

〔原 著〕

^{131}I 標識室内塵による抗室内塵抗体の検索 —その基礎的研究—

東京大学医科学研究所

アレルギー学研究部

伊藤 幸治 青木 良雄 進藤 宙二

慶応義塾大学医学部皮膚科学教室

大城 晶子

(受付 3月28日, 1968)

I. 緒 言

放射性ヨード ^{131}I をブタクサ花粉エキスを結合させ、花粉症患者血清中の抗体を検出する方法は、Pruzansky (1962)¹⁾ によつてはじめて以来、広く使われている。Yagi ら (1963)²⁾ は ^{131}I labeled ragweed pollen extract を使つて、radioimmuno-electrophoresis を考案し、患者の γG , γA , γM のいずれも ragweed と反応する事を示している。

更に、石坂ら (1967)³⁾ は ^{131}I labeled ragweed pollen extract を用いて radioimmuno-electrophoresis 及び、radioimmunodiffusion を行い、reagin の関連する protein として未知の immunoglobulin を見出し、 γE として発表している。

このように、 ^{131}I をブタクサ花粉に結合させる実験は、数多く報告されているけれども、ブタクサ花粉と並んで重要な室内塵に ^{131}I を結合させた試みは極めて少ない。

本邦では、ブタクサ花粉よりも室内塵に皮内反応陽性の喘息患者がはるかに多い事が、石崎ら (1966)⁴⁾ 及び川上 (1967)⁵⁾ により明らかにされている。この事実を考えると、 ^{131}I 標識室内塵による抗体検索は重要な意義を持つていられる。

Reed (1963)⁶⁾ は ^{131}I を室内塵に結合させ、 ^{131}I 標識室内塵と、患者血清及び正常人血清とを混合して、これにエタノールを加えたり、或いは Farr⁷⁾ の方法により、飽和硫酸を加えて、 γ -globulin を沈澱させ、その沈降物の放射能を測定することにより抗体を検索した。この方法により正常人12例中、6例に、患者32例中、27例に室内

塵と反応する抗体を検出し得たと報告している。又、Kopp, Bilbo & Reed (1965)⁸⁾ は、Sephadex G 200 で患者血清を分画し、その分画に Farr の方法を適用して IgM 及び IgG に、室内塵に対する抗体活性があると報告している。

Reed は、 ^{131}I 標識室内塵と患者血清とを寒天ゲル内で反応させ、洗滌後、これに photographic emulsion で放射能を検出しようとしたが陰性であつたと述べている。彼は、室内塵と抗体との complex が時間と共に decay していく事を観察しており、上記の寒天ゲル内の反応が陰性であつたのも、この decay 現象による為であろうと述べている。彼は、radioimmuno-electrophoresis, radioimmunodiffusion を行っていない。おそらく、decay 現象のために、うまくいかないであろうと考えたからではないだろうか。

果して ^{131}I 標識室内塵によつて radioimmunodiffusion, radioimmuno-electrophoresis は成功しないのであろうか。我々は、動物実験によつて、その基礎的研究を試みたので報告する。

II. 材料及び方法

1) 室内塵

a. 鳥居薬品より提供をうけた室内塵エキスの凍結乾燥粉末 (HD-P と略、蛋白13.1%)

b. 同じく鳥居薬品より提供をうけた室内塵エキス溶液 (HD-S と略、55.5mg/ml, 蛋白8.4%)

2) 抗室内塵ウサギ抗体の作成

HD-P 25mg を 0.5ml の生理食塩水に溶解し、これに Freund's complete adjuvant を 0.5ml 加え、よく混合

して water in oil の状態にし、ウサギの足蹠皮内に注射した。2 週おきに 3 回注射し、最終の免疫注射後、10 日目に耳静脈より採血して血清を分離した。

また、HD-S 0.5ml も同様に免疫をおこなった。HD-P、HD-S の 2 種の抗原につき、各々、3 匹ずつを免疫した。

3) Double diffusion test

Ouchterony⁹⁾の方法に従った。Difco 社製 Bacto agar 1 g を pH 7.5, $\mu = 0.147$ の veronal buffered saline 100ml に溶かして使用した。沈降線の形成を 1 週間にわたって観察した。

4) ^{131}I 標識室内塵の作成

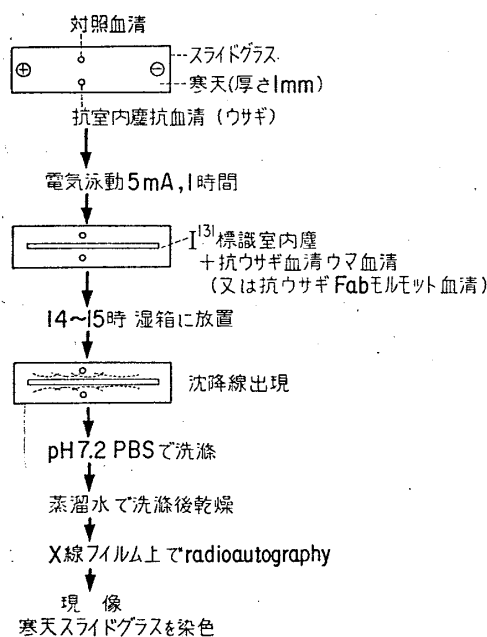
Hunter & Greenwood による I^{131} 標識蛋白作成法の Yagi 変法²⁾を用いた。

HD-S を 0.01M, pH 9.0 の borate buffer で透析後、蛋白量を Folin 法で測定し、上記 borate buffer で稀釈し 800 γ protein (BSA に換算) /ml とした。この 0.2ml を ^{131}I , 1 mc と反応させた。 ^{131}I を室内塵に標識後、Sephadex G 25 の $2 \times 40\text{cm}$ のカラムで gel filtration をおこない、free の ^{131}I を除去した。 I^{131} を標識する際、日本放射性同位元素協会の $\text{Na } \text{I}^{131}$ を chloramin-T で酸化して用いた。

^{131}I 標識室内塵を以下 HD* と略する。

5) Radioimmuno-electrophoresis

Yagi²⁾らの方法に従った。以下に略記する。



6) HD-S 及び HD* の Sephadex G 200 gel filtration. Sephadex G 200 を pH 8.0, 0.15 M borate buffer

saline (0.15 M NaCl solution, 0.15 M borate buffer を 14:1 に混合したもの) に懸濁し、Pharmacia 製カラムに $2.5 \times 38\text{cm}$ になるように詰めた。このカラムに HD-S 2 ml 及び HD* 0.2ml (蛋白量約 8 γ) の混合物を流し、fraction collector で 5 ml ずつ試験管に集めた。各試料の radioactivity を Well type scintillation counter で測定した。さらに 280m μ における吸光度を Beckman DU 分光光度計で測定した。

7) 抗ウサギ血清ウマ血清

東京大学医科学研究所試験製造室よりいただいた。

8) 抗ウサギ Fab モルモット血清

ウサギ血清より DEAE cellulose column chromatography で IgG を分離した。Porter¹⁰⁾の方法により、この IgG を papain 消化し、Olins & Edelman¹¹⁾の方法により、DEAE cellulose column chromatography で Fab を分離した。このウサギ Fab を Freund's complete adjuvant と共にモルモット足蹠に注射して抗ウサギ Fab 抗体を作った。この時使用した papain は Sigma 社製水銀 papain である。

9) ^{131}I 標識卵白アルブミンの作成

^{131}I 標識室内塵の作成と同様に行った。卵白アルブミンは、NBC 社の 5 回再結晶のものを用いた。

III. 結果

1) 抗室内塵抗体と室内塵とによる double diffusion test

室内塵末 (HD-P) で免疫したウサギの血清は HD-P に対し、寒天ゲル内沈降反応で何らの沈降線も生じなかった。

写真 1 抗室内塵ウサギ血清による寒天ゲル内沈降反応
中心孔には HD-S (室内塵エキス溶液) をいれてある。

1	抗室内塵ウサギ血清	No. 1
2	同	No. 2
3	同	No. 3

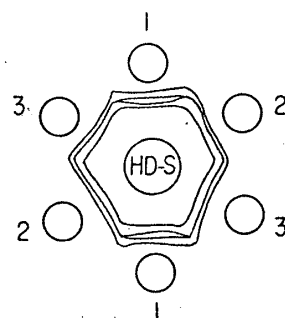
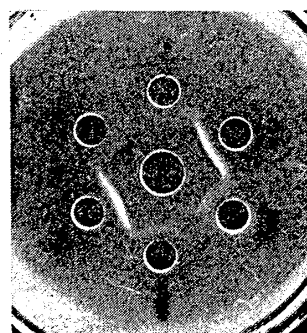


写真2 室内塵エキス溶液 (HD-S) と抗 HD-S ウサギ血清による寒天ゲル内沈降反応。

- 1 抗 HD-S No. 1 C₁ 対照(正常ウサギ血清) No. 1
 2 同 No. 2 C₂ 同 No. 2
 3 同 No. 3 C₃ 同 No. 3
 No. 1, 2, 3 共に HD-S に反応しているが対照血清は反応していない。

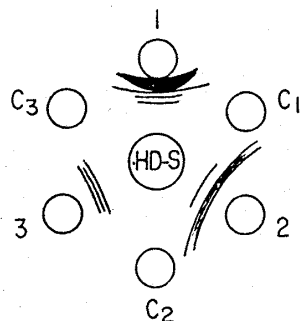
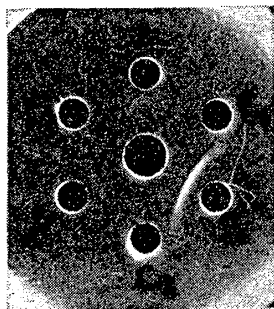
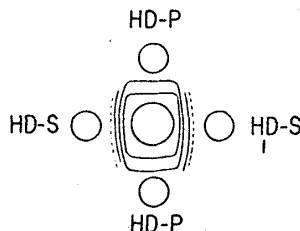
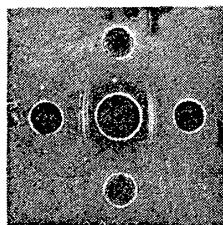


写真3 抗室内塵ウサギ血清による寒天ゲル内沈降反応

HD-S 室内塵エキス溶液 蛋白量50mg/ml
 HD-P 室内塵乾燥末 50mg/ml
 中心孔 抗室内塵ウサギ血清 No. 1
 HD-P に対しウサギに抗 HD-P を作り得なかったが、HD-P は抗 HD-S に対し反応し、HD-S と共通の2種の抗原性を有している。



室内塵エキス溶液 (HD-S) で免疫したウサギ血清は、いずれも HD-S に対し沈降線を形成した。

抗HD-S, No. 2, No. 3は3本の沈降線, No. 1は4本の沈降線を形成した(写真1)。対照に用いた正常ウサギ血清はHD-S に対し何らの沈降線も形成しなかった(写真2)。

4本の沈降線を形成したNo. 1の血清を中心の孔に入れ、周囲に HD-P, HD-S をおくと、HD-P に対して2本の沈降線を形成し、その沈降線は、HD-S に対する4本の沈降線のうちの2本と完全に癒合した(写真3)。

2) Boyden 法および Middlebrook-Dubos 法による感作血球凝集反応は

いずれも陰性であった。

3) HD-S およびHD*の Sephadex G 200 gel filtration

図1. Sephadex G 200 gel filtration., 3×38cm, pH8.0, 0.15M borate buffered saline

上図 室内塵エキス濃厚液 2ml
¹³¹I 標識室内塵 0.2ml (蛋白量約 8 γ) }
 の混合液を流した。

下図 同じカラムに健康人血清 1.5ml を流した。

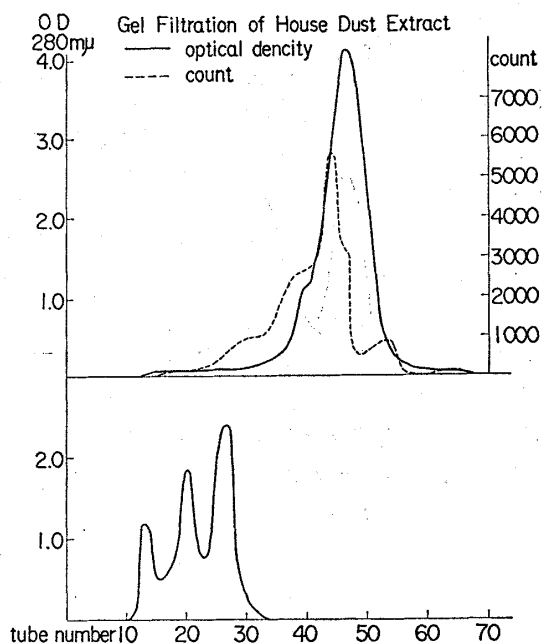


図1の実線に示す如く、HD-S は、ほぼ単一ピークを示した。HD-S が流出後、健康人血清を流してみた。固く詰めた Sephadex G 200 の column では、流出位置にかなりの再現性がみられるので、HD-S の中に含まれる蛋白成分の分子量と、ヒトの血清成分のそれとを比較してみると、下図に示す如く、19 S macroglobulin, 7 S gamma globulin および albumin よりもさらに小さい事が推測された。

HD-S に加えた HD* の radioactivity の peak は同図の点線に示す如く HD-S の 280mμ における optical density の peak よりもやや速く出現した。

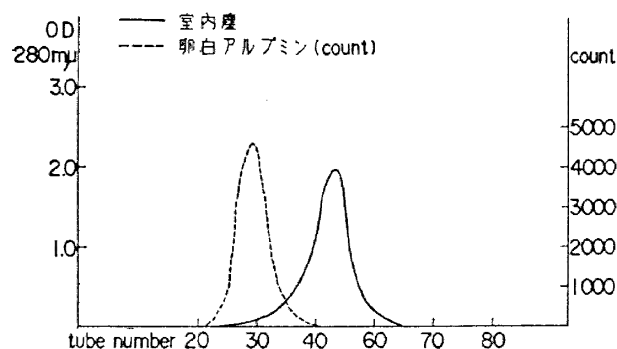
さらに、HD-S 1 ml と ¹³¹I 標識卵白アルブミン 1 ml (蛋白量10 γ) とを混合して gel filtration を行なつた。結果を図2に示す。HD-S 中の主要成分は、卵白アルブミン (分子量45,000) よりおそく流出してきた。従つて卵白アルブミンよりも分子量は小さいものと思われる。

4) Radioimmuno-electrophoresis

pH 8.6, μ = 0.025 の veronal buffer に2%の割合で溶かした寒天2 ml をスライドガラスに流して固まつた後、やや陽極よりに作った孔に、抗 HD-S ウサギ血清を入れ、スライドガラス1枚につき、5 mA の電流を1時間通じた。そのあとで電流の方向に溝を作り、この溝の

図2. Sephadex G 200 filtration., $3 \times 38\text{cm}$, pH 8.9, 0.15M borate buffered saline
室内塵エキス溶液 1 ml
 ^{131}I 標識卵白アルブミン 1 ml (蛋白量 $10\mu\text{g}$) }
の混合液を流した。

室内塵の主要成分は卵白アルブミンより分子量が小さい事がわかる。

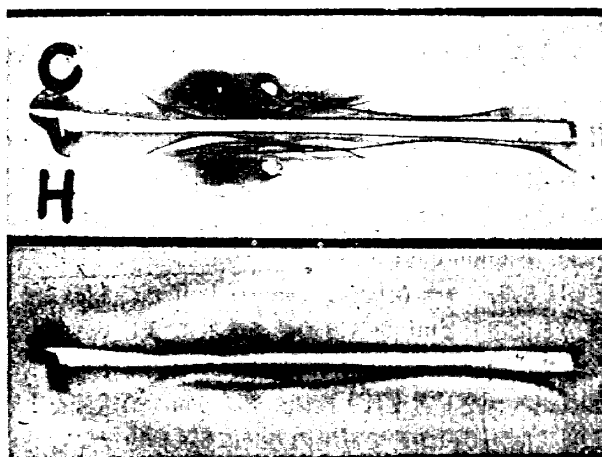


中に、抗ウサギ血清ウマ血清とHD* (蛋白量 $40\gamma/\text{ml}$) を容量で 4 : 1 の割にまぜたものを 0.15ml を入れ、14 ~ 15時間湿箱中に置いて、室温で反応させた。その後、pH 7.2のPBS (0.15 M, pH 7.2のphosphate buffer: 0.15 M NaCl solution, 1 : 14) の中にスライドガラスを浸し、48時間の間にPBSを数回取り換え、最後に蒸溜水中に3時間浸し乾燥後、医用X線フィルムに載せ、3日後に現像した。

写真4は、immunoelectrophoresis と、その radioautography の写真を並置したものである。泳動した血清

写真4. 上 immunoelectrophoresis
下 その Radioautography

C 対照血清 H 抗室内塵ウサギ血清 No. 1
溝の中に抗ウサギ馬血清と ^{131}I 標識室内塵(HD*) をまぜて入れたHのみ IgG に一致してHD*の結合がみられる。アルブミン、 α グロブリンに非特異結合がみられる。



は、抗 HD-S, No. 1である。

抗 HD-S 血清の IgG の沈降線に一致して radioactivity が検出されたが、対照血清の IgG には radioactivity は認められなかった。

しかし、抗 HD-S 血清および対照血清の両者の albumin 及び α -globulin に radioactivity がみられた。これは非特異的な反応と思われる。ここで用いた抗ウサギ血清ウマ血清は IgA, IgM の沈降線が明瞭には出なかったので IgA, IgM に抗 HD-S 抗体の活性があるかどうかは明らかに出来なかった。

IgG の部分ではHD*の結合が、抗 HD-S 血清と対照

写真5. 1, 2 : immunoelectrophoresis, 1'2' : その radioautography

No. 1 : 抗室内塵ウサギ血清 No. 1

No. 2 : 同 No. 2

C. 正常ウサギ血清

溝の中に、抗ウサギ Fab モルモット血清と ^{131}I 標識室内塵とをまぜて入れてある。

No. 1, No. 2ともに沈降線に一致して室内塵の結合がみられる。対照には沈降線はみられるが室内塵の結合はみられない。

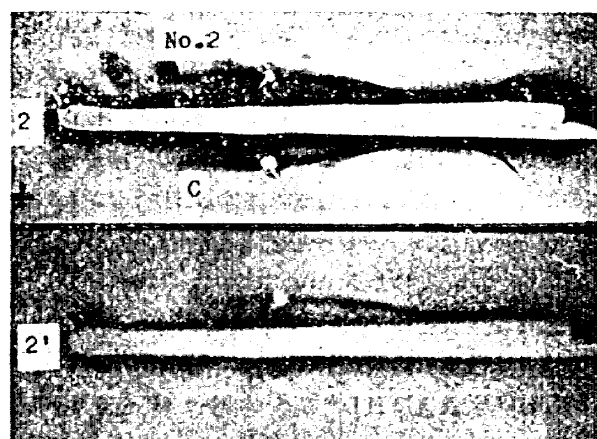
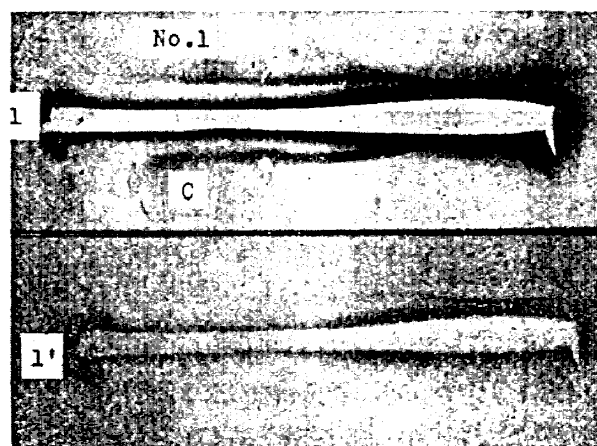


写真6 1, 2: electrophoresis 1', 2': その radioautography

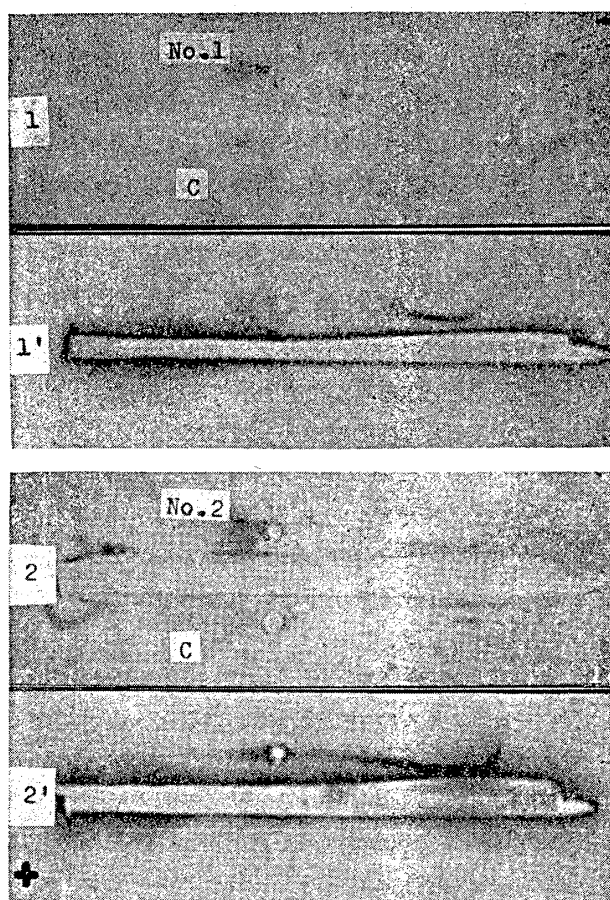
No. 1: 抗室内塵ウサギ血清 No. 1

No. 2: 同 No. 2

C 正常ウサギ血清

溝の中に I^{131} 標識室内塵が入っている。

No. 2 の細い沈降線に一致して室内塵の結合が認められる。No. 1 には沈降線が認められないが radioautography で室内塵—抗室内塵抗体の結合物の存在を検出している。



血清との間で著明な差を示すので、その差異を明瞭に示すためと、さらに IgG のみならず他の immunoglobulin の抗体活性をも明らかにするために、溝の中に入れた抗ウサギ血清ウマ血清の代りに、抗ウサギ Fab のモルモット血清を使つて radioimmuno-electrophoresis を同様に行つた。写真5に、その結果を示した。抗 HD-S, 対照血清共に、抗 Fab に対し沈降線を生じているけれども、HD* を結合しているのは抗 HD-S だけである。

溝の中へ、何らの抗血清も入れずに HD* のみを入れて反応させたものが写真6である。HD* と抗 HD-S, No. 2 は細い沈降線を生じているが、これに一致して強

表1 Farr 法による「 I^{131} 標識室内塵と抗室内塵抗体との結合」の検討

		count/min	注1) count γ -gl/min	注2) 百分比
生理食塩水	1	5377		
	2	5426		
対照血清	1	6305	704	0.018
	2	6185	584	0.015
抗室内塵血清	No. 1	11128	5537	0.148
	No. 2	9917	4216	0.113

注1) count γ -gl count より生食 1, 2 の
の平均値を差引いたもの

注2) 百分比 $\frac{\text{count } \gamma\text{-gl/min}}{\text{HD* } 0.1 \text{ の ml count (37340/min)}}$

い radioactivity が観察された。抗 HD-S, No. 1 は HD* に対し沈降線を認め得なかつたけれども、X線フィルムには radioactivity の arc が検出され、invisible precipitin band が生じている事がわかる。

5) Farr 法による HD*—抗 HD-S 反応の検出

抗 HD-S No. 1, No. 2 血清 0.1 ml. HD* 0.1 ml (蛋白量約 4 γ)

を混合して、37°C の恒温槽に 30 分間 incubate した後、飽和硫酸 0.1 ml を加えて 20 分間室温放置し、遠沈して上清を捨て、沈降物を硫酸 1/3 飽和の生理食塩水で 2 回洗滌後、沈降物の放射能を Well type scintillation counter で測定した。

表1に示す如く、抗 HD-S ウサギ血清の代りに、正常ウサギ血清及び生理食塩水を入れたものは、抗 HD-S 血清の場合に比し、はるかに弱い radioactivity を示したにすぎなかつた。

IV. 考 案

I^{131} 標識室内塵を使つた研究としては Reed⁶⁾ と、その共同研究者⁸⁾⁾のものがある。彼等の成績と我々の成績とを比較検討する場合、まず念頭におかなくてはならない事は、用いた室内塵が全く異なる事、抗体として用いた血清は、Reed らはヒトの血清であるし、我々はウサギの血清を用いた事である。従つて、以上の点を考慮しながら考察したい。

これまで述べた如く、 I^{131} 標識室内塵 (HD* と略) による radioimmuno-electrophoresis は、抗室内塵ウサギ血清を用いた場合可能である。また HD* と抗室内塵血清との直接反応も寒天ゲル内で起り得る事を認めた。Reed は、患者血清と I^{131} 標識室内塵との間の反応を寒天ゲル内で検出しようとしたがうまく行かなかつたと述べている。彼はその原因として、ヒト血清中の蛋白分解酵

素により、室内塵或いは室内塵と抗室内塵抗体の complex が、分解されていくためではないかと考えた。我々の結果からみると、全く沈降線が認められない場合でも、radioautography で HD *—抗 HD-S 抗体の結合物の存在を確認する事が出来た。従つてウサギの場合、Reed が観察したような分解現象は起つていないと考えられる。これは Reed が用いた室内塵と、我々の用いた室内塵とが異なるためかも知れない。またヒトの血清とウサギの血清との違いによるためかも知れない。

我々が免疫に用いた室内塵は、寒天ゲル内沈降反応において、すくなくとも4つの抗原を含有している事がわかつた。室内塵は採取場所により、その組成を異にすると考えられ、種々雑多なものを含んでいると考えられる。その中でどれが人体にアレルギー性を発揮するのか、まだ充分明らかにされていない。

Voorhorst¹²⁾ は、ダニの体成分が室内塵のアレルゲン性と密接な関連があると報告し、宮本ら¹³⁾ も皮膚反応の成績より、本邦の室内塵とダニ体成分との関連を明らかにした。また、真菌の菌体成分も室内塵に含まれている事は明らかで、抗 *Aspergillus* 抗体と室内塵が反応する事を川上ら¹⁴⁾ が報告しており、我々も¹⁵⁾ 第17回日本アレルギー学会で発表した。

従つて、次の課題として、ダニの体成分や真菌の菌体成分に ^{131}I を標識して radioimmunoelectrophoresis をやるべきと考えて目下検討中である。

^{131}I を標識した室内塵が患者の reagin と反応するか否かについては、まだ臨床例を検討していないので不明である。しかし、減感作には、我々の用いた室内塵と大体同じ組成のものを使つていたので、ウサギに生じたと同様の抗体が生じて来る可能性がある。従つて I^{131} が室内塵のどの成分に結合するかはともかく減感作によつて生じて来る抗体は、この radioimmunoelectrophoresis で検出できるかも知れない。

radioimmunoelectrophoresis で ^{131}I 標識室内塵がアルブミンや、 α -グロブリンに非特異的に結合しているのがみられた。室内塵がウサギのアルブミンや、 α -グロブリンに結合する性質をもっているのか、あるいは単に沈降線にまぎ込まれたにすぎないのかは不明である。Reed は Farr の方法を使つて、健康人にも抗室内塵抗体があると報告している。室内塵は種々の成分を含んでいるから、健康人にも抗体が存在しても不思議ではない。しかし室内塵成分が、アルブミンや α -グロブリンに結合しやすい性質がもしあるとすれば、彼の用いた硫酸50%飽

和法で、その結合物のいくらかは沈降物に含まれてくるのではなからうか。

^{131}I 標識室内塵と ^{131}I を標識していない元の室内塵とを混合して Sephadex G 200 の中を流下せしめると、radioactivity の peak は蛋白の peak より前の部分にあつた。その原因は種々あると考えられる。 ^{131}I が結合する成分は室内塵の中で分子量の大きい部分であるのか、 ^{131}I 結合の操作の過程で室内塵が aggregation を起したのか、 ^{131}I が結合したために分子量が大きくなったのか、今の所、はつきりした事は言えない。

最後に、HD-P と HD-S との関係であるが、HD-P には、HD-S に含まれるている抗原が、一部含まれていた。それにもかかわらず、HD-P を注射したウサギには、HD-P に対する沈降抗体を作り得なかつた。その理由はおそらく、免疫注射の時の抗原の蛋白量の違いによるものと思われる。

V. 結 論

1) 本邦市販の室内塵の濃厚エキスをウサギに注射して抗室内塵血清を作る事ができた。この室内塵エキスには、すくなくとも4種の抗原が含まれており、このうちの2種の抗原は、別の lot の室内塵に含まれる抗原と共通である事を、寒天ゲル内沈降反応で明らかにした。

2) 室内塵の主要成分は、ヒト血清アルブミンや、卵白アルブミンより分子量が小さい事をセファデックス濾過法で明らかにした。

3) ^{131}I 標識室内塵を、標識していない室内塵に混合してセファデックスの中で濾過せしめると、放射能のピークは、蛋白濃度のピークよりもやや前にあつた。

4) ^{131}I 標識室内塵を用いて、抗室内塵ウサギ血清の radioimmunoelectrophoresis を行なつたところ、IgG に室内塵の特異的結合を認めた。しかしアルブミン、 α -グロブリンに非特異的結合がみられたが、抗 Fab 抗体を抗ウサギ血清の代りに使う事により、特異反応のみを示すことができた。

5) ^{131}I 標識室内塵と抗室内塵抗体との間に寒天ゲル内沈降反応ど、何らの沈降線を認め得なくも、radioautography で、その特異的な抗原抗体結合特を検出する事が出来た。

本研究の一部は、昭和42年度文部省科学研究費の各個研究補助金によるものである。

本研究の一部は、第17回日本アレルギー学会で発表した。

本稿を終えるにあたり、isotope の取り扱いに関し御指

導いただきました東大医科学研究所，中村弘先生，抗ウサギ馬血清を下さいました同研究所試験製造室の諸先生，また，有益な助言をいただきました東京大学物療内科，宮本昭正先生に厚く感謝いたします。

更に室内塵エキスを提供して下さった鳥居薬品学術課の諸氏に感謝します。

文 献

- 1) Pruzanky, J. J., Paterson, R. & Feinberg, S.M.: Binding of Ragweed Antigen Labelled with Iodine-131 by Sera of Untreated Allergic Subjects. *Nature* 195 (4846), 1113, 1962.
- 2) Yagi, Y., Maier, P., Pressman, D., Arbesman, C.E. & Reisman, R.E.: The Presence of the Ragweed-Binding Antibodies in the β_2A -, β_2M - and γ -Globulins of the Sensitive Individuals. *J. Immunol.* 91, 83~89, 1963.
- 3) Ishizaka, K., Ishizaka, T. & Hornbrook, M.M.: Physico-chemical Properties of Human Reaginic Antibody IV. Presence of a Unique Immunglobulin as a Carrier of Reaginic Activity. *J. Immunol.* 97, 75~85, 1967.
- 4) 石崎達，梶野宗幹，伊藤幸治，井上喜美雄，飯島利彦，伊藤洋一，阿久沢実：即時皮内反応の特性，*アレルギー*，15 (6)，453~462，1966 (昭和41年)。
- 5) 川上保雄：臨床アレルギー学 (朝倉書店，大島良雄，岡林篤，小堀辰治，進藤宙二編集)，気管支喘息とその周辺，338~348，1967。
- 6) Reed, C.E.: Unstable Complexes of I^{131} -Labelled House Dust and an Antibody-Like Globulin from Human Sera. *J. Allergy* 35 (3), 274~275, 1964.
- 7) Farr, R.S.: A Quantitative Immunochemical Measure of the Primary Reaction Between I^{131} -BSA and Antibody. *J. Infect. Dis.*, 103, 239, 1958.
- 8) Kopp, W.L., Bflbo, R.E. & Reed, C.E.: *J. of Immunology*, 95 (5), 937~944, 1965.
- 9) Ouchterony, Ö.: *Acta pathol. microbiol. Scand* 25, 187, 1948.
- 10) Porter, R.R.: The Hydrolysis of Rabbit γ -Globulin and Antibodies with Crystalline Papain. *Biochem. J.*, 73, 119, 1959.
- 11) Olins, D.E. & Edelman, G.M.: The Antigenic Structure of the Polypeptide Chain of Human γ -Globulin. *J. Exp. Med.* 116, 635~651, 1962.
- 12) Voorhorst, R., Spijksma-Boezeman, M.I. & Spijksma, F.T.: Is a mite (*Dermatophagoides* sp) the house dust allergen? *Allergie und Asthma (Leipzig)* 10, 329~334, 1964.
- 13) 宮本昭正，大島司郎，石崎達，梶野宗幹，佐藤重雄：室内塵抗原の研究，第2報 *Dermatophagoides falinae* (Proroptidae: Acarina) (コナヒョウダニ) との臨床的相関，*アレルギー*，16，臨時増刊号，90~91，1967 (昭42)。*アレルギー* 17 (6) 84，1968 (昭43)。
- 14) 川上保雄，高橋昭三，豊原忠，今西耕一，国枝武幸，島袋良夫，吉田敏久：第9回日本医真菌学会シンポジウム，真菌とアレルギー (1)，内科方面 (気管支喘息と真菌アレルギー)，*真菌と真菌症*，7(2)，65~72，1966 (昭41)。
- 15) 青木良雄，伊藤幸治，進藤宙二，大城晶子： H_2 House dust と真菌菌体成分との関連性，*アレルギー*，17，(6) 85，1968 (昭43)。

Detection of Anti House Dust Antibody by Use of ^{131}I labeled House Dust.

—Experimental Studies.

The Department of Allergology, the Institute of Medical Science, the University of Tokyo.

Koji Ito, Yoshio Aoki and Tiuzi Sindo

Department of Dermatology, Keio University School of Medicine.

Akiko Ohshiro

1) Anti house dust sera were prepared by injecting the concentrated extract of house dust into three rabbits. Two sera out of three formed three precipitin bands against the same extract in double diffusion test. Another serum formed four bands against the extract, but produced only two bands against another lot of house dust. These two bands fused with two of four bands formed by the house dust used for immunization.

2) The main component of the house dust extract migrated more slowly than human serum albumin or egg albumin through Sephadex G 200 column.

3) When the mixture of house dust extract and ^{131}I labeled house dust was filtrated through Sephdex G 200 column, the peak of redioactivity appeared before the peak of optical density at 280 $m\mu$.

4) By radioimmuno-electrophoresis, it was shown that ^{131}I labeled house dust reacted with IgG of rabbit. However, there were nonspecific reaction of ^{131}I labeled house dust with albumin and α -globulin of both immunized and normal rabbit sera.

The use of anti rabbit Fab instead of anti rabbit serum succeeded in clearly demonstrating only specific reaction of ^{131}I labeled house dust with immunoglobulins.

5) Invisible complex of ^{131}I labeled house dust and anti house dust antibody was also detected by radioautography.

Clinical Significance of Basophil Leucocyte in Bronchial Asthma

Ikuro Kimura, Yoshiaki Moritani, Yoshitomo Nishizaki & Yoshiro Tanizaki

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director; Prof. K. Hiraki)

Changes of basophil leucocyte counts of the peripheral blood in bronchial asthma were investigated mainly by our improved method of Kovacs. The results are as follows.

1) The basophils in bronchial asthma generally show a higher count than in healthy controls.

2) During the interval of repeated asthmatic attacks the basophil count is higher than in the asymptomatic period.

3) Particularly in an episode of asthmatic attack, the basophils increase immediately before the attack and decrease to the normal level or lower after the attack has begun.

4) During asthmatic attacks it may be possible to expect a next attack, if the basophil count again tends to increase from the previous low count.

5) This counting method of basophils is easy enough for the routine examination like calculation of peripheral leucocytes.

6) Observation of the changes of peripheral basophils appears to be a useful laboratory aid for the