

病的人尿ムコイドの免疫血清学的研究

I. ポーラログラフイー濾液反応の推移と 尿ムコイドの特異性について

鎌 田 剛

札幌医科大学内科学教室 (指導 滝本教授・和田教授)

Serological Studies on the Pathological Urine Mucoïd

I. On the Relation Between the Transitions of Polarographic Filtrate Reaction and the Specificity of Urine Mucoïd

By

TAKESHI KAMADA

Department of Internal Medicine, Sapporo University of Medicine
(Directed by Prof. S. TAKIMOTO & Prof. T. WADA)

人尿ムコイド(以下MCと省略)の生物学的意義についての研究としては、さきにGottschalk¹⁾, Tamm²⁾等によって血球凝集反応抑制効果等に関する報告があり、また後述の如く教室における発表があるが、これを同時に血清学的に研究したものとしては、上野(1937)³⁾が人尿MCを用いて血液型特異的凝集阻止物質並びにA型及びB型人尿MC中にF氏抗原物質の存在を認め、且つこれ等の特性は加水分解により破壊され、尿MC家兎免疫によつては殆ど凝集素の産生を見ず、ただA型またはAB型尿MC免疫によつて僅かながら綿羊溶血素の産生を見た報告した。

次いで芳賀⁴⁾はこれを追試確認したが、この際人尿MC免疫によつて型的凝集素の産生は認めたが、MC沈降素の産生は見なかつたと報告している。

最近にいたり奥山⁵⁾はアルミナクリーム法⁶⁾による強力な免疫方法によつて得た尿MC抗血清についての実験の結果、型的凝集素の産生を見なかつたといひ、これについて上野、奥山等は人尿MC中の型物質は生体内抗原性がなく即ちHaptenであると説明している。

また奥山は尿MCの型に無関係な、即ち共通的な構造部分に対する沈降素の産生にも成功している。

教室においては、ここ数年来ポーラログラフイー(以下ポと省略)による癌反応、特にその濾液反応を研究し、幾多の成果を発表してきたが、その濾液反応の本態をなすものはMucoprotein(以下MPと省略)或いはMucoïdと密接な関係があり、これが癌及び炎症性疾患とに大体共通した成績を示すことは教室の柴田⁷⁾、佐藤(良)⁸⁾が追試し、

Winzler^{9),10)}, Waldschmidt-Leitz¹¹⁾等と同様の結果を得ている。

一方かかるMPないしMC体の有する生物学的意義はなお詳らかではないが、癌或いは炎症性疾患のそれぞれに増生ないしは病的産生されるかかかる物質は、少なくとも生理的の形のものとは何等かの形で差異を有するであろう、との推測がもたれるのである。事実Greenstein¹²⁾はその可能性を推論しているが、現在までこの点に関する実証は殆ど行われていない。比較的古典的な実験として僅かにRimington¹³⁾をはじめ2,3のMCの特異性に関する研究があるのみである。

私はさきに東¹⁴⁾との共同実験において、癌尿及び炎症尿MC間の特異性に関する研究を上述の上野、奥山の方法に従つて免疫血清学的に実験し、大体つぎのような結論を得た。即ち

1) 人尿MCのアルミナクリーム吸着による免疫方法によりMC部分に対する沈降素の産生を確認した。

2) 人癌尿MC、炎症尿MC及び正常尿MC間には免疫血清学的に幾分の差異を認めた。

ここにおいて私はさらにこの実験を展開し、血清蛋白質の組成が病的に著明な変動を示す種々の病的状態の尿MC間に特異性の変化が認められはしないか、と考へて本実験を試みた次第である。今回は先ず血清が濾液反応の陽性時の尿MCとして結核性肋膜炎患者について研究を行い、経過に伴つて、これが陰性化した際の尿MCとの間に免疫血清学的実験を試みたのでこれを発表したい。

実験方法

1) 尿 MC の抽出方法： 既述の如く上野氏法に従つて抽出した。即ち蓄尿せる尿をセロファン紙に包み流水中に約一昼夜透析し、その内容を約 1/50 量に蒸発濃縮し、これを濾過した。濾液に 6 倍量の純アルコールを加え、一夜氷室に静置する。翌日上静を傾けて遠心分離 (3,000 回転 10 分間) し、その沈澱を少量の蒸溜水に溶かし、これを濾過し、濾液に 6 倍量の純アルコールを加え、再び氷室に一夜静置する。このことをさらに 2 回繰返し最後の沈澱を乾燥する。

2) 対象： は血清が濾液反応陽性の湿性肋膜炎患者であり、この尿 MC を以下炎症尿 MC と呼称する。さらに同患者の陰性化した時期の尿 MC を別個に抽出し、これを以下炎症治癒尿 MC と呼称した。

3) 免疫方法： 2% 尿 MC 10 cc を等量の水酸化アルミニウムと混和し、これに食塩を加えて等張とし、成熟家兎大骨筋肉内に 2 日間隔で 5~6 回注射する。

4) 沈降素価及び沈降素量の測定： 沈降素価は得たる抗血清原液に前記抗原を生理的食塩水で階段稀釈したものを重畳し、3~5 時間後の結果までの成績を記載した (抗原価)。沈降素量の測定は抗血清を 2% アラビヤゴム食塩水で階段稀釈し、そのおのおのに対し前記の沈降素価の測定を行い、陽性を示す抗血清の最高稀釈を以て沈降素量とした (抗体価)。

5) 吸収試験： Dean & Webb¹⁵⁾ の最適比を考慮し、吸収すべき抗原に対する抗原価と抗体価より最適比を算出して (最適比 = $\frac{\text{抗原価}}{\text{抗体価}}$) 吸収試験を行った。

実験成績

I. 抗人炎症尿 MC 家兎血清並びに抗人炎症治癒尿 MC 家兎血清についての吸収成績。

上述の方法で作製した抗血清は抗原のみならず、人血清とも反応するのでそれぞれの最適比を求めて AB 型血清により吸収試験を行い、人血清と最早や反応しない抗人炎症尿 MC 及び抗人炎症治癒尿 MC 抗血清を得た。

第 1 表 炎症尿 MC (ポ波陽性時) 並びに炎症治癒尿 MC (ポ波陰性時) についての成績 (吸収前)

抗 原	抗 血 清	
	抗炎症尿 MC 家兎血清	抗炎症治癒尿 MC 家兎血清
炎 症 尿 MC	5,000×16	
炎症治癒尿 MC		2,000×8
人 血 清	5,000×8	5,000×4

第 2 表 炎症尿 MC 並びに炎症治癒尿 MC 各抗血清についての吸収成績

抗 血 清	抗炎症尿 MC 家兎血清	抗炎症治癒尿 MC 家兎血清
	吸 収 抗 原	
抗 原	200×人血清	500×人血清
炎 症 尿 MC	2,000×8	
炎症治癒尿 MC		2,000×4
人 血 清	0	0

即ち第 1 表の如く、抗人炎症尿 MC 抗血清は炎症尿 MC との間に 5,000×16 の値を示すが、人血清とも 5,000×8 と反応するので、200 倍人血清で吸収した結果、第 2 表の如く主反応たる炎症尿 MC とは 2,000×8 であるが、最早や人血清とは反応しなかつた。

抗人炎症治癒尿 MC 抗血清値も 2,000×8 を示すが、同時に入血清と 5,000×4 と反応するので、500 倍人血清で吸収した結果、主反応たる炎症治癒尿 MC とは 2,000×4 であるが人血清とは同様全く反応しなかつた。以上の如く吸収試験を行った後、これ等の抗血清について以下の如く実験を行った。

第 3 表 吸収後抗血清による交叉反応成績

抗 血 清	抗炎症尿 MC 家兎血清	抗炎症治癒尿 MC 家兎血清
	吸 収 抗 原	
抗 原	200×人血清	500×人血清
炎 症 尿 MC	2,000×8	1,000×2
炎症治癒尿 MC	500×2	2,000×4
人 血 清	0	0

II. 吸収後抗血清による交叉沈降反応成績。

抗人炎症尿 MC 家兎血清に対して主反応である、人炎症尿 MC は第 3 表の如く 2,000×8 を示し、その抗体価は 8 であるが、同時にこれを人炎症治癒尿 MC についてみると、500×2 で抗体価は 2 を示すにすぎない。

またこれを抗人炎症治癒尿 MC 家兎血清についてみると主反応たる人炎症治癒尿 MC は 2,000×4 で、抗体価 4 であるに反し、人炎症尿 MC は 1,000×2 を示しその抗体価は 2 であり、両者間に差異があることが認められる。

総括並びに考按

以上の成績を綜括すると、人尿 MC 分解を用いて家兎を免疫し、前回と同様沈降素の産生を再確認することが出来た。

この点については緒論においても述べたように奥山、上

野の見解に全く一致するものである。また同時にかくして得た抗血清は人血清に対してもかなり強く仿らきかける性質をもち、この場合の抗原である尿 MC 分層が人血清との間に緊密な関連性ある性格のものであることが分る。

本実験においては、抗人尿 MC 家兔血清の吸収試験には、AB 型人血清を用い、Dean & Wbb の最適比を算出応用して所期の目的を達することが出来た。即ち人血清とは全く反応することなく、抗原に対してのみ特異的に作用する部分を残すことに成功した。

血清が濾液反応の陽性時尿 MC は、健康尿 MC に比較して割合抗原性が強い。

今回までの実験では同一条件で抽出した MC の 2% 水溶液を一律に用いたものであるが、抗体価は常に病的尿 MC の場合の方が比較的高い値を示した。この傾向は勿論、人血清による吸収前後何れの沈降反応でも同様に認められた。これは若山¹⁶⁾の実験で病的(反応陽性の意味)尿 MC は、健康尿 MC に比べて含 N 量が少しく多い傾向を示したが、あえて推論すれば、この事実との間に一応が活性物質の尿 MC 分層中への移行として考えられはしまいか。

同一人における血清が反応陽性時尿 MC と陰性化した際の尿 MC 間には交叉試験上明らかにそれぞれ特異的に高い沈降価が認められる。即ち同一人についてみた病的尿 MC と正常健康状態に復帰した際の尿 MC との間には、免疫血清学的に差異を推論せざるを得ない。

東との共同実験においては、癌及び炎症性疾患で、反応陽性時のそれぞれの尿 MC 間に特異性を認め、同時にこれらは健康尿 MC との間にもまたそれぞれ異なつた態度が認められることを既報した。今回の成績によつて私は、同一個体の尿 MC について反応の態度に応じて、これもまた相違のあることを見出した。

このことは血清 MC 或は MP の増量が必ずしも生理的組成の増加によるものでなく、病的状態に応じてかなり多様な構造組成の誘導蛋白質として新たに産生されるといふ、これまでの見解に一致するものと考えらる。

しかし勿論尿 MC が血清が活性物質との間にどの程度まで関連を保つかについてはまだ充分明らかではないので、今後の実験によつて解明しなければならない。

緒 論

以上の実験成績より尿 MC アルミナクリーム吸着による免疫方法により MC 部分に対する沈降素の産生を再確認するとともに、同一人、同一疾患時(湿性肋膜炎)に於いて血清が波陽性時と陰性時尿 MC 間に免疫血清学的に差異のあることを認めた。

(昭和 30. 8. 22 受付)

文 献

- 1) Gottschalk, A.: Nature 167, 845 (1951).
- 2) Tamm, I. et al.: J. Exp. Med. 95, 71 (1952).
- 3) 上野: 犯罪学雑誌 11, 437 (昭 12).
- 4) 芳賀: 東北医誌 25, 377 (昭 14).
- 5) 奥山: 北海道医誌 28, 385 (昭 28).
- 6) 緒方・中里・島田: 血清学免疫学雑誌 2, 31 (昭 16).
- 7) 柴田: 札幌医誌 4, 253 (昭 28).
- 8) 佐藤(良)・柴田: 札幌医誌 4, 359 (昭 28).
- 9) Winzler, R. J. & Burk, D.: J. Nat. Cancer Inst. 4, 417 (1944).
- 10) Winzler, R. J. et al.: J. Clin. Invest. 27, 609, 617 (1948).
- 11) Waldschmidt-Leitz, E.: Angew. Chem. 51, 324 (1938).
- 12) Greenstein: Zit. n. Biochemistry of Cancer. 328, (N. Y., 1954).
- 13) Rimington & Van der Erde: Zit. n. Advances Prot. Chem. 2, 249 (1945).
- 14) 東・鎌田: 札幌医誌 4, 355 (昭 28).
- 15) Dean, H. R. & Webb, R. A.: J. Path. Bact. 29, 473 (1926).
- 16) 若山: 札幌医誌 7, 366 (昭 30).

Summary

In the previous paper the author reported the production of anti-mucoid precipitin in the anti-sera of rabbits, obtained by injection with urinemucoïd which was obtained from cancerous or inflammatory subjects and adsorbed with aluminum hydroxide. It was also noted that there were serological differences among the mucoids, according to their sources, i.e. cancer, inflammation, and normal. The present paper deals with extractions of urinemucoïd from patients with tuberculous pleurisy; from each of the patients two extractions were made according to the results of serum polarographic filtrate reaction: first when the filtrate test was positive, and second when the disease was cured and the test turned negative. Serological studies on these mucoids revealed that there were serological differences between the said two groups of mucoids. In addition, the production of precipitin against mucoid fraction was reconfirmed with the above experiments.

(Received Aug. 22, 1955)