

## 150.

612.11:612.12

# 血球凝集反應阻止部ニ於ケル 補體結合反應ニ就テ

岡山醫科大學衛生學教室（主任緒方教授）

城 義 彰

[昭和7年6月6日受稿]

*Aus dem Hygienischen Institut der Med. Universität Okayama**(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).*

## Über die Hemmungszone der Hämoagglutination, besonders über Komplementablenkung bei der Hemmungszone.

Von

Yoshiaki Joh.

Eingegangen am 6. Juni 1932.

Die Entstehung der paradoxen Erscheinung, welche 1901 Neisser und Wechsberg bei der Bakteriolyse des Immunerums in vitro beobachtet hatten, ist noch nicht übereinstimmend erklärt, während sie als experimentelle Tatsache feststeht. Der Verfasser studierte dieses Phänomen beim Kaninchenserum mit Bezug auf Hühnerblutkörperchen und die Beziehung zwischen Hemmungszone der Hämoagglutination und Komplementablenkung in dieser Zone durch Komplementbindungsreaktion. Dabei wurde die Komplementbindung durch Zusatz des ziegenhämolytischen Systems nachgeprüft und der Komplementwert des Abgusserums direkt bestimmt. Er kam zu folgenden experimentellen Resultaten.

1) Die Komplementbindungsreaktion bei Hämoagglutinine wird wie folgt ausgeführt. Als Antigen wird die gut gewaschenen Hühnerblutemulsion in verschiedenen Prozentsätzen benutzt, und das aktive oder inaktive, gegen Hühnerblut hergestellte Kaninchenimmenserum absteigend verdünnt und der Blutemulsion zugesetzt. Dabei wird das Meerschweinchenserum als Komplement hinzugefügt. Diese Mischungen werden wie gewöhnlich in Brutofen bei 37°C 1½ Stunden lang aufbewahrt. Danach wird

das ziegenhämolysche System hinzugefügt und 1 Stunde lang im Brutofen aufbewahrt.

2) Bei dem frisch-aktiven oder bei 56°C 30 Minuten lang inaktivierten Immuns serum gegen Hühnerrote trat das Neisser-Wechsbergsche Phänomen in der Komplementbindungsreaktion auf. Dieser negative Teil stimmt beinahe mit der Hemmungszone der Hämoagglutination bei grossen Immunserrummengen überein. Wenn das Komplement in diesem Medium vorhanden ist, so bleibt das Komplement im freien Zustande, weil das Abguss serum mit unverändertem Komplementwert beobachtet wird.

3) Hühnerserum und Hämoglobin werden zum Kontrollversuch als Antigen statt Blutkörperchen benützt und das Resultat ist negativ. Mit gleicher Serummenge bleibt auch die Präzipitinreaktion mit Hühnerserum und Hämoglobin negativ. Wenn aber die Stroma des Blutkörperchens als Antigen angewandt wird, so zeigt die Komplementbindung, wie bei Blutkörperchen, eine positive Reaktion.

4) Die unter gleichen Bedingungen ausgeführte Hämoagglutination und Komplementbindungsreaktion stimmen sowohl in positiver als auch negativer Reaktion, besonders in der Hemmungszone, beinahe überein.

5) Es wird hier durch die Ansicht verstärkt, dass für die Entstehung des Neisser-Wechsbergschen Phänomens der mit Blutkörperchen als Antigen ausgeführten Komplementbindung das Mengenverhältnis zwischen Immunkörper und Antigen eine gewisse Rolle spielt, und dass bei Überschuss von Immunkörper das Prozonephänomen auftritt. Dabei bleibt die Reaktion negativ und das Komplement in diesem Medium frei. (Autoreferat.)

## 目 次

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| 第1章 緒 言                         | 第4章 實驗成績   |
| 第2章 Neisser-Wechsberg 氏現象ニ就テノ概説 | 第5章 總括並ニ考按 |
| 第3章 實驗方法及ビ豫備試験                  | 第6章 結 論    |
| 第1節 實驗材料及ビ方法                    | 引用書目       |
| 第2節 豫備試験                        |            |

## 第1章 緒 言

1901年 Neisser u. Wechsberg<sup>1)</sup> 氏ハ免疫血清ノ試験管内殺菌作用ニ一見矛盾ヲ感ズベキ現象ヲ觀察セリ。即チ一定量ノ抗原ヲ種々ニ稀釋セル非働性殺菌性免疫血清ニ混ジ一定量ノ補體ヲ之ニ加フルトキ中等即チ適當量ノ免疫血清ハヨク殺菌作用ヲ逞シウスルニ反シテ大量ノ免疫血清ハ少量ノ如ク其ノ作用無シ。氏等ハ斯ノ現象ヲ Ehrlich 氏ノ側鎖説ニ基キ免疫血清濃厚部ニ存スベキ過剩双擬體ニ因スル補體ノ轉向ヲ以テ説明シタリ。所謂補體轉向現象又ハ Neisser-

Wechsberg 氏現象ト稱セラルル本現象ニ就テ殺菌反應、溶血反應或ハ喰菌現象ニヨル研究多ク、實驗事實ハ夙ニ承認セラレタルニ拘ラズ、其ノ成立機轉ニ關シテハ議論區々トシテ未ダ決定ヲ見ルニ至ラズ。

余ハ血球ニ對スル免疫血清ヲ以テ血球ヲ抗原トスル補體結合反應ヲ行ヒ補體結合カノ強弱ヲ檢シ、補體結合反應ニ於ケル Neisser-Wechsberg 氏現象ヲ認メタリ。乃チ之ニ就テ茲ニ報告セントス。

## 第 2 章 Neisser-Wechsberg 氏現象ニ就テノ概説

Neisser u. Wechsberg<sup>1)</sup> 氏ハ免疫血清ノ試験管内殺菌實驗ニ於テ *Vibrio Metschnikoff* ノ 24 時間培養液 1/5000 cc ヲ種々ニ稀釋セル非働性免疫血清ニ混ジ、補體トシテ同種血清 0.3 cc ヲ加ヘ、Bouillon、食鹽水ニテ全量ヲ等シクシ 37°C ニ 3 時間置キタル後寒天平面培養ニ移シテ 24 時間後 Kolonie ノ數ヲ讀ミ、免疫血清ノ 0.01—0.005 cc ハ完全ニ殺菌作用ヲ呈スレドモ 0.01 cc ヨリ多量ハ作用弱ク 0.5 cc ハ作用陰性ナルヲ見テ、血清濃厚部ノ過剰双極體ガ一部細胞ト結合シ補體、細胞並ニ双極體ノ 3 者連結ニ必要ナルベキ補體ハ轉向シテ双極體トノミ結合シ、以テ殺菌阻止ノ現ルモノト説明セリ。然ルニ Gruber<sup>2)</sup> 氏 (1901) ハ本現象ヲ動物ノ免疫經過中ニ形成セラレタル Antialexin 即チ Präpartor ニヨルモノトナシ、Metschnikoff<sup>3)</sup> 氏ハ動物正常血清中ノ Anticytase (normale Antikomplemente) ニ由來スルモノトシテ Neisser u. Wechsberg 氏ニ反對セシガ、Lipstein<sup>4)</sup> 氏 (1902) ハ本現象ガ凝集反應ニ起因セズ、免疫血清ノ當該細菌ニヨル吸收ニ依リテ阻止現象ヲ除キ得タル實驗ヨリ轉向要素ハ免疫ニヨリ成立セル双極體ナリト主張シ Neisser u. Wechsberg 氏ニ贊セリ。Levaditi<sup>5)</sup> 氏 (1902) ハ殺菌阻止現象ノ成因ニ免疫ニヨリテ產生セル ambocepteur inactif ヲ假説シ、本物質ハ抗原ニ對スル結合カ ambocepteur actif ヨリモ強ク血清濃厚部ニ於テハ antigen-ambocepteur inactif ノ結合體ニ補體ハ吸收セラレテ以テ反應阻止セラル

ト云ヘリ。

1904 年 Morgenroth<sup>6)</sup> 氏ハ溶血反應ニ於ケル Neisser-Wechsberg 氏現象ニ就テ研究シ溶血反應ニ本現象ノ起リ難キハ血球ト結合セル溶血性双極體ノ對補體結合カガ遊離双極體ノソレヨリモ強キ爲メナリトシテ、抗牛血球家兔免疫血清ヲ以テ免疫シタル山羊ノ所謂抗双極體ヲ用ヒ、先ヅ抗双極體ノ對双極體阻止量ヲ測リ抗双極體ノ一定量ニ双極體、補體及ビ感作牛血球ヲ加フルトキハ双極體過剰部ニ阻止現象發現スルヲ抗双極體ガ双極體ノ對補體結合カヲ高ムルニ由ルト説明シ、阻止現象ガ正常血清又ハ免疫ニヨリテ成立スル抗補體成分並ニ凝集反應ニ因ルト云フ説ヲ駁シ Neisser u. Wechsberg 氏ニ贊成ノ意向ヲ示セリ。サレド溶血反應ニテ研究シタル Gay<sup>7)</sup> 氏 (1905) ハ之ニ反シテ、溶血性免疫血清ヲ 55°C ニ非働性トシ當該血球ト接觸セシメ血球ヲ除去スレバ血清ハ補體ヲ吸着セシムル事ヲ實驗シ、免疫用血球浮游液ニ残留セル血清ニヨリテ溶血素ノ外ニ抗血清沈降素ヲ產生シ爲メニ起レル沈降反應ニヨリテ補體ノ吸着ヲ來シ Neisser-Wechsberg 氏現象ヲ起スモノトシタリ。此説ニモ反對シタル Sormani<sup>8)</sup> 氏 (1916) ハ所謂沈降價高クシテ溶血價低キ免疫血清ガ沈降價低クシテ溶血價高キモノヨリモ阻止能力ヲ示スコトヲ觀察セシガ、Neisser-Wechsberg 氏現象ノ成因ハ沈降物質ノ抗原表面ニ與フル變化ニヨリ溶血ヲ免レシムルニ在リト説キ、濃厚血清ニ感作セラレタル血

球ヲ鏡檢スレバ皺縮シ鋸齒狀縁ヲ呈シスノ如キ血球ハ補體追加ニ依ラズシテ器械の振盪ニ依リテ溶血スト云ヘリ (Spezifische Sporädigkeit).

Brekke<sup>9)</sup> 氏 (1916) ハ「チフス」患者血清ノ 22.2%ニ殺菌價ノ高低ニ並行セザル Neisser-Wechsberg 氏現象ノ發現ヲ經驗シ、加熱非働性血清ニ於テノミ見タルヲ以テ本現象ハ特異性ノモノニ非ズシテ血清加熱ニヨリテ生ズル Komplementoid ノ作用ニヨルトセシガ、Thjøtta<sup>10)</sup> 氏 (1920) ハ非働性免疫血清ノ外ニ働性免疫血清モ殺菌阻止現象ヲ呈スルヲ觀テ該現象ハ免疫又ハ疾病罹患ニヨリテ發生スベキ抗體性物質ニシテ特異性ヲ有シ溶解セル抗原ト復合體ヲ形成シ補體殺菌性抗體ヨリ吸收スルニヨルモノナリト述べ、Pandit<sup>11)</sup> 氏 (1923) ハ殺菌反應及ビ溶血反應ニ發現スル Neisser-Wechsberg 氏現象ハ非働性免疫血清ニノミ起リ新鮮働性血清ニハ現レザレドモ血清非働化ニヨリテ生ズル Komplementoid ニ依ラズ、本現象ハ免疫早期ニ見ラレ免疫機轉ノ進行ト共ニ消失スル傾向アリ、血清採取後時トシテ殺菌價ニ著シキ減弱ナキ以前ニ阻止能力先ヅ消失シ、阻止部ノ補體ハ遊離セルコトヲ指摘シ、本現象ノ成因ハ阻止性抗體ノ發生ニヨルモノニ非ズシテ濃厚部血清中ニ於テ抗體ハ抗原ヨリ解離スルモノナルベシト主張セリ (The Dissociation Theory).

草間<sup>12)</sup> 氏 (1924) ハ Opsonin ニヨル補體轉向現象ニ就テ研究シ菌ヲ免疫體ヲ以テ感作スレバ飽和セラレタルトキ補體ヲ吸收セズ喰菌率亦最少ナル事ヨ

リ大量免疫體ニテ感作セラレタル菌自己ノ作用ヲ以テ本現象ヲ説明シタリ。

鈴木、後藤及ビ平田<sup>14)</sup> 氏 (1926) ハ殺菌阻止現象ノ本態ヲ健康又ハ免疫血清ノ炭酸分離法ニヨリテ得タル Globulin 部ニ存スル殺菌阻止物質ニ歸シ、本物質ハ抗補體作用ヲ示シ殺菌性補體第 3 成分ヲ破壊スル性質ヲ有シ、陳舊若クハ非働性血清ニ阻止ノ現ルル所以ヲ抗殺菌阻止物質ノ作用消失ニヨルモノトセシガ、由利<sup>16)</sup> 氏 (1928) ハ健康血清ノ非働性ニセルモノヲ少量ノ新鮮海狗補體ト共ニ殺菌作用ヲ檢スレバ非特異性ノ Neisser-Wechsberg 氏現象ニ類似ノ現象ヲ見、免疫血清ノ殺菌反應ニ於ケル Neisser-Wechsberg 氏現象ハ特異性ニシテ其ノ成立ニ免疫操作中ニ誘發セラレタル特殊免疫體ヲ度外視スル能ハズ、溶血反應ニ於ケル Neisser-Wechsberg 氏現象ニ類似ノモノハ殺菌反應ノ該現象ト異ナリ血清濃厚部ニ發現スル凝集反應ニ起因スルモノト斷ゼリ。

敘上ノ如ク Neisser-Wechsberg 氏現象ノ成因ニ就テハ論議多シ。然レドモ更ニ趣ヲ異ニセルハ Buxton<sup>15)</sup> 氏ノ假説ナリ。氏ハ 1905 年免疫血清殺菌作用ノ阻止現象ガ補體ノ轉向ヲ以テ説明シ難ク凝集反應及ビ抗蛋白反應ニ據ラザルヲ實驗シテ、類似ノ現象ガ他ノ免疫反應又ハ膠質反應ニ存スル事ヲ引證シ、殺菌阻止現象ハ抗原體ト抗體、補體、水及ビ非働性血清成分ノ割合ニヨリテ起ルモノト推測シ、補體ハ抗體ト同一歩調ヲトリテ溶解スルヲ以テ抗體過剰ナルトキ補體ハ作用ヲ失フベシト説明シタリ。

### 第 3 章 實驗方法及ビ豫備試驗

#### 第 1 節 實驗材料及ビ方法

免疫血清 鶏血球家兎免疫血清ヲ用ヒタリ。鶏ノ翼下ノ靜脈ヨリ採血セル新鮮血液ヲ脱纖維シテ 10 倍量ノ生理的食鹽水ヲ以テ 3 回以上洗滌シ 10% 血球浮游液ヲ作り、體重 2000—2500 g ノ健康家兎ヲ選ビテ其ノ耳靜脈ニ、第 1 回ハ 2 cc 第 2 回ハ 3 cc 第 3 回

以後 5 cc ヲ 4 日目或ハ 5 日目ニ注射シ 5—7 回注射後 7—8 日ニ採血シテ得タル免疫血清ヲ實驗ニ供セリ。

當テ Sormani<sup>13)</sup> 氏ハ Neisser-Wechsberg 氏現象ノ研究ニ於テ溶血素ノ濃厚液ヲ以テ血球ヲ感作スレバ

血球表面ニ變化ヲ生ジ補體ノ共同作用ニヨラズ單ニ器械的震盪ニヨリテモ容易ニ溶血スト稱セシガ、Pandit<sup>(11)</sup>氏ハ斯クノ如キ器械的溶血現象ハ免疫血清ニ加ヘラレタル消毒藥ニ由來スルモノト主張セリ。余ハ本研究ニハ主トシテ新鮮ナル血清ヲ用ヒ、無菌的ニ注意シテ氷室ニ保存シタレドモ消毒藥品ヲ之ニ加ヘザリキ。

反應抗原 鶏血球ノ外ニ鶏血清、鶏血色素及ビ鶏血球基質ヲ用フ。鶏血球ハ實驗當日鶏ノ翼下ノ靜脈ヨリ採血脫纖維ノ後3回生理的食鹽水ヲ以テ洗滌シタルモノヲ所要濃度ノ血球浮游液トセリ。鶏血清ハ新鮮血液ヨリ分離シタルモノヲ用ヒ補體結合反應ニハ56°C 30分加温非働性ト爲ス。鶏血色素及ビ鶏血球基質ニ就テハ實驗ノ條下ニ詳述セン。

溶血系統 山羊溶血系統ヲ用ヒ、新鮮ナル山羊血球ヲ3回充分洗滌シテ2.5%浮游液ト爲シ、溶血素トシテ56°C 30分加温非働性トナル溶血價1:2500ノ山羊血球家兔免疫血清ヲ2單位使用セリ。

補體トシテハ新鮮ナル海猴血清ヲ用フ、成熟健康ナル海猴ヨリ心臟又ハ股動脈穿刺ニヨリテ採血シタル血液ヲ37°Cニ1時間置キタル後血清ヲ分離シ毎回必ズ補體價ヲ測定シテ其ノ1.5單位ヲ使用セリ。新鮮ナル海猴血清ハ使用量ニ於テ鶏血球ヲ凝集セザリキ。

補體結合反應檢査法 先ヅ免疫血清並ニ抗原ノ抗補體價ヲ測定シ、其ノ $\frac{1}{2}$ 以下ヲ用フ。本試驗ニ當リテハ特記セザル限り毎常稀釋シタル免疫血清0.5ccニ1.5單位ノ補體0.5cc稀釋抗原0.5ccヲ加ヘ1時間30分37°Cノ孵卵器ニ收メ、後2單位ノ溶血素0.5cc及ビ2.5%山羊血球0.5ccヲ加ヘ更ニ37°Cニ1時間置キタル後翌朝マデ冷所ニ靜置シテ其ノ結果ヲ判定セリ。溶血系統ノ對照、溶血素ト山羊血球、補體ト山羊血球 食鹽水ト山羊血球等ノ對照ヲ毎回備ヘタリ。溶血セズシテ上清ノ無著色透明ナルヲ強陽性(++)トシ、僅ニ溶血シテ管底ニ沈メル沈渣多キモノ

ヲ中等度陽性(+)トシ、溶血シテ沈渣少キモノヲ弱陽性トシ、完全ニ溶血セルヲ陰性(-)トシ、後兩者ノ中間程度ヲ(±)ヲ以テ現セリ。血球ヲ抗原トスレバ其ノ適當量ニテ結合狀態明カニシテ血球量多キニ過グレバ結果判定ニ困難ナリ。0.5%ハ反應原トシテ適當濃度ニアレドモ余ハ抗原量ト反應トノ關係ニ注意セントシテ5%及ビ0.05%ヲ用ヒタリ。5%血球ヲ用ヒタルトキハ試験管ヲ1度ニ遠心沈澱シテ對照ト比較シ之ト等シキモノヲ陰性トシ結合程度ニ應ジテ陽性ニ強中弱ヲ附セリ。

Sorman<sup>(8)</sup>, Pandit<sup>(11)</sup>, 由利<sup>(17)</sup>氏等ハ溶血反應ニ於テ抗原血球ヲ免疫血清ヲ以テ長ク感作スルキ阻止現象現ルト云ヘリ。余ノ實驗ハ免疫血清、補體、抗原ノ順ニ又ハ免疫血清、抗原、補體ノ順ニ相次デ混和一定時間作用セシメタルモノニシテ、特ニ抗原血球ト免疫血清トヲ加ヘ長時間與感作シタル後ニ補體ヲ加ヘタルモノニ非ズ。

血球凝集反應檢査法 各列ノ遞降的ニ稀釋セル血清0.5ccニ列毎ニ濃度ヲ異ニスル血球浮游液0.5ccヲ加ヘ2時間37°Cノ孵卵器ニ收メ後翌朝マデ室温ニ放置シテ成績ヲ判定ス。血球濃度ニヨリテ凝血塊ニ大小アレドモ凝集強ク大ナル凝血塊管底ニ沈ミ澄明ナル上清ヲナセルモノヲ強陽性(++)トシ、凝集程度之ニ次グモノヲ中等度陽性(+), 輕ク振盪シテ液中ニ小ナル凝血塊ヲ認メ得ルモノヲ弱陽性(±), 凝集疑ハシキモノヲ(±)トシ、全ク凝集セザルモノヲ陰性(-)トセリ。食鹽水ノ對照ヲ置キタルハ勿論ナリ。

沈降反應檢査法 從來一般ニ慣用セラレタル Uhlenhuth 氏法ノ如ク免疫血清原液若クハ濃稀釋免疫血清ニ順次稀釋セル抗原ヲ重層スルノ方法ニ據ラズ、緒方教授<sup>(19)</sup>ノ抗體稀釋沈降反應方法ニ倣ヒテ1%「アラビアゴム」生理的食鹽水溶液ニテ遞降的ニ稀釋セル免疫血清ヲ盛レル細小試験管ノ各列ニ順次稀釋セル抗原溶液ヲ層疊ス。免疫血清ト食鹽水及ビ

「アラビアゴム」食鹽水ト抗原ノ對照ヲ置キ、室溫ニ靜置シテ現ルル輪環ヲ 15 分、30 分、1 時間及ビ 2 時間ノ 4 回ニ觀察シテ陽性ヲ (卅), (卅), (卅), (十) トシ輪環ヲ認メ得ザル陰性ヲ (一) トセリ。本法ニ據レバ補體結合反應及ビ血球凝集反應ニ於ケル

ト等シキ免疫血清量ノ抗原ニ對スル沈降反應ヲ檢出シ得。

敘上 3 反應檢査ニ於テハ先ヅ免疫血清ヲ階段ノニ稀釋シ後各列ノ小試験管ニ分テ同一稀釋抗體ニ種々ナル量ノ抗原ヲ反應セシメタリ。

## 第 2 節 豫 備 試 験

家兎血清ヲ用ヒテ補體結合反應ヲ施行シ非特異陽性反應ヲ認メタル者多シ。既ニ 1907 年 Michaelis<sup>20)</sup> 氏翌年 Shilling u. Hoesslin<sup>21)</sup> 氏ハ家兎正常血清ガ微毒性肝臟ノ Alkoholextrakt 或ハ動物肝臟ノ Alkoholextrakt ト共ニ非特異性補體結合反應ヲ呈スル事ヲ認メテ以來之ニ關スル研究ハ枚舉ニ達アラズ。就中 Kolmer 氏ノ一派ハ詳細ナル研究ヲ爲シ、Kolmer & Casselmann<sup>22)</sup> 氏ハ類脂肪體抗原ニヨル家兎正常血清ノ非特異性補體結合反應ヲ認メ、Kolmer 氏及ビ Trist<sup>23)</sup> 女史ハ類脂肪體抗原ノミナラズ細菌抗原ニ對スル家兎血清ノ非特異補體結合反應ヲ認メ 55°C ノ血清加温ハ非特異性陽性率ヲ増加スト報告セリ。Kolmer<sup>24)</sup> 氏ハ本現象ノ原因ハ不明ナレドモ恐ラク正常抗體ニヨラズシテ血清ノ加熱ニヨリ影響セラレタル膠質ノ物理化學的變化ニ因ルモノトシ 62°C 30 分ノ血清加熱ニヨリ陽性度ハ大イニ減弱スト稱シ Sachs u. Georgi<sup>25)</sup> 氏ハ實驗家兎梅毒ノ血清診斷ニ家兎正常血清ノ非特異陽性反應ヲ認メ、非特異性反應能力ヲ血清 Globulin ノ作用ニ歸シ、鹽酸ヲ以テスル

ノ除去法ヲ擧ゲタリ。最近 Davesne et Sanchez<sup>26)</sup> 氏ハ種々ナル細菌ニ對スル家兎正常抗體ノ量ハ家兎ニヨリテ差異アルヲ以テ補體結合反應ニヨル細菌鑑別ニハ斯クノ如キ抗細菌性物質ヨリ錯誤ヲ來シ得ル事ヲ指摘シ、Futamura<sup>27)</sup> 氏ハ多クノ家兎正常血清ガ家畜肋膜炎菌、馬鼻疽菌、大腸菌及ビ Bang 氏菌抗原ニ對シ非特異性補體結合反應ヲ呈スト述ベタリ。

然レドモ家兎正常血清ガ血球抗原ニ對シテ非特異性補體結合反應ヲ營爲スベキカ否カニ就テ言及シタル者無シ。

余ハ血球ヲ抗原トシ家兎免疫血清ヲ用フル補體結合反應ノ豫備試驗トシテ免疫前ノ家兎正常血清ヲ 56°C 30 分加温非働性トナシ鶏血球ニ對スル補體結合反應ヲ試ミ非特異陽性反應ヲ認メザリキ。依リテ多數ノ家兎正常血清ニ就テ鶏血球ニ對スル正常凝集反應ヲ檢査シ、其ノ比較的著明ナル血清ヲ原液ヨリ稀釋シ本試驗ニ於ケルト同様ニ働性及ビ 56°C = 30 分加温シテ一方補體結合反應ヲ檢シ、他方血球凝集反應ヲ施行セリ。

第 1 表 家兎正常血清ノ鶏血球凝集反應及ビ補體結合反應

正常家兎 Nr. 47. ♂. 白. 2600 g

| 區血清 | 反應別<br>血球<br>血清稀釋度<br>浮游液 | 血 球 凝 集 反 應 |    |    |    |    |    |    |     | 補 體 結 合 反 應 |   |    |    |    |    |    |     |
|-----|---------------------------|-------------|----|----|----|----|----|----|-----|-------------|---|----|----|----|----|----|-----|
|     |                           | 1           | 5  | 10 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 1           | 5 | 10 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| 働性  | 5%                        | 溶血          | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +   | +           | + | +  | +  | +  | +  | +  | +   |
|     | 0.5%                      | 溶血          | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +   | +           | + | +  | +  | +  | +  | +  | +   |
|     | 0.05%                     | —           | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —   | —           | — | —  | —  | —  | —  | —  | —   |
| 非働性 | 5%                        | +           | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —   | —           | — | —  | —  | —  | —  | —  | —   |
|     | 0.5%                      | ++          | +  | +  | —  | —  | —  | —  | —   | —           | — | —  | —  | —  | —  | —  | —   |
|     | 0.05%                     | ++          | ++ | +  | +  | ±  | —  | —  | —   | —           | — | —  | —  | —  | —  | —  | —   |

備考 非働性血清 1:1 ハ抗補體作用ヲ示セリ。

其ノ結果ハ第1表ノ示ガ如ク、家兎正常新鮮血清ハ血球凝集反應ヲ發現セズ、抗原5%血球浮游液ニ對シテハ血清1:20マデ、0.5%血球浮游液ニ對シテハ1:40マデ輕度ノ溶血現象ヲ呈シ、0.05%浮游液ニ對スル溶血現象ハ不明ナリ。家兎正常非働性血清ハ5%血球浮游液ニ對シテ血清原液ガ陽性ノ、0.5%血球浮游液ニ對シテ血清1:10マデ陽性ノ、0.05%血球浮游液ニ對シテ血清1:40(±)ノ血球凝

集反應成績ヲ示シタレドモ、補體結合反應ニ於テハ非働性血清ノ原液ガ抗補體作用ヲ呈シタル外、働性及ビ非働性血清共ニ陰性成績ヲ得タリ。

即チ家兎正常血清ハ本試驗ト等シキ條件ニ於テ、正常凝集素ヲ有スルモノト雖モ血球ヲ抗原トシテ補體結合反應ヲ營爲セズ。而シテ正常凝集反應ニ於テ抗原ノ量ハ正常血球凝集價ニ重要ナル關係ヲ有スルコトヲ知レリ。

第2表 家兎血清ノ免疫經過中ニ於ケル抗補體價

| 家兎番號                  | 經 過     | 血 清 稀 釋 度 |   |   |    |    |    |     |
|-----------------------|---------|-----------|---|---|----|----|----|-----|
|                       |         | 1         | 2 | 5 | 10 | 20 | 40 | 100 |
| Nr. 13<br>♀<br>2200 g | 免 疫 前   | +         | — | — | —  | —  | —  | —   |
|                       | 第1回注射次日 | ++        | + | — | —  | —  | —  | —   |
|                       | 6回注射後7日 | +         | — | — | —  | —  | —  | —   |
| Nr. 14<br>♂<br>2150 g | 免 疫 前   | —         | — | — | —  | —  | —  | —   |
|                       | 第1回注射次日 | +         | — | — | —  | —  | —  | —   |
|                       | 7回注射後8日 | —         | — | — | —  | —  | —  | —   |
| Nr. 15<br>♂<br>2400 g | 免 疫 前   | +         | — | — | —  | —  | —  | —   |
|                       | 第1回注射次日 | +         | ± | — | —  | —  | —  | —   |
|                       | 6回注射後7日 | +         | — | — | —  | —  | —  | —   |

非働性家兎血清ノ抗補體作用ハ第2表ノ如ク、免疫注射第1回ノ翌日ニハ注射前ニ比シテ多少ノ増強

ヲ示セドモ、免疫後即チ最後ノ注射後7—8日ニ之ヲ測定スレバ注射前ノ狀態ニ復ス。

## 第4章 實驗成績

### 實驗 第 1

1列ノ大試験管ニ免疫血清ヲ遞降的ニ稀釋シテ其ノ稀釋血清ノ0.5cc宛ヲ數列ノ試験管ニ分チ、之ヲ2群ト爲シ、1群ヲ以テ血球ヲ抗原トスル補體結合反應ヲ、他群ヲ以テ血球凝集反應ヲ各抗原量ヲ増減シテ施行シ、以テ兩反應検査法相互ノ條件ヲ等シカラシメ其ノ成績ヲ觀察セリ。

第3表ニ現レタル成績ヲ觀レバ、免疫血清第2號ノ新鮮働性ナルヲ用ヒタル補體結合反應ニ於テハ5%血球浮游液ニ對シテハ免疫血清稀釋1:5ノ結合阻止セラレ、1:10ヨリ1:500マデ結合シ、0.5%血

球浮游液ニ對シテハ血清1:10マデノ結合完全ニ阻止セラレ1:25ヨリ1:2500マデ結合シ、0.05%血球浮游液ニ對シテハ血清1:50マデノ結合完全ニ阻止セラレ1:100ヨリ1:5000マデ補體結合陽性ヲ示セリ。血球凝集反應ニ於テハ5%血球浮游液ニ對シテ血清稀釋1:50マデ溶血現象ヲ伴ヒ1:10ヨリ1:1000マデニ凝集反應ヲ現シ1:5ノ反應ハ完全ニ阻止セラル、0.5%血球浮游液ニ對シテハ血清稀釋1:100マデ溶血現象ヲ呈シ1:25ヨリ1:5000マデ凝集反應陽性ニシテ1:10マデハ凝集反應陰性ナリ。0.05%血

第 3 表 血球ヲ抗原トセル補體結合反應及ヒ凝集反應

| 血清番號 | 血非<br>清働別 | 反應區<br>働別 | 血浮<br>游球液 | 免 疫 血 清 稀 釋 度 |         |          |          |          |     |     |      |      |      |       |       |
|------|-----------|-----------|-----------|---------------|---------|----------|----------|----------|-----|-----|------|------|------|-------|-------|
|      |           |           |           | 5             | 10      | 25       | 50       | 100      | 250 | 500 | 1000 | 2500 | 5000 | 10000 | 25000 |
| 2    | 働         | 補體結合反應    | 5%        | —             | ++      | +++      | +++      | +++      | +++ | ++  | —    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | —             | —       | ++       | +++      | +++      | +++ | +++ | ++   | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | —             | —       | —        | —        | +        | +   | +   | +    | +    | +    | —     | —     |
|      |           | 血球凝集反應    | 5%        | 溶血<br>—       | ++<br>+ | +++<br>+ | +++<br>+ | +++<br>+ | +++ | ++  | +    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | —             | —       | +        | ++       | +++      | +++ | +++ | +++  | ++   | +    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | —             | —       | —        | —        | +        | ++  | ++  | ++   | ++   | ++   | +     | —     |
|      | 非働        | 補體結合反應    | 5%        | —             | ++      | +++      | +++      | +++      | +++ | ++  | —    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | —             | —       | ++       | +++      | +++      | +++ | +++ | +++  | ++   | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | —             | —       | —        | —        | +        | +   | +   | +    | +    | +    | —     | —     |
|      |           | 血球凝集反應    | 5%        | —             | +       | ++       | +++      | +++      | +++ | +++ | +    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | —             | —       | +        | ++       | +++      | +++ | +++ | +++  | ++   | +    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | —             | —       | —        | —        | +        | +   | ++  | ++   | ++   | ++   | +     | —     |
| 12   | 働         | 補體結合反應    | 5%        | —             | —       | ++       | +++      | +++      | +++ | ++  | +    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | —             | —       | —        | ++       | +++      | +++ | +++ | +++  | +    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | —             | —       | —        | —        | +        | +   | +   | +    | +    | +    | —     | —     |
|      |           | 血球凝集反應    | 5%        | 溶血<br>—       | ++<br>+ | +++<br>+ | +++<br>+ | +++<br>+ | +++ | ++  | +    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | —             | —       | +        | ++       | +++      | +++ | +++ | +++  | ++   | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | —             | —       | —        | —        | +        | ++  | ++  | ++   | ++   | +    | —     | —     |
|      | 非働        | 補體結合反應    | 5%        | ++            | +++     | +++      | +++      | +++      | +++ | ++  | —    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | ++            | +++     | +++      | +++      | +++      | +++ | ++  | +    | ±    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | +             | +       | +        | +        | +        | +   | +   | +    | +    | ±    | —     | —     |
|      |           | 血球凝集反應    | 5%        | +             | ++      | +++      | +++      | +++      | ++  | +   | —    | —    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.5%      | +             | +       | ++       | ++       | +++      | +++ | +++ | ++   | +    | —    | —     | —     |
|      |           |           | 0.05%     | +             | +       | +        | +        | ++       | ++  | ++  | ++   | +    | +    | —     | —     |

備 考

免疫血清 Nr. 2. 家兎 Nr. 2 ♂ 白 2500 g 10% 鶏血球 10/II 2 cc, 14/II 3 cc, 18/II 5 cc,  
22/II 5 cc, 26/II 5 cc, 2/III 5 cc, 6/III 5 cc, 靜脈内注射 14/III 採血

免疫血清 Nr. 12. 家兎 Nr. 12 ♀ 白 2300 g 10% 鶏血球 22/II 2 cc, 26/II 3 cc, 2/III 5 cc,  
6/III 5 cc, 10/III 5 cc, 14/III 5 cc, 19/III 5 cc, 靜脈内注射 27/III 全採血

球浮游液ニ對シテハ溶血現象ハ不明ニシテ 1:100ヨリ 1:10000 マデニ反應陽性ニシテ血清 1:50 ヨリ濃厚部ニハ凝集反應ヲ呈セズ。

56°C 30 分加温非働性トシタル免疫血清第 2 號ノ補體結合反應成績ハ新鮮働性ナルヲ用ヒタル補體結合反應成績ト全ク一致セリ。即チ 5% 血球浮游液ニ對シテハ血清ノ 1:5 ハ結合セズ 1:10 ヨリ 1:500 マデ結合シ、0.5% 血球浮游液ニ對シテハ 1:10 マデ結合セズ 1:25 ヨリ 1:2500 マデ結合シ、0.05% 血球浮游液ニ對シテハ 1:50 マデ結合セズ 1:100 ヨリ 1:5000 マデ結合セリ。血球凝集反應ニ於テハ全ク溶血現象ヲ伴ハザレドモ、働性血清ト等シキ凝集價ト血清濃厚部ノ反應陰性トヲ示ス。即チ 5% 血球浮游液ニ對シテハ 1:5 ノ反應ハ陰性ニシテ 1:10 ヨリ 1:1000 マデ凝集シ、0.5% 血球浮游液ニ對シテハ 1:10 マデ凝集セズ 1:25 ヨリ 1:5000 マデ凝集シ、0.05% 血球浮游液ニ對シテハ 1:50 マデ凝集陰性ニシテ 1:100 ヨリ 1:10000 マデ反應陽性ナリ。

免疫血清第 12 號ノ新鮮働性ナルヲ用ヒタル補體結合反應ト血球凝集反應トノ結合及ビ結合阻止ハ全ク相一致シ、結合及ビ結合阻止ノ抗原量ニ對スル關係ハ免疫血清第 2 號ニ於ケルモノト同様ナリ。

免疫血清第 12 號ノ採血後 5 日ニ 56°C 30 分加温非働トセルモノハ即チ新鮮ナラザル免疫血清ノ非働性トセルモノニ於テハ 5% 血球浮游液ニ對シ 1:5 ヨリ 1:500 倍マデ、0.5% 血球浮游液ニ對シ 1:5 ヨリ 1:2500 (±)、0.05% 血球浮游液ニ對シ 1:5 ヨリ 1:5000 (±)ノ陽性補體結合反應ヲ呈シ、血球凝集反應ニ於テハ抗原量ニ關係スル輕度凝集阻止帶ヲ認ムレドモ、5% 血球浮游液ニ對シ 1:5 ヨリ 1:500 マデ、0.5% 血球浮游液ニ對シ 1:5 ヨリ 1:2500 マデ、0.05% 血球浮游液ニ對シ 1:5 ヨリ 1:5000 マデノ凝集成績ヲ示シ、補體結合反應及ビ血球凝集反應ニ於テ著明ナル反應阻止ノ現象ハ消失セリ。

以上ノ實驗成績ヲ概括スルニ、新鮮ナル免疫血清

ヲ用ヒタル補體結合反應ニ於テ働性及ビ非働性免疫血清ノ濃厚部ニ完全ナル結合阻止ノ現象ヲ見ル。補體結合ノ完全ナル阻止ハ同一抗原量ニ對シテハ補體結合反應ト條件ヲ等シセル血球凝集反應ノ著明ナル阻止現象ト一致スレドモ、補體結合價ハ血球凝集價ト一致或ハ半減ス。免疫新鮮血清ニ存シタル著明ナル阻止現象ガ血液採取ノ數日後ニ血清ヲ加温非働性トシテ反應度ノ減弱ハ殆ドナキカ或ハ僅ナルニ拘ラズ大イニ減弱シテ反應ヲ現出スルコトアリ。敘上ノ反應阻止及ビ反應度ハ何レモ抗原量ニ逆比シテ増強セリ。

即チ血球免疫血清ハ抗原血球ニ對シテ凝集反應ノ完全ニ阻止セララル血清濃厚部ニ於テ補體結合モ完全ニ阻止セラレタリ。免疫血清ノ新鮮働性ニ於テモ 56°C 30 分加温セラレ抗原血球ニ溶血現象ヲ及ボシ得ザル非働性ニ於テモ血球凝集阻止ノ著明ナル場合ニハ兩者ノ補體結合阻止ヲ免疫血清濃厚部ノ抗原ニ對スル溶血現象ニ據ルモノトハ信ズベカラズ。又免疫血清ニ補體ヲ加ヘタル爲メノミニ非ザルハ血球凝集阻止現象ノ著明ナラザル免疫血清ガ著明ナル補體結合阻止ヲ現ハサザル事ヨリ明白ナリ。寧ろ血球免疫血清ハ濃厚部ニ於テ抗原血球ト結合阻止セララルトキ補體ヲ結合シ得ザルモノノ如シ。

今余ノ實驗ニ現レタル免疫血清ノ血球凝集阻止現象ヲ Eisenberg u. Volk<sup>28)</sup> 氏等ノ假說ニ從ヒテ Hamagglutinoide ト云フガ如キモノニ起因スルモノトスレバ免疫新鮮働性血清ニ存シタル阻止現象ガ血清採取ノ數日後ニ 56°C ニ血清ヲ加熱シテ消失スル事實ノ説明ニ困難ヲ感ジ、吉田<sup>29)</sup> 氏ハ血球凝集阻止帶現象ガ血清ノ數日放置又ハ加熱ニヨリテ消失スルコトアラバ血清ノ凝集價ノ減弱ニ從ヒ阻止帶ガ凝集帶ト共ニ左方ニ偏スル結果ナリト稱スレドモ、余ノ實驗ニ於テハ血球凝集價ノ血清放置加熱ニヨル減弱ハ極メテ輕度ナルニ拘ラズ阻止帶ノ減弱ハ著明ナル事アリテ阻止帶ハ必ズシモ凝集價ト並行シテ同方向ニ

移動スルモノニ非ズ。

Pandit<sup>(11)</sup>氏モ免疫血清採取後數日ニテ反應度ノ減弱ハ認メラレザルニ Neisser-Wechsberg 氏現象先ヅ消失スルコトアリトシ、之ヲ免疫早期ニ於ケル双體體ノ結合カ弱キニ因ルト想像セシガ、余ノ補體結合阻止現象ノ消失スル場合ニ於テハ同時ニ補體ヲ加ヘザル血球凝集反應ノ著明ナル阻止現象モ消失スルヲ以テ、補體ノ結合及ビ結合阻止ハ抗原血球ト免疫血

清トノ結合及ビ結合阻止ニ對スル從屬の結果ナリ。

血球凝集反應ニ現ルル阻止現象ニ就テハ稍ヲ革メテ詳細ニ論述スベシ。

之ヲ要スルニ、血球ヲ抗原トシテ施行シ得タル免疫新鮮働性及ビ非働性血清ノ補體結合反應ニ於テ Neisser-Wechsberg 氏現象ハ認メラレ、ソレガ發現ニ免疫血清ト抗原トノ量ノ關係ハ重要ナル因子ヲ爲スモノナリ。

## 實 驗 第 2

前實驗ニ於テ觀察セル Neisser-Wechsberg 氏現象部ノ、即チ免疫血清ノ血球凝集阻止部ニ加ヘラレタル、補體ノ溶血系追加前ニ於ケル狀態ヲ知ラントシテ其ノ補體價ヲ測定セリ。本實驗ハ免疫血清、補體、抗原血球ヲ一定時間作用セシメタル後ニ抗原トソレニ吸着セラレタルモノトヲ除キテ溶血系ヲ追加シテ行ヘル補體結合反應トモ見ラル。

前實驗ニ使用シタル免疫血清第2號ノ56°C 30分加温非働性トセルモノヲ以テ0.5%血球浮游液ニ對シ結合阻止、結合及ビ結合陰性ヲ示セル血清希釋ト5%血球浮游液ニ對シ結合陽性ニシテ0.05%血球

浮游液ニ對シテハ結合阻止ヲ呈セル1:10, 1:25稀釋血清トノ各1ccニ10%補體(豫メ測定シタル補體價0.03ノ海獺新鮮血清)、血球浮游液1ccヲ加ヘ、對照トシテ抗原又ハ免疫血清ノ代リニ食鹽水ヲ補ヒタルモノ及ビ補體ニ食鹽水ヲ加ヘテ全量ヲ等シカラシメタルモノヲ置キ、1時間30分37°Cノ孵卵器ニ收メ各試験管ヲ一齊ニ遠心沈澱シテ其ノ上清液ニ就テ補體價ヲ測定セリ。上清液ヲ1.0, 0.6, 0.3ニ分チ食鹽水ヲ添加シテ全量ヲ等シク1ccトシ2單位ノ溶血素及ビ2.5%山羊血球浮游液1ccヲ混ジ37°Cニ1時間置キテ溶血度ヲ觀察セリ。

第 4 表 結合補體ヲ除キタル上清ノ補體價測定

免疫血清 Nr. 2

| 血球浮游液濃度     |     | 0.5% |     |     |     |     |       |        |     | 5%  |     |     | 0.05% |     |     | 對 照 |     |     |
|-------------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-------|--------|-----|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 免疫血清希釋度     |     | 5    | 10  | 25  | 50  | 100 | 1,000 | 10,000 | 對照  | 10  | 25  | 對照  | 10    | 25  | 對照  | 10  | 25  | 對照  |
| 稀 釋 血 清     | 1.0 | 1.0  | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0   | 1.0    |     | 1.0 | 1.0 |     | 1.0   | 1.0 |     | 1.0 | 1.0 |     |
| 10 % 補 體    | 1.0 | 1.0  | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0   | 1.0    | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0   | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| 血 球 浮 游 液   | 1.0 | 1.0  | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0   | 1.0    | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0   | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| 生理的食鹽水      |     |      |     |     |     |     |       |        | 1.0 |     |     |     |       |     | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 2.0 |
| 37°C 1時間30分 |     |      |     |     |     |     |       |        |     |     |     |     |       |     |     |     |     |     |
| 遠 心 沈 澱     |     |      |     |     |     |     |       |        |     |     |     |     |       |     |     |     |     |     |
| 上           | 1.0 | +    | +   | -   | -   | -   | -     | ++     | ++  | -   | -   | ++  | ++    | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  |
| 清           | 0.6 | +    | +   | -   | -   | -   | -     | ++     | ++  | -   | -   | ++  | ++    | +   | ++  | ++  | ++  | ++  |
| 量           | 0.3 | -    | -   | -   | -   | -   | -     | -      | -   | -   | -   | -   | -     | -   | -   | -   | -   | -   |

備考 ++ = 完全溶血    ++ = 殆ど溶血    + = 弱溶血    - = 不溶血

其ノ結果ハ第4表ニ示スガ如クニシテ、上清液量0.6cc以上ニ於テハ對照ハ何レモ溶血ヲ呈シ、0.5%血球浮游液ニ對スル免疫血清1:25ヨリ1:1000マデノ部ノ上清ハ山羊血球ヲ溶血セズ、1:5、1:10及ビ1:10000ノ部ノ上清0.6以上ハ溶血ヲ示セリ、5%血球浮游液ヲ加ヘタル免疫血清1:10及ビ1:25ノ上清ハ溶血セズ、0.05%血球浮游液ヲ加ヘタル1:10及ビ1:25免疫血清部分ノ上清ハ對照ト等シク溶血セリ。

補體ノ作用ガ全ク失ハレズシテ殘留スルモノトス

レバ上清液1cc中ニハ凡ソ1單位ノ補體ヲ含有スルモノナリ。免疫血清ノ血球凝集反應陽性部ヨリトリタル上清液ハ溶血系統ノ追加ニヨリテ溶血即チ補體ノ殘留ヲ示サザレドモ、抗原ニ對シテ多量ナルベキ免疫血清ノ血球凝集反應阻止部ト免疫血清少量ノ血球凝集反應陰性部ハ溶血現象ヲ呈シ補體ノ殘留ヲ認メシム。

即チ血球凝集反應ト同一條件ノ下ニ補體結合反應ヲ行ヘバ血球凝集阻止部ニ加ヘラレタル補體ハ遊離ノ狀態ニアリ。

### 實驗 第 3

鶏血清ヲ抗原トシテ血球ニ對スル免疫血清ヲ用ヒ、沈降反應及ビ補體結合反應ヲ行ヒタリ。

Gay<sup>7)</sup>氏ハ溶血反應ニ於ケル Neisser-Wechsberg氏現象ハ免疫用血球浮游液ニ殘存セル血清ニヨリ免疫血清中ニ溶血素ノ外ニ沈降素ヲ產生シ、爲ニ起ル沈降反應ニヨリテ補體ガ吸着セラルルニヨルモノトナシ、Sormani<sup>8)</sup>氏ハ沈降物質ガ血球表面ニ變化ヲ與ヘ以テ溶血ヲ免レシムルコトニ Neisser-Wechsberg氏現象ノ成因ヲ歸セリ。若シ斯クノ如ク免疫注射ノ血球浮游液ニ殘留スル血清ニヨリテ血球ニ對スル免疫物質ノ外ニ抗血清沈降素ヲ生ジ、抗原ト沈降物質ヲ作り補體ヲ吸着スルモノトスレバ、斯カル沈降物

質ヲシテ補體結合阻止ノ原因トハ爲スペカラズト雖モ、該補體結合ニ免疫血清ノ鶏血清ニ對スル沈降反應ガ關與スルカ否カラ確ムルノ要アルベシ。

免疫血清第2號ヲ用ヒ、鶏新鮮血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ1:10ヨリ1:5000マデ稀釋シ、其ノ比較的多量ヨリ少量ヲ抗原トシテ、免疫血清ノ血球ヲ抗原トシテ補體結合反應陽性ヲ示セル量ニ對スル沈降反應及ビ補體結合反應ヲ主トシテ檢案セリ。

沈降反應成績ハ第5表ノ如ク、免疫血清原液ハ抗原稀釋沈降素價1:500ヲ示セドモ、免疫血清1:10以上ノ稀釋ニ於テハ鶏血清1:10ヨリ1:5000ニ對スル沈降反應ハ全部陰性ナリ。

第5表 鶏血清ヲ抗原トセル沈降反應

免疫血清 Nr. 2

| 鶏血清<br>稀釋度 | 免 疫 血 清 稀 釋 度 |    |    |    |     |     |     |       |       |       |
|------------|---------------|----|----|----|-----|-----|-----|-------|-------|-------|
|            | 1             | 10 | 25 | 50 | 100 | 250 | 500 | 1,000 | 2,500 | 5,000 |
| 1: 10      | +++           | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 25      | +++           | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 50      | +++           | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 100     | +++           | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 250     | ++            | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 500     | +             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1:1000     | —             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1:2500     | —             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1:5000     | —             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |

補體結合反應成績ハ第6表ノ如ク、免疫血清1:25 | ルト同様ニ鶏血清1:10ヨリ1:5000マデ對スル反  
ヨリ1:1000マデノ稀釋ニ於テハ、沈降反應ニ於ケ | 應ハ悉ク陰性ナルヲ見ル。

第6表 鶏血清ヲ抗原トセル補體結合反應

免疫血清 Nr. 2

| 鶏血清稀釋度 | 免 疫 血 清 稀 釋 度 |    |     |     |     |       |
|--------|---------------|----|-----|-----|-----|-------|
|        | 25            | 50 | 100 | 250 | 500 | 1,000 |
| 1:10   | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:25   | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:50   | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:100  | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:250  | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:500  | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:1000 | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:2500 | —             | —  | —   | —   | —   | —     |
| 1:5000 | —             | —  | —   | —   | —   | —     |

血球ニ對スル免疫血清ガ血清ヲ反應抗原トシテ抗原稀釋沈降素價1:500ヲ示セドモ、免疫血清1:10以上ノ稀釋ニテ沈降反應ヲ現シ得ザルハ抗血球免疫血清ノ抗血清沈降素量甚ダシク少キニ由ルモノニシテ、從テ補體結合反應モ亦陰性ナリ。蓋シ沈降物質ガ補體ガ吸着セシムルニハ免疫血清ニ相當ノ沈降素量ヲ要ス。充分洗滌セル血球浮游液ニ殘留シ得ベキ極メテ微量ノ血清ガ血球ニ對スル抗體ト同時ニ多量ノ抗血清沈降素ヲ產生スルモノニハ非ザルベシ。斯クノ如ク抗原ノミヲ稀釋シテ得タル沈降素價ニヨリ

テハ沈降素量ヲ現シ得ザルヲ以テ、免疫血清ヲ種々ニ稀釋シテ行ヘル補體結合反應ニ對シ免疫血清原液又ハ其ノ濃厚稀釋液ト階段ニ稀釋セル抗原ノ沈降反應ヲ比較スル者アリト雖モ余ハ其ノ比較標準ニ左袒セズ。

即チ實驗第1ニ於ケル補體結合陽性範圍ノ免疫血清量ニテハ鶏血清ニ對スル沈降反應及ビ補體結合反應ハ陰性ニシテ、血球免疫血清ノ血球ヲ抗原トスル補體結合陽性成績ニハ血清ニヨル沈降物質ハ關與セザルヲ見タリ。

## 實 驗 第 4

次ニ鶏血色素溶液ヲ反應抗原トシテ鶏血球免疫血清ニ對スル沈降反應及ビ補體結合反應ヲ施行セリ。

Ford<sup>30)</sup>氏ハ抗血球家兎血清ハ蒸餾水ヲ以テ溶解セシメタル鶏血球蛋白ヲ沈降スト稱シ、Klein<sup>31)</sup>氏ハ馬血球腹腔内注射ニヨル家兎免疫血清ガ馬血球抽出液ヲ沈降スルコトヲ實驗セリ。余ハ血球免疫血清ノ血球ヲ抗原トシタル補體結合反應ニ對照シテ補體ヲ結合セル量ノ免疫血清ガ鶏血色素溶液ト沈降反應ヲ生ジ補體結合反應ヲ營ムヤ否ヲ檢セントス。

鶏血色素溶液ノ製法ハ東<sup>32)</sup>氏ニ從ヘリ。即チ新鮮

ナル鶏脫維血液ノ一定量ヲトリ6回以上生理的食鹽水ヲ以テ洗滌ヲ行ヒ充分血清ヲ除却シタル後生理的食鹽水ヲ以テ最初ノ血液量トシ、此洗滌血液ノ1分ニ對シテ8分ノ蒸餾水ヲ加ヘ溶解セシメタル後9%食鹽水1分ヲ加ヘテ等滲透壓トナシ強力ニ遠心沈澱シテ血球基質ヲ去リ其ノ上清液ヲ血色素1:10稀釋液トス。以後生理的食鹽水ヲ以テ稀釋セリ。血色素液ノ濃厚ナルモノハ赤色著シキノミナラズ、食鹽水ヲ以テスル對照ニ輪環ヲ呈スルコトアルヲ以テ對照ニ非特異性反應ヲ呈セザル量ヲ以テ檢査セリ。免疫

血清ニハ免疫血清第2號ヲ使用ス。

沈降反應ノ成績第7表ノ示スガ如ク、免疫血清原液ハ抗原稀釋沈降素價1:400ナレドモ、免疫血清ノ

1:10以上ノ稀釋ニ於テハ血色素1:100乃至1:2000

ト沈降反應ヲ現サズ。

第7表 血色素ヲ抗原トセル沈降反應

免疫血清 Nr. 2

| Hämoglobin<br>稀 釋 度 | 免 疫 血 清 稀 釋 度 |    |    |    |     |     |     |       |       |       |
|---------------------|---------------|----|----|----|-----|-----|-----|-------|-------|-------|
|                     | 1             | 10 | 25 | 50 | 100 | 250 | 500 | 1,000 | 2,500 | 5,000 |
| 1: 100              | ++            | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 200              | ++            | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 400              | +             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 800              | —             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 1000             | —             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 2000             | —             | —  | —  | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |

第8表 血色素ヲ抗原トセル補體結合反應

免疫血清 Nr. 2

| Hämoglobin<br>稀 釋 度 | 免 疫 血 清 稀 釋 度 |    |     |     |     |       |       |       |
|---------------------|---------------|----|-----|-----|-----|-------|-------|-------|
|                     | 25            | 50 | 100 | 250 | 500 | 1,000 | 2,500 | 5,000 |
| 1: 100              | —             | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 200              | —             | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 400              | —             | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 800              | —             | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 1000             | —             | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |
| 1: 2000             | —             | —  | —   | —   | —   | —     | —     | —     |

補體結合反應ノ成績ハ第8表ニ觀ラルガ如ク、免疫血清ノ1:25ヨリ1:5000マデノ量ハ沈降反應ニ於ケルト同様ニ血色素1:100ヨリ1:2000トノ結合ハ陰性ナリ。

即チ本實驗ニ據レバ、血球免疫血清ノ血色素ニ對スル沈降素ハ少量ナリ。Klein<sup>31)</sup>氏モ血球免疫血清ノ凝集素量ニ比シテ赤血球沈降素ノ少量ナルヲ認メタリキ。非特異性反應ヲ呈スルヲ以テ血色素ノ多量ヲ實驗ニ使用シ能ハザリシガ、1%乃至0.05%血球

浮游液ノ含有スル血色素ヲ用ヒ、0.5%血球浮游液及ビ0.05%血球浮游液ト補體結合反應及ビ血球凝集反應陽性ヲ呈シタル免疫血清ノ1:25乃至1:5000ノ量ニテ沈降反應及ビ補體結合反應ガ等シク陰性ナルヲ觀レバ、實驗第1ノ補體結合ニハ免疫血清ノ血色素ニ對スル沈降反應ハ關與セザルモノナリ。

之ヲ要スルニ、血球免疫血清ハ血球ヲ抗原トシテ反應ヲ營爲シタル量ニ於テ血色素溶液トハ沈降反應モ補體結合反應モ共ニ陰性ナリ。

## 實 驗 第 5

更ニ血球免疫血清ニ對シ血球基質ヲ反應抗原トシテ補體結合反應ヲ行ヘリ。

Nolf<sup>33)</sup>氏ハ鶏血球ヲ蒸餾水ニテ溶解セシメ食鹽水ヲ以テ洗滌シタル血球基質ヲ家兎ノ腹腔内ニ注射シ

テ免疫シ鶏血球凝集素ヲ得タリ。Stewart<sup>(34)</sup>氏ハ凝集原ハ血球基質ト結合スト云ヒ、Klein<sup>(31)</sup>氏ハ血球基質ヲ以テスル免疫ニヨリ血球凝集素ヲ產生セシメ血球基質ニ凝集原ノ存スルヲ認メタリキ。余ハ血球ニ對スル免疫血清ヲ用ヒ血球基質ヲ抗原トシテ補體結合反應ヲ施行シ、免疫血清ノ血球凝集反應及ビ血球ヲ抗原トシタル補體結合反應ト比較對照セントス。

新鮮ナル鶏脫纖維血液 5ccヲ 6 回生理的食鹽水ヲ以テ洗滌シ充分血清ヲ除去シ、之ニ 10 倍容量ノ蒸餾水ヲ加ヘ 1 晝夜氷室内ニ放置シ後 3 回蒸餾水ヲ以テ遠心洗滌シタル血球基質ヲ迅速ニ乾燥器内ニ乾カシ 0.5g 弱ノ乾燥血球基質ヲ得、之ヲ乳鉢ニテ粉末トナス。斯クノ如クシテ得タル鶏ノ血球基質ハ食鹽水ニ溶解シ難カリシヲ以テ苛性加里ヲ加ヘテ溶解セシ

メタリ。即チ 0.02% ノ割ニ苛性加里ヲ加ヘタル生理的食鹽水ヲ以テ血球基質ヲ溶解セシメ 0.5% 基質溶液ヲ作り、以後生理的食鹽水ニテ稀釋セリ。Kolmer<sup>(34)</sup>氏ニヨレバ苛性曹達ノ 0.0002g ハ 1:30 ノ補體 2 單位ヲ破壊スト。余ハ以上ノ如クシテ製シタル 0.5% 基質溶液ノ 1cc ハ抗補體作用ヲ有セシガ 0.1% 基質液ハ抗補體作用ヲ示サザル事ヲ確メ得タリ。依テ其ノ 1/2 抗原量即チ 0.0005g 以下ノ量ヲ用ヒテ補體結合反應ヲ行ヘリ。免疫血清ニハ新シク採血分離シタル免疫血清第 13 號ヲ 56°C 30 分加温非働性トシテ使用シ、先ヅ免疫血清ヲ遠降ノニ稀釋シ之ヲ分チタル試驗列ヲ 2 群トシ、基質ヲ抗原トスル補體結合反應ニ並列シテ等量ノ基質ヲ含有スベキ血球浮游液ヲ以テ血球凝集反應ヲ行ヘリ。

第 9 表 血球基質ヲ抗原トセル補體結合反應及ビ等量基質ヲ有スル

血球ノ凝集反應

免疫血清 Nr. 13

| 反 應    | 抗 原         | 免 疫 血 清 稀 釋 度 |    |    |     |     |     |     |       |       |       |        |        |
|--------|-------------|---------------|----|----|-----|-----|-----|-----|-------|-------|-------|--------|--------|
|        |             | 5             | 10 | 25 | 50  | 100 | 250 | 500 | 1,000 | 2,500 | 5,000 | 10,000 | 25,000 |
| 補體結合反應 | 0.05% 鶏血球基質 | —             | +  | +  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++    | +     | ±     | —      | —      |
|        | 0.005% “    | —             | —  | +  | +   | +   | +   | +   | +     | +     | +     | ±      | —      |
| 血球凝集反應 | 0.5% 鶏血球    | —             | +  | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++   | ++    | +     | —      | —      |
|        | 0.05% “     | —             | —  | +  | +   | ++  | ++  | ++  | ++    | ++    | +     | +      | —      |

其ノ成績ハ第 9 表ノ如ク、0.05% 基質ニ對シテハ免疫血清 1:10 ヨリ 1:5000 マデ、0.005% 基質ニ對シテハ免疫血清 1:25 ヨリ 1:10000 マデノ補體結合ヲ爲シ、同一免疫血清ハ 0.5% 血球浮游液ニ對シテハ血清稀釋 1:10 ヨリ 1:5000 マデ、0.05% 血球浮游液ニ對シテハ血清稀釋 1:25 ヨリ 1:10000 マデ血球凝集反應ヲ現ス。兩反應共ニ免疫血清濃厚部ノ反應ハ等シク阻止セラレ、抗原ト免疫血清トノ量ノ關係ニヨリテ其ノ度ヲ増減スルヲ見ル。

是レニ由テ觀レバ、血球基質溶液ハ血球ニ對スル免疫血清ト補體結合反應ヲ營ミ Neisser-Wechsberg 氏現象ヲ呈ス。其ノ結合阻止及ビ結合價ハ等量ノ基

質ヲ含有スベキ血球浮游液ノ示ス血球凝集阻止及ビ血球凝集價ト一致セリ。故ニ余ハ Nolf<sup>(33)</sup> 氏、Stewart<sup>(34)</sup> 氏及ビ Klein<sup>(31)</sup> 氏等ノ如ク血球基質ニ凝集原ノ存在ヲ認ムルト共ニ、血球基質ニ補體結合性抗原ノ存在ヲ認メントス。而シテ血球基質ヲ抗原トスル補體結合反應ニ於テモ、血球ヲ抗原トスル補體結合反應ニ等シキ關係ヲ示ス事ヨリ觀レバ、補體結合反應ノ Neisser-Wechsberg 氏現象ニハ免疫血清ト抗原トノ量ノ關係ニヨルモノモアルヲ疑フベカラズ。

即チ、血球基質ハ血球ニ對スル免疫血清ト共ニ基質ノ等量ヲ含有スベキ血球ノ示ス凝集反應ト一致スル補體結合反應及ビ反應阻止ヲ現出ス。

## 第 5 章 總括並ニ考按

敍上ノ實驗成績ヲ總括スレバ次ノ如シ。抗原及ビ溶血系統ノ適當量ヲトリテ，血球ヲ抗原トスル補體結合反應ヲ行ヒ得タリ。血球凝集反應ト條件ヲ等シカラシメテ行ヘル補體結合反應ニ於テ働性及ビ非働性免疫血清ハ血球凝集反應ト略ボー一致シタル反應度ヲ示シ，免疫血清濃厚部ニ Neisser-Wechsberg 氏現象ヲ現ス。而シテ該現象部ニ於ケル補體ハ溶血系ノ追加前遊離セリ。血球ニ對スル免疫血清ノ血球ヲ抗原トセル補體結合反應及ビ血球凝集反應ヲ營爲スル範圍ノ免疫血清量ニ於テハ血清及ビ血色素溶液トノ補體結合反應及ビ沈降反應ハ等シク陰性ナリシガ，血球基質溶液ヲ反應抗原トスレバ其ノ等量ヲ含有スベキ血球ノ示セル凝集反應ト一致シタル補體結合及ビ結合阻止ヲ發現セリ。之等反應ハ總テ抗原及ビ免疫血清ノ量的關係ニ影響セラレ，Neisser-Wechsberg 氏現象ノ發現ニ抗原及ビ免疫血清ノ量的關係ニヨルモノアルヲ見タリ。

Neisser-Wechsberg 氏現象ノ成立機轉ニ關シテハ多數學者ノ見解著シク異ナリ，未ダ歸一セリト言フベカラズ。其ノ説明頗ル多岐ニ亙リ著者ト共ニ意見ヲ異ニスルニ近シ。即チ本現象ノ成因ニ關シテ最モ代表的ナル Neisser u. Wechsberg<sup>1)</sup> 氏ノ假說ニヨレバ，免疫血清濃厚部ニ於テ過剰ナルベキ双攝體ハ一部細胞ト結合シ，補體，細胞及ビ双攝體ノ 3 者連結ニ必要ナル補體ハ轉向シテ双攝體トノミ結合スト稱スレドモ，双攝體ガ細胞ト結合シ補體ハ細胞ト結合シ能ハザル双攝體ト結合ストイフ想像ハ双攝體ガ過剰ナルトキ特ニ細胞ニ對スル結合カノミヲ增強スルモノト假定セザレバ了解スル能ハズ。從テ本說ニ賛スル者アリト雖モ (Lipstein<sup>4)</sup>, Morgenroth<sup>6)</sup> 氏)，抗補體說，變性補體說，特殊免疫體說，特殊脆弱說，解離說等々，出デテ論鋒益々分レ，或ハ血清ノ有スル抗補體性ニヨリ (Gruber<sup>2)</sup>, Metschnikoff<sup>3)</sup>, 鈴木，後藤及ビ平田<sup>14)</sup> 氏等)，或ハ變性補本ニヨリ (Brekke<sup>9)</sup> 氏)，或ハ特殊免疫體ノ產生ニヨリ (Levaditi<sup>5)</sup>, Thjøtta<sup>10)</sup> 氏)，或ハ免疫原ニ含有セラルル血清蛋白ニ對スル沈降素ニヨリ (Gay<sup>7)</sup> 氏)，或ハ溶血性血清濃厚部ニ現ルル凝集反應ニヨリ (由利<sup>17)</sup> 氏)，或ハ免疫血清ニヨリ與ヘラレタル抗原表面ノ表化ニヨリ (Sormani<sup>8)</sup> 氏)，或ハ抗原ヨリ抗體ノ解離スル事ニヨリ (Pandit<sup>11)</sup> 氏)，或ハ免疫血清ヲ以テ感作飽和セラレタル抗原自己ガ補體ヲ吸收セザル事ニヨリ (草間<sup>12)</sup> <sup>13)</sup> 氏)，抗原，抗體及ビ補體ノ結合セラレザル所以ガ論ゼラルルニ至レリ。

然レドモ之等ノ說ト異ナリ Buxton<sup>18)</sup> 氏ガ膠質反應及ビ他種免疫反應ノ阻止現象ニ引證シテ，本現象ノ成因ヲ抗原＋抗體，補體，水，非働性血清成分等反應物質間ノ量比ニヨルモノト想像セシ假說ハ余ノ首肯スルニ最も近キモノニシテ，余ノ實驗ハ抗原ト免疫血清トノ量的關係ニヨリテ兩者ノ結合阻止セラルルトキ補體モ亦之ニ結合セザル事ヲ示セリ。

故ニ余ハ余ノ實驗成績ニヨリ本現象ノ本態ヲ斷定シ，殺菌，溶血，喰菌反應等ニ於ケル諸說ヲ否定シ去ラントスルニ非レドモ，Neisser-Wechsberg 氏現象ノ成因ニ反應物質間主トシテ免

疫血清ト抗原トノ量的關係ニヨルモノノ存スルヲ信ズルモノナリ。

## 第 6 章 結 論

- 1) 抗原及ビ溶血系統ノ適當量ヲトリテ、血球ヲ抗原トスル補體結合反應ヲ施行シ得。
- 2) 家兎正常血清ハ抗原ニ對シテ正常凝集反應ヲ呈スルモノト雖モ同様ノ方法ヲ以テ補體結合反應ヲ營爲セズ。
- 3) 新鮮働性及ビ56°C 30分加溫セル非働性免疫血清ヲ用ヒタル補體結合反應ニ於テ Neisser-Wechsberg 氏現象ヲ認ム。
- 4) 血球凝集反應ト同一條件ノ下ニ補體結合ヲ行ヘバ、凝集阻止部ニ加ヘラレタル補體ハ遊離ノ狀態ニ在リ。
- 5) 補體結合阻止ハ血球凝集阻止ト一致シ、補體結合價ハ血球凝集價ト一致又ハ半減ス。
- 6) 免疫血球凝集血清ハ本試験ニ用ヒタル量ニ於テ血清及ビ血色素ト補體結合セズ、同様ノ免疫血清量ニテ沈降反應モ亦陰性ナリ。
- 7) 血球抗原ノミナラズ血球基質ヲ以テスル溶解性抗原ハ、基質ノ血球相等量ニ於テ血球凝集反應ト一致スル體補結合及ビ結合阻止ヲ示ス。
- 8) 血球及ビ血球基質ヲ抗原トスル補體結合反應ト血球凝集反應トノ結合及ビ結合阻止ニハ抗原及ビ免疫血清ノ量的相互關係ガ重要ナリ。即チ免疫血清ノ少量部ニ於テハ抗原ノ増加ニヨリ結合阻止セラレ、免疫血清ノ多量部ニ於テハ抗原ノ減量ニヨリ結合阻止ハ增強ス。
- 9) 故ニ Neisser-Wechsberg 氏現象ノ成立ニ免疫血清ト抗原トノ量的關係ニヨルモノノ存スルコトヲ補遺セント欲ス。

稿ヲ終ルニ臨ミ、懇篤ナル御指導ト御校閲トヲ賜リタル恩師緒方教授ニ謹ミテ衷心感謝ノ意ヲ表ス。

(本論文ノ要旨ハ昭和5年10月岡山醫學會通常會ニ發表セリ)

## 引 用 書 目

- 1) Neisser u. Wechsberg, Münch. med. Wochenschr., Nr. 48, S. 697, 1901.
- 2) Gruber, Wien. klin. Wochenschr., Nr. 14, S. 1244, 1901.
- 3) Metschnikoff, zit. n. Lipstein.
- 4) Lipstein, Centralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 40, S. 133, 1905.
- 5) Levaditi, zit. n. Sormani.
- 6) Morgenroth, Centralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 35, S. 501, 1904.
- 7) Gay, Ann. de l'Inst. Past., T. 19, p. 593, 1905.
- 8) Sormani, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. Bd. 24, S. 336, 1916.
- 9) Brekke, cit. by Thjøtta.

- 10) *Thjotta*, Journ. of Immunol., Vol. V, p. 1, 1920. 11) *Pandit*, Journ. of Hyg., Vol. 21, Nr. 4, p. 406, 1923. 12) 草間, 細菌學雜誌, 第339號附錄, 27頁, 大正13年. 13) 草間, 醫事公論, 第649號, 13頁, 大正13年. 14) 鈴木, 後藤, 平田, 臺灣醫學雜誌, 第258號, 841頁, 大正15年. 15) 由利, 日本微生物學病理學雜誌, 第22卷, 第7號, 1389頁, 昭和3年. 16) 由利, 日本微生物學病理學雜誌, 1403頁, 昭和3年. 17) 由利, 日本微生物學病理學雜誌, 1415頁, 昭和3年. 18) *Buxton*, Journ. of Med. Research, Vol. XIII, p. 431 & 461, 1905. 19) 緒方教授, 第1回衛生學微生物學寄生蟲病學聯合學會講演. 20) *Michaelis*, Berl. klin. Wochenschr., Nr. 35, S. 1107, 1907. 21) *Schilling u. Hoesslin*, Deutsch. med. Wochenschr., Nr. 33, S. 1422, 1908. 22) *Kolmer & Casselmann*, Journ. of Med. Research, Vol. 28, p. 369, 1913. 23) *Kolmer & Trist*, Journ. of Infect. Dis., Vol. 18, p. 20, 1916. 24) *Kolmer*, Serum Diagnosis by Complement-Fixation, 1928. 25) *Sachs u. Georgi*, Klin. Wochenschr., S. 880, 1923. 26) *Davesne et Sanchez*, Centralbl. f. Bakt., Ref. Bd. 97, S. 147, 1930. 27) *Futamura*, Ebenda, S. 171. 28) *Eisenberg u. Volk*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 155, 1902. 29) 吉田, 北海道醫學雜誌, 第7年, 第6號, 810頁, 昭和4年. 30) *Ford*, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 363, 1902. 31) *Klein*, Centralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 39, S. 303, 1905. 32) 東, 國家醫學雜誌, 第418號, 539頁, 大正10年. 33) *Nolf*, Ann. de l'Inst. Past., T. XIV, p. 295, 1900. 34) *Stewart*, Americ. Journ. of Physiol., Vol. XI, p. 250, 1904.
-