

【特別掲載：昭和15年8月19日受付】

糞・池・濾・液・の・免・疫・學・的・研・究

千葉醫科大學細菌學教室(主任 緒方 教授)

鈴木東一

目次

第1章 緒 言	第2節 實驗成績
第2章 凝集反應に就て	第3節 小 括
第1節 實驗方法	第4章 極補結合反應に就て
第2節 實驗成績	第1節 實驗材料並に實驗方法
第1項 青竹濾液の場合	第2節 實驗成績
第2項 濾過管濾液の場合	第3節 小 括
第3項 常尿の場合	第5章 總括並に考案
第3節 小 括	第6章 結 論
第3章 沈降反應に就て	文 獻
第1節 實驗方法	

第1章 緒 言

糞便は種々なる物質即ち食物の不消化物、粘液、剝離せる上皮細胞、酵素、多種の細菌、寄生虫卵、蛋白質の分解産物等と含有するものなり。これ等種々なる物質を含有せる糞便を主体とする糞池の濾液により、免疫せられたる動物の血清内には腸内特殊病原菌、或はその他の諸菌に對し防禦物質の生ずるや否やは興味ある問題なりとす。

余は糞に青竹の物質透過性に就き實驗し、蛋白質その他を通過せしむることを確認せり。又糞池の青竹濾液に就て種々なる實驗を行ひ、對照として Chamberland L₃ 濾液を以て同様實驗を行へり。而して對照に於ては Bakteriophage その他に就き見るべき成績を得たり。而して前編の實驗に於て、青竹は蛋白質を通過せしめ得ることを確め得たるを以て、青竹濾液を用ひて免疫し抗体の產生せらるゝや否やに就き實驗せば面白き成績を得べきを思ひ實驗を遂行せるに、果して些か見るべき成績を得たるを以て以下之を報告し大方諸賢の御叱聲を乞はんとす。

糞便浸出液に就き免疫學的方面を研究せるものは極めて少く、1907年 Berzina は初めて家兎の糞便浸出液を注射して得たる免疫血清は同種動物の糞便に對して特異性沈降反應を呈することを報告し、1908年 Berzina u. Razi は犬の腸管各部位より糞便を形成する物質を取り、これを抗元として沈降反應を行へ

り。同年 Wilenko は人間の糞便を以て免疫せる家兎血清につき、腸管上部と下部とに沈降反応の程度に差あることを報ぜり。

青木はマウス糞便浸出液を生理的食塩水を以て 60 倍に稀釋し之を 100°C 1 時間煮沸せる液を家兎の耳静脈内に 4 日置きに 7 回注射し、最後の注射より 5 日目に採血して得たる血清を 56°C 30 分間加熱して非効性となし、Paratyphus B 菌に対する防禦力を検したるにその 800 倍稀釋に於ても、Paratyphus B 菌の最小致死量の 5 倍を防禦し非特異性凝集反応を呈したりと報告せり。同氏は家兎免疫血清を用ひ以下諸菌に対する凝集反応を検するに、Paratyphus B 菌に 1,600 倍、Typhus 菌に 3,200 倍(難凝集性) - 6,400 倍(易凝集性)、鼠チフス菌に 1,600 倍、大腸菌に 800 倍、駒込 A 菌 1,600 倍、駒込 B 菌に 3,200 倍、コレラ弧菌に 1,600 倍、變形菌に 200 倍、綠膿菌に 1,600 倍凝集し、マウス糞便より分離せる大腸菌に 800 倍、葡萄球菌に 1,600 倍、遠藤白色集落球菌に 200 倍、同じく小集落球菌に 3,200 倍に凝集せるを認めたりと言ふ。

長谷川は通常用ひらるゝ臨床的操作を以てしては、蛋白質の存在を證明し得ざる所謂常尿の大量を家兎の静脈内に注射することにより、當該動物尿に對する沈降素を發生せしむることを得たり。即ち常尿には明かに沈降元を有するものなることを知れり。この作用に於て、種屬特異性を有し尿の沈降元性は加熱に對し血清のそれに略々一致する態度を示し、その沈降素産出能力は比較的耐熱性にして、かゝる常尿の沈降元性は畢竟その内に微量に存在すると思惟さるゝ血清蛋白質に基因するものと見て大過なしと言へり。

併し乍ら一方横山は尿の抗元性に就き研究し、人、馬、犬、綿羊の尿を夫々抗元として家兎を免疫し諸種免疫反応を檢し、抗人尿免疫家兎血清には認むべき特異免疫体の發生を證明し得ずと言へり。

H. Pribram は人尿免疫血清は人血球を溶解し、更に人尿に對して沈降反応及び補体結合反応を呈することを證明し、Landsteiner u. Eisler が大量の人尿を家兎に注射してその血清中に沈降素を發生せしめ、人尿と該血清とを混合せば沈降反応の起ることを見たりと言ひ、1913 年 R. Doerr u. R. Riek 氏は抗人尿免疫家兎血清は各種尿及び血清の何れとも反應せずと報告したるも、1914 年に到り人、馬、犬、兔等の尿及び人腎臓食塩水浸出液に對して沈降反応を呈せりと報ぜり。

第 2 章 凝集反応に就て

第 1 節 實驗方法

免疫血清を得んとして次の實驗を行へり。即ち所定の糞池より青竹濾液及び濾過管濾液を採取し(前編参照)、これが 0.5 cc を健常家兎の耳静脈内に注射し何等の變化を現はさるるを確め、第 6 日目 1.0 cc を注射し、次の第 6 日目に 1.5 cc を注射し、3 回に亘り計 3.0 cc 注射することをせり。

而して反應検査は 6 日目毎に行ひ、毎観察日は早朝空腹時に採血し、その血清によりて各供試菌の凝集反応を検査せり。

供試菌株の自然凝集反応の有無を檢して凝集せざるを確め、又實驗動物は使用前藻め正常凝集價を確かめたる後實驗を遂行せり。

而して使用菌種は下表の如くにて何れも生物學的性狀定型的にして教室保存のものなり。

菌浮遊液は供試菌の普通寒天斜面培養を以て 37°C 24 時間培養せるもの、1 斜面につき 5.0 cc の割に生理的食塩水を加へて平等の潤滑液となし、1% の割にフォルマリンを加へて殺菌し、加熱せざるものを使用すること理想なれ共、余は供試菌は之を 60°C 30 分加熱殺菌したる後 0.5% にフォルマリンを加へ、之を冰室に貯藏し用に臨み使用せり。

検査術式は血清を生理的食塩水を以て遮減的に稀釋し、10 倍より 6,400 倍に到り 1.0 cc 宛凝集試験管にとり、最後に對照として生理的食塩水 1.0 cc を置く。

第 1 表

菌種名	菌株名	本編に於ける略称	
Bac. coli communior	Nr. 4	大腸菌	
Bac. paratyphi A	本所	P. A 菌	
Bac. paratyphi B	本所	P. B 菌	
Bac. typhi	アイノ	チフス菌	
Bac. dysenteriae ⁶	本型 異型	Nr. 2 駒込 B III	志賀菌 駒込 B III 菌

次に所定の菌液 1gt 宛滴下して 37°C の孵卵器中に納むること 2 時間にて之を取出し成績を観たる後、更に 1 夜を室温に放置翌日更に之を観察し、成績記載は 24 時間のものを表せり。観察は肉眼並に Agglutinoskop に依れり。

而して成績判定には凝集状態を検して全液が対照と同様平等に潤滑し居るものを陰性（-）とし、微細顆粒状にして肉眼にては明視し難きことあれ共 Agglutinoskop を用ひて明かに凝集状態を認むるものを陽性（+）とせり、尚疑はしきものを（±）とせり。

第 1 項 青竹濾液の場合

今実驗成績を通覽するに、免疫血清は各供試菌に對し或程度の差はあれ共何れも非特異性の凝集反応を呈したり。即ち第 11 號家兎（体重 2520 g）を見るに、第 1 回、第 2 回注射後に於ては著しき變化なきも、駒込 B III 菌に對して第 2 回の終りに 800 倍の凝集價を示せり。それより次第に体重最低 2,300 g 迄減少し、その生活力も多少衰へたる觀ありたるも再び体重上昇を初め漸次生活力活潑となれり。

而して大腸菌に對しては正常凝集價 50 倍にしてそれより 6 日目に 100 倍迄となり、P. B 菌に於ては正常凝集價は 40 倍にして第 6 日目に 60 倍、P. A 菌の正常凝集價は 50 倍にして、第 6 日目に 60 倍にして見るべき成績を示さず、チフス菌は正常凝集價 80 倍にして第 6 日目 200 倍、志賀菌は正常凝集價 50 倍にして第 6 日目 80 倍にして大なる變化なく、駒込 B 菌は正常價 60 倍を示し、第 6 日目に 200 倍にして少しく變化を示せりと雖も一般に著しき變化を見ず。

次に第 12 日目に於ける變化を見るに、大腸菌に於ては大なる變化なく 200 倍の凝集價を示し、P. B 菌に於ては 80 倍、P. A 菌に於ては 100 倍、チフス菌に於ては少しく上昇 400 倍を示し、志賀菌に於ては 100 倍、駒込 B 菌に於ては著しく上昇 800 倍に達せり。次に 18 日目に於ける成績を通覽するに、大腸菌、チフス菌、駒込 B 菌に於ては何れも 1,600 倍の凝集價を示し明かに變化を認め、P. B 菌は著しく上昇せずして 200 倍に止まり、P. A 菌は 400 倍、志賀菌は 800 倍の凝集價を示し中等度の上昇を示せり。次に 24 日目に於ける成績を見るに、大腸菌、チフス菌、駒込 B 菌は依然として 1,600 倍の價を示し、尚志賀菌も 1,600 倍の凝集價を示し、P. A 菌、P. B 菌は何れも 800 倍の凝集價を示せり。

而してこの最高凝集價は大腸菌、P. B 菌、P. A 菌、志賀菌に於ては 30 日迄、チフス菌、駒込 B 菌の 2 株に於ては 24 日迄保たれ、前者は 36 日目、後者は 30 日目の検査に於ては下降し初めたり。而して正常凝集價に近づきしは大腸菌、P. B 菌、駒込 B 菌は 48 日、P. A 菌、志賀菌は 42 日、チフス菌は 48 日にして漸次下降正常凝集價に近づけり。次に家兎 86 號に於ては、大腸菌は正常價 60 倍にして第 3 回目注射

に於ては 1,600 倍迄、第 18 日目に 3,200 倍の最高凝集價を示し、P. B 菌に於ては正常價は 50 倍にして 2 回目注射より 200 倍迄達し、P. A 菌に於ては大なる變化なく、チフス菌に於ては正常價 80 倍にして第 2 回注射により 800 倍迄上昇せり。志賀菌は正常凝集價 40 倍にして、第 3 回注射により 1,600 倍迄達したり。

駒込 B 菌は正常價 60 倍にして第 2 回注射により 800 倍迄上昇を示したり。而して漸次凝集價の上昇を見、18 日より 24 日の間に於て最高度の價を示せり。この間家兎は体重の減少を見たるも再び上昇し初め漸次舊態に復せり。

次に家兎第 18 號を見るに、大腸菌に於ては正常凝集價は 60 倍にして第 2 回注射後 800 倍となり、P. B 菌は正常凝集價は 50 倍にして第 1 回注射後 200 倍上昇し、第 2 回注射後 800 倍迄達し、P. A 菌に於ては正常凝集價 30 倍にして次第に上昇し、第 3 回注射後 400 倍迄達し、チフス菌にありては正常凝集價 80 倍にして第 3 回注射後 800 倍を示し、志賀菌に於ては正常凝集價 40 倍、第 2 回注射後 400 倍を示し、駒込 B 菌に於ては注射後 200 倍迄達せり。

然るに第 2 回注射後下痢を發し遂に斃死せり(圖を略す)。而して家兎第 18 號は初めより体重少かく、加ふるに中途より下痢を發し漸次生活力不良となり、從って本號家兎は他の体重大なるものに比し凝集價の上昇低位を示し、注射後 16 日目に遂に斃れたり。家兎 72 號を觀察するに、第 1 回注射後漸次体重減少を見、注射後第 12 日頃輕き下痢を發せるも間もなく恢復せり。次に抗体產生の状況を見るに、大腸菌に於ては正常凝集價は 30 倍にして第 1 回注射に於ては特記すべき凝集價を示さず、第 2 回注射に於て 400 倍に第 3 回注射にて 1,600 倍の高價に達せり。而して第 30 日目迄持続し漸次下降を初め、48 日にして略々正常凝集價に近づけり。P. A 菌は 12 日目、P. B 菌、駒込 B 菌は第 18 日目に最高に達し、チフス菌、志賀菌も亦 18 日目に最高位を示せり。而して略々 6 日 - 12 日の持続の後漸次下降し初め、48 日 - 54 日にして舊態に復せり。

次に家兎 92 號を見るに、毎回注射に於ても些かの變化もなく瀘液注射に耐へて、生活安定等しく衰弱も來さず好調を示せり。今その成績を觀察するに、大腸菌に於ては正常凝集價は 50 倍にして第 1 回注射後 200 倍となり、第 2 回注射にて 1,600 倍となり、第 3 回注射にて 3,200 倍を示し以下次第に下降せり。而して第 9 回目より正常凝集價に近づき以下變化を見す。

P. B 菌に於ては正常凝集價は 50 倍にして、抗体產生の状況緩慢なれ共次第に上昇を示し、第 5 回目検査に於て 800 倍を示し以下漸次下降を示せり。

P. A 菌に於ては正常凝集價は 30 倍にして第 1 回注射後急に上昇して 400 倍を示し、第 2 回注射後 800 倍を示し以下次第に下降せり。而して正常凝集價に近づきしけど第 8 回検査以後なりき。

チフス菌に於ては正常凝集價は 50 倍にして第 1 回注射後抗体產生の状況よく、第 3 回注射後 1,600 倍に達し以下次第に下降せり。

志賀菌に於ては正常凝集價は 30 倍にして第 1 回注射後上昇 400 倍を示し、漸次上昇 1,600 倍に達し下降を見たり。

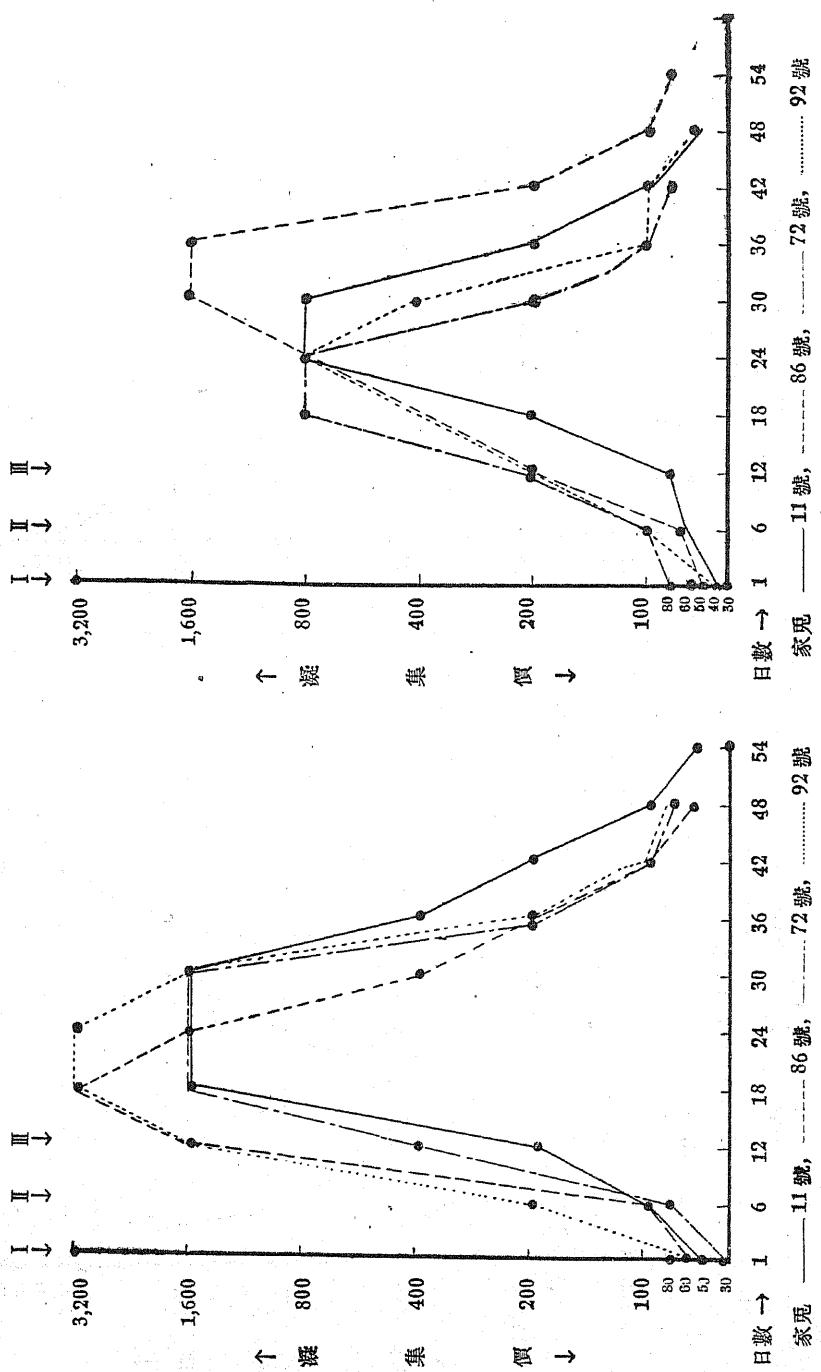
駒込 B 菌に於ては正常價は 60 倍にして遂に 1,600 倍迄に達し、然も凝集状況は明瞭にして凝集塊大にしてよく管底に沈澱したり。而してよく高凝集價を持續して第 8 回目より次第に正常凝集價に接近せり。即ち家兎 92 號に於ては一般に各供試菌に對する抗体產生能力良好にして著しく高き凝集價を示せり。

今以上の各實驗家兎の示せる曲線を菌株別に記載すれば下圖の如し。第 1 圖より第 6 圖、又之を家兎別に記載すれば第 7 圖より第 10 圖に至る如し。

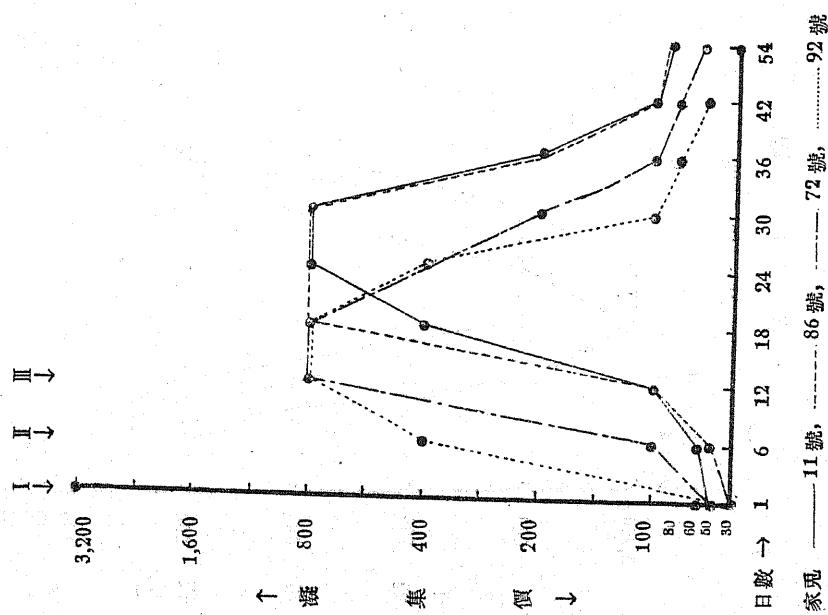
第 2 項 濾過管瀘液の場合

青竹瀘液の對照として濾過管瀘液を以て同様の方法の下に免疫反応を檢したり。今その成績を見るに、實驗家兎 88 號は大腸菌に於て正常凝集價 60 倍にして次第に上昇して遂に 1,600 倍に達し、P. B 菌に於て

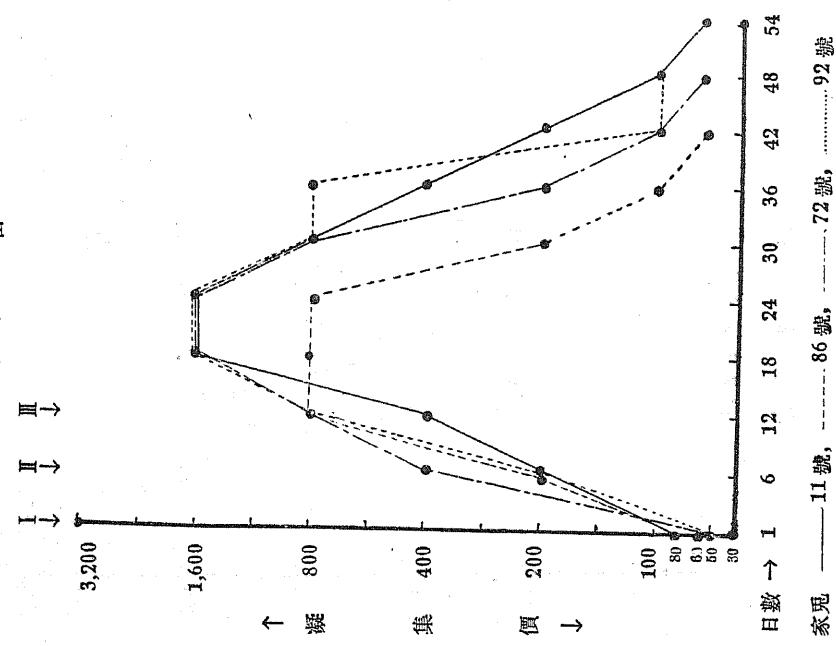
青竹菌
第 1 圖
大腸菌
第 2 圖
パラチフス B 菌



第 2 圖
バラチフス A 菌

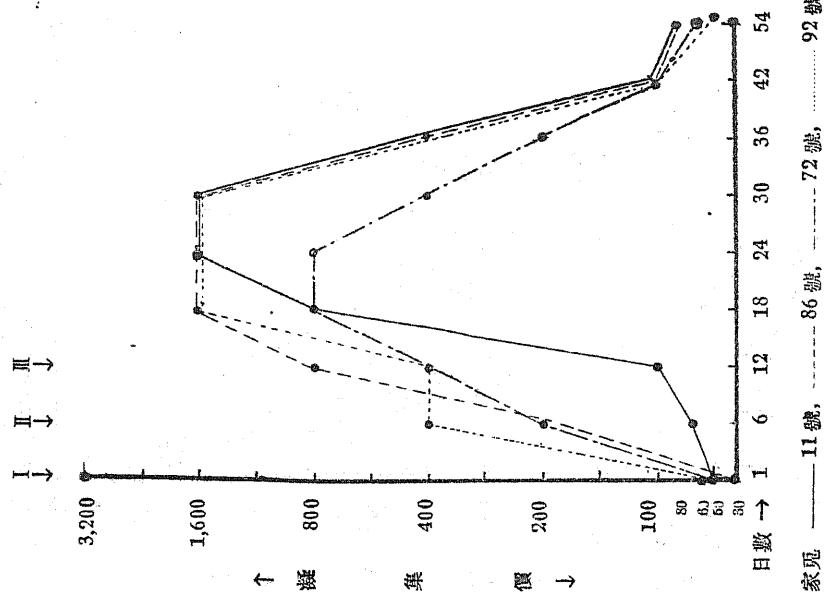


第 4 圖
チフス菌



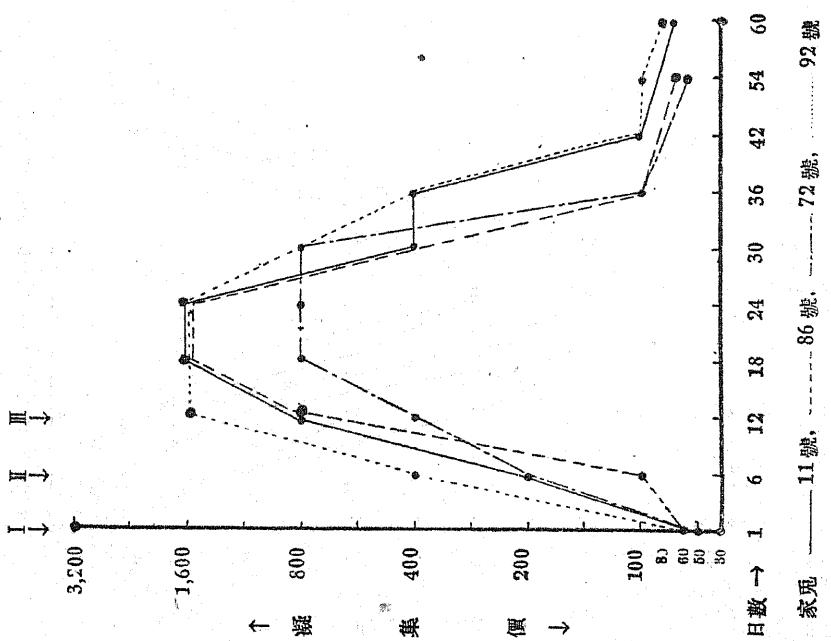
圖

志 貨 單 第 6 圖



圖

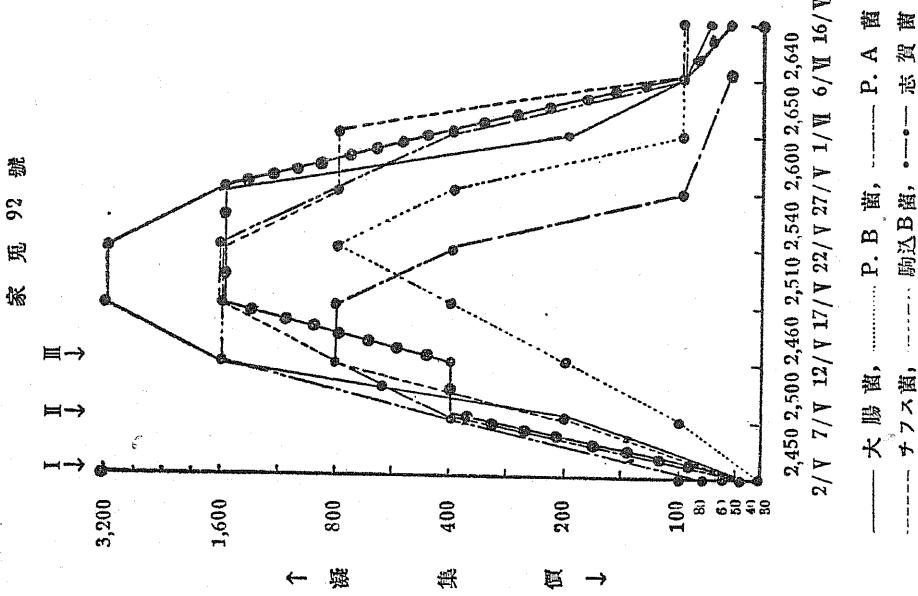
志 貨 單 第 5 圖



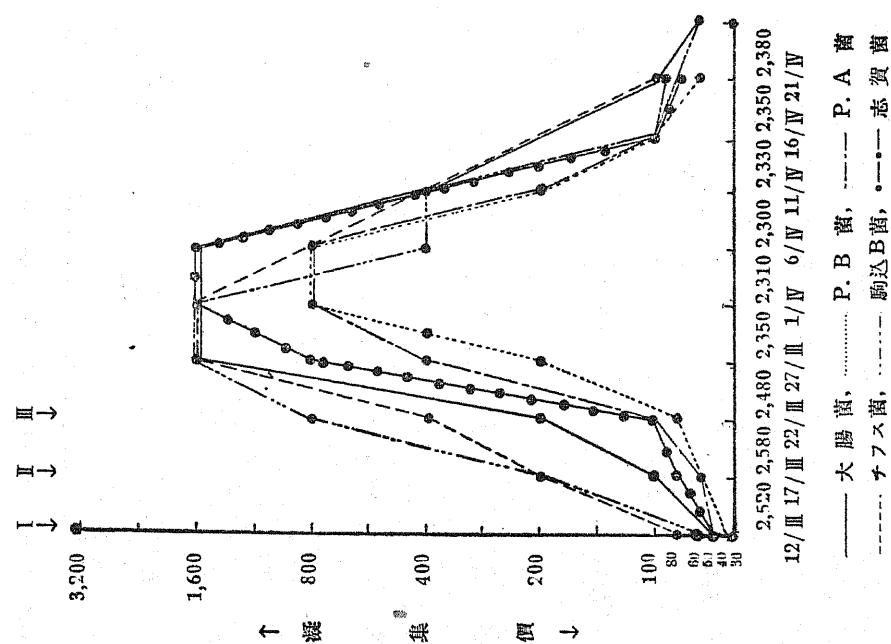
家兔 —— 11號, - - - 86號, - · - 72號, 92號

家兔 —— 11號, - - - 86號, - · - 72號, 92號

第 8 圖

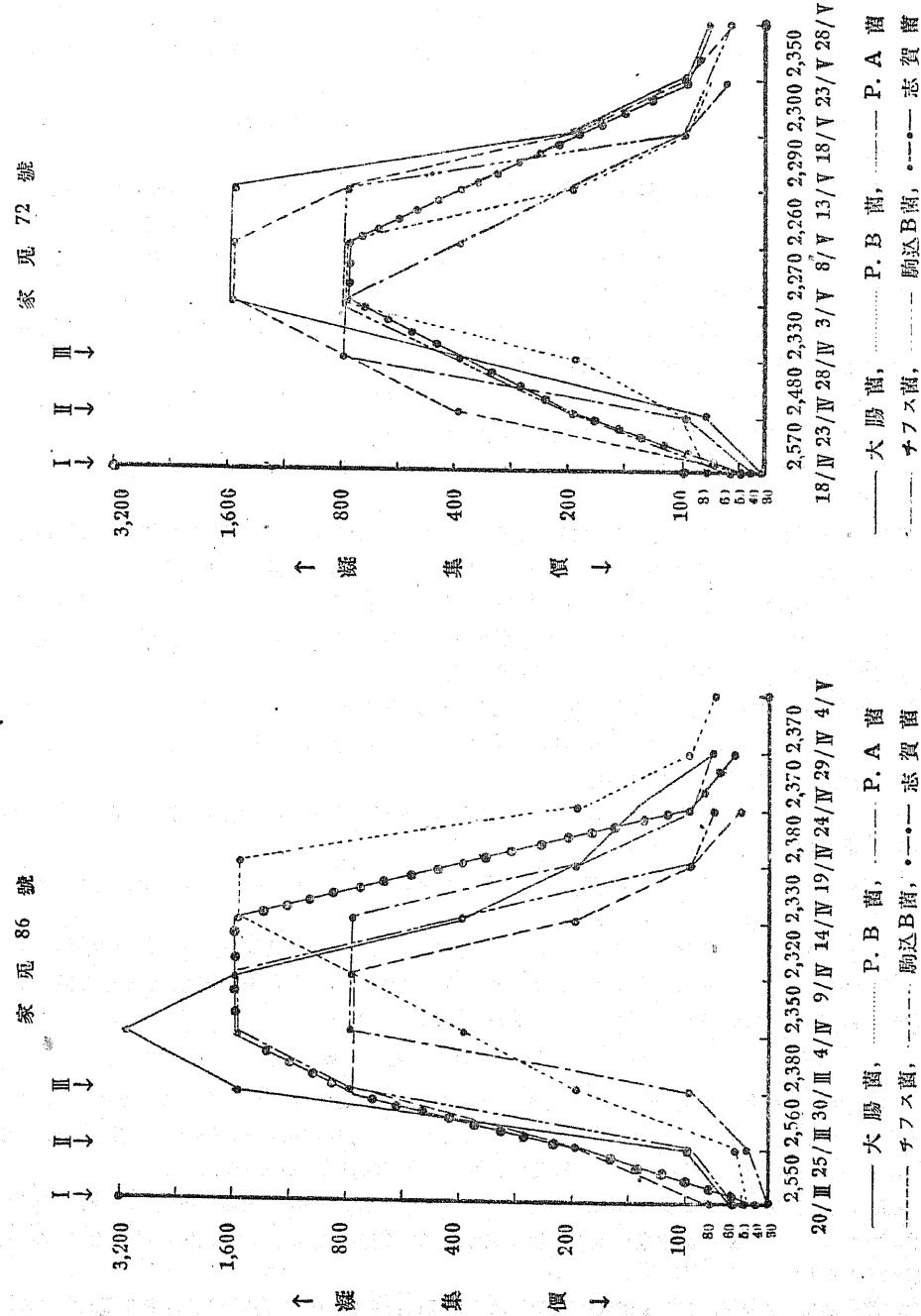


第 7 圖



第 9 圖

第 10 圖



は正常凝集價は40倍にして第3回注射後1,600倍を示したり。又P. A菌に於ては正常凝集價40倍にして、第2回注射後400倍、次に第3回注射後1,600倍迄に達しこれを持續せり。チフス菌に於ては正常凝集價は60倍にして次第に上昇し、800倍に達し持續せり。志賀菌に於ては正常凝集價は50倍にして第2回注射後800倍に至り持续し、駒込B菌に於ては正常凝集價は50倍にして第1回注射後200倍を示し、而して第2回注射後次第に上昇して凝集價は遂に1,600倍に迄達せり。

而して志賀菌を初として供試菌は何れも良好なる凝集を示し、殊に大腸菌、P. B菌、P. A菌、チフス菌等何れも見るべき成績を示せり。

次に家兎95號に於ては大腸菌は正常凝集價は50倍にして第2回注射後800倍を示し、次に1,600倍迄達せり、P. B菌に於ては正常凝集價は30倍にして第1回注射後100倍を示し、第2回注射後400倍、第3回注射後1,600倍を示し、第30日目に於て遂に3,200倍の凝集價を示したり。而して凝集塊は微細なるもよく凝集せるを觀察するを得たり。

P. A菌に於ては正常凝集價は40倍にして第3回注射後1,600倍を示し、これを少しく持續せり。而して凝集狀態は明瞭にして凝集塊大にしてよく凝集せり。

チフス菌に於ては正常凝集價は80倍にして第3回注射後に於て1,600倍迄上昇し、これを暫らく繼續せり。而して凝集塊は大にして明瞭なる凝集状況を示したり。

志賀菌は正常凝集價は50倍にして第1回注射後200倍に上昇、それより次第に上昇して遂に1,600倍を示すに至れり。

駒込B菌に於ては正常凝集價は40倍にして第2回注射後上昇し始め1,600倍に達し、これを持續したり。この95號家兎は一時体重の減少を來せるも遂によく免疫に耐へて終始觀察し得たり。

次に70號家兎を見るに漸次体重の減少を見たれ共、第9回採血迄よくその生活力を保ち終始觀察し得たり。而して各供試菌に對する抗体產生の状況を觀察するに大腸菌に於ては正常凝集價は50倍にして次第に上昇し、第3回注射後800倍凝集價を示し以下次第に下降せり。

P. B菌に於ては正常凝集價は30倍にして第3回注射後に於て800倍を示し、これを少しく持續し以下次第に下降せり。P. A菌に於ては正常價は50倍にして第2回注射後200倍となりこれを永く持續し、大なる變化なく遂に下降するに至れり。

チフス菌に於ては正常凝集價は40倍にして第1回注射後一舉400倍となり、遂に1,600倍に達し、これを12日間持續して下降期に入れり。

志賀菌に於ては正常凝集價は50倍にして第2回注射後400倍となり、第3回注射後1,600倍となり、これを持續すること暫時に下降せり。

駒込B菌に於ては正常凝集價は60倍にして次第に上昇し、第3回注射後1,600倍の高凝集價を示し後次第に下降せり。而して最高凝集價を示したる頃は明瞭に肉眼にて200倍迄凝集塊を觀察し得たり。今之を菌株別並に家兎別に曲線を以て圖示すれば下圖の如し。

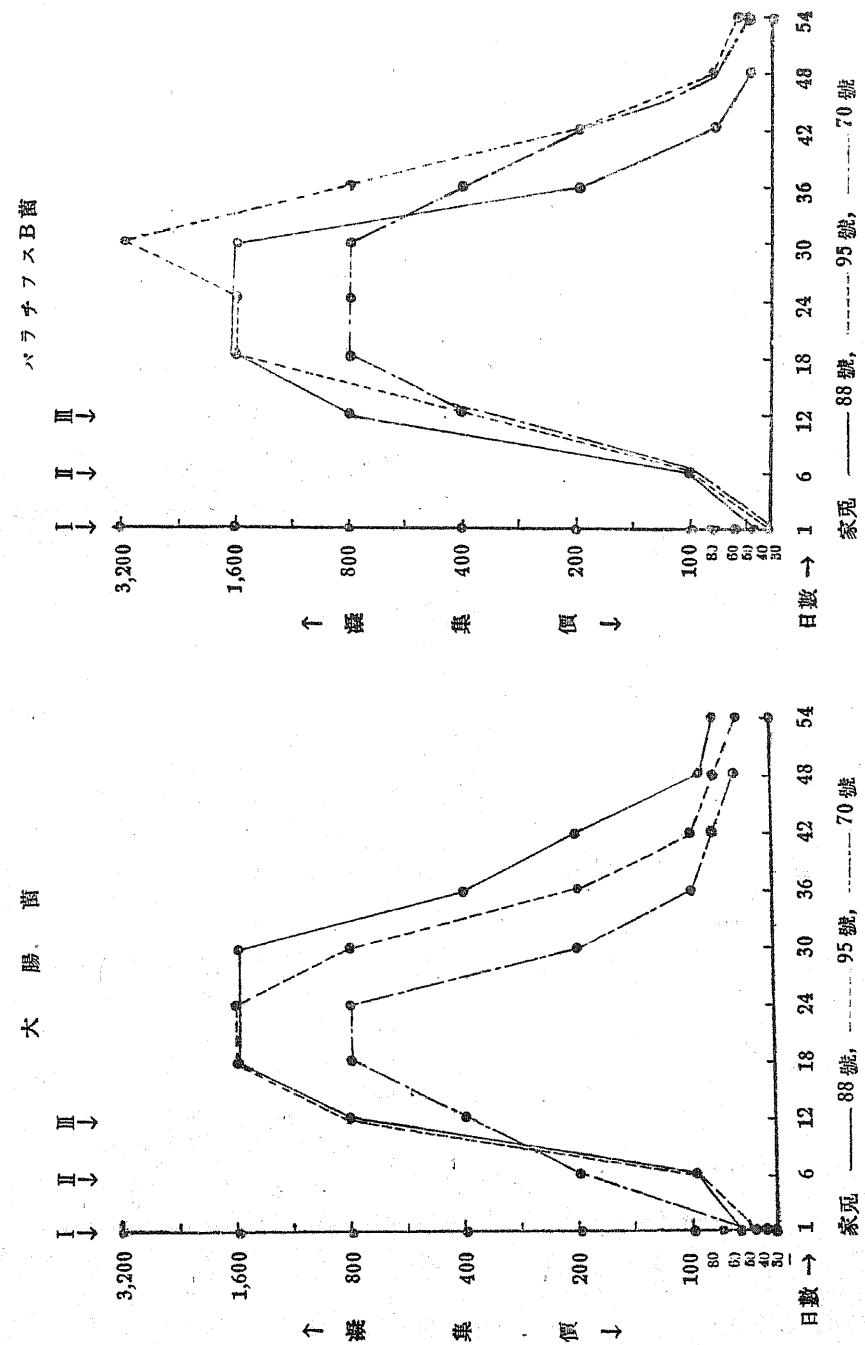
第3項 常尿の場合

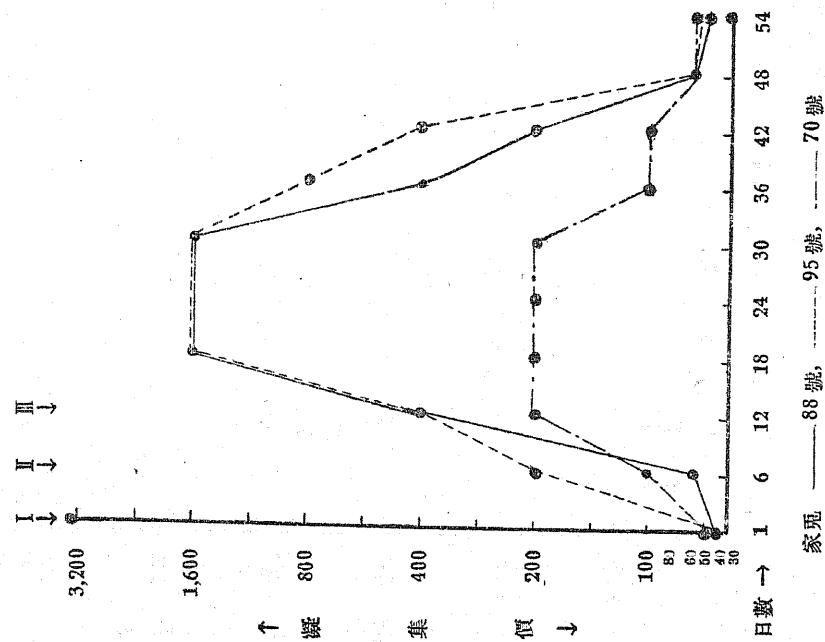
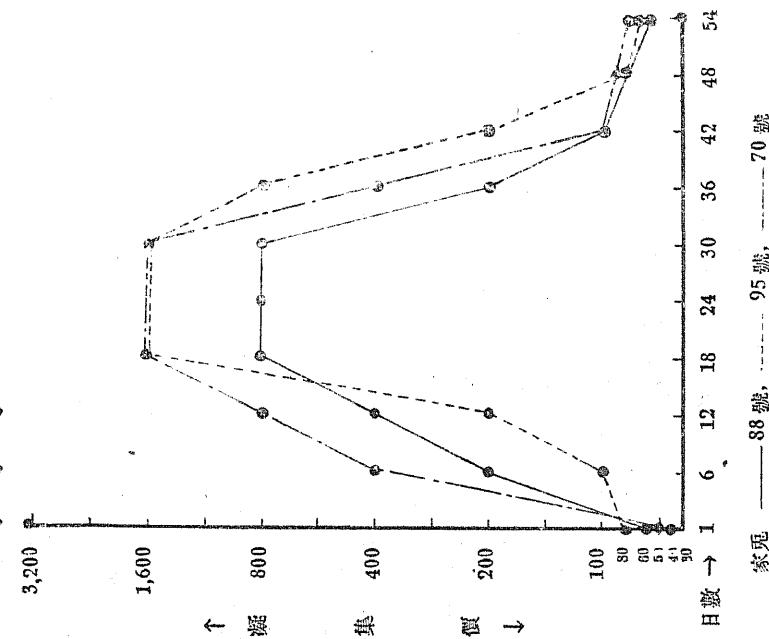
尿の抗元性に就て 尿を用ひたる免疫試験は1901年A. Schattenfroh氏を以て嚆矢とす、尙この外のH. Pribram, R. Doerr u. Pich, Friedberger u. Poor, Landsteiner u. Eisler, Friedenthal, Sachs, 尼子氏等主題を異にせる業績中に於て、尿免疫を行へる断片的報告を見るのみなり。

我國に於ては昭和3年横山は尿の抗元性につき人、馬、犬、綿羊等の尿を用ひてその抗体產生に就て詳細研究せしも、同氏はその結論に就て、抗人尿免疫家兎血清には認むべき特異免疫体の發生せるを證明し得ずとなせり。

又長谷川は、通常用ひらるゝ臨床的操作を以てしては蛋白質の存在を證明し得ざる所謂常尿の大量を家兎の靜脈内に注射することによって、當該動物尿に對する沈降素を產生せしむることを得たりと言へり。

第 11 圖
大腸菌
濾管過濾液免疫の場合

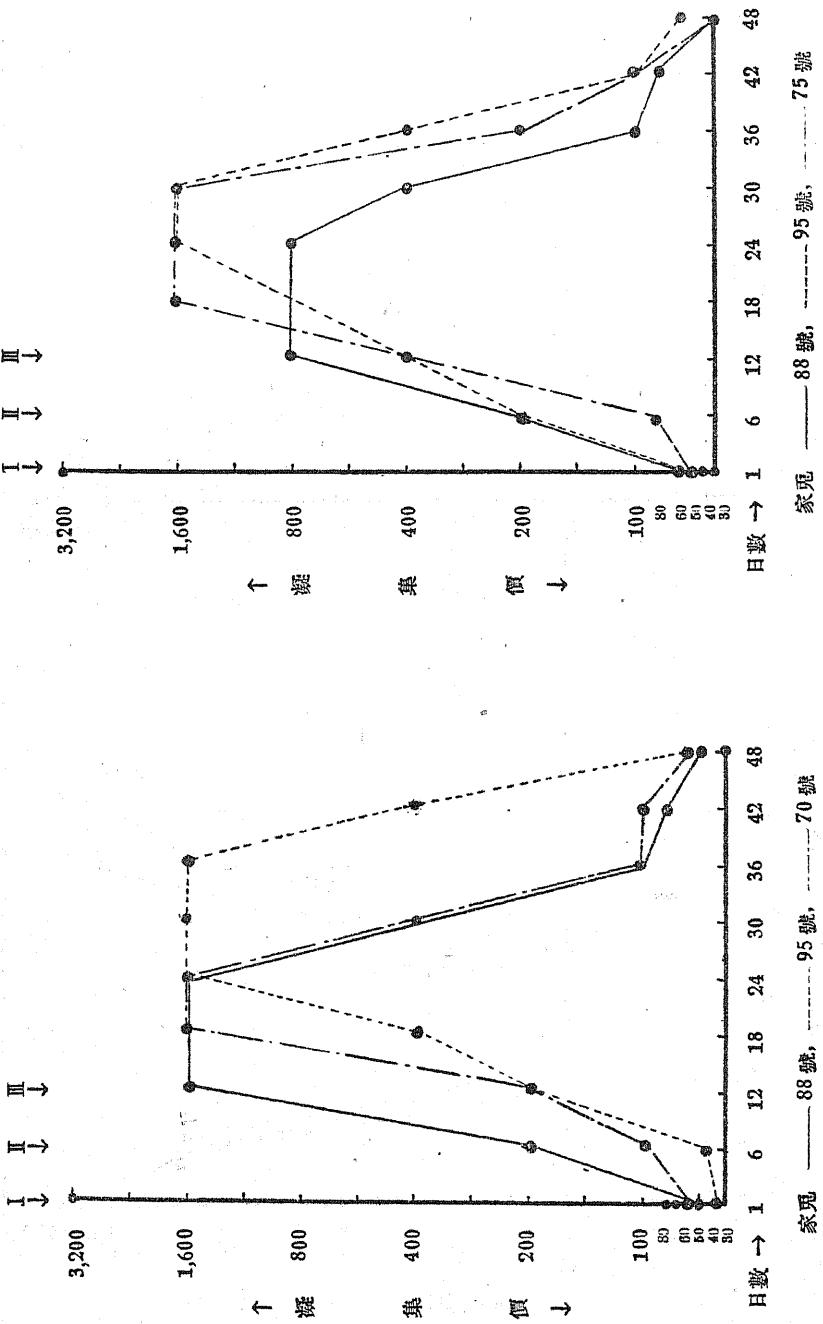


第 13 圖
アラチス A 酵第 14 圖
チフス A 酵

圖

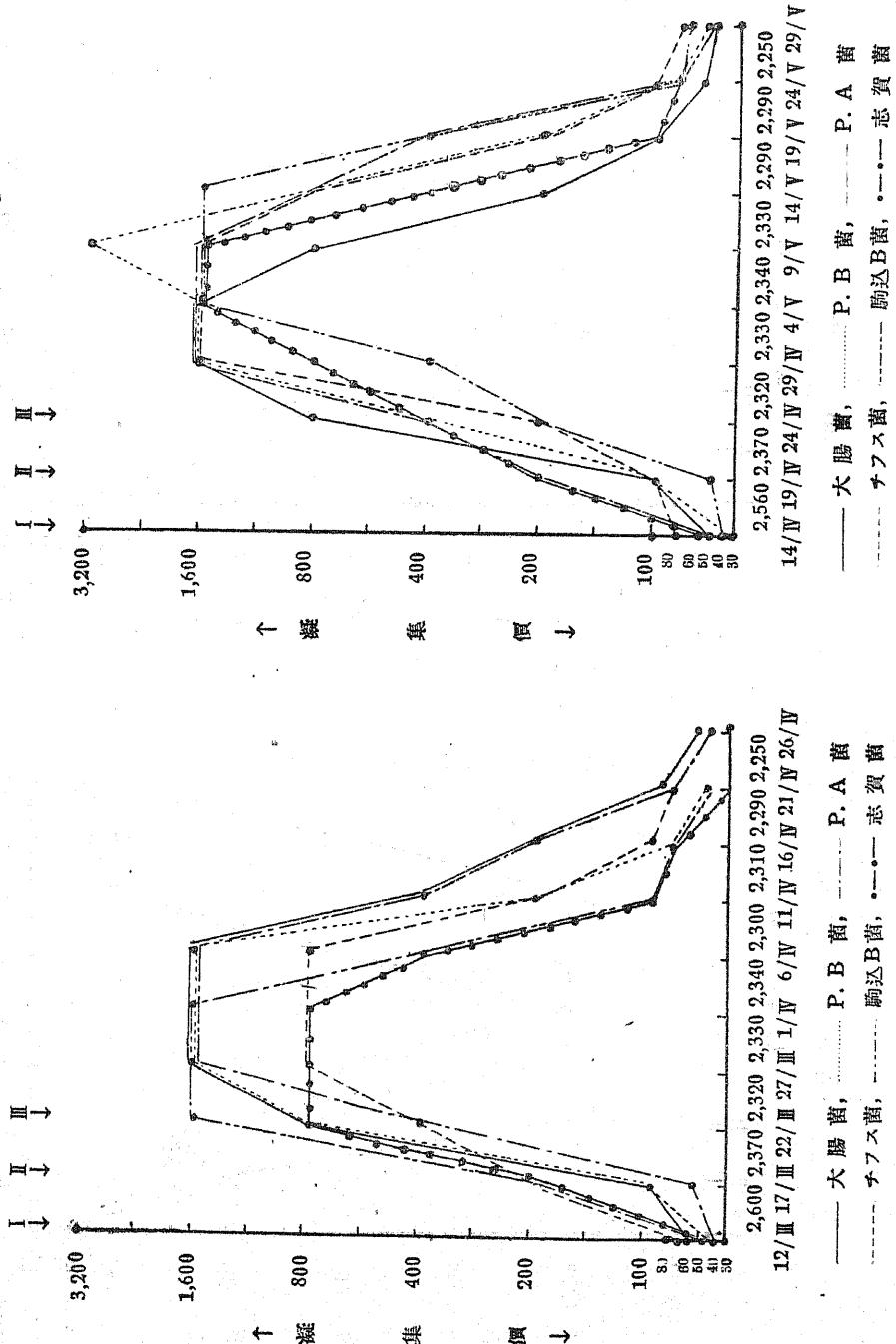
圖

第 15 圖
駒込 B 菌
第 16 圖
志賀菌



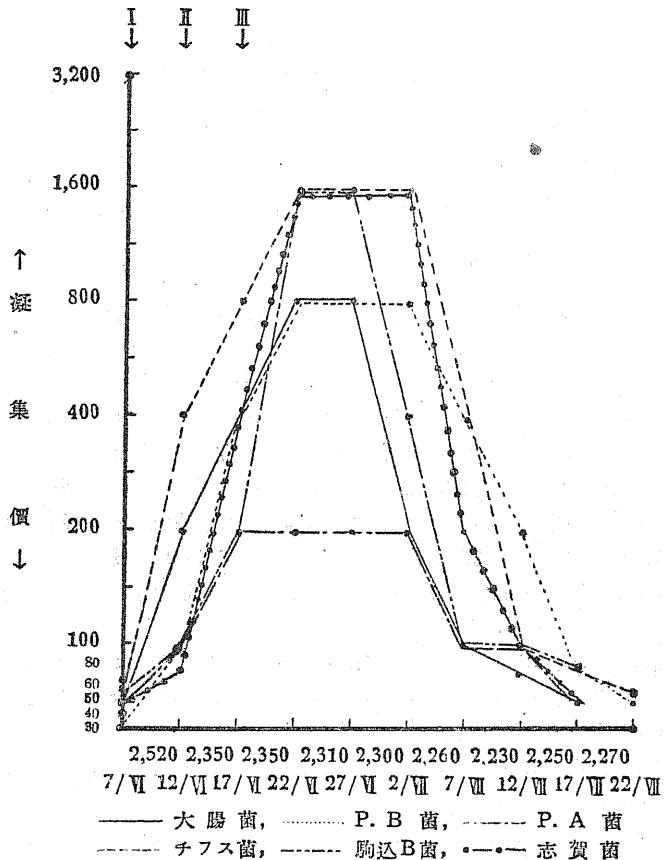
家兎 —— 88號, ----- 95號, -· 70號, - - - 75號

第 17 圖 家兔 88 號
第 18 圖 家兔 95 號



第 19 圖

家兔 70 號



而してその常尿の沈降元性は、畢竟その内に微量に存在すと思惟さるゝ血清蛋白質に基因するものと見て大過なしと言へり。

余は青竹濾液免疫の對照として尿の家兎免疫を追試せり。即ち健康人常尿を採取し、豫め尿中に於ける蛋白を通常臨床的に用ひらるゝ操作を以て陰性なるを確めたる後、家兎 58 號 2,400 g, 59 號 2,100 g の兩家兎の耳靜脈内に 5 日の間隔を置き、5 回に亘り第 1 回 3.0 cc, 第 2 回 5.0 cc, 第 3 回 5.0 cc, 第 4 回 5.0 cc, 第 5 回 5.0 cc を注射し、最後の日より 7 日目に採血々清を分離し、各供試菌につき凝集反応を検せしに何れも見るべき變化を認めざりき。

又同家兎の血清を用ひて尿に對する沈降反應を行ひたるも之亦見るべき成績を現はさざりき。

第 3 節 小 括

糞池濾液を青竹並に濾過管によりて採取し、これを健常家兎に注射することによりて供試菌株、即ち腸内病原菌並に非病原菌に對して凝集反應を呈する血清を得たり。而して供試菌は實驗家兎 9 頭に對して各 30 倍より 80 倍に至る正常凝集價を有せり。而して青竹濾液抗血清に

對する供試菌の凝集反応は各家兎によりて相異する處なるも、その最高凝集價は大腸菌は3,200倍、P. B菌は1,600倍、P. A菌は800倍、チフス菌は1,600倍、駒込B菌は1,600倍、志賀菌は1,600倍を示せり。

又滌過管濾液抗血清はその最高凝集價は大腸菌は1,600倍、P. B菌は3,200倍、P. A菌、チフス菌、駒込B菌、志賀菌等何れも1,600倍の凝集價を示せり。

而して是等凝集反応は何れも非特異性にして、免疫持続期間等も他の特異性の反応に比し短きが如し。又対照として常尿を家兎の耳靜脈内に注射して、各供試菌に對して凝集價の上昇するや否やを検したるも見るべき成績を得ざりき。

第3章 沈降反応に就て

第1節 實驗方法

免疫血清は凝集反応の場合に用ひたると同一の血清を用ひ、青竹濾液の場合には家兎92號、對照濾液の場合は家兎90號、常尿の場合には家兎58號の血清を用ひたり。青木は沈降元としてマウス糞便浸出液を用ひたり。即ちマウス、人間、海猿、家兎の糞便を各々食塩水を以て稀釋し、尙100°C 1時間煮沸したるものを使用せしが、余は家兎注射に用ひたる青竹濾液、對照濾液並に供試菌を普通寒天平板培地に37°C 48時間培養のもの1につき2ccの生理的食塩水を注加し、白金耳にて静に菌苔を分離これを採取し、沈澱管に移し目標を附したる後食塩水を注加して遠心沈澱し、洗滌したる後之を100°C 1時間重疊煎にて加熱せる後遠心沈澱して得たる上清透明液を用ひせり。

検査方法としてはUhlenhuth氏法にならひ毛細試験管重疊法を用ひたり。即ち數個の沈降反応用小試験管を取り、各々に免疫血清約0.1cc宛を入れ、この上に遞減的に稀釋せる細菌浸出液を夫々約0.1cc静に重疊し室温にて2時間その成績を観察せり。

尙対照としては健常家兎血清を用ひたり。又使用食塩水は使用時抗血清に重疊して凝はしき白色沈澱の生ぜざるを確めたり。

第2節 實驗成績

沈降反応の結果は室温にて15分、30分、1時間、2時間の4回に観察し兩液の接觸面に白濁輪の現はれたるものを陽性とし、之を時間的に15分出現(卅)、30分(+)、1時間(+)、2時間(±)とし、全く變化の現はれるものを(-)とせり。尙本沈降反応の白濁輪は他の沈降反応によりて現はるゝ白濁輪よりも一般に稍々その度弱き觀あり。その成績次の如し。

第3表 抗青竹濾液血清に對する供試菌浸出液の沈降反応
(家兎92號 14/V採血)

抗元稀釋元	1	2	4	8	16	32	64	K
大腸菌	+	++	++	++	+	-	-	-
P. B菌	++	++	++	++	+	+	±	-
P. A菌	++	++	++	++	++	+	-	-
チフス菌	++	++	++	++	++	+	-	-
駒込B菌	++	++	++	++	+	+	±	-
志賀菌	++	++	++	+	±	-	-	-

第4表 抗濾過管濾液血清に對する供試菌浸出液の沈降反應
(家兎90號 19/VII採血)

抗元 元	1	2	4	8	16	32	64	K
大腸菌	+	++	++	+	+	-	-	-
P. B菌	++	++	++	++	+	+	-	-
P. A菌	++	++	++	+	+	+	-	-
チフス菌	++	++	++	++	+	-	-	-
駒込B菌	++	++	++	++	+	+	-	-
志賀菌	++	++	+	+	-	-	-	-

尙各免疫血清を逐減的に稀釋し、之に抗元として用ひたる青竹濾液、濾過管濾液、並に常尿（遠心沈澱してその上清透明なるもの）等を以て直接沈降反應を試みたるも何れも陰性に終れり。

第3節 小括

余は凝集反應に使用せる家兎より血清を得て、これに各免疫用濾液、常尿、並に各供試菌の浸出液を以て沈降反應を實驗せるに、菌浸出液に對してのみ非特異性に沈降反應を呈するを見たり。而してこの浸出液は健常家兎血清並に抗常尿免疫家兎血清に對しては陰性に終れり。

第4章 補体結合反應に就て

陳舊糞池よりの青竹濾液並に濾過管濾液によりて家兎を免疫せる免疫血清には、各供試菌に對し非特異性凝集反應、沈降反應を呈することを知りたるを以て、かかる免疫血清が各供試菌に對する補体結合性を有するや否やを確かむるも又意義あるものと思惟さるゝが故にこの實驗を遂行せり。

糞便浸出液に就きて免疫學的研究の記載あるは凝集反應、沈降反應に於ては之が文献を散見し得れ共、補体結合反應に於ては未だこれを聞かず。

第1節 實驗材料並に實驗方法

(I) 實驗材料

A) 免疫血清 青竹濾液並に濾過管濾液による免疫血清は凝集反應の場合と同様にして、青竹濾液に於ては家兎92號を、濾過管濾液に於ては家兎90號を採血し血清を分離し、60°C 30分加熱非効性としたる後使用せり。

B) 抗元 各供試菌浸出液は沈降反應の場合と同様のものを用ひたり。

C) 補体 補体は5頭の健常海豚心臓穿刺により血液を採取し、これを滅菌沈澱管に移しその凝固をまち白金線にて管壁より剝離し、直ちに遠心沈澱して得たる血清を用ひ。

D) 溶血素 溶血素は2kgの白色雄性家兎の耳靜脈内に山羊血球を型の如く注射し、最後の注射日より7日目に採血し血清を分離し、56°C 30分加熱しその溶血價を測定せしに2,000倍以上のTiterを有せしを以て、これに0.5%の割に石炭酸を混和し冰室に保存せらるを使用せり。

E) 血球液 血球液は毎回頸静脈穿刺によりて得たる山羊血液を脱纖維し、3回生理的食塩水にて洗滌しその2.5%のものを使用せり。

(II) 豊備實驗

1) 免疫血清の使用量測定 免疫血清は一定量以上に於てはそれ自身にて、即ち抗原なくして補体を結合し溶血防止作用を現はすものなることは已に明かなる處なるを以て、免疫血清のみにて溶血防止を起す最少量を測定せり。

今その術式を示せば下表の如し。

第 5 表

試験管番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
免疫血清稀釋倍数	1	2	3	4	5	6	8	10	12	16	20	食塩水のみ	食塩水のみ
食塩水稀釋免疫血清量 20倍補体	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
溶血素2単位 2.5%血球液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0
37°C 1.5時間孵卵器中													
結果	-	-	±	+	++	++	++	++	++	++	++	++	-

即ち溶血防止量を測定したるに4倍に於て微かに溶血防止を認め、5倍に於て完全溶血起りたり。故に本試験に於ては $\frac{1}{2}$ 量以下、即ち10倍稀釋の免疫血清0.5ccを使用量としたり。

豫備實驗に際してその結果の判定は全く血球の溶解せず溶血系統混和當時と何等異なる所なく、24時間室温放置後管底に血球の沈澱したるもの(ー)とし、完全なる溶血を呈し鮮紅色を呈し管底に沈澱を認めざるもの(++)とし、その間の溶血の程度によりて(+)、(±)とし區別せり。本試験の結果判定も之に準じたり。

2) 抗元の抗補体價測定 抗元はそのままにては補体を吸收して溶血を防止するが故に、抗元の最少溶血防止量を測定せり。

その術式をチフス抗元を以て示せば下表の如し。

第 6 表

試験管番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
抗元稀釋倍数(チフス)	1	2	4	8	16	32	64	食塩水	食塩水
稀釋抗元量 20倍補体	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
溶血素2単位 2.5%血球液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
37°C 1.5時間孵卵器中									
結果(チフス)	-	-	+	++	++	++	++	++	-

尙細菌性抗元は一般に抗体價を變じ易き故に、實驗に際しては之が測定を慎重にし且つ測定後直ちに使用せり。

今實驗の結果得たる成績を示せば次の如し。

第 7 表

試験管	1	2	3	4	5	6	7	8	9
抗元稀釋倍数	1	2	4	8	16	32	64	K ₁	K ₂
大腸菌	-	-	±	+	++	++	++	++	-
P. B 菌	-	-	-	+	++	++	++	++	-
P. A 菌	-	-	+	++	++	++	++	++	-
チフス菌	-	-	+	++	++	++	++	++	-
駒込B菌	-	-	+	++	++	++	++	++	-
志賀菌	-	-	-	+	++	++	++	++	-

表中 K₁ は補体の對照、K₂ は食塩水の對照なり。

以上の如くなるを以て、本試験には最少溶血防止量の半量即ち、

大腸菌抗元 32 倍 0.5 cc P. B 抗元 32 倍 0.5 cc P. A 抗元 16 倍 0.5 cc

チフス抗元 16 倍 0.5 cc 駒込B菌抗元 16 倍 0.5 cc 志賀抗元 32 倍 0.5 cc

を使用することとせり。

3) 補体價測定 5 頭の海猿心臓穿刺によりて得たる血清を混合し、40 倍に生理的食塩水を以て稀釋し、それを次の術式によりて測定せり。

第 8 表

試験管番号	1	2	3	4	5	6	7	8
40 倍 補 体	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5	0
食 塩 水	0.4	0.35	0.3	0.25	0.2	0.1	0	0.5
溶血素 2 単位	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2.5% 血球液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2 時間 蛋白器 中								
結 果	+	+	+	+	+	++	++	-

即ち上表の示す如く 0.4 に於て完全溶血を示せし以て、その最少量は $0.4 \times \frac{1}{40} = 0.01$ なり。故に本試験に於てはその 2 倍量即ち 0.02 以上を使用せり。

4) 溶血價測定 Kolmer 氏舊法によりて測定せり。その術式下の如し。

第 9 表

試験管番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
血清稀釋倍数	100	200	400	800	1000	1600	2000	4000	5000
稀釋血清量	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2.5% 血球液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
20倍補体2単位	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
37°C 2時間孵卵器中									
結果	#	#	#	#	#	#	#	+	-

以上の成績の如く最少完全溶血量は2,000倍なり。依って之を實際量にて表せば $\frac{1}{2000} \times 0.5 = 0.00025$ 1単位とし、本試験にはこの2倍量即ち0.0005の2単位を使用せり。

(III) 本 試 験

青竹瀧液免疫血清並に濾過管瀧液免疫血清の使用量を逐減的に4本の小試験管にとり、之に抗元の使用量及び補体2単位を加へ各管を1.5ccとす。

対照として免疫血清対照、抗元対照、溶血素対照(補体対照)、食塩水対照(血球対照)の4本を置けり。

以上を混和し1時間37°Cの孵卵器に保ち、後2単位の溶血素及び2.5%血球液0.5ccを加へ時々振盪し、よく混和しつゝ2時間37°Cの孵卵器中に保ちたる後一旦結果を判定し、更に之を室温に24時間放置して後判定せり。

次にその術式(チフス抗元を用ひたる場合)を示せば下の如し(第10表参照)。

第 10 表

試験管番号	本 試 験				對 照			
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
生理的食塩水	0.9	0.5	0.5	0.5	0.9	0	1.0	1.5
免疫血清使用量	0.1	→ ^{0.5}	以下增量稀釋		0.1	0	0	0
抗元使用量	0.5	0.5	0.5	0.5	0	1.0	0	0
補体2単位	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0
37°C 2時間孵卵器中								
溶血素2単位	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2.5% 血球液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
結果	-	-	+	#	#	#	#	-

第2節 實驗成績

今實驗成績を示せば下表の如くにして、補体結合反応に於ても各供試菌に對して補体を結合する抗体を有することを見るべし(第11, 12表参照)。

第11表 青竹濾液の場合

試験管	本 試 験				對 照 試 験				
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
抗 元	血清稀釋	10	20	40	80	血清	抗元	補体	食鹽
大腸菌	-	++	++	++	++	++	++	++	-
P. B 菌	-	++	++	++	++	++	++	++	-
P. A 菌	-	+	++	++	++	++	++	++	-
チフス菌	-	-	+	++	++	++	++	++	-
駒込B菌	-	+	++	++	++	++	++	++	-
志賀菌	-	++	++	++	++	++	++	++	-

第12表 濾過管濾液の場合

試験管	本 試 験				對 照 試 験				
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
抗 元	血清稀釋	10	20	40	80	血	抗	補	食
大腸菌	-	++	++	++	++	++	++	++	-
P. B 菌	-	++	++	++	++	++	++	++	-
P. A 菌	-	+	++	++	++	++	++	++	-
チフス菌	-	+	++	++	++	++	++	++	-
駒込B菌	-	+	+	++	++	++	++	++	-
志賀菌	-	+	++	++	++	++	++	++	-

即ち青竹濾液血清はチフス菌が強く、次にP. A 菌、B菌が中等度に、他は弱く補体を結合せる状を見たるも、濾過管濾液に於ては駒込B菌が強く、次に志賀菌、P. A 菌、チフス菌にして他は弱く結合せり。

兩者の血清に於て一致せる反応を呈せるはP. A 菌、P. B 菌、大腸菌にして、この三者より見る時は兩波間に大なる差を認め得ざるも、チフス菌に於ては青竹濾液血清が強く、志賀菌、B菌に於ては濾過管濾液血清の方強し。

第3節 小括

余は凝集反応、沈降反応に使用せる青竹濾液及び濾過管濾液免疫血清を以て各供試菌浸出液を抗元として補体結合反応を實驗せるに、各供試菌浸出液に對し補体の結合せるを見たり。

即ち該免疫血清中には各供試菌浸出液に對し補体を結合する抗体の存することを明かにせるものなり。而して該補体結合物質は各濾液中に含有さるゝものによりて形成されたるものと

思惟さるべし。

第5章 総括並に考案

余は糞に糞池の青竹濾液並に濾過管濾液による諸問題を研究する處ありしも、これ等濾液を抗元として家兎に注射する時はその免疫血清は供試菌に對して如何なる成績を示すものなりやを検することによりて、糞の諸研究を補促することを得ざるやと思惟し2,3免疫反応を施行せり。

而して先づ凝集反応を實施せるに該免疫血清に對して大腸菌は1,600倍-3,200倍、P. B菌は800倍-3,200倍、P. A菌は800倍-1,600倍、チフス菌は1,600倍、駒込B菌は800倍-1,600倍、志賀菌は800倍-1,600倍迄の凝集價を示せるものありたり。而して青竹濾液血清と濾過管濾液血清とを比較研究する時は、濾過管濾液血清に於て多少高く凝集價を示せる如き觀あるも大なる相違あるを見ず。

而して兩者の大なる相違は山羊血球に對する滲透壓による溶血性の有無なるも（前編參照）、これが家兎に對しては大なる相違なく、何れも各供試菌に對する反應物質（抗体）を生成することは凡そ兩濾液の近似せる成分なるを知る。即ち青竹濾液は低張液なるも、その含有成分は濾過管濾液の高張液なるの成分と大なる違ひなきものと觀察され得べきなり。而して青竹濾液は濾過管濾液中の成分に蒸溜水を混じたるが如きものに近きものならんかと想像し得られたるにより、對照として蒸溜水のみを以て家兎に注射したるに凝集反応は何等の結果をも見ることを得ざりき。

これより見るも、青竹濾液中には無機の成分以外に或種成分の確實なる存在を認識し得べきなり。

而し乍ら沈降反応を實施して見るに各濾液との直接反應を起さず、又陳舊培養濾液との間にも反應は認められず只浸出液にのみ反應の起るを見たり。而して是が補体結合反應に至りて尙明かに知り得べし。即ち各供試菌に對し強弱の差違こそあれ全部補体を結合したり。而してその程度に於てはP. A菌、P. B菌、大腸菌等は兩濾液の一一致せる成績を示せるは注目に價すべし。これ兩者の大なる相違のなきを示すものならんか。又兩濾液によりて非特異性補体結合物質の發生せるを見るべし。

以上凝集反応、沈降反応、補体結合反應の實驗成績より推して、糞池濾液を抗元として家兎に注射する時は病原性、非病原性腸内細菌に對してこれを抗元としての抗体の產生を見るものにして、かゝる非特異性免疫反應物質の生成は恐らく糞池濾液中に含まるゝ成分のあるものによりて產生さるゝものならんと考へらるゝものなり。然ばに糞池濾液の何が抗元として、即ち抗体產生能力を有する抗元として活動し生体内にて免疫抗体を產生せしめたるかを考ふる

に、先づ糞池内に有する種々なる増殖せる細菌体、又は不消化蛋白質又は植物性澱粉纖維等が種々なる機轉によりて多種の化合物を形成し居り、それ等が多數体内に入つて種々なる抗体を形成せしめしものならんと考へらる。

而して如何なる物質が糞池濾液の成分を形成しその成分が何に作用せるかを考察するに、糞便中の諸種食物残渣、消化液の残渣、即ち消化酵素、又は大腸菌その他の雑菌及び菌体成分、又は細菌自家融解産物及び膿汁等を考へ得らるべし。青木はマウス糞便中に含有せらるゝ物質、即ち雑菌、膿汁、トリプシンを以て免疫せるマウスはP. B菌に對する免疫体產生程度は微弱にして、マウスに棲息せる寄生虫体浸出液はP. B菌に對し相等強度の免疫体の產生を見たりと言ふ。余は特にかかる実験は行はざりしも、微量のそれ等成分が抗元性を發現するならんとは想像し得らるゝものなり。

而して糞池に於ける場合は糞便又は尿それ自身のみにあらずしてその兩者の混合し、細菌その他により腐敗作用の起りつゝあるものなり。故に糞池の場合は糞便や尿それ自身の實驗に於ける場合と自ら異なる所あるべきなり。然も余の場合に於ては一定農家の田野にある貯藏處にして、腐敗作用強度に進み糞尿は混合して一個の特殊の液体を形成して存するものなり。

而して所謂糞便としての食物の不消化物、腸内細菌の死滅せるもの（1日に排泄せらるゝ細菌數は50-500 Millionにして量として約5gに達すと言ふ）、剝離されたる上皮細胞、分泌液（消化液）より由來する物質を保有せるものなり。而して尿に於ては種々の有機成分及び無機成分を含有し、動物体内諸臓器に於て廢棄せられ若しくは燃焼せられたる不要產物中の大部分の窒素は常に腎臓より尿中に排泄せらるゝものなり。仍って以上の物質が混然たる状態にて糞池中にあるものにして、それより青竹にて濾過されたるものゝ内にもそれ等の幾つかが混在せるは察し得べし。かかる諸成分のあるものが抗元作用をなし非特異性抗体の產生を見るものならん。

以上より考察するに、糞池中には免疫元として強度なる免疫体を產生せしむる特異なる物質が含有せらるゝものなるか、或は種々なる免疫元が混合し協力してかかる免疫体を產生するものなるかは又不明なれども、何れにせよ免疫性を賦與する事實は明かなり。

然らば何故にかかる特殊なる物質が含有せらるゝものなりや、前述の如く糞便は攝取せる食物の残渣に加ふるに、種々の消化液又は酵素を含有し、糞便それ自身に於ても亦醣酵作用を發揮しつゝあるものにして、糞便内に細菌抵抗物質又はBakteriophageの如きものゝ存在することとは明かなるも、亦糞便成分の吸收さることにより却つて發育を阻止し又は防止すべき物質の發生すべきは以上の事實より明かなる處にして、かかる特殊物質は實に糞便の醣酵に基くものならんか。

即ち排泄されたる後に於て糞池内に於て腐敗醸酵作用の繼續さるゝものなれど、青木氏のそれより推せど又余の實驗よりすれど、かゝる物質は破壊されずにあるものなり。

而して民間に於て青竹瀧液を種々なる身体外表疾患並に高熱患者に内用として使用し、治療的意義の存するは實にこの點にあるものならんと思考するものなり。即ち第1編に於て、青竹瀧液の化學的成分中含有せらるゝ Ammonia の分解作用によりて微量の尿素を生じ、その尿素の殺菌作用によりて身体外表の汚染創傷に奏效するものならんか。

今や再び凝集反応の成績を觀察するに、青竹瀧液免疫血清に於てはチフス菌に於ては 1,600 倍、P. A 菌に於ては 800 倍 - 1,600 倍、P. B 菌に於ては 800 倍 - 1,600 倍、大腸菌に於ては 1,600 倍 - 3,200 倍の高凝集價を現はせり。かゝる免疫現象は腸内に存する時の糞便にても惹起せらるべしと想像し得らるゝものにして、殊に一度腸内疾患に犯され糞便は健康時のそれと異なり病的状態となり、又腸内粘膜も病的に變化し、ために糞便内に含有せらるゝ成分の異状吸收を起し、その吸收物質の爲めに抗元性作用起り血液中に抗体產生を見、それが非特異性のものなるが故に、診斷時諸反応をなす時反應陽性に現はるべきは想像し得らるゝ所なり。

臨床上凝集反応の代表的のものは Widal's Reaktion なるべし。この場合に於て陽性標準を何處に置くべきやは興味ある問題なり。1896 年 Gruber はチフス免疫血清中に Agglutinin を發見し、之に數ヶ月遅れて Widal はチフス診斷上に凝集反応を應用すべきを報告し、爾來この Gruber-Widal'sche Reaktion は單に Widal-Reaktion として廣く應用せらるゝに至り、その陽性標準も當初は極めて低く漸次標準を高めつゝあり。今主なる判定を見るに、チフスの診斷に當り Widal は初め血清 10 倍稀釋に於て陽性ならば之を陽性としたり。Grumbaum は 32 倍、Stern u. Kolle は 30 倍、Fränkel u. Köhler は 50 倍、Bruns u. Kayser は 75 倍、Diendonne u. Weichardt 及び Strümpell は 100 倍とし、獨乙に於けるチフス防疫に關する訓令に依れば 100 倍稀釋を極度とし、Fornet は更に 200 倍の稀釋を添ふるを例とせり。

我國に於ては志賀、綿引、佐々木、秦、淺川の諸氏は 50 倍、小澤、二木、塩谷の諸氏は 100 倍、小田は 320 倍或は 640 倍を以て標準とせり。大城は 1,000 倍を主張し實に 10 倍より 1,000 倍に至る大差あり。

而して近時豫防接種頻繁に行はれ、その他保菌者、疾病経過者等は相當長期間反應の陽性なることは文献の示す所なり。

余は實驗の結果より考察し、Widal-Reaktion の成績判定上、殊にその標準を決定する上にかゝる事實の存することを考ふべきを高唱して止まざるものなり。

第6章 結論

1. 粪池の青竹濾液を健常家兎耳靜脈内に注射することにより、數種の腸内菌に對し非特異性の凝集反應、沈降反應、補体結合反應を呈せり。
2. かかる非特異性免疫物質の產生は恐らく糞便中に存する或種の成分に基くものならんと思考し、かかる物質は青竹を通じるものと認む。
3. 凝集反應成績より推して、Widal-Reaktion の成績判定上その標準に余の實驗成績を考慮に入るべきを提倡せんとす。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜はり且つ御校閲の勞を賜はりたる恩師緒方教授に對し満腔の謝意を表し、尙種々御助言を賜はりたる西村、橋本兩博士に對し厚く感謝の意を表す。

(本論文の要旨は昭和12年11月20日千葉醫學會第15回總會席上に於て發表せり。)

文獻

- 青木: 北海道醫學雜誌、第10年、7, 8, 9號; 昭和7年。 Ball: Wien. klin. Wschr. 1921.
 Berzina: Wien. klin. Wschr. 1907. Berzina u. Razi: Wien. klin. Wschr. 1908.
 Bigger, J. W.: J. Bacter. a. Path. 44, 1937. Dumas: C. r. Soc. Biol. Par. 1920.
 Hop: Z. Immunit. forsch. Orig. 37, 147, 1923. 長谷川: 日本婦人科學會雜誌、第25卷、第7號、昭和5年。
 本草綱目: 人之部。 Hopkin u. Arthur: Proc. Path. Soc. Philad. 15, 1913 (Ref.)
 河野、新田: 醫事新聞、1186號、1187號、1200號、大正15年。 Kraus u. Wilenko:
 Wien. klin. Wschr. 1909. Ludvig, Hekton: J. infect. Dis. (Am.) 24, 1919. 松本:
 北海道醫學雜誌、第10年、第3號、昭和7年。 松野: 千葉醫學會雜誌、第15卷、第5號、昭和12年。
 永井: 千葉醫學會雜誌、第6卷、第11號、昭和3年。 永見、尾、渡口: 日本內科學雜誌、第15卷、
 第7號、昭和2年。 内藤: 日本微生物學病理學雜誌、第30卷、第15, 16號、昭和11年。 中村:
 日本內科學會雜誌、第15卷、第7號、昭和2年。 中村: 實際的細菌學血清學検査法、1938。 西山:
 岡山醫學會雜誌、42年、8號、昭和5年。 野村: 臺灣醫學會雜誌、第302號、昭和5年。 Nyberg:
 Zbl. Bakter. usw. I. Orig. 1931. 緒方、佐々木: 病原細菌學總論 改訂、第10版、1937。 小橋:
 朝鮮醫學會雜誌、第19卷、第10號、昭和4年。 岡村: 日本傳染病學會雜誌、第3卷、第6號、昭和
 4年。 Otto, Munter, u. Winkler: Z. Hyg. 1922. 須藤: 小醫化學實習、昭和8年、第18版。
 杉本: 北海道醫學雜誌、第12年、第10號。 友石: 兒科雜誌、390號、昭和7年。 Wilenko: Wien.
 klin. Wschr. 1908. Wollstein: J. exper. Med. 1921. 山内: 實驗醫報、170號、昭和3年。
 安田: 植物學汎論、昭和8年。 吉川: 日本微生物學病理學雜誌、第29卷、785頁、昭和8年。