74.

612.12

胎盤ノ臓器特異性ニ就テ

(第1回報告)

血清トノ關係

岡山醫科大學衛生學教室(主任緒方教授)

佐伯純一

[昭和6年12月24日受稿]

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

Über die Organspezifität der Plazenta.

I. Mitteilung.

Über die Beziehung zwischen Plazentar- und Serumantigenen.

Von

Dr. Sumikazu Saeki.

Eingegangen am 24. Dezember 1931.

Die Antiplazentarimmunsera, welche nach Immunisierung durch die von Blutbestandteilen so weit wie möglich befreiten Plazenta (Rinder- und Menschenplazenta) bei Kaninchen hergestellt wurden, reagieren nicht nur auf die Plazenta, sondern auch auf das Blutserum. Um diese beide Antikörper zu differenzieren habe ich erst mit der Präzipitinreaktion die Immunkörpermenge bestimmt. Danach wurde dieses Mengenverhältnis durch Komplementbindung bestätigt. Zweitens habe ich in vitro und in vivo die spezifische Antikörper für Plazenta nachgewiesen. Ferner habe ich durch passive Anaphylaxie die Resultate des Absättigungsmethode sicher festgestellt. Aus diesem Grund versuchte ich weiter ein spezifisches Plazentarpräzipitin zu gewinnen, das nur mit Plazentarantigenen reagierbar ist, indem ich das Kaninchen mit spezifisch hergestelltem Plazentapitit immunisierte. Die Resultate sind wie folgt:

1. Nach wiederholter Immunisierung des Kaninchens durch Plazentarantigene, die im Wasserbad bei 56°C 30 Minuten lang inaktiviert und dadurch entgiftet wurden, kann man erst ein verhältnismässig hochwertiges Antiplazentarserum erhalten.

2. Es wurde durch Präzipitinreaktion nach der Uhlenhuthschen- oder nach der Verdünnungsmethode festgestellt, dass das Immunserum nicht nur Plazentarpräzipitin, sondern auch Serumpräzipitin in grossen Mengen enthält.

3. Das Mengenverhältnis zwischen Plazentar- und Serumpräzipitin in diesem Immunserum kann durch die Präzipitinverdünnungsmethode nach Ogata festgestellt werden, und zwar ist der Titer des Präzipitins für Rinderplazenta nach Uhlenhuth ungefähr gleich, nach der Verdünnungsmethode aber ist die Menge des Plazentarantikörpers doppelt so gross wie die des Serumantikörpers. Doch konnte ich diesen Unterschied beim Menschenplazentarversuch nicht deutlich nachweisen.

4. Nach der Absättigungsmethode in vitro, (indem man diesem Antiplazentarserum Serumpulver im Verhältnis von 1cc : 0.5g zusetzt) kann man ein solches spezifisches Plazentarpräzipitin herstellen, welches mit dem Serum kaum, und nur mit der Plazenta stark reagierbar ist. Diese Tatsache kann ausser durch die Präzipitinreaktion, sowohl durch die Komplementbindungsreaktion als auch durch die passive anaphylaktische Reaktion mit Sicherheit nachgewiesen werden.

5. Bei dem Versuch der Absättigungsmethode in vivo, (indem man einem mit Plazentarextrakt in intensiver Weise immunisierten Kaninchen ca. 12cc Serum einverleibt) scheint mir, dass man auch ein ziemlich spezifisches Plazentarpräzipitin herstellen kann. Dabei muss man eine Verminderung der Präzipitinmenge für Plazentarantikörper annehmen.

6. Die Antiplazentarimmunsera, welche durch die Injektion von dem mit einem in ganz besonderer Weise vorbehandelten spezifischen Plazentarantigen erhalten wurden, (nämlich durch die Injektion des Abgusses oder des Niederschlages, welche vollkommen frei von Blutbestandteilen gehalten werden), wurden in einem verhältnismässig frühen Stadium ein wenig spezifischer hergestellt als es bei der Immunisierung durch die oben genannten Plazentarantigene der Fall ist. Doch diese Spezifität bleibt nicht lang nach Ablauf der Immunisierung durch Präzipitat. (Autoreferat).

内 容 目 次

第1章 緒論並ニ文獻

第2章 特異性胎盤沈降素ノ調製法

第1節 概 説

第2節 實驗方法並ニ實驗材料

第3節 試験管内飽和吸収法ニ依ル特異性胎盤沈降素ノ調製法

第1項 血清沈降素ノ吸収

第2項 胎盤沈降素ノ吸収

第3項 補體結合反應法ニヨル特異性胎盤沈降素ノ證明

第4項 過敏症反應法ニヨル特異性胎盤沈降素ノ證明

第4節 生體內飽和吸収法ニヨル特異性胎盤沈降素ノ調製法

第5節 特殊免疫法ニヨル特異性胎盤沈降素ノ調製法

第3章 總 括

文 獻

第 1 章 緒 論 並ニ 文 獻

生活體ヲ構成スル臟器組織蛋白質ノ血清學の性質、殊ニ其特異性ニ關シテハ從來多數ノ學者ニ依リ多方面ニ互リテ研究セラレタル所ナリ。抑々臟器及ビ組織ノ免疫學的特異性ニ關スル研究ハ其端ヲ Bordet¹⁾ (1899) 及ビ Tchistwich²⁾ (1899) 兩氏ノ實驗ニ發ス。即チ前者ハ鶏血液ヲ以テ、後者ハ馬及ビ鰻血清ヲ以テ各々家兎ヲ處置シ夫々相當スル免疫血清ヲ造リテ研究ヲ行ヘリ。爾來時ヲ經ルト共ニ血清ノミナラズ血清以外ノ臟器及ビ組織ノ特異性ニ關スル研究報告相續イデ出デ、Liepmann³⁾ ハ胎盤乳劑ヲ以テ家兎ヲ免疫シ特異性沈降素ノ産成スル事實ヲ認メ、又 Weichardt⁴⁾ ハ沈降反應ニヨリ吸收試験ヲ併用シテ胎盤組織ノ特異性ヲ檢索シ、Michalliss und Fleischmann⁵⁾ 氏等ハ肝臟ニ就キ、Halpern⁶⁾、Forssner⁸⁾ 及ビ Grund⁷⁾ 氏等ハ肝臟、腎臟ニ就キ、何レモ補體結合反應ヲ應用シテ其特異性ヲ立證シ、更ニ Spät 氏ハ海蜇ノ白血球ニ就キ補體結合試験ニ依リ、之ガ臟器特異性ヲ保有セザル事ヲ認メ、Guerini⁹⁾ 氏ハ馬及ビ犬ノ肝臟ヲ以テ沈降反應ヲ應用シテ間接的ニ人間腦脊髓蛋白ニ臟器特異性アルヲ認メタリ。尙ホ Moster¹⁰⁾、Metalnikow¹¹⁾、Thomsen、Dumbar 氏等ハ赤血球細胞ニ就キ之ガ臟器特異性アルヲ認メ、Hess und Römer¹²⁾ 氏等ハ沈降反應ニ依リ葡萄膜ガ著明ナル臟器特異性ヲ有スル事ヲ高唱セリ。其他尙ホ Farnum¹³⁾ 及ビ Pfeiffer¹⁴⁾ ハ精液ヲ以テ、Gengou¹⁵⁾ ハ纖維素原ヲ以テ、Uhlenhuth¹⁶⁾ ハ水晶體、Possek¹⁷⁾ ハ硝子體、Fleischung und Salus¹⁸⁾ ハ葡萄膜、Schütze und Salus¹⁹⁾ ハ筋肉、Hektoen und Schulhof²⁰⁾ ハ甲狀腺「グロブリン」ヲ以テ、Krussius ハ爪甲及ビ毛髮、Elliott ハ粘素及ビ類粘素ヲ以テ其特異性ノ研究ヲ營ミ血清學上多大ノ貢獻ヲナセリ。然レ共敍上ノ如ク臟器蛋白特異性ニ關スル多數ノ文獻ノ跡ヲ回顧シ、之ヲ生物學的特異性上ヨリ觀察シテ以テ總括スルニ、或者ハ絶對的種屬特異性ヲ、或者ハ絶對的臟器特異性ヲ主張シ、或者ハ臟器蛋白特異性ニ關シテ絶對之ヲ否定シ、或者ハ絶對的價值ヲ有スルモノニアラズシテ臟器特異性アルト同時ニ種屬特異性ヲモ有スルモノナリト説キ、諸説紛々トシテ未ダ歸一スル處ヲ知ラザル有様ナリ。然ルニ近時研究ノ歩益々進ミ免疫方法ノ改良並ニ反應檢索ノ法ニ專ラ意ヲ用ヒテ茲ニ免疫學上大ナル進歩發展ヲ招クニ至リ、或ハ沈澱子量ノ測定或ハ沈澱粒子形態ノ比較觀察ニ依リ、遂ニハ吾緒方教授²¹⁾ノ稀釋沈降反應法出ヅルニ及ビ所謂結合帶ノ利用ニヨル沈降素價ノ決定ニ依リテ紛糾セル本問題ノ解決ノ曙光ヲ認ムルニ至レリ。即チ吾教室ニ於テ須之内²²⁾ 氏ハ血清ニ就キ、牧野²³⁾、後藤²⁴⁾ 兩氏ハ硝子體、水晶體、葡萄膜ニ就キ、尙ホ又大城²⁵⁾ 氏ハ睾丸精絲、卵巢ヲ以テ、城²⁶⁾ 氏ハ皮膚ヲ以テ、更ニ余²⁷⁾ ハ纖維素原ヲ以テ稀釋沈降反應法並ニ補體結合反應法ノ應用ニヨリテ各々特異性ノ檢索ヲ試ミ、甚ダ興味アル明確ナル證明ヲ得テ既ニ詳細ヲ發表セル所ナリ。

茲ニ於テ余ハ更ニ臟器蛋白特異性ノ檢索ニ志シ、就中婦人科の疾患殊ニ子癇妊娠惡阻ノ原因ニ關シ或ハ妊娠診斷ニ向ツテ最モ關係深キ胎盤ノ免疫學的特異性檢索ガ非常ニ意義深キヲ思ヒ

而カモ周知ノ如ク此方面ニ向ツテノ研究多々アリト雖モ未ダ特異性ニ關スル詳細ナル報告ヲ認ムル能ハザルガ故ニ、胎盤ノ免疫學的ト異性ヲ確證セント企テ諸種動物胎盤ヲ用ヒテ實驗シ興味深キ成績ニ到達セルヲ以テ茲ニ之ヲ報告セント欲ス。

文獻ヲ按ズルニ、胎盤ニ關スル免疫學的研究ハ Veit⁽²⁸⁾ und Scholten⁽²⁹⁾ ガ人胎盤ヲ家兎腹腔内ニ注入シテ子癰ノ原因ヲ闡明セント企テタルニ始マル。而シテ胎盤沈降素ノ特異性ニ關シテ周到ナル研究ヲ行ヘルハ Liepmann⁽³⁾ ヲ以テ嚆矢トス。氏ハ食鹽水ヲ以テ充分ニ洗滌シ、無菌的ニ製作セル人胎盤ノ乳劑ノ一定量ヲ以テ家兎ヲ數回ニ亙リテ免疫シテ以テ得タル免疫血清ニ就キテ實驗ヲ行ヒ、次ノ如キ結果ヲ得タリ。即チ該免疫血清ハ胎盤絨毛ノ混入ニ依リテ濁濁ヲ生ズ。反之正常家兎血清ニ於テハカカル事ナシ。尙ホカカル免疫血清ハ胎盤要素ニ反應スル以外ニ又臍帶血液、胎盤後血液ニモ良ク反應シ、健康ナル男子及ビ非妊婦血清並ニ他臟器越幾斯(例之子宮)トハ殆ド反應セザルカ或ハ極ク輕度ニ反應スルモノナリト。而シテ同氏ハ該反應ノ決シテ絶對の特異ナラザル所以ハ胎盤乳劑ガ胎盤特有ノ蛋白成分ヲ有スル以外ニ如何ナル法ヲ以テスルモ除去スル事能ハザル血液成分並ニ他種細胞殊ニ結締組織有ノ蛋白體ノ混入ニ起因スルモノナリト報ゼリ。爾來本問題ニ關スル研究ハ鬱然トシテ起リ、多クノ學者ハカノ興味アル Liepmann⁽³⁾ ノ業績ヲ追試シ、Veit⁽²⁸⁾ ノ子癰ニ關スル學說ノ批判ヲナサント企テタルモ、或者ハ之ニ贊意ヲ表シ、或者ハ全然之ヲ否定スルガ如キ有様ニテ何等定説ヲ得ル能ハザリキ。即チ Weichardt⁽³⁰⁾ und Opitz⁽³¹⁾ ハ Liepmann⁽³⁾ ノ實驗ニ改良ヲ加ヘ、或ハ人胎盤ヲ、或ハ家兎胎盤ヲ家兎ノ皮下ニ注射シ、廣汎ニ亙リテ實驗ヲ行ヘルニ其結果ハ Liepmann⁽³⁾ ノ主張ニ反シ如何ナル場合ニ於テモ男子血清並ニ非妊婦血清ニモ強ク反應スルガ如キ成績ニ到達セリ。Wormser⁽³²⁾ ハ又胎盤抗原ノ免疫法ニ向ツテ特ニ意ヲ用ヒテ Liepmann⁽³⁾, Weichardt⁽³⁰⁾ und Opitz⁽³¹⁾ 氏等ノ

實驗ヲ複試シ、殊ニ子癰ノ原因ニ關スル研究ヲ試ミ尙ホ後年 Frank⁽³³⁾ モ亦同様ニ詳細ナル研究ヲ累ネタルモ遂ニ酬ヒラルル事甚ダ少ナカリキ。然ルニ川添氏ハ Veit ノ教室ニ於テ本問題ニ關シテ眞摯ナル研究ヲ累ネ胎盤沈降素ハ妊婦血液、胎盤後血液、臍帶血液及ビ胎盤越幾斯ニ良ク反應シ、男子及ビ非妊婦血液ニハ絶對ニ反應セザル事ヲ確證シテ Liepmann ニ贊意ヲ表シタリ。Freund⁽³⁴⁾ モ亦略ボ川添氏ト時ヲ同ジクシテ Liepmann ノ業績ヲ追試シ本實驗ノ容易ナラザルヲ前提シ、實驗ノ結果胎盤抗血清ニ依リテ妊婦殊ニ子癰患者血液中ノミナラズ、妊婦ノ尿中ニモ殆ド常ニ胎盤沈降素ニ反應シ得ル物質ノ存在スルヲ證明シ、唯爾ニ該抗血清ガ非妊婦尿ヲ以テシテモ濁濁ヲ生ズル事アルモ、之ハ免疫ニ際シテ絨毛基質ノ混入スルガ爲ナリト報ゼリ。近時小口及ビ德永⁽³⁵⁾ 兩氏ハ胎盤沈降素ニ對スル妊婦並ニ初生兒血清ノ特異的免疫反應ニ就テ研究ヲ行ヒ、殊ニ生體內飽和吸收法ノ應用ニヨリテ Liepmann, 川添, Freund 氏等ノ業績ヲ複試シ、胎盤沈降素ハ成人男子血清及ビ健康(非妊娠)女子血清ニ對シテハ親和性ナケレドモ、胎盤越幾斯、妊婦血清、初生兒血清、分娩後2週以內ノ產褥婦血清及ビ生後8年ヲ出デザル幼兒血清ニ對シテ特異的免疫反應ヲ營ム事ヲ證明シ得タリト報ゼリ。尙ホ最近野中⁽³⁶⁾ 氏ハ「妊娠初期ニ於テ胎盤ノ建設ト破壞作用ノ最旺盛ナル時期ニ當リ、之ヲ形成スル物質及ビ其溶解液ハ必ズ母體血行ニ移行セザルベカラザル筈ニテ、之等ハ既ニ Veit⁽²⁸⁾ 等ニヨリ母體血管内ニ發見セラレタリ。之ニ依リテ考フルニ之等ノ物質ハ一種ノ異物タルガ故ニ Abderharden 氏ノ提唱セルガ如ク該血液中ニハ之ニ對應スベキ抗體ヲ產生セノルベカラズ。然ルニ體質、運動其他ノ影響ニ

ヨリテ此抗体ノ產生不十分ナル時ニハ茲ニ惡阻症狀ヲ呈スルモノナルベシ」ト推察シ、果シテ胎盤形成物が實際上所謂抗体ヲ作り得ルモノナリヤ否ヤヲ實驗センガ爲ニ人胎盤浸出液ヲ以テ家兎ヲ免疫シ、沈降反應ニ依リテ之ヲ檢シ、尙ホ該沈降素血清ヲ用ヒテ惡阻患者ノ治療ヲ試ミタリ。

既述セル如ク先學ノ業績ヲ顧ルニ胎盤ノ免疫學的檢索ガ如何ニモ困難ニシテ而モ満足ノ域ニ到達スル

事能ハザリシハ、一ニハ絶對的ニ血液成分ヲ含マザル胎盤抗原ヲ調製シ得ザル事、換言スレバ絶對特異性胎盤沈降素ヲ作り得ザル事ニ基因スルモノナランモ、尙ホ又、現今ニ至ル迄行ハレタル免疫ノ方法竝ニ反應ノ檢索法ガ不十分ニシテ、例ヘバ混合法ヲ應用シテ而モ只一種ノ抗原稀釋液ヲ以テシ、或ハ又今日ニ於テモ廣ク用ヒラルトコロノ抗原稀釋層疊法(Uhlenhuth氏原法)ニノミ依レルガ故ナルベシ。

茲ニ於テ余ハ先ヅ絶對特異性胎盤沈降素ヲ得シガ爲ニ試験管内飽和吸收法及ビ生體內飽和吸收法ヲ應用シ、尙ホ又特殊ナル操作ニヨリテ出來得ル限り純粹(血液成分ヲ含マザル)ニ近キ胎盤抗原ノ製作ヲ企テ、之ヲ以テ免疫ヲ試ミ、次デ該特異性沈降素血清ニヨリ Uhlenhuth 氏原法ニ依ル重層輪環法、緒方氏稀釋沈降反應法竝ニ稀釋法ニヨル結合帶ヲ應用セル補體結合反應法ヲ使用シテ胎盤ノ特異性ヲ檢シ以下ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 2 章 特異性胎盤沈降素ノ調製法

第 1 節 概 説

臓器特異性抗原ノ抗原力ガ甚ダ微弱ナルハ既ニ周知ノ事實ナリ。胎盤抗原ノ抗原力モ亦甚ダ弱キ事ハ先人ノ業績ニ徴シテ明確ナルガ故ニ、胎盤越幾斯ニ向ツテノミ特異的ニ反應シ、而モ高價ナル胎盤沈降素血清ヲ得ント欲セバ先ヅ抗原ノ調製竝ニ免疫ノ方法ニ向ツテ特ニ意ヲ用ヒザルベカラズ。今胎盤ヲ用ヒテ實驗セル先人ノ業績ヲ瞥見スルニ Veit⁽²⁸⁾ 及ビ Scholten⁽²⁹⁾ 氏等ハ充分ニ洗滌シ、附着セル血液ヲ可及的完全ニ洗去リ、細絀セル胎盤ノ生理的食鹽水浮游液ヲ作りテ之ヲ家兎ノ皮下ニ注射シ Weichardt⁽³⁰⁾, Liepmann⁽³⁾ 氏等ヲ始メ他ノ多クノ學者ハ胎盤乳劑ヲ作りテ之ヲ長期ニ亙リテ家兎腹腔内ニ注射ヲ試ミ、特異性胎盤沈降素ノ調製ニ努メタリ。然ルニ該免疫血清ノ多クハ胎盤ノミナラズ血清ニモ亦良ク作用シ所謂非特異性反應アリテ字義ノ如キ絶對特異性胎盤沈降素ハ到底得ル能ハザリキ。是レ實ニ Liepmann⁽³⁾ ヲ始メトシ多クノ研究者ノ痛嘆セルガ如ク如何ナル

法ヲ以テスルモ絶對的ニ血液成分(Liepmann ハ特ニ結締織ニ注目セリ)ヲ含マザル胎盤抗原ヲ調製スル能ハザリシニ基因スト謂ヒ得ベシ。此故ニ Liepmann⁽³⁾ ハ Kister und Weichardt⁽³⁷⁾ ノ創案セル試験管内飽和吸收法ヲ應用シテ胎盤沈降素血清ヨリ血清ニ反應スル沈降素ノミノ選擇的吸収ヲ行ヒ、非妊婦血清(或ハ男子血清)ニハ最早反應セズ、胎盤ニノミ反應シ得ル沈降素血清ヲ得ント企テ、其後 Opitz⁽³¹⁾, Frank⁽³³⁾ 氏等モ亦之ニ倣ヒテ同様實驗ヲ試ミタリ。尙ホ最近小口、徳永兩氏ハ胎盤乳劑ヲ以テ強ク免疫セル家兎ニ健康(非妊娠)人血清ヲ注入シテ(所謂生體內飽和吸收法ヲ應用シテ)之ニ該當スル沈降素ヲ消耗セシメ絶對特異性胎盤沈降素ヲ調製シ得タリト報ゼリ。

茲ニ於テ余モ亦胎盤ノ特異性檢索ニ先立テ特異性胎盤沈降素ノ調製ヲ試ミ次ノ如キ實驗ヲ試ミタリ。

第2節 實驗方法竝ニ實驗材料

1) 試驗動物

2,000g 内外ノ成熟健康家兎ヲ選ビテ免疫ヲ行ヒタリ。過敏症試験ニ於テハ 250 g 内外ノ海猿ヲ使用セリ。

2) 免疫原

免疫用胎盤抗原トシテハ牛、山羊、人、豚ノ胎盤ヲ使用セリ。諸種動物胎盤ノ形態ハ決シテ一様ナラズ、故ニ胎盤抗原製作ノ法モ亦各々趣ヲ稍々異ニスルモ今其概略ヲ記載スレバ次ノ如シ。

胎盤組織及ビ其浸出液ハ之ヲ假ヘ氷室中ニ貯藏スルモ長期ニ亙ル實驗ニ際シテハ到底之ガ腐敗ヲマヌガレズ。サリトテ時ニ臨ンデ新鮮ナル胎盤ヲ得ントスルハ更ニ困難ナリ。此故ニ余ハ其乾燥粉末ヲ作リテ貯藏セリ。先ヅ新鮮ナル胎盤ヲ良ク水洗シ、附着セル血塊ヲ去リ、臍帶動脈管ニ硝子管ノ一端ヲ挿入シ、他端ハ水道栓ニ結ビ通水約 12 時間ノ後、帶白肉色トナレル胎盤ヲトリ、卵膜、臍帶及ビ血管ヲ除去シ、之ヲ剪刀ニテ細切シ、乳鉢ニテ磨リツブシ、其粥狀トナリタルモノヲ廣口罎ニ入レ流水ノ下ニ置ク事數時間、終ニ胎盤細片ハ殆ド白色ヲ呈スルニ至ル。茲ニ於テ生理的食鹽水ヲ以テ數回洗滌ヲ繰リ返シタル後、綿紗上ニ徐々ニ注ギ壓搾シテ水分ヲヨク去リ、瀬戸皿ニ薄ク廣ゲ「フアウスト、ハイム」加熱性排氣乾燥器ニテ非加熱的ニ速ニ乾燥セシム。乾燥一程度ニ進メバ之ヲ細切シ、「エキシカトール」中ニ移シ乾燥全クナリタル時ニ之ヲ更ニ乳鉢ニテ搗碎研磨シ、粉末トナシテ着色罐中ニ入レテ真空乾燥器内ニ保存ス。

免疫ニ際シテハ該胎盤粉末ノ 0.3—0.5 g ヲ取り生理的食鹽水 10 cc ヲ加ヘテ乳鉢ニ入レ、充分磨碎シテ粥狀ニナリタルモノヲ一夜氷室ニ放置シ、翌日 56°C ノ溫槽中ニ入ルル事 30 分ノ後輕ク遠心器ニカケ固形分ヲ除キ、尙ホ潤濁セル上清ヲトリ、之ヲ免疫原

(但 1 回量) トシテ使用セリ。

3) 反應原

反應檢査ニ用ヒタル胎盤越幾斯ハ前述ノ胎盤粉末ノ 0.5 g ヲトリ、之ニ生理的食鹽水ニテ作リタル 1/100 定規苛性曹達液 5 cc ヲ加ヘ乳鉢ニ入レテ良ク研磨シ、一夜氷室ニ放置ス。之ヲ強ク遠心器ニカケテ上清ヲトリ Seitz ノ濾過器ニ依リテ濾過シ全ク透明ニナリタルモノヲ使用セリ。

反應用血清トシテハ無菌的ニ採取シタル諸種動物ノ新鮮ナル血清ヲ使用セリ。

4) 胎盤越幾斯ノ濃度測定

反應檢査ニ際シ使用スル反應原ノ濃度ヲ略ボー一定ナラシムル事ハ成績判定ノ上ニ必要缺クベカラザルヲ思ヒ、簡單ニシテ比較的精密ニ測定シ得ル所ノ醋酸及ビ黃色血鹵鹽溶液ヲ以テスル蛋白濃度測定法ヲ應用シテ、血清蛋白濃度ノ約 1/100 ノ濃サノモノヲ作り之ヲ反應檢査用原液トシテ使用ニ供セリ。但シ實驗成績ニハ血清蛋白濃度ニ換算シテ之ヲ記載セリ。

5) 免疫方法

胎盤浸出液ハ家兎ニ對シテ有毒ニ作用スル事明カニシテ其量比較的小量ナル時ハ血壓降下ヲ來スノミナレドモ其量一定度ヲ超ユレバ著明ナル中毒症狀ヲ呈ストセラレ、余モ亦之ヲ追試セルニ 1 回或ハ 2 回ノ靜脈内注射ニヨリテ家兎ハ直ニ死亡セリ。而シテ胎盤浸出液ヲ重襪煎上ニテ加熱スル時ハ 50°C 以上ニ至レバ次第ニ毒性ヲ減少スルモノナリトセラル (櫻井)³⁸⁾ 故ニ余ハ免疫原ノ調製ニ際シ既述セル如ク胎盤浸出液ヲ 56°C 重襪煎上ニ 30 分間加熱セルモノヲ使用セリ。前述セル免疫原 1 回量ノ中、1 cc ハ家兎耳靜脈ニ、他ハ腹腔内ニ注入シ 3 日ノ間隔ヲ以テ 8

乃至9回或ハ夫レ以上繼續シ、最後ノ注射ヨリ1週ヲ經テ採血セリ。尙ホ特殊ナル免疫方法ニ就キテハ實驗ノ各項ニ於テ詳述セントス。

6) 検査術式

沈降反應 沈降素證明法ハ次ノ2方法ヲ選ビ成績ノ判定ハ重層後室溫15分、30分、1時間ノ經過ニ於ケル成績ヲ觀察シツツ2時間ヲ限度トシテ白色輪ノ生ゼシモノヲ陽性トシテ他ヲ陰性トセリ。

a. Uhlenbuth 氏原法。現今ニ於テモ尙ホ廣ク用ヒラルル所ノ抗原稀釋層重法ニシテ免疫血清ニ階段的ニ稀釋シタル抗原ヲ重層シ、輪環反應ヲ以テ沈降素價ヲ測定スル方法ナリ。

b. 緒方氏稀釋沈降反應法。沈降素血清ヲ1%「アラビアゴム」食鹽水溶液或ハ10%海狸血清ヲ以テ階段的ニ稀釋シ、之ニ各種濃度ノ抗原ヲ層重シ輪環法ヲ以テ檢スル時ハ、或特定濃度ノ抗原溶液ノミガ最も良ク高度稀釋ノ免疫血清ト反應ス。コノ場合其特定濃度ノ抗原ヲ稱シテ結合帶(Bindungszone)ト言ヒ、コノ結合帶ト反應シ得ル免疫血清ノ最高稀釋度

ヲ稱シテ稀釋沈降價(Verdünnungstiter)ト言フ。稀釋沈降價ハ其沈降素血清中ノ沈降素量ヲ表示スルモノナリ。本實驗ニ於テハ沈降素血清稀釋ニ1—2%「アラビアゴム」食鹽水溶液ヲ使用セリ。

補體結合反應 溶血系統ニハ2.5%ノ山羊血球浮游液及ビ之ニ對スル溶血性家兔非働性血清ト新鮮海狸血清ヲ用フ。海狸血清ハ試驗毎ニ其補體價ヲ計リ、夫レニ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、

過敏症反應 過敏症反應ニハ被働性過敏症ヲ使用セリ。即チ抗血清ノ一定量ヲ250g内外ノ正常海狸ノ靜脈内ニ注入感作シ24時間ノ潜伏期後結合帶ニ相當スル量ノ抗原ヲ外頸靜脈内ニ再注射シ夫レニヨリテ惹起セラルル過敏現象ヲ觀察セリ。

吸收試驗 吸收試驗ニハ試驗管内飽和吸收法並ニ生體內飽和吸收法ヲ應用セリ。詳細ニ就キテハ各項ニ於テ記載スベシ。

第3節 試験管内飽和吸收法ニ依ル特異性胎盤沈降素ノ調製法

諸種蛋白體鑑別ノ目的ニ Kister und Weichardt³⁷⁾, V. Dungern³⁸⁾, Ascoli⁴⁰⁾ 氏等ニ依リ試験管内飽和吸收法ガ提唱セラレテ以來、該吸收法ハ幾多ノ先進諸家(Liepmann³⁷⁾, Merteus⁴³⁾, Pfeiffer⁴⁴⁾, Hectoen⁴⁴⁾, Strube⁴⁵⁾ etc.) ニヨリ諸般ノ實驗ニ應用セラレタリ。然レ共試験管内ニ於テ飽和吸收法ヲ行フニ或ハ主副沈降素共ニ吸收シ盡シ全ク反應ヲ呈セザル事アリ。或ハ主沈降素ヲ顯著ニ低下セシメ而モ全然副沈降素ヲ除去シ得ザル事アルガ故ニ、之ニ依リテ絕對の特異性ヲ有スル沈降素ヲ求メントスルハ至難ノ事ニ屬シ高價ナル沈降素ヲ得ル事能ハズ。故ニ臓器蛋白證

明ニ當リテハ理想的方法ニアラズトセラレタリ。余モ亦先學ノ實驗ニ倣ヒテ特異性胎盤沈降素ノ調製ヲ試ミ特ニ稀釋沈降反應法ノ應用ニヨリテ成績ヲ判定シ次ノ如キ成績ヲ得タリ。

試験管内飽和吸收法ニ際シテ余ハ血清沈降素ノ吸收ニ向ツテハ生血清ヲ用ヒズ、血清粉末(非妊婦或ハ男子血清粉末)ヲ使用シ、胎盤沈降素ノ吸收ニ於テハ胎盤粉末ヲ用ヒ、免疫血清1ccニ對シ粉末0.05gノ割ニ加ヘ良ク攪拌シテ溶解充分ナラシメ解卵器中ニ2時間放置シ、一夜氷室中ニ保存ス。翌日之ヲ強ク遠心沈澱シ上清ヲトリテ試験ニ供セリ。

實驗成績

第1項 血清沈降素ノ吸收

a) 牛胎盤ヲ家兎ニ注射シテ得タル牛胎盤抗血清 | 法竝ニ緒方氏稀釋沈降反應法 (以後稀釋法ト記ス)
 (A) ノ牛胎盤及ビ牛血清ノ反應ヲ Uhlenbuth 氏原 | ニ依リテ檢スル時ハ次表ノ如シ.

第 1 表 牛胎盤抗血清 (A) ノ反應

a) 對 牛 血 清

抗原 抗體	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10000
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	—
1: 16	冊	冊	冊	冊	+			
1: 32	冊	冊	冊	+	—			
1: 64	±	+	冊	±	—			
1:128	—	—	—	—	—			

b) 對 牛 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	—
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊			
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊			
1:128	+	+	冊	冊	—			
1:256	—	—	—	—	—			

備考 重層後 15 分陽性ハ冊, 30 分陽性ハ冊, 1 時間陽性ハ冊, 2 時間陽性ハ+, 疑ハシキ場合
 ニハ±ナル記號ヲ以テ表ハス. 以下之ニ準ズ.

即チ牛血清ニ對シテハ U 氏原法ニ依ル效價 1:5000, / 反應ナリヤ計リ難シ. 然ルニ稀釋法ニヨル稀釋沈
 稀釋法ニ於テハ結合帶 1:250, 稀釋價 1:64, 牛胎盤 降價ヨリ之ヲ觀ルニ明カニ差異ヲ認メ胎盤沈降素ハ
 ニ對シテハ U 氏原法ニヨル效價 1:6400, 稀釋法ニ 血清沈降素ヨリモ多量ニ存スルモノナルヲ知リ得ベ
 於テハ結合帶 1:800, 稀釋價 1:128 ニシテ U 氏原 シ.
 法ニヨル成績ヨリスレバ胎盤抗原ヲ作用セシメテ得 今血清沈降素ノ吸收ヲ行フニ次表ノ如キ結果ヲ得
 タル效價 1:6400 ハ果シテ胎盤ノ反應ナリヤ, 血清 タリ.

第 2 表 血清沈降素吸收後ニ於ケル牛胎盤抗血清 (A) ノ反應

a) 對 牛 血 清

抗原 抗體	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100
1: 1	—	—	—	—	—
1: 4	±	—	—	—	—
1: 8	—	—	—	—	—
1:16	—	—	—	—	—

b) 對 牛 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	+	±	—
1: 32	冊	冊	冊	冊	+			
1: 64	冊	冊	冊	冊	±			
1:128	±	+	+	±	—			
1:256	—	—	—	—	—			

即チ吸收後ニ於テハ血清ニ對シ殆ト明確ナル反應ヲ認ムル能ハザルニ反シ胎盤ニ對シテハ U. 氏原法ニ於テハ 1:3200, 稀釋法ニ於テハ結合帶 1:800, 稀釋價 1:128 ナル成績ヲ示シ胎盤ニ對スル稀釋價ハ

吸收前ト殆ト變リナシ。

b) 牛胎盤抗血清 (B) ノ吸收前ニ於ケル成績ハ次表ノ如シ。

第 3 表 牛胎盤抗血清 (B) ノ反應

a) 對 牛 血 清

抗原 抗體	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10000	1:25000	1:50000
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	—
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				
1: 32	+	+	冊	冊	冊	冊	+				
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	+	—				
1:128	—	+	+	+	+	±	—				
1:256	—	—	—	+	—	—	—				
1:512	—	—	—	—	—	—	—				

b) 對 牛 胎 盤

抗原 抗體	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25600
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	—
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊			
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊			
1:128	冊	冊	冊	+	±			
1:256	±	±	冊	—	—			
1:512	—	—	—	—	—			

即チ U. 氏原法ヲ以テスレバ血清沈降素吸收前ニ於ケル成績ニ於テハ胎盤並ニ血清ノ反應ヲ判別スル事困難ナリ。然ルニコノ際稀釋價ヲ見ルニ兩者共ニ 1:256 ノ效價ヲ示シ、稀釋法ニ依ル沈降素價ノミヲ以テシテモ何レノ成績ナリヤ判明シ難キ状態ニアリ

然レ共今兩反應ノ結合帶ヲ相比較スルニ血清ノ反應ニ於テハ 1:250, 胎盤ノ反應ニ於テハ 1:800 ニシテ明カニ差異ヲ認ムル事ヲ得。之ヲ以テ是ヲ觀レバ胎盤ヲ作用セシメテ得タル稀釋沈降價 1:256 ハ決シテ該抗原中ニ含有セラルル血清ノ爲ノ反應ニアラズシ

テ胎盤自體ノ反應效價ナル事自ラ明確ナリ。而シテ | 今吸收試験ヲ試ムルニ次表ノ如シ。

第4表 血清沈降素吸收後ニ於ケル牛胎盤抗血清(B)ノ反應

a) 對牛血清

抗原 抗體	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100
1:1	±	—	—	—	—
1:4	±	±	—	—	—
1:8	—	—	—	—	—
1:16	—	—	—	—	—

b) 對牛胎盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
1:1	冊	冊	冊	冊	冊	++	+	—
1:32	冊	冊	冊	冊	冊			
1:64	冊	冊	冊	冊	冊			
1:128	冊	冊	冊	冊	冊			
1:256	—	±	±	±	±			
1:512	—	—	—	—	—			

即チ牛血清ノ反應ハU. 氏原法ニ於テハ1:5, 稀釋法ニ於テハ1:4, 土陽性ヲ示シ, 抗原10倍稀釋ニ於テハ抗血清其儘ニテハ反應陰性ナルニ抱ラズ抗血清4倍稀釋ハ土陽性ニ反應セリ。次ニ胎盤ノ反應ヲ見ルニU. 氏原法效價1:6400 稀釋法結合帶1:800 稀釋價1:256 ヲ示シ吸收前ニ殆ド變リナシ。是ヲ以テ

觀ルニ此際ニ於ケル血清沈降素ノ吸收ハ稍々不完全ニシテ反應土陽性ナルモ極メテ微弱ニシテ, 少クトモ血清25倍以上ノ稀釋ニ於テハ全ク反應セズ。故ニ血清ノ反應ト胎盤抗原ノ反應トハ全ク無關係ナル事論ヲ俟タズ。

c) 人胎盤免疫血清(A)ノ反應ハ次表ノ如シ。

第5表 人胎盤抗血清(A)ノ反應

a) 對人血清

抗原 抗體	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10000	1:25000
1:1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	++	冊	—
1:8	冊	冊	冊	冊	冊				
1:16	冊	冊	冊	冊	冊				
1:32	+	冊	冊	冊	冊				
1:64	—	±	+	±	—				
1:128	—	—	±	—	—				
1:256	—	—	—	—	—				

b) 對 人 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	+	+	—
1: 8	冊	冊	冊	冊	+			
1: 16	冊	冊	冊	冊	±			
1: 32	+	+	+	±	—			
1: 64	±	+	+	—	—			
1:128	—	—	—	—	—			

人血清並ニ人胎盤ニ對スル反應ヲ見ルニ U. 氏原法ヲ以テシテモ稀釋法ヲ以テシテモ其結果ガ何レノ反應ニ依ルモノナリヤ全ク判別困難ナリ。即チ稀釋法ニヨル沈降價ヲ比較スルニ血清ニ對スル效價ハ胎盤ノ夫レヨリモ稍々高價ナル如キモ結合帶ニ就キテ

ハ明瞭ナル差異ヲ認ムル能ハズ。斯ノ如ク吸收試驗ヲ行ハザレバ假ニ稀釋法ヲ以テシテモ何レノ反應ナリヤ決定ニ苦シム場合アリ。茲ニ於テ吸收試驗ヲ試ムルニ次ノ如シ。

第 6 表 血清沈降素吸收後ニ於ケル人胎盤抗血清(A)ノ反應

a) 對 人 血 清

抗原 抗體	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100
1: 1	±	—	—	—	—
1: 4	—	—	—	—	—
1: 8	—	—	—	—	—
1:16	—	—	—	—	—

b) 對 人 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
1: 1	冊	冊	冊	冊	+	+	—
1: 8	冊	冊	冊	冊	+		
1: 16	冊	冊	冊	冊	±		
1: 32	+	+	+	+	—		
1: 64	±	+	+	±	—		
1:128	—	—	—	—	—		

即チ血清沈降素ノ吸收後ニ於テハ血清ニ對スル反應ハ殆ド認ムル事能ハズ。然ルニ胎盤ニ對シテハ其稀釋沈降價ハ吸收前ニ殆ド變リナク U. 氏原法ニ於テハ稍々低減セルヲ見ルノミナリ。故ニ人胎盤免疫血清(A)ハ略ボ同高價ノ胎盤沈降素ト血清沈降素ト

ヲ有スルモノナルヲ知り得ベシ。

以上ノ實驗成績ヲ總括スルニ胎盤ヲ以テ家兎ヲ免疫シ以テ得タル胎盤抗血清ニ對スル血清並ニ胎盤ノ反應ハ、U. 氏原法ノミヲ以テシテハ、血清沈降素吸收前ニアリテハ胎盤ノ反應ナリヤ將又血清ノ反應ナ

リヤ判別殆ト常ニ困難ナルニ反シ、稀釋沈降反應法ニ依ル沈降價ヲ以テスル時ハ明カニ差異ヲ認メ得ル場合アリ(牛胎盤抗血清A)。尙ホ又假ヘ稀釋沈降價ノミヲ以テシテモ牛胎盤抗血清(B)ノ例ニ見ルガ如ク何レノ反應トモ決定シ難キ事アリト雖モ、此際結合帶ヲナセル抗原ノ稀釋度ヲ相比較スル時ハ尙ホ良ク其效價ノ何レニ屬スルモノナリヤヲ判定シ得ル場合アリ。然レ共第3例(人胎盤抗血清A)ニ見ルガ如ク吸收試験ヲ行ハズンバ殆ト何レノ反應方法ヲ用フルモ兩沈降素價ノ決定ニ苦シム場合アリ。

斯ノ如ク胎盤組織ニ附着セル血液成分ヲ除カンガ爲ニ可成ノ努力ヲ拂ヒテ製作セル胎盤抗原ヲ以テ免疫セル免疫血清モ、免疫經過中ニ抗原力微弱ナル胎

盤蛋白ニ對スル抗體ノ產生ガ該抗原中ニ含有セラルル微量ト雖モ抗原力強キ血清ニ對スル抗體ノ產生ヨリ遙ニ劣ルガ故ニ、益々其ノ特異性ヲ減弱シ主副ノ判別ニ苦シムガ如キ有様ナリ。此故ニ血清粉末ヲ用ヒ試験管内飽和吸收法ノ應用ニヨリテ血清沈降素ノ吸收ヲ試ミタルニ、字義ノ如キ絶對特異性沈降素ヲ得ル事ハ稍々困難ナリト雖モ殆ト特異的ニ反應シ得ル胎盤沈降素ノ調製ヲ得タリ。

以上記述セル外ニ余ハ尙ホ山羊並ニ豚胎盤ヲ用ヒテモ實驗ヲ試ミ殆ト同様ノ成績ヲ得タリ。本項ニ於テハ夫等各々記載ノ煩ヲ避ケ、後述特異性ニ關スル實驗ニ於テ記述セントス。

第2項 胎盤沈降素ノ吸收

曩ノ實驗ニ於テ稀釋沈降反應法ノ應用ニ依リ胎盤免疫血清中ニ於ケル胎盤沈降素並ニ血清沈降素產生ノ狀況ヲ窺ヒ試験管内飽和吸收法ニヨリテ血清沈降素ヲ吸收セシメ特異性胎盤沈降素ノ調製ヲ試ミタル所ナルモ、更ニ余ハ此間ノ關係ヲ一層闡明ナラシメ

ンガ爲ニ胎盤粉末ヲ用ヒテ試験管内飽和吸收法ヲ行ヒ次ノ如キ成績ヲ得タリ。

a) 牛胎盤免疫血清(B)ニ牛胎盤粉末ヲ混シ、胎盤沈降素ノ吸收ヲ試ミタルニ其結果ハ次表ノ如シ。(吸收前ノ反應ハ第3表ニアリ)。

第7表 胎盤沈降素吸收後ニ於ケル牛胎盤血清(B)ノ反應

a) 對牛血清

抗原 抗體	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10000	1:25000
1:1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—
1:16	卅	卅	卅	卅	卅				
1:32	卅	卅	卅	卅	+				
1:64	+	+	+	+	—				
1:128	—	±	±	—	—				
1:256	—	—	—	—	—				

b) 對牛胎盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
1:1	卅	卅	+	—	—
1:8	卅	+	—	—	—
1:16	±	—	—	—	—
1:32	—	—	—	—	—

即チ牛血清ニ對スル沈降價ハ稍々低減シ U. 氏原法ニ依ル效價 1:10,000 稀釋價 1:64 ヲ示セルニ反シ、牛胎盤ニ對スル反應效價ハ著明ナル降下ヲ來シ U. 氏原法ニ依ル效價 1:400, 稀釋價 1:8 ヲ示スノミ是レ反應原中ニ僅ニ含有セラルル血清ノ反應ナルベ

シ。

b) 人胎盤免疫血清 (A) ヲ用ヒ胎盤沈降素ノ吸收ヲ行フニ次表ノ如キ成績ヲ得タリ (吸收前ノ反應ハ第 5 表ニアリ)。

第 8 表 胎盤沈降素吸收後ニ於ケル人胎盤抗血清 (A) ノ反應

a) 對 人 血 清

抗原 抗體	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10000
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—
1: 8	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—
1:128	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—

b) 對 人 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊
1: 8	冊	冊	冊	冊	冊
1:16	冊	冊	冊	冊	冊
1:32	冊	冊	冊	冊	冊

即チ血清ニ對スル反應ハ吸收前ニ比シ稍々減弱セルモ其效價ハ尙ホ 1:64 ヲ示シ、胎盤ニ對スル反應ハ極メテ弱ク U. 氏原法ニ依リ其效價 1:400, 稀釋價 1:8 ヲ示セルノミ。此場合ニ於テモ恐ラク抗原中ニ含有セラルル血清ノ反應ナラン。是ヲ以テ觀レバ胎

盤免疫血清ハ明カニ胎盤蛋白ニ對スル沈降素ト血清ニ對スル沈降素ノ兩者ヲ含有シ試験管内飽和吸收法ノ應用ニ依リテ選擇的吸収ヲ行ヒ特異性沈降素ノ調製セラルル事ヲ一層明確ニスルヲ得タリ。

第 3 項 補體結合反應法ニ依ル特異性胎盤沈降素ノ證明

以上ノ實驗ニ於テ余ハ試験管内飽和吸收試験ノ應用ニ依リテ胎盤免疫血清ヨリ血清沈降素ノ吸收ヲ行ヒ特異性胎盤沈降素ノ調製ヲ企テ、主トシテ沈降反應法ヲ以テ之ヲ證明セリ。茲ニ於テ沈降反應法ニヨ

リテ得タル實驗成績ヲ一層確實ナラシメシメガ爲ニ更ニ補體結合反應法ヲ以テ再試セルニ、沈降反應法ニ依ル成績ト殆ド一致セル結果ヲ得タリ。其成績ハ次表ニ見ルガ如シ。

第9表 血清沈降素吸収前後ニ於ケル胎盤抗血清ノ補體結合反應

免疫血清	稀釋沈降反應	血清沈降素吸収前		血清沈降素吸収後	
		對血清	對胎盤	對血清	對胎盤
抗牛胎盤A	B.z.	1:500	1:1600	—	1:1600
	V.t.	1:32	1:128	—	1:128
同上B	B.z.	1:500	1:1600	—	1:800
	V.t.	1:128	1:256	—	1:256
抗人胎盤A	B.z.	1:500	1:800	—	1:800
	V.t.	1:32	1:16	—	1:16

上表ニヨリテ明カナル如ク吸収試驗施行前ニアリテハ胎盤免疫血清ハ血清並ニ胎盤越幾スノイゾレトモヨク補體ヲ結合シ得ルモ、血清沈降素吸収試驗施行後ニ於テハ最早血清トハ全ク反應セズ。反之胎盤

トハ尙ホ良ク補體ヲ結合シ其效價吸収前ト何等差異ヲ認メズ。即チ補體結合反應法ニ依リテモ試験管内飽和吸収試驗ヲ應用シテ特異性胎盤沈降素ノ調製セラルルモノナル事ヲ明カニ證明シ得タリ。

第4項 過敏症反應法ニヨル特異性胎盤沈降素ノ證明

試験管内飽和吸収法ノ應用ニヨリテ得タル特異性胎盤沈降素ノ證明ニ對シ以上余ハ沈降反應法並ニ補體結合反應法ノ使用ニ依リテ之ヲ立證セル所ナルモ、尙ホ一層這般ノ關係ヲ闡明セント欲シ、從來2蛋白質間ノ生物學的差異ヲ判別シ得ベキ鋭敏ナル一方法トシテ血清學的ニ應用セラルル所ノ過敏症反應法殊ニ被動性過敏症反應法ニヨリテ考究セントシテ次ノ實驗ヲ行ヘリ。

本實驗ニ使用セシ胎盤抗血清ハ牛胎盤抗血清(B)ニシテ血清並ニ胎盤沈降素吸収後ニ於ケル沈降素價測定成績ハ既ニ第4表並ニ第8表ニ示セリ。抗原再注射ニ際シテハ沈降素結合帶ヲ基準トシテ、推定血量ヲ結合帶ノ絕對數ニテ除シタル商即チ結合帶相當量ヲ生理的食鹽水ヲ以テ適宜稀釋シ頸靜脈内ニ注射スルヲ例トセリ。

u) 牛胎盤免疫血清2ccヲ正常海狸ノ靜脈内ニ注

射シテ被動感作ヲ行ヒ、24時間ノ潜伏期後血清並ニ胎盤抗原ヲ以テ結合帶ニ相當スル沈降原量ノ再注射ヲ施スニ次ノ所見ヲ見タリ。

§ 海狸第1號 體重230g, 推定血量17.5cc, 再注射牛血清量0.07cc, 強度過敏症ヲ以テ死ス。

§ 海狸第2號 體重245g, 推定血量18.8cc, 再注射牛胎盤抗原量2.35cc, 強度過敏症ヲ以テ死ス。

即チ牛胎盤免疫血清(B)ヲ以テ被動感作セル海狸ハ血清並ニ胎盤ノイゾレノ抗原再注射ニヨリテモ強度ノ過敏症狀ヲ呈シ再注射後5分以内ニ斃セリ。本實驗ニ於テハ牛胎盤免疫血清中ニハ血清沈降素ノ存在明カナルモ胎盤沈降素ノ存在ニ對シテハ疑義ヲ挾ム餘地ナキニシモアラズ。茲ニ於テ次ノ實驗ヲ試ミタリ。

b) 試験管内飽和吸収法ニ依リテ血清沈降素ノ吸收ヲ行ヒタル牛胎盤免疫血清 2 ccヲ正常海猿ノ靜脈内ニ注射シテ被働感作ヲ行ヒ血清並ニ胎盤抗原ヲ以テ結合帶ニ相當スル沈降原量ノ再注射ヲ施スニ次ノ所見ヲ見タリ。

§ 海猿第 3 號 體重 210 g, 推定血量 16.1 cc,

再注射牛血清量 0.064 cc, 症狀ヲ表ハサズ。

§ 海猿第 4 號 體重 200 g, 推定血量 15.4 cc,

再注射牛胎盤抗原量 1.92 cc, 強度過敏症ヲ以テ死ス。

血清沈降素吸收後ニ於ケル牛胎盤免疫血清ヲ以テ感作セル海猿ハ、牛血清ノ再注射ニヨリテハ何等過敏症狀ヲ呈セザルニ反シ、牛胎盤抗原ノ再注射ニヨリテ強度過敏症ヲ發シテ斃死セリ。即チ本實驗ハ牛血清ニ對シテ反應殆ト表ハレズ胎盤ニ強ク反應シ得ル所謂特異性胎盤沈降素ノ存在ヲ物語ルモノナリ。

c) 試験管内飽和吸収法ニヨリテ胎盤沈降素ノ吸收ヲ行ヒタル牛胎盤免疫血清 2 ccヲ正常海猿ノ靜脈内ニ注射シテ被働感作ヲ行ヒ、血清並ニ胎盤抗原ヲ

以テ結合帶相當量ノ再注射ヲ施スニ次ノ所見ヲ得タリ。

§ 海猿第 5 號 體重 235 g, 推定血量 17.3 cc,

再注射牛血清量 0.07 cc 中等度過敏症ヲ呈スルモ生存ス。

§ 海猿第 6 號 體重 270 g, 推定血量 20.7 cc,

再注射胎盤抗原量 2.6 cc 過敏症狀ヲ認メズ。

即チ胎盤沈降素吸收前ニ於テハ胎盤並ニ血清ノ再注射ニ依リ既ニ過敏症反應ヲ呈セルニ、胎盤沈降素吸收後ニハ血清ニノミ過敏症反應ヲ呈シ胎盤ニ對シテハ何等過敏症狀ヲ呈セザリキ。尙ホ血清再注射ニ際シテ前實驗ニ見ルガ如キ強度過敏症ヲ呈セザリシハ恐ラク胎盤粉末中ニ含マルル血液成分ニ依リ血清沈降素モ一部吸收セラレテ沈降素量ノ減少セラレタルニ依ルモノナラン。是ヲ以テ觀レバ胎盤免疫血清ハ明カニ胎盤沈降素ヲ有シ尙ホ同時ニ血清沈降素ヲモ含有スルモノニシテ吸收試驗ヲ行フ時ハ明カニ特異的ナル沈降素血清ヲ調製シ得ルモノナル事ヲ過敏症反應試驗ニヨリテ明確ニ證明シ得タリ。

第 4 節 生體內飽和吸収試驗ニヨル特異性胎盤沈降素ノ調製法

Linossier und Lemoine⁴⁶⁾ 氏等ガ免疫血清内ニ於テ沈降素ト沈降原トガ同時ニ存在スル事實ヲ發見シテ以來、之ガ本體ヲ闡明セント企テラレタル業績甚ダ多シ。就中 v. Dungern³⁹⁾ ハ眞摯ナル研究ヲ重ネタル結果之ヲ抗原及ビ抗體ノ多種說ヲ以テ説明シ、即チ親和性アル抗原ト抗體トハ生體內ニ於テ共存シ得ルモノニアラズト極言セリ。最近小口⁴⁷⁾、操⁴⁸⁾、小口及ビ濱野⁴⁹⁾、西尾⁵⁰⁾、齋藤⁵¹⁾、須賀⁵²⁾ 氏等ニ依リテモ亦追證セラレタル所ニシテ操氏ハ v. Dungern³⁹⁾ 氏ノ行ヘル實驗ト同一操作ヲ行ヒ山羊血清ヲ以テ免疫セル家兎ニ牛血清ヲ注入シテ牛ニ對スル副沈降素ヲ全ク消失セシメ、小口及ビ濱野⁴⁹⁾ 氏等ハ之ヲ應用シテ血清蛋白「フラクテオン」ノ免疫學的特異性ヲバ闡明シ、須賀⁵²⁾ 氏ハ犬及ビ猫血清並ニ卵黃、卵白、

鶏血清及ビ家鴨血清ノ間ニ認メラルル主副沈降反應ノ分析的研究ヲ行ヒ、其後小口及ビ德永³⁵⁾ 氏等ハ本實驗操作ヲ應用シテ各種臟器ノ免疫學的特異性ヲ確證セント企テ、先ヅ人胎盤乳劑ヲ以テ強ク免疫セル家兎ニ健康(非妊娠)人血清ヲ注入スル時ハ之ニ該當スル沈降素ヲ消滅セシメ絶對特異性胎盤沈降素ヲ調製シ得ルモノナリト報ゼリ。茲ニ於テ余モ亦之ヲ追試シ、而モ稀釋沈降反應法ニ依リ沈降素量ノ測定ヲ基トシテ先人ノ稱セル如ク果シテ絶對特異性胎盤沈降素ヲ調製シ得ルモノナリヤ否ヤヲ究メ、次デ試験管内飽和吸収法ト生體內飽和吸収法トニ依ル實驗成績ノ比較觀察ヲ企テ、次ノ實驗ヲ行ヘリ。

本實驗ニ使用セシ免疫原、反應原並ニ免疫方法ハ試験管内飽和吸収法ニ於テ用ヒタルモノト同様ナ

リ。先ヅ胎盤ヲ以テ免疫セル家兎ヨリ最終注射後1週ヲ經テ採血シ、稀釋沈降反應法ニヨリ或ハ試験管内飽和吸收法ノ併用ニ依リテ胎盤ニ對スル沈降價ヲ檢シ、相當高價ナルヲ認メタル際該免疫家兎ヲ實驗ニ供セリ。

吸收試験ニハ先ヅ免疫家兎ノ腹腔内ニ新鮮ナル血清2ccヲ注入シテ除感作シ、1時間ヲ經テ更ニ1cc

ヲ靜脈内ニ注射シ、何等異常ナキヲ認メタル時ハ其後30分ツツノ間隔ヲ以テ2cc, 2cc, 2cc, 3cc(總量12cc)ノ該血清ヲ靜脈内ニ注射シ、最後ノ注射ヨリ1時間ヲ經テ全採血シタリ。第1例ハ牛胎盤ヲ以テ、第2例ハ人胎盤ヲ以テ免疫セル家兎ニ就キテ各々該當セル正常血清ヲ用ヒ生體內飽和吸收法ヲ試ミタリ。

實驗成績

a) 牛胎盤免疫家兎ニ就キテ行ヘル實驗ヲ總括シテ1表ニ收メ、吸收法施行前及ビ試験管内竝ニ生體內飽和吸收法施行後ニ於ケル牛胎盤及ビ牛血清ニ對

スル反應ヲUhlenbuth氏原法竝ニ稀釋沈降反應法ニ依リテ檢シ、其沈降價ヲ比較スルニ第10表ニ見ルガ如シ。

第10表 牛胎盤免疫家兎ニ就キテ行ヘル血清沈降素吸收試験

A) 吸收試験前ノ反應 (體重 2310g ♀)

a) 對牛血清

抗原 抗體	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10000	1:25000
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 128	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 256	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

b) 對牛胎盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:1280	1:25600
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 128	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
1: 256	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

B) 試験管内飽和吸收法ニヨル血清沈降素吸收後ノ反應

a) 對牛血清

抗原 抗體	1:5	1:10	1:25	1:50	1:100
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊
1: 4	冊	冊	冊	冊	冊
1: 8	冊	冊	冊	冊	冊
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊

b) 對 牛 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25600
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	—
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	+			
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	—			
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	—			
1:128	—	+	+	+	—	—			
1:256	—	—	—	—	—	—			

C) 生體內飽和吸收法ニヨル血清沈降素吸収後ノ反應

a) 對 牛 血 清

抗原 抗體	1:5	1:10	1:25
1:1	—	—	—
1:4	+	—	—
1:8	—	—	—

b) 對 牛 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25600
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	+	—
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
1: 64	+	+	+	+	—	—			
1:128	—	—	—	—	—	—			

即チ吸収前ニアリテハ胎盤並ニ血清ノ反應效價(稀釋法ニ依ル)ハ兩者共ニ1:128ニシテ、之ノミヲ以テシテハ兩者ノ區別判明セズ、即チ飽和吸収前ニ於ケル胎盤ニ對スル反應ノミヲ以テシテハ U. 氏原法ハ勿論、稀釋法ヲ以テシテモ胎盤ニ特異的ニ反應スル抗體ノ效價ヲトスル事能ハズ。然ルニ生常牛血清ヲ生體內ニ注入スル時ハ之ニ該當スル沈降素ハ殆ド消耗シ、胎盤ニ反應スル抗體ハ U. 氏原法ニ依ル效價ノ測定ニ於テハ何等變化ナク1:12800ヲ示シ、稀釋法ニ於テハ單ニ稀釋沈降價ヲ低減スルノミニシテ1:64ヲ示セリ。即チ生體內飽和吸収法施行後ノ成績ノミヲ以テ判ズル時ハ吸収前ニ於ケル反應效價

ハ血清沈降素ノミノ效價ニシテ、吸収後ニ於テ胎盤ニ對スル效價ガ稍々低減セルハ胎盤沈降素ガ吸収前ヨリ低價ナリシ爲ナルガ如ク見受ケラル。須賀氏ニヨレバ生體內飽和吸収法ヲ施ス時ハ注入セル抗原ニ該當スル沈降素及ビ過敏症抗體ノミノ消耗ヲ來シ、他種抗體ハ絕對ニ影響セラルル事ナシトセリ。U. 氏原法ニヨル效價ヲ以テスレバ余ノ場合ニ於テモ吸収前後ニ於ケル胎盤ニ對スル效價ニ何等差異ヲ認メザリシカバ或ハ須賀氏ノ說ノ如ク思考セラルル事モアラン。今之ヲ試験管内飽和吸収法施行後ニ於ケル結果ト相比较スルニ試験管内飽和吸収後ニ於テハ血清ニハ殆ド反應セズ胎盤ニ對シテハ U. 氏原法並ニ稀

釋法ノイヅレニ於テモ其效價ハ吸收前ト何等變リナシ。即チ試験管内飽和吸收前後ニアリテハ胎盤ニ對スル稀釋沈降價ハ共ニ1:128ヲ示セリ。然ルニ生體內飽和吸收前後ニアリテハ胎盤ニ對スル效價ハ低減シテ1:64トナレリ。即チ元來胎盤沈降素ノ效價ハ1:128ナリシニ生體內飽和吸收法ニヨリテ稀釋沈降

價ノ低下(1:64)ヲ招來セルモノニシテ是ヲ以テ觀レバ須賀氏ノ說ノ如ク全ク影響セラルル事ナシトハ言明シ難キガ如シ。

b) 人胎盤免疫家兎ニ就キテ行ヘル實驗ノ成績ハ次表ニ示スガ如シ。

第 11 表 人胎盤免疫家兎ニ就キテ行ヘル血清沈降素ノ吸收試験

A) 吸收試験前ノ反應 (體重 2240 g ♀)

a) 對 人 血 清

抗原 抗體	1:10	1:25	1:50	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2500	1:5000	1:10000
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	++	+	-
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
1:128	-	+	+	+	-	-	-			
1:256	-	-	-	-	-	-	-			

b) 對 人 胎 盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	-
1: 8	冊	冊	冊	冊	冊	冊		
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊		
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊		
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	冊		
1:128	-	+	+	+	-	-		
1:256	-	-	-	-	-	-		

B) 試験管内飽和吸收法ニヨル血清沈降素吸收後ノ反應

a) 對 人 血 清

抗原 抗體	1:5	1:10	1:25
1: 1	±	-	-
1: 5	±	-	-
1:10	-	-	-

b) 對人胎盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	—
1: 8	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	
1:128	—	+	+	—	—	—	—	
1:256	—	—	—	—	—	—	—	

C) 生体内飽和吸収法ニヨル血清沈降素吸収後ノ反應

a) 對人血清

抗原 抗體	1:5	1:10	1:25
1: 1	±	—	—
1: 5	—	—	—
1:10	—	—	—

b) 對人胎盤

抗原 抗體	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	—
1: 8	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	
1: 16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	
1: 32	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	
1: 64	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	
1:128	—	±	+	—	—	—	—	
1:256	—	—	—	—	—	—	—	

吸収試験施行前ニ於テ胎盤免疫血清ニ對スル胎盤ノ效價ハU.氏原法ニヨリテハ胎盤自體ノ反應ナリヤ將タ又胎盤抗原中ニ含有セラルル血清ノ反應ナリヤハ判別困難ナレドモ、稀釋法ニヨル稀釋沈降價ヨリスレバ明カニ差異ヲ認メ胎盤沈降素ノ效價ハ1:128ナルヲ窺知シ得ベシ。茲ニ於テ生体内飽和吸収法ヲ試ミルニ血清ニハ殆ド反應セズ、胎盤ニハ吸収前ト同效價ニ至ル迄反應ヲ表ハシ前ノ牛胎盤ヲ以テセル實驗ニ於ケルガ如ク效價ノ低減ヲ見ザリキ。本實驗ヲ以テスレバ或ハ須賀氏ノ説ガ首肯シ得ラルル如ク考ヘラルルモ余ハ寧ロ抗體稀釋ノ割合ノ關係上、事

實沈降素ノ減弱アリシモ反應ノ上ニ之ヲ認ムル事能ハザリシモノニシテ生体内飽和吸収試験ニ臨ンデ大量ノ血清ヲ注入スル時ハ沈降素價ノ減少ハ免レザルベク、爲ニ前實驗(牛胎盤免疫家兎ヲ以テセル實驗)ニ於ケルガ如キ成績ヲモタラセルナリト理解セント欲ス。

要之生体内飽和吸収法ヲ以テスレバ副沈降素(血清沈降素)ヲ殆ド消滅セシメ、效價ノ僅ナル低減ヲ來スト雖モ尙ホ良ク胎盤ニ對シテ特異的ニ反應シ得ル沈降素ノ調製セラルル事ヲ實驗的ニ證明シ得タリ。

第5節 特殊免疫法ニヨル特異性胎盤沈降素ノ調製法

上述セル如キ特殊飽和吸収法ニ依ラズ、或ハ免疫法ヲ改良シ、或ハ抗原ニ種々ナル操作ヲ加ヘテ、比較的ニ或ハ絶對的ニ特異的ナル沈降素ヲ得ント欲シテ行ハレタル業績ハ多クアリ。Uhlenhuth⁵³⁾氏ハ交叉免疫法ニヨリテ絶對的特異性沈降素ヲ得ント企テ Obermeyer und Pick⁵⁴⁾氏等ハ煮沸蛋白ニテ處置シタル免疫血清ヲ以テ蛋白ノ鑑別ヲ企テ、更ニ Fornet und Müller⁵⁵⁾ハ蛋白鑑別ニ際シ加熱シタル抗原ヲ以テ免疫血清ヲ作レバ免疫價最高ク且其特異性最も顯著ナル事ヲ確メタリ。尙ホ藤原⁵⁶⁾ハ煮沸凝固セル血清蛋白ヲ以テ免疫ヲ行ヒ該免疫血清ガ血清ヲ以テ免疫セル免疫血清ヨリモ一層高價ニシテ且一層種屬特異的ナル事ヲ報告シ、最近岡本⁵⁶⁾氏モ亦煮沸蛋白免疫血清ヲ以テ實驗スレバ明カニ臟器蛋白特異性ヲ鑑別シ得ト報ゼリ。今井⁵⁷⁾氏ハ海猿血清免疫家兎血清ノ特異沈降物質ヲ家兎ニ注射シ、海猿血清ニ對スル特異沈降素ヲ新生セシメ、又奥田⁵⁸⁾氏ハ副沈降原ヲ以テ副沈降素ヲ全飽和吸収シ盡タシル特異抗血清ヨリ得タル特異沈降子ノ免疫原性並ニ夫レヨリ得タル抗血清ノ種屬特異性ヲ研究シ、沈降子ヲ以テ免疫セバ沈降素ノ新生スルヲ認メ、特異沈降子ヲ以テ免疫シタル抗血清ハ左程特異的ニアラズト雖モ對照トシテノ普通ノ沈降子ヲ以テセル抗血清ニ比スレバ尙ホ優越セルヲ認ムト報ゼリ。

以上諸家ノ實驗ハ總テ所謂種屬沈降素ノ產生ヲ防ギテ特異性沈降素ヲ得ント企テテ行ヘルモノニシテ余ノ場合ノ如ク胎盤抗原中ニ含有セラルル血液成分ノ爲ニ生セル血清沈降素ヲ除キ胎盤ニノミ反應シ得ル特異沈降素ヲ得ントスル企トハ稍々趣ヲ異ニスト雖モ、其主旨ニ於テハイゾレモ特異抗體ヲ得ントスルニアレバ余モ亦之ニ倣ヒ、特殊ナル抗原ヲ以テスル免疫法ニヨリテ特異性胎盤沈降素ノ調製ヲ試ミ本實驗ヲ行フニ至レリ。

特種抗原ノ種類

- 1) (牛胎盤浸出液) + (抗牛血清)
(沈澱) (上清) → 注射
- 2) (牛胎盤浸出液) + (抗牛血清)
(沈澱) (上清) + (抗牛胎盤血清)
(上清) (沈澱) → 注射
- 3) (抗牛胎盤血清) + (牛血清)
(沈澱) (上清) + (牛胎盤浸出液)
(上清) (沈澱) → 注射

余ハ以上ノ如キ3種類ノ特殊抗原ヲ製リテ免疫ヲ行ヒ特異性胎盤沈降素ノ調製如何ヲ檢シタリ。

本實驗ニ際シテハ免疫經過中ニ於ケル特異性ノ相違如何ヲ確メシメガ爲ニ免疫回數3回、5回、8回ノ各々免疫後ニ於テ採血ヲ行ヒ胎盤並ニ血清沈降素ノ量的關係ヲ檢索スル事トセリ。

先ヅ對照トシテ何等操作ヲ施サザル胎盤抗原ヲ以テ家兎ヲ免疫シ、其免疫經過中ニ於ケル血清並ニ胎盤兩沈降素ノ量的關係ヲ見ルニ、免疫原タル胎盤ノ種類ニヨリ、或ハ免疫家兎ノ個性ニヨリテ免疫價及ビ特異性ニ差異アリテ一定セル關係ハ得難キモ、抗原力強キ血清ノ抗體產生ハ常ニ胎盤ノ夫レヲ凌ギ牛胎盤免疫血清ニアリテハ兩沈降素量ノ比ハ2:1ヲ出ヅル事殆ドナシ。

1) 抗原ノ特化法ニ Weichardt ノ飽和法アリ。例之 200 倍稀釋人血清 5cc ニ抗馬血清 0.5cc ヲ加ヘ、生ジタル沈澱ヲ除キ更ニ 0.1cc ノ抗馬血清ヲ加ヘ、沈澱ヲ除ク事ヲ數回反覆シ、ヨツテ人血清中ノ抗馬血清ニ反應スル反應原ヲ除キ、抗人血清ニノミ作用スル抗原ニ特異化セントスルニアリ。余ハ胎盤浸出液ニ抗牛血清ヲ作用セシメ胎盤抗原中ニ含有セラルル牛血清ヲ可及的除カント企テ、牛胎盤浸出液 5cc ニ稀釋法ニ於テ結合帶 1:500、稀釋價 1:500 ヲ示ス抗牛血清 0.5cc ヲ混ジ、1時間解卵器中ニ放置シー畫

夜氷室中ニ貯ヘ、生ジタル沈澱ヲ除キ、更ニ 0.2 cc
ノ抗牛血清ヲ加ヘテ同様ノ操作ヲ行フ。斯クシテ得
タル上清ニ就キテ沈降反應ヲ以テ檢スルニ最早抗牛
血清ニハ殆ド反應セザルニ至レルヲ以テ該上清 2 cc

ヲ靜脈内ニ注射シ 3 回、5 回、8 回ノ各免疫後ニ於テ
採血ヲ試ミ胎盤血ニ血清ニ對スル反應ヲ檢スルニ次
表ノ如キ成績ヲ得タリ。

第 12 表 特殊抗原 (1) ヲ以テ免疫シテ得タル胎盤抗血清ノ反應

免疫回数 抗 原	3 回	5 回	8 回
牛 血 清	U. 1: 100 B.z. 1: 25 V.t. 1: 2	U. 1: 1000 B.z. 1: 100 V.t. 1: 10	U. 1: 2500 B.z. 1: 100 V.t. 1: 25
牛 胎 盤	U. 1: 3200 B.z. 1: 800 V.t. 1: 10	U. 1: 6400 B.z. 1: 800 V.t. 1: 25(±50)	U. 1: 6400 B.z. 1: 800 V.t. 1: 50

即チ胎盤及ビ血清兩沈降素量ノ比ヲ見ルニ 3 回免
疫後ニ於テハ 5:1, 5 回免疫後ニ於テハ約 3:1, 8 回
免疫後ニ於テハ 2:1 ノ割合ヲ示セリ。之ヲ以テ見レ
バ免疫回数ノ少キ間ハ稍々特異ナル免疫血清ヲ得
ルモ、免疫回数ノ重ナルニ連レテ特異性ハ低下シ免
疫回数 8 回後ニ於テハ何等操作ヲ施サザル抗原ヲ以
テセル場合ノ結果ト殆ド大差ナシ。即チ本操作ヲ以
テスル時ハ特異的ニシテ而モ高價ナル免疫血清ヲ得
ル事困難ナリ。唯免疫ノ比較の初期ニ於テハ低價ナ
ルモ稍々特異ナル沈降素ヲ製リ得ベシ。

2) 前實驗操作ノ如クニシテ得タル抗原即チ牛胎

盤浸出液ニ抗牛血清ヲ作用セシメ生ジタル沈澱ヲ去
リ、最早抗牛血清ニハ作用セザル上清ニ更ニ抗牛胎
盤血清ヲ加フル時ハ茲ニ胎盤沈降素ノミニ依テナレ
ル所謂特異沈澱子ヲ得ベシ。余ハ前實驗ノ操作ニ依
リテ得タル上清ニ、胎盤ニ對シ稀釋法ニ依ル結合帶
1:8, 稀釋價 1:128 ナル牛胎盤免疫血清ノ同量ヲ加
ヘ、1 時間解卵器中ニ放置シ、一夜氷室ニ靜置シテ
生ズル沈澱即チ特異沈澱子ノミヲ集メ食鹽水ヲ以テ
數回洗滌シ、食鹽水浮游液トナシテ家兎耳靜脈内ニ
注射セリ。實驗成績ハ次表ニ見ルガ如シ。

第 13 表 特殊抗原 (2) ヲ以テ免疫シテ得タル胎盤抗血清ノ反應

免疫回数 抗 原	3 回	5 回	8 回
牛 血 清	U. 1: 50 B.z. — V.t. 1: 1	U. 1: 250 B.z. 1: 25 V.t. 1: 4	U. 1: 2500 B.z. 1: 100 V.t. 1: 16(±32)
牛 胎 盤	U. 1: 1600 B.z. 1: 400 V.t. 1: 8	U. 1: 1600 B.z. 1: 400 V.t. 1: 16	U. 1: 6400 B.z. 1: 800 V.t. 1: 32(±64)

沈澱子ヲ以テ免疫スル時ハ稀釋沈降價ハ一般ニ低
シ。胎盤血ニ血清兩沈降素ノ量の關係ヲ相比較スル

ニ 3 回免疫後ハ 8:1, 5 回免疫後ハ 4:1, 8 回免疫後
ハ 2:1 ヲ示セリ。即チ免疫回数ノ少キ間ハ特異性

稍々著明ナリト雖モ其效價ハ非常ニ低ク、注射回数ヲ重ヌルト共ニ效價稍々増強スルモ特異性ハ低降シ、8回免疫後ニ於テハ何等操作ヲ施サザリシモノト殆ド差異ヲ認メザル程度ニ反應スルニ至ル。

3) 抗人血清家兎血清ヲトリ之ニ猿血清ヲ加ヘ生ズル沈澱ヲ去ル。カクシテ飽和吸收法ノ操作ヲ繰リ返シ行ケバ遂ニハ猿血清ニハ毫モ作用スルコトナク獨リ人血ニノミ良ク反應スルニ至ルヲ見ルト。是レWeichardtノ原理ナリ。本法ニ倣ヒテ余ハ牛胎盤ニ對シ結合帶1:8, 稀釋價1:256, 牛血清ニ對シ結合

帶1:256, 稀釋價1:128ナル牛胎盤抗血清(3cc)ヲ用ヒ、之ニ $\frac{1}{2}$ 容(1.5cc)ノ牛血清ヲ加ヘ良ク混和シテ解卵器中ニ入レ約1時間ノ後氷室中ニ靜置シ、翌日生ジタル沈澱ヲ去ル。尙ホ若シ牛血清ニ反應スル事アレバ更ニ牛血清0.5ccヲ混ジテ同様操作ヲ繰返ス時ハ最早牛血清ニハ作用セザルニ至ル。斯クシテ得タル上清ヲトリ、之ニ同量ノ牛胎盤浸出液ヲ加ヘ、一夜氷室ニ靜置シテ生ズル沈澱ヲ集メ之ヲ以テ家兎ヲ免疫セリ。實驗成績ハ次表ニ見ルカ如シ。

第14表 特殊抗原(3)ヲ以テ免疫シテ得タル胎盤抗血清ノ反應

免疫回数 抗 原	3 回	5 回	8 回
牛 血 清	U. 1: 25 B.z. — V.t. 1: 1	U. 1: 100 B.z. 1: 25 V.t. 1: 8	U. 1: 500 B.z. 1: 50 V.t. 1: 32
牛 胎 盤	U. 1: 3200 B.z. 1: 400 V.t. 1: 8	U. 1: 3200 B.z. 1: 400 V.t. 1: 32	U. 1: 6400 B.z. 1: 800 V.t. 1: 64

本實驗ニ於テハ特異沈澱子ノ製法前實驗ノモノト趣ヲ稍々異ニスルモ其性質ニ於テハ殆ド同種ノモノナリ。カカル沈澱子ヲ以テ免疫ヲ試ムルニ其結果ハ殆ド前實驗成績ニ類似シ胎盤並ニ血清兩沈澱素ノ比ハ3回免疫後ハ8:1, 5回免疫後ハ4:1, 8回免疫後ハ2:1ヲ示シ、免疫ノ初期ニ於テハ特異性稍々著明ナルモ免疫ノ後期ニアリテハ特異性低下シ、抗原ニ何等操作ヲ施サズシテ得タル免疫血清ノ成績ト殆ド差異ヲ認メ得ザルニ至ル。

即チ上述セル如キ種々ナル操作ヲ以テ血液成分ヲ可及的除去シ得タリト考ヘラルル特殊抗原ヲ以テ免疫ヲ行ヘルニ、明カニ胎盤沈澱素ノ產生スルヲ認ム。而シテ其沈澱素價ハ一般ニ低弱ナリキ。是レ鑿ニ胎原⁵⁵⁾、今井⁵⁷⁾、奥田⁵⁸⁾、西澤⁵⁹⁾氏等ガ沈澱物ヲ以テ實驗セル成績ニ一致スルモノナリ。此際該免疫血清ガ恰モ血清ニハ全ク反應セズ、胎盤抗原ニノミ反應シ得ルモノナルガ如ク思考スルモ敢テ不都合ナカル

ベシ。然ルニ事實ハ然ラズ、即チカクノ如クシテ得タル抗血清ハ豫期セル如ク特異的ナルモノニハアラズシテ尙ホ良ク血清ニモ反應シ、免疫回数ノ少キ間ハ特異性稍々著明ナルモ其效價ハ非常ニ低ク、免疫ノ回ヲ重ヌルト共ニ效價ノ増強ヲ見ルモ特異性ハ次第ニ低下スルニ至レリ。是レ反應ノ上ニ陽性トシテ認ムル能ハザル程度ノ微量ナル血清ノ混在ニ基因スルモノナルカ、今井⁵⁷⁾、西澤⁵⁹⁾氏等ノ言ヘルガ如ク沈澱物ニ夾雜又ハ吸着セル沈澱原血清アリテ、夫レガ沈澱原的作用ヲ發揮スルノモナルカニ依リテ以上ノ如キ結果ヲ招來セルモノナルベシ。

要スルニ斯ノ如キ特殊抗原ヲ以テ免疫ヲ行フモ特異性ハ左程著明ニ表ハレズト雖モ對照トシテノ何等操作ヲ施サザル抗原ヲ以テセル抗血清ニ比スレバ免疫回数ノ少キ初期ニ於テハ尙ホ明カニ優越セルヲ見ル。

第 3 章 總 括

1) 余ハ胎盤浸出液ヲ 56°C 重溫煎中ニ 30 分加溫シ其一部ヲ家兎耳靜脉内ニ他ヲ腹腔内ニ注射シ稍々長期ニ亙リテ免疫ヲ行ヒテ比較的高價ナル胎盤沈降素ヲ得タリ。

2) 血液成分ヲ可及的除去セル胎盤ノ浸出液ヲ以テ免疫セル家兎免疫血清ト雖モ胎盤沈降素以外ニ尙ホ血清沈降素ヲモ多量ニ含有スルモノナリ。

3) 胎盤免疫血清中ニ於ケル胎盤竝ニ血清兩沈降素ノ量的關係ハ稀釋沈降反應法ニ依リテ始メテ窺知シ得ルモノニシテ、從ツテ血清沈降素吸收ノ狀態、特異性胎盤沈降素ノ調製、延ヒテハ其應用ニ際シテ常ニ該反應法ニ依ルニアラザレバ眞ニ明確ナル成績結果ヲ得ル事至難ナリ。

4) 該胎盤免疫血清 1 cc ニ血清粉末 0.5 g ヲ混和シ試験管内飽和吸收法ヲ試ムル時ハ血清ニハ殆ド反應セズ、胎盤ニ強ク反應シ得ル特異性胎盤沈降素ヲ調製シ得、本事實ハ沈降反應以外ニ補體結合反應竝ニ受働性過敏症反應ニ依リテモ明カニ證明シ得タリ。

5) 胎盤浸出液ヲ以テ強ク免疫セル家兎ニ約 12 cc ノ血清ヲ注入シテ所謂生體內吸收法ヲ試ミタルニ字義ノ如キ絶對特異的ナルモノハ得難キモ尙ホ良ク特異的ナル胎盤沈降素ヲ調製シ得タリ。

6) 特殊ナル操作ニヨリテ抗原中ノ血液成分ヲ可及的除去セント企テテ得タル特殊胎盤抗原、即チ血液成分ヲ完全ニ除去シ得タリト推セラルル上清或ハ沈澱物ノ注射ニヨリテ得タル胎盤免疫血清モ、左程著明ナル特異性ヲ表ハサズ、唯免疫ノ比較的初期ニ於テハ對照ニ比シテ明カニ優越セルヲ見ルノミナリキ。

7) 要スルニ血液ヲ可及的ニ胎盤ヨリ除去セル抗原ヲ以テ家兎ヲ免疫シ、得タル免疫血清ハ胎盤ニ特異ナル抗體ヲ有シ血清トハ其抗體量ニヨリ或ハ吸收試験ニヨリ區別シ得ラルルモ胎盤ニ對シテ全ク特異ナル抗血清ヲ作ル事ハ困難ナル如シ。

(本論文要旨ハ昭和 6 年 2 月岡山醫學會總會ニ於テ之ヲ報告セリ。)

文 獻

- 1) Bordet, Annal. de L'Inst. Pasteur. p. 240, 1899.
- 2) Tschistivitch, Ebenda. p. 406, 1899.
- 3) Liepmann, Deutsc. med. Wochenschr. Jg. 28, No. 51, S. 911, 1902. Ebenda. Jg. 29, No. 5, S. 80, 1903. Ebenda. Jg. 29, No. 22, S. 383, 1903.
- 4) Weichardt, Hygien. Rundschau. S. 491, 1903.
- 5) Michaelis u. Fleischmann, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 58, 1906.
- 6) Halpern, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 11, 1911.
- 7) Grund, Deutsch. arch. f. klin. Med. S. 383, 1906.
- 8) Forssner, Münch. med. Wochenschr. 1905.
- 9) Guerini, Zeitschr. f. Immunitätsf. S. 70, 1912.
- 10) Moster, Deutsch. med. Wochenschr. S. 61, 1900.
- 11) Metchnikow, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 17, 1913.
- 12) Hess und Römer, Arch. f. Augenheilkunde. Bd. 54, 1906.
- 13) Farnum, The Journ. of the Amer. med.

- Assoc. 1901. 14) Pfeiffer, Wien klin. Wochenschr. S. 637, 1905. 15) Gengou, Ann. de L'Inst. Pasteur. Tome 16, 1902. 16) Uhlenhuth, Biochemisches Centralblatt. Bd. 2, 1903. 17) Possek, Klin. Monatbl. f. Augenheilkunde. 1907. 18) Fleischung, Arch. f. Oph. Bd. 76, 1910. Fleischnig und Salus, Arch. f. Opf. Bd. 79, 1911. 19) Salus, Biochemische Zeitschrift. 1914. 20) Hektoen und Schulhof, Journ. of Amer. med. Assoc. Bd. 80, 1923. 21) 緒方, 第1回衛生學, 微生物學, 寄生蟲病學聯合學會講演, 1927. 22) 須之内, 岡醫雜, 第468號, 1頁, 1929. 23) 牧野, 岡醫雜, 第485, 486, 487號, 1930. 24) 後藤, 岡山醫學會總會演說, 1930及1931. 25) 大城, 岡醫雜, 第4號, 第9號, 1930. 第3回日本聯合衛生學會演說, 1931. 26) 城, 岡山醫學會總會演說, 1931. 27) 佐伯, 岡山醫學會總會(1930)並ニ日本聯合衛生學會(1930)演說. 28) Veit, Zeitschr. f. Geb. u. Gyn. Bd. 44, S. 466, 1901. 29) Scholten, Centralbl. f. Gynäkol. Jg. 26, No. 7, S. 169. 1902. 30) Weichardt, Deutsch. med. Wochenschr. Jg. 28, No. 35, S. 624, 1902. 31) Opitz, Ebenda. Jg. 29, No. 34, S. 597, 1903. 32) Wormser, Münch. med. Wochenschr. Jg. 51, No. 1, S. 7, 1904. 33) Frank, Journ. Exper. Med. Vol. 9, No. 3, p. 263, 1907. 34) Freund, Centralbl. f. Gyn. Jg. 28, No. 43, S. 1287, 1904. 35) 小口及ビ德永, 臨牀產婦人科, 第2卷, 第2—3號. 36) 野中, 日本婦人科學會雜誌, 第21卷, 第11號, 12號. 第22卷, 第7號. 近畿婦人科學會雜誌, 第12卷, 389頁. 臨牀產婦人科, 第1卷, 第3—4號. 37) Kister u. Weichardt, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. No. 20, S. 729, 1902. 38) 櫻井, 成醫學會雜誌, 第48卷, 第12號. 39) v. Dungern, Centralbl. f. Bakt. Bd. 34, S. 355, 1903. 40) Askoli, Münch. med. Wochenschr. S. 704, 1902. 41) Michaelis, Deutsch. med. Wochenschr. S. 1240, 1904. 42) Maragliano, Berl. klin. Wochenschr. Bd. 87, S. 148, 1904. 43) Mertens, Deutsch. med. Wochenschr. S. 203, 1904. 44) Hektoen, Journ. of Amer. med. Assoc. Vol. 48, 1922. 45) Strube, Deutsch. med. Wochenschr. S. 425, 1902. 46) Linossier und Lemoine, Compt. rend. soc. d. biol. 54, p. 85, 1902. 47) 小口, 細菌學雜誌, 262頁, 大正11年. 48) 操, 福岡醫科大學雜誌, 第18卷, 9號, 760頁. 49) Koguchi u. Hamano, The Jap. med. World. Vol. 5, No. 4, p. 86, 1925. 50) 西尾, 成醫學會雜誌, 第44卷, 第6號, 311頁. 51) 齋藤, 社會醫學雜誌. 昭和2年, 554, 606, 727, 923頁. 52) 須賀, 日新醫學, 第16年, 867頁. 53) Uhlenhuth, Deutsch. med. Wochenschr. S. 1673, 1905. 54) Obermeyer u. Pieck, Wien klin. Wochenschr. 1906. 55) Fujiwara, Deutsch. Zeitschr. f. d. Gesamte Gericht. Med. Bd. 1, S. 562. 56) 岡本, 北海道醫學會雜誌, 第6卷, 84頁. 57) 今井, 日本微生物學會雜誌, 第9卷, 239頁. 58) 奥田, 日本微生物學會雜誌, 第17卷, 1725頁. 59) 西澤, 社會醫學雜誌, 76頁, 昭和3年. 60) 早田, 臺灣醫學會雜誌, 第248號, 大正14年. 61) 小畑, 日本婦人科學會雜誌, 第11卷, 2號, 第12卷, 10號, 第13卷, 3號. 62) 挾間, 近畿婦人科學會雜誌, 第9卷, 第3號. 63) 佐伯, 岡醫雜, 第43年, 第10號, 2605頁.