原 著

血清免疫學的諸反應の個體差と
その相互關係に關する實驗的研究 (第一報)

The research on the differences of various sero-immunological reactions
and their coordinatng relations (1st report)

日本醫科大學小兒科學教室 (主任木田文夫教授指導)

研究生 醫學士 吉 澤 友 彦
Yoshizawa Tomohiko

I. 緒 言

諸種の血清學的反應に個體的差異のあることは周知の事實であるが、諸反應の個體的差異とその相互關係を、系統的に研究した業績は殆んどない、熊本大學體質研究所の慶松氏は結核菌に對する血清學的反應の個體的現象を實驗的に研究報告してゐる、また同所の中山氏は、チフス、パラチフス混合ワクチン豫防接種による人體の凝集素產生及び B, C, G 接種によるツベルクリン皮内反應の個體的現象を報告してゐる。

著者はコレラ原型菌、腸チフス菌、山羊血球を用いて、同一家兎を同一の操作によつて免疫し、凝集反應を行ひ、その反應の程度と、經過曲線について、個體差とその相互關係について實驗的に研究したのでここに報告する。

II. コレラワクチンによる
凝集反應の個體差

血清學上の一新反應として Gruber u. Durham 及び Widal 諸氏によつて凝集反應が闡明されてより現今にいたるまで、多數の實驗的研究が行はれた、松尾、下村兩氏は、コレラ菌の免疫學的研究に際して特に留意することは凝集反應試験に用いる反應原の選定であつて、死菌を以てすることは、滅菌方法の如何をとはず不當なりと述べてゐる、即ちこの場合コレラ菌はその特異免疫血清に對する被凝集性に著しい變化を來す場合多く、しかもその變化の程度は、反應原を調製する都度動搖して一定せず、之に加へてコレラ菌の特發凝集性を増強する弊があると述べてゐる。

しかし乍ら著者は、本實驗に於ては動物の個體の障害を可及的少くし、以て今後の諸反應に支障のない様にする目的を以て、死菌免疫を以て同一の抗原と、量および同一の操作を用いて長期間にわたつて觀察した。

I. 實驗材料並に實驗方法

(1) 使用動物、體重 2500—3000 g の雌雄白色家兎を撰び、年令的の差異を除き、購入に際しては同一血統のものをさけ、各方面より一匹ずつ購入した、飼育には特に留意し、採光、通風をよくし、飼料量もすべての動物で毎日一定した、そして以下各章の實驗に對して同一家兎にて實驗し、個體差の相互關係を研究した。

(2) 使用菌、傳染病研究所保存のコレラ本型菌の分譲をうけて實驗に供した。

(3) 菌浮遊液の調製、普通寒天培養基に上記のコレラ本型菌 24 時間培養のものを生理的食鹽水 1 c.c. 中に 2 mg の割合にて混和し、平等なる浮遊液となし、60°C 湯槽中に 1 時間殺菌して實驗に用いた。

(4) 前記菌浮遊液 0.5 c.c. (菌量 1 mg) を家兎 (No.1—No.11) の耳靜脈に注射した、注射前日、及び注射後、3 日、5 日、7 日……と順次日をおいて、101 日日間採血して、凝集反應を試みた。

(5) 凝集反應術式、採血した血液より血液を分離し、56°C、30 分間、非動性となし、血清稀釋は 20 倍より始め、二倍連續稀釋法を用いた、診斷液として、前記浮遊液を、駒込ビベットにて一滴ずつ滴下し、37°C 孵卵機中に 2 時

間入れ、後之を室温に放置して翌日判定した、成績の判定には主として凝集鏡を使用した。

第1表 コレラ ワクチン1回注射による凝集価

検査月日	注 射 後 数	No.1	No.4	No.5	No.6	No.7	No.10	No.11
12月1日	0	0	0	0	0	0	0	0
5日	3	20×	20×	40×	20×	40×	20×	0
7日	5	320×	640×	20×	20×	640×	40×	640×
9日	7	1280×	160×	1280×	80×	640×	40×	160×
12日	10	2560×	2560×	2560×	640×	2560×	2560×	20×
14日	12	40×	20×	40×	640×	20×	20×	320×
16日	14	1280×	80×	20×	640×	40×	80×	20×
19日	17	20×	20×	20×	20×	20×	40×	640×
24日	22	320×	80×	640×	20×	20×	80×	160×
29日	27	640×	640×	320×	320×	640×	320×	80×
1月4日	33	2560×	640×	640×	1280×	320×	1280×	640×
11日	40	160×	160×	160×	80×	320×	160×	320×
18日	47	40×	40×	80×	40×	80×	80×	80×
25日	54	80×	20×	40×	20×	20×	40×	80×
2月1日	61	20×	40×	40×	20×	20×	80×	20×
10日	71	40×	40×	40×	20×	20×	20×	20×
20日	81	40×	80×	20×	80×	40×	40×	80×
3月3日	91	0	40×	0	0	40×	20×	80×
14日	101	0	0	0	0	0	0	0
強弱の順		1.	4.	2.	6.	3.	5.	7.

コレラ ワクチン1回注射による凝集価曲線

(6) 實驗成績 101 日間にわたる凝集價の消長の曲線より綜合判斷して凝集價の強弱の状況をくらべると、次の如き結果となつた。

- 比較的凝集反應の強く現れた家兎—1, 5, 7
比較的凝集反應の中程度に現れた家兎4, 10
比較的凝集反應の弱く現れた家兎—6, 11

III. 腸チフスワクチンによる

凝集反應の個體差

腸チフス菌にかぎらず殆んどすべての免疫血清をつくるにあたり、家兎の個體により、免疫價の異なることは日常我々の經驗するところであるが、又臨床上ウィダール反應が個人により種々の凝集價を示すことも周知の事實である、又凝集價の比較を論ずるとき、幾匹かの被檢動物の平均を出して論じてあるのが常である、例へば Topley and Wilson の成書に *B. Paratyphosum B.* の 1 回注射による家兎凝集價の曲線を圖示しており、又種々の濃度のワクチン量によつて產生される抗體の差異を表示してゐるが、個體により同一操作でも差異があることを暗示してゐる、本實驗に於ては普通免疫量を 1 回注射して、日を追つて凝集價曲線を求め、

その個體差を觀察した。

I. 實驗材料並に實驗方法

- (1) 使用動物前章に同じ。
- (2) 使用菌 日本醫科大學細菌學教室保存のチフス菌の分譲をうけて實驗に供した。
- (3) 腸チフスワクチンの調製、腸チフス菌普通寒天 24 時間培養を行ひ、1 c.c. の食鹽水に 1/4 mg を浮遊させよく混和し、60°C、1 時間溫槽中にて加熱して 0.5% の割にカルポールを加へた。
- (4) 成作方法 前記ワクチン 1 c.c. を夫々家兎 (No.1—No.11) の耳靜脈に注射した、注射前及び注射後 3 日 5 日 7 日……107 日と日を追つて長期にわたり採血して、凝集反應を試みた。
- (5) 凝集反應術式 採血した血液より血清を分離し、型の如く處理し、血清稀釋は 20× より始め、二倍連續稀釋法を用ひた。診斷液として 1 c.c. 中 2 mg のチフスワクチンを駒込ビベットにて、1 滴づつ滴下し、37°C 孵卵機中に 2 時間入れ、後之を室溫に放置して翌日判定した、成績の判定には主として凝集鏡を使用した。

第 2 表 腸チフス ワクチン 1 回注射による凝集價

檢査月日	注射後日数	No.1	No.4	No.5	No.6	No.7	No.10	No.11
4 月 3 日	0	80×	80×	80×	80×	80×	40×	80×
6 日	3	1280×	1280×	640×	640×	640×	1280×	1280×
10 日	7	1280×	320×	1280×	1280×	5120×	640×	2560×
13 日	10	5120×	2560×	2560×	5120×	10240×	10240×	5120×
16 日	13	5120×	2560×	5120×	1280×	2560×	5120×	2560×
20 日	17	2560×	5120×	5120×	5120×	5120×	2560×	2560×
24 日	21	5120×	1280×	2560×	5120×	5120×	1280×	1280×
28 日	25	2560×	1280×	2560×	2560×	5120×	2560×	1280×
5 月 2 日	29	2560×	2560×	1280×	2560×	2560×	2560×	2560×
8 日	35	1280×	640×	320×	320×	320×	320×	640×
13 日	40	1280×	320×	640×	640×	640×	80×	320×
19 日	46	640×	1280×	2560×	2560×	2560×	1280×	1280×
26 日	53	1280×	640×	640×	2560×	1280×	640×	320×
6 月 1 日	59	1280×	640×	1280×	1280×	1280×	1280×	640×
8 日	66	1280×	2560×	2560×	2560×	2560×	1280×	2560×
15 日	73	2560×	2560×	5120×	5120×	5120×	1280×	2560×
22 日	80	2560×	1280×	1280×	2560×	2560×	1280×	2560×
29 日	87	2560×	1280×	2560×	2560×	2560×	2560×	2560×
7 月 6 日	94	2560×	2560×	2560×	2560×	2560×	1280×	2560×
14 日	101	2560×	2560×	1280×	2560×	2560×	640×	1280×
20 日	107	2560×	2560×	1280×	1280×	2560×	640×	1280×
強弱の順		3	4	6	2	1	5	7

4727742 | 同注射による凝集価消長曲線

IV. 実験成績

107 日間にわたる凝集価の消長曲線を総合判断して、凝集価の強い弱いを比較すると、次のようになった。

比較的凝集反応の強く現れた家兎—7, 6, 1

比較的凝集反応の中程度に現れた家兎—4, 10

比較的凝集反応の弱く現れた家兎—5, 11

V. 山羊血球による凝集反応の個體差

一般に血球に対する凝集素血清を作製するにあたっては、抗原を 4—6 回動物に注射して所要の價のある抗血清を得て、各種實驗に供するのを常とする、血球凝集素に於ては從來多くの研究者にとり、抗原注射回数は、要は單に高價な凝集価を得ることのみに他に特別な意義をもたない、しかし乍ら注射回数を多數反復増加すれば必ずしもその凝集価を著しく高價ならしめるものでないことは何人も識つてゐる處である

著者はその 1 回免疫を以て、その個體差を検した。

1. 實驗材料並に實驗方法

(1) 使用動物 前章に同じ

(2) 山羊血球浮遊液の調製

山羊血液をビーカーにとり、ガラス玉を入れてよく廻轉して纖維素をとりのぞく、之をスピッツグラスにとりて生理的食鹽水を加へて遠心沈澱する、上清が透明となるまで之をくりかへす之を 1 分間 2500 廻轉で 5 分間遠心沈澱して、その血球沈澱物を 5% の割合に生理的食鹽水に混じて、血球浮遊液となす。

(3) 5% 山羊血球浮遊液 5 c.c. を家兎 (No. 1—No. 11) の耳靜脈に注射した、注射前日及び注射後 3 日、5 日、7 日……110 日と順次日を追つて採血して、凝集反應を試みた。

(4) 凝集反應術式、採血した血液より血清を

分離して、之を 56°C. 30 分間温槽中に入れて非動性とした、血清稀釋は 20 倍より始め、二倍連續稀釋法を用ひた、診斷液として、前記血球浮遊液を駒込ピペットにて一滴づつ滴下して

37°C. 孵卵機中に 2 時間入れ、後之を室温に放置して翌日判定した、成績の判定には主として凝集鏡を使用した。

第 3 表 山羊血球 1 回注射による凝集價

検査月日	注射後 日 数	No.1	No.4	No.5	No.6	No.7	No.10	No.11
2 月 5 日	0	0	0	0	0	0	0	0
2 月 10 日	4	80×	80×	160×	160×	80×	80×	80×
13 日	7	160×	160×	320×	320×	160×	80×	30×
16 日	10	160×	160×	1280×	1280×	160×	320×	40×
20 日	14	320×	20×	2560×	120×	40×	320×	40×
23 日	17	320×	640×	1280×	1280×	80×	320×	40×
27 日	21	320×	640×	1280×	2560×	160×	1280×	1280×
3 月 3 日	25	160×	20×	640×	1280×	40×	80×	40×
8 日	30	80×	20×	160×	160×	20×	80×	20×
14 日	36	80×	20×	640×	320×	40×	320×	40×
14 日	36	80×	20×	640×	320×	40×	320×	40×
20 日	42	80×	160×	160×	160×	160×	160×	160×
27 日	49	40×	20×	80×	80×	40×	80×	40×
4 月 3 日	56	40×	20×	80×	80×	80×	40×	20×
10 日	63	20×	0	40×	0×	40×	40×	20×
17 日	70	20×	0	40×	80×	40×	40×	40×
24 日	77	20×	0	20×	40×	0	40×	20×
5 月 2 日	85	0	0	20×	40×	0	0	0
13 日	96	0	0	20×	40×	0	0	0
20 日	103	0	0	0	20×	0	0	0
27 日	110	0	0	0	0×	0	0	0
強弱の順		6	4	2	1	7	3	5

(5) 實驗 成績

110 日間にわたる凝集價の消長曲線より綜合判斷して、凝集價の強弱の狀況を配列すると次の如き結果を得た。

- 比較的凝集反應の強く現れた家兎—6.5
- 比較的凝集反應の中程度に現れた家兎—10.4
- 比較的凝集反應の弱く現れた家兎—11.1.7

VI. 總 括

以上三種の凝集反應の 100 日以上にわたる消長曲線より綜合判斷して、コレラワクチン、チフスワクチン、山羊血球などに對する家兎（番號）1, 4, 5, 6, 7, 10, 11 の各々の、凝集反應の起りかたの強さ弱さを總括して比較すれば、第四表のやうになる。

第 4 表

	比較的 強反應	比較的中 程度反應	比較的 弱反應
コレラワクチン	1, 5, 7	4, 10	6, 11
チフスワクチン	7, 6, 1	4, 10	5, 11
山 羊 血 球	6, 5	10, 4	11, 1, 7

之等強度、中程度、弱度の區別は勿論程度の問題であつて、嚴重に境をつけることはできない、併し全日數の経過を綜合して比較すると程度の差はかなり明かだと申してよろしい。

VI. 結 論

以上を考案すれば、次の結論がえられる。

- a) どの凝集原に對しても、いつも比較的中程度の凝集反應を呈した家兎（4, 10）がある。

山羊血球 | 同位射による凝集度曲線

b) どの凝集原に對して，いつも比較的弱度の凝集反應しか示さなかつた家兎(11)がある。

c) コレラワクチン及び腸チフスワクチンに對しては，いつも比較的強度の反應を呈した家兎(1, 7)がある。併し之等は，山羊血球に對しては反つて弱度の凝集反應を示した。

d) コレラワクチンと山羊血球に對しては比較的強度の凝集反應を呈し，チフスワクチンに對しては，反對に弱度の反應を示した家兎(5)がある。また一方，チフスワクチンと山羊血球に對しては比較的強度の反應を呈し，コレラワクチンに對しては反對に弱度の反應を示した家兎(6)もある。

以上の凝集反應の強弱の傾向は，家兎の外的な環境條件によると思はれるやうな要素は極力のぞいて實驗したもので，だいたいにて，細體差の現象によるところが多いと考へてよいと思われる。

擧筆するに當り，終始御懇切なる御指導と御校閱を賜つた恩師木田教授に，深甚なる感謝を表すると共に，色々御助言と御援助を賜つた中村敬三教授に謝意を表す。

(本論文の要旨は昭和 25 年 11 月第 18 回日本醫科大學醫學會に於て報告した。)

主 要 文 摘

- (1) 諸方 富雄 血清學實驗法
- (2) 中村 豊 細菌學血清學検査法

- (3) 木田 文夫 體質醫學 (1947)
- (4) 慶治 洋三 同仁會雜誌19卷1號(昭和20年1月)
- (5) 秋元壽江夫 血清學免疫學雜誌 1(4) (1940)
- (6) 秋元壽江夫 血清學免疫學雜誌 1(1) 3(2)
(1940, 1942)
- (7) Forsman: Bioch Zeitsch Bd. 37 s. 104. (1911)
- (8) Topley and Wilson: Principles of Bacterial
and Immun. Ⅱnd.
- (9) 野邊地慶三 日本傳染病學會雜誌 第9卷, 7號
- (10) 杉尾一士 下村八五郎 臺灣醫學會雜誌 第35卷
第2號
- (11) 岸 憲夫 日本醫學會雜誌 第9卷, 第7號
- (12) 岸 憲夫 血清學免疫學雜誌 第3卷, 第1號
- (12) 牧野 久吉 朝鮮醫學會雜誌 第29卷, 第7號
(昭和17年7月)
- (14) 川越武一郎 北海道醫學會雜誌 第17卷, 8號,
(14 8月)
- (15) 緒方 富雄 東京醫學會雜誌 第54卷, 第1號
- (16) 中山 四郎 體質醫學研究Ⅲ臨床部論文集
12冊, 13冊, 14冊, 20冊 (1947, 1948)