正常ウサギ血清の示す殺菌性に対する菌体成分の影響

特に菌体内毒素の意義について

吉 田 英 一

日本大学医学部細菌学教室 (指導 相沢憲教授)

〔受付: 6 月 12 日 1956 年〕

緒 言

相沢研究室における正常血清の殺菌性に関する一連の研究の中に、正常殺菌素または正常溶菌素と呼ばれ耐熱性で或程度特異性を示す部分と、いわゆる補体と呼び易熱性で特異性のない部分との協同作用によって発現する殺菌系があり、自然抵抗性の中にあつて主としてグラム陰性桿菌に対向する易熱性の液性抵抗と解釈されるものである。この種の病原細菌がこの液性抵抗と相関聯して感染成立に立到る過程をば菌体成分の側から解析しようと試みた研究は、既に Thibault,¹⁾ Cundiff & Morgan²⁾ などにも見られるが、特にムチンなどの抵抗性減弱物質 (resistance lowering substances) として実際の応用面とも関連し、Olitzki,³⁾ 相沢⁴⁾ の綜説に精しい。著者はグラム陰性菌の特徴となつている菌体内毒素へ注目し、特に Binkley, Goebel & Perlman,⁵⁾ Tal & Olitzki⁶⁾ などの部分分画の知見を利用してこの種の液性抵抗における意義を知らんとし、併せて Felix & Pitt⁷⁾ 以来注目され芦田⁸⁾ によつて始めて単離され、安東の莢膜染色⁹⁾ によりその実態の明らかになつた Vi 特異物質との関係をも窺わんとし、茲に 2, 3 の知見を得たので報告する。

実験材料及び実験方法

1) 使用菌株: 正常ウサギ新鮮血清の示す殺菌性に種々の度合で鋭敏に反応し、しかも抗原構造上知見の豊富な *Eberthella typhosa* の V 相菌 (Ty₂ 株), W 相菌 (O₉₀₁ 株), R 相菌 (R₂ 株) 及び異種の菌体内毒素抽出の目的で選んだ *Proteus* OX19 (伝研株) を普通寒天に 37°C 18~20 時間培養後使用し、必要に応じマウス通過をなし菌力を保つ様努めた。

2) 使用動物: すべて市販の 3 kg 前後の白ウサギ, 500 g 前後のモルモット, 15~20 g のマウス。碎麦及び野菜 (にんじんを含む) で飼育。

3) 菌体成分の抽出と部分分画法: まず型の如くアセトン乾燥死菌体を 5 倍量の蒸留水に混和浮遊させ、0°C

で同容の 0.5N トリクロール酢酸を加え 3 時間抽出, 遠心上清を流水透析し, 再遠心上清に 2 倍容のエタノールを加えた沈澱をエタノール, エチルエーテルで洗滌, 真空乾燥して Boivin 型抗原 (BA と略記す) をとる。主

表 1 BA より C 及び PT の分画法

YOSHIDA Eiichi: The inhibition of the bactericidal power of normal rabbit sera by bacterial endotoxin and its degeradated substances. Department of Bacteriology, School of Medicine, Nippon University, —Jap. J. of Bact., 11 (10), 867-873, 1956.

表 2 BA より CT の分画法

として Goebel et al.⁹⁾ に倣い、O₉₀₁株のBAより毒素部分 (T) が蛋白質部分に結合するPT, 多糖質部分 (C) 毒素部分が多糖質部分に結合するCT, を表1, 表2の如くして分画し, さらにCTより表1の如くしてC'を得た。

Ty₂株のBAよりは表3の如くVi特異物質 (Vi. S. S.) とO特異物質 (O. S. S.) とを分画した。

なお Proteus OX₁₉よりのBA, PT, Cは表1により山本講師の保存するASL¹⁰⁾より出発した。ASLは凍結融解法を反覆後の遠心上清を凍結乾燥した標品である。

4) 菌体成分の殺菌性抑制の検査法: 正常ウサギの新鮮血清は採血後滅菌試験管にとり37°C 3~4時間放置後遠心上清を採取す。その0.5ccに所要濃度になるよう上記各菌体成分の生理食塩水溶液を等量加え, 時々振盪しながら37°Cの湯槽に1.5時間おく。対照に生理食塩水の2倍稀釈血清をおく。被検菌株の上記培養菌より適当濃度に作製した食塩水浮游液の1滴をこれらの血清に加える (この混合液中には生菌数 3万/cc ~ 10万/cc 含まれることになる) 37°C に保ちながら, 混和直後, 1, 2,

表 3 BA より Vi. S. S. 及び O.S.S. の分画法

3時間後の各0.1ccをとり, 生理食塩水で100倍に稀釈, その1ccを2枚宛のシャーレにとり, 予め溶融した普通寒天を混合, 平板培養とする。37°C 48時間培養後, 發育集落数を算え, 殺菌効果を判定する。従つて表中0は完全殺菌を意味する。また血清を階段稀釈していわゆる box titration も行つた。

5) 抗補体性検査法: 各成分は型の如くヤギ血球で免疫したウサギ血清の溶血素価7単位で感作した3%ヤギ血球の溶血系でモルモットの補体に対する抗補体性をしらべた。補体価2単位を使用し, 所要量の各成分を加えて氷室に15~18時間作用させ, 15分室温放置後, 感作血球を加えて37°C 1時間で判定した。

6) 毒性検査: 3匹宛のマウス腹腔内に各成分の所要遞減量を注射し, 2~7日間生死を観察しLD₅₀を算出してみた。

実験結果

1) 菌体成分の性状: 血清の殺菌性に対する抑制作用を除く他の化学的, 生物学的諸性状を一括表4に示す。PTはBAと共に0.1%溶液でBiuret反応はやや弱い, Molisch反応陰性で蛋白質部分と見なされ, 他の分画はすべてBiuret反応陰性, Molisch反応陽性で多糖質部分を含むといえよう。マウスの毒性よりみると, 菌体内毒素を結合しているとみられるE. typhosaのPT, CT及びVi. S. S. に強い毒性が認められ, C, C'は5mgでも症状すらなく無毒性多糖質といえよう。O. S. S. は抽出過程にアルカリ処理を含むために毒性が弱い。但し Proteus OX₁₉よりのBA, PTに毒性が見ら

第4表 各種菌体成分の性状

菌株名 菌体成分 性状		O ₉₀₁ 株					Ty ₂ 株			OX ₁₉ 株		
		BA	PT	C	CT	C'	BA	ViSS	OSS	BA	PT	C
呈色反応	Biuret 反応	+	+	—	—	—	+	—	—	+	+	—
	Molisch 反応	++	—	++	++	+	++	+	++	+	—	+
マウス毒性 (ip)	5 mg	$\frac{3}{3}$ *	$\frac{2}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{0}{3}$ **	$\frac{0}{3}$ **	$\frac{0}{3}$ **
	1	$\frac{3}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$
	0.1	$\frac{1}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{3}$
	LD ₅₀ (mg)	0.3	2.1	>5	2.1	>5	<0.1	<0.1	>5	>2	>2	>2
抗原性	抗Oチフス血清	10 ⁻⁷	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	(—)			(—)		
	抗 Vi 血清			(—)			10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	>10 ⁻³	(—)		
	抗 OX ₁₉ 血清			(—)			(—)			10 ⁻⁷	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶
抗補体性 (モルモット)	0.5 %	++	++	++	++	±	++	++	++	++	++	+
	0.25	++	+	+	+	—	++	++	++	++	+	—
	0.125	+	+	±	+	—	++	±	++	+	+	—
	0.1	+	+	—	+	—	++	—	+	±	—	—
	0.05	+	±	—	±	—	+	—	±	—	—	—
	0.025	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	0.0125	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	対 照	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* 死亡マウス数/注射マウス数

** 2 mg の成績

第5表 O₉₀₁ 株より得た菌体成分の血清殺菌性抑制

被検菌株	菌体成分 濃度 作用時間	BA				PT				CT				C				C'			
		0h	1h	2h	3h	0h	1h	2h	3h	0h	1h	2h	3h	0h	1h	2h	3h	0h	1h	2h	3h
		対 照	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ty ₂ 株	0.05 %	256	556	836	1012	372	668	556	988	448	1156	1130	1648	832	596	364	584	252	224	52	28
	0.01	380	644	896	968	528	728	880	920	754	708	782	1268	736	532	604	386	508	37	0	0
	0.002	332	542	584	984	362	640	476	872	590	608	576	432	1108	940	468	154	624	42	0	0
	0.0005	240	168	20	7	584	484	536	142	406	364	138	74	1040	804	248	36	526	0	0	0
	対 照	392	0	0	0	514	0	0	0	504	0	0	0	752	0	0	0	304	0	0	0
O ₉₀₁ 株	0.05 %	524	624	1214	1602	440	472	512	1492	626	974	1190	1598	408	312	624	344	328	0	0	0
	0.01	492	416	724	1616	316	468	308	1012	880	938	1166	1326	624	492	404	522	128	0	0	0
	0.002	324	0	0	0	428	616	416	956	558	177	21	0	712	728	324	202	192	0	0	0
	0.0005	408	0	0	0	592	102	34	0	684	0	0	0	634	23	0	0	308	0	0	0
	対 照	1056	0	0	0	1604	0	0	0	1094	0	0	0	1326	0	0	0	594	0	0	0
R ₂ 株	0.05 %	964	792	1256	2474	1520	380	184	460	1338	926	804	850	946	28	2	3	1350	0	0	0
	0.01	984	0	0	0	1354	28	14	23	1220	94	0	0	1184	23	0	0	436	0	0	0
	0.002	768	0	0	0	1626	0	0	0	984	0	0	0	1492	0	0	0	388	0	0	0
	0.0005	976	0	0	0	1386	0	0	0	1152	0	0	0	1266	0	0	0	350	0	0	0
	対 照	1056	0	0	0	1604	0	0	0	1094	0	0	0	1326	0	0	0	594	0	0	0

数字は菌数を示す, 血清濃度 2 倍稀釈

れなかつたのは A S L が長期保存後のためか、奇異に感ぜられた。しかし、重層法による沈降反応から各分画の沈降原価を検べた結果も、これらの分画がほぼ所期の目的を達して行われたことを示した。興味あることは抗補体性試験の成績で、B A、C T、P T は Eberthella, Proteus の如何を問わずいずれも強い抗補体性を示したのに、毒性の強い Vi. S. S に抗補体作用が弱い。無毒性多糖質の C 株に C T より得た C' は抗補体作用を欠いている。

2) 菌体成分の殺菌性抑制：a) O₉₀₁株より得た B A、C T、C、C' の E. typhosa Ty₂株、O₉₀₁株、R₂株に対する血清の殺菌性抑制の1例を表5に示した。いずれの被検菌株でも対照欄にみる如く既に作用1時間で菌集落の発生が抑制されているのに、この2倍稀釈血清の殺菌性は被検菌株と菌体成分の濃度によって異なるが、菌体成分の添加によって抑制ないし減弱されている。無毒性多糖質就中 C' にはこの濃度では最も殺菌されにくい Ty₂株に対してさえ抑制をみせてない。

b) Ty₂株より得た B A、Vi. S. S., O S S の抑制成績を表6に示した。作用時間3時間、各成分の濃度を終末濃度0.05%とした成績である。

B A は著明な抑制を示したが、Vi. S. S. はマウスに

強い毒性を示したのに抑制作用はずつと弱く、O S S は抗補体作用が弱かつたのに被検菌 O₉₀₁株の殺菌性に対しては B A にほぼ匹敵する抑制性を示している。

c) Proteus OX₁₉ より得た B A、P T、C の試験成績を表7に一括した。O S S の上記の成績はいわゆる正

第6表 Ty₂株より得た菌体成分の血清殺菌性抑制

被検菌株	菌体成分	血清稀釈		2 倍		4 倍		8 倍		16 倍	
		作用時間		0 ^h		0 ^h		0 ^h		0 ^h	
		成分		3 ^h		3 ^h		3 ^h		3 ^h	
Ty ₂ 株	対 照			424	14	436	272	724	736	502	792
	B A			658	952	616	1550	452	1180	874	1752
	Vi. S. S.			792	188	554	664	388	404	712	928
	O. S. S.			408	502	690	1154	510	980	598	1220
O ₉₀₁ 株	対 照			756	0	302	0	592	0	478	0
	B A			840	524	458	750	942	942	368	1124
	Vi. S. S.			918	0	422	42	870	5	624	27
	O. S. S.			760	220	500	668	698	1288	450	1020
R ₂ 株	対 照			790	0	694	0	970	0	786	0
	B A			936	708	678	850	890	1382	772	2024
	Vi. S. S.			524	0	508	0	734	0	524	0
	O. S. S.			924	0	474	0	552	0	358	0

第7表 Proteus OX₁₉ の菌体成分の血清殺菌性抑制

被 檢 菌 株	菌体成分 作用時間 濃 度	BA				PT				C			
		0 ^h	1 ^h	2 ^h	3 ^h	0 ^h	1 ^h	2 ^h	3 ^h	0 ^h	1 ^h	2 ^h	3 ^h
Ty ₂ 株	対 照	431	0	0	0	626	324	32	0	632	206	56	0
	1 %	703	754	922	1594	598	580	856	1128	704	796	934	1384
	0.5	366	346	669	1336	684	716	878	1296	734	804	968	1436
	0.05	542	416	616	1020	372	552	630	1104	808	1322	1832	1596
	0.01	580	476	452	808	574	834	798	1150	696	804	1260	1384
	0.002	542	518	648	750	420	538	802	736	772	880	548	432
	0.0004	636	212	54	5	506	388	176	92	896	1072	604	270
O ₉₀₁ 株	対 照	1392	0	0	0	934	0	0	0	1454	0	0	0
	1 %	931	1550	1452	1890	940	1250	1592	1640	1218	1352	1550	1694
	0.5	849	1390	1326	1450	1122	1428	1516	1418	1360	1388	1352	1516
	0.05	868	924	1114	1354	1134	1552	1290	1258	1120	1334	1158	650
	0.01	1116	982	1412	1652	946	108	53	25	904	0	0	0
	0.002	1152	122	13	0	1016	34	0	0	1480	0	0	0
	0.0004	958	0	0	0	902	0	0	0	1716	0	0	0
R ₂ 株	対 照	972	0	0	0	980	0	0	0	504	0	0	0
	1 %	752	556	56	45	836	504	132	96	624	324	118	78
	0.5	612	500	76	21	784	536	118	53	638	374	12	0
	0.01	924	42	24	3	916	12	9	0	712	54	0	0

常抗体としてのO抗原と関係が介在することを明示するものと思われるので、異種の *Proteus* OX₁₉ 分画を試みたのである。対応する *Proteus* に対してより *Eberthella* に対し寧ろ強い殺菌性抑制を示し、やはり抗補体性を強く示すBA, PTに抑制作用が強い。

d) O₉₀₁ 株より得たPTとVi. S. S. とを併用すると殺菌性抑制が高まるかどうかを検した処、表8の如く或程度の協同作用が認められ、両者を共有する菌の意義を考慮させた。

第8表 血清殺菌性抑制に及ぼすPTとVi. S. S. の協同作用

被検菌株	血清稀釈 作用時間 菌体成分	8 倍 稀 釈 血 清			
		0 h	1 h	2 h	3 h
O ₉₀₁ 株	対 照	522	0	0	0
	0.0005% PT	314	298	114	0
	0.01% Vi.S.S.	304	194	32	0
	0.0005% PT + 0.01% Vi.S.S.	426	356	508	472
R ₂ 株	対 照	138	0	0	0
	0.0005% PT	212	0	0	0
	0.01% Vi.S.S.	320	0	0	0
	0.0005% PT + 0.01% Vi.S.S.	194	0	0	0

総括並びに考按

著者は *E. typhosa* の菌体成分が正常ウサギの易熱性液性抵抗に示す作用を表9の如く模式化を試みた。

最左列(I)には正常ウサギの新鮮血清による *E. typhosa* のV, W, R各相菌の殺菌され易さを示す。一応殺菌性を示す血清の終末稀釈度で其の値を表してみたが、

第9表 *E. typhosa* の菌体成分の正常ウサギ血清殺菌性抑制 (模式図)

	I 正常ウサギ血清による殺菌性		II O ₉₀₁ 株の菌体成分				III R ₂ 株の菌体成分		
	新鮮血清	Boivin 培養液	PT	C	CT	C' (CT ₂)	Boivin 培養液	Vi-S-S	O-S-S
T ₁₂ 株 (V相)	2 nd	0 th	1 st	0.5	5	1	750	125	125
O ₉₀₁ 株 (W相)	16	40	25	5	25	25	>750	>750	125
R ₂ 株 (R相)	30	80	125	25	125	100	>750	>750	>750

● 血清稀釈度を示す
 ××× 4% Cに相当

2成分以上の因子が関与するこの種の殺菌系ではその中の或る1成分の最小有効濃度が表現されるだけでその間の量的関係が常に平行しているかどうかは不明なため必ずしも適切とはいえない面がある。一応V>W>Rの順で殺菌され易いという感受性の差を示した積りである。次列(II)には正常凝集素価を揚げた。通常の正常ウサギにはTy₂株に対する凝集素がなく、V<W<Rの順に高値を認めることを示した。この正常凝集素と殺菌性との相関については林¹¹⁾の検討もあり、或程度の平行性は認められるが、厳密な意味での特異性は認め難いとい、その内容は更に検討を要しようが、この場合にはかなり重要な意味をもつと思われた。次列(III)(IV)には2倍稀釈血清の示す殺菌性に対する各種菌体成分の抑制性を3時間作用後の完全抑制濃度で表現してみた。1単位を4γ/ccとしているので、PTを例にとると、Ty₂株に対しては2γ/cc, O₉₀₁株に対しては20γ/cc, R₂株に対しては100γ/ccの添加でこの血清の殺菌性が喪失することを示した積りである。BAはもちろん、とくにPT, またはCTが微量でよく殺菌性を喪失させており、CTより得た多糖質C'が顕著に抑制能を失つていることが注目される。O. S. S. はCとC'との中間に当っており、抽出過程の不備、解重合なども考えさせるが、それにも増してVi. S. S. に抑制能の低いことは興味ある知見と思われた。

これらの成績をその毒性または抗補体性、抗原性という各種菌体成分の他の性質と照合して考察すると、まず毒性及び抗補体性が強く沈降原性の特に低いPTが顕著な抑制能を示したことが注目されよう。またCTをC特にC'と比較して考察すればここに存在する毒性部分Tの意義を考えさせよう。それは抗原的に関係のないとされる *Proteus* OX₁₉ のPTにも抑制能の示されたことで裏づけられるように思われる。著者はこの種の殺菌系に対する菌体成分の意義の一つとして正常殺菌素との関係ももちろん考慮されようが、この抗補体性を通して関与する菌体内毒素の意義を主張するものである。Thibalt¹⁾ が *Sh. dysenteriae* のBAを用い、Cundiff & Morgan²⁾ が *E. typhosa* のそれを用いて、我々の用いる方法とは異なる、10の何乗個までの被検菌が殺菌されるかを目安にしたWard¹²⁾ の試験法によつてその抑制性を検し、共にその特異的抑制性を強調し、寧ろ正常殺菌素への作用説をとっているが、新鮮血清をそのまま用い別に補体系を添加しない点で我々の方法に近い前者ですら、沈降原性の点からはBAと大差のないハプテン性多糖質にこの種の抑制性を欠く成績を示しており、Oltz-

ki³⁾ も未発表の成績として1944年の経験を引用し、含磷性の conjugated protein, undegradated polysaccharide (著者の P.T, C.T にそれぞれ相当すると思う) に殺菌性抑制能を認めている。Tal & Olitzki⁴⁾ は菌体内毒素の各種の部分分解産物の性状と菌体内毒素によるとされる種々の反応との関係を詳細に比較し、Conjugated protein は undegradated polysaccharide には劣るが、他の simple protein や degraded polysaccharide とは異つて pathogenizing effect ありと述べている。従つて著者が菌体内毒素はその抗補体性を介して殺菌性抑制に関与すると主張するとしてもあながち無謀の企てではなかろう。菌体内毒素の属性には致死毒の他に発熱因子、白血球減少性因子、糖代謝異常因子、腫瘍あるいは胎盤内出血因子などが知られているが、抗補体性を介して殺菌力抑制性に作用するものもその一つに加えたいと思うものである。

なお Olitzki⁵⁾、相沢⁶⁾ により綜説された多糖質系、シリカ系などの抵抗性減弱化物質 (resistance lowering substances, または pathgenizing substances, katabolactac substances) は相沢により抗補体性の性格から巧みに説明されたが、その中のイヌリン¹³⁾、澱粉¹⁴⁾ などの多糖質の示す抗補体性ないし殺菌性抑制能を著者の菌体成分のそれと比較すると、10⁸ からの開きをもつて後者の微量で作用が認められることは興味あることで、Olitzki のコロイド粒子状態説とも考えあわせ (事実イヌリンは加熱などにも不安定性を示し、もちろん著者の低温ピクリン酸処理法でもその活性を失う)、機作上には示唆する処があろうかと考える。

Vi. S. S. はマウス致死毒性からはかなりの期待がかけられたが、抗補体性も寧ろ弱く、殺菌性抑制能も低値を示した。V 相菌が最も血清の殺菌性に抵抗するのであるから、芦田の抽出法がやや劇烈なため自然状態の Vi 物質とは異なるものとも考えたが、別報¹⁵⁾ の喰作用への影響をみるに及んで、寧ろ Vi. 物質は液性抵抗よりは細胞抵抗に対向するもののように理解するようになった。もちろん Vi. S. S. と P.T との間には協力作用が認められたので、補助因子としては役立つのではないかと考えるものである。

結 論

1) Eberthella typhosa O₉₀₁ 株, Proteus OX₁₉ より得た Boivin 型抗原及びその部分分解産物は、多糖質分屑、蛋白分屑いずれでも、いわゆる毒性部分を結合している場合には、強い抗補体性を示し、この種の細菌に

対するウサギ新鮮血清の示す in vitro の殺菌性を強く抑制する。

2) その作用は抵抗性減弱化物質といわれるイヌリン、澱粉などのそれに比し極めて微量で有効である。

3) Eberthella typhosa Ty₂ 株より芦田の Vi. S. S. を抽出したが、これは菌体内毒素の示す上記作用に協力因子とはなるが、それ自身の抗補体性、殺菌性抑制能は共に弱い。

4) 以上より液性抵抗に対向する菌体成分就中菌体内毒素の意義につき考按した。

拙筆に臨み懇篤な御指導と御校閲を賜った恩師相沢憲教授に深甚の謝意を捧げると共に、手ほどきより御指示を仰いだ山本正講師に感謝する。

文 献

- 1) Thibault, P.: Action de l'antigène glucidolipidique du B. de Shiga sur le pouvoir bactericide du serum frais normal de lapin. Ann. Inst. Pasteur., **63**, 462-484, (1939).
- 2) Cundiff, R. J. & Morgan, H. R.: The inhibition of the bactericidal power of human and animal sera by antigenic substances obtained from organisms of the typhoid-salmonella group. J. Immunol., **42**, 361-367, (1941).
- 3) Olytzki, L.: Mucin as a resistance-lowering substance. Bact. Rev., **12** 149-172, (1948).
- 4) 和沢憲: 実験的感染に関する二、三の問題. 日大医学雑誌, **11**, 515-522, (1952).
- 5) Binkley, F., Goebel, W. F. & Perlman, E.: Studies on the Flexner group of dysentery bacilli. II. The chemical degradation of the specific antigen of type Z. Shigella paradyserteriae (Flexner). J. Exp. Med., **81**, 331-347, (1945).
- 6) Tal, C. & Olitzki, L.: The toxic and antigenic properties of fractions prepared from the complete antigen of Shigella dysenteriae. J. Immunol., **58**, 337-348, (1948).
- 7) Felix, A. & Pitt, R. M.: A new antigen of B. typhosus. Its relation to virulence and to active and passive immunization. Lancet, ii, 186-191, (1934).
- 8) 芦田光三: Studies on the antigenic substances of Eberthella Typhosa. Japan. J. Exp. Med., **20**, 181-209, (1949).
- 9) 安東洪次及び中村義雄: Studies on the Vi antigen of typhoid bacilli. II. On a method of staining Vi antigen as a capsule. Japan. J. Exp. Med., **21**, 4-44, (1951).
- 10) 田宮猛雄, 羽里彦左衛門, 山本正, 下保寛人及び西

- 岡久寿彌: Studies on the antigenic substance common to *Proteus* OX₁₉, *Rickettsia prowazekii* and *Rickettsia mooseri*. (Second Report). Japan. J. Exp. Med., **20**, 135-143, (1949).
- 11) 林俊吉: 正常血清の殺菌作用に関する研究, 特に耐熱性因子 (正常殺菌素) の特異性について. 日大医学雑誌. **12**, 112-125, (1953).
- 12) Ward, H. R.: Observation on the phagocytosis of the pneumococcus by human whole blood. I. The normal phagocytic titre and the antiphagocytic effect of the specific soluble substance. J. Exp. Med., **51**, 675-684, (1930).
- 13) 大島俊男: 実験的感染に関する研究, 特に Inulin の効果に就いて. 日本衛生学雑誌, **11**, 6-13, (1950).
- 14) 奥田嘉門及び菅井亭: 実験的感染に関する研究, 特に澱粉の効果に就いて. 昭和医学会雑誌 **11**, 1-6, (1951).