

氏 名 (本籍)	ひら 平	いわ 岩	こう 幸	いち 一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	医	博	第 804	号
学位授与年月日	昭和 53 年 3 月 24 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当			
研究科専門課程	東北大学大学院医学研究科 (博士課程)社会医学系専攻			
学位論文題目	人血球免疫家兔血清の異種凝集素に関する 研究			

(主 査)

論文審査委員 教授 赤 石 英 教授 福 岡 良 男  
教授 橋 武 彦

# 論文内容要旨

MN式血液型を発見したLandsteiner & Levine (1927)の原法に従い人血球で家兎を免疫すると、高力価の非特異的凝集素を産生するのみで、特異的抗体を全く産生しないことがある。従来免疫血液学では、特異的抗原・抗体の探索が主眼であり、非特異的凝集素については殆んど研究されておらず、最近ようやく勾坂・原らによって検討されている。そこで、この非特異的凝集素及び人血球膜抗原について検討した。

## 実験材料及び方法

O・M (あるいはO・N)型人血球の10%浮遊液を細井氏法に準じて体重2 Kg前後の白色家兎の耳静脈より連日約30~40回注入した。免疫血清は、採血後寒冷凝集素を除去し、遠心分離後、非働化した。抗A・抗B血清は市販血清を、抗M・抗N血清は著者の作製したものを使用した。又、非特異的凝集素を熱処理後、不完全抗体の検査には抗家兎グロブリン免疫山羊血清を使用し、クームス法に準じて行った。又、免疫血清に1/2量の洗浄血球泥を加え、2時間吸着した遠心上清を吸着血清とした。凝集素の力価は倍数希釈・試験管法で2時間後判定した。又、血痕検査には赤石らの型的二重結合法を応用した。

## 実験成績並びに考察

1) 非特異的凝集素の検討；特異的抗M・抗N抗体の産生のない、見かけ上高力価の非特異的凝集素を含む血清は、牛・豚・家兎・犬・鶏の血球による吸着では吸着前後の凝集素価に変動はなく、人血球によってのみ非特異的凝集素が吸着除去された。この免疫血清を牛・豚・家兎・犬・鶏血球で吸着後に、人O・A・Ah・B・AB型各血球に対する凝集素価を調べたところ、いずれも同等の力価を示した。従って、この非特異的凝集素は人血球に対して特異的であり、抗H(O)凝集素とも無関係であると考えられる。そこで、人獣血痕鑑別が可能か否かを人血痕・豚等動物血痕を用いて型的二重結合法により調べた結果、人血痕にのみ陽性反応を示した。従って、非特異的凝集素を用いる凝集反応によっても人獣鑑別が可能である。次に、非特異的凝集素のうち、完全抗体は易熱性であり、75°C・1時間までは比較的安定した活性を有し、75°C・2時間、80°C・30分間、あるいはそれ以上加熱するとほとんど活性を失った。一方、この免疫血清中の不完全抗体は耐熱性であり、85°C・30分では尚活性を有するが、90°C・30分では活性を認めない。又、免疫血清を犬血球で吸着後にも完全・不完全抗体ともに吸着除去されず、非特異的凝集素(所謂異種凝集素)は、人血球に対する汎反応性抗体(Pan-reactive antibody

to human erythrocytes, 以下PRAHE)と考えられる。

2) 人血球膜の抗原についての検討；阻止帯現象は抗原・抗体を定量する際に偶々現われる現象であり、従来多少の説の違いはあるものの、抗原・抗体の相対的量的関係によると解されている。著者は、上述のPRAHEの力価測定の際に、抗体減量法により阻止帯を怪験した。この阻止帯現象及び、不完全抗体同定用に利用されていたWienerのblocking testを応用することにより、PRAHEに対応する人血球膜の抗原について検討した。PRAHEにより阻止帯を生じている血球に、凝集反応を生ずるに十分な量の型特異的抗A・抗B・抗M・抗N抗体を加えても凝集はおこらない。酵素処理血球においても同様である。Rh。(+)型血球を酵素処理後、阻止帯を生じさせ、これに不完全抗Rh。(D)抗体を加えても凝集はおこらない。対照として生食液による血球浮遊液では、いずれも凝集反応は陽性であった。尚、免疫血清中には型特異的抗体(完全抗体、不完全抗体)は認められない。Blocking testでは、免疫血清を85°C・30分間加熱してPRAHEを不完全抗体とし、倍数希釈系列をつくり、各型血球を加えて2時間感作後、血球抗原に対応する型特異的完全抗体(抗A・抗B・抗M・抗N)を加えたところ、PRAHEの濃度の高いところで凝集反応は陰性であり、濃度の低いところで陽性であった。

従来、血球膜上の各抗原は仮説として彌漫性に独立して存在していると考えられていた。近年、マウス細胞抗原の位置関係にclose proximityのあることが報告されている。著者の行った阻止帯現象の実験では、阻止帯を生じている血球に型特異的抗体を加えても凝集反応はおこらない。このことは、PRAHEが血球表面をcoatingしており、しかも型特異的な抗原との間にclose proximityがあるために凝集反応が生じないと解することができる。しかしながら、阻止帯現象は免疫血清に常に現われる現象ではないために再現性に難点がある。そこで、免疫血清を熱処理して不完全抗体(incomplete PRAHE; IN-PRAHE)とし、これをblocking testに応用してみた。その結果、IN-PRAHEの濃度の低いところで陽性であった。以上の成績から、PRAHEに対応する抗原と、ABO式・MN式血液型抗原との間には、マウス細胞抗原と同様に、close proximityがあると考えられる。

## 結 論

家兔を人血球で免疫して得られる非特異的凝集素はPRAHEであり、人獣血痕鑑別に利用できる。又、PRAHEに対応する抗原とABO式・MN式血液型抗原との間にclose proximityのあることを示した。このことは現在電顕的に調べられている血球膜抗原についての手掛りになると考えられる。更に、著者の応用したblocking testは抗原の相互関係の解明に有効な方法の1つと考えられる。

## 審査結果の要旨

人血球で家兎を免疫すると、多くの家兎は高力価の非特異的凝集素とともに特異的抗体を産生するが、中には、非特異的凝集素を産生するのみで、特異的抗体を全く産生しないものがある。このような非特異的抗体については最近に至るまで殆ど研究されていなかった。

本研究は、特異的抗体産生のない免疫家兎血清を選び、非特異的凝集素の人及び動物血球に対する特異性、並びに対応する抗原との関係から、非特異的凝集素の本態について検討し、次の如き結論を得ている。

1) 人血球免疫家兎血清中の非特異的凝集素は完全抗体と不完全抗体から成り、人以外の動物血球では吸着除去されず、人血球に対する汎反応性抗体 (Pan-reactive antibody to human erythrocyte, PRAHE) であることが確かめられた。

2) PRAHEによるABO式各型血球とAh型血球との凝集素価に差はなく、H(O)の抗原に作用しない。従って、PRAHEは抗H(O)凝集素とは無関係であると考えられる。

3) 血痕の人獣鑑別にPRAHEを応用したところ、型的二重結合法・解離法を利用した凝集反応によっても鑑別が可能であった。

4) PRAHEの熱による影響は一般抗体のそれと一致する。

5) 阻止帯現象を利用し、blocking testの原理を応用して血球膜の各抗原の位置関係を検索したところ、PRAHEに対応する人血球膜抗原とABO式・MN式血液型抗原との間にclose proximityがあることが明らかになった。

以上のように、本論文は、人血球免疫家兎血清中に存在し、吸着除去されるだけであった非特異的抗体の本態をかなり明らかにしたものであり、学位授与に値するものと認められる。