

Title	ニワトリ及びアヒル卵白リゾチームの免疫学的交叉反応について
Author(s)	齊木, 良彦
Citation	大阪大学, 1961, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28288">https://hdl.handle.net/11094/28288</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	育 木 良 彦 さい き よし ひこ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 174 号
学位授与の日付	昭 和 36 年 3 月 23 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ニワトリ及びアヒル卵白リゾチームの 免疫学的交叉反応について
論文審査委員	(主 査) (副 査) 教 授 天 野 恒 久 教 授 川 俣 順 一 教 授 須 田 正 己

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 目 的

昨年教室の岸口は HL (Hen egg white lysozyme) とこれをメチルエステル化した HLME (Hen lysozyme methyl ester) を得て、相互間の免疫学的交叉反応を研究し、その結果 HL と HLME との間には沈降反応の抗原価に於いて一価の差のある事、更に HL に対する中和抗体に於いても抗 HL 血清には HLME で吸収されない抗体が約 $1/5$ 量含まれている事を明らかにした。この事からメチルエステル化により失われる抗原決定群は1個であり中和抗体の一部もそのメチル化で作られなくなると結論した。然しながら抗 HL 血清中の凡ての抗体が中和抗体であるか否かに関しては不明であった。著者はニワトリ及びアヒル卵白アルブミンの交叉反応より考えて、アヒル卵白Lysozyme (DL) を抽出精製することが出来れば、抗 HL 血清の抗体の分類が更に可能となり中和抗体の性格を明らかに出来ると考えてこの研究を行った。

## 方法及び成績

HL, Alderton 及び Fevold の直接結晶法により得た等電 Lyso. を3回再結晶後、IRC-50 カラムで分割し用いた。

DL, Alderton の Bentonite 吸着法を参考にし、Lysozyme 活性を有する3つの component を得た。主成分をとり DL として用いた。

HLME 及び DLME, HL 及び DL を Frieden 及び Fraenkel-Conrat らの方法に準じて調製した。抗血清、数匹の家兎を免疫し、血清をとり、Bentonite で血清 Lysozyme を除去したのち、非働化し pool して用いた。

N定量、岸口らの Folin-Wu の direct Nesslerization 法の変法及び Ultra-Micro Kjeldahl 法を用いた。Gel 内沈降反応、Ouchterlony の double diffusion 法を用いた。

定量沈降反応、Heidelberger 及び Kendall の術式に従い、上清テストは混合法を用いた。

Lysozyme 活性は Smolelis の方法に準じて測定し、上清中の残存中和抗体量は上清に一定量の Lyso. を添加したのち、上清の Lyso. 活性を測定して算出した。

抗 HL 血清と 4 種抗原 (HL, HLME, DL, DLME) の定量沈降反応、上清テスト、Gel 内沈降反応の結果より、抗 HL 血清に対し DLME は 3 価、DL は 4 価、HLME は 6 価、HL は 7 価として働くことが明らかとなった。又抗 HL 血清は、HL に対する中和抗体よりみて 3 種類に分類出来る。即ち第一は HLME で吸収されないもの (15.3%) であり DL に対しても中和能を有する。第二は DLME で除去される中和抗体で (31%) DL に対しても中和能を有する。第三は HLME で吸収されるもので、DLME で吸収されないもの (53.7%) である。

DLME と DL とを比較すると抗 DL 血清との反応性に於いて、DL は DLME より抗原価が一価高い事が明らかとなったが、これは HL と HLME との間の差と良く一致する。抗 DL 血清は抗体過剰域に於て沈降物の抗原抗体分子比が略々一定値を示し、通常の兔血清の像とは全くことなる像を示したので、この実験は数回くり返したが常に略々同一の結果をえた。この為抗 DL 血清に関しては 4 種抗原の抗原価は比較しえなかった。

抗 DL 血清にも同様に DL に対する中和抗体よりみて 3 種類に分けられる。第一は DLME で吸収されないもの (31.6%) で HL に対しても中和能を有す。第二は HLME で吸収されるもの (27.5%) で HL に対しても中和能を有する。第三は DLME で吸収されるもので HLME で吸収されないもの (41%) である。

抗 HL 血清及び抗 DL 血清について、中和抗体量より交叉反応により沈降しうる抗体量を質量単位におきかえて計算し、実測値と比較した所、抗 HL 血清については略々一致したが、抗 DL 血清については成立しなかった。かくして最初の目的の一つであった HL、又は DL のすべての抗体分子が中和抗体であるか否かについては未だに結論を下しえない。

#### 総 括

新たにアヒル卵白より DL をえた。このものは免疫学的にも、クロマトでも超遠心でも均一な物質である事が明らかとなった。又これのメチルエステル化により DLME をえた。かくして HL, HLME, DL, DLME とこれらの抗血清の免疫学的交叉反応により、抗 HL 血清には HL に対する中和抗体よりみて 3 種類に、又抗 DL 血清は DL に対する中和抗体よりみて 3 種類に分類される事を明らかにすることが出来た。

### 論文の審査結果の要旨

リゾチームは分子量14500の一本のペプチドより成る蛋白質であり、抗原性を有する蛋白質の中、最小のもので、然も抗血清によりその酵素作用が完全中和されるので免疫学上極めて興味深いものである。その上に、大腸菌のバクテリオファージの尾部尖端部にも類似酵素が含まれているのでファージ中和反応の面からも興味を持たれるものである。

ニワトリ卵白リゾチームの抗原抗体反応の研究は Robert (1937年) Smolens (1947年), Wetter (1951年) 等の報告があるが、それらは研究方法が半定量的であったり又抗原が不純であった為に明解な結果が得られていなかった。

1959年教室の岸口は完全に純化したもの (以下 HL と記す) と、リゾチームをメチルエステル化したもの (以下 HLME と記す) の各々の抗血清との間の交叉反応について研究し、抗血清中には特異性の異なる2種類の中和抗体が含まれることを明らかにし、恐らくはその中和抗体の一つは活性中心の近傍の抗原性基に対応し、他の一つは基質である菌体 (*Micrococcus lysodeikticus*) との附着基の近傍の抗原性基に対応して生じたものであらうと説明した。

著者は HL, HLME の他にアヒルの卵白リゾチーム (以下 DL と記す) が卵白アルブミンと同様にニワトリのリゾチーム (HL) と交叉反応があるものと推定し、DL を純化し、更にそのメチルエステル (以下 DLME と記す) を調製し、HL, HLME, DL, DLME の抗原とそれらの抗血清との間の沈降中和両反応を研究した。その結果明らかにされたことは、次の通りである。

1. 抗 HL 血清に対し、HL は7価、HLME は6価、DL は4価、DLME は3価として反応し、DLME の3個の抗原決定群は他の3抗原に共通するもので、DL と HL は予想通り交叉反応をすることが明らかになった。

2. 抗 HL 血清は HL に対する中和能よりみて、3種類の中和抗体を含有している。第一は HLME で吸収されないもので DL に対しても中和能を有する。第二は HLME で吸収されるが DLME によっても吸収されるもので HL, DL の両者を中和し得るもの。第三は HLME でのみ吸収されるもので HL のみを中和し DL を中和し得ないもの。

3. 上記の抗 HL 血清中の第一群の中和抗体が抗 HL 血清中の総沈降物中 HLME で沈降する最大抗体量を差引いたものに他ならないと仮定して、DL を中和しうる抗体が DL で沈降する抗体であるとして計算すると、実測した沈降抗体量と極めてよく一致した。又 DLME についても同様によく一致した。この様な事実は2年前に教室の岸口がなした推定を覆えし、抗 HL 血清中の全抗体が中和能を有するものであることを暗示している。

4. DLと DLME との差は岸口が明らかにした HL と HLME との間の差と同様で抗 DL 血清に対し、DLME は DL より抗原価が一価少ない。

5. 抗 DL 血清中の DL に対する中和抗体は抗 HL 血清の HL に対する場合と全く同様で3種の抗体群に分類された。

以上の結果は、リゾチームの全アミノ酸排列が Jollét により明らかにされんとしている時であるので、その蛋白質の立体構造の解明に資するものであることは勿論、バクテリオファージの中和現象の解析にも資する所あらうと考える。