8.

612.11:612.46:612.49

逆重層輪環法ニヨル沈降反應ニ就テ

附. 沈降素ノ尿及ビ唾液内移行

岡山醫科大學衛生學教室 (主任緒方教授)

大 城 眞 郷

[昭和6年6月11日受稿]

Der Präzipitinnachweis im Speichel und Harn, besonders mittels
der neuen umgekehrten Ringpräzipitinmethnde.

Von

Masato Ohki.

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

Eingegangen am 11. Juni 1931.

Es ist im allgemeinen bekannt, dass bei Ringprobe der Präzipitinreaktion die Antigenlösung auf das Immunserum überschichtet wird. Im Hinblick auf das spezifische Gewicht zeigt diese Probe bei der Originalmethode von Uhlenhuth keine Hindernisse, und zwar wird bei der Verdünnungsmethode das Immunserum durch 10% Komplement oder 1% Gummi arabicum verdünnt, um die Mischung der Antigene und des Immunserums zu vermeiden.

Dies ist jedoch zu meiner Untersuchung, bei der eine geringe Menge Präzipitin in einer sehr leichten Flüssigkeit nachzuweisen ist, nicht geeignet, weil die Kolloidlösung zur Verdünnung des Immunserums noch viel dicker als bei der gewöhnlichen Probe ist und dadurch die Reaktion verhindert wird.

Aus obigem Grunde habe ich umgekehrt die Antigenlösung unten angestellt und auf sie die immunkörperhaltige Flüssigkeit überschichtet; dabei werden die Antigene durch ein Gemisch von physiologischer Kochsalzlösung und Gummi arabicum (5%) verdünnt.

Zusammenfassend können die Resultate folgendermassen angegeben werden:

1) Die Uhlenhuthsche Methode ist nach meiner umgekehrt geschichteten Ringprobe um ein Vielfaches empfindlicher als die Originalmethode, z. B. Antirinderserum: [1:50.00 → 1:250.000, 1:10.000 → 1:50.000, 1:50 → 1:100 (±)].

2) Die Antikörperverdünnungsmethode nach meiner Probe zeigt sich etwas ungeeigneter als die gewöhnliche Methode, weil dabei der Titer des verdünnten Präzipitins viel niedriger steht, z. B. Antirinderserum: [1:2.500(++) → 1:2.500(+), 1:350 → 1:300, 1:50 → 1:50].

Aber bei der Untersuchung des Präzipitins in der antikörperhaltigen Lösung, wo das spezifische Gewicht leichter als Antigen und der Immuntiter niedrig ist, kann das Präzipitin nach meiner Methode leicht gefunden werden, und die Ergebnisse dieser Probe sind sogar viel günstiger bei den getrühten Lösungen.

3) Die Präzipitinmenge im Harn und Speichel des Immuntieres beträgt nach dieser Probe ungefähr 1/800—1/3.200 im Speichel, 1/1.600—1/5.000 im Harn bei Kaninchen verglichen mit dem Präzipitintiter des Serums vom Muttertier.

4) Normaler Kaninchenspeichel wirkt ein wenig hemmend auf die Präzipitinreaktion.

5) Es ist auch interessant, dass das gebildete Präzipitat in einem starken Reaktionsbild viel länger als bei der gewöhnlichen Methode bleibt, weil das Präzipitat in der Ringprobe den Immunteil anzuziehen scheint (Siehe die Figur in dieser Arbeit).

(Autoreferat).

目 次

第1章 緒 言	第1節 Uhlenhuth 氏法トシテノ應用
第2章 逆重層輪環法ト正位輪環法トノ比較	第2節 緒方氏抗體稀釋法トシテノ應用
第1節 Uhlenhuth 氏法	第4章 沈降素ノ唾液内移行
第2節 緒方氏抗體稀釋法	第5章 沈降素ノ尿中移行
第3節 反應陽性輪環ノ形態的差異	第6章 結 論
第3章 逆重層輪環法ノ應用範圍ニ就テノ考察	主要參考書目

第1章 緒 言

1895年 R. Kraus 氏ガ沈降素ヲ發見命名セル後數年, 專ラ混合法ノミニヨリテ實施セラレタル沈降反應ハ1902年ニ至リ M. Ascoli 氏ニヨリテ重疊法或ハ輪環法(Schicht- od. Ringprobe)ノ提案セラレ, A. Ascoli 氏ハ之ヲ Milzbrand ノ一新診斷法トシテノ Thermopräzipitin ニ應用セル外, 之ヲ追試セル Foret ソノ他ノ諸氏ニヨリ特ニ本法ガ免疫低價ナル際ニ使用シテ微細ナル反應ヲモ觀察シ得ルノ利點ヲ推稱セラレテ以來, 今日多クノ研究者ハ沈降反應實施ニ際シテハ特殊ナル場合以外殆ドコノ輪環法ニ依ルヲ常トスルニ至レリ.

輪環法ハ周知ノ如ク一般ニ免疫血清等ノ如ク比重大ナル抗體含有液ニ輕キ抗原ヲ重層スルモ

ノニシテ、カノ M. Ascoli 氏ガ本法ヲ創メタルモ同氏ガ混合法實施ニ際シ比重ヲ異ニスル抗原及ビ抗體ガ偶然2層ニ分レ、ソノ接觸面ニ白輪ヲ生ゼルヲ觀察セルヨリ著想セシモノナリト云フ。又、今日一般ニ同法實施者ハ抗體抗原ノ比重如何ニ拘ラズ必ズ抗體側ヲ下層ニシソノ上ニ抗原ヲ重ヌルノ方法ニ據ルガ如シ、抗體ガ免疫血清等ノ如ク比重大ナルモノナルトキハ勿論何等ノ不便ヲ感ゼズ、然ルニ血清以外ノモノニシテ抗原ニ比シ却ツテ比重小ナル抗體含有物中ノ沈降素ノ檢出ニ當リテモ尙ホ一般法則ニ據リ「ゴム」末ソノ他比重ヲ大ナラシムル物質ヲ附加シテ強ヒテ抗體側ヲ下層ニシテ重層セントス、カクテ可檢抗體含有液ガ透明ナル際ニハ未ダ甚ダシク不都合ヲ感ゼザルモ既ニ多少ノ濁濁ヲ避ケ得ザルガ如キ可檢液ニ際シテハ、爲メニソノ濁濁ヲ益々著明ナラシメ、殊ニソノ沈降素價低位ナル際ニハ遂ニ反應ヲ不明ナラシムルモノアリ。

余モ亦、唾液中ノ沈降素ヲ證明セントスルニ際シ、從來ノ方法ニヨリテハ抗體含有唾液ノ濁濁ノ爲メ相當高價ナル免疫家兎ニ於テモ未ダ沈降素ヲ證明シ得ザリシニ、試ニ全ク透明ナル抗原ヲ「ゴム」液ヲ以テ稀釋シ、之ヲ逆位ニ可檢唾液ヲ重層セシニ判然タル輪環反應ヲ認ムルコトヲ得タリ。依ツテ數種ノ免疫血清ヲ用ヒテ、逆重層輪環法ト在來法トノ差異ヲ檢セル結果兩者ノ間ニ2—3ノ差異ヲ認メ、之ガ一般ニ應用サレ得ベキ範圍ヲ考究シ、併セテソノ應用ノ結果證明シ得タル沈降素ノ唾液及ビ尿中移行ノ數例ヲ報告セントスルモノナリ。

第 2 章 逆重層輪環法ト正位輪環法トノ比較

輪環法ニヨル沈降反應ノ實施ニ際シ在來ノ方法ニ據ラズシテ抗體側ヲ上ニ重ネタル少數ノ實驗例ヲ散見スルコトアルモ、未ダ余ノ寡聞ナル、コノ逆重層輪環法ト在來法トノ差異ヲ比較研究セル報告ニ報セズ、余ハ兩者ノ間ニ反應成績上ノ差異アルヤ否ヤヲ確カメン爲メ、結合帶及ビ沈降素價等ヲ異ニスル 3

種ノ牛血清免疫家兎血清 (1). Nr. 8—1 血清, 結合帶 1:500, 沈降素價 1:2,500, 2). Nr. 21 血清, 結合帶 1:100, 沈降素價 1:250, 3) Nr. 8—2 血清, 結合帶 1:25, 沈降素價 1:50) ヲ用ヒテ Uhlenhuth 氏法及ビ緒方氏抗體稀釋法ニ於ケル逆重層並ニ正位輪環法ノ成績ヲ比較セリ。

第 1 節 Uhlenhuth 氏法

輪環法ニヨル Uhlenhuth 氏原法ハ稀釋セザル免疫血清ニ遞降的ニ生理的食鹽水ヲ以テ稀釋セル抗原ヲ重層シテ反應ヲ檢スルモノニシテ、氏ノ始メ曰ヘルガ如ク免疫血清ノ沈降素價ヲ現スコト不可能ニシテ單ニ使用セル抗原ノ沈降原價ヲ示スモノナルコトハ當敬室ノ幾多ノ業績ニヨリ確定セラレタリ。

余ハ本實驗ニ於テ既記 3 種ノ免疫血清ニ就テ、抗原タル牛血清ヲ遞降的ニ 0.85% 生理的食鹽水ヲ以

テ稀釋シ、原法ニヨリ檢スルト同時ニ、同一抗原ヲ濃厚ナル「アカシヤゴム」生理的食鹽水溶液ヲ以テ同様濃度ニ稀釋シ之ニ重ヌルニ免疫血清ヲ以テスル逆重層輪環法ヲ試ミタリ、而シテ反應ハ 15 分, 30 分, 1 時間, 2 時間毎ニ檢シ、各々 卅, 卅, 卅, 卅ヲ以テ表示セリ。

ソノ成績ハ第 1 表ニ示サガ如シ。

(第1表) Uhlenhuth 氏法ニ於ケル正位並ニ逆重層輪環法ノ成績比較

家 兎 番 號	抗原稀釋度 反應別	10	25	50	100	250	500	1,000	2,500	5,000	10,000	25,000	50,000	100,000	250,000	500,000
		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
Nr. S-1	正位輪環法	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	逆重層輪環法	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
Nr. 21.	正位輪環法	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	逆重層輪環法	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
Nr. S-2	正位輪環法	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	逆重層輪環法	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

Nr. S-1 血清ニテハ正位輪環法ハ1:50,000 抗原稀釋度マデ陽性ナルニ逆重層輪環法ニテハ1:250,000迄陽性反應ヲ示シ, Nr. 21 血清ニテハ前者ハ1:10,000迄反應スルニ過ザルモ後者ニヨルトキハ1:50,000迄陽性, タダ免疫低價ナル Nr. S-2 血清ニテハ兩法共ニ1:50迄陽性ナルモ尙モ後者ニヨル方反應速ニ現レ1:100稀釋ニテモ微弱ナル反應ヲ現ス. 勿論以上ノ検査ハ嚴重ナル對照試驗ト共ニ行ヘルモノニシテ, ソノ結果ハ何レノ血清ニ於テモ逆重層輪環法ニヨルモノハ正位重層ニヨルモノヨリモ反應速ニカツ高稀釋度迄敏速ニ現ルルコトヲ知レリ.

尙ホコノ際逆重層ニ使用スル「ゴム」液ハ家兎血清ヲ重層スル爲メニハ7.5% 溶液ヲ要スル爲メ抗原又

ハ免疫血清ガ全ク新鮮ナラザル場合ニハ稀ニ疑反應ヲ呈スルコトアルヲ以テ, 實際應用ニ際シテハ免疫血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ5倍ニ稀釋シテ抗原稀釋ニ供スル「ゴム」溶液ハ2%トシテ使用セリ. 是レ通常抗原檢出等ニ使用スル免疫血清ハ相當高キ力價ヲ有スルモノニシテ斯様ナル血清ハ5倍ニ稀釋スルコトニヨリテ力價ヲ減ズルコト少ク, 寧ろ, 斯様ナル血清ニ屢々見ラルル Prozone ヲ有スル場合ニハ4—5倍ノ稀釋ニヨリ却ツテ高稀釋度マデ反應セシメ得ルノ利點ヲ有スルト同時ニ前記ノ疑反應ヲ避ケンガ爲ナリ, 而シテ余ハコノ5倍稀釋免疫血清ヲ使用スルモノヲ假ニ“1/5逆重層法,”ト稱スルコトセリ.

第2節 緒方氏抗體稀釋法

Uhlenhuth 氏原法ガ單ニ沈降原價ヲ表示スルニ止ルニ反シ, 緒方氏法ハ抗原ト同時ニ抗體ヲモ選降的ニ稀釋シ輪環法ニヨリテ結合帶 (Bindungszone) 及ビ稀釋沈降素價 (Zonetiter) ヲ檢出シテ抗血清ノ特性ヲ知ルト共ニ抗體ヲ量ルニ知ラントスル方法ナリ. ソノ實施ニハ通常1—2%ノ「ゴム」溶液又ハ10% 正常海狸血清等ヲ以テ免疫血清ソノ他ノ抗體ヲ稀釋シ

之ニ抗原ヲ重層スルモノナリ. 余ハ既記3種ノ免疫血清ニ於テ本法ヲ檢スルト同時ニ1%「ゴム」溶液ヲ以テ抗原タル牛血清ヲ稀釋シ生理的食鹽水ヲ以テ稀釋セル免疫血清ヲ之ニ重ネテ逆重層輪環法ヲ檢シ, 兩者ヲ比較セルニソノ成績ハ第2, 3, 4表ニ示スガ如シ.

(第 2 表) 緒方氏抗体稀釋沈降反應ニ於ケル正位並ニ逆重層輪環法ノ成績比較

(其ノ1)

(Nr. 8-1 家兎)

反應別 抗原 稀釋度	正 位 輪 環 法									逆 重 層 輪 環 法								
	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000	1: 2,500	1: 5,000	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000	1: 2,500	1: 5,000
1: 10	冊	冊	冊	冊	冊	冊				冊	冊	冊	冊	冊				
1: 25	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			冊	冊	冊	冊	冊	冊			
1: 50	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		
1: 100	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 250	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 1,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 2,500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 5,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 10,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 25,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	
1: 50,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	

(第 3 表) 緒方氏抗体稀釋沈降反應ニ於ケル正位並ニ逆重層輪環法ノ成績比較

(其ノ2)

(Nr. 21 家兎)

反應別 抗原 稀釋度	正 位 輪 環 法									逆 重 層 輪 環 法								
	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100
1: 10	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 25	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 50	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 100	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 250	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 500	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 1,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 2,500	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 5,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 10,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 25,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 50,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 100,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

備考 A, A', B, B' / 各區劃ハ第 5 表ニ示ス。

(第4表) 緒方氏抗體稀釋沈降反應ニ於ケル正位並ニ逆重層輪環法ノ成績比較

(其ノ3)

(Nr. S-2 家兎)

反應別 抗體稀釋度 抗原稀釋度	正 位 輪 環 法					逆 重 層 輪 環 法				
	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100
1:10	+++	+++	++	+		+++	+++	++	+	
1:25	++	++	+	+	(B.Z.)	+++	++	+	+	(B.Z.)
1:50	+	+				++	+			
1:100						+	±			
1:250										

Nr. S-1 免疫血清(第2表)ニテハ結合帶, 稀釋沈降素價共ニ1:500 並ニ1:2,500 ナリ, Nr. 21 免疫血清(第3表)ニ於テモ兩法共ニ結合帶1:100, 稀釋沈降素價1:250ヲ示シ, Nr. S-2 免疫血清(第4表)ニテモ亦兩法略ボ同様ナル成績ヲ示ス。然レ共之等ノ反應ヲ仔細ニ檢スルニ逆重層ニ於テハ免疫血清ノ高稀釋度ニ至ル程反應ノ出現, 正位ニ比シテ遅ル

ニ反シ, 抗原ノ高稀釋度ニ於テハ却ツテ前者ハ後者ヨリ鋭敏ニ反應セルヲ見ル, 即チ逆重層輪環法ニヨル反應成績ハ抗原側ニ延ビ抗體側ニテハ却ツテ短縮セラルルノ狀ヲ呈ス。

依ツテ余ハ更ニ Nr. 21 免疫血清ニ於テ結合帶附近及ビ抗原高稀釋度附近ノ各々一部分ヲ一層精細ニ稀釋シ檢セルニ第5表ニ示スガ如ク,

(第5表) 緒方氏抗體稀釋沈降反應ニ於ケル正位並ニ逆重層輪環法ノ成績比較

(其ノ2ノ細檢)

反應別 抗體稀釋度 抗原稀釋度	正 位 輪 環 法										逆 重 層 輪 環 法									
	1:100	1:150	1:200	1:250	1:300	1:350	1:400	1:450	1:500	1:100	1:150	1:200	1:250	1:300	1:350	1:400	1:450	1:500		
1: 50	⦿	⦿	⦿	⦿	+					⦿	+	+	+							
1: 60	⦿	⦿	⦿	+	+					⦿	+	+	+							
1: 70	⦿	⦿	⦿	+	+	±				⦿	⦿	⦿	+							
1: 80	⦿	⦿	⦿	+	+	+	(B.Z.)			⦿	⦿	⦿	+	±						
1: 90	⦿	⦿	⦿	+	+	±		A.		⦿	⦿	⦿	+	+						
1:100	⦿	⦿	+	+	+					⦿	⦿	+	+	+	(B.Z.)		A'			
1:110	⦿	⦿	+	+	+					⦿	⦿	+	+	±						

抗體稀釋度 抗原稀釋度	1: 10	1: 20	1: 30	1: 40	1: 50	1: 60	1: 70	1: 80	1: 90	1: 10	1: 20	1: 30	1: 40	1: 50	1: 60	1: 70	1: 80	1: 90
	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
1:10,000	⦿	⦿	+	+	+					⦿	⦿	⦿	⦿	⦿				
1:15,000	⦿	⦿	+	+						⦿	⦿	⦿	⦿	+				
1:20,000	+	+								⦿	⦿	⦿	⦿	+				
1:25,000										+	+	+	+					
1:30,000										+	+	±	±					
1:35,000											+							
1:40,000																		
1:45,000								B.									B'	
1:50,000																		

A, A', B, B' ハ何レモ第3表同附號ノ一區劃ヲ示ス。

結合帯ハ正位ニテ 1:80 ナルニ 逆重層ニテハ 1:100
ヲ示シ極メテ僅ニ抗原高稀釋側ニ移動セルヲ見ルト
同時ニ、稀釋沈降素價ハ前者ハ 1:350 ニシテ後者ハ
1:300 トナリ之亦僅ニ減少セリ。而シテ抗原側ニテ

ハ免疫血清ノ 1:10 稀釋ニ於テ正位ニテ 1:20,000 稀
釋迄反應スルニ反シ逆重層ニテハ遙ニ 1:35,000 迄
陽性輪環ヲ認メ得タリ。

第 3 節 反應陽性輪環ノ形態的差異

ソノ 1 例ヲ示ス爲メニ
Uhlenhuth 氏原法ニヨル沈
降原價 1:50,000, 緒方氏法
ニヨル結合帯 1:500, 沈降
素價 1:500 ナル Nr. 12 牛
血清免疫家兎血清ニ就テ
Uhlenhuth 氏法ヲ行ヒ、正
位並ニ逆重層輪環法ニ於ケル
陽性反應輪環ノ形態的差
異ヲ觀察スルニ附圖ノ如
シ。

抗原稀釋度 1:100 ニ於
テハ 15 分後兩法共ニ著明
ナル白輪ヲ現シ、輪環ヨリ
上方ニ向ヒ即チ正位ニテハ
抗原側、逆重層ニテハ抗體
側ニ向ヒテ次第ニ淡キ白色
ノ濁濁ヲ見ル 逆重層ニテ
ハ前者ヨリモ濁濁著シクソ
ノ中ニ少量ノ絮狀物ヲ見
ル、30 分後ニハ正位ニテハ
輪環ハ既ニ破綻シ始メ輪環
ヲ形成セル沈降物ハソノ下
界ヲ破リテ沈降シ始ムルニ
反シ、逆重層ニ於テハ上方
抗體側ニ於ケル絮狀物ハ
益々増加シ一般ニ上面ノ濁
濁著シ、而モ輪環ハ益々著
明トナリ上下界共判然タ
リ。1 時間後ニハ正位ニテ

反應陽性輪環形態的差異

ハ輪環ハ殆ド原形ヲ止メズ輪環ヲ形成セシ沈降物ハ益々沈下シテ大半ハ管底ニ達セリ、從ツテ既ニ反應ハ輪環トシテ認メ得ズ、之ニ反シテ逆重層ニテハ下界僅ニ不正ナル外輪環ハ上下界共ニ判然トシテ今迄抗體側廣ク絮狀物トシテ認メラレタル沈降物ガ次第ニ大ヲ増スト共ニソノ重量ニ耐ヘズ幽カナル半透明ノ薄層ヲ隔テテ白輪ノ上側ニ集リ、白輪ノ下方即チ抗原側ハ依然トシテ透明ニシテ何等ノ濁ヲ認メズ。2時間後ニハ正位ニテハ白輪ヲ形成セシ沈降物ハ全ク管底ニ沈下シ兩液接觸面ニハ輪環ヲ認メズ上下ニ向ヒテ次第ニ淡キ濁ヲ殘スノミ、之ニ反シ逆重層ニ於テハ白輪ノ上側ニ集リタル絮狀物ノ集積ハ遂ニ重量ノ爲メ白輪ヲ通過シテ抗原側ニ沈下シ始め、シカモ白輪ハ殆ド傷ケラルルコトナク上下面共ニ判然タリ。

抗原稀釋度 1:500 ニ於テモ前者ト大差ナク、正位ニテハ時間ノ經過ト共ニ白輪ハ上下界共ニ不鮮明ナリ管底ニ沈降物ヲ生ズルニ反シ、逆重層ニテハ上面抗體側ニ多量ノ絮狀物ヲ生ズルモノノ集積ニヨリテ輪環ノ破壞セラルルコトナク反ツテ白輪ヲ強大判

然タラシムルニ止ル。

抗原ノ稀薄ナル 1:5,000 ニ於テハ正位ニテ時間ノ經過ト共ニ輪環ハ上下ニ向ヒテ濁濁ノ爲メニ不鮮明ナルニ反シ、逆重層ニテハ時間ノ經過ニ伴ヒ輪環ノ益々判然タリ行クヲ觀ル。

以上ノ觀察ヲ總括スルニ、正位ニ於テハ抗原濃度ノ如何ニ拘ラズ反應ハ一般ニ時間ノ經過ト共ニ不鮮明トナリ易キニ反シ、逆重層ニテハ却ツテ判然トナリユクコト多シ、而シテコノ際注目ニ價スルモノハ正位輪環法ニテハ次第ニ沈降シ來ル Präzipitat ガ抗體側ニ牽引セラルルモノナルヤ或ハ單ニ重量ノ爲メ沈下スルモノナルヤ判別スルコト困難ナルモ、逆重層ニ於テハ抗原側ニハ全ク濁濁ヲ生ゼズ殆ド總テ上面タル抗體側ニノミ絮狀物ヲ生ズルコトヨリシテ、明カニ沈降反應ニ於ケル Präzipitat ガ抗體側ニ向ツテ牽引セラルルノ狀ヲ目撃シ得ルコトナリ。

抗體稀釋法ニ於ケル輪環ノ外觀及ビ經過モ上述ノモノト大差ナク一般ニ正位ニ於ケルモノヨリハ輪環強大ニシテ判然タルコト多シ。

第 3 章 逆重層輪環法ノ應用範圍ニ就テノ考察

第 1 節 Uhlenhuth 氏法トシテノ應用

余ハ前章ニ於テ逆重層輪環法ヲ用ヒテ Uhlenhuth 氏法ヲ行フトキハ從來ノ方法ニ比シ反應速ニ現レ、カッ抗原ノ高稀釋度迄鋭敏ニ反應シ得ルコトヲ述ベタリ。コノ免疫血清ノ抗抗原價ノ増大ヲ利用シテ第 1 ニ應用セラレ得ベキハ血清ソノ他諸體液又ハ臟器浸出液等ニ於ケル抗原ノ檢出ナリ、例ヘバ經口の又ハ非經口のニ攝取セル異種蛋白ガ何時間後ニ始メテ或種ノ體液又ハ排泄物ニ現レ、何時間後ニハ全クソノ存在ヲ認メズ等ノ研究ニ際シテ本法ヲ應用セバ、反應トシテ同一ナル免疫血清ヲ使用スル際ニモ必ズヤ數時間早クソノ出現ヲ認メ、數時間又ハ數日間

遅ク迄抗原ノ存在又ハ排泄ヲ檢出シ得ベキハ明カナル所ナリ。今、ソノ 1 例トシテ體重 2,100 g ノ正常家兎ニ鶏卵白 0.5 cc ヲ 10 cc ノ生理的食鹽水ニ稀釋セルモノヲ耳靜脈内ニ注射シテ、Uhlenhuth 氏法ニヨル沈降原價、正位 1:100,000、逆重層 1:500,000 ナル抗鶏卵白家兎血清ヲ使用シテ前記卵白ノ尿中排泄時間ヲ檢セルニ第 6 表ノ如ク、從來ノ正位輪環法ニヨリテハ 5 時間後ニハ既ニ單ニ痕跡ヲ認ムルニ過ギザルモ、本法ヲ用フルトキハ 8 時間後迄明カニ反應ヲ檢シ得タルガ如キ之ナリ。

(第 6 表) Uhlenhuth 氏法ニ於ケル逆重層輪環法應用ノ 1 例

(靜脈内ニ注射セル鶏卵白ノ尿中證明期間ノ比較)

反應別 尿稀薄度 注射後 經過時間	正 位 輪 環 法																逆 重 層 輪 環 法															
	1: 5	1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1,280	1: 2,560	1: 5,120	1: 10,240	1: 20,480	1: 40,960	1: 81,920	1: 5	1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1,280	1: 2,560	1: 5,120	1: 10,240	1: 20,480	1: 40,960	1: 81,920		
直 前	—	—	—	—	—												—	—	—	—	—											
後 30m	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++							++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
1 St.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+						++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
2 ◆	++	++	++	++	++	++											++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
3 ◆	++	++	+														++	++	++	++	++											
4 ◆	++																++	++	++	++	++											
5 ◆	++																++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
6 ◆	—	—															++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
7 ◆	—	—	—														++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
8 ◆	—	—	—														++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
9 ◆	—	—															++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	

又、從來ノ方法ニヨリテ一定量ノ抗原注射ニテハ或ル特定ノ體液又ハ臟器ニハ抗原ノ移行ヲ認め得ザリシモノガ、本法ヲ應用スルトキハ一層少量ナル抗原ノ注入ニヨリテモノノ移行狀態ヲ實驗シ得ルコトアルベク、更ニ進ンデハ、法醫學的ニ血清ノ種屬特異性ヲ應用シテ行ハルル『人血ナリヤ否ヤ』等ノ鑑定ニ際シテ、若シ證據物件タル可檢物ガ極メテ少量ナル爲メニ從來ノ方法ニ依リテハ使用セラルベキ免疫血清ノ反應圈外ニアルガ如キ際ニモ、本法ニヨル

トキハ同一免疫血清ヲ用ヒテ、ヨリ少量ナル可檢物ニヨリテモ陽性ノ反應ヲ認めテ鑑定ノ結果ヲ一層正確ナラシムルコトアルベシ。

而シテコノ種ノ應用ニ際シテハ稀ニ起リ得ベキ疑反應ヲ避クル爲メニ可及的稀薄ナル「ゴム」溶液又ハ海狸血清等ヲ抗原稀釋ニ使用スル爲メニ、既記余ノ所謂「1/5 逆重層法」又ハ之ニ準ズル方法ヲ試ミラレンコトヲ希望スルモノナリ。

第 2 節 緒方氏抗體稀釋法トシテノ應用

余ハ又前章ニ於テ逆重層輪環法ガ從來ノ方法ニ比シ稀釋沈降素價ヲ僅ニ低下セシムル傾向アルコトヲ述ベタリ、從ツテ通常免疫血清ノ沈降素價測定ニハ之ヲ應用スルモ却ツテ不利ナリ。

主ナル應用範圍ハ抗體含有液ガ抗原ヨリ著シク比重小ニシテ從來ノ方法ニテ沈降反應ヲ檢スル爲メニハ一層濃厚ナル「ゴム」液又ハ海狸血清ヲ要スルガ如キ場合ナリ、就中、カカル抗體含有物ニシテ濁濁ヲ免レ得ザルガ如キ場合ニハ須ラク逆重層輪環法ヲ試

ムベキモノナリ、強ヒテ舊慣ヲ固守シ從來ノ正位重層ヲ行ハントスル結果可檢抗體含有液ヲ益々濁濁セシメテ遂ニ反應ノ判別ヲ困難ナラシムルヨリハ寧ロ僅少ナル沈降素價ノ低下ヲ來ストモ逆重層ヲ試ミテ明白ナル反應ノ下ニ確實ナル成績ヲ得ンコトノ道ニ優レルヲ信ズルモノナリ。

余ハ Nr. 8—3 牛血清免疫家兎ノ 1 例ヲ舉ゲテソノ一斑ヲ示サントス。本家兎ハ體重 1,550 g (♀) ニシテ 3—4 日毎ニ 5—6 回、牛血清 0.5—2 cc ヲ反覆注

射シ、約1箇月餘休養後再び同様ニ免疫スルコト前後3回、最終免疫後第7日目ノ家兎ニシテ、ソノ血清ハ Uhlenhuth 氏法ニヨル抗抗原價 1:25,000、稀釋法ニヨル結合帶 1:500、沈降素價 1:10,000ヲ示ス稀

有ナル免疫家兎ナリ。本家兎ヨリ血清、腦脊髄液、第1眼前房水、唾液、尿ヲ得テ正位並ニ逆重層輪環法ヲ行ヒ、兩者ヲ比較セルニ第7表ニ見ルガ如シ。

(第7表) 緒方氏抗體稀釋沈降反應ニ於ケル逆重層輪環法應用ノ1例

(血清、腦脊髄液、第1眼前房水、唾液、尿中ノ沈降素價比較) (Nr. S—3 家兎)

反應別	可檢物 抗原稀釋度	可檢物稀釋度	血 清							腦 脊 髓 液					第1眼前房水				唾 液				尿				
			1: 10	1: 100	1: 1,000	1: 2,500	1: 5,000	1: 1,0000	1: 25,000	1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 1	1: 2	1: 4
正 位 輪 環 法	1: 50	冊	冊	冊	冊	冊			／	／	／	／															
	1: 100	冊	冊	冊	冊	冊	+		冊	冊	冊	冊	+		／	／	／	／						±			
	1: 250	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	／	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
	1: 500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
	1: 1,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
	1: 2,500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
	1: 5,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
	1: 10,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
	1: 25,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
	1: 50,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	
1: 100,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊		
逆 重 層 輪 環 法	1: 50	冊	冊	冊	冊	冊			／	／	／	／			／	／	／	／						±			
	1: 100	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 250	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 1,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 2,500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 5,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 10,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 25,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 50,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 100,000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	

血清ニ於テハ正、逆共ニ結合帶 1:500、稀釋沈降素價 1:10,000ヲ示シ、後者ニヨル方反應度多少微弱ナリ。

腦脊髄液ハ正位ニヨルトキハ結合帶 1:500、稀釋沈降素價 1:16 ナルニ逆重層ニテハ稀釋沈降素價ハ 1:8 ニシテ 1:16 ニ於テハ反應極メテ微弱ナリ。

第1眼前房水ニテハ兩者共ニ結合帶 1:500、稀釋沈降素價 1:8 ナレ共前者ニヨル方反應稍々良好ナリ。即チ、腦脊髄液、第1眼前房水等ノ如ク比重小ナルモ全ク透明ニシテ沈降素價相當高キモノニテハ強ヒテ逆重層ヲ利用スルヲ要セズ、然レ共ソノ稀釋沈降素價甚ダ低價ナル際或ハ第2眼前房水等ノ如ク

相當ノ濁濁ヲ免レ得ザルガ如キ場合ニハ逆重層ヲ試ミテ良好ナル成績ヲ擧ゲタリ。

唾液ニテハ多少ノ濁濁ヲ避ケ得ザル爲メニ正位重層ニヨルトキハ確實ナル陽性反應ヲ認メ得ザルニ反シ、逆位ニ重層スルトキハ甚ダ明瞭ニ結合帶 1:500、稀釋沈降素價 1:4 ナル成績ヲ得タリ、即チ、新様ニ多少トモ濁濁シ、カツ沈降素價低位ナルモノニテハ逆重層ニヨル方迄ニ優秀ナル成績ヲ示ス。

尿ニ於テモ同様ノ關係ヲ認メ得タリ、ソノ正位ニヨル稀釋沈降素價 1:1 ナリシモノガ逆重層ニヨリ

1:2 ノ成績ヲ得タリ、即チ、唾液ト同様ニ濁濁ヲ免レ得ザル外、相當ニ著色セシ爲メ逆重層ニヨル方良好ナル反應ヲ見タルモノナルベシ。

以上ノ Nr. S—3 家兎ノ例ニ於テモ見ルガ如ク、逆重層輪環法ハ又抗體稀釋沈降反應ニ際シテモ或ル場合ニ應用シテ良好ナル結果ヲ得ルモノナルコトヲ知ルト共ニ、カカル體液、排泄物等ノ外ニ免疫動物ノ臟器浸出液ソノ他ノ方面ニ向ツテモ亦今後ノ應用ヲ豫想シ得ルモノナリ。

第 4 章 沈降素ノ唾液内移行

免疫體ノ唾液内移行ニ關スル研究ハ一般ニソノ發表セラレタルモノ稀ニシテ、1903 年 Stäubli¹⁾ 氏ガ「チフス」菌ヲ以テ免疫セル海狸ノ「ピロカルビン」唾液ニ於テ血清ニ對比シテ 1/200—1/1,250 ノ「チフス」菌凝集素ヲ檢出シ、森田²⁾ 氏ガ耳下腺唾液囊ヲ作りタル家兎ヲ「チフス」菌ヲ以テ免疫シソノ血清中ノ菌凝集素ノ消長ト唾液内移行ニ就テ實驗シ、ソノ「ピロカルビン」唾液内ニ血清ニ對比シテ 1/200 ノ「チフス」菌凝集素ヲ檢出シ得タルノミ。之等ハ共ニ菌凝集素ニ關スル實驗ニシテ沈降素ノ唾液内移行ハ余ノ寡聞ナル未ダソノ報告ニ接シ得ズ、木村³⁾ 氏モソノ實驗ノ結果、犬及ビ家兎ノ「ピロカルビン」唾液内ニテハソノ血中免疫價ノ高低如何ニ拘ラズ沈降素及ビ溶血素ヲ檢出シ得ズト報告セリ。

余ハ菌凝集素ノ唾液内移行ノ既ニ證明セラレタル以上、其ズヤ沈降素モ亦唾液内ニ移行シ得ベキヲ信ジ之ガ檢出ヲ試ミタリ。而シテ今日迄ソノ未ダ證明シ得ラザリシハ先人ガ沈降素ノ證明ニ專ラ Uhlenhuth 氏法ヲ用ヒタルニ依ルベキヲ思ヒ、主トシテ緒方氏抗體稀釋法ヲ用ヒテ之ガ檢索ニ當レリ、何トナレバ既ニ述ベタル如ク Uhlenhuth 氏法ニヨル沈降反應ニテハ單ニ免疫血清ハ使用スル抗原ノ沈降原價ヲ示スニ止ルヲ以テ本反應如何ニ高位ヲ示ストモ實際

ニハ沈降素價ノ低價ナルモノアルハ吾人ノ屢々遭遇スル所ニシテ從ツテ本反應ヲ目標トシテノコノ種ノ實驗ハ全ク暗中摸索ノ感アリ、然ルニ緒方氏法ニヨルトキハ沈降價ヲ量的ニ知ルコトヲ得ルヲ以テ實驗ニハ眞ニ高價ナル免疫家兎ヲ得ルニ便ニシテ、檢出シ得タル沈降素量ノ血清中免疫價ニ對スル比率モ亦正當ナル數字ヲ擧ゲ得ルモノナリ。

余ハ本實驗ニ於テハ既記ノ如ク多キハ 10 回以上、牛血清ヲ以テ反覆免疫セル家兎ニシテ血清中ノ稀釋沈降素價 1:1,000 以上ノモノ十數例ニ就テ檢索セリ。

可檢唾液ハ始め、絹川氏法⁴⁾ニヨリ永久耳下腺唾液囊ヲ作レル家兎ヲ牛血清ヲ以テ免疫シ囊孔ヨリ流出スル唾液ヨリ檢出セントシシモ、カカル手術ヲ行ヘル家兎ハ一般ニ體力衰ヘ高價ナル免疫ヲ得セシムルコト困難ナルト共ニ、時日ノ經過中屢々唾液囊ノ自然閉鎖ヲ來シ遂ニ目的ヲ達シ得ズ、止ムナク通常ノ牛血清免疫家兎ニ於テソノ免疫價高キモノヲ選ビテ空腹時ニ生理的食鹽水ヲ以テ粘膜ヲ傷ツケザル様注意シツツ口腔ヲ清拭セル後、0.1% 鹽酸「ピロカルビン」溶液 0.5 cc ヲ皮下注射シテ口腔ヨリ流出スル混合唾液ヲ得テ之ヲ檢セリ、カカル家兎唾液ハ唾液球ソノ他ノ食物殘片等ヲ混ジ可成リ濁濁スルコト多ク、始め之ヲ強遠心シテ透明唾液ヲ得ントセシモ含

有スル「ムチン」類等ノ爲メニ遠心不可能ニシテ止ムナク長時間ヲ要シテ普通濾紙ヲ以テ濾過セルモノヲ用ヒタリ、從ツテ多クハ多少ノ漏濁ヲ避ケ得ザリキ。

反應ハ斯様ニ漏濁ヲ免レ得ザリシ爲メニ主トシテ逆重層輪環法ヲ應用シ、同時ニ正位輪環法ト對比シツツ十數頭ニツキ檢セル結果前述第7表ノ1例ノ外ニ第8表ノ3例、合計4例ヲ得タリ。

(第8表) 沈降素ノ唾液内移行ノ3例

家兎番號	反應別 可檢物 可檢物稀釋度 抗原 稀釋度	正 位 輪 環 法										逆 重 層 輪 環 法										備 考				
		血 清							唾 液			血 清							唾 液			血清「ウ」氏原法	最終 免疫後經過日數			
		1: 400	1: 800	1: 1,600	1: 3,200	1: 6,400	1: 12,800	1: 25,600	1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 400	1: 800	1: 1,600	1: 3,200	1: 6,400	1: 12,800	1: 25,600	1: 1	1: 2			1: 4	1: 8	
Nr. S-4	1: 100	冊	冊	冊	冊				±				冊	冊	冊	冊				冊	冊	冊	冊	正位 1: 10,000	第 9 日	
	1: 250	冊	冊	冊	冊	+			±	±			冊	冊	冊	冊	+			冊	冊	冊	冊			+
	1: 500	冊	冊	冊	冊	+	±		±	±			冊	冊	冊	冊	±			冊	冊	冊	冊			+
	1: 1,000	冊	冊	冊	冊	+			±				冊	冊	冊	冊	+	±		冊	冊	冊	冊			+
	1: 2,500	冊	冊	冊	冊								冊	冊	冊	冊	+			冊	冊	冊	冊			
	1: 5,000	冊	冊	冊	冊								冊	冊	冊	冊				冊	冊	冊	冊			
Nr. S-5	1: 100	冊	冊	冊	冊								冊	冊	冊	冊								正位 1: 25,000	第 7 日	
	1: 250	冊	冊	冊	冊	+			±				冊	冊	冊	冊	+			冊	冊	冊	冊			
	1: 500	冊	冊	冊	冊	+			±				冊	冊	冊	冊	+	±		冊	冊	冊	冊			
	1: 1,000	冊	冊	冊	冊	+							冊	冊	冊	冊	+	±		冊	冊	冊	冊			
	1: 2,500	冊	冊	冊	冊								冊	冊	冊	冊				冊	冊	冊	冊			
	1: 5,000	冊	冊	冊	冊								冊	冊	冊	冊				冊	冊	冊	冊			
Nr. S-6	1: 100	冊	冊	冊	冊				+				冊	冊	冊	冊	+							正位 1: 50,000	第 4 日	
	1: 250	冊	冊	冊	冊	冊			±	±			冊	冊	冊	冊	+			冊	冊	冊	冊			
	1: 500	冊	冊	冊	冊	冊			±	±			冊	冊	冊	冊	+	±		冊	冊	冊	冊			
	1: 1,000	冊	冊	冊	冊	冊			±				冊	冊	冊	冊	±			冊	冊	冊	冊			
	1: 2,500	冊	冊	冊	冊								冊	冊	冊	冊	±			冊	冊	冊	冊			
	1: 5,000	冊	冊	冊	冊								冊	冊	冊	冊				冊	冊	冊	冊			

之等ノ4例ニ就テ見ルニ唾液ノ殆ド透明ナリシ
Nr. S-6 家兎ニ於テ正位、逆位兩法トモニ略ボ同様ナル反應ヲ認メタル外、他ノ3例ハ正位輪環法ニヨリテハ漏濁ノ爲メ反應判然セズ、逆重層ニヨリ始メテ確證シ得タルモノナリ、而シテ何レノ例モソノ結合帶ハ血清中沈降素ノ結合帶ト全ク一致スルコトヨリシテ血中沈降素ガ唾液中ニ移行セルモノナルコト

ヲ窺知シ得タリ。

之等ノ4例ニ就テ血清中沈降素價ト對比スルトキハ約 1/800—1/3,200 ニ相當シ、既記、Stäubli、森田兩氏ノ菌凝集素ニ於ケル成績ニ比シ著シク不良ナリ、依ツテ余ハ正常唾液ガ何等カノ理由ニヨリテ沈降反應ヲ阻止スルニ非ザルヤヲ思ヒ正常家兎唾液ノ沈降反應抑制作用ヲ檢セルニ第9表ノ如シ。

(第 9 表) 家兎正常唾液ノ沈降反應抑制作用
(逆重層輪環法ニヨル)

抗體稀釋度 抗體稀釋ニ 用ヒシ Medium.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
a) 生理的食鹽水	+++	+++	+++	+++	+	
b) 生理的食鹽水ニテ4倍ニ稀釋セル正常唾液	+++	+++	+++	+++	±	
c) 生理的食鹽水ニテ2倍ニ稀釋セル正常唾液	+++	+++	+++	++		
d) 正 常 唾 液	+++	+++	+++	±		

備考 Nr. 12 家兎血清ニ於テ、ソノ結合帶 1:500 ノミニテ檢セリ。

稀釋沈降素價 1:32 ナル牛血清免疫家兎血清ノ結合帶ニ於テ、逆重層輪環法ノ下ニ、a) 生理的食鹽水、b) 生理的食鹽水ニテ4倍ニ稀釋セル正常唾液、c) 同ジク2倍ニ稀釋セル正常唾液、d) 家兎正常唾液ヲ以テ各々抗體ヲ稀釋シテ檢セルニ、a) ニテハ沈降反應 1:32 迄陽性ナルニ、b) ニテハ僅ニ反

應弱ク、c) ニテハ既ニ 1:16 ニ低下シ、d) ノ正常唾液ニ於テハ 1:8 マデ強陽性ナレ共 1:16 ハ反應極メテ微弱ナルヲ知レリ。以上ノ成績ヨリ觀察スルトキハ家兎ノ正常唾液ハ沈降反應ヲ抑制スル作用アリ、之ヲ4倍ニ稀釋スルトキハ殆ドソノ作用ヲ失フガ如シ。

第 5 章 沈降素ノ尿中移行

尿ハ生體ヲ構成スル諸臟器細胞ガ生活機轉ヲ營ムノ結果生ズル各種老廢物ノ有力ナル排泄過程ヲナスト共ニ、經口的、非經口的ニ體内ニ移入セラレタル諸種藥毒物又ハ異種蛋白等ガ屢々尿中ニ移行スルモノナルコトハ周知ノ事實ナリ、從ツテ動物體ガ能動的又ハ被動的ニ免疫セラレタル際夫等免疫體ノ一部ガ尿中ニ移行シ得ベキコトモ想像ニ難カラズ、ソノ既ニ明カニ證明セラレタルモノアリ。例ヘバ Widal 氏反應發見後間モナク Bormans⁵⁾ 氏ハ「チフス」患者ノ尿中ニ Widal 氏反應陽性物質ヲ懸滴標本ニヨリテ檢出シ得タルヲ最初トシテ、既記 Stäubli 氏ガ「チフス」菌免疫海狗ノ尿中ニ血清ニ對比シテ 1/640—1/2,500 ノ「チフス」菌凝集素ヲ證明シ、本邦ニ於テモ石橋⁶⁾ 氏ニ據レバ廣瀬氏ハ鶏血球免疫家兎ニ於テ明カニ血球凝集素及ビ溶血素ノ尿中ニ移行スルヲ證

明セリト云フ、シカモ之等ハ總テ凝集素又ハ溶血素ニシテ、沈降素ノ證明ハ當教室ノ先輩須之内氏ガソノ數例ヲ實驗セラレタルモ未ダ發表セラレザルヲ除キテ余ノ寡聞ナル無之ガ如シ、コレ既記唾液中ノ沈降素檢出法ニ關シテ述ベタルト同様ナル理由ニヨルベキヲ思ヒ、コノ際同時ニ尿中ノ沈降素證明ヲ試ミタリ。

可檢尿ハ稀釋沈降素價 1:1,000 以上ノ牛血清免疫家兎ニ於テ 1—2 止ムナキ例外ヲ除キテハ「カテーテル」ヲ用ヒズ、尿ノ充滿セル膀胱部ヲ手拳ヲ以テ壓迫スルノ方法ニヨリ採取セリ。家兎尿ハ屢々著シキ混濁アル爲メ、之ヲ濾過シ正位並ニ逆重層輪環法ヲ行ヒテ檢セリ。

尿中ニ沈降素ヲ證明シ得タルハ第 7 表ノ 1 例ノ外、Nr. 8—4 家兎ニ於テ逆重層沈降素價 1:4 (血清ニ對

比シテ約 1/1,600) ナルト Nr. 8—11 家兎(血清ノ示ス沈降素價 1:2,500, 結合帶 1:1,000) ニテ正位, 逆重層共ニ 1:2 (弱陽性) ノ成績ヲ得タル合計 3 例ニシテ, 各例共ニ尿中沈降素ノ示ス結合帶ハ所屬血清ノモノト同様ナリキ。而シテ余ノ検査セルハ 8 例ニシテ血中ノ沈降素價 1:5,000 ヲ示スモノニシテ遂ニ尿中ニ沈降素ヲ檢出シ得ザリシ 1 例ニ遭遇セリ。

以上ノ少數ナル實驗例ヨリ觀察スルトキハ沈降素

ノ尿中移行量ハ 1/1,600—1/5,000 ノ間ニアルモノノ如ク, 須之内氏ガ 1/600 ニ於テ檢出セル例アリト云フニ想到セバ恐ラク免疫ノ時期ニモ關係アリテ, 適當ナル時期ニ於テハ之ヨリ多量ノ排泄アルニ非ザルカラ推知シ得ルモ, ソノ詳細ハ余ノ實驗範圍内ニテハ不明ナリ, 唯, 單ニ沈降素ノ尿中移行ヲ確實ニ證明シ得タル 3 例ヲ報告スルニ止ム。

第 6 章 結 論

余ハ沈降反應ニ於ケル輪環法ヲ實施スルニ當リ, 從來ノ習慣ニヨリ必ズ抗體含有液ヲ下層ニシテ之ニ抗原ヲ重スルノ方法ノミニヨルトキハ稀ニ不都合ヲ感ズルコトアルヲ知リ必要ニ應ジテ之ヲ逆位ニ重層スルコトヲ試ミ, 時ニ多少ノ利便ヲ得タルヲ以テコノ兩輪環法ニヨル沈降反應ノ成績ヲ比較研究シ, ソノ結果ニヨル逆重層輪環法ノ特徴ヲ示シ進ンデソノ應用範圍ニ就テ一考シ, 更ニ之ガ實際應用ニヨリテ確實ニ檢出シ得タル沈降素ノ唾液内移行ノ 4 例及ビ尿中移行ノ 3 例ヲ報告セリ。之ヲ結論要約セバ次ノ如シ。

1) 逆重層輪環法ヲ以テ Uhlenhuth 氏法ヲ行フトキハ原法ニヨルヨリモ免疫血清ノ抗抗原價ヲ一層鋭敏ナラシム。

2) 逆重層輪環法ヲ以テ緒方氏抗體稀釋法ヲ行フトキハ結合帶ハ極ク僅ニ抗原ノ高稀釋側ニ移動スルト同時ニ稀釋沈降素價ヲ僅ニ低下セシム。

3) 逆重層輪環法ニヨル沈降原價ノ増強ヲ利用シテ正位輪環法ニヨルヨリモ一層微量ナル抗原ノ檢索ヲ行フコトヲ得。

4) 抗原ヨリ比重小ニシテ免疫價低キ抗體含有液ハ逆重層輪環法ヲ利用シテ一層容易ニ沈降反應ヲ檢シ得ルコトアリ, 殊ニソノ濁濁, 著色等存スル場合ニハソノ成績ヨリ良好ナルヲ知レリ。

5) 逆重層輪環法ヲ應用シテ沈降素ノ「ピロカルビン」唾液内移行量ヲ檢スルニ血清中沈降素量ニ對比シテ約 1/800—1/3,200 ナルヲ知レリ。

6) 家兎ノ正常唾液ハ沈降反應ヲ抑制スル作用ヲ有ス。

7) 逆重層輪環法ヲ應用シテ沈降素ノ尿中移行量ヲ檢スルニ血清中沈降素量ニ對比シテ約 1/1,500—1/5,000 ノ間ニアルモノノ如シ。

拙筆スルニ當リ終始懇篤ナル御指導ト御校閲ヲ賜リタル恩師緒方教授ニ衷心感謝ノ意ヲ表ス。

(本論文ノ要旨ハ昭和 5 年 6 月岡山醫學會例會ニ於テ演說セリ。)

主要参考書目

- 1) *Stäubli*, *Centralbl. f. Bakt., Org.* Bd. 33, S. 375, 1903. 2) 森田. 滿洲醫學雜誌. 第9卷, 第6號, 859頁, 昭和3年. 3) 木村, 醫學中央雜誌, 第19卷, 123頁, 大正9年. 4) 絹川, 東京醫學會雜誌, 第38卷, 第2號, 226頁, 大正13年. 5) *Bormans*, *Centralbl. f. Bakt., Bd.* 23, S. 39, 1897. 6) 石橋, 醫海時報, 第1681號, 2142頁, 大正15年. 7) *Kraus*, *Kolle u. Wassermann: Handb. d. Path. Mikroorg., Auf. 2, Bd. II—I.* 8) *Uhlenhuth*, *Ebenda. Auf. 2, Bd. III.*
-