



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ポーラログラフ法による結核血清反応の研究：第2報
Author(s)	大原, 達; 高瀬, 一; 谷野, 政次 他
Description	
Citation	結核の研究, 2, 81-87
Issue Date	1955-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26563
Type	departmental bulletin paper
File Information	2_P81-87.pdf



ポーラログラフ法による結核血清反応の研究

(第 2 報)

大原 達 高瀬 一
谷野政次 池端 隆

(北海道大學結核研究所細菌部)

1. 緒言—醫學生物學の分野に於けるポーラログラフ法の展望と本研究の目的

ポーラログラフ法は1つの極に滴下水銀電極のような表面積の小さい電極を用い、他の極には表面積の広い非分極性の電極を用いる1種の電気分解法である。この際、滴下水銀電極に於ては、電極表面が小さいために微弱な電流によつても極表面に於ける電流密度はかなり大きくなり、従つて分極現象はこの電極に於てのみ生ずるものと考えてよく、得られた電解電流電圧曲線(ポーラログラムと呼ぶ)はこの極に於ける電極反応の状況のみを示すものと見做し得る。故にこの様な電流電圧曲線を解析する事によつて色々な定性的並びに定量的な分析を行うことが出来る。さて、電気化学的に還元され得る物質は各々個有の電圧に於て陰極に還元され又析出される。各物質はそれぞれ一定の最低電圧即ち還元電圧を有して居るので、この電圧以下では溶液に極めて僅かの電流しか流れないが、還元電圧に達すると電流は強く流れ始める。即ち被還元物質を含む溶液中に滴下水銀電極と非分極性の電極とを浸け、前者を陰極として零から次第に電圧を加えて行けば、滴下極の電位がその物質の還元電位に達した時に電極表面で放電が起り、電解回路に電流が流れる。この電解電流と陰極電位との関係を図に描いたものがポーラログラムである。

かかるポーラログラフ法の発見は有機無機の分析化学に一新機軸を開いたばかりでなく、化学平衡の発見、反応力学、電解還元機構の研究、酸化還元電位の測定等、その応用範囲は極めて広く、近時は醫學生物學の分野に於ても本法は各方面に於て活潑に利用されつつある。先ず1927年に志方等¹⁾が脳膜炎患者のLiquor中に於ける鉛を定量してから、臓器・血液中の無機物及びある種の有機物の定量に本法が利用される様になり、既に臓器中の亜鉛²⁾、マンガ³⁾、銅⁴⁾、鉛劣(劣者)血液中の鉛⁵⁾、血液中のニトロベンゼン⁶⁾、尿中のステロイドホルモン⁷⁾、アセチルコリン等⁸⁾各種物質の定量が報告されて居る。更に各種ビタミン研究

への応用⁹⁾⁻¹²⁾、ペニシリン・ストレプトマイシン等抗菌性物質の純度検定¹³⁾、細菌培養基中のニトロフラン¹⁴⁾、酸素¹⁵⁾の定量に用いられる他、特に臨牀医家の間に於ては癌の診断¹⁶⁾⁻²¹⁾に利用されるなど極めて多彩な応用の分野が示されて居る。

然しながら免疫學の領域に於て抗原抗体反応の研究に本法を用いた報告は極めて少なく、外国に於ては現在までの所僅かに Breyer and Radcliff²²⁾ の Azo 蛋白に於ける業績を挙げ得るに止まり、我が国に於ては我々による本研究の第1報²³⁾のほか石川等の報告²⁴⁾⁻²⁷⁾に接し得るに過ぎない。

本研究の第1報に於て我々は抗原として結核菌中性加熱抽出液及びツベルクリン、抗血清として BCG 免疫家兔血清を用い、両者を試験管内に於て反応せしめた後、得られたポーラログラムを観察して次の所見を得た。即ち正常血清と免疫血清そのもの間にはポーラログラム上に何等の差違を見出し得ないが、免疫血清に特異的抗原を加えると、蛋白波殊にその第2波に於て著明な変化が現われ、波高が明らかに減少する。この第2波の低下は、血清を変性せしめた後直接検査する第1反応(消化反応)に於て著明で、ズルフォサリチル酸で除蛋白後検査する第2反応(濾液反応)に於ては推計學上有意でなかつたか。かる波高の低下は石川、青木等の実験に於ても報告されて居る。彼等は種々なる物質(卵白アルブミン、ルゴール液、昇汞、亜砒酸、塩酸キニーネ、アスピリン等)を以て感作した兎に夫々の物質を再注射し、再注射後の血清²⁴⁾及び臓器浸出液²⁵⁾について波高を調べると共に、これ等の血清及び浸出液と感試験作原とを管内に反応せしめた場合のポーラログラム²⁶⁾²⁷⁾を観察して、何れの場合にも蛋白波高の減少する事実を見て居る。但し彼等の報告は単に波高が減少すると云うのみで、蛋白第1波と、第2波の區別をして居らず、殊に最初の報告²⁴⁾に載せられたポーラログラムの形状が、我々の常識から著しく離れたものであるのは理解に苦しむ点である。血清の示す蛋白2重波が何に由来するものであるかは暫く措くとしても、その出現する位置は2波とも常に一定の Volt

の所に限られて居る (例えば我々の実験に於て家兎血清蛋白第2波の極大は常に -1.6 Volt の所に見られた。第1, 2図参照)。然るに石川・青木のポーログラムは蛋白波の現われ方, 形状共に極めて不規則で, 2重波の区別さえ判然としなない。これは実験操作の過誤によるものか, 或いは感作原として用いられた物質の影響によるものか検討すべき問題であろう。我々の見る所によれば, 彼等のポーログラムは感度曲線が正しく直線を示す様に調整されていたかどうか, プラッシュがさびて居なかつたかどうか, 水銀の滴下が適正であつたかどうか, 等の諸点が関係しているように思われる。

さて第1報で明らかになつた如く, 免疫血清に特異的抗原を付らせると蛋白第2波の低下を来すが, これは如何なる機序によるものであろうか? 第1反応について考察してみると, 先ず第1に考えられる事は, 肉眼的に認め得ると否とに拘わらず抗原抗体反応の結果微量の抗原抗体複合物が沈降し, これが polarographical には反応の系外に去つて蛋白濃度の低下を招くためではあるまいかと云う事である。然し又他方, 蛋白波の発生が Brdicka^{28,29)} の云う如く SH 基による接触還元波であるならば, 血清蛋白のこの SH 基が量的質的に低下する事に基因するとも考えられる。即ち肉眼で観察し得る沈降反応を起すに至らないまでも, 不完全ながら一部抗原と抗体との複合物が形成されるならば, 血清蛋白の SH 基乃至 SH 基を含む反応群が抗原の決定群と結合して, 量的に活性なる SH 基を失なうか, 或いは又質的に catalyzer としての能力を減少するためではないか, と云う想像も可能である。然しながら蛋白波発生機構が未だ仮説の域を出ない以上, 波高低下の機序についても決定的な結論の下せない事は止むを得ない。何れにせよ免疫血清の波高の低下は抗原抗体反応の結果と考えるべきで, 免疫血清中に蛋白波の発生に阻止的に働く何等かの物質の出現を想定すべきではないであろう。これを確かめるためには, 波高が低下する事の免疫学的な意義付けが必要となつて来る。即ち波高低下のポーログラム的な真の機序を追求する事は困難としても, これが抗原抗体反応に起因するものならばその低下度が抗原抗体反応の程度と比例するものかどうか, 云い換えれば波高の低下する程度の高い血清程抗体価が高い, と考えて差支えないかどうか, と云う点を追求する必要が生じて来る。更に又, 前回の実験²⁹⁾ に於ては弱度免疫血清を用いたので, 抗原抗体反応を肉眼で認め得なかつたが, その後高度免疫血清で実験してみると明かな沈降物を作る場合が多いので, これを除去した場合の波高はどの様に変化するか, 及び抗原を血清に加えた直後と反応の完結したと考えられる 24 時間後とでは低下度に差があるかどうか, と云う点も調べて見た。

本実験はこのように, 波高低下の免疫学的な意義の一端を探らうとして試みられたものである。なお蛋白第1波については前実験²⁹⁾ に於て多少低下の傾向が見られたが, 推計学的に検定して見ると 5% の危険率で有意の差とは認められなかつたので, 本実験に於ては専ら第2波について測定を行う事にした。又第2反応に於てもある程度波高の低下を来す事は既に示した²⁹⁾ 通りであるが, 本反応は除蛋白した血清について行うもので, これに関与する主な物質は Mayer³⁰⁾, Winzler 等³¹⁾ によると 1種の mucoid 体であろうとされて居る。従つて第2反応に於ける蛋白波高の低下は, 抗原の作用下に於ける mucoid 体の減少を意味すると考えられるが, かく考えたとしてもそれが抗原抗体反応に本質的な役割を演ずるものか, 或いは従属的に起るものか, の判定は甚だ困難である。故に第2反応については次回に譲り, 今回は第1反応のみについて実験を進める事にした。その結果, 免疫血清の波高低下は沈降反応による抗体価と大体に於て平行するようになるので, その実験成績を茲に報告したいと思ふ。

2. 実験材料及び実験方法

i) Polarograph: 島津製ポーログラフ (検流計感度 2.21×10^{-10} Amp/mm/m) を用い, ポーログラムは感度 1/50 に於て撮つた。

ii) 被検血清: BCG で免疫した家兎血清を用いた。大原・中川³²⁾ によれば, 沈降反応による抗体価は免疫量とほぼ比例するので, 我々は BCG の色々な量を 22 頭の健康家兎に接種し, 免疫後 4~5 週間の血清をとつて実験に供した。

iii) 抗原の製法: ポーログラフ法及び沈降反応に用いた抗原は結核菌の中性水加熱菌体抽出液でその製法は次の如くである。先ず人型菌 H₂ 株を大量培養してアルコール・エーテルで脱脂乾燥し, 粉末状になつた菌体を乳鉢が磨砕しつつ 100 倍量の中性蒸溜水を加えて乳剤とする。これを振盪しながら 100°C 30 分宛 3~4 回十分に加熱浸出し, 更に一昼夜 37°C の孵卵機に放置した後, 上清を Seitz 濾過管で濾す。得られた澄明な濾液が本実験に用いられた抗原である。

iv) 抗体価の測定: 被検血清を 1.5% アラビアゴム溶液で階段的に稀釈し, これに iii) の抗原を静かに重層して 1 時間後に型の如くして反応を読んだ。

v) 試料の作り方: ポーログラフに於ける試料の作り方は第1表に示した通りである。即ち免疫血清 0.3 cc に, 蒸溜水又は抗原の等量を加え, 目的により混合直後, 又は 24 時間放置後に 1 N の KOH 0.15 cc を加えて変性させる。変性を起させるには室温に約 20 分間放置すれば良

い。この変性血清 0.1 cc に表の如き電解液 20 cc を加えたものを試料とする。

第1表 試料の作り方

血清 0.3 cc + Ag. dest 0.3 cc + 1 N KOH 0.15 cc					
或は					
Antigen					
室温にて 20 分間変性					
↓					
上の液 0.1 cc + 電解液 20 cc	<table border="0"> <tr> <td>0.016 N CoCl₂ 2 cc</td> </tr> <tr> <td>1 N NH₄Cl 2 cc</td> </tr> <tr> <td>1 N NH₄OH 2 cc</td> </tr> <tr> <td>Ag. dest. 14 cc</td> </tr> </table>	0.016 N CoCl ₂ 2 cc	1 N NH ₄ Cl 2 cc	1 N NH ₄ OH 2 cc	Ag. dest. 14 cc
0.016 N CoCl ₂ 2 cc					
1 N NH ₄ Cl 2 cc					
1 N NH ₄ OH 2 cc					
Ag. dest. 14 cc					

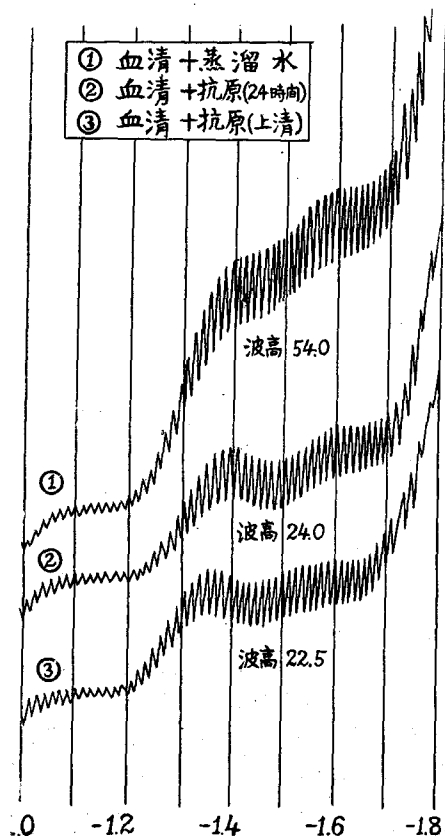
vi) 波高の測定と低下率の求め方。波高の測定はコバルト波の midpoint の高さから第2波の極大に現われる部分の midpoint までの高さを測定し、mm で表わした。低下率を求めるには被検血清に蒸留水を加えた場合の波高を測定し、次に蒸留水の代わりに抗原を用いた場合のそれを測定する。前者を 100 としてこれに対する波高減少の度を百分率で表わしたものが免疫血清の波高低下率である。同じことを抗原を加えた直後、24 時間室温放置後、沈澱物除去後の 3 者について測定し、夫々の場合に於ける波高低下率とした。

3. 実験成績

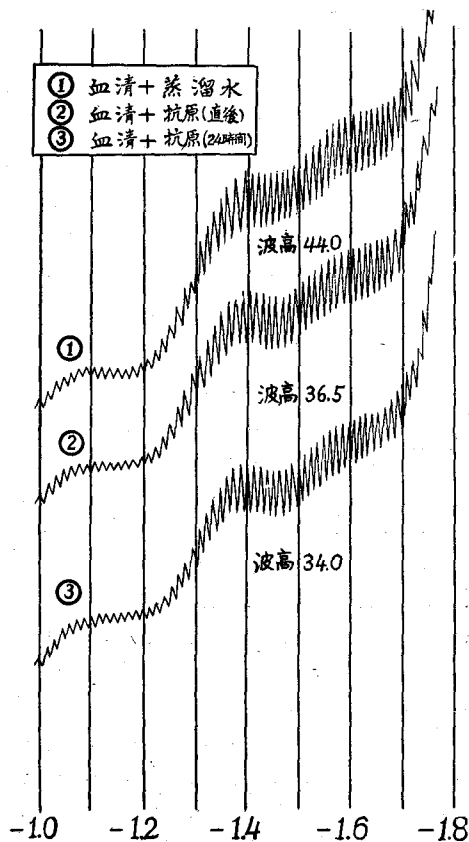
以下の成績は総て第2表に纏められて居る。なおポーログラムの1例として第1図及び第2図に夫々血清 No. 402, No. 8 の波形を示した。

1) 抗体価と波高低下率との関係

22 頭の BCG 免疫家兎について沈降反応による抗体価を調べた結果は、抗体価 1 のもの 2 頭、2 のもの 3 頭、4 のもの 2 頭、8 のもの 3 頭、32 のもの 4 頭、64 のもの 3 頭、128 のもの 2 頭であつた。これ等の血清に既述の特異抗原を加え、十分に抗原抗体反応を起さしむる様 24 時間室温に放置した後ポーログラフにかけて蛋白第2波の波高を求めたが、その測定値は第2表の A 欄に記載した通りである。抗原抗体反応による波高低下率を求めるため、同じ血清について抗原の代わりに蒸留水を用いた場合の波高は同じく第2表の第3列に記載した。方法の項記載の如く、前者を 100 として波高の減少を百分率で表わしたものが求むる低下率で、例えば家兎番号 301 番の血清について見れば、 $\frac{43.0-28.5}{43.0} \times 100 = 33.7$ となる。この表で見ると個々の血



第1圖 血清 No. 402 のポーログラム



第2圖 血清 No. 8 のポーログラム

第2表 免疫血清の波高とその低下率

抗体価	家兎番號	抗原を作用させない免血の波高	(A) 免血+抗原 (24時間作用)		(B) 免血+抗原 (混合直後)		(C) 免血+抗原 (沈降物除去)	
			波高	低下率	波高	低下率	波高	低下率
128	301	43.0	28.5	33.7			26.5	38.4
	402	54.0	24.0	55.6	36.0	33.3	22.5	58.3
64	306	46.0	22.0	52.2	32.0	30.5	22.0	52.2
	404	45.5	33.0	27.5	42.0	7.5	31.0	31.8
	407	49.5	25.0	49.5	38.5	22.2		
32	300	40.0	32.5	18.8	34.5	13.7		
	302	51.0	38.5	24.0	48.0	5.8		
	304	42.0	30.0	28.6	31.5	25.0	23.0	45.2
	405	49.5	31.0	37.5				
16	8	44.0	34.0	22.7	36.5	17.0		
	403	51.5	46.5	9.7	49.0	4.8	49.5	3.9
	504	47.0	30.0	36.2				
8	502	49.0	32.5	33.7			31.0	36.7
	401	42.0	40.0	5.0				
	505	24.0	20.0	16.6				
4	14	34.5	31.5	8.7				
	310	34.0	34.5	-1.4				
2	6	32.0	30.5	4.7				
	342	34.5	33.0	4.3				
	340	42.0	46.0	-9.5				
1	7	45.0	42.0	6.6	44.0	2.2		
	15	36.5	37.0	-1.3				

清についての変動はかなり大きい、抗体価ごとに平均を取つて見ると第3図の如くなり(黒で示した部分)、抗体価の低いもの程波高の低下率も少ない。従つて波高の低下と抗体価とは大体に於て平行するものと見て差支えない様に見える。

2) 抗原作用時間と波高低下の關係

抗原の免疫血清に対する波高低下作用は即時に起るものかどうかを調べるため、一部の免疫血清について抗原を加えた直後と24時間後のポーログラムを比較して見た。抗原混合直後に測定した波高は第2表B欄に示した通りで、24時間放置の場合に較べれば低下率は少ないが、個々の血清は夫々相当の程度に波高が低下するのを認めた。然しその中には家兎番號No. 300, No. 304, No. 8の如く、直後と24時間後の間にさしたる差の認められないものもあ

れば、No. 404, No. 302の如く24時間を終ると著明に波高の低下が起るものもあつて、波高の低下が抗原作用時間とproportionalであるか否かははつきりしない。何れにしても免疫血清に対する抗原の影響は非常に早く、或る場合には即刻現われる事もある様に見受けられる。

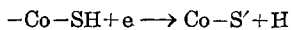
3) 沈降物除去の波高に對する影響

抗体価の高い血清に於ては、抗原を加えて放置した場合肉眼的に認め得る明らかな沈降物を作る事が多い。この沈降物を遠心沈澱して除いた上清について調べた波高はどの様な値を取るかを知らんとし、抗体価の高い血清中明らかな沈降物を作つたものを選び、これを除去してポーログラムを撮つて見た。第2表C欄がその成績である。これによつて見ると僅かながら波高は更に低下して居るようであるが、推計学的に検定して見ると、有意と認める程の

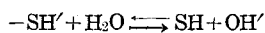
差ではない。従つて沈降物除去の波高に対する影響は殆んどないと思つて差支えなからう。

4. 總括並びに考按

1933年 Brdicka²³⁾により、cystine, cysteine の如く SH 基又はそれに還元され得る SS 基を持つたアミノ酸 (及びそれ等を含む peptide) や、血清アルブミンの如き蛋白質は、コバルト塩を含む塩化アンモニウム・アンモニア溶液で所謂蛋白波と名付けられる特異な極大波を現わす事が発見されて以来、医学に於てポーラログラフ応用の新しい分野が開けて来たのは云う迄もない事である。蛋白波の応用として最も盛んに行われているのは血清蛋白の研究であるが、この方法を免疫学の領域に導入して、抗原抗体反応に基づく諸現象の研究にまで利用しようと企てた者は甚だ少ない。我々は結核研究の分野に於て、免疫及びアレルギーと云う組織表現をポーラログラフ的に解析しようと試み、その基礎実験として先づ前報に於ては、抗原抗体反応を起した血清の蛋白第2波が正常血清のそれに比して著しく低下する事実を観察し、之により抗原抗体反応がポーラログラフ的に捕え得る事を示した。本報に於ては、かかる波高の低下が抗原抗体反応の程度、云い換えれば血中抗体価と平行するものか否かを調べ、大体に於て肯定的な結果を得る事が出来た。然らば抗原抗体反応を起した血清は如何にして波高の低下を来たすか、と云う問題が生ずるが、現在までの段階に於ては単に低下の事実を認めるだけで、その真の機構にまで立ち到つて研究する事は困難と云わねばならない。蛋白波自体の発生機構が未だ十分に解明されて居ないからである。衆知の如くポーラログラフ法に於ては、アミノ酸中 cystine, cysteine, homocystine, homocysteine 等含硫アミノ酸だけが波を出し (methionine は波を出さない)、蛋白でも硫黄のない gelatine や絹蛋白の如きものは波を出さない。故に Brdicka はこの波を硫黄(S)に基因するものと考え、之がコバルトと配位化合物を形成して更に電極の強い電場の影響を蒙るため、Sに結合している水素が益々不安定になつて遂に離散する、と云う所謂不安定水素(SH)説をたてた。従つて彼によれば蛋白波の発生は水素の還元波に外ならない。即ち



となり第2段階では水素を放出した $-S'$ が再び水中から H をとり SH に還元する。

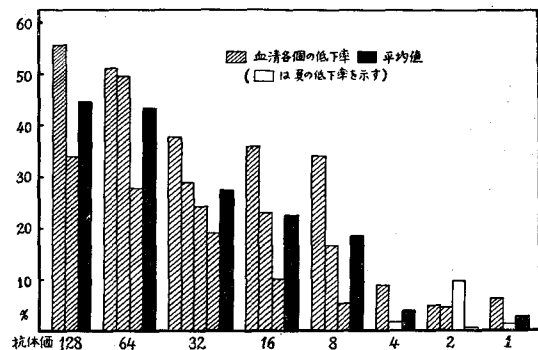


その結果生じた OH' は緩衝液で除去されるから SH は絶えず更新され、かくて $-S'$ が catalyzer の役割を果す¹⁸⁾。

この様な考え方によつて第2波の発生を理解したとしても、第1波の発生機構についてはなお不可解である。

これについては僅かに Tropp²⁴⁾ が polypeptide のある形 (恐らく diketopiperazine 様の) に由来するであろうと想像しているに過ぎない。かくの如く第1波については未解決の上に、前報に於て、第1波の低下に関しては推計学上有意と称すべき程の差を見出し得なかつたので、本報に於ける測定は専ら第2波のみに限つた。然し将来に於て色々なポーラログラムの形式を追求するのに、当然第1波の観察も必要になつて来るであろう事は想像に難くない。我々の研究は、抗原抗体反応の観察にポーラログラフ法を導入し得ると云う基礎的な事実を証明しただけであるから、本態論的な議論は暫く措き、以下本報で得られた成績について血清反応上の見地のみから 2, 3 の考察をして見度いと思ふ。

既に述べた如く第1報に於て我々は、免疫血清に特異抗原を加えれば蛋白第2波の低下する事を示した。然しこの場合の低下は、正常血清に同じ抗原を加えた (抗原抗体反応は起らない) 時の波高と比較したものであつた。この実験に於て我々は個々の兎のもつ蛋白波の高さが相当な幅を持つて居ることに気が付いた。ポーラログラフ法に於ける波高は蛋白濃度に直接関係するものであるが、これと正比例するものではなく吸着等温曲線的関係を有する事、又この波が前述の如く水素の離脱する還元波である限りに於て、波高は pH と平行するものである事、などが知られて居るが、我々の場合煎じつめて見れば、要するに波高の変動は主として動物の個体差に帰すべきものと考えられる。勿論かかる個体差は例数を多くする事によつて平均化され、更に前報の如く推計学的検定を加えた場合には問題なくなる訳であるが、方法論的には抗原抗体反応の有無を違つた個体について比較したことになる。従つて本報に於ては、これを合理化して同一個体につき、抗原抗体反応を起さしめた場合と起さない場合 (抗原の代りに蒸留水を加える) とを比較した (結論は同じになるのであるが前報もかかる比較を行つた方が良い事は云う迄もない)。然しこの様な方法をとつて見ても個々の変動は予期したよりもかなり大き



第3圖 抗体価と第2波波高の低下率

かつた。従つて蛋白第2波の低下する度合を調べ、低下率の大きいものは抗体価が高い、と直ちに結論出来る程密接な平行関係は得られなかつた。即ち低下率の大小は抗体価の高低を直接表わすものではない。然し平均値を取つて見ると第3図に示す如く、大体に於て抗体価が低くなる程低下率も少なくなる傾向が認められた。この様に全体としては波高低下率と抗体価が平行しながら、個々の兎については低下率がかなりの幅を持つて居る事は如何に解釈すべきであるか。第1に考えられるのはポーラログラム法自身の持つ実験誤差の問題である。事実第2表を些細に検討してみると、測定法そのものに多少の誤差が(他に原因がないと仮定すれば)ある様にも思われる。例えば No. 310, No. 340, No. 15 の血清に於て、抗原抗体反応を起した場合の方が波高の高い事は実験誤差の範囲と考えるべきであろう。我々の用いた抗原は polysaccharide 性のものであつて、ポーラログラム上何等の波を出さないものであるから、これを加えた場合と蒸留水を加えた場合とでは少なくともポーラログラム的には蛋白濃度に変化はないと考えられる。従つて抗原を加える事によつて波高が増したのは蛋白濃度の増加で説明が出来ず、これ等血清の抗原抗体反応が他の血清のそれと機転を異にすると考えるか、或いは実験誤差によると考える以外説明がつかないであろう。前の考えが無理である事は云う迄もない。然し一方に於て無機分析、殊に定量に於けるポーラログラム法の正確さを考えるならば、この誤差は物理的条件の違い、或いは手技の誤差と考えるべきかも知れない。第2に考えられるのは血清の安定度の問題である。血清は原則として採取後なるべく早い時期に実験に供したのであるが、用いた機械は1合だけであるから中には1~2日氷室中に保存した後の血清について測定を行つた場合もある。一般に抗体は、通常の試験管内抗原抗体反応に関する限りかなり stable なものであるが、ポーラログラム的にも同じように安定であるかどうかは分らない。従つて或る血清は時間を終る事によつて一部分不活性化したかも知れないと考へ得るが、この点については次回に検討して見度い。第3に考えられるのは抗原と抗体の量比がポーラログラム的に最適であつたかどうか、と云う問題である。第2表に於て見ると抗体価の低い血清、殊に4以下のものについては波高低下率が格段に少ないのであるが、抗体価の高いものの中に案外低下率の大きくないものが2, 3見出される(例えば血清 No. 403 の低下率 9.7% は同じ抗体価 16 のグループに属する他の2つ、22.7% 及び 36.2% に較べ、飛び離れて小さ過ぎる様に思われる)、一方既に述べた如く家兎血清の蛋白含有量は個体差があるから、ポーラログラムに見られる個々の動物の波高は一定して居らずかなりの幅を持つて居る。従つて抗

体が十分に在つても、これと反応すべき抗原の量が適当でないならば最適比の抗原抗体反応が起らず、波高の低下が十分に認められない、と云う事も考えられる。我々の用いた抗原の濃度が、個々の動物に於て夫々最適のものであつたかどうかは疑問と云わねばならない。抗体価の低い血清(抗体価4以下)に於て波高低下率が比較的安定して居るのは、抗原量の適不適よりも元来これと反応すべき抗体が少ないのでそれ程波高が下らないと考えれば説明はつく。故に本実験の如く一定した濃度の抗原の代りに、夫々の血清について色々な濃度の抗原で実験し、低下率の maximum な点を最適比の反応と考へて、これによつて結果を判定して行けば、或いはもつと変動の少ない値が得られるかも知れない。以上の問題は今後検討を要すべき点であるが、何れにせよ第2表を通覧して見るならば、抗体価の低くなる程波高低下率も小さくなる傾向は大体に於て認めて差支えないと思われる。なお波高の低下率を沈降反応と比較して見る代りに、他の結核血清反応の力価と較べる事も興味ある問題であろう。

次に我々は波高低下と抗原作用時間との関係を調べて見た。この事は波高の低下が沈降物形成と直接関係があるかどうかを知る1つの鍵となると思つたからである。即ち免疫血清に抗原を加えた直後の、抗原抗体反応が未だ完結して居ないと思われる時間内に波高を測ればどの様な結果が得られるか、を調べたのであるが10例の血清について見た成績では、何れも抗原添加により直ちに波高の低下を招く事が認められた。その低下率が24時間反応を起さしめた場合より少なかつたのは当然であるが、何れにしても抗原を作用させた直後極めて短時間内に波高が低下する事実は興味がある。この場合、抗原添加直後であるから沈降物形成は勿論、肉眼で認め得られる反応は何等認められなかつたが、上の事から見ると抗原と抗体の結合は極めて早く起るものと思われる。即ち反応が目に見えると云う事と結合すると云う事は別の段階で、血清反応には結合の段階とこれが visible になる段階の2つがあり、前者は抗原と抗体が接触すれば即刻起るものなのかも知れない。これはポーラログラム上から見た想像であるが、もしこの通りであるならば、この場合の抗原抗体反応はウィールズ病に於ける中和抗体とウィールズの結合などはかなり趣きを異にするものと云わなければならぬ。何れにせよ、抗原抗体結合物はそれが肉眼で認められるものであると否とに拘わらず、ポーラログラム的には不活性化されるものと考えられる。

次にこの実験に暗示されて居る通り、沈降物形成が波高低下の直接的な原因をなして居るものでないかどうかを検討して見た。緒言の項にも述べた如く、波高低下の原因

は抗原抗体反応によつて沈降物を生じ、これが系外に去つて蛋白濃度の低下を招いたためではないか、と先ず考えられるからである。よつて被検血清の中沈降物の著明に出来たものを遠心沈澱して除き、上清について波高を測定した。第2表C欄がその成績であるが、これは沈降物を除かない場合の波高と較べて有意と認められる程の差ではない。これから見ると沈降物を除去したか否かは波高に対し別に影響を及ぼさない様である。前者即ち除去の場合、沈降物に含まれただけの蛋白が全体の血清蛋白から除かれたのであるから、蛋白濃度の低下を来たしていることは疑いない。それでも波高に変わらないとすれば、そもそも沈降物中の蛋白は、血清中に含まれていてもポーラログラフ的に活性を持つていないものと考えるのが至当であろう。この事は生じた沈降物が変性の目的で加えられる KOH によつて溶ける事から見れば一層明らかになる。即ち若し波高の低下が抗原抗体反応の結果生じた沈降物形成による蛋白濃度の低下に主な原因を求め得るとすれば、これを溶かした場合、元の波高に戻つてもいい筈である。然るに実際は上述の如く、沈降物の除去、溶解にかかわらず波高は殆んど変らない。故に一旦沈降物となつたものはポーラログラフ的に不活性で、これを溶かしても再び活性を恢復しないものと考えられる。然らば抗体が抗原と結合すれば如何にして不活性化されるのであろうか？ これは今後に残された甚だ興味ある課題であるが、同時に又追求する事の甚だ困難な問題でもある。この場合の不活性はポーラログラフ的な不活性であるから、未だ十分解明されていない蛋白波の発生機構にまで立ち入つて考えなければ、満足すべき解答は得られないであろう。

5. 結 論

1) BCG で免疫した家兎血清に特異抗原を作用せしめると、ポーラログラム上蛋白第2波が著明に低下するが、低下の割合は大体に於て抗体価の高さと平行する。然し個々の血清について観察すればかなりの変動が認められるので、低下率は直ちにその抗体価の高低を表わすと結論する事は出来ない。

2) 波高低下は抗原を加えた直後に於て既に始まり、必ずしも肉眼的に認め得る沈降物の生ずる事を必要としない。然し抗原抗体反応が十分完結したと考えられる 24 時間後に較べれば、直後の低下率は幾分低い。

3) 波高の低下は抗原と結合した抗体がポーラログラフ的に不活性化される事によつて起ると考えられ、沈降物形成に起因する血清蛋白の濃度低下に直接関係するものではない。

稿を終るに臨み、ポーラログラフに就いて種々助言を頂いた札幌醫大生理學教室永井寅男教授並びにその教室員に深く感謝する。

引用文献

- 1) 志方・館・保崎：農化 3, 833, 1927.
- 2) 服部：倉敷中央病院報告 第4號, 1927.
- 3) 濱本：Collection 6, 325, 1934.
- 4) 菅居：京都醫大誌. 27, 710, 1931.
- 5) Teisinger：Z. f. ges. Exper. Med. 98, 520, 1936.
- 6) Teisinger：Microchemie 25, 151; 328, 1938.
- 7) Barnett et al：Biochem. J. 40, 445, 1946.
- 8) 大原・宮崎・高橋：札幌醫大紀要. 2, 270, 1952.
- 9) 館：化學の領域臨時増刊. 2, 37, 1948.
- 10) Brdicka, R.：Z. Electrochem. 48, 685, 1942.
- 11) 森・村田：ビタミン. 24, 14, 1949.
- 12) Kalousek, M.：Collection 13, 105, 1948.
- 13) Levy et al：J. Am. Chem. Soc. 68, 528, 1946.
- 14) Cramer, D.L.：J. Bact. 54, 119, 1947.
- 15) 高瀬・望月：北大應用電氣研究所彙報. 3, 30, 1951.
- 16) Brdicka, R.：Nature, 139, 330, 1020, 1937.
- 17) Müller and Davis：J. Bact. Chem. 159, 667, 1945.
- 18) 笹井：最近のポーラログラフイー（ポーラログラフイー 25 周年記念講演集）1950 年 50 頁.
- 19) 吉田：癌. 43, 75, 1952.
- 20) 和田・宮崎：札幌醫學雜誌. 3, 161, 昭 27.
- 21) 瀧本・和田：日本癌學會（昭和 28 年 4 月）.
- 22) Breyer & Radcliff：Nature, 167, 79, 1951.
- 23) 高瀬・池端：日本細菌學雜誌. 8(4), 403, 1953.
- 24) 石川・青木：アレルギー. 1(3), 18, 1953.
- 25) 青木：アレルギー. 1(4), 40, 1953.
- 26) 青木・伊與田・佐々木：アレルギー. 2(4), 178, 1953.
- 27) 伊與田：アレルギー. 2(6), 319, 1954.
- 28) Brdicka, R.：Collection Czech, Chem. Comm. 5, 148, 1933.
- 29) Brdicka, R.：Biochem. Z. 272, 104, 1934.
- 30) Mayer, K.：Z. physiol. chem, 275, 16, 1942.
- 31) Winzler et al：J. Clin. Invest. 27, 609, 1948.
- 32) 大原・中川：東京醫事新誌. 68(12), 5, 昭 26.
- 33) Brdicka, R.：Collection Czech. Chem. Comm. 5, 112, 1933.
- 34) Tropp, C.：Z. physiol. Chem. 262, 225, 1939.