

氏 名 (本籍)	木 内 明 男 (神奈川)
学 位 の 種 類	獣 医 学 博 士
学 位 記 番 号	甲 第 16 号
学位授与の日付	昭和52年3月14日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位論文題名	ウシ胎児の血清蛋白に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 田 中 享 一 (副査) 教授 古 泉 巖 教授 大 地 隆 温

## 論 文 内 容 の 要 旨

哺乳動物の胎児性蛋白に関する研究は、1944年 Pederson が仔牛血清中に胎児特有の蛋白 Fetuin の存在を報告して以来始められた。

$\alpha$ -フェトプロテイン (以下 AFP と略す) は、哺乳動物胎児血清中に最初に出現する電気泳動上  $\alpha$ -一位に易動度を有する蛋白で胎生初期には血清蛋白の主成分をなすものである。成体でも主として原発性肝癌の際に血中に出現することがあり、その診断的価値が注目されるに至った。

家畜における AFP の研究は、1968年 Kithier らが肝癌に罹った成牛血清に認められたのが最初の報告である。また胎児血清 AFP の消長については、一つの報告があるのみでまったく基礎的研究の域を脱しておらず、人医界での臨床応用にくらべ、大きな遅れをとっている現状である。

獣医学領域での利用を考えると、肝癌は稀な疾患であり診断的有用性が乏しい。そこで妊娠時、胎児 AFP が母体血中に出現するなら妊娠診断が可能であるし、妊娠異常 (胎児異常) の際に母体血中、羊水中の AFP を測定することにより早期に異常が発見できるのではないかと考えられる。

以上のことから、著者は家畜とくにウシの AFP に着目し、特異的方法 (アフィニティー・クロマトグラフィー) を駆使し分離・精製してその特異抗血清を得、胎児血清、羊水、新生児血清、成牛血清、また異常産血清について検索し、AFP 動態を明らかにし、胎児異常の際には母体血中に AFP の出現がありうることをウシにおいて初めて発見した。またウシ胎児の血清蛋白分画の主成分 ( $\alpha_2$ -Macroglobulin, Transferin) を分離・精製しその特異抗血清を用いて定量した。さらに、胎児血清中免疫グロブリン G は、その主体が IgG<sub>1</sub> であることを解明したので、これらの実験成績を報告する。

AFP は分子量、等電点共に血清アルブミンに著しく近い、よって従来の非特異的方法では分離・精製が困難であったが、特異的方法の導入により急速に進歩した。まず抗原・抗体複合体からの AFP 分離を試みた結果、大型の氷室がないなどの悪条件で分離もよくなく、Sample 量も少量であるために十分な収量をあげられなかった。そこで Immunoabsorbent として CNBr で活性化した Sepharose 4B にリガンドとして抗ウシ AFP ウサギ血清の  $\gamma$ -グロブリン分画を coupling させたカラムを使用し AFP の分離、精製を試みた結果、回収率は70~80%と極めて満足すべきもので、抗体を酸性にさらす時間が短いためにカラムの繰返しの使用が可能であり、少量の抗血清より大量の AFP 精製が可能になった。またカラムを4℃に保存すれば、少なくとも1年間の長期使用に耐えることなどから本法を高く評価したい。この純品 AFP を

基準として以下の種々な実験を行った。まずヒト、ブタ、ウシ AFP の免疫学的交差性について検索した結果、抗ウシ AFP ウサギ血清とヒト、ブタ AFP は反応しなかった。抗ヒト AFP ウマもしくはウサギ血清は、ヒト、ブタ、ウシ AFP とよく反応し、互いに免疫学的な共通する抗原決定基を有する他に、それぞれの種属に特異的な抗原決定基も有していることが判明した。しかしながら市販抗ヒト AFP ウマ血清はブタ AFP とは反応するがウシ AFP とは反応しなかった。このことは、共通抗原部分を認識させるまで免疫して得た抗体か否かの差異によると考えられる。

AFP 特異抗血清を用いて、Mancini 法で以下定量を行った。高濃度用には抗血清を10%、低濃度用には2%の抗血清をそれぞれ用いた。胎児血清 AFP は2カ月齢ですでに平均5.9mg/mlと高い値を示し、3カ月齢では全在胎期間を通じて最高の平均7.1mg/mlの大きさに達し、以後漸次減少し、出生時にはピークの約100分の1まで減少、10日で流血から消失した。胎齢2〜3カ月における血清 AFP の値は、血清アルブミンの濃度より上まわっており、この時期における浸透圧の維持、キャリアー蛋白としての役割をはたしているものと考えられる。とくに羊水に異常を認めた例で、同月平均の3倍という高い値を示した例があり、また体内死直後とみられる胎児は僅かの AFP が測定された。羊水 AFP は胎児由来と考えられ、2カ月齢で存在し、3カ月齢にピークに達したあと減少し8カ月齢以後は Mancini 法の感度以下になり感知し得なくなった。この動態は胎児血中 AFP の消長と酷似しており羊水 AFP が胎児からの移行と十分考えられる。

今回著者が成牛血清中に AFP を検出し得たのは2例であり、そのうち一例は胎児血中 AFP のところでのべた3倍量の AFP が測定された例であり、他の一例はアカバネ・ウイルス実験感染妊娠牛の経過血清中に見いだされたもので、結果として流産の転帰をとった症例であった。いずれも量的には僅かであり定性の域を脱し得ず、特異抗血清で吸収することにより、AFP と確認されたものであるが、いずれにせよ胎児から母体へ AFP が移行することが、初めて経験された極めて重要な症例であり、妊娠異常（胎児異常）の血清蛋白レベルでの診断となり得ることが、明白な事実として理解されるに至ったことは、獣医臨床への AFP 応用として価値あるものである。今回は例数が2例と少なく、今後その数をふやしていかなければならないと考えられる。

胎児の血清蛋白についての報告は少なく、ことにウシ胎児に関しては、ほとんどない。今回著者の行った実験の成績は、それを補うのにふさわしいと考える。これによれば胎齢2カ月では平均1.45g/dlであるが、胎齢の増加とともに漸次増加し、分娩時には4.20g/dl平均となる。この増加の主力は血清アルブミンの増加によるものである。各蛋白分画のセルロースアセテート膜電気泳動分析の成績からアルブミンは胎齢の増加とともに増量し出生時には、第1の血清蛋白として存在する。 $\alpha$ -グロブリンは胎齢2〜4カ月では量的にアルブミンを上回っておりこの時期の  $\alpha$ -グロブリンの主成分が AFP であることを考えるなら十分に理解しうる。また、アルブミンと  $\alpha$ -グロブリンの4カ月齢以後の交代の様子はあたかも胎児型 Hb (HbF) から成人型 Hb (HbA) への変化のそれとよく似ており、胎生型から成人型へとの変化をうかがわせるものである。また  $\alpha$ -グロブリン分画は実量的に5カ月齢以後も変化がないが、Fetuin が中期以後増加することを考え合わせれば理解できる。 $\beta$ -グロブリンの相対量に胎生期を通じて変化はないが、絶対量ではわずかながら増加する。 $\gamma$ -グロブリンはわずかの例で認められるが、その絶対量は無視できるほどわずかなものである。また新生児では初乳摂取後  $\gamma$ -グロブリンの急激な上昇をみた。胎児血清の免疫電気泳動による解析はまったくいえるほどなされていない。今回の成績から胎生前期の血清中には12本の沈降線が常に認められ

このうちアルブミン、 $\alpha$ -Lipoprotein、 $\alpha_1$ -Antitrypsin、 $\alpha_2$ -Lipoprotein、AFP、 $\alpha_2$ -Macroglobulin、Transferrin の沈降線が同定可能であった。しかしながらヒトで認められている Gc-globulin、Ceruloplasmin は沈降線を同定しえなかった。とくに  $\alpha_1$  領域において  $\alpha_1$ -Lp と  $\alpha_1$ -antitrypsin が胎生期すでに成牛と同じくらい明瞭な沈降線として認められたことは興味ある所見としてとらえられた。交差免疫電気泳動分析により確認できる沈降帯は 14 で免疫電気泳動による沈降線 12 より多い数となった。本法では複雑な成分とくに、通常の免疫電気泳動では判定できない  $\alpha$  位の血清蛋白の分離がよく、同じ Lot の抗血清で濃度（アガロース板にたいする）が変わらないなら、山の高さはその成分の濃度に比例するので試料中の多くの成分の定量が同時にできる利点がある。 $\alpha_2$ -M は成牛血清を出発材料として Sephadex G-200 でゲル濾過し、細いカラムで再クロマト後、分離泳動により純品としてとり出した。この特異抗血清を用い Mancini 法で胎児血清を検索した成績から、その増加は、3 カ月で一度増加しその後徐々に増加したが、胎内では成牛レベルに達しなかった。

Tf は、IgG の contamin をさけるために胎児血清を出発材料にリバノール沈殿上清を DEAE-Cellulose カラムクロマトグラフィーの Stepwise 溶出を行ない、Tf rich な部分を Sephadex G-150 でゲル濾過し純品を得た。この特異抗血清で Mancini 法により胎児血清について検索したところ 2 カ月ですでに成牛レベルの  $\frac{1}{10}$  量存在し、3 カ月齢では 2 倍に増加しその後一定した濃度を保ちつつづけるが、8 カ月齢でわずかに増加し、9 カ月齢、10 カ月齢でほぼ成牛レベルに達し、 $\alpha_2$ M の動態とは異なることが明らかとなった。免疫グロブリン G (IgG) は家畜（ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウマなど）では胎盤の構造から母体血からの移行はなく、生後初乳を飲むことによってはじめて腸管から吸収され流血中に出現することがあきらかにされている。ウシの場合、胎生期にある種の微生物に感染しないかぎり流血中には免疫グロブリンが出現しないと考えられている。今回、IgG の検出には Ouchterlony 法、定量には Mancini 法を用いて胎児血清中の IgG について検索した結果、総数 37 例中 6 例約 16.2% と高率にその存在を認めた。低いもので 0.05mg/ml、高いもので 1.79mg/ml と、高いものでも成牛レベルの  $\frac{1}{10}$  程度があるがその存在が認められたことは興味あることである。とくに IgG の成分が 1 例を除いてすべて IgG<sub>1</sub> 単独の症例であり、初乳から新生児に移行する IgG のほとんどが IgG<sub>1</sub> であることを考えると、深く研究する余地があると考えられる。この IgG の由来がどこにあるか、つまり母体なのか、胎児が産生しているのかについて決定を下すことはできないが、とりわけ 2 カ月齢胎児 2 例のうち 1 例に 1.79mg/ml と多量に検出され、もう 1 例にも痕跡程度に認められたことから、この時期の胎児には免疫グロブリンの産生能は認められていないことを考えると、また胎盤構造の確立が不十分であろうことを考え合せて、母体よりの IgG であろうと考えられる。しかしながら抗体産生の機能が働きた後の胎児血清中 IgG の由来については、何らかの微生物感染をうけたチェックをしていないので断言できないが、この IgG が母体由来なのか、胎児が産生しているのか明確な解答を与えることはできない。

以上の成績からウシ胎児血清には他の哺乳動物と同様に AFP が存在し、その分離・精製には、アフィニティー・クロマトグラフィーが極めて有効である。

成牛血清中に 2 例であるが AFP が認められたことから胎児の異常が母体に反映すると思われる。つまり胎児 AFP が母体血清中に出現することが事実として明らかにされたので、今後例数を増やすとともに、AFP 検出の感度を上げることにより、胎児の異常を早期に発見でき、適切な処置を下せるものと確信す

る。また、胎児 AFP 以外の血清蛋白についていえば、Tf では3カ月齢および9カ月齢に増加をみたが、中期ではプラトーな状態にあり、出生前に成牛レベルに達していた。さらに、 $\alpha_2$ M については、3カ月齢で増加し、その後漸次増加したが、成牛レベルには達しなかった。胎児血清の16%に IgG が認められ、IgG<sub>1</sub> がその主体であった。ここに胎児血清蛋白成分の2~3の成分について明らかにされたので更に成分を増し、血清蛋白動態について解き明さねばならない。

## 論文審査の結果の要旨

はしがき

近年、獣医学領域においても、血清蛋白に関する研究は盛んになって来たが、ウシ胎児における血清蛋白に関する研究は極めて少ない。

胎児の血清蛋白で、重要視されるものは、いわゆる胎児性蛋白で、胎児性  $\alpha$ -globulin 即ち  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) もその1つである。さらに最近注目されているものに、carcinoembryonic antigen (CEA) がある。これらは、carcinofetal という群に属するもので、このほかに carcinofetoplacental および carcinoplacental という群の蛋白がある。

本論文における、胎児蛋白としては、AFP について述べている。その理由は哺乳動物胎児の血清中に最初に出現し、しかも胎生初期には、血清蛋白の主成分を占めているからである。AFP は胎児血清中に多量に存在するにかかわらず、その電気泳動による易動度が、 $\alpha$ -位のグロブリンと同様のため、一般の電気泳動法では識別出来ないのである。したがって、AFP に関する研究は総て免疫学的手法を導入した方法に頼らなければならない。AFP は、電気的性状(等電点)、物理的性状(分子量)などが、アルブミンもしくは  $\alpha$ -位の蛋白とほとんど一致しているために、これらの方法で分離精製することは不可能である。したがって抗原としての純化精製された AFP を得ることが、この研究の重要なポイントとなるわけである。

AFP に関する研究は、医学の領域では著しく進み、ヒトの肝癌の診断に広く用いられ、その診断的価値は高く評価されている。また、妊娠にあっては、胎児および羊水からの移行によって、AFP が血中に認められ、胎児に異常があると、母体血中の AFP 値が高くなり、胎児の異常を推察し得るといわれている。

家畜における AFP の研究は、1968年 Kithier らが肝癌に罹った成牛血清に認めたのが最初の報告である。また胎児血清 AFP の消長については、わずかに1つの報告があるのみでまったく基礎的研究の域を脱しておらず、医学界での臨床応用にくらべ、大きな遅れをとっている現状である。

獣医学領域での利用を考えると、肝癌は稀な疾病であり診断的有用性が乏しい。そこで妊娠時、胎児 AFP が母体血中に出現するなら妊娠診断が可能であるし、妊娠異常(胎児異常)の際に母体血中、羊水の中の AFP を測定することにより早期に異常が発見できるのではないかと考えられる。

既に述べたように、この研究は免疫学的手法が中心になるので、まず AFP の抗血清を調製しなければならない。ところが、その抗原となるウシ AFP の分離精製に関する詳細な報告がないので、AFP の分離精製そのものについて、十分な検討を行なう必要があり、この点が明確にならないと、AFP の研究は進展しないことになる。したがって、著者は AFP の分離精製を行なうために、アフィニティー・クロマトグラフィーを駆使し、ウシ胎児血清から純化精製された AFP を得、これを用いて特異抗血清を作製した。この抗血清を用いて、ウシの胎児血清、羊水、新生児血清、成牛血清、また異常産牛血清などについて、AFP

の出現状況を検索し、その消長 pattern を明らかにした。さらに、胎児異常の際には、母体血中に AFP の出現がありうることをウシにおいて初めて発見した。またウシ胎児の血清蛋白分画の質的解析を試み、各分画の主成分である  $\alpha_2$ -Macroglobulin, Transferrin を分離精製し、その特異抗血清を用いて、これらの蛋白を定量測定した。また、胎児血中の免疫グロブリン G (IgG) は、その主体が IgG<sub>1</sub> であることを免疫学的に解明した。

### 1. AFP の分離精製について

AFP は分子量においても等電点においても血清 アルブミン もしくは  $\alpha$ -位蛋白に著しく近似している。そのため、従来のグロブリン分画の分離精製法では、分離精製が困難であり、しかも、少量の胎児血液から試料を採集するのであるから、サンプル量も少量であって、十分な収量を得ることが出来なかった。そこで Immunoabsorbent として CNBr で活性化した Sepharose 4B にリガンドとしてウシ AFP ウサギ血清の  $\gamma$ -グロブリン分画を coupling させたカラムを使用し、AFP の分離精製を試みた。その結果、回収率とは、極めて満足すべきものであった。この方法によると、抗体を酸性にさらす時間が短いため、カラムの反復使用が可能であり、少量の抗血清を用いて大量の AFP 精製が可能であった。またカラムを 4°C に保存すれば、少なくとも 1 年間の長期使用にも耐えるので、本法の利用価値は高いものである。

以上の方法によって得た純品 AFP を基準として、次に述べるようないろいろな実験を行なった。

### 2. ヒト、ブタおよびウシの AFP における免疫学的交差性について

Ouchterlony 法にて、ヒト、ブタおよびウシの AFP における免疫学的交差性を検査した結果、抗ウシ AFP ウサギ血清はヒトおよびブタの AFP に対して反応を示さなかった。高度に免疫された抗ヒト AFP ウマ血清および抗ヒト AFP ウサギ血清は、ヒト、ブタ、およびウシの AFP とよく反応した。この結果は互いに免疫学的に共通する抗原決定基を有するとともに、それぞれの種属に特異的な抗原決定基も有していることを明示している。しかしながら、市販の抗ヒト AFP ウマ血清はブタ AFP とは反応するが、ウシ AFP とは反応しなかった。このことは、市販抗血清が共通抗原部分を十分に認識出来る程の強い状態にまで免疫されていなかったためと考えられる。

### 3. 胎児の月齢と AFP の消長について

AFP の定量は、AFP 特異抗血清を用いて、Mancini 法によって測定した。

高濃度の AFP を測定するためには、アガロース溶液に 10% の割合に抗血清を混合し、低濃度の測定には、2% の割合に抗血清を混合したものをアガロース平板として用いた。

胎児血清 AFP は 2 カ月齢ですでに平均 5.9mg/ml と高い値を示し、3 カ月齢では在胎期間のすべてを通じて最高値である平均 7.1mg/ml に達し、以後漸次減少し、出生時には最高値の約 100 分の 1 まで減少し、出産後 10 日で流血から消失した。

胎齢 2～3 カ月における血清 AFP の値は、血清アルブミンの濃度より高い値を示し、この時期における浸透圧の維持、キャリアー蛋白としての役割をはたしているものと考えられた。

とくに、羊水に異常を認めた例で、同月齢の平均 AFP 値の 3 倍という高値を示したものがあった。

また、胎内死直後とみられる胎児では、僅かの AFP が測定されたにすぎなかった。

羊水 AFP は胎児由来と考えられ、2 カ月齢で存在し、3 カ月齢で最高に達し、その後は減少し、8 カ月齢以後では Mancini 法の感度以下に減少し、測定が不可能となった。この消長は胎児血中 AFP の消長と

酷似しており、羊水 AFP は胎児からの移行によるものと考えられた。

#### 4. 妊娠牛における AFP について

既に述べたように、一般に成牛では AFP は認められないものであり、正常妊娠牛においても同様である。しかしながら、今回著者は妊娠牛 2 例において AFP を認めた。その 1 例は、胎児血中の AFP 値が正常値の約 3 倍であった。他の 1 例はアバネウイルス実験感染妊娠牛の経過血清中に認められたもので、流産の転帰をとった症例であった。

これらの 2 例における妊娠牛の血中 AFP は、量的には僅少であって、定性の域を脱し得なかったが、特異抗血清で吸収することにより、AFP が確認された例である。このように微量ではあるが、胎児から母体へ AFP が移行することを認めた。この所見は、家畜の AFP に関する研究では初めてのもので、極めて重要な症例である。この事実から、AFP 反応が妊娠異（胎児異常）の血清蛋白レベルでの診断に用られ得ることは明らかで、今後獣医臨床へ、AFP 反応を利用し得ることを示唆したものと考えられる。今後はその例数を追加して行きたいと考えている。

#### 5. 胎児の血清蛋白分画について

胎児の血清蛋白分画に関する報告は少なく、ことにウシ胎児に関してはほとんどない。今回筆者の行った実験の成績はそれを補うのにふさわしいと考える。これによれば、血清総蛋白 (TP) は胎齢 2 カ月では平均 1.45g/dl であるが、胎齢の増加とともに漸次増加し、出生時には平均 4.20g/dl となった。この増加の主力は血清アルブミンの増加によるものである。各蛋白分画のセルロースアセテート膜電気泳動分析の成績から、アルブミンは胎齢の増加とともに増量し、出生時には、最も多量の血清蛋白として存在する。 $\alpha$ -グロブリンは胎齢 2～4 カ月では量的にアルブミンを上回っており、この時期の  $\alpha$ -グロブリンの主成分は AFP である。また、アルブミンと  $\alpha$ -グロブリンの 4 カ月齢以後の交代の様子は、あたかも胎児型 Hb (HbF) から成人型 Hb (HbA) への変化のそれとよく似ており、胎生型から成人型への変化をうかがわせるものである。また  $\alpha$ -グロブリン分画は AFP が減少する 5 カ月以後も実量的には変化はないが、これは Fetuin が中期以後増加するためである。 $\beta$ -グロブリンの相対量は胎生期を通じて変化はないが絶対量ではわずかながら増加を認めた。 $\gamma$ -グロブリンは少数例で認められたが、その絶対量は無視できるほどわずかなものであった。また、新生児では初乳摂取後  $\gamma$ -グロブリンの急激な上昇をみた。

#### 6. 胎児血清の免疫電気泳動について

胎児血清の免疫電気泳動による解析はまったくと言えるほどなされていない。今回の成績から胎生前期の血清中には 12 本の沈降線が常に認められ、このうちアルブミン、 $\alpha_1$ -Lipoprotein、 $\alpha_1$ -Antitrypsin、 $\alpha_2$ -Lipoprotein、AFP、 $\alpha_2$ -Macroglobulin、Transferrin の沈降線が同定可能であった。しかしながらヒトで認められている Gc-globulin、Ceruloplasmin は沈降線を同定しえなかった。とくに  $\alpha_1$  領域において  $\alpha_1$ -Lp と  $\alpha_1$ -Antitrypsin が胎生期すでに成牛と同じくらい明瞭な沈降線として認められたことは興味ある所見であった。

交差免疫電気泳動分析により確認できる沈降帯は 14 で免疫電気泳動による沈降線 12 より多い数となった。本法では複雑な成分、とくに、通常の免疫電気泳動では判定できない  $\alpha$ -位の血清蛋白の分離がよく、同じ Lot. の抗血清で濃度（アガロース板にたいする）が変らないなら、山の高さはその成分の濃度に比例するので試料中の多くの成分の定量が同時にできる利点がある。

$\alpha_2$ -M は成牛血清を出発材料として Sephadex G-200 でゲル濾過し、細いカラムで再クロマト後、分離泳動を行なって純品を得た。この特異抗血清を用い Mancini 法で胎児血清を検索した結果、3カ月で一度増加しその後は徐々に増加したが、胎内では成牛レベルに達しなかった。Tf は、IgG の混入をさけるために、胎児血清を出発材料とし、そのリバノール沈澱上清を DEAE-cellulose カラムクロマトグラフィーの stepwise で溶出し、その Tf-rich な溶出部分を Sephadex G-150 でゲル濾過し、純品を得た。この特異抗血清で Mancini 法により胎児血清について検索したところ、2カ月ですでに成牛レベルの $1/3$ 量が存在し、3カ月齢では2倍に増加し、その後一定した濃度を保ちつづけたが、8カ月齢でわずかに増加し、9カ月齢、10カ月齢ではほぼ成牛レベルに達し、 $\alpha_2$ -M のように出産まで成牛レベルに達しなかった所見とは異なっていた。

免疫グロブリン G (IgG) は家畜 (ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウマなど) では胎盤の構造から母体血中から胎児への移行はなく、生後初乳を飲むことによって、はじめて腸管から吸収され、流血中に出現することが明らかにされている。ウシの場合、胎生期にある種の微生物に感染しないかぎり流血中には免疫グロブリンが出現しないと考えられている。今回、IgG の検出には Ouchterlony 法を用い、定量には Mancini 法を用いて胎児血清中の IgG について検索した結果、37例中6例約16.2%に IgG を認めた。この6例のうち低い値のもので 0.05mg/ml、高いもので 1.79mg/ml であった。しかし高い値を示したものでも成牛レベルの $1/10$ 程度ではあったが、その存在が認められたことは興味あることである。とくに、IgG の成分が1例を除いて、すべて IgG<sub>1</sub> 単独の症例であり、初乳から新生児に移行する IgG のほとんどが IgG<sub>1</sub> であったことも興味あることであった。この IgG の由来が母体からの移行によるのか、胎児の産生によるのかについて決定を下すことはできない。しかながら2カ月齢胎児2例のうち1例に 1.79mg/ml と多量に検出され、他の1例にも痕跡程度に認められたことから考えると、その由来は、母体からの移行によるものと考えられる。その論拠は、この時期の胎盤構造の確立が不十分で母体から他の蛋白と同様に移行されるのかも知れない。しかしながら抗体産生の機能が活性化された後の胎児血清中 IgG の由来については、何らかの微生物感染をうけたチェックをしていなので断言できない。この IgG が母体来なのか、胎児が産生しているのか明確な解答を与えることはできなかった。

## 結 論

- 1) AFP の分離精製：アフィニティー・クロマトグラフィーを主体とし、免疫学的な手技を用いて、ウシ胎児血清から AFP を分離精製した。
- 2) ヒト、ブタおよびウシの AFP における免疫学的交差性：ヒト、ブタおよびウシの AFP には、免疫学的に共通する抗原決定基を有するとともに、種属特異抗原決定基も有していた。
- 3) 胎児の月齢と AFP の消長：胎児血清 AFP は、3カ月齢で平均値 7.1mg/ml となり、以後は漸減し、出生時は極めて僅少となり、出産後10日で流血から消失した。
- 4) 妊娠牛における AFP：正常の妊娠牛においては、その妊娠経過のすべての時期を通じて AFP は認められなかった。ただし、2例の異常妊娠牛ではその血清に微量の AFP を認めた。
- 5) 胎児の血清蛋白分画：(1)血清総蛋白は胎齢の進むに従って増加し、出生時には平均値 4.20g/dl となった。電気泳動分析の結果、胎齢の増加とともに各種の蛋白分画に変化が認められた。
- 6) 胎児血清の免疫電気泳動所見：一般の免疫泳動では、12本の沈降線を認め、交差免疫泳動では14の沈

降帯を認めた。これらのうち、IgG は IgG<sub>1</sub> であって、2 カ月齢の胎児においても認められた。

上述のように、本論文はウシ胎児の血清蛋白を免疫学的な新しい面から追求し、その基礎的な成績を示し、ことに異常妊娠牛の診断に AFP 反応の利用を示唆していることは、将来の獣医学界に大いに寄与するものとする。よって本研究は獣医学博士を授与するにふさわしい業績として高く評価する。