

## 〔特別掲載〕

## 補体第3成分の保存による変化について

東京女子医科大学眼科学教室 (主任：内田幸男教授)

大学院学生 大野弓子  
オホノ ヨシコ

(受付 昭和52年9月26日)

## The Changes of the Third Component of Complement (C3) in Storage

Yumiko OHNO, M.D.

Department of Ophthalmology (Director: Prof. Yukio UCHIDA)  
Tokyo Women's Medical College

From a diagnostic and therapeutic standpoint, the estimation of the circulating levels of complement components is used in a number of diseases. Of these components, C3 has been considered to be important. After long storage of sample blood,  $\beta_1C$ -globulin converts spontaneously into  $\beta_1A$ -globulin. The purpose of this study is to investigate the conversion rate of  $\beta_1C$ -globulin to  $\beta_1A$ -globulin during storage and the influence of storage on complement activity and C3 protein concentration.

The normal human sera were stored either at room temperature or at 4°C and used for experiment after 1, 2, 4, 7 and 10 days. The sera were analysed and compared the conversion rate of  $\beta_1C$ -globulin to  $\beta_1A$ -globulin by means of antigen-antibody crossed electrophoresis. The complement activities of the stored sera were measured by hemolytic assay, and the C3 concentrations in each group of samples were measured by single radial immunodiffusion method.

In the samples stored in room temperature, the conversion rate showed 8% increase after 24 hours and reached to 100% on the 10th day; whereas it was 5% increase on the 2nd day and 53% increase on the 10th day in the samples stored at 4°C.

The complement activity decreased 4 units/ml at the 24th hour, and decreased below 10 units/ml on the 4th day in the samples stored at room temperature; whereas the samples stored at 4°C showed 3 units/ml decrease on the 2nd day, and it dropped to 15 units/ml on the 10th day.

However, during 10 days no difference was observed in the C3 concentration in both groups of the samples.

## I 緒 言

近年、補体系を中心とした基礎的、臨床的研究の進展に伴い、補体系は細胞性免疫が低下する時これを補つて増加し、生体防禦にあずかるという補体系の細胞性免疫補償作用が明らかにされ、免疫監視の一機構としての存在が注目されてきた<sup>1)</sup>。

補体系には現在のところ15の成分と8つの阻害物質の存在が知られ、各補体成分はその電気易動度によりそれぞれの蛋白として同定され、その作用は活性で表わされる<sup>2)</sup>。これらの補体系は classical pathway と alternate pathway の二つの反応経路に従い、一定の順序で活性化され、後不活

化され、この過程において生体に種々の生物学的反応を惹起せしめる。

臨床的にも各種疾患における血清補体価、並びに補体成分値の測定がさかんに行われており、疾患に特有な補体系の動態が報告され、その疾患の診断、治療効果、予後の判定に活用されている<sup>3)~14)</sup>。補体成分の中でもその増減がしばしば問題にされるのが補体第3成分(C3)であり、これは $\beta_1C$ -globulin ( $\beta_1C$ )として同定され、その蛋白量は single radial immunodiffusion method により容易に定量可能である<sup>15)</sup>。

血清中のC3は抗原抗体結合物を加えたり、悪条件で保存しておくると活性が低下し、 $\beta_1C$ は $\beta_1A$ -globulin ( $\beta_1A$ )に転換する<sup>16)</sup>。ところが $\beta_1C$ と $\beta_1A$ は共通抗原性を有するため、現行の方法でC3蛋白量を測定すると、得られた値は $\beta_1C$ 、 $\beta_1A$ の総括値を示し、必ずしもC3の活性を表わしているとは言えない。

著者らは先に Behçet 病患者血清においてC3活性とC3蛋白量の間に関係を認め、C3蛋白量の測定はC3の産生量を知るには良い方法であるが、この値をもつてC3活性を論じるのは控えねばならないことを報告した<sup>17)</sup>。

C3は $-70^{\circ}\text{C}$ 以下に保存すれば1年以上失活しないと言われている。したがって採取した新鮮血清を直ちに測定するか、または測定時まで $-70^{\circ}\text{C}$ 以下に保存するのが理想的である。しかし、せつかく採取した血清を室温に放置してしまつたり、 $4^{\circ}\text{C}$ に保存してあつた血清を後になつて使用した場合も往々にして生じてくる。そういった場合、得られた血清補体価、C3活性、および蛋白量の値にどの程度の信頼度がおけるかが問題になつてくるが、これに関連した系統的報告はあまりみられない。

本報告は、正常血清を室温あるいは $4^{\circ}\text{C}$ に1日から10日間放置し、その各々について $\beta_1C$ の $\beta_1A$ への転換の状態を antigen-antibody crossed electrophoresis により観察し、これと血清補体価、C3蛋白量との関係を検討したものである。更にC3の遺伝的分析も行なつたので併せて報告

する。

## II 検査対象

25歳から77歳(平均年齢39歳)の正常健康人27名(男14名、女13名)を対象として用いた。

採血は午前中に 行い、30分間室温に 放置後、30分間 $4^{\circ}\text{C}$ に保存し、その後3,000回転、15分間遠沈して血清を分離した。各々の血清の一部は直ちに $-75^{\circ}\text{C}$ に保存した。残りの血清は1検体につき室温放置群および $4^{\circ}\text{C}$ 放置群の2群に分けてガラス管に分注し、それぞれについて1日、2日、4日、7日、10日(一部25日)間放置し、その後使用時まで $-75^{\circ}\text{C}$ に保存した。

なお本実験は採血後5カ月以内に完了させ、全操作は無菌的に行なつた。

## III 実験方法

### 1. Antigen-antibody crossed electrophoresis

Laurell 法の Clarkfreeman 変法に準じた方法で行なつた<sup>18)</sup>。実験装置は西独デサガ社の電気泳動装置を使用した。この装置には循環サーモスタット式冷却装置が泳動槽についているため、高電圧操作が可能であると共に、実験中泳動槽を一定温度に保つことができる。本実験においてはC3の熱による変性を防ぐため、泳動槽を $4^{\circ}\text{C}$ にセットし実験を行なつた。

1) First step: Veronal buffer で $20\text{cm} \times 10\text{cm}$ 、厚さ $1\text{mm}$ の1.2% agarose gel plate をつくり、plate の端より約 $2\text{cm}$ の部位に直径 $2\text{mm}$ の穴を6個あけ、各々に同一人の0日から10日間放置した血清を入れて穴を満たし、veronal buffer で泳動する。泳動条件は電圧 $400\text{V}$ 、 $1\text{mA}/\text{cm}$ で、アルブミンが原点から $4\text{cm}$ 移動した所で泳動を停止し、泳動軸に沿つて原点から $3\text{cm}$ の所までの $3\text{cm} \times 0.5\text{cm}$ の gel strip を切りとる。

2) Second step: 1.2% agarose を $56^{\circ}\text{C}$ にし、 $0.024\text{mg}/\text{ml}$ の割合に抗 $\beta_1A$ 、 $\beta_1C$ -globulin ウサギ血清を加えてよく混和し、 $20\text{cm} \times 10\text{cm}$ 、厚さ $1\text{mm}$ の gel plate をあらかじめ作つておく。この時 gel plate を全く均一な厚さにするため、2枚の硝子泳動板の間に厚さ $1\text{mm}$ のUフレームをはさみ、ブルドッククリップで固定し、その間に抗血清含有の agarose 液を流しこみ、agarose がゲル化するのを待つて、一方の硝子板を薄いナイフを用いて割した。これに first step で得られた6個の gel strip を泳動方向が first step と $90^{\circ}$ をなすように一枚の plate にはりつける。泳動条件は first step と同様に7時間泳動した。1昼夜生理的食塩水で除蛋白後、定温で乾燥させ、10%アミドブラック10Bで染色した。 $\beta_1C$ 、

$\beta_1A$ の中で  $\beta_1A$ の占める率を conversion rate として求めるために、染色後写真撮影をし、 $\beta_1C$ 、 $\beta_1A$  それぞれの沈降山を切りとり微量天秤で重量を測定した。

2. 血清補体価 ( $CH_{50}$ )

Mayer の50%溶血法によつた<sup>19)</sup>。

3. C3 蛋白量

Behringwerke 社製の M PartigenC3c ( $\beta_1A$ ) の同一ロット番号のものをを用い、single radial immunodiffusion method によって定量した。

4. C3 多型現象

装置は泳動に用いたものと同じである。

方法は Teisberg の high voltage electrophoresis に準じた<sup>20)</sup>。パルビタール乳酸カルシウム buffer で20cm ×10cm. 厚さ1mm の1% agarose gel plate を作り、

固めの濾紙を幅7mm に切り、断端をゲルに押しつけ溝を作る。その中を各々の検体の新鮮血清で満たし、パルビタール乳酸カルシウム buffer で2時間30分泳動した。泳動条件は400V. 1mA/cm で、実験中泳動槽の温度は7°Cに保つた。泳動後10%酢酸固定後アミドブラック10Bで染色し、origin から2cm のところの  $\beta_1C$  領域の沈降線を判読し、型を決定した。

IV 実験結果

1. Antigen-antibody crossed electrophoresis

8例において室温放置群は、1日、2日、4日、7日、10日と室温に放置し、4°C放置群は、1日、2日、4日、7日、10日、25日と4°Cに放置し、保存に伴うC3の動態を観察した。 $\beta_1A$ は

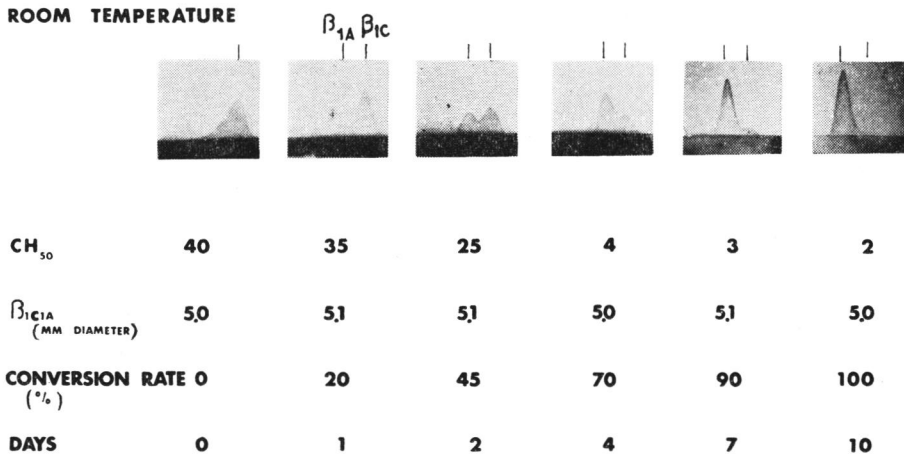


写真1 室温放置1例のC3泳動像、血清補体価、C3蛋白拡散輪直径、conversion rate.

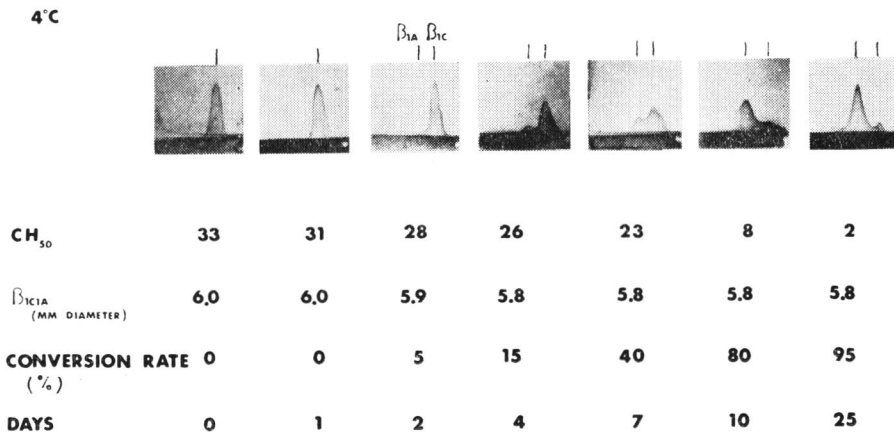


写真2 4°C放置1例のC3泳動像、血清補体価、C3蛋白拡散輪直径、conversion rate.

表1 血清放置に伴うC3 conversion rate の  
平均値

放置日数 (日)	0	1	2	4	7	10	25
室温 (%)	0	8	34	76	96	100	
4°C (%)	0	0	5	16	32	53	83

$\beta_1C$  に比して電気泳動度が速いため、写真1、2の電気泳動像においては、 $\beta_1C$  の沈降山の左側に  $\beta_1A$  の沈降山が現れる。この  $\beta_1C$  の  $\beta_1A$  への conversion rate を測定し、その平均値を表1に示した。なお、健康人における新鮮血清には conversion は認められない。

室温、4°C放置ともに放置日数が長くなるに従い、conversion rate は増加している。4°C放置では24時間後にも conversion は認められなかったが、室温では8%が  $\beta_1A$  に移行していた。室温に10日間放置すると、C3の活性は全く失われる。4°C10日間では平均53%の conversion が認められた。

## 2. 血清補体価

室温放置8例、4°C放置8例について、それぞれの  $CH_{50}$  の平均値を表2に示した。室温放置群

表2 血清放置に伴う  $CH_{50}$  の平均値

放置日数 (日)	0	1	2	4	7	10
室温 (単位/ml)	34	30	21	4	2	1.4
4°C (単位/ml)	34	32	31	28	22	15

においては  $CH_{50}$  は4日間で全例10単位以下となり、その時の conversion rate は全例50%をこえていた。4°C放置群において  $CH_{50}$  は10日後でも平均値は15単位を示したが、10単位以下が3例に認められた。

## 3. C3 蛋白量

1) 室温放置群15例において、室温に0日、1日、2日、4日、7日、10日放置し、その蛋白拡散輪の直径を測定し、平均値±SD を表3に示した。

2) 4°C放置群20例においても同様にして、その蛋白拡散輪の直径を測定した(表4)。

3) 一部の25日放置群について新鮮時との直径

表3 室温放置血清のC3蛋白量：拡散輪直径の  
平均値±SD

放置日数 (日)	0	1	2	4	7	10
平均値±SD (mm)	5.5±0.5	5.4±0.4	5.4±0.4	5.4±0.4	5.5±0.5	5.5±0.6

表4 4°C放置血清のC3蛋白量：拡散輪直径の  
平均値±SD

放置日数 (日)	0	1	2	4	7	10
平均値±SD (mm)	5.4±0.7	5.5±0.5	5.3±0.5	5.2±0.6	5.3±0.6	5.3±0.6

表3)4)の拡散輪直径 5.2, 5.3, 5.4, 5.5mmはそれぞれ蛋白量78, 84, 90, 95mg/dlに相当する。

表5 新鮮時と25日放置血清とのC3蛋白拡散輪  
直径(mm)の比較

	検体	新鮮時	25日後
室温 放置	1	5.7	5.5
	2	5.6	5.7
	3	6.1	6.2
	4	6.2	6.6
4°C 放置	1	5.7	5.2
	2	6.3	5.8
	3	6.2	5.7

の比較を行い表5に示した。

4. 室温放置群、4°C放置群のそれぞれから1例を選び、C3 conversion rate,  $CH_{50}$  値、C3蛋白量の関係を比較するため写真1、2に併記した。

## 5. C3 多型現象

1で使用した8検体ともにC3領域に1本のバ

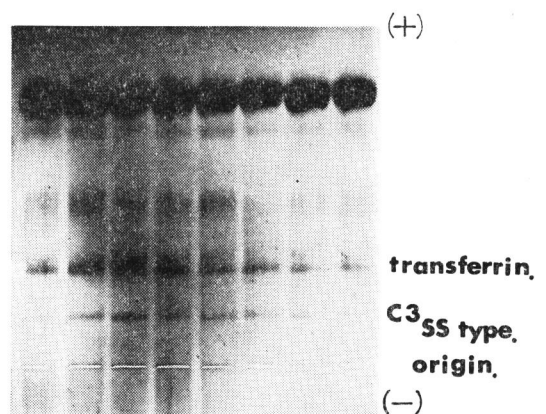


写真3 8例の high voltage electrophoresis によるC3の多型現象。

ンドを認めたのみであつたので、SS型と判定した(写真3)。

6. 測定に用いた健康人血清の antigen-antibody crossed electrophoresis において新鮮時の conversion は認められず、血清補体価の平均値は33.6±5.7単位/ml、C3蛋白量の平均値は93±10mg/dlで、測定値はすべて正常範囲内にあると思われる。

## V 考 按

補体系の研究の進歩に伴い臨床的にも各種疾患における補体系の動態が論じられ、その疾患特有の異常が報告され、今や補体系の測定は routine な検査の一つとして各検査室で導入されるようになってきている。このように臨床的に補体系の測定が頻繁に行われるようになってくると、検体の保存の条件如何が補体系の変動を論じる以前の問題としてクローズアップされてくる。Mayer の記載によれば、採血後、検体は30分室温放置後、30分4℃に置き、30分間3,000回転遠沈後、直ちに測定時まで-70℃保存となつている<sup>21)</sup>。しかしこの条件が何らかの理由によつて守られなかつた場合、どの程度の許容範囲が認められるかは補体系を扱う臨床家にとっては関心のある基礎的な事である。本実験はこの問題を解明する目的で行なつたもので、補体系の中でも臨床的にその活性の有無や蛋白量の増減が問題になるC3を特にとりあげ、これに関連してCH<sub>50</sub>、C3遺伝型に対する検討も併せ行なつたものである。

通常、C3の活性は hemolytic assay、または immune adherence hemagglutination method によつて測定される。本報告で antigen-antibody crossed electrophoresis を用いたのは、本実験の目的がC3の保存による失活の動態把握にあつたからであり、この方法を用いればC3( $\beta_1C$ )が継時的に失活し、 $\beta_1A$ へ convert する状態を追跡できるからである。正常血清中のC3は4℃保存では24時間までその活性を新鮮時と同じに保ちうるが、室温に放置すると24時間でその一部が不活化される(写真1, 2)。その後は日数を経過するに従い、それに比例して両群ともに $\beta_1A$ へ

の移行率が増加し、10日後には室温放置群のC3は全くその活性を失つていたが、4℃放置血清中には25日後においてもなお新鮮時の約20%の活性が保持されていた(表1)。しかしこれはあくまでも平均値であつて、個人差はかなり認められている。試験管内での $\beta_1C$ の $\beta_1A$ への conversion は、血清中の immune complex や plasmin などのプロテアーゼ活性の存在下においても行われる。しかし本実験で用いた血清はすべて健康人を対象としているので、血清中にこれらの因子の介在は考えられない。

C3の conversion の状態は、C3の遺伝型の相違によつても異なることが明らかにされている。このC3の多型現象は Alper, Propp により報告され、血清を高圧電気泳動にかけると $\beta_1C$ 領域に通常、易動度の速いバンド(F)と、易動度の遅いバンド(S)が検出されるが、これらが遺伝的に支配されており、FとSの組み合わせによりC3遺伝型が決定づけられる<sup>22)</sup>。そしてSS型のような homozygote (homo) はFS型などの heterozygote (hetero) に比較すると、保存によるC3の conversion の速度が遅いという。Teisberg によると完全にC3が convert する日数が20℃において homo では7日、hetero では4日、4℃において homo では24日、hetero では15日と報告されている<sup>23)</sup>。西向らは日本人631名のC3遺伝型を調べ、その98.89%がSS型を示したと報告している<sup>24)</sup>。今回行なつた27例も全例SS型であり、このC3の conversion rate の個人差をC3遺伝型の相違に求めることはできない。しかし本報告の、室温で10日、4℃で約25日という結果は、Teisberg の homozygote における conversion rate とほぼ一致するようである。

血清を悪条件下で保存すると、CH<sub>50</sub>が低下することは良く知られている。凍結保存の場合、-20℃では1週間、-55℃では2週間、-70℃以下では1年以上の保存が可能であると言われている<sup>21)</sup>。今回の4℃保存群では1日後にはCH<sub>50</sub>は新鮮時に比べ1~3単位の低下、2日では1~5単位の低下、4日では2~9単位の低下がみら

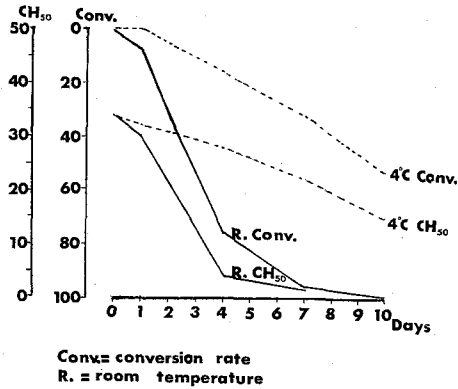


図1 室温，4°C放置血清のCH<sub>50</sub>とconversion rateの相関。

れ，検体によっては4日保存によっても殆ど差がみられないものもあつた．室温放置では1日で1～6単位の低下，2日で殆どの検体が10単位以上の低下を示した．

CH<sub>50</sub>の値は，各種補体成分とその阻害物質の活性，量によつて支配されている．補体成分のうち易熱性分画として知られているのはC1，C2であり，C3はむしろ耐熱性分画に属する．本報告の保存血清においてはC3の失活に従い当然CH<sub>50</sub>の低下がみられ，両者の失活の程度は室温，4°C放置群ともに経目的にはほぼ相関している(図1)．そしてC3 conversion rateが50%をこえるとCH<sub>50</sub>は10単位以下に低下する傾向が認められる．C3の失活に比べCH<sub>50</sub>の低下が大きいのは，C3が補体成分の中でも耐熱性分画に属しているので，他の成分が失活してもなおその活性が部分的に残つているためと考えられる．

次にC3蛋白量であるが，その値は前にも述べたがC3の産生量を表わすものであつて，C3活性を表わすものではない．したがつてC3蛋白量の測定はC3活性が低下しているものに，それが産生量の低下によるものか，産生後何らかの理由で消費されたのかの鑑別にも利用される．C3の先天性欠損症では，C3の活性，蛋白量ともに低下又は全く証明されず，SLEの急性期，急性糸球体腎炎の初期にも両者の低下が認められる．遺伝性血管神経浮腫ではC3活性は低下しているが，蛋白量は正常範囲内であり，Behçet病急性期に

もC3活性の一過性の低下が見られるが，蛋白量は正常範囲内にある．

今回行なつた室温，4°C放置の合計35検体の保存日数の相違による値の変動は殆どみられなかつた．すなわち，保存による蛋白量の上昇もしくは減少といった傾向が見い出せなかつたわけである．これまでの報告をみると，血清中のC3蛋白は保存により増加することが示されている．その増加の程度は報告者によりまちまちであり，稲井らは5°C7日間放置で新鮮時に比較して，約2倍の拡散輪直径の拡大を<sup>25)26)</sup>，Müller Eberhardらは4°C，14日間放置で約20%の蛋白量の増加を報告している<sup>27)</sup>．本報告では同一血清についてその新鮮時と，室温に10日間放置し，C3をすべてβ<sub>1</sub>Aにした状態でC3蛋白量を測定し比較したが，差は認められなかつた．

血清中のβ<sub>1</sub>Cは，ABDの3つの抗原をもつことが証明されている．β<sub>1</sub>Cは保存後β<sub>1</sub>Aとα<sub>2</sub>Dに変化し，β<sub>1</sub>AはA抗原を，α<sub>2</sub>DはD，Dd抗原を有するが，B抗原は途中消滅すると言われる<sup>28)</sup>．保存により蛋白量が増加する理由として，保存血清中に存在する上記のような抗原量が新鮮血清中のそれより増加するためとするもの<sup>28)29)</sup>，あるいは抗原的に不十分であるのでそれに対する有効な抗体濃度が低くなるためとする説<sup>27)</sup>があるが，明らかでない．稲井らは分子量の変化で説明し，β<sub>1</sub>Aの分子量はβ<sub>1</sub>Cに比べて小さいため拡散性が増し，一見蛋白量が増加したかのごとくに見える<sup>25)26)</sup>．また抗原の増加は検体の保存容器によつても相違があり，ガラスチューブ保存の場合はA抗原の著明な増加がみられるが，プラスチックの場合は殆ど変化がないとする報告もある<sup>30)</sup>．今回保存に用いたのはガラスチューブであつたが，拡散輪の増加はみられなかつた．

また市販されている商品によつて使用している抗血清の成分に多少の差があり，同一社の製品でも製造番号が異るとその成分に相違があることが認められている<sup>31)~35)</sup>．本実験では同一社の同一ロットナンバーの製品を用いているので，その意

味での測定誤差は否定できる。

いずれにしてもC3蛋白量測定において問題が生じる原因は、 $\beta_1C$ が生体内生体外を問わず様々な影響をこうむり、活性化または不活化され、生理化学的な変化をきたすからであるが、現在の定量方法では各々の抗原に対する測定が困難なため、その区別ができないことにある。しかし今回行なったC3蛋白量の測定結果からは、C3蛋白量はC3の活性に関係がなくほぼ一定の値をとり、抗原性の変化は問題とならないという結論を得た。

以上、血清の放置に伴うC3のconversion,  $CH_{50}$ , C3蛋白量の変化について測定を行い、その結果について述べてきたが、これはあくまでも正常健康人におけるdataであつて、これがそのまま臨床例にあてはまるとは考えていないが、参考になると思ひここに報告した次第である。

## VI 結 語

正常健康人27人、218検体について、補体第3成分の保存による変化に関する検討を行い、以下の結果を得た。

1) Antigen-antibody crossed electrophoresis を用いると、血清の放置に伴つて生じるC3の動態が把握できる。

2) 正常健康人における $\beta_1C$ -globulinの $\beta_1A$ -globulinへのconversionは血清を放置した日数に比例して増加し、conversion rateは室温1日で平均8%、4°C2日で平均5%であり、ほぼ新鮮時の活性を保持していると言える。10日放置すると室温ではC3は全く失活してしまうが、4°Cではほぼ1/2の活性を保っている。

3) 血清補体価も血清を放置した日数に比例して低下し、室温1日で平均4単位の低下、4°C2日で平均3単位の低下がみられる。室温4日では全例10単位以下に低下し、4°C10日では平均15単位であつた。

4) C3蛋白量においては、血清を放置した温度、日数にかかわらず、ほぼ一定値をとつた。

最後にご校閲を頂きました内田幸男教授、終始ご指

導、ご助言を頂きました小暮美津子助教授に対し深謝致します。

本論文の一部は東京女子医科大学学会第41回総会において発表した。

## 文 献

- 1) 河村一太・西岡久寿弥・河島敏夫・小暮美津子・嶋田孝吉：補体の臨床。臨床免疫 7 937~944 (1975)
- 2) 西岡久寿弥・田村 昇：補体の構造と機能に関する最近の進歩。代謝 12 189~193 (1975)
- 3) 天野哲基・西下駿三・河野勝昭・大藤 真：内科疾患の補体。臨床免疫 5 827~838 (1973)
- 4) 稲井真弥：補体の異常とその診断。臨床科学 13 314~320 (1977)
- 5) 小暮美津子・原弘子・嶋田孝吉：ペーチェット病における補体。日眼 75 1260~1278 (1971)
- 6) 須藤千鶴子：肝疾患における血清補体に関する研究。岡山医学会雑誌 84 267~276 (1972)
- 7) 倉田 要：各種腎炎および全身性紅斑性狼瘡における血清補体および補体成分の変動。アレルギー 21 648~659 (1972)
- 8) Fischel, E.E. and D.C. Gajdusek: Serum complement in acute glomerulonephritis and other renal disease. Am. J Med 12 190~199 (1952)
- 9) Ogg, C.S., J.S. Cameron and R.H.R. White: The C'3 component of complement ( $\beta_1C$ -globulin) in patients with heavy proteinuria. Lancet 2 78~81 (1968)
- 10) Gotoff, S.P., E.W. Isaacs, R.C. Muehrcke and R.D. Smith: Serum  $\beta_{1c}$  globulin in glomerulonephritis and systemic lupus erythematosus. Ann Intern Med 71 327~333 (1969)
- 11) Kohler, P.F. and R.T. Bensen: Serial complement component alterations in acute glomerulonephritis and systemic lupus erythematosus. Clin Exp Immunol 4 191~202 (1969)
- 12) Wasastjerna, C. and P. Ekelund: The serum immunoglobulin and  $\beta_1C/\beta_1A$  globulin levels in rheumatoid arthritis. Acta Med Scand 186 469~473 (1969).
- 13) Michael, A.F., N.G. Westberg, A.J. Fish and R.L. Vernier: Studies on chronic membranoproliferative glomerulonephritis with hypocomplementemia. J Exp Med 134 208s~227s (1971)
- 14) Fox, R.A., F.J. Dndley and S. Sherlock: The serum concentration of the third component of complement  $\beta_1C/\beta_1A$  in liver disease. Gut 12 574~578 (1971)
- 15) Mancini, G., A.O. Carbonara and J.F. Heremans: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.

- Immunochemistry 2 235~254 (1965)
- 16) **Laurell, C.B. and B. Lundh:** Electrophoretic studies of the conversion products of serum  $\beta_1C$  globulin. *Immunology* 12 313~319 (1967)
  - 17) **小暮美津子・大野弓子・泉二嘉代子:** Behçet 病患者の血清補体蛋白について. *日眼* 79 1382~1388 (1975)
  - 18) **Clarke, H.G.M. and T. Freeman:** Quantitation immunoelectrophoresis of human serum proteins. *Clin Sci* 35 403~413 (1968)
  - 19) **Kabat, E.A and M.M. Mayer:** Experimental immunochemistry. 2nd ed. 133~240 Charles C Thomas Springfield Illinois (1961)
  - 20) **Teisberg, P.:** High voltage agarose gel electrophoresis in the study of C3 polymorphism. *Vox Sang* 19 47~56 (1970)
  - 21) **George, G.:** The effects of storage and heparin on the activity of serum complement, with particular reference to the detection of blood group antibodies. *Amer J Clin Pathol* 54 531~538 (1970)
  - 22) **Alper, C.A and R.P. Propp:** Genetic polymorphism of the third component of human complement (C'3). *J Clin Invest* 47 2181~2191 (1968)
  - 23) **Teisberg, P.:** The conversion rate of human C3 under different storage conditions. *Vox Sang* 20 230~238 (1971)
  - 24) **西向弘明・北川泰子・大洞弓子・小沢吉平:** 日本人における血清タンパク補体第3成分(C'3)多型現象とその検討. *京都府立医科大学雑誌* 84 835~840 (1975)
  - 25) **平松誠一・岡田たみ子・北村 肇:** 補体蛋白定量上の問題点. *臨床免疫* 5 795~802 (1973)
  - 26) **稲井真弥・平松誠一:** 補体成分蛋白量の定量について. *臨床病理* 22 640~645 (1974)
  - 27) **Kohler, P.F. and H.J. Müller-Eberhard:** Immunochemical quantitation of the third, fourth and fifth components of human complement concentration in the serum of healthy adults. *J. Immunol* 99 1211~1216 (1967)
  - 28) **West, C.D., N.C. Pavis, J. Forristal, J. Herbst and R. Spitzer:** Antigenic determinants of human  $\beta^1C$  and  $\beta^1G$  globulin. *J Immunol* 96 650~658 (1966)
  - 29) **Roelke, D.:** Die spontane in vitro Antigenitätssteigerung des humanen  $\beta_1C/A$ -globulins. *Blut* 17 41~45 (1968)
  - 30) **Davis, N.C., C.D. West and M. Ho:** Effect of ageing of serum on quantitation of complement component C3. *Clin Chem* 18 1485~1487 (1972)
  - 31) **Vladutiu, A.O.:** C3 standards. *Lancet* i 979 (1975)
  - 32) **Stitzel, A.E. and R.E. Spitzer:** C3 standards. *Lancet* ii 364 (1975)
  - 33) **Spath, P and F. Gabl:** C3 standards. *Lancet* ii 824~825 (1975)
  - 34) **Peter, S. and G. Franz:** Critical role of the conversion of the third complement component C3 ( $\beta_1C/\beta_1A$ ) for its immunochemical quantitation. *Clin Chim Acta* 73 171~175 (1976)
  - 35) **Vladutiu, A.O. and B.M. Winiarski:** Complement C3 in serum and plasma, as measured by radial immunodiffusion with four commercial kits. *Clin Chem* 22 267~269 (1976)