

Title	Immunodiffusion及びImmunoelectrophoresisによる人皮膚可溶性抗原の研究
Author(s)	青木, 敏之
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28769
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	青 木 敏 之 あお き とし ひさ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 6 7 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
学位論文題目	Immunodiffusion 及び Immuno-electrophoresis による人皮膚可溶性抗原の研究 (主査) (副査)
論文審査委員	教 授 藤 浪 得 二 教 授 天 野 恒 久 教 授 山 村 雄 一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

アレルギー性接触皮膚炎，自家感作性皮膚炎の発生には皮膚，特に表皮の蛋白が抗原形成に重要な役割を演じていると言われ，特異抗原の存在が示唆されている。また最近，自己免疫の立場から各種皮膚疾患における抗皮膚自己抗体の検索が行なわれつつあるが，そこでも皮膚特異抗原の存在は欠くことが出来ない前提となっている。更にまた，皮膚の悪性腫瘍において抗原性の変化，消失等を問題にするときにも，まず正常皮膚の抗原組成が分析されていなければならない。従来，皮膚ないし表皮の特異抗原性は，動物では沈降反応，赤血球凝集反応，補体結合反応によって，人では蛍光抗体法によって研究されたが，皮膚抗原の分析的な研究は Baden と Freedberg がモルモット表皮の抗原を免疫電気泳動法で追求したものだけしかみられない。そこで私は臨床的に重要な人皮膚の可溶性抗原の分析を試みた。

〔方法並びに成績〕

抗原材料は，法医学解剖室に集まった屍体の中から死後時間の短いもの（3～20時間，冬季）を選び Kastroviejo's keratotome を使って 0.2mm の厚さに剝離した皮膚であって，組織学的に表皮全層と真皮上層の一部を含んでいる。従来，人皮膚は少量の場合を除き完全に磨砕されたことはなく，事実，0.2mm の厚さの皮膚も Waring blender, glass homogenizer, sonic vibration 等によってほとんど粉砕されなかった。結局，乳鉢と乳棒による磨砕が最も秀れた唯一のものであることが分かった。即ち，皮膚材料に少量のアルミナ粉末を加え，phosphate buffered saline を等量加えて 0°C で磨砕していると比較的短時間で泥状の homogenate が得られる。これを 2,000rpm, 5分遠沈した上清はほぼ透明で，1g 材料から約 20mg 蛋白が得られた。この上清を抗原として 1回 10mg 蛋白を Freund's complete adjuvant と混和し，家兎の皮内及び筋肉内に週 1回，4～5週続けて注射し，1ヵ月

休み、最後に抗原のみ1回筋肉内注射した。10羽免疫した中3羽は死亡し、残り7羽の中ゲル内沈降反応で多くの沈降線を描いた血清をもつ3羽から全採血した。分離した血清は更に1/2硫酸飽和による塩析を2度繰返すことによって精製し、もとの血清の1/2量になるように borate buffered saline (pH 8.4) に溶解した。このようにして得られた血清標品 No. 5, 10, 14 についてそれぞれ、immunodiffusion 及び immuno electrophoresis によって人皮膚抽出液の抗原分析を行なった。対照に用いた肝、腎、胃粘膜、肺、脾心筋、脳は Waring blender で粉碎したものを10,000g, 20分遠沈した上清を、更に100,000g 1時間遠沈し、得られた上清を凍結乾燥したもので、反応抗原としては30mg/ml に調製し、吸収抗原としては粉末のまま使用した。角膜は表層を薄く削ったものを細切して抗原とし、レンズはゲル状なのでそのまま抗原とし、葡萄膜は乳鉢で磨砕して抗原とした。

抗人皮膚兔血清にはアルブミン、 γ グロブリンをはじめとする数種の人血清蛋白に対する抗体が含まれていて、臓器由来の抗原によって生じる沈降線を掩ってしまうが、精製血清10mg 当りに人血清2mg を加えることにより抗人血清抗体は吸収された。

人血清で吸収された抗皮膚血清は、なお、皮膚、並びに、肝、腎、胃粘膜、肺、脾、心筋、脳、角膜、レンズ、葡萄膜等、検索されたすべての臓器抗原と沈降反応を起こした。このことから、皮膚には皮膚以外のあらゆる臓器、組織と共通する抗原の存在することが分かった。

そこで血清標品それぞれにつき臓器抗原で吸収を行なったところ、精製血清10mg 当りにそれぞれ、No. 5 には肝2.5mg, 脾2.5mg, 肺1mg, 胃粘膜2mg を、No. 10 には肝2.5mg, 脾2mg, 胃粘膜2mg を、No. 14 には肝2.5mg, 腎1.5mg を加えることによって皮膚特異の沈降線を残し、皮膚以外の臓器抗原に対する抗体は吸収された。

結局、皮膚特異の沈降線は No. 5 血清標品では1本、No. 10, No. 14 では3本ずつ認められ、その中、1本は3血清標品に共通し、No. 10 と No. 14 標品にみられる他の2本の沈降線は互に共通した。免疫電気泳動法によれば3血清標品に共通する沈降線は γ グロブリン領域に、他の2本は α グロブリン領域に認められた。

抗人皮膚特異血清は犬、猫、兎、モルモット、ラット、マウスの皮膚あるいは表皮の抽出液と全く沈降反応を起こさなかった。

〔総括〕

1. 人皮膚は0.2mmの厚さに剝離することにより比較的容易に乳鉢で磨砕することが出来た。
2. 人皮膚と、人の肝、腎、胃粘膜、肺、脾、心筋、脳、角膜、レンズ、葡萄膜との間には、血清成分以外の多くの共通抗原が存在した。
3. 人皮膚特異抗原は3つ認められた。

論文の審査結果の要旨

皮膚特異抗原に関する研究は沈降反応、補体結合反応、赤血球凝集反応を用いて古くから行なわれて来たが、特異抗原の在否については必ずしも一定の成績を得ていない。また蛍光抗体法によっても人皮膚、人表皮の特異抗原が研究されたが、良好なる抗人皮膚特異沈降抗体が得られていない。最近、

ゲル内沈降反応，免疫電気泳動法を用いて，犬角膜，人角膜，犬レンズに対する抗体がそれぞれの動物の皮膚と交叉反応することが報告された。しかしながら，皮膚に対する抗体を作って免疫電気泳動法で研究したのは Baden と Freedberg だけであって，彼らはモルモット表皮には4つの抗原が認められ，その1つは肝抗原と共通すると報告したが，他の3つの抗原が皮膚特異のものであるという証明を得ていない。著者の研究は臨床的に重要な意味を持つ人皮膚可溶性抗原の分析を行なったものである。最初の困難は極めて強靱な組織である皮膚の homogenate を得ることにある。皮膚の特異抗原は表皮に存在すべきもので真皮には在り得ないとする主張と，真皮の膠原線維が皮膚の強靱さの主体であることに基づいて，著者はケラトームを使って表皮全層と僅かの真皮成分を含む皮膚を採取することによってこの問題を解決した。そして得られた人皮膚の抽出液でもって家兎を免疫し，得られた抗人皮膚血清で人皮膚の抗原分析を行なった結果，著者は，人皮膚が他のあらゆる臓器，組織と共通する抗原をもつことを明らかにし，また，人皮膚特異抗原を3つ認めた。そして，この特異抗原が表皮に存在することも明らかにした。

従来，アレルギー性接触皮膚炎，自家感作性の発生には皮膚，特に表皮の蛋白が抗原形成に重要な役割を演じていると考えられて来たが，人皮膚の可溶性蛋白は今まで電気泳動像としてとられたことがあるだけで，特異蛋白は見つけられていない。従って，著者の研究は今後，皮膚蛋白を化学的に分析して行く上に大いに参考になるものであろう。皮膚の生理病理の解明に寄与するところ大である。