

ヒト胎児血清グロブリン中に含有する 特異蛋白に関する研究

岡山大学医学部法医学教室 (主任: 三上芳雄教授)

三 好 義 則
落 合 義 幸

〔昭和 34 年 3 月 2 日受稿〕

緒 言

平瀬¹⁾はさきにヒト胎児 (以下胎児と略す) 血清には成人血清 (以下ヒト血清と略す) に含有しない特異蛋白の存在することを胎児血清の免疫学的研究において発表し, 該特異蛋白は楠元²⁾ および尾辻³⁾, 鳥丸⁴⁾ の成績から胎児のみならず胎盤ならびに羊水, 妊婦血清中にも含有することが証明され, その性状

は共通するものであり, その産生は胎盤にもとづくものであらうと思われた。著者らはその後該特異蛋白の性状に関する研究を企図したが, これにさきだち胎児血清ならびに胎児血清蛋白分割の血清免疫学的研究をおこない, さらに該特異蛋白が蛋白分割のいずれの部分に存在するかについて追試研究したので報告する。

第 I 編 ヒト胎児血清およびヒト胎児血清蛋白分割の 沈降素産生について

平瀬¹⁾は各月令別胎児血清ならびに胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミンを抗原とした抗血清について免疫学的研究をおこない, 胎児血清ならびに胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミンによる沈降素の産生をみると, 胎児血清は10回注射をもつてはじめて沈降素価10,000以上の抗血清が得られ, ヒト血清にくらべて抗原性がよわいものごとく思考し, 胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミンは5回注射においてすでに沈降素価10,000以上の抗血清が得られ, 胎児血清を免疫抗原とした場合にくらべると沈降素産生はより容易であり, かつ沈降素価たかく沈降素量のひくい抗血清をうることができたとのべている。また胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミンの抗原性については, アルブミン分割はグロブリン分割にくらべてなんらの遜色はみとめられず, 沈降素量および副反応を比較すると沈降素量はつねにひくく, 副反応もまたきわめて軽微で種属特異性がたかいと報告した。著者らはその後該特異蛋白の性状に関する研究を企図したが, これにさきだち胎児血清ならびに胎児血清蛋白分割の血清免疫学的研究をおこなった。

実験材料ならびに実験方法

A. 実験材料

1) 抗 原

免疫抗原としては7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清, 混合胎児血清グロブリンおよびアルブミンを使用し, 試験管内反応抗原としてはヒト血清および胎児血清ならびにウシ, ブタ血清を使用した。胎児血清は早期破水その他原因不明の流早産または心, 腎, 肺臓などの疾患のため人工妊娠中絶を施行した胎児および10ヶ月死産児の心臓穿刺により血液を採取し, 採血にあたっては溶血せざるように細心の注意を払い, 血清を分離して0.5%のわりに石炭酸をくわえて氷室に保存した。

2) 分割方法

分割方法は Hektoen & Cole 法を改変した緒方の方法にならい, かつ各分割の沈澱度を厳密に考慮し, その境界濃度にまたがる移行部はすて, 胎児血清に破酸安門をくわえることにより分割し, 粉末として褐色瓶に密栓保存したものを使用した。各分割は1%の生理食塩水溶液となし, 0.5%の割合に石

炭酸をくわえて氷室に保存した。

B. 実験方法

免疫方法は健常成熟ウサギを使用し、使用前予備実験として沈降素産生なきことをたしかめ、胎児血清は1回2cc、胎児血清グロブリンおよびアルブミンは1%溶液2ccを耳静脈内に2日間隔をもつて5および10回反覆注射して最終注射日から7~10日目に全採血して血清を分離し、型のごとく非働化した後0.5%のわりに石炭酸をくわえて氷室に保存した。

沈降素測定術式は当教室慣用にしがたい、抗原重層法により沈降素価および沈降素量の測定をおこなった。抗原はいずれもMerck食塩より作製した生理的食塩水をもつて稀釈したものを使用した。抗血清稀釈には1.5%アラビアゴム溶液を使用し、反応はすべて室温において施行した。判定は抗原重層後15分後に沈降反応陽性のもを(卅)、30分を(卍)、60分を(+)をもつてあらわし、2時間を経過するも陰性なものは(-)をもつてあらわした。また対照の記載はすべて省略した。なおウサギ是一群3頭をもつてしたが成績は簡略のため類似成績を示すものはその代表的なものをもつて表示説明した。

実験成績

1. 胎児血清による沈降素産生

7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清をもつてウサギに5および10回注射した抗血清についてヒト血清、胎児血清、ウシ血清およびブタ血清にたいする沈降素価、沈降素量および副反応の発生状態を検査した成績は表1のごとくである。

すなわち、7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清をもつてウサギを免疫すると、5回注射ではヒト血清にたいしては沈降素価4,000~8,000、沈降素量40~80であり、胎児血清にたいしては沈降素価4,000~8,000、沈降素量40~80であり、副反応はウシ血清にたいし沈降素価100~1,000、ブタ血清に沈降素価100~1,000に反応した。10回注射ではヒト血清にたいしては沈降素価20,000、沈降素量80~160であり、胎児血清にたいしては沈降素価20,000、沈降素量80~160であり、ウシ血清にたいしては沈降素価1,000~4,000、ブタ血清に沈降素価500~2,000に反応した。

2. ヒト胎児血清グロブリンによる沈降素産生

7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清グロブリン1%溶液をもつてウサギに5および10回注射して得

た抗血清について沈降素価、沈降素量および副反応の発生状態を検査した成績は表2のごとくである。

すなわち、7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清グロブリン1%溶液をもつてウサギを免疫すると、5回注射ではヒト血清にたいしては沈降素価20,000~40,000、沈降素量20~40であり、胎児血清にたいしては沈降素価8,000~10,000、沈降素量20であり、ウシ血清にたいしては沈降素価500~2,000、ブタ血清にたいしては沈降素価100~1,000に反応した。10回注射ではヒト血清にたいしては沈降素価20,000~40,000、沈降素量40であり、胎児血清にたいしては沈降素価10,000~20,000、沈降素量40であり、ウシ血清にたいしては沈降素価4,000、ブタ血清にたいしては沈降素価2,000に反応した。

3. ヒト胎児血清アルブミンによる沈降素産生

7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清アルブミン1%溶液をもつてウサギに5および10回注射して得た抗血清について沈降素価、沈降素量および副反応の発生状態を検査した成績は表3のごとくである。

すなわち、7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清アルブミン1%溶液をもつてウサギを免疫すると、5回注射ではヒト血清にたいしては沈降素価20,000~40,000、沈降素量20~40であり、胎児血清にたいしては沈降素価8,000~10,000、沈降素量20であり、ウシ血清にたいしては沈降素価100~500、ブタ血清にたいしては沈降素価50~500に反応した。10回注射でヒト血清にたいしては沈降素価20,000~40,000、沈降素量20~40であり、胎児血清にたいしては沈降素価8,000~20,000、沈降素量20~40であり、ウシ血清にたいしては沈降素価1,000、ブタ血清にたいしては沈降素価500に反応した。

小括

7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清、混合胎児血清グロブリンおよびアルブミンを免疫抗原としてウサギに5および10回注射して得た抗血清について沈降素価、沈降素量および非特異性副反応の産生状態を検査した成績を小括するとつぎのごとくである。

1) 胎児血清を抗原として5回注射においてはいまだ高価な沈降素は産生されないが、10回注射によりヒト血清にたいして沈降素価20,000の高価な抗血清が得られ、沈降素量はなお80~160でひくい。またヒト血清ならびに胎児血清にたいする反応強度は幾分胎児血清において劣弱のごとくであつたが、顕

著な差異はみとめがたい。またウシおよびブタ血清にたいする副反応は一般にみとめられているごとく、注射回数増加にともなつて増強の傾向がみとめられた。

2) 胎児血清グロブリンおよびアルブミンを抗原とした場合にはヒト血清にたいしてすでに5回注射において沈降素価20,000~40,000, 沈降素量20~40であつて、また10回注射においても沈降素量は20~40で沈降素価のたかい、沈降素量のひくい抗血清が得られた。またヒト血清ならびに胎児血清にたいする反応強度は、胎児血清にたいしてはヒト血清にた

いするよりもよわい反応を示した。

3) 胎児血清グロブリンおよびアルブミンの抗原性についてはほとんど優劣の差はみとめられず、とくにアルブミン分割の抗原性についてはグロブリン分割のそれにくらべてなら遜色はみとめられなかつた。

4) 胎児血清グロブリンおよびアルブミンを抗原とした抗血清について沈降素量および副反応の発生状態についてみると、抗アルブミン血清の沈降素量は抗グロブリン血清のそれにくらべてひくく、また副反応も抗アルブミン血清において軽微であつた。

第Ⅱ編 胎児血清蛋白分割中に含有する特異蛋白について

平瀬¹⁾は抗胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミン家兔免疫血清をヒト血清で吸収した結果、両抗血清ともになお胎児血清に反応する特異抗体の残存をみとめ、このことから該特異蛋白部分は血清蛋白両分割中に平等に存するものと思つた。著者らはその後該特異蛋白の性状に関する研究を企図したが、これにさきだち該特異蛋白が蛋白分割のいずれの部分に存するかについて追試研究した。

実験材料ならびに実験方法

実験材料

実験材料はすべて前編において作製した胎児血清グロブリンおよびアルブミンを10回注射して得た抗血清を使用し、反応用抗原としては各型混合ヒト血清ならびに5~10ヶ月各月令別胎児血清を使用し、

吸収原としては同ヒト血清を使用した。

実験方法

吸収試験は抗血清の原液に適当量の混合ヒト血清をくわえて37°C, 60分間ときどき振盪しながら静置し、さらに一夜氷室に放置してのち遠心沈澱し、その上清について各反応用抗原にたいする沈降素価を測定した。

実験成績

7, 8, 9および10ヶ月混合胎児血清グロブリンおよびアルブミンを10回注射して得た抗血清について吸収試験を施行した成績はつぎのごとくである。

1. 胎児血清グロブリン10回注射の吸収試験

胎児血清グロブリン10回注射抗血清を混合ヒト血清の適当量で吸収した成績は表4のごとくである。

Table 4 Absorption Examination of Antiserum (Group of Ten Times Injection with Globulin)

Kind of antiserum	Ten times injection with fetal serum globulin													
	No. 1							No. 2						
Dilution of antigen	5	10	20	40	80	160	320	5	10	20	40	80	160	320
Human serum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fetal serum	5th month	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	+	-
	6th month	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	++	+	-
	7th month	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++
	8th month	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++
	9th month	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++
	10th month	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++

すなわち、No. 11 および12ともにヒト血清にたいする反応は消失したが、5～10ヶ月胎児血清にたいして沈降素価160～320をもつて反応する残存抗体をみとめた。

2. 胎児血清アルブミン10回注射抗血清の吸収試験

胎児血清アルブミン10回注射抗血清を混合ヒト血清の適量で吸収した成績は表5のごとくである。

Table 5 Absorption Examination of Antiserum (Group of Ten Times Injection with Albumin)

Kind of antiserum	Ten times injection with fetal serum albumin													
	No. 16						No. 18							
Dilution of antigen	5	10	20	40	80	160	320	5	10	20	40	80	160	320
Kind of antigen														
Human serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fetal serum	5th month	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6th month	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	7th month	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	8th month	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	9th month	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10th month	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

すなわち、No. 16 および18ともにヒト血清にたいする反応は消失したが、また5～10ヶ月胎児血清にたいしても反応はみとめられなかつた。

以上7, 8, 9 および10ヶ月胎児血清グロブリンおよびアルブミンを抗原として10回注射して得た抗血清の吸収試験についてみると、抗胎児血清グロブリン血清は各例ともにヒト血清にたいする反応は消失するが、なお胎児血清にたいして沈降素価160～320に反応する特異抗体の残存をみとめることができた。これに反して抗胎児血清アルブミン血清は各例ともにヒト血清にたいする反応は消失し、また胎児血清にたいしても反応はみとめられなかつた。このことから胎児血清中に含有する特異蛋白はアルブミン分画中には存在せず、グロブリン分画中に存するものであることが判明した。

総括ならびに考按

胎児血清、胎児血清グロブリンおよびアルブミンを抗原としてウサギを免疫した抗血清について、その沈降素産生および非特異性副反応の発生状態を検査した成績を総括考按するとつぎのごとくである。

平瀬¹⁾によれば胎児血清を免疫抗原とした場合はヒト血清に比較して免疫回数のおくない場合には沈降素の産生はむしろかしく、10回注射によつてはじめて沈降素価10,000以上の高価な免疫血清を得ることができ、また沈降素量の産生ならびに副反応の出現

については、免疫回数の増加につれて増強の傾向をみとめている。また胎児血清蛋白分画を免疫抗原とした場合は胎児血清を免疫抗原とした場合にくらべて沈降素産生はより容易であり、かつ沈降素量のひくい抗血清が得られたと発表し、胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミンの抗原性については、ほとんど優劣の差はみとめられず、沈降素量および副反応を比較すると胎児血清蛋白アルブミンは沈降素量はつねにひくく、副反応もきわめて軽微で種属特異性がたかいと報告している。

著者らの追試成績においても胎児血清の沈降素産生は5回注射ではヒト血清にたいして沈降素価4,000～8,000、沈降素量40～80で高価な沈降素血清は得がたく、10回注射においてはじめて沈降素価20,000、沈降素量40～160の高価な抗血清を得ることができた。胎児血清にたいしては5回注射では沈降素価4,000～8,000、沈降素量40～80であり、10回注射では沈降素価20,000、沈降素量80～160で、ヒト血清ならびに胎児血清にたいする反応強度は幾分胎児血清において劣弱のごとくであり、副反応の発生についても注射回数の増加にともなつて増強の傾向がみとめられ、これらの点については平瀬¹⁾の成績とまつたく一致した結果が得られた。

胎児血清各分画による沈降素産生状態についても胎児血清グロブリンおよびアルブミンともにすでに5回注射においてヒト血清にたいして沈降素価

20,000~40,000の高価な抗血清が得られ、胎児血清グロブリンおよびアルブミンの各1%生理食塩水溶液はその蛋白含量において胎児血清のそれよりもはるかに稀薄であるにもかかわらず、沈降素産生ははるかに容易であつた。また各分割の免疫原性についてはほとんど優劣の差はみとめられず、とくに胎児血清アルブミンはグロブリンにくらべてなんら遜色はみとめられなかつた。沈降素量については抗アルブミン血清では抗グロブリン血清にくらべてひくく、また副反応の発現も抗アルブミン血清において軽微であつた。これらの点についてもまた平瀬の成績と同じ結果が得られた。

胎児血清蛋白分割を免疫抗原としてウサギに10回注射して得た抗血清の吸収試験の成績では、平瀬¹⁾は抗血清の吸収試験の結果なお胎児血清に反応する特異抗体の残存することを胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミン両分割中にみとめ、このことから胎児血清中に含有する特異蛋白は胎児血清蛋白グロブリンおよびアルブミン両分割中に平等に存在すると発表した。著者らの研究によれば吸収試験の結果抗グロブリン血清中にはなお5~10ヶ月胎児血清にたいして沈降素価160~320に反応する残存抗体をみとめたが、抗アルブミン血清中にはまったく残存抗体をみとめず、このことから胎児血清中に含有する特異蛋白は胎児血清グロブリン中に存在しアルブミン中には存在しないと思ふものである。小口、徳永⁵⁾の研究によれば胎盤細胞は特殊の化学的造構物(小口、徳永の所謂胎盤抗原)を創造し、該物質は胎盤のみならず胎児(臍帯)血清、産褥婦血清、

初生児ならびに幼児血清中にも含有し、臍帯血清内に存する胎盤抗原はそのオイグロブリン中に含有せられ、アルブミン中には存在せず、胎盤抗原は血清グロブリンに類する性状の化学的造構物なるべしと発表しているが、この点著者の胎児血清中に含有する特異蛋白がアルブミン中には存在せず、グロブリン中に含有する成績とも一致するものである。

結 論

- 1) ヒト胎児血清をもつてウサギを免疫すると10回注射においてはじめて高価な沈降素血清を得ることができる。
- 2) ヒト胎児血清をグロブリンおよびアルブミンに分割してウサギを免疫すると、胎児血清にくらべて沈降素産生はより容易であり、各分割の抗原性については顕著な差異はみとめがたく、胎児血清アルブミンの抗原性は同グロブリンのそれにくらべてなんら遜色はみとめられなかつた。
- 3) ヒト胎児血清アルブミンを抗原とした場合にはグロブリンを抗原とした場合にくらべて沈降素量はひくく、副反応の出現もつねに軽微であつた。
- 4) ヒト胎児血清中に含有する特異蛋白は血清グロブリン中に存在し、アルブミン中には存在しない。

稿を終るにのぞみ、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜つた恩師三上教授に衷心より深く感謝いたします。

(本論文の要旨は昭和33年第42次日本法医学会総会において発表した)

主 要 文 献

- 1) 平瀬純之助：鹿大医誌，9(1)，143，昭32。
- 2) 楠元博文：岡山医誌，69(11)，2931，昭32。
- 3) 尾辻達志，日法医誌，10(3)，284，昭31。鹿大医誌，10(3)，202，昭33。
- 4) 鳥丸真孝：岡山医誌，69(12)，3073，昭32。
- 5) 小口：徳永：臨床産婦人科，2(2)，112，昭2。2(3)，207，昭2。

The Experimental Study of the Specific Protein Contained
in Human Fetal Serum Globulin

By

Yoshinori MIYOSHI

Yoshiyuki OCHIAI

Department of Legal medicine, Okayama University Medical School
(Director: Y. MIKAMI)

- 1) When rabbits are immunized by human fetal serum, high titer precipitin reaction on human serum can be obtained by injecting ten times.
 - 2) When rabbits are immunized by human fetal serum with Globulin and Albumin precipitin productions can be obtained easier than that of human fetal serum. As for each antigenity, the remarkable difference can not be seen and the antigenity of fetal serum Albumin is by no means inferior to that of Globulin.
 - 3) In case of fetal serum Albumin as antigen, precipitin quantity is lower than that of Globulin, and appearance of reaction is less.
 - 4) Specific protein contained in fetal serum, exists in serum Globulin, not in Albumin.
-