

78.

612.017.12

蛋白質沈降素血清效價ノ一測定法ニ就テ

岡山醫科大學衛生學教室（主任緒方教授）

安原節太郎

[昭和10年5月6日受稿]

*Aus dem Hygienischen Institut der Okayama Medicinischen Fakultät
(Vorstand; Prof. Dr. M. Ogata).*

Über eine Wertbestimmungsmethode der Antieiwissera.

Von

Setutaro Yasuhara.

Eingegangen am 6. Mai 1935.

Zur Wertbestimmung der Antieiwissera schlägt Verfasser eine neue Agglutinationsmethode vor, um die Mischprobe von Präzipitin möglichst zu vereinfachen, und vergleicht den Titer nach dieser Methode mit dem nach der Verdünnungsmethode der Ringprobe. Weiter untersuchte er dann die Gruppenreaktion und die Haltbarkeit des Antigen für diese Methode.

Als Agglutinogen benützte er in Kaolin absorbierte Antigene, welche in absteigend verdünntem Antiserum in folgender Weise gemischt werden.

0.3g Kaolin wird zu 1cc mit physiologischer Kochsalzlösung 1:10 verdünntem Rinderserum zugesetzt und bei

37°C im Brutofen 2 Stunden lang digeriert. Der Abguss wird durch Zentrifuge beseitigt. Darauf wird dieses Kaolin gut getrocknet und durch Physiologische Kochsalzlösung in absteigender Weise verdünnt. Diese verschiedenen Kaolinantigene werden mit verdünnten Antisera gemischt und 2 Stunden lang bei 37°C digeriert. Die Agglutinationsreaktion wird nach 24 Stunden Zimmertemperatur bestimmt.

1) Der Titer des Antirinderserums nach der Agglutinationsmethode entspricht ungefähr dem halben Präzipitintiter nach der Verdünnungsmethode und ist gleich dem nach der Mischungsmethode.

Tabelle A.

Antigen Verdünnung		Immuneserumverdünnung						
		1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000
1:25	1	+	+	-	-	-	-	-
	2	+++	+++	-	-	-	-	-
	3	+	±	-	-	-	-	-
1:50	1	+	+	+	-	-	-	-
	2	+++	+++	++	-	-	-	-
	3	+	+	+	-	-	-	-
1:100	1	+	+	+	+	-	-	-
	2	+++	+++	+++	++	-	-	-
	3	+	+	+	±	-	-	-
1:250	1	+	+	+	+	+	-	-
	2	+++	+++	+++	+++	++	+	-
	3	+	+	+	+	+	-	-
1:500	1	+	+	+	+	-	-	-
	2	+++	+++	+++	++	+	±	-
	3	+	+	+	+	-	-	-
1:1000	1	+	±	-	-	-	-	-
	2	+++	++	+	-	-	-	-
	3	+	±	-	-	-	-	-

- 1) Agglutination bei in Kaolin adsorbiertem Rinderserum.
- 2) Ringprobe nach der Verdünnungsmethode.
- 3) Mischprobe.

2) Bei Antirinderserum ist der Verwandtschaftsgrad nach der Agglutinationsmethode gleich der nach der Verdünnungsmethode.

3) Als Agglutinogen kann man dieses dem Rinderserum zugesetzte Kaolin über 1 Jahr gebrauchen. (Autoreferat.)

目次

第1章 緒言並ニ文献

第2章 實驗材料及ビ實驗方法

第1節 免疫及ビ實驗材料

第2節 稀釋沈降反應

第3節 混合法

第4節 凝集原ノ製法

第5節 余ノ發案セル凝集反應検査法

第3章 實驗

第1節 抗原附加「カオリン」ヲ凝集原トセル凝集反應

第2節 蛋白性沈降素血清ノ凝集反應、稀釋沈降反應、混合法ニヨル效價比較

第3節 抗牛血清家兔免疫血清ノ凝集反應ニヨ

ル類屬反應ト、沈降反應ニヨル類屬反應トノ比較

第4節 抗原附加「カオリン」ノ被凝集性持續期間ニ就テ

第4章 總括並ニ結論

主要文獻

第1章 緒言並ニ文獻

從來、細菌ヲ抗原トセル免疫血清ノ效價測定ニ際シテハ、凝集反應、沈降反應、補體結合反應、若シクハ溶菌反應等應用セラルト雖モ、諸種動物ノ血清、牛乳、卵白、臟器蛋白、其ノ他ノ蛋白質ヲ動物ニ注射シテ得タル蛋白性沈降素血清ノ效價測定ニ當リテハ、抗原ガ液體ナル關係上、凝集反應ハ全ク顧ラズ、主トシテ沈降反應若シクハ補體結合反應應用セラレツツアリ。

今血清學的諸検査法ニ就テ、文獻ニ徴スルニ、凝集反應ニ關シテハ、最初 Metschnikoff^{1,2)}ハ vibrio Metschnikowiニ就キ、Issaef^{1,2)}ハ vibrio Ivanoff及ビ肺炎球菌ニ就キ、Bordet^{1,2)}ハ「コレラ」菌ニ就テ檢シ、之等ノ細菌ヲ夫々特異性ノ當該免疫血清中ニ移植スル時ハ、1種特有ノ發育狀態ヲ呈シ、細菌ハ相互ニ相集合シテ、管壁ニ、又ハ管底ニ沈着シ、免疫血清ノ上液ハ透明トナルコトニ着眼セリ。次デ R. Pfeiffer^{1,2)}モ「コレラ」菌研究ニ際シ、「コレラ」免疫血清中ニ於テ、「コレラ」菌ハ次第ニ運動性ヲ失ヒ、相互ニ集合シテ肉眼的ニモ見得ル菌ノ集團ヲ形成スルニ注目セリ。

1896年 Gruber u. Durham³⁾ハ 斯ル現象ヲ血清學上ノ一新反應ナリト認メ、其ノ機轉ヲ攻究シ、該反應ノ特異性ヲ明カニシテ“Agglutination”,ト名ケタリ。而シテ同年 Widal⁴⁾ハ初メテ臨牀上ニ此反應ヲ應用スルノ途ヲ開キ、爾來急性傳染病ノ診斷ニ盛ニ利用セラルルニ至レリ。

1897年 R. Kraus⁵⁾ハ「ベスト」菌、「コレラ」菌等ノ「ブイヨン」培養ノ透明濾液ト、該當セル免疫血清トヲ混合スル時ハ濁濁ヲ生ジ、遂ニ沈降スルヲ認メ、茲ニ初メテ細菌性沈降素ヲ發見シ、此反應ヲ Präzipitin-Reaktionト稱セリ。次デ 1899年 Bordet⁶⁾ハ脱纖維セル雞血液ヲ以テ、家兔ヲ免疫シテ沈降素ノ發現ヲ認メ、蛋白性沈降素ト名ケタリ。其ノ後 65°Cニ加温セル乳汁ヲ家兔腹腔内ニ注射シテ Antimilch-Serumヲ得、牛乳ヲ以テセル家兔免疫血清ハ牛「カゼイン」ノミニ對シ、人乳ヲ以テセル家兔免疫血清ハ人乳「カゼイン」ノミニ對シテ、沈降反應ヲ呈スルヲ認メ、特異性沈降素ノ存在ヲ確メタリ。

同年 Tsistowitsch⁷⁾ハ鰻血清ヲ以テ家兔ヲ免疫シ、其ノ免疫血清ハ鰻血清ニ對シテノミ沈降反應ヲ生ズルコトヲ實驗セリ。

細菌性沈降反應ヲ疾病鑑別ニ實地ニ應用セルハ Wladimiroff⁸⁾ニシテ、氏ハ馬鼻疽病馬ノ血清ニ馬鼻疽菌ノ培養ヨリ得タル透明濾液ヲ加フル時ハ特異性沈降反應ノ起ルコトヲ報告セリ。然レドモ其ノ検査術式ハ凝集反應ニ比シ、遙カニ複雑ニシテ、成績結果モ亦正確ナリト云フニ非ラザリシヲ以テ、其ノ後疾病診斷ニ應用セラルルコト比較的尠カリキ。爾後多數ノ學者ニ依リテ行ハレタル研究業績ニ依リ、動物性及ビ植物性蛋白質ハ何レモ沈降原トナリ得ルモノナルコト立證セラレタリ。

1901年 Uhlenhuth⁹⁾ハ此沈降反應ヲ應用シテ實地醫學上極メテ必要ナル人及ビ動物ノ血液若シクハ分泌液ヲ鑑定シ得ルコトヲ證明シ、爾來法醫學的血痕鑑別上至大ノ便益ヲ與ヘ廣ク應用セラルルニ至レリ。次デ Nuttallハ本反應ヲ利用シテ多數動物相互ノ血緣遠近關係ヲ研究シテ、動物系統上有力ナル證左ヲ與ヘ、Magnusハ諸種麥類ノ鑑別ヲ行ヘリ。

轉近血清學ノ進歩ト共ニ沈降反應術式モ改善セ

ラレ、殊ニ我ガ國ニ於テハ緒方教授⁹⁾ノ免疫體稀釋沈降反應、佐藤教授¹⁰⁾ノ沈降素量ニ關スル研究等ノ發表アリテ、新シキ見方ヲ益々攻究セラルルニ至レリ。

溶菌素ニ關シテハ、1886年 Nuttall¹¹⁾ハ眼内液又ハ凝固セル血清中ニ於テ起ル脾臟直菌ノ形態學上ノ變化ヲ認め、且此殺菌性ハ血清ヲ56°Cニ加熱スル時、破壊セラルルモノナルコトヲ明カニセリ。Buchner¹²⁾ハ血球ヲ含マザル新鮮血清ハ強キ殺菌力ヲ有シ、Metschnikoffノ假定セルガ如キ血球ノ作用ハ全ク之ニ與ラズトシ、血清中ノ殺菌性物質ヲ“Alexine”ト名ケ、自然免疫性本態ナリトセリ。

然レドモ Pfeiffer¹³⁾、Moxter、Ehrlich 等ノ研究ニ依リ、最初 Buchnerノ考ヘシ如ク單純ナル物質ニ非ズ、正常血清ノ殺菌性モ、免疫血清ノ夫レモ共ニ、Amboceptor、Komplement 2 物質ノ菌ニ作用シテ成立スルモノナルコト明瞭トナレリ。

溶菌性免疫ノ學理ハ Pfeiffer 並ニ其ノ門下ノ「コレラ」菌免疫ニ關スル研究ニ依リテ、更ニ完結ノ域ニ進ミ、溶菌素血清測定法トシテ動物試驗ニ依ル所謂 Pfeiffer'sche Phänomen 用ヒラレ、且又菌ノ鑑別ニモ應用セラルルニ至レリ。

試験管内溶菌試驗トシテ、Neisser u. Wechsberg 兩氏ノ法アリ。然レドモ之等ノ測定法ハ種々ノ事情ニ依リ一定ノ結果ヲ得ルニ困難ナシトセズ、從ツテ細菌ヲ抗原トスル免疫血清ノ效價測定ニ際シテハ從來主トシテ凝集反應ヲ以テセリ。

1901年、Bordet et Gengou¹⁴⁾ハ今日ノ所謂補體結合反應ヲ案出發表セリ。其ノ翌年 Gengou¹⁵⁾ハ異種蛋白質ヲ以テ免疫スル時ハ既ニ知ラレタル沈降素以外ニ雙攝體ヲ產生シ、該當セル溶性蛋白質ハ之ヲ仲介トシテ、補體ト結合スルコトヲ明確ニ報ゼリ。

1905年、Moreschi¹⁶⁾及ビ Gay¹⁷⁾ハ全ク獨立シテ補體結合反應ヲ呈スル抗原、抗血清ノ組合セニハ沈降子ヲ生ジ、此沈降子ガ補體ヲ採ルコトヲ指摘セリ。其ノ後數年間此問題ハ華々シク論議セラレ、幾多ノ業績殘サレタルガ、1911年 Dean¹⁸⁾ノ業績發表サレテ以來既ニ論争シ盡サレタル觀アリ。

此補體結合反應ヲ應用セル試驗ニ2種アリ。1ハ細菌ニ屬スルモノニシテ Wassermann¹⁹⁾ハ菌浸出液ニテモ補體ト雙攝體ト結合スルコト、及ビ菌ヲ多ク含有スル組織ノ浸出液ニテモ良ク反應スルモノナルコトヲモ證明シ、微毒診斷ノ目的ニ用ユ可キヲ發見シテ所謂 Wassermann'sche Reaktion トシテ普ク實用セラレツツアリ。其ノ2ハ蛋白質ノ鑑別ニシテ Neisser u. Sachsハ沈降反應ノ起ラザル血清ニテモ補體結合反應ノ起ルモノアリテ一層鋭敏ナリト主張セリ。從ツテ微量蛋白ノ證明ニ沈降反應ト同様實地的應用大ニ擴大セラレタリ。

余^{20) 21)}ハ糞ニ非抗原物質ニヨル抗體ノ吸收並ニ分離ニ關スル研究中、抗原附加吸着劑ハ該當免疫血清ニ對シテ、被凝集性アルヲ發見シ、蛋白性沈降素血清效價ヲ凝集反應ヲ以テ測定スル一方法ヲ案出シ、本凝集反應ニヨル凝集價ト稀釋沈降反應及ビ混合法ニ依ル沈降素價ト比較シ、更ニ類屬反應ノ關係ヲ攻究スルト共ニ抗原附加吸着劑ノ被凝集性持續期間ヲモ追研シタルヲ以テ、茲ニ其ノ實驗成績ヲ報告セントスルモノナリ。

第2章 實驗材料及ビ實驗方法

第1節 免疫及ビ實驗材料

免疫動物トシテハ、體重2.000—2.500gノ健康ナル成熟家兔ヲ選ビ、抗原トシテハ新鮮ナル牛血

清ヲ使用シ、1回量0.5—1.0ccヲ3—4日ノ間隔ヲ置キテ數回乃至10數回耳靜脈ニ注射シ、最後ノ免疫ヨリ約7日目ニ頸動脈ヨリ全採血シテ清澄ナル血清ヲ得、石炭酸水ヲ加フルコトナク、氷室ニ保存シテ實驗ニ供セリ。

第2節 稀釋沈降反應

本法ハ1927年緒方教授⁹⁾ノ發表セラレタルモノニシテ、免疫血清ヲ1%海狸血清生理的食鹽水溶液、又ハ10%「アラビヤゴム」生理的食鹽水溶液ヲ以テ遞降的ニ稀釋シ、毛細試験管ニ毛細「ピベット」ヲ以テ配分シ置キ、此上ニ沈降原ヲ生理的食鹽水ニテ遞降的ニ稀釋セルモノヲ、毛細「ピベット」ヲ以テ層疊シ、室溫ニ放置スルコト2時間ニシテ兩層間ニ生ズル輪狀白濁ヲ檢スル時ハ、沈降原ノ或ル一定稀釋度ニ於テ免疫血清ノ最も良ク反應スルヲ見ル。此部ニ於ケル沈降素血清ノ最高稀釋度ヲ沈降素價ト定ムル方法ナリ。本反應ヲ檢スルニ際シ、15分、30分、1時間、2時間ノ4回ニ觀察シ、其ノ陽性ナルモノヲ各々「卅」、「卅」、「卅」、「卅」、2時間後陰性ナルモノヲ「—」ノ記號ヲ以テ表示セリ。

余ハ本研究ニ際シ、從來慣用セラレツツアル Uhlenhuth 氏原法ハ使用セザリキ。

第3節 混合法

免疫血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ遞降的ニ稀釋シ、其ノ0.5cc宛凝集反應試験管内ニ配分シ、次デ沈降原ヲ生理的食鹽水ニテ遞降的ニ稀釋セルモノ0.5cc宛ヲ追加シ、良ク振盪混和シテ室溫ニ放置スル時ハ絮狀沈澱物ヲ生ズ。而シテ稀釋沈降反應ノ場合ト同様、沈降原ノ一定稀釋度ニ於テ最も良ク反應ス。此部ニ於ケル免疫血清ノ最高稀釋度ヲ本法ノ沈降素價ト定ムルモノトス。本反應ヲ檢スルニ當リ、余ハ室溫放置後24時間ニシテ觀察スルコトトシ、絮狀沈澱物ヲ生ゼシモノヲ陽性ト

シ「+」、然ラザルモノヲ「—」其ノ中間ノモノヲ「±」ノ記號ヲ以テ表示シタリ。

第4節 凝集原ノ製法

新鮮ナル牛血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ10倍稀釋ヲ行ヒ、其ノ1ccニ對シ吸着劑タル「カオリン」0.3gノ比ニ加ヘテ、抗原ヲ充分附加セシメタル後(2時間ニテ可ナリ)遠心沈澱シテ血清ヲ除去シ、沈渣ヲ硝子皿中ニ移シ、迅速血清乾燥器中ニ置キテ電扇ノ力ヲ藉リテ可及的速カニ乾燥セシム。斯クシテ殆ド乾燥シタルモノヲ硝子皿ノ儘、鹽化石灰ヲ以テセル乾燥器中ニ移シテ減壓ノ下ニ密閉シ置キ、5—7日後、充分乾燥シタルモノヲ清淨ナル乳鉢ニテ充分研磨シテ微細ナル粉末トナシ、乾燥器中ニ貯ヘ置キ、用ニ臨ミ、凝集原トシテ使用セリ。

第5節 余ノ發案セル凝集反應検査法

前節記載ノ方法ニヨリ製シタル抗原附加「カオリン」1gニ10ccノ生理的食鹽水ヲ加ヘテ10倍稀釋「カオリン」浮游液ヲ製シ、更ニ之ヲ遞降的ニ稀釋シテ凝集原ヲ準備ス。

次デ稀釋沈降反應検査法式ニ測リ、免疫血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ遞降的ニ稀釋シ、各稀釋液1cc宛ヲ凝集反應試験管ニ配分シ、其ノ中ニ凝集原4滴宛滴下シ(滴下用毛細管「ピベット」ハ全實驗ヲ通シ同一物ヲ使用セリ)37°C孵卵器中ニ2時間置キ、爾後室溫ニ放置シテ翌朝肉眼ヲ以テ檢シ、良ク對照試験管ト比較シツツ成績ヲ判定ス。然ル時ハ凝集原ノ一定稀釋度ニ於テ免疫血清ニ對シ最も良ク反應スル所アルベシ。此免疫血清ト最も良ク反應スル凝集原稀釋度ヲ結合帶(Bindungszone)ト稱シ、結合帶ニ於ケル免疫血清ノ最高稀釋度ヲ結合帶價(Zonetiter)ト稱シ、之ヲ

免疫血清ノ凝集價ト定ムルモノトス本反應ヲ檢スルニ際シ、輕ク振盪シテ明カニ凝集ヲ認ムルモノヲ「+」、然ラザルモノヲ「-」、其ノ中間ニシテ何レトモ判定シ難キモノヲ「±」ノ記號ヲ以テ表示セリ。

余ハ成績判定ニ際シ Agglutinoskop ノ使用ヲ試ミタルガ、對照ニアリテモ相當顆粒存在セルタメ擴大シテ觀察スル時ハ却ツテ誤レル判斷ヲ誘起スルガ如ク思惟セルヲ以テ、肉眼ニテ觀察スルコトトナシタリ。

第3章 實驗

第1節 抗原附加「カオリン」ヲ

凝集原トセル凝集反應

第2章第4節ニ記載ノ方法ニヨリ、製シタル牛血清附加「カオリン」粉末1gニ生理的食

鹽水10gヲ加ヘテ10倍稀釋浮游液ヲ製シ、更ニ之ヲ遞降的ニ稀釋シテ25-, 50-, 100-, 250-, 500-, 1,000-, 2,500倍稀釋「カオリン」浮游液ヲ製シテ凝集原トナス。

次デ抗牛血清家兔免疫血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ、10-, 25-, 50-, 100-, 250-, 500-, 1000倍ト遞降的稀釋ヲ行ヒ、各稀釋液1cc宛ヲ所要數ノ凝集反應試驗管ニ配分シ、又生理的食鹽水1ccヲ盛レル對照試驗管ヲ準備シテ、其ノ中ヘ凝集原浮游液4滴宛ヲ一定ノ毛細管「ピペット」ヲ用キテ滴下シ、-37°C 孵卵器中ニ入レ置クコト2時間、爾後室溫ニ放置シ、翌朝肉眼ヲ以テ對照ト良ク比較シツツ檢セリ。尙ホ「カオリン」夫レ自己ガ生理的食鹽水中ニ於テ凝集スルコトナキヤヲ檢セリ。其ノ成績ハ第1表ニ示スガ如シ。

第1表 抗牛血清家兔免疫血清ノ抗原附加「カオリン」ヲ凝集原トセル凝集反應

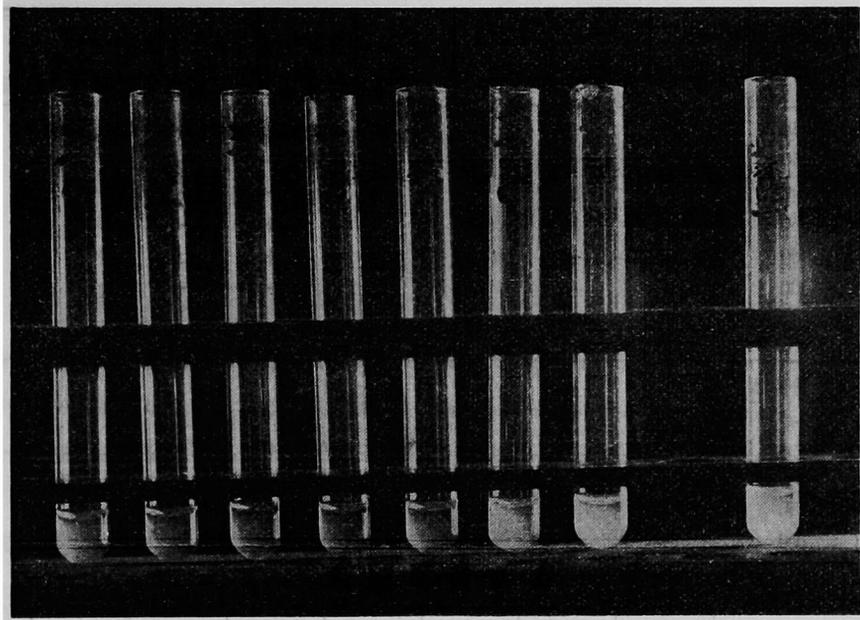
凝集原稀釋度 \ 免疫血清稀釋度	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	對照
1:25	+	+	-	-	-	-	-	-
1:50	+	+	+	-	-	-	-	-
1:100	+	+	+	+	-	-	-	-
1:250	+	+	+	+	+	-	-	-
1:500	+	+	+	+	-	-	-	-
1:1000	+	±	-	-	-	-	-	-
1:2500	-	-	-	-	-	-	-	-

上表ニ示セル如ク、牛血清附加「カオリン」ハ抗牛血清家兔免疫血清ニヨリ、被凝集性アルヲ認メ、凝集原ノ250倍稀釋液ニ於テ、免疫血清ニ對シ最モ良ク反應スルヲ見ル。是即チ結合帶ニシテ此結合帶ニ於ケル免疫血清ノ最高稀釋度ハ250倍ナリ。是即チ結合帶價ナリ。茲ニ於テ本蛋白性沈降素血清ノ凝集價ハ

1:250ト決定ス。

今結合帶ニ於ケル凝集反應狀態ヲ撮影セル寫眞ヲ第1圖ニ示サン。免疫血清250倍稀釋迄ハ凝集反應陽性、500-乃至1000倍稀釋迄ハ陰性ニシテ對照試驗管ト差異ナク陰性、陽性ノ區別判然タルヲ窺知セラルベシ。

第 1 圖 結合帶ニ於ケル凝集反應



第 2 節 蛋白性沈降素血清ノ凝集反應，稀釋沈降反應，混合法ニヨル效價比較

余ハ前節ニ於テ，抗原附加「カオリン」粉末ハ當該免疫血清ニヨリ被凝集性アリテ凝集反應ノ成立スルコトヲ證明シ，稀釋沈降反應ト同様結合帶ヲ生ジ，此結合帶ニ於ケル免疫血清ノ最高稀釋度ヲ結合帶ト稱シ，其ノ免疫血清ノ凝集價ト決定スベキヲ述ベタリ。

斯クシテ求メタル凝集價ハ沈降反應ノ稀釋法及ビ混合法ニヨリタル沈降素價ト比較シテ如何ナル關係ニアルモノナリヤヲ探究セント企圖シ，稀釋沈降反應ニヨリ結合帶 1:250，結合帶價 1:500，結合帶 1:1000，結合帶價 1:1000 ヲ示ス 2 種ノ抗牛血清家兔免疫血清ニ就キ，凝集反應，稀釋法，混合法ヲ行ヒ，各效價ヲ比較シタルニ第 2 表 (A) 及ビ (B) ニ示スガ如キ實驗成績ヲ得タリ。

第 2 表 (A) 抗牛血清家兔免疫血清ノ凝集反應稀釋沈降反應竝ニ混合法ニヨル效價比較

凝 集 反 應

抗體稀釋度 抗原稀釋度	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	對 照
1:25	+	+	-	-	-	-	-	-
1:50	+	+	+	-	-	-	-	-
1:100	+	+	+	+	-	-	-	-
1:250	+	+	+	+	+	-	-	-
1:500	+	+	+	+	-	-	-	-
1:1000	+	±	-	-	-	-	-	-

對 照 (稀釋沈降反應)

抗體稀釋度 抗原稀釋度	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000
1:25	卅	卅	—	—	—	—	—
1:50	卅	卅	卄	—	—	—	—
1:100	卅	卅	卅	卄	—	—	—
1:250	卅	卅	卅	卅	卄	+	—
1:500	卅	卄	卅	卄	卄	±	—
1:1000	卅	卄	+	—	—	—	—

對 照 (混 合 法)

抗體稀釋度 抗原稀釋度	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000
1:25	+	±	—	—	—	—	—
1:50	+	+	+	—	—	—	—
1:100	+	+	+	±	—	—	—
1:250	+	+	+	+	+	—	—
1:500	+	+	+	+	—	—	—
1:1000	+	±	—	—	—	—	—

第 2 表 (B) 抗牛血清家兔免疫血清ノ凝集反應稀釋沈降反應並ニ
混合法ニヨル效價比較
凝 集 反 應

抗體稀釋度 抗原稀釋度	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	對照
1:50	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1:100	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1:250	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
1:500	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
1:1000	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
1:2500	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

對 照 (稀釋沈降反應)

抗體稀釋度 抗原稀釋度	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000
1:50	卅	卅	卄	+	—	—	—	—	—	—
1:100	卅	卅	卄	卄	卄	卄	—	—	—	—
1:250	卅	卄	卄	卄	卄	卄	+	—	—	—
1:500	卅	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	—	—
1:1000	卅	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	—
1:2500	卅	卄	卄	+	—	—	—	—	—	—

對 照 (混 合)

抗體稀釋度 抗原稀釋度	抗體稀釋度											
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000		
1 : 50	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
1 : 100	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	
1 : 250	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
1 : 500	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
1 : 1000	+	+	+	+	+	+	+	±	+	-	-	
1 : 2500	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

上表(A)ヲ觀ルニ、稀釋法結合帶 1:250, 結合帶價 1:500 ナル 抗牛血清 家兔 免疫血清ハ混合法ニ依レバ結合帶 1:250, 結合帶價 1:250 トナリ、凝集反應ニヨレバ結合帶 1:250, 結合帶價 1:250 トナレリ。又抗體ノ稀釋方法ヲ異ニセル第 2 表(B)ヲ觀ルニ、稀釋法結合帶 1:1000, 結合帶價 1:1000 ナ示ス免疫血清ハ混合法ニアリテハ結合帶 1:1000, 結合帶價 1:400(1:800 ±), 凝集反應ニ依レバ結合帶 1:500, 結合帶價 1:400 ナ示セリ。

結合帶ニ就テ觀察スルニ、稀釋法ト混合法トハ常ニ同一結合帶ヲ示スモ、凝集反應ニ於ケル結合帶ハ前 2 反應ノ夫レト必ズシモ一致スルモノニ非ズ。聊モ稀釋法及ビ混合法ニ於ケル抗原稀釋方法ト凝集原稀釋方法トハ全然其ノ趣ヲ異ニセルヲ以テ當然ナリト謂フベシ。

凝集反應ニ於ケル結合帶價即チ凝集價ハ稀釋法ニヨル沈降素價ヨリ低ク約 1/2 ニ示シ、混合法ニヨル沈降素價ト略ボ一致スルヲ認メタリ。

第 3 節 抗牛血清家兔免疫血清ノ凝集反應ニヨル類屬反應ト沈降反應ニヨル類屬反應トノ比較

蛋白性沈降素血清ニ就テ、余ノ案出セル凝集反應ニヨル類屬反應ト、沈降反應ニヨル類屬反應トノ關係ヲ比較考察セントシ、稀釋沈降反應ニヨリ結合帶 1:1000, 結合帶價 1:1000 ナ示ス 抗牛血清家兔免疫血清ヲ使用シ、第 2 章第 4 節記載ノ方法ニ則リ牛、山羊、馬、豚、雞ノ各血清附加「カオリン」ヲ製シ、之等ヲ凝集原トシテ類屬反應ヲ檢シ、對照トシテ新鮮

第 3 表 抗牛血清家兔免疫血清ノ凝集反應ニヨル類屬反應ト稀釋沈降反應ニヨル類屬反應トノ比較
凝 集 反 應

抗原種別	抗體稀釋度									反應率
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500		
牛 血 清	+	+	+	+	+	+	-	-	100 %	
山 羊 〃	+	+	+	+	+	-	-	-	50 %	
馬 〃	+	+	-	-	-	-	-	-	5 %	
豚 〃	+	-	-	-	-	-	-	-	2 %	
雞 〃	-	-	-	-	-	-	-	-	0 %	

稀釋沈降反應

抗原種別	抗體稀釋度									反應率
	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500		
牛 血 清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	100 %
山 羊 〃	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	50 %
馬 〃	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	5 %
豚 〃	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	2.5 %
雞 〃	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0 %

ナル牛,山羊,馬,豚,雞ノ各血清ヲ抗原トシテ稀釋沈降反應ニヨル類屬反應關係ヲ檢シ,兩者ヲ比較スルニ第3表ニ示スガ如キ成績ヲ得タリ.

上表ニ於テ明カナル如ク,牛血清凝集原ニ對シ,1:500(反應率ヲ100%トス)ノ凝集價ヲ示ス抗牛血清家兔免疫血清ハ,山羊血清凝集原ニ對シ,1:250,(反應率50%),馬血清凝集原ニ對シテハ1:50(反應率10%),豚血清凝集原ニ對シテハ1:25(反應率5%)ノ凝集價ヲ示シ,雞血清凝集原ニ對シテハ全ク

反應ヲ呈サザリキ(反應率0%).而シテ此關係ハ對照タル稀釋沈降反應ニヨル反應率ト全ク並行的關係ニアルヲ認メタリ.

以上ノ成績結果ニ依リ,余ノ發案セル凝集反應モ沈降反應ト同様蛋白特異性ノ研究ニ對シテモ應用シ得ベキコトヲ認メントスルモノナリ.

第4節 抗原附加「カオリン」被

凝集性持續期間ニ就テ

溶性蛋白抗原ヲ以テ免疫シ,得タル免疫血清效價ヲ,凝集反應ヲ應用シテ測定シ,實驗

第4表 抗原附加「カオリン」ノ被凝集性持續期間

凝集反應 對照(稀釋沈降反應)

検査日	抗體稀釋度										抗體稀釋度									
	結合帶		10	25	50	100	250	500	1000	2500	結合帶		10	25	50	100	250	500	1000	2500
7.7.24	1:500		+	+	+	+	+	+	+	+	1:1000		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
8.28	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
9.30	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
10.9	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
11.20	1:250		+	+	+	+	+	+	+	+	1:250		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
12.29	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
8.1.22	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
2.19	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
3.19	1:500		+	+	+	+	+	+	+	+	1:500		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
4.16	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
5.29	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
6.25	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
7.30	〃		+	+	+	+	+	+	+	+	〃		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

セントスルニ際シ、抗原附加吸着劑ノ被凝集性持續期間ノ長短ハ便利ヲ得ル點ニ於テ至大ノ關係ヲ有ス。茲ニ於テ余ハ第2章第4節ニ記載セル方法ニヨリ製シタル抗原附加「カオリン」ヲ鹽化石灰ヲ以テセル乾燥器中ニ保存シテ其ノ凝集性ガ幾何ノ持續期間ヲ有スルヤヲ追究セントシタリ。

昭和7年7月20日製シタル牛血清附加「カオリン」ニ就キ、爾後毎月1回宛檢スルコトトシ、抗牛血清家兔免疫血清ハ3—4箇月毎ニ新鮮ナルモノヲ使用シ、對照トシテ檢査ノ都度新鮮ナル牛血清ヲ以テ稀釋沈降反應ヲ併セ行ヒ、之ト比較シツツ1箇年間實驗ヲ繼續シタリ。其ノ成績ハ第4表ニ示スガ如シ。

上表ニ示セル如ク、抗原附加「カオリン」ノ被凝集性ハ滿1箇年ヲ經過スルモ全々低下スルコトナキヲ確メタリ。

斯クノ如ク被凝集性即チ凝集原價ハ1箇年間ハ確實ニ持續スルヲ以テ、本凝集反應ヲ應用シテ實驗スルニ際シ、其ノ途上ニ於テ屢々抗原ヲ求ムル必要ナク、且又抗原性ノ一定セルモノヲ使用シ得ル利點アルヲ覺ユルモノナリ。

第4章 總括並ニ結論

余ハ蛋白性沈降素血清効價ノ測定ニ際シ、從來試ミラレザリシ凝集反應ヲ以テスルー測定法ヲ案出シ、之ニ依ル凝集價ト稀釋沈降反應及ビ混合法ニヨル沈降素價トヲ比較考察シ、次デ類屬反應ノ關係ヲ攻究スルト共ニ凝集原被凝集性持續期間ヲ追究シタルヲ以テ、其ノ成績ヲ茲ニ總括シテ結論トス。

- 1) 牛血清ノ10倍稀釋生理的食鹽水1cc

ニ對シ、吸着劑タル「カオリン」0.3gノ比ニ加ヘテ、37°Cニ2時間置キタル後、乾燥粉末トナシタル抗原附加「カオリン」ハ、當該免疫血清ニ對シ被凝集性ヲ有ス。

- 2) 抗牛血清家兔免疫血清ハ抗原附加「カオリン」ヲ凝集原トシテ凝集反應ニヨリ、其ノ効價ヲ測定スルコトヲ得。

- 3) 牛血清家兔免疫血清ノ凝集價ハ、稀釋沈降反應ニヨル沈降素價ノ約 $\frac{1}{2}$ ニシテ、混合法ニヨル沈降素價ト略ボー一致ス。

- 4) 抗牛血清家兔免疫血清ノ凝集反應ニヨル類屬反應ト、稀釋沈降反應ニヨル類屬反應トハ全ク一致ス。

- 5) 牛血清附加「カオリン」ノ被凝集性ハ1箇年ヲ經過スルモ低下スルコトナシ。

- 6) 蛋白性沈降素血清効價ヲ凝集反應ニヨリテ測定セバ、實驗途上ニ於テ屢々新鮮ナル抗原ヲ求ムル必要ナク、且抗原性ノ一定セルモノヲ使用シ得ル利點アリ。

擱筆ニ當リ、終始御懇篤ナル御指導ト御校閲ヲ辱フセシ緒方教授ニ衷心感謝ノ意ヲ表シ、併セテ種々御援助ヲ賜リタル大田原助教授ニ謝意ヲ表ス。

主要文獻

- 1) *E. Friedberger u. R. Pfeiffer*, Lehrbuch der Mikrobiologie, Bd. 1, (Allgemeiner Teil), S. 176, 1919.
- 2) 竹内, 細菌學及免疫學, 前編, 287頁, 大正14年.
- 3) *Gruber u. Durham*, Münch. med. Wochenschr., 1896.
- 4) *Widal*, Soc. med. de hop., 1896.
- 5) *R. Kraus*, Wien. Kl. Wochenschr., 32, 1897.
- 6) *Bordet*, Ann. de l'inst. Pasteur, 1899.
- 7) *Tsistowüsch*, Ebenda,

1899. 8) *Uhlenhuth*, Deutsche med. Wochenschr., 1901. 9) 緒方, 第1回衛生學微生物學寄生蟲病學會聯合學會演說, 1927. 4月. 10) 佐藤, 社會醫學雜誌, 第517號, 127頁, 1930. 11) *Nuttall*, Zeitschr. f. Hyg., 1886. 12) *Buchner*, Zentralbl. f. Bakt., 1, 1889. 13) *Pfeiffer*, Zeitschr. f. Hyg., 18, 1894. 14) *Bordet, T. et Gengou, O.*, Ann. de l'inst. Pasteur, T. 15, 1901. 15) *Gengou, O.*, Ann. de l'inst. Pasteur, T. 16, P. 734, 1902. 16) *Moreschi, C.*, Berl. Kl. Wochenschr., S. 1181, 1905. 17) *Gay, F. D.*, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 39, S. 603, 1905. 18) *Dean, H. R.*, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, S. 84, 1911. 19) 石原, 血清學, 184頁, 大正10年. 20) 安原, 岡醫雜, 第46年, 第7號, (第534號), 1533頁, 昭和9年7月. 21) 安原, 岡醫雜, 1607頁.

