

【昭和9年1月16日受附】

口腔スピロヘータの研究

第3編 口腔スピロヘータの免疫學的性狀に就て

千葉醫科大學細菌學教室(主任 緒方 教授)

岡 部 重 男

目 次

第1章 緒 言	第1節 實 驗 方 法
第2章 凝集反應試験	第2節 免疫家兎血清の補体結合反應
第1節 實 驗 方 法	第3節 反應元の耐熱性
第2節 免疫家兎血清の凝集反應	第4節 免疫注射回数と注射量とが補体結合素產生に及ぼす影響
第3節 反應元の耐熱性	第5章 總 括
第4節 免疫注射回数と注射量とが凝集素產生に及ぼす影響	第6章 結 論
第3章 總 括	主 要 文 獻
第4章 補体結合反應試験	

第 1 章 緒 言

余は曩に口腔スピロヘータの純粹培養を企て容易に本スピロヘータの分離培養に成功し、該スピロヘータの生物學的性狀をも併せて檢索し得て其の結果は既に本誌上に發表せり。本篇に於ては斯くして得たる口腔スピロヘータ純粹培養株を使用して、其の免疫學的性狀就中其の凝集反應及び補体結合反應等に就きて諸實驗を試みたり。翻つて口腔スピロヘータの免疫學的研究に關する文献に就て觀るに、Craig (1912) はスピロヘータ、バリダ及びスピロヘータ、デンチウムのアルコール浸出液を使用してその相互間の補体結合反應に就て實驗し、其の間に特異性類屬反應を認め得たりと報告せり。野口、赤津 (1917) も亦氏等の純粹培養せる各種スピロヘータ株を免疫元とせる免疫血清に就て、其の凝集反應及び補体結合反應等を檢し其の成立を報ぜり。Gaetgens (1929) は其の論文に於てスピロヘータ、バリダ免疫家兎血清はスピロヘータ、デンチウムを反應元として作用せしめたる場合、補体結合素價 50 倍に於て陽性成績を得たりと。

以上諸氏の記載に就て見るも、從來の文献は何れもスピロヘータ、バリダを主としスピロヘータ、デンチウムを従として實驗せられたる傾向強く、單獨に口腔スピロヘータのみに就て

免疫學的事項を記載せる文献あるを知らず。茲に於て余は、口腔スピロヘータの免疫學的性狀に就て檢索を試むる亦徒爾ならずと信じ以下其の結果を報告し諸賢の批判を乞はんとす。

第 2 章 凝集反應試験

第 1 節 實驗方法

1. 免疫元及び反應元の製法。余の囊に分離培養せし口腔スピロヘータ I-VI 號各株を家兎血清加豚卵丸フイヨン中に發育せしめ、其の培養第 10 日目のものを免疫元及び反應元として使用せり。即ち各口腔スピロヘータ株の培養 10 日目の發育液 0.5 cc を 40 % 家兎血清加豚卵丸フイヨン液狀培養基 (全量 10 cc) に移植し、37°C の孵卵器に保つときは培養 3 日目より試験管底に灰白雲狀層を作りつゝ漸次旺盛なる増殖を營み、既に培養 10 日に及べば其の發育は極期に達し、各試験管の 2/3 以上に汙り灰白不透明發育層を形成するに至る。此際發育層の内、試験管底に沈澱せる陳舊スピロヘータ凝塊を吸上げざる様注意しつゝ、上層に平等に發育せる部分のみを毛細硝子管を用ひて採取し之を遠心器にて遠心沈澱せしめ、斯くして沈澱し來れるスピロヘータを 3 回生理的食塩水を加へて強力遠心沈澱法を繰返して清洗し、最後に得たる沈澱スピロヘータを滅菌生理的食塩水にて稀釋し、暗視野裝置のツアイス接眼鏡 10、對物鏡油浸 6 にて 1 視野中に 50 ヶ内外のスピロヘータを含有する程度の浮遊液を製す、斯くして得たる浮遊液は乳白色不透明の外觀を呈し、此者を口腔スピロヘータの凝集反應用免疫元及び反應元として使用せり。

2. 免疫血清の製法。免疫血清は上記免疫元を所要注射回數及び所要注射量に應じ、成熟白色家兎 2300 gr 内外の耳靜脈へ注射して適時之を得たり。

3. 測定法。上記の免疫血清を倍數法に依りて生理的食塩水を以て稀釋し、之に等量の口腔スピロヘータ食塩水浮遊液を添加し、之を孵卵器に收むる事 2 時間、次で氷室に保ち約 20 時間後 Agglutinoskop を以て其の凝集價を測定せり。凝集反應度を示す標準記號として Ⅲ, Ⅱ, Ⅰ, - 等を區別せり。スピロヘータが全く凝集して管底に沈澱し上清の澄明となれるものを Ⅲ にて表し、管底に稍々著明の沈澱を生ずるも上清混濁せるものを Ⅱ にて表示し、管底に尙微細なる顆粒を有するものを Ⅰ となし、對照食塩水と同じく平等の混濁を呈せるものを - にて表示せり。

第 2 節 免疫家兎血清の凝集反應

前述の方法にて得たる免疫元 10 cc を毎週 1 回家兎の耳靜脈に注入し、凝集價の 640 倍前後に昇りたるを確めたる後全採血して、得たる免疫血清に各口腔スピロヘータ株の反應元を交叉的に作用せしめ、各株相互間に於ける特異性の有無に就て檢索を試み第 1 表を得たり (第 1 表參照)。

第 1 表に見るが如く、口腔スピロヘータの各培養株を免疫元とせる場合其免疫血清は當該スピロヘータ株の反應元に對して最も高き凝集價を示し、且他株の反應元に對しても比較的高度の凝集價を表はせり。而して各口腔スピロヘータ株相互間に見らる凝集價の高低は其の間自ら免疫血清學的に單一ならざる口腔スピロヘータ株の存在を想はしむ。

即ち第 1 表に於て口腔スピロヘータの I 號, II 號, III 號各株を以てせる免疫血清は何れも同程度に前記各號株の反應元を凝集し、III 號, V 號株の免疫血清は同じく III 號, VI 號株の反應元を何れも交叉的に強く凝集せしむるが如し。但し VI 號株 (犬の口腔より分離せるもの) 免疫

第 1

免 疫 種 類	I 號 株								II 號 株								III 號 株							
免 疫 血 清 稀 釋 倍 數	20	40	80	160	320	640	1280		20	40	80	160	320	640	1280		20	40	80	160	320	640	1280	
免疫前凝集價	+								+								+							
反應元種類																								
I 號 株	++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	++	+
II 號 株	++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	++	+
III 號 株	++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	++	+
IV 號 株	++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	++	+
V 號 株	++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	++	+
VI 號 株	++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	+		++	++	++	++	++	++	++	+

血清は獨り他株の反應元を凝集せしむる免疫價の低きを觀たり。

第3節 反應元の耐熱性

口腔スピロヘータ I 號及び VI 號株の反應元を種々なる 温度にて 30 分間宛處置したる後、I 號株免疫血清 (凝集價 640 倍陽性) に對する凝集價の如何を検したるに第 2 表の如き結果を得たり (第 2 表参照)。

上表に示せる如く、本スピロヘータ株は 0°C 並に其儘の反應元を使用の場合最も良好の反應度を示すに反し、高熱に加温するに伴ひ反應度次第に減弱し、100°C 30 分間加熱せるもの

第 2 表

血 清 稀 釋 倍 數	10	20	40	80	160	320	640	1280	食塩水
作用温度									
0°C I 號 株	++	++	++	++	+	+	+	-	-
VI 號 株	++	++	++	+	+	-	-	-	-
25°C(生) I 號 株	++	++	++	++	+	+	+	-	-
VI 號 株	++	++	+	+	+	-	-	-	-
40°C I 號 株	++	++	++	+	+	+	-	-	-
VI 號 株	++	++	++	+	+	-	-	-	-
60°C I 號 株	++	++	+	+	+	+	-	-	-
VI 號 株	++	++	+	+	-	-	-	-	-
80°C I 號 株	++	++	+	+	+	-	-	-	-
VI 號 株	++	+	+	+	-	-	-	-	-
100°C I 號 株	++	+	+	-	-	-	-	-	-
VI 號 株	+	+	-	-	-	-	-	-	-

表

Ⅲ 號 株	Ⅴ 號 株	Ⅵ 號 株	對 照 (食 塩 水)
20 40 80 160 320 640 1280	20 40 80 160 320 640 1280	20 40 80 160 320 640 1280	
++ - - - - -	++ - - - - -	+ - - - - - -	
+++ ++ + + + - -	+++ ++ + + + - -	+++ + + + - - -	-
+++ +++ + + + -	+++ ++ + + - - -	+++ ++ + + - - -	-
+++ ++ + + - - -	+++ +++ + + + -	+++ ++ + + + - -	-
+++ +++ ++ + + -	+++ ++ + + - - -	+++ + + + - - -	-
+++ ++ + + - - -	+++ +++ ++ + + -	+++ ++ + + + - -	-
+++ ++ + + - - -	+++ +++ + + + - -	+++ +++ ++ + + -	-

は他の何れよりも反應度低く僅かに 40 倍稀釋に於てのみ陽性成績を示せり。

第 4 節 免疫注射回数と注射量とが凝集素產生に及ぼす影響

凝集素の產生たるや動物の種類、其の個性等に關係を有する事大なりと雖も、又免疫元の注射回数及び注射量或は注射及び採血の時期等免疫操作の如何は、又本凝集素の產生に影響する處大なるものあるは蓋し容易に思考せらるゝところなり。依て本節に於ては、是等免疫操作が本凝集素產生に如何なる影響を及ぼすかに就て知らんとしつて次の實驗を試みたり。

第 1 項 1 回 注 射 の 場 合

先づ注射回数 1 回の場合に於てその注射量を各々 1 cc, 5 cc, 10 cc 等 3 種に分ち、体重 2300 gr 内外の白色家兎 3 頭宛を 1 群となし前記各注射量を各々注入せる場合、其の経過日數に依りてその家兎の体内に產生せらるゝ凝集素の消長如何に就て次の檢索を試みたり。

1. 注射量 1 cc の場合 を觀るに、注射後 4 日にして微量の凝集素產生を見、14 日後 160 乃至 320 倍に達し全経過中最高の凝集價を示すも、以後は日數の経過に伴ひ比較的急激に下降し、既に 28 日後に於ては其の凝集價何れも 20 倍陽性を示すに過ぎずして略々免疫操作前の凝集價に復歸するを觀たり (第 3 表, 第 1 圖参照)。

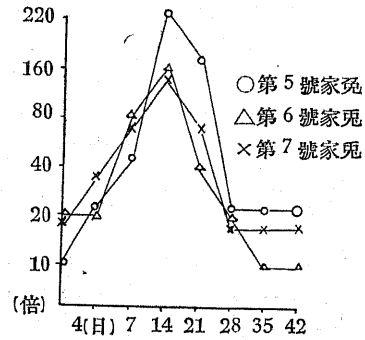
2. 注射量 5 cc の場合。此の場合も 1 cc 注射の時と同じく注射後 4 日にして幾分の凝集素產生を見るも、7 日にして急激に凝集價の上昇を來し 80 乃至 160 倍を示し、更に 14 日後 160 乃至 320 倍まで陽性度を昂むるも以後は比較的速かに下降し、28 日後に於ては其の凝集價何れも 20 乃至 80 倍を示し、既に 35 日後に至れば大略注射前の凝集價に復歸するを觀たり (第 4 表, 第 2 圖参照)。

3. 注射量 10 cc の場合。大量注射を行へる場合、注射後 4 日にして何れも凝集素の形成を見、注射後 14 日にして 160 乃至 320 倍に至る最高の凝集價を示し、夫より漸次減退し初め 28

第 3 表

家 兔 番 號	性	体 重	注 射 前 凝 集 價	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數 及 び 凝 集 價						
				4(日)	7	14	21	28	35	42
5	♀	始 2300	10	20	40	320	160	20	20	20
		終 2300								
6	♂	始 2200	20	20	80	160	40	20	10	10
		終 2300								
7	♂	始 2300	20	40	80	160	80	20	20	20
		終 2500								

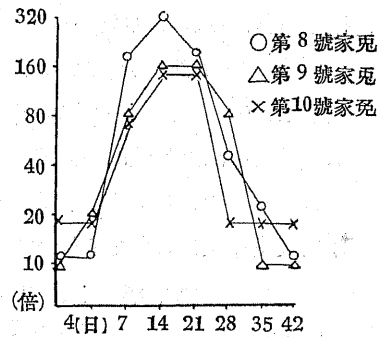
第 1 圖



第 4 表

家 兔 番 號	性	体 重	注 射 前 凝 集 價	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數 及 び 凝 集 價						
				4	7	14	21	28	35	42
8	♂	始 2300	10	10	160	320	160	40	20	10
		終 2350								
9	♂	始 2250	10	20	80	160	160	80	10	10
		終 2300								
10	♂	始 2350	20	20	80	160	160	20	20	20
		終 2300								

第 2 圖

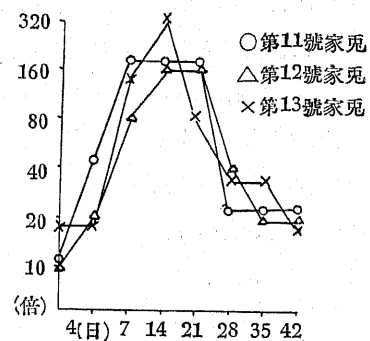


日後に至れば 20 乃至 40 倍まで下降し、42 日後に於ては殆ど注射前の凝集價に復する事前二者の場合と相似たり (第 5 表、第 3 圖参照)。

第 5 表

家 兔 番 號	性	体 重	注 射 前 凝 集 價	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數 及 び 凝 集 價						
				4	7	14	21	28	35	42
11	♂	始 2300	10	40	160	160	160	20	20	20
		終 2400								
12	♂	始 2400	10	20	80	160	160	40	20	20
		終 2350								
13	♂	始 2300	20	20	160	320	80	40	40	20
		終 2300								

第 3 圖



第 2 項 5 回 注 射 の 場 合

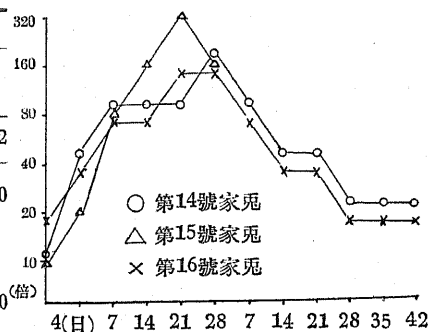
前回は 1 回注射の場合に於て各注射量と家兎体内に於ける凝集素産生量との消長に就て述べたり。依て本項に於ては注射回数を 5 回となし、注射量は前回同様小量 1 cc, 中量 5 cc, 大量 10 cc の 3 種其の儘とし、接種家兎 3 頭宛を 1 群として各注射後に於ける凝集素産生の消長に就て第 5 回注射後 42 日間に亘りて検索せり。

1. 注射量 1 cc の場合。1 回注射後 4 日にして僅かに凝集價の上昇を見、7 日にして 80 倍を示し、3 回乃至 4 回注射後 7 日にして全経過中最高の凝集價 80 乃至 320 倍陽性を示し、5 回注射を試むるも已に凝集價の上昇を認むる事なく、5 回注射後 7 日にして凝集價 80 倍に下降し以後時日の経過に伴ひ漸次消退し初め、5 回注射後 21 日にして何れも 40 倍の凝集價を示すに止まり 28 日後に於ては既に注射前の凝集價に復せるを觀たり (第 6 表, 第 4 圖参照)。

第 6 表

家 兎 番 號	性	体 重	注 射 前 凝 集 價	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數											
				第 1 回 後	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回							
				4(日)	7	14	21	28	7	14	21	28	35	42	
14	♂	始 2200 終 2300	10	40	80	80	80	160	80	40	40	20	20	20	
15	♂	始 2300 終 2200	10	20	80	160	320	160	死						
16	♂	始 2500 終 2450	20	40	80	80	160	160	80	40	40	20	20	20	

第 4 圖

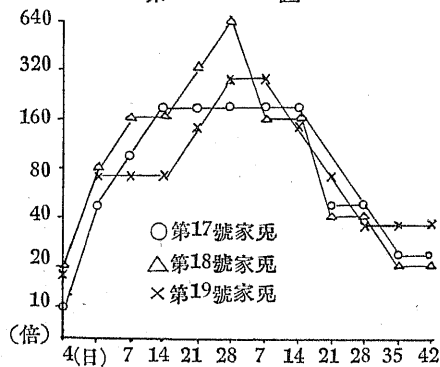


2. 注射量 5 cc の場合。是等中等量注射の場合も第 1 回注射後既に 4 日にして凝集價 40 乃至 80 倍まで上昇し、以後注射回数を重ねるに隨ひ漸次凝集價を昂め、第 3 回注射後 7 日にし

第 7 表

家 兎 番 號	性	体 重	注 射 前 凝 集 價	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數											
				第 1 回 後	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回							
				4(日)	7	14	21	28	7	14	21	28	35	42	
17	♂	始 2200 終 2400	10	40	80	160	160	160	160	160	40	40	20	20	
18	♂	始 2300 終 2350	20	80	160	160	320	640	160	160	40	40	20	20	
19	♂	始 2340 終 2400	20	80	80	80	160	320	220	160	80	40	40	40	

第 5 圖



て160乃至320倍を、第4回注射後7日にして最高價の160乃至640倍を示し、第5回注射を試むるも次の1週後に於ては却つて幾分の凝集價減少を來し以後漸減の一途を辿るも、該免疫家兎血清中1頭に於ては最後の注射後42日に至るも尙凝集素の相當量を證明し得たり (第7表、第5圖参照)。

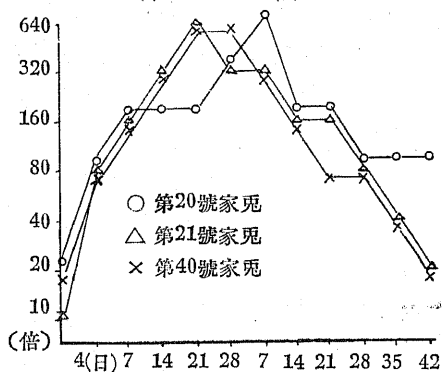
3. 注射量 10 cc の場合。大量注射の場合、第1回注射後7日にして160倍まで凝集價の上昇を見、

以後注射の回数を重ねる毎に徐々に上昇し、3回注射後7日にして160-640倍に達し、本凝集價は5回注射後7日頃まで持続し以降徐々に低下し來るも、終回注射後42日後に於て尙20-80倍の凝集價を保有す (第8表、第6圖参照)。

第 8 表

家 兎 番 號	性	体 重	注 射 前 凝 集 價	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數										
				第 1 回 後	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回						
				4(日)	7	14	21	28	7	14	21	28	35	42
20	♂	始 2300 終 2200	20	80	160	160	160	320	640	160	160	80	80	80
21	♂	始 2400 終 2300	10	80	160	320	640	320	320	160	160	80	40	20
40	♂	始 2200 終 2300	20	80	160	320	640	640	320	160	80	80	40	20

第 6 圖



以上5回注射を行へる際、其の注射量1ccの場合、他の注射量を以てせる場合に比して其の凝集價の上昇も高度ならず、3回注射後7日に見られたる320倍を以て最高凝集價となし、且其の免疫價の消退も他に比して一層速かなるを知れり、反之、大量10ccを注射せる場合を觀るに、小量中量注射の場合に比し凝集價の上昇度強く最高640倍陽性を示し、且其の免疫体の体内保有期間も長きを知れり。

而して中等量5ccを注射せる場合を按ずるに、其の凝集價の產生量は大量小量注射時の場合に比し夫等の中間に位せる凝集價を示せり。即ち、5回注射を行ふ時は1回注射時の場合と同じく、大量10cc注射に依り最も高き凝集價を獲得し得ると同時に該免疫体の体内保有期間をも延長し得る事實を學び得たり。

第 3 章 總 括

口腔スピロヘータの純粹培養株を用ひて家兎を免疫し、得たる血清に就て凝集反應の成立有無に關し實驗し得たる結果、各株相互間に於ける特異性を認むるを得たり、即ち口腔スピロヘータを反應元としたる場合、當該免疫血清に依り最も強く凝集せらるゝを觀たり。更に反應元の耐熱性を檢したるに 0°C 及び其儘の反應元を以てせる時反應度最も高く、作用温度の上昇に伴ひて漸次低下し 100°C 30 分加熱したる場合遙かに低き反應度を示せり。又免疫注射回数と量的關係に就て觀るに、1 回免疫の際は注射量の如何に關せず 4 日後既に凝集素の產生を認め、14 日後に於て其の凝集價は 160 乃至 320 倍の最高價を示すも以後速に低下を來し、28 日乃至 42 日に於て略々免疫前の凝集價に復するを觀たるも、此際大量 10 cc を注射せる時他の場合に比し幾分高き凝集價を得たり。5 回注射を試みたる場合を觀るに、注射量 1 cc を以てせる時 3 回注射後 7 日に於て最高 320 倍を示し、5 回注射後 28 日に於て既に 20 倍まで低下せるに反し中等量 5 cc 注射を試むるに、4 回注射後 7 日に於て最高 160 乃至 640 倍を示し以後低下するとは謂へ、5 回注射後 28 日に於て尙凝集價 40 倍を保有す。大量 10 cc 注射の場合は、既に第 3 回注射後 7 日に於て 160 乃至 640 倍に上昇し是等免疫價は 5 回注射後 7 日まで持續するを觀且つ 5 回注射後 28 日に至るも 1 cc、5 cc 注射時に比し尙ほ抗体の殘存著明なるを示せり。元來免疫体の產生は免疫元の抗体產生母地の刺戟に依るものなれば、長期に亘る免疫元の注射は凝集素を長期に亘り產生するは自明の理にして、余の場合に於ても明に免疫元の反覆注射が 1 回注射の場合に比し長期間抗体の產生を招來せる他、其の注射量も大量 10 cc の場合が抗体產生母地に對し最も適當せる刺戟量なるを思はしめたり。

第 4 章 補体結合反應試驗

第 1 節 實驗方法

1. 免疫元及び反應元の製法。口腔スピロヘータ I, II, III, IV, V, VI 號株の各々を家兎血清加豚鼠丸ブイオン液狀培養基に培養し、其の 10 日間培養の口腔スピロヘータ上層液を數回生理的食塩水にて洗滌後稀釋し、暗視野裝置 1 視野中に 100 ヲ内外のスピロヘータを含有せしめたる浮游液を免疫元として使用せり。又反應元として上記浮游液を 5 時間振盪したる後 100°C 30 分間加熱せるものを遠心沈澱し、其の上清液を反應元とし試験の都度新たに調製したり。用量は溶血自家防止作用なき最大量の $1/3$ 量を使用せり。

2. 免疫血清の製法。上記免疫元を使用して家兎を免疫して得たる免疫血清を使用せり。此の際 56°C 30 分加熱非動性となせる家兎血清は Kolmer, 金子氏等の唱ふる如く屢々非特異性反應を現し、其の成績を誤らしむる事あるを實驗せる結果、可檢血清は原則として何れも 62°C 30 分間加熱非動性とするものを使用する事とせり。

3. 溶血血清。山羊血球を以て免疫したる家兎血清 (1:2000) を溶血血清とし、使用時其の 1000 倍

第 9

免疫血清種類			Ⅰ 號 株								Ⅱ 號 株								Ⅲ 號 株							
血 清 稀釋度	5 10 20 40 80 160 320								5 10 20 40 80 160 320								5 10 20 40 80 160 320									
反應元種類																										
Ⅰ	號	株	++	++	++	++	++	+	-	++	++	++	+	+	+	-	++	++	++	+	+	-	-			
Ⅱ	號	株	++	++	++	+	+	+	-	++	++	++	++	++	+	-	++	++	++	+	-	-	-			
Ⅲ	號	株	++	++	+	+	-	-	-	++	++	+	+	-	-	-	++	++	++	++	+	+	-			
Ⅳ	號	株	++	++	++	++	+	+	-	++	++	++	++	++	+	-	++	++	++	+	-	-	-			
V	號	株	++	++	+	+	-	-	-	++	++	++	+	-	-	-	++	++	++	++	+	+	-			
Ⅵ	號	株	++	++	++	+	-	-	-	++	++	++	+	-	-	-	++	++	++	++	+	+	-			

稀釋液を使用せり。

4. 補体。新鮮なる海馬血清にして實驗の都度溶血價を測定し其の2單位を使用せり。

5. 血球浮游液。法の如くして製せる5%山羊血球浮游液。

6. 測定法。可檢血清は之を低減的倍數稀釋を行ひ、之に反應元及び補体を加へ各試験管の全量を1.5ccとなし、37°Cに1時間放置作用せしめたる後上記溶血系統を加へ、更に2時間37°Cに加温後1夜冷暗處に放置せる後結果を判定せり。

表中記號は次の如し。

— 完全溶血、+ 弱度溶血防止、++ 強度溶血防止、+++ 完全溶血防止。

尚ほ對照として末培養液狀培養基のみを以て免疫したる家兎血清に就て、各口腔スピロヘータ株を反應元として試みたる補体結合反應は何れも陰性の成績に終始せしを茲に附記す。

第2節 免疫家兎血清の補体結合反應

口腔スピロヘータI乃至VI號株免疫元10ccを毎週1回家兎の耳靜脈に注入し、抗体價の160倍陽性となれる時期に於て採血して得たる免疫血清に對し、各口腔スピロヘータ株を反應元となして交叉的に作用せしめ、夫等相互間に於ける補体結合反應を試みたる結果第9表に示せる如き成績を得たり（第9表参照）。

第9表に就て見るに、各株免疫血清は當該反應元に對して最も強き補体結合性を示したり而してI號、II號、III號各株による免疫血清はI號、II號、III號各株の反應元の何れとも比較的高度の血清稀釋度に於て補体結合反應陽性なるを認め得たり、尙此の關係はIII號、V號、VI號各株の免疫血清と同種株の反應元とを交叉的に作用せしめたる場合に於ても認め得たり。是等免疫關係より觀るとき、曩に犬の口腔より分離培養せし口腔スピロヘータVI號株は又人口腔より分離せる各株と殆ど近似の性狀を有するを知れり。

第1節 反應元の耐熱性

純粹培養せる口腔スピロヘータ株にて前記濃度の食塩水浮游液を作成し、之を0°C、25°C（室温）、60°C、80°C、100°C等各温度に30分間宛處置せしめたる後、その遠心上清液に就て補

表

Ⅲ 號 株	Ⅴ 號 株	Ⅵ 號 株
5 10 20 40 80 160 320	5 10 20 40 80 160 320	5 10 20 40 80 160 320
+++ ++ + + + -	+++ ++ + + + -	+++ ++ + + - - -
+++ +++ ++ + + -	+++ ++ + + - - -	+++ ++ + + - - -
+++ ++ + + - - -	+++ ++ + + + + -	+++ +++ ++ + + -
+++ +++ ++ + + -	+++ ++ + + + - -	+++ ++ + + - - -
+++ ++ + + - - -	+++ +++ ++ + + -	+++ +++ + + + - -
+++ ++ + + - - -	+++ ++ + + + - -	+++ +++ ++ + + -

体結合反應を試み、反應元の耐熱性に關して次の實驗を行へり。免疫血清はⅠ號株の160倍陽性のものを以てし、主反應としては上記Ⅰ號株を、副反應としてはⅥ號株の反應元を以てせり（第10表參照）。

第 10 表

作用温度	反應元	免 疫 血 清 稀 釋 倍 數						
		5	10	20	40	80	160	320
0°C	Ⅰ 號 株	+++	+++	++	++	+	+	-
	Ⅵ 號 株	+++	++	++	+	-	-	-
25°C (室 温)	Ⅰ 號 株	+++	+++	+	+	+	-	-
	Ⅵ 號 株	+++	++	++	+	-	-	-
60°C	Ⅰ 號 株	+++	+++	++	+	+	-	-
	Ⅵ 號 株	+++	++	+	+	-	-	-
80°C	Ⅰ 號 株	+++	+++	+++	++	+	+	-
	Ⅵ 號 株	+++	++	++	+	-	-	-
100°C	Ⅰ 號 株	+++	+++	+++	++	++	+	-
	Ⅵ 號 株	+++	++	++	+	-	-	-

第10表に就て觀るに、反應元を0°Cに30分間作用せしめたる場合室温に保ちたるものより強き抗元能力あるを示す。更に本反應元を加熱する時は却って結合能力上昇し來り、100°C30分間の加熱に依り其の抗元能力強大となるを觀たり。副反應も亦是に準じて消長するを實驗せり。即ち以上の實驗より、口腔スピロヘータ株の反應元は何れも耐熱性を有するを知れり。

第4節 免疫注射回数と注射量とが補体結合性

物質の産生に及ぼす影響

口腔スピロヘータI號株の純粹液狀培養の滅菌生理的食塩水浮游液を免疫元とし、その注射量を小量1cc、中量5cc、大量10ccの3種となし、更に注射回数を1回及び5回の2種に分ちて施行せる時、是等注射量と注射回数とが口腔スピロヘータの補体結合性抗体の産生に如何なる影響を及ぼすかに就て検索を試みたり。此の際注射間隔を7日とし、毎回前記各量を1群の白色家兎の耳靜脈に注射し採血も亦之より行へり。反應元は口腔スピロヘータI號株の浮游液を100°C 30分間加熱せるものゝ上清液を以てせり。其の他末培養液狀培養基を以て家兎を免疫し、得たる各時期に於ける免疫血清に就きて試みたる補体結合反應は終始陰性の結果に終りたる事を附記す。

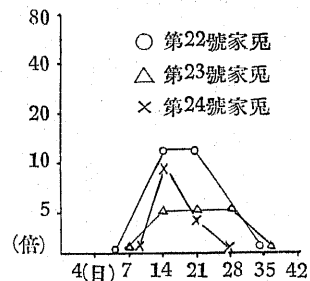
第1項 1回注射の場合

1. 注射量1ccの場合。上記口腔スピロヘータ免疫元の1ccを3頭の家兎耳靜脈に注射し、注射後42日間に亘りて家兎体内に於ける補体結合素の消長を検し第11表、第7圖を得たり。

第 11 表

家 兎 番 號	性	体 重	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數 及 び 抗 体 價						
			4(日) 7 14 21 28 35 42						
			4(日)	7	14	21	28	35	42
22	♂	始 2300 終 2300	0	0	10	10	5	0	0
23	♂	始 2200 終 2300	0	0	5	5	5	0	0
24	♂	始 2300 終 2400	0	0	10	5	0	0	0

第 7 圖



表に就て觀るに、免疫元注射後4日乃至7日には未だ血中に抗体の産生を證明し得ず、14日後に於て漸く5乃至10倍の血清稀釋度まで陽性成績を現せり。此の陽性度は21日頃まで持續するも以後日數の経過に伴ひ漸次消退し、35日後既に補体結合素を證明し得ざるに至る。

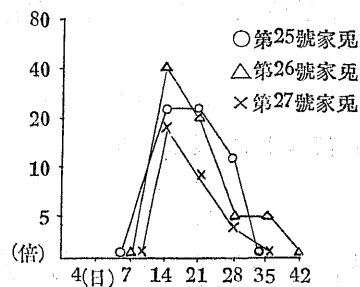
2. 注射量5ccの場合。前記免疫元を3頭の家兎の耳靜脈に各々5cc宛注射し、注射後42日間に亘る家兎体内の補体結合素の消長を検索し次の成績を得たり(第12表、第8圖参照)。

表に就て觀るに、免疫元注射後4乃至7日には未だ抗体の産生を證明し得ざるも、14日後に至れば20乃至40倍まで抗体の産生を見るに至り、是等抗体價は以後日數の経過に

第 12 表

家 兔 番 號	性	体 重	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數 及 び 抗 体 價						
			4(日)	7	14	21	28	35	42
25	♂	始 2350 終 3300	0	0	20	20	10	0	0
26	♂	始 2200 終 2300	0	0	40	20	5	5	0
27	♂	始 2400 終 2400	0	0	20	10	5	0	0

第 8 圖



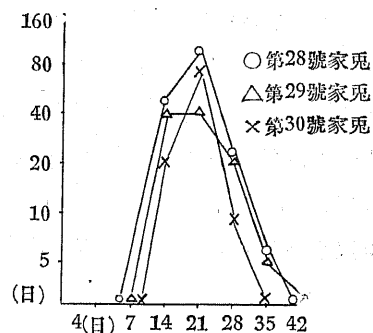
伴ひて漸次下降し初め、28日後には漸く5乃至10倍の抗体價を保有するにとどまり、42日後には最早補体結合素を證明し得ざりき。

3. 注射量 10 cc の場合。免疫元の大量 10 cc を用ひ 3 頭の家兔を免疫し、免疫後 42 日間に亘り其の血中抗体量の消長に就て検索し次の成績を得たり (第13表, 第9圖参照)。

第 13 表

家 兔 番 號	性	体 重	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數 及 び 抗 体 價						
			4(日)	7	14	21	28	35	42
28	♂	始 2300 終 2200	0	0	40	80	20	5	0
29	♂	始 2400 終 2300	0	0	40	40	20	5	0
30	♂	始 2250 終 2300	0	0	20	80	10	0	0

第 9 圖



第 13 表に就て觀るに、此の場合も前記小量、中量の免疫元を注射せし時と同じく注射後 14 日にして初めて抗体の產生を觀、其の抗体產生量は 21 日後に於て最も高き抗体價 40 乃至 80 倍を示し、以後検索毎に其の價を減じ 42 日後に至れば何れも既に抗体の殘存なし。

第 2 項 5 回 注 射 の 場 合

上述 1 回注射の場合を觀るに、其の量の如何を問はず何れも注射後 14 日にして初めて抗体の產生を證明し、以後速かに該抗体の消退するを知れり。然らば注射回數を増加する時、其の抗体產生に對し如何なる影響を與ふるものなりやに就て知らんとし、注射回數を 5 回とし 1 cc, 5 cc, 10 cc 等の各量を 3 群の家兔の耳靜脈に注入し其の結果を觀察せり。

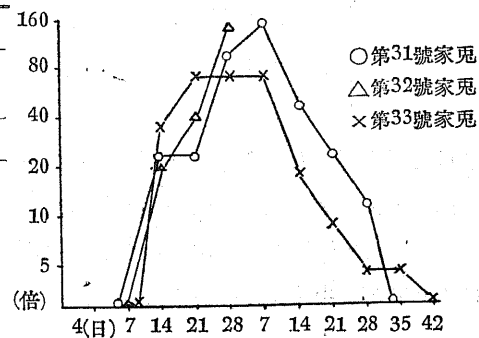
1. 注射量 1 cc の場合。免疫元 1 cc 注射を行へる場合を觀るに、第 1 回注射後 4 日及び

7日に至るも抗体の産生を認めざるも、14日後漸く抗体の血中に出現するを證明し得るに至り、以後注射回数を重ねる毎に抗体價の上昇を來し4回注射後7日或は5回注射後7日にして最高價80乃至160倍の免疫價を示せり。以後比較的速に減退し初め最後の注射後第14日(20乃至40倍)、第28日(5乃至10倍)、第35日に於て0乃至5倍の抗体價を示したるに留まり、第42日に至れば既に全く抗体を證し得ざりき(第14表、第10圖参照)。

第 1 4 表

家 兔 番 號	性	体 重	免 疫 元 注 射 後 採 血 日 數														
			第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回										
			4(日)	7	14	21	28	7	14	21	28	35	42				
31	♂	始 終 2200 2300	0	0	20	20	80	160	40	20	10	0	0				
32	♂	始 終 2300 2300	0	0	20	40	160	死									
33	♂	始 終 2200 2200	0	0	40	80	80	80	20	10	5	5	0				

第 1 0 圖

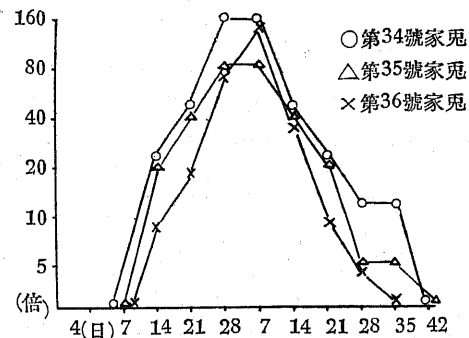


2. 注射量 5 cc の場合。是等中等量注射の場合も亦小量注射の時と略々同様の推移を辿り、第2回注射後7日にして初めて抗体價10乃至20倍の出現を認め、以後注射回数と共に免疫價の産生度を高め、第4回及び第5回注射後7日にして80乃至160倍の最高免疫價を示し以後比較的急激に抗体價低下し初め、第5回注射後第21日(10乃至20倍)、第28日(5乃至10倍)、第35日(0乃至10倍)、第42日に至れば何れの家兔の血中よりも最早抗体を全く證明し得ざるに至る(第15表、第11圖参照)。

第 1 5 表

家 兔 番 號	性 重	体 重	免疫元注射後採血日數												
			第1回	第2回	第3回	第4回	第5回								
			4(日)	7	14	21	28	7	14	21	28	35	42		
			始	終	始	終	始	終	始	終	始	終	始	終	終
34	♂	2300	0	0	20	40	160	160	40	20	10	10	0		
35	♂	2200	0	0	20	40	80	80	40	20	5	0	0		
36	♂	2200	0	0	10	20	80	160	40	10	5	0	0		

第 1 1 表



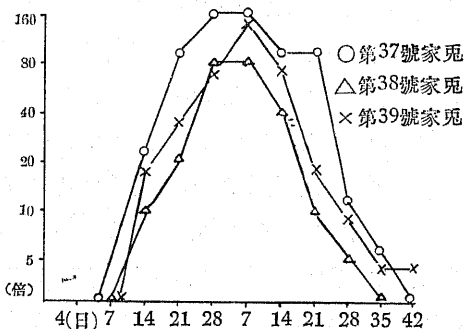
3. 注射量 10 cc の場合。免疫元 10 cc を注射せる場合、其の抗体産生は何れも第2回注射後7日にして初めて現れ10乃至20倍の抗体價を示す。而して注射の回数を重ねると共に抗

体價も漸次上昇の度を高め、4回乃至5回注射後7日にして其の抗体價は最高80乃至160倍を示せり。以後該抗体價は可成急激に減退し初め、第5回注射後第28日(5乃至10倍)、第35日(0乃至5倍)にまで低下せるを觀るも、第42日に及ぶも免疫家兎の内1頭に於て猶補体結合素の殘存するを認めたり(第16表、第12圖参照)。

第 1 6 表

家 兎 番 號	性	体 重	免疫元注射後採血日數											
			第1回	第2回	第3回	第4回	第5回							
			4(日)	7	14	21	28	7	14	21	28	35	42	
37	♂	始 2300 終 2200	0	0	20	80	160	160	80	80	10	5	0	
38	♂	始 2200 終 2200	0	0	10	20	80	80	40	10	5	0	0	
39	♂	始 2300 終 2250	0	0	20	40	80	160	80	20	10	5	5	

第 1 2 圖



第 5 章 總 括

口腔スピロヘータの純粹培養株を免疫元となして家兎を免疫し得たる血清に就て補体結合素の消長如何を検せしに、各口腔スピロヘータ株を免疫元とせる家兎免疫血清に對し、夫等口腔スピロヘータ株を反應元として交叉試験を行ひたる結果は明かに各株間の特異性を認め得たり。次に是等反應元の耐熱性に就て知らんとし、種々の溫度に30分宛作用せしめたる反應元に就て其の反應元性を檢したるに、其の儘の處置を加へざる反應元に比し0°Cに保ちたる方幾分反應強く現はるゝも、亦反應元を加熱する事に依り反應度は次第に昂まり、100°C30分加熱の場合反應元能力最大なるを認めたり、即ち口腔スピロヘータの熱に對する關係は、又一般細菌性反應元の夫と略々一致するを觀る。口腔スピロヘータ株を以て家兎を免疫せる場合、其の注射回數及び注射量等が補体結合素の消長に如何なる影響を與ふるかに就て檢索せしに、1回免疫の場合は注射量の如何に關せず、何れも注射後14日にして初めて抗体の產生を觀ると共に次の7日間に亘りて全經過中最大免疫價を示すものにして、以後漸次下降し、注射後42日に至れば既に補体結合素は證明し能は得ざるに至る。而して注射量大量の場合の方免疫價高きを實驗せり。次に5回注射の場合に於ては、是亦注射量の多少に關せず注射後14日にして初めて免疫体の產生を觀てより、注射回數毎に免疫價も上昇し一般に第4回注射後7日にして最高價に達し、此の状態は第5回注射後7日まで持續するを觀たり、以後何れも比較的速かに減退し初め、42日後には殆ど常態に復す、是等の場合、大量10ccを注射量とせる時補体結合素の產生せらるゝ事多きを知れり。即ち1回注射の場合と其の注射量に依る抗体價の消長は甚だ相似たり。

第 6 章 結 論

1. 口腔スピロヘータ（人及び犬）の純粹液狀培養株を家兎に注射して、凝集素及び補体結合素の產生を認め得たり。

2. 口腔スピロヘータの純粹液狀培養株を免疫元及び反應元として凝集反應及び補体結合反應を試み、各株間の特異性を認め得たり。

3. 口腔スピロヘータの純粹液狀培養株は凝集反應用反應元として 0°C 或は其の儘の反應元を使用したる場合其の特異性最も強く、加熱温度の上昇に伴ひて反應元性著しく低下す。反之、補体結合反應用反應元としての口腔スピロヘータの純粹液狀培養株は耐熱性を有し、100°C 30 分の加熱に依り其の特異性最も強し。

4. 凝集反應に於て 1 cc, 5 cc, 10 cc 等各量を 1 回注射せる場合何れも 4 日にして凝集素の產生を認め、14 日後最高價に達し以後漸次下降す、此の場合、注射量 10 cc の時凝集素の產生最も著明なり。5 回注射の時は第 3 回注射後 7 日より第 5 回注射後 7 日に亘りて最高凝集價を示し、此の場合も注射量 10 cc の時產生凝集素量高く且つ永續す。補体結合反應に於て同じく 1 回注射の場合、何れも 14 日後補体結合素の產生を見 21 日にして最高價を示し、以後下降して 42 日にして既に消失するを見たり。同じく 5 回注射の時は、3 回注射後 7 日及び 5 回注射後 7 日に亘る期間中に於て最高の抗体價を示し、5 回注射後 42 日に及べば既に消失す。而して注射量 10 cc の場合最高の抗体價と保有期間の永續性とを見たり。即ち、補体結合素は凝集素よりも可成遅れて現れ、而も產生價低く且つ產生持續期間の短かき等凝集素と異れり。

本稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲とを賜りたる恩師緒方教授に衷心より感謝の意を表す。尙本研究上終始御援助御激勵を賜はりし恩師颯田博士に對し深甚の謝意を表す。

(本論文の要旨は昭和 8 年 11 月日本衛生學會に於て演述せり)

主 要 文 献

- Craig: Journal of exp. med. 1912. Vol. 16. Gaetgens: Med. Klinik 1929. Nr. 10.
金子: 北海道醫學會雜誌. 第 4 年. 第 2 號. Klopstock: D. m. W. 1927. Kelle, W. u.
Wassermann, A. v.: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen Bd. 7, 1927. Noguchi
and Akatsu: Journal of exp. med. Vol. 25, No. 6, 1917. 大庭: 衛生學傳染病學雜誌.
第 16 卷. 志賀: 東京醫事新誌. 2673-5 號. 拓植: 愛知醫學會雜誌. 第 30 卷. 第 2 號.
由利: 日本微生物學會雜誌. 第 22 卷.