

Title	補体による溶血反応における膜傷害に必要なヒット数
Author(s)	竹田, 潤二
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35433
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、 大阪大学の博士論文について 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)	たけ 竹	だ 田	じゅん 潤	じ 二
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7342	号	
学位授与の日付	昭和61年5月12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	補体による溶血反応における膜傷害に必要なヒット数			
論文審査委員	(主査)			
	教授	井上	公蔵	
	(副査)			
	教授	藤尾	啓	教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

[目的]

ヒツジ感作血球 (EA) を免疫溶血させるのに、最低何分子の補体分子がいるかは、古来 Mayer の one hit 説以来論議のあるところである。一般には、補体量を変量させそれと溶血の度合との関係から、one hit か multi hit を判断しているが、我々は、一定の補体量に EA を変量させ、それと溶血の度合から、ヒット数を算出する方法をもちいた。この解析方法で、横軸に加えた血球数、縦軸に溶血した血球数をとると、one hit の場合でその曲線は、 $y=0$ でない、ある水平漸近線に向かっていくが、multi hit の場合、その曲線の漸近線は $y=0$ のはずである。そして、ヒット数が増すほどその曲線の上に凸の度合は強い。これらのことは、ポアソン分布から導きだされる理論式によって説明される。補体の各ステップ、特に C8、C9 ステップを実際アッセイしてみ、それと上記の理論式と比較して各ステップのヒット数を決定しようとした。

[方法]

1. EAC1-7 gp cell あるいは、EAC1-7 hu cell の調整；
まず、EAC1-3 bgp cell を EA とモルモット血清を抗補体作用のある K-76 モノカルボン酸の存在下で調整し、それに Cordis 社の C5 gp、C6 gp、C7 gp をそれぞれ $100 \text{ CH50 unit} / 4 \times 10^8 \text{ EAC1-3 b cell}$ を加えて、 30°C 30min incubation して EAC1-7 gp cell を得た。EAC1-7 hu cell は EAC1-7 gp と同様の方法で正常ヒト補体血清、C5 hu、C6 hu、C7 hu をもちいて調整した。
2. C8、C9 ステップの解析；

C 8 gpのアッセイは反応液 1 mlの中で種々の量のE A C 1-7 gp cellと過剰のC 9 gpを加え、限界量のC 8 gpを一定にし37°C 90min incubationし、cold S G V Bを1 ml加え反応をストップさせ、遠沈し、その上清の吸光度より溶血の度合を算出する。縦軸に溶血したcell数、横軸に加えたE A C 1-7 gp数を取りグラフを書き、理論曲線と比較する。C 9 gp, C 8 hu, C 9 huは、C 8 gpアッセイに準じて行う。

3. 正常ヒト補体血清 (NHS) ならびにヒトC 9欠損補体血清 (C 9 DHS) による

E Aの溶血の解析；種々の量のE Aを限界量で一定量のNHS, あるいはC 9 DHSと37°C 90min incubationする。1 mlのcold S G V Bで反応をストップさせ遠沈し、上清の吸光度を測定する。

[結 果]

1. C 8 gp, C 9 gp, C 8 huはone hitに一致した溶血曲線を描き、C 9 huは理論曲線に比較して3-5 hitsに一致した曲線を描いた。
2. NHSにおいてはone hitであったが、C 9 DHSではmulti hitであった。

C 9 DHSがmulti hitであることは、C 9 DHS中のトレースのC 9によるものではない。つまり抗ヒトC 9抗体をアッセイに加えても、なんら溶血曲線に影響を与えないし、C 9 DHSをロケット免疫泳動においてC 9が検出できなかったことより確かめられる。

[総 括]

1. E Aを溶血させるためには、最低限1分子のC 8 gp, C 9 gp, C 8 huがあればよいがC 9 huの場合3-5分子必要である。
2. NHSを使用した場合one hitになるから、E Aを溶血させるとき、補体による膜侵襲複合体は1個だけで充分で、血清中でC 9 huは限界になっていない。C 9 DHSはmulti hitを描くから、C 9非存在下の膜侵襲複合体による溶血反応は、C 9存在下の場合と根本的に機構が異なると考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究はモルモットおよびヒト補体成分C 8, C 9ステップのヒット数を標的細胞を感作ヒツジ赤血球をもちいて新しい解析方法で検討したものでモルモットC 8, C 9ヒトC 8は明らかにワンヒットであり、ヒトC 9は3-5ヒットであった。正常ヒト血清 (C 1からC 9まで含む) をもちいた解析ではワンヒットになったので感作ヒツジ赤血球を溶血させる時に膜侵襲複合体は一つだけで充分で、しかも血清中でC 9は限界になっていない。一方、C 9欠損血清 (C 1からC 8まで含む) においてはマルチヒットになりC 1からC 8までの溶血はC 1からC 9までの溶血と根本的にメカニズムが異なると考えられる。

以上の研究結果は、補体による細胞膜侵襲機構の解明に貢献する所が大きく学位論文に価すると考えられる。