

岡山醫學會雜誌第46年第4號(第531號)

昭和9年4月30日發行

OKAYAMA-IGAKKAI-ZASSHI

Jg. 46. Nr. 4. April 1934.

38.

612.11:619.1

抗體ノ結合竝ニ分離ニ關スル研究補遺

(第1報)

特異沈降物, 分離沈降物竝ニ沈降素
分離液ノ抗原的作用ニ就テ

岡山醫科大學衛生學教室(主任緒方教授)

大岩博雅

[昭和8年8月12日受稿]

Aus dem Hygienischen Institut der Okayama Medizinischen Fakultät

(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

Beiträge zum Studium über Bindung und Isolierung der Antikörper.

(I. Mitteilung.)

Über die Antigenität des sensibilisierten Antigens und der
isolierten Präzipitinlösung.

Von

Hiomasa Ohiwa.

Eingegangen am 12. August 1933.

Verfasser stellte Präzipitate her, indem er Anti-Coli-Kaninchenserum mit Coli-extrakt, Anti-Rinder-Kaninchenserum mit Rinderserum digerierte, und immunisierte damit Kaninchen oder Meerschweinchen. Weiter injizierte er den Tieren eine bei

65°C im physiologischen Kochsalzmedium isolierte Präzipitalösung und den Rückstand derselben. Dabei beobachtete er, dass die Versuchstiere nach mehrmaligen Injektionen das entsprechende Präzipitin erzeugt hatten. Bei Meerschweinchen wurde daneben Antikaninchenserumpräzipitin in grösserer Menge als Anti-Coli- oder Antirinderenserumpräzipitin gebildet.

Es ergab sich kein bemerkbarer Unterschied in Bezug auf die Immunkörperbildung zwischen sensibilisiertem Präzipitat und dem Rückstand, der nach Isolierung des Präzipitins zurückblieb.

Jedoch wird die Antigenität zur Antikörperbildung durch mehrmalige, d. h. Hypersensibilisierung vermindert, und die Antigenität zeigt sich entsprechend der isolierten Lösung und dem Rückstand derselben als minderwertig, wogegen das Kaninchenserum bei Meerschweinchen in grosser Menge dabei gebildet wird.

Verfasser beschäftigte sich in der folgenden Untersuchung damit, das Isolierungsverfahren so zu verbessern, dass von der isolierten Präzipitinlösung die Antigene möglichst frei gelassen werden, weil in dieser Untersuchung der Antigenübergang bei der Isolierung nicht ganz vermieden werden kann. (Autoreferat.)

内 容 目 次

第1章 緒 言	第2項 感作牛血清ノ抗原的作用
第2章 文 獻	第3項 重複感作抗原ト1回感作抗原トノ抗原的作用比較
第3章 實驗材料並ニ實驗方法	第2節 分離抗原ノ抗原的作用
第1節 免疫血清	第1項 分離大腸菌ノ凝集原的作用
第1項 抗大腸菌血清	第2項 分離大腸菌浸出液ノ沈降原的作用
第2項 抗牛血清	第3項 分離牛血清ノ抗原的作用
第2節 抗 原	第4項 重複感作後ノ分離抗原ト1回感作後ノ分離抗原トノ抗原的作用比較
第1項 凝集原	第3節 感作抗原ト分離抗原トノ抗原的作用比較
第2項 沈降原	第1項 1回感作抗原ノ分離前後ニ於ケル抗原的作用比較
第3節 分離法	第2項 3回感作抗原ノ分離前後ニ於ケル抗原的作用比較
第1項 結 合	第4節 沈降素分離液ノ抗原的作用
第2項 分 離	第1項 大腸菌沈降素分離液ノ抗原的作用
第4節 凝集反應	第2項 抗牛血清沈降素分離液ノ抗原的作用
第5節 沈降反應	第5章 總括並ニ考案
第6節 補體結合反應	第6章 結 論
第7節 動物試驗	主要文獻
第1項 免疫動物, 免疫材料並ニ免疫方法	
第2項 検査方法	
第4章 實驗成績	
第1節 感作抗原ノ抗原的作用	
第1項 感作大腸菌浸出液ノ抗原的作用	

第1章 緒言

從來感作抗原ノ抗原的作用ニ關スル研究少シトセズ就中感作「ワクチン」ニ於テ然リトス。而シテ多數ノ研究者中或ル者ハ感作「ワクチン」ノ優レルヲ主張シ、或ル者ハ非感作「ワクチン」ノ秀デタルヲ説キ又或ル者ハ兩者差異ヲ認メズト言ヒ、甲論乙駁容易ニ決定スルニ至ラザリシモ今ヤ多數學者ノ意見ハ少クトモ免疫體產生能力ニ於テハ感作「ワクチン」ハ非感作「ワクチン」ニ及バザルモノナリトノ見解ニ一致シタルモノナルガ如シ。蓋シ斯ル研究ニ於テ各研究者ノ成績ガ常ニ一致スルハ至難ノコトナリト雖モ其ノ所説ノ區々タル所以ハ要スルニ感作程度、抗体抗原結合物ノ動物體內ニ於ケル分離、動物ノ個性、抗原ノ注射量及ビ其ノ回數等ノ諸因子ニ基因スルモノト思考セラル。

飯島¹⁾氏ハ抗牛溶血素ニテ飽和感作セラレタル牛血球及ビ「フ」氏抗体ニテ飽和感作セラレタル海狸腎臟細胞ハ家兎ニ於テ夫々其ノ特異抗体ヲ產生スルコトノ極メテ微量ナルヲ報ジ、西澤²⁾氏ハ沈降物ノ沈降原的作用ハ主トシテ其ノ不飽和ノ状態ニ基因スルモノニシテ、若シソレニ沈降素血清ヲ作用セシメテ其ノ飽和度ヲ増ストキハ其ノ沈降原的作用ハソレニ反比例シテ減ジ、遂ニ殆ド其ノ作用ヲ失フニ至ルヲ實驗シタリ。共ニ良ク符節ヲ合シタル成績ト謂フベシ。

第2章 文獻

分離抗原ノ抗原的作用ニ關スル報告ハ1922年三輪³⁾氏ハ凝集素ノ分離ニ就テノ研究中凝集素ト結合セシメタル「チフス」菌ヨリ凝集素ヲ分離シタ

余ハ當初本實驗ノ主要目的トシタル所ノモノハ抗体ヲ以テ感作シタル抗原ヨリ再ビ抗体ヲ除去シタル分離抗原ノ抗原的作用ノ檢索ニアリタリ即チ以上兩氏ノ沈降物ヲ同一抗体ヲ以テ重複感作シテ飽和度ヲ高ムルト反對ニ沈降物ヨリ抗体ヲ分離シテ其ノ飽和度ヲシテ一層減少セシメタルモノニ就キ其ノ抗原的作用ヲ研究シタルモノナリ。兩氏ノ成績ヨリ推論セバカカル處置ヲ施シタル分離抗原ニアリテハ單ナル感作抗原ニ比シ抗原的作用ヲ増加セシムベキ理ナリ。余ノ實驗ニ於テハ一方分離抗原ニ可ナリ著明ノ抗原的作用アルヲ觀タリト雖モ亦他方對照タルベキ單一感作抗原ニ於テモ略ボ同等ノ抗原性證明セラレ兩者ノ比較ニ於テ差異ノ判然タルモノアルヲ證明シ得ザリキ。而シテ之ガ原因ヲ案ズルニ注射量、注射回數、觀察方法等ノ理想的ニ行ハレザリシコト或ハ免疫動物ノ個性等一ニシテ止マズト雖モ感作抗原ノ分離状態並ニ程度モ亦重要因子タルベク分離法ニ於テ抗体ノミヲ可及的多量ニ收得セントノ理想的領域ニ尙ホ遠キニアラザルヤヲ想ヒ、次デ抗体分離液ノ抗原的作用ヲ檢シ、彼此相通ズル成績ヲ得。抗体分離上大ニ顧慮スベキモノアルヲ知リ分離法研究上聊カ得ルトコロアリタルヲ以テ之ヲ報告セントス。

ル殘リノ菌ハ凝集性血清ニヨリ再ビ凝集セラレ得ベク而シテ其ノ反應性ハ非分離菌ニ比シ幾分微弱ナルヲ報ジタルモノアレド其ノ他ニハ余ノ寡聞未

メ之アルヲ聞カズ。

感作抗原ノ抗原性ニ關スルモノハ極メテ多數ニ異リ枚舉ニ違アラズト雖モ、先ヅ感作沈降物ノ抗原的作用ニ關スルモノヲ求ムルニ Weil⁴⁾, Coon⁵⁾, Kosakaj⁶⁾ 氏等ハ感作沈降物ヲ海猿ノ腹腔内ニ注射シテ過敏症賦與性ノ有無ヲ檢索シ、Bail 氏ハ「チフス」菌培養肉汁ノ濾過液ト抗「チフス」菌家兔血清トヲ混ジテ生ジタル特異沈降物ヲ家兔ニ注射シテ「チフス」菌ニ對スル凝集素ノ產生セラレタルヲ報告シ、藤原⁷⁾ 氏ハ血球凝集素ト血球沈降素トノ異同ヲ檢索スルニ際シ沈降反應ニヨリテ得タル沈降ヲ充分洗滌シタル後其ノ浮游液ヲ作り之ヲ再三家兔ノ耳靜脈内ニ注射スルトキハ凝集素ヲ含マズシテ沈降素ヲ有スル抗血清ノ得ラルベキヲ報ジ、今井⁸⁾ 氏ハ海猿血清ト抗海猿家兔血清トヲ混ジテ形成セシメタル沈降物ヲ家兔ニ注射シタルニ海猿血清ニ對スル沈降素ノ新生セラレタルヲ實驗シ、又奥田⁹⁾ 氏ハ以上兩氏ノ特異沈降物モ抗原的作用ヲ保有ストノ實驗ニ基キ特異沈降子(副沈降原ヲ以テ副沈降素ヲ全ク飽和吸收シ盡セル特異抗血清ヨリ得タル主沈降子)ヲ家兔ニ注射シテ全ク特異性ヲ有スル(即チ類屬反應ヲ呈セザル)沈降素血清ヲ得ント企テ、西澤¹⁰⁾ 氏ハ沈降反應ニヨリテ形成セラレタル沈降物ハ之ヲ家兔ニ注射スルトキハ其ノ沈降物ヲ形成セシ最初ノ沈降原ニ對スル沈降素ヲ產生スルモ此抗原的作用ハ沈降物中ニ飽和ノ狀態ニアル抗原ニ基因スルモノニシテ若シソレニ沈降素血清ヲ作用セシメテ飽和度ヲ増ストキハ抗原的作用ヲ減ジ遂ニ殆ド抗原的作用ヲ失フニ至ルト言ヘリ。

次ニ感作血球ノ抗原的作用ニ關シテハ Von Dungern¹¹⁾ 及ビ Sachs¹²⁾ 氏等ハ感作牛血球ヲ以テ研究シ其ノ抗原性ノ甚メ微弱ナルヲ認メ、渡口¹³⁾ 氏ハ軍鶏血球ヲ以テ檢索シ高價溶血素血清ヲ得ルニハ普通赤血球ヲ適當ナリトシ、猪股¹⁴⁾ 氏、片山¹⁵⁾

氏ハ何レモ山羊血球ニ就キ實驗シ感作及ビ非感作血球共ニ免疫原トシテ大差ナキガ如シト言ヘリ。飯島¹⁶⁾ 氏ハ牛血球、海猿腎臟細胞及ビ山羊血球ニ就キ實驗シ抗牛溶血素ニテ飽和感作セラレタル牛血球及ビ「フ」氏抗體ニテ飽和感作セラレタル海猿腎臟細胞ハ家兔ニ於テ夫々其ノ特異抗體ヲ產生スルコト極メテ微量ナルコト又「フ」氏抗體ニテ飽和感作セラレタル山羊血球ハ家兔ニ於テ主トシテ純同原性抗山羊溶血素ヲ產生シ、純同原性抗山羊溶血素ニテ飽和感作セラレタル山羊血球ハ海猿ニ於テ純同原性抗山羊溶血素ヲ產出スルコト極メテ僅少ナルコト、更ニ「フ」氏抗體及ビ純同原性抗山羊溶血素ノ兩者ニテ飽和感作セラレタル山羊血球ハ家兔ニ於テ殆ド抗山羊溶血素ヲ產生セザルカ或ハ產生量極度微少ナルヲ報告セリ。

最後ニ感作「ワクチン」ニ就キテノ業績ヲ通覽シ先ヅ其ノ非感作「ワクチン」ニ比シ劣レリトナスモノヲ列記スレバ既ニ古ク Pfeiffer¹⁴⁾ 氏 Friedberger 氏ハ感作「コレラ」菌ノ抗原的作用アルヲ唱ヘ且其ノ作用ハ非感作ノモノニ比シ著シク劣リ「コレラ」菌ガ抗體ヲ以テ飽和セラレタルトキハ Ehrlich 氏ノ側鎖説ニ一致シテ全然抗原的作用ナシト言ヘリ Pfeiffer u. Bossau¹⁵⁾ 氏ハ 58°C 加熱「チフス」菌ト同菌 1.0 Öse ニ「チフス」免疫血清 1.0 cc ヲ加ヘタルモノトヲ以テ家兔ヲ免疫シテ其ノ血清ヲ比較セシニ感作菌免疫血清ハ加熱免疫ノモノニ比シ溶菌價ニ於テ 1/50 以下ニ、凝集價ニ於テ 1/80 ニ劣リ沈降價ニ於テハ加熱菌免疫血清ニ 1:80 ナリシニ感作菌免疫血清ニ於テハ全ク陰性ナリシヲ實驗シ尙ホ感作菌免疫血清ハ何等抗毒的作用ナカリシト唱ヘ、田中及ビ五十嵐¹⁶⁾ 氏ハ「コレラ」感作「ワクチン」ハ加熱「ワクチン」ニ比シ免疫力早ク發生スルテ事實ヲ認ムル能ハズ却テ加熱「ワクチン」ノ方早ク抗體ヲ生ズルガ如キ感作ヲ第 2 週間目ニ於テモ感作「ワクチン」ハ加熱「ワクチン」ニ比シ免



疫體ノ產出弱シト報ジ、寛¹⁷⁾氏ハ凝集反應及ビ補體結合反應ハ各種「ワクチン」ノ注射後5日ニシテ最高度ニ達シ10日マデ殆ド同高ヲ維持スルコトハ兩種「ワクチン」間ニ殆ド其ノ差異ヲ認メズト雖モ之等免疫物質ノ發現程度ハ感作「ワクチン」ニアリテ總テノ時期ニ於テ普通「ワクチン」ニ比シ著シク弱度ナルヲ見タリト云フ、猪股¹⁸⁾氏ハ「コレラ」菌、毒性型赤痢菌、「チフス」菌、球菌等ニツキ感作菌ト非感作菌トノ抗體或生力優劣ヲ比較シ溶菌價、防護價等何レモ非感作菌免疫血清ニ優リ又感作菌免疫ト雖モ確ニ陰性現象ヲ證明シ得ルモノアルヲ實驗シ、杜¹⁹⁾氏ハ赤痢菌ニツキ比較シ感作菌ハ石炭酸加菌、加熱菌ニ比シ抗體產生大ニ劣リ防禦試驗ニ於ケル斃死率甚大ナルヲ觀察セリ。

次ニ感作「ワクチン」ノ優レタルヲ説ク者亦少シトセズ Besredon²⁰⁾氏ハ「ベスト」菌、「チフス」菌、「コレラ」菌ノ感作「ワクチン」ヲ製シ之ヲ動物及ビ人體ニ試ミ之ハ非感作「ワクチン」ニ比シ注射ニヨル反應極メテ弱ク且免疫ノ發現速ニシテ充分ナル豫防價値ヲ發揮スルヲ認め、又之等ヲ白鼠ニ注射セシニ感作「ベスト」菌、感作「コレラ」菌ハ48時間、感作「チフス」菌ハ24時間後既ニ免疫性ヲ呈セシモ對照トシテ加熱殺菌セルモノヲ注射シタル白鼠ニ於テハ此期間内ニ何等免疫性ヲ認メズ、尙ホ又感作「ベスト」菌ヲ以テ免疫セル動物ハ免疫注射後2時間ヲ經テノ感染試驗ニ際シ既ニ非感作菌ヲ以テ免疫シタル對照動物ニ比シ死ノ遲延スルヲ見タリト云フ、Dopter²¹⁾氏ハ非感作赤痢菌ヲ動物體內ニ注射スルトキハ陰性現象ヲ認ムルモ感作赤痢菌ヲ注射スルトキハ之ヲ認メザリシト言ヒ、Levy及ビ青木²²⁾氏ハ肺炎双球菌ニテ家兎ニ實驗ヲ行ヒ感作菌免疫ノモノガ石炭酸加菌免疫ノモノニ比シ免疫ノ成立早ク感染試驗ヲ行フニ注射後5

時間ニシテ既ニ對照動物ニ比シ抵抗ノ高マリシヲ見タリ、Metschnikoff u. Besredon²³⁾氏ハ類人猿ニツキ「チフス」菌ヲ以テ實驗シ死滅セル菌ヲ以テ豫防接種セシモノハ毫モ豫防の効果ヲ現サザルモ感作「チフス」生菌ヲ以テ之ヲ行ヒシモノハ豫防效果完全ナリシコトヲ報告セリ、其ノ外目黒²⁴⁾氏ハ赤痢菌ニテ、渡口¹¹⁾氏、美野²⁵⁾氏ハ「チフス」菌ニテ、高野及ビ矢部²⁶⁾氏ハ「コレラ」菌ニテ松井²⁷⁾氏ハ「コレラ」生菌ニテ、志賀及ビ矢部²⁸⁾氏ハ「コレラ」菌ニテ實驗ヲ行ヒ感作菌免疫ノ免疫成立早キヲ稱へ又ハ凝集價ハ非感作菌免疫血清ニ及バザルモ溶菌價ニ於テハ略ボ同一價ヲ示シ且其ノ早期ニ出現スルヲ言ヒ或ハ注射時局所及ビ全身反應緩和ナルヲ以テ容易ニ注射量ヲ増加シテ免疫度ヲ高メ得トノ實地上ノ便益ヲ主張シテ何レモ感作「ワクチン」ヲ以テ優レタリトナス。

尙ホ Levy u. Hamm 氏ハ兩者ノ比較ニ就テハ詳言セザルモ感作球菌ヲ產褥熱ノ豫防及ビ治療ニ用ヒ奏效セシヲ述べ、Murxer²⁹⁾氏ハ感作球菌ニテ家兎ヲ免疫セシニ24時間後既ニ免疫性ヲ得タルヲ報告セリ、其ノ外中間論者トシテ Gurbat u. Meyer³⁰⁾氏ハ感作セル「チフス」死菌及ビ加熱殺菌セル「チフス」菌ヲ以テ家兎ヲ免疫シ其ノ血清ヲ比較セシニ凝集素及ビ補體結合性抗體ノ產生ハ感作菌免疫動物ノ血清甚ダ少ク、反之治療試驗ヲ行フトキハ感作菌免疫血清其ノ力強シト言ヒ、Liebermann u. Acél³¹⁾氏ハ感作「チフス」菌、加熱「チフス」菌及ビ石炭酸加「チフス」菌等ニテ免疫シ其ノ血清ヲ比較セシニ凝集素價及ビ試験管内溶菌素價ニ於テ3者等シキヲ傳へ、Stoner 氏モ同シク感作「チフス」ワクチン、非感作「チフス」ワクチンヲ以テ家兎ヲ免疫シ其ノ血清ニ就キ溶菌價及ビ Opsonin ヲ比較セシニ兩者殆ド差ナカリシト言ヘリ。

第 3 章 實驗材料並ニ實驗方法

第 1 節 免疫血清

實驗ニ使用シタル抗大腸菌血清並ニ抗牛血清ノ作り方次ノ如シ。

第 1 項 抗大腸菌血清

免疫動物トシテハ健康成熟家兎ヲ用ヒ之ニ 18 時間寒天斜面培養ノ大腸菌ヲ生理的食鹽水 10 cc = 3 Öse ノ割合ニ浮遊セシメ 60°C 2 時間加熱シタルモノヲ 3 日ノ間隔ヲ置キ 1—5 cc 宛漸次增量シツツ數回耳靜脈内ニ注入免疫シテ得タル家兎血清ニシテ稀釋沈降素價 1:250 以上ノモノヲ使用セリ。

第 2 項 抗牛血清

免疫動物トシテハ同ジク家兎ヲ用ヒ之ニ牛血清 1.0 cc ヲ生理的食鹽水ヲ以テ 5 倍ニ稀釋シ之ヲ 1 回量トシテ 3 日ノ間隔ヲ置キ數回耳靜脈内ニ注入免疫シテ得タル家兎血清ニシテ稀釋沈降素價 1:250 以上ノモノヲ使用セリ。

第 2 節 抗原

第 1 項 凝集原

18 時間寒天斜面培養ノ大腸菌 3 Öse ヲ生理的食鹽水 10 cc = 極メテ平等ニ浮遊セシメ 60°C 水槽ニ 2 時間加熱シタルモノヲ使用セリ。

分離凝集原トシテハ次節記載ノ分離法ニヨリ得タル分離大腸菌ヲ生理的食鹽水ニ浮遊セシメ其ノ懸ハ正常大腸菌ノ場合ト同様 10 cc = 3 Öse ノ割合ヲ以テシタルモ此場合ハ試験管壁ト白金耳ヲ以テ菌塊ヲ細磨スルニ當リ特ニ丁寧ニ操作シテ初メテ平等浮遊液ヲラシムルヲ得タリ。

第 2 項 沈降原

大腸菌浸出液並ニ新鮮牛血清ヲ使用セリ。大腸菌浸出液ノ製法ハ次ノ如シ、即チ 18 時間 Colle 氏 Agarplatte ニ培養セル大腸菌ヲ 20 cc ノ殺菌蒸餾水ニ浮遊セシメ 1 時間 60°C ニ加熱シ次テ 48 時間

37°C 解離内ニ放置シタル後 17% 食鹽水 1.0 cc ヲ加ヘ以テ食鹽含量ヲ 0.85% ヲラシメ Berkefeld 氏濾過器ヲ以テ濾過シテ得タル淡黃色透明ノ液ニシテ其ノ蛋白含量ハ大約血清ノ 1/1,000 ナリ。

分離沈降原ハ之ヲ瓊脂乳鉢ニテ丁寧ニ摺磨シタル後、大腸菌ニアリテハ最初使用ノ浸出液量ト等量、牛血清ニテハ使用血清 40 倍量ノ生理的食鹽水ヲ加ヘ 18 時間解離内ニ放置浸出シ次テ遠心沈澱シテ得タル上清ヲ分離抗原トシテ使用セリ。

第 3 節 分離法

第 1 項 結合

互ニ結合セシムベキ免疫血清ト抗原トノ量的關係ハ凝集原ニアリテハ白玖³²⁾氏ノ實驗ニヨリ分離ニ最適當量トセラレタル免疫血清 1.0 cc = 對シ大腸菌 1 寒天斜面トシ 3 回洗滌シタル後更ニ非感作凝集原ト同ジク 60°C 2 時間加熱シテ使用シ、沈降原ニアリテハ桑名³³⁾氏ノ實驗ニヨリ適當量トセラレタル免疫血清 1.0 cc = 對シ抗原 $0.025 \times \frac{\text{titer}}{\text{Zone}}$ ヲ以テセリ。使用抗原量ノ免疫血清ニ比シ遙ニ少ナキ牛血清抗原ニアリテハソレニ生理的食鹽水ヲ加ヘ使用免疫血清ト等量ニシテ混和セリ、混和シタル抗原抗体ハヨク振盪シテ 37°C 解離ニ 2 時間放置シタル後強力遠心沈澱ス、カクシテ得タル沈澱物ハ所謂感作抗原ニシテ之ハ 3 回生理的食鹽水ヲ以テ遠心洗滌シテ免疫血清ノ殘存ナキニ至ラシメ以テ實驗ニ供セリ。重複感作抗原ハ遠心沈澱シタル感作抗原ヲ洗滌スルコトナク更ニ免疫血清ヲ加ヘテ攪拌シ解離ニ放置感作スルノ操作ヲ反覆シタルモノニシテ爾後ノ處理ハ 1 回感作抗原ト異ル所ナク 3 回洗滌シテ殘存血清ヲ除去シタリ。

第 2 項 分離

洗滌シテ免疫血清ヲ除去シタル感作抗原ハ最初

感作ニ用ヒシ血清ト等量ノ生理的食鹽水ヲ加ヘヨク攪拌シテ平等濁液ヲラシメ65°C水槽中ニ入レ尙ホ時々攪拌シ30分後取り出シ直ニ強力遠心沈澱ス、カクシテ得タル上清ハ即チ沈降素分離液ニシテ沈渣ハ所謂分離抗原ナリ。

第4節 凝集反應

上記菌浮游液ヲ抗體稀釋液1ccニ對シ4滴ヲ混ジ37°C解籠ニ2時間置キ爾後室溫ニ放置シ翌朝Agglutinoskopヲ以テ検査シ對照ト比較シテ成績ヲ判定セリ。

第5節 沈降反應

沈降原ヲ生理的食鹽水ヲ以テ漸次稀釋シ之ヲ免疫血清ニ層重シ輪環ヲ現ス最高稀釋度ヲ索ムル所ノUhlenhuth氏法ニ據レリ、蓋シ沈降素ノ量的測定ニハ緒方氏稀釋法ニ從フベキモノニシテ後述ノ動物實驗ニ於ケルガ如ク抗體ノ檢索ニハ主トシテ同法ニ從ヒタルハ勿論ナルモ此場合ハ全然其ノ目的ヲ異ニシテ單ニ抗原性ノ檢索ニ止マリタルヲ以テ特ニU.氏法ニ據リタルモノナリ。

第6節 補體結合反應

溶血系統トシテハ2.5%山羊血球浮游液ト之ニ對スル家兎溶血性血清(56°Cニ30分加熱非働性トス)ノ溶血價2倍量ヲ使用ス、補體ハ新鮮海狸血清ヲ用ヒ試験ノ都度補體價ヲ測定シテ其ノ1.2倍量ヲ使用ス。

試験ハ先ヅ沈降原、沈降素(Pro Zoneノ現象ヲ示ス免疫血清ヲ選ビ其ノ20倍稀釋液ヲ使用セリ)及ビ補體ヲ加ヘ1時間37°C解籠ニ置キ、更ニ血球浮游液ト溶血素ヲ追加シ充分混和ノ後再ビ37°Cニ2時間放置シ爾後室溫ニ靜置シ翌朝成績ヲ判定セリ。各試験ニ於テ1列ノ對照ヲ設ケ、抗原又ハ抗體自己ガ補體ヲ結合スルコトナキヤ、溶血系統ハ能ク溶血作用ヲ發現スルヤ、又補體或ハ食鹽水ノ

ミニテ溶血作用ヲ起スコトナキヤヲ検査シタルハ勿論ナリトス。

試験方法ハ其ノ目的ニ應ジ前述ノ沈降反應ト同様免疫血清ヲ一定シ沈降原ヲ稀釋スルノ法ヲ採レリ。

第7節 動物試驗

第1項 免疫動物、免疫材料

竝ニ免疫方法

免疫動物トシテハ健康成熟家兎並ニ海狸ヲ使用シ免疫材料ハ前記(第3節分離法)ノ感作抗原、分離抗原並ニ分離液ニシテ何レモ家兎ニ對シテハ免疫血清1.0ccヲ費シテ得タルモノ(重複感作ニアリテハ初回1.0ccヲ使用シタルモノ)ヲ1回注射シ、海狸ニ對シテハ家兎ノ半量ヲ使用シ沈降物ハ2—4ccノ生理的食鹽水ヲ加ヘテ平等濁液トシ、分離液ハ3倍ニ稀釋シ何レモ3日ノ間隔ヲ置キ5回耳靜脈内ニ注入免疫セリ、但シ海狸ノ少數例ニ於テハ腹腔内1回注射ニ止メタルモノモアリ。

第2項 検査方法

第3回注射後3日及ビ最後ノ注射ヨリ5日(少數ノ1回注射例ニアリテハ注射後10日)ニシテ家兎ニアリテハ耳靜脈ヨリ、海狸ニ於テハ股動脈ヨリ採血シ免疫材料ノ由テ來レル結合抗原タル大腸菌浸出液ニ對スル或ハ牛血清ニ對スル沈降素ノ產生ヲ檢索測定シ尙ホ海狸ニアリテハ其ノ外免疫血清ノ母體タル家兎血清ニ對スル沈降素ノ產生ヲモ併セ検査セリ。而シテ此場合ハ試験方法トシテ緒方氏稀釋法即チ免疫血清ヲ1%「アラビヤゴム」生理的食鹽水ヲ以テ順次稀釋シ之ニ對シ沈降原ノ生理的食鹽水遞降稀釋液ヲ層重シテ其ノ結合帶ニ於テ反應シ得ル免疫血清ノ最高稀釋度ヲ索ムル法ヲ主トシU.氏法ヲ從トシテ併施シ尙ホ一部ノモノニ於テハ補體結合反應ヲモ兼テ試ミタリ。

第 4 章 實 驗 成 績

第 1 節 感作抗原ノ抗原的作用

免疫原トシテ使用セル感作抗原（大腸菌浸出液並ニ牛血清）ハ當該免疫血清ト結合セシメ沈降セル沈澱物ヲ更ニ 3 回食鹽水ヲ以テ遠

心洗滌セルモノニシテ其ノ結合狀態ハ更ニ沈澱物ノ一部ヲ以テ分離操作ヲ行ヒ第 1 表ニ示スガ如キ成績ヲ得タリ。

第 1 表 免疫材料(感作及ビ分離沈降物)結合及ビ分離試驗成績

免疫種類	家兔血清抽出液回分	結 合				分 離			
		抗原量	原 血 清		上 清	結 合 率	分 離 液		分 離 率
			沈降素價	結 合 帶			沈降素價	結 合 帶	
大腸菌性抗原	第 1 回	1.25	1:500	1: 10	1:100	4/5	1: 25	1: 10	1/16
	第 2 回	1.25	1:500	1: 10	1:100	4/5	1: 25	1: 10	1/16
	第 3 回	1.25	1:500	1: 10	1:100	4/5	1: 25	1: 10	1/15
	第 4 回	0.625	1:250	1: 10	1:100	3/5	1: 10	1: 10	1/15
	第 5 回	0.625	1:250	1: 10	1:100	3/5	1: 10	1: 10	1/15
牛血清性抗原	第 1 回	0.05	1:500	1:250	1:100	4/5	1: 25	1:250	1/16
	第 2 回	0.05	1:500	1:250	1:100	4/5	1: 25	1:250	1/16
	第 3 回	0.0625	1:250	1:100	1: 50	4/5	1: 10	1:100	1/20
	第 4 回	0.05	1:500	1:250	1:100	4/5	1: 25	1:250	1/16
	第 5 回	0.05	1:500	1:250	1:100	4/5	1: 25	1:250	1/16

免疫血清ハ常ニ 1.0cc ヲ使用ス。

第 1 項 感作大腸菌浸出液ノ抗原的作用

沈降物ニヨル免疫體產生ノ經過ハ第 2 表ニ示ス所ノ如シ即チ 3 回注射ニテハ免疫體ノ產生甚ダ少ク抗原性ノ微弱ナルヲ示スモ 5 回注射ニ及ベバ產生抗體ノ大ニ増加スルヲ觀ル而モ海眞ニアリテハ常ニ沈降物中ニ含有セラレタル家兔血清ニ對シ、抗原タル大腸菌浸出液ニ對スルヨリモ產生抗體量多量ナルヲ示ス是レ沈降物中兩者ノ量的關係ニ由ルモノト推定ス。

出口²⁴⁾氏ハ「カゼイン」ヲ沈降原トシ之ト其

ノ免疫家兔血清トノ結合沈降物ニ就キ磷含量ヲ測定シ以テ其ノ沈降物内ノ「カゼイン」量ヲ知り沈降物が免疫血清蛋白ト沈降原トヨリナルモノトセバ其ノ混合ノ比ハ 18.1:1 ナリト斷定シ得ベシト言ヘリ、此量的關係ハ總テノ沈降物ニ一律ニ適合スルコト能ハズト雖モ以テ其ノ概略ヲ知ルニ足ラン。余ノ實驗ニ於テ沈降物内抗體及ビ抗原ニ對スル產生免疫體ニ斯クノ如キ大差ヲ見ザルハ形成免疫體量ノ必ズシモ注射抗原量ニ關係セザルニヨルモノナルベシ。

第2表 抗大腸菌血清ニヨル沈降物免疫試験成績

免疫區分	動物種	沈降素價	3回免疫後				U. 氏法	5回免疫後						U. 氏法	
			稀釋法					稀釋法							
			1:5	1:10	1:25	1:50		1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250		1:500
感作沈降物	家兎 1	抗大腸菌沈降素	++	-			1:25	卅	卅	卅	++	+	-		1:100
	家兎 2	抗大腸菌沈降素	卅	++	+	-	1:25	卅	卅	卅	卅	++	+	-	1:100
	海猿 1	抗大腸菌沈降素	+	-			/	卅	++	±	-				1:25
		抗家兎血清沈降素	++	-			/	卅	++	+	-				1:2500
	海猿 2	抗大腸菌沈降素	+	-			/	卅	++	+	-				1:25
		抗家兎血清沈降素	++	-			/	卅	++	+	-				1:2500
分離沈降物	家兎 1	抗大腸菌沈降素	++	++	+	-	1:25	卅	卅	卅	++	+	-		1:100
	家兎 2	抗大腸菌沈降素	++	+	-		1:25	卅	卅	卅	++	+	-		1:100
	海猿 1	抗大腸菌沈降素	+	-			/	卅	++	+	-				1:25
		抗家兎血清沈降素	++	-			/	卅	++	+	-				1:5000
	海猿 2	抗大腸菌沈降素	+	-			/	卅	++	±	-				1:25
		抗家兎血清沈降素	+	-			/	卅	++	+	-				1:2500

第2項 感作牛血清ノ抗原的作用
動物試驗成績ハ第3表ニ明カナル如ク其ノ關係ハ總テ感作大腸菌浸出液免疫ノ場合ト同様ナリ、即チ8回免疫ニテハ沈降素ノ產出微量ニ留ルモ5回注射ヲ累ヌルトキハ其ノ増加

著明ナリ。而シテ海猿ニ於テハ抗家兎血清沈降素及ビ抗牛血清沈降素ノ兩種抗體ヲ產生シ前者即チ沈降物中抗體成分ニ對スルモノハ後者即チ抗原成分ニ對スルモノヨリモ稍々多量ナリ。

第3表 抗牛血清ニヨル沈降物免疫試験成績

免疫區分	動物種	沈降素價	3回免疫後				U. 氏法	5回免疫後						U. 氏法	
			稀釋法					稀釋法							
			1:5	1:10	1:25	1:50		1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250		1:500
感作沈降物	家兎 1	抗牛血清沈降素	++	++	+	-	1:100	卅	卅	卅	++	+	-		1:10000
	家兎 2	抗牛血清沈降素	++	++	+	-	1:250	卅	卅	卅	++	+	-		1:25000
	海猿 1	抗牛血清沈降素	+	-			/	卅	++	+	-				1:1000
		抗家兎血清沈降素	++	-			/	卅	++	+	-				1:5000
	海猿 2	抗牛血清沈降素	+	-			/	卅	++	+	-				1:1000
		抗家兎血清沈降素	++	-			/	卅	++	+	-				1:1000
分離沈降物	家兎 1	抗牛血清沈降素	++	++	+	-	1:250	卅	卅	卅	++	+	+	-	1:25000
	家兎 2	抗牛血清沈降素	++	++	+	-	1:250	卅	卅	卅	++	+	-		1:25000
	海猿 1	抗牛血清沈降素	+	-			/	卅	++	+	-				1:1000
		抗家兎血清沈降素	++	-			/	卅	++	+	-				1:2500
	海猿 2	抗牛血清沈降素	+	-			/	卅	++	±	-				1:1000
		抗家兎血清沈降素	+	-			/	卅	++	+	-				1:2500

第3項 重複感作抗原ト1回感作抗原トノ抗原的作用比較

本項ノ實驗ハ感作牛血清ニ就キ海猿ヲ試驗動物トシテ實施シ免疫注射ハ腹腔内1回ニ止メ注射後10日ニシテ採血検査セリ蓋シ免疫ヲ反覆セバ總テ產生抗體量ノ増加ヲ來スモノナリトハ言ヘ其ノ抗原性ノ大小ニ從ヒ抗體增加率必ズシモ相等シキモノニアラズシテ抗原性ノ程度ニヨリテハ其ノ小ナルモノニ產生抗體增加率大ナルモノアルベク一定範圍ハ抗原性比較ニ於テハ1回免疫ノ方兩者間ノ差等ヲ明瞭ナラシムルコトアルベキヲ顧慮シタルヲ

以テナリ。而シテ其ノ成績ハ第4表ニ示ス如ク感作ヲ反覆スルトキハ沈降物内抗原成分ハ抗原價ヲ減ズルニ反シ抗體成分ハソレヲ増スモノナリ、即チ1回感作牛血清沈降物免疫海猿ニ於テハ抗牛血清及ビ抗家兔血清ノ兩沈降素共ニ産出微量ニシテ且兩者間ニサホド量の軒輕ヲ認メザルモ3回感作牛血清沈降物免疫海猿ニアリテハ抗牛血清沈降素產生ハ甚ダ微量ニシテ稀釋價5ニ達セズU.氏價モ10—25ニ過ギザルニ反シ抗家兔血清沈降素ハ稀釋價25, U.氏價100—250ニ昇レルヲ觀ル。

第4表 重複感作抗原ト1回感作抗原トノ抗原的作用比較

免疫原別	動物種別	沈降素價	稀釋法				U.氏法
			1:5	1:10	1:25	1:50	
3牛血清沈降物感作	海猿1	抗牛血清	—				1:10
		抗家兔血清	卅	卅	卅	—	1:250
	海猿2	抗牛血清	—				1:25
		抗家兔血清	卅	卅	卅	—	1:100
1牛血清沈降物感作	海猿1	抗牛血清	—				1:10
		抗家兔血清	卅	—			1:50
	海猿2	抗牛血清	+	—			1:100
		抗家兔血清	卅	—			1:100

第2節 分離抗原ノ抗原的作用

本節ノ實驗ハ試験管内試験ト動物試験トヲ併用セリ。

第1項 分離大腸菌ノ凝集原的作用

第5表ニ實驗ニ使用シタル分離凝集原ノ分離試験成績ト其ノ凝集原性トヲ同時ニ示シタリ。

分離凝集原ハ明カニ其ノ被凝集性ヲ高ムルヲ認ムレハ分離操作ヲ施スト雖モ尙ホ凝集素

ノ殘存附着セルニ基因スルモノナラント推定ス、由テ殘存凝集素ノ破壊ノ目的ヲ以テ分離凝集原ヲ80°C 3時間加熱後實驗スルニ果シテ其ノ被凝集性ヲ著明ニ減ジタリ但シ加熱ニヨリ被凝集性ノ減弱スルハ多數ノ學者ニヨリテ實驗セラレタル所ニシテ此場合對照トシテ正常大腸菌ニモ同一條件ノ下ニ同一操作ヲ加ヘ兩者ヲ相比較シタルハ勿論ニシテ正常大腸菌ニ於テモ80°C 加熱ニヨリ其ノ被凝集性ヲ

減ズルモ分離大腸菌ニ於テハ其ノ減弱ノ程度ヲ認メザルニ至レリ、
一層大ニシテ操作後ハ兩者間ノ被凝性ニ差異

第5表 分離大腸菌ノ凝集原性試験成績

凝集素種類	凝集原種類	凝 集 素 稀 釋									
		100 : 1	250 : 1	500 : 1	1,000 : 1	2,500 : 1	5,000 : 1	10,000 : 1	25,000 : 1	50,000 : 1	100,000 : 1
原血清	正常大腸菌	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	分離大腸菌	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	80°C加熱正常大腸菌	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	80°C加熱分離大腸菌	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
上 清	正常大腸菌	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	分離大腸菌	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	80°C加熱正常大腸菌	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	80°C加熱分離大腸菌	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
分離液	正常大腸菌	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	分離大腸菌	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	80°C加熱正常大腸菌	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	80°C加熱分離大腸菌	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

凝集原ノ加熱ニヨル變化ノ研究ハ甚ダ多ク
1897年 Widal et Sicard³⁵⁾ 氏ハ「チフス」菌
ヲ 150°C 以上ニ加熱セバ被凝性ヲ失フヲ報告
シ Eisenberg u. Volk³⁶⁾ 氏ハ「チフス」菌ヲ加
熱シテ凝集反應ヲ檢シ 60°C—62°C ニテ破壊
セラレル作業簇ト少クトモ 165°C ニテハ不變
ノ耐熱性結合簇ト區別シ加熱菌ノ凝集力ノ
減退ヲ作業簇ノ破壊ニ歸シタリ、次デ Joos³⁷⁾
氏モ亦「チフス」菌ニ就キ 60°C—62°C ニテ破
壞スル α 凝集原ト耐熱性ノ β 凝集原ト區別
セリ、柴山³⁸⁾ 氏ハ「チフス」菌ノ被凝性ハ 60°C
30分加熱ニテハ變化ナキモ 70°C 30分 100°C
30分乃至7時間 132°C 1時間加熱ニヨリ著シ
ク減退スルヲ認メタリ、1904年 Scheller³⁹⁾ 氏

ハ 95°C 以上ノ加熱「チフス」菌ハ寧ロ被凝性
ノ回復スルヲ報告シテ世ノ視聽ヲ惹ケリ、次
デ Porges^{40) 41)} 氏モ亦同事實ヲ證明シ其ノ原
因ヲ 70°C—80°C ニテハ菌體ハ「プロテイン」
膨化ノ爲菌液ノ Stabilität 著シク高マリ從ツ
テ菌ノ被凝性ハ減弱スルモ 100°C 加熱ニヨリ
再ビ「プロテイン」ノ加水分解ノ爲 Stabilität
減ジ被凝性ヲ回復スルモノナリトセリ、然レ
ドモ Shiga⁴²⁾ 氏、Neisser⁴³⁾ 氏等ハ「チフス」
菌加熱ニヨル被凝性ノ減弱ヲ菌體ヨリ受體ノ
游離スルニヨルモノナリトシ 100°C 加熱ニ
ヨリ再上昇スルハ游離受體ノ破壊ニ歸セリ、
Jobling⁴⁴⁾ 氏ハ「チフス」菌、「バラチフス」
菌、豚「コレラ」菌及ビ豚「ペスト」菌等ニ就キ

Hirschfeld⁴⁵⁾ 氏ハ「チフス」菌ニ就キ検査シ概ネ Porges 氏ノ説ニ賛セリ。1918年松井⁴⁶⁾ 氏ハ 60°C 加熱菌ハ既ニ其ノ被凝性ヲ減ジ 80°C ニ於テ最モ其ノ度著シク 100°C 1時間加熱ニ至レバ却テ少シク回復スルヲ述ベタルモ 守家⁴⁷⁾ 氏ハ 70°C—80°C 加熱「チフス」菌ハ凝集反應ヲ呈セズ、90°C 加熱ニヨリ稍々發現シ 125°C ニ至リ更ニ增強スルヲ認メ渡邊⁴⁸⁾ 氏ハ「チフス」菌、「バラチフス」菌、赤痢菌及ビ「コレラ」菌等ニ於テ各菌種ニヨリ多少ノ差アルモ 65°C—90°C ニテハ被凝性減ジ「チフス」菌、「バラチフス」菌及ビ「コレラ」菌ハ 100°C 1時間加熱ニ於テ之ヲ回復セルヲ實驗シ其ノ原因ニ就テハ Joos 氏ノ説ニ賛セリ。次デ古川⁴⁹⁾ 氏ハ「チフス」菌加熱ニヨリ同一成績ヲ得、杉田⁵⁰⁾ 氏ハ「チフス」菌及ビ「バラチフス」A 菌ニ於テ加熱ニ對シ抵抗力強キモノト凝集原性ノ減弱スルモノトノ 2 種アルヲ報告セリ。又 山口⁵¹⁾ 氏、河野⁵²⁾ 氏及ビ佐藤⁵³⁾ 氏等モ或ハ「チフス」菌ニ就キ或ハ赤痢菌ニ就キ加熱ニヨリ減退セル被凝性ノ 100°C 加熱ニヨリ再回復スルヲ認メ中本⁵⁴⁾ 55) 氏ハ精細ナル研究ノ結果「チフス」菌ハ 60°C 1時間加熱ニヨリ變化ナキモ 65°C ヨリ被凝性減ジ 80°C 1時間

最モ著シク 90°C ヨリ回復シ始メ 100°C 3時間最モ良ク回復シ同 5 時間ニ至レバ再稍低下スルヲ見、「バラチフス」B 菌亦概ネ同様ノ成績ヲ得タリ而シテ其ノ原因トシテ凝集原ニハ耐熱性ト非耐熱性ノモノアリテ後者ハ加熱ニヨリ變化シ粘液狀物質トナリ保護膠質作用ニヨリ耐熱性凝集原ノ被凝作用ヲ阻止シ加熱 100°C 1 時間ニヨリ之等ノ性質ヲ失フモノナリトセリ。窪田⁵⁶⁾ 氏モ亦「チフス」菌凝集原ノ耐熱性ニ就テ研究シ略ボ同一ナル成績ヲ得タリ。白玖⁵⁷⁾ 氏ハ大腸菌ヲ 60°C—80°C ニ 1—4 時間加熱シテ凝集原性ノ變化ヲ檢シ 75°C 加熱ニヨリ既ニ被凝性減退シ 80°C 1 時間同 2 時間及ビ 100°C 1 時間ニ至ルマデ減弱程度ニ變化ナク 100°C 2 時間加熱ニヨリ却テ被凝性ノ回復シ次イデ 100°C 3 時間同 4 時間加熱ニヨリ再ビ逐次凝集價ノ一層下降スルヲ認メタリ。

第 2 項 分離大腸菌浸出液ノ沈降原的作用

1. 試験管内試験

本試験成績ハ第 6 表ニ示セリ、即チ抗原性存スルモ其ノ甚ダ弱キヲ觀ル、是レ沈降物ノ浸出性大ナラザルニ因ルモノナルベシ。抑モ

第 6 表 分離抗原浸出液ノ沈降原性試験成績

沈降原種類	沈降原稀釋										
	1	5	10	25	50	100	250	1,000	1:10,000	1:25,000	1:50,000
大腸菌浸出液	卍	卍	卍	卍	卍	+	-				
分離大腸菌性沈降物浸出液	卍	卍	卍	-							
牛血清	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	-
分離牛血清浸出液	卍	卍	卍	-							

大腸菌浸出液ノ蛋白含量ハ牛血清ノ約 1/1,000
 分離大腸菌性沈降物浸出液ノ蛋白含量ハ牛血清ノ 1/2,000 以下
 分離牛血清沈降物浸出液ノ蛋白含量ハ牛血清ノ 1/2,000 以下

沈降反應ヲ檢シ其ノ成績ヲ判然タラシムルニハ反應原ヲシテ澄明ナラシムルヲ要スルハ勿論ナリ。依ツテ試驗ニ用ヒタル反應原ハ既ニ前章記載ノ如ク分離後ノ沈澱物ヲ瑪瑙乳鉢ニテ摺磨シ最初使用ノ大腸菌浸出液ト等量ノ生理的食鹽水ヲ加ヘ一夜孵籠内ニ放置浸出シタル後遠心沈澱シテ得タル上清ナルモ本上清液中ニハ抗原成分ノ浸出極メテ微量ニ留ルモノニシテ其ノ蛋白含量ハ家兎血清ノソレニ比シ1/2.000 以下ニシテ 0.033% ノ蛋白ニ反應シ得ル銳敏度ヲ有ストセラルル 30% 硝酸(比重 1.20)ヲ以テ之ヲ證明スルコト能ハザリキ。

2. 動物試驗

實驗成績ハ第2表ニ比較表示セシ如ク感作大腸菌浸出液ノ抗原性トノ差異判然タラズ。

第3項 分離牛血清ノ抗原的作用

1. 試験管内試験

第6表ニ示ス如ク其ノ成績大腸菌分離抗原ト相似タリ即チ抗原性ヲ證明スルモ其ノ反應度ハ甚ダ微弱ナリ是レ沈澱物ノ浸出弱クシテ反應原ノ抗原含量僅微ナルニ基クモノニシテ

從ツテ蛋白含量モ大腸菌分離抗原浸出液ノ場合ト同様硝酸ノ反應域ニ達セザル程ナリ。

2. 動物試驗

第3表ニ明カナル如ク大腸菌分離抗原ノ場合ト同ジク感作抗原トノ區別明瞭ナラズ。

第4項 重複感作後ノ分離抗原ト1回感作後ノ分離抗原トノ抗原的作用比較

本項ノ實驗ハ前述ノ重複感作抗原ト1回感作抗原トノ抗原的作用比較實驗ト同一方法ニ據レリ即チ抗原トシテハ牛血清ヲ選ビ實驗動物トシテハ海狸ヲ用ヒ免疫ハ腹腔内注射1回トシ注射後10日ニシテ採血検査セリ、其ノ成績ハ第7表ニ示ス如ク重複感作後分離シタルモノニ於テハ沈降物ヲ形成セル抗體成分ニ對シテモ沈降素ノ產生少許ニ留ルト雖モ抗原ニ對シテハ更ニ一層微弱ナルヲ觀タリ。

1回感作後分離シタルモノニアリテモ沈降物内兩成分ニ對スル沈降素共産出微量ナルモ3回感作後ノ分離抗原ニ比シ兩沈降素間ノ量的差異甚ダ少シ。

第7表 重複感作後ノ分離抗原ト1回感作後ノ分離抗原トノ抗原的作用比較

免疫原別	海狸	血清	沈降素價	稀釋法				U. 氏法
				1:5	1:10	1:25	1:50	
3分 回離 感牛 作血 後清	海狸 1	抗牛血清沈降素	—	—	—	—	1:10	
			抗家兎血清素	++	—	—	1:50	
	海狸 2	抗牛血清沈降素	—	—	—	—	1:10	
			抗家兎血清素	++	—	—	1:50	
1分 回離 感牛 作血 後清	海狸 1	抗牛血清沈降素	+	—	—	—	1:10	
			抗家兎血清素	+	—	—	—	1:25
	海狸 2	抗牛血清沈降素	+	—	—	—	1:10	
			抗家兎血清素	+	—	—	—	1:50

第 3 節 感作抗原ト分離抗原トノ
抗原的作用比較

第 1 項 1 回感作抗原ノ分離前後ニ
於ケル抗原的作用比較

前記ノ實驗成績ニヨリ知ラルル如ク (第 2 表及ビ第 3 表) 感作抗原ト分離抗原トノ間ニ其ノ抗原性ニ劃然タル差異ヲ認ムルコト能ハズ是レ一見奇怪ナルニ似タリ如何トナレバ感作抗原ノ非感作ノモノニ比シテ其ノ抗原性減殺セラルルハ今ヤ一般ニ認メラルル所ニシテ殊ニ飽和感作抗原ニ於テハ殆ド全ク抗原性ヲ失フハ飯島氏, 西澤氏等ノ實驗ニ於テ相一致シタル成績ナリ, 然ラバ分離抗原ニ於テハ必ズヤ其ノ減弱セル抗原性ヲ一部回復スベキモノト察セラル, 然ルニ本分離法ニ於テハ其ノ然ラザルヲ實驗セリ. 是レ分離ノ理想的ニ行ハルルコト不可能ニシテ分離操作ニヨリ相結合セル抗原抗体ハ一部分分離スト雖モ分離液中ヘ移行スルハ抗体ノミニ留ラズ分離抗原モ

共ニ來リ殘渣沈降物中兩者ノ量的關係ハ分離前後ニ於テ大差ナキニ因ルモノナランカ, 次節分離液ノ抗原性検査ニ於テ分離液中稍々多量ノ抗原含有ヲ示セルト彼此相通ズル成績ト謂フヲ得ベシ.

第 2 項 重複感作抗原ノ分離前後ニ
於ケル抗原的作用比較

第 8 表ニ比較表示セリ, 但免疫材料ハ 3 回感作牛血清ノ分離前後ノモノニシテ免疫ハ海獺腹腔内 1 回ニ止メ共ニ注射後 10 日ニシテ採血検査シタル成績ナリ, 一見明瞭ナル如ク此場合ハ 1 回感作ノモノト異リ兩者間ニ差別ノ判然タルモノアルヲ認ム. 即チ沈降物内抗原ニ對シテハ分離前後ヲ問ハズ共ニ沈降素ノ產生甚ダ微量ナルモ抗体成分ニ對スル沈降素ノ產出ハ分離前後ニ於テ著明ノ差別アリ, 感作抗原ニ於テ分離抗原ニ比シ遙ニ大ナルヲ觀タリ.

第 8 表 重複感作抗原ト重複感作後分離抗原トノ抗原的作用比較

免疫原別	動物種	沈降素價 抗原種類	稀 釋 法				U. 氏法
			1:5	1:10	1:25	1:50	
感作抗原	海獺 1	抗牛血清沈降素	—				1:10
		抗家兔血清沈降素	卅	卅	卅	—	1:250
	海獺 2	抗牛血清沈降素	—				1:25
		抗家兔血清沈降素	卅	卅	卅	—	1:100
分離抗原	海獺 1	抗牛血清沈降素	—				1:10
		抗家兔血清沈降素	卅	—			1:50
	海獺 2	抗牛血清沈降素	—				1:10
		抗家兔血清沈降素	卅	—			1:50

第 4 節 沈降素分離液ノ抗原的作用
前記ノ分離法ニヨリ得タル沈降素分離液ハ

緒方氏稀釋法及ビ U. 氏法ニヨリ沈降素價ヲ測定スルト共ニ之ヲ生理的食鹽水ヲ以テ順次

稀釋シテ反應原トシ之ニ對スル抗體トシテハ
最初結合ニ用ヒシ抗原ニ對スル免疫血清ニシ
テ U. 氏法沈降素價高キモノヲ以テシ沈降反
應及ビ補體結合反應ヲ施行シ一方又分離液ヲ
以テ家兎及ビ海狸ヲ免疫シ以テ分離液含有ノ

抗原ヲ測定證明セリ。

第1項 大腸菌沈降素分離液ノ抗原
的作用

検査材料タル分離液ノ分離試験成績ハ第9
表ニ示セリ。

第9表 免疫材料(分離液)分離試験成績

區分 免疫回次	抗大腸菌沈降素價					抗牛血清沈降素價				
	原血清	上清	結合率	分離液	分離率	原血清	上清	結合率	分離液	分離率
第1回	500	250	1/2	25	1/10	1000	500	1/2	50	1/10
第2回	250	100	3/5	10	1/15	500	250	1/2	25	1/10
第3回	500	250	1/2	25	1/10	500	250	1/2	25	1/10
第4回	500	250	1/2	25	1/10	500	250	1/2	25	1/10
第5回	500	250	1/2	25	1/10	500	250	1/2	25	1/10

1. 沈降反應 出液ニ比シ約其ノ1/20ノ大腸菌性抗原ヲ含有
成績第10表ニ示ス如ク分離液ハ大腸菌浸 スルモノナリ。

第10表 沈降素分離液抗原價

反應區分	抗原區分	抗原稀釋															
		6	10	25	50	100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000	50,000	100,000	250,000	
沈降反應	大腸菌浸出液	卅	卅	卅	卅	+	-										
	大腸菌沈降素分離液	+	-														
補體結合反應	大腸菌浸出液	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-									
	大腸菌沈降素分離液	卅	+	-													
沈降反應	牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	抗牛血清沈降素分離液	卅	卅	卅	±	-											
補體結合反應	牛血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	抗牛血清沈降素分離液	卅	卅	卅	卅	-											

2. 補體結合反應 同ジク第10表ニ示ス如ク沈降反應ニ於ケ
ルト全ク同一ノ形式ヲ呈シ只ソレヨリ1位高
キ價ヲ示シタリ。

3. 動物實驗 本免疫試験ニ於テハ免疫中途ノ検査ヲ省略
シ5回免疫シテ最後ノ注射ヨリ5日ニ1回採
血シテ検査スルニ止メタリ。

成績ハ第 11 表ニ明カナル如ク家兎ニ於テハ抗大腸菌沈降素ヲ、海猿ニアリテハ抗大腸菌沈降素及ビ抗家兎血清沈降素ノ兩種抗體ノ產生ヲ觀タリ。其ノ沈降素價ハ U. 氏法ニヨルモノハ不定ナルモ稀釋法ニヨルモノハ略ポー

定シ一般ニ低弱ナリ而シテ兩種ノ沈降素ヲ產生セシ海猿ニ就テ觀ルニ家兎血清ニ對スルモノハ常ニ大腸菌ニ對スルモノヨリモ稍々大ニシテ其ノ關係感作抗原竝ニ分離抗原免疫ニ於ケルト相似タリ。

第 11 表 沈降素分離液免疫試驗成績

免疫區分	動物種	沈降素價	稀 釋 法							U. 氏法
			1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	
抗大腸菌沈降素分離液免疫	家兎 1	大腸菌沈降素	卅	卅	卅	卅	+	-		50
	家兎 2	大腸菌沈降素	卅	卅	卅	卅	+	-		50
	海猿 1	大腸菌沈降素	+	-						10
		家兎血清沈降素	卅	卅	+	-				5,000
	海猿 2	大腸菌沈降素	+	-						10
		家兎血清沈降素	+	-						500
抗牛血清沈降素分離液免疫	家兎 1	牛血清沈降素	卅	卅	卅	卅	+	-		25,000
	家兎 2	牛血清沈降素	卅	卅	卅	卅	+	-		25,000
	海猿 1	牛血清沈降素	+	-						100
		家兎血清沈降素	卅	+	-					250
	海猿 2	牛血清沈降素	+	-						100
		家兎血清沈降素	卅	+	-					250

第 2 項 抗牛血清沈降素分離液ノ抗原的作用

分離液ノ分離試驗成績ハ第 9 表ニ示セリ。

1. 沈降反應

成績第 10 表ニ示ス如ク分離液ハ牛血清ニ比シ約其ノ 1/2,000 ノ抗原ヲ含有スルヲ觀ル。

2. 補體結合反應

第 10 表ニ並示セル如ク沈降反應トノ關係大腸菌沈降素分離液ニ於ケルト同様ナリ。

3. 動物實驗

本免疫試驗ニ於テモ免疫中途ノ検査ヲ省略

シ 5 回免疫シテ最後ノ注射ヨリ 5 日ヲ經テ 1 回検査セリ。成績ハ第 11 表ニ掲グル如ク大腸菌沈降素分離液免疫ニ總テノ關係ニ於テ相通ズルヲ觀ル即チ海猿ニ於テハ抗牛血清沈降素及ビ抗家兎血清沈降素ノ兩種抗體ヲ產生シ後者ノ沈降素價ハ前者ノソレニ比シ少シク高キヲ示ス。

重複感作沈降物ヨリ得タル沈降素分離液ノ抗原性ヲ檢シ其ノ沈降原含量極メテ微少ナルヲ證シタリ。之ニ關スル詳細ナル實驗ハ次編ニ記載スベシ。

第5章 總括並ニ考按

感作沈降原ノ抗原的作用ヲ論ジ之ヲ非感作抗原ノソレト比較センニハ兩者ノ量的關係ヲ精査シ之ヲ一定ニ保テテ實驗比較スベキハ勿論ニシテ余ノ實驗ニ於テハスクノ如キ方法ヲ採ラザリシヲ以テ茲ニ敢テ抗原的作用ノ優劣ヲ比較論究スル能ハザルモ兎ニ角相結合シテ沈降物ヲ形成セル沈降素血清及ビ沈降原ハ共ニ抗原的作用ヲ有シ5回反覆注射セバ可ナリ多量ノ抗体ヲ產生セシメ得ルモノナリ。

飽和感作沈降原ノ抗原的作用甚ダ微弱ナルハ飯島氏、西澤氏等ノ實驗セル所ニシテ之ヨリ推シテ分離抗原ハ感作抗原ニ比シ抗原的作用ヲ増加スベキカ如ク考ヘラルルモ余ノ實驗ニ於テハ其ノ然ルヲ證明セズシテ兩者間ニ判然タル差異ヲ認ムル能ハザリキ是レ從來ノ方法ニヨリ得タル分離液ニハ互ニ解離シタル抗原、抗体共ニ含有セラレ從ツテ分離抗原ト雖モ其ノ飽和度ニ於テ感作抗原ト大差ナキニ因

ルモノナラン、而シテ此成績ハ分離液ノ免疫實驗ニ於テ其ノ抗体母地タル免疫血清ニ對シテノミナラズ結合ニ使用シタル抗原ニ對シテモ亦免疫體ノ產生ヲ見タル試驗成績ト一脈ノ連繫ヲ保テルモノト謂フヲ得ベク抗体分離ノ目的ニハ使用抗原ノ分離液内移行ヲ抑止スル處置ノ必要ナルヲ聯想セシム。

重複感作抗原ニ於テハ1回感作ノソレニ比シ免疫試驗成績上沈降物内抗原ハ抗原性ヲ減ジ抗体成分ハ抗原的作用ヲ増加ス是レ重複感作ニヨリ沈降物ハ漸次抗原量ヲ減ジ抗体成分ノ増加ヲ來スモノト推定ス。又重複感作抗原ニ於テハ其ノ分離前後ニ於テ沈降物中抗原ニ對スル沈降素ノ産生量ニハ差異ヲ認ムルコト能ハザリシモ抗体成分ニハ判然タル差異アリテ分離抗原ハ感作抗原ニ比シ抗原的作用ヲ減弱スルモノナリ。

第6章 結 論

1. 感作沈降原ハ頻回注射ニヨリ其ノ抗体ノ由來セル血清及ビ抗原ニ對スル免疫體ヲ產生セシム、而シテ其ノ抗原性ハ前者ニ大ニシテ後者ニ小ナリ。

2. 感作抗原ト分離抗原トノ抗原的作用ヲ比較スルニ單一感作ノ場合ニハ兩者間ニ判然タル差異ヲ認ムル能ハズ。

3. 單一感作後生理的食鹽水「メゾウム」高温處置ニヨル從來ノ分離方法ヲ以テ得タル沈降素分離液ハ抗体ノ由來セル血清並ニ結合ニ使用セン抗原ヲ含有シ之等ハ免疫試驗上稍々著明ノ抗原的作用ヲ現ス。

4. 重複感作ニヨリ沈降物ハ抗原量ヲ減ジ抗体ヲ増加ス。

5. 重複感作ノ場合ハ感作抗原ト分離抗原トノ間ニ抗体成分ニ對シテノミ抗原價ヲ異ニシ分離抗原ニ小ニシテ感作抗原ニ大ナリ。

拙筆ニ當リ終始御懇篤ナル御指導ト本稿御校閱ノ勞ヲ辱ウセシ恩師緒方教授ニ對シ衷心感謝ノ意ヲ表ス。

本論文ノ要旨ハ昭和7年4月1日第4回日本聯合衛生學會ニテ發表セリ。

主 要 文 獻

- 1) 飯島, 實驗醫學雜誌, 第7卷, 第6號, 大正12年6月. 2) 西澤, 社會醫學雜誌, 第493號, 昭和3年. 3) 三輪, 衛生學傳染病學雜誌, 第17卷, 第4號, 大正11年3月. 4) *Weil*, Journ. of Imm., Vol. 1, P. 1, 1916. 5) *Coca a. Kosukai*, ebd., Vol. 5, P. 297, 1920. 6) 藤原, 東京醫學會雜誌, 第34卷, 大正9年. 7) 今井, 日本微生物學會雜誌, 第9卷, 大正8年. 8) 奥田, 日本微生物學會雜誌, 第17卷, 大正12年. 9) *v. Dungern*, Münch. med. W., S. 677, 1900. 10) *Sachs*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, S. 491, 1901. 11) 渡口, 衛生學傳染病學雜誌, 第12卷, 大正5年. 12) 猪股, 衛生學傳染病學雜誌, 第12卷, 大正5年. 13) 片山, 衛生學傳染病學雜誌, 第15卷, 大正8年. 14) *Pfeiffer*, Deutsch. med. W., S. 867, u. 891, 1901. 15) *Pfeiffer u. Bessau*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 56, S. 344, 1910. 16) 田中及五十嵐, 衛生學傳染病學雜誌, 第12卷, 大正5年. 17) 寛, 岡醫雜., 第328號, 大正6年. 18) 猪股, 日本微生物學會雜誌, 第13卷, 大正9年. 19) 杜, 衛生學傳染病學雜誌, 第15卷, 大正8, 9年. 20) *Besredka*, Ann. Past., P. 918, 1902. 21) *Dopter*, ebd., P. 677, 1909. 22) *Levy u. Aoki*, Zeitschr. f. Imm., Bd. 7, S. 435, 1910. 23) *Meischnikoff u. Besredka*, Ann. Past., P. 597, 1913. 24) 目黒, 細菌學雜誌, 第233號及第236號, 大正4年. 25) 美野, 細菌學雜誌, 第242號, 大正1年. 26) 高野及矢部, 細菌學雜誌, 第254號, 大正5年. 27) 松井, 細菌學雜誌, 第255號, 大正5年. 28) 志賀及矢部, 細菌學雜誌, 第257號, 大正6年. 29) *Marxer*, Zeitschr. f. Imm., Bd. 8, S. 194, 1911. 30) *Garbat u. Meyer*, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 8, S. 1, 1911. 31) *Liebermann u. Actl*, Deutsch. med. W., S. 965, 1915. 32) *Haku*, Arb. u. d. Med. Universität Okayama, Bd. 1, S. 246. 33) 桑名, 岡醫雜., 第498號, 昭和6年7月. 34) 田口, 京都醫學會雜誌, 第14卷, 大正6年. 35) *Widal et Sicard*, Ann. Past., T. 100, P. 33, 1897. 36) *Eisenberg u. Volk*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 155, 1902. 37) *Joos*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 762, 1903. 38) 紫山, 細菌學雜誌, 第85號, 明治35年. 39) *Scheller*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, S. 694, 1904. 40) *Porges*, ebd., Bd. 41, S. 466, 1906. 41) *Ders.*, Wien. kl. W., No. 23, S. 749, 1927. 42) *Shiga*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 41, S. 355, 1902. 43) *Neisser*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 1904. 44) *Jobling*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 53, S. 554, 1906. 45) *Hirschfeld*, Arch. f. Hyg., Bd. 60, S. 298, 1907. 46) 松井, 東京醫事新誌, 大正7年. 47) 守家, 日本微生物學會雜誌, 第15卷, 大正10年. 48) 渡邊, 細菌學雜誌, 第313號, 大正10年. 49) 古川, 日本微生物學會雜誌, 第15卷, 大正10年. 50) 杉田, 細菌學雜誌, 大正11年. 51) 山口, 千葉醫專校雜誌, 第147號, 大正11年. 52) 河野, 滿洲醫學雜誌, 第3卷, 大正14年. 53) 佐藤, 衛生學傳染病學雜誌, 第1920卷, 大正14年. 54) 中本, 衛生學傳染病學雜誌, 第20卷, 大正14年. 55) 中本, 醫事公論, 第647號, 大正13年. 56) 窪田, 衛生學傳染病學雜誌, 第23卷, 昭和2年. 57) 白次, 岡醫雜., 第468號, 昭和4年.