THE 0° C METHOD OF COMPLEMENT BINDING REACTION WITH ANTIGEN OF LECITHIN, KEPHALIN AND EMULSION OF LEPROUS TISSUE

Toshio Yoshinaga.

National Leprosanatorium Kikuchi-Keifue

1) The antigen of kephalin from bovine brain and lecithin from yolk decreased or extinguished the reaction more remarkably at 0° C than at 37° C, but with syphilitic serum it caused no decreased.

2) The same fact was recognized when emulsions of human or murine leproma with salt solution, or its alcohol or ether abstract was used, instead of the antigen above mentioned.

癩血清の補体結合反應

第6報 Lecithin, Kephalin 及び癩組織乳劑を抗原とする零度法

国立療養所菊池恵楓園 厚生技官

吉 永 敏 夫

〔本論文の一部の要旨は第18回日本生化学会（昭和17年11月、於名古屋市）に於て報告したが、其他の部分はその後の研究に據る。なお本研究の大部は熊本医大生化学教室において行い、爾他の一小部分は菊池恵楓園にて行つたものである。〕

緒 言

零度法は既に古く田宮（昭和8年）によつて見出されたる事実であつて、術式を Browning 法により、梅毒血清について Wassermann 反應を行えば、37°Cにおいても0°Cにおいてこれを行うもあまり差違がなく、然るに癩血清についてこれを行えば0°Cにおいては37°Cの場合より著しいはつきりした反應の減弱乃至消失を見るというのである。この零度法については多くの追試が行われたが、田宮（前出）と共に本反應の創見者の一人である村田正太先生の奨めもあり、余もまたこれを行ひこの事実を確認することが出来た。

更にまた熊本医大生化学教室において故加藤教授の指導により、Lecithin および Kephalin を抗原とした場合に本零度法が如何なる結果を示すかを觀察し、その一部を夫々前記の第15回日本生化学会總會（昭和18年）に報告し、また本報告第2報（昭和19年）にも書いた。

然るにその後余は癩血清の補体結合反應を続け、この零度法を癩組織即ち人類結節乃至鼠類肉芽腫の乳劑を抗

原とする補体結合反應の場合に試み如何なる結果が得らるかと云う点に興味を抱き実験を重ねた。

次にこの実験中、その癩組織（人類結節、鼠類肉芽腫）の Alcohol 抽出液乃至 Aether 抽出液を抗原とする実験が必要であることを感じた。

そこで余は本稿において（1）Wassermann 抗原による零度法の追試、次にこの基礎のうえに立つて（2）Lecithin および Kephalin を抗原とする零度法を記載し、次にその後の研究たる（3）人類結節乳劑、鼠類肉腫を抗原とする零度法と（4）人類結節、鼠類肉芽腫の Alcohol 乃至 Aether 抽出液を抗原とする零度法について報告したいと思う。

實 験

第1章 Wassermann 抗原, Lecithin 及び Kephalin を抗原とする補体結合反應の零度法

（第18回日本生化学会總會の席上において述べたもの）

余は卵黄および牛腦の Lipoid たる Lecithin および Kephalin の補体結合反應の抗原としての性格を追究する目的を持つてこの実験に志した。本実験は零度法なる方法を以て觀察するのである。Wassermann 反應の場合は既定の通りであり之は対照として行つて比較した。

術式および抗原について詳述すれば次の通りである。

(I) 術式 Browning 法による。零変法を觀察するにはこの方法でなければならない。

(II) 抗原 Lecithin は卵黄-Lecithin を用い 0.2% 食塩水溶液をつくり, Kephalin は牛腦-Kephalin を用い 0.1% 食塩水溶液としたもの。これ等の調製法は本報第1報(昭和19年)に詳細に書いておいた。この場合に Lecithin は P/N=91.0/100, Kephalin は Amino-N/總 N=73.6/100 であった。その抗原としての用い方は自家溶血作用, 抗補体作用, 抗原能力の三個の前試験を経て使用量を定めた。

実験成績は第1表(a)(b)および第2表に示す。癩血清の場合は Wassermann 反應陽性なるもの第1表(a)と陰性なるもの同じく(b)とに分けて觀察してみた。

第1表(a) 癩血清の場合

(W. R. = +)

試験 番号	病 型	患者 氏名	抗 原	37° C 法 補 体 単 位						0° C 法 補 体 単 位					
				2	4	6	8	10	対照	2	4	6	8	10	対照
1	L	T ・ F	W-A Leci. Keph.	++	+	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
2	L	T ・ K	W-A Leci. Keph.	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
3	N	M ・ N	W-A Leci. Keph.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	L	F ・ Y	W-A Leci. Keph.	+++	++	+	-	-	-	++	+	-	-	-	-
5	N	S ・ T	W-A Leci. Keph.	++	+	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
6	L	T ・ N	W-A Leci. Keph.	+++	++	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
7	L	H ・ H	W-A Leci. Keph.	+++	+++	++	+	-	-	+++	++	-	-	-	-
8	L	N ・ M	W-A Leci. Keph.	+++	+++	++	+	-	-	++	-	-	-	-	-
9	L	S ・ I	W-A Leci. Keph.	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	N	G ・ Y	W-A Leci. Keph.	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

第1表(b) 癩血清の場合

(W. R. = -)

試験 番号	病 型	患者 氏名	抗 原	37° C 法 補 体 單 位					0° C 法 補 体 單 位						
				2	4	6	8	10	対照	2	4	6	8	10	対照
1	L	F ・ Y	W-A Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	N	M ・ Y	W-A Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	L	M ・ N	W-γ Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	L	S ・ N	W-A Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	L	M ・ Y	W-A Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	L	Y ・ H	W-A Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—
7	L	H ・ F	W-A Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	N	K ・ F	W-A Leci. Keph.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

備考 W. R. = Wassermann 反應,
W-A = Wassermann 抗原,
Leci. = Lecithin, Keph. = Kephalin
++ = 非溶血, + = 溶血 (程度小なるもの),
+ = 溶血 (程度大なるもの),
- = 完全溶血, (第2表以下もこれに準ず)

第2表 微毒血清の場合

試験 番号	病 型	患 者 氏 名	抗 原	37° C 法 補 体 單 位						0° C 法 補 体 單 位					
				2	4	6	8	10	対照	2	4	6	8	10	対照
1	—	T・F	W-A Leci. Keph.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	K・S	W-A Leci. Keph.	++	+	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—
3	—	M・H	W-A Leci. Keph.	+++	+++	+++	+++	++	—	—	+++	+++	+++	++	—
4	—	K・M	W-A Leci. Keph.	++	++	—	—	—	—	—	+++	++	—	—	—

5	—	A O	W-A Leci. Keph.	+++ + — — +++ + — — — — — — —	+++ + — — +++ + — — — — — — —
6	—	M S	W-A Leci. Keph.	+++ + — — +++ + — — — — — — —	+++ + — — +++ + — — — — — — —
7	—	M H	W-A Leci. Keph.	+++ + — — +++ + — — — — — — —	+++ + — — +++ + — — — — — — —
8	—	M K	W-A Leci. Keph.	+++ + — — +++ + — — — — — — —	+++ + — — +++ + — — — — — — —
9	—	S H	W-A Leci. Keph.	+++ + — — +++ + — — — — — — —	+++ + — — +++ + — — — — — — —
10	—	U H	W-A Leci. Keph.	++ + — — — ++ + — — — — — — — —	++ + — — — ++ + — — — — — — — —
11	—	M T	W-A Leci. Keph.	+++ + — — +++ + — — — — — — —	+++ + — — +++ + — — — — — — —

以上の三つの表によつて次に挙げる事実を判然認めらる。即ち Wassermann 反應は零度法によると微毒血清は著しき変化はないが、癩血清は反應の減弱乃至消失が認められ、この事實は Lecithin または Kephalin を抗原とする補体結合反應においても同様である。

〔附記 1〕微毒血清の場合には Kephalin を抗原とする補体結合反應は陽性に出ないから、この場合は零度法の研究対象とはならない。

〔附記 2〕微毒血清は Wassermann 反應または Leci. 抗原のとき零度法にて完全に陰性化するという訳ではない。

〔附記 3〕前表に掲げた実験例は一部を示したもので第 1 表 (a) は実験例は 25 中 10 例、同じく (b) は 16 例中 8 例、第 2 表は 19 例中 11 例を示した。割愛したものにも同じ傾向が認められた。

〔附記 4〕癩血清の零度法における反應の消失乃至減弱度と病型との間にははつきりした相互関係は認め得ない。

第 2 章 人癩結節乳剤及び鼠癩肉芽腫乳剤を抗原とする補体結合反應の零度法

(前記学会以後の新しき研究によるもの)

前記の通り Lipoid を抗原とする場合に零度法が興味ある実験成績を示したもので、次に癩組織の食塩水乳剤を抗原とする場合に如何なる結果を収めるか更に期待を

以つて觀らるるに至つた。即ち癩血清について補体結合反應を行う時は單に Lipoid のような非特異反應に止らず、本来の抗原抗体反應として、反應の機序にも觸れることになるので人癩結節、更に鼠癩肉芽腫食塩水乳剤を抗原として実験を行った。

抗原として用いた人癩結節乳剤は新鮮な結節の 20 倍生理食塩水浮遊液である。鼠癩肉芽腫乳剤についても同様である。

実験成績は第 3 表 (癩血清の場合) および第 4 表 (微毒血清の場合) に示す。

第 3 表 癩血清の場合 (省略)

第 4 表 微毒血清の場合 (省略)

今省略した第 3, 4 表では癩組織たる人癩結節食塩水乳剤および鼠癩肉芽腫食塩水乳剤を抗原として零度法を行つた場合には、先ず微毒血清では反應に変化なく、癩血清では反應の減弱乃至消失を來すことを示している。即ち Wassermann 反應, Lecithin 並に Kephalin を抗原とする補体結合反應と同様の結果を示した。

第 3 節 人癩結節 Alcohol 抽出液及び鼠癩肉芽腫 Alcohol 抽出液を抗原とする補体結合反應の零度法

前章の実験成績を更に確実にするために本章の実験を行った。即ち零度法が Lipoid による非特異反應に關聯するところが考えらるるので本章においては癩組織の Alcohol 抽出液をとり、これを抗原として零度法を行つた。

即ち人癩結節 Alcohol 抽出液は結節の新しいものをとり出し、鋭利な鉋にて細切し、乳鉢にて磨細した後、これに 10 倍量の無水 Alcohol を加え、エーレンマイエルコルベンの中に容れて 1 晝夜氷室中に放置して抽出した。それを濾紙にて濾したものを抗原とする。

鼠癩肉芽腫 Alcohol 抽出液も如上の方法でつくつた。

これ等のものを抗原として零度法を行つた結果は第 5 表 (癩血清の場合) および第 6 表 (微毒血清の場合) に示す。

第 5 表 癩血清の場合 (省略)

第 6 表 微毒血清の場合 (省略)

この場合も実験の結果は、これ迄第 1 章乃至第 2 章において経験したと同じ成績を収めた。即ち癩血清は零度法によつて反應の減弱、消失に向う傾向著しく、微毒血清はあまり影響を受けない。

〔附記〕癩組織 Aether 抽出液を抗原とする補体結合反應の零度法 (67 頁へ続く)