

乳酸桿菌の免疫反応に関する研究

東京歯科大学微生物学教室(主任 米沢和一教授)

池 田 清

(昭和33年11月29日受付)

Studies on Immunological-Reaction of Lactobacillus

KIYOSHI IKEDA

Department of Microbiology, Tokyo Dental College

(Director : Prof. W. Yonezawa)

ABSTRACT

Many investigators have studied the classification of lactobacilli by the antigenic characteristics. However, it has not yet been comprehensively clarified.

The author studied the immunological characteristics of 28 strains of Genus Lactobacillus and a strain of *Leuconostoc mesenteroides* by employing the immune sera of 7 strains of *Lactobacillus acidophilus*, one strain of *Lactobacillus arabinosus* and 5 strains of *Lactobacillus bifidus*. The hemagglutination reaction was introduced successively by the author into this investigation together with the routine agglutination reaction and the complement-fixation reaction.

The new findings obtained by the author were as follows :

1) Apparent minor antigen could be observed between the tested strains of *Lactobacillus acidophilus* and those of *Lactobacillus bifidus*.

2) The same phenomena were observed between *Lactobacillus acidophilus* and other species of the Genus *Lactobacillus*.

3) The presence of minor antigen were influenced by the sensitivity of the immunological characteristics of the tested strains, which could be observed by agglutination or hemagglutination and could not be by complement-fixation reaction.

4) The one tested strain of *Leuconostoc mesenteroides* showed no immunological relationship with other test organisms as far as the author's study has gone.

I 緒言と文献の概要

Kern による *Bacillus caucasicus* の発見に始まり, *B. vaginalis*, *B.* ¹⁾²⁾ *crassus* (Döderlein), *L. acidophilus* (Moro), *B. bifidus* (Tissier) 等, 数多くの乳酸桿菌が報告されている。現在 Bergey's manual ³⁾ によれば, Tribe Lactobacillaceae の中, 炭水化物から毎常乳酸を産生し, カタラーゼを証明せず, Microaerophilic のものを Genus *Lactobacillus* となし, これを type species たる *caucasicus* を初めとして, 産生乳酸の量及び旋光性, 至適温度等により15菌種が記載されている。

このうち, *L. acidophilus* の分類については,

Döderlein 桿菌及び齧食原因菌につき Lash & Kaplan ⁴⁾ の糖分解能の一覧表を初めとし, 長谷川 ⁵⁾, 岡本 ⁶⁾, 石井 ⁷⁾ 等が糖分解能の点より分類を試みているが, その成績には不一致の点が多い。血清学的には, Lash 等に始まって, Harrison ⁸⁾, Hunt ⁹⁾ & Rettger, Howitt ¹⁰⁾, Canby ¹¹⁾, 等が沈降反応, 補体結合反応, 凝集反応につき報告しているが, 免疫学的に分類するまでには至っていない。Williams ¹²⁾ は凝集反応により4抗原を見出し, Orland ¹³⁾ は種々の乳酸桿菌を検討してその抗原構造の解明を試みている。本邦においては長谷川 ⁵⁾, 川畑 ¹⁴⁾ ¹⁵⁾, 春木 ¹⁶⁾ 等が同様の研究を

行っているが、いずれもこれを明らかにすることが出来ない状態である。

乳酸桿菌のうち腔内乳酸桿菌と新生児口腔及び腸内乳酸桿菌との関係についても、在来から腔桿菌が新生児口腔に移行するのではないかという推論がなされている。勝野¹⁷⁾、Jötten¹⁸⁾、長谷川等は両者の生物学的性状の類似している点よりこれを肯定し、白土等は両者の相関関係につき殆んど否定的見解を持つている。川畑¹⁵⁾は Döderlein 桿菌と口腔由来乳酸桿菌との間に生化学的には類似性があるが、抗原構造上からは一致する点を見出せなかつたと報告している。

われわれの教室では、永年 *Lactobacillus* の生物学的並びに免疫学的研究を行ってきた。

即ち、*L. acidophilus* に関して小堀²⁰⁾は、母子11組の母体産道、母体口腔、新生児口腔、新生児腸管より分離した乳酸桿菌を検討し、そのビタミン要求性に類縁関係を認めた。又、いずれも *L. acidophilus* と同定された母子1組(3株)ではかなりの類似性を認

めた。

田中²¹⁾はさらにこの点を追求し、上記3株及び齶窩由来の *L. acidophilus* O₃ 株の4株につきビタミン、金属イオン、アミノ酸に対する態度を検討した。即ち、各菌株の発育を支持する合成培地中のビタミン組成を検討した結果、産道由来株、母体口腔由来株、新生児口腔由来株は全く一致しており、Mn イオンに対する態度及び必須アミノ酸の種類等も殆んど共通していた。これらの点より母子間での乳酸桿菌の移行を推定することが出来よう。

なお、相場は²²⁾ *L. bifidus* を免疫学的な面より検討し、*L. acidophilus* との類縁関係を追求した結果、共通な微少抗原のあることを明らかにした。

私は、さらに多数の *L. acidophilus* を集め、相互間の免疫学的研究を行うと共に、他の *Lactobacillus* 属との間の抗原的關係を検討したので、ここに報告する次第である。

II 供試菌について

1. 菌株の由来

使用菌株は金大・谷教授より分与を受けた6株中、*L. acidophilus* 神戸株、A株、*L. bulgaricus* LBの3株は乳酸菌製剤用のものであり、*L. mesenteroides*、*L. fermenti* #3071、*L. casei* #3067はBioassayに使用したものである。東京医大・大黒教授より分与された腔由来の *L. acidophilus* 4株(D30, D33, D82, D88)、東京医大・大西教授より分与された *L. acidophilus* 3株、(Hill₁ Hill₁₂, Harrison 3 A 15)は American Type Culture Collection 由来のものである。その他東大応用微研・北原教授より分与され5株

(*L. acidophilus* # 506, *L. arabinosus* (東大2), *L. casei*, *L. plantarum* # 11, *L. brevis* L. S. W. 431は Bioassay に使用せるものである。)日大歯学部・白土教授より分与された口腔由来 *L. acidophilus* 2株(Z 27, Z 29)、当教室保存の *L. acidophilus* 4株、(齶窩由来株 O₃ 株、母体腔由来の 7 Ms 株、同口腔由来の 7 Mm 株、及び新生児口腔由来の 7 Km 株)、並びに当教室の相場²²⁾の *L. bifidus* 5株(#1, #7, #8, #22. K 41)である。

2. 生物学的性状

使用せる菌株のうち、日大歯学部、東京医大由来の

表1 供試 *L. acidophilus* の生物学的性状(当教室保存株)

菌株	グラム染色	形態	運動	カタラーゼ	亜硝酸塩	ゲラチン	耐熱性 60°15'	BTB牛乳		含水炭素分解能										
								酸産生	凝固	マルトローゼ	マンノローゼ	サツカロローゼ	グルコローゼ	ラクトローゼ	アラビノローゼ	ラフィノローゼ	トレハロローゼ	ガラクトローゼ	レブローゼ	
7 Mm	+	桿	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+
7 Ms	+	〃	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
7 Km	+	〃	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
O ₃	+	〃	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	±	+	+	-

表2 供試 *L. acidophilus* の生物学的性状 (日本大学歯学部由来株)

菌株	グラム染色	肝臓ブイオン所見		*発育可能 pH	コロニー		莢膜	胞子	溶血		ゲラチン液化	耐熱性 60°C 30'	終末 pH	インドール産生	硝酸還元	カタラーゼ	リトマス牛乳		
		発育状態	レンサ状態		菌体	馬血通液寒加			馬ブドウ糖寒加	馬血通液寒加							馬ブドウ糖寒加	凝元	還元
Z 27	+	中等度混濁	18hで5~10のレンサを作る	桿菌であまり長くない	4.0 ~ 5.0	分離当時は露滴状微小	乍ら緑暈を有する	糖が入る為多少大きくなる	-	-	±	-	-	3.4 ~ 3.6	-	-	-	+	+
Z 29	+																		

* 耐 酸 性

表3 供試 *L. acidophilus* の生物学的性状 (東京医科大学由来株)

菌株	グラム染色	肝臓ブイオン所見		発育可能 pH	莢膜	胞子	ゲラチン液化	インドール産生	亜硝酸塩還元	カタラーゼ	リトマス牛乳											
		発育状態	レンサ状態								菌体	凝固	還元									
D 30	+	発育良好	単個乃至数個	5.0~7.0	-	-	-	-	-	-	+	+										
D 33	+		〃										中等度桿菌	〃	-	-	-	-	-	+	+	
D 82	+		〃										〃	〃	-	-	-	-	-	-	+	+
D 88	+		〃										〃	〃	-	-	-	-	-	-	+	+

* 耐 酸 性

表4 供試 *L. acidophilus* の生物学的性状

菌株	糖	グルコース	ラクトローゼ	ラフィノーゼ	マルトローゼ	サツカロース	デキストリン	マンニット	イヌリン	ザリチン	ガラクトーゼ	グリセリン	マンノーゼ	アラビノーゼ	エスクリン
		Z 27	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	±	.	.
Z 29	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	±	.	.	.	
D 30	+	+	.	.	+	-	-	-	+	+	+
D 33	+	+	.	.	-	-	-	-	-	+	+
D 82	+	+	.	.	+	+	+	-	+	+	-
D 88	+	+	.	.	-	-	-	-	-	+	+

もの及び当教室保存の菌株の性状は表1, 表2, 表3, 表4に示す通りである。

グラム染色性, 形態, 鞭毛, 胞子, 莢膜の有無, ゲラチン液化作用, インドール産生試験, 硝酸塩還元作

用、耐熱試験、溶血作用等すべて *Bergey's manual* に示す通りであり、ブイオン発育状態は Z 27, Z 29 株は 1% 糖ブイオン (pH 7.2) 18 時間培養で大部分が軽度の混濁を呈し、雲架状沈澱を生じた。東京医大由来株は 1% ブドウ糖加肝臓ブイオンで、東歯大株は同上ブイオンで同様の所見を認めた。終末 pH は Z 27, Z 29 は 1% 糖ブイオン (pH 7.2) 37°C 5 日間で 4.4~3.8, 東歯大株同上ブイオン (pH 7.2) で 4.4~4.0 を示した。

含水炭素分解能は、基礎培地に東歯大株は Hiss 血清水を、日大株は血清ブイオンを、東医大株はチスチ

ン加ブイオンに糖を 1% (日大株は 0.5%) を加えたものについて検した。ラクトーゼ、マルトーゼを全株共分解、アラビノーゼを東歯大株非分解、東医大株は分解、その他の糖は菌株により異なり一定していない。

L. bifidus については形態上双枝を有し (継代により消失することあり)、分離培養時は偏性嫌気性である。糖分解能は # 22 を除き、ラクトーゼを分解し、キシローゼ、アラビノーゼは一定していない。その他はほぼ *L. acidophilus* に近い性状を示している。

III 凝集反応

1. *L. acidophilus* 免疫血清をもつて行う凝集反応 (1) 菌液

実験に使用した乳酸桿菌は、すべて 1% ブドウ糖加肝臓ブイオン又はサイオグリコレート培地に 37°C 72 時間培養するとよく発育する。しかし、これらの菌を鏡検すると、多くの菌はレンサを形成しており、これを遠沈して菌を集め、凝集用とする場合は自然凝集を起し易い。故に凝集用の菌液としては液体培養菌は不適である。これらの菌は大量の菌を必要とする吸収試験、赤血球凝集反応用の感作用に使用することとした。

この菌は牛乳用標準寒天 (北研) に 37°C 3 日培養すると比較的良好に発育し、これを生理食塩液に浮遊させたものは自然凝集を起す傾向が少ないので、凝集反応には専らこの培地上に培養した菌を使用した。これでもなお自然凝集を起すものは、菌液を破壊させない程度に超音波を作用させ (9 KC, 150mA, 5 分) 1

夜氷室に保存後、大きな菌塊の自然沈下を待ち、その上層部の平等な菌液を使用すれば凝集試験用菌液としては充分満足する成績が期待される。かかる菌液を鏡検すると多くは単独の桿菌で、その中に数個の短いレンサをなす菌が混在する程度である。使用菌の菌液はネフロメーターで測定した標準大腸菌菌液と比較して 1mg/cc の濃度に調製した。

(2) 免疫血清の製造

1% ブドウ糖加肝臓ブイオンに 37°C 3 日間培養した菌を、滅菌脱脂綿にて濾過し、これを遠心沈澱し、この沈澱を 3 回生理食塩液にて洗浄し、これを 5mg/cc の菌浮遊液とし、N/10 NaOH で pH を 7.2 に修正し、0.5% ホルマリンを加えて抗原とした。3kg 前後の健康白色家兎の耳静脈に 0.25cc, 0.5cc, 1.0cc, 2.0cc, 4.0cc, 5.0cc と 3~5 日間隔で注射し、最終注射後 7 日目に心臓穿刺により試探液を行い凝集価 1280 倍以上に達した時に採血した。なお、使用家兎は免疫

表 5 使用血清の凝集価

血清希釈		20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	対照
		免疫血清									
<i>L. acidophilus</i>	東大 506	+++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-
	O ₃	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	±	-
	7 Ms	+++	++	++	+	-	-	-	-	-	-
	7 Km	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-	-
	7 Mm	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-
	Z 27	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	±	-
	Z 29	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	-	-
<i>L. arabinosus</i>	東大 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	±	-

前に自然凝集価の40倍以下のもののみを使用した。この菌の抗体産生能は甚だ強く、10回以上の免疫を行つても凝集価320倍以上に達しないものがあつた。使用血清の凝集価は表5に示す通りである。このうち7種は *L. acidophilus* 血清で、他の1種は *L. arabinosus*

血清である。

(3) 使用血清の交差凝集反応

使用した8種の血清の交差凝集反応は表6に示す通りである。この表に見られるように、自己と同じ凝集価まで示したものは東大506血清においてのみ認めら

表6 *L. acidophilus* 各免疫血清の交差凝集反応

血清 \ 抗原	大東506	O ₃	7 Ms	7 Km	7 Mm	Z 27	Z 29	* 東大2
東大506	320	160	—	160	80	320	160	320
O ₃	—	2560	—	—	—	40	40	—
7 Ms	—	—	160	40	80	80	—	—
7 Km	—	40	80	640	80	320	40	40
7 Mm	—	—	80	80	640	—	—	—
Z 27	—	40	—	—	—	2560	160	80
Z 29	—	160	80	40	160	320	1280	160
東大2*	—	—	—	—	40	160	80	2560

* *L. arabinosus*

れた過ぎない。その他の血清については僅かな類属凝集反応が現われているに過ぎない。

東大506血清については、Z 27、東大2の2株は自己と同一の凝集価まで凝集を示しているが、逆にZ 27、東大2の両血清に東大506株が全く凝集しないので、この凝集は unilateral の関係である。この血清をZ 27、又は東大2の両株で吸収しても東大506血清の凝集価が僅かに低下するに過ぎない。このことは東大506株は特異の抗原を有し、Z 27、東大2との共通抗原は単に minor antigen に過ぎないことを示す。

O₃血清は特異性が高く、Z 27、Z 29株を僅かに凝集するに過ぎない。但し、逆にZ 27、Z 29血清にも凝集するし、このうちのいずれか一方の菌で吸収すると、共通抗原が除去される。この三者には Minor antigen の共通抗原のあることがわかる。

7 Ms血清は凝集価が低いにも拘らず、比較的多くの類属凝集を示すものが多く、このうち2株は交差反応が成立する。故に7 Ms、7 Km、7 Mmの3株には共通抗原を有することが認められる。しかし、7 Ms、7 Km、7 Mm共に自己菌に特異の抗原を有する。

Z 27、Z 29及び東大2の3菌株も、それぞれ特異の抗原を有する外に、お互いに Minor antigen の共通抗原を有する。

以上のことを要約すれば、使用した8菌株に同一の

抗原のものはなく、それぞれ独特の特異抗原を有する。unilateral agglutination を一先ず除いて、Colateral agglutination のみを共通抗原とし、これを a. b. c. ……で表わし、特異抗原を I, II, III. ……で表わすとすれば、使用した菌の抗原構造は次の如く表わすことが出来る。

東大506	I ……
O ₃	II a, b. ……
7 Ms	III c. ……
7 Km	IV c. ……
7 Mm	V c. ……
Z 27	VI a, d. ……
Z 29	VII b, d. ……
東大2	VIII d. ……

しかしこのうち東大2は *L. acidophilus* でなく *L. arabinosus* であるので、*L. acidophilus* と同じく主抗原をVIIで表わすことが適当であるかどうかは、今後 *L. arabinosus* を多数集めて免疫学的に検討しなければ判らない。ここでは一応一連番号VIIIをもつて表わすことになる。

(4) *L. acidophilus* 免疫血清をもつてする各菌株の凝集反応

a) *L. acidophilus* の凝集反応

前述の *L. acidophilus* 免疫血清7種、*L. arabinosus* 免疫血清1種を用いて各方面より分与を受けた *L.*

acidophilus 10株, *L. bifidus* 5株, その他の *Lactobacillus* 5株及び同じ *Lactobacillaceae* の他の族に属する *Leuconostoc mesenteroides* 1株合計21株の

凝集反応を行つた. 抗原の製法及び凝集反応術式は前実験と同様である. その成績は表7の通りである.

この表7の成績に見られるように, 検査に供した各

表7 *L. acidophilus* 血清の各種菌に対する凝集反応

血清 凝集価		<i>L. acidophilus</i>							* 東大 2
		東大 506	O _s	7 M	7 Km	7 Mm	Z 27	Z 29	
		320	2560	160	640	640	2560	1280	
<i>L. acidophilus</i>	D 30	—	80	80	160	80	—	—	—
	D 33	—	80	—	—	—	—	—	80
	D 82	—	320	—	—	—	160	160	—
	D 88	—	80	—	—	—	80	80	—
	Hill 1	80	160	—	—	—	—	—	—
	Hill 12	160	320	—	—	—	—	—	—
	Harrison 3A 15	—	—	—	—	—	—	—	—
	神戸 A	80	80	—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	320	80	—	
	<i>L. bulgaricus</i> LB	—	—	—	—	—	—	—	
	<i>L. fermenti</i> # 3071	—	—	—	—	80	—	—	
	<i>L. plantarum</i> # 11	160	—	—	80	—	320	80	
	<i>L. previs</i> LSW 431	—	—	—	—	—	80	320	
	<i>L. casei</i> # 3067	—	—	—	—	—	—	—	
	<i>L. casei</i> 東大	—	—	—	—	—	—	—	
<i>L. bifidus</i>	# 1	80	80	—	160	—	320	—	320
	# 7	160	160	—	80	—	320	—	160
	# 8	—	—	—	—	—	160	—	—
	# 10	80	—	—	80	—	160	—	—
	# 22	—	—	—	—	—	160	—	160
	K 41	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		—	—	—	—	—	—	—	—

※ *L. arabinosus*

菌は, 使用血清の凝集価まで凝集を示したものは殆んどなかった. 即ち *L. acidophilus* の中にも, 免疫血清製造に使用した菌株と同一抗原構造のものは認められなかった. 川畑¹⁴⁾ ¹⁵⁾ は腔内より分離した乳酸桿菌について凝集反応によつて抗原分析を行い, I~VIII型に分類している. しかも同一菌群に属するものが数株ずつ分離されている. 又春木¹⁶⁾ は齶食, 膣及び腸管由来の乳酸桿菌を, 沈降反応をもつて分析を行い, 膣及び腸管由来の乳酸桿菌は菌株特異性が強いが, 齶食由来の乳酸桿菌は抗原的に2群に分けられると述べている.

筆者の実験によれば, *L. acidophilus* 16株のうち, 血清学的に同一菌型に属するものが1株も認められなかった. これは検査菌数が少ないためでもあるが, 最も大きな原因は分離した場所が異なるためであると思われる. 同一集団のもの, 又は同一流行における場合の菌群が, 同一であることは腔内細菌においては, *Shigella*, *Salmonella* の如き病原菌でも, *Escherichia coli* のような非病原菌でも, すでに多くの研究者によつて報告されているところである. 故に川畑, 春木等によつて報告された乳酸桿菌は, 同一病院内又は同一系の感染例より分離されたものが含まれていたもので

はなかるうか。

検査した *L. acidophilus* 株の中には、同一菌型に属する菌はなかつたが、類属凝集反応を起すものは少なくなつた。東大 506 血清については Hill 1, Hill 12 及び神戸の 3 株が類属凝集を起したが、Hill 12 菌で吸収すればいずれも類属凝集は消失したので、この共通抗原は単一のものと思われる。O₃ 血清には 7 株の菌が凝集したが、吸収試験を行った結果、少なくとも 2 つの共通抗原があることがわかつた。7 Ms, 7 Km, 7 Mm の 3 血清は類属凝集が甚だ少なく、これと共通抗原を有するものは D 30 の 1 株のみであつた。又 Z 27, Z 29 血清に対する類属凝集は全く同じ態度であつた。又 *L. arabinosus* 東大 2 の血清も殆んど類属凝集を示さず、ただ D 33 のみが弱度に凝集したに過ぎなかつた。Harrison 3 A 15 及び *L. bulgaricus* はいずれの血清とも類属凝集反応を起さなかつた。

以上の成績より検査した *L. acidophilus* 9 株の共通抗原を示せば次のようになる。

L. acidophilus

D 30	f, g, h, i
D 33	f, l
D 82	f, j, k
D 88	f, j, k
Hill 1	e, f
Hill 12	e, f
Harrison 3 A 15	
神戸	e, f
A	j, k

(5) *L. bifidus* の凝集反応

7 つの *L. acidophilus* の免疫血清をもつて *L. bifidus* 6 株の凝集反応を行った。本菌はすべて当教室保存菌株で、その凝集反応についてはすでに相場²³⁾が報告している。

東大 506 血清には # 1, # 7 及び # 10 株が類属凝集反応を起したが、これらは *L. acidophilus* Hill 1 で吸収すると吸収し尽されるので、これと同じ共通抗原であろうと思われる。

O₃ 血清に対しては # 1, # 7 の 2 株が凝集を示したが相互吸収によつて # 1 は *L. acidophilus* Hill 1 と同一共通抗原を有し、# 7 は *L. acidophilus* Hill 12 と同一共通抗原を有することが明らかにされた。又 7 Km 血清には # 1, # 7 及び # 10 株が凝集されたが、これらの類属凝集も *L. acidophilus* D 30 の吸収で除かれるので、同一抗原であろうと考えられる。

Z 27 血清には上記の *L. bifidus* 6 株のうち、5 株が類属凝集を示し、Z 27 株は *L. bifidus* と普遍的な共通抗原を有することを示している。しかしこの共通抗原も、吸収試験の結果は Z 27 と D 82 との間の共通抗原と同一のものであることが明らかにされた。

L. arabinosus 東大 2 血清にも # 1, # 7, # 10 の 3 株が凝集した。しかしこの菌の共通抗原は *L. acidophilus* D 33 株で吸収しても吸収し尽されないで、異なつた抗原であろうと思われる。

その他、7 Ms, 7 Mm 及び Z 29 の各血清にはいずれの菌も凝集しないので、共通抗原はない。

以上のように、免疫に使用した *L. acidophilus* 株と、*L. bifidus* 株との間には主抗原の共通なものは認められなかつた。しかし共通抗原は K 41 以外の 5 株に認められた。しかもこれらの菌に認められた大部分の共通抗原は、他の *L. acidophilus* 株の minor antigen として持つているものと同一であつた。*L. bifidus* 株の Minor antigen を前述の *L. acidophilus* 株の Minor antigen と同様の方法で記載すると次のようになる。

# 1	e, f, h, j, l,
# 7	e, f, h, j, l
# 8	j,
# 10	e, h, j
# 22	j, e
K 41	

このように *L. bifidus* の菌株によつては、# 1 のように *L. acidophilus* と種々の共通抗原を有するものと、# 14 のように全く共通抗原を存しないものがある。このような多くの種類の Minor antigen は菌株に特有なものか、菌型に特有なものか、又診断的意義があるものかどうかの決定は今後多くの菌株を集めて検討しなければならぬであろう。

(6) その他の *Lactobacillus* 属の凝集反応

L. acidophilus, *L. bifidus* 以外の乳酸桿菌としては *L. fermenti*, *L. plantarum*, *L. brevis* の各 1 株、*L. casei* 2 株、合計 5 株を使用した。このうち、*L. plantarum* # 11 のように、*L. acidophilus* 免疫血清の多くのもとの類属凝集反応を示すものと、*L. casei* # 3067, *L. casei* 東大のように全く類属凝集反応を起さないものがある。これを *L. bifidus* において行つたと同様な方法で類属反応に関与した抗原を解析すると次のようになる。

L. bulgaricus .

- L. fermenti # 3071 j
- L. plantarum # 11 e, h, j, k, l
- L. brevis L. S. W. 431 k, l
- L. casei # 3067 .
- L. casei 東大 .

以上のように検査した乳酸桿菌は免疫に使用した *L. acidophilus* と主抗原の一致するものは全く認められないが、Minor antigen の共通するものがあつて類属凝集を起すことが判明した。なお *Lactobacillaceae* に属し、*Lactobacillus* と族の異なる *Leuconostoc mesenteroides* は1株ではあるが、検査してみると *Lactobacillus acidophilus* とは全く抗原構造が異なることを知つた。

2. *L. bifidus* 免疫血清をもつて行う凝集反応

(1) 使用菌液及び免疫血清製造法

L. bifidus は概して *L. acidophilus* よりも発育が良くないが、2%ブドウ糖及び0.1%チステン、0.02

%グルコサミン加肝エキス中性寒天に 37°C 48時間培養せる菌液を塗布、37°C 72時間黄燐燃焼法により嫌気培養し、これを集菌して遠心沈澱し、沈澱を生理食塩液にて3回洗浄し 10mg/cc の菌液とした。この菌液は自然凝集を起し易いので超音波をかけ1夜氷室におき平等に混濁した上層をとり 1mg/cc の濃度の菌液として凝集反応を行つた。使用菌液の pH を 7.2 に修正することによつて使用可能の平等な菌液を得ることが出来る。

血清の製造方法は *L. acidophilus* の場合と同様であるが、凝集価の高い血清を得ることは困難であつた。*L. bifidus* 血清は当教室において相場の使用したものと同一のものであつた。

(2) 使用血清の交差凝集反応

L. bifidus の # 1, # 8, # 10, # 22 及び K 41 の各家兔免疫血清を用いて交差凝集反応を試みた成績は表8の通りである。これを相場の方法に従つて、*L.*

表8 *L. bifidus* 使用血清の交差凝集反応

血清 \ 抗原	# 1	# 8	# 10	# 22	K 41
# 1	+++	—	—	++	—
# 8	++	++	—	++	—
# 10	+	+	++	—	—
# 22	+	++	+	++	—
K 41	+	—	—	++	++

bifidus の # 1, # 8, # 10, # 22 及び K 41 の血清に凝集する抗原をそれぞれ a, b, c, d 及び f とすれば各菌の抗原は次のように表わされる。

- # 1 a, b, c, d, f.....
- # 8 b, c, d,.....
- # 10 c, d.....
- # 22 a, b, d, f.....
- K 41 f.....

この抗原構造は相場のそれと必ずしも一致しないが、これは各共通抗原の Minor antigen の発育が培養によつて産生される割合が異なるためか、又は抗体産生能が家兔によつて必ずしも一致しないためかも知れない。いずれにしても、使用した *L. bifidus* 株間では類属凝集反応が著明であることが判る。

(3) *L. acidophilus* を用いての凝集反応

L. acidophilus の各菌株は *L. bifidus* 血清には殆んど凝集しないが、ただ # 22 血清には数株の菌株が

凝集するに過ぎない。即ち、この成績から見ると、*L. acidophilus* と *L. bifidus* 間には著明な共通抗原が認められない。ところが前述のように *L. acidophilus* の免疫血清には *L. bifidus* のあるものは凝集を起し、共通抗原のあることをうかがわせる。しかしこのような unilateral の凝集反応を示す抗原は minor antigen (微量抗原) であつて、診断的には余り意義のないものであろう。

以上のことから、*L. bifidus* と *L. acidophilus* の間には筆者の実験を行つた範囲においては余り重要な共通抗原はないと思われる。

(4) その他の *Lactobacillus* 属との凝集反応

L. acidophilus 免疫血清を用いて行つたと同様、他の *Lactobacillus* 属をもつて *L. bifidus* 血清に対する凝集反応を行つた成績は表9の通りである。この表9に見られるように *L. casei* # 3067 のみが、*L. bifidus* # 22 血清に凝集を示したに過ぎなかつた。故

表9 L. bifidus 血清の各菌株に対する凝集反応

抗 原		L. bifidus				
		凝集価				
		# 1	# 8	# 10	# 22	K 41
		320	160	640	160	320
L. acidophilus	東大 560	—	—	—	—	—
	O ₃	—	—	—	—	—
	7 Ms	—	—	—	—	—
	7 Km	—	—	—	—	—
	7 Mm	—	—	80	—	—
	Z 27	—	—	—	—	—
	Z 29	—	—	—	—	—
	D 30	—	—	—	—	—
	D 33	—	—	—	—	—
	D 82	—	—	—	80	—
	D 88	—	—	—	80	—
	Hill 1	—	—	—	160	—
	Hill 12	—	—	—	160	—
	Harrison 3A 15	—	—	—	—	—
	神戸 A	—	—	—	—	—
L. bulgaricus LB		—	—	—	—	—
L. arabinosus		—	—	—	—	—
L. fermenti # 3071		—	—	—	—	—
L. plantarum # 11		—	—	—	—	—
L. brevis L. W 431		—	—	—	—	—
L. casei # 3067		—	—	—	160	—
L. casei 東大		—	—	—	—	—
Leuconostoc mesenteroides		—	—	—	—	—

に *L. bifidus* とこれらの *Lactobacillus* 属との間には重要な共通抗原がないものと思われる。又 *Leuconostoc mesenteroides* についても同様の実験を行ったが、*L. bifidus* とは共通抗原が認められなかつた。

以上のことから、*L. acidophilus* 以外の種々の *Lactobacillus* 属の間には殆んど共通抗原がないといえる。

IV 補体結合反応

L. acidophilus は自然凝集反応を起し普通の方法では凝集反応を行い難いので既に古くより補体結合反応で抗原構造の分析が試みられた^{7) 9) 16) 18)}。しかしあるものは特異性が高いと述べ、あるものはこの方法によつては菌型分類が困難であると報告している。

筆者も前述の凝集反応に用いた免疫血清と菌株とをもつて補体結合反応を行った。その成績は表 10, 11 の通りである。

1. 実験方法

抗原としては次の菌液を使用した。牛乳用標準寒天(北研) 37°C 72時間培養した菌を、生理食塩水にて3回遠沈洗浄し、1mg/cc の菌浮遊液を作る。この菌液を通減希釈して抗補体作用を検査すると、多くの菌は0.5mg/cc の菌液でその作用が認められなかつた。故に抗原には腸内細菌の補体結合反応の場合と同じく^{23) 24)} 0.25mg/cc の菌液を使用することにした。補

表10 *L. acidophilus* の補体結合反応 I (※ *L. arabinosus*)

血清 希釈倍数 抗原	東大 506				O ₃				7 Ms				抗体 対照
	20	40	80	対照	20	40	80	対照	20	40	80	対照	
東大 506	H	k	L	L	L	L	L	L	k	L	L	L	L
O ₃	k	L	L	L	H	k	k	L	K	L	L	L	L
7 Ms	L	L	L	L	L	L	L	L	K	k	k	L	L
7 Km	k	L	L	L	k	L	L	L	k	K	L	L	L
7 Mm	k	L	L	L	k	L	L	L	L	L	L	L	L
Z 27	k	L	L	L	k	L	L	L	L	L	L	L	L
Z 29	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
東大 2*	K	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

〔註〕 H……非溶血 K……わずかに溶血 k……大部分溶血 L……完全溶血

表11 *L. acidophilus* の補体結合反応 II

血清 希釈倍数 抗原	7 Km				7 Mm				Z 27				Z 29				東大 2*				
	20	40	80	対照	20	40	80	対照	20	40	80	対照	20	40	80	対照	20	40	80	対照	
東大 506	k	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	k	L	L	L	L	L	L	L	L
O ₃	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
7 Ms	L	L	L	L	L	L	L	L	k	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
7 Km	K	k	L	L	k	L	L	L	k	L	L	L	k	L	L	L	k	L	L	L	L
7 Mm	L	L	L	L	K	k	L	L	L	L	L	L	k	L	L	L	k	L	L	L	L
Z 27	k	L	L	L	k	L	L	L	H	K	k	L	k	k	L	L	L	L	L	L	L
Z 29	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	K	k	L	L	L	L	L	L
東大 2*	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	k	L	L	L	H	H	K	L	L

※ *L. arabinosus*

体は2単位を用いた。血清を通減希釈し、小試験管に0.25cc分注し、これに補体0.25cc(2単位)、抗原0.25ccを加え4°Cで3時間結合させ、これを37°Cの水槽に15分間保ち、さらに溶血系0.25ccを加え37°C2時間作用後判定する。

2. 実験成績

上述の方法で行った実験成績は表10及び表11である。この表に見られるように、homologの菌と血清の間には、溶血阻止作用が比較的よく現われているが、その陽性度は甚だ低く、凝集反応の凝集価とは必

ずしも平行しない。他の菌に対して僅かな類属反応を示すものがあつたが、この成績も凝集反応における類属凝集反応の成績に一致しないものがあつた。しかしこの方法は凝集反応より甚だしく感度が低いが、homologの菌を鑑別することは出来る。しかし一般に補体結合反応の成績を比較する場合は、同じ補体同じ溶血系を使用した時のみ可能であつて、異なるものを用いた時には比較し得ない不便がある。故に菌型を抗原的に分類する場合に他により良い方法がない時にのみこの方法が採用されるべきものと思う。

V 血球凝集反応

細菌と赤血球とを混合すると凝集を起すことは半世紀以上も前に Kraus & Ludwing²⁰⁾により報告され

たところである。しかしこのような、いわゆる直接赤血球凝集反応は特異な抗原・抗体反応ではなく、菌の

抗原分析には余り役立つものであつた。Keogh²⁶⁾等が新しく発見した、いわゆる間接血球凝集反応とは、抗原が赤血球に吸着され、これと免疫血清との間に起る凝集反応であり、かつ菌体凝集反応と同じ意味を有するので抗原分析に広く応用されるようになり、現在までに各種の細菌についてこの方法が行われて来た²⁷⁾。

相場²⁸⁾は *L. bifidus* についての血球凝集反応を行い、この菌の抗原分析には菌体凝集反応と共に利用出来るかと述べている。

筆者は *L. acidophilus* について血球凝集反応を行い、菌体凝集反応との関係を明らかにしようと試みた。

1. 実験材料及び実験方法

1%ブドウ糖加肝臓ブイオンに培養した菌を用いて10mg/ccの菌液とする。この菌液のpHを7.2に修正して100°C 1時間加熱する。この際pHが酸性に傾いていると抗原の抽出が悪い。その遠沈上澄を感作用抗原とする。

赤血球は山羊の赤血球を用いる。脱纖維素血液を3回生理食塩液で洗浄する。抗原抽出液4ccに赤血球0.1cc加え、2.5%の赤血球浮遊液とし、37°Cで1時間感作し、次いでこれを生理食塩液で洗浄する。使用する赤血球濃度は、赤痢についての村島²⁹⁾の実験に従つて0.5%とした。

小試験管に遞減稀釈血清0.5cc、感作血球0.5ccを

入れよく振盪し37°C 2時間作用後1夜氷室に保存して判定する。

2. 実験成績

表12に示すように、菌体凝集反応と血球凝集反応の成績は必ずしも平行しない。

表12 *L. acidophilus* の菌体凝集反応と血球凝集反応の比較

血清	菌体凝集反応	血球凝集反応
東大 506	320	160
O ₃	2560	1280
7 Ms	160	320
7 Km	640	1280
7 Mm	640	80
Z 27	2560	640
Z 29	1280	160
東大 2*	2560	160

※ *L. arabinosus*

7 Km のように菌体凝集価より高い力価を示すものがあつたが、多くはむしろ低い力価を示した。殊にZ 29、東大2の両血清においては、著しく低い力価であつた。これは加熱により抗原抽出が困難であるためか、又は抽出抗原が赤血球に吸着し難いからであろうが、その原因については今後の研究にまたなければならぬ。

表13 各菌株に対する *L. acidophilus* 血清の血球凝集反応 (※ *L. arabinosus*)

血清		東大 506	O ₃	7 Ms	7 Km	7 Mm	Z 27	Z 29	※ 東大 2
<i>L. acidophilus</i>	東大 506	160	40	—	—	—	80	40	—
	O ₃	40	1250	—	—	—	40	40	—
	7 Ms	—	—	320	160	40	—	40	—
	7 Km	40	—	40	1280	80	—	—	—
	7 Mm	40	—	40	320	80	—	40	—
	Z 27	80	80	—	—	—	640	80	80
	Z 29	80	80	—	—	—	80	320	40
<i>L. arabinosus</i> 東大 2		40	—	—	—	—	320	80	320
<i>L. bifidus</i>	# 1	•	80	—	40	—	320	•	•
	# 7	•	40	—	40	—	40	•	•
	# 10	•	40	—	40	—	320	•	•
	# 22	•	40	—	40	—	320	•	•
	K 41	•	—	40	40	—	80	•	•

次に *L. acidophilus* 血清の各菌株に対する赤血球凝集反応を行ったが、その成績は表13の通りである。本表で見られるように、菌体凝集反応で陽性を示した菌は、大部分の菌において血球凝集反応でも陽性を示した。又 *L. acidophilus* 東大 506 血清と、同じく *L. acidophilus* Z 27, Z 29 の両株におけるように、

菌体凝集反応では *unilateral* の関係にあつたが、赤血球凝集反応においては Z 27, Z 29 血清が東大 506 株を凝集することが明らかになつたので、これらの菌及び血清の間では相互凝集反応を呈し、お互いに共通抗原のあることが確立された。

VI 考 按

乳酸桿菌の血清学的研究では、Lash⁴⁾等の研究以来凝集反応、沈降反応、補体結合反応等種々の免疫反応を用いて行われて来たが^{6) 7) 20)}、系統的分類は成功しなかつた。その後 Williams^{12) 30)}は口腔内乳酸桿菌について凝集反応及び吸収記載により A, B, C, D の4抗原を発見した。次いで Orland¹³⁾は乳酸桿菌の中には Williams の抗原以外に、さらに F, G, H, I の4抗原があることを報告した。

乳酸桿菌の凝集反応による抗原分析は、これらの菌が自然凝集を起し易いことと、健康家兎血清中には正常凝集素が存在することのために^{30) 31)}、種々の障害を示していた。しかし適当な方法と十分な注意を払うならば凝集反応による抗原分析が出来るであろう。

春木¹⁹⁾は *L. acidophilus* の凝集反応は類属反応が強く、特異性がないためむしろ類属反応の少ない沈降反応の方が抗原分析に適していると述べている。又相場は²²⁾ *L. bifidus* について凝集反応を行い、各菌株間の類縁関係を明らかにしている。又川畑は¹⁵⁾ *L. acidophilus* について凝集反応と沈降反応を比較検討して、前者は後者よりも鋭敏度が高く、後者で検出出来ない Minor antigen (微量抗原) も検出出来るので、抗原分析はむしろ凝集反応を推奨している。

筆者は、各所で分離された *L. acidophilus* 7株の免疫血清と同じ属に属する *L. arabinosus* 1株の免疫血清を用いて、お互いの交差凝集反応を行ったところ、使用菌株は、各株が特異抗原を有する外にお互いに複雑な共通抗原を有することが明らかにされた。こ

のことにについては、既に Weiss & Rettger³²⁾, Canby & Bernier¹¹⁾等も多数の乳酸桿菌について指摘しているところである。しかも *L. acidophilus* のみならずその近縁の種々の *Lactobacillus* 属間においても、多少の差こそあれ、共通抗原のあることが明らかにされた。しかし、*Lactobacillus* とは異なつた *Streptococcaceae* 族に属する *Leuconostoc* 属は使用した8血清のいずれにも凝集しなかつた。使用した菌が僅か1株に過ぎないので、確実なことがいえませんが、このことをもつて他を類推することが出来るとするならば、分類学上興味ある問題である。

Keogh & Ludwig²³⁾が初めて百日咳菌抽出抗原を赤血球に吸着させ、これをもつて行ふいわゆる間接血球凝集反応は、その後 Middlebrook³³⁾により結核の抗体証明に応用されて以来、多くの研究者によつて種々の菌についてこの方法が応用されるようになった³⁴⁾。*L. acidophilus* については、西沢⁸⁵⁾等がこの方法を用いて本菌の分類を行い満足すべき成績が得られたと記載している。又相場²²⁾は、*L. bifidus* の抗原構造の分析にこの方法を応用している。

筆者も赤血球凝集反応をもつて²³⁾⁻⁴⁰⁾ *L. acidophilus* の抗原分析を行い、多少の差異はあつたが、菌体凝集反応とほぼ同様の成績を得た。この方法は菌体抽出抗原を使用するので、*Lactobacillus* のように自然凝集を起しやすい菌については、推奨さるべき方法であろう。

VII 総括及び結論

筆者は本論文において、まず *L. acidophilus* の免疫学的研究を行い、次いで *L. acidophilus* と他の *Lactobacillus* 属の菌種との抗原関係を検討し、次のような成績を得た。

1) 本実験に用いた菌株は、いずれも Bergey's

manual の記載に準じた生物学的性状を示す。しかし、標準菌株以外のものについて、特に糖分解性状においてかなり異なつた成績を示しているが、これは検査方法、その他、各菌の由来がそれぞれ異なるからであろう。この点は Morn, Kull & Rettger 岡本, 石井

等報告者により、その成績がまちまちである点からもうなずける。

2) *L. acidophilus* 7株と、*L. arabinosus* 1株をもつて免疫した家兎血清を用い、交差凝集反応を行つたところ、各菌はそれぞれ主抗原を有すると共に相互に共通な多数の副抗原たる *Minor antigen* を有することを明らかにした。又 *L. arabinosus* と共通抗原を有する菌株があつた。

3) *L. bifidus* 及びその他の *Lactobacillus* 属との間の抗原関係を見んとして凝集反応を行い、これらの菌と *L. acidophilus* との間に共通抗原を有することを明らかにした。しかし *L. acidophilus* の中には他の *Lactobacillus* 属と全く共通抗原をもたぬ菌株のあることを知つた。かつ族を異にする *Leuconostoc* 属とは全く共通抗原が認められなかつた。

4) *L. bifidus* 免疫血清を用いて *L. acidophilus* 及び他の *Lactobacillus* 属の菌体凝集を行つてみたところ、ある菌株は類属反応を示すものがあつたが、殆んど多数のものは凝集を示さなかつた。

5) *L. acidophilus* を用いて補体結合反応を行つた

ところ、主抗原を有する菌は陽性成績を示すが、共通抗原を有するものは鑑別することが困難であつた。

6) *L. acidophilus* 免疫血清を用いて血球凝集反応を行つてみるに、その凝集価は菌体凝集反応のそれと必ずしも一致していないが、ほぼ同様な成績が得られた。

以上筆者の *L. acidophilus* を中心とする *Lactobacillus* 属の免疫学的研究によつて、凝集反応並びに赤血球凝集反応上 *L. acidophilus* 菌株間には複雑な共通抗原があるが、補体結合反応によれば発見が難しいことなど、二三の重要な知見を得た。又 *L. acidophilus* と *L. bifidus* との抗原関係についても種々追究した。

執筆するに当り、ご懇篤なご指導とご校閲を賜つた恩師米沢和一教授に感謝すると共に、終始ご厚意あるご教示とご援助を戴いた北研・安育博部長並びに阿郎義雄氏に深謝します。又菌種分与を戴いた金大医学部・谷教授、東大応用微研・北原教授、東京医歯大・大黒教授、日大歯学部・白土教授、東京医歯大・大西教授に厚く御礼を申し上げると共に、本実験にご協力を惜しまれなかつた森内護博士、竹内太刀夫、関山幹雄の両氏をはじめ当教室各位に深甚なる謝意を表します

文 献

- 1) 中村・秋葉編：細菌学，各論，1，南山堂，昭30。
- 2) Tissier, H., : Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson, Ann. Inst. Pasteur : 19, 109, 1905.
- 3) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed. 1957.
- 4) Lash, A. F, and Kaplan, B. : A study of Döderlein's vaginal bacillus : Jour. Inf. Dis. : 38, 333—340, 1926.
- 5) 長谷川慶蔵：歯牙脱灰菌と人体乳酸桿菌との比較研究。歯科学報：42, 643, 742, 812, 883, ; 43, 18 昭11. 12.
- 6) 岡本俊次郎：腔桿菌に関する研究：十全会雑誌：40 (3), 822—925 昭10.
- 7) 石井次男：Döderlein 腔桿菌に関する研究：第1報，第2報：日本産科婦人科学会雑誌：4 (11), 935—945, 946—952 昭27.
- 8) Harrison, R. W., Zidek, Z. C. & Hemmens, E. S. : Studies on lactobacilli II type specific immunological reaction of oral strains : J. Inf. Dis. : 65 (3), 255—262, 1939.
- 9) Hunt, G. A. & Rettger, L. F. : A comparative study of

- members of the lactobacillus genus, with special emphasis on lactobacilli of soil and grain : Jour. Bact. : 20 (1), 61—83, 1930.
- 10) Howitt, & Beatrich : Cultural and serologic reaction of lactobacilli from the mouth : J. Inf. Dis. : 46 (5), 351—367, 1930.
- 11) Canby, C. P., and Bernier J. L. : Bacteriologic and immunologic studies in dental caries : Jour. Amer. Dent. Assoc. : 29, 606—1942.
- 12) Williams, N. B. : Immunologic reactions of lactobacilli : Jour. Amer. Dent. Assoc. : 37, 403—406, 1948.
- 13) Orland, F. J. : A correlation of antigenic characteristics among certain bacteria of the lactobacillus group : Jour. Inf. Dis. ; 86, 63—80, 1950.
- 14) 川畑喜積：腔桿菌の凝集反応による抗原分析：東京医科大学雑誌：15 (4), 763—776 昭32.
- 15) 川畑喜積：腔内乳酸桿菌と口腔内乳酸桿菌の比較：東京医科大学雑誌：15 (4), 777—783, 昭32.
- 16) 春木保彦：齧食の細菌学的研究：第2報，

- 特に齶食乳酸桿菌及び腸管乳酸桿菌との免疫学的性状による特異性について：口腔衛生学会雑誌：1 (2), 85~90, 昭28.
- 17) 勝野邦雄：腔内テールライン氏桿菌と哺乳児糞便中の乳酸桿菌との関係について：慶応医学：7, 1999-2011, 昭2.
- 18) Jötten, K. W. : Vergleichende zwischen dem Vaginalbazillus Döderleins und dem Bac. acidophilus des Säuglingsdarms : Arch. f. Hyg. : 91, 143-157, 1922.
- 19) 白土寿一他：第6回日本歯科医学会総会口演, 昭30.
- 20) 小堀寛：乳酸桿菌の栄養要求に関する研究：十全医学会雑誌：58, 65, 昭31.
- 21) 田中勝雄：乳酸桿菌のアミノ酸要求性に関する研究：十全医学会雑誌：58, 960, 昭31.
- 22) 相場市長：ピフイズス菌の凝集反応に関する研究：十全医学会雑誌：60 (8), 1371-1385, 昭33.
- 23) 山田健次郎：志賀菌 (Sh. dysenteriae 1) の変異について：北里実験医学：30 (1-2), 1-30, 昭32.
- 24) 大西博：Stamp & Stone の所謂α抗原について特にα抗原及びα抗体の腸内細菌診療の際の意義：慶応医学：35 (7), 603~630, 昭33.
- 25) Kraus, R. and Ludwig, S. : Über Bacteriohaemagglutinine und Antihämagglutinine : Wien Klin. Wochchr. : 15, 120-121, 1902.
- 26) Keogh, E. V., North, E. A., and Warburton, M. F. : Haemagglutinationins of the Haemophilus group : Nature : 160, 63, 1947.
- 27) Neter, E. : Bacterial haemagglutination and haemolysis : Bact. Rev. : 20, 166-188, 1956.
- 28) 村島英世：赤痢菌々体成分感作赤血球を用いた凝集反応について：第26回日本伝染病学会口演：昭27.
- 29) 勝野邦雄：腔分泌液の細菌学的研究 (其三) デーデルライン桿菌の研究：日本婦人科学会雑誌：21 (10), 1136~1205, 大正15.
- 30) Williams, N. B. : Antigenic components of lactobacilli of human oral origin : Jour. Inf. Dis. : 83, 31-41, 1948.
- 31) 広沢昇：初生児糞便より分離せる所謂嗜酸桿菌の細菌学的並びに血清学的研究：衛生学伝染病学雑誌：24 (4-5), 505~627, 昭3.
- 32) Weiss, J. E., and Rettger, L. F. : Lactobacillus bifidus : Jour. Bact. : 28, 501-521, 1934.
- 33) Middlebrook, G., and Dubos, R. J. : Specific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli : Jour. Exp. Med. : 88, 521-528, 1948.
- 34) Keoge, E. V., North, E. A., and Warburton, M. F. : Adsorption of bacterial polysaccharides to erythrocytes. : Nature : 161, 687-688, 1948.
- 35) 西沢清人・三井駿一・川浪藤二・関保平：Lactobacillus acidophilus 及び Lactobacillus bifidus の免疫学的差異：日本小児科学会雑誌：62 (8), 61-73, 昭33.
- 36) Kibby, W. M. M. : Hemagglutination reaction in streptococcal infections and acute rheumatic fever. : Proc. Soc. Expel. Biol. Med. : 78, 519-522, 1951.
- 37) Thomas, J. C. and Mennie, A. T. : Bacterial polysaccharides in the diagnosis of infections. The polysaccharide lysis test. : Lancet : II : 745-746, 1950.
- 38) Freeman, N. L., Felsenfeld, O., and Evaland, W. C. : Slide hemagglutination tests with O antigens of enteric organisms and Brucella. : Am. Jour. Clin. Pathol. : 25, 332-335, 1955.
- 39) Needell, M. H., Neter, E., Staubitz, W. J., and Bingham, W. A. : The antibody (hemagglutinin) response of patients with infections of urinary tract. : Jour. Urol. : 74, 674-682, 1955.
- 40) Felsenfeld, O., Freeman, N. L., and Mooring, V. L. : Tube and slide technic in the hemagglutination of Vibrio comma : Am. Jour. Med. Hyg. : 4, 318-320, 1955.