



Title	肺腎、臓器特異抗原とその抗体の精製に関する研究
Author(s)	都竹, 理
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29557">https://hdl.handle.net/11094/29557</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

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	都 竹 理
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1261 号
学位授与の日付	昭和42年7月31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
学位論文名	肺腎、臓器特異抗原とその抗体の精製に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 足高 善雄 (副査) 教授 山村 雄一 教授 天野 恒久

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

1950年 Pressman らは家兎をラットの臓器で免疫し、生じた抗肺、腎、肝抗体をラットの静脈内に投与したところ、各抗体は免疫に用いた臓器のみならず、その他の臓器にも附着することを明らかにした。

他方1946年 Seegal らは家兎抗ラット胎盤抗体をラットに投与して実験的に糸球体腎炎を起すことに成功し、さらに1956年 Baxter らは抗肺抗体によっても腎炎を起しうることを示した。

以上のようにラット臓器抗原の共通性に由来する興味ある事実は数多く報告されているが、ひるがえって産科領域での特異腎疾患としての妊娠腎の発症についても、免疫学的にはあるいは胎盤絨毛または胎児と母体腎間の共通抗原にもとづくものであるまいかとも考えられる。そこで臓器、ことに腎、肺および肝の臓器間共通抗原ならびに臓器特異 vascular bed antigen の存在について検討を加え、次いで臓器特異 vascular bed antigen に対する抗体の精製について実験をこころみた。

## 〔方法ならびに成績〕

## 1. 抗原および抗血清の調製

あらかじめ生食水で灌流したラット肺または腎を glass tissue homogenizer で磨碎した後、遠心沈澱によって低速遠沈沈澱成分（主として結合組織分画、以下 L 分成と記載）、高速遠沈々沈澱成分（主として Mitochondria 分画、H 成分）、超高速遠沈々沈澱成分（主とし Microsome て分画、U 成分）および可溶性成分（S 成分）に分画した。

抗肺血清はラット肺 H 成分を、また抗腎血清はラット腎 L 成分をそれぞれ complete Freund's adjuvant とともに家兎を反復免疫して調製した。

2.  $^{125}\text{I}$  または  $^{131}\text{I}$  によるグロプリン標識法

Greenwood らの Chloramine-T 法にもとづいて血清グロブリンを  $^{125}\text{I}$  または  $^{131}\text{I}$  で沃度化した。通常沃度化に用いた沃度の70~90%はグロブリンと結合し、グロブリン1分子当たりに結合した沃度原子は0.6~0.7であった。

### 3. in vivo assay

抗体の臓器への非特異的附着をみるため対照として用いた  $^{131}\text{I}$  正常家兔 7S- $\gamma$  グロブリン ( $^{131}\text{I}$  GNS) を、  $^{125}\text{I}$  標識抗体と混合してラットの尾静脈より注射した。注射後16~20時間でラットを麻酔のもとに十分灌流を行ない、肺、腎、肝、脾、甲状腺および血液を摘出し各臓器に附着した  $^{125}\text{I}$  および  $^{131}\text{I}$  の値を 2 channel  $\gamma$  ray spectrometer で測定した。それぞれの測定値は注射に用いた  $^{125}\text{I}$  および  $^{131}\text{I}$  の値に対する%で表わし（以後附着率と記載）、 $^{125}\text{I}$  および  $^{131}\text{I}$  の附着率の差をもって抗体が特異的に臓器に附着した値とした。

### 4. 抗肺抗体の in vitro 精製

抗肺抗体をラット肺H成分と混合して37°Cで60分間反応させた後 glycine-HCl buffer (PH 2.4) で肺H成分に結合した抗体を溶出した。溶出液を PH 6.3, 0.0175M の磷酸緩衝液で平衡した DEAE セルローズのカラムにかけて溶出操作の際に可溶性となった肺抗原および抗原抗体結合物の分画を除いた後、カラムを通過した 7S- $\gamma$  グロブリン成分（以後 in vitro 精製抗肺抗体と記載）を  $^{125}\text{I}$  で沃度化した。 $^{125}\text{I}$  in vitro 精製抗肺抗体をラット静脈内に投与したところ、肺への附着率は精製前にくらべ約6倍増加したが肝および腎への附着率も同様に増加し（肺へ4.3%，腎へ4.9%，肝へ12.8%），各臓器への附着率の比は精製前後においてほぼ同じであった。

### 5. $^{125}\text{I}$ in vitro 精製抗肺抗体の再精製

$^{125}\text{I}$  in vitro 精製抗肺抗体をラットに注射し、1時間後十分に灌流を行なってから、肺および腎を摘出した。摘出臓器を L, H, U, S の各成分に分割した後、各成分に結合した  $^{125}\text{I}$  in vitro 精製抗肺抗体の値を測定した。肺に結合した抗体量の50%を肺U成分に、また腎に結合した抗体量の86%までが腎L成分に附着した。つぎに臓器各成分に附着した抗体を glycine-HCl buffer (PH 2.4) を用いて溶出し、溶出液（以後再精製抗肺抗体と記載）を再びラットに投与して各臓器への附着をみたところ、肺の各成分ごとに肺U成分から溶出した再精製抗肺抗体は肺に選択的によく附着し（肺へ21.2%，腎へ1.5%，肝へ7.9%），腎の各成分ごとに腎L成分から溶出した再精製抗肺抗体は腎につよく附着した（肺へ1.2%，腎へ13.0%，肝へ7.6%）。

### 6. 肺特異 vascular bed antigen に対する抗体の精製

肺の L, H, U 各成分から溶出した再精製抗肺抗体を、PH 6.3 0.0175M の磷酸緩衝液で平衡した DEAE セルローズのカラムにかけて抗体中の抗原および抗原抗体結合物を除き、7S- $\gamma$  グロブリン成分のみとした後、これを腎および肝抗原で十分に吸収した。吸収後残存した抗体を再び前記の緩衝液で平衡した DEAE セルローズのカラムにかけたところ、最初に用いた 7S- $\gamma$  グロブリン成分の28%，27%，18%がそれぞれ吸収されずに回収された。他方同抗体の同成分を肺H抗原で吸収した後前記の DEAE セルローズのカラムを通すと、11%，11%，6%が残存するにすぎず、再精製抗肺抗体の 7S- $\gamma$  グロブリン成分中には肝および腎では吸収できない肺特異 vascular bed antigen に対する抗体が存在することを示すことを知った。腎および肝で吸収した抗体をラットに

注射したところ、肺へのみ附着し腎および肝へはほとんど附着しないことを知った。

〔総括〕

- 1) 抗肺抗体を肺H成分（主として Mitochondria 分画）を用いて *in vitro* に精製した後沃度化し、静脈内に投与して各臓器への附着を検討したところ、各臓器への附着率は一様に増加したが、その比は精製前後においてほぼ同じであった。
- 2) ラット静脈内に投与された  $^{125}\text{I}$  *in vitro* 精製抗肺抗体は肺では主に Microsome 分画に、腎では大部分結合組織分画に附着した。
- 3) 肺から溶出した再精製抗肺抗体は選択的に肺に、また腎から溶出した再精製抗肺抗体に選択的に腎に強く附着した。
- 4) 肺各成分から溶出した再精製抗肺抗体中には、腎および肝抗原では吸収できない肺特異 vascular bed antigen に対する抗体を含んでおり、これを注射したところ肺へのみ特異に附着し、腎および肝へは殆んど附着しなかった。
- 5) 抗腎抗体についても同様の実験をおこない、腎にのみ特異的に附着する腎特異 vascular bed antigen に対する抗体の存在すること確かめたが、前者すなわち再精製抗肺抗体中の肺特異 vascular bed antigen に対する抗体に較べ、その量は僅微であった。

論文の審査結果の要旨

最近免疫学の進歩と共に妊娠中毒症の病因を免疫学的に解明しようとする動きが活発になってきた。今回著者は腎、肺、肝の臓器間共通抗原ならびに臓器特異抗原について検討を加え、ついで臓器特異抗原に対する抗体の精製を行なった。今後の妊娠中毒症の免疫学的研究に貢献するところ多大な論文であると考えられる。