

Title	補体第4成分に関する研究
Author(s)	永木, 和義
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28969">https://hdl.handle.net/11094/28969</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)	永 <small>なが</small> 木 <small>き</small> 和 <small>かず</small> 義 <small>よし</small>
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 9 4 6 号
学位授与の日付	昭和 41 年 3 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	補 体 第 4 成 分 に 関 す る 研 究
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一
	(副査) 教授 藤野恒三郎 教授 天野 恒久

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### I 補体第 4 成分の定量法

##### (目 的)

著者は、慢性骨髄性白血病の一症例にその血清中の補体価が著明に低下し、この現象がヒドラジンにより失活する補体成分 (hydrazine sensitive component, H. S. C.) に起因する事実を認めてすでに報告したが、H. S. C. には補体第 4 成分 (C' 4) 以外に補体第 3 成分 (C' 3) の subcomponent も一部含まれているので、上記現象が何れの補体成分の減少に起因するかを決定する為には各補体成分の活性を個別に測定する必要がある。著者は、R-reagent を用いず免疫溶血の intermediate product を用いて行なう C' 4 の定量法を確立する目的で、C' 4 定量の為の各反応段階における最適イオン強度、反応時間、温度等について検討した。

##### (方法並びに成績)

感作羊赤血球 (EA) に補体第 1 成分 (C' 1) を加えて C' 4 定量に最適の EAC' 1 を作成する為には、加える C' 1 の量は EA 1 個当り 200 effective molecules が充分量で、EA と C' 1 の反応時間は 30°C 15 分、その時のイオン強度は 0.09 が最適であった。この EAC' 1 と測定すべき C' 4 の作用する段階では、イオン強度は 0.09 が最適であり、30°C 20 分の反応で検体中の C' 4 はすべて EAC' 1 に結合した。C' 1 及び C' 4 の結合した EA (EAC' 1, 4) に補体第 2 成分 (C' 2) を加える段階では、C' 2 は EAC' 1, 4 1 個当り 300 effective molecules が充分量で、イオン強度は 0.06 が最適であったが、定量の途中でイオン強度を変えることは非常に繁雑であり、且つイオン強度 0.09 に於いても C' 4 の活性にはあまり低下が見られなかったので、この段階でもイオン強度、0.09 に於いて反応を行なった。反応温度及び時間は Borsos らに従って 30°C 30 分とした。最後に加える補体第 3 成分 (C' 3) 群としては補体を E. D. T. A. ペロナール緩衝液で稀釈したも

の (C'-E. D. T. A.) を用いたが、この段階でのイオン強度の変化は C' 4 活性に影響を与えなかったのでイオン強度 0.15 を用いた。また反応温度及び時間は 37°C 60分で充分であった。

この方法を用いて測定した正常人 33名の血清 1ml 中の C' 4 活性は  $5 \times 10^{12}$  ないし  $2 \times 10^{13}$  effective molecules の間に分布した。また上記慢性骨髄性白血病患者の血清中の H. S. C. の変動はこの方法を用いて測定した C' 4 の活性の変動と可成りの相関を示した。

〔総括〕

C' 4 を EAC' 1 を用いて定量する為に、各反応段階に於ける最適イオン強度、反応時間及び温度、C' 1 及び C' 2 の必要量について検討し、実験結果に示した条件で人血清中の C' 4 を測定し臨床に応用出来ることを示した。

## II 血小板の補体第 4 成分活性について

〔目的〕

第 I 部に於いて慢性骨髄性白血病の 1 症例に、その血清中の H. S. C. の減少している時期に C' 4 活性も減少している事実を認めたが、この C' 4 活性の減少が患者の末梢血中の白血球数が著明に増加する時期に先行して起る現象が繰り返し見られたので、白血球数の増減が C' 4 の増減に何等かの関係がある様に思われた。また Maltaner が白血球抽出液中に H. S. C. が存在する事実を報告していたので、著者は白血球中の C' 4 活性の測定を目的に実験を行なった。

〔方法並びに成績〕

人及びモルモット末梢血にデキストランを加えて分離した血漿を 5,000 廻転で遠沈して得た沈渣の抽出液には C' 4 活性を認めたが、モルモット腹腔内に生理的食塩水を注入後腹腔内より採取した白血球の抽出液には C' 4 活性が認められなかった。この差異は末梢血から、上記の方法で分離した沈渣に多数の血小板が混在している事実に起因するのではないかと考え、血漿の低速遠沈を繰り返して血小板及び白血球をほぼ完全に分離した所、血小板及び血小板と白血球の混合物から得た抽出液には C' 4 活性が認められ白血球の抽出液には C' 4 活性は存在しなかった。血小板及び血小板と白血球の混合物中の C' 4 活性が血小板のみから由来したものと仮定して血小板 1 個当りの C' 4 活性を計算すると、モルモット、人、何れの場合も血小板及び血小板と白血球の混合物中の血小板 1 個当りの C' 4 活性は同じ値を示した。しかも血小板数を変量して C' 4 活性を測定すると血小板数の変化とその抽出液中の C' 4 活性の変化とは正の相関を示す事実から、血小板には C' 4 活性があり白血球には存在しないとの結論を得た。

血小板浮遊液を 30°C 20分加温すると C' 4 活性の一部が遊離してくるが、この遊離した C' 4 活性はヒドラジン及びトリプシンの何れを作用させても完全に失活した。しかし遊離せずに血小板に残存する C' 4 は、ヒドラジンによっては完全に失活するがトリプシンではその 55% が失活するに止まり残りの 45% はトリプシンの作用を受けなかった。ヒドラジンはトリプシンにくらべて非常に低分子で容易に血小板内へ滲透するが、トリプシンは血小板の一部が破壊されていない限り、その内部へは滲透し得ないと考えられるので、血小板の C' 4 の一部はその表面に吸着されているが内部にも C' 4 が存在していると考えられる。

〔総括〕

従来白血球には C' 4 活性が存在すると考えられていたが、白血球と血小板を相互に混在しないように注意して分離すると C' 4 活性は白血球にはなく血小板に存在した。血小板の C' 4 の一部はその表面に吸着されており、一部はその内部にあるものと思われる。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は免疫溶血の新しい理論に基づいて補体第 4 成分の定量を免疫溶血の中間物（補体第 1 成分と結合した感作羊赤血球）を用いて行なう方法の確立とその応用が主題となっている。

即ち第 1 部に於いては補体第 4 成分定量の為の各反応段階に於ける最適イオン強度、反応時間及び温度、補体第 1 及び第 2 成分の必要量等について詳細な検討がなされており、その結果臨床的に応用可能な人血清中の補体第 4 成分の定量法が示されている。又慢性骨髄性白血病の一症例に於いて補体価の著しい低下を示した血清では補体第 4 成分活性の低下が著しい事実を報告している。免疫溶血の中間物を用いて血清中の補体成分活性を測定し臨床例に応用する試みは著者の論文を除いてはその報告を見ない。

第 2 部に於いては、従来殆んど明らかにされていない補体成分の生体内分布を明らかにするために上述の補体第 4 成分定量法を用いて行なわれた研究結果が報告されている。即ち末梢血より分離した白血球に補体第 4 成分活性が存在する事実を示唆した 1935 年の Maltaner の報告と、腹腔内より採取した白血球に補体第 4 成分活性が認められないという 1953 年の西村の報告との矛盾に注目し、白血球分離操作の際に白血球分画にかなりの血小板が混在してくる事実に着目して、注意深く両者を分離することによって補体第 4 成分活性が白血球にはなく血小板に存在する事実を証明している。更に血小板の補体第 4 成分活性が血清中の補体第 4 成分をその表面に吸着したものか或いはその内部に存在するかについて検討し、充分量のヒドラジン及びトリプシンを用いて厳密な条件下に実験を行なった結果、補体第 4 成分活性は血小板の表面にもその内部にも存在する事実を明らかにした。以上の結果は 1935 年の Maltaner の報告以来の白血球には補体第 4 成分活性が存在するとの免疫学上の定説をくつがえしたものとして非常に有意義である。

即ち第 1 部第 2 部を通じて本論文に示された研究成果は補体研究の進歩に寄与する所大なるものと考えらる。