OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	正常人血清によるEhrlich腹水癌細胞溶解機構（特に易熱性因子について）
Author(s)	徳永, 昭夫
Citation	大阪大学, 1961, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28385
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【3】

氏名・(本籍)	徳永昭夫（とくながあきお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第245号
学位授与の日付	昭和36年12月26日
学位授与の要件	医学研究科　外科系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**正常人血清による Ehrlich 腹水癌細胞溶解機構** （特に易熱性因子について）
論文審査委員	（主査）教授 久留　勝　（副査）教授 天野　恒久　教授 藤野恒三郎

論文内容の要旨

〔目　　的〕

人血清による人癌細胞溶解現象については，1910年に Freund, Kaminer が報告したが，人癌細胞を遊離の状態で，傷害なしに得ることは困難である。糸氏は人癌細胞の代りに Ehrlich 腹水癌細胞（EATC）を用い，in vitro で溶解活性を測定し，癌，結核，糖尿病，肝硬変等の疾患で溶解活性の減少することを報告した。石橋は，この溶解機構につき解明し第一段階として γ-グロブリン分画に含まれ，56°C 30分加熱に耐熱性の因子がEATCに吸着し，第二段階として易熱性因子が Mg^{++} の存在下に作用し，37°C で速かに溶解にいたることを報告した。私は易熱性因子につき，溶血系補体との関係を追求し，さらにまた1954年来 Pillemer により提唱された先天性免疫抗体 Properdin が本反応に関与しないことを見出したので報告する。

〔方法並びに成績〕

（Ⅰ）実験方法

1) 易熱性因子活性測定：ddO系マウスに EATC を腹腔内に移植，第7日目に穿刺，その50万個に，低温下で加熱人血清を作用せしめた後，被検血清を加え，37°C1時間保温，特定の形態学的変化及びAzur Ⅱによる被染色性を目標とし，その変化率を以て，その血清濃度における易熱性因子活性とした。

2) 補体活性測定：3％感作牛血球1mlに対する50％溶血単位を以て現した。

3) C'_1 の精製：Pillemer の方法による。

（Ⅱ）実験成績

A) 溶血系と EATC 溶解系との類似点

(1) 補体不活性化と易熱性因子活性の消長

溶血系補体は，四成分即ち易熱性の中節（C'_1）末節（C'_2），耐熱性の C'_3，C'_4 よりなるが

a) 加熱により C'_1 及び C'_2 を

b) Zymosan 吸着により C'_3 を

c) アンモニウム基処理にて C'_4 を

d) 抗原抗体複合物にて C'_1, C'_2, C'_4 をそれぞれ不活性化するとき，補体活性の消失とともに，易熱性因子も不活性化される。

(2) 補体の消費

人血清に EATC を加え，37°C にて溶解を起さしめ，その前後の補体活性の消費をみる時，補体価全体としては軽度の消費をみるのみであるが，それを各成分についてみると，C'_2, C'_3, C'_4 の消費を認め，C'_1 については顕著なる消費を認めない。

(3) 補体成分の組合せ実験

a) M/200 KH_2PO_4 溶液にて人血清を稀釈し，C'_1 と C'_2 を分離，その各々に加熱血清 (C'_3 と C'_4 を含む) を加え，R_1 (C'_2, C'_3, C'_4 を含む) 及び R_2 (C'_1, C'_3, C'_4) を作る時，その各々では溶解も溶血も起らないが，それらを混合する時，両活性とともに回復する。

b) 硫安分画による補体成分分離と，その組合せ

Cohn の方法により人血清をそれぞれ 0～1.39 M, 1.39～2.0 M, 2.0～2.5 M で沈澱する分画 I (C'_1 を含む) II (C'_3 を含む) III (C'_2, C'_4) に分つ時，その各々では溶解，溶血ともに起らず，三者を合せた時のみ両活性を回復する。

B) 溶血系と EATC 溶解系と異る点

1) 蒸溜水透析による影響

人血清を低温で，蒸溜水に対して 24 時間以上透析する時生ず沈澱 (C'_1 を含む) と，上清 (C'_2 を含む) を分別する時，その各々単独では，溶血，溶解ともに起らず，両者を混合する時は溶血のみ回復し，溶解は起らない。生理的食塩水にて同様処理する時は，両現象ともに存続する。

2) 大量の EATC 溶解による易熱性因子の不活性化

人血清 1 ml に 3000 万個の EATC を 37°C にて溶解せしめ，遠沈分離した上清中には，耐熱性，易熱性因子の消失をみるが，この時溶血能力は反応前後においてほとんど相異をみない。

3) モルモット血清と易熱性因子

溶血系においては加熱非働化血清は，新鮮モルモット血清の添加によって溶血能力を回復するが，本反応においては EATC 溶解活性はモルモット血清によって回復せず，却って溶解を阻害する作用を有する。これはモルモット血清中に存在する EATC 溶解抑制因子の作用によるものであり，その性質は，65°C 30 分の加熱に耐え，硫安分画では単一の分画に分離できず，第一段階において耐熱性因子の EATC への吸着を阻害する。

4) 精製 C'_1 と R_1 との組合せ実験

R_1 に，Pillemer の方法によって精製した C'_1 を添加する時もまた溶血系のみ回復する。これに，硫安 1.39～2.0 M 沈澱分画 II (C'_3 を含み，C'_1, C'_2 を含まず) を加える時，溶血価の上昇なきにかかわらず，溶解能力が回復する。この分画 II を 56°C 30 分加熱，および 24 時間蒸溜水透析を行う

時，その賦活能力は消失する。

C) Properdin系との関係

Pillemer は Zymosan によるC'_3の不活性化には，血中の Properdin が 17°C 以上で Zymosan と結合し，Mg^{++}の協調の下にC'_3を不活性化すること及び，Properdin は補体とMg^{++}の存在下に殺細菌性，ウイルス中和性，殺原虫性を示すことを立証した。EATC 溶解時にも，補体，Mg^{++}を必要とし，よく類似するが，Zymosan を 17°C 以下にて人血清に添加，Properdin のみを除去する時もなお，EATC 溶解能力は存在し，また一方大量の EATC を低温下で，人血清に作用せしめ，耐熱性因子を吸着除去した時，また 37°C で作用せしめ，耐熱，易熱性両因子を除去した後にも，Properdin は存在する。

〔総　　括〕

1) EATC 溶解現象には，易熱性因子として，C'_1，C'_2の関与は不明であるが，補体四成分の他に，硫安 1.39～2.0M 沈澱分画中に含まれ，長時間の蒸溜水透析で不活性化される一因子の必要なることを推測し得た。

2) 本反応には，Properdin は関与しない。

論文の審査結果の要旨

正常人血清による人癌細胞溶解現象は，1910年，Freund, Kaminer により報告され，その本態は，脂肪酸である Normaldarmsäure とされた。

人癌細胞の代りに，傷害なしに容易に得られる Ehrlich 腹水癌細胞（EATC）を用いた癌細胞溶解反応は糸氏により報告され，悪性腫瘍，糖尿病，肝硬変等において，その溶解能力の低下が証明され，石橋は，この反応には，耐熱性因子，易熱性因子およびMg^{++}の関与すること，耐熱性因子はγ-グロブリン分画に含まれることを報告した。本研究は，易熱性因子の性状，特に溶血系補体との異同についてなされ，加熱，Zymosan処理，アンモニウム処理，抗原抗体特異複合物処理によって，補体を不活性化する時，易熱性因子活性も同時に消失し，補体の関与が推測された。細胞溶解時の補体の消費は，大量の EATC 溶解にもかかわらず少量であるが，それを補体成分についてみると，C'_2，C'_3，C'_4 において消費が認められ，易熱性因子活性も平行して低下する。C'_1 については，その消費は僅少であるが，これに相当する易熱性因子成分の活性の低下は著明である。このような補体と易熱性因子活性の解離現象は，血清の蒸溜水透析の時にも認められ，EATC溶解には，溶血系補体四成分の他に新しい因子の必要なることを意味するものであり，この因子は，硫安 1.39-2.0 M 沈澱分画に含まれ，易熱性で，蒸溜水透析によって変化をうけるものである。

また 1954年来，Pillemer によって提唱せられた，先天性抗体である Properdin 系が，本反応に関与する可能性は，Zymosan 処理時の易熱性因子の変化，Mg^{++}の必要なることより予想されるが，耐熱性因子，易熱性因子を完全に除去した血清中にも，大量の Properdin の存在する事実より，Properdin の関与は否定される。

以上のごとく，本研究は，癌に対する自然抵抗の問題に結びつくものであり，溶血系補体とは異る新しい一因子の関与を証明した点で，注目されるものと考える。