

114.

612.11:615.3

痘苗免疫血清ニ關スル知見補遺

岡山醫科大學衛生學教室 (主任緒方教授)

醫學士 藤 間 靜

[昭和8年1月10日受稿]

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

Beiträge zur Kenntnis des Vaccinimmunserums.

Von

Dr. Sei Tohma.

Eingegangen am 10. Januar 1933.

Die Studien über die Antigenität der Vaccina und Variola wurden schon von mehreren Autoren eingehend berichtet; leider sind die Resultate der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion nicht immer gleich, weil die Antigenvaccine nicht ganz rein, sondern ein Gemisch von Kuhlymphe und Virus sind, und dazu die Untersuchungsmethode durch die Antigenverdünnungsmethode bestimmt wird. Daher habe ich mit Antivaccinimmunserum diese Frage mittels der Antikörperverdünnungsmethode, über welche in unserem Institut schon mehrmals berichtet wurde, bei der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion nochmals genau untersucht. Als Antigen zur Reaktion benützte ich den Vaccinextrakt, welcher vor der Benützung mit der 10fachen Mengen einer 0,85%igen physiologischen Kochsalzlösung verdünnt und nach Beimischung bis zum nächsten Morgen im Eisschranke extrahiert wurde. Nach starker Zentrifugierung wurde dann der klare Teil abpipettiert. Als Injektionsmaterial benützte ich die Vaccinemulsion, in welcher das Vaccin mit 10 Teilen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt war und welche vor dem Versuch bei 56°C 30 Minuten lang erhitzt wurde.

Die Kaninchen wurden durch mehrmalige Injektion von Vaccinemulsion (1 Dosis = 0.5 cc.) bei 4-5 tägigen Pausen immunisiert, das Immunserum wurde zur Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion verwendet. Die Resultate können kurz in folgender Weise zusammengefasst werden:

1) Das Immunserum reagierte positiv bei der Präzipitinreaktion sowohl mit Vaccinextrakt als auch mit Rinderserum; ich konnte aus dem Präzipitintiter für Vaccinantigen viel höher steht als für Rinderserum. Daraus folgt die Reagierbarkeit des Abgusserums für Vaccinextrakt nach der Absorption mit Rinderserum. Diese Reaktion geht bei der Komplementbindungsreaktion in der gleichen Weise wie bei der Präzipitinreaktion.

2) Um die Schutzkraft des Immunserums zu prüfen, habe ich zuerst das Immunserum intravenös injiziert und nach 24 Stunden das frische Vaccin, welches mit steriler physiologischer Kochsalzlösung auf das 100fache verdünnt wurde, in den Hoden geimpft. Dabei habe ich die Schutzkraft durch lokale Erscheinungen an der injizierten Stelle genau erkannt, weil bei dem Kontrolltier eine Anschwellung und Rötung, Oedem der Hodenhaut und nekrotische Veränderung des Parenchyms durch Vaccininjektion allein hervorgerufen wurden, und diese Schutzkraft sogar je nach der zur Injektion verwendeten Antiserummenge beeinflusst wurde.

3) Weiter injizierte ich das Vaccin steril in den Kaninchenhoden und erreichte es, Pocken in vivo rein zu kultivieren. Dabei fand ich die interessante Tatsache, dass das Kaninchen Serum sowohl mit Hodenantigen als auch mit Vaccinantigen positiv bei Präzipitinreaktion oder Komplementbindungsreaktion reagiert, und zwar der Verlauf dieser Immunkörperproduktion in beiden Fällen parallel geht. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass die Vermehrung des Pockenvirus mit der Zerstörung des Hodenparenchyms gleichen Schritt hält. Bei diesem Fälle reagierte nicht das Antivaccinpräzipitin mit dem Rinderserum. (*Autosef. a!*).

内 容 目 次

第1章 緒言及ビ文献	第2項 補體結合反應
第2章 實驗材料及ビ實驗方法	第3項 Seitz-Filter デ濾過セル痘苗ヲ用ヒタ場 合ノ沈降反應
第1節 實驗材料	第2節 痘苗ノ家兎辜丸接種試験
第2節 實驗方法	第1項 痘苗ノ家兎辜丸接種試験
第1項 免疫方法	第2項 抗痘苗沈降素並ニ抗辜丸沈降素產生狀 態ノ比較
第2項 沈降反應検査法	第3節 抗「ワクチン」家兎免疫血清ノ抗毒性試験
第3項 補體結合反應検査法	第4章 總括
第4項 抗毒素検査法	結論
第3章 實驗成績	
第1節 抗「ワクチン」家兎免疫血清ニ就テ	
第1項 沈降反應	

第 1 章 緒言及ビ文獻

痘苗ノ抗原性即チ免疫血清反應、即チ沈降反應、補體結合反應ニ關シテハ甲論乙駁未ダニ定説無キニ近シ。

文獻ヲ案ズルニ、

Jobling¹⁾ ハ種痘牛血清ニ就キテ、Beintker²⁾、Dahm³⁾、菅井⁴⁾、Kryloff⁵⁾、Xylander⁶⁾、Paschen⁷⁾、Hallwachs⁸⁾、Palmas u. Bizzarie⁹⁾、Teissier u. Gastinel¹⁰⁾ 等ハ痘瘡患者血清或ハ被種痘者血清ニ於テ、又 Gordon¹¹⁾ ハ「ワクチン」免疫家兔血清ニ於テ、夫々痘痘ヲ反應抗原トシテ補體結合反應陽性ヲ報告セリ。又田中¹²⁾ ハ痘瘡患者腦膜浸出液ニ、Freyer¹³⁾ ハ種痘ヲ受ケタル人ノ血清ト痘苗トノ間ニ、Casagrandi¹⁴⁾ ハ痘苗ヲ Chamberland-Filter デ濾過セル濾液ヲ以テ免疫セル犬血清ニ就テ、Paschen⁷⁾ ハ家兔免疫血清ト人間ヨリ得タル痘苗トノ間ニ、又鳥瀉、Tomarkin u. Suárez¹⁵⁾ ハ煮沸セル痘苗ヲ以テ夫々沈降反應陽性ヲ報告セリ。鳥瀉氏等ニヨレバ家兔ニ於テハ皮内接種後 8—14 日目ニ沈降素ガ現レ 1½—4 箇月間續クト言ヒ、犢ニ於テハ接種後第 12 日目ニ陽性成績ヲ得、之ガ更ニ 3 箇月間モ續クト言フ。又種痘ヲ受ケタル人ハ約 12 日目位ヨリ表レ、之モ數箇月間續クト言ヘリ。Winkler¹⁶⁾ ハ Tomarkin u. Suárez¹⁵⁾ ノ方法ニ仍リテ検査シ皮内及ビ静脈内ヨリ夫々免疫セル家兔ニ就キテ同様ニ沈降素ヲ證明シタリト。眼ノ角膜ヨリ免疫セル家兔ニ於テハ陰性ナリキ。最後ニ Gordon¹¹⁾ ハ高價免疫家兔ニ於テ同様陽性ノ成績ヲ得タリト報告セリ。氏ハ抗原トシテ 1/50 稀釋ノ牛淋巴液ヲ用ヒ、之ヲ豫メ輕ク遠心沈降シ擴大鏡ヲ以テ檢スルモ粗大顆粒ヲ含有スルコト無ク、而モ平等ナ濁濁ヲ有スルモノナリ。氏ハ混合物ヲ 55°C、20—24 時間靜置スルコトニ仍ツテ血清ノ 1:40 迄強陽性ヲ得タリ。又對照試験トシテノ健常血清ニハ如何ナル稀釋ニ於テモ陰性ナリキ。同様ニシテ前述ノ抗原ヲ毎分 3000 迴轉 2 時間遠心シテ尙ホ微ニ白色ニ濁濁セル上清液ヲ用ヒル時ハ沈降反應ハ前回ノ試験ニ於ケルヨリハ微細ナリシト。尙ホ痘瘡痂皮ヲ抗原トシテ用ヒタル時モ陽性ナリシト。又氏ハ更ニ此反應ノ特異性ヲ一層強固ニセンガ爲ニ抗痘苗家兔血清ヲ夫々、Vaccina, Variola, Varicellen 等ノ痂皮及ビ家兔皮膚化膿創ヨリ分離シタル葡萄狀球菌ヲ以テ飽和セシメ、37°C 孵卵器内ニ 2 時間置キタル後、強遠心ヲナシ、其ノ上清ニ就テ Vaccina, Variola 及ビ其ノ他ノ抗原ニ對シテ沈降反應ノ有無ヲ檢シタル結果、前記吸收試験ニヨツテ Vaccin, Variola ニヨツテノミ家兔ノ抗痘苗抗體ハ吸收セラルト言ヘリ。

以上ノ陽性成績ニ反對シテ von Pirquet¹⁷⁾ ハ種痘後ノ子供ニ就テ、Bermbach¹⁸⁾ ハ痘苗免疫血清ニ就テ何レモ沈降反應陰性ヲ報告セリ。尙ホ又菅井⁴⁾、Dahm³⁾ 等ハ痘瘡患者血清ガ痘瘡痂皮ニ對シテ陰性ナリシト言ヒ、佐藤¹⁹⁾、Gastinel²⁰⁾ ハ痘苗免疫家兔ニ於テ不定ノ成績ヲ得タリ。Frankenstein²¹⁾ ハ種痘後ノ子供ノ血清ニ就テ Hunt u. Falk²²⁾ ハ痘苗免疫血清ニ就テ沈降反應陰性ヲ主張シ、最近ニハ Schultz, Bullock u. Lawrence²³⁾ ハ痘苗家兔免疫血清ニ於テ特別

ノ沈降素ノ存在ヲ否定セリ。

以上ノ如キ兩論相對峙シテ讓ラザル有様ナルガ、其ノ原因ニ就キテハ固ヨリ速斷ニ難シト雖モ、其ノ最大原因ト見做サル可キハ從來ノ免疫體測定法ノ不完全ナリシ事及ビ反應原トシテ使用セララル抗原ノ製法宜シキヲ得ザルタメナラン。余ハ此問題ノ一半ヲ解決センガ爲メニ此免疫體量測定ニ當リ輒近我教室ニ於テ發表セラレタル沈降素ノ稀釋測定法ヲ以テ抗「ワクチン」家兔免疫血清ヲ測定シ、沈降素測定ニ至適ナル抗原濃度及ビ其ノ濃度ニ於ケル沈降素價ヲ決定シ得テ幾ラカ級上ノ問題解決ノ曙光ヲ得タルガ如キ感アリ。同時ニ又抗毒素產生狀態ヲ檢シ、Sternberg²⁴⁾、Béclère²⁵⁾、Camus²⁶⁾、Teissier¹⁰⁾、藤井²⁷⁾、Schneider²⁸⁾、米澤²⁹⁾、大河内³⁰⁾、Minges³¹⁾、Gordon¹¹⁾等ノ實驗ヲ確證シ得タルノミナラズ沈降素價トノ密接ナル關係アル事ヲモ知ルヲ得タリト信ズ。而シテ前述ノ如ク靜脈免疫家兔血清ニ於テハ沈降素、補體結合性抗體及ビ抗毒素等ノ3抗體ノ相互關係ハ分明シタルガ彼ノ局所免疫ニヨル場合ノ血清中ノ免疫體ニ就テモ更ニ追及セリ。

即チ野口³²⁾、城井、島谷、笠井³³⁾、大田原³⁴⁾等ノ方法ヲ用ヒ、「ワクチン」免疫ニ於テ最モ難事トセル偶發感染ノ豫防ニ對シテ絕對的安全ナル點及ビ牛痘毒ニ對シテ特種培養基ノ如キ家兔家兔丸ニ接種ヲ行ヒ該家兔血清ニ就テ「ワクチン」ニ對スル抗體ノミナラズ大城³⁵⁾發表セル自家家兔丸沈降素ヲ同時ニ證明シ、兩者ノ因果關係ニ於テ誠ニ興味アル事實ヲ證明セリ。以下章ヲ追テ詳述セン。

第2章 實驗材料及ビ實驗方法

第1節 實驗材料

實驗動物トシテハ2000g内外ノ成熟家兔ヲ用ヒ、
家兔丸接種試驗ニ用ヒルモノハ特ニ頑健ナル雄家兔ヲ
選ビタリ。

痘苗ハ東京帝國大學傳染病研究所製ノ發賣ニ係ル
モノニシテ包裝後20日ヲ出デザルモノノミヲ用ヒ
タリ。

第2節 實驗方法

第1項 免疫方法

1) 靜脈内注射ニ對シテ前記痘苗ヲ滅菌生理的食
鹽水ヲ以テ10倍ニ稀釋シ、之ヲ56°C30分間重湯煎
ニテ非働性トナシ、遠心スルコトナク其ノ儘ノ液ヲ
初回ハ0.3cc位ヨリ初メ4—5日ノ間隔ヲ以テ次第ニ
増量シツツ5—6回ノ注射ヲ行ヒ注射量モ1回1cc
ニ及ブ。而シテ最後ノ注射ヨリ5—6日ノ後、頸動脈
ヨリ全採血シテ血清ヲ分離シ、之ヲ56°C30分間加

温非働性トナシタル後、石炭酸ヲ加フル事ナク氷室
ニ貯ヘ免疫學的檢査ニ供ス。

2) 家兔丸接種試驗

痘苗ヲ以テ家兔丸丸ニ接種センニハ、滅菌生理的
食鹽水ヲ以テ10倍ニ稀釋セル痘苗ヲ非働性ニスル
コトナク、滅菌注射器ヲ以テ其ノ0.5ccヲ採リ、他方
家兔丸皮膚ノ毛ヲ可及的短截シ然ル後沃度丁鬚ヲ

以テ該表面ニ塗布シ、前記注射器ヲ以テ鞏丸長軸ニ沿ヒテ深く針ヲ挿入シ針ヲ抜キツツ注射液ヲ注入

ス。蓋シ此際注射針ヲ以テ鞏丸實質ヲ或程度毀損セシムルコトハ牛痘接種ヲ容易ナラシムル操作タリ。

第 2 項 沈降反應検査法

沈降反應検査ハ前述ノ如ク「ワクチン」免疫血清ニ對シテナサルモノト、自家鞏丸沈降素ニ對シテナサルモノトノ 2 アリ。從ツテ反應用抗原トシテ用ヒラルモノモ次ノ如ク 2 種類ニ區別セラル。

1) 反應原製法

イ) 痘苗ヲ反應原トシテ用ヒル場合ニハ痘苗ヲ瑪瑙乳鉢ニテ充分研磨シツツ 10 倍量ノ生理的食鹽水ニ浮遊セシメ之ヲ 2 時間解卵器内ニ靜置シタル後之ヲ氷室内ニ移シ翌朝取出シテ遠心器ニカケ (1 分間 4000 廻轉ヲ 30 分間) 其ノ上清液ヲ取りテ使用ス。此上清ハ肉眼的ニ見テ大ナル浮遊物ハ認めザルモ稍々白色ヲ呈シタル透明ナル液體ナリ。其ノ蛋白含有量ヲ硝酸法ニ仍ツテ檢スルニ此液本來ノ白色ガ牛血清 1/5000 稀釋倍程度ノ濁濁ニ相當セルト、又硝酸注加後直ニ白濁ヲ生ゼザル等ノ爲メニ數時間室溫ニ放置シテ白濁充分生ジタル後ニ比色判定スルニ牛痘苗 10 倍稀釋液ヲ前記ノ如ク遠心シテ得タル上清液ハ牛血清 1:50 稀釋ニ近キヲ以テ反應原トシテ使用ノ際ハ豫メ 1:50 稀釋ノソレニ相當スル様製スルノ要アリ。又痘苗反應原製法ノ別法トシテ Gasagrandi¹⁴⁾ 氏法即チ Chamberlaud-Filter ヲ用フル代リニ Neue Seitz-Filter デ濾過シテ得タル無色透明液體ヲモ併用シテ前記非濾過性ノモノト比較シタリ。此濾液ノ蛋白含有量ハ牛血清ノ夫ノ 1:1000 以下ナリキ。

ロ) 牛血清 反應原トシテ痘苗ヲ用フル際ニ對照トシテ牛淋巴ノ代リニ採取上ノ便宜ヨリ牛血清ヲ使用シタリ。

ハ) 自家鞏丸抗体ニ對スル反應原

沈降反應用抗原トシテハ、大城氏ニ倣ヒテ鞏丸末 0.1g ヲ 0.5% ノ割ニ石炭酸ヲ加ヘタル生理的食鹽水ヲ少量宛加ヘ乳鉢ヲ以テ能ク研磨シツツ食鹽水ノ全量ヲ 5 cc ニ達スル迄追加シ時々振盪シツツ 24 時間

氷室内ニ置キ鞏丸成分ヲ充分滲出セシメ、次イデ強遠心シテ其ノ上清ヲ採リ Neue Seitz-Filter ヲ以テ徐々ニ濾過スル時ハ極メテ僅ニ褐色ヲ帶ビタル澄明ナル液ヲ得、之ヲ「ズルフォサリチール」酸法及ピロ酸黃血鹽法ニヨリ正常家兔血清ト比色試験ヲ行ヒ、其ノ蛋白含有量ヲ檢査スルニ、蛋白含有量ハ殆ド毎常略ボ一定シ家兔血清ノ 1/45—1/50 ニ相當ス。仍ツテ必要ニヨリテ之ニ前記食鹽水ヲ附加シテ蛋白含有量 1/50 トセルモノヲ反應用抗原ノ原液トセリ。此抗原原液ハ滅菌試験管ニ容レテ密栓シ氷塊ヲ入レタル魔法瓶中ニ收メ氷室内ニ保存ス。而シテ出來得ル限り新鮮ナル抗原ヲ用フル事ニ努メタルヲ以テ調製後 3 日以上ヲ經過セルモノヲ用ヒタル事ナシ。

2) 沈降反應検査法

イ) 「ウーレンフト」氏法

即チ免疫血清ノ原液ヲ用ヒ之ニ遞降の稀釋セル所要抗原ヲ重層スル方法ニシテ 2 時間以内ニ反應シ得ル抗原ノ最高稀釋度ヲ以テ沈降素價トナス。然レ共之ハ從來屢々發表セル如ク免疫血清ノ沈降素量ヲ表スモノニ非ズ其ノ免疫血清ノ反應シ得ル最少抗原量ヲ表スニ過ギザルモノナリ。

ロ) 緒方氏稀釋沈降素測定法

即チ 1% 「アラビアゴム」溶液ヲ以テ免疫血清ヲ遞降のニ稀釋シ之ニ遞降のニ生理的食鹽水ヲ以テ稀釋セル反應抗原ヲ重層シ、抗原ノ或稀釋度ニ於テ免疫血清ガ最モヨク反應スル時其ノ時ノ免疫血清ノ最高稀釋度ヲ稀釋沈降素價ト稱シ、斯ル至適濃度ノ抗原稀釋度ヲ結合帶ト稱ス。此沈降素價ガ眞ノ沈降素量ヲ表スルモノナルコトハ明カナリ。

成績判定法ハ 15 分以内ニ白輪ノ生ジタルヲ (III), 30 分以内ヲ (II), 1 時間以内ヲ (+), 2 時間以内ヲ (+), ソレ以後ハ (-) ヲ以テ表セリ。

第3項 補體結合反應検査法

溶血系統トシテハ2.5% 山羊血球浮游液及ビ抗山羊血球家兎溶血素ノ溶血價ノ2倍溶液及ビ補體價ノ2倍ヲ有スル補體溶液ノ3者ヲ用フ。而シテ補體結合試験ニ在リテモ前記沈降反應ノ場合ト術式ハ殆ド同様ニシテ反應原及ビ免疫血清ヲ生理的食鹽水ヲ以テ夫々遞降的ニ稀釋シ然ル後兩者ノ0.5cc宛ヲ以テ稀釋沈降反應法ニ於ケルガ如キ組合セヲ作り之ニ補體、山羊血球浮游液及ビ溶血素ヲ夫々0.5cc宛加ヘテ試験ヲ行フ。成績判定ハ抗原、補體及ビ免疫血清

ヲ37°Cニ1時間感作後溶血系統ヲ加ヘ再ビ37°Cニ2時間作用セシメタル後、取り出シテ觀察シ溶血現象起ラザルヲ陽性トシテ(+), 溶血現象起レルヲ陰性トシテ(-)ニ表セリ。其ノ移行型ハ(±)ニ表ス。而シテ「ワクチン」ヲ抗原トスル場合ニ其ノ濃厚液ニ於テハ抗補體作用著明ナル事アリ。斯ル際ハ勿論對照試験ヲ置キテ眞ノ意味ノ補體結合作用ト區別スルコト大切ナリ。

第4項 抗毒素検査法

「ワクチン」免疫血清ノ抗毒素產生ノ有無ヲ檢セントシテ次ノ如キ方法ヲ採用シタリ。即チ豫メ健康ナル雄家兎ヲ非働性抗「ワクチン」家兎免疫血清ヲ以テ被働的ニ感作シ置キ、潜伏期24時間ヲ經タル後、該家兎辜丸ニ痘苗ノ一定量(1000倍稀釋液1cc)ヲ接

種シ、其ノ接種後ノ辜丸竝ニ全身症狀ヲ對照試験トシテ健康家兎血清ノ同量ヲ以テ感作シタル家兎ニ於ケル辜丸接種後ノ症狀トヲ比較シテ成績判定ヲ行ヘリ。而シテ接種後局所ニ何等ノ變化ヲ認メザルモノヲ以テ完全陰性トナシタリ。

第3章 實驗成績

第1節 抗「ワクチン」家兎免疫血清ニ就テ

豫メ56°C 30分間加熱非働性トセル痘苗ヲ以テ家兎靜脈内ニ數回注射シテ得タル免疫血清ニ於テ主トシテ沈降反應及ビ補體結合反應ニ就キテ論ゼントス。

第1項 沈降反應

免疫血清ハ第1表及ビ第3表ニ示ス如クNr. 328及ビNr. 317ノ2種ニ就テ檢セリ。

検査方法ハ「ウーレンフート」氏法及ビ緒方氏稀釋法ヲ以テシ、反應原トシテハ痘苗ヲ浸出後遠心セル上清液ヲ用ヒ、又對照試験トシテ痘苗ヲ浸出後Seitz-Filterヲ以テ濾過セル濾液ヲ反應原トシテ用ヒタリ。

而シテ第1表及ビ第3表ニ示セル如ク「ウ」氏法ニテハ兩免疫血清ニ於テ何レモ1:100ノ沈降素價ヲ有スル共稀釋法ヲ觀ル時ハ兩者ノ結合帶モ極メテ明瞭ニ現レ、沈降素價ハNr. 328血清ニ於テハ1:256、Nr. 317ハ1:512ノ如キ著明ナル差異アリ。即チ茲ニ於テモ明瞭ナルガ如ク「ウ」氏沈降素價ハ免疫血清ノ免疫體量ヲ示スモノニ非ズ、稀釋法ニ仍リテ初メテ之ヲ知り得ルナリ。

第 1 表 家兔免疫血清 (A) ノ沈降反應及ビ補體結合反應 家兔 Nr. 328

反應別		抗體稀釋											
		1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256	1: 512		
沈降反應	痘	1: 250	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 500	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 1000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	苗	1: 2500	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 5000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 10000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
補體結合反應	痘	1: 250	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1: 500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1: 1000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	苗	1: 2500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1: 5000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1: 10000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
沈降反應	牛血清	1: 25	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 50	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
		1: 100	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
		1: 250	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	牛血清	1: 500	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 1000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 2500	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		1: 5000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

第 2 表 抗「ワクチン」家兔免疫血清 (Nr. 328) ノ牛血清ヲ以テ吸收後ノ沈降反應及ビ補體結合反應

反應別		抗體稀釋							
		1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32		
沈降反應	痘	1: 250	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
		1: 500	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	苗	1: 1000	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
		1: 2500	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
補體結合反應	痘	1: 250	+	+	+	+	+	+	
		1: 500	+	+	+	+	+	+	
	苗	1: 1000	+	+	+	+	+	+	
		1: 2500	+	+	+	+	+	+	
沈降反應	牛血清	1: 50	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
		1: 100	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
		1: 250	卅	卅	卅	卅	卅	卅	

備考 免疫血清 1cc = 牛血清 10 倍稀釋液 0.3cc ヲ加フ.

然ルニ前記ノ沈降反應ハ痘苗ヲ1種ノ抗原トシテ見タル時ノ反應ニシテ、事實ハ然ラズシテ此痘苗ハ牛痘症ノ淋巴液ヨリ製シタルモノナルヲ以テ眞ノ意味ニ於ケル牛痘毒ノミナラズ牛淋巴液ガ多量ニ存在スル理ナリ。今斯ノ如キ抗原ヲ以テ製シタル沈降素中ニハ之等各抗原ノ各々ニ對スル沈降素ガ含有セラル可シ。仍ツテ余ハ免疫體中ニ果シテ牛淋巴ニ對スル沈降素ガ幾何ノ割ニテ共存セルヤヲ檢セントシタリ。而シテ抗原トシテ牛淋巴ヲ使用スルハ理想的ナルモ、コハ余等ノ手中ニ得ル事能ハザリシガ故ニ便宜上牛血清ヲ以テ之ガ代用トナシタリ。其ノ反應率ハ第1表ニ於テハ痘苗ヲ抗原トシタル場合ノ稀釋沈降素價ノ1/16即1:16、第3表ニ於テハ1/4即1:128ヲ示セリ。

然ラバ最後ノ目的トシテ斯カル共在セル沈降素ヲバ之ニ該當セル抗原ヲ作用セシメテ吸收シ免疫血清中ヨリ除外シテ所謂眞ノ意味ノ牛痘毒ニ對スル沈降素ノミヲ得ンガ爲メニ第2表及ビ第4表ニ示セル如ク免疫血清1ccニ對シテ牛血清ヲ種々ナル分量ニ添加シテ之ヲ2時間37°Cニ置キタル後氷室ニ翌日迄靜置、翌朝遠心シ、其ノ上清液ニ就テ檢シタルニ其ノ成績ハ第5表ニ觀ル如ク添加セル牛血清ノ分量ニ仍ツテ勿論沈降素ノ吸收程度モ異リ、一般ニ稀釋沈降反應ノ原理ニ仍リ、所謂結合帶量ニ近キ抗原量ヲ添加スル程吸收率良好ニ向ヒ結合帶量ニ相當スルモノニ於テ最も良好ナル結果ヲ示ス。即 Nr. 238ニ於テハ10倍稀釋牛血清ヲ0.3cc添加シタル時、Nr. 317ニ於テハ0.4ccヲ混加シタル時ニ該抗原ニ相當スル沈降素ハ完全ニ吸收セラル。而シテ此際痘苗ニ對スル沈降素價モ吸收原ノ増加ニツレテ低下シ來ルモ其ノ低下ノ率ハ吸收原ニ對スル沈降素價ノ低下率ニ比シ遙ニ低キハ表ノ示ス所ナリ。

第5表 抗「ワクチン」家兎免疫血清沈降素ノ牛血清ニヨル吸收試験

血清番號	原血清沈降素價				添加セル牛血清量(10倍原血清)	上清液沈降素價				吸收前後ノ沈降素價比較			
	痘苗		牛血清			痘苗		牛血清		痘苗		牛血清	
	U.氏法	稀釋法	U.氏法	稀釋法		U.氏法	稀釋法	U.氏法	稀釋法	U.氏法	稀釋法	U.氏法	稀釋法
Nr. 328	1:100	1:256 (結合帶 1:500)	1:1,000	1:16 (結合帶 1:100)	0.1	1:100	1:128	1:250	1:4	1/1	1/2	1/4	1/4
					0.2	1:100	1:64	1:100	1:2	1/1	1/4	1/10	1/8
					0.3	1:50	1:32	—	—	1/2	1/8	/	/
					0.4	1:50	1:16	—	—	1/2	1/16	/	/
Nr. 317	1:100	1:512 (結合帶 1:500)	1:2,500	1:128 (結合帶 1:100)	0.1	1:100	1:256	1:1000	1:64	1/1	1/2	1/2.5	1/2
					0.2	1:100	1:256	1:500	1:16	1/1	1/2	1/5	1/8
					0.3	1:50	1:128	1:100	1:4	1/2	1/4	1/25	1/32
					0.4	1:50	1:64	—	—	1/2	1/8	/	/

第 6 表 痘苗反應原ノ製法ノ差異ニヨル沈降素質ノ變化

抗原種類	抗体稀釋		抗原稀釋										
	1	2	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
浸出後遠心セル上清	1: 250	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 1000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 2500	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 5000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 10000	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
セルモノ 浸出後濾過	1: 1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 2.5	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 5	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1: 10	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

第 2 項 補體結合反應

前項ニ述ベタル沈降反應ニヨツテ吾人ハ抗痘苗家兔免疫血清中ニハ該抗原ニ對スル沈降素ガ確實ニ存在スルコトヲ證明シ得タルヲ以テ、更ニ之ヲ補體結合反應ヲ以テ層鞏固タルモノトセンコトヲ期シタリ。即實驗方法ニ述ベタルガ如キ術式ニ仍リテ行ヘル成績ハ第 1—第 4 表ニ示セル如ク補體結合反應陽性ハ牛血清ニヨル吸收試驗ノ前後ノ何レニ於テモ沈降反應ト殆ド一致シタリ。

即之ニ仍ツテ見ルモ抗牛痘免疫血清中ニハ補體結合性抗體ノ存在スルコト確實ナル可シ。

第 3 項 痘苗反應原製法變法ニヨル沈降反應ノ變化

前章迄ニ述ベタル沈降反應検査法ハ何レモ痘苗浸出後之ヲ強遠心シテ其ノ上清ヲ反應原原液ト定メテ使用シタルガ今其ノ遠心ノ程度ヲ種々變化シタラバ如何ト云フニ遠心回數ヲ少クシテ上清液中ニ比較的大ナル浮游物ヲ認メ濁濁著シキ時ハ沈降反應觀察ニ不可能ナル事勿論ニシテ之ヲ強テ判定セントスレバ勢ヒ其處ニ種々ノ無理ヲ生ズベキ理ナリ。仍ツテ此際ニ於テ最モ合理的ナルハ可及的強遠心シテ少クトモ肉眼的ニ見得ルガ如キ浮游物ハ除去スルト同時ニ少クトモ幾分ノ白色ノ色調ハ許スモ濁濁無ク或程度ノ透明度ヲ保持セザル可ラズ仍ツテ余ハ少クトモ 1 分間 4000 廻轉以上ニシテ 30 分間強遠心シテ満足ナル反應原ヲ得タリ。コレ以上長時間ノ遠心ヲ行フモ沈降反應特ニ結合帶ノ上ニ影響ヲ來ス事ナカリキ。

余ハ更ニ Casagrandi¹⁴⁾ノ行ヘル如ク痘苗ヲ細菌濾過器ヲ以テ濾過シ其ノ濾液ヲ以テ反應原トセント企テタリ。即痘苗ヲ生理的食鹽水ヲ以テ一定度ニ稀釋後一晝夜浸セルモノヲ Seitz-Filter ヲ以テ濾過シ其ノ濾液ヲ原液トシテ抗「ワクチン」家兔免疫血清ニ就テ沈降反應ヲ檢シタルニ第 7 表ニ示セル如キ結果ヲ得タリ。即之ヲ詳述スレバ普通ノ反應原ヲ用ヒタル場合ニハ沈

降反應ハ沈降素價 1:512 ニシテ抗原ノ結合帶ハ 1:500 ヲ示セリ。然ルニ濾液ヲ反應原トセル場合ニハ表ニ見ル如ク結合帶ヲシキ所モ見當ラズ沈降素價ハ 1:64 トナリテ前回ノ場合ト甚ダシキ差異アリ。然ルニ之ヲ能ク觀察スル時ハ此反應ハ前回ノ沈降反應ノ抗原稀釋 1:1000 以下ノ反應ト全然相等シキヲ見ル可シ。宜ナリ、此濾液ニヨル反應原ノ蛋白含有量ヲ比較スルニ牛血清ノ夫レニ比シ 1/1000 以下ニシテ硝酸法ニヨリテハ判定シ難キカ或ハ辛ウジテ濁濁ヲ呈スルガ如ク見ユ。即斯ノ如キ反應原ノ使用ニヨツテ生ズル沈降反應ハ反應原ノ結合帶以上ニ高稀釋セラレタルモノヲ用フルニ等シク、從ツテ結合帶モ觀察セラレズ、沈降素價モ低下スルナリ。即 Casagrandi ノ言ヘル如ク Chamberland-Filter ヲ以テ濾過セル痘苗濾液ヲ以テシテ沈降反應ニ陰性ヲ得タリトスルモノハ恐ラク上記ノ如キ抗原性ニ非常ニ乏シクナリタルモノヲ用ヒタル結果普通認メ得ベカリシ反應ヲモ恐ラクハ觀過シタルモノナル可シト思惟ス。

第 2 節 痘苗ノ家兎睾丸接種試験

家兎睾丸ガ痘苗ノ接種ニ仍リテ牛痘毒ノ純培養ニ適セル好適培地タル事ハ既ニ述ベタリ。余ハ痘苗ノ睾丸接種ニ仍リテ人工の家兎牛痘症ヲ得タル後該家兎血清中ニ於ケル牛痘症ニ仍ル變化竝ニ睾丸ニ牛痘症旺盛ヲ來セル際ニ其ノ病毒ニ仍ル睾丸實質ノ破壞機轉ニヨル産生物質ニヨル血液ノ免疫學的變化ヲ檢シ且又兩者ノ間ニ何等カノ因果關係存ステル非ズヤヲ明カニセントシタリ。

第 1 項 痘苗ノ家兎睾丸接種試験

痘苗ヲ無菌的生理的食鹽水ヲ以テ 100 倍ニ稀釋シ其ノ 1cc ヲ無菌的ニ家兎睾丸ニ注射スレバ其ノ翌日ヨリ體溫上昇ヲ來シ局所ノ腫脹發赤ヲ來シ陰囊容積ハ健常時ノ數倍ニ達ス。觸診スレバ睾丸實質ハ腫大硬結著明ニシテ緊張ス。而シテ之ヲ解剖學的ニ檢スル時ハ陰囊ハ浮腫肥厚シ莢膜ハ強度ニ癒着シ充血乃至出血甚ダシク暗赤色乃至紫色ヲ呈ス。又莢膜モ著シク肥厚シ充血出血シ陰囊及ビ睾丸ト癒着シタリ。

睾丸實質ノ變化ハ程度ニ仍ツテ色々ノ差アレ共、重症型ニアリテハ睾丸實質高度ニ腫大シ硬結頗ル硬固ニシテ浮腫ヲ來セリ。充血出血且又甚ダシク暗赤色ヲ呈シ所々ニ粟粒大乃至帽針頭大、灰白黃色ノ顆粒ヲ有ス。其ノ質脆弱ナリ。之ヲ詳細ニ觀察スル時ハ 3 型ニ分ツテ得ベシ。

1. 浮腫性出血型

浮腫出血著明ニシテ睾丸内到處出血竈ヲ見ル。健常睾丸組織ヲ認メズ。切斷スルニ多量ノ漿液ノ流出スルヲ見ル。是レ高度ナル浮腫ニ因スルモノナリ。腫大著明ナルモ著シク硬固脆弱ナラズ。灰白黃色ノ顆粒著明ナラズ。

2. 顆粒型

灰白黃色ノ粟粒大乃至帽針頭大ノ顆粒多數ニ存在シ充血高度ニシテ所々ニ小出血竈ヲ見ル。腫大ノ時ハ前者ノ如ク著明ナラズト雖モ硬固ニシテ質甚ダ脆弱ナリ。浮腫ハ前者ノ如ク著明ナ

ラス。

3. 混合型

浮腫性出血型ト顆粒型トノ中間ニ位スルモノナリ。

輕症型ハ單ニ1-2箇ノ灰白黃色顆粒ヲ有シ其ノ周圍ニ充血乃至出血ヲ呈シ腫大硬結共ニ著シカラズ。質又脆弱ナラズ。

第2項 抗「ワクチン」沈降素竝ニ抗睾丸沈降素產生狀態ノ比較

實驗的家兔睾丸牛痘症ニ於テ牛痘毒ガ睾丸局所ニ止ムル事ナク、直チニ家兔血液全般ニ證明セララルハ大田原ノ證明セル所ナルガ余ノ實驗ニ仍レバ該家兔血液中ニハ又牛痘苗ニ反應スル沈降素ガ證明セラレタリ。即其ノ成績ハ實驗家兔2例ニ就テ第7, 8, 9, 10ノ各表ニ示セルモノニシテ、其ノ中先ヅ第1例ニ就テ述ベン(第7表參照)。

實驗 其ノ1. Nr. 321 家兔ニ於ケル實驗

其ノ實驗成績ハ第7表ニ示セルモノニシテ抗「ワクチン」沈降素ノ出現ハ第8日目ニ始リ次デ

第7表 實驗的家兔睾丸牛痘症ニ於ケル睾丸ノ臨牀的變化ト抗「ワクチン」沈降素及ビ抗睾丸沈降素ノ經過比較 (其ノ1)

(Nr. 312 家兔 ♂ 體重 2300g)

經過 日數	臨 牀 的 症 狀		抗「ワクチン」沈降素						抗家兔睾丸沈降素							
	體溫	局 所 症 狀	結 合 帶	抗 體 稀 釋 度						結 合 帶	抗 體 稀 釋 度					
				1	2	4	8	16	32		1	2	4	8	16	32
1	37.0°C	兩側睾丸牛痘症血液接種	/	-	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-	-
2	38.6°C	陰囊浮腫充血、睾丸實質腫大、硬結	/	-	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-	-
4	39.1°C	陰囊浮腫充血、暗紫色、直徑約6cmノ不球形、睾丸實質硬結腫大著明緊張	/	-	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-	-
6	39.3°C	症狀全ク變リナシ	/	-	-	-	-	-	-	1:50	±	±	-	-	-	-
8	38.8°C	症狀全ク變リナシ	1:50	卍	卍	卍	+	-	-	1:50	卍	卍	+	+	-	-
10	38.4°C	陰囊浮腫稍々減退ノ微アリ	1:50	卍	卍	卍	卍	+	-	1:50	卍	卍	+	+	-	-
12	38.0°C	陰囊浮腫稍々減退ノ微アリ	1:50	卍	卍	卍	卍	+	-	1:50	卍	卍	+	+	±	-
14	38.0°C	浮腫一層減退	1:50	卍	卍	卍	卍	+	-	1:50	卍	卍	+	+	-	-
16	37.6°C	浮腫殆ド去リ稍々硬シ大サ2倍	1:50	卍	卍	卍	卍	+	-	1:50	卍	卍	+	+	-	-
18	37.2°C		1:50	卍	卍	卍	卍	+	-	1:50	卍	卍	+	+	-	-
20	37.1°C		1:50	卍	卍	卍	+	-	-	1:50	+	卍	+	-	-	-
22	37.0°C		1:50	卍	卍	+	-	-	-	1:50	-	+	-	-	-	-
24	37.0°C		1:50	±	±	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-	-
26	37.0°C		/	-	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-	-
28	37.0°C	睾丸ハ陰囊ト共ニ萎縮ニ傾ク	/	-	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-	-

第 8 表 實驗的家兎辜丸牛痘症ニ於ケル辜丸ノ臨牀的變化ト抗「ワクチン」沈降素及ビ抗辜丸沈降素ノ經過比較 (其ノ 2)
(Nr. 328 家兎 ♂ 體重 2100 g)

經過日數	臨 牀 的 症 狀		抗「ワクチン」沈降素					抗家兎辜丸沈降素						
	體溫	局 所 症 狀	結合帶	抗 體 稀 釋 度					結合帶	抗 體 稀 釋 度				
				1	2	4	8	16		1	2	4	8	16
4/IV 1	37.2°C	片側辜丸牛痘症血液接種	/	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-
2	38.5°C	片側陰囊浮腫充血, 辜丸實質腫大	/	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-
4	39.3°C	片側陰囊浮腫充血, 健康側陰囊トノ境界溝消失健康側陰囊ハ寄生性ニ附着シ該側辜丸ハ何等ノ病的變化ヲ認メズ	/	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-
6	39.3°C	症狀前回ト大差ナキガ如キモ健康側辜丸實質モ多少反射的ニ腫大セルヲ感ズ	1:100	++	+	-	-	-	1:50	-	+	-	-	-
8	39.1°C	症狀前回ト大差無シ	1:100	+++	++	+	-	-	1:50	+	++	+	-	-
10	38.8°C	症狀前回ト大差無シ	1:100	+++	+++	++	+	-	1:50	+++	+++	++	+	-
12	38.6°C	陰囊浮腫稍々消退セル感アリ健康側辜丸實質全ク舊狀ニ恢復ス	1:100	+++	+++	++	+	-	1:50	+++	+++	++	+	-
14	38.2°C	陰囊浮腫減退著明, 辜丸實質腫大モ幾分減退ス	1:100	+++	+++	++	+	-	1:50	+++	+++	++	+	-
16	37.8°C	陰囊浮腫殆ト全ク去ル, 辜丸實質腫大モ愈々減退ス	1:100	+++	+++	++	+	-	1:50	+++	+++	++	+	-
18	37.4°C	陰囊ノ大サ健康時ノ尙ホ2-3倍ヲトラス	1:100	+++	++	+	-	-	1:50	++	++	+	+	-
20	37.3°C		1:100	+++	++	+	-	-	1:50	+	++	+	-	-
22	37.2°C		1:100	++	+	-	-	-	1:50	+	+	-	-	-
24	37.1°C		1:100	+	±	-	-	-	1:50	-	±	-	-	-
26	37.1°C		/	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-
28	37.1°C	辜丸ハ陰囊ト共ニ萎縮ニ傾ク	/	-	-	-	-	-	/	-	-	-	-	-

第 9 表 辜丸牛痘症家兎血清ニ於ケル抗「ワクチン」沈降素及ビ補體結合反應

反應別	抗體稀釋 抗原稀釋	抗體稀釋					
		1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32
沈降反應	1: 50	+++	+++	++	++	+	-
	1: 100	+++	+++	++	+	-	-
	1: 200	++	-	-	-	-	-
	1: 400	-	-	-	-	-	-
補體結合反應	1: 50	+	+	+	+	+	-
	1: 100	+	+	+	-	-	-
	1: 200	+	+	-	-	-	-
	1: 400	-	-	-	-	-	-

第 10 表 畢丸牛痘症家兔血清ニ於ケル抗家兔畢丸沈降素及ビ補體結合反應

反應別	抗體稀釋	1: 1	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32
	抗原稀釋						
沈降反應	1: 50	卅	卅	卅	卅	—	—
	1: 100	卅	卅	卅	卅	±	—
	1: 250	卅	+	—	—	—	—
	1: 500	—	—	—	—	—	—
補體結合反應	1: 50	+	+	+	+	—	—
	1: 100	+	+	+	+	—	—
	1: 250	+	+	—	—	—	—
	1: 500	—	—	—	—	—	—

10日頃ヨリ最高ニ達シテ結合帶ニ於テ沈降素價ハ1:16ヲ示セリ。斯カル状態ハ約18日頃迄繼續セラレ夫レヨリ沈降素價ハ漸ク低下ノ傾向ヲ示シ第20日目ニハ1:8トナリテ半減シ、次デ第22日目ニハ1:4トナリテ更ニ又半減シ第24日目ニハ1:2ガ(±)ヲ示シ第26日目ニハ沈降反應全ク陰性トナル。

而シテ此沈降反應ニ於ケル抗原結合帶ト沈降素價ノ關係ハ第9表ニ示セルモノニシテ結合帶トシテ現ルルハ抗原原液即10倍稀釋液ニシテコレ以上ノ濃厚抗原ヲ使用スル時ハ反應原トシテ免疫血清上ニ重層シ得ザルヲ以テ實際ニ於テハ或ハヨリ以上濃厚部ニ結合帶ノ存スルヤモ知レズ。サレド余ノ使用シタル痘苗抗原ヲ以テシテハ其ノ點ヲ明瞭ニ判明セシメ得ザリシヲ以テ實驗上ニハ反應原原液即痘苗10倍浸出液ヲ以テ結合帶ト見做シタリ。

勿論之ハ最強反應ガ反應原原液ニ現レタル時ノ事ニシテ反應原原液ノ稀釋セル部位ニ最強反應ガ移行セル場合ハ普通ノ稀釋沈降反應ニ於ケルト同一ニシテ其ノ稀釋度ヲ以テ結合帶トナスナリ。

免疫血清ノ補體結合反應ハ同ジク第9表ニ示スモノニシテ結合帶ト補體結合價ハ沈降反應ノ夫レニ一致ス。

次デ此同一免疫血清ニ就テ抗畢丸沈降素ヲ檢スルニ第7表ニ見ルガ如ク第6日目頃ヨリ沈降素ノ出現ガ始リ次ニ増量シテ第8日目ニハ1:8迄陽性、第12日目ニハ1:16(±)ヲ示スニ至ル。斯クシテ之ガ最高トナリテ漸次沈降素價ハ低下シ始ム。第14日、第16日及ビ第18日頃迄ハ餘リ著明ナル減少ヲ見ザルモ第20日、第22日ニ至リテ急ニ減少シテ第24日ニハ遂ニ全ク消失スルニ至レリ。

而シテ其ノ稀釋沈降反應ニ就テ今少シク詳シク述ベンニ第10表ニ明カナル如ク結合帶ハ畢丸反應原原液ノ2倍稀釋即血清蛋白量ヨリ言ヘバ1:100ノ稀釋度ナリ。沈降素價ハ1:16ヲ示ス。之ガ補體結合反應ヲ檢スルニ其ノ成績殆ド當該稀釋沈降反應ニ一致セルヲ認メタリ。

今上記ノ兩種沈降反應ト當該家兔ニ於ケル臨牀的症狀ヲ比較スレバ次ノ如シ。

即家兔舉丸ニ痘瘡毒接種後翌日ヨリ體溫昇昂著明ナルト同時ニ接種陰囊ニ於ケル局所的變化ハ頗ル顯著ニシテ浮腫著明ニシテ充血シ暗紫色ヲ呈シ觸診スルニ舉丸實驗ハ大イニ腫大硬結シタリ。斯ノ如キ變化ハ日ト共ニ增強シ來ルモ血清中ニハ未ダ兩種ノ沈降素現レ來ラズ。然ルニ舉丸症狀漸ク最高ニ達シタルガ如ク覺ユル第6乃至第7日頃ヨリ沈降素ノ出現始メテ認メラレタリ。而シテ第10日頃ヨリ臨牀的ニハ症狀稍々減退ノ兆ヲ示スルニ至リテ沈降素ノ產生ハ愈々著シクナリ、斯カル狀態ハ舉丸ノ浮腫モ殆ド去リ體溫モ尋常近ク恢復シタル時ニ於テモ尙ホ暫時持續セラレタリ。

即臨牀的症狀ト沈降反應ハ大體ニ於テハ相一致シタルモ之ヲ詳シク論ズレバ、沈降素ノ出現ハ臨牀的症狀ノ始マルヨリハ少シク表レ又一見症狀治癒セル如ク見ユル時期ニモ沈降素ハ尙ホ暫時存在ス。然レ共概シテ言ヘバ此場合ノ沈降素ノ出現及ビ消失ノ模様ハ他ノ種ノ一般的沈降素ノ產生及ビ消失狀態ト大差ナキガ如シ。

又抗「ワクチン」沈降素及ビ抗舉丸沈降素ノ兩者ノ經過ヲ比較スルニ大差ナキモ此實驗例ニ於テハ抗舉丸沈降素ノ方ガ抗「ワクチン」沈降素ヨリモ幾分早く出現シ又幾分早く消失セルヲ認メタリ。

實驗 其ノ2 Nr. 328 家兔ニ於ケル實驗

本實驗例ハ第8表ニ示スモノニシテ抗「ワクチン」沈降素及ビ抗舉丸沈降素ノ產生狀態ハ大體ニ於テ前表實驗例ノモノニ於ケルト同様ナリ。只之ヲ詳細ニ觀察スレバ本實驗例ニ於テハ兩種沈降素ノ出現時期ト消失時期トガ殆ド時ヲ同ジクセルコト之ナリ。即兩種沈降素ハ第6日目ニ始メテ發現シ、第10日目ニ於テ最高ニ達シ第16日頃ヨリ次第ニ遞下ノ傾向ヲタドリテ第24日ニ最後ニ痕跡ヲ止メ其ノ次回ノ血液中ヨリ全然消失シテ證明スル能ハザルナリ。

而シテ尙ホ此處ニ注意ス可キハ抗「ワクチン」沈降素ノ結合帶ガ1:20ナルコトナリ。即痘瘡ヲ靜脈内ニ頻回注射シテ免疫シタル抗「ワクチン」家兔免疫血清ニ於テハ結合帶ハ概シテ高ク1:500ヲ示セルモ舉丸接種後ニ血清中ニ產生セラレタル抗「ワクチン」沈降素ハ結合帶ガ頗ル低キコトニシテ痘瘡反應原原液或ハ其ノ2倍液ヲ使用シテ辛ウジテ其ノ結合帶ヲ證明シ得ルナリ。

本例ニ於ケル臨牀的症狀ハ潛伏期ノ短キコト發病期、病期間及ビ治癒期等前例ト大同小異ニシテ特筆ス可キ點モ見當ラズ。

第3節 抗「ワクチン」家兔免疫血清ノ抗毒性試驗

前章既述セル如ク豫メ56°C 30分間加熱非働性トセル痘瘡ヲ以テ家兔ヲ靜脈内ヨリ頻回免疫シテ得タル抗「ワクチン」免疫血清ガ牛痘症ノ豫防ニ對シテ如何程效果的ナルヤヲ知ラントシテ

次ノ實驗ヲ行ヘリ。

即先ヅ該免疫血清ヲ使用セントスルニ先チ其ノ沈降素價ヲ測定シ置キ免疫血清ノ注射單位ヲ沈降素單位ヲ標準トシテ決定ス。

實驗方法ハ健康ナル雄家兔靜脈内ニ上記ノ免疫血清ノ一定量ヲ注射シ置キ一定時間ノ後痘苗ノ一定量ヲ當該家兔辜丸ニ接種シ其ノ接種試驗ノ陽性乃至ハ陰性ヲ觀察ス。而シテ最初ノ感作ニ用ヒシ免疫血清ノ量ヲ色々増減シ又接種セル痘苗量モ種々變化シテ試ミ、又對照試驗トシテ健康家兔血清ノ同量ヲ他ノ健康雄家兔ニ注射シ之ニモ一定量ノ痘苗ヲ接種シテ其ノ健康血清ノ豫防力ガ免疫血清ニ比較シテ如何ナル程度ノモノナリヤヲ檢セントシタリ。

實驗成績ハ第 11 表ニ示セル如クニシテ Nr. 390 家兔ニ於テハ稀釋沈降素價 1:512 ノモノ 10ccヲ靜脈内ニ注射シ、24 時間後ノ血液内沈降素價 1:30 ヲ示ス。之ニ牛痘苗ノ生理的食鹽水 1000 倍稀釋液 1cc ヲ辜丸ノ一方ニ無菌的ニ注射シ、更ニ 24 時間後ノ該辜丸ニ於ケル臨牀的變化ヲ觀察スルニ體溫ノ昇昂ハ殆ド認メラレズ。又陰囊局所症狀ハ殆ド認メズ。即牛痘苗接種試驗ハ陰性ニ終リタルヲ證スルモノナリ。

第 11 表 抗牛痘家兔免疫血清ノ被働性感作ニヨル免疫效價比較試驗

家兔番號	家兔體重 (g)	感 作 血 清			血清沈降素價	再注射量	臨 牀 的 症 狀 間 (再 注 射 後 24 時 間)	
		總量 (cc)	稀釋沈降素價	結合帶			體溫	局 所 症 狀
390	2000	10	1:512	1:500	1:30	痘苗 1:10000 稀釋液 1cc	37.8°C	陰囊浮腫充血殆ド認メズ。 辜丸實質腫大セズ。
391	1950	10	健常血清	/	/	◇	39.1°C	陰囊浮腫充血著明。 辜丸實質腫大硬結。
392	2100	6	1:512	1:500	1:20	◇	38.3°C	陰囊浮腫充血程度ナレド認ム。 辜丸實質モ多少腫大。
393	2050	6	健常血清	/	/	◇	38.5°C	陰囊浮腫充血著明。 辜丸實質腫大硬結。
394	1860	3	1:512	1:500	1:10	◇	38.0°C	陰囊浮腫充血著明。 辜丸實質腫大硬結。
395	1950	3	健常血清	/	/	◇	38.9°C	陰囊浮腫充血著明。 辜丸實質腫大硬結。
396	2000	10	1:256	1:500	1:20	◇	38.4°C	陰囊浮腫充血僅ニ認メラル。 辜丸實質ニ變化ナシ。
397	2200	10	健常血清	/	/	◇	40.1°C	陰囊浮腫充血著明。 辜丸實質腫大硬結。
398	2100	5	1:256	1:500	1:10	◇	38.9°C	陰囊浮腫充血著明。 辜丸實質腫大硬結。
399	2000	5	健常血清	/	-	◇	38.9°C	陰囊浮腫充血著明。 辜丸實質腫大硬結。

次ニ此對照試驗トシテ Nr. 391 家兔ニハ健常家兔血清ノ 10 cc ヲ靜脈内ニ注射シ置キ 24 時間後 1000 倍稀釋痘苗 1 cc ヲ畢丸ニ注射シ、更ニ 24 時間後ノ局所症狀ヲ觀察スルニ陰囊ハ著明ニ浮腫充血ヲ來シ健常時畢丸ノ數倍大ナリ。之ヲ觸診スルニ畢丸實質腫大硬結明カニシテ牛痘接種ノ陽性ナル事一見シテ確實ナリ。

次デ同一免疫血清ヲ用ヒテ、其ノ注射量ヲ 6 cc 及ビ 3 cc 等ニ減ジ、從ツテ 24 時間後ノ血液内沈降素量モ稀釋沈降素價 1:20 及ビ 1:10 等トナル。之ニ前回ト同量ノ牛痘苗稀釋液ヲ夫々家兔畢丸ニ接種シテ更ニ 24 時間後ノ成績ヲ判定スルニ免疫血清 6 cc 注射ノモノニアリテハ接種成績弱陽性、3 cc 注射ノモノニアリテハ強陽性ナリ。而シテ對照試驗トシテ夫々同量ノ健常家兔血清ヲ以テ靜脈内ニ注射シ置キタルモノハ接種成績何レモ強陽性ナリ。

次ニ免疫血清ヲ變ヘテ稀釋沈降素價 1:256 ノモノヲ 10 cc ヲ以テ感作セルモノ 24 時間後ノ血液中ノ沈降素價ハ 1:20 ヲ示セルガ同様ノ實驗ニ於テ接種試験ハ陰性ニ、又對照試験ニ於テハ強陽性ヲ示セリ。

又此免疫血清ヲ 5 cc 注射セルモノ、24 時間後ノ血液中ノ沈降素價ハ 1:10 ヲ示シ接種試験ハ強陽性ナリ。

即以上ノ實驗ヲ通覽スルニ免疫血清ノ牛痘症豫防效價ハ注射セル免疫血清ノ免疫價ニヨルモノニシテ假ニ沈降素量ヲ以テ標示スレバ、稀釋沈降素價 1:20 以上ニ於テハ豫防效價殆ド確實ナルガ如シ。夫レ以下ニ於テハ豫防效價ハ認ムルヲ得ザリキ。

對照試験トシテ健康血清ヲ注射セルモノノ豫防效價ハ全く證明シ得ザリキ。

第 4 章 總 括

痘瘡病原體ハ今尙ホ不明ナルモ、抗「ワクチン」免疫血清ニ關スル研究ニ於テハ補體結合性抗體、沈降反應ノ證明及ビ抗毒性抗體ノ存スルコトハ、議論アレ共大體ニ於テ既ニ一般ニ確認セラレタル觀アリ。余モ亦之等 3 種ニ就テ從來ノ不備ヲ補ヒツツ檢索シ興味アル結果ヲ得タルヲ以テ次ニ之ヲ總括的ニ略述セントス。

1) 「ワクチン」免疫血清ニ關スル研究ニ於テハ先ヅ神體結合反應ヲ論ゼンニ從來ノ諸學者ノ意見ヲ徵スレバ陽性ナリト稱スルモノ、陰性ナリト稱スルモノ相半バスルガ如キモ余ノ實驗ニ仍レバ斯カル議論ノ生ズル根本ノ理由ハ其ノ反應原ノ製法及ビ測定法ノ如何ニヨルモノナルガ如シ。

即反應原トシテ痘苗ヨリ製造スル際ニ細菌濾過器ヲ以テ濾過シタル濾液ヲ使用スル時ハ反應原ノ抗原性ノ減弱著明ニシテ補體結合反應ハ從ツテ減弱ス。反之痘苗ヲ遠心沈澱シテ其ノ上清液ヲ使用スル場合ニハ勿論其ノ遠心回數モ反應原ニ幾分影響ヲ及ボス可ク、遠心回數ヲ略ボ一定ニシテ得タル反應ニ於テハ後述スル沈降反應ニ於ケルト同様一定シタル成績ヲ得ベシ。補體結合反應ノ術式ニ至リテハ後述スル稀釋沈降反應試験法ト同一様式ヲ用ヒタルニ補體結合反應

ノ成績ハ當該免疫血清ノ稀釋沈降反應ト略ボ同一ナル結果ヲ得タリキ。

2) 沈降反應 余ノ用ヒタル緒方氏稀釋沈降價測定法ニヨルニ前述補體結合反應ニ於ケルト同様反應原ノ製法ニ仍ツテ多少ノ成績ヲ變化スルモノノ重ナル變化ハ反應原ノ濃度ニ仍ツテ沈降反應ニ於ケル結合帶ノ移動ヲ來ス。即比較の濃厚ニ製セル反應原ナル時ハ結合帶ハ稀釋度高キ方ニ移動シ反應原ヲ「ベルケフェルド」濾過器ノ如キヲ以テ濾過セル濾液ヲ用フル場合ハ結合帶ハ反應原原液ヨリ濃厚部ニ在ルヲ以テ從ツテ正確沈降素價ヲ定ムル能ハズ。結合帶ガ反應原原液ヨリ稀釋部ニ存スル間ハ沈降素價ハ正確ニ測定シ得ルヲ以テ反應原製造ノ際ハ常ニ之ヲ考慮シ置ク事ガ必要ナリ。余ノ用ヒタル反應原ニヨツテ沈降素ノ結合帶及ビ沈降素價ハ常ニ正密ニ決定シ得タリ。

次ニ痘苗ヲ以テ免疫シテ作レル家兎免疫血清中ニハ純粹ニ牛痘毒ニ對スル沈降素ノミヲ含有スルモノニ非ズシテ痘苗中ニ含有セララルル他ノ抗原質ニ對スル免疫抗體ヲモ同時ニ含有ス可キ筈ナリ。其ノ中最モ重大ナルハ牛淋巴液ニ對スル抗體ナルガ余ハ實驗上ノ便宜ヨリ牛淋巴液ノ代リニ牛血清ヲ反應原トシテ用ヒテ其ノ沈降素價ヲ測定シ且該免疫血清中ヨリ此抗牛血清沈降素ヲ吸收シタル後尙ホ痘苗反應原ニ對スル沈降反應ヲ證明シ同時ニ補體結合反應モ同様ニ證明シ得タリ。

反之從來ノ U. 氏原法ヲ用ヒタル時ハ其ノ實驗法本來ノ原理ニヨリテ反應原ノ蛋白含有量ニ變化ヲ來セバ沈降素價モ從ツテ動搖ヲ來ス可ク、其ノ成績不定トナル理ナリ。茲ニ於テ沈降素ノ結合帶ヲ決定シタル後沈降素價或ハ補體結合反應度ヲ定ムルハ最モ合理的ナリ。

3) 牛痘苗ヲ家兎辜丸内ニ無菌的ニ注射シテ實驗的辜丸牛痘症ヲ惹起セシムル時ハ該家兎血液中ニハ牛痘毒血液中ニ侵入ノ結果抗牛痘苗沈降素ヲ微弱ナレ共產生セル一方、尙ホ興味アルハ自家辜丸ニ對スル沈降素ノ產生ナリ。

之ハ人工的辜丸牛痘症ノ結果トシテ辜丸ノ破壞機轉旺盛トナリ該破壞物質ハ血行ニ仍ツテ全身の循環スルコトナリ、從ツテ其ノ破壞物質即辜丸物質ニ對スル沈降素ガ產生セララルコトナレリ。コハ大抵ニ仍ツテ既ニ證明セラレタルガ余ハ此際兩種沈降素量ノ消長ニ關シテ詳細ニ觀察セルニ兩者ハ殆ド毎常併行的ニ消長モルヲ知リタリ。仍之觀是辜丸牛痘症ニ於ケル牛痘毒ノ產生狀況ト辜丸ノ破壞機轉從ツテ破壞物質ノ產生狀態トハ共ニ相併行シテ行ハルモノナルヲ想像シテ可ナラン。余ハ兩種沈降素ニ就テ補體結合反應モ證明シ得タリ。辜丸牛痘症ニ於ケル抗痘苗沈降素ハ前述セル痘苗靜脈免疫ニヨル沈降素ニ比シ結合帶ハ遙ニ低ク沈降素價モ極メテ低位ニ止リタリキ。

4) 56°C 30 分間非働性トセル痘苗ヲ以テ家兎靜脈内ヨリ免疫シテ得タル抗「フクチン」免疫血清ヲ以テ他ノ健康家兎ヲ被働性ニ感作シ置キタル後該家兎ニ辜丸牛痘症ヲ惹起セシメントスルニ免疫血清ノ沈降素量ニ應ジテ牛痘症豫防効價ニ差異アリ。即感作ニ用フル免疫血清ノ量ヲ沈降素單位ヲ以テ標準トシ、沈降素單位多キ程豫防效果強シ。而シテ對照試驗トシ同量ノ健康

家兔血清ヲ以テ感作シタルモノトヲ比較スルニ沈降素單位 20 位ヨリ以下ニ於テハ痘苗 1000 倍液 1cc 接種ニヨツテハ差異ヲ認ムルヲ得ザリキ。

即余ハ此實驗ニ仍リテ非働性痘苗ヲ以テ得タル抗「ワクチン」免疫血清ニヨツテ家兔畢丸ニ對スル牛痘症感染ニ豫防的效果アル事ヲ確ムルヲ得タリ。

結 論

以上ノ實驗ヲ以テ結論スレバ次ノ如シ。

1. 「ワクチン」免疫血清ニ於ケル沈降反應及ビ補體結合反應ハ免疫體稀釋法ニ仍ツテ確實ニ證明シ得。
2. 實驗の家兔畢丸牛痘症ニ於テハ抗牛痘沈降素ト共ニ自家畢丸沈降素ヲ同時ニ證明シ兩種沈降素ノ消長ハ互ニ併行ス。
3. 抗「ワクチン」家兔免疫血清ヲ以テ被働的ニ家兔ヲ免疫スル時ハ該免疫血清ノ沈降素量ニ應ジテ家兔牛痘症ニ對シ豫防的效果ヲ表ス。

稿ヲ終ルニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導ト本稿御校閱ノ勞ヲ賜ハリシ恩師緒方教授ニ對シ衷心感謝ノ意ヲ表ス。

文 獻

- 1) *Jobling*, Journ. of exp. med. Vol. 8, p. 707, 1906.
- 2) *Beintker*, Zentralbl. f. Bakt. Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I. Orig. Bd. 48, S. 500, 1909.
- 3) *Dahm*, Ebenda Bd. 51, S. 136, 1909.
- 4) *菅井*, Ebenda Bd. 49, S. 650, 1909.
- 5) *Kryloff*, Ebenda Bd. 60, S. 651, 1911.
- 6) *Nylander*, Ebenda Bd. 51, S. 290, 1909.
- 7) *Paschen*, Handbuch der Technik und der Methodik der Immunitätsforschung von kraus und Levaditi. Bd. 1, S. 465, 1911.
- 8) *Halkwachs*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 69, S. 149, 1911.
- 9) *Bizzarie Palmas*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie Bd. 2, S. 1176, 1911.
- 10) *Teissier et Gastinel*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. Tome 73, P. 264, 1912.
- 11) *Gordon*, Med. research council, published by His Majesty's stationery office. London. 1925.
- 12) *田中*, Zentralbl. f. Bakteriologie, Parasitenk. u. Infektionskrankh. Abt. L. Orig. Bd. 32, S. 726, 1902.
- 13) *Ereyer*, Zentralbl. f. Bakteriologie, Parasitenk. u. Infektionskrankh. Abt. 1, Orig. Bd. 36, S. 272, 1904.
- 14) *Casagrandi*, Ebenda Ref. Bd. 26, S. 113, 1907.
- 15) *Tomarkin und Suárez*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. Bd. 36, S. 385, 1917.
- 16) *Winkler*, Ergebn. d. allg. Pathol. u. path. Anat. Abt. 1, Bd. 21, S. 45, 1925.
- 17) *v. Pirquet*, Wien klin. Wochenschr. Bd. 19, S. 1407, 1906.
- 18) *Bernbach*, Zentralbl. f. Bakteriologie, Parasitenk. u. Infektionskrankh. Abt. 1, Orig. Bd. 49, S. 618, 1906.
- 19) *佐藤*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie. Bd. 32, S. 481, 1921.
- 20) *Gastinel*, Thèse de Paris. 1913.
- 21) *Frankenstejn*, Zeitschr. f. Kinderheilk. Bd. 32, S. 25, 1922.
- 22) *Hunt and Falk*, Journ. of immunol. Vol. 14, P. 347, 1927.

- 23) *Schultz, Bullock and Lawrence*, Journ. of immunol. Vol. 15.
Bakteriol. Parasitenk. u. Infektionsk. Abt. 1, Bd. 19, S. 357, 1896.
24) *Sternberg*, Zentralbl. f. Bakteriologie, Parasitenk. u. Infektionsk. Abt. 1, Bd. 19, S. 357, 1896.
25) *Béclère*, Ann. de l'inst Pasteur. Tome 13, P. 81, 1899.
26) *Camus*, Journ. de physiol. et de pathol. Tome 10, P. 455, 1908.
27) 藤井, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie. Bd. 33, S. 443, 1922.
28) *Schneider*, Ebenda. Bd. 38, S. 271, 1923—1924, Bd. 53, S. 270, 1927.
29) 米澤, Zentralbl. f. Bakteriologie, Parasitenk. u. Infektionsk., Abt. 1, Orig. Bd. 92, S. 131, 1924.
30) 大河内, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Bd. 41, S. 62, 1924.
31) *Minges*, Münch. tierärztl. Wochenschr. Bd. 75, S. 433, 1924.
32) 野口, Journ. of exp. med. Bd. 21, S. 539, 1915; Journ. of exp. med. Bd. 27, S. 425, 1918.
33) 城井, 島谷, 笠井, 實驗醫學雜, 第3卷, 第1號, 1917頁.
34) 大田原, 東京醫學雜誌, 第34卷, 858頁, 大正9年.
35) 大城, 岡醫雜, 第5號, 1295頁, 43年.

