

臓器アレルギーに関する研究

第 3 編

異種臓器抗体における既往性反応について

岡山大学医学部第一内科教室（主任：小坂淳夫教授）

副 手 宇 野 年 郎

〔昭和34年9月26日受稿〕

1. 結 言

或る感染を経過して（或はワクチン注射をうけて）から時を経て血清中に抗体が消失した時期に他の発熱性伝染病に罹患すると（ワクチン注射などでの発熱も同様）、その病原体に対する抗体が出来ると共に、以前の感染症罹患により産生された抗体が再び流血中に現われ、時に高い値を示すことがある。之は動物実験においてもみとめられており、之を既往性反応というが、非特異的刺戟によつて抗体が産生されたものと考えられている。既往性反応と副腎皮質ホルモンとの関係については若干の知見が散見される程度で、とくに臓器抗体の既往性反応については殆んど報告が見あたらない。

教室和泉は肝自己並に同種抗体について既往性反応を実施し、該抗体が流血中に認められなくなつた時期にインテレンを注射して既往反応の惹起されることを確認している。そこで著者は腹部諸臓器抗体と副腎皮質ホルモンとの関係並にこれらに対するナイトロミンの影響を検討し若干の知見がえられたので報告する。

2. 実験材料及び実験方法

2.1. 実験動物

2.5kg 前後の健常雄性家兎を実験前一定期間一定の食餌で飼育した後実験に供した。

2.2. 感作抗原の調製

感作臓器抗原として犬の肝、脾、結腸粘膜、胆のう粘膜を使用した。一定期間一定の食餌で飼育した健常雄性犬を頸動脈より脱血致死させ、次で生理的食塩水（以下生食と略す）で下大静脈より臓器固有色の出る迄充分に灌流して後、これらの臓器を採取し可及的に

血管を除いた後結腸及び胆のうからは粘膜のみを剥離し、これら各々の臓器を細切し、ホモゲナイザーによつて磨砕し、秤量して10%臓器生食溶液を作り、これにマーズオンを0.01%の割に加へて氷冷保存し、使用に際してはこれを濾過し、その濾液或は更に遠心沈澱（以下遠沈と略す）しその遠沈上清を家兎体重 kg 当り 2 cc づつ使用し、尚これらの臓器抗原は1ヶ月に1回新たに調製した。

2.3. 反应用抗原の調製

抗体価の測定はアメリカ陸軍々医学校の方法による補体結合反応を用いたが、反应用抗原として、臓器抗原は 2.2による10%臓器生食抽出液の濾液乃至は遠沈上清液を生食で2倍に稀釈し、5%溶液として使用した。

2.4. 感作方法

10例の健常雄性家兎を肝 1.2.3, 結腸1.2, 脾1.2, 胆のう 1.2.3の4群に分け、肝群は犬肝、結腸群は犬結腸粘膜、脾群は犬脾、胆のう群は大胆のう粘膜を感作抗原として、体重毎kg当り 2 cc 家兎腹腔内に1週間3回づつ9回注入した。

2.5. 既往性反応

インテレン（帝国臓器製薬株式会社）は哺乳動物の新鮮な副腎皮質より製した総エキス製剤で、インテレン注射液は淡褐色透明で、1 cc 中新鮮副腎皮質 0.25 g に対応する有効成分を含有している。既往性反応の惹起にこのインテレンを家兎体重毎 kg 当り 1.5 ml 大腿皮下に注射した。

既往性反応には前記の感作家兎を使用したが、これらの家兎は何れも臓器抗原の感作回数増加に伴い、各臓器抗原に対応する抗体価は上昇し、第3乃至第4週後に最高となり、以後次第に低下し、第9乃至第10週後には旧値にかへり、既往性反応への使用は第11週後

に行つた。

肝3, 結腸1,2, 脾1,2, 胆のう 2,3の7例の家兎はインテレニン例で, インテレニンを体重毎kg当り1.5ml大腿皮下に注射し, 次いで経日的に抗体価を測定した。肝2, 胆のう1の2例はインテレニンによる既往性反応に対するナイトロミンの影響をみるために, ナイトロミンを家兎体重毎kg当り10mg 1日1回, 5日間連続耳静脈より静注し, 次でインテレニンを大腿皮下に注射して抗体価の消長を経日的に測定した。

更に肝1はインテレニン注射後, ナイトロミンを体重毎kg当り10mg 1日1回, 3日間連続静注し経日的に抗体価の測定を行つた。

尙肝群においては, 犬肝臓器抗原に対する抗体価のみでなく, 犬脾及び犬胆のう粘膜抗原に対する抗体価を, 結腸群においては犬結腸粘膜抗原の他に犬肝及び犬胆のう粘膜抗原, 脾群及び胆のう群においては夫れ犬脾及び犬胆のう粘膜抗原の他に犬肝臓器抗原に対する抗体価の消長を同時に測定した。

更にこれらの各例において白血球数及び血清総蛋白量を第1日, 第3日, 第6日に測定し, 肝1,2, 結腸2, 胆のう1,2, 脾2の6例の家兎については血清蛋白分劃量を同時に併せ測定した。

2.6. 血清総蛋白量の測定

家兎の耳静脈よりうつ血をさけながら採血し血清の

分離をまつて硫酸銅法により測定した。

2.7. 血清蛋白分劃量の測定

家兎の耳静脈より, うつ血をさけつつ採血し, 血清の分離をまつて濾紙電気泳動法により測定した。泳動条件は, 電流, 6mA/12cm, 電圧, 180V/2cm, 泳動時間は5時間, 緩衝液はVeronal-Na-Puffer, pH=8.5, $\mu=0.045$, 染色はBromphenol blueで30分間である。

3. 実験成績

3.1. 各臓器抗原で感作後インテレニンを注射して既往性反応を惹起させた際の抗体価の消長

第1表に示すように, ナイトロミン無処置例においてはインテレニンの注射によつて, 感作臓器に対する抗体価は早いものは第1日目より上昇し, 第3乃至第6日目に最も高く第10日目には殆んど旧値にかへる。これら抗体価増減平均値を各日別についてみると, 第1日, 第3日, 第6日, 第10日目には夫々+1.4倍, +2.6倍, +2.9倍, +1.1倍である。以上の何れの例においても抗体価の上昇がみられ, 各例の最高上昇度は+2乃至+4倍でインテレニン注射後第3日乃至第6日目にみられる。

次にこれら各例の非感作臓器抗原に対する抗体価は

第1表 ACE 処置家兎の抗体価

家兎番号	感作抗原	測定抗原	処置前	1	3	6	10日
肝3	肝	肝	1:16	1:32	1:64	1:64	1:16
		脾	1:16	1:16	1:32	1:16	1:16
		胆のう	1:2	1:4	1:4	1:4	1:2
結腸1	結腸	肝	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4
		脾	1:8	1:8	1:16	1:32	1:16
		胆のう	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
結腸2	結腸	肝	1:8	1:8	1:16	1:8	1:8
		脾	1:32	1:32	1:64	1:64	1:32
		肝のう	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
胆のう2	胆のう	肝	1:2	1:4	1:4	1:4	1:2
		胆のう	1:2	1:2	1:4	1:2	1:2
胆のう3	胆のう	肝	1:2	1:2	1:4	1:2	1:2
		胆のう	1:1	1:1	1:2	1:1	1:1
脾1	脾	肝	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8
		脾	1:8	1:16	1:16	1:32	1:8
脾2	脾	肝	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8
		脾	1:8	1:16	1:32	1:32	1:8
肝1	肝	肝	1:8	↓1:8	1:8	1:8	1:2
		脾	1:8	1:8	1:8	1:8	1:4
		胆のう	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
肝2	肝	肝	1:8↓	1:8	1:4	1:4	1:4
		脾	1:16	1:16	1:8	1:8	1:8
胆のう1	胆のう	肝	1:2↓	1:2	1:1	1:1	1:1
		胆のう	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1

ACE インテレニン
↓ ナイトロミン注射

第2表 ACE処置家兎の白血球数
n × 10²/cmm

家兎番号	処置前	1	3	6日
肝 3	58	85	74	55
結腸 1	93	71	120	84
結腸 2	84	98	116	144
胆のう 2	52	61	95	57
胆のう 3	53	63	74	53
脾 1	74	81	112	160
脾 2	66	90	120	101
肝 1	140	↓80	82	31
肝 2	121 ↓	35	40	48
胆のう 1	73 ↓	22	58	57

ACE インテレニン
↓ ナイトロミン注射

肝3においては犬脾及び犬胆のう粘膜炎抽出抗原に対する抗体価も軽度の上昇を認めず。結腸1においては犬肝及び犬胆のう粘膜炎抽出抗原の何れに対しても抗体価の変化はないが、結腸2では犬肝生食抽出抗原に対して軽度の上昇がみられ、犬胆のう粘膜炎抽出抗原に対しては特に変化なく、胆のう2, 3では第3日目に犬肝生食抽出抗原に対して軽度の抗体価上昇がみとめられるが、脾1.2の両例では犬肝生食抽出抗原に対して変動を示さない。

ナイトロミン前処置例ではインテレニンの注射によって、肝2では抗体価の上昇はみられず第3日目にはやや低下の傾向が認められる。胆のう1でも犬胆のう粘膜炎抽出抗原に対して抗体価の上昇はみられない。各例の非感作臓器抗原に対する抗体価は、肝2においては犬脾生食抽出抗原に対する抗体価も第3日目よりやや低下し、胆のう1においても犬肝生食抽出抗原に対して第3日目より低下する。

肝1では第10日目に抗体価の急激な低下がみられ、犬脾生食抽出抗原に対しても第10日目にやや低下するが、犬胆のう粘膜炎抽出抗原には特に変動は認められない。

3.2. 各臓器抗原で感作後インテレニンを注射して既往性反応を惹起させた際の白血球数の変動。

第2表に示すように、ナイトロミン無処置例においては、第1日目より増多し第3日目に最も多い。これら7例の白血球数増減平均値を各日別にとると、第1日、第3日、第6日目には夫々+990, +3300, +2490となる。

ナイトロミン処置例においては、肝2, 胆のう1は

第1日目に最も白血球数減少し、以後次第に回復の傾向がみられる。これら2例の白血球数増減平均値は第1日、第3日、第6日目に夫々-6850, -4800, -4450である。

肝1では第6日目に著しい白血球減少がみられる。

3.3. 各臓器抗原で感作後インテレニンを注射して既往性反応を惹起させた際の血清蛋白量の変動。

健常家兎の血清蛋白量は測定方法或は報告者によつてやや異なる。

血清総蛋白量は屈折法によると、五十嵐は6.62g/dl (数例の平均値)、植原は6.74 (5.40~8.40) g/dl, Klieneberger は6.27~7.53g/dl, Chopard は5.64g/dl, Albritton は5.7g/dl, Kjeldahl 氏法によると、飲野は3.7~5.9g/dl (8例の平均値) と報告している血清蛋白量分割量についても、植原, Chopard, Siegmund, Scheiffarth, Deutsch, 平井, 吉沢, らの多数の報告があるが、動揺が甚しい。

各臓器抗原で感作後8週後の家兎10例の血清総蛋白量の平均値は6.03g/dlであり、血清蛋白分割量の平均値は、アルブミン(以下ALと略す)+α₁グロブリン(51.2%), α₂グロブリン(8.5%), βグロブリン(24.7%), γグロブリン(16.4%)であり、健常家兎に比べてALは減少し、α₂及びγグロブリンはやや増加し、βグロブリンは増加している。

次に各臓器抗原で感作後インテレニンを注射して既往性反応を惹起させたさいの血清総蛋白量は、インテレニン処置後ナイトロミン無処置例では結腸2を除いて一般に減少する。これらの家兎の血清総蛋白量増減平均値は第1日(-0.49), 第3日(-0.56), 第6日(-0.41) g/dlである。ナイトロミン前処置例では肝2, 胆のう1共に第1日目には変化なく、第3日目にやや増加し、第6日目には更に増量する。この2例の血清総蛋白量増減平均値をみると第1日0, 第3日目+(0.45), 第6日(+1.55) g/dlで、かなり相違した経過を示す。

ナイトロミン後処置の肝1では、第1日目に増加するが、第3日、第6日目には増加度を減じる。

更に血清蛋白分割の変化をナイトロミン無処置例について感作臓器別に観察すると、インテレニンの注射によつて結腸2はAL減少し、α₂グロブリンも減少する、βグロブリンは第1日目に増加後減少する。これに反し、γグロブリンは次第に増加する。胆のう2もALやや減少しα₂グロブリンも減少する。βグロブリンもやや減少するがγグロブリンは次第に増加す

第3表 ACE処置家兎の血清総蛋白量 (g/dl)

家兎番号	処置前	1	3	6日
肝 3	5.8	5.3	5.5	5.8
結腸 1	6.4	6.0	6.0	6.2
結腸 2	5.9	6.4	6.2	5.0
胆のう 2	5.5	5.0	5.0	5.0
胆のう 3	6.2	5.9	5.8	5.9
脾 1	7.9	6.8	6.2	7.4
脾 2	6.9	5.8	6.0	6.4
肝 1	5.2	↓6.2	5.5	5.5
肝 2	5.5↓	5.5	5.8	6.8
胆のう 1	5.0↓	5.0	5.6	6.8

ACE インテレニン
↓ ナイトロミン注射

第4表 ACE処置家兎の血清蛋白分劃量(%)

家兎番号		処置前	1	3日
結腸2	AL	51.6	41.1	41.5
	α_1			8.3
	α_2	9.1	9.0	6.9
	β	24.2	27.5	19.6
	γ	15.1	22.2	23.7
胆のう2	AL	54.5	53.9	50.1
	α_1			4.2
	α_2	9.3	5.7	5.4
	β	23.4	19.9	19.1
	γ	12.6	20.5	21.3
脾 2	AL	50.9	50.1	35.8
	α_1			5.6
	α_2	10.2	6.6	5.6
	β	12.8	17.8	20.0
	γ	26.0	27.5	33.1
肝 1	AL	45.5	↓41.0	46.8
	α_1			7.7
	α_2	6.1	11.2	10.5
	β	31.1	32.1	17.9
	γ	12.8	15.7	16.5
肝 2	AL	50.5↓	43.1	52.9
	α_1			
	α_2	10.4	9.0	9.5
	β	22.4	26.1	21.8
	γ	16.6	21.8	16.0
胆のう1	AL	49.1↓	32.0	44.2
	α_1	5.2	6.0	5.9
	α_2	6.2	11.8	12.7
	β	34.3	26.2	14.9
	γ	15.2	24.3	22.3

ACE インテレニン
↓ ナイトロミン

る。一方脾2においてもAL及び α_2 グロブリンは減少するが、 β 及び γ グロブリンは次第に増加する。従つて感作臓器別のインテレニンによる既往性反応惹起後の経過はALは24時間、72時間目とやや減少傾向を示し、 α 、 β グロブリンはやや増加し、 γ グロブリンはインテレニン注射後24時間目にはかなりの増量がみられておるが、特に感作臓器別の差異は認められない。

ナイトロミン前処置例の肝2では、ALは第1日目に減少するが、第3日目には次第に回復する。 α_2 グロブリンはやや減少し、 β 及び γ グロブリンは第1日目に増加するが、第3日目には減少する。胆のう1においては、ALは減少し α グロブリンは増加する。 β グロブリンは次第に減少し、 γ グロブリンは第1日に増加し第3日目には増加度を減少する。これら2例においては、ALは第1日目に減少するが第3日目には次第に回復し、これに反して、 γ グロブリンは第1日に増加するが第3日目にはその増加度を減少する。

ナイトロミン後処置の肝1においてはALは第1日目に減少するが、第3日目には増量し、 α_2 グロブリンはやや減少する。 β グロブリンは第1日目に増加するが第3日目には減少し、 γ グロブリンはやや増加する。

4. 総括及び考按

以上の実験成績を総括すると異種臓器(肝、脾、結腸、胆のう等)感作後一定時日を経て、血中抗体価が旧値にかへつた家兎にACE(インテレニン)を注射すると、3乃至6日後に軽度の抗体価上昇をみとめ、白血球数は増多し3日後には最高となる。血清総蛋白量はやや減少し、血清蛋白分劃量においてはALは減少、 γ グロブリンは増加する。

又ACE(インテレニン)処置前にナイトロミン注射を行うと抗体価の上昇はみられず、第3日よりやや低下する。白血球の減少は第1日目が著明で以後次第に回復の傾向がみられる。これらの例においては血清総蛋白量は第3日より増加し、血清蛋白分劃量においてはALは第1日目には減少するが第3日目には回復し、 γ グロブリンは第1日にやや増量するが、第3日目には増加度を減じ、1例では低下する。

ACE(インテレニン)処置後ナイトロミン注射を行つた例においては抗体価の上昇はみられず10日後にはやや低下する。血清総蛋白量はやや増加するが第1日に最も著しい。血清蛋白分劃量においてはALは第1日にやや減少後増加し、 γ グロブリンは軽度増量する。

更に又これら既往性反応における臓器抗体は感作臓器に対して出現率が多く、非感作臓器抗体の夫れは低という結果をえている。

従来副腎皮質ホルモンの抗体産生に及ぼす影響については現在迄多くの報告があり、流血中の抗体と副腎皮質ホルモンとの関係について、Ehrlich & Harris 及び Dougherty は抗原注射によりリン腺に凝集素、溶血素が形成せられ、副腎皮質ホルモンにより、これら抗体が血中に放出されるといい、Chase, White & Dougherty はマウス、ラツテ、家兎を種々の抗原で連続的に毎日感作してゆくと、日を追うにしたがつて抗体価が上昇してゆくが、同時に ACE (adrenal cortical extracts) を注射してゆくと、この抗体価の上昇度が早く、また抗体価の頂点も高いといい。次に充分感作した家兎に ACE を注射して血中抗体価の短時間の消長をみると、抗体価は注射後急速に上昇し、6乃至12時間以内に最高となり、その後漸時下降するのを認めている。又、梅沢、遠藤、齊藤、内野等も既往性反応を該当抗原以外の物質で惹起させることをのべている。ところで和泉は肝同種並に自己抗体において下垂体副腎系ホルモンのうち ACE によつて既往性反応が著明に惹起され、しかも該ホルモン注射後1乃至5日目に該抗体の出現がみられ、ナイトロミンの一定量を使用することによりこの既往性反応は阻止されるとしている。

著者の成績でも肝以外の脾、結腸、胆のう等の抗臓器抗体についても同様に ACE による既往性反応が惹起されることが明らかとなり、しかも該抗体出現時には白血球数増多や γ グロブリン分層の増量等が観察されている。しかしナイトロミン前処置により既往性反応は阻止される。

次にかかる既往性反応惹起時に該当感作臓器抗原以外の臓器生食抽出抗原で交叉反応を試みると、感作臓器抗原に対し著明に反応し、他臓器抗原に対応する反応は低いということが判明し、かかる観点からも臓器

抗原により感作して産生された該当臓器抗原に対応する抗体が比較的臓器特異性を有することが一層明瞭になつたと信じる。次に、Sharp, 志村, 吉沢, Seibert は、健常家兎において α グロブリン分離の困難を報告しており、森沢は 121例中97例(80%)に α グロブリンの出現をみず、これは緩衝液の種類に関係すると述べている。即ち、pH8.03イオン強度0.1の磷酸緩衝液を使用する場合は、健常家兎血清の α グロブリンは僅か20%しか出現しない。しかし感作してゆけば、 α グロブリンの出現をみるがあると報告してあり、和智、吉沢も同様の事実を認めている。本実験例においても ACE 未処置例では6例中5例(83%)に α_1 グロブリン分離せず、ACE 処置後3日目には6例中1例(17%)に α_1 グロブリンの出現がみられなかつた。

5. 結 論

異種臓器(肝、脾、結腸、胆のう等)生食抽出抗原で異種動物を感作したさいに、感作動物の流血中に出現する感作臓器抗原に対応する抗体について、既往性反応の立場から検討して次の結論をえた。

1. 異種臓器抗体において ACE (インテレン) によつて既往性反応が著明に惹起され該ホルモン注射後1乃至6日目に流血中に該抗体の出現がみられることが確認された。
2. 異種臓器抗原の既往性抗体の出現時に白血球の増多と γ -グロブリン分層の増量がみられたが、ナイトロミン前処置で既往性反応は抑制される。
3. 異種臓器抗体の既往性反応抗体出現時に該抗体と各種臓器抗原との交叉反応では、感作臓器抗原に対する反応は他臓器抗原のそれに比較し著明で、このことから臓器抗原感作により産出された抗体が比較的臓器特異性を有することが明らかとなつた。

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

参 考 文 献

- 1) 林：日本人並に日本産医学実験動物の解剖学及び生理学計数，医学書院，東京，昭31.
- 2) 五十嵐：実験消化器病学，5，1589，昭5.
- 3) 植原：京府医，52，777，昭28.
- 4) Klineberger, C.: Die Blutmorphologie d. Laboratoriumstiere 2, Aufl. Leipzig, 1927.
- 5) Chopard, P.: Z. Tierz. u. Zücht. biol., 63, 21, 1954.
- 6) Albritton, E. C.: Standard Values in Blood Verl. W. B. Saunders Comp., Philadelphia u. London, 1955.
- 7) 飲野：成医会，48，8，1，昭4.
- 8) Siegmund Schermer: Die Blutmorphologie d. Laboratoriumstiere. 2, Aufl, Leipzig,

- 1958.
- 9) Scheiffarth, F. & G. Berg : *Ztschr. exp. Med.*, **119**, 550, 1952.
- 10) Deutsch, H. P. : *J. Biol. Chem.*, **161**, 1, 1945.
- 11) 平井 : *生化学*, **25**, 165, 1951.
- 12) 吉沢 : *生物物理化学*, **1**, 27, 1951.
- 13) 平井 : *最新医学*, **10**, 2127, 昭30.
- 14) Ehrlich, W. E., & T. N. Harris : *J. Exp. Med.*, **76**, 335, 1942.
- 15) Dougherty, T. F., J. H. Chase, & A. White : *Proc. soc. Exp. Biol. & Med.*, **57**, 295, 1944. *J. Immunol.*, **52**, 101, 1946.
- 16) 梅沢 : *日本法医学会雑誌*, **4**, 5 別冊, 70, 1950.
- 17) 遠藤・石崎 : 同上誌, 同別冊, **84**, 1950.
- 18) 齊藤 : 同上誌, **6**, 3~4 別冊, 147, 206, 1952.
- 19) 内野 : *アレルギー*, **4**, 21, 26, 1955.
- 20) Sharp, D. G. : *J. Immunol.*, **44**, 115, 1942.
- 21) 志村 : *日血誌*, **15**, 207, 昭27.
- 22) Seibert, F. B., & J. W. Nelson : *J. Biol. Chem.*, **143**, 29, 1942.
- 23) 森沢 : *アレルギー*, **7**, 189, 昭33.
- 24) 和智 : *生物物理化学*, **2**, 208, 1955.
- 25) 和泉 : 臓器アレルギーに関する研究, 未発表.
- 26) 谷野 : 臓器抗体に関する血清学的研究, 未発表.
- 27) 藤原 : 同上, 未発表.
- 28) 山崎 : 同上, 未発表.

Studies on Organ Allergy

Chapter 3. The anamnestic reaction in hetero-organ antibodies.

By

Toshiro Uno

The First Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School.

(Chief : Prof. Dr. Kiyowo Kosaka)

Conclusions.

The antibodies, corresponding with sensitizing organ antigens in the circulating blood of the sensitized animals with the antigens extracted from hetero-organs (liver, spleen, colon, gall bladder etc.) with physiological saline, were studied. Considering from a standpoint of anamnestic reactions the following results were obtained.

1. By administration of ACE (Interenin) marked anamnestic reactions were seen in the hetero-organ antibodies. One to six days after the injections of ACE the corresponding antibodies were evidently observed in the circulating blood.

2. Leukocytosis and increased gamma globulin fractions were noted on the appearance of anamnestic reactions antibodies for the hetero-organ antigens. Anamnestic reactions were depressed by giving Nitromin beforehand.

3. On appearing the anamnestic reactions of the hetero-organ antibodies, the cross reactions between various organ antigens and their antibodies were marked, especially with sensitizing organ antigens in compared with other organ antigens. And it was clearly understood that the antibodies produced by sensitizations with organ antigen had relative organ specificities.
