

不完全抗体並に臓器抗体に関する研究

第 3 編

異種臓器抗体に関する実験的研究

岡山大学医学部第一内科（主任：小坂淳夫教授）

助手氏家睦夫

〔昭和34年8月15日受稿〕

1. 緒 言

動物の臓器を抗原として異種動物を感作してえた抗血清を、その動物に注射した場合、その臓器は如何なる変化を蒙るかという所謂 Cytotoxin の問題についての最初の報告は、1900年 Delzenne¹⁾、及び Lindemann²⁾ が各々独立に肝臓及び腎臓を抗原として異種動物を感作して抗臓器抗体をつくつたことに始まつている。

かかる異種臓器抗体の臓器特異性については、その後ほとんどあらゆる臓器にわたつて、種々の見地より多数の研究がなされている。即ち Beebe³⁾、Joanovics⁴⁾、馬杉^{5,6)}、岸岡⁷⁾、Meyer-Krahmer⁸⁾ 等は臓器抗体には臓器特異的な障害作用があるものとし、これに対して Pearce⁹⁾、Woltmann¹⁰⁾、藤本¹¹⁾ 等は特異性は認められないとしている。

しかして、これらの研究はほとんどが形態学的並びに機能的な面からの観察が主であつて抗臓器血清注射後の臓器の退行性変化或は機能障害並びに脱落症状の出現を目標として種々の論議がなされている。しかして既に古く Dungern¹²⁾ はかかる抗臓器血清注射後に現われる中毒症状は該抗血清中に含まれる溶血素の作用に帰すべきでありとし、その後、Pearce⁹⁾、佐多¹³⁾、Doerr¹⁴⁾、馬杉⁵⁾ 等も臓器免疫血清には溶血素並びに赤血球凝集素も含まれていることを示摘している。しかし、かかる抗血清を注射した動物の血液学的所見についての報告は少なく、わづかに Woltmann¹⁰⁾ あるのみである。

一方、1903年 Donath & Landsteiner¹⁵⁾ が発作性血色素尿症に際し、寒冷凝集素の存在することを発見し、続いて Chauffard¹⁶⁾、Widal¹⁷⁾ 等により自家抗体に起因する後天性溶血性貧血の存在が提唱され、その後 1938 年に至り Dameshek¹⁸⁾ 等が血清に Iso-

hemolysin が存在した急性溶血性貧血を報告し、また Heterohemolysin を用いて動物に急性溶血性貧血を起しうることを明らかにして以来、溶血性貧血における抗原抗体反応の役割が注目されるに至つた。更に 1944 年 Wiener¹⁹⁾、Coombs²⁰⁾ 等により不完全抗体が発見され、本抗体の検出法が考案されて以来、一価の抗体が又或種の溶血性貧血の Pathogenesis の上に重要な意義を有することが明らかとなり、畔柳等²¹⁾ は Heterohemolysin を用いた実験的急性溶血性貧血においても不完全抗体が重要な意義を有することを強調している。

著者は、犬の肝臓、腎臓、脾臓等の臓器を抗原として家兎を免疫した際、それぞれ該当臓器に対する抗体価の上昇と同時に、犬赤血球に対する溶血素価、凝集素価も上昇することを認めたので、かかる抗血清を注射した犬について、主として免疫血液学的立場より、その血液像の変化、溶血素並びに赤血球凝集素の消長を検索すると共に、直接 Coombs 試験に準じて不完全抗体の検索を行い、更に組織学的変化をも併せ観察し、臓器抗体の生体反応としての意義につき若干の検討を行つたのでここに報告する。

2. 実験材料及び実験方法

1) 抗犬臓器血清の作成について。

犬の頸動脈を切断、脱血致死させ、下腔静脈の両側腎静脈合流部のやや下方よりカニューレを挿入し、その下部及び肝静脈合流部の上部を鉗子で止め、肝、腎、脾をそれぞれ大量の食塩水で灌流し、各々臓器固有色を呈するまで充分洗滌した後、採取した臓器を鉢で細く破碎した上、Homogenizer にかけて10%生食乳剤を作り、その上清を抗原として、2 cc 1 kg、家兎腹腔内に週3回、4週間注射し、最後の注射の1週間後、充分該抗体価の上昇していることを認め

た後全採血し、型の如く血清を分離、各々抗犬肝一、抗犬腎一及び抗犬脾血清とした。

2) 抗犬赤血球血清の作成について、

犬の股動脈より採血し、脱線維の上、遠心沈澱して赤血球を分離し、これを生理的食塩水で5~6回洗滌し、洗滌液に蛋白の含まれていないことをSulfosalicyl 酸法で確め、生理的食塩水で10%赤血球浮遊液を作る。この赤血球浮遊液を10ccずつ、週2回家兎の耳静脈より総計5~6回注射し、最後の注射後7日目に試験採血し、溶血素価、凝集素価の充分上昇したことを確めた上、全採血し、血清を分離し抗犬赤血球血清とした。

3) 抗体価の測定について。

上記の抗血清についての臓器抗体価の測定は、各々の臓器の5%生食浸出液を抗原として、アメリカ軍医学校法²²⁾による補体結合反応を用いた。また、溶血素価及び凝集素価は緒方氏²³⁾の方法により測定した。

4) 抗一抗犬赤血球家兎血清一鶏血清の作成について。

直接 Coombs 試験²⁴⁾に準じて、赤血球表面をおおっている不完全抗体を検出するために、抗一抗犬赤血球家兎血清一鶏血清(Anti-anti dog erythrocyte rabbit serum-Chickin Serum) を作成した。即ち前述した抗犬赤血球家兎血清を、鶏の下腿筋肉内に1~2ccずつ、週2回、総計7~8回注射した。最後の注射後7日目に試験採血し、Uhlenhuth の抗原稀釈法により、充分沈降素価の出来ていることを確めた後、全採血して血清を分離した。この血清を56°C 30分間加熱して非働化し、かつ生理的食

塩水で充分洗滌した健常犬赤血球と混じ、2時間37°C に静置し、鶏血清中の犬赤血球凝集素を悉く吸収し、遠心沈澱法により血清を分離して用いた。

5) 上述の各種抗犬臓器血清を犬の股静脈より注射し、日を追つて、赤血球数、Hb 値、(Sahli 法)、Ht 値、網状赤血球数、赤血球抵抗、Price-Jones 曲線、血清 bilirubin 値及び白血球数等を検討した。更に抗血清注射後の犬血清中の溶血素価、凝集素価を検討すると共に、前述の抗一抗犬赤血球家兎血清一鶏血清を用いて、定量的直接 Coombs 試験を行うと共に、2週間後に脱血致死せしめ、各臓器(肝、腎、脾等)について組織学的検索を行つた。

なお、抗犬赤血球血清を同様に犬に静脈内注射して、急性溶血性貧血を起させ、上記と同様の検索を行い、比較検討した。

3. 実験成績

1) 実験に使用した各種抗血清の抗体価は表1~5に示す通りであるが、各種抗臓器血清はそれぞれ該当臓器に対して比較的の高い抗体価(128×~2048×)を示すが、他の臓器に対しても抗体価の上昇(64×~256×)を認めると共に溶血素価(32×~256×)及び凝集素価(64×~1024×)も上昇しているのが認められた。

又抗赤血球血清はそれぞれ溶血素価(512×~1024×)及び凝集素価(4096×)が高値を示すが、同時に諸臓器(肝、腎、脾)に対しても抗体価の上昇(64×~256×)が認められた。

Table 1. Tiers of Anli-dog liver-Rabbit Serums being reacted with various Organs and Erythrocytes of the Dog.

Antigen	Dilution of antiserum																						
	L ₁											L ₂											
	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	
Dog Liver	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
" Kidney	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
" Spleen	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Hemolysin	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemoagglutinin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Table 6. The Cases injected with Organ-Antiserums.

Injected antiserum	Dog No.	Sex	Weight (kg)	Dosis of antiserum		
				1 st. day	2nd. day	
Antiliver-serum	1	♂	7.0	L ₁	1.5	/
	2	♂	10.0	"	"	/
	3	♂	12.0	"	1.0	L ₁ 1.0
	4	♂	10.0	L ₂	1.0	L ₂ 1.0
	5	♂	9.0	"	"	" "
Antikidney-serum	6	♂	7.0	K ₁	1.0	K ₁ 1.0
	7	♂	9.8	"	"	" "
	8	♂	11.0	"	"	" "
	9	♂	7.8	K ₂	1.0	K ₂ 1.0
	10	♂	8.0	"	"	" "
Antispleen-serum	11	♂	9.5	S ₁	1.0	S ₁ 0.5
	12	♂	8.3	"	"	" "
	13	♂	9.5	"	"	" "
	14	♂	9.8	S ₂	1.0	S ₂ 1.0
	15	♂	9.5	"	"	" "
Antierythrocyte-serum	16	♂	7.8	R ₁	0.5	/
	17	♂	6.8	"	0.3	/
	18	♂	11.0	"	"	/
	19	♂	10.5	"	"	/
	20	♂	9.0	"	"	/
Normal rabbit-serum	21	♂	11.5	C ₁	1.0	C ₁ 1.0
	22	♂	7.2	"	"	" "
	23	♂	9.0	"	"	" "
	24	♂	10.5	C ₂	1.0	C ₂ 1.0
	25	♂	11.0	"	"	" "

Table 7. Changes of Erythrocyte Count after Injecting Antiserums.

Injected antiserum	Dog No.	Before	1 st. day						
			1 st. day	2 nd.	5 th.	3 rd.	7 th.	10 th.	14 th.
Antiliver-serum	1	484	446	/	438	462	515	671	586
	2	633	590	/	554	570	582	619	605
	3	609	565	/	543	585	568	565	578
	4	586	545	/	516	538	525	558	564
	5	645	578	/	528	545	512	538	562
Antikidney-serum	6	514	447	287	244	236	186	241	283
	7	587	543	434	338	331	286	255	329
	8	515	466	323	291	305	339	344	461
	9	562	494	/	475	465	413	442	361
	10	666	603	/	472	494	463	489	440

Antispleen-serum	11	532	535	483	484	470	459	456	422
	12	580	570	553	527	543	512	/	517
	13	516	500	470	512	518	414	466	403
	14	673	642	582	547	526	556	528	538
	15	665	563	518	555	311	488	496	546
Antierythrocyte-serum	16	562	290	/	187	154	195	225	286
	17	528	453	/	147	96	/	/	/
	18	597	251	/	199	154	192	236	275
	19	572	433	/	316	235	213	235	231
	20	496	333	/	214	233	242	225	305
Normal rabbit-serum	21	616	629	617	639	602	618	625	699
	22	645	656	626	663	622	655	636	638
	23	535	532	545	528	536	518	539	538
	24	656	662	635	628	632	645	625	638
	25	553	575	535	527	546	568	542	549

Table 8. Changes of Hemoglobin Concentration after Injecting Antiserums

Injected antiserum	Dog No.	Before	1 st. day						
			1 st. day	2 nd.	3 rd.	5 th.	7 th.	10 th.	14 th.
Antiliver-serum	1	77	77	/	74	72	75	83	78
	2	94	94	/	94	87	87	88	89
	3	88	86	/	90	89	85	86	87
	4	92	90	/	89	90	87	85	88
	5	87	93	/	95	90	84	85	82
Antikidney-serum	6	83	82	48	41	31	30	40	49
	7	89	89	75	66	60	46	42	56
	8	78	70	51	55	54	53	59	63
	9	99	93	/	78	72	73	69	51
	10	101	96	/	80	70	68	67	68
Antispleen-serum	11	98	98	83	82	79	86	86	76
	12	103	103	102	98	90	91	/	88
	13	105	93	99	98	80	77	74	72
	14	110	108	103	96	93	92	90	92
	15	87	95	98	92	83	85	77	76
Antierythrocyte-serum	16	74	45	/	29	26	32	43	47
	17	81	77	/	26	13	/	/	/
	18	84	40	/	30	27	37	44	46
	19	76	55	/	51	42	34	40	42
	20	69	59	/	49	37	47	40	40
Normal rabbit-serum	21	92	93	92	91	89	89	90	90
	22	101	103	103	98	99	102	97	99
	23	98	98	99	97	98	95	98	98
	24	103	103	101	98	99	100	101	100
	25	95	95	92	91	93	92	91	93

Hemoglobin concentration is indicated by% (Sahli's method).

Table 9. Changes of Hematocrit after Injecting Antiserums.

Injected antiserum	Dog No.	Before	1st day	2nd.	3rd.	5th.	7th.	10th.	14th.
Antiliver-serum	1	36	35	/	38	37	37	45	42
	2	51	48	/	51	52	51	48	49
	3	48	44	/	50	43	43	44	43
	4	49	47	/	48	46	45	44	47
	5	44	45	/	46	44	41	40	42
Antikidney-serum	6	38	37	20	15	16	13	17	23
	7	46	45	38	25	30	22	20	26
	8	33	33	26	24	27	28	33	36
	9	51	46	/	42	35	34	30	24
	10	55	51	/	41	38	36	32	37
Antispleen-serum	11	48	45	41	37	35	39	39	34
	12	56	56	54	42	48	48	/	46
	13	45	44	34	48	42	37	39	35
	14	52	51	48	45	43	40	42	41
	15	44	46	47	45	41	40	38	39
Antierythrocyte-serum	16	36	21	/	17	16	21	27	29
	17	44	40	/	13	13	/	/	/
	18	36	17	/	16	15	20	26	28
	19	42	32	/	26	24	19	22	23
	20	34	29	/	23	20	21	21	26
Normal rabbit-serum	21	47	47	45	42	46	47	45	46
	22	52	54	51	50	52	53	49	51
	23	47	46	47	44	45	43	45	46
	24	54	54	53	52	51	53	50	51
	25	48	48	46	44	45	45	46	47

2) 各抗血清を表6の如く、それぞれ犬の股静脈より 0.3~1.0cc 1kg 体重、1~2回注射した。注射後の赤血球数、Hb量 (Sahli法)、Ht値の変化を日を追って検討すると表7, 8, 9に示すように、各抗血清注射例とも、全例に於いて該抗血清負荷後1~7日にわたり赤血球数の減少、Hb値、Ht値の減少ないし低下を見るに至り、microcyticな貧血が惹起されることが観察された。その程度は、抗赤血球血清注射例に最も顕著で、ついで抗腎、抗脾、抗肝血清注射例の順に軽度であった。

3) Price-Jones 曲線の変化を、抗血清注射後、日を追って検討すると、それぞれ図1, 2, 3, 4に示すように、24時間後においては、明らかに左に偏っている。この場合注目すべきことは、2峰性の曲線を示すことである。次に3~5日になると、曲線

Fig. 1. Changes of Price-Jones' Curve after Injecting Antiliver-serum.

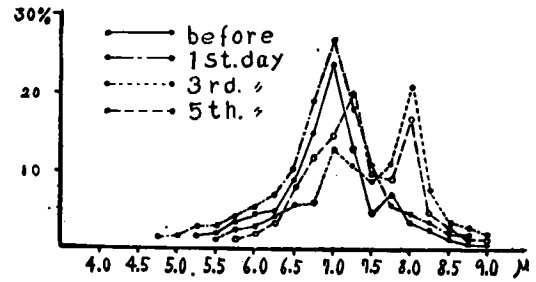


Fig. 2. Changes of Price-Jones' Curve after Injecting Antikidney-serum.

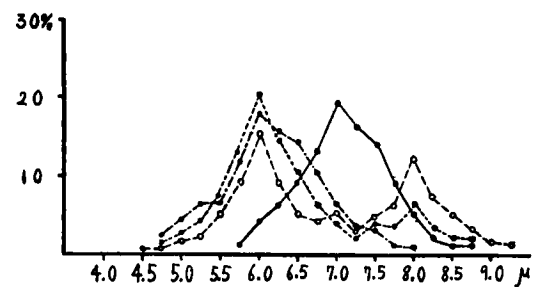


Fig. 3. Changes of Price-Jones' Curve after Injecting Antispleen-serum.

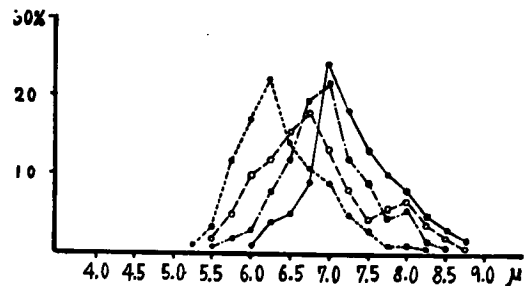
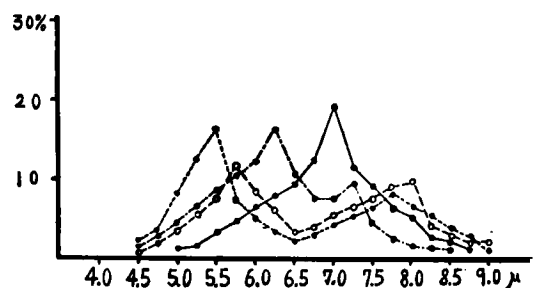


Fig. 4. Changes of Price-Jones' Curve after Injecting Antierythrocyte-serum.



は右方移動を示すに至る。24時間後の塗抹標本では、明らかに Spherocytosis を認め、小赤血球が大多数を占めるが、3~9日になると Spherocyte は相変わらず存在するが、比較的大きな赤血球が多数出現してくる様になる。この大きな赤血球は、大部分網状

赤血球と一致するものと考えられる。抗肝血清注射例においては、他の抗血清注射例に比較して曲線の左方移動が軽度かつ一過性で、これにつづく曲線の右方移動がより著明であるが、やはり2峰性を示した。

Table 10. Changes of Reticulocyte Count after Injecting Antiserums.

Injected Antiserum	Dog No.	Before	1 st. day	2 nd.	3 rd.	5 th.	7 th.	10 th.	14 th.
Antiliver-serum	1	6	8	/	14	15	6	8	10
	2	5	10	/	11	17	8	22	14
	3	3	10	/	13	17	14	18	9
	4	2	8	/	13	15	9	12	7
	5	1	8	/	12	9	15	11	7
Antikidney-serum	6	1	5	15	57	32	16	24	26
	7	0	8	6	11	10	34	21	23
	8	0	12	11	15	12	8	16	5
	9	2	6	/	10	15	25	16	18
	10	0	7	/	12	15	21	15	10

Antispleen-serum	11	0	4	8	8	7	10	7	8
	12	2	4	3	4	6	8	/	5
	13	1	1	1	2	4	8	10	4
	14	0	3	4	5	5	10	12	8
	15	1	5	8	6	12	15	11	21
Antierythrocyte-serum	16	6	19	/	58	65	38	25	32
	17	2	23	/	34	/	/	/	/
	18	13	49	/	72	78	22	31	17
	19	5	30	/	35	49	22	32	32
	20	7	25	/	38	52	34	25	27
Normal rabbit-serum	21	1	1	1	0	6	3	0	2
	22	0	0	1	0	4	3	5	3
	23	0	0	0	1	1	3	2	3
	24	1	0	1	1	2	3	2	3
	25	0	0	0	0	0	2	3	2

4) 抗血清注射後の網状赤血球数の変化を検討すると、表10に示すように注射後1~2日目において、かなり明らかな Reticulocytosis が出現し、しかも比較的長く持続している。その程度は貧血の程度と略々平行関係が認められた。

Table 11. Changes of Erythrocyte Hypotonic Fragility after Injecting Antiserums.

Injected antiserum	Dog No.	Before	1 st. day	2 nd.	3 rd.	5 th.	7 th.	10 th.	14 th.
Antiliver-serum	1	0.52~0.34	0.64~0.38	/	0.60~0.38	0.60~0.38	/	0.58~0.36	0.54~0.34
	2	0.50~0.36	0.58~0.36	/	0.56~0.38	0.56~0.38	/	0.54~0.36	0.52~0.34
	3	0.48~0.34	0.60~0.38	/	0.60~0.38	0.58~0.36	/	0.54~0.36	0.52~0.34
	4	0.46~0.32	0.62~0.38	/	0.62~0.38	0.60~0.36	0.58~0.36	0.56~0.36	0.54~0.34
	5	0.48~0.32	0.64~0.38	/	0.64~0.38	0.62~0.36	0.62~0.36	0.58~0.36	0.54~0.36
Antikidney-serum	6	0.44~0.32	0.58~0.36	0.64~0.38	0.66~0.40	0.64~0.38	/	0.64~0.40	0.62~0.38
	7	0.44~0.30	0.60~0.38	0.64~0.38	0.62~0.42	0.62~0.38	0.62~0.38	0.60~0.38	0.58~0.38
	8	0.44~0.32	0.56~0.34	0.62~0.36	0.64~0.42	0.64~0.38	/	0.60~0.38	0.60~0.38
	9	0.48~0.34	0.68~0.40	/	0.68~0.38	0.68~0.40	0.66~0.40	0.66~0.40	0.66~0.36
	10	0.46~0.30	0.66~0.38	/	0.66~0.40	0.64~0.40	0.64~0.38	0.64~0.38	0.64~0.36
Antispleen-serum	11	0.42~0.30	0.54~0.32	0.58~0.34	0.60~0.36	0.58~0.36	0.56~0.34	0.54~0.36	0.52~0.34
	12	0.42~0.32	0.36~0.32	0.56~0.34	0.58~0.36	/	0.56~0.34	/	0.54~0.32
	13	0.44~0.32	0.54~0.34	0.56~0.36	0.58~0.36	0.56~0.34	0.56~0.32	/	0.56~0.34
	14	0.46~0.30	0.62~0.36	0.64~0.38	0.64~0.40	0.64~0.40	0.64~0.38	0.62~0.36	0.62~0.36
	15	0.48~0.32	0.68~0.38	0.66~0.40	0.64~0.40	0.64~0.38	0.64~0.38	0.64~0.38	0.62~0.32
Antierythrocyte-serum	16	0.46~0.32	0.76~0.40	/	0.74~0.40	0.72~0.38	0.64~0.38	0.60~0.34	0.56~0.34
	17	0.48~0.32	0.66~0.34	/	0.78~0.38	0.76~0.38	/	/	/
	18	0.48~0.30	0.76~0.36	/	0.76~0.38	0.72~0.34	0.56~0.30	0.58~0.30	0.52~0.30
	19	0.46~0.30	0.74~0.38	/	0.74~0.36	0.76~0.34	0.72~0.36	0.68~0.34	0.54~0.30
	20	0.48~0.32	0.76~0.38	/	0.78~0.38	0.74~0.36	0.74~0.36	0.68~0.34	0.70~0.36

Normal rabbit-serum	21	0.46~0.32	0.46~0.32	0.46~0.34	/	0.46~0.32	0.46~0.30	0.46~0.30	0.46~0.32
	22	0.46~0.32	0.46~0.32	0.46~0.32	/	0.46~0.32	0.44~0.30	0.46~0.30	0.46~0.30
	23	0.42~0.30	0.42~0.30	0.44~0.32	0.44~0.32	0.44~0.30	0.44~0.32	0.44~0.32	0.44~0.32
	24	0.42~0.32	0.42~0.32	0.44~0.32	0.44~0.32	0.44~0.30	0.44~0.30	0.42~0.32	0.44~0.32
	25	0.46~0.32	0.46~0.32	0.46~0.32	0.44~0.32	0.46~0.32	0.46~0.32	0.46~0.32	0.46~0.32

5) 赤血球抵抗の変化を検討すると、表11に示す 14日後においてもなお、抵抗の減弱が認められた。ように抗血清注射後著明な赤血球抵抗の減弱を来し、

Table 12. Changes of Serum Bilirubin after Injecting Antiserums.

Injected antiserum	Dog No.	Before	1 st day	2 nd.	3 nd.	5 th.	7 th.	10 th.	14 th.
Antiliver-serum	1	0.32(0)	0.62(0)	/	0.88(0.12)	/	0.68(0)	/	0.52(0)
	2	0.45(0.12)	/	/	0.90(0.33)	/	0.70(0.12)	/	0.70(0.10)
	3	0.65(0.14)	0.72(0)	/	1.02(0.52)	/	0.90(0.14)	/	0.68(0.12)
	4	0.32(0)	0.68(0.14)	/	1.09(0.18)	/	0.69(0.14)	/	0.40(0)
	5	0.50(0.18)	0.62(0.33)	/	0.72(0)	/	0.45(0.12)	/	0.33(0)
Antikidney-serum	6	0.32(0)	*	*	0.70(0.12)	/	0.58(0)	0.48(0)	/
	7	0.32(0)	*	*	/	0.72(0.12)	0.40(0.24)	0.48(0.12)	0.68(0)
	8	0.42(0.12)	*	*	0.50(0.18)	0.46(0.20)	0.40(0.10)	/	/
	9	0.90(0.33)	*	/	/	0.88(0.40)	0.90(0.14)	0.71(0)	0.52(0)
10	0.90(0.32)	*	/	1.09(0.52)	0.62(0.36)	0.90(0.14)	0.52(0)	0.52(0)	
Antispleen-serum	11	0.45(0)	/	0.88(0)	0.90(0.12)	/	0.62(0.02)	0.45(0.02)	/
	12	0.45(0)	0.62(0)	0.72(0)	0.88(0.12)	/	0.45(0.12)	/	0.40(0)
	13	0.45(0)	0.68(0)	0.98(0.12)	0.88(0.12)	/	0.45(0.03)	/	0.33(0)
	14	0.33(0.12)	*	0.90(0.14)	1.09(0.33)	1.02(0.12)	/	0.90(0.52)	0.80(0.33)
	15	0.90(0.14)	*	*	1.02(0.33)	1.02(0.12)	1.09(0.52)	0.90(0.14)	1.10(0.48)
Antierythrocyteserum	16	0.32(0)	*	/	*	1.09(0.33)	0.90(0.12)	0.90(0.32)	0.68(0.14)
	17	0.45(0.14)	*	/	*	0.80(0.14)	/	/	/
	18	0.32(0)	*	/	*	0.72(0)	/	0.90(0.14)	/
	19	0.40(0.12)	*	/	0.90(0.33)	0.52(0)	0.52(0)	0.52(0)	0.70(0.10)
	20	0.45(0.12)	*	/	/	0.90(0.12)	0.90(0.12)	0.52(0)	0.52(0)
Normal rabbit-serum	21	0.40(0.33)	/	0.72(0.33)	/	/	0.69(0.14)	/	0.72(0.14)
	22	0.69(0.14)	0.71(0.41)	/	0.72(0)	/	0.69(0.14)	/	0.72(0.33)
	23	0.32(0)	/	/	0.52(0.24)	/	/	/	0.50(0.18)
	24	0.50(0.18)	0.62(0)	/	0.46(0.24)	/	0.46(0)	/	0.50(0.33)
	25	/	/	/	/	/	/	/	/

* : Hemoglobinemia. () : Indirect bilirubin (mg%)

6) 抗血清注射後の血清 bilirubin 値の推移を検討すると表12の如く、抗血清注射後一過性に極めて軽度の上昇を示し、特に間接型 bilirubin の増加がみられる。抗赤血球血清、抗腎血清注射例、並びに抗脾血清注射例の一部においては、明らかな Hemoglobinemia 並びに Hemoglobinuria が観察され

た。

7) 抗臓器血清注射後、該抗血清中に含まれる溶血素及び凝集素が犬の生体内で如何なる消長を示すかを知るため、日を追つて、犬血清中の溶血素価並びに凝集素価を測定したが、各抗血清注射群とも既に注射後1日で犬血液中には存在せず以後も出現を

Table 13. Titer of Anti-anti dog erythrocyte rabbit serum-Chickin Serum.

Dilution of antigen	Dilution of antiserum									
	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480
1:1	##	##	##	##	##	+	+	+	+	-
1:2	##	##	##	##	##	+	+	+	-	-
1:4	##	##	+	+	+	+	-	-	-	-
1:8	##	##	+	+	+	-	-	-	-	-
1:16	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1:32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 14. Coombs' Test (direct method) after Injecting Antiserums.

Injected antiserum	Dog No.	Time							
		Before	1st day	2nd.	3rd.	5th.	7th.	10th.	14th.
Antiliver-serum	1	0	1:2	/	1:2	0	0	0	0
	2	0	1:2	/	1:2	1:2	0	0	0
	3	0	1:2	/	1:2	1:2	1:2	0	0
	4	0	1:2	/	1:2	1:2	0	0	0
	5	0	1:4	/	1:2	1:2	1:2	1:2	0
Antikidney-serum	6	0	1:8	1:8	1:4	1:4	1:2	1:2	1:2
	7	0	1:8	1:8	1:4	1:4	1:2	1:2	0
	8	0	1:4	1:4	1:2	1:2	1:2	/	1:2
	9	0	1:8	/	1:4	1:4	1:2	1:2	0
	10	0	1:4	/	1:4	1:4	1:2	1:2	1:2
Antispleen-serum	11	0	1:2	1:2	1:2	1:2	/	0	0
	12	0	1:4	1:2	1:2	1:2	/	0	0
	13	0	1:2	1:2	/	1:2	/	0	0
	14	0	1:2	1:4	1:2	1:2	/	1:2	1:2
	15	0	1:4	1:4	1:2	1:2	/	1:2	0
Antierthrocyte-serum	16	0	1:64	/	1:16	1:8	1:8	1:4	1:2
	17	0	1:128	/	1:64	1:64	1:64	/	/
	18	0	1:64	/	1:32	1:16	1:16	1:4	1:4
	19	0	1:32	/	1:16	1:16	1:16	1:4	1:4
	20	0	1:128	/	1:64	1:32	1:32	1:16	1:8
Normal rabbit-senm	21	0	0	/	0	0	0	0	0
	22	0	0	/	0	0	0	0	0
	23	0	0	/	0	0	0	0	0
	24	0	0	/	0	0	0	0	0
	25	0	0	/	0	0	0	0	0

みなかつた。ところが抗血清注射後日を追つて犬赤血球について表13に示すような抗体価を有する抗一抗犬赤血球家兎血清一鶏血清を用いて、定量的直接 Coombs 試験を行つたところ、表14のように、各抗

血清注射例により程度の差はあるが、注射後1日目において最も高い陽性価を示し、以後その Titer は、漸減の傾向を示すが、7~14日目においても、なお軽度ながら陽性を示すものが認められた。

Table 15. Histological Changes in the Cases being injected Antiserums.

Histological changes	Injected antiserum			
	Antiliver-serum	Antikidney-serum	Antispleen-serum	Antierthrocyteserum
Liver	Necrosis of liver cells	##	±	-
	Degeneration of liver cells	##	+	±
	Kupffer's cell reaction	##	##	+
	Leucocyte infiltration in Glisson's capsule	##	+	±
Kidney	Glomerulitis	-	##	-
	Degeneration of tubules	±	##	±
	Albumin cylinder	-	+	-
Spleen	Proliferation of follicles	##	+	-
	Congestion of pulpa	##	##	+
	Swelling of reticulum cells	±	±	##
Lymph-gland	Proliferation of follicles	##	##	##
	Catarrh of sinuses	+	+	±
Bone-marrow	Hematopoiesis	+	+	##

Table 16. Distribution of Hemosiderin in Various Organs of the Cases being injected Antiserum.

Organ	Injected antiserum			
	Antiliver-serum	Antikidney-serum	Antispleen-serum	Antierthrocyteserum
Liver	+	+	+	##
Spleen	##	##	##	##
Lymphgland	±	±	±	±
Bone marrow	+	±	+	+

8) 抗臓器血清注射後の諸臓器の組織学的変化
各種抗臓器血清注射後14日目に脱血致死させ、肝、腎、脾、淋巴腺及び骨髓等の組織学的検索を行つた。

この際の組織学的変化は表15に示すように、負荷抗血清によつて肝、腎、脾の諸臓器における組織学的変化にかなりの差異が認められた。即ち肝臓では抗肝血清注射例では、肝細胞に壊死が認められたが、抗腎一、抗脾一、抗赤血球血清注射例では壊死巣は認められなかつた。

腎臓においては、糸球体炎が抗腎血清注射例に100%に認められた他、細尿管上皮変性、蛋白円柱等が認められたが、他の臓器抗血清注射例には著明な腎の組織学的変化は認められなかつた。

脾臓においては、抗脾一、抗赤血球血清注射例では著明な動脈性充血を主病変とし、脾濾胞の萎縮、細網織の増生並びに変性を認め、一方、抗肝一、抗腎血清注射例では脾濾胞の反応中枢の形成、濾胞の肥大、髄索内細胞浸潤が認められた。

以上の如く、各抗臓器血清注射例においてそれぞれ該当臓器に特異的な変化を来すと共に肝、脾等の網内系に、それぞれかなりの反応を惹起し、かつ表16に示す如く、著明な Hemosiderosis が認められ、生体内溶血を思わせる組織像がみられた。

4. 総括並に考案

臓器細胞を抗原として異種動物を感作した場合、その臓器に対する抗体価の上昇と同時に、他の種々の臓器に対しても非特異的な抗体価の上昇をみることは、既に佐多¹³⁾、Wolff²⁵⁾、馬杉等⁵⁾、岸岡⁷⁾等多くの報告がある。その際、臓器の種類によつては血清学的近似性がことなり、佐多¹³⁾、Wolff²⁵⁾、馬杉等⁵⁾、岸岡⁷⁾等は肝と腎との間に他臓器に比して明らかな近似性を認めている。

著者の実験においても、犬の肝、腎及び脾を抗原として家兎を感作した場合に、それぞれの臓器に対する特異性抗体価の上昇と共に、他臓器に対しても非特異性抗体価の上昇を認めているが、その際抗腎血清に最も特異性が強く、しかも腎と肝との間に比較的著明な交叉反応を認めていることは、上述の諸家の成績と一致している。

一方、Dungern¹²⁾、Pearce⁹⁾等は既に抗臓器血清中には溶血素並に赤血球凝集素の含有されていることを指摘し、かつ Pearce⁹⁾は灌流により充分血液成分を除去してえた抗臓器血清においても、なおかつ溶血素及び赤血球凝集素が含まれていることを認めている。馬杉等⁵⁾は充分灌流したマウスの肝臓及び腎臓を抗原として家兎を感作した場合においても、なお多少にかかわらず溶血素価、赤血球凝集価並び

に血清沈降素価が非特異的に含有されていることを報告している。著者の実験においても、各抗臓器血清により程度の差はあるが、それぞれ溶血素並びに赤血球凝集素がかなり含まれている。かかる非特異的な溶血素並びに赤血球凝集素は抗原臓器の灌流後もなお残存した赤血球に由来することも否定しえないが最もその可能性の強いと考えられる抗脾血清が、他の抗臓器血清と比べて必ずしも高い溶血素価並びに赤血球凝集価を示さず、むしろ臓器抗体価にほぼ平行した溶血素価並びに凝集素価を示すこと、更に表には示さなかつたが殆んど赤血球の残存を除外しようと考えられる胃、十二指腸並びに胆のう等の粘膜による免疫血清においても、かなり高い溶血素価並びに凝集素価を認めていることより、かかる溶血素並びに赤血球凝集素が抗原臓器組織中に残存する赤血球に由来するものとの考えだけでは到底説明しえないところである。

Doerr¹⁴⁾は、この点に関して、抗原として使用した臓器乳剤や抽出液の中にその臓器に特異的な細胞の他に、赤血球、白血球、血小板、血管内皮細胞とか間葉性の支持組織細胞等の種々雑多の細胞を含んでいる為に、それによりえられた抗血清も又種々の抗体を含むことになるわけであるが、更に一方においては諸臓器の抗原性の間には、その動物の種族特異性に基づく免疫学的近似性のあることを強調している。

Furth & Kabat²⁶⁾²⁷⁾、或は Henle²⁸⁾等は高速遠心沈澱により細胞成分の分割を行い、細胞(臓器)の抗原性が microsome 分割にあることを明らかにし、同時に細胞中のいわゆる臓器抗原には異元抗原(Heterogenetic Organantigen)、同種特異抗原(Species specific Organantigen)、臓器特異抗原(Organ specific Organantigen)の他に Wassermann 抗原を有することを報告しているが、臓器特異抗原の他に、かかる複雑な抗原性をもつ臓器による免疫血清には、種々の非特異性抗体の含まれることは当然と考えられる。

さて、次にかかる抗血清を注射後の動物の血液像の変化を検討すると、注射した抗血清の種類により程度の差はあるが、すべての例において一過性の赤血球数減少を示し、かつ Hb 量並びに Ht 値も減少ないし低下し、形態的にも Microcytosis, Spherocytosis を認めた。赤血球抵抗は抗血清注射後著明な低下を示し、比較的長期間持続する。更に抗赤血球血清注射例、抗腎血清注射例並びに抗脾血清注

射例の一部においては、抗血清注射後一過性の Hemoglobinemia と Hemoglobinuria がみられた。又 Price-Jones 曲線の変化をみると、抗血清注射後 1～3 日目においては明らかに曲線は左方移動し、Microcytosis を来していることを示しているが、3～5 日と日を追って漸次右方へ転じてくる。

次に網状赤血球数は抗血清注射後 1 日目に既に増加を示し、その後更に増加しつつかなり長期間持続する。

これらの変化は臨床例における溶血性貧血の血液像に酷似し、抗臓器血清の注射により一過性の溶血性貧血が起つていることを示すものと考えられる。即ち抗赤血球血清注射による定型的な急性溶血性貧血と比べて、他の諸種抗臓器血清注射によつても、程度の差はあるが、その血液像の変化は溶血性貧血を示していることが注目される。

さて、溶血素注射による溶血反応は、その量によつて種々の症状を呈するものとされている。大量の溶血素を注射した場合には Hemoglobinemia と Hemoglobinuria を主徴とする電撃性の溶血性貧血がおこり、中等量を注射した場合には急性溶血性貧血が起り、小量の溶血素を注射した場合には慢性ないし亜急性の溶血性貧血が起るが、この場合は骨髓の Erythropoiesis が旺盛となり、溶血症状が気付かれない場合が多いという。

著者の抗血清 0.3～1.5 cc/kg, 1～2 回注射した実験では、Hemoglobinemia 及び Hemoglobinuria を認めた抗赤血球血清注射例、抗腎血清注射例並びに一部の抗脾血清注射例は、上述の 3 つの型の中、大量の溶血素を注射した場合の電撃性溶血性貧血像に一致し、その他の抗脾血清注射例及び抗肝血清注射例は中等量の溶血素を注射した場合の急性溶血性貧血像に一致するものと考えられる。

さて、ここで注目すべきことは、抗血清注射後、著明に赤血球抵抗が低下し Microcyte, Spherocyte をみ、網状赤血球は日を追って増加し 10～14 日目に至るまで Reticulocytosis が持続することと、Price-Jones 曲線が全体としては左方移動を示すが形が乱れ 2 つの峰が存在していることであり、又塗抹標本ではなお Spherocyte, Microcyte が存在するのに大きな赤血球が増加している点である。

これらの所見は Dameshek¹⁸⁾ が抗海猿赤血球家兎血清で海猿に起した実験的溶血性貧血の場合、更に畔柳等²¹⁾ が抗家兎赤血球犬血清を家兎に注射して起した実験的溶血性貧血の場合と全く一致し、抗

血清注射によつて既存の成熟赤血球に障害が及び Spherocyte, Microcyte の出現となり、赤血球抵抗の低下を来し、一方かかる変化による赤血球の破壊に対応するため骨髓において旺盛な Erythropoiesis が行われ網状赤血球の増加を示すものと考えられる。この網状赤血球は殆んど大部分が大赤血球であるために抗血清注射により末梢血液中に Microcyte, Spherocyte と大赤血球とが併存する二相性赤血球分布を示すものと考えられる。

Dameshek は抗赤血球血清を注射した場合の以上の如き溶血性変化は抗血清中に含まれる溶血素によるものであるとしているが、これに対して畔柳等は抗赤血球犬血清注射により家兎に起させた溶血性貧血の実験において抗血清注射後の家兎流血中の溶血素及び赤血球凝集素が常に陰性であり、しかも赤血球抵抗が抗血清注射後相当長期にわたって低下していることより、これらの変化が抗血清中の 2 価の抗体である溶血素、赤血球凝集素の作用によつておこることに疑問をもち、家兎赤血球に対する犬の抗血清を家鴨に注射してえた抗—抗家兎赤血球犬血清—家鴨血清 (Anti-antirabbit erythrocyte dog serum-Duck Serum) をもつて直接 Coombs 試験を行い、赤血球抵抗の低下している期間中は抗血清中の 1 価の抗体が赤血球の表面に吸着されていることを証明し、更に抗家兎赤血球犬血清中に含まれる 2 価の抗体である溶血素及び赤血球凝集素を加熱破壊した抗血清を家兎に注射しても同様な急性溶血性貧血を起しうることを証明し、かかる immunohemolytic な貧血の Mechanism に 1 価の抗体が重要な意義を有することを強調している。

著者の実験においても各種抗血清中に含まれている 2 価の抗体である溶血素、赤血球凝集素は抗血清注射後の犬流血中には常に陰性であり、しかもかなり長期間にわたり赤血球抵抗の低下していることは、2 価の抗体である溶血素、赤血球凝集素以外の要素の関与が推定されるので、抗犬赤血球家兎血清を鶏に注射して得た抗—抗犬赤血球家兎血清—鶏血清 (Anti-anti dog erythrocyte rabbit serum-Chicken Serum) を用いて抗血清注射後の犬赤血球について直接 Coombs 試験を行つた所、抗血清注射後かなりの期間にわたり、直接 Coombs 試験陽性を示すことが観察された。しかしながら抗臓器血清注射例においては必ずしも赤血球抵抗の低下している期間中に直接 Coombs 試験陽性を示さず、多くは一過性であつた点が、畔柳等の場合とことなつており、赤

血球抵抗の低下は1価の抗体のみによるものと俄かに断定し難い結果をえた。

次に組織学的変化では、既にのべたように抗肝血清注射例では肝細胞に壊死が認められ、抗腎血清注射例には100%に糸球体炎が、そして抗脾血清注射例では脾濾胞の萎縮、細網織の増生等、それぞれの臓器に比較的特異的な変化を来しつつもなお一般に網内系に対する侵襲が強くみられた。即ち脾、肝、リンパ腺等における網内系の反応並びに Hemosiderin 沈着が各抗臓器血清注射の場合に認められ、かかる変化は抗臓器血清注射による生体内溶血を裏付けるものと考えられる。

5. 結 論

諸臓器抽出抗原で家兔を感作してえられた抗臓器血清中には抗原をえた動物の赤血球に対する溶血素、凝集素が生成されることが観察されたので、これら抗臓器血清の負荷による実験的溶血性貧血の機序と生体反応としての意義につき検討し次の結果をえた。

1) 犬肝、腎、脾等、各種臓器生理的食塩水抽出抗原で家兔を感作すると該臓器に対する抗体価の上昇と共に、それぞれ他の臓器に対する非特異性抗体価の上昇もみとめられる。又、同時に犬赤血球に対する溶血素価、凝集素価の上昇が認められた。

2) 上述抗臓器血清注射後の犬の血液像の変化を観察して、赤血球数の減少、Hb 値、Ht 値の減少

ないし低下、赤血球抵抗の低下及び網状赤血球増加を示す急性溶血性貧血の像を認めた。

3) 抗臓器血清注射後、犬の流血中には2価の抗体である溶血素、赤血球凝集素は証明されないが、赤血球抵抗は、かなりの期間にわたって著明な低下を示し、かつ犬赤血球は直接 Coombs 試験陽性を示した。

4) 組織学的には、抗腎一、抗肝一、抗脾血清の順に、それぞれの臓器に特異的な変化を示し、同時に脾、肝、リンパ腺等における網内系の反応も強度で、かつ Hemosiderosis もみられ、生体内溶血を思わせる変化が認められた。

5) 抗臓器血清を注射した動物では、該臓器に比較的特異的な障害がみられると共に、非特異的変化の一つとして抗血清中に含まれる溶血素、赤血球凝集素により急性溶血性貧血が惹起され、しかも、かかる immunohemolytic な貧血においても1価の抗体がかなりの意義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御指導と御校閲の労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。

(本論文の要旨は第20回日本血液学会総会において発表した)。

文 献

- 1) Delzenne: Centralblatt Bakt., 30, 411 (1900).
- 2) Lindemann, W.: Ann. de l' Institut Pasteur, 14, 49 (1900).
- 3) Beebe, S. P.: J. Exp. Med., 7, 773 (1905).
- 4) Joanovics, G.: Wien. Med. Wschr., 7, 228 (1909)
- 5) 馬杉復三, 富塚八十一: 千葉医学会雑誌, 9, 114 (昭6).
- 6) 馬杉復三: 腎炎その他の研究, 寧楽書房, 東京 (昭23).
- 7) 岸岡精華: 岡山医学会雑誌, 45, 460, 877 (昭9).
- 8) Meyer-Krahmer, H. G.: Z. Exp. Med., 116, 390 (1943).
- 9) Pearce, R. M.: J. of Med. Research, 12, 329 (1904).
- 10) Woltmann, H.: J. Exp. Med., 7, 119 (1905).
- 11) 藤本武平二: 日新医学, 9, 343 (大10).
- 12) Dungern, V.: Münch. Med. Wschr., 38, 1228 (1899).
- 13) Sata, A.: Betr. Z. Path. Anat., 39, 1 (1901).
- 14) Doerr, R.: Allergische Phenomene, Handbuch der Normalen und Pathologischen Physiologie, Bd. 13, 651, Julius Springer, Berlin (1929).
- 15) Donath & Landsteiner, K.: Münch. Med. Wschr., 2, 1590 (1904).
- 16) Chauffard, M. A. & Troisier, J.: Semaine Med., 28, 908 (1908).
- 17) Widai, F., Adrami, P. & Brule, M.: Arch. Mal. Coeur., I, 193 (1908).
- 18) Dameshek, W. & Schwartz, S. O.: A. J. M. Sc., 196, 769 (1938).
- 19) Wiener, A. S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,

- 56, 173 (1944).
- 20) Coombs, R. R. A., Mourant, A. E. & Race, R. R.: Brit. J. Exp. Path., 26, 255 (1945).
- 21) 畔柳武雄他 綜医学, 12, 255 (昭30).
- 22) 伝染病研究所学友会編: 細菌学実習提要, 丸善, 東京 (昭28).
- 23) 緒方富雄: 血清学実験法, 南山堂, 東京(昭22).
- 24) 松橋直: 臨病理, 特集, 5, 20 (昭32).
- 25) Wolff, F. K.: Klin. Wschr., 2, 1364 (1923).
- 26) Furth, J. & Kabat, E. A.: Science, 91, 483 (1940).
- 27) Furth, J. & Kabat, E. A.: J. Exp. Med., 74, 249 (1941).
- 28) Henle, W., Chambers, I. A. & Vincent. G.: J. Exp. Med., 74, 495 (1941).

Studies on Incomplete Antibody and Organ Ahtibodies

Part 3. An experimental study on heterogenous Organ antibodies

By

Mutuso Ujike

From the 1st. Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyowo Kosaka)

It has been previously confirmed that hemolysin and agglutinin are produced for erythrocytes in the anti-sera of the animals receiving the antigen obtained from the rabbits sensitized with antigens extracted from various viscera. Therefore, with the purpose to study the significance of the mechanism and the *in vivo* reactions of hemolytic anemia the author induced in various animals by injecting these heterogenous organ antisera, and obtained the following results.

1. When rabbits are sensitized with the physiological saline solution of various organ antigens extracted from such organs as the dog liver, kidneys and spleen, a rise in the antibody titer for the liver as well as a rise in the non-specific antibody titer for the other organs can be observed. Simultaneously an increase in the hemolysin value and agglutinin value can be recognized.

2. In observing changes in the blood picture of the dogs after the injections of the various organ antisera mentioned above, there has been recongized a picture of an acute hemolytic anemia revealing a decrease in the erythrocyte count, a decrease or a fall in Hb and Ht values, a fall in erythrocyte resistance and an increase in the reticulocyte count.

3. Although no bivalent antibodies such as hemolysin and erythrocyte agglutinin can be detected in the circulation blood of the dogs injected with various organ antisera, the erythrocyte resistance shows a marked fall for a considerably long period of time, and also the dog erythrocytes prove to be positive to direct Coombs' tests.

4. Histologically specific changes of viscera have been demonstrated in the order of the antiserum for the kidneys, antiserum for the liver, and antiserum for the spleen, showing the changes specific to each organ. At the same time the reactions of the reticulo-endothelial system in the spleen, liver and lymph nodes are marked, and hemosiderosis can also be recognized, indicating the changes suggestive of *in vivo* hemolysis.

5. In the animals injected with organ antisera relatively specific disturbances can be recognized in corresponding organs and at the same time an acute hemolytic anemia is induced by hemolysin and erythrocyte agglutinin contained in the organ antisera as one of non-specific changes. Moreover, it has been clarified that a mono-valent antibody plays a considerably significant role even in such an immuno-hemolytic anemia.