

小児科臨床, 31, 777~783, 昭  
2) Pieretti, R. et al.: Acute cholecystitis in children, Surg Gyne. and Obst. 140, 16~18, 1975.

3) Calabrese, G. et al.: Gallbladder disease below the age of 21 years. Surg, 70, 413~415, 1971.

## 1. MCLS 患者血清免疫複合体からの抗体部分の単離とそれに対応する抗原の同定

## 2. MCLS 患者末梢血リンパ球からの IgE 産生の動態

東京医科歯科大学小児科 矢 田 純 一  
松 岡 芳 子  
四 宮 範 明

### 1. 患者血清免疫複合体からの抗体部分の単離とそれに対応する抗原の同定

MCLS の血清中には高頻度に免疫複合体が証明され、数週にわたって存続している。この免疫複合体がいかなる抗原とそれに対する抗体とによって構成されているのかは不明であるが、それを明らかにすることは本症の病因を探る手掛りを与えてくれる可能性がある。従来、Raji 細胞に免疫複合体を結合させ、その抗原部分を予想される抗原に対する蛍光抗体を用いて染色するという方法を用いて検討したが、溶連菌抗原、リケッチア抗原を検出することはできなかった。また、抗原部分がウイルス粒子であるといった有形成分である可能性を考えて、免疫複合体を結合させた Raji 細胞を電子顕微鏡で観察するという方法も行ったが有形物を認めることはできなかった。そこで今回、血清中より免疫複合体を単離し更にその免疫複合体から抗体部分を単離して、その抗体がいかなる抗原と反応するかを探るという方法を用いて抗原部分の同定を計ることとした。

免疫複合体の単離は活性化補体第 3 成分が conglutinin の結合をうけるという性質を利用し、血清に pH 7.6 で 2 mg/ml の conglutinin を  $Ca^{++}$  の存在下で反応させ、conglutinin を免疫複合体に結合させた。この conglutinin の結合をうけた免疫複合体を沈降させるため、抗 conglutinin ウサギ血清を 37°C 1 時間、ついで 4°C 48 時間反応させた。沈降物を 10mM  $Ca^{++}$  を含む

食塩水で洗浄した。この沈降物から免疫複合体を遊離させるため、0.1 M EDTA を加え、pH 7.5 で室温で 1 時間振盪しながら処理した。遠心し上清を回収した。この中に免疫複合体が存在するはずである。

この免疫複合体から抗体を単離するべく、上清に glycine HCl buffer を加え pH を 3.0 にして抗原と抗体を遊離させた。遊離した抗体を回収するため Protein A-Sepharose CL-4B ゲルを加え 45 分振盪しながら反応させて抗体をゲルに結合させた。500G 10 分の遠心でゲルを沈降させた。上清中には遊離抗原が存在するはずである。抗体を遊離させるためゲルを食塩水で洗浄した後 2 倍量の 3.5 M  $MgCl_2$  を加え室温で 15 分反応させた後、500G 10 分で遠心上清を回収した。この中に遊離した抗体が存在するはずである。 $MgCl_2$  を除くため上清を食塩水に透析した。

この方法で実際に免疫複合体から抗体が回収できることを確認するため、テタヌストキソイドとそれに対するヒト抗血清とによって人工的免疫複合体を作製し検討したところ、活性のある抗体を回収することができた。MCLS の血清を用いその免疫複合体から抗体部分を単離し、各種溶連菌抗原などと反応するか否かを検討中である。

### 2. 患者末梢血リンパ球からの IgE 産生の動態

MCLS の急性期には血清 IgE の増加がみられ病因となんらかの関連があることが予想される。この IgE 産

生の異常を細胞レベルで検討するため末梢血リンパ球からの IgE 産生細胞の出現について検討を行った。

リンパ球をヒツジ赤血球とロゼットを形成させ、ロゼット形成細胞 (T細胞) とロゼット非形成細胞 (B細胞群) とに比重遠心法にて分離, B細胞群単独のものあるいはそれにT細胞を組み合わせたものを培養し, 塗抹標本を作製後アセトン固定して, 抗ヒト IgE 蛍光抗体で染色し, 蛍光顕微鏡下に観察して原形質蛍光陽性細胞を検出, それを算定した。

健康人のB細胞群  $1.5 \times 10^5$  個からは 5~10 個の IgE 産生細胞が出現したが, MCLS 患者では症例により 20 個以上出現するものがあり, IgE 産生細胞の増加が考えられた。また, リンパ球の培養を続けていると健康人リンパ球では IgE 産生細胞数が次第に減少してくるので

あるが, MCLS 患者リンパ球の場合 3 日目ぐらいまで減少をみなかったり, むしろ増加する症例があり, IgE 産生の持続が著しいものがあると考えられた。健康人B細胞群にT細胞を加えた場合の効果は健康人T細胞でも患者T細胞でも大差がなく, B細胞群単独のものともあまり変動をみなかった。患者B細胞群にT細胞を加えた場合も健康人細胞と患者T細胞とで差をみとめなかった。このことからすでに起っている IgE の産生はT細胞の調節作用をうけず, 患者T細胞についても特に異常がないものと考えられた。

すなわち, MCLS 患者においては細胞レベルにおいても IgE 産生増加の傾向があり, それはT細胞レベルの異常よりはB細胞の変動によるものと考えられた。

## 川崎病炎症部位の Immune Complex とダニ抗原

久留米大学小児科 加藤 裕 久  
藤 本 保  
一ノ瀬 英 世  
久留米大学第2病理 笹 栗 靖 之

### 〔目的〕

川崎病患者の血清中には高率に immune complex (以下 IC と略) が証明され, 抗原部分にダニ抗原の関与を示唆した。そこで, 今回は炎症部位に生じた滲出液中の IC と, 病変部の生検組織に沈着した IC の検出と, それらにダニ抗原の関与の有無について検討した。

### 〔方法〕

24病日に得られた1例の心のう液, 12病日に得られた2例の関節腔液, 7病日に得られた1例の皮フに生じた水疱内容液 (出来るだけ多くの水疱内容液をツベルクリン用注射器で採取し 0.1 ml の PBS 中に溶出したものをオリジナルとする。) について可溶性 IC の検出を FITC 標識抗ヒト IgG を用い, Raji cell assay で行い, 血清中の IC と比較した。また, 2例の患児の頸部リンパ節と1例の患児の腋窩動脈を摘出し, FITC 標識抗ヒト各種免疫グロブリンおよび補体 (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>) 血清を用い免疫蛍光染色した。

ダニ抗原は鳥居薬品より供与を受けたアレルゲン用ダ

ニ凍結乾燥粉末で, Dermatophagoides farinae の虫体成分である。このダニ抗原を PBS にて 1 mg/ml とし, 初回免疫には Freund の完全アジュバントを, 追加免疫には不完全アジュバントを用い, 1回 1 mg をウサギに接種して抗ダニウサギ血清を得た。ダニ抗原の検索では, 滲出液中の IC の抗原部分に関しては Raji cell assay で, また, 生検組織標本の場合も, いずれも抗ダニウサギ血清を反応させた後に FITC 抗ウサギヤギ血清で染色した。FITC 標識抗血清はいずれも Behring Institute のものを用いた。

### 〔成績〕

滲出液中の IC と血中のそれとを比較したものを表 1 に示した。1, 2 では血清が 16 倍であるのに心のう液, 関節腔液では 128 倍と著明な高値を示し, 3, 4 では, 血清中が陰性の時期に関節腔液, 水疱内容液中ではすでに高濃度に IC が存在していた。このように炎症部位では, 病初期からすでに高濃度の IC が出現し, 炎症機転と密接な関係があると推察できる。ダニ抗原は, 3, 4,



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



### 1. 患者血清免疫複合体からの抗体部分の単離とそれに対応する抗原の同定

MCLS の血清中には高頻度に免疫複合体が証明され、数週にわたって存続している。この免疫複合体がいかなる抗原とそれに対する抗体とによって構成されているのかは不明であるが、それを明らかにすることは本症の病因を探る手掛りを与えてくれる可能性がある。従来、Raji 細胞に免疫複合体を結合させ、その抗原部分を予想される抗原に対する蛍光抗体を用いて染色するという方法を用いて検討したが、溶連菌抗原、リケッチア抗原を検出することはできなかった。また、抗原部分がウイルス粒子であるといった有形成分である可能性を考えて、免疫複合体を結合させた Raji 細胞を電子顕微鏡で観察するという方法も行ったが有形物を認めることはできなかった。そこで今回、血清中より免疫複合体を単離し更にその免疫複合体から抗体部分を単離して、その抗体がいかなる抗原と反応するかを探るという方法を用いて抗原部分の同定を計ることとした。