

# 網状織内被細胞填塞物質ニヨル 免疫體產生ノ比較的研究

## 附. 沈降素測定法ノ比較ニ就テ

岡山醫科大學衛生學教室(主任緒方教授)

研究科學生 醫學士 佐々木 貞雄

### 目 次

第1章 緒言	第3節 免疫家兎ニ色素ヲ注射セル場合
第2章 實驗材料及ビ方法	第4章 總括及ビ考按
第1節 填塞並ニ免疫方法	第5章 結 論
第2節 凝集反應法	附篇 沈降素測定法ノ比較ニ就テ
第3節 沈降反應及ビ補體結合反應法	第1章 緒 言
第3章 實驗成績	第2章 實驗方法及ビ比較成績
第1節 馬鼻疽菌免疫ノ場合	第3章 結 論
第2節 大腸菌免疫ノ場合	文 獻

### 第1章 緒 言

網状織内被細胞ノ機能ハ各方面ヨリ研究セラレ、特ニ免疫體產生母地トシテモ亦、重大ナル意義アル事闡明トナレリ。即チ、網状織内被細胞ノ機能ヲ、墨汁等ノ填塞又ハ脾臟除去操作ニヨリ減力セシメ、以テ免疫體發生ノ阻止セラルルヲ觀察シ、免疫體ハ網状織内被細胞ニヨリ產生セラルル事ヲ證明セル學者多シ。

Gay & Clark<sup>1)</sup> ハ兎及ビ白鼠ニ就キ「トリパン」青ヲ填塞操作ヲ行ヒタル後、山羊血球ニテ免疫セルニ、山羊血球ニ對スル溶血素產生ハ、對照動物ニ於ケルヨリモ遙ニ阻害セラレタルヲ見、沈降素ニ就キテモ同様ノ阻止作用アルヲ報告セリ。大村<sup>2)</sup> 氏ハ家兎ヲ墨汁ニテ填塞シタル後、緬羊血球ニハ免疫セバ、溶血素產生ハ阻害セラレ、同様沈降素產生モ多少阻止セラルト報ゼリ。又、Jungeblut & Berlot<sup>3)</sup> モ海猿ヲ「インデアインク」ニテ填塞操作ヲ施シタル後、2日目ニ「デフテリ」毒素ニテ免疫セバ、抗毒素發生能力減ゼラ見タリ。Bieling & Isaack<sup>4) 5)</sup>、Bieling<sup>6)</sup> ハ豫メ脾臟ヲ除去シタル後、更ニ鐵糖ヲ以テ填塞セル白鼠ニ於テハ、山羊血球ニ對スル溶血素產生ハ殆ド阻止セラルト云ヒ、Neufeld & Meyer<sup>7)</sup> モ同様ノ操作ニヨリ肺炎菌ニ對スル免疫體ノ產生ヲ見ズト報告セリ。Sigmund<sup>8)</sup> モ脾除去後、「コラルゴール」、墨汁、「カルミン」等ニテ填塞セル後、免疫セル海猿ハ過敏症症狀ヲ起サズ、故ニ免疫體產生ナシト云ヒ、兎ニ就キテモ同様ナリト結論セリ。又、邦人小林<sup>9)</sup>、尼子<sup>10)</sup> ノ諸氏ハ脾除去ヲナシタル動物ヲ更ニ填塞セバ、免疫體產生ハ極度ニ抑制セラルト云ヘリ。故ニ脾臟除去セル動物ニ填塞操作ヲ合セ行ヘバ、網状織内被細胞ニヨル免疫體產生能力、多大ニ阻

害セラルル事明カナリ。

以上ノ成績ニ反シ、Rosenthal & Petzal<sup>11)</sup>ハ家兎ヲ墨汁、鐵糖ニテ數回填塞シ、同時ニ脾臟ヲ除去スルモ、凝集素、溶血素、沈降素等ノ免疫體產生能力ハ阻害セラレズ、反ツテ増加スト云ヒ、Standenath<sup>12)</sup>モ家兎ヲ唐墨汁ニテ填塞セバ、牛及ビ馬血清ニ對スル沈降素產生ハ對照ヨリ増加ス、故ニ墨汁ハ網狀織内被細胞ヲ刺戟スル作用ヲ有セリト結論セリ。即チ、以上ノRosenthal & Petzal 及ビ Standenath ノ墨汁填塞ノ成績ハ、多クノ學者ト全然相反スル結果ヲ示シタリ。然ルニ青木<sup>13)</sup>氏ノ研究ニヨリ、唐墨汁ハ刺戟作用ヲ有スル事釋明セラレタリ。即チ、唐墨汁填塞ニヨル沈降素產生ノ好影響ハ、唐墨汁中ニ含有セラルル「ゲラチン」ノ刺戟ニヨルモノナル事判明シ、「ゲラチン」ノミヲ以テ網狀織内被細胞ヲ刺戟セバ、沈降素盛ニ產生セラルルモ、同ジク唐墨汁ノ成分タル、油煙ノミヲ溶カシ填塞スル時ハ、從來一般成績ノ如ク沈降素產生阻止セラルル事ヲ見タリ。由是觀之填塞ノ際ニ用フル物質ノ如何ニヨリテ、或ハ免疫體產生抑制セラレ、或ハ促進セラルルナラン。

Jelin, Rosenblatt & Brinn<sup>14)</sup>ハ、家兎ヲ2群ニ分チ、第1群ハ之ヲ「ペリカン」墨汁ニテ填塞シ、第2群ハ之ヲ「トリバン」青ニテ填塞セリ。然ル後兩群一様ニ馬鼻疽菌ニテ免疫セルニ、第1群墨汁填塞ノ場合ニハ馬鼻疽菌ニ對スル凝集素、補體結合性抗體ノ產生共ニ抑制セラル。而シテ第2群「トリバン」青填塞ノ場合ハ同菌ニ對スル凝集素產生ハ墨汁填塞ノ場合ト同様抑制セラルルモ、補體結合性抗體產生ハ反ツテ促進セラレタル成績ヲ得タリ。即チ、同一馬鼻疽菌抗原ニ由來スル凝集素及ビ補體結合性抗體產生ガ、填塞色素ノ相異ニヨリ或ハ兩抗體共ニ抑制セラレ、或ハ凝集素產生ノミ抑制セラレ補體結合性抗體ノ產生ハ反ツテ促進セラル。甚ダ興味アル事實ト云フ可シ。

茲ニ於テ余ハ此 Jelin, Rosenblatt & Brinn ノ成績ヲ追試シ、以テ「トリバン」青填塞ニヨル凝集及ビ補體結合性抗體產生ノ狀態相違スルモノナルヤヲ確メン。抑モ、補體結合性抗體ノ結合價測定ノ際、一定ノ免疫血清濃度ニ對シ、抗原最高稀釋度ヲ以テ其結合價トナスハ正鵠ヲ缺ク、故ニ Jelin 氏等モ行ヘルガ如ク抗體最高稀釋度ヲ以テ補體結合性抗體ノ結合價トナスヲ至當トス。但シ、Jelin 氏等ノ如ク一定ノ抗原濃度ノミヲ基準トシテ補體結合價ヲ求ムル時ハ、結合價或ハ尙ホ不定ノ結果ヲ示スヤモ知レズ。故ニ抗原ヲ各種ノ濃度ニ稀釋シ、以テ其抗體最高稀釋度ヲ測定スルヲ可トス。余ハ Jelin, Rosenblatt & Brinn 氏等ノ實驗ニ倣ヒ、家兎ヲ2群ニ分チ、第1群ハ之ヲ「トリバン」青ニテ、第2群ハ之ヲ「ペリカン」墨汁ニテ填塞シ、後直チニ馬鼻疽菌ニテ免疫シ10日目ニ抗血清ヲ採血シ、夫々凝集素、補體結合性抗體ヲ以下述ブルガ如キ方法ニテ測定セリ。後者ノ測定ニ當リテハ特ニ抗原結合帶ニテ抗體結合價ヲ測定セリ。

## 第2章 實驗材料及ビ方法

### 第1節 填塞竝ニ免疫方法

實驗動物トシテ成熟家兎ヲ用ヒ、之ヲ2群ニ大別ス。第1群ニハ1%ノ「トリバン」青生理的食鹽水溶液

10 ccヲ各耳靜脈内ニ注射シ、3日間連續填塞シ、第2群ノ家兎ハ5%ノ「ペリカン」墨汁生理的食鹽水溶液10 ccヲ以テ同様ニ耳靜脈内ニ注射シ、3日間相繼テ填塞操作ヲ施セリ。別ニ馬鼻疽菌18時間寒天培養ノ生理的食鹽水浮游液ヲ60°C數時間殺菌シ置キ、最後ノ填塞注射ヨリ3時間目ニ兩群家兎ヲ一様ニ上記馬鼻疽菌浮游液又ハ同濾液ノ1—2 cc宛ヲ1回耳靜脈内ニ注射セリ。對照トシテ何等填塞操作ヲ施サザル家兎ニ馬鼻疽菌浮游液又ハ同濾液ノミヲ注射セリ。此最後ノ免疫注射ヨリ10日目ニ第1、第2群並ニ對照家兎ノ耳靜脈ヨリ採血、血清ヲ分離シ、56°C30分加温非働性トナシ、凝集素價、稀釋沈降素價、補體結合價ヲ夫々測定セリ。實驗第2ニ於テハ馬鼻疽菌ニ代フルニ大腸菌濾液ヲ以テ同様實驗ヲ行ヒタリ。

## 第2節 凝集反應法

凝集反應測定ノ際凝集原トシテ使用セル菌浮游液ハ馬鼻疽菌寒天斜面18時間培養ノモノ3白金耳ヲ採リ、生理的食鹽水10.0 cc中ニ極メテ平等ニ浮游セシメ、60°C2時間加温殺菌セルモノナリ。凝集反應ハ上記殺菌浮游液ヲ免疫血清稀釋液1.0 ccニ對シ4滴ヲ混シ37°Cノ孵卵器ニ2時間置キ、後冷所ニ放置シ翌朝Agglutinoskopヲ以テ觀察シ、凝集表價ヲ判定セリ。

## 第3節 沈降反應及ビ補體結合反應法

1) 馬鼻疽菌濾液ノ製法ハKolle氏壘ノ24時間寒天培養ニ20 ccノ蒸餾水ヲ注ギ、靜ニ震盪シ菌浮游液ヲ製シ、60°C1時間加熱殺菌セリ。次デ37°Cニ48時間放置後之ニ食鹽ヲ0.85%ノ割合ニ加ヘ、Berkefeld氏濾過器ニテ濾過シ、透明ナル馬鼻疽菌濾液ヲ得タリ。

2) 補體結合反應ヲ行フニ先キ立チテ毎回沈降素稀釋反應法(緒方氏法)ニヨリ其沈降素價ヲ測定シ、以テ補體結合價ト比較セントセリ。即チ、緒方氏稀釋沈降反應法ニヨル時ハ、其補體結合價ヲ豫知シ得レバナリ。緒方氏稀釋沈降反應法ヲ行フニハ先ヅ免疫血清ヲ10倍海狸血清生理的食鹽水溶液ヲ以テ漸次稀釋シ、之ニ對スル沈降原モ生理的食鹽水ヲ以テ順次稀釋シ、稀釋免疫血清上ニ重層ス。反應成績ハ重層後2時間目ニ觀察シ、沈降原結合帶ニ於ケル免疫血清ノ最高稀釋度ヲ其沈降素價トス。

3) 補體結合試驗ハ豫メ製セル抗山羊血球溶血性家兎血清ヲ其溶血價ノ2倍ニ溶キ、補體ハ試驗ノ都度新鮮海狸血清ヲ採取シ、補體價ヲ測定シ、常ニ其2倍價ヲ用ヒタリ。補體結合反應法ニヨリ抗體ノ結合價ヲ測定スルニハ、抗原並ニ抗體ヲ生理的食鹽水ニテ夫々遞減的ニ稀釋シ、各0.5 ccヲ試驗管内ニ分注ス。其稀釋遞減ノ度合ハ沈降素稀釋反應法ノ際得ラレシ度合ヲ標準トセリ。抗原及ビ抗體ニ加フルニ稀釋セル補體ヲ0.5 cc宛追加シ、37°C1時間孵卵器ニ置キ、更ニ前記血球浮游液ト溶血素ヲ加ヘ、充分混和ノ後再ビ37°Cニ2時間放置シ、後冷所ニ靜置シ、翌朝其成績ヲ判定セリ。對照トシテハ抗原又ハ免疫血清ノミガ補體ト結合スル事ナキヤ、補體ノミニシテ溶血作用ヲ起ス事ナキヤヲ檢查セリ。

## 第3章 實驗成績

### 第1節 馬鼻疽菌免疫ノ場合

家兎第1, 7, 4, 10號ニハ1%ノ「トリパン」青生理的食鹽水溶液10 ccヲ夫々耳靜脈内ニ注射シ、3日間連續填塞操作ヲ施シタル後、更ニ馬鼻疽菌濾液又ハ同菌浮游液ヲ最後ノ填塞注射ヨリ3時間目ニ注射セリ。之

ヨリ 10 日目ニ採取セル免疫血清ニ就キ、各々其凝集素價、稀釋沈降素價、補體結合價ヲ測定セリ。家兎第 2, 8, 5, 11 號ニハ 5% ノ「ベリカン」墨汁生理的食鹽水溶液 10.0 cc ヲ以テ 3 日間連續填塞操作ヲ施シタル後、「トリパン」青ノ場合ニ於ケルト同様、馬鼻疽菌濾液又ハ同菌浮游液ニテ免疫シ、之ヨリ 10 日目ニ採取セル免疫血清ニ就キ各々其凝集素價、稀釋沈降素價、補體結合價ヲ測定シ、以テ「トリパン」青填塞ノ場合ト比較セリ。更ニ家兎第 3, 9, 6, 12 號ハ全ク填塞操作ヲ施サズ、馬鼻疽菌濾液又ハ同菌浮游液ノミニテ免疫シ、10 日目ニ採取セル免疫血清ニ就キ各々其凝集素價、稀釋沈降素價、補體結合價ヲ測定シ、之等ノ價ヲ填塞ノ場合ニ得タル價ノ對照トセリ。

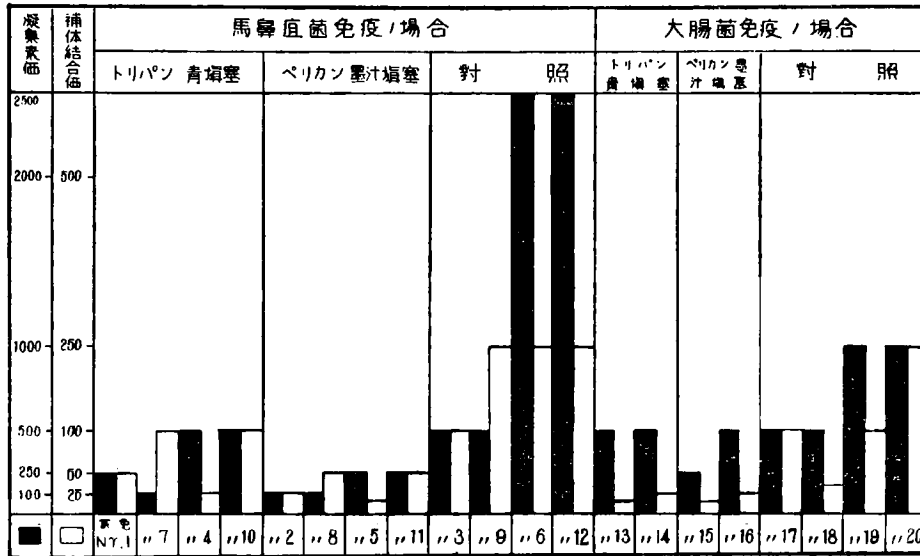
第 1 表 填塞家兎ヲ馬鼻疽菌ニテ免疫セル場合

家兎 番 號	體 重 g	填塞色素生理的 食鹽水溶液		馬鼻疽菌 抗原注射 量 cc	凝集素價		稀釋沈降素價				補體結合價			
		種 類	注射量		正 常	10日 目	正 常		10日 目		正 常		10日 目	
							結 合 帶	沈 降 價	結 合 帶	沈 降 價	結 合 帶	結 合 價	結 合 帶	結 合 價
1	2360	1% 「トリ パン」 青液	10cc3回	濾液 1.0	1:50	1:250	1:5	1:10	1:10	1:100	1:10	1:10	1:25	1:50
7	2100		〃	〃 2.0	1:25	1:100	1:10	1:10	1:10	1:100	1:25	1:10	1:25	1:100
4	1860		〃	浮游液 1.0	1:25	1:500	1:5	1:5	1:10	1:50	1:10	1:5	1:25	1:25
10	2230		〃	〃 2.0	1:25	1:500	1:5	1:10	1:5	1:100	1:10	1:10	1:25	1:100
2	2360	5% 「ベリ カン」 墨汁 液	10cc3回	濾液 1.0	1:10	1:100	1:5	1:10	1:10	1:50	1:25	1:10	1:10	1:25
6	2080		〃	〃 2.0	1:25	1:100	1:10	1:10	1:10	1:100	1:25	1:10	1:25	1:50
5	1860		〃	浮游液 1.0	1:10	1:250	1:5	1:5	1:5	1:25	1:10	1:5	1:10	1:10
11	2120		〃	〃 2.0	1:25	1:250	1:5	1:10	1:10	1:50	1:10	1:10	1:25	1:50
3	1750	/	/	濾液 1.0	1:25	1:500	1:10	1:10	1:10	1:250	1:25	1:10	1:10	1:100
9	1960	/	/	〃 2.0	1:25	1:500	1:5	1:10	1:5	1:250	1:10	1:10	1:25	1:250
6	1700	/	/	浮游液 1.0	1:50	1:2500	1:5	1:5	1:10	1:250	1:10	1:5	1:25	1:250
12	1840	/	/	〃 2.0	1:25	1:2500	1:5	1:10	1:10	1:250	1:10	1:10	1:10	1:250

先ヅ凝集素價ニ就キテ兩色素填塞ニヨル凝集素產生ノ相異ヲ見ルニ、填塞操作ヲ施サズシテ免疫セル場合ノ凝集素產生ハ最モ大ニシテ 1:500 1:500 1:2,500 1:2,500 ナルニ、墨汁填塞ノ場合ニハ凝集素產生最モ抑制セラレ、其價ハ僅ニ 1:100 1:100 1:250 1:250 ナリ。然ルニ「トリパン」青填塞ノ場合ハ對照ニ比スレバ其產生抑制セラレテ 1:250 1:100 1:500 1:500 ナルモ、墨汁填塞ノ場合ヨリハ其產生稍々良好ナル感アリ。次デ稀釋沈降素價ニ就テ、兩色素填塞ニヨル沈降素產生ノ相違ヲ見ルニ對照トシテ填塞操作ヲ施サズシテ免疫セル場合ノ沈降素產生ハ最モ強ク、1:250 1:250 1:250 1:250 ナルニ、墨汁填塞ニヨル場合ノ沈降素產生ハ最モ抑制セラレ、其價ハ 1:50 1:100 1:25 1:50 ナリ。然ルニ「トリパン」青填塞ノ場合稀釋沈降素價ハ 1:100 1:100 1:50 1:100 ニシテ、對照ニ比スレバ其產生劣リ墨汁填塞ノ場合ヨリモ稍々良好ナル事、凝集素價ニ就キテノ比較ト其軌ヲ一ニセリ。最後ニ補體結合價ニ就キテ、

兩色素填塞ニヨル相違ヲ見ルニ、墨汁填塞ノ場合最モ抑制セラレテ、1:25 1:50 1:10 1:50 ナリ。然ルニ「トリパン」青填塞ノ場合ハ墨汁填塞ノ場合ヨリモ、稍々良好ニシテ 1:50 1:100 1:25 1:100 ナリ。然ルニ Jelin 氏等ノ報ゼル如ク、「トリパン」青填塞ノ際補體結合價ノミ、填塞操作ヲ施サザル對照家兎ニ於ケル價ヨリモ特ニ促進セラレシガ如キハ認め得ザリキ。

第1圖 填塞家兎ヲ免疫セル場合



要之、墨汁填塞ノ場合ハ免疫體產生最モ抑制セラレ、凝集素價及ビ補體結合價共ニ最低ナリ、而シテ「トリパン」青填塞ノ際モ、免疫體產生、對照ニ比シテ抑制セラレ、凝集素價ハ勿論、補體結合價モ共ニ低ク、Jelin 氏等ノ示セルガ如キ現象ハ認ムル事能ハザリキ。而シテ凝集素產生ノ兩色素填塞ニヨル消長ト、コレト同一細菌性抗原ニ由來スル補體結合性抗體ノソレトハ全ク軌チニセル感アリ。由是觀之兩免疫體(凝集素及ビ補體結合性抗體)產生ハ共ニ墨汁填塞ノ場合最モ抑制セラレ、「トリパン」青填塞ノ場合ハ墨汁填塞ノ場合ヨリモ稍々良好ナルモ、對照ヨリハ幾分抑制セラルルモノト認ム(第1表及ビ第1圖参照)。

第2節 大腸菌免疫ノ場合

前節馬鼻疽菌ニ代フルニ大腸菌ヲ以テ試験セル成績次ノ如シ。家兎 13, 14 號ヲ「トリパン」青ニテ填塞シ、家兎 15, 16 號ヲ墨汁ニテ填塞シタル後、大腸菌濾液ヲ以テ免疫シ、免疫注射後 10 日目ニ各免疫血清ヲ採リ、凝集素價、稀釋沈降素價、補體結合價ヲ測定セリ。先ヅ凝集素價ニ就キテ兩色素填塞ニ依ル凝集素產生ノ相違ヲ見ルニ、墨汁填塞ノ場合ニハ其價 1:250 1:500 ニシテ、「トリパン」青填塞ノ場合ニハ稍々ヨク 1:500 1:500 ナリ。然レドモ填塞操作ヲ施サザル對照家兎ノ凝集素產生ハ何レモ盛ニシテ 1:500 1:500 1:1000 1:1000 ナリ。即チ何等填塞操作ヲ受ケザル場合最大ナリ。次デ稀釋沈降素價ニ就キテ見ルニ、填塞操作ヲ受ケタル家兎ノ沈降素產生ハ對照家兎ヨリモ抑制セラレタリ。補體結合價ニ就キテハ、凝集素產生狀態ト同ジク、填塞操作ニヨル補體結合性抗體ノ產生ハ對照家兎ヨリハ稍々抑制セラル。而シテ墨汁ト「トリパン」青

填塞相互間ニ於テハ大差ナク、特ニ「トリパン」青填塞ノ場合ニ於テ Jelin 氏ノ云ヘルガ如ク、補體結合性抗體ノ產生ノミ促進セラレシガ如キヲ認ムル事能ハザリキ。

第 2 表 填塞家兎ヲ大腸菌ニテ免疫セル場合

家兎 番 號	體 重 g	填塞色素生理的 食鹽水溶液		大腸菌抗 原注射量 cc	凝集素價		稀釋沈降素價				補體結合價			
		種 類	注射量		正常	10日目	正 常		10 日 目		正 常		10 日 目	
							結合帶	沈降價	結合帶	沈降價	結合帶	結合價	結合帶	結合價
13 16	2700	1% トリパ ン青液	10cc3回	濾液 1.0	1: 50	1: 500	1: 5	1: 5	1: 5	1: 10	1: 5	1: 5	1: 10	1: 10
				〃 2.0	1: 50	1: 500	1: 5	1: 10	1: 10	1: 25	1: 5	1: 10	1: 25	1: 25
15 16	2000	5% ペリカ ン墨汁 液	10cc3回	濾液 1.5	1: 50	1: 250	1: 5	1: 5	1: 5	1: 10	1: 5	1: 5	1: 10	1: 10
				〃 2.0	1: 50	1: 500	1: 5	1: 10	1: 10	1: 25	1: 5	1: 10	1: 25	1: 25
17	1790	/	/	濾液 1.0	1: 50	1: 500	1: 5	1: 10	1: 5	1: 100	1: 10	1: 10	1: 25	1: 100
18	1920	/	/	〃 1.5	1: 50	1: 500	1: 5	1: 5	1: 5	1: 25	1: 5	1: 5	1: 25	1: 25
19	1790	/	/	〃 2.0	1: 100	1: 1000	1: 5	1: 5	1: 5	1: 100	1: 5	1: 5	1: 25	1: 100
20	2300	/	/	〃 2.0	1: 50	1: 1000	1: 5	1: 10	1: 10	1: 250	1: 5	1: 10	1: 10	1: 250

要之、填塞操作ヲ施サザル對照家兎ニ於テハ、凝集素及ビ補體結合性抗體ノ產生最モ良好ニシテ填塞操作ヲ受ケタル家兎ニ於テハ兩抗體相共ニ抑制セラレタリト云フ可シ(第 2 表及ビ第 1 圖参照)。

第 3 節 免疫家兎ニ色素ヲ注射セル場合

第 1, 第 2 節ニ於テハ填塞操作ヲ施セル家兎ヲ免疫セル成績ナルモ、本節ニ於テハ家兎ヲ一定期間免疫セル後色素ヲ注射セル場合ヲ述ベシ。Jelin<sup>15)</sup> ハ家兎ヲ「チフス」菌ニテ免疫シタル後、墨汁注射ヲ行ヘバ注射前ニ比シ溶血價上昇スト。然ルニ大村氏ハ初メ家兎ヲ馬血清ニテ免疫シタル後更ニ墨汁ヲ注射スルモ毫モ沈降素價ノ上昇ハ認めラズト報告セリ。余ガ追試セントセル Jelin, Rosenblatt & Brinn 氏等モ家兎ヲ豫メコレラ菌ニテ免疫シタル後、更ニ墨汁又ハ「トリパン」青注射ヲ行ヘバ、24 時間目ニ於テ凝集素、溶菌素、補體結合性抗體ノ價共ニ上昇ス。更ニ同様ナル實驗ヲ馬鼻疽菌ニテ行ヘルニ、確然タル成績ハ得ラズト報告セリ。

茲ニ余モ此 Jelin, Rosenblatt & Brinn 氏ノ術式ニ倣ヒ、家兎 21, 22 號ハ之ヲ大腸菌浮游液ニテ、又家兎 23, 24 號ハ之ヲ馬鼻疽菌浮游液ニテ夫々 4 回免疫シ置キ、免疫注射後 10 日目ニ「ペリカン」墨汁又ハ「トリパン」青ヲ 10.0cc 宛夫々注射シ、注射ニヨル影響ヲ觀察セントセリ。即チ、色素注射後 24 時間目ニ採血シ、凝集素價、稀釋沈降素價、補體結合價ヲ測定シ夫々其色素注射前ノモノト比較セリ。

第3表 免疫家兎ニ色素ヲ注射セル場合

家兎 番 號	注射菌 種 類 (1回免疫)	填塞注射 最後ノ注射日ヨリ	色素種類 及ビ 注射量	填塞注射後 24 時間 目 採 血										
				凝集反應		稀釋沈降素價				補體結合價				
				注射前	注射後	注射前		注射後		注射前		注射後		
						結合帶	沈降價	結合帶	沈降價	結合帶	結合價	結合帶	結合價	
21	2800	大腸菌	10日目	1%「トリパン」青 10 cc	1:2500	1:2500	1:10	1:250	1:10	1:250	1:25	1:250	1:25	1:250
22	2750	◇	◇	5%「ペリカン」墨汁 10 cc	1:2500	1:2500	1:10	1:250	1:10	1:250	1:25	1:250	1:50	1:250
23	1480	馬鼻疽菌	◇	1%「トリパン」青 10 cc	1:5000	1:5000	1:10	1:500	1:10	1:500	1:50	1:500	1:50	1:500
24	1670	◇	◇	5%「ペリカン」墨汁 10 cc	1:5000	1:5000	1:10	1:500	1:10	1:500	1:25	1:500	1:25	1:500

凝集素價ハ注射前 1:2,500 1:2,500 1:5,000 1:5,000 ナルニ、色素注射後 24 時間目ニ於テモ毫モ其價上昇セズ、夫々同一價ニ止マレリ。又稀釋沈降素價及ビ補體結合價ハ共ニ注射前 1:250 1:250 1:500 1:500 ナルニ注射後ニ於テモ全ク同様ナリ。由是觀之大村氏ノ言ヘルガ如ク、動物ヲ一定期間免疫シタル後ニ色素液ヲ注射スルモ大ナル影響ハナキモノノ如シ(第3表参照)。

### 第4章 總括及ビ考按

Jelin, Roseblatt & Brinn 氏ノ研究ニヨレバ家兎ヲ「ペリカン」墨汁ニテ填塞セル後、馬鼻疽菌又ハ綠膿菌ヲ以テ免疫スレバ、該菌ニ對スル凝集素及ビ補體結合性抗體ノ產生共ニ抑制セラルルモ、「トリパン」青ニテ填塞スル時ハ凝集素產生ノミハ抑制セラルルモ、補體結合性抗體ノ產生ハ對照ヨリ反ツテ促進セラルト。而シテ余ハ專ラ同氏等ノ術式ニ從ヒテ、家兎ヲ「ペリカン」墨汁及ビ「トリパン」青ニテ填塞シタル後、馬鼻疽菌及ビ大腸菌ニテ免疫シ、各其凝集素價及ビ補體結合性抗體ノ產生狀態如何ヲ檢シ、「トリパン」青填塞ノ場合ニハ果シテ凝集素產生ハ抑制セラレ、補體結合性抗體ノ產生ノミ促進セラルルモノナルヤヲ追試セリ。余ノ以上ノ成績ニヨレバ、墨汁填塞ニヨリテハ凝集素及ビ補體結合性抗體ハ相共ニ抑制セラレ、「トリパン」青填塞ニヨリテモ凝集素ハ勿論、補體結合性抗體モ共ニ抑制セラルルヲ見タリ。要之 Jelin 氏等ノ示セル補體結合性抗體產生ノミ促進セラレシガ如キハ認メ得ザリキ。加之兩色素ノ相異ニヨル補體結合性抗體產生ノ消長ト凝集素產生ノソレトハ相共ニ平行スル故ニ、同一馬鼻疽菌又ハ大腸菌ニ由來スル凝集素ト補體結合性抗體トハ恐ラク網狀織内被細胞内ニテ產生セラレタル單一ナル抗血清ニハ非ザルカ。

## 第 5 章 結 論

- 1) 「ペリカン」墨汁及ビ「トリパン」青ヲ以テ填塞セル家兎ヲ馬鼻疽菌又ハ大腸菌ニテ免疫セバ對照ニ比シ凝集素產生及ビ補體結合性抗體ノ產生ハ共ニ抑制セラル。
- 2) 「トリパン」青填塞ノ場合ニハ墨汁填塞ノ場合ヨリモ免疫體產生稍々良好ナルヲ思ハシム。
- 3) 凝集素產生ト補體結合性抗體產生ノ消長トハ相共ニ平行セリ。
- 4) 馬鼻疽菌又ハ大腸菌ヲ以テ家兎ヲ一定期間免疫シタル後ニ色素液ヲ注射スルモ免疫價ノ上昇ハ認め得ズ。

## 附篇 沈降素測定法ノ比較

### 第 1 章 緒 言

沈降素測定法ニハ、從來 Uhlenhut 氏輪環法ト補體結合反應法ト所謂混合法ト唱ヘラルル Wassermann-Schütze 氏法アリ。Uhlenhut 氏法ハ免疫血清ヲ稀釋セズ、抗原ノミヲ遞減的ニ稀釋シテ、其反應最高稀釋度ヲ求ム。實驗操作ハ甚ダ簡易ナリ。然レドモ免疫體ハ一般ニ其血清ヲ稀釋シ、以テ其反應最高稀釋度ヲ求ム可キナリ。又 Wassermann-Schütze<sup>16)</sup> 氏法ハ沈降素ヲ稀釋シ、コレニ配スルニ一定稀釋ノ抗原ヲ加ヘ、其最高稀釋度ヲ以テ其沈降素價トセリ。故ニ沈降素ヲ數量的ニ現ハシ得タリ。然ルニ測定ニハ大量ノ免疫血清ヲ必要トスルヲ以テ廣ク用ヒラレズ。即チ、同氏ノ方法ハ一定稀釋抗原 1cc ニ對シ抗體 1cc ヲ加ヘ、陽性反應ヲ見タル場合ヲ 1 單位ヲ有スル抗體ト定メ、若シ例バ免疫血清  $\frac{1}{4}$  cc ニ同抗原 1cc ヲ加ヘテ同様陽性反應ヲ見タル場合ニハ 4 單位ヲ有スル抗體トナセリ。次デ補體結合反應ニ於テハ、從來屢々遞減的稀釋ヲ受ケタル抗體ニ配スルニ、一定稀釋ノ抗原ヲ以テセル場合ト、逆ニ一定稀釋ノ抗體ニ配スルニ遞減的稀釋ノ抗原ヲ以テセル場合ト二通りアリ。後者ノ場合ニハ抗體ノ量的關係ヲ示ス事能ハザルモ、前者ノ場合ニモ或ル抗原ノ稀釋ニヨリテハ眞ニ免疫血清ノ抗體量ヲ求メ得ザル事アル可シ。加之補體結合反應操作ハ甚ダ煩雜ナル點多ク、Uhlenhut 氏法ノ如ク簡易ナラズ。然ルニ數年前緒方教授<sup>17)</sup> ニヨリテ發表セラレタル稀釋沈降反應法ニヨレバ、之等ノ不備ヲ除キ沈降素價ヲ定量的ニ且簡易ナル重疊輪環法ニ依リ測定シ得ベシ。

余ハ本章ニ於テ、沈降素ヲ測定スルニ際シ、以ヒノ 4 方法ニヨル抗體價ヲ夫々數量的ニ定メ、以テ相互間ニ於ケル數量的關係ヲ表ハサントセリ。此實驗成績ニ就キテ詳述スルニ先立チ一言ス可キハ、沈降素ヲ稀釋法ニヨリ表ハス場合ニ於ケル抗原濃度ノ關係ナリ。

古クヨリ補體結合性反應ノ成績中、一定稀釋抗體ニ配スルニ遞減的稀釋抗原ヲ以テスル時ハ、抗原ノ一定稀釋度附近ノミ反應陽性ヲ呈シ、ソレヨリ抗原稀釋度低キ試験管ハ反ツテ陰性反應ヲ示ス事往々アリキ。コノ事實ハ我が緒方氏稀釋法ニ於テモ同様ニ見ラレ、高度ニ稀釋セラレタル沈降素抗原ノ稀釋度ノ低キ部分ニ於テ反應抑制セラレ、一定抗原稀釋度ニ於テ最モヨク反應ス。其抗原稀釋度ヲ該沈降素ノ結合帶ト名付ク。故ニ稀釋沈降素價ハ結合帶ノ附近ニ於テノミ其最高ヲ示シ、結合帶ヲ遠ザカル抗原稀釋度附近ニテハ眞ノ沈降素最高稀釋度ヲ求メ得ズ。故ニ稀釋沈降素ヲ測定スルニハ、其結合帶ニ於ケルモノヲ求ム可キナリ。



次ニ示ス實驗成績ハ緒方氏稀釋沈降反應ハ勿論、補體結合反應モ結合帶ヲ求メテ、其稀釋抗體價ヲ測リ、Wassermann-Schütze 氏法ニ於テモ、其抗原結合帶ニ於セル價ヲ測定セリ。

## 第 2 章 實驗方法及ビ比較成績

實驗動物トシテハ家兎ヲ選ビ、牛血清又ハ山羊血清ノ耳靜脈内注射ニヨリ得タル抗血清免疫家兎血清ニツキ、Uhlenhut 氏法、緒方氏稀釋沈降反應法、補體結合反應法及ビ Wassermann-Schütze 氏法ニヨリ夫々抗體價並ニ結合帶ヲ求メ、各々比較セリ。

以下簡單ニ各方法ヲ述ベントス。

1) Uhlenhut 氏法：同法ハ周知ノ法ニテ敢テ余ノ言ヲ贅セズ。2) 緒方氏稀釋沈降反應法：沈降素ノ稀釋ニハ 10% ノ新鮮ナル海獺血清ヲ用ヒ、可檢沈降素ヲ遞減的ニ稀釋セリ。抗原モ生理的食鹽水ニテ同ジク遞減的ニ稀釋シ、順列ニ配置セル「プレチピン」管ニ各稀釋抗體、抗原ヲ重疊シ 2 時間目ノ反應ヲ觀察セリ。3) 補體結合反應：溶血系統ニハ 5% ノ山羊血球食鹽水浮游液及ビ之ニ對スル溶血性家兎非働性血清ト新鮮海獺血清ヲ用フ。海獺血清ハ試驗毎ニ其補體價ヲ計リ、ソレニ 2 割ヲ加ヘタルモノヲ使用補體濃度トセリ。抗體、抗原ハ專ラ緒方氏稀釋沈降反應法ニ倣ヒ各々稀釋シ、抗原結合帶ヲ求メ、其結合帶ニ於ケル稀釋抗體價ヲ求メタリ。4) Wassermann-Schütze 氏法：非働性ニセル可檢抗體ヲ遞減的ニ稀釋シ、各其 0.5 cc 宛ヲトリ試験管ニ注グ。コレニ配スルニ稀釋セル抗原 0.5 cc 宛ヲ注加ス。斯クセル組ヲ幾組モツクリ、各其抗原稀釋度ヲ變ジ、以テ其結合帶ヲ求メ可檢抗體價ヲ求メタリ。抗體抗原混合後ハ、37°C 1 時間放置シ、次デ翌朝マデ冷所ニ放置シ、Agglutinoskop ニテ觀察セリ。次ニ實驗比較成績ヲ示サン。

先ヅ Uhlenhut 氏法ニテ得タル各免疫血清ノ價ハ第 4 表ノ如クナルモ、同法ハ免疫血清ヲ稀釋セズシテ行ヒタル爲、他ト其價ヲ比較スル能ハズ、故ニ之ヲ擱キ、免疫體稀釋ニヨル緒方氏稀釋沈降反應法、補體結合反應法、Wassermann-Schütze 氏法ノ 3 法ニヨル價ヲ夫々比較セン。

第 4 表 沈降素測定法ニヨル抗體價比較成績

免疫血清ノ種類	家兎番號	測定法 検査日	Uhlenhut 氏法	稀釋沈降反應法		補體結合反應法		Wassermann-Schütze 氏法	
				結合帶	沈降價	結合帶	結合價	結合帶	價
抗山羊血清	Nr. 1	最後ノ注射ヨリ 3 日目	1:1000	1:100	1:10	/	/	0	0
		◇ 7 日目	1:2500	1:100	1:50	1:100	1:25	1:100	1/2 單位
沈降素	Nr. 2	最後ノ注射ヨリ 5 日目	1:10000	1:100	1:100	1:100	1:50	1:100	1 單位
		◇ 8 日目	1:25000	1:100	1:100	1:100	1:50	1:100	2 ◇
抗牛血清	Nr. 3	最後ノ注射ヨリ 4 日目	1:5000	1:100	1:100	/	/	1:50	1 單位
		◇ 8 日目	1:10000	1:100	1:250	/	/	1:100	2 ◇
沈降素	Nr. 4	(高價免疫血清)	1:10000	1:1000	1:500	1:100	1:100	1:1000	5 單位

稀釋沈降反應法ニヨリテ得タル價1:50ナル免疫血清ヲ,補體結合反應法ニヨリ現セバ1:25トナリ, Wassermann-Schütze 氏法ニヨレバ $\frac{1}{2}$ 單位トナル. 同様ニ稀釋沈降反應法ニヨリ得タル價1:100ナル免疫血清ヲ補體結合反應法ニヨリ現セバ1:50トナリ, Wassermann-Schütze 氏法ニヨレバ1單位トナル. 故ニ稀釋沈降反應法ニヨリテ得タル價ヲ100トセバ,之ヲ補體結合反應法ニヨリス時ハ50ト示ス事ヲ得. 蓋シ補體結合反應ヲ行フ際ニ,用フル補體濃度ノ高低ニヨリ或ハ溶血進ミ,爲ニ求ムル價,稀釋沈降素價ヨリ降下セルニヨランカ. 又稀釋沈降反應法ニヨリ得タル價ヲ100トシ,之ヲ Wassermann-Schütze 氏法ニヨリ求ムル時ハ1單位ト定ムル事ヲ得ベシ. 但シ稀釋沈降素價僅ニ1:10ナル價ヲ有スル免疫血清ハ之ヲ Wassermann-Schütze 氏法ニヨル時ハ Agglutinoskop ニヨリテモ凝集像ヲ認メ得ザリキ. 次ニ,結合帶ニツキ以上ノ3方法ニヨル場合ヲ比較スルニ,稀釋沈降反應法ニ於ケル抗原結合帶1:100ナル場合,之ヲ補體結合反應法及ビ Wassermann-Schütze 氏法ニヨルモ何レモ1:100ナリ. 即チ結合帶ハ何レノ方法ニヨルモ不變ナルガ如シ(第4表參照).

### 第3章 結 論

- 1) 稀釋沈降素價100ナルモノヲ補體結合反應法ニヨリテ示セバ50ニシテ, Wassermann-Schütze 氏法ニヨリテ示セバ1單位ニ相當ス.
- 2) 結合帶ハ上記3方法ノ何レニヨルモ總テ同一ナリ.

終ニ臨ミ, 御懇篤ナル御指導ト御校閲ノ勞ヲ辱ウシタル緒方教授ニ感謝ノ意ヲ表ス. (5.3.14.受稿)

### 文 獻

- 1) *Gay & Clark*, The Journ. of Ammer. Med. Assoc., Vol. 83, p. 1926, 1924.
- 2) 大村, 東京醫學會雜誌, 第40卷, 91頁, 大正15年.
- 3) *Jungeblut & Berlot*, Journ. of Exper. Med., Vol. 43, p. 613, 1926.
- 4) *Bieling & Isaac*, Klinische Woch., Nr. 29, S. 1453, 1922.
- 5) *do.*, Zeitschr. f. exper. Med., Bd. 28, S. 180, 1922.
- 6) *Bieling*, Zeitschr. f. Immun., Bd. 38, S. 193, 1923.
- 7) *Neufeld & Meyer*, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 103, S. 595, 1924.
- 8) *Siegmund*, Klinische Woch., Nr. 52, S. 2566, 1922.
- 9) 小林, 細菌學雜誌, 52頁, 大正13年.
- 10) 尼子, 醫學中央雜誌, 第23卷, 1123頁.
- 11) *Rosenthal & Petzal*, Wien. klin. Woch., S. 782, 1924.
- 12) *Standenath*, Zeitschr. f. Immun., Bd. 38, S. 19, 1923.
- 13) 青木, 社會醫學雜誌, 501號, 941頁, 昭和3年.
- 14) *Jelin, Rosenblatt & Brinn*, Zeitschr. f. Immun., Bd. 59, S. 52, 1928.
- 15) *Jelin*, Zeitschr. f. Immun., Bd. 47, S. 199. u. 462, 1926.
- 16) *Handbuch d. Hygien.* Untersuchungsmethodik von Gotschlich, S. 771, 1927.
- 17) 緒方, 第1回衛生學微生物學寄生蟲學聯合會演說.

*Kurze Inhaltsangabe.*

**Vergleichende Untersuchung über die Beeinflussung der  
Antikörperproduktion durch Blockade des  
retikuloendothelialen Systems.**

Von

Dr. Sadao Sasaki.

*Aus dem Hygienischen Institut der med. Universität Okayama.*

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

Eingegangen am 14. März 1930.

Im vorletzten Jahre haben Jelin, Rosenblatt & Brinn Untersuchungen über die Beeinflussung der Antikörperbildung durch Blockade des retikuloendothelialen Systems angestellt und folgende Resultate angegeben. Bei den mit Trypanblau blockierten Kaninchen zeigte sich gegenüber den Kontrolltieren eine unbedeutende Hemmung der Agglutininproduktion und eine gewisse Titererhöhung der komplementbindenden Stoffe gegen Rotz- oder Coliantigen, während bei den mit Pelikantusche behandelten Kaninchen sich den Kontrolltieren gegenüber eine Herabsetzung der Produktion sowohl der Agglutinine als auch der komplementbindenden Stoffe nachweisen liess. Mit dem Rotz- oder Coliantigen prüfte Verfasser die obigen Versuche nach und kam zu folgenden Ergebnissen. Bei der Komplementbindungsreaktion beobachtete er nebenbei den Antikörpertiter nicht nur in einer bestimmten Antigenkonzentration, sondern wendete auch verschieden hohe Konzentrationen des Antigens an. Die Titer sind in den Tabellen mit dem höchsten Verdünnungsgrad des Serums bei der Bindungszone des Antigens angegeben.

1) Bei vorhergehender intravenöser Einverleibung von Pelikantuschelösung und darauffolgender Injektion von Rotz- oder Coliantigen wird bei den Kaninchen die Erzeugung von Agglutinin und von komplementbindenden Stoffen verhindert.

2) Auch bei den vorher mit Trypanblau blockierten Kaninchen wird gegenüber den Kontrolltieren eine Hemmung der Produktion sowohl von Agglutinin als auch von komplementbindenden Stoffen beobachtet.

3) Deshalb kann man einen Parallelismus in der Hemmung der Produktion von Agglutinin und von komplementbindenden Stoffen bei beiden Blockaden beobachten.

4) Bei nachträglicher Tusche- und Trypanblaublockade am 10. Tage nach erfolgter Rotz- oder Coliantigen-Einverleibung kann 24 Stunden nach der Farbstoffinjektion eine deutliche Titersteigerung der Agglutinine und komplementbindenden Stoffe nicht mehr beobachtet werden.

**Anhang:**  
**Vergleichende Beobachtungen der Präzipitintiter-Bestimmung**  
**nach der Uhlenhut'schen, Ogata'schen, Wassermann-Schütze'schen**  
**sowie der Komplementbindungsreaktion.**

Zur Titrierung des Präzipitins gebraucht man gewöhnlich drei Methoden, die Uhlenhut'sche, Wassermann-Schütze'sche und die Komplementbindungsmethode. Gegenüber der Uhlenhut'schen Methode kann man nach der Wassermann-Schütze'schen, der Komplementbindungs- sowie der Ogata'schen Methode den Präzipitintiter absolut quantitativ bestimmen. In dieser Arbeit beobachtete Verfasser die quantitativen Verhältnisse zwischen den Titern nach den letzten drei Methoden. Wenn der Präzipitintiter nach der Ogata'schen Methode mit 1:100 angegeben wird, erweist sich der Titer nach der Komplementbindungsmethode als 1:50 und nach der Wassermann-Schütze'schen Methode als 1 Einheit. (*Autoreferat.*)

