

Title	家兔抗血清中の低分子抗体に関する研究
Author(s)	桑原, 修
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28892">https://hdl.handle.net/11094/28892</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>〉</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)	桑原修 くわ ばら おさむ
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 834 号
学位授与の日付	昭和 41 年 1 月 27 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	家兔抗血清中の低分子抗体に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 天野 恒久
	(副査) 教授 米田 正彦 教授 山村 雄一

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

ニワトリ卵白 Lysozyme (HL) は抗原性酵素蛋白で *M. lysodeikticus* を基質とした時、その酵素活性は家兔抗 HL 血清によって完全に中和される。又抗 HL 血清と HL との抗原大過剰における可溶性結合物の解析より、非中和性の 7 S 抗体の存在が明らかとなり、同時に更に低分子の抗体様 Globulin も見い出された。

著者はこの低分子抗体様物質の性状を研究した。一般に抗体は大きさにより 7 S と 19 S に大別することができるが、7 S よりも低分子の抗体を天然に見つけたいという確実な報告はない。抗体活性のない低分子 Globulin は Bence Jones 蛋白をはじめとして多く見い出されている。著者の目的とした低分子 Globulin が抗体であるならば非常に興味ある事実であり、その大きさ、性状を知ることにより、一般の抗体の本質、由来についても多くの知見を得られるだろう。

#### 〔方法並びに成績〕

抗原抗体反応の最大の特徴は「特異性」ということであり、抗原が酵素であれば中和性ということも研究上有力な手段となる。著者は酵素蛋白である HL と、その対照実験に牛血清 Albumin (BSA) を抗原とし、家兔抗 HL 血清及び抗 BSA 血清より低分子  $\gamma$  Globulin を得た。これらが HL 活性を有する結合物を作るか、中和性の有無、HL と抗 HL 系定量沈降反応及び Gel 内沈降反応に対する態度、免疫電気泳動においてみる性状、Autoradiography で HL と結合する性質等により 1 価抗体であることを証明した。

1 Microglobulin の分離：非働化した家兔抗 HL 血清の硫酸  $\frac{1}{2}$  飽和沈澱物を Sephadex G 200 で M/50 PBS pH6.0 を使って Gel 処理を行なった。7 S 分画より少し遅れて溶出される分画を合計 4 回の Gel 処理の繰返しで単一な分画とした。超遠心分析の結果  $S=3.5$  であった。家兔抗 BSA 血清

からも同様にして Microglobulin を得た。

2 HL活性を有する結合物の証明：抗HL Microglobulin と HLとを抗原大過剰の割合で混合し反応後 Sephadex G75 で Gel 炉過した結果、Microglobulin 分画に相当する部分にHL活性があった。抗BSA Microglobulin ではこれに相当する部分にはHL活性は全くなかった。

3 中和能の証明：抗HL Microglobulin とHL溶液（濁度減少法で測定しうる至適量）を混合37°C 1時間放置後 M. Iysodeikticus の菌液を加えて37°C 5分後の濁度の減少を測定した。その結果抗HL Microglobulin HL活性を中和しうることが認められた。抗BSA Microglobulin についても同操作をしたがHL活性を中和しなかった。

4 HL~抗HL系定量沈降反応に対する影響：抗HL Microglobulin を更に DEAE クロマトを行ない4つの分画（Fr 1, 2, 3, 4）にした。HL~抗HL系の Ab excess, Eq, Ag excess の点であらかじめHLと上記分画の変量を混合37°C 1時間後に抗HL血清を加え37°C 1時間後更に4°C 2日後に沈降物窒素量を Micromethod で測定した。Fr 1 では Ab excess 及び Eq で約20%の附加反応、Ag excess で約20%の阻止反応が認められ、Fr 2, 3, 4 では著変はなく、又抗BSA Microglobulin でも同様操作をし HL~抗HL系で調べたが影響はなかった。

5 Gel 内沈降反応：Double diffusion によるHL~抗HL系の沈降線を抗HL Microglobulin の Fr 1 は阻止する。抗BSA Microglobulin Fr 1 では影響がなかった。同様にBSA~抗BSA系に対しては抗BSA Microglobulin Fr 1 の特異性が認められた。次にこれらの Microglobulin の抗原性を抗H-chain, 抗L-chain, 抗Fab, 抗Fc を用いて調べてみたがその結果 H-chain が主体をなしているらしい。

6 免疫電気泳動及び Autoradiography：Yagi らの方法により行なった結果 Microglobulin Fr 1 には1価の  $\gamma$ -Globulin 抗体が存在することが認められた。

7 抗体量の測定： $^{131}\text{I}$  HLを含むHLと Microglobulin とを混合し37°C 1時間後に Sephadex G75で分画し Count よりHLに結合した抗体量を求めた。その結果抗HL Microglobulin の約9%が抗体であり、又中和抗体価より計算してその約50%が中和抗体であると言える。

〔総括〕

家兎抗HL及び抗BSA血清を用いて低分子の1価抗体の存在を明らかにした。抗HL Microglobulin の約9%が抗体であって、その半分は中和抗体であり他は非中和性抗体として混在している。Gel 内沈降反応で沈降線を特異的に阻止する。免疫電気泳動により抗体は  $\gamma$ -Globulin であり抗原と特異的に結合する。

## 論文の審査結果の要旨

卵白リゾチーム（HL）に対する家兎抗血清中には中和性抗体及び非中和性抗体が混在していることは既に教室から報告されている。これらは7S抗体であるが更に教室の新家が報告した如く低分子の抗体様物質が非中和性抗体に似た態度を示すことが分った。この低分子の抗体様物質の分子量が血

清アルブミンの大きさに近いのでそれとHLとの結合物がHLと血清アルブミンとが非特異的に結合したものではないかと考えられた。しかしアルブミンを除いたグロブリン分画を用いた実験より低分子のグロブリンである事が分った。

著者は抗血清より低分子のグロブリン分画 (microglobulin) を得てHL活性に対する作用を調べたが 7S 抗体の場合と同じ様に非中和性と中和性の二種があった。この microglobulin を更に DEAEクロマトで精製して得た Fr. 1 はゲル内沈降反応や免疫電気泳動で調べた結果、1 価の抗体であり  $\gamma$ -globulin の抗原性を持っていることを知りえた。更に抗原性を詳しく調べてみると、この Fr. 1 は  $\gamma$ -globulin の H-chain に類似した Peptide であることが分った。H-chain 類似の Peptide を natural に得たという報告は Franklin 病即ち Heavy chain disease の患者の血漿及び尿中より分離されたものだけであり、人間以外では全く知られていない。しかし著者の得た Peptide は 1 価抗体としての性質をもっているため全く新しい事実であり、他に例をみない。

抗体は H-chain 及び L-chain がおのおの 2 本ずつから構成されており、還元により H-chain 及び L-chain を得て抗体活性を測定した実験によると弱いながらも H-chain に活性を保持していると報告されている。

現在の所、抗体の生成機序については明らかではないが著者の得た如く過免疫の血清中から H-chain 類似の 1 価抗体が得られたと言うことは抗体 (或いは広く  $\gamma$ -globulin) は H-chain 及び L-chain のおのおのが別々に生成されており、後に完全な抗体となるのではないかと推察される。この様に低分子抗体に関して得られた知見は免疫学上のみならず、生体における蛋白質合成の機構を研究する上にも多くの貢献をなすものと考えられる。