

こんにやく喘息のレアギン型抗体に関する 免疫化学的検討

群馬大学医学部第一内科学教室 (主任：七条小次郎教授)

中沢 次夫

(受付：1月21日, 1969)

緒 言

レアギンすなわち皮膚感作抗体が喘息や花粉症等のアレルギー性疾患の患者血清中に存在しその症状惹起に与するであろうということは周知の事実であるが、ここ数年このレアギンの物理化学的性質や免疫化学的性質が γ Aグロブリンと密接な関係があるというみかたが有力であつた¹⁾²⁾³⁾。それに対して石坂等⁴⁾はレアギン活性が γ Aグロブリンとは chromatography の上での分布が異なることを証明し既知の免疫グロブリンと異なることを想定した。また γ Aグロブリンを欠く agammaglobulinemia や ataxia teleangiectasia 等の γ Aグロブリンが認められない患者にもレアギンが含まれること⁵⁾から種々検討した結果、レアギン活性を含む新しい免疫グロブリンのクラスである γ Eを発見した⁶⁾⁷⁾。また最近スウェーデンの Johansson 等⁸⁾によつて新しい骨髄腫蛋白、ND蛋白が発見され、これが γ E骨髄腫であることが決定されている。

群馬県下仁田地方にみられる特徴ある吸入性アレルギー性喘息であるこんにやく喘息においても早くからその患者血清中にレアギン型抗体の存在が証明され⁹⁾、また注目されてきた。そしてその免疫化学的検討が急がれていたが近年、患者血清を Sephadex G 200及び DEAE Sephadex A 50を用いて分画した各分画について調べた成績ではレアギン活性は γ G、 γ Mにはなく γ Aと密接して存在するが γ Aとは必ずしも一致しないという結果を得た¹⁰⁾。

そこで今回、さらにこんにやく喘息のレアギン型抗体について DEAE cellulose column chromatography や Sephadex G 200によるゲル濾過の方法を用いて精製を試みその精製された分画を用いて Prausnitz-Küstner 反応や、放射性免疫電気泳動法を試みその抗体活性を観察した。また抗 γ Eウサギ血清をはじめ、各種抗血清を用いて患者血清中のレアギンの吸収を試みた。

材料及び方法

① 患者血清

こんにやく喘息患者で舞粉抗原による吸入誘発試験陽性者2例(F.K., S.S.)から採血した血清も用いた。2例とも未治療の血清でその Prausnitz-Küstner 反応値はそれぞれ1:400, 1:200であつた。また採血した血清は使用時迄-20°Cに保存した。

② 抗原物質

こんにやく喘息のアレルゲンである舞粉の90%飽和硫酸沈澱分画¹¹⁾の10,000倍の生理的食塩水(または蒸留水)液を用いた。上記抗原を生体反応に用いる際は 1.5×10^4 rpmで遠沈した後 Milipore filter を通して滅菌操作を行なつた後、使用した。

③ Column chromatography

まず患者血清をpH 7.6~7.8の間で50%飽和硫酸で沈澱させてグロブリン分画を得た。このグロブリン分画を生理的食塩水で約12時間0.005Mリン酸緩衝液で約24時間透析を行なつた後、同一緩衝液で平衡にした DEAE cellulose の column (2.5×40cm) に流し、0.005M, 0.025M, 0.035M, 0.05M, 0.08Mのリン酸緩衝液(pH 8.0)を用いた stepwise による溶出を行なつた。溶出液は7ml ずつとり波長 280m μ の吸光度を測定した。上記の DEAE cellulose による column chromatography の結果、5つの分画が得られ、その中0.025Mの緩衝液で得られた分画Ⅱに大部分のレアギン活性が溶出された。この分画を約3mlに濃縮し Sephadex G superfine 200 column によるゲル濾過も行なつた。(column 2.5×60cm)。分画は低温でホウ酸緩衝食塩水(pH 8.0)で行ない4ml ずつの分画を得た。得られたピークの前半を採り濃縮した後、同様に再び Sephadex G 200 superfine によるゲル濾過を行ない同様に吸光度を測定した。

④ 各種特異抗血清

a) 抗ヒト γ Gウサギ血清

0.005Mリン酸緩衝液を用いた DEAE cellulose column chromatography で溶出される γ G分画とを Freund の Complete Adjuvand とともに3回、兎に免疫したもので、3種の異なる γ G骨髓腫と反応する。これをK型及びL型の γ Aの骨髓腫蛋白で吸収を行なった。こうして得られた抗 γ Gウサギ血清は正常 γ G、骨髓腫 γ G及びヒト血清との間に単一の沈降線を形成したが γ A、 γ Mとは全く反応しなかった。

b) 抗ヒト γ Aウサギ血清

K型の γ A骨髓腫蛋白で免疫したウサギ血清を作成した。これをK型の γ G蛋白、正常 γ Gのプールで完全に吸収して monospecific となつたものを用いた。

c) 抗ヒト γ Mウサギ血清

L型の Macroglobulinemia の γ Mでウサギに免疫し γ G及び γ Aで吸収を行ない完全に monospecific とした。

d) 抗ヒト γ Dウサギ血清

千葉大学第2病理学教室、多田富雄博士より提供された抗 γ Dウサギ血清を用いた。これは γ D骨髓腫蛋白とのみ反応するが他の免疫グロブリンとは全く反応しなかった。

e) 抗ヒト γ A₁(抗ヒト γ E)ウサギ血清

同種に千葉大学、多田博士より提供されたもので花粉症患者血清から Vaerman¹²⁾の方法で γ Aグロブリン分画をとり、これを DEAE cellulose の column chromatography でさらに分画し0.025Mリン酸緩衝液で溶出する分画を Freund の complete adjuvand とともに6か月間、ウサギに免疫して得られた血清を用いた。この抗血清も正常 γ Gの骨髓腫 γ A、 γ Dで吸収した。この抗血清は、 γ G、 γ A、 γ M、 γ Dのいずれの免疫グロブリンとも反応しないが、 α_2 から β にかけて2ないし3本の沈降線を形成した。またこの抗血清は高力価の花粉病血清のレアギン活性を吸収する能力があることが確かめられている。

f) 抗ヒト全血清ウサギ血清

数名の正常ヒト血清のプールのうち、1ml 同量の Freund の adjuvand とともに2週に1回の割合で計6回注射してえられた抗血清を用いた。

⑤ 免疫電気泳動法

Scheidegger の変法による microslide 法¹³⁾にて行なった。緩衝液はバルビタール緩衝液*を用い、また寒天は Ion agar または Noble agar を用いた。

* バルビタール緩衝液 (pH 8.2 $\mu=0.05$)

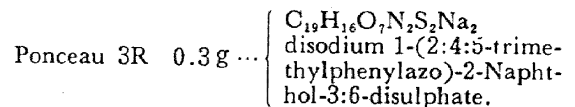
1/10Nバルビタール酸ソーダ	770ml/L	} 1300ml
1/10N塩酸	230ml/L	
蒸溜水	700ml	

1.7%及び0.85%の二種の Ion agar のバルビタール緩衝液を作成した。まずスライドガラスに1.7%の寒天溶液で基礎塗りを行ない乾燥させ0.85%の寒天溶液を2ml 重畳した。寒天が固まつた後、well 及び trough を切り試料を入れて5~7mA/slide で約60分間電気泳動を行なった。泳動終了後、抗血清を trough に入れ反応を行なわせた。反応の終了を待つて寒天スライドを生理的食塩水に入れ数回洗滌して余分の蛋白を洗い流した。その後、乾燥し染色を acid fuchsin** および ponceau 3R***にて約10分間行ない1%酢酸液で脱色させ乾燥させた。

** Acid fuchsin 染色

Acid fuchsin 2g を methylicalcohol 500ml 中に溶解しこれに400ml の蒸溜水及び100ml の酢酸を加えたもの。

*** Ponceau 3R 染色



三塩化酢酸 3.0g

蒸溜水を加えて100ml としたもの

⑥ 免疫拡散法

Ouchterlony 法¹⁴⁾による寒天を用いた二重拡散法を行なった。緩衝液及び寒天は免疫電気泳動法に用いたものと同じものを使用した。6cm×8cmのガラススライド板上に5%の Ionagar 緩衝液で基礎塗りをした後、1%の Ionagar 緩衝液を6ml 重畳し寒天の平板を作った。寒天が固まつた後、これに cutter を用いて well を作り (well 間の距離6mm) これに被検血清を入れて反応を観察した。

⑦ 放射性免疫電気泳動法

I^{131} を用いた放射性免疫電気泳動法を Yagi 等¹⁵⁾の方法に従って行なった。図1のごとく direct method 及び indirect method の2法を併用した。

1) 抗原の放射性ヨード化

I^{131} 0.2ml (3mc) に 2×10^{-4} M のヨウ化カリウム 0.1ml を加えこれにクロラミンT (141mg/L) の 0.1M ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) 溶液 0.2ml を加えた。以上の混合液中に抗原 (90% 飽和硫酸沈殿分画の1000倍稀釈液) 0.2ml (160 μ g protein) を加え5分間室温に放置

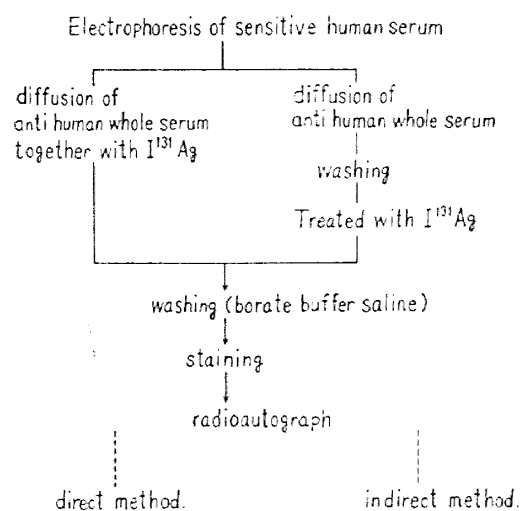


図1. Methods of radioimmuno-electrophoresis.

した。その後、過剰のヨードを Na_2SO_4 (1.26mg/ml, pH 9.0) を 2 ml 加えて還元し、pH 8.0 のホウ酸緩衝液中にて透析を行なった。

2) 免疫電気泳動

寒天は Agarose を前記ペロナル緩衝液に 1% の割合に溶解したものを用いた。図1のごとく direct method では泳動して抗血清を注入し30分後にラベルした抗原を注入しホウ酸緩衝液で数回洗って反応にあずからない蛋白を洗い流した後乾燥した。

Indirect method では泳動して抗血清を注入して拡散を行なわせた後、24~48時間後にホウ酸緩衝液で数回洗滌を行なった。そして乾燥させた後、ラベルした抗原を注入した。

3) Radioautography

2法ともよく洗滌、乾燥したスライドをサラララッ

プで包みスライドと同じ大きさに切ったX線フィルム (Kodak) と一合わせ、その上に薄く切ったスポンジを重ね、もう1枚のスライドガラスで押えた。これをサラララッで包み24時間放置した後、現像定着を行なった。radioautography を上記のごとく行なった後に寒天スライドの定着を行なった。

⑧ Prausnitz-Küstner 反応

正常人すなわち舞粉抗原液による皮内反応陰性の非現地人の背部または上腕伸側の皮内に、被検血清の2倍濃度希釈したものを0.05ml 注射し24時間後に該抗原0.02ml 皮内注射して challenge を行なった。判定は対照と比較して発赤10mm以上、膨疹5mm以上の場合に陽性とした。なお抗原液及び血清の滅菌は10,000回転20分間遠沈した後 microfilter を通す方法で行なった。

⑨ 免疫グロブリンの定量

種々の操作で得られた分画及び血清についての免疫グロブリンの定量は Hyland 社製の immunoplate (γG , γA , γM) を用いて行なった。

実験結果

① レアギンの精製

まず患者血清からレアギンの多い分画をとることを目的として以下の操作を試みた。患者血清 (S.S, P.K 値 1 : 400) 10ml を50%飽和硫酸で沈澱させグロブリン分画をとりこれを生現的食塩水で12時間、次に 0.005M リン酸緩衝液で48時間透析した後、DEAE cellulose による column chromatography を Stepwise 法によつて行なった。結果は図2のように 0.005M, 0.025M, 0.035M, 0.05M, 0.08M の各リン酸緩衝液に対応して

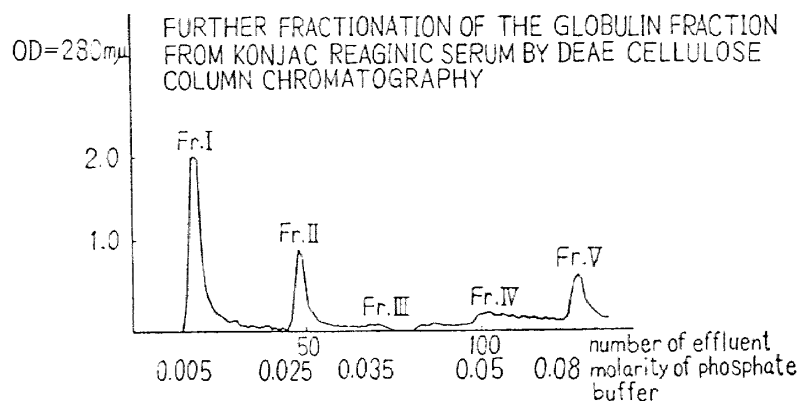


図2. 患者血清の DEAE column chromatography による分画。
0.025M リン酸緩衝液で溶出された分画Ⅱのみ活性がみられた。

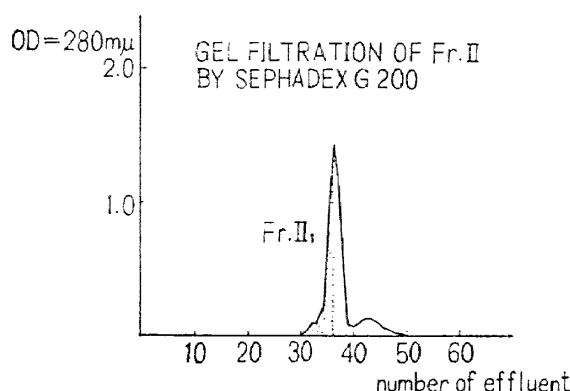


図3. Sephadex G 200による分画Ⅱのゲル濾過図の斜線部のみに活性がみられた。

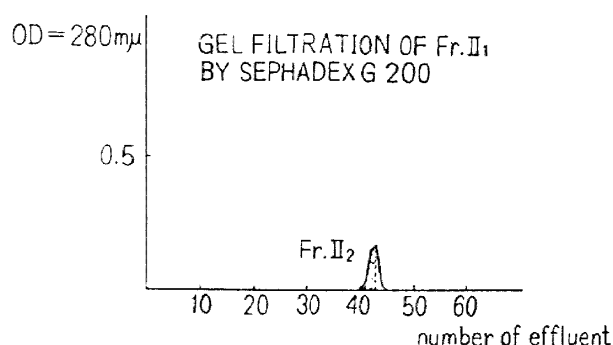


図4. Sephadex G 200による分画Ⅱ₁のゲル濾過図の斜線部のみに活性がみられた。

5つの峰がえられた。これを溶出順に分画Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ，Ⅳ，Ⅴと命名した。

このうち、分画Ⅱは石坂のいうγEを最も多く含む分画であるがこの実験においてもレアギン活性の大部分はここに含まれた。この分画Ⅱは主としてγA及びγGを含み(γG = 5.8mg/dl, γA = 23mg/dl)これからγGを除くためこの分画を約3mlに濃縮してからこれをSephadex G 200 superfineによるゲル濾過を行なった。(使用した緩衝液は borate buffer pH 8.0)。

結果は図3のごとく単一の峰が形成されたがレアギン活性はその前半(斜線部)に含まれていた。そこでこの前半部を採って石坂にならつて分画Ⅱ₁と命名した。さらに精製する目的で Sephadex G 200 superfine によるゲル濾過の recycling をこの分画Ⅱ₁について行なつたところ図4のように小さな峰が1つ得られた。この前半部を採って分画Ⅱ₂と命名した。しかしながらこれらの分画Ⅱ₁、分画Ⅱ₂にはまだγG及びγAグロブリンがわずかながら含まれていた。これらの分画Ⅱ，Ⅱ₁，Ⅱ₂についての Prausnitz-Küstner 反応値はそれぞれ1:4，

表1 得られた各分画のPK値及びγA，γAグロブリン量

分 画	P-K 値	γ G (mg/dl)	γ G (mg/dl)
Ⅰ	0	300	0
Ⅱ	4	5.8	23
Ⅱ₁	5	5.0	21
Ⅱ₂	10	/	/

分画Ⅱ₂のPK反応を起す最少のN量は0.08~0.1μgであつた。

1:5，1:10であり分画Ⅱ₂のPK反応を起す最少のN量は0.08~0.1μg N位であつて、最初の50%飽和硫酸沈澱分画でとつたグロブリン分画に比較してN当たり約100倍位に濃縮されていると思われた。なお、分画ⅠのPK値は0でその組成はγAグロブリンのみ含まれていた(表1)。

② 抗血清による吸収

次に各抗血清による患者血清の吸収を試みてみた。前記特異抗血清すなわち抗ヒトγAウサギ血清抗ヒトγGウサギ血清、抗ヒトγDウサギ血清、抗ヒトγA₁(抗ヒトγE)ウサギ血清を用いて下記のごとく患者血清の吸収を行なつた。

まず患者血清S.S.及びF.K.(PK値1:200)2種を5倍稀釈し、その0.5mlと抗γAウサギ血清0.5mlとを混合した。その後37°Cに1時間保つた後、一夜4°Cに放置、15,000rpm、15分間遠沈しその上清を採り滅菌した後、健康者の背部へ0.05ml 皮内注射を行なつて感作した。そして24時間後、抗原で challenge を行なつた。

抗ヒトγGウサギ血清の場合には10倍稀釈の患者血清を使用し、同様の操作を行なつた。また対照としては抗血清の代りに正常ウサギ血清0.5mlを用い同様の操作を行なつた後、使用した。

結果は写真1に示すように、患者血清の稀釈1:200迄ではPK反応は明らかに陽性であつた。すなわち患者血清中のレアギンは抗ヒトγA、抗ヒトγGウサギ血清では吸収されなかつた。

次に抗ヒトγD、抗ヒトγA₁(抗γE)ウサギ血清による吸収を試みた。5倍稀釈患者血清(S.S, PK値1:400)0.5mlに2倍稀釈抗γDウサギ血清0.5mlを加えた。一方、同様5倍稀釈患者血清(S.S)0.5mlに抗γA₁(抗γE)ウサギ血清0.5mlを加え各々37°C1時間 incubate した後、4°Cにて1時間放置した後、上

10-(480)

こんにやく喘息のレアギン型抗体に関する免疫化学的検討

抗ヒト血清ウサギ血清→
(直接法) 分画Ⅰ→
抗ヒト γ Gウサギ血清→

上の radioautograph

(間接法)

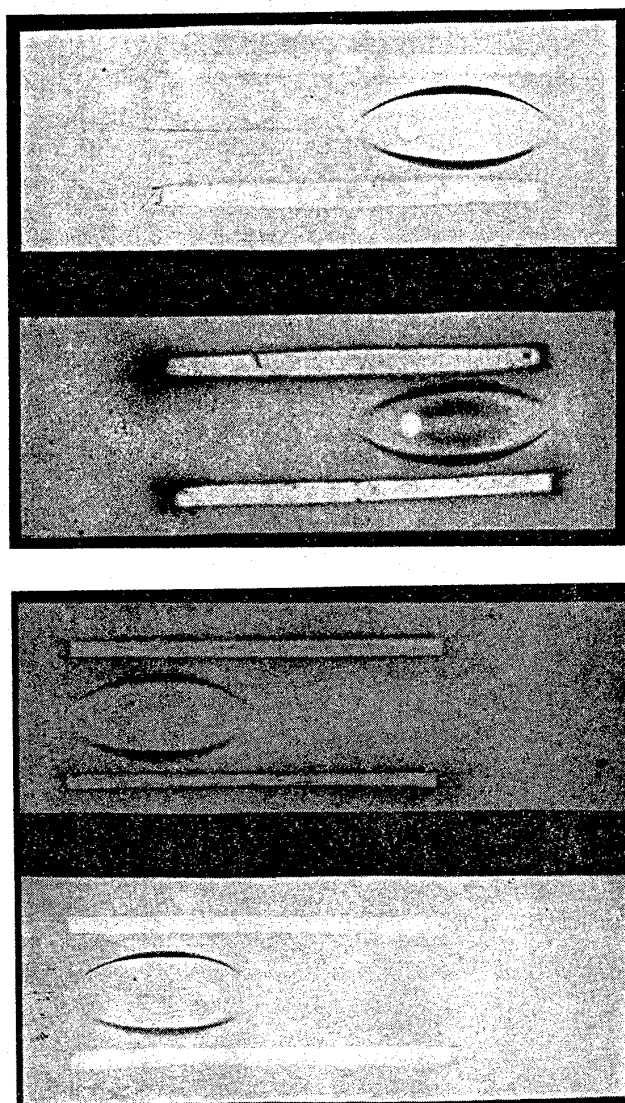


図5. 放射性免疫電気泳動. (I)

分画Ⅱ→
抗ヒト全血清ウサギ血清→
患者血清→

上の radioautograph

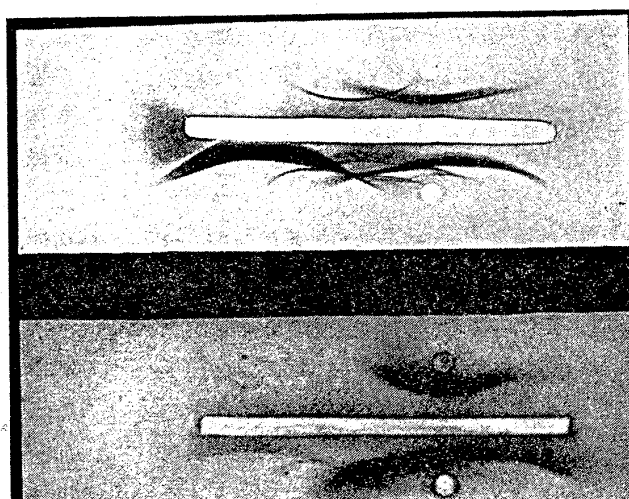
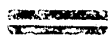
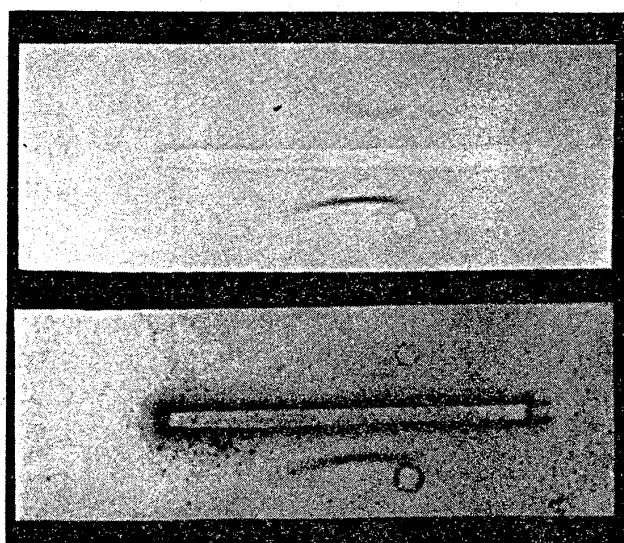


図6. 放射性免疫電気泳動. (II)

分画Ⅱ→
抗ヒト γ Aウサギ血清→
(直接法)  患者血清→

上の radioautograph



(間接法)

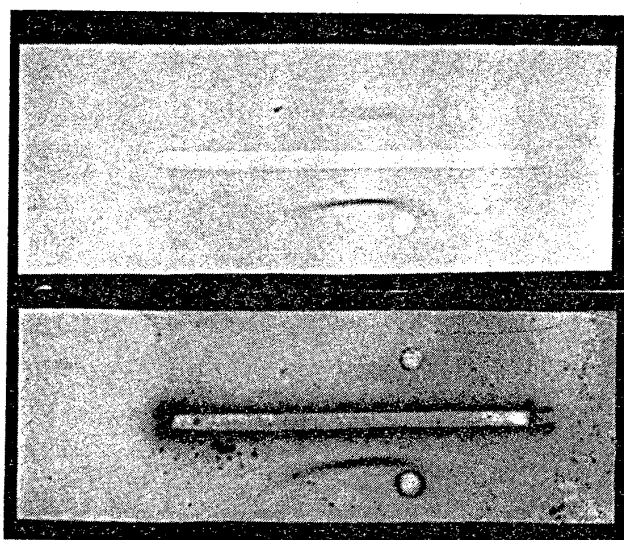


図7. 放射性免疫電気泳動 (Ⅲ).

抗ヒト γ A₁(抗ヒト全血清)ウサギ血清→
分画Ⅱ₁→
抗ヒトウサギ血清

上の radioautograph.

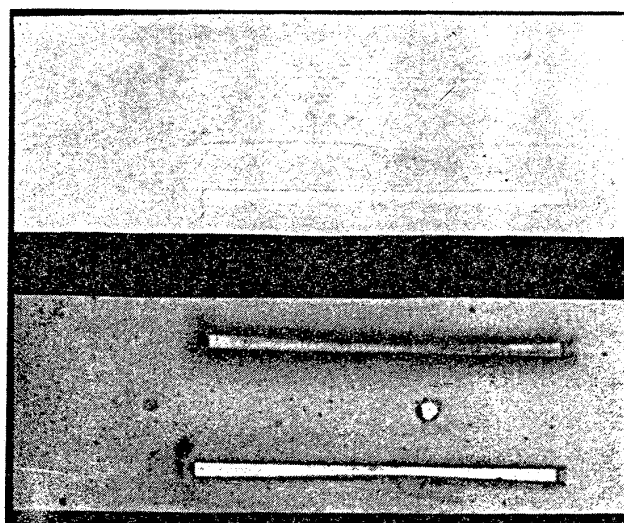
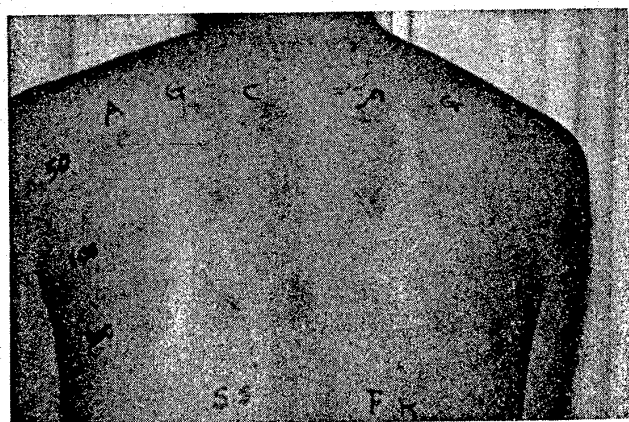
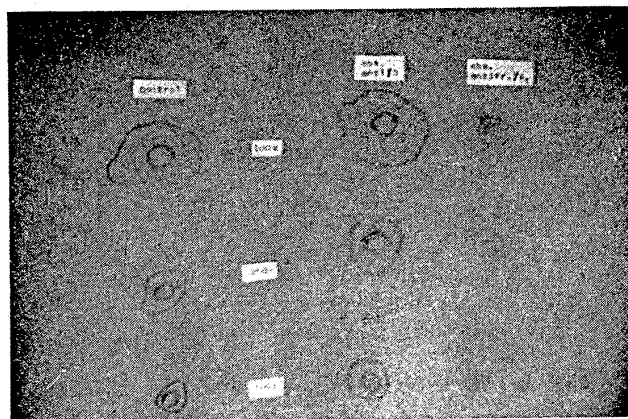


図8. 放射性免疫電気泳動. (Ⅳ)



A…抗人 γ A血清で吸収した患者血清
C…未吸収患者血清
G…抗人 γ G血清で吸収した患者血清
数字は血清稀釈
S.S } …患者血清
F.K }

写真1. 抗ヒト γ G血清及び抗ヒト γ A血清を用いた患者血清の吸収, (Prausnitz-Küstner 反応)



抗人 γ D血清では患者血清のレアギン活性は吸収されないが, 抗人 γ E血清では完全に吸収されている。

写真2. 抗人 γ D血清及び抗人 γ A₁ (γ E) 血清を用いた患者血清の吸収。

清を得た。これを健康者の背部皮内に0.05ml 注射し24時間後、該抗原で challenge を行つた。

結果は写真2のように抗ヒト γ Dウサギ血清では血清稀釈1:400でも吸収されなかつたのに反し抗ヒト γ A₁ウサギ血清で吸収した血清で吸収した血清では反応はまったく陰性であつた。

③ 放射性免疫電気泳動

次に前記患者血清や各分画及び抗血清を材料とし、放射性免疫電気泳動を用いてそのグロブリン中の抗体活性をみようを試みた。

DEAE column でとつた分画I (γ Gのみを含む)

と抗ヒト血清, 抗ヒト γ Gウサギ血清とを対応させた場合, 図5のように分画Iでは γ Gの沈降線に一致して強い放射性活性がみられた。その他にその内側にこれらに平行した放射性活性の線を認めるがこれは下段の間接法においては認められず, したがって過剰の放射性アレルゲンと本分画中の抗体(その易動度からして γ Gと考えられる)との直接の反応によるものと思われた。

次に分画II (レアギンの多い分画)と患者血清とを抗ヒト全血清ウサギ血清に対応させた免疫電気泳動では図6のように分画IIと抗ヒト全血清との間に主として γ A, 一部 γ Gならびに transferrin の沈降線がみられた。この radioautograph では γ A及び γ Gとの間に強い radioactivity がみられ強い抗原結合を示している。また albumin と α_2 グロブリンの一部に弱い非特異的放射性活性がみられた。

次にレアギンの多い分画II₁と抗ヒト γ Aウサギ血清とを対応させたのが図7である。分画II₁及び患者血清に両方とも γ Aグロブリンに radioactivity が認められた。なお直接法のスライドにみられる γ Aと異つた band は血清中の抗体とアレルゲンの直接の反応の結果であろうと思われる。

次にこのレアギンの多い分画II₁を抗 γ A₁ウサギ血清や抗 γ Aウサギ血清に対応させたのが図8である。図のように分画II₁と抗 γ Aウサギ血清との間には上記と同様、沈降線が証明され radioactivity が証明されたが抗 γ A₁ウサギ血清との間には沈降線も radioactivity もみられなかつた。また radioimmunodiffusion 法でも抗 γ A₁ウサギ血清と分画II₁の間には沈降線も radioactivity も証明することはできなかつた。

考 案

レアギンの物理化学的性状については、それを含む血清の、飽和硫酸沈澱分画で30%以上で得られること、電気泳動における易動度は γ_1 の領域にあること、沈降係数は7Sから19Sの間であり7Sよりやや大きいこと、DEAE cellulose の chromatography では0.02~0.05 Mの緩衝液(pH 6.2~4.5)で溶出されること¹⁶⁾また Sephadex G 200でゲル濾過を行うと γ M分画, 他のグロブリン分画, 及びアルブミン分画とに分かれるがレアギン活性は第1分画と第2分画との間で互いのピークが overlap する部位に存在することが報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。

またレアギンの一般的性状としては易熱性であること

(これは最近, 必ずしも抗体の結合基が熱によつて破壊されることを意味しないことが報告されているが¹⁹⁾), 実験的操作すなわち稀釈, 濃縮, 透析, fractionation 等によつてその活性にかなりの低下がみられることが知られている。

さてこのレアギンの抗体活性が抗 γ Aウサギ血清によつて失われること²⁾, また患者血清の γ A分画が抗体活性をもつこと²⁰⁾, レアギン型抗体の受動感作が正常 γ Aによつて抑制されること³⁾等からレアギンが γ Aに属する抗体であろうという考え¹⁾²⁾³⁾が有力であつたが1966年, 石坂⁶⁾はこのレアギンが γ Aを含む既知のいずれもの免疫グロブリンとも異つた新しい免疫グロブリンのクラスであることを証明した。それによればこの γ Eグロブリンの性質は沈降係数が約8Sで γ Gグロブリンや γ Aグロブリンのmonomerよりやや大きな分子量をもち, その電気泳動における易動度は γ_1 に一致している。また患者血清のDEAE celluloseのcolumn chromatographyでは0.025Mの緩衝液で大部分の γ Eグロブリンが溶出されるとしている⁶⁾²¹⁾。

今回, 私はVaemann等¹²⁾の方法でとつた γ A分画をDEAE cellulose column chromatographyの0.025M緩衝液で溶出される分画を用いて作成した抗 γA_1 (抗 γ E)ウサギを用いて, こんにやく喘息患者血清中のレアギンの吸収を試みたところ抗 γ G, 抗 γ A, 抗 γ M, 抗 γ Dのいずれの抗血清によつてもレアギン活性は吸収されないのに反してこの特定の抗 γA_1 (抗 γ Eを含むと考えられる)によつてレアギンの活性は完全に吸収されることを証明した。このことはウサギの γ Gグロブリンがヒトの受動感作を抑制する事実を考慮に入れてもこんにやく喘息のレアギンは他の花粉病のレアギンと同様に γ Eグロブリンであることが証明された。もちろん断定するには γ Eグロブリンによる抑制実験等を試みまた, その再現性の問題等の面でなお検討の余地はあるが, 少なくともこんにやく喘息のレアギンが γ Eにあると考えざるをえない成績と考えられる。

レアギンの精製を試みると50%飽和硫酸沈澱分画のDEAE cellulose column chromatography及びSephadex G 200のゲル濾過を行つて最終的に得られた分画のPK値は1:10であつたがN量で比較してみるとPK反応を起す最少の蛋白量は, はじめのグロブリン分画に比較して約100倍に濃縮されるという結果を得た。これは石坂等がrag weedの血清を用いて行つたN当たり約150倍から200倍という成績に比べてやや低く, その

精製がなお不充分であることが想像される。

しかしながら用いた患者血清のPK値が石坂等のサンプルに比較するとかなり低く, これ以上の精製は困難であつた。したがつてこれらを用いて放射性免疫電気泳動法その他によつてこのレアギン活性の強い分画 γ Eにを証明することは成功しなかつた。

放射性免疫電気泳動法に関しては, まず抗原のI¹³¹によるIodinationが必要であるが, Yagi¹⁵⁾ Callengner²²⁾はrag weedの抗原を用いiodinationを行なつた際, その抗原の力価には有意の低下がみられないと報告しているが舞粉抗原の場合でもこの程度の濃度によるiodinationではその抗原性に有意の低下は認められないことを知り得た。このことはこんにやく喘息の起因アレゲンの抗原決定基の問題に何らかの示唆を与える事実と考えられる。いずれにせよ本症の場合も放射性免疫電気泳動法は有力な抗体の検索方法になり得ることを知り得た。しかしながら今回の実験においては γ Eに直接, 抗体活性のあることをこの方法で探すことはできなかつた。PK反応を用いた場合の吸収実験では γ Eであることが確め得たにも拘らず, 放射性免疫電気泳動で証明し得なかつたことは, この両者の検索方法がその感度の点で明らかに異なるためであろうと考えられる²³⁾。

したがつてもし沈降反応を起すに十分な量の γ Eを濃縮し得たならば放射性免疫電気泳動法でもその抗体活性を証明できるものと思われる。とにかく, この方法によつては γ Gと γ Aとに強い抗体活性の存在することは明らかとなし得たのであるが, このレアギン活性を有しない抗体の免疫生物学的意義は極めて興味ある点であるが現在迄のところの実証的事実は得られていない。

まとめ

私はこんにやく喘息血清中に存在するレアギン型抗体について, 種々の免疫化学的検索を試み以上の結果を得た。

1. こんにやく喘息患者血清中のレアギンは抗 γA_1 (抗 γ Eを含む)ウサギ血清で完全に吸収されたが抗 γ A, 抗 γ G, 抗 γ Dウサギでは吸収されなかつた。
2. こんにやく喘息の抗原である舞粉は本実験に用いた程度のヨート化によつては, その抗原性に顕著な影響はみられなかつた。したがつて放射性免疫電気泳動法は本症患者の場合も有力な抗体検索方法になり得ることを確め得た。

3. こんにやく喘息患者血清の chromatography 及びゲル濾過による検討では、レアギンの活性は γ G, γ A, γ M, γ Dのいずれもその分布を異にし、石坂の分布とよく一致した。

4. レアギン活性の強い分画をとりそこに γ E及びそれに含まれる抗体活性を放射性免疫電気泳動法で証明することはできなかった。この方法によれば、本症患者の場合 γ G及び γ Aグロブリン中に強い抗体活性がみられた。

以上の成績からこんにやく喘息患者のレアギンは γ E中に含まれることはほぼ確認し得たが、放射性免疫電気泳動法で γ Eはおそらくはその低濃度のため、証明できなかった。これらの問題についての考察を加えた。

稿を終るに臨み御指導、御校閲を賜った恩師七条小次郎教授に感謝致します。また終始、御教示、御指導頂きました小林節雄助教授に深謝すると同時に御鞭達、御協力頂きました教室員各位に厚く御礼申し上げます。また御多忙にも抱らず懇切な指導を頂きました千葉大学医学部第2病理学教室の岡林篤教授、多田富雄博士に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Schon, A.H., Harter, J.G. & Rose, B.: J. Exp. Med. 103 : 679, 1956.
- 2) Fireman, P., Vannier, W.E. & Goodman, H. C.: J. Exp. Med. 117 : 603, 1962.
- 3) Ischizaka, K., Ischizaka, T. & Hornbrook, H. C.: J. Allergy 34 : 395, 1963.
- 4) Ischizaka, K., Ischizaka, T.: J. Allergy 37 : 169, 1966.
- 5) Loveless, M.H.: Fed. Proc. 23 : 403, 1964.
- 6) Ischizaka, K., Ischizaka, T. & Harnbrook, M. H.: J. Immunology 97 : 75, 1966.
- 7) Ischizaka, K., Ischizaka, T. & Hornbrook, M.M.: J. Immunology 98 : 490, 1967.
- 8) Johansson, S.G.O. & Bennich, H.: Immunology 13 : 381, 1967.
- 9) 松本文吾, 北関東医学 9 : 1, 1959.
- 10) 中沢次夫, 小林節雄第17回日本アレルギー学会, 演, 1967.
- 11) 金子由之助, アレルギー 75 : 819, 1966.
- 12) Vaerman, J.P., Heremans, J.F. & Vaerman, C.: J. Immunology 91 : 7, 1962.
- 13) Campbell, Dan. H. & Justine, S. Garvey : Methods in Immunology W.A. Benjamin, Inc New York, Amsterdam, 1964.
- 14) Ouchterlony, O.: Acta, Path. et microbiol Scandnav, 26 : 516, 1949.
- 15) Yagi, Y., Maier, P., Pressman, D., Arbesman, C.E. & Reisman, R.E.: J. Immunology 91 : 83, 1963.
- 16) Scherman, W.B.: Immunological Diseases-edited by M. Saunter Little Brown and Company Boston 1965.
- 17) Goodfriend, L., Parelmutter, L. & Pose, B.: Nature 205 : 718, 1965.
- 18) Parelmutter, L., Rose, B. & Goodfriend, L.: J. Allergy, 37 : 236, 1966.
- 19) 多田富雄, 代謝 5 : 30, 1968.
- 20) Hareman, J.F. & Vaerman, J.P.: Nature 193 : 1091, 1962.
- 21) Ischizaka, K., Ischizaka, T. & Lee, E.H.: J. Allergy 37 : 336, 1966.
- 22) Callaghan, O.H. & Goldfarb, A.R.: J. Immunology 89 : 612, 1962.
- 23) 山村, 石坂編集免疫化学 613, 672, 1963朝倉書店

ABSTRACT OF ORIGINALS

Studies on the Role of Macrophage in the Skin Transplantation

Shotoku Yamamura

Dept. of 2nd Surgery, Nippon Medical School

(Chief: Prof. Kiyoshi Saito)

Dept., of Microbiology and Immunology, Nippon Medical School

(Chief: Prof. Yoshitami Kimura)

In the experiment ddy strain, C₃H/He strain and C₅₇BL/6 strain of female mice between 4—8 weeks after birth were used. The skin transplantation was carried out by the method of Billingham and medawar. The survival time of the transplantation skin graft was determined by the macroscopic observation (50% survival days).

The mice were pretreated with the cultured macrophage originated from the different strain of mice and then the skin grafts originated from the same strain of the cultured macrophage were transplanted to the above mice.

In the above group of mice the rejection reaction of the transplanted skin graft were accelerated.

However, in the group of mice transplanted the skin graft different from the pretreated macrophage the acceleration of the rejection reaction was not recognized. These results suggest that the skin transplanted antigen may exist in the macrophage.

The macrophage was fractionated by the method of Manson and the localization of the transplanted antigen was studied. However the specific antigen could not be isolated by the sonication.

Immunochemical Studies on Reaginic Antibody in "Konjac Bronchial Asthma"

Tsugio Nakazawa

First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Gunma University,

Maebashi, Japan

(Director: Prof. Dr. K. Shichijo)

Immunochemical studies on reaginic antibody were performed in the sera from patients allergic to "Maiko", the offending allergen of "Konjac Bronchial Asthma".

1. Reaginic antibody was completely absorbed with antiserum specific for human γ A₁ containing human γ E globulin in Prausnitz-Küstner reaction. But it was not absorbed with antiserum specific for human γ G, γ A and γ D globulin.

2. Antigenicity of "Maiko", was not significantly decreased by the Iodination for the radioimmunoelectrophoresis.

3. In the fractions from the allergic serum obtained by gelfiltration or DEAE cellulose column chromatography, reaginic activity was not corresponded with distribution of γ G, γ A, γ M and γ D globulin, but it was closely related to that of γ E globulin proposed by Ishizaka.

4. In radioimmunoelectrophoresis, however, no visible precipitin or radioactivity arc corresponding to γ E globulin was found even in active reaginic fraction.