

免疫組織学

螢光抗体法・免疫電顕法・酵素抗体法
放射性同位元素標識抗体法

京都大学教授

神戸大学教授

濱島義博 京極方久

免疫組織學

第2版
張學禮編著 王曉明主編
人民衛生出版社

第2版
張學禮編著 王曉明主編

免疫組織学

螢光抗体法・免疫電顕法・酵素抗体法
放射性同位元素標識抗体法

京都大学教授

神戸大学教授

濱 島 義 博 京 極 方 久

第 3 版

医 学 書 院

免疫組織学

<検印省略>

¥ 7,500

1965年10月10日 第1版第1刷
1968年6月1日 第2版第1刷
1971年4月15日 第2版第2刷
1975年1月15日 第3版第1刷

著者 濱島義博
京極方久

発行者 株式会社 医学書院
代表取締役 金原 元
東京都文京区本郷 5-24-3
郵便番号 113-91
電話 (03) 811-1101

学術図書印刷・東芝印刷・学術写真製版・馬場製本

3047-10419-0305

三菱製紙/真珠アルトン/A 45 kg

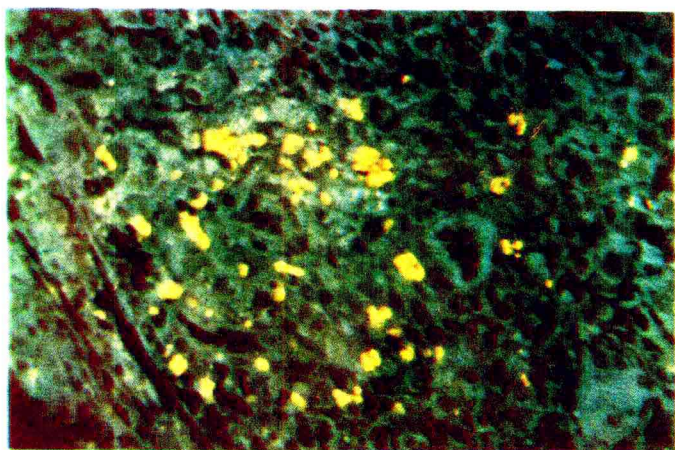
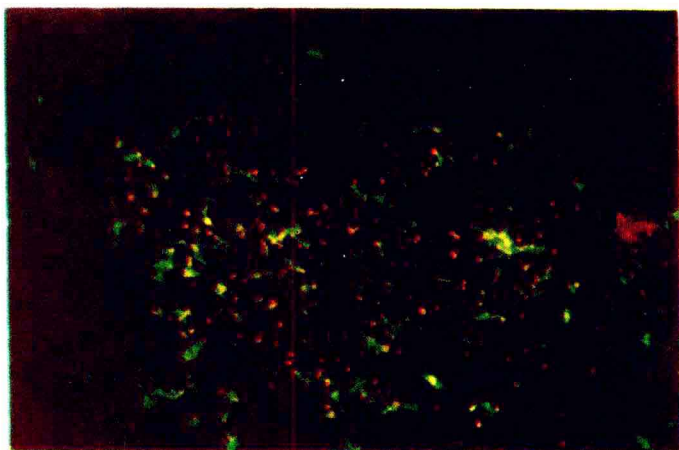
写真説明

上 併重直接染色

連鎖球菌とブドウ球菌の混在する塗抹標本で、連鎖球菌（緑色）とブドウ球菌（橙黄色）を特異的に染め分けている。

下 *Toxoplasma gondii*

感染家兎脾（パラフィン切片）。ローダミン抗体で橙黄色に特異染色された原虫。



序

科学する者にとつて科学はおもしろいものである。そうしてまた、それはおそろしいものでもある。ここで、科学という言葉があまりに間口が広すぎるようであれば、これを医学という語に置きかえても良い。あるいは、これをもつと狭くして、病理学といつてもよいし、さらにこれを限定して、本書の著者らの目的とする血清免疫学もしくは免疫組織学としてもよろしい。そこでこれを狭く限定した意味の言葉で表現してみると、『免疫学を学ぶものにとつて免疫学はおもしろいものである。そうしてまたそれはおそろしいものでもある。』このようになるであらう。

じつは、じぶんは今病理学総論および各論の編集を続け、とくにその病因論の一部の執筆も担当している。がんらい日本の病理学教科書では、その冒頭に病理学の歴史として疾病論を講述することになっていて、遠くギリシヤ医学の昔から現代に至るまでの疾病観の変遷をうかがい知ることができる。周知のように、われわれが現在学んでいる医学は Hippokrates の液体病理学説と Asclepiades の固体病理学説とが、それぞれ相対応する二つの源流とされ、これらがやがて中世における Yatrochemiker となり、また Yatrophysiker を生み、さらに現代における血清免疫学につながり病理解剖学になつたものと考えられる。ところが、まったく両極端の相反する立場に在るように思える Hippokrates, Asclepiades の両説も、ともに当時のギリシヤ哲学の世界観に立脚して創唱せられたもので、Aristoteles の『宇宙は atom の離合集散よりなる』という思考を基礎にしている。われわれはようやく近年になつてから電子顕微鏡の駆使に慣れ、また理論物理学の発展の余慶によつて、分子生物学的なものの見方をするようになり、流動的な血清免疫学と形態的な病理解剖学との融合点が把握できるような期待を抱き得るに至つた。ところが、このことは上述のようにすでに古代ギリシヤの哲人 Aristoteles がこれを喝破していたのである。おもしろいというのはこのことであり、おそろしいというのもこのことである。

すなわち、この Aristoteles が唱道した「atom の離合集散」を如実に生体において捕捉検討し得る現段階に達するまでに、じつに20世紀以上の年月を要したことになる。この理論に続く実証はいかなる種類の学問の道にも通ずることで、あらゆる分野にかかる事実は見出される。たとえば、湯川博士の中間子論がその後に続く数多くの素粒子発見の口火を切り現代素粒子論の展開に至つたことはあまりにもよく知られており、また、かの Watson-Crick の DNA 構造の立体模型の仮説がいかに分子遺伝学の進展に寄与したかは測り知れない。わが血清免疫学の分野においても、伝説的色彩の濃い Jenner の種痘法に端を発し、Pasteur の恐水病、Behring、北里、Knorr らの破傷風、ジフテリーなどの血清免疫療法を経て、ここに Ehrlich の側鎖説が生誕する。また他方、Koch の Koch 氏現象、Richet の Anaphylaxis、v. Pirquet の Allergie は Arthus による組織免疫の提唱となる。このような血清免疫学発達の道程はまことに楽しくもおもしろいものであるが、またひるがえつて多くの先人の予見的な理論の展開には底知れぬ深いものが感ぜられて空おそろしい。 γ -globulin の何ものも知らなかつた時代に側鎖説は生まれたのである。組織球、形質細胞の本質、いなその存在すらがことごとくは判つていなかつた時期に組織免疫の考え方が提出されたのである。

素粒子論は原子炉の使用によつてその実在の実験的証明が行なわれる。本書の著者が説く「螢光抗体法」、「免疫電顕法」、「放射性同位元素標識抗体法」などは正に現代における血清免疫学の原子炉である。われわれはこの原子炉に火を点じ、これらを自由に駆使し、もつて分子生物学的血清免疫学の開拓に努め、その進展に大いに寄与しなければならぬ。

句あり、曰く

ありの実を 日本の秋の 味とせん 栗 塙

昭和40年9月下浣 洛北慈々居南窓下において

京都大学名誉教授 鈴 江 懷

序 文

科学の発達と共に医学の分野にも多くの新しい研究法が確立されてきた。組織化学といわれる一連の研究法が、今日、組織形態学において必要欠くことのできないものとなつてゐることはここに述べるまでもないことであるが、本法も、化学反応論、酵素化学の進歩はもとより、クリオスタット、諸種の光学機械等の開発、改善に負うところが大きい。さらになお銘記しなければならないことは、これら方法の確立には幾多先人の独創的な着想と鏤骨の努力があつたことであると考えらる。

近年における免疫学の目覚ましい発展と、Coons, Singer, Pressman および Keighley または Eisen および Keston らの創意と不断の努力は、螢光抗体法、免疫電顕法、および放射性同位元素標識抗体法など、すなわち免疫組織学ともいふべき特異な新しい組織化学の領域を開拓した。

これらの方法は、抗体を螢光色素、フェリチン、または放射性同位元素などで標識し、目的とする抗原と反応させて組織内の抗原の局在を知ろうという原理に立つものであり、しかも抗原抗体反応という極めて特異性の高い反応を基盤としているもので、従来の手技では追求不可能であつた多くのものを鏡下に認識せしめるにいたつた。なおまた本法はこのような免疫反応の追求のみならず、病原体の同定、組織抗体の発見など、診断の確定や疾病の予知などにも適用できるものであることが実証せられるにいたつた。

このようにしてきわめて短年月の間に、この免疫組織学なる学問が医学、生物学の各研究室はもとより一般病院の検査室においても必然的に常に応用せられるべき段階に立ちいたつたことはまことに驚嘆に値する。しかしながら、上に述べたことより明らかなように、本法の理解、実施、応用などには免疫学的な基礎的素養、電顕、放射性同位元素に関する知識などを必要とするものであるが、いま翻つてこの方面の解説書をみるに、螢

光抗体法に関しては創始者の Coons や, Nairn ら 2~3 のもの、我が国では著者の一人浜島のものがあるが、いずれも学理的に過ぎたり、あるいは英文であつたりし、しかもなお免疫電顕法と放射性同位元素標識抗体法にいたつては適当な解説書が全く見当らない現況である。ここにおいてこの方面に権威ある、しかも平易な解説書の出版が熱望されていた次第である。

さて浜島博士、京極博士はともに京大病理鈴江懷先生門下の俊秀で、わが国標識抗体法のパイオニアであるとともに常に相協力して第一線に立つてこの方面に不断の研鑽を積んで参られ、いまやその権威者とみなされるにいたりつつある。この度両君が長年の研究と豊富な経験を基としてここに新たに「免疫組織学」なる一書を執筆されて世に送られることになつたことは斯界の要望にこたえる快事であり、欣びにたえない。

本書は螢光抗体法のほかフェリチン抗体法、放射性同位元素標識抗体法をも含めてその基礎的な知識および学理の解説と、手技の説明記載を行なつた世に類をみない貴重なそしてきわめて有益な書物であり、内容きわめて豊富で、いたるところに著者らの長年にわたる体験、工夫からにじみ出たアイディアやまた手技上のコツが親切、丁寧に示されている。そしてまた記載が平易であることも特長であり引用文献も多い。したがつて本書が一般医家、技術者の免疫組織学の手技の解説書として、また医学、生物学の専門家の研究生活のよき伴侶として、限りない貢献をなすものと深く信ずる次第である。

昭和40年9月末日

京都大学教授 岡 本 耕 造

第3版 序

免疫組織学的研究の究極の目的は形態と機能とを結びつける新知見の立証ということであろう。それはその機能を形態学の中に、あるいはその上に正確に表現するという事で満足されるものである。しかし免疫組織学による所見があくまでも形態学的立証を中心としたものであるがために、免疫組織学術式の手段は「最高のすぐれた写真をとる」ということに尽きるものである、とわたくしは信じている。一枚の写真、それが極めて奥深い意味を包含している場合が少なくない。また免疫組織学的研究の成果は、一枚の写真によつてのみ他人に認められる最大のチャンスなのでもある。

免疫組織学研究の真髄はあくまでも抗体を利用しての抗原の特異的証明ということであり、そこへ行くまでには研究の当初より、まず抗原の純化ということから出発しなければならない。そして多くの厳格な操作手段を経た上で、さらにそれまでの長い苦労と努力を経たのちにやつと組織切片と反応させるわけであるから、この文字通りの最後の総仕上げとなる顕微鏡の写真撮影ということとなると当然最大の慎重さが自然に出てくるものである。何故そのように慎重になるのかというと、それは他でもない、自分の今までに苦労してきた研究成果を他人様に認めて欲しいと思う気持があるからである。そして一枚一枚の写真は心をこめて撮影し、素晴らしい写真の結果の出ることを祈るような気持でシャッターをおろすものである。何故ならば、他人さんというものは元来、そう簡単には自分以外の、他人の仕事を進んで認めようとはしてくれないものなのである。それだけに顕微鏡という“カメラ”を通してフィルム面にまで研究者の心が、血が通うようになって初めてよい写真がとれ、そこでやつと他人さんからその業績が認められ、理解されるというものなのである。

京大ウイルス研の東昇教授は電子顕微鏡による素晴らしい写真をおとりに

なることであまりにも有名であるが、かつてわたくしの日本大学在職中に、先生に特別講義をお願いしたことがあつた。数々の電子顕微鏡のスライドを供覧しておられたときに、途中で再三スクリーンにピンぼけの像が映し出された。そのときに先生はプロジェクターの係の方に向かつて一段と大声をはり上げ、「このスライドにはわたしの生命がかかっている。ピントをぼかすとは何事だ」ときつく注意されたことがあつた。この一言、まさにプロの道に徹した純粋な表現であると同感させられたことであつた。

今回の改訂にあたつて、神戸大学第一病理学教室能勢真人、渡辺信の両氏よりいただいた絶大なるご協力に深謝する。

第3版の上梓されるにあたり、すべての人が素晴らしい写真のおとり頂けることを願ひつつ。

1974 年 10 月 1 日

京都大学教授就任にあたつて

濱 島 義 博

第2版 序

約3年前にこの「免疫組織学」が上梓せられたとき、正直申してわたくしは、このような自己の経験という小さな枠の中で作り出された単純な手技手法の本というものが、どれだけわが国の研究室の中で活用されるものだろうかと不安な気持ちで一杯であつた。そこには格調高い理論もなければ深遠さも欠除する。ただ自己の十数年に及ぶ研究室における汗と涙の経験のみが、そこに純粹に書き綴られていることが見出だされるにすぎない。そのすべてが正しいものとも思われなければ、またよりすぐれた方法はあなた達の方がよく御存知でもある。しかし、厳密にかつ正確に形態学レベルで観察しようとする真髓には相一貫する共通点が見出だされるものと信じている。こんにちのように形態学の表現が機能と結びつく動的観察を必要とするからには、当然、より正確な、より緻密なすぐれた技術をもたなければならないことは申すまでもなく、科学者は教授であれ、研究生であれ、最高レベルの名人芸的手技をもつて日夜研究に専念すべきであり、これが将来のわが国の発展を約するカギでもある。

わが国の研究室には猶大きな欠点が残されている。それは正確なデータを出すためのもっとも基本となる考え方にある。それは他でもない。水、空気、電気のこの三つの設備に対する考え方の甘さである。わたくし共医学研究者にとつて、すこぶる大切なことは、この水、空気、電気などというような最少限の基本条件に頭を悩まされないということである。つねにコンスタントに正しいデータの得られることが大切であるにも拘らず、現状はどうであろうか、研究室では純水はつねに豊富にしなければならないし、高い湿度に対しては air-conditioned (恒温恒湿) でなければならない、また、機械を運転するための電圧もコンスタントに流れていなければならない。これらの一寸した不備が、日常われわれに意識されないデータの狂いを与えているものなのである。これらの研究室としての最少基本の条件

が、わが国においては今まで無視されてきていたことは否定できない。そしてまた、これらの条件を満足せしめることは決して贅沢の種類に入るものでもなく、研究室というもののもつ宿命的基本要素なのであつて、その基盤の上にたつてはじめて、高価な精密機械の活用が望まれるのである。

免疫組織学の改訂にあたり、著者が日常このような研究室における基本原則にどれ程つらい思いをしてきたかを述べることによつて、今後のわが国の研究内容の進展の一助ともなれば、まことに光栄と感じている次第である。

1968年4月16日

日本大学教授就任にあつて

濱 島 義 博

初 版 序

こんにち、科学の進歩というものは、つねに方法論によつて支配されている。そしてその進歩を培い、築き上げるものは、これひとえに、方法技術を身につけた科学者みずからの手であり指であり、そして頭脳なのである。たとえいかにすぐれた理屈を並べたとしてもその個人自らが、すぐれた方法論の実行者ではなく、かつ自らの手で築き上げた研究成果をもたない限り、彼の説得力は、あとに何一つ残ることのない無価値なものであろう。すぐれた専門技術を身につける許りでなく、その自らの手で終生実験研究をつみ重ねることのいかに大切であるかということを、ここにあって強調する所以である。

そもそも医学の研究とは、所詮、特異現象の探究という一語につきると考えられる。そしてあえて強い表現が許されるならば、それは特異現象を見出すための真理との闘いということであろう。そしてそのためには、すぐれた基本的技術が強く要求されることは当然の理である。

本書は、今日無数にある科学研究方法論のうちのほんの一つのものを取り上げているにすぎないのではあるが、この特異現象なるものを形態学のレベルで証明せんとする基本的手技の一端を、具体的に記載してみたもので、実際に研究される方々の御参考に些かでも供することが出来ればと願つて筆を取つた次第である。いふなれば、これは真理の特異的観察を組織、細胞で証明せんとすることに払われて来た一つの努力の現われであると解釈している。もちろん個々にわたる詳細な点では、研究者によつて得手、不得手による相違もあるが、原理はほぼ同一である場合が多い。

本書に掲載された方法はすべて、その基礎が抗原抗体反応という免疫病理論にもとづいて、目的物を特異的に証明せんと考案されたものであつた。免疫組織学なる名称もまたそこから出発したものである。本書の内容を大きく蛍光抗体法、免疫電顕法、同位元素標識抗体法と分類し、個々の

術式を中心にまとめてみたのではあるが、いずれも形態学を必要とするものであるがために組織を見る目が要求されるのは当然のことである。

また、これらの方法を用いた最近の研究方向は、病因論の追究などに目が向けられてきており、これには形態学のほかに生物学、生化学、薬理学、物理学などが一体となつて研究を進める傾向が示され、今後は従来のセクショナリズムを打破して、一つのテーマに向かつて各分野一致態勢をとる必要ができていようである。

本書を著わすに当り、積年の間本研究推進の上に与えられた文部省科学研究助成金交付に深甚の謝意を表する次第である。

次に本書の原稿整理に当たり次の多くの各氏の御協力を仰いだので茲に深甚なる謝意を表する。

森川茂氏、陳世沢氏（京大病理）、蔵本淳氏（京大協坂内科）、今村貞夫氏、尾高達雄氏（京大太藤皮膚科）、田中千賀子氏、寺岡章雄氏（京大薬理）、石川嘉市郎氏（京大前川、高安内科）、島 章氏、川口義夫氏、桜見武彦氏、隅田昌宏氏（京大三宅内科）、戸部隆吉氏（京大外科、パプテスト病院）、染田邦幸氏（京大脳神経外科）、笠井寛司氏（京大婦人科）、西岡幹夫氏（山口医大内科）、森久博司氏、三浦靖典氏（鳥取大学病理）、高橋勇氏（長崎大皮膚科）ならびに終始原稿の清書、文献整理の労を惜しまれなかつた奥島えみ子氏、斉藤昌子氏、絹川美恵子氏、堀田一枝氏、中井栄一氏に心からの御礼を捧げる。

また、本書出版に際し強力な熱意を示された医学書院長谷川泉氏の御好意に深甚の謝意を表する。

目 次

第1章 血漿蛋白抗原の純化	濱 島 義 博.....	1
A. アルブミン分画蛋白		1
1. ヒトプレアルブミン.....		1
a. immuno-absorbent 法.....		1
b. 特異抗血清のない場合.....		2
2. ヒト血清アルブミン.....		3
3. α -fetoprotein の精製		3
a. 血清よりの精製.....		3
b. 患者腹水よりの精製, α_1 の結晶化		4
4. 抗 α_1 抗体グロブリンの精製と抗体カラムの作製法		4
B. α_1 分画蛋白		5
1. 血漿フィブリノーゲンの精製.....		5
2. α_1 -acid glycoprotein		6
3. ハプトグロビン.....		7
4. セルロプラスミン.....		7
5. α_2 マクログロブリン		8
C. β 分画蛋白		8
D. γ 分画蛋白		9
1. IgG		9
2. IgG subclass の精製		11
a. light chain の精製		11
b. γ -chain (ババイン消化)		15
3. IgA		15
a. IgA 型骨髓腫患者血清よりの血中 IgA の精製.....		16
b. 初乳より分泌性 IgA の精製.....		17
4. α -chain の精製.....		19
5. IgM の精製法.....		19
6. μ -chain の精製.....		20
7. IgE の精製法		20
第2章 免疫操作と抗血清の扱い方	濱 島 義 博.....	23
A. 免疫操作, 採血, 血清保存		23
1. 免疫操作.....		23
a. 抗原性.....		24
b. 抗原の無菌の使用.....		24