



Title	CM Sephadex C-50のColumn chromatographyで区分されるIgGとその特性
Author(s)	村尾, 茂雄
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29280">https://hdl.handle.net/11094/29280</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">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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	村 尾 茂 雄 むら お しげ お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 2 1 7 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 31 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	<b>CM Sephadex C-50 の Column chromatography で区分される IgG とその特性</b>
論文審査委員	(主査) 教授 西川 光夫 (副査) 教授 天野 恒久 教授 須田 正巳

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

IgG は、Immunoglobulin の 71.2~75.2% を占め、その大勢は従来まで所謂  $\gamma$ -globulin として取り扱われていたものであるが、それには電気泳動像で疾患によりかなりの違いがみられている。そのため不均一なこの IgG を、各種のイオン交換体を用いて細分化し、蛋白分子構造の違いに立脚して、その機能をとらえようとした試みが、ここ 4、5 年行なわれている。然し、これらの解析には通常家兎 IgG 等が用いられていて、ヒト IgG の成績は少ない。

著者は、CM Sephadex C-50 を用いてヒト IgG を細分画し、得られる蛋白の性状とその生理的意味づけに検討を加えた。

#### 〔方法並びに成績〕

##### I IgG の細分化とその蛋白の性状

a IgG の採取：ヒト血清 1 ml を、2 l の 0.02 M phosphate buffer (pH 6.6) で一夜透析後 (4°C)、上記の buffer で浸された DEAE Sephadex A-50 の Column (0.8×0.8×12.5) に apply し、そのまま溶出して来た 20 ml を被検溶液に用いた。その含有蛋白は IgG そのものである (沪紙電気泳動、免疫電気泳動、超遠心などの検討による)。この Column での IgG の回収率は 96.6% であった。蛋白量は 280 m $\mu$  における吸光度より求めた。

b IgG の細分化：上記の試料の半量を 2 l の 0.04 M acetate buffer (pH 5.5) で一夜透析後 (4°C)、CM Sephadex C-50 Column (0.8×0.8×6.5) に apply して、0.04 M, 0.08 M, 0.2 M, 0.6 M と stepwise に溶出し、A. B. C. D に分画した。この Column での蛋白の回収率は 96.1% であった。Rechromatography による検討の結果では D に少量の C が含有されている。正常ヒト血清を用いると、1 ml 当り A: 0.9 mg, B: 0.5 mg, C: 7.4 mg, D: 2.8 mg (8 例平均)、そしてその C/D 比は 2.5±0.5 の値が得

られた。

c C-IgG, D-IgG の性状：上記の C 及び Rechromatography によって混在せる C を除いた D は、超遠心、チセリウス泳動上均一で、その  $S_{20w}$  は C: 6.6 s. D: 6.9 s.。アミノ酸組成をみると、C は D に比して Lysine, Histidine, Tyrosine が少なく、Aspartic Acid, Serine, Glutamic Acid が多くなっていた。一般臨床で行なわれている条件下での滷紙電気泳動では、C は陽極に、D は原点又は陰極に泳動する。Ouchterlony 法を用いた検討では、C 及び D は共に抗ヒト血清馬血清に対して一本の沈降線を形成し、両者の間に免疫学的な差異は見出せなかった。肝硬変症、セグレン症候群血清から得た C, D についても同様な知見が得られた。

d 分子下レベルでの C-IgG, D-IgG : Fleischman 等の方法を用いて IgG 分子を分割し、1.2 S の C の L-chain, 1.9 S の C の H-chain と 1.4 S の D の L-chain, 2.0 S の D の H-chain を得た。そのアミノ酸分析の結果では、C, D にみられた特徴は Heavy chain の差異によっているという成績が得られた。Ouchterlony では、これら 4 つの Fragment のうち抗ヒト血清馬血清、抗 C 血清、抗 D 血清に対して、C 及び D の各 chain は共に faint な沈降線を形成した。又 K type, L type の抗 Bence Jones 蛋白に対しては、C 及び D、そしてその各々の L-chain が沈降線を形成した。植田、伏見等は C が肝機能検査の Cobalt 反応に右方移動因子として関与していると報じている。それは C の L-chain によっている事が確認された。

## II 生体内での C-IgG, D-IgG

a IgG の個体発生：生後 20 日から 76 才までのヒトを対象に l. a, b の方法を用いて IgG 量、C-IgG 量、D-IgG 量を測定した (69 例)。IgG は生後急速に減少し、4 カ月で最低となり、その後年令と共に漸次増量が認められた。かかる年令に伴う IgG の推移は C-IgG で追跡し得たが、D-IgG は恒常となっていた。

b Glucocorticoid と C-IgG, D-IgG : 肝硬変症、セグレン症候群、ベーチエット氏病、リウマチ熱、本態性高ガンマグロブリン血症の 5 例に Glucocorticoid を投与した。その結果これらの全症例で、Glucocorticoid は IgG 量を減少させた。その程度は C-IgG と D-IgG では異なり、C-IgG で全例に強い影響が現われた。

c C-IgG, D-IgG と抗体活性：Antistreptolysin O (ASLO) 活性の分布を調べてみた。正常血清 (125 u.)、ベーチエット氏病血清 (333 u.)、リウマチ性関節炎血清 (833 u.) を用いたが、これら 3 検体では、本活性は C-IgG, D-IgG に共に認められた。

d 疾患時の C-IgG 量、D-IgG 量：肝硬変症 (8 例) では IgG 量 26.7 mg、その内訳は A: 1.1 mg, B: 0.5 mg, C: 18.9 mg, D: 6.2 mg、そしてその C/D 比は  $3.0 \pm 0.2$ 。膠原病 (17 例) では IgG 量 22.0 mg、その内 A: 1.2 mg, B: 0.8 mg, C: 13.2 mg, D: 6.8 mg、そして C/D 比は  $2.3 \pm 1.7$  であった。

E 骨髄腫：IgG myeloma (5 例) では、その蛋白が C 分画のみにみられるもの 1 例、D 分画のみにみられるもの 2 例、その中間型 2 例。それは K type, L type とは無関係であった。

## 〔総括〕

DEAE Sephadex A-50 を用いて得られる IgG を、CM Sephadex C-50 で細分化し、その細分画蛋白の性状と生体内での動向に検討を加えた成績をまとめた。

## 論文の審査結果の要旨

肝機能検査として Cobalt 反応が一般臨床でよく使用されている。その値は正常血清で  $R_{3(4)}$ 、急性炎症、癌で減少し、肝硬変、慢性炎症で増加する。共同研究者の植田、伏見はその低値は  $\alpha_1$  または  $\alpha_2 + \beta$  globulin の増量に、その高値は  $\gamma$ -globulin、特にその内の特定細分画蛋白の増量に基づくものとしている。著者はこの蛋白の Orientation を、免疫学的な分野での IgG の諸知見と関連づけて解析し、またその生理的意味づけに検討を加えている。

まず DEAE Sephadex A-50 Column で血清から  $\gamma$ -globuline をとり、これが Immuno-electrophoresis などの検討から、IgG そのもので、その回収率は 96.6% であった。更にこの IgG を CM Sephadex C-50 Column により A.B.C (上記の特定蛋白)、D に分画すると、正常ヒト IgG の内容は A: 0.9, B: 0.5, C: 7.4, D: 2.8 mg/ml (8 例平均) である。 $S_{20,w}$  及び免疫学的な性質では、C, D で差異はないが、そのアミノ酸組成では、C は D に較べて Lysine, Histidine が少なく、Aspartic acid, Glutamic acid が多い。Fleischman の方法で H 及び L chain に分けると、C 及び D の荷電差はその H chain の差による。一方 Cobalt 値を増量させるのは C の L chain であることを明らかにした。

なお IgG の年令的変動、また Glucocorticoid 投与による減少が主として C の変動に基づき、D は殆んど変動しないことを明らかにした。

本論文は実地臨床で活用されている Cobalt 反応の機作が、IgG のレベルまで下げて明快に解析されたもので、学位論文として価値あるものと認める。