

異性抗原の化学的研究

昭和42年11月29日 受付

信州大学医学部生化学教室

(指導：藤村紫郎教授)

藤 森 睦 美

Chemical Studies on the Heterogenetic Antigen

Mutsumi Fujimori

Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine,

Shinshu University

(Director : Prof. S. Fujimura)

緒 言

異性抗原の化学的性質、並びにその化学的本態については、従来多数の研究が重ねられているが、未だその結論は得られていない。

それ等のあるものは、それが耐熱性及び有機溶媒に可溶性なる等の性質の故に、lipid 性物質であろうと論じ、又或るものは、lipid の精製に伴い抗原性の消失することにより、lipid に附随する蛋白性物質であると論じている。

即ち、Meyer 及びその協同研究者等は、モルモット臓器より分離した磷脂質は、Forssman 抗体とよく試験管内にて血清反応を呈することより、異性抗原は、lipid 性物質なることを称え、Leven 及び Landsteiner は、馬腎より分離精製した異性抗原は、水溶性で、有機溶媒には不溶且つ水解後には還元性を有することを報告している。

我教室に於ても、先きに楢本は、馬臓器につき異性抗原の性質を検し、種々の化学性を得たが、未だ確実に之が化学的本態を断定するを得なかつた。

藤村も、モルモット臓器より分離精製した磷脂質は、異性抗体とよく血清反応を起すが、之を精製するとその活性度を失うことから、磷脂質に夾雑する或る物質が、異性抗原として活性の化合物であると考えた。

柳原等も、モルモットの腎及び心臓を用いて、本問題の究明を試みたが、未だその本態を究めるまでには至らなかつた。

著者は、こゝに再び、犬腎、馬腎、山羊赤血球等を用いて異性抗原の研究を試み、本問題の解明に資せんとした。

実験の部

材料及び方法

犬腎、馬腎、山羊赤血球、及び綿羊赤血球を抗原として、家兎を免疫し、抗綿羊赤血球溶血素血清を調製した。

即ち、屠殺場より得た新鮮な馬、及び犬の腎臓より、附属組織をよく取り除き、鉄で細砕し、生理的食塩水にて速かに洗滌した後、濾紙にて血液及び水分を十分に拭い去り、硝子 homogenizer で粥化した後、之に10倍量の生理的食塩水を加え、室温にて、3時間振盪浸出する。之をガーゼ数枚を重ねて濾過し、濾液 5.0cc を以て、2日置きに5回、家兎を耳静脈内注射により免疫する。又同時に、別に濾液に almina cream を加えたものを、家兎下肢筋肉内注射により免疫した。

赤血球成分による免疫は、生理的食塩水により充分に洗滌した赤血球に、10倍量の蒸溜水を加えて溶血せしめた後、食塩により等張にしたものを以て、静脈内注射により行った。

又別に0.2% chrome 明礬10倍量を加へた濾液を、冷所に3日間放置の後、等張にし腹腔内注射により免疫した。

免疫家兎は、何れも最終注射日より、1週間目に採血し抗体価を検し、1000倍以上の溶血素力価を有するもののみを実験に供した。

溶血試験の様式は次の如く行なつた。

一列の試験管に 0.25ml宛の 200倍、400倍、800倍等に稀釈した抗血清、及び補体血清 2 単位宛を加え、次いで 3%綿羊赤血球浮游液 0.25ml宛を加え、混和し、1時間 37°C に保温した後その溶血度を見る。

補体にはモルモット血清を用い、3%感作血球 0.25 ml を 1 時間 37°C で、完全溶血する最小量を以て 1 単位とした。

其の結果は第一表に示す。

表中(卅)は完全溶血を、(-)は全く溶血しない

表 1

試験管番号	1	2	3	4	5	6	7		
抗血清稀釈度 (0.25ml宛)	200	400	800	1000	1600	3200	6400		
補体(単位)	2	2	2	2	2	2	2		
3% 緬羊赤血球	0.25	〃	〃	〃	〃	〃	〃		
抗 元	犬腎	1	卅	卅	卅	卅	卅	-	
		2	卅	卅	卅	卅	+	-	
		3	卅	卅	卅	卅	卅	-	
	馬腎	4	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
		6	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
		7	卅	卅	卅	+	+	-	-
	山羊赤血球	8	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
		11	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
		12	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
		13	卅	卅	卅	卅	+	-	-
		16	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
		17	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	緬羊赤血球	18	卅	卅	卅	卅	卅	-	-

ものを、(卅)、(+), 及び(±)はその中間の場合を示す。

斯く犬、馬、及び山羊腎組織食塩水浸出液による家兎免疫によって強力な緬羊赤血球溶血素血清を得た。以下実験には此の抗血清を用いた。

此等の免疫血清は勿論免疫に使用した抗原とよく補体結合反応を呈する。

表 2 (A)

免疫 抗原	試験管 内抗原	家兎 番号	補体 単 位						対 照	
			2	4	6	8	10	12	A	S
犬腎	犬腎	1	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		2	-	-	-	-	-	+	卅	卅
		3	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		4	-	-	-	-	-	-	卅	卅
馬腎	馬腎	1	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		2	-	-	-	-	+	+	卅	卅
		3	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		4	-	-	-	-	-	-	卅	卅
山羊赤血球	山羊赤血球	1	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		2	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		3	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		4	-	-	-	-	-	-	卅	卅
緬羊赤血球	緬羊赤血球	1	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		2	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		3	-	-	-	-	-	-	卅	卅
		4	-	-	-	-	-	-	卅	卅

補体結合反応は、一列の試験管に溶血防止下量の半量なる10倍稀釈0.25ml宛の抗血清、同じく腎組織浸出液或は赤血球の溶血したもの、及び2, 4, 6, 8, 10単位の補体を加え、混和して1時間37°C保温の後、0.25mlの3%感作血球浮遊液を加え、更に1時間37°C保温し溶血度を観察する。その結果は第二表に示す。

表 2 (B)

免疫 抗原	試験管 内抗原	家兎 番号	補体 単 位						対 照		
			2	4	6	8	10	12	A	C	S
馬腎	馬腎	6	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
		7	-	-	-	-	+	+	卅	卅	
		8	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
	犬腎	6	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
		7	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	
		8	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
	山羊赤血球	6	-	-	-	-	+	+	卅	卅	
		7	-	-	-	-	+	+	卅	卅	
8		-	-	-	-	-	+	卅	卅		
緬羊赤血球	6	-	-	-	-	-	+	卅	卅		
	7	-	-	-	-	-	+	卅	卅		
	8	-	-	-	-	-	+	卅	卅		

表 2 (C)

免疫 抗原	試験管 内抗原	家兎 番号	補体 単 位						対 照		
			2	4	6	8	10	12	A	C	S
山羊赤血球	山羊赤血球	11	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
		12	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
		13	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
	犬腎	11	-	-	-	-	+	+	卅	卅	
		12	-	-	-	-	+	卅	卅	卅	
		13	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
	馬腎	11	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
		12	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
		13	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
	緬羊赤血球	11	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
		12	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
		13	-	-	-	-	-	-	卅	卅	

表中対照試験のA C, S C, は夫々試験管内抗原と補体、及び抗血清と補体を加えた場合を示す。

表の如く、山羊及び緬羊赤血球食塩水抽出液及び、腎組織食塩水抽出液には、それぞれに対する抗血清と著明に血清反応を呈する物質を含み、且つ其等の抗体は、他の異性抗原と交叉的に著明に反応することを知る。

表 2 (D)

免疫 抗原	試験管内 抗元	家免 番号	補体単位					対照				
			2	4	6	8	10	12	A	C	S	C
緬羊赤血球	緬羊赤血球	16	-	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
	"	17	-	-	-	-	-	-	-		卅	
	"	18	-	-	-	-	-	-	-		卅	
犬腎	犬腎	16	-	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	17	-	-	-	-	-	-	+			
	"	18	-	-	-	-	-	-	-			
馬腎	馬腎	16	-	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	17	-	-	-	-	-	-	+			
	"	18	-	-	-	-	-	-	-			
山羊赤血球	山羊赤血球	16	-	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	17	-	-	-	-	-	-	-			
	"	18	-	-	-	-	-	-	-			

腎組織及び赤血球より活性抗原の分離

上記の異性抗体と血清反応を呈する物質の腎組織、並びに山羊、及び緬羊赤血球中からの分離を試みた。腎組織 homogenate を3倍量の acetone で充分に抽出し、不溶物を Soxlet 装置を用いて、更に acetone にて数時間抽出する。acetone 不溶性分は、温水浴上にて acetone を蒸発除去し、別に acetone 可溶性分は之を CO₂ 気流中にて acetone を蒸発、乾固する。

この acetone 溶性分の残渣、及び acetone 不溶性

表 3 (A)

免疫 血清	試験管内 抗元	家免 番号	補体単位					対照			
			1	2	6	8	10	A	C	S	C
犬腎	犬腎 acetone 溶性分	1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅	卅	卅	卅				
	"	3	卅	卅							
	"	4	卅	卅							
馬腎	馬腎 acetone 溶性分	1	卅	卅					卅		
	"	2	卅	卅							
	"	3	卅	卅							
	"	4	卅	卅							
山羊赤血球	acetone 溶性分	1	卅	卅					卅		
	"	2	卅	卅							
	"	3	卅	卅							
	"	4	卅	卅							
緬羊赤血球	acetone 溶性分	1	卅	卅					卅		
	"	2	卅	卅							
	"	3	卅	卅							
	"	4	卅	卅							

表 3 (B)

免疫 抗原	試験管内 抗元	家免 番号	補体単位			対照			
			2	4	6	A	C	S	C
馬腎	acetone 溶性分	6	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅	卅				
	"	8	卅	卅	卅				
	犬腎 acetone 溶性分	6	卅	卅	卅	卅			
	"	7	卅	卅	卅				
	"	8	卅	卅	卅				
	山羊赤血球 acetone 溶性分	6	卅	卅	卅	卅			
	"	7	卅	卅	卅				
緬羊赤血球	acetone 溶性分	6	卅	卅	卅	卅			
	"	7	卅	卅	卅				
	"	8	卅	卅	卅				
	"	8	卅	卅	卅				

表 3 (C)

免疫 抗原	試験管内 抗元	家免 番号	補体単位			対照			
			2	4	6	A	C	S	C
山羊赤血球	山羊赤血球 acetone 溶性分	11	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅	卅				
	"	13	卅	卅	卅				
	犬腎 acetone 溶性分	11	卅	卅	卅	卅			
	"	12	卅	卅	卅				
	"	13	卅	卅	卅				
	馬腎 acetone 溶性分	11	卅	卅	卅	卅			
	"	12	卅	卅	卅				
	"	13	卅	卅	卅				
	緬羊赤血球 acetone 溶性分	11	卅	卅	卅	卅			
	"	12	卅	卅	卅				
	"	13	卅	卅	卅				

表 3 (D)

免疫 抗原	試験管内 抗元	家免 番号	補体単位			対照			
			2	4	6	A	C	S	C
緬羊赤血球	緬羊赤血球 acetone 溶性分	16	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅	卅				
	"	18	卅	卅	卅				
	犬腎 acetone 溶性分	16	卅	卅	卅	卅			
	"	17	卅	卅	卅				
	"	18	卅	卅	卅				
	馬腎 acetone 溶性分	16	卅	卅	卅	卅			
	"	17	卅	卅	卅				
	"	18	卅	卅	卅				
	山羊赤血球 acetone 溶性分	16	卅	卅	卅	卅			
	"	17	卅	卅	卅				
	"	18	卅	卅	卅				

分は、夫々少量の alcohol にて溶解し、これ等 alcohol 溶液を生理的食塩水を以て、30倍に稀釈して白濁乳化体を得る。

乳化後30分乃至1時間の間に、この各々につき、溶血防止量を測定した後、これを試験管内抗原として次の補体結合反応を行う。

表 4 (A)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照			
			2	4	6	8	10	12	AC	SC		
犬腎	犬腎 acetone 不溶性分	1	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅		
	"	2	-	-	+	卅	卅	卅				
	"	3	-	-	-	卅	卅	卅				
	"	4	-	-	-	+	卅	卅				
馬腎	馬腎 acetone 不溶性分	1	-	-	+	卅	卅	卅	卅			
	"	2	-	-	卅	卅	卅	卅				
	"	3	-	-	+	卅	卅	卅				
	"	4	-	-	-	卅	卅	卅				
山羊赤血球 acetone 不溶性分	"	1	-	-	-	-	-	-			卅	
	"	2	-	-	-	-	+	卅				
	"	3	-	-	-	-	-	+				
	"	4	-	-	-	-	-	-				
緬羊赤血球 acetone 不溶性分	"	1	-	-	-	-	-	-			卅	
	"	2	-	-	-	-	+	卅				
	"	3	-	-	-	-	-	+				
	"	4	-	-	-	-	-	-				

表 4 (B)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照			
			2	4	6	8	10	12	AC	SC		
馬腎	馬腎 acetone 不溶性分	6	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅		
	"	7	-	-	卅	卅	卅	卅				
	"	8	-	-	+	卅	卅	卅				
犬腎	犬腎 acetone 不溶性分	6	-	-	+	卅	卅	卅	卅			
	"	7	-	+	卅	卅	卅	卅				
	"	8	-	-	-	卅	卅	卅				
山羊赤血球 acetone 不溶性分	"	6	-	-	-	-	-	-			卅	
	"	7	-	-	-	-	+	卅				
	"	8	-	-	-	-	-	+				
緬羊赤血球 acetone 不溶性分	"	6	-	-	-	-	-	卅			卅	
	"	7	-	-	-	-	-	卅				
	"	8	-	-	-	-	-	-				

表 4 (C)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照			
			2	4	6	8	10	12	AC	SC		
山羊赤血球 acetone 不溶性分	"	11	-	-	-	-	-	-			卅	卅
	"	12	-	-	-	-	+	卅				
	"	13	-	-	-	-	-	+				
犬腎 acetone 不溶性分	"	11	-	-	+	卅	卅	卅	卅			卅
	"	12	-	-	卅	卅	卅	+				
	"	13	-	-	+	卅	卅	卅				
馬腎 acetone 不溶性分	"	11	-	+	卅	卅	卅	卅	卅			卅
	"	12	-	+	卅	卅	卅	卅				
	"	13	-	+	卅	卅	卅	卅				
緬羊赤血球 acetone 不溶性分	"	11	-	-	-	-	-	+			卅	
	"	12	-	-	-	-	+	+				
	"	13	-	-	-	-	-	+				

表 4 (D)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照			
			2	4	6	8	10	12	AC	SC		
緬羊赤血球	緬羊赤血球 acetone 不溶性分	16	-	-	-	-	-	-			卅	卅
	"	17	-	-	-	-	-	-				
	"	18	-	-	-	-	-	-				
犬腎 acetone 不溶性分	"	16	-	-	-	+	卅	卅	卅			卅
	"	17	-	-	+	卅	卅	卅				
	"	18	-	-	-	+	卅	卅				
馬腎 acetone 不溶性分	"	16	-	+	+	卅	卅	卅	卅			卅
	"	17	-	-	卅	卅	卅	卅				
	"	18	-	-	+	卅	卅	卅				
山羊赤血球 acetone 不溶性分	"	16	-	-	-	-	-	-			卅	
	"	17	-	-	-	-	-	+				
	"	18	-	-	-	-	+	+				

即ち、犬及び馬腎臓、並びに山羊、緬羊赤血球の中の上記抗血清と反応する物質は、それ等の acetone 不溶性劃分に移行し、acetone 溶性分には根跡をも留めない。而かも之等は互に良く交叉反応を呈する。

次いで、この acetone 不溶性劃分を ether を以て Soxlet 装置にて数時間抽出する。

ether 可溶性分は、ether を蒸発除去した後 alcohol にて溶解し、ether 不溶性分に於ても ether を除去した後 alcohol に溶解し、溶液を製して、夫々30倍量の食塩水を以て稀釈して乳化体をつくり、抗血清に対して抗原性を検する。

その結果は第五表及び第六表に示す。

表 5 (A)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照					
			2	4	6	A	C	S
犬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	1	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	"	2	卅	卅	卅			
	"	3	卅	卅	卅			
	"	4	卅	卅	卅			
馬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	1	卅	卅	卅		卅	
	"	2	卅	卅	卅			
	"	3	卅	卅	卅			
	"	4	卅	卅	卅			
山羊赤血球	acetone 不溶 ether 溶性分	1	卅	卅	卅		卅	
	"	2	卅	卅	卅			
	"	3	卅	卅	卅			
	"	4	卅	卅	卅			
綿羊赤血球	acetone 不溶 ether 溶性分	1	卅	卅	卅		卅	
	"	2	卅	卅	卅			
	"	3	卅	卅	卅			
	"	4	卅	卅	卅			

表 5 (B)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照					
			2	4	6	A	C	S
馬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	6	卅	卅	卅		卅	卅
	"	7	卅	卅	卅			
	"	8	卅	卅	卅			
犬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	6	卅	卅	卅		卅	
	"	7	卅	卅	卅			
	"	8	卅	卅	卅			
山羊赤血球	acetone 不溶 ether 溶性分	6	卅	卅	卅		卅	
	"	7	卅	卅	卅			
	"	8	卅	卅	卅			
綿羊赤血球	acetone 不溶 ether 溶性分	6	卅	卅	卅		卅	
	"	7	卅	卅	卅			
	"	8	卅	卅	卅			

表 5 (C)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照					
			2	4	6	A	C	S
山羊赤血球	acetone 不溶 ether 溶性分	11	卅	卅			卅	卅
	"	12	卅	卅				
	"	13	卅	卅				
犬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	11	卅	卅			卅	
	"	12	卅	卅				
	"	13	卅	卅				
馬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	11	卅	卅			卅	
	"	12	卅	卅				
	"	13	卅	卅				
綿羊赤血球	acetone 不溶 ether 溶性分	11	卅	卅			卅	
	"	12	卅	卅				
	"	13	卅	卅				

表 5 (D)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照					
			2	4	6	A	C	S
綿羊赤血球	acetone 不溶 ether 溶性分	16	卅	卅			卅	卅
	"	17	卅	卅				
	"	18	卅	卅				
犬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	16	卅	卅			卅	
	"	17	卅	卅				
	"	18	卅	卅				
馬腎	acetone 不溶 ether 溶性分	16	卅	卅			卅	
	"	17	卅	卅				
	"	18	卅	卅				
山羊赤血球	acetone 不溶性 ether 溶性分	16	卅	卅			卅	
	"	17	卅	卅				
	"	18	卅	卅				

即ち、第5、第6表に見る如く、犬及馬腎組織、及び山羊及綿羊赤血球の acetone 不溶分中の異性抗原活性物質は、ether 溶性分には移行せず、専ら、ether 不溶性残渣に残る。且つ之等は交叉反応をも陽性に呈する。

acetone 不溶、且つ ether 不溶活性分を chloroform にて、Soxlet 装置を用いて抽出し、不溶性分と、可溶性分とに分割し、夫々の乳化体にて抗原性を検する。

表 6 (A)

免疫抗原	試驗管内抗原	家兔番号	補 体 单 位						对 照				
			2	4	6	8	10	12	A	C	S	C	
犬腎	acetone不溶 ether不溶性分	1	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		2	-	-	+	卅	卅	卅					
		3	-	-	-	卅	卅	卅					
		4	-	-	-	卅	卅	卅					
馬腎	acetone不溶 ether不溶性分	1	-	-	-	-	-	+				卅	
		2	-	-	-	卅	卅	卅					
		3	-	-	-	+	卅	卅					
		4	-	-	-	-	-	卅					
山羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	1	-	-	-	-	-	-				卅	
		2	-	-	-	-	-	-	+				
		3	-	-	-	-	-	+	卅				
		4	-	-	-	-	-	-	-				
緬羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	1	-	-	-	+	卅	卅	卅			卅	
		2	-	-	-	-	卅	卅					
		3	-	-	-	卅	卅	卅					
		4	-	-	+	+	卅	卅					

表 6 (B)

免疫抗原	試驗管内抗原	家兔番号	補 体 单 位						对 照				
			2	4	6	8	10	12	A	C	S	C	
馬腎	acetone不溶 ether不溶性分	6	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		7	-	-	卅	卅	卅	卅					
		8	-	-	-	卅	卅	卅					
犬腎	acetone不溶 ether不溶性分	6	-	-	-	+	卅	卅	卅			卅	
		7	-	-	-	卅	卅	卅					
		8	-	-	+	+	卅	卅					
山羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	6	-	-	-	-	-	+				卅	
		7	-	-	-	-	-	卅					
		8	-	-	-	-	+	卅					
緬羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	6	-	-	+	卅	卅	卅	卅			卅	
		7	-	-	卅	卅	卅	卅					
		8	-	-	-	卅	卅	卅					

表 6 (C)

免疫抗原	試驗管内抗原	家兔番号	補 体 单 位						对 照				
			2	4	6	8	10	12	A	C	S	C	
山羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	11	-	-	-	-	-	-	+			卅	卅
		12	-	-	-	-	-	+	+				
		13	-	-	-	-	-	-	+				
犬腎	acetone不溶 ether不溶性分	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	卅	
		12	-	-	-	-	-	+	卅				
		13	-	-	-	-	-	-	+				
馬腎	acetone不溶 ether不溶性分	11	-	-	-	卅	卅	卅	卅			卅	
		12	-	-	+	卅	卅	卅					
		13	-	-	-	卅	卅	卅					
緬羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	11	-	-	+	卅	卅	卅	卅			卅	
		12	-	-	卅	卅	卅	卅					
		13	-	-	-	卅	卅	卅					

表 6 (D)

免疫抗原	試驗管内抗原	家兔番号	補 体 单 位						对 照				
			2	4	6	8	10	12	A	C	S	C	
山羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	16	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		17	-	-	-	卅	卅	卅					
		18	-	-	-	+	卅	卅					
犬腎	acetone不溶 ether不溶性分	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	卅	
		17	-	-	-	-	-	-	卅				
		18	-	-	-	-	-	+	+				
馬腎	acetone不溶 ether不溶性分	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	卅	
		17	-	-	-	-	-	-	卅				
		18	-	-	-	-	-	-	-				
山羊赤血球	acetone不溶 ether不溶性分	16	-	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	
		17	-	-	-	-	-	-	-	卅			
		18	-	-	-	-	-	+	卅				

第7, 第8表に見る如く, chloroform 溶性分には抗元性は全く認められず, 不溶性分の方にのみ抗元性物質が移行することを知る。

表 7 (A)

免疫抗元	試験管内抗元	家兎番号	補体単位		対照	
			2	4	6	AC SC
犬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	1	卅	卅	卅	卅
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
馬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
山羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
緬羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		

表 7 (B)

免疫抗元	試験管内抗元	家兎番号	補体単位		対照	
			2	4	6	AC SC
馬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	6	卅	卅	卅	卅
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
犬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
山羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
緬羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		

表 7 (C)

免疫抗元	試験管内抗元	家兎番号	補体単位		対照	
			2	4	6	AC SC
山羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	11	卅	卅	卅	卅
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
犬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
馬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
山羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		

表 7 (D)

免疫抗元	試験管内抗元	家兎番号	補体単位		対照	
			2	4	6	AC SC
緬羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	16	卅	卅	卅	卅
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
犬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
馬腎	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
山羊赤血球	acetone, ether 不溶, chloroform 溶性分	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		

表 10 (A)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照			
			2	4	A C	S C
大腎	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	1	卅	卅	卅	卅
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
馬腎	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
山羊赤血球	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
綿羊赤血球	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		

表 10 (B)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照			
			2	4	A C	S C
馬腎	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	6	卅	卅	卅	卅
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	6	卅	卅	卅	
大腎	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
山羊赤血球	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	6	卅	卅	卅	
綿羊赤血球	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		

表 10 (C)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照			
			2	4	A C	S C
山羊赤血球	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	11	卅	卅	卅	卅
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
大腎	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
馬腎	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
綿羊赤血球	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		

表 10 (D)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補体単位 対照			
			2	4	A C	S C
綿羊赤血球	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	16	卅	卅	卅	卅
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
	acetone, ether, chloroform不溶, C-M不溶分	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		

第9, 第10表に示す如く, 抗原性物質は, chloroform-methanol 混合溶液に集めることが出来, 不溶性分には全く移行しない。

この chloroform-methanol 可溶性分を, 冷所に一夜保存すると析出物を生ずる。

之を, 遠心沈澱により, 上清と, 不溶性分とに分離し, 各々について抗原性を検すると, 第11, 12表に見られる如く, 上清分のみに活性が認められる。

表 11 (A)

免疫 抗原	試 驗 管 内 抗 元	家 兔 番 号	補 体 单 位		对 照	
			2	4	A C	S C
犬 腎	犬 腎 析 出 物	1	卅	卅	卅	卅
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
馬 腎	馬 腎 析 出 物	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
山 羊 赤 血 球	山 羊 赤 血 球 析 出 物	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		
緬 羊 赤 血 球	緬 羊 赤 血 球 析 出 物	1	卅	卅	卅	
	"	2	卅	卅		
	"	3	卅	卅		
	"	4	卅	卅		

表 11 (B)

免疫 抗原	試 驗 管 内 抗 元	家 兔 番 号	補 体 单 位		对 照	
			2	4	A C	S C
馬 腎	馬 腎 析 出 物	6	卅	卅	卅	卅
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
犬 腎	犬 腎 析 出 物	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
山 羊 赤 血 球	山 羊 赤 血 球 析 出 物	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		
緬 羊 赤 血 球	緬 羊 赤 血 球 析 出 物	6	卅	卅	卅	
	"	7	卅	卅		
	"	8	卅	卅		

表 11 (C)

免疫 抗原	試 驗 管 内 抗 元	家 兔 番 号	補 体 单 位		对 照	
			3	4	A C	S C
山 羊 赤 血 球	山 羊 赤 血 球 析 出 物	11	卅	卅	卅	卅
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
犬 腎	犬 腎 析 出 物	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
馬 腎	馬 腎 析 出 物	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		
緬 羊 赤 血 球	緬 羊 赤 血 球 析 出 物	11	卅	卅	卅	
	"	12	卅	卅		
	"	13	卅	卅		

表 11 (D)

免疫 抗原	試 驗 管 内 抗 元	家 兔 番 号	補 体 单 位		对 照	
			2	4	A C	S C
緬 羊 赤 血 球	緬 羊 赤 血 球 析 出 物	16	卅	卅	卅	卅
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
犬 腎	犬 腎 析 出 物	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
馬 腎	馬 腎 析 出 物	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		
山 羊 赤 血 球	山 羊 赤 血 球 析 出 物	16	卅	卅	卅	
	"	17	卅	卅		
	"	18	卅	卅		

表 12 (A)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照		
			2	4	6	8	10	12	A	C	S
犬 腎	犬 腎 溶 解 分	1	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
	"	2	-	-	-	-	-	+	卅		
	"	3	-	-	-	-	-	+			
	"	4	-	-	-	-	-	+	卅		
馬 腎	馬 腎 溶 解 分	1	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	2	-	-	-	-	-	+	卅		
	"	3	-	-	-	-	-	+			
	"	4	-	-	-	-	-	-			
山羊血球	山羊血球溶解分	1	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	2	-	-	-	-	-	-			
	"	3	-	-	-	-	-	+	卅		
	"	4	-	-	-	-	-	+	卅		
綿羊血球	綿羊血球溶解分	1	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	2	-	-	-	-	-	+			
	"	3	-	-	-	-	-	+			
	"	4	-	-	-	-	-	-			

表 12 (B)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照		
			2	4	6	8	10	12	A	C	S
馬 腎	馬 腎 溶 解 分	6	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
	"	7	-	-	-	-	-	卅	卅		
	"	8	-	-	-	-	-	-			
犬 腎	犬 腎 溶 解 分	6	-	+	卅	卅	卅	卅	卅		
	"	7	-	-	卅	卅	卅	卅			
	"	8	-	-	-	卅	卅	卅			
山羊赤血球	山羊赤血球溶解分	6	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	7	-	-	-	-	-	卅			
	"	8	-	-	-	-	+	卅			
綿羊赤血球	綿羊赤血球溶解分	6	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	7	-	-	-	-	-	+	卅		
	"	8	-	-	-	-	-	+			

表 12 (C)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照		
			2	4	6	8	10	12	A	C	S
山羊赤血球	山羊赤血球溶解分	11	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
	"	12	-	-	-	-	-	-			
	"	13	-	-	-	-	-	+	卅		
	犬 腎 溶 解 分	11	-	-	-	-	-	+	卅	卅	
	"	12	-	-	-	-	-	卅	卅		
	"	13	-	-	-	-	-	-	卅		
馬 腎	馬 腎 溶 解 分	11	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	12	-	-	-	-	-	+	卅		
	"	13	-	-	-	-	-	-	+		
綿羊赤血球	綿羊赤血球溶解分	11	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	12	-	-	-	-	-	-	+		
	"	13	-	-	-	-	-	+	卅		

表 12 (D)

免疫抗原	試験管内抗原	家兎番号	補 体 単 位						対 照		
			2	4	6	8	10	12	A	C	S
綿羊赤血球	綿羊赤血球溶解分	16	-	-	-	-	-	-	卅	卅	
	"	17	-	-	-	-	-	+	卅		
	"	18	-	-	-	-	-	-			
犬 腎	犬 腎 溶 解 分	16	-	-	+	卅	卅	卅	卅		
	"	17	-	-	+	卅	卅	卅	卅		
	"	18	-	-	-	卅	卅	卅	卅		
馬 腎	馬 腎 溶 解 分	16	-	-	-	-	-	+	卅		
	"	17	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	18	-	-	-	-	-	+	卅		
山羊赤血球	山羊赤血球溶解分	16	-	-	-	-	-	-	卅		
	"	17	-	-	-	-	-	卅	卅		
	"	18	-	-	-	-	-	+	卅		

この抽出過程と活性分の移行とを表示すると第13表の如くである。

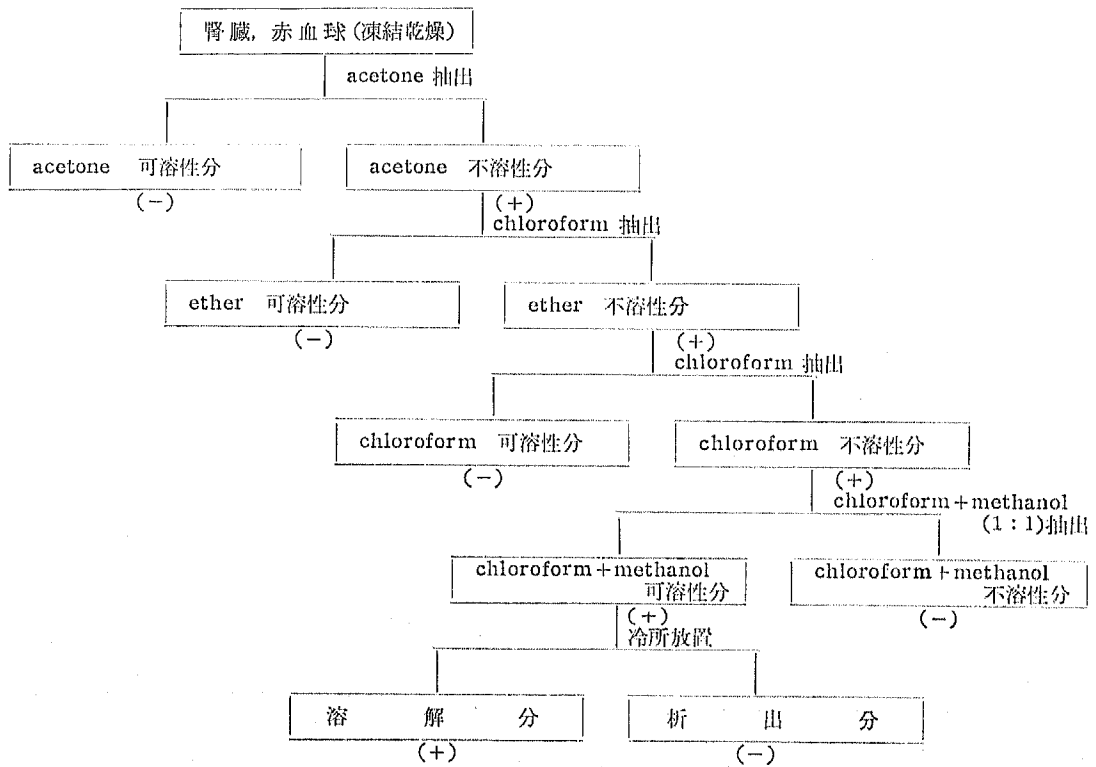
最後に得た抗原性活性を有する上清液を、乾燥して得たものにつき、種々の定性並びに定量反応を行い、次の結果(第14表、15表)を得た。

この活性物質の生理的食塩水懸濁液を、HClを加えて6Nとし、沸騰水浴中にて、3時間加熱、水解した後、NaOHにて中和し、その還元性を検すると、第16表の結果が得られる。

表14-16に見る如く、犬、馬腎及山羊血球中の所謂Forssman 抗原性物質は還元力を欠き、蛋白反応、Ninhydrin 反応を除く外は、全く陰性である。

且つ Salcowski, Liebermann-Burchard 反応も

表 13



(+): 抗原性あり
(-): 抗原性なし

表 14

画分	犬腎臓	馬腎臓	山羊赤血球	綿羊赤血球
立性反応				
Ninhydrin	±	±	±	±
Buired	-	-	-	-
Salkowski	±	±	-	-
Liebermann-Burchard	-	-	-	-
Cd Cl ₂	±	±	-	-
Molisch			±	±
Anthrone	-	-	-	-
Xanthoprotein	-	-	-	-
Millon	-	-	-	-
Hopkins-Cole	-	-	-	-
PbS	-	-	-	-

表 15

	犬腎臓	馬腎臓	山羊赤血球	綿羊赤血球
P (%)	2.06	1.86	0.44	2.37
N (%)	2.78	2.64	1.41	3.76
全脂酸 (%)	25.3	24.8	27.8	29.8
cholesterol (ester 及び遊離形)	0.0	0.0	0.0	0.0

表 16

	犬腎臓	馬腎臓	山羊赤血球	綿羊赤血球
Fehling	+	+	+	+
Nylander	+	+	±	±
Diphenyl	-	-	-	-
Feulgen	-	-	-	-

呈しない。

併し、之を塩酸⁺性に於て加熱加水分解すると、還元力が現れて来る。

犬腎及び山羊赤血球中の活性成分による家兎の免疫試験

犬腎組織、並びに山羊赤血球より、上記の方法によ

り分離した試験管内抗原性物質を以て、家兎を免疫し、綿羊赤血球に対する溶血素血清を得らるるや否やを実験した。

上記物質の少量を生理的食塩水に溶解し、0.5ml宛を以て、家兎を3回、1週間置きに耳静脈内注射によ

表 17

試 験 管 番 号	1	2	3	4	5	6	7	8
抗血清の稀釈倍数	0.25ml ×100	0.25ml ×200	0.25ml ×400	0.25ml ×800	0.25ml ×1000	0.25ml ×1600	0.25ml ×3200	
補 体 単 位	4	4	4	4	4	4	4	4
3% 綿羊赤血球	0.25ml	0.25ml	0.25ml	0.25ml	0.25ml	0.25ml	0.25ml	0.25ml
犬 腎	21	卅	卅	卅	卅	+	-	-
"	22	卅	卅	卅	+	±	-	-
山羊赤血球	31	卅	卅	+	+	-	-	-
"	32	卅	+	-	-	-	-	-

り免疫し、最後の注射より1週間目に採血、その綿羊血球に対する溶血価を検した。

その結果は第17表に示す。

この結果に見る如く、犬腎組織、及び山羊赤血球より、分離精製した所謂 Forssman 抗原性物質を以て家兎を免疫することにより Forssman 抗体、即ち対綿羊赤血球溶血素を生ぜしめることが明らかとなった。

この Forssman 抗原の化学的本態は上述の化学定性反応、及び定量反応では、まだ確立することは不可能であるが、諸種の蛋白反応の陰性、Liebermann-Burchard 及び Salkowski 反応の陰性、Molisch 反応の陽性、水解後に Fehling, Nylander 反応の陽性を呈すること等により、本物質は cerebroside に属するものと想像されるが的確なことは更に実験を要すると考える。

結 論

著者は犬腎臓、馬腎臓、山羊赤血球、及び綿羊赤血球を用いて、異性抗原の化学的研究を行い、該抗原の化学的本態究明の一助たらしめんとした。

実験の結果を要約すると次の如くである。

1) 家兎を犬腎、及び馬腎食塩水浸出液、並びに山羊赤血球を以て免疫し、強力な綿羊赤血球に対する溶血素血清を得、之等抗血清並びに綿羊赤血球を以て免疫した家兎溶血素血清に対し、血清反応を行う物質を、犬、馬腎、及び山羊、綿羊赤血球より分離精製した。即ち

- (a) 活性物質は之等組織の acetone 不溶解分に移行し、acetone 溶性画分には全く移行しない。
- (b) acetone 不溶画分を乾固し ether にて処理すると、活性物質は ether 不溶性画分のみ移る。
- (c) ether 不溶性画分を chloroform にて処理すると、活性物質はその不溶性画分に移行する。
- (d) (c)の活性画分を更に chloroform-methanol 混

合液(1:1)にて処理すると、活性物質はその可溶性画分に移行する。

(e) 活性物の chloroform-methanol 混合液溶液を氷室内に一夜放置すると、沈澱を生じ、その活性は沈澱には認められず、上清液にのみ認められる。

2) これ等の諸性質を利用して、上記組織より分離精製した活性物質を以て、家兎を免疫し、綿羊赤血球に対する溶血素血清を得た。

3) 此等の活性物質は Molisch 反応が僅かに陽性に出る外は、諸種の還元反応は陰性、又蛋白質の色彩反応も Ninhydrin 反応を除き、何れも陰性、Salkowski、及び Liebermann-Burchard 反応は陰性である。

定量実験結果は cholesterol 0.0全脂酸24.8~29.8(%)、N含有量1.41~3.76(%)、P0.44~2.37(%)である。

4) 活性物質を 6NHCl にて水解すると、還元性が出現する。

以上の諸性質により考えて、異性抗原の化学的本態は、未だ確実に之を決定することは不可能であるが、憐は未だ含有はされるが cerebroside なることが最も有力に考えられる。

文 献

Forssman, J.: Biochem. Z., 37: 78, 1911
 Meyer, K.: Biochem. Z., 72: 225, 1921
 Landsteiner, K. and Simms, S.: J. Exp. Med. 47: 127, 1923
 Fujimura, S.: J. Biochem., 32: 329, 1940
 Fujimura, S.: Acta Medica Nagasakiensia, 2: 129, 1941
 Naramoto, K.: Med. J. Shinshu Univ., 1: 97, 1956
 Sakakibara, I.: Med. J. Shinshu Univ., 4: 203, 1959