

血球凝集反応並びに溶血反応に関する研究

第 四 編

リチンによる凝集血球の溶血反応に及ぼす 影響並にリチンの毒性について

岡山大学医学部衛生学教室（主任：緒方教授）

副 手 沼 口 深 秋

〔昭和 31 年 10 月 21 日受稿〕

目 次

第 1 章 緒 論	第 2 節 リチン溶液にて凝集せる血球の 溶血反応
第 2 章 実験材料並びに実験方法	第 3 節 抗リチン血清のリチンに及ぼす 影響
第 1 節 抗めん羊血球血清	第 4 章 総括及び考案
第 2 節 抗リチン免疫血清	第 5 章 結 論
第 3 節 血球凝集反応，溶血反応，沈降 反応	文 献
第 3 章 実験成績	
第 1 節 リチン溶液による血球凝集反応	

第 1 章 緒 論

1887年 Kobert がリチンを発見し，それが動物に対し毒性を有し，又血球凝集作用を有することを明かにした。1897年 Ehrlich¹⁾ が最初にリチンを用いて試験管内でリチンの血球凝集素と抗リチン血清を作成して実験を行った。その後植物性にして毒性を有し血球凝集作用を有するものとして Robin, Crotin, Arbin等について種々研究され，又毒性を有しない植物性血球凝集素については Goddard²⁾ 等の研究がある。又当教室の井上³⁾ は毒性を有する Tetanustoxin とその Antitoxin を用いて血清学的研究並びに動物に対する毒性についても研究を行っている。

筆者は前編に於て血球と抗血球血清を用いて一度凝集した血球の溶血反応に及ぼす影響について実験を行ったが，抗血球血清を用いず植物性血球凝集素たるリチンを用いて血球を凝集せしめた場合，どの様に溶血反応に影

響するかを明かにし，併せて動物に対するリチンの毒性並に抗リチン血清の影響をも研究した。

第 2 章 実験材料並びに実験方法

第 1 節 抗めん羊血球血清

免疫動物としては体重 2,000g~2,500g の健康なる成熟家兎を用い，免疫原としては新鮮なるめん羊血球を脱繊維し，生理的食塩水にて 3 回洗滌した後（Vollblut を基準にす）血球浮游液とし，1 回 5cc 宛 2 日の間隔を置いて耳静脈より数回免疫し最後の注射より 9 日目に全採血をなし，血清を分離し，56°C，30 分で非働化し，氷室に貯え使用した。尚この血清は 2.5% 血球，5.0% 補体を用ひ 1 : 10,000 迄完全溶血を示し血球凝集反応は 2.5% 血球で 1 : 2,500 迄血球凝集を見た。

第 2 節 抗リチン免疫血清

本実験に用いたリチンは「メルク」の製品であるリチン粉末を用い臨んで生理的食塩水

で稀釈して用いた。抗リチン免疫血清を作成するには、免疫動物としては 2.000g~2.500g の健康なる成熟家兎を用い Formalin で処置した 1.000 倍のリチン溶液 0.1~0.15cc を 10 倍に 5%ブドウ糖液で稀釈して 3 日の間隔をおいて皮下に注射し 7 回の注射後 8 日目に全採血をし、血清を分離し 56°C 30 分で非働化し氷室に貯え使用した。Formalin でリチンを処置するにはリチン粉末を蒸留水で 1.000 倍に稀釈し、その溶液に 0.5%になる様に、Formalin を加え、37°C に 10 日間置き、後 2 日間流水で透析して Formalin を析出し後 8.5%食塩水を 1/10 量加えた。

第 3 節 血球凝集反応、溶血反応、沈降反応

第 1 項 血球凝集反応

リチンによる血球凝集反応は脱繊維して 3 回生理的食塩水にて洗滌せるめん羊血球を元の量まで生理的食塩水にて復した血球 (Vollblut) を基準として、各所要濃度に稀釈したもの 0.5cc とリチンを所要濃度に薄めたもの 0.5cc とを混じ、室温に放置し翌朝肉眼にて判定した。判定は強く凝血塊をなせるもの卍、以下凝集程度に従い、卍、軽く振盪して肉眼で認め得る凝血塊のあるのを+、全く凝集せざるものを-、両者の移行型を±とした。

第 2 項 溶血反応

リチン溶液にて一度凝集を起した血球 0.5cc 又は何等処置せざる稀釈血球 0.5cc に抗めん羊血球血清、補体を夫々 0.5cc 宛加え、37°C、2 時間氷室に置き、翌朝判定した。判定は肉眼で完全溶血を卍、強度溶血を卍、中等度溶血を卍、弱度溶血を+、極めて僅かに溶血せるもの±、溶血陰性なるものを-とした。溶血反応の判定に () 内に記載せるものは同時に存する血球凝集反応の程度を示す。

第 3 項 沈降反応

重層法；当教室慣用の方法により、反応の現れた時間により 15 分にて反応の現われたもの卍、30 分で現われたもの卍、1 時間で現わ

れたもの卍、2 時間で現われたもの+、2 時間でも反応の現われないものを-、移行型を±、とした。

混合法；抗原と抗体と等量宛 (0.5cc) 混合し、室温に於て最初に反応の現われる試験管を見つけ、後氷室に置き、翌朝沈澱の程度により、卍、卍、+、-を判定した。

第 3 章 実験成績

第 1 節 リチン溶液による血球凝集反応

前編に於て、めん羊血球と抗めん羊血球血清を用い、先ず血球と抗血清とで血球凝集反応を行い、その後補体を加えた場合に、血球凝集が溶血反応にどのような影響を及ぼすかについて研究したが、抗血球血清によらない血球凝集がどのような影響を溶血反応に及ぼすかを見る為次の如き実験を行つた。抗血球血清を用いないで血球凝集を起させる為、リチン溶液を用い、これをめん羊血球に作用させた。

先ずリチンによる血球凝集反応の状況を明かにする為、血球量、リチン濃度を变化して血球凝集反応を行つた。この結果第 1 表に示す如く、めん羊血球とその抗血清による血球凝集反応と異り 5.0%~0.25%の各種濃度血球が何れもリチン濃度 10,000 倍迄血球凝集反応陽性であつた。これは一定濃度のリチン溶液迄は、その中に加えられた血球量に関係なく血球凝集を現わすことを示すもので、この点抗血球血清による血球凝集反応とは大いに趣を異にするものである。リチンによる血球

第 1 表 血球量を変化せる血球凝集反応

血球量%	リチン稀釈倍数					
	1:500	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000	1:25,000
5.0%	卍	卍	卍	卍	卍	-
2.5%	卍	卍	卍	卍	卍	-
1.0%	卍	卍	卍	卍	+	-
0.5%	+	+	+	+	+	-
0.25%	+	+	+	+	+	-

凝集反応を判定するに当り、2.5%血球が最も判定し易いので、以下の実験には2.5%血球を用いた。

リチン溶液とめん羊血球とで血球凝集反応を行う場合に、室温に放置し、時間的経過をたどりながら反応の発現状況を見ると第2表の如く2時間ではリチン2,500倍迄、3時間、4時間、6時間、翌朝は何れも10,000倍迄血球凝集を示しているが、反応程度は3、4、6時間と長くなる程強くなっている。そして6時間では翌朝と同じ程度の血球凝集を各管共に示している。めん羊血球と、抗血球血清による血球凝集反応に比しリチン溶液による血球凝集反応は反応の現れるのが遅いので、充分の時間をかけ少くとも判定迄に6時間以上を必要とするものと考えらる。

第2表 リチン血球凝集反応の時間的経過 血球2.5%

判定時間	リチン濃度					
	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000
2時間	+	+	+	-	-	-
3時間	++	+	+	+	+	-
4時間	++	++	++	++	+	-
6時間	++	++	++	++	++	-
24時間	++	++	++	++	++	-

註. 室温に放置して判定。

リチン溶液は血球凝集反応を起すが、この血球凝集性はリチン溶液を加温し又はFormalin 処置すればどの様に変化するかを見る為次の実験を行った。この結果は第3表

第3表 加温リチンによる血球凝集反応 血球2.5%

加温温度及び時間	リチン稀釈倍数					
	1:500	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000	1:25,000
加温せず	++	++	++	++	+	-
60°C 1時間	++	++	++	+	-	-
100°C 1時間	-	-	-	-	-	-
100°C 2時間	-	-	-	-	-	-
100°C 3時間	-	-	-	-	-	-

に示す如くであり、リチン溶液を加温せざる場合には、血球凝集反応は1:10,000迄陽性であるが、60°C—1時間加温により1:5,000迄陽性、100°C—1時間、100°C—2時間、100°C—3時間加温では全く血球凝集を見ない。これによつて見ると、リチン溶液の血球凝集能力は加温により急速に低下するものであることが分る。

次にリチン溶液に0.5%の割にFormalinを加え37°C—10日間保ち後2日間透析した。その結果得たるリチン溶液を用い血球量を変化して血球凝集反応を行つた処第4表に示す

第4表 Formalin 処置リチンの血球凝集反応

血球量%	リチン稀釈倍数			
	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000
5.0%	+	-	-	-
2.5%	+	-	-	-
1.0%	+	±	-	-
0.5%	+	±	-	-
0.25%	+	-	-	-

如く、5.0%より0.25%迄の血球で血球凝集反応はリチンの1,000倍液迄陽性を示し、Formalin 処置前に比し血球凝集能力は1/10に低下している。リチンにFormalinを作用させるとリチンはToxoid化されその毒性は低下するが同時にその血球凝集能力も低くなる。

第2節 リチン溶液にて凝集せる血球の溶血反応

前編に於て血球に抗血球血清を混し一度凝集せる血球に補体を加えると最初から同時に補体を加えた場合に比し溶血価が低くなる事を述べたがリチンの如く抗血球血清によらずして血球を凝集せしめる物質を用いて、一度凝集をおこした血球で溶血反応を行うとどの様な影響を及ぼすか検討する為次の実験を行った。

先ず1,000倍リチン溶液と2.5%血球を等量混じ室温に24時間放置しこの血球の上清を

除いて0.85%食塩水で2.5%血球となし又一方上清を除き洗滌したる後2.5%血球としてその後抗血球血清及び5%補体を加えた。その結果第5表に示す如く一度リチン溶液によ

第5表 リチン処置血球による溶血反応 血球 2.5%, 補体 5%

血 球 処 置	反 応 種 類	抗 血 球 血 清 稀 釈									食 塩 水
		10	100	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000	50,000	×	
処置後上清を除いた血球	溶血反応	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	凝集 +
処置後洗滌血球	溶血反応	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	凝集 +
正 常 血 球	溶血反応	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
正 常 血 球	血球凝集反応	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-

註. 血球処置はリチン1,000倍液と2.5%血球と等量を混じ、室温に翌朝迄放置した。

り凝集した血球はリチン溶液により処置されなかつた血球では完全溶血を示す補体量、抗血球血清量を加えた場合も完全溶血を示さない。一度リチン溶液により凝集した血球は抗血球血清により凝集した場合と同様に溶血反応を抑制している。

次に2.5%血球に1,000倍リチン溶液を加えて凝集せしめ、その後補体、抗血清を添加し

第6表 補体量を変化せるリチン処置血球による溶血反応

血 球 種 類	抗血球血清稀釈倍数	補 体 濃 度 (%)				
		50%	20%	10%	5%	2%
リチン処置血球	1:20	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)
正 常 血 球	1:20	卅	卅	卅	卅	卅

註. 血球処置はリチン1,000倍液と2.5%血球と等量混じ、室温に翌朝迄放置した。

て溶血反応を行い、血球凝集の溶血反応に及ぼす影響を補体量を変化するとどの様になるかを見るため実験を行つた。その結果第6表に示す如く補体を2~50%まで変化しても何れも凝集血球を残し完全溶血は示さなかつた。

次に2.5%血球と500倍、750倍、1,000倍、1,500倍、の各種倍数のリチン溶液とを混じ室温24時間後洗滌し、食塩水で2.5%血球に復し、この血球に補体、抗血球血清を加えて溶血反応を行つた。その結果第7表に示す如く、500倍、750倍、1,000倍のリチン溶液にて処置した血球は完全溶血を示さず、しかも凝集血球が残在している。1,500倍のリチン溶液にて処置した血球では凝集血球は残らないが完全溶血も示さず、やはり溶血反応は抑制されている。

以上第5, 6, 7表の実験により、リチン溶液により凝集された血球は溶血反応を抑制

第7表 各種濃度リチンにて処置せる血球の溶血反応 血球 2.5%, 補体 5%

血球処置リチン濃度	抗 血 球 血 清 稀 釈 度									食 塩 水
	1:10	1:100	1:1,000	1:2,500	1:5,000	1:10,000	1:25,000	1:50,000	×	
500倍	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	凝集 +
750倍	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	凝集 +
1,000倍	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	卅 (+)	凝集 +
1,500倍	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
未処置血球	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-

註. 血球処置は2.5%血球と等量のリチン溶液を混じ一昼夜室温放置後洗滌し、食塩水にて2.5%血球にして用う。

していることが分る。

第3節 抗リチン血清のリチンに及ぼす影響

リチン溶液による血球凝集反応並びにリチンにより凝集せる血球の溶血反応に及ぼす影響について、第1, 2節において実験を行ったが次に抗リチン血清を作成して、これがリチンの血球凝集作用並びに毒性にどの様に影響するかを明かにすべく以下の実験を行った。

第1項 リチン溶液と抗リチン血清の沈降反応

抗リチン血清の作成は実験材料の章で述べた如く、リチン溶液を家兎に注射して得た抗血清であり、この血清とリチン溶液との重層法による沈降反応は第8表に示す如く、リチ

第8表 リチン溶液と抗リチン血清の沈降反応（重層法）

リチン濃度	抗リチン血清稀釈度							食塩水
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	
500倍	+++	+++	++	+	-	-	-	-
1,000倍	+++	+++	++	+	-	-	-	-
2,500倍	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
5,000倍	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
10,000倍	+++	+++	+++	+	-	-	-	-

ン溶液の2500倍及び5000倍で1:32の抗リチン血清迄と反応しリチン溶液濃度が高くなつても低くなつても、抗体価は低くなり、500倍、1000倍、10,000倍のリチン溶液では抗リチン血清の1:16迄しか反応は陽性でない。リチ

ン溶液の2500倍、5000倍が最もよく抗血清と反応するものである。

次にリチン溶液と抗リチン血清による沈降反応を混合法により行つた。その結果第9表の如く、最初に反応を現わした管はリチンの500倍液では抗血清1:8で5分、1000倍のリチン溶液では抗血清1:16で8分であつた。リチン溶液2500倍以上の稀釈は混合法では全く反応は陰性であつた。

第9表 リチン溶液と抗リチン血清の沈降反応（混合法）、24時間値

リチン濃度	抗リチン血清稀釈度						
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
500倍	+	++	+++ (5分)	++	++	++	+
1,000倍	+	+	+	+++ (8分)	++	++	+
2,500倍	-	-	-	-	-	-	-
5,000倍	-	-	-	-	-	-	-
10,000倍	-	-	-	-	-	-	-

註. () 内時間はリチン溶液稀釈列で最初に反応を現した管及び時間。

第2項 抗リチン血清のリチン血球凝集反応に及ぼす影響

抗リチン血清とリチン溶液を混合せしめると、両者の結合によりリチンの作用が減弱されその結果リチン溶液の血球凝集能力も弱まるものと考え、次の実験を行った。その結果第10表に示す如く10,000倍リチン溶液では1:1,000血清迄、5,000倍溶液では1:250血清迄、

第10表 抗リチン血清によるリチン血球凝集の抑制（血球凝集反応） 血球2.5%

リチン濃度	抗リチン血清稀釈度									食塩水
	×10	×25	×50	×100	×250	×500	×1,000	×2,500	×5,000	
500倍	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
1,000倍	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++
2,500倍	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++
5,000倍	-	-	-	-	-	+	++	++	++	++
10,000倍	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++
25,000倍	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

註. リチンと抗リチン血清と混じ37°C, 1時間後血球を加え、室温放置、翌朝判定。

2,500倍溶液でも1:250血清迄, 1,000倍溶液では1:10血清迄しか血球凝集反応が現われていない。これは抗リチン血清によりリチンの血球凝集能力が中和されたものと考えられる。リチンの血球凝集能力を全く消失せしめるに要する抗リチン血清量はリチン溶液濃度が増す程比較的多くなっている。

次に500倍リチン溶液と抗リチン血清と混合し, その上清を用いて残存せるリチンの血球凝集能力を見た。その結果は第11表に示す

第11表 リチン溶液と抗リチン血清混合上清の血球凝集反応 (リチン, 抗リチン血清の混合法) 24時間値

リチン濃度	抗リチン血清稀釈度							
	原液	×2	×4	×8	×16	×32	×64	食塩水
500倍	+	+	+	+	+	+	+	-

上実験の上清による血球凝集反応 血球2.5%

混合抗リチン血清	リチン稀釈倍数				
	1,000	2,000	4,000	8,000	16,000
1:4	+	-	-	-	-
1:8	+	-	-	-	-
1:16	+	-	-	-	-
1:32	+	-	-	-	-
1:64	+	-	-	-	-
食塩水	+	+	+	+	-

如く1:4, 1:8, 1:16, 1:32何れの抗血清でも上清では1000倍リチン稀釈に相当する迄しか血球凝集反応は見られず, 対照に比しその凝集能力は8分の1に減少している。

第13表 リチン溶液と抗リチン血清の沈降反応 (混合法)

	抗リチン血清稀釈度									
	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	×1024
1,000倍リチン液	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc

初発試験管 (+)

註. リチン溶液0.5cc, 抗血清0.5cc混合

第3項 抗リチン血清によるリチンの毒力中和試験

リチンが血球凝集作用と共に毒性を有することは以前から知られているが, マウスを用いその毒性を検し, 併せて抗リチン血清による毒力中和試験を行った。

先ず15~20gのマウスを用いリチンの毒力検査を行った。その結果第12表に示す如く,

第12表 リチンによる毒性試験 (マウス5匹平均)

注射リチン濃度	経過				
	1日	2日	3日	4日	5日
10,000倍 0.5cc	+	st.			
30,000倍 "	+	+	st.		
50,000倍 "	-	+	st.		
70,000倍 "	-	-	+	st.	
90,000倍 "	-	-	-	-	-

註. 15g~20gのマウス皮下に注射,

+はリチンによる症状を示したことを表し, st. は死亡を示す。

皮下注射によりリチン7万倍液0.5ccで96時間(4日目)に死亡しているのをこれを最小致死量(M.L.D)と定める。従つてこの量はリチン粉末0.000007g(0.007mg)に当る。

次に抗リチン血清とリチン溶液との沈降反応を混合法により検して見ると第13表の如く初発試験管は1,000倍リチン液では1:16の抗リチン血清の反応試験管であつた。つまり1,000倍リチン液では1:16抗リチン血清が最も早く反応し最適比であることが分る。

抗リチン血清を用いてリチン溶液と反応させ, 毒性の変化を見るため, 1,000倍リチン溶

液0.5cc と抗リチン血清を 1 : 2, 1 : 4 から 1 : 64迄倍数稀釈して各 0.5cc とを混じ、37°C, 1時間後翌朝迄氷室に置き、之を最小致死量の2倍量(リチン溶液3.5万倍, 0.5cc)に稀釈してマウスの皮下に注射した。その結果第14表に示す如く抗血清原液, 1 : 8, 1

第14表 抗リチン血清によるリチン毒性中和試験

	リチン稀釈	抗血清稀釈	経過				
			1日	2日	3日	4日	5日
第一例	1,000倍	Orig.	-	-	-	-	+
		1 : 2	-	+	st.		
		1 : 4	-	-	+	st.	
		1 : 8	-	-	-	+	+
		1 : 16	-	-	-	+	+
		1 : 32	-	+	st.		
		1 : 64	+	st.			
		食塩水	+	st.			
	食塩水	1 : 4	-	-	-	-	-
第二例	1,000倍	Orig.	-	-	-	-	-
		1 : 2	-	+	st.		
		1 : 4	-	-	-	-	+
		1 : 8	-	-	-	-	-
		1 : 16	-	-	-	-	-
		1 : 32	-	+	st.		
		1 : 64	+	st.			
		食塩水	+	st.			
	食塩水	1 : 4	-	-	-	-	-
第三例	1,000倍	Orig.	-	-	-	-	-
		1 : 2	-	+	st.		
		1 : 4	-	+	st.		
		1 : 8	-	-	-	-	+
		1 : 16	-	-	-	-	-
		1 : 32	-	+	st.		
		1 : 64	+	st.			
		食塩水	+	st.			
	食塩水	1 : 4	-	-	-	-	-

註. リチン, 抗リチン血清混合後 37°C, 1時間後氷室に置き, 翌朝3.5万倍にして0.5ccをマウス皮下に注射す。

: 16では5日目迄死亡せず, 1 : 2血清では3日目, 1 : 4血清では3~4日目, 1 : 32

血清では3日目, 1 : 64血清では2日目, 対照(抗血清の代りに食塩水)では2日目に死亡した。この結果より見れば, リチンの毒性を中和する場合抗リチン血清は原液 1 : 8, 1 : 16が最も中和作用が強く, これは混合法により 1 : 16の抗リチン血清が最も早く反応を表し最適比であつた事と一致して 1 : 8, 1 : 16の血清に於て最もよくリチンの毒性が中和されている。

第4章 総括及び考按

抗血球血清により凝集した血球が溶血反応を抑制することは前編に於て述べたが, 抗血球血清作用によらないで血球を凝集せしめ, 血球凝集の液血反応に及ぼす影響を明かにするため, リチンにより血球凝集反応を行い, その凝集血球の溶血反応に及ぼす影響を見た。先ず血球凝集反応の状況を明かにした。血球凝集反応を行う血球としては, めん羊血球を用い, リチンは「メルク」製を粉末で貯え, 用に臨んで溶解して用いた。リチンによる血球凝集反応については関⁴⁾ 庄司⁵⁾ 等の実験ではめん羊血球では起らない事を述べているが, 筆者の実験では明かに血球凝集を起した。これは関, 庄司等は守山法⁶⁾を用いて得たリチンを使用し「メルク」製と異りこの様な異つた結果を示したものと考える。しかしリチンとめん羊血球による血球凝集反応は抗血球血清による反応と異り, 反応の表れ方が遅いことはたしかで, 相当の時間を経ないと充分に表れて来ない。

リチンによる血球凝集反応は 0.25% ~ 5.0%の間では血球濃度に関係なく, リチン稀釈 1 : 10,000迄反応陽性であるのは, リチン濃度が血球凝集反応に強く影響し, リチンの一定濃度以上があれば, その中に加る血球量の影響は少いことを示すものである。

リチン溶液とめん羊血球による血球凝集反応は反応が現われるのに相当長時間を要し, 6時間以上経過せねば充分発現せず, これはリチンが作用して血球凝集を起すには, 抗めん羊血球とめん羊血球による凝集反応に比し

長時間を要するものであることが分る。

リチン溶液に温度を加えると、100°C、1時間の加温で全く血球凝集作用を見なくなつた。これは楠⁷⁾の実験と一致する。Formalinによつてもリチンの血球凝集作用はその毒性の低下と共に低下する。

次にリチンにより凝集した血球が溶血反応に及ぼす影響について実験したが、之には血球とリチンを混合して、血球を凝集せしめ、凝集血球に抗血球血清及び補体を加えた。その結果一度リチンにより凝集した血球はこれを食塩水で洗滌しても、又洗滌しなくても、後に抗血球血清及び補体を入れた場合に完全溶血を示さず、又補体量を相当に増しても完全溶血を見なかつた。これは血球凝集のため血球に補体が結合し難くなつたものと考えられ、リチン凝集血球に於ても、前編の抗めん羊血球により凝集した血球と同様に溶血反応が抑制されることは血球の凝集により血球に対し補体が結合し難くなるため、必ずしも抗血球血清により血球凝集を起さなくても血球凝集が起れば溶血反応は抑制される。

次にリチンによる免疫血清を作成し、そのリチンの血球凝集作用及び毒性に及ぼす影響を見た。リチン溶液と抗リチン血清とを作用せしめ、その後に血球を加え、抗血清の作用を見ると明かにリチンが中和され、その血球凝集力は低下している。しかもリチン量が増す程中和に要する抗血清量が比較的になつていく。

リチンのマウスに対する毒性を見るに15~20gのマウスを用いると7万倍リチン溶液0.5ccで皮下注射により4日目に死亡し、これを最小致死量(M. L. D.)とすると0.007mgのリチンに当る。この方法は井上³⁾のTetanustoxinによる方法に準じて行つたものである。

先にRamon⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾はDiphtherietoxinとそのAntitoxinを用いて実験を行い、両者を試験管内にて混合せしめると或る適応せる濃度に於て最もよく沈降物を見、その他の所では沈降物が少なかつたり、示さなかつたりする

ことを明かにし、最適比の所で完全に中和し、これを利用して抗血清の力価の測定が出来又動物実験にも応用出来る事を明かにした。

本実験に用いたリチンと抗リチン血清では混合法により1,000倍リチン溶では1:16抗血清で最も早く反応し、又反応程度も強かつた。そこでマウスを用ひ、抗リチン血清により毒力中和試験を行つた所、混合法による最適比の1:16抗血清を中心にして血清濃度が高くなつても又低くなつても毒力中和能力は悪くなつており、これはリチンに於ても最適比に於て抗原抗体の結合が最もよく行れる事が動物実験に於ても実証された。これはRamonの説によく一致している。しかし動物実験に於て異つた結果を見たのは抗血清の原液と1,000倍のリチン溶液の混合によつて、最適比の所と同様にリチンの毒性がよく中和されている事である。この理由については血清の持つ抗原抗体反応によらない作用が高濃度血清に於て強く作用しリチンの毒性を弱めたものと思ふ。

第5章 結 論

- 1) リチンによる血球凝集反応は血球と抗血球血清による血球凝集反応に比し発現が遅く、又血球濃度の5%~0.25%では何れも最高凝集価は10,000倍リチン迄で同一である。
- 2) リチンの血球凝集力は加温、Formalin処置により急に低下する。
- 3) リチンにより一度凝集した血球で溶血反応を行うと、溶血反応は抑制され一度凝集した血球は完全溶血は示さない。
- 4) 抗リチン血清とリチンを適量作用せしめると、リチンの血球凝集作用、毒力共に弱くなり毒力は抗血清の最適比の所及び原液に於て最もよく中和される。

欄筆するに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りし恩師緒方教授に謹んで感謝の意を表す。

文 献

- | | |
|--|--|
| 1) Ehrlich : <i>Fortschr. Med.</i> , 15 , 41 (1897) | 6) 守山 <i>医学と生物学</i> , 10 卷, 163頁 (1947) |
| 2) Goddard and Mendel : <i>J. Biol. Chem.</i> , 82 , 447 (1929) | 7) 楠 <i>日大医学雑誌</i> , 11 卷, 1号, 39頁 (昭27年) |
| 3) 井上 : <i>岡山医学雑誌</i> , 別冊 P. 369 (1931) | 8) Ramon · <i>Compt. rend. soc. biol.</i> , 86 , 661 (1922) |
| 4) 関 : <i>日大医学雑誌</i> , 13 卷, 5号, 1026頁 (昭29年) | 9) Ramon · <i>Ebenda</i> , 89 , 2 (1923) |
| 5) 庄司 : <i>日大医学雑誌</i> , 13 卷, 12号 (昭29年) | 10) Ramon · <i>Ebenda</i> , 88 , 167 (1922) |

Department of Hygiene Okayama University Medical School
(Director : Prof. Dr. M. Ogata)

Studies on Hemagglutination and Hemolytic Test.

Part. 4. On the hemolytic test by ricin agglutinated red blood cells and on ricin and antiricin serum.

By

Miaki Numaguchi

1. The agglutination by ricin occurs more slowly than immune reaction.
 2. The agglutinated red cells by ricin are not completely dissolved, in spite of sufficient haemolysine and complement added.
 3. The antiricin of rabbit neutralizes the hemagglutination of ricin and toxicity to mouse, according to precipitin test by Ramon.
-