培養 *Leishmania donovani* ノ免疫 學的性狀ニ就テ

京都帝國大學醫學部微生物學教室 (主任 木村教授)

醫學士 山 田 弘

Hiromu Yamada

(昭和16年1月25日受付)

本研究ニ對シテハ文部省科學研究費ノ補助ヲ得タ。記シテ以テ感謝ノ意ヲ表
スル。 指導者 木 村 廉

【内 容 抄 録】

2株ノ培養 *Leishmania donovani* 加熱滅殺わくちんヲ以テ家兎ヲ免疫シ、該免疫血清ニ就テ
原虫滅殺素、凝塊素、凝集素、沈降素、補體結合性抗體、Thrombocytochrome 及ビ過敏性抗體ノ
產生ヲ證明シ、尙凝塊反應、凝集反應及ビ補體結合反應ニ於テ供試2株間ノ特異性ヲ認メタ。

目 次

第1章 緒 言	第1節 實驗材料及ビ實驗方法
第2章 供試材料	第2節 實驗成績
第3章 試験管内原虫滅殺作用ニ就テ	第7章 補體結合反應ニ就テ
第1節 實驗材料及ビ實驗方法	第1節 實驗材料及ビ實驗方法
第2節 實驗成績	第2節 實驗成績
第4章 凝塊反應ニ就テ	第8章 Rieckenberg 反應ニ就テ
第1節 實驗材料及ビ實驗方法	第1節 實驗材料及ビ實驗方法
第2節 實驗成績	第2節 實驗成績
第5章 凝集反應ニ就テ	第9章 過敏症ニ就テ
第1節 實驗材料及ビ實驗方法	第10章 總括及ビ考按
第2節 實驗成績	第11章 結 論
第6章 沈降反應ニ就テ	主要文獻

第 1 章 緒 言

から・あざーるノ病原蟲 *Leishmania donovani* ハ1903年 *Leishman* 及ビ *Donovan* ガ相前後
シテ一原蟲ヲ發見シ、*Laveran* v. *Mesnil* ハ之ヲ一種ノ *Piroplasma* ナリトシタルニ對シ、
同年 *Ross* ハ *Leishmania* ナル一新種ヲ設ケ發見者ノ名譽ノ爲 *Leishmania donovani* ト命名

シタルニ始マリ、翌1904年 *Rogers* ガ同原蟲ノ培養ニ成功シ *Geisselform* ヲ發見シテ以來培養 *L.d.* ノ生物學的性狀ニ就テハ各種培養基上ニ於ケル發育條件或ハソノ形態學的性質乃至ハ生體染色性等ノ各般ニ亙リ極メテ詳細ナル研究ガ相次デ報告セラレタ。然シナガラソノ免疫學的性狀ニ就テハ今日猶十分ナリトハ言ヒ難ク未開ノ域ニ屬スルモノモ尠クナイ現狀デアル。今試ミニ培養 *L.d.* ノ實驗的免疫學的研究ニ關スル既往ノ業績ヲ求メルナラバ極メテ寥々タルモノニシテ僅ニ次ノ二三ノモノヲ擧ゲ得ルニ過ギナイ。即チ *Di Cristina u. Caronia*⁽¹⁾ (1913) ハ *Infantile Leishmaniosis* ノ研究ニ際シテ培養原蟲ヲ 55°C ニテ加熱滅殺シタルわくちん並ニ培養原蟲ヨリ抽出シタル *Nukleoproteid* ヲ抗原トシ、靜脈内及ビ皮下注射ニヨツテ健康及ビ罹患小兒並ニ家兎ヲ免疫シ、夫々一定度ノ抗體價ヲ有スル特異性凝集素、沈降素並ニ補體結合性抗體ノ產生ヲ證明シ、尙ソノ1人 *Di Cristina* ハ豫メ培養原蟲ヲ以テ前處置ヲ施シタル海馬ニ血清培養原蟲混合液ヲ注射シテ過敏性症狀ノ發現セルコトヲ觀察シタト言ヒ、*Bandi*⁽²⁾ (1913) ハ人及ビ犬ヨリ原發セル2種ノ培養株ヲ以テ家兎ヲ免疫シ、各原發株ニ對スル特異性凝集素ノ產生ヲ證明シ之ニヨツテ人原發株ト犬原發株トハ同種ノモノデアリ、又之等ハ同時ニ *Leishmania tropica* ニ對シテモ一定度ノ副凝集價ヲ示スコトニヨツテ *Leishmania* 相互間ニハ類屬凝集反應ノ存在スルコトヲ報告シタ。次デ *Noguchi*⁽³⁾ (1924) ハ *L. donovani*, *infantum*, *tropica* 及ビ *brasiliensis* ノ4種ヲ以テ家兎ヲ免疫シ、各免疫血清ニ就テ凝集反應及ビ補體結合反應ノ出現ヲ證明シ、之ニヨツテ前2者ノ同一種ナルコト及ビ爾餘ノ2種トノ間ニハ夫々嚴密ナル特異性ノ存スルコトヲ明カニシタ。ソノ他我國ニ於テハ春日、田村⁽⁴⁾ (1925) ハ死滅及ビ生培養原蟲ヲ以テ家兎ヲ免疫シ、該免疫血清ニ就テ補體結合反應ヲ證明シ同時ニ試験管内原蟲滅殺作用ノ存スルコトヲ報告シテキルモノガ唯一ノ記載デアル。

茲ニ於テ余ハ最近當教室ニ於テ2株ノ原蟲株ヲ入手シ得タルヲ機トシ、之ニ就テソノ免疫學的性狀ノ一般性ヲ窺ハントシテ本實驗ヲ企圖シタ。即チ先ヅソノ供試材料タルベキ免疫元及ビ反應元ニ就テハ之ヲ比較の容易且ツ豊富ニ、而モ可及的純粹ニ同一條件ノ下ニ調製シ得ル方法トシテ固形培養基ニ比シ液狀培養基ニヨル事遙カニ優レルコトヲ知リタルヲ以テ、液狀培養法ニヨル原蟲體ノ分離ヲ試ミ、ソノ加熱滅殺わくちんヲ抗原トシテ家兎ヲ免疫シ、該免疫血清ニ就テ免疫反應ノ全般ニ亙リ、即チ試験管内原蟲滅殺試驗、凝塊反應、凝集反應、沈降反應、補體結合反應及ビ *Rieckenberg* 反應等ヲ檢索シタル處、培養 *L.d.* ノ免疫學的性狀ニ就テ二三ノ知見ヲ闡明シ得タルヲ以テ取敢ヘズソノ成績ヲ報告スルコトニシタ。

第2章 供試材料

1. 使用株及ビ免疫動物

使用株ハA.B. 2株ヲ使用シ、Aハ昭和15年4月京都陸軍病院ニ於テ患者ヨリ分離シ以後當

教室ニ於テ保存シアルモノ、Bハ本學醫學部皮膚科教室保存株（分離後10年以上ヲ經過シアリ）ヨリ分與ヲ受ケタルモノニシテ、何レモ田邊培養基ヲ以テ累代培養ヲ重ネタモノデアル。免疫動物ハ體重2,000乃至2,200kgノ白色雄性成熟家兎各2頭宛(A₁, A₂, B₁, B₂.)ヲ使用シタ。

2. 培 養 方 法

培養基ハ田邊培養基ニ1%ノ割合ニおりにんヲ加ヘタル液狀培養基ヲ使用シタ。ソノ組成ハ次ノ通りデアル。

(a) 培 養 原 液

食 鹽	10.0g
枸 櫞 酸 曹 達	10.0g
蒸 溜 水	810.0cc
10%おりざにん液	90.0cc
(粉末おりざにんヲ10%水溶液トナシ60°C 2時間ノ加熱ニヨリ浸出セシメタル濾液)	

(b) 家 兎 溶 血 液

脱纖維素家兎血液	1容量
滅菌蒸溜水	1容量

製法ハ先ヅ200cc入こるべんニ培養原液(a)ノ50ccヲ容レタルモノヲ Koch 蒸氣釜ニテ100°C 20分間3回連續3日間滅菌シ、之ニ同量50ccノ家兎溶血液(b)ヲ加ヘ、37°Cノ孵溫ニ1晝夜保チテ無菌のナルコトヲ確メタル後之ニ原蟲ヲ移植シテ22°Cノ孵籠内ニ10日間保ツ。

3. 免疫元ト免疫血清ノ製法

免疫元ハ前記培養液ヲ遠心沈澱法ニヨリ滅菌生理的食鹽水ヲ以テ數回反覆洗滌シ、培養液成分ヨリ完全ニ分離シタル原蟲ヲ培養液量ノ $\frac{1}{10}$ 容濃度、即チ10ccノ生理的食鹽水浮游液(暗視野檢鏡ニヨリ1視野平均30個内外ノ蟲體ヲ含有ス)トナシ、60°C30分ノ加熱ニヨリ滅殺シタルモノヲ使用シタ。

免疫血清ハ此ノ免疫元ヲ家兎耳靜脈内ヘ體重 pro kg. 1.0cc1回, 2.0cc2回, 3.0cc3回ノ6回ニ亘リテ6日目毎ニ注射シ、最後ノ注射ヨリ10日後全採血ニヨツテ血清ヲ分離シタ。但シ家兎A₂ハ第6回注射直後急死シ採血不可能トナツタ爲之ヲ除外シ、A₁, B₁, B₂ノ3種ヲ以テ以下ノ實驗ニ供シタ。

第 3 章 試驗管内原虫滅殺作用ニ就テ

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

第 1. 實 驗 材 料

(1) 培養原蟲；A, B 2種ノ田邊培地培養7日目ニシテ原蟲ノ發育旺盛、運動極メテ活潑ナルモノヲソノ儘使用シタ。

(2) 免疫血清 ; $A_1B_1B_2$ 3 種ノ新鮮ナル働性血清及ビ $56^{\circ}\text{C}30$ ノ加熱ニヨリ非働性ニシタルモノ。

(3) 補體 ; 新鮮海眞血清ノ10倍稀釋液。

第 2. 實 驗 方 法

實驗方法ハ1)働性免疫血清自體ト, 2)非働性免疫血清ニ補體ヲ作用セシメタル場合トニ就テソノ作用ヲ検査シタ。即チ滅菌小試験管ノ1列ニ各免疫血清ノ原液及ビ2%枸橼酸曹達生理的食鹽水ヲ以テ遞減的ニ稀釋シタルモノノ各0.5ccヲ容レ, 2)ニアリテハ更ニ補體ノ0.2ccヲ加ヘタルモノニ培養原蟲液ノ0.1cc宛ヲ添加シテ良ク混合シタル後, 22°C ノ孵溫ニ保チ30分, 1, 3, 6, 24, 48及ビ72時間毎ニソノ1白金耳ヲトリテ暗視野檢鏡ヲナシ, 原蟲ノ運動狀態並ニソノ形態的變化ヲ觀察シタ。尙對照トシテ健常家兎血清原液ニ就テ同様ノ検査ヲシタ。

成績ノ判定法ハ主トシテ原蟲ノ運動狀態ヲ標準トシ, 原蟲總數ノ%以上ニテ蟲體ノ運動極メテ活潑ナルモノヲ $\equiv$, $\frac{1}{2}$ 以下ニテ蟲體ノ運動ヲ存スルモノ及ビ $\frac{1}{2}$ 以上ニテ鞭毛運動ノミ活潑ナルモノヲ $\equiv$, $\frac{1}{2}$ 以下ニテ鞭毛運動ノミヲ存スルモノ及ビ極メテ少數ニテ蟲體ノ運動ヲ認ムルモノヲ $+$, 極メテ少數ニ於テ鞭毛運動ノミヲ認ムルモノヲ $\pm$, 全テノ原蟲ニ於テソノ運動ヲ完全ニ阻止セラレアルモノヲ $-$ ノ記號ヲ以テ示シタ。

第 2 節 實 驗 成 績

1) 働性血清ノ場合

		本 試 驗																對 照																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
試 驗 管 番 號		1	2	3	4	5	6	7	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
血 清 稀 釋 倍 數		原	2	4	8	16	32	• K																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
免 疫 血 清 2%枸橼酸曹達 生理的食鹽水 原 出 液		0.5	0.5					• 0.5																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
		•	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	•																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
		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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	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	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

備考 Kハ健常家兎血清ヲ示ス。

2) 非働性血清ニ補體ヲ作用セシメタル場合

	本 試 験												對 照			
試 験 管 番 號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10						
血 清 稀 釋 倍 數	原	2	4	8	16	32	•	•	•	K						
免 疫 血 清	0.5	0.5					0.2	•	•	0.5						
2%枸橼酸曹達	•	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	•						
生理的食鹽水	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	•	0.2	•	0.2						
稀 釋 體																
原 虫 液	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1						
血清種類	A ₁	B ₁	B ₂	A ₁	B ₁	B ₂	A ₁	B ₁	B ₂	A ₁	B ₁	B ₂	A ₁	B ₁	B ₂	
時 間																
30'	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	++	++	+	++	++	+	++	++	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++
6	+	++	+	+	++	+	++	+	+	++	+	++	++	++	++	++
24	±	+	±	±	+	±	±	+	+	++	+	++	+	++	++	++
48	-	±	-	-	±	-	-	+	-	+	-	+	+	+	++	++
72	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	-	±	-	±	+	++

以上ノ成績ニ依レバ1), 2)兩者ノ場合ニ於テ何レモ3乃至6時間後ヨリ夫々一定度ノ運動阻止作用ヲ呈シ, A₁, B₂ハ原液乃至8倍稀釋液ニ於テ24乃至72時間後ニハ完全ニ之ヲ死滅セシメルコトヲ示シ, B₁ハソノ効價稍々劣ルモ原液及ビ2倍稀釋液ニ於テハ同様に完全ナル原蟲ノ死滅ヲ來シ對照ニ比較スレバ明瞭ナル差異ヲ認メルコトガ出來ル。而シテソノ死滅原蟲ノ形態ノ變化ハ運動停止後一定ノ時間的經過ト共ニ逐次固有ノ紡錘形ヲ變ジテ球形乃至ハ楕圓形ニ膨脹シ鞭毛ヲ消失シテ類廢形ニ移行スルヲ常トシ, 更ニ一部ニ於テハ核及ビ原形質崩壞シテ顆粒ノ散逸シ遂ニハ全ク蟲體姿影ヲ消失スルニ至ルモノガアル。尙A₁, B₂兩血清ニ就テ異株原蟲ニ對スル交叉試驗ヲ行ヘル成績ハ略同一ノ結果ヲ得, A, B兩株間ノ明瞭ナル特異性ヲ認メナカツタ。(表略)

第 4 章 凝塊反應ニ就テ

第3章ニ於ケル試験管内原蟲滅殺試験ノ觀察ニ於テハ前述ノ如キ一定ノ運動狀態並ニ形態的變化ヲ以テ原蟲ノ死滅スルニ先立ち, 次ノ如キ著明ナル現象ガ見ラレタ。即チ働性並ニ非働性免疫血清ノ何ノニ於テモ之ニ原蟲液ヲ添加シ一定時間後暗視野檢鏡ヲスレバ, 少キハ2乃至3個ヨリ多キハ10數個乃至ハソレ以上ノ原蟲ガ互ニ後端ヲ以テ相集リ, 一定ノ配列狀態ヲ呈シテ一ノ凝塊ヲナシタル儘個々ノ原蟲ハソノ鞭毛ヲ外方ニ向ケテ盛ニ活潑ナル運動ヲ繼續シオルコトデアル。斯ノ如キ現象ハ通常液狀培養基中ニ於テソノ分裂増殖期ノ一過性現象

トシテ相似タ像ヲ呈スルコト並ニ健康家兎血清ニ原蟲ヲ添加シタ場合ニモ極メテ弱度ニ同様ノ現象ノ發現セラレルコトハ日常目撃シオル處デアルガ、前述ノ如キ免疫血清ニヨツテ惹起セラレル現象ハ極メテ強度且著明ニシテ明ニソノ特異性ヲ認メルコトガ出來ル。抑々斯ノ如キ原蟲ノ運動麻痺ヲ伴ハザル凝塊現象ナルモノハ夙ニとりばのぞーまノ研究ニ於テ *Laveran u. Mesnil*⁽⁶⁾ (1900)ガ創メテ之ヲ記載シ、次デ *Prowazek*⁽⁶⁾ (1905)ハ鼠とりばのぞーまノ研究ニ就テ所謂凝集現象ト區別スル爲ニ此ノ現象ヲ特ニ *Agglomeration* ト命名シ、ソノ發現機轉ハ *Blepharoplast* ノ作用ニ依ルモノトシタ。ソノ後 *Manteufel*⁽⁷⁾ (1908)ハ鞭毛ノ作用ニ重大意義アルモノトシテソノ發現機轉ヲ説明シタル他、此ノ現象ノ本態ニ關シ多數ノ研究者ニヨツテ報告セラレタ處ニヨレバ、ソノ發現機轉ニ就テハ猶必ズシモ定説ナシト雖モ現象ソノモノハ明ニ特異性免疫反應ノ一トシテ理解セラレルモノデアリ、すびろへーニ於テモ亦同様ノ現象ノ發現スルコトガ明カニセラレタ。惟フニ此ノ凝塊反應ナル現象ハ之ヲ廣義ニ解スレバ、一般ノ細菌ニ於ケル凝集反應ナル概念ノ範疇ニ包括セラレルベキ現象デアルガ、之ヲ前記ノ *Laveran u. Mesnil* 並ニ *Prowazek* ノ定義ニ從ヒ凝塊原蟲個體ノ運動保持性並ニソノ形態的配列狀態ニ意義アルモノトスレバ、本現象ハ明ニ生原蟲ニ就テノミ觀察セラレル特異現象トシテ所謂廣義ノ凝集反應トハ別個ニ理解セラレルノガ至當デアル。本實驗ニ於テハカカル見地ノ下ニソノ發現狀況ヲ觀察シタ。

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

第 1. 實 驗 材 料

(1) 反應元；A. B₂ 株ノ培養原蟲ヲソノ儘使用シタ。即チ田邊培地培養7日目ニシテ原蟲ノ發育旺盛運動極メテ活潑ニシテ、1視野平均10個内外ノ蟲體ヲ含有スルモノヲ選ビ豫メ培養基中ニ於テ自發凝塊現象ノ發現シアラザルコトヲ確メタル上實驗ニ供シタ。

(2) 免疫血清；A₁. B₁. B₂ ノ新鮮ナル働性血清及ビ56°C30分ノ加熱ニヨリ非働性ニシタルモノ。

第 2. 實 驗 方 法

滅菌凝集反應用試験管ノ1列ニ免疫血清ヲ遞減的ニ稀釋シタルモノノ0.5ccヲ容レ、之ニ培養原蟲液ノ0.1ccヲ添加シ良ク混合シタルモノヲ22°Cノ孵溫ニ30分間放置シ、然ル後ソノ1白金耳ヲ載物硝子上ニトツテ暗視野檢鏡ヲナシ、同時ニ塗抹標本ヲ作製シテギーむさ染色ヲ施シタ。反應結果ノ判定法ハ大體凝塊ヲ形成セル原蟲個體ノ數並ニソノ配列狀態ニ據フタ。即チ各免疫血清ノ稀釋度ニ應ジテ概ネ一定ノ順序ヲトリ次ノ3型ニ分ケラレルカラデアル。

第1型ハ稀釋度低キモノニ於テ各原蟲個體ハ必ズシモ嚴密ニソノ前後兩端ノ區別ナク互ニ纏レ合ツテ網狀或ハ樹枝狀ヲナスモノ、第2型ハ之ヨリ稀釋度ノ進ムニ從ヒ數個或ハソレ以

上ノ蟲體ガ互ニ後端ヲ以テ結合シ小塊ヲナセルモノガ更ニ數個乃至ハソレ以上密集シテ1團トナリ一見縋レ合ヒタル糸毬狀ヲ呈スルモノ。第3型ハ更ニ稀釋度ノ進ダモノニ於テ數個乃至2, 3個ノ蟲體ガ各後端ヲ中心ニシテ相集リ花瓣狀ノ配列ヲナスモノデアル。反應結果ノ判定ハ以上ノ標準ニ從ツテ第1型ヲ卅, 第2型ヲ卅, 第3型ヲトシソノ中稍々不確實ナルモノヲ土トシ, 全然凝塊ヲツクラザルモノヲ一ノ記號ヲ以テ示シタ。

第2節 實驗成績

1. 働性血清ノ場合

反應元 株 別	血清種類	血清稀釋 倍數							
		原	5	10	20	40	80	160	320
A	A ₁	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	—
	B ₁	卅	卅	卅	卅	+	—	—	—
	B ₂	卅	卅	卅	卅	+	±	—	—
	K	+	±	±	—	—	—	—	—
B	A ₁	卅	卅	卅	+	+	±	—	—
	B ₁	卅	卅	卅	+	+	±	—	—
	B ₂	卅	卅	卅	卅	+	+	+	—
	K	±	±	—	—	—	—	—	—

備考 Kハ對照健常家兎血清ヲ示ス。

2. 非働性血清ノ場合

反應元 株 別	血清種類	血清稀釋 倍數							
		原	5	10	20	40	80	160	320
A	A ₁	卅	卅	卅	卅	+	+	+	—
	B ₁	卅	卅	卅	卅	+	—	—	—
	B ₂	卅	卅	卅	卅	+	—	—	—
	K	+	±	—	—	—	—	—	—
B	A ₁	卅	卅	卅	+	+	±	—	—
	B ₁	卅	卅	卅	卅	+	±	—	—
	B ₂	卅	卅	卅	卅	+	+	+	—
	K	±	±	—	—	—	—	—	—

上記ノ成績ニヨレバ健常家兎血清ニ於テハ大體5乃至10倍ノ低稀釋度ニテ弱度ノ反應ヲ呈スルコトアルニ對シ, 免疫血清ニ於テハ各該當抗原ニ對シテA₁, B₂ハ160倍, B₁ハ80倍ノ主凝塊價ヲ示シ, 異株抗原ニ對シテハA₁, B₂ハ80倍, B₁ハ40倍ノ副凝塊價ヲ示シタ。即チコノ關係ハ免疫元A, B兩株間ニ一程度ノ特異性アルコトヲ示シタモノデアル。

第 5 章 凝集反應ニ就テ

培養 *L. d.* ノ人工免疫ニヨツテ凝集反應ノ證明シ得ラレルコトハ既ニ第 1 章緒言ニ於テ述べタルガ如ク *Di Cristina* u. *Caronia. Bandi* 及ビ *Noguechi* 等ニヨツテ夙ニ注目セラレタ處デアルガ、ソレヲノ記載ニヨル實驗方法ハ必ズシモ一定セズ、*Noguechi* ハ生原蟲ヲ抗原トシテ顯微鏡的ニソノ結果ヲ判定シアル點ヨリ觀レハ之ハ前章ニ述べタル凝塊反應トシテ取扱ハルベキモノデアリ、兩者ノ見解ガ明確デナイ。故ニコノ點ヲ明確ナラシメル爲本實驗ニ於テハ抗原トシテ免疫元ニ使用シタルト同様ノ加熱滅殺わくちんヲ材料トシ、專ラ肉眼の検査法ニヨツテ所謂細菌凝集反應ニ於ケルト同様ノ現象ガ發現シ得ルヤ否ヤニ就テ觀察シタ。

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

第 1. 實 驗 材 料

(1) 反應元；免疫元ト同一濃度ノ原蟲浮游液ヲツクリ 60°C30分ノ加熱ニヨリ滅殺シタルモノ。

(2) 免疫血清； A_1 、 B_1 、 B_2 3 種ノ新鮮血清ヲ 56°C30分ノ加熱ニヨリ非働性トシタルモノ。

第 2. 實 驗 方 法

1 列ノ凝集反應用試験管ヲ準備シ免疫血清ヲ遞減的ニ稀釋シタルモノノ 0.5cc宛ヲ容レ、之ニ上記ノ反應元ヲ各試験管ニ 0.5cc宛分注シ、2 時間 37°C ノ孵溫ニ保チタル後室溫ニ放置シ 24 時間後ソノ成績ヲ判定シタ。尙反應程度ヲ卅，卅，卅，卅，— ノ記號ヲ以テ示セバソノ成績ハ次ノ如クデアル。

第 2 節 實 驗 成 績

反應元 株 別	血清種類 血清稀釋 倍數	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
A	A_1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	—
	B_1	卅	卅	卅	卅	+	±	—	—	—
	B_2	卅	卅	卅	卅	+	±	—	—	—
	K	+	+	±	—	—	—	—	—	—
B	A_1	卅	卅	卅	卅	+	+	—	—	—
	B_1	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	—	—
	B_2	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	—
	K	+	+	—	—	—	—	—	—	—

備考 K ハ對照健康家兔血清ヲ示ス。

即チ上表ニ見ルガ如ク免疫血清ニアリテハ對照健全血清ニ比較シテ著明ナル特異性凝集反應ノ出現ヲ認メ、最高1280倍、最低320倍ノ凝集價ヲ示シタ。而ツテ各免疫血清ノ凝集價ハ何レモ該當抗原ニ對シテ高ク異株抗原ニ對シテ低ク、免疫元A,B兩株間ニハ本反應ニ對スル嚴密ナル特異性ノ存スルコトヲ認メタ。

第 6 章 沈降反應ニ就テ

由來原蟲免疫ニ於ケル沈降反應ノ出現ハ他種免疫反應ニ比シテ著シク困難ナルモノトセラレ、殊ニ培養 L.d. ノ免疫ニ就テ之ヲ證明シ得タ者ハ前述ノ *Di Cristina u. Caronia* ノ記載ヲ以テ唯一ノモノトシ、ソノ後實驗的ニ之ヲ試ミタモノハ皆無ト云ツテヨイ。惟フニ此ノ問題ニ就テハ二ツノ原因ガ考ヘラレル。即チ一ハ *Leishmania* 原蟲體ソノモノニ沈降元タリ得ル成分ヲ本質的ニ缺如スルニヨルカ、或ハ通常ノ方法ヲ以テシテハ免疫元及ビ反應元ニ供スベキ原蟲體成分ノ浸出處置ニ異常ナル困難ヲ伴ヒ、沈降元トシテ適當ナルモノヲ得ザリシニヨルカ、ソノ何レカニアルモ恐ラクハ後者ニ於テソノ主因ヲナスモノデアラウ。然リトスレバ本實驗ニ於テ免疫元ニ供シタル材料ガ果シテ沈降元性ヲ有スルヤ否ヤニ就テハ多少ノ疑ヒナキヲ得ナイガ、今此處ニハ反應元タル材料ニ二三ノ處置ヲ施シタルモノヲ以テ實驗ヲ試ミ、ソノ抗原性ヲ檢索シタ。

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

第 1. 實 驗 材 料

(1) 沈降元；田邊培地培養10日目ノ發育旺盛ナル原蟲ヲ免疫元ノ製造ト同一操作ニヨツテ反覆洗滌シ、原蟲體ノミヲ完全ニ分離シタルモノヲ培養液量ノ $\frac{1}{10}$ 容濃度ノ生理的食鹽水及ビ蒸溜水浮游液トナシ、之ヲ夫々次ノ如クニ處置シタルモノヲ遠心沈澱シソノ上清液ヲ沈降元トシタ。

- I. 生理的食鹽水浮游液ヲ60°C30分加熱シタルモノ。
- II. 生理的食鹽水浮游液ヲ100°C30分加熱シタルモノ。
- III. 蒸溜水浮游液ヲ60°C2時間加熱後生理的食鹽水ト同一濃度ニナシタルモノ。
- IV. 蒸溜水浮游液ヲ100°C30分加熱シ生理的食鹽水ト同一濃度ニナシタルモノ。
- V. 蒸溜水浮游液ヲ37°Cニ24時間放置後振盪裝置ニテ6時間振盪シタルモノヲ生理的食鹽水ト同一濃度ニナシタルモノ。

(2) 免疫血清：A₁. B₁. B₂血清ヲ56°C30分ノ加熱ニヨリ非働性ニシタルモノ。

第 2. 實 驗 方 法

反應實施ノ術式ハ輪環法ト混合法ヲ併セ行ツタ。1) 輪環法ハ1列ノ沈降反應用細小試驗管

ニ免疫血清ノ原液ト遞減稀釋沈降元ノ各0.05ccヲ重疊シテ室溫ニ放置シ、2)混合法ハ凝集反應用小試験管ノ1列ニ免疫血清ノ原液ト稀釋沈降元ノ各0.2cc宛ヲ混和シテ37°Cノ孵溫ニ24時間放置シ、絮狀沈澱物ノ出現有無ニヨツテソノ結果ヲ判定シタ。

第2節 實驗成績

1) 輪環法試驗

本法ニヨル成績ハ各血清共全テ陰性ニ終ツク。(表略)

2) 混合法試驗

沈降元株別	血清種類 沈降元 稀釋倍數	I				II				III				IV				V			
		A ₁	B ₁	B ₂	K	A ₁	B ₁	B ₂	K	A ₁	B ₁	B ₂	K	A ₁	B ₁	B ₂	K	A ₁	B ₁	B ₂	K
A	原	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	原	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

備考 Kハ健常家兔血清ヲ示ス。

即チ沈降元株A,B兩者ニ就テ沈降元I及ビIIニ對シテハ各血清共反應ヲ示サズ。沈降元IIIニ對シテハA₁, B₂各4倍, B₁ハ2倍, 沈降元IVニ對シテハA₁, B₁2倍, B₂4倍, 沈降元Vニ對シテハA₁, B₁, B₂各2倍ノ沈降價ヲ示シタ。以上ノ成績ニヨレバ各免疫血清ニハ極メテ弱度ナガラ沈降素ノ產生ヲ認メ得ルモ, 反應ハ主抗元タルベキ生理的食鹽水浮游液ノ加熱材料ニ對シテハ證明セラレズ, 却ツテ副抗元タル蒸溜水浮游液ノ加熱材料ニ對シテ陽性ノ成績ヲ得タ。即チコノ場合供試免疫元タル生理的食鹽水浮游液ノ60°C30分加熱材料ハ若干度ノ免疫元性ヲ有スルモ, 該免疫血清ニ對シテハ沈降元性ヲ認メラレナイ結果ニナツタ。

次ニ沈降元IIIニ就テ各血清ノ沈降素量ヲ測定セル結果ハ次ノ如キ成績ヲ得タ。即チA₁, B₂ハ各20倍, B₁ハ10倍ノ沈降素量ヲ有スルコトヲ示ス。

血清種類	A ₁				B ₁				B ₂				K			
沈降元 稀釋倍數 血清 稀釋倍數	原	2	4	8	原	2	4	8	原	2	4	8	原	2	4	8
原	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
5	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
10	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
20	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第 7 章 補體結合反應ニ就テ

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

第 1. 實 驗 材 料

(1) 反應元；免疫元ト同一濃度ノ原蟲浮游液ヲツクリ 60°Cニ 1 時間加熱シタルモノヲ遠心沈澱シ、ソノ上清液ヲ抗元トシタ。使用量ノ決定ハ上記ノモノヲ原液トシテ抗補體價ヲ測定セル結果ハソノ 1.5 倍ノ 0.5ccニ於テ最小溶血防止量ナルコトヲ示シタルニヨリ、主試験ニ於テハソノ 1/2 量、即チ 3 倍稀釋液ノ 0.5ccヲ使用量トシタ。

(2) 免疫血清；A₁, B₁, B₂ 3 種ノ血清ヲ 56°C 30 分ノ加熱ニヨリ非働性ニシタルモノ。

(3) 補體；新鮮海馬血清ニ就テソノ補體價ヲ測定シ、20 倍稀釋液ノ 0.5ccヲ使用量トシタ。

(4) 溶血素血清；抗山羊赤血球免疫家兎血清ノ溶血價 1600 倍ノモノヲ以テシ、ソノ 2 倍濃厚液ヲ使用シタ。

(5) 赤血球浮游液；新鮮山羊赤血球ノ 2.5% 生理的食鹽水浮游液。

第 2. 實 驗 方 法

1 列ノ反應用試験管ヲ準備シ、之ニ免疫血清ヲ遞減的ニ稀釋セルモノ 0.5ccヲ容レ、次デ反應元及ビ補體ノ各 0.5cc宛ヲ加ヘテ良ク混和シ 37°Cノ孵温ニ 1 時間保チタル後、更ニ溶血素血清ト赤血球浮游液ノ各 0.5cc宛ヲ添加シテ再ビ 37°Cノ孵温ニ 2 時間放置シ、然ル後氷室内ニ保存シテ翌日溶血反應ノ成績ニヨツテソノ結果ヲ判定シタ。尙溶血反應ノ成績ハ完全溶血ヲ卅、弱度溶血阻止ヲ卅、強度溶血阻止ヲ十、完全溶血阻止ヲ一ノ記號ヲ以テ示シタ。

第 2 節 實 驗 成 績

反應元 株 別	血清種類 血清稀釋 倍數	5	10	20	50	100	200	500	1000
A	A ₁	—	—	—	—	—	+	++	+++
	B ₁	—	—	—	+	++	++	+++	+++
	B ₂	—	—	—	—	+	++	+++	+++
	K	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B	A ₁	—	—	—	+	+	++	+++	+++
	B ₁	—	—	—	—	+	++	+++	+++
	B ₂	—	—	—	—	—	+	+++	+++
	K	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

備考 Kハ健康家兔血清ヲ示ス。

以上ハ即チ抗原Aニ對シA₁100倍, B₁20倍, B₂50倍, 抗原Bニ對シテハA₁20倍, B₁50倍, B₂100倍迄完全溶血阻止ヲ示シタコトニナリ。此ノ成績ニヨレバ各免疫血清ハ夫々ノ供試抗原ニ對シテ最高100倍, 最低50倍ノ主抗體價ト最高50倍, 最低20倍ノ副抗體價ヲ示シ, 之ニヨツテ免疫元A,B兩株間ニハ可成リ明瞭ナル特異性ノ存スルコトガ認メラレル。

第 8 章 Rieckenberg 反應ニ就テ

1917年 *Rieckenberg* ニヨツテ發見セラレタル血小板帶荷現象ガとりばのぞーま及ビすびろへーたノ實驗的研究ニ於テ一新免疫反應トシテ重要ナル地位ヲ占メルコトハ今日一般ニ認メラレオル處デアルガ, *Leishmania* ニ就テ此ノ現象ヲ認メタルモノハ僅ニ *Messik*⁽⁸⁾ (1927) ノ記載ガ唯一ノモノデアル。即チ培養 *L. tropica* ヲ以テ實驗的ニ感染セシメタルまうすニ於テ3乃至6ヶ月ノ長期間ニ亘リ本反應ノ極メテ特異的ニ發現セルコトヲ認メタモノデアル。其後ニハ *Leishmania* ノ免疫學的研究ニ於テ今日迄コノ現象ニ觸レタル者ハ皆無デアルガ, 本實驗ニ於ケル如キ培養 *L.d.* ノ免疫ニヨツテ本反應ガ出現シ得ルヤ否ヤハ極メテ興味アル問題デアラネバナラナイ。

第 1 節 實驗材料及ビ實驗方法

第 1. 實 驗 材 料

(1) 反應元; A,B 2株ヲ使用シ田邊培地培養7日目ニシテ原蟲ノ發育旺盛, 運動極メテ活潑ニシテ1視野平均10個内外ノ蟲體ヲ含有スルモノ。

(2) 免疫血清; A₁, B₁, B₂ノ新鮮ナル働性血清及ビ56°C30分ノ加熱ニヨリ非働性ニシタルモノ,

(3) 補體; 新鮮海馬血清ノ10倍稀釋液。

(4) 血小板浮游液；血小板ノ分離方法ハ先ヅ健康家兎血液ニソノ $\frac{1}{5}$ 容ノ10%枸橼酸曹達液ヲ加ヘタルモノヲ輕ク遠心(1000回轉10分間)シ、血球成分ヨリナル沈澱層ト乳白色ニ濁セル上層トニ區分セフレタルモノヨリソノ上層部ヲ取ツテ他ノ遠心管ニ移シ3000回轉20分間遠心シ、更ニ1回生理的食鹽水ヲ以テ洗滌、ソノ沈渣ヲ初メト同量ノ生理的食鹽水浮游液トスレバ1視野平均50個内外ノ血小板ヲ含有スル純粹ナル浮游液ガ得ラレル。

第2. 實 驗 方 法

實驗方法ハ1) 働性免疫血清自體ニル場合ト、2) 非働性免疫血清ニ補體ヲ作用セシメタル場合ノ兩者ニ就テ検査ヲシタ。検査方法ハ1列ノ反應用小試験管ヲトリ之ニ免疫血清ヲ遞減的ニ稀釋シタルモノノ0.5ccヲ容レ、次デ血小板浮游液及ビ原蟲浮游液、2)ニアリテハ更ニ補體ノ各0.1cc宛ヲ添加シ十分混和セシメタルモノヲ22°Cノ孵温ニ30分間保チタル後、ソノ1白金耳ヲ載物甯子上ニトツテ暗視野檢鏡ニヨリソノ成績ヲ判定シタ。尙同時ニ塗抹標本ヲ作製シテギムサ染色ヲ施シソノ判定ヲ確實ナラシメタ。而シテ反應結果ノ判定ハ次ノ標準ニ據ツタ。即チ平均1個ノ原蟲ニ5個以上ノ血小板ヲ帶荷シアルモノヲスベテトシ、帶荷原蟲ノ數及ビ附着セル血小板ノ數ニ應ジテソノ程度ヲ卅、卅、十ニ分チ、ソレ以下3乃至4個附着シアル程度ノ不確實ナルモノヲトシ、3個以下ノモノハスベテトシタ。

第2節 實 驗 成 績

1) 働性免疫血清ニヨル場合

反應元 株 別	血清稀釋 倍數								
	血清種類	原	2	4	8	16	32	64	128
A	A ₁	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-
	B ₁	卅	卅	卅	+	+	+	-	-
	B ₂	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-
	K	±	±	-	-	-	-	-	-
B	A ₁	卅	卅	卅	卅	+	+	-	-
	B ₁	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
	B ₂	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	K	±	-	-	-	-	-	-	-

2) 非働性免疫血清ニ補體ヲ作用セシメタル場合

反應元 株 別	血清種類	血清稀釋 倍數							
		原	2	4	8	16	32	64	128
A	A ₁	卅	卅	卅	卅	+	+	+	-
	B ₁	卅	卅	卅	+	+	±	-	-
	B ₂	卅	卅	卅	卅	+	+	±	-
	K	±	-	-	-	-	-	-	-

反應元 株 別	血清稀釋 倍數		原	2	4	8	16	32	64	128
	血清種類									
B	A ₁		++	++	++	+	+	+	-	-
	B ₁		+++	++	++	++	++	+	±	-
	B ₂		+++	+++	++	++	+	+	+	-
	K		±	-	-	-	-	-	-	-

上記ノ成績ニヨレバ各免疫血清ニハ32乃至64倍ノ抗體價ヲ有スル Thrombocytoharine ノ產生ヲ認メ、ソノ反應程度ハ血清稀釋度ノ増進ニ伴ヒ次第ニ減弱シ行クコトヲ示シタ。尙本反應ノ觀察ニ際シテ注目スベキコトハ此ノ現象ノ出現ニハ同時ニ原蟲ノ凝塊現象ヲ伴フコトデアリ、又反應出現及ビソノ經過ノ時間的關係ガ前述ノ免疫血清ニヨル原蟲滅殺作用及ビ凝塊反應ニ相並行シテ認メラレルコトデアル。即チ原蟲ハソノ死滅スルニ伴ヒ血小板ヲ帶荷スル能力ヲ失フニ至ルカラデアル。例ヘバ働性血清A₁ニヨル反應經過ヲ直後ヨリ24時間後ニ至ル迄時間的ニ觀察セル結果ハ次ノ成績ヲ得タ。

時 間	血清稀釋 倍數	原	2	4	8	16	32	64	128
15'		+++	++	++	++	+	+	-	-
30'		+++	+++	+++	++	++	+	+	-
1		+++	+++	+++	++	++	++	±	-
3		++	++	+	+	+	+	-	-
6		+	+	+	+	+	±	-	-
24		-	-	-	±	±	-	-	-

即チ30分乃至1時間ニテ最高ニ達シタル反應ハ3時間以後ニ於テ原蟲ノ死滅スルニ伴ヒ一旦附着セル血小板ハ次第ニ分離シハジメ、24時間後ニ至レバ僅ニ8及ビ16倍稀釋液ニテ猶原蟲ノ一部生存ヲ認メルモノニアリテノミ辛ジテ痕跡程度ノ血小板帶荷現象ヲ認ムルニ過ギナイ状態トナル。

第9章 過敏症ニ就テ

本實驗ヲ實施スルニ當リ免疫操作中家兎A₂ガ第6回注射直後急激ナル症狀ヲ發シテ斃死シタコトハ既ニ第2章供試材料ノ條下ニ於テ述ベタ通りデアル。ソノ際觀察察シ得タル臨床的症狀ハ注射直後數分ヲ出デズシテ著明ナル不安状態ヲ示シ一見呼吸困難ヲ訴フルモノノ如ク、尿尿ヲ失禁シタル中遽ニ全身ノ痙攣様發作ヲ起シテ眼球ハ突出シ間モナク側方ニ倒レテ呼吸ヲ停止シタ。

以上ノ症狀ハ明ニ免疫家兎ニ於ケル過敏性症狀トシテ理解セラレルニ足ルモノデアリ、該家兎ニ於ケル急性死ノ原因ハ過敏性しよつくニヨルモノト云ハナケレバナラナイ。即チコノ場合前後5回ニ及ブ免疫元ノ注射ニヨツテ過敏症ガ賦與セラレソノ血清中ニハ過敏性抗體ガ產生セラレタルモノト云フベク。從ツテ本實驗ニ供シタル免疫元ハ同時ニ過敏性抗原トモナリ得ルコトヲ示シタ譯デアル。

第10章 總括及ビ考按

以上本實驗ニ於ケル成績ヲ總括スルニ、沈降反應ニ就テ明瞭ナル成績ヲ得ザリシヲ除クノ外爾餘ノ諸免疫反應ニ於テハ夫々各反應ニ對スル一定度ノ特異性抗體ノ產生ヲ證明シ得タコトニヨツテ、本實驗ニ供シタル培養L.d.ノ加熱滅殺わくちんノ免疫元性ヲ確認シタモノデアル。而シテ供試免疫元A.B 2株ニ就テハ各免疫血清ハ、ソノ該當抗原ニ對スル最高主反應ノ他ニ異株抗原ニ對シテモ一定度ノ副反應ヲ呈シ、ソノ主副兩反應ノ關係ハA.B 兩株間ニ必ズシモ嚴密ナリトハ云ヒ難イガ認メ得ベキ一定度ノ特異性アルコトヲ示スモノデアリ。凝塊反應、凝集反應及ビ補體結合反應ニ就テ稍々明瞭ナル成績ヲ認メタ。コノ事ハ又同時ニ培養L.d.ノ免疫學の性状ガB株ノ如クソノ培養世代ノ長期間ニ及ブモノニ於テモ猶良ク保持セラレ得ルモノナルコトヲ示シタモノデアル。

次ニ個々ノ反應ニ就テ二三ノ考按ヲ試ミルナラバ、先ヅ試験管内原蟲滅殺作用ニ就テハ此ノ現象ノ發現スル爲ニハ必ズ補體ノ共同作用ヲ要スベキ點ヨリ觀レバ、ソノ機轉ノ本態ハ即チ細菌ニ於ケル溶菌素、乃至ハとりばのぞーまニ於ケル Trypanolysin ノ作用トソノ態度ヲ一ニシ特異性双攝體ノ產生ニヨルモノト解スベキデアルガ、只コノ場合考慮スベキコトハ共同要素タルベキ補體ノ保有スル正常原蟲滅殺性物質ノ問題デアル。何トナレバ、各種動物健康血清ハ種屬ニヨツテソノ保有スル正常原蟲滅殺性物質ニ著シイ特異性ガ見ラレルカラデアル。コノ問題ニ關シテハ Archibald u. Cornwall⁽⁹⁾ (1916) ガ新鮮海溟血清ニ殺原蟲作用アルコトヲ確カメタルヲ始メ Olsen⁽¹⁰⁾ (1918) 亦之ヲ實證シ、ソノ他 Cornwall ノ檢スル處ニヨレバ人、山羊、羊ノ各血清ハ殺原蟲性ヲ有シ、家兎、犬、猫、家鷄ニアリテハ之ヲ認メナイト云フ。故ニ余亦之ヲ檢シタル處健康人血清ハソノ原液及ビ2倍稀釋液ニ於テ、海溟及ビ山羊ハソノ原液ニ於テ、何レモ完全ナル原蟲滅殺作用ヲ有スルニ反シ、家兎、犬、まうす及ビ牛ニ於テハコノ性質ヲ有セザル結果ヲ得タ。從ツテ試験管内原蟲滅殺試驗ニ供スベキ補體ハソレ自體ニ於テハ全ク殺原蟲性ヲ有シナイ量及ビ稀釋度ノモノタルコトヲ要スルコトハ勿論デアル。本實驗ニ使用シタル海溟血清ノ10倍稀釋液ハソレ自體ニ於テハ既ニ全ク原蟲滅殺作用ヲ有シナイモノデアル。

次ニ凝塊反應ト凝集反應トノ見解ニ就テハ既ニソノ章下ニ於テ述ベタルガ如ク、兩者ニ於

テハソノ反應元ト検査方法ヲ全然異ニスルガ故ニ兩反應ニ就テ各血清ノ示ス抗體價ニ差異アルコトハ敢テ異トスルニ足ラザルベク、ソノ成績ハ夫々ノ特異性ニ依ルモノト云フベキデアル。

沈降反應ニ就テハソノ成績ノ示ス如ク培養原蟲ソノモノハ家兎ヲ免疫動物トシタル場合少クトモ沈降元性ヲ有シ得ルコトハ明カナルモ、ソノ反應程度並ニ主副反應ノ關係ハ一定セズ、從ツテA,B兩株間ニ於ケル特異性ヲ云々スルコトヲ得ナイ結果ニ終ツタ。ソノ原因ハ要スルニ抗元ノ製法ニアルモノト云フベク、本實驗ノ成績ノミニヨリ判斷スレバ生理的食鹽水浮游液ノ60°C30分加熱材料ハ沈降反應ノ免疫元及ビ沈降元トシテハ必ズシモ適當ナリトハ言ヒ難ク、寧ろ蒸溜水浸出液ノ加熱材料ヲ以テ免疫元トスレバ更ニ高價ナル特異性沈降素ノ產生ヲ期待スルコトガ出來ル。

Rieckenberg 反應ニ就テハソノ成績ニヨリ明カナル如ク極メテ明瞭ナル特異性免疫反應トシテ認メルニ足ルベク、且ツ本反應ノ出現ハ同時ニ原蟲ノ凝塊反應ヲ伴フモノデアルコトニヨツテ一層ソノ特異性ニ意義アルモノト云フベキデアル。

以上之ヲ要スルニ本實驗ノ成績ハ培養L.d.ノ免疫學的性狀ニ就テソノ概然性ヲ窺フニ足ルモノデアルガ、個々ノ反應ノ特異性ニ就テハ猶不備ノ點ヲ免ズ、各反應ニ對スル抗體產生ノ消長並ニ沈降反應ノ本態等ニ關シテハ後日ノ檢索ニ俟ツモノデアル。

第 二 章 結 論

1. 培養L.d.ノ加熱滅殺わくちんヲ以テ家兎ヲ免疫シ、原蟲滅殺素、凝塊素、凝集素、沈降素、補體結合性抗體、Thrombocytoharine 及ビ過敏性抗體ノ產生ヲ證明シタ。
2. 培養L.d.ノ抗元性ハソノ株ニヨツテ一定度ノ特異性ヲ有シ、凝塊反應、凝集反應及ビ補體結合反應ニ於テ略々明瞭ナル結果ヲ得タ。且ツ培養L.d.ハ培養世代期間ノ長短ニヨツテソノ抗元性ヲ變化シナイ。
3. 培養L.d.生理的食鹽水浮游液ノ60°C30分加熱滅殺わくちんハ沈降元トシテハ適當デナイ。
4. 凝塊反應及ビ Rieckenberg 反應ハ培養L.d.ノ特異性免疫反應トシテ意義アルモノト認メル。

稿ヲ終ルニ臨ミ恩師木村教授ノ御懇篤ナル御指導御校閲ニ對シ謹ミテ深謝ノ意ヲ表スル。

主 要 文 献

- 1) Cristina u. Caronia : Zschr. f. Kinderhilk. 1913, Bd. 9, 128.
- 2) Bandi : J. of trop. med. 1913, Bd. 16, 50.
- 3) Noguchi : J. of exp. med. 1916, Vol. 44, 327.

- 4) 春日,田村 : 軍醫團雜誌, 大正14年, No. 141, 295. 5) Laveran et Mesnil : c.
r. Soc. Biol. 1900, T. 52, 816. 6) Prowazek : Arb. a. d. Kais. Ges-Amt, 1905, Bd.
22. 7) Manteufel : Arb. a. d. Kais. Ges-Amt, 1908, Bd. 28. 8) Messik :
Zbl. f. Bakt. orig. 1927, Bd. 101, 413. 9) Archibald u. Cornwall : Indian. Jl.
Med. Res. 1916, 105. 10) Olsen : Arch. f. Schiffs u. Tropen-Hyg. 1918, Bd. 22, 81.