Buchner ロートで吸引濾過し、濾紙上に集め、少量の水に溶かし、0.05M酢酸を外液として透析し、外液中のアモニアをネスレル試薬で検査し、陰性になるまで行なう。その後、これを凍結乾燥する。このようにして得られるものを「酸可溶蛋白」と名づける。

4) イオン交換クロマトグラフィー

カルボキシメチルセルロース (Brown Company, 容量 0.70 meq/g) を充分洗浄し、0.1M酢酸で平衡させる。これをカラムに充填し、0.1M酢酸で流出平衡させ、0.1M酢酸で溶かした試料を、0.1M酢酸で流出を行ない、吸着された成分を、さらに食塩を漸増的に含む0.1M酢酸で流出する。流出液は automatic fraction collector で分離採取し、各採取液を波長 277 m μ の紫外吸収で測定した。

5) Disc 電気泳動

泳動用ガラス管は 4×80 mm を使用し、分離層は pH 4.3 (苛性カリ-氷酢酸緩衝液) の 15% アクリルアミドゲル、濃縮・試料層は pH 6.7 (苛性カリ-氷酢酸-Tris 緩衝液) の 5% アクリルアミドゲルを用い、上を陽極、下を陰極とした。電極槽は β アラニン-氷酢酸の緩衝液 (pH 4.5) を用い、各管につき 4 mA で 60~90 分泳動し、アミドブラックで染色、8%酢酸溶液で脱色を各管 8 mA で 90 分行なった。⁸⁾

6) 薄層電気泳動

pH 8.3 (Tris-クエン酸緩衝液) の 4% アクリルアミドゲルで、厚さ 1 mm の板を作り、電極槽は硼酸緩衝液 (pH 8.1) を用い、幅 1 cm あたり 2 mA で 180 分間泳動を行なう。アミドブラックで染色、5%酢酸溶液で脱色を行なった。⁹⁾

7) 免疫法

予め被検蛋白を生理食塩水に溶かし、これに complete Freund's adjuvant (Difco Laboratories) を加えて、蛋白濃度を 10~20 μ g/0.1 ml にし、油中水の懸濁液を作る。この懸濁液 0.1 ml をモルモットでは四肢起始部の 1~2 cm 背部の皮内に、ウサギでは足底のふくらみの皮内に通常 1 回、時に 2 回接種した。

8) 寒天ゲル拡散法 (Ouchterlony 法)

Bacto-Agar (Difco Laboratories) 1.2 g、窒化ソーダ 0.01 g を生理食塩水又は 0.05M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) で 100 ml となし、沸騰温浴で透明な溶液となったとき、濾過を行ない、それを直径 2.5 cm の円形シャーレに分注し、室温で凝固して後、ストローで直径約 3 mm の孔を中心に 1 個、その周囲に 6 個あける。中心孔に抗原と

して用いた被検蛋白を生理食塩水、又は 0.05M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) に溶かした溶液、その周囲の孔に免疫血清を注入し、37℃ のフラン器に 12 時間置き、その後、冷室に 24~48 時間放置し、沈降線の有無、強弱を確かめた。¹⁰⁾

9) 補体結合反応

全操作は Mg-生理食塩水を用い、溶血素、乾燥補体は極東製薬製品を指示に従い、羊血球を使った。抗体は反応前 56℃、30 分間非働化し、抗原、抗体を各々希釈し、それに補体を加え、37℃ 1 時間温浴。その後、溶血系統を加え、さらに 37℃、30 分間温浴したのち、溶血の有無、程度の判定を行なった。¹¹⁾

成 績

1) 水可溶蛋白

末梢神経および大脳白質から得られる「水可溶蛋白」の水溶液の紫外吸収は、240 m μ 附近に極小、260 m μ 附近に極大を示し、核蛋白の混入を示唆している (Fig. 1.)。

この蛋白を電気泳動法で調べると (Fig. 4.), pH 8.3 の薄層電気泳動で陽極へ動く 3 群の蛋白から成り、陰極方向へ動く蛋白は検出されない。この 3 群の蛋白の泳動速度は、牛血清の alb, α -, β -glob とほぼ一致している。これらの点は末梢神経および大脳白質に共通している。ただし、末梢神経の場合 (Fig. 4. の PNS, a) に

Fig. 1. Ultraviolet absorption spectra.

- a : Water-soluble proteins from the defatted residue of the peripheral nervous tissue, 40 mg/dl in water.
- b : Acid-soluble proteins, consecutively extractable from the water-washed residue, 50 mg/dl in water.

は、alb 相当分画が大部分を占め、glob 相当分画は極めて少ない。大脳白質 (Fig. 4. の CNS, a) では、3群の蛋白はほぼ近似した比率に含まれている。ここで注目すべきことは、この試料を pH 4.3 のディスク電気泳動法で検査すると、最も早く動く蛋白の泳動速度が、後に述べる「酸可溶蛋白」の M 成分 (塩基性蛋白) の泳動速度とほぼ一致していることである。つまり、両者は pH 4.2 のディスク泳動法では区別困難であるが、pH 8.2 の薄層泳動法では、両者の泳動方向が正反対になるので明瞭に区別される。

2) 酸可溶蛋白

末梢神経および大脳白質から得られる「酸可溶蛋白」を水に溶かし、紫外吸収を測定すると、255 m μ に極小、277 m μ に極大を示している (Fig. 1.)。末梢神経および大脳白質の何れの酸可溶蛋白も、電気泳動法で3群の蛋白より成り、pH 4.2 のディスク泳動法では、すべて陰極方向へ移動する。この3群の蛋白それぞれの泳動速度は、末梢神経と大脳白質で有意な差異はない。泳動速度の速いものから順に L, M, N と名づけた (Fig. 4.)。pH 8.2 の薄層泳動法では、L と M は陰極方向へ、N は陽極方向へ動く。L の泳動速度は pH 4.2 でも 8.2 でも卵白リゾチームに近接している。M の泳動速度は、pH 4.2 のディスク泳動では、L と N のほぼ中間に位置するが、pH 8.2 の薄層泳動では L に著しく接近しているので、L と M の識別はしばしば困難である。この3群の蛋白の量的割合は末梢神経と大脳白質で著しい差異がみられる。即ち、末梢神経では N が主成分で、次に L が多く、M は痕跡的である。

大脳白質では M が主成分で、L と N は痕跡的である。

3) イオン交換クロマトグラフィー

「酸可溶蛋白」を 0.1 M 酢酸に溶かし、カルボキシメチルセルロースカラムにかけ流出すると、まず、第 I 分画が溶出される。

次いで漸増的に食塩を含む 0.1 M 酢酸で流出すると、末梢神経の場合には、第 II から第 V 分画まで区別できる (Fig. 2.)。

第 II 分画は、カラムから食塩の流出が始まると同時に溶出される。第 III, IV, V 分画は、食塩濃度がそれぞれ 0.15, 0.2, 0.25 モル附近で溶出される。大脳白質では、第 III と第 V 分画を欠き、第 I, II, IV の3つの分画が区別される (Fig. 3.)。これら分画の溶出の性状は、末梢神経の第 I, II, IV 分画と本質的には違っていない。

第 I, II 分画は水に難溶で、且つ第 I 分画は pH 4.2, 8.2 の何れの電気泳動でも、蛋白染色によって検出できる成分を持たない。

Fig. 2. Chromatography of the acid-soluble proteins from the peripheral nervous tissue on carboxymethyl cellulose.

150 mg of the sample in 5 ml of 0.1 M acetic acid were applied to a column (2 $\times$ 35 cm) of CM-cellulose equilibrated with 0.1 M acetic acid, eluted with the same solvent and a gradient of NaCl in 0.1 M acetic acid. Fractions, 10 ml each, were collected.

Fig. 3. Chromatography of the acid-soluble proteins from the central nervous tissue (white matter) on carboxymethyl cellulose. Experimental conditions were the same as shown in Fig. 2.

Fig. 4. Electrophoretic patterns of proteins from the peripheral and central nervous tissues.

PNS : peripheral nervous system.

CNS : central nervous system.

第Ⅱ分画には、pH 8.2 の電気泳動で陽極方向へ動く蛋白の存在がわずかに証明された。第Ⅲ分画の電気泳動図には、LとM成分が認められたが、収量が少ないので十分な検討はできなかった。第Ⅳ分画は、末梢神経では主にL成分からなり、大脳白質では主にM成分よりなっている。第Ⅴ分画は、末梢神経にのみ認められ、主にN成分より成っている。

4) 収 量

「水可溶蛋白」を除いた残滓から pH 1.7 の塩酸性

の水で抽出される非透析性成分の収量は、末梢神経では新鮮組織重量の0.9%で、大脳白質では2.3%である。

「酸抽出液」を中和後、沈降物を除いた上清中の非透析性成分(酸可溶蛋白)の収量は、末梢神経では0.5%、大脳白質では0.8%である。これら「酸可溶蛋白」をイオン交換クロマトで処理すると、0.1M酢酸および食塩を含む0.1M酢酸で溶出されるのは、末梢神経では約0.2%、大脳白質では約0.4%である。後者のほぼ全量近くが、第Ⅳ分画(主にM成分)として溶出され、回収される。末梢神経の第Ⅳ分画(主にL成分)、第Ⅴ分画(主にN成分)の収量は、それぞれ約0.06%、0.05%に過ぎない。

5) 免疫学的活性

抗原としての接種量を同一(10~20 μg)にして、発症性を比較したが、「水可溶蛋白」には発症性は認められなかった。

末梢神経の第Ⅳ(主にL)、第Ⅴ(主にN)分画には、発症性がないか、または弱い発症力が認められたが、大脳白質の第Ⅳ(主にM)分画には著しく高度な発症力が認められた(Table 1.)。

末梢神経の第Ⅳ、第Ⅴ分画による発症の症度は軽く、後肢の力が弱くなる程度か、他働的に後肢をのぼされたままの不自然位をしばらくとっているといった程度(症度Ⅰ~Ⅱ)で、数日で改善される。大脳白質の第Ⅳ分画による発症の症状は強く、発症の頻度も高く、後肢の完全麻痺に尿閉、全身衰弱(症度Ⅲ~Ⅳ)等の症状が加わり、改善もなかなかみられなかった。

抗体産生の検査では、末梢神経の第Ⅴ分画で免疫したウサギ、モルモットの場合、明瞭な沈降帯がOuchterlony法で証明された。末梢神経の第Ⅳ分画、大脳白質の第Ⅳ分画で免疫した場合、Ouchterlony法による沈降帯の検出は陰性又は弱陽性であった。末梢神経および大脳白質

Table 1. Disease-inducing activities of protein fractions extracted from the peripheral and central nervous tissues.

Materials*	Main fraction in electrophoresis	Number of animals injected	Severity of clinical symptom				
			—	+	++	+++	■
PNS-IV	L	12	7	1	4	0	0
PNS-V	N	12	5	7	0	0	0
CNS-IV	M	31	8	10	3	4	6

* PNS-IV, PNS-V: The fractions IV and V obtained by chromatography (Fig. 2.) of acid-soluble proteins from the peripheral nervous system.

CNS-IV: The fraction IV obtained by chromatography (Fig. 3.) of acid-soluble proteins from the central nervous system.

の第IV分画で発症させたウサギの場合、補体結合反応で64倍希釈まで抗体価が証明された。

考 察

神経組織の脱脂残滓から、中性の水で抽出される成分を除いた後、酸性の水で抽出される蛋白は、大腦白質では pH 4.2 および 8.2 の電気泳動で、常に陰極方向へ動く塩基性蛋白 (basic or cathionic protein) M が主成分であるが、末梢神経では pH 8.2 で陽極へ動く蛋白 (anionic protein) N が主成分である。この成分に相当する蛋白は、脱脂残滓から水で抽出される蛋白の中かなり多量含まれている。両者が同一の蛋白であるか否か、さらに検討を要する。このN成分は電気泳動的には血清 alb に相当している。神経組織から脱脂せず、直接水で抽出される alb 相当分画は、末梢神経では、大腦白質にくらべ、著しく多い点に特色があるという。²⁾

脳浮腫の場合、脳組織の alb 相当分画が増加するのは、血清 alb の組織内移行によると思われるが、¹²⁾ 正常の状態において、alb 相当分画が脳よりも末梢神経に著しく多く存在することは、血清 alb に由来するとは考え難い。この問題について、Palladin および Lowenthal²⁾ は、神経組織固有の蛋白に由来するという考えを支持している。電気泳動的に alb, α -, β -glob に相当する anionic protein および 260 m μ に極大吸収を示す核蛋白様の成分が脱脂残滓を水洗することで、容易に除かれることから、cathionic protein 即ち、塩基性蛋白を抽出するには、脱脂残滓の水洗という操作が予め必要である。

弱酸性 (pH 4.2)、弱塩基性 (pH 8.2) の何れの条件でも、電気泳動法で陰極へ移動する cathionic protein について言えば、末梢では L 成分が、大腦白質では M 成分が主成分である。ただし、末梢にも M 成分が、大腦白質にも L 成分が僅かながら含まれている。

この L と M 成分は pH 4.2 のディスク泳動では、泳動距離がかなり離れているが、pH 8.2 の薄層泳動では、お互に著しく近接しているので注意を要する。又、カルボキシメチルセルロースクロマトによる流出では、L 成分も M 成分も共に 0.1M 酢酸中の食塩濃度が 0.2M 附近で溶出される。セファデックスゲル[®]透過でも分離が困難である。このような点から L と M 成分は、表面荷電の僅かな差を示すが、お互によく似た塩基性蛋白であると思われる。

末梢神経の L および N 成分は、大腦白質の M 成分に比べて、免疫による発症力はきわめて弱い。L および N 成分の弱い発症性は、Kiyota と Egami¹³⁾ が末梢神経から分離した強力な発症因子とは別個の発症因子によるのか、

あるいは微量に混在している同一の発症因子によるのゝ検討を要する。

N 成分は発症力は弱い、抗体とくにゲル沈降抗体 (寒天ゲル拡散法で証明される抗体) の産生力は強力である。一方、M 成分は発症力は強いが、抗体産生はあまり強力ではない。この M 成分は Martenson と Lebaron⁶⁾ の分離した EAE-抗原と同一であると考えられる。

一般に塩基性蛋白の抗体産生能は低く、抗体産生の期間が短く、EAE の場合 1 回の免疫操作で発症はするが、高い抗体価を証明することは困難であるとされている。Hruby ら¹³⁾ は、この点を考慮して、通常の EAE 免疫操作の前後に、Freund's adjuvant を含まない大量の塩基性蛋白 (3 週間に 48 mg) を反復注射することで発症を抑えて抗体価を高め、ゲル沈降抗体を証明している。Eylar ら¹⁴⁾ も同じ考えから、2 週間に総量 11.25 mg の塩基性蛋白を注射し、ゲル沈降抗体を証明している。しかし、このように大量の塩基性蛋白を反復注射すれば、塩基性蛋白に痕跡的に混在しない複合している N 成分による抗体産生の可能性が考えられる。

発症動物の臨床症状および病理所見の詳細については別に報告する。

結 論

ウシの末梢神経 (坐骨神経) および中枢神経 (大腦白質) を CM 次いでアセトンで脱脂後、先ず、中性の水で抽出される蛋白 (水可溶蛋白)、次に水抽出後の残滓から塩酸酸性の水で抽出される蛋白 (酸可溶蛋白) を検討し、大要、以下の成績を得た。

1) 「水可溶蛋白」は、末梢神経では、電気泳動的に alb 相当分画が大部分を占めているが、中枢神経では、alb, α -, β -glob に相当する 3 群の蛋白からなっている。

2) 「酸可溶蛋白」は、末梢神経では、主として 2 個の成分 (L, N と仮称) から成っている。L 成分の電気泳動速度は卵白リゾチームに近接し、N 成分は血清 alb に相当している。一方、大腦白質の「酸可溶蛋白」の主成分 (M と仮称) は、その電気泳動速度が pH 4.2 のディスク電気泳動では、L と N のほぼ中間であるが、pH 8.2 の薄層電気泳動では、L にきわめて近接している。

3) イオン交換クロマトグラフィーによって、末梢神経から L と N、中枢神経から M が、或る程度純化される。これらを抗原として免疫すると、L と N には弱い発症性、M には強い発症性がある。このうち N は、抗体産生能が著しく高く、2 重拡散法で証明される。

L と M の抗体産生能は弱く、2 重拡散法では証明されないが、補体結合反応で証明される。

稿を終るに臨み、本研究のご指導とご校閲を頂いた恩師清田一民助教授に謹んで感謝の意を表します。また、絶えず激励していただいた井上 赴、寺岡 葵博士に感謝します。

文 献

- 1) Porcellati, G. : Handbook of Neurochemistry Vol. 2, 393, Plenum Press (1969).
- 2) Lowenthal, A. : Agar Gel Electrophoresis in Neurology, 160, Elsevier (1964).
- 3) Wolfgram, F. and Kotorii, K. : J. Neurochem. **15**, 1281, 1291 (1968).
- 4) Gonzalez-Sastre, F. : J. Neurochem. **17**, 1049 (1970).
- 5) Kiyota, K. and Egami, S. : J. Neurochem. **19**, 857 (1972).
- 6) Martenson, R. and Lebaron. F. : J. Neurochem. **13**, 1469 (1966).
- 7) Eylar, E.H. and Thompson, M. : Arch. Biochem. Biophys. **129**, 468 (1969).
- 8) 永井 裕 : 蛋白質・核酸・酵素 **8**, 744, 818 (1966).
- 9) 電気泳動学会編 : 電気泳動実験法, 247, 文光堂 (1967).
- 10) Ouchterlony. O. : Acta Path. Microbiol. Scand. **32**, 232 (1953).
- 11) 山村・石坂編 : 免疫化学 27, 619, 朝倉書店 (1968).
- 12) Kiyota, K. : J. Neurochem. **4**, 209 (1959).
- 13) Hruby, S., Alvord, E. C. and Shaw, C.-M. : Int. Arch. Allergy **36**, 599 (1969).
- 14) Eylar, E.H., Salk, J., Beveridge, G.C. and Brown, L.V. : Arch. Biochem. Biophys. **132**, 34 (1969).