

# ヒト血清に対する免疫学的寛容現象について\*

金沢大学結核研究所病態生理部（主任：西東利男教授）

小 西 健 一  
佐 藤 次 雄  
越 沢 み ち 子

金沢大学結核研究所薬理部（主任：伊藤 亮教授）

吉 村 政 弘

## 緒 言

私達は前報<sup>1)2)</sup>において、出生直後より一定期間野牛血製アルブミンを注射することによってウサギが成熟後その抗原に対して免疫学的寛容状態<sup>3)</sup> (tolerance) を獲得することを報告した。今回は野牛血製アルブミンのかわりにヒト血清を用い、これに対する tolerance の成立の有無について検索を進めた。ヒト血清に対する tolerance の成立が可能であれば、ヒト臓器抽出液を注射して生ずるヒト血清に対する抗体産生

の抑制が充分推定されるのであって、このことはとりまなおさず正常あるいは病的臓器抗原に対する抗体を選択的に産出させうるかもしれないという期待に直結し、その内包する意義はきわめて大きい。しかも私達の実験ではある条件下できわめて明らかにヒト血清に対する tolerance の成立することが実証された。以下はその成績の概要である。

## 実験材料ならびに実験方法

### 1. 動物

白色健常ウサギより得られた子ウサギを出生直後より使用に供した。(表中ウサギ番号の2ケタ以上の数字は Litter No. を、下1ケタの数字は個々のウサギの No. を示す。) 一部は成熟ウサギとして購入されたものを使用した。(これらは4ケタの数字で表わされ、Litter は不明である。)

### 2. 抗原

1) ヒト血清：北陸血清製造所において採取されたヒト血液より分離した血清(以下HSと略記)を非加熱のまま $-20^{\circ}\text{C}$ に保存し、用いるにぞんで $37^{\circ}\text{C}$ 温浴中で溶解させて使用した。反応用抗原として用いる場合には $56^{\circ}\text{C}$ , 30分間加熱したものを使用した、以下特

に記載しない場合のHSはO型ヒト血液より分離した。

2) ヒト胃浸出液：胃下垂症にて切除された胃および胃癌の全摘除術を受けた胃の癌化部を秤量、細砕し、ホモジナイザーをもって磨砕し、10%に生理的食塩水(生食水)に浮遊したのち、 $4^{\circ}\text{C}$ に一夜放置し、4,000r.p.m. で30分間遠沈した上清を濾過して作製した。以下それぞれNGEおよびGCEと記載する。

### 3. 抗原の注射方法

1) 前処置：出生直後から毎日HSを腹腔内に注射した。注射の量および期間は実験成績の項に記述する。一部のウサギはHSの腹腔内注射終了後のある時期にHS 1mlを単独に皮下に、他の一部のウサ

\*本論文の一部の要旨は昭和37年4月、第35回日本細菌学会総会に発表した。

ギは incomplete Freund's adjuvant とともに筋肉内に追加注射された。

2) challenge injection : HS 3ml あて3日おきに2回皮下に, 又は HS 1~2ml あて1週おきに3回静脈内に注射した。NGE および GCE はそれぞれ 3ml あて incomplete Freund's adjuvant とともに1週おき2回筋肉内に注射した。

#### 4. 採 血

### 実 験 成 績

1. 出生直後よりある期間毎日HS 0.2ml の注射を受けたウサギの抗 HS 抗体産生

4 腹子20羽のウサギを同腹子を各1群として4群にわけ, A群(4羽)には21日間(総量4.2ml), B群(4羽)には126回(25.2ml), C群(7羽)には112回(22.4ml), D群(5羽)には102回(20.4ml), いずれも腹腔内に注射した。

これらの出生直後に始まる一連のHSの注射による抗体産生をみるために, A群は最終注射後131日目に, 他の3群は最終注射後3日目に採血して沈降反応を行った。第1表はその成績を示したもので, 抗HS抗体はA群では4羽ともに認められなかったが, 他の3群では合計16羽すべてに認められた。更に80日経過したときに行った2回目の反応でも, A群はすべて陰性, 他の3群では16例中4例が陽性を示した。

次に2回目の反応で抗HS抗体を認めなかったもののうちA群2羽, 他の3群5羽の計7羽に, 2回目反応後3日目よりHSを3mlあて3日おきに2回皮下に注射した。第2表はその成績を示したもので, 対照より高い抗体価を示したものはなく, 7羽中3羽はむしろ partially tolerant ではないかと疑われるほど抗体価が低かった。しかしながら抗体産生の経時的推移からみると, むしろ secondary response の pattern をとるものが多かった(表略)。

2. 出生直後より21日間毎日1mlあてHSの注射を受けたウサギの抗HS抗体産生

3 腹子20羽のウサギに前処置として出生直後より21日間毎日HS 1ml あて腹腔内に注射し(総量21ml), これを無作為に3分して, E群

採血は耳静脈を半切して行い, 型のごとく血清を分離したのち, 56°C, 30分間加温して反応に供した。

#### 5. 沈降反応術式

重層法によった。すなわち, 生食水による抗原希釈(1:4~1,024)と1.5%アラビヤゴム加生食水による抗体希釈(1:1~1,024)を行って反応の場を観察した。以下実験成績の項では抗体価はすべて抗体希釈(ウサギ血清の希釈)によって表わした。

(8羽)はそのまま放置し, F群(6羽)には生後28~33日および42~47日に各1回HS 1mlを皮下に追加注射し, G群(6羽)には生後28~33日にHS 1mlをincomplete Freund's adjuvant とともに筋肉内に注射した。

これらのウサギの生後70~89日目から生後無処置の対照ウサギ5羽とともにHS 1mlあて1週おきに3回静脈内にchallengeし, 各注射前および最終注射後1週ごとに採血して沈降反応を行った。

challenge 前の抗体価は第3表のごとく, 1:1~2の抗体価を示したものは4羽(20%)であって, 残りの16羽はすべて陰性であった。

challenge 後の抗体価の推移は第4表に示した。これによると最終注射後1週目に抗体を認めたものは4羽(20%)であって, 2週目ではそのうち2羽が認められなくなった。challenge 開始後1~2週に一時的に抗体を認めたものは4羽(20%)で, challenge 開始後最終抗体産生を認めなかったのは9羽(45%)であった。また殊に興味のあることはchallenge 開始前抗体価陽性の1羽が第1回注射後, 3羽が最終注射後陰性となったことである。

また以上の抗体価はほとんどが1:1というきわめて低い価であって, 対照群の1:32~128と比較すると新生時HS 1mlあて21日間連続注射によってtolerantとなったことは明らかである。

3. HSの新生時注射量とtoleranceの程度ならびに持続期間との関係

次に以上のようなHSに対するtoleranceを起させるに必要な新生時注射の量(又は回数)に

について検討するとともに、HS に対する tolerance の持続期間について観察した。すなわち、6 腹子33羽の子ウサギのうち13羽を tolerance injection を行わない対照とし、残り20羽は5群にわけ、出生直後よりHSを、H群(6羽)には1mlあて8日間、I群(3羽)には2mlあて16日間(32ml)、J群(2羽)は1日1mlあて30日間に27回、K群(3羽)およびL群(6羽)は出生直後より6日間は1日1mlあて、その後の14日は2mlあて毎日(計34ml)注射した。H、I、JおよびK群は生後93~118日の間に第1回 challenge としてHSを2mlあて1週おきに3回静脈内に注射した。H、JおよびK群は生後213~238日に第2回 challenge を、JおよびK群は生後335~356日に第3回 challenge をいずれも第1回 challenge と同様にして行った。L群は生後228日に第1回 challenge を、生後350日に第2回 challenge を行った。

第5表はこれらの成績を一括したものである。この表から、

1) 出生直後より8日間に8mlのHSを注射されたウサギは、生後3~4カ月にはHSに対し partially tolerant であった。

2) 出生直後より毎日1mlあて6日間引き続き2mlあて14日間又は2mlあて16日間注射されたウサギは生後3~4カ月にはHSに対し completely tolerant であった。

3) 出生直後より1mlあて6日間、引き続き2mlあて14日間注射されたウサギは生後7~8カ月にはHSに対し partially tolerant であった。

4) 3~4カ月ごとにHSをchallengeして tolerance の有無を検すると、この challenge が booster tolerance injection となって、少くとも1年近くまで tolerance の持続が延長する。

#### 4. 新生時O型血清処置ウサギとAB型血清処置ウサギの抗体産生の比較

以上の実験はすべてO型血液より分離した血清(この項ではHS<sub>0</sub>と記す)を用いたのであるが、この項ではAB型血清(HS<sub>AB</sub>)に対す

る tolerance との異同について検討した。

まず(2)項の実験において示されたところの新生時HS<sub>0</sub>の注射を受けかつ生後75~89日目HS<sub>0</sub>に対して tolerant であった4羽のウサギに、生後163~177日目にHS<sub>AB</sub>を2mlあて1週おきに3回静脈内に注射しHS<sub>0</sub>ならびにHS<sub>AB</sub>に対する抗体産生の差異を観察した。その結果は第6表に示すごとく、HS<sub>0</sub>に対して tolerant であったウサギはHS<sub>AB</sub>に対しても tolerant であることが認められた。

同様に新生時HS<sub>AB</sub>で処置されたウサギは生後約3カ月後ではHS<sub>AB</sub>およびHS<sub>0</sub>に対して tolerant であり、両抗原に対する tolerance の間には差が認められなかった。

#### 5. 大量HS注射による成熟ウサギの抗体産生

生後無処置の成熟ウサギ6羽(No. 1036~1041)を2群に分け、1群にはHS 2mlあて1週おき3回静脈内に、他の1群にはHS 5mlを静脈内に、5mlを皮下に、更に10mlを腹腔内に(1日量20ml)毎日7日間(総量140ml)注射し、両群の抗体差生状況を比較した。

その最高抗体価は1:64~512であって、大量注射によって抗体産生が抑制されたという知見は得られず、かえってやや促進される傾向が認められた(表略)

#### 6. HS に対して tolerant であるウサギのNGEあるいはGCEによる抗HS抗体産生

生後無処置の成熟ウサギにNGEあるいはGCEを3mlあて incomplete Freund's adjuvant とともに2週おきに2回筋肉内に注射すると、第7表のごとく1:4~8という価の抗HS抗体の産生が認められた。一方新生時HSで処置され生後75~99日にHSのchallengeを受けたウサギ(第4表および第5表参照)に、生後163~184日にNGE又はGCEを注射したが、抗HS抗体の産生はみられなかった。

## 考 察

私達はここ数年来ヒトの正常あるいは病的臓器の浸出液の注射を受けたウサギについて血清学的検討を行っているが、この場合臓器に対する抗体の外、常に抗 HS 抗体が産生される(第7表)結果、臓器抗原に対する抗体を選別的にするには抗 HS 抗体を除去する必要があった。共通抗原を有する2物質のそれぞれの特異的抗原に対する抗体はこの2物質に対するそれぞれの免疫学的寛容を成立させようれば容易に選別的にえられるはずである。そこで今回はヒト臓器浸出液中に存在するヒト血清抗原に対し tolerance ができるか否かについて検討した。

まず出生直後より HS を 0.2ml あてそれぞれ 21, 102, 112 および 126 日間毎日注射したウサギのこれら前処置による抗体産生について観察したところ、21 回注射群の最終注射後 131 日目の抗体価はすべて陰性であったが、他の3群の最終注射後 3 日目はすべて陽性で、1:1~32 の抗体面が認められた。更に 80 日後に行った沈降反応でも 102 および 112 回群 11 例中 4 例がなお陽性であった(第1表)。このように毎日 HS 0.2ml を新生時以降長期にわたって持続的に投与して、かえってその期間中に抗体の産生がみられるということは、tolerance の成立に抗原の量とその投与期間が重要な背景をなしていることを示すものと考えられる。しかしながら、これらのウサギのうちの7羽に HS を 3ml あて 3 日おきに 2 回 challenge したところ、わずかではあるが対照ウサギより抗体価の上昇が低かった(第2表)。このことから HS 0.2ml 連日投与によって弱い tolerance の状態が招来、維持されているものと考えられるのである。

次に tolerance injection の HS の量を増し毎日 1ml あて 21 日間腹腔内に注射したウサギでは、生後 70~89 日目より HS 1ml あて 1 週おき 3 回 challenge してその抗体産生をみたところ、ほとんどすべてが HS に対して completely tolerant であった(第4表)。すなわち HS に対する tolerance は出生直後より HS を 1ml あて 21 日間注射することによって充分引

き起こすことができることが明らかとなった。このことは tolerance injection に用いる抗原の量とその投与期間の問題が tolerance 招来の重要な因子であろうと述べた先の推論の正しさを証明するものであろう。

ウサギにおける soluble antigen に対する tolerance に関しては、古くは Hanan & Oyama<sup>4)</sup> が出生直後にごく少量のウシ血清アルブミン(BSA)で処置し以後漸増的にかなり長期間注射することによって tolerant となったと報告している。Smith & Bridges<sup>5)</sup> は出生直後 10~100mg の BSA を 1 回注射することにより tolerance の起こるのを認め、Weigle<sup>6)</sup> は出生直後より生後 5 日までに 500mg の BSA 又はウシ・ガンマ・グロブリン(BGG)を注射することによって tolerance を起こさせている。又 Cinader & Dubert<sup>7)</sup> はヒト血清アルブミン(HSA) 300~500mg を出生直後に、翌日から種々の量の追加注射を行って tolerant となることを報告している。

本実験で行われた出生直後より 21 日間に 21ml という HS の注射を総量からみると Weigle<sup>6)</sup> および Cinader & Dubert<sup>7)</sup> らの方法に近いが、tolerance の実験において最も重要とされている出生直後の注射量は本実験では 1ml (HS) で、更に大量の注射を考慮しなければならないかもしれない。出生直後より HS を 1ml あて 8 日間注射されたウサギのほとんどが partially tolerant であり、出生直後より HS 1ml あて 21 日間又は 2ml あて 16 日間注射されたウサギのほとんどが tolerant であったという本実験の成績(第4および第5表)は、出生直後の注射量とその後の投与量および投与期間についての検討の必要性を物語るものであろう。

前報<sup>2)</sup>において私達は野牛血漿アルブミンに対する tolerance が適当な時期の challenge injection によって延長され、生後 411 日以上にまで持続すると報告した。同様の現象は本実験の HS に対する tolerance についても認められた(第5表)。しかも本実験の成績はこのよ

うな challenge injection が booster tolerance injection となって complete tolerance のみでなく partial tolerance の状態をも延長・持続させる可能性が強いことを示している。tolerance の延長に関して Weigle<sup>6)</sup> は次のような興味ある知見を報告している。すなわち、BSA又は BGG に tolerant であるウサギに溶液のまま大量の、又は complete adjuvant とともに elated antigen を注射することによって新生時処置抗原に対する tolerance が破れるが、related antigen 注射の最後に大量の新生時処置抗原を同時に注射することによって再び tolerant となり、この操作を繰返すことによって tolerance を持続できると述べている。

1949年 Felton<sup>8)</sup> は大量の肺炎球菌Ⅲ型多糖体を注射されたマウスが当該菌感染によってより多く死亡することを認め、これを immunological paralysis と名付けた。immunological paralysis と immunological tolerance の関係については Brooke & Karnovsky<sup>9)</sup> は同一の機序によって成り立つと推定しており、これらを immunological unresponsiveness と総称している研究者もある。Siskind ら<sup>10)</sup> は両者の関係をマウスにおける肺炎Ⅱ型菌多糖体の免疫能について検討し、マウスの生後日令に関係なく unresponsiveness が起ることを認めるとともに、出生直後に注射された大量（免疫学的麻痺量）が時日の経過とともに免疫量として働くことを指摘している。又 Dietrich & Weigle<sup>11)</sup> は養子免疫の方法によって新生時処置マウスと成熟時処置マウスの unresponsiveness を検索し、両者の間に相違がなかったと述べている。本実験において私達は大量の HS の注射を受けた成熟ウサギの抗体産生を観察し、前述の関係を検討しようと思図した。しかしながら、1日 20ml あて毎日 7日間注射された成熟ウサギは 2ml あて1週おき3回注射されたウサギに比して優るとも劣らない抗体産生を示し（表略）、challenge を行うまでに至らなかった。

今日、こうした immunological unresponsi-

veness の成立機序に関しては、1) 抗体産生細胞の変異によるとするもの<sup>6)7)</sup>と 2) 抗原の固着に由来する抗体の中和によるとするもの<sup>12)13)14)</sup>がある。Sercarz & Coons<sup>15)</sup> が螢光抗体法を用いて免疫学的麻痺マウスの脾に抗体産生細胞が少なかったと報告していることは前者の裏付けとなるものであろう。この前者の考えを理論的に体系づけ近代免疫学に新しい視点を与えたのが Burnet<sup>16)</sup> の clonal selection theory であろう。本実験において私達は新生時処置ウサギの challenge 前の抗体価 1 : 1 ~ 2 が challenge 開始後陰性となった4例および challenge 開始後一時的に弱い抗体産生を示したが間もなく消失した4例を認めたのであるが、これは既にわずかに存在していた抗体および新たに産生されたわずかな抗体が challenge 抗原によって中和され、その上生体の抗体産生能が低下していたためであろうと考えられる。しかもこの challenge injection は単に抗体を中和するのみでなく明らかに booster tolerance injection として働いたことは、以後の抗体産生抑制から容易に推定されるであろう。かくして、抗体の中和現象は単に tolerance の成立においては二次的役割を果すものであって、tolerance 成立の基礎があくまで機能的抗体産生細胞系列の質的ならびに量的変異に求められる可能性の強いことを示唆していると思われる。

一方 HS に対する tolerance は新生時 O 型血清および AB 型血清のいずれの処置によっても同様に認められ、両者間に差がなかった（第6表）。

最後に、ヒトの胃浸出液を incomplete Freund's adjuvant とともにウサギに注射すると抗 HS 抗体の産生がみられるが、当然のことながら HS に対して tolerant であるウサギに同様処置を行っても抗 HS 抗体の産生はみられなかった（第7表）。これは tolerance の現象を用いることによって共存する抗原群中のある抗原に対する抗体のみを産出しようということであって、その意義ははなはだ大きい。

## 結 論

出生直後より HS を連日 0.2~2 ml あて注射したウサギに成熟後 HS, NGE および GCE をもって challenge し, その抗体産生を沈降反応によって観察し, 次の結果を得た.

1) 出生直後より HS を 1 ml あて21日間又は 2 ml あて16日間注射することによって, HS に対する complete tolerance が成り立つ.

2) 出生直後より HS を 1 ml あて 8 日間注射されたウサギでは complete tolerance を期待しがたく, ほとんどが partially tolerant であった.

3) 出生直後より HS を 0.2ml あて 102~126 日間注射するとそれによって既に抗体を産生するが, HS 0.2ml あて 21 日間注射されたウサギとともになお partially tolerant であることが認められた.

4) HS に対する tolerance において 適当な

時期における HS の投与が booster tolerance injection として働き, HS に対する tolerance を 1 年近く延長・持続させることができる. この tolerance の延長現象は complete tolerant state のみでなく partial tolerant state についても認められた.

5) O 型および AB 型血清で招来された HS に対する tolerance の間に差は認められなかった.

6) 成熟ウサギに HS を 20ml あて 7 日間注射したが, 抗体産生の抑制はみられなかった.

7) ヒトの臓器免疫について検索する場合, HS に対する tolerance を応用することによって抗 HS 抗体を選択的に抑制することが可能であった.

[本研究の遂行には文部省科学研究費の補助を受けた]

## 文 献

- 1) 小西健一, 吉村政弘: 金大結研年報, 20, 145, 1963.
- 2) 小西健一, 越沢みち子, 吉村政弘: 金大結研年報, 21, 287, 1964.
- 3) Billingham, R. E., Brent, L. and Medawar, P. B.: Nature, 172, 603, 1953.
- 4) Hanan, R. and Oyama, J.: J. Immunol., 73, 49, 1954.
- 5) Smith, R. T. and Bridges, R. A.: J. Exp. Med., 108, 227, 1958.
- 6) Weigle, W. O.: Immunol., 7, 239, 1964.
- 7) Cinader, B. and Dubert, J. M.: Brit. J. Exp. Path., 36, 515, 1955.
- 8) Felton, L. D.: J. Immunol., 61, 107, 1949.
- 9) Brooke, M. S. and Karnovsky, M. J.: J. Immunol., 87, 205, 1961.
- 10) Siskind, G. W., Paterson, P. Y. and Thomas, L.: J. Immunol., 90, 929, 1963.
- 11) Dietrich, F. M. and Weigle, W. O.: J. Immunol., 92, 167, 1964.
- 12) Kaplan, M. H., Coons, A. H. and Deane, H. W.: J. Exp. Med., 91, 15, 1949.
- 13) Stark, O. K.: J. Immunol., 74, 130, 1955.
- 14) Dixon, F. J., Maurer, P. N. and Weigle, W. O.: J. Immunol., 74, 188, 1955.
- 15) Sercarz, E. and Coons, A. H.: Nature, 184, 1080, 1959.
- 16) Burnet, F. M.: Brit. Med. J., 5153, 645, 1959.

Table 1. Antibody\*1) production of rabbits treated neonatally with human serum

Group	Rabbit No.	Pretreatment (i.p.*2))		Precipitation test			
				1st test		2nd test	
				Antigen (total dose)	Duration	Time : days after last pretreatment (days after birth)	Antibody titre*3)
A	61	0.2ml of HS*4) daily (4.2ml)	21days following birth	131 (151)	—	211 (231)	—
	62				—		—
	63				—		—
	64				—		—
B	71	0.2ml of HS daily (25.2ml)	126 days following birth	3 (128)	1 : 4	83 (208)	—
	72				1 : 4		—
	73				1 : 4		—
	74				1 : 2		—
	75				1 : 2		—
C	81	0.2ml of HS daily (22.4ml)	112 days following birth	3 (114)	1 : 1	83 (194)	—
	82				1 : 2		1 : 2
	83				1 : 2		—
	84				1 : 4		1 : 2
	85				1 : 2		—
	86				1 : 4		—
	87				1 : 2		—
D	91	0.2ml of HS daily (20.4ml)	102 days following birth	3 (104)	1 : 32	83 (184)	1 : 8
	92				1 : 8		—
	93				1 : 16		1 : 2
	94				1 : 16		—
•	1017	untreated (control)	•	•	—	•	•
	1018				—		—
	1019				—		—
	1020				—		—
	1021				—		—
	1022				—		—

\*1) Antibody to human serum.

\*2) i. p. : intraperitoneal injection.

\*3) Antibody titre is given by the dilution of rabbit serum, and - represents absence of precipitation reaction in a undiluted serum.

\*4) HS : Human serum,

Table 2. Antibody\*1) production of rabbits treated neonatally and challenged later with human serum

Group	Rabbit No.	Pretreatment*2)		Antibody production, before challenge injection*2)		Challenge injection		Antibody titre*3)	
		Duration of daily injection with 0.2 ml of HS*4) from birth	days	Between 104th and 151st day after birth	Between 184th and 231st day after birth	Beginning on (days after birth)	Antigen and method	7th day after last challenge injection	Bleeding on 14th day after last challenge injection
A	61	21	-	-	234			1: 8	1: 8
	62		-	-				1: 16	1: 8
B	71	126	++	-	211		two subcutaneous injections with 3ml of HS each at interval of 3 days	1: 8	1: 8
	72		++	-				1: 16	1: 32
C	81	112	+	-	197			1: 16	1: 16
D	92	102	++	-	187			1: 4	1: 4
	94		++	-				1: 32	1: 32
•	1017	•	-	•	about 150			1: 8	1: 128
	1018		-	-				1: 4	1: 64
	1019		-	-				1: 2	1: 32

\*1) Antibody to human serum.

\*2) See Table 1.

\*3) Antibody titre is given by the dilution of rabbit serum, and - represents absence of precipitation reaction in a undiluted serum.

\*4) HS : Human serum.



Table 3. Antibody\*1) production of rabbits treated neonatally with human serum

Group	Rabbit No.	Pretreatment			Precipitation test	
		Daily intraperitoneal injection with 1 ml of HS *2) for 21 days from birth	Two subcutaneous injections with 1 ml of HS each from 28th to 47 th day after birth	Injection of 1 ml of HS in incomplete adjuvant on 28th to 33rd day after birth	Bleeding on (days after birth)	Antibody titre*3)
E	101				days 74	—
	102				81	1 : 1
	103				74	—
	104	+	—	—	74	—
	111				88	—
	112				88	—
	113				81	1 : 1
	121				69	—
F	105				81	1 : 2
	106				74	—
	114	+	+	—	81	—
	115				74	—
	116				88	—
	122				69	—
G	107				74	—
	108				88	—
	117	+	—	+	81	1 : 1
	118				88	—
	119				81	—
	123				69	—

\*1) Antibody to human serum.

\*2) HS : Human serum.

\*3) Antibody titre is given by the dilution of rabbit serum, and — represents absence of precipitation reaction in a undiluted serum.

Table 4. Antibody\*1) production of rabbits treated neonatally and challenged later with human serum

Group	Rabbit No.	Pretreatment*2)			Challenge injection		Antibody titre*4)					
		i.p.*3) × 21	s.c.*3) × 2	adj.*3) × 1	Beginning on (days after birth)	Antigen and method	Before challenge injection	1 week after 1st challenge injection	1 week after 2nd challenge injection (2 weeks after 1st challenge injection)	1 week after 3rd challenge injection (3 weeks after 1st challenge injection)	2 weeks after 3rd challenge injection (4 weeks after 1st challenge injection)	
E	101				days		-	1:1	1:4	1:2	1:2	
	102				75		1:1	1:1	-	-	-	-
	103				82		-	-	-	-	-	-
	104				75		-	-	-	-	-	-
	111	+	-	-	75		-	-	-	-	-	-
	112				89		-	-	-	-	-	-
	121				82		1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
F	105				70		-	-	-	-	-	-
	106				82		1:2	1:2	1:1	1:1	1:1	1:1
	114				75		-	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
	115				75		-	1:2	1:1	1:1	1:1	1:1
	116				89		-	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
	122	+	+	-	70		-	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
G	107				75		-	-	-	-	-	-
	108				89		1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
	117				82		-	-	-	-	-	-
	118				89		-	-	-	-	-	-
	119				82		-	-	-	-	-	-
	123				70		-	-	-	-	-	-
•	1023				about 90		-	1:2	1:16	1:32	1:32	1:32
	1205						-	1:2	1:64	1:64	1:64	1:64
	1026						-	-	1:8	1:32	1:64	1:64
	1027						-	1:2	1:32	1:64	1:128	1:128

\*1) Antibody to human serum.

\*2) See Table 3.

\*3) i.p.=intraperitoneal injection, s.c.=subcutaneous injection, and adj.=intramuscular injection in incomplete adjuvant.

\*4) Antibody titre is given by the dilution of rabbit serum, and - represents absence of precipitation in a undiluted serum.

\*5) HS: Human serum.

Table 5. Response of rabbits treated neonatally and challenged later with human serum

Group	Rabbit No.	Neonatal treatment		Susceptibility* to HS**		
		Total dose of antigen (HS*)	Duration from birth	During 3rd and 4th month after birth	During 7th and 8th month after birth	During 11th and 12th month after birth
H	131	8	8	PT	NT	•
	141			PT	PT	•
	142			PT	NT	•
	143			PT	PT	•
	144			CT	CT	•
	145			PT	NT	•
•	146	untreated		NT	NT	•
	147			NT	NT	•
	148			NT	NT	•
I	151	32	16	CT	•	•
	152			CT	•	•
	153			CT	•	•
•	154	untreated		NT	•	•
	155			NT	•	•
	156			NT	•	•
J	161	27	30	CT	CT	CT
	162			CT	CT	CT
•	163	untreated		NT	NT	NT
	164			NT	NT	NT
K	171	34	20	CT	CT	CT
	172			CT	CT	CT
	173			CT	CT	PT
•	175	untreated		NT	NT	NT
	176			NT	NT	NT
L	181	34	20	•	CT	PT
	182			•	PT	NT
	183			•	PT	PT
	184			•	PT	PT
	185			•	PT	NT
	186			•	NT	NT
•	187	untreated		•	IT	NT
	188			•	IT	NT
	189			•	IT	NT

\* CT=completely tolerant, PT=partially tolerant, and NT=non-tolerant.

\*\* HS: Human serum.

Table 6. Antibody production of rabbits treated neonatally and challenged later with HSo\*1) and HSAB\*1)

Group	Rabbit No.	Pretreatment	Challenge injection*2)		Maximum antibody titre*3) to	
			Antigen	Beginning on (day after birth)	HSo	HSAB
F	105	neonatal and postnatal injection*4) and later challenge injection*5) with HSo	HSAB	-th day 170	-	-
G	107			163	-	-
E	112			177	1 : 4	1 : 4
	113			170	-	-
M	191 192 193	neonatal injection *6) with HSAB	HSAB	98 98 98	- 1 : 1 1 : 1	- 1 : 1 1 : 1
N	201 202			HSo	91 91	- 1 : 1
•	1032	untreated (control)	HSAB		about 100	1 : 256
	1033			1 : 128		1 : 128
	1034		HSo	1 : 128		1 : 128
	1035			1 : 512		1 : 512

\*1) HSo : human serum from O-type blood, HSAB : human serum from AB-type blood.

\*2) Rabbits were injected intravenously with three weekly doses of 2 ml of antigen.

\*3) Antibody titre is given by the dilution of rabbit serum, and - represents absence of precipitation reaction in a undiluted serum.

\*4) See Table 3.

\*5) See Table 4.

\*6) Rabbits were intraperitoneally injected daily with 1ml of HSAB for 21 days from birth.

Table 7. Antibody\*1) production of rabbits treated neonatally with HS\*2) and challenged later with NGE\*3) or GCE\*3)

Group	Rabbit No.	Pretreatment	Challenge injection		Maximum antibody titre*5) to HS
			Antigen *4)	Two injections at the indicated day after birth	
E	101	neonatal treatment*6) and later challenge injection*7) with HS	GCE	163 and 177 -th day	-
	102			170 and 184	-
	104			163 and 177	-
	111			177 and 191	-
•	1042	untreated		about 150 and 164	1 : 4
	1043	(control)		1 : 8	
I	151	neonatal treatment*8) and later challenge injection*8) with HS	NGE	168 and 182	-
	152			168 and 182	-
	153			168 and 182	-
•	1044	untreated		about 150 and 164	1 : 8
	1045	(control)		1 : 8	

\*1) Antibody to human serum.

\*2) HS : Human serum.

\*3) NGE : Extract prepared from stomach of a patient with gastropotosis, GCE : Extract prepared from gastric cancer.

\*4) Rabbits were challenged intramuscularly with 3 ml of antigen in incomplete adjuvant.

\*5) Antibody titre is given by the dilution of rabbit serum, and - represents absene of precipitation reaction in a undiluted serum.

\*6) See Table 3.

\*7) See Table 4.

\*8) See Table 5.