

原 著

腎臓組織の血清学的研究 (第二報)

昭和36年2月5日受付

信州大学医学部生化学教室

小林英之

Serological Studies on the Kidney Tissue
(The 2nd Report)

Hideyuki Kobayashi

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine,
Shinshu University

1903年 Uhlenhuth^①により、各種動物の眼球水晶体に動物種属の相異を越えて、共通な臓器血清学的特異性のあることが発表されて以来、その他種々の臓器にも臓器特異性のあることが報じられている。即ち Witebsky 及び Steinfeld^②は脳組織に同様の性質のあることを報じた。Rudy^③及び Sachs 及び Schwad^④は臓器特異性の発生はその内に含有される類脂体に帰因すると報じている。

更に腎臓、脾、副腎、及び甲状腺等に臓器特異性の認められることが、夫々堀江^⑤、井上^⑥、山口^⑦、及び小穴^⑧等によつて実験されている。

臓器特異性の原因について、横沢^⑨、及び横沢^⑩は脊髄及び脳髄を用いて実験を行い、此等は特異的な類脂体の存在によると報告し、水晶体 Crystallin 及び甲状腺等については夫々原^⑪、小穴^⑫がその蛋白質分子中に各種動物に比較的類似構造を有する polypeptid が含まれていることによると報告している。

著者は更にこの事実を確めんと欲し、前記堀江が行つた以外の動物につき腎臓組織の臓器特異性物質の化学的検索を行い次の如き結果を得た。

実験方法及び結果

抗腎臓組織血清の調製

実験動物として、牛、犬、及び山羊を用い屠殺所にて得た夫等の新鮮な腎臓を周囲の組織より分離し、生理的食塩水を以つて、灌流により組織内の血液を出来るだけ完全に流出する。

各々を小刀で細碎した後、硝子 homogenizer により冷却しつつ更に均一化する。

上記組織粥を10倍量の生理的食塩水により数時間浸出し、一夜氷室内に放置した後濾過する。

免疫には体重2kg 前後の成熟家兎を用いた。

腎臓組織浸出液に同量の Alminacream を加えたもの2cc 宛を家兎耳静脈に徐々に注射した。注射は10乃至12回に亘り、各注射の間には3乃至5日の間隔をおく。最後の注射より1週間目に採血を行い、抗体生成を検し、その一定度以上の強力なものについて更に全採血、血清を集めて保存し以後の実験に供した。

血液は凝固により血清を分離し、56°C、30分間の加熱により非働化し、血清反応に用いた。

血清反応は何れも、補体結合反応によつた。一列の試験管に0.5cc 宛の10倍稀釈抗血清と溶血防止下量の半量の腎臓組織浸出液とを取る。此等に2, 4, 6, 8, 10, 12 単位の補体血清を加えよく混合の後、37°C、1時間保存し、次いで各々に0.5cc 宛の3% 感作牛血球浮遊液を加え、時々振盪しつつ、37°C に保つた後、その溶血の度合を観察する。

補体単位は3%感作血球0.5cc を37°C に於いて1時間に完全に溶血させるに充分な海獣血清の最小量を以つて1単位と決めた。

以上表中にては、完全溶血の場合を(卅)、全く溶血しないものを(-)、にて表わし、その中間のものを夫々(卅)、(+), (±), 等の記号をもつて表わした。

各試験には抗体+補体(A+C)、抗血清+補体(S+C)のみの対照をおいた。

第1表に見る如く、犬、山羊、及び牛腎臓組織食塩水浸出液による家兎免疫にて強力な抗腎血清を得た。以後此等抗血清を用いて実験を行つた。

次に此等抗血清と異種動物の腎臓組織食塩水浸出液との血清反応を行つた結果を第2表に示す。

抗腎血清に対し、腎以外の諸臓器食塩水浸出液との血清反応を行い、第3表の如き結果を得た。

第1表 抗腎血清の補体結合反応

家 兔 番 号	抗 元	試験管内 抗 元	補 体 単 位						対 照	
			2	4	6	8	10	12	AC	SC
1	犬 腎	犬 腎	-	-	-	-	-	-	卅	卅
2	"	"	-	-	-	-	+	+	卅	卅
3	"	"	-	-	-	-	-	-	卅	卅
4	山羊腎	山羊腎	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	-	-	+	卅	卅
6	"	"	-	-	-	-	-	-	卅	卅
7	牛 腎	牛 腎	-	-	-	-	-	-	卅	卅
8	"	"	-	-	-	-	-	+	卅	卅
9	"	"	-	-	-	-	-	卅	卅	卅

第2表 抗腎血清の交叉補体結合反応

家 兔 番 号	抗 元	試験管内 抗 元	補 体 単 位						対 照	
			2	4	6	8	10	12	AC	SC
1	犬 腎	牛 腎	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
3	"	"	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
1	"	山羊腎	-	-	-	-	-	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
3	"	"	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
4	山羊腎	牛 腎	-	-	±	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
6	"	"	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
4	"	犬 腎	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
6	"	"	-	-	-	-	±	卅	卅	卅
7	牛 腎	"	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅
8	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
7	"	山羊腎	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅
8	"	"	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅

第2, 第3表に見る様に, 抗腎血清は同種或は異種動物の腎以外の臓器浸出液とは殆ど反応しないが, 異種動物の腎浸出液と明かに血清反応を示し, 臓器特異性のあることを知る。

臓器特異性物質の分離

腎組織に臓器特異性のあることを確かめたので, 各種動物の腎組織よりその臓器特異性物質を抽出し, それ等の各種動物間の化学構造上の類似性を明かにしようとしてみた。

第3表 抗腎血清と腎以外諸臓器浸出液との血清反応

家 兔 番 号	抗 元	試験管内 抗 元	補 体 単 位				対 照	
			2	4	6	8	AC	SC
1	犬 腎	牛 肝	+	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	牛 心	-	+	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	+	卅	卅	卅	卅
1	"	牛 脾	+	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	山羊肝	-	±	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	山羊心	-	+	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	山羊脾	+	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
4	山羊腎	犬 肝	-	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	+	卅	卅	卅	卅
4	"	犬 心	-	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	卅	卅	卅	卅	卅
4	"	犬 脾	-	+	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	+	卅	卅	卅	卅
4	"	牛 肝	卅	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	卅	卅	卅	卅	卅	卅
4	"	牛 心	±	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
4	"	牛 脾	+	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
7	牛 腎	犬 肝	±	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	犬 心	+	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	犬 脾	±	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	山羊肝	+	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	山羊心	±	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	+	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	山羊脾	卅	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	卅	卅	卅	卅	卅	卅

(1) Acetone 及び Ether による抽出

腎組織を3倍量の Acetone にて浸出し, 更に Acetone を代えて浸出, 之を3回反復し Acetone 不溶性残渣を更に Ether にて Soxlet 装置を用いて12時間浸した。Acetone, 並びに Ether 浸出液は夫々, 減圧低温に於て夫々蒸発乾固し, 少量の Alco-

hol を加えて溶解する。之等を生理的食塩水を以て急速に30倍に稀釈し、稀釈後30分乃至2時間の間に試験管内抗原として補体結合反応に用いる。

又、Acetone, Ether 不溶性残渣は Ether を完全に除去した後、30倍の生理的食塩水にて24時間浸出し濾液を得る。此等3分劃及び3分劃を等分に混合したものをを用い、抗腎血清と血清反応を試みたが、第4表にみる如く全く反応しなかつた。

おそらく、かかる化学的操作によつて抗原性物質が不活性化されたものと考えられる。

第4表 抗腎血清と腎組織各劃分との補体結合反応

家兎番号	抗原	試験管内抗原	補体単位			対照	
			2	4	6	AC	BC
1	犬腎	犬腎 Acetone 液浸出	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	犬腎 Ether 浸出液	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	犬腎水溶性液	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	3 劃分混合	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
4	山羊腎	山羊腎 Acetone 浸出液	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
4	"	山羊腎 Ether 浸出液	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
4	"	山羊腎水溶性液	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
4	"	3 劃分混合	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
7	牛腎	牛腎 Acetone 浸出液	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	牛腎 Ether 浸出液	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	牛腎水溶性液	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	3 劃分混合	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	卅	卅	卅	卅	卅

(2) 腎食塩水浸出液の (NH₄)₂ SO₄ による分劃

腎食塩水浸出液中の何れの蛋白分劃が臓器特異性物質を含むかを知るために之れを硫酸 Ammonium により分劃を行つた。

先ず、硫酸 Ammonium の 1/3 飽和により生ずる沈

澱 (Euglobulin) を集め、上清液に更に硫酸 Ammonium を 1/2 飽和濃度に加えて沈澱 (Pseudoglobulin) を上清 (Albumin) より分離し、3分劃を夫々 Colloidium 膜を以て透析し塩類を完全に除く。各分を食塩にて等張とした後、夫々抗腎血清に対して補体結合反応を行う。

第5表に示す結果を得た。

第5表 抗腎血清と Euglobulin 劃分との血清反応

(A)

家兎番号	抗原	試験管内抗原	補体単位						対照	
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
1	犬腎	犬腎 Euglob.	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
3	"	"	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
1	"	山羊腎 Euglob.	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
3	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	牛腎 Euglob.	-	-	+	+	卅	卅	卅	卅
3	"	"	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅

(B)

家兎番号	抗原	試験管内抗原	補体単位						対照	
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
4	山羊腎	山羊腎 Euglob.	-	-	-	-	±	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
4	"	犬腎 Euglob.	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	+	+	卅	卅	卅	卅
4	"	牛腎 Euglob.	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅

(C)

家兎番号	抗原	試験管内抗原	補体単位						対照	
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
7	牛腎	牛腎 Euglob.	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
7	"	犬腎 Euglob.	-	-	+	+	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
7	"	山羊腎 Euglob.	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅

第5~7表に示す如く腎食塩水浸出液中より、硫酸 Ammonium 分劃によつて得た Albumin 分劃は抗腎血清に対して全く血清反応を呈しない。

Pseudoglobulin 分劃は同種動物の抗腎血清とは

第6表 抗腎血清と Pseudoglobulin 分割との血清反応

(A)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照										
			2	4	6	8	10	12	AC	BC								
1	犬腎	犬腎 Pseudoglob.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	"	"	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	"	山羊腎 Pseudoglob.	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	"	牛腎 Pseudoglob.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	"	"	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(B)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照										
			2	4	6	8	10	12	AC	BC								
4	山羊腎	山羊腎 Pseudoglob.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	"	"	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	"	犬腎 Pseudoglob.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	"	牛腎 Pseudoglob.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(C)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照										
			2	4	6	8	10	12	AC	BC								
7	牛腎	牛腎 Pseudoglob.	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	"	"	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	"	犬腎 Pseudoglob.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	"	"	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	"	山羊腎 Pseudoglob.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

著明に血清反応を呈するが、異種動物の抗腎血清とは殆ど血清反応を呈しない。

Euglobulin 分割は、同種並びに異種動物の抗腎血清と著明な血清反応を呈する。

即ち、腎組織にみられる臓器特異性はその Euglobulin 分割に帰因すると考えられる。

Euglobulin 分割の臓器特異性物質の精製

Euglobulin 中の臓器特異性物質を成可く純粋な状態に得るため Alcohol による沈澱、酸による沈澱を試みた。

(1) Alcohol による沈澱

第7表 抗腎血清と Albumine 分割との血清反応

(A)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位			対照	
			2	4	6	AC	BC
1	犬腎	犬腎 Alb.	+	+	+	+	+
2	"	"	+	+	+	+	+
1	"	山羊腎 Alb.	+	+	+	+	+
2	"	"	+	+	+	+	+
1	"	牛腎 Alb.	+	+	+	+	+
2	"	"	+	+	+	+	+

(B)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位			対照	
			2	4	6	AC	BC
4	山羊腎	山羊腎 Alb.	+	+	+	+	+
5	"	"	+	+	+	+	+
4	"	犬腎 Alb.	+	+	+	+	+
5	"	"	+	+	+	+	+
4	"	牛腎 Alb.	+	+	+	+	+
5	"	"	+	+	+	+	+

(C)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位			対照	
			2	4	6	AC	BC
7	牛腎	牛腎 Alb.	+	+	+	+	+
9	"	"	+	+	+	+	+
7	"	犬腎 Alb.	+	+	+	+	+
9	"	"	+	+	+	+	+
7	"	山羊腎 Alb.	+	+	+	+	+
9	"	"	+	+	+	+	+

腎組織より得た Euglobulin 分割を3%の濃度に生理的食塩水に溶解し、-20°Cに冷却する。これに同量の予め-20°Cに冷却した純 Alcohol を少量宛、よく攪拌しつつ冷却下に加える。発生する沈澱を遠心沈澱によつて集め、冷却 50% Alcohol にて一回洗滌した後、沈澱及び上清液を迅速に減圧、低温下に Alcohol 分を除去する。前者は少量の生理的食塩に溶解し、各部分を抗元として血清反応を行う。

即ち Euglobulin 分割中の臓器特異性物質は Alcohol の50%濃度により完全に沈澱することを知らる。

(2) 酸による沈澱

腎組織 Euglobulin の生理的食塩水溶液に醋酸を滴

第8表 抗腎血清と Alcohol 沈澱分による血清反応

(A)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
1	犬腎	犬腎 Alcohol 沈澱	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	-	±	卅	卅	卅	卅
1	"	山羊腎 Alcohol 沈澱	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	±	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	牛腎 Alcohol 沈澱	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅

(B)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
4	山羊腎	山羊腎 Alcohol 沈澱	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
4	"	犬腎 Alcohol 沈澱	-	-	-	±	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	±	卅	卅	卅	卅
4	"	牛腎 Alcohol 沈澱	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅

(C)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
7	牛腎	牛腎 Alcohol 沈澱	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
7	"	犬腎 Alcohol 沈澱	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	山羊腎 Alcohol 沈澱	-	-	-	±	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅

第9表 抗腎血清と Alcohol 上清分の血清反応

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位			対照	
			2	4	6	AC	BC
1	犬腎	犬腎 Alcohol 上清	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
4	山羊腎	山羊腎 Alcohol 上清	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
7	牛腎	牛腎 Alcohol 上清	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	卅	卅	卅	卅	卅

下して、PH 2.0 とする。この時白色の沈澱が生ずる。之れを遠心沈澱によつて集め、3 回同酸性度の醋酸溶液で洗滌し、少量の生理的食塩水に溶解する。上清は稀 NaOH にて中和し、NaCl にて等張とした後抗腎血清に対して血清反応を行う。その結果は第10, 11表に示す。

即ち、Euglobulin 分割中の臓器特異性物質はその溶液を PH 2.0 にすることにより完全に沈澱する。

此等の操作は、臓器特異性物質の活性度を著しく減弱させることはないので、その精製に利用することが出来る。

第10表 抗腎血清と酸による (PH 2.0) 沈澱との血清反応

(A)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
1	犬腎	犬腎醋酸沈澱	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	-	-	±	卅	卅	卅
1	"	山羊腎醋酸沈澱	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	±	+	卅	卅	卅	卅
1	"	牛腎醋酸沈澱	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅

(B)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
4	山羊腎	山羊腎 PH2.0 沈澱	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
4	"	犬腎 PH2.0 沈澱	-	-	±	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
4	"	牛腎 PH2.0 沈澱	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅

(C)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
7	牛腎	牛腎 PH2.0 沈澱	-	-	-	+	+	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	-	-	卅	卅	卅
7	"	牛腎 PH2.0 沈澱	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	±	卅	卅	卅	卅	卅
7	"	山羊腎 PH2.0 沈澱	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
9	"	"	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅

第11表 抗腎血清と酸 (PH 2.0) による上清との血清反応

家兎番号	抗元	試験管内抗元	補体単位			対照	
			2	4	6	AC	BC
1	犬腎	犬腎 PH2.0 上清	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
4	山羊腎	山羊腎 PH2.0 上清	卅	卅	卅	卅	卅
5	"	"	卅	卅	卅	卅	卅
7	牛腎	牛腎 PH2.0 上清	卅	卅	卅	卅	卅
9	"	"	卅	卅	卅	卅	卅

臓器特異性物質の部分的水解

先きに本教室に於て、原、その他の実験者は、眼球水晶体、その他の臓器特異性についての研究に於て、臓器特異性物質を酸で加熱、不完全水解を行い、該抗血清と血清反応は起さないが、尚お抗体と抗血清との間の反応を阻止する作用のある物質を得た。これは阻止物質が血清反応を起さないまでも、抗体と結合して抗元が抗体と結合することを防ぐことによると考え、この阻止物質が臓器特異性物質であると想像した。

著者も亦この考えに基づき、腎組織 Euglobulin 分割より、Alcohol 沈澱、醋酸による沈澱を反復して精製した臓器特異性物質の不完全加水分解を試みた。

該物質の生理的食塩水溶液に同量の N/50 HCl を加え、煮沸水浴中にて加熱水解し、時々少量の内容を取り出し、N/50 NaOH にて中和し、抗腎血清との血清反応、及び、抗腎血清-臓器特異性物質血清反応に対する阻止作用を観察した。

阻止反応は、抗腎血清、及び不完全水解物との混合物を 37°C に 1 時間放置し、沈澱を生じた時は速に沈澱によりこれを除いた後、上清に臓器特異性物質及び補体とを加えて 37°C、1 時間保ち感作血球を加えて更に 37°C、1 時間保つた後、溶血度を検した。

第12、及び13表に示す如く、腎組織より抽出した臓器特異性物質の抗腎血清に対する抗元性は30乃至45分間の酸水解によつて消失する。

併し、尚お、抗腎血清と腎組織との血清反応を阻止する活性は残つていることを認められる。この阻止作用は同種動物の抗腎血清及び腎組織間の血清反応のみでなく、異種動物間のそれをも阻止する。

この阻止能力物質は、臓器特異性物質の分子内に於ける臓器特異的に作用する最小原子団と考えられる。

不完全水解物の化学的性質

阻止物質の化学的性質を検し、各種動物間のものの

第12表 抗腎血清と不完全水解物との血清反応 (A)

家兎番号	抗元	試験管内抗元	試験管内抗元時間 (分)	補体単位					対照		
				2	4	6	8	10	12	AC	SC
1	犬腎	犬腎	0	-	-	-	-	-	+	卅	卅
1	"	"	10	-	-	-	+	+	卅	卅	卅
1	"	"	20	-	+	+	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	30	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	45	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	60	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	犬腎	0	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
2	"	"	10	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	20	-	+	+	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	30	-	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	45	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	60	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	犬腎	山羊腎	0	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅
1	"	"	10	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	20	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	30	-	±	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	45	±	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	60	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	山羊腎	0	-	-	-	-	+	卅	卅	卅
2	"	"	10	-	-	±	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	20	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	30	-	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	45	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	60	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	犬腎	牛腎	0	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
1	"	"	10	-	-	+	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	20	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	30	±	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	45	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
1	"	"	60	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	牛腎	0	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅
2	"	"	10	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	20	-	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	30	±	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	45	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2	"	"	60	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

比較を行うため、30乃至45分間加水分解して僅かに阻止反応を有するものに三塩素醋酸を5%濃度を加え、発生する沈澱を集めて少量の水に溶解して透析を行い、これに塩酸を加えて PH 2.0 として生ずる沈澱を少量の水に溶解し、更に -5°C に於て同量の冷純 Alcohol を加えて沈澱を集め、速かに Alcohol を蒸発

(B)

家兎番号	抗原	試験管内及間 元水時(分)	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
4	山羊腎	0	-	-	-	-	++	++	++	++
4	"	10	-	-	++	++	++	++	++	++
4	"	20	-	±	++	++	++	++	++	++
4	"	30	-	++	++	++	++	++	++	++
4	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
4	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++
4	"	犬腎	0	-	-	-	+ ++	++	++	++
4	"	10	-	-	+	++	++	++	++	++
4	"	20	-	+	++	++	++	++	++	++
4	"	30	-	++	++	++	++	++	++	++
4	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
4	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++
4	"	牛腎	0	-	-	-	+ ++	++	++	++
4	"	10	-	-	±	++	++	++	++	++
4	"	20	-	-	++	++	++	++	++	++
4	"	30	-	++	++	++	++	++	++	++
4	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
4	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++

除去する。このもの水溶液は Biuret 反応を呈し、Peptid であることが察せられる。これ等の Amino 酸組織を Paperchromatography により測定比較した。

不完全水解物の水溶液を 6N 塩酸中にて加熱し Biuret 反応が完全に消失するまで水解を行う。何れも 36 乃至 45 時間を要した。塩酸を減圧の下で蒸発除去し、Butanol-醋酸-水 (4: 1: 2) 及び Phenol 水を用い、developor として、二次元の Paparchromatography を行い、0.1% Ninhydrin butanol 溶液を用いた。

その結果を図 1~3 に示す。

即ち、各種動物の精製活性物質は比較的少数の且つ共通の Amino 酸より成っていることが分る。

尚お、各精製活性物質を完全水解を施す前に同様の方法により Paperchromatogramm にて検すると何れも一つの Spot を得て、これ等が単一の物質であることを知った。

結 論

著者は、犬、山羊、及び牛腎臓組織の臓器特異性について、化学的検索を行い次の結論を得た。

1). 家兎を腎臓組織食塩水浸出液にて免疫を行い、強力な抗血清を得た。

此の抗腎血清は同種動物のみならず、異種動物の

(C)

家兎番号	抗原	試験管内及間 元水時(分)	補体単位					対照		
			2	4	6	8	10	12	AC	BC
7	牛腎	0	-	-	-	-	-	++	++	++
7	"	10	-	-	±	+	++	++	++	++
7	"	20	-	-	+	++	++	++	++	++
7	"	30	-	++	++	++	++	++	++	++
7	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
7	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++
9	"	牛腎	0	-	-	-	+ ++	++	++	++
9	"	10	-	-	-	±	++	++	++	++
9	"	20	-	-	±	++	++	++	++	++
9	"	30	-	+	++	++	++	++	++	++
9	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
9	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++
7	"	犬腎	0	-	-	-	++	++	++	++
7	"	10	-	-	++	++	++	++	++	++
7	"	20	-	±	++	++	++	++	++	++
7	"	30	+	++	++	++	++	++	++	++
7	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
7	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++
9	"	犬腎	0	-	-	-	+ +	++	++	++
9	"	10	-	-	±	++	++	++	++	++
9	"	20	-	+	++	++	++	++	++	++
9	"	30	±	++	++	++	++	++	++	++
9	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
9	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++
7	"	山羊腎	0	-	-	-	+ ++	++	++	++
7	"	10	-	-	++	++	++	++	++	++
7	"	20	-	±	++	++	++	++	++	++
7	"	30	++	++	++	++	++	++	++	++
7	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
9	"	山羊腎	0	-	-	-	± ++	++	++	++
9	"	10	-	-	++	++	++	++	++	++
9	"	20	-	+	++	++	++	++	++	++
9	"	30	±	++	++	++	++	++	++	++
9	"	45	++	++	++	++	++	++	++	++
9	"	60	++	++	++	++	++	++	++	++

腎浸出液ともよく血清反応をおこす。尚お、該抗血清は腎以外の臓器浸出液とは殆ど反応しない。

即ち、腎組織は臓器特異性のあることを確めた。

2). 腎組織浸出液を硫酸 Ammonium 分割法によつて、Albumin、Pseudoglobulin、及び Euglobulin に分かつと、Albumin は抗腎血清とは全く作用しない。Pseudoglobulin は同種動物の抗腎血清とはよく

第13表 不完全水解物による阻止反応

(A)

家兎番号	抗元	阻止物質 水解時間 (分)	試験管内 抗元	補体単位		
				2	4	6
1	犬腎	犬腎 0	牛腎	卅	卅	卅
1	"	10	"	卅	卅	卅
1	"	20	"	卅	卅	卅
1	"	30	"	卅	卅	卅
1	"	45	"	±	卅	卅
1	"	60	"	-	卅	卅
5	山羊腎	山羊腎 0	山羊腎	卅	卅	卅
5	"	10	"	卅	卅	卅
5	"	20	"	卅	卅	卅
5	"	30	"	卅	卅	卅
5	"	45	"	±	卅	卅
5	"	60	"	-	卅	卅
9	牛腎	牛腎 0	牛腎	卅	卅	卅
9	"	10	"	卅	卅	卅
9	"	20	"	卅	卅	卅
9	"	30	"	卅	卅	卅
9	"	45	"	-	+	卅
9	"	60	"	-	±	卅

(B)

家兎番号	抗元	阻止物質 水解時間 (分)	試験管内 抗元	補体単位		
				2	4	9
1	犬腎	山羊腎 0	犬腎	卅	卅	卅
1	"	10	"	卅	卅	卅
1	"	20	"	卅	卅	卅
1	"	30	"	卅	卅	卅
1	"	45	"	+	卅	卅
1	"	60	"	-	±	卅
1	"	牛腎 0	"	卅	卅	卅
1	"	10	"	卅	卅	卅
1	"	20	"	卅	卅	卅
1	"	30	"	卅	卅	卅
1	"	45	"	±	卅	卅
1	"	60	"	-	+	卅
5	山羊腎	犬腎 0	山羊腎	卅	卅	卅
5	"	10	"	卅	卅	卅
5	"	20	"	卅	卅	卅
5	"	30	"	卅	卅	卅
5	"	45	"	±	卅	卅
5	"	60	"	-	+	卅
5	"	牛腎 0	牛腎	卅	卅	卅
5	"	10	"	卅	卅	卅
5	"	20	"	卅	卅	卅
5	"	30	"	卅	卅	卅
5	"	45	"	±	卅	卅
5	"	60	"	-	±	卅
9	牛腎	犬腎 0	"	卅	卅	卅
9	"	10	"	卅	卅	卅
9	"	20	"	卅	卅	卅
9	"	30	"	卅	卅	卅
9	"	45	"	±	卅	卅
9	"	60	"	-	±	卅
9	"	山羊腎 0	"	卅	卅	卅
9	"	10	"	卅	卅	卅
9	"	20	"	卅	卅	卅
9	"	30	"	卅	卅	卅
9	"	45	"	卅	卅	卅
9	"	60	"	±	卅	卅

反応するが、異種動物のものとは、僅かに反応するに過ぎない。

Euglobulin は同種のみならず異種動物の抗腎血清と明きらかに血清反応を示す。

即ち、臓器特異性は Euglobulin に帰因することが分かる。

3). 腎組織の Euglobulin 分割の水溶液より活性物質は Alcohol の50%濃度、或は PH 2.0 に於て沈澱する。

4). 活性物質は不完全酸加水分解を行うと、抗腎血清と血清反応は行わないが、抗腎血清と腎浸出液との血清反応を阻止する物質が得られる。これは動物種族の相異を越えて作用する。これは Biuret 反応を呈する。これが Euglobulin に臓器特異性を与えるものと考へ、これの Amino 酸組成を比較検討し夫々共通の且つ比較的少数の Amino 酸より成るものであることを知つた。

参考文献

①Uhlenhuth, H.: Vorschrift für R. Koch, G. Fischer, Jena, 1903 ②Witebsky und Steinfeld: Zeitschr. für Imm. forsch., 58, 1928.
③Rudy: Biochem. Zeitschr, 77, 1937 ④Sachs

und Schwab: Sweiz. Med. Wochenschr., 16, 1935
⑤S. Horie: Med. Jour. Shinshu Univ. 5, 1960
⑥N. Jnoe: ibid, 4, 1959 ⑦Yomaguchi A.: ibid, 4, 1959 ⑧Oana M.: ibid, 4, 1959
⑨Yokozaw Y.: ibid, 2, 1957 ⑩Yokozawo Y.: ibid, 1, 1956 ⑪Hara T.: J. of Biochem, 43, 1956.

Fig. I 犬 腎

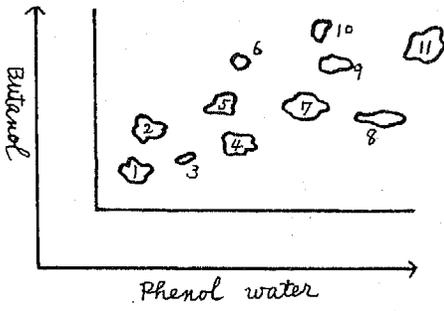


Fig. III 牛 腎

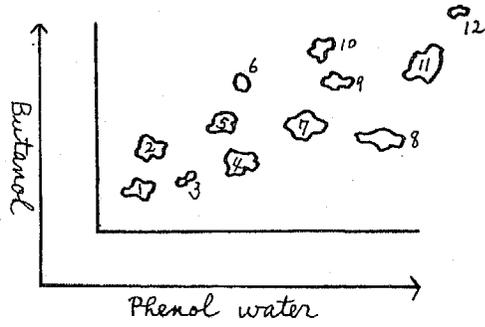
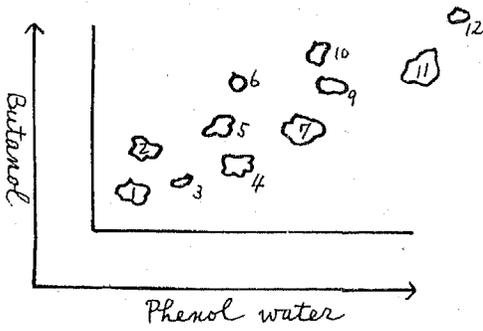


Fig. II 山羊 腎



- 1. Asparagin 酸
- 2. Glutamin 酸
- 3. Serine
- 4. Glycine
- 5. Threonine
- 6. Cystine
- 7. Alanine
- 8. Arginine
- 9. Tyrosine
- 10. Valine
- 11. Phenylalanine
- 12. Leucine