

異種臓器抗体に関する研究

第 1 編

異種臓器感作における生体反応について

岡山大学医学部第一内科教室 (主任: 小坂淳夫教授)

山崎謙三郎

〔昭和34年9月15日受稿〕

1. 緒言

生体を異種動物の臓器抽出抗原で感作すると、その生体内に異種動物の臓器抗原に反応する物質が産生されるといわれる。こうした物質の産生については1899年 Landsteiner が家兎に牛精虫を注射すると Spermatotoxin が産生すると報告して以来、こうした遊離単細胞から更に肝¹⁾²⁾、腎³⁾⁴⁾等の実質臓器に至る迄、殆ど凡ゆる臓器についての所謂細胞毒 (Cytotoxin) といわれる抗体の産生が報告せられている。然し乍ら現在迄の業績に於いては、産生された所謂異種臓器抗体の作用面即ち Cytotoxin-allergy についての研究が主で、臓器抽出抗原による感作の生物学的意義については不明の点が多い。そこで著者は臨床的に胆のう、大腸等の病変により該当臓器に対する抗体が産生されるかどうか、又その抗体産生機転について検討する目的で、先ずその前提として動物実験的に犬の胆のう、大腸より抽出した抗原で家兎を感作し、そのさい該当臓器抗原に対し臓器特異性をもつ抗体の産生の有無並に感作動物に惹起される生体反応等を免疫血清学的に検討した。

2. 実験材料並びに実験方法

2. 1 実験動物

体重 2.0 kg~2.8 kg の健康雄性家兎及び体重 7.5 kg~9.6 kg の健康雄性犬を使用した。

2. 2 実験方法

2. 2. 1 臓器 (胆のう、結腸) 抗原の調製

抗原の作製は健康雄性犬を脱血致死させて生理的食塩水で下大静脈より充分灌流後、胆のうを可及的無菌的に肝より剝離し、輸胆管を切断した後マーズン加生理的食塩水に浸し、次の方法によつて乳剤にした。即ち胆のうを滅菌した鉢で切開し粘稠な胆汁を排除した後、胆のう粘膜を有鉤ピンセットによ

り鈍的に剝離し、これをマーズン加滅菌生理的食塩水中で胆汁色の殆ど消失する迄数回洗滌し、以上の様にして処理してえられた胆のう粘膜を集めて鉢により可及的細切し、生理的食塩水を加えて硝子製 Homogenizer によつて10%乳剤とした。結腸粘膜抗原は同様にして結腸を摘出し、糞塊を取除いて内腔をマーズン加生理的食塩水により充分洗滌した後、メスを以てその粘膜を鈍的に剝離し、生理的食塩水を加えて硝子製 Homogenizer によつて10%乳剤とした。そして更に防腐剤として0.01%の割合にマーズンを加え氷室に保存した。

尚実験に際しては該抗原は可及的新鮮なものを使用した。

2. 2. 2 感作方法

上述の様にして作製した10%臓器生理的食塩水抽出液上清を家兎の腹腔内に 2.0 cc/kg, 1週3回宛注射した。

2. 2. 3 抗体価測定法

米国防軍軍医学校法⁵⁾による補体結合反応を用いた。被検血液の採血は早朝空腹時耳静脈より行い、型のように血清を分離後 56°C, 30分間非働化したものを使用した。

2. 2. 4 血清補体価測定法

米国防軍軍医学校法に準じた。

2. 2. 5 体重

各週末早朝空腹時に測定した。

2. 2. 6 血液学的検査

赤血球数及び白血球数の測定は成書に準じ、血色素量は Sahli 氏法によつた。尚検査は早朝空腹時耳静脈で行つた。

2. 2. 7 血清蛋白像

小林式濾紙電気泳動装置⁶⁾を使用し、緩衝液は Veronal 緩衝液 (pH 8.9, $\mu=0.1$)、濾紙は Schleicher & Schüll 2043 a を用い、泳動条件は電圧 150~300

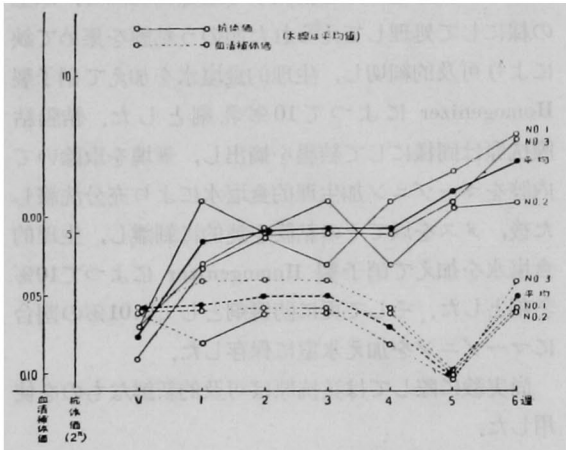
Volt で電流 3 ~ 5 mA で 3 ~ 5 時間泳動を行い、泳動距離は約 8 cm とした。

3. 実験成績

3.1 犬胆のう粘膜抗原による家兎感作

犬胆のう粘膜生食抽出抗原に反応する抗体価は感作開始前健常と思われる家兎でも既に 2 ~ 4 倍の既存のものが証明せられたが、感作開始後 1 ~ 3 週末迄にはかなり該抗体価の上昇を示し、開始前に比較し 4 ~ 16 倍を示し、感作第 4 週以後においても多少該抗体価の上昇傾向がみられた (図 1)。

図 1 胆嚢粘膜抗原感作例
抗体価並に血清補体価の消長



一方該抗原による感作中の血清補体価の消長は感作後第 4 ~ 第 5 週でやや減少の傾向がみられるが、殆んど正常範囲内の変動を示した (図 1)。

体重の経時的観察では著明な変動はみられないが、感作の持続につれ多少減少の傾向がみとめられる (図 2, 3)。

血色素量は感作回数の増加につれてやや減少の傾向がみられる (図 2, 3)。

赤血球数は血色素量の消長と略々同様にやや減少傾向がみられる (図 2, 3)。

白血球数は第 1 週末全例軽度の増多がみられる。その後多少の増減を示すが、軽度の増多が持続している (図 2, 3)。

白血球分類では第 1 ~ 第 2 週末にかなりの淋巴球増多の傾向がみられるが、第 3 週末には淋巴球はやや減少し、第 4 週末には再び淋巴球の増多がみられる。好酸球、好塩基球及び単球の変動は著明でないが、偽好酸球は感作につれてやや減少の傾向が認められる (図 2, 3)。

感作 (15 ~ 17 回) 終了後各臓器抗原に反応する抗体価を観察すると、15 回感作例では該当臓器抗原である胆のう粘膜生食抽出抗原に対しては 32 倍、胃抗原のそれは 8 倍、十二指腸抗原に対しては 8 倍、結腸抗原には 16 倍、又肝抗原に対しては 4 倍、腎及び脾抗原に対しては夫々 16 倍を示した。17 回感作例でも略々同様の傾向がみられ、胆のう抗原に対して 32 倍、胃抗原には 8 倍、十二指腸抗原に対しては 8 倍、

図 2 胆嚢粘膜抗原感作例
抗体価、体重並に血液像の消長

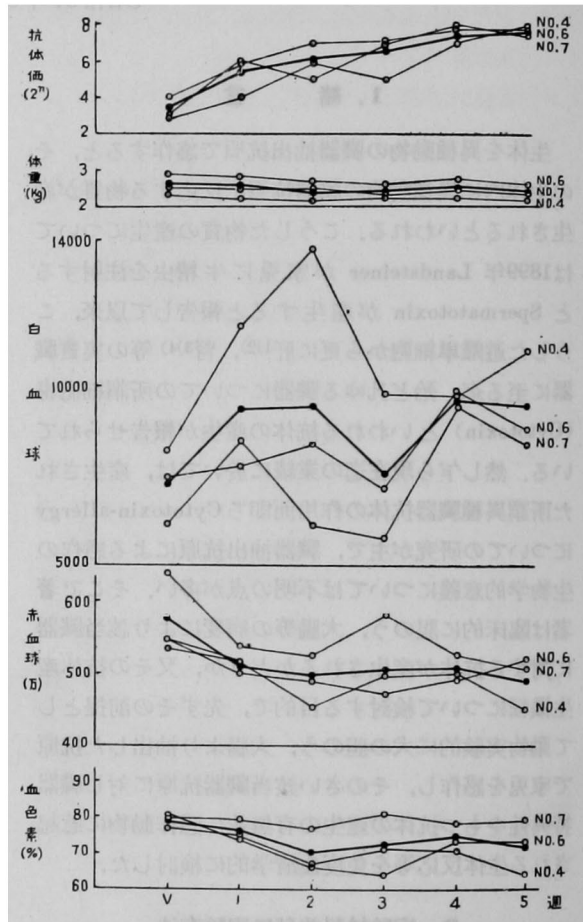
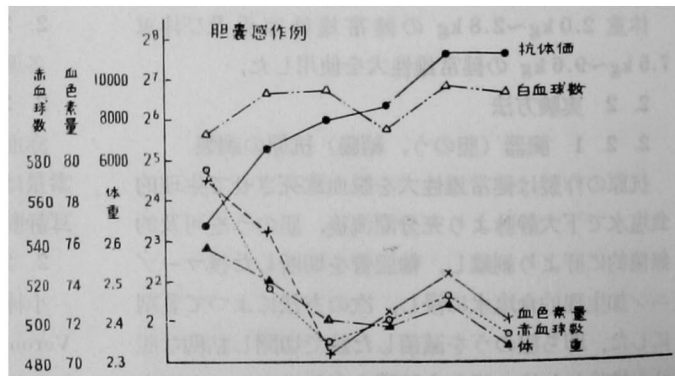
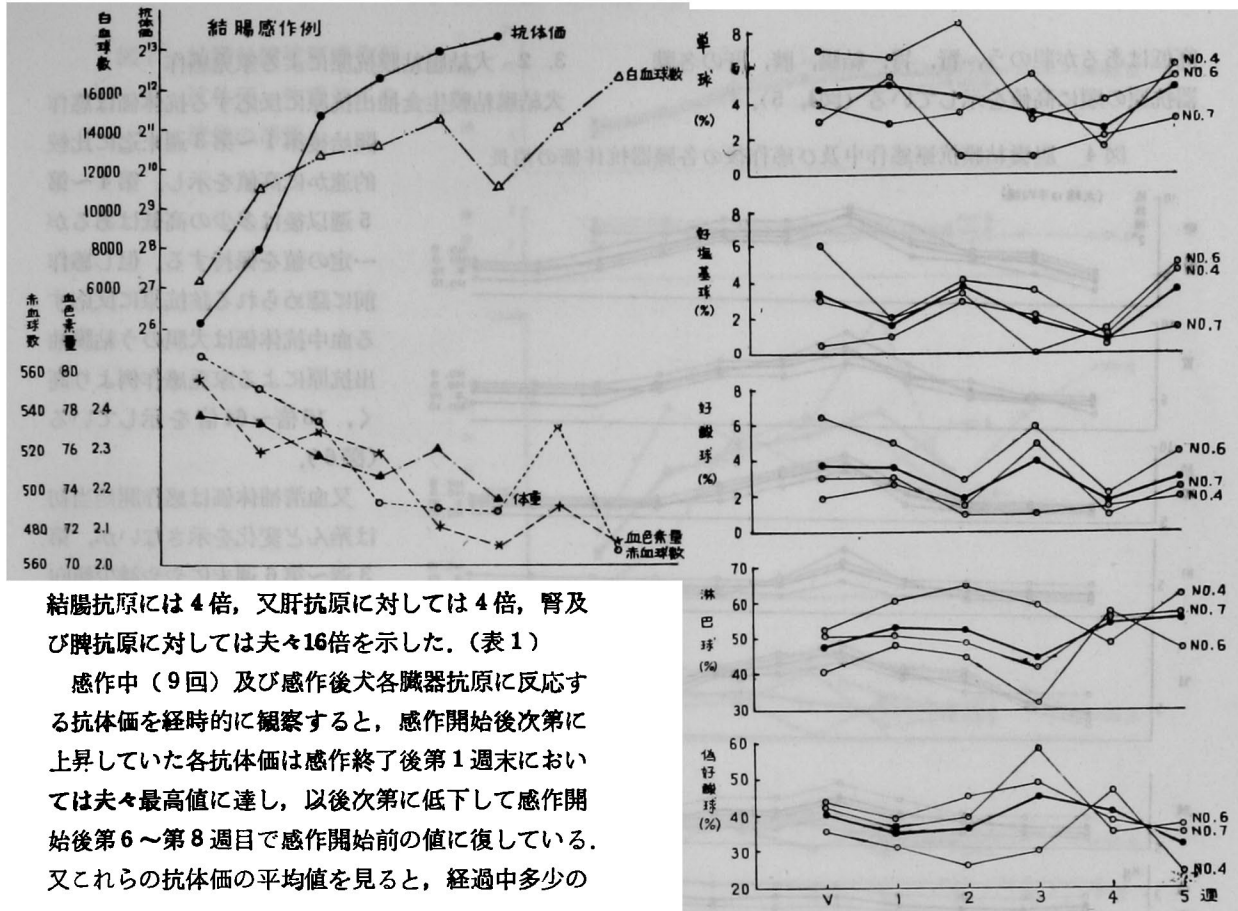


図 3 抗体価、体重並に血液像の消長 (平均値)





結腸抗原には4倍、又肝抗原に対しては4倍、腎及び脾抗原に対しては夫々16倍を示した。(表1)

感作中(9回)及び感作後各臓器抗原に反応する抗体価を経時的に観察すると、感作開始後次第に上昇していた各抗体価は感作終了後第1週末においては夫々最高値に達し、以後次第に低下して感作開始後第6~第8週目で感作開始前の値に復している。又これらの抗体価の平均値を見ると、経過中多少の

表 1 胆のう粘膜抗原感作後の抗体価 (太線以下は既存抗体価を示す)

家兎番号	抗原	稀釈倍数 2 ⁿ															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
No. 4 (15回感作)	胆のう	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	胃	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	十二指腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	結腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-	-
	肝	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	腎	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	脾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
No. 6 (17回感作)	胆のう	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	胃	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-	-
	十二指腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-	-
	結腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-	-
	肝	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	腎	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-	-
	脾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-

高低はあるが胆のう、腎、胃、結腸、脾、肝の各臓器抗原の順に高値を示している(図4, 5).

3. 2 犬結腸粘膜抗原による家兎感作

犬結腸粘膜生食抽出抗原に反応する抗体価は感作

開始後第1~第3週末迄に比較的速かに高値を示し、第4~第5週以後は多少の高低はあるが一定の値を保持する。但し感作前に認められる該抗原に反応する血中抗体価は犬胆のう粘膜抽出抗原による家兎感作例より高く、16倍~64倍を示している(図6)。

又血清補体価は感作開始当初は殆んど変化を示さないが、第3週~第6週末にやや減少傾向を示している(図6)。

体重を経時的に観察すると、著明な変動は見られないが、感作を持続すると多少減少する傾向がみられる(図7, 3)。

血色素量は感作回数が増加につれてやや減少する傾向がみられる(図7, 3)。

赤血球数は血色素量の消長と

図4 胆嚢粘膜抗原感作中及び感作後の各臓器抗体価の消長

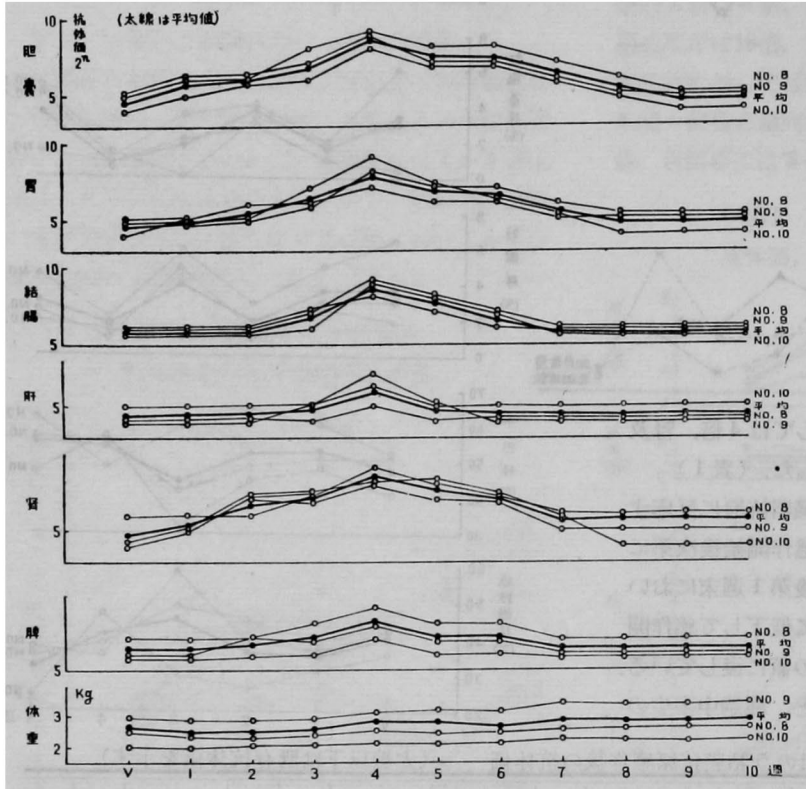
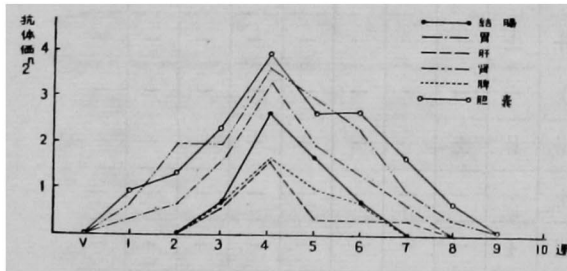


図5 胆嚢粘膜抗原感作例(各臓器抗体価平均値)



結腸粘膜抗原負荷例(各臓器抗体価平均値)

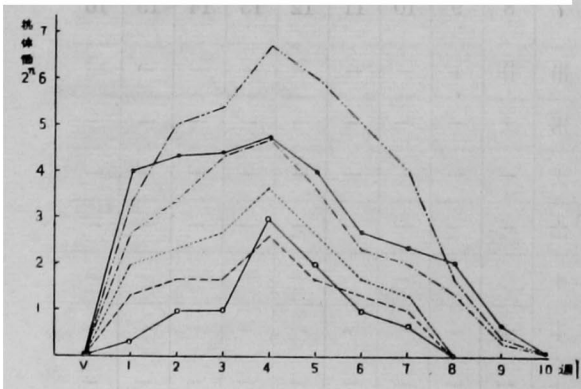
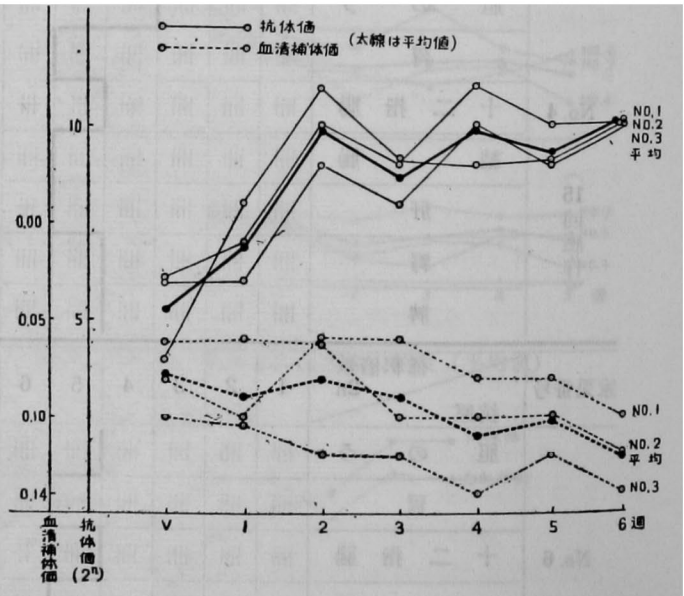


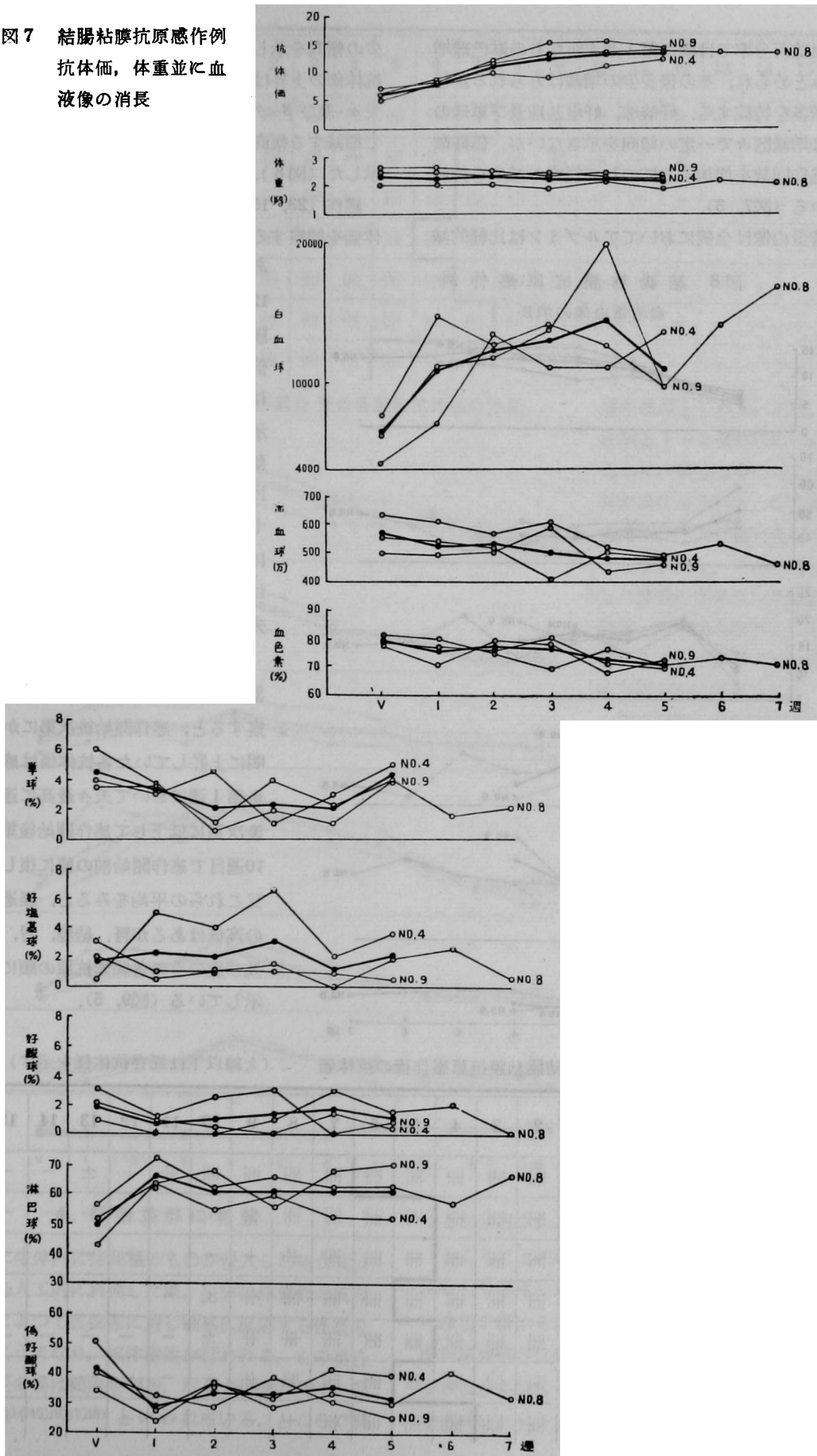
図6 結腸粘膜抗原感作例抗体価並に血清補体価の消長



略々同様やや減少する傾向がみられる(図7, 3)。

白血球数は第1週末全例増多がみとめられる。その後多少の増減はみられるが、増多を持続している(図7, 3)。

図7 結腸粘膜抗原感作例
抗体価, 体重並に血液像の消長



白血球百分率では既に第1週末かなりの淋巴细胞増多がみとめられ、その後多少の増減はみられるが軽度の増多を持続する。好酸球、好塩基球及び単球の変動は増減区々で一定の傾向を示さないが、偽好酸球は感作回数を増加するにつれて軽度の減少を持続している(図7, 3)。

血清蛋白像は全例においてアルブミンは比較的減

少の傾向を示し、 γ -グロブリンは増加傾向を示すが、抗体価の上昇は γ -グロブリンの消長と略々一致し、又 α -及び β -グロブリンは γ -グロブリンに先行して増減する傾向を示し、血清総蛋白量は減少傾向を示した(図8)。

感作(23, 15回)終了後各臓器抗原に反応する抗体価を観察すると、23回感作例では該当臓器抗原である結腸粘膜生食抽出抗原に対しては128倍、胃抗原のそれは64倍、十二指腸抗原に対して32倍、又肝抗原には32倍、腎抗原に対しては64倍、脾抗原には16倍、胆のう抗原に対しては32倍を示した。又15回感作例でも略々同様の傾向がみられ、結腸粘膜生食抽出抗原に対しては256倍、胃抗原には64倍、十二指腸抗原に対しても64倍、肝抗原には32倍、腎抗原には64倍、脾抗原には32倍、胆のう抗原に対しては16倍を夫々示した(表2)。

又感作中(9回)及び感作後各臓器抗原に対応する抗体価を経時的に観察すると、感作開始後次第にかなり著明に上昇していた各抗体価は感作終了後第1週において夫々最高に達し、以後次第に低下して感作開始後第8~第10週目で感作開始前の値に復している。又これらの平均をみると、経過中多少の高低はあるが腎、結腸、胃、脾、肝及び胆のうの各臓器抗原の順に高値を示している(図9, 5)。

図8 結腸粘膜抗原感作例
血清蛋白像の消長

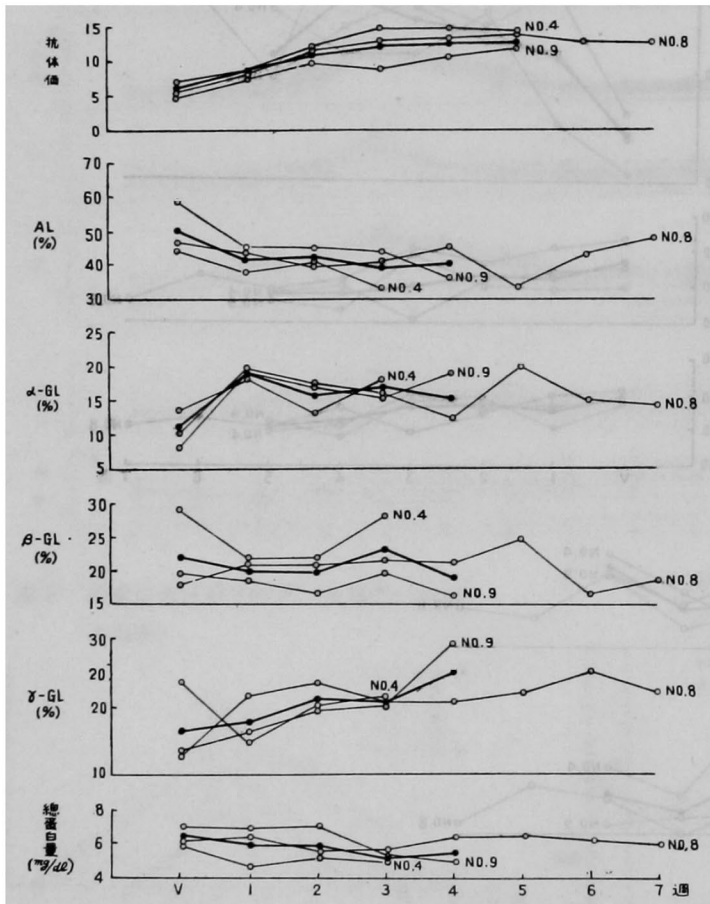


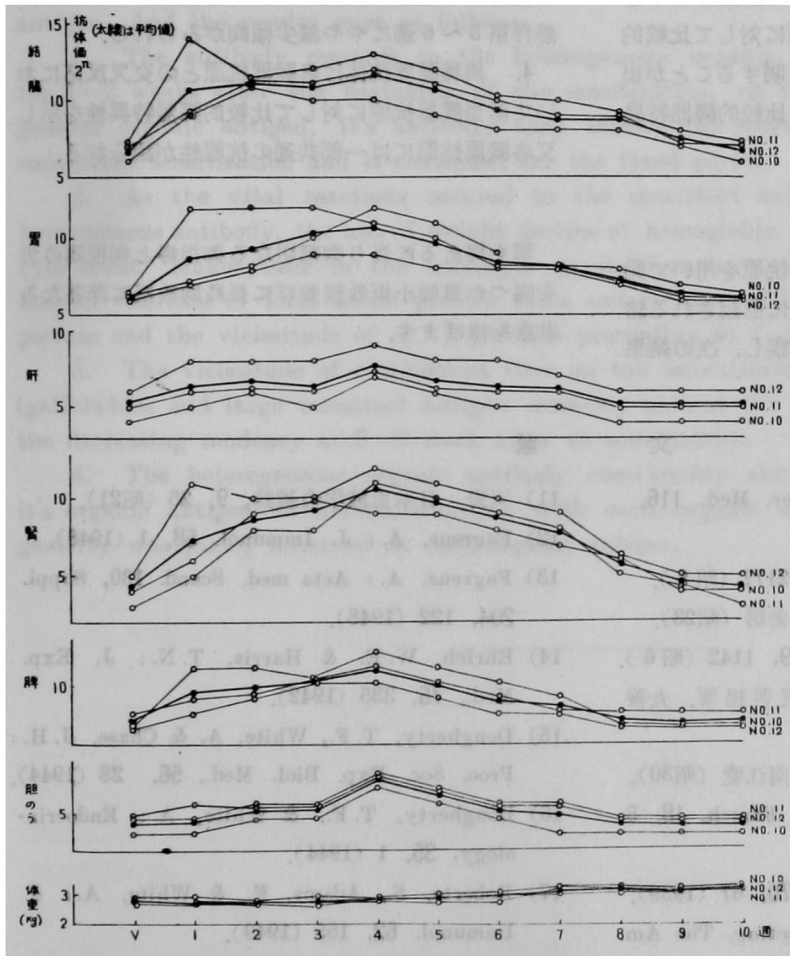
表 2 結腸粘膜抗原感作後の抗体価

(太線以下は既存抗体価を示す)

家兔番号	抗原	稀釈倍数	2n															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
No. 8	結腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-
	胃	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
	十二指腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
	肝	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-
	腎	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-
	脾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-
	胆のう	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-

家兔番号	抗原	稀釈倍数 2 ⁿ															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
No. 9 (15回感作)	結腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	-	-
	胃	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-	-	-
	十二指腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	±	-	-	-	-
	肝	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-	-
	腎	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-
	脾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-
	胆のう	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-

図9 結腸粘膜抗原感作中及び感作後の各臓器抗体価の消長



4. 総括並びに考按

一般に生体内に体異種のもが侵入した場合或は又これを人工的に負荷した際、生体は体異種の抗原の刺激によつて該抗原に対し敏感に反応する性質を有するようになり、抗体産生が行われる。この場合抗体産生の際は網内系⁷⁾⁸⁾⁹⁾、形質細胞¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾及び淋巴球¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾といわれている。ところで臓

器を抗原としたさいにも、抗原注射後1~2週間以内に比較的速かに該臓器抗原に対応する抗体が産生せられる。即ち家兔を犬の胆のう及び結腸乳剤を抗原として感作し、犬の体内に惹起した諸種の生体反応を観察した結果、先ず血清学的に上記抗原に対応する補体結合性抗体の産生が明らかに認められた。

次に動物の感作に伴う生体反応を観察すると、体重の変化では該抗体価の上昇時には体重減少を来し、下降時には体重増加の傾向がみられた。

又血液像の諸変化で白血球の変動について観察したが、犬胆のう、結腸生理的食塩水抽出抗原で家兔を感作する際には第1週後には比較的著明な白血球増多と淋巴球増加を来した。

次に血清蛋白像の変化では該当臓器抗原で感作を継続するに従つてγ-グロブリンが増加し、又該当抗体価とγ-グロブリンとの消長が略々一致するという

ことが注目される。

ところで上述のように犬の胆のう、結腸などを抗原として家兔を感作すると、該抗原に反応する抗体の産生が認められたが、このようにして産生された所謂異種臓器抗体が血清学的に何等かの特異性を示すか否かを検討するため、感作中及び感作後その諸臓器抗原に対する抗体価の消長を観察すると、該抗

体価は胆のうによる感作例では胆のう抗原に対応する抗体価が最も高値で、結腸感作例では腎抗原に次いで結腸抗原が高い値を示している。又結腸感作例では同一系統の器官と考えられる胃、十二指腸抗原に対する抗体価が該当臓器抗原に次ぎ、実質臓器抗原は更に低い値を示している。又この実質臓器抗原の中でも腎抗原に対する抗体価は夫々高く、特に結腸感作例では最も高い値を示し、次いで脾、肝抗原となつている。これらの成績から推して異種動物の臓器抗原で感作してえられた臓器抗体は、感作に使用した抗原が複合抗原であるため各臓器に共通した抗原物質を含有していることが考えられるから、当然この共通抗原因子に対応した抗体も産生されると考えられるが、しかもなお該当抗原に対して比較的特異性のある抗体を *in vitro* で証明することが出来るということはこれら臓器抗原の比較的特異性を示唆する所見と考えられる。

5. 結 論

異種(犬)臓器(胆のう、結腸)抗原を用いて動物(家兎)を感作した際、感作動物に惹起される諸種の生体反応を血清学的立場から観察し、次の結果を得た。

1. 異種臓器抗原による感作により該抗原に反応する抗体は感作開始後1~2週間で速かに産生せられ、感作を継続すると3~4週間後には該抗体価は最高となり、一定期間持続される。

2. 異種臓器抗体の産生と共に感作動物に惹起される生体反応として、体重の減少、血色素量の低下及び赤血球数の減少を来すが、白血球数は増多し、白血球の分類においては淋巴球増多がみられ、血清蛋白像では血清総蛋白量の減少、 γ -グロブリンの増量及び γ -グロブリンに先行して α -、 β -グロブリンの増減が認められた。

3. 異種臓器(胆のう、大腸)抗原による感作時の補体価の消長は初期には殆んど変動はみられず、感作第5~6週にやや減少傾向がみられる。

4. 異種臓器抗体は各臓器抗原との交叉反応において該当臓器抗原に対して比較的特異性を示し又各臓器抗原には一部共通の抗原性が認められる。

稿を終えるに当り御懇切なる御指導と御校閲の勞を賜つた恩師小坂教授並びに長島助教授に深甚なる謝意を捧げます。

文 献

- 1) Meyer-Krahmer.: Zschr. exper. Med. 116, 390 (1950).
- 2) 本多: 福岡医科大学雑誌, 23, 2177 (昭5).
- 3) 馬杉: 腎炎その他の研究. 寧楽書房 (昭23).
- 4) 馬杉, 高塚 千葉医学会雑誌, 9, 1142 (昭6).
- 5) 伝染病研究所学友会: 細菌学実習提要. 丸善 (昭30).
- 6) 小林: 瀘紙電気泳動法の実際. 南江堂 (昭30).
- 7) Reites, H.: Zschr. Immunit. Forsch. 18, 5 (1913).
- 8) Sabin, F. B.: J. Exp. Med. 70, 67 (1939).
- 9) Dixon, F. G.: 6 th Annual Meeting, The Am. Acad. Allergy, New York. (1951).
- 10) 天野: 血液学の基礎, 上巻. 丸善 (昭23).
- 11) 天野: 日本血液学会雑誌, 9, 25 (昭21).
- 12) Fagreu, A.: J. Immunol. 58, 1 (1948).
- 13) Fagreu, A.: Acta med. Scand. 130, Suppl. 204, 122 (1948).
- 14) Ehrlich, W. E. & Harris, T. N.: J. Exp. Med., 76, 335 (1942).
- 15) Dougherty, T. F., White, A. & Chase, J. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 56, 28 (1944).
- 16) Dougherty, T. F., & White, A.: Endocrinology. 35, 1 (1944).
- 17) Roberts, S., Adams, E. & White, A.: J. Immunol. 62, 155 (1949).
- 18) 沖中, 畔柳: 血液学討議会報告, 第6輯. 永井書店 (昭29).

Studies on the Heterogeneous Organic Antibody

Part I Studies on the Vital Reaction by the Sensitization of
Heterogeneous Organ

By

Kensaburo YAMASAKI

The First Department of Internal Medicine Okayama University, Medical School
(Director: Prof. K. Kosaka)

conclusions

The various vital reactions occurred to the sensitized animal were serologically observed on the sensitization of animal (rabbit) by the heterogeneous organic (gallbladder and colon) antigen. And the results were as follows.

1. The antibody reacting to the heterogeneous organic antigen was rapidly produced for 1—2 weeks after the beginning of the sensitization, on the sensitization by the heterogeneous organic antigen, its antibody titer became the most high titer 3—4 weeks of the continuous sensitization and it continued for the fixed period.

2. As the vital reactions occurred to the sensitized animals with the production of heterogeneous antibody, the loss of weight decline of hemoglobin value and decrease of erythrocyte count, leukocytosis in the leukocyte count, lymphocytosis in the classification of leukocyte, decrease of total serum protein value and increase of γ -globulin in the serum protein picture and the vicissitude of α -, β -globulin preceding to γ -globulin were observed.

3. The vicissitude of complement titer on the sensitization by the heterogeneous organic (gallbladder and large intestine) antigen scarcely showed the change and it slightly showed the decreasing tendency at 5—6 week after the sensitization.

4. The heterogeneous organic antibody considerably showed the organic peculiarity to its organic antigen on the crossreaction with each organic antigen. And the common antigenicity was partly observed on each organic antigen.
