

# 菌體免疫原ニ關スル研究

## 第1報 菌體含水炭素ニ就テ

金澤醫科大學大里内科教室(主任大里教授)

專攻生 本 多 幸 男

*Yukio Honda*

(昭和16年10月6日受附)

### 内 容 抄 録

余ハ Boivin et Mesrobeanu ノ方法ニ從ヒ、「チフス菌」二木株ヨリ Heller 氏法, Sulfosalicylsäure 法, 醋酸黃血鹽試驗, Biuret 反應等ノ蛋白反應陰性ニシテ, Trommer 氏法, Nylander 氏法モ共ニ陰性, 唯 Molisch 反應ノミ陽性ニシテ窒素含有量 0.25g/dl ナル Opalischerend ノ抽出液ヲ得タリ。此ノ抽出液ハ Lipoid ト結合セル komplexe Polysaccharide ト推定サレル物質ニ

シテ、「マウス」及ビ家兎ニ對シ毒性ヲ有シ、「マウス」ニ 0.1cc 宛 3 回皮下注射スルニ著明ナル感染防禦力ヲ示シ, 家兎ヲ靜脈内注射ニテ免疫スルニ, 凝集價 100 00倍, 補體結合價10單位ノ免疫血清ヲ得タリ。該免疫家兎血清ヲ「マウス」ニ皮下注射スル事ニヨリ「マウス」ハ著明ナル被働性感染防禦性免疫ヲ示シタリ。即チ余ノ得タル抽出液ハ Vollantign タル性状ヲ有ス。

### 目 次

第1章 緒 言

第2章 文獻概要

第3章 抽出法

第4章 抽出液ノ性状

第5章 能働免疫實驗

第1項 實驗方法並ビニ結果

第2項 小 括

第6章 家兎免疫血清ヲ以テスル被働免疫實驗

第1項 抽出液免疫家兎血清

第2項 全菌免疫家兎血清

第3項 被働免疫實驗

第4項 小 括

第7章 總括並ビニ考按

第8章 結 論

### 第I章 緒 言

醫學ノ發達ニ伴ヒ各種病原菌ニ就イテモ廣汎ナル範圍ニ於テ微ニ入り細ニ亙ツテ詳細ナル研究觀察ガ續ケラレ, 實ニ日進月歩ノ感アリ。疾病ノ診斷, 治療ニ當リテハ, 免疫ノ演ズル役割ノ實ニ重要ナルハ論ヲマタズ, 近時此ノ分野ニ於テモ先人ノ貴重ナル業績ニ基礎ヲオキ着々堅

實ナル發展ヲ遂ゲツ、アリ。十九世紀末ニ發表セラレタル Kraus ノ卓拔ナル觀察ニ續キ, Dochez and Avery ノ業績, 次イデ Heidelberger, Avery 及ビ Goebel 諸氏ノ精細ナル化學的檢討ノ結果, 從來蛋白質ニノミ限局シテ考察セラレテキタル免疫ニ於テ, 菌體含水炭素モ亦重大ナ

ル役割ヲ演ズル事ガ解明セラレタリ。此ノ新事實ハ多數ノ學者ノ注目ヲ惹ク所トナリ、續々ト相踵イデ研究業績發表セラレ、菌體含水炭素ハソノ病原菌ノ生物學的性狀殊ニソノ毒性並ビニ免疫原性ニ關シテ重要ナル物質トシテ作用スル

事ガ認めラル、ニ至レリ。余ハ「チフス菌ニ就イテ、ソノ含水炭素成分ヲ Boivin et Mesrobeann 氏ノ提唱セル方法ニ從ヒ抽出シ、ソノ諸性狀ヲ檢討セントス。此所ニ些カ知り得タル所ヲ順次發表シ諸賢ノ御批判ヲ仰ガントス。

## 第 II 章 文 獻 概 要

1897年 Kraus ハ「コレラ菌、チフス菌、ペスト菌ノ「ブイオン培養ノ無菌の濾液中ニ、該菌體免疫血清ヲ加フルニ特異性ノ沈澱ヲ生ズル物質ノ存在スル事ヲ證シ、且ソノ物質ハ菌體成分ニ屬スルモノナル事ヲ發表報告セリ。

ソノ後1917年 Dochez and Avery ハ肺炎双球菌ノ「ブイオン培養ノ無菌の濾液中ニ、又肺炎患者及ビ肺炎双球菌感染動物ノ血液及ビ尿ノ無菌の濾液中ニ、同菌々體免疫血清ト特異性沈澱反應ヲ呈シ、水溶性耐熱性ニシテ、Alkohol 又ハ Aceton ニヨリ沈澱スルモ破壊サレズ、且 trypsin digestion ニ抵抗性ヲ有スル物質ノ存在スル事ニ着目シ、之ヲ "Soluble specific substance" ト稱セリ。ソノ後 Heidelberg and Avery; Heidelberg, Goebel and Avery ハ肺炎双球菌ノ「ブイオン培養ヲ濃縮シ、Alkoholfällung ヲ繰返シテ得タル沈澱物ヲ Ammonium sulfat ニテ沈澱セシメ、ソノ上清ヲ Dialyse スル事ニヨリ "Soluble specific substance" ヲ精製シ、此ノ物質ハ主トシテ Glucose ヲ成ル Polysaccharid ナル事ヲ明ラカニセリ。且又、肺炎双球菌各型ヨリ各免疫原性ヲ異ニスル Polysaccharid ヲ分離シ、此等ノ物質ハ各型菌體免疫血清ト夫々型特異性沈澱反應ヲ呈スルモ、動物體內ニ於テ抗體產生能力ナキ事ヲ證セリ。

又他方之ト無關係ニ1923年 Zinsser and Parker ガ、結核菌、連鎖狀球菌、チフス菌、「インフルエンザ菌、肺炎双球菌等ヲ PH 9.0—9.4 マデ「アルカリ性トナシタル生理的食鹽水中ニテ振盪シツ、作製シタル Extrakt ヲ Berkefeld-Filter ニテ濾過シ、濾液ヲ醋酸酸性寒冷ニテ沈澱セシメ、次イデ上清ヲ同ジク醋酸酸性ニテ煮沸シ、

沈澱ヲ除去シタル後ニ少量ノ Alkohol ニテ沈澱スル物質ヲ得タリ。此ノ物質ハ蛋白反應陰性ニシテ、該菌體免疫血清ト夫々特異性沈澱反應ヲ呈スルモ、動物體內ニ於ケル抗體產生能力ナキ事ヲ證シ、此等ノ物質ヲ "residue antigen" ト命名セリ。

コレヨリ以後細菌々體成分諸分割ニ就イテソノ抗原性並ビニ毒性、或ハ免疫成立ニ對スル役割等ニ就イテ諸家ノ注目ヲ惹ク所トナリ、種々ナル細菌ニ就イテ、多種多様ナル分離法ニ據リ、多數ノ興味アル業績相踵イデ發表セラレタリ。

即チ Hitchcock ハ hemolytic streptococci ヲ「ブイオン培養ヨリ集菌シ、0.8% ノ Antiformin ヲ加ヘ 56°C 30分間水浴上ニテ熱シタル後、5% ノ Sodium Thiosulphate ヲ加ヘテ室温マデ冷シ、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ニテ中和シ、遠心分離シタ上清中ニ Restantigen ノ性狀ヲ有スル多糖類ヲ分離シ得タリ。Przesmycki ハ Meningokokken ノ各型ヨリ、10% 醋酸酸性ニテ煮沸シ除蛋白シタル後 Alkoholfällung ヲ繰返ス事ニヨリ "residue antigen" ヲ得タリ。此等ノ "residue antigen" ハ夫々 homologous serum ト特異性反應ヲ呈スルト。Zinsser and Tamiya ハ結核菌ノ「ブイオン培養ヲ濃縮シタル後、鹽酸ニテ除蛋白シ Alkoholfällung ニヨリ Hapten ノ性狀ヲ有スル多糖類ヲ分離セリ。Laidlaw and Dudley ハ結核菌ヨリ獨特ノ方法ニテ Methylpentose ヲリナル多糖類ヲ分離抽出セリ。Landsteiner and Levine ハ「コレラ菌ヲ熱シタル Alkohol ニテ extrahieren シ、N 及ビ P ヲ含ム多糖類ヲ分離セリ。Lancefield ハ鹽酸酸性ニテ除蛋白シ、Alkoholfällung

ニヨリ haemolytische Streptokokken ヨリ蛋白反應陰性ナル多糖類ヲ得タリ。Heidelberger, Goebel and Avery; Goebel and Avery ハ Friedländer 菌ノ各型ヨリ Alkohol-fällung ニヨリ、同様 Hapten ノ性狀ヲ有スル多糖類ヲ得、Mikulaszek ハ寒天培養ヨリ得タル Sklerombacillen ヲ 114°C ニテ滅菌、Trypsinverdauung シタル後除蛋白シ Alkohol-fällung ニヨリ得タル沈澱ヲ更ニ Alkohol-fällung ヲ繰返シテ精製シ、最後ニ Dialyse ヲナシテ純粹ナル多糖類ヲ抽出シ得タリ。同様ノ方法ニテ Gasiolowski und Mikulaszek ハ Friedländer 菌、Bac. Abel-Loewenberg, Bac. Aerogenes, 「チフス菌、」パラチフス菌、Proteus X<sub>19</sub> 菌及ビ Hefe ヨリ多糖類ヲ得タリ。

上述セル多數ノ多糖類ハ何レモ Landsteiner ノ所謂 Hapten ノ性狀ヲ有スルモノニシテ、試験管内抗原性ヲ有スルモ生体内抗體產生能力ヲ有セズ。然ルニ最近ノ研究ニヨレバ、菌體多糖類ハ血清反應ニ於テ特異性抗原性ヲ有スルノミナラス、細菌ノ種類、免疫ニ用フル動物及ビ抽出方法ヲ吟味撰擇スレバ、Vollwertige Antigene トシテノ性能ヲ有スル多糖類ヲ分離シ得ル事ガ漸次解明セラレタリ。

即 Schiemann und Casper ハ肺炎双球菌ヲ 20% Natrium taurocholicum ニトカシタル後、醋酸酸性ニテ煮沸シ、Alkohol-fällung ニヨリ得タル多糖類ハ、特異性沈降反應ヲ呈スルノミナラス、「マウス」ニ少量注射スル事ニヨリ肺炎双球菌感染ヲ防禦シ得タリト。Enders and Wu ノ肺炎双球菌 I 型ヨリ得タル Acetylpolysaccharid ハ 0.00005mg ニテ既ニ「マウス」ニ感染防禦性免疫ヲ賦與シ得、又豫テ免疫シタル「マウス」ヨリ分離セル血清ヲ靜脈内ニ注射スル事ニヨリ他ノ「マウス」ニ被動的ニ移シ得タリト。Schiemann, Loewenthal and Hackenthal ハ Schiemann and Casper ノ方法ニヨリ得タル肺炎双球菌 I 型ノ Polysaccharid ニヨリ、豫メ家兔免疫血清ニテ感作シタル海狸ニ Schock ヲ惹起セシメ、又 0.0001mg ヲ「マウス」ニ注射スル事ニヨリ特異性感染防禦力ヲ賦與シ得タリト。Ross ハ肺炎双球

菌 I 型ヨリ Heidelberger and Avery ノ方法ニ據リ得タル Polysaccharid ヲ「ラツテ」ニ經口的ニ投與シ感染防禦力ヲ賦與シ得タリト。

諸テ「チフス、」パラチフス菌簇ニ就イテノ業績ヲ概觀スルニ、1923年 Zinsser and Parker ガ最初ニ上述セル如キ方法ニヨリ Hapten ノ性狀ヲ有スル Polysaccharid ヲ分離セルヲ初メトシ、4年後ニハ Przesmycki ハ「チフス菌」ヨリ蛋白質ヲ含マザル Restantigen ヲ得タルモ「パラチフス A 及 B 菌」ヨリハ遂ニ之ヲ得ル能ハザリキト。White ハ Alkalihydrolyse ニヨリ Gärtner 菌、Aertrycke 菌、Bact. Cholerae suum 及ビ Newport 菌ヨリ Polysaccharid ヲ得タリ。Furth and Landsteiner ハ菌ヲ Säureenteiweissung、或ハ Trypsinverdauung、又ハ Antiforminmethode ニテ得タル粗製不純ナルモノヲ、「アルカリ性又ハ酸性ニテ何回モ Alkohol-fällung ヲ繰返シ、「チフス菌、」パラチフス B 菌、Gärtner 氏菌、Derby 菌、Stanley 菌、Reading 菌、Bact. abortus equi、Bact. cholerae suum 及ビ Newport 菌ヨリ Restantigen ノ性狀ヲ有スル Polysaccharid ヲ分離セリ。Casper ハ菌ヲ Antiformin ニテトカシタル後、Alkohol-fällung ニヨリ「パラチフス B 菌、Breslau 菌、Aertrycke 菌」ヨリ Polysaccharid ヲ得タルモ、Aertrycke 菌、Breslau 菌ノ Polysaccharid ハ「マウス」ニ對シ極メテ輕微ナガラ免疫ヲ賦與シ得タリト。

1933年 Boivin et Mesrobian 主トシテ Aertrycke 菌ヨリ強力ナル化學的操作ト高温ヲ避ケ菌體內ニアルガ儘ノ状態ニテ Polysaccharid ヲ分離セン事ヲ試ミタリ。即チ菌浮遊液ヲ三鹽化醋酸ニテ除蛋白シ、遠心沈澱ニヨリ Opaliserend ノ上清ヲ得タリ。之ハ Lipoid ト結合セル komplexe Polysaccharide ニシテ Phosphatid ノ型ニテ含有サレルモノナリト。此ノ物質ヲ家兔ニ數回靜脈内注射スレバ凝集素及ビ沈降素ヲ含ム抗毒性免疫ヲ賦與シ得ル。更ニ此ノ液ヲ  $\frac{N}{5}$  醋酸酸性ニテ煮沸シ、或ハ Acetonfällung ニヨリ磷及ビ窒素ヲ含マザル純粹ノ Polysaccharid ヲ得ルモ之ハ既ニ生体内免疫原性ヲ失フト。

Raistrick and Topley ハ Aether ニテ處置セル Aertrycke 菌ヨリ獨特ノ方法ニテ多數ノ Polysaccharid ヲ分離シタリ。之ハ「マウス」及ビ家兎ニ對シ沈降素並ビニ凝集素ヲ含ム抗毒性免疫ヲ賦與シ得タリ。Gough and Burnet ハ菌ノ Autolysat 中ヨリ Ammonsulphatfällung ニヨリ Polysaccharid ヲ得ル方法ニヨリ、「パラチフス菌及ビ赤痢菌簇ヨリ Restantigen ノ性状ノ外ニ Bakteriophage ノ非働性トナス如キ性状ヲ有スル komplexe Polysaccharid ヲ分離シタリ。

本邦ニ於テハ細谷氏及ビソノ門下ガ「チフス菌」,「パラチフス A 及ビ B 菌, 赤痢異型菌, 大原箕田菌, 百日咳菌, 所謂動物型百日咳菌, B. bronchisepticus 等ノ菌ノ水性加温浸出液ヨリ Acetonfällung ニヨリ含窒性ノ komplexe Polysaccharide ヲ分離抽出, Vollantigen トシテノ性能ヲ有スル事ヲ動物實驗ニヨリ證明セリ。大野ハ「チフス菌 Watson 株ヲ使用シ, Boivin ノ三鹽化醋酸除蛋白法ニヨリ, 「マウス」ニ對シ毒性並ビニ抗毒性免疫賦與能力アル抗原性物質ヲ得タリト。伊川ハ Enders ノ抽出法ト Avery and Goebel ノ抽出法トヲ用ヒ, 「チフス菌ヨリ菌體含水炭素成分ヲ抽出シ得タルニ, 兩法ニ依ルモノ共ニ Vollantigen ノ性能ヲ有シ, 且ツソノ含水炭素成分ハ Vi 抗原ト密接ナル關係アル事ヲ強調セリ。古賀ハ「チフス菌菌體浸出液ノ Chamberand 濾液ヨリ糖反應強陽性, 蛋白反應極メテ微弱ナル水溶性非結晶物質ニ得, 之ハ Vollantigen ノ性状ヲ有シ家兎ヲ免疫スルニ沈降素及ビ補體結合性抗體ノ產生ヲ見タリト。牛圓ハ「アルコール」ト「エーテル」ニヨリ脱脂シタル菌體ヲ NaOH ニテ處置シ核蛋白質ヲ除キタル後, Alkoholfällung ニヨリ菌體含水炭素成分ヲ得タルモ, 「チフス菌, 「パラチフス A 菌ヨリ得タル

モノハ試験管内ニ於テモ, 生體內ニ於テモソノ抗原性ヲ證明スル能ハズ。「パラチフス B 菌ヨリ得タルモノノミハ, 試験管内抗原性ヲ有シ且家兎ヲ免疫スルニ凝集素, 沈降素並ビニ補體結合性抗體ノ產生ヲ認メタリト。早川ハ NaOH ニテ處置シタル菌ヲ弱酸性ニテ煮沸, 除蛋白シタル後 Alkoholfällung ニヨリ, 「パラチフス B 變異菌ヨリ特異性ノ含水炭素成分ヲ得タリ。此ノ物質ニテ免疫ヲ施スモ感染防禦作用ハ顯著ナラズト。田中ハ Furth and Landsteiner ノ抽出法ニ據リ赤痢菌簇ヨリ Hapten ノ性状ヲ有スル Polysaccharid ヲ分離セリ。長瀬ハ「チフス菌, 「パラチフス A 及ビ B 菌ヨリ全菌體免疫血清トハ特異性沈降反應ヲ呈スルモ, 生體內抗體產生能力ナキ residue antigen ヲ得タリ。

最近ニ至ツテ Bazilewsky und Remgild ハ「アルカリ法ニヨリ「チフス菌ノ Polysaccharid ヲ分離シ, 「チフス菌ノ Dissoziation ハ菌體含水炭素分割ノ變化ニヨル事ヲ提唱セリ。Herter and Rettger ハ Raistrick and Topley ノ方法及ビ Boivin et Mesrobeann ノ方法ニヨリ Aertrycke 菌ヨリ鶏雛ニ毒性並ビニ免疫原性アル Polysaccharid ヲ得タリト。小尾, 田中兩氏ハ Bazilewsky and Remgild ノ方法ニヨリ「チフス菌ヨリ試験管内抗原性並ビニ家兎ニ免疫原性ヲ有スル Polysaccharid ヲ得, 縣ハ Boivin et Mesrobeau ノ方法ニヨリ大原菌ヨリ「マウス」, 家兎及ビ仔犬ニ毒性強ク, 家兎ニ對シテ凝集素, 沈降素ヲ產生セシメ且ツ「マウス」感染防禦性免疫ヲ賦與スル精製毒素ヲ抽出シ得タリト。尙 Mikulaszck ハ1935年 Ergebnisse der Hygiene 誌上ニ Bakterielle Polysaccharide ナル題下ニ多數ノ業績ヲ總括記載セリ。

### 第3章 抽出法

「チフス菌ハ細菌學教室ヨリ分興ヲウケタル二木株ヲ以テ之ニ充テ, 抽出法ハ1933年 Boivin et Mesrobeau 兩氏ノ發表セル方法ヲ稍變更シテ採用セリ。即

チ「チフス菌24時間寒天斜面培養ノ菌ヲ滅菌生理的食鹽水ニテ洗ヒ落シ, 得タル濃厚ナル菌浮遊液ヲ約1時間4000—5000回遠心沈澱シ, 沈渣ヲ同様操作ニテ滅

菌生理的食鹽水ヲ以テ清洗スル事4回、最後ニ得タル菌塊ヲ秤量ス。此ノ菌塊ヲ豫メ滅菌セル乳鉢中ニウツシ、食鹽ヲ振りカケタル氷塊中ニ埋メテ凍結セシメタル後取出シ、室温ニテヨク磨碎シツ、融解スルヲ待チ再ビ氷塊中ニ埋メ、同様操作ヲ繰返ス事4回、シカル後ニ該菌重量ノ約10倍量ノ規定三鹽化醋酸ヲ徐々ニ加ヘツ、充分ニ磨碎シ均等ナル浮游液トナシタル後

之ヲ遠心沈澱シ、上清ヲトリテ Seitz 濾過器ニテ濾過ス。ソノ濾液ヲ半透膜囊中ニ入レ、流水中ニテ24時間透析シタル後更ニ蒸溜水中ニテ2-4時間時々蒸溜水ヲトリ替ヘツ、透析シ、酸性ヲ呈セザルニ至リテ透析膜内容ヲトリ出シ、約0.2%ノ割ニ Tricresol ヲ加ヘ氷室中ニ保存ス。

### 第4章 抽出液ノ性状

抽出液ハ蛋白石濁ヲ有スル無色ノ液ニシテ、蛋白質反應トシテ Heller 氏法、Sulfosalicylsäure 法、醋酸黃血鹽試驗、Biuret 反應共ニ陰性ヲ示シ、糖反應トシテ Trommer 氏法、Nylander 氏法ヲ行ヒタルモ共ニ陰性ニシテ唯 Molisch 反應ノミ強陽性ナリキ。即該抽出液中ノ含水炭素ハ多糖類ノ形ニテ含有サレルモノナルベシ。「マ

第2表 家兎免疫經過中ニ於ケル家兎體重減少

實驗日	第1日	第4日	第7日	第10日	第13日	第16日	第20日
抽出液注射量	0.5	1.0	1.0	2.0	2.0		
家兎體重	家兎I	2200	2100	2050	2000	2000	2100
	家兎II	2150	2100	2100	2100	2000	2050
	家兎III	2150	2050				

第1表 「マウス」ニ對スル毒性試驗

實驗日	第1日	第2日	第3日	第4日	第5日	第6日	第7日
抽出液 1.0 腹腔内注射セルモノ	●	●	●	●			
抽出液 0.5 腹腔内注射セルモノ	●	○	○	○	○	○	○

● ……斃死  
○ ……生存  
ヲ示ス。

家兎IIIハ第5實驗日ニ頻回ナル下痢ノ後ニ斃死ス。

ウス」ニ對スル毒性ヲ檢スルニ、1.0cc 腹腔内ニ注射セシモノハスベテ注射直後ヨリ立毛、不安感ヲ現シ元氣ナク12時間以内ニ斃死セリ。0.5cc 腹腔中ニ注射セル「マウス」ハ半數ハ同様症狀ニテ24時間以内ニ斃ル。即「マウス」ニ對シ毒性ヲ有スルモノト認メラル。該抽出液ノ窒素含有量ハ0.25g/dl ナリ。又家兎免疫經過中ニ觀察スルニ體重減少ヲ認メタリ(第1表及ビ第2表參照)。

### 第5章 能働免疫實驗

菌體多糖類ガ Hapten ナリヤ、Vollantigen ナリヤニ關シ多數ノ相反スル見解ノ發表報告セラレタル事ハ既ニ第2章ニ於テ述ベタルモ、余ハ得タル抽出液ヲ以テ「マウス」ニ對シ感染防禦性免疫賦與性アリヤナシヤヲ検討セントス。

#### 第1項 實驗方法並ビニ結果

體重15g内外ノ白色マウス」ヲ飼養箱中ニテ1週間以上飼料ニ飼ヒ馴シタル後實驗ニ供ス。生菌浮游液ハ

抽出液作製ニ用ヒタル二木株チフス菌ヲ寒天24時間斜面培養ヨリ鈎菌シ、各所要量ヲ0.1cc 中ニ含ム如ク實驗直前ニ生理的食鹽水ニテ浮游液ヲ作製ス。菌量ハ實驗前ニ豫メ最小致死量ヲ測定シタリ。

「マウス」總數ヲ3群ニ分チ、第1群ノ「マウス」ニハ3日毎ニ抽出液0.1cc 宛皮下注射シ第3回目注射ノ翌々日ニ生菌注射ヲ行フ。第2群「マウス」ニハ生菌注射1時間後ニ抽出液0.1cc ヲ皮下注射ス。第3群「マウス」ハ對照トナシ、生菌注射ハスベテ腹腔内ニ施行ス。經

過ハ1週間後マデ之ヲ觀察セリ。結果ハ第III表ノ如シ。

第3表 能働免疫實驗

注射生菌量	0.4mg	0.5mg	0.7mg
第1群 抽出液 0.1cc宛3回 前處置セルモノ	$\frac{7}{8}$	$\frac{8}{8}$	$\frac{5}{9}$
第2群 生菌注射1時間後ニ 抽出液 0.1cc注射	$\frac{3}{8}$	$\frac{2}{9}$	$\frac{0}{10}$
第3群 對照動物	$\frac{3}{8}$	$\frac{2}{8}$	$\frac{0}{9}$

表中分數ノ分母ハ……實驗ニ供シタル「マウス」數  
分子ハ……1週間後マデ生殘レル「マウス」數

更ニ余ハ以上實驗ノ結果ヲヨリ確實ナラシメンガ爲ニ、又併セテソノ帶菌狀態ヲ知ランガ爲ニ、觀察經過中ニ斃死セル「マウス」ヲ逐次剖檢シ、且ツ各群別ニソノ脾臟、肝臟ヲ摘出シ、夫々滅菌セル乳鉢中ニテヨク磨碎シ乳狀トナリタルモノヨリ一白金耳宛寒天平板培養基ニ塗抹シ、菌檢出ヲ試ミタリ。斃死セル「マウス」ヲ剖檢スルニ、總テ腹膜腔血管ハ強度ニ充血シ、肝臟ハ暗紅色腫大シ脾臟ハ著シク腫大シ且濃赤色ヲ呈シ肺臟ハ一般ニ淡紅色ヲ呈シ所々ニ暗紅色斑ヲ認メラル。腸管ハ肉眼的ニ著變ヲ認メズ。又ソノ肝臟、脾臟ヨリハ多數ノ「チフス菌」ヲ證明シ得タリ。

菌注射後1週間目マデ生殘リタル「マウス」ニ就イテ同様剖檢、菌檢出ヲ試ミタルニ、剖檢所

見ハ著變ヲ認メズ。第II群、第III群ノ「マウス」ノ肝臟、脾臟ヨリハ多數ノ菌集落ヲ認メ得タルモ第I群ノ「マウス」ノ臟器ヨリハ寒天培養基1個ヨリ4—10個ノ集落ヲ認メタルニ過ギズ。臟器トシテ肝臟及ビ脾臟ヲ撰ビタル所以ハ即チ腹腔内ニ注射サレタル菌ハ續イテ直チニ血行中ニ入り、先ヅ網狀織内皮細胞ニ富ム臟器ニ攝取抑留セラル、モノナルベシ。小栗氏モ「チフス菌」ヲ以テ家兎各臟器中ニ於ケル帶菌狀態ヲ檢スルニ、健常家兎ニ於テハ骨髓、肝臟、脾臟ノ順ニ多數ノ菌ヲ證明シ、免疫家兎ニ於テハ健常家兎ニ比シ全般的ニ生菌少ク且生存時間短キモ尙脾臟、肝臟ノ順ニ多數ノ菌ヲ證明シ得タリト。故ニ肝臟、脾臟ニ於ケル帶菌狀態ヲ檢スル事ニヨリ、全身ニ於ケル帶菌狀態ノ大略ヲ察知シ得ラル、モノト思考ス。

### 第2項 小 括

以上ノ結果ヲ考察スルニ、該抽出液ハ「マウス」ニ對シ0.1cc宛3回ノ注射ニヨリ著明ナル感染防禦性免疫ヲ賦與スルヲ認メラレルモ、既ニ發症シタル「チフス菌敗血症」ニ對シテハ殆ンド治療ノ効果ヲ示サズ、對照動物ト大略同様ナル死亡率ヲ示ス。尙「マウス」體內臟器ノ帶菌狀態ヨリ觀察スルモ、同様ニ該抽出液ヲ以テ免疫シタル「マウス」ニ於テハ、菌ノ増殖ガ阻止セラレ極メテ少數ノ菌ノ生存ヲ證明スルニ過ギズ、即チ該抽出液ハ「マウス」體內ニ於テ抗體產生能力ヲ有スルモノト斷ズルヲ得ベシ。

## 第6章 家兎免疫血清ヲ以テスル被働免疫實驗

第5章ニ於テ「マウス」ニ對スル著明ナル免疫元性ヲ證シ得タルヲ以テ、次イデ家兎ニ對シテ免疫元性ヲ有スルヤ、否ヤ、又アリトセバ之ヲ被働的ニ「マウス」ニ移シ得ルヤ否ヤヲ検討セントス。Avery and Goebelニ依レバ肺炎双球菌I型ヨリ得タル Acetylpolysaccharid ハ「マウス」ニ對シテハ免疫元性ヲ有スルモ、家兎ニ於テハ遂ニ免疫血清ヲ得ル能ハザリキト。

### 第1項 抽出液免疫家兎血清

白色家兎3頭ヲ用ヒ、ソノ耳靜脈内ヘ3日毎ニ0.5cc, 1.0cc, 1.0cc, 2.0cc, 2.0ccト増量ニ注射シ、最後ノ注射ヨリ1週間目ニ頸動脈ヨリ無菌的ニ全採血ヲナシ、血清ヲ分離シタル後56°C 30分水浴中ニテ非働性トナシ、然ル後ニ0.5%ノ割ニ石炭酸ヲ加ヘ氷室中ニ保存ス。

此ノ血清ニ就キ生菌浮遊液ニテ凝集反應ヲ試ミルニ10000倍陽性、抽出液ヲ抗原トシテ補體結合價ヲ檢スルニ10單位ノ補體結合價ヲ示シタ

リ。

**第2項 全菌體免疫家兎血清**

白色家兎3頭ヲ用ヒ、ソノ耳靜脈内ニ1週間毎ニ60°C 30分加熱ワクチン」ヲ1/10白金耳、1/2白金耳、1/2白金耳宛注射シ、第4回目ニハ生菌ヲ1/10白金耳注射シ、最後ノ注射ヨリ1週間後ニ頸動脈ヨリ無菌的ニ全採血シ血清ヲ分離、56°C 30分水浴中ニテ非働性トナシ0.5%ノ割ニ石炭酸ヲ加ヘテ氷室中ニ保存ス。得タル血清ニ就キ凝集反應ヲ檢スルニ、60°C 30分加熱ワクチン」ヲ用ヒタル場合モ、生菌浮遊液ヲ抗原トシタル場合モ共ニ10000倍ノ凝集價ヲ示シ、抽出液ヲ抗原トシテ補體結合反應ヲ試ミタルニ6單位ヲ結合スルヲ認メタリ。

**第3項 被働免疫實驗**

i) 試獸體重 15g 内外ノ白色マウス」ヲ約1週間飼料ニ飼ヒ馴シタル後實驗ニ供ス。

ii) 實驗方法

「マウス」ヲ3群ニ分チ第I群ニハ全菌體免疫家兎血清ヲ、第II群ニハ抽出液免疫家兎血清ヲ皮下注射シ第III群ハ對照トス。血清注射量ハ0.1ccト0.3ccトノ2種トシ、注射時期ハ生菌注射1時間前ニ注射ヲナスモノト、生菌注射後1時間ヲ經テ之ヲ施行スルモノトノ

**第4表 全菌體免疫家兎血清ニヨル被働免疫實驗**

血清注射期	血清量 (cc)	生注射菌量 (mg)		1週間後マウス生存セル數
1時間前	0.1	0.05	○ ○ ○ +1	3
		0.2	+1 +1 +2 +2	0
	0.3	0.05	○ ○ ○ ○	4
		0.2	○ +2 +2 +2	1
1時間後	0.1	0.05	○ ○ ○ ○	4
		0.2	+1 +1 +1 +1	0
	0.3	0.05	○ ○ ○ +2	3
		0.2	○ ○ +1 +2	2

○ ……生存セル「マウス」  
 +1 ……24時間以内ニ斃レタル「マウス」  
 +2 ……48時間以内ニ斃レタル「マウス」

**第5表 抽出液免疫家兎血清ニヨル被働免疫實驗**

血清注射期	血清量 (cc)	生注射菌量 (mg)		1週間後マウス生存セル數
1時間前	0.1	0.05	○ ○ ○ ○	4
		0.2	+1 +1 +1 +1	0
	0.3	0.05	○ ○ ○ +1	3
		0.2	○ +1 +1 +1	1
1時間後	0.1	0.05	○ +1 +1 +1	1
		0.2	+1 +1 +1 +1	0
	0.3	0.05	○ ○ ○ ○	4
		0.2	+1 +1 +1 +1	0

○ +1 +2 ……前表参照

**第6表 對照動物**

生菌注射量 (mg)		1週間後マウス生存セル數
0.05	○ +1 +1 +1	1
0.2	+1 +1 +1 +1	0

○ +1 ……前表参照

2種トナス。生菌注射ハ腹腔内注射ニ依ル。經過ハ生菌注射後1週間目マデ觀察ス。

iii) 實驗結果ハ第IV, V, VI表ノ如シ。

表示セル如ク實驗動物ハ對照動物ニ比シ著明ナル感染防禦力ヲ示シ、兩血清共ニ「マウス」ニ對シ被働的ニ免疫ヲ賦與シ得ル事ヲ知ル。全菌體免疫血清ニ就イテ觀ルニ、注射時期ニヨル差異ハ殆ンド認メラレズ、0.05mgノ生菌注射ニ對シテハ著明ナル感染防禦力ヲ示シ、0.2mgノ生菌注射ノ場合ニ於テハ稍之ニ劣ルモ尙死期延長シ感染防禦力アルヲ認メラル。抽出液免疫血清ニ就イテ觀ルニ、此ノ場合モ注射時期ニヨル差異ハ殆ンド認メラレズ、著明ナル感染防禦力ヲ示スモ、唯0.2mgノ生菌注射ニ對シテハソノ効果認メラレズ。菌量ノ餘リニ大ニ過ギタル故ナルベシ。尙注射セル生菌量ト、ソノ感染防

禦ニ要スル免疫血清量トノ關係ハ左程明確ナラザルモ、大略正比例スルヲ認メタリ

#### 第4項 小 括

余ノ得タル抽出液ハ第5章ニ述ベタル如ク「マウス」ニ對シ感染防禦性免疫ヲ賦與シ得ルノ

ミナラズ、家兎ニ對シテモ同様抗元性ヲ有シ凝集價10000倍、補體結合價10單位ノ免疫血清ヲ得タリ。此ノ家兎ニ觀ラル、免疫ハ血清ニヨリ被働的ニ「マウス」ニ移ス事ヲ得、著明ナル感染防禦性免疫ヲ賦與スル事ヲ知り得タリ。

### 第7章 總括並ビニ考按

余ハ Boivin et Mesrobeann ノ方法ニ從ヒ、「チフス菌二木株ヨリ Heller 氏法, Sulfosalicylsäure 法, 醋酸黃血鹽試驗, Biuret 反應等ノ蛋白反應陰性ニシテ, Trommer 氏法, Nylander 氏法モ共ニ陰性, 唯 Molisch 反應ノミ陽性ニシテ窒素含有量 0.25g/dl ナル Opalisierend ノ抽出液ヲ得タリ。抽出液ノ餘リニ少量ナリシ爲精細ナル化學的檢討ハ行ハザリシモ, Boivin et Mesrobeanu ニ依レバ, Lipoid ト結合セル komplexe Polysaccharide ニシテ多分 Phosphatid ノ型ニテ存在スルモノナラント。「マウス」ニ對スル毒性ヲ檢スルニ 0.5cc 腹腔内注射ニ依リ被檢動物ハ24時間以内ニ斃レ、家兎免疫經過中ニ觀察スルニ著明ナル體重減少ヲ認メラレ、毒性アルヲ知り得タリ。又「マウス」ニ注射スルニ、「チフス菌」ニ對スル著明ナル感染防禦力ヲ示シ、家兎ニ注射スルニ凝集價10000倍、補體結合價10單位ノ免疫血清ヲ得タリ。該血清ヲ「マウス」ニ被働的ニ注射スルニ同様感染防禦力ヲ賦與シ得タリ。即チ余ノ得タル抽出液ハ Vollantigen トシテノ性狀ヲ有ス。

Mikulaszek ニ依レバ從來多數發表セラレタル bakterielle Polysaccharide 中ニ含マル、窒素ハ Acetyl-N 或ハ Amino-N ノ形ニ於テ、Polysaccharidmolekuele ノ構成分子トシテ含有セラル、モノニシテ、不純物質或ハ蛋白質ノ殘留スルニヨルモノニハ非ズ、又 bakterielle Polysaccharide ノ抗元性モソノ N-haltige Gruppe ニ負フモノニ非ズト。肺炎双球菌 I 型ノ Polysaccharid ニ就イテハ多數ノ相反スル業績ヲ見ルモ、Avery and Goebel 次ノ如キ實驗ヲナシ之ヲ説明セリ菌體内ニアルト同様ナル狀態ノ Polysaccharid

ヲ得ントシ、過剰ノ「アルカリ」ヲ用フル處理ヲ避ケ、醋酸酸性ニテ除蛋白シ Alkoholfällung ヲ繰返シテ Polysaccharid ヲ得タリ。之ハ Acetyl 基ヲ有シ Vollantigen トシテノ性狀ヲ有スルモ「アルカリ」ニテ處理スルトソノ免疫原性ヲ失フニ至ルト。「アルカリ法」ニヨリ抽出シタル Polysaccharid ハ Acetyl 基ヲ有セズ。從ツテソノ免疫原性ハ Acetyl 基ニ負フモノナリト。多數ノ文獻ヲ概觀スルニ精密ナル化學的檢討ヲ缺クモノ多クソノ當否ハ今後ノ研究ニ俟ツベク、又他ノ細菌ニ就イテモカ、ル一般ナル性質ノ發見ガ期待サレ得ルモ、一般ニ Hapten ノ性狀ヲ有スル Polysaccharide ハソノ抽出操作中ニ強アルカリ」ヲ以テ處理サル、カ、或ハ酸性ナルモ過剰ナルカ又ハ長時間ソノ作用ヲウケタリ、或場合ハ長時間ニ亙ル煮沸又ハ高熱ノ作用ヲウケルモノ多ク、ソノ生菌體内ニ於テ有セン生理的狀態ニ或ハ強烈ナル變化ヲウケタルニ非ズヤト思考セラル、モノ多シ。由來 Polysaccharid ハ化學的ニハ比較的安定ナル物質ニシテ或程度ノ化變的操作ニ耐ヘ得ルモノナルガ故ニ、上述ノ強力ナル操作ハ或ハ Schlepper トシテ働ク或ハ隨伴物質ヲ破壊スルモノナリヤハ計リ難シ。以上單ナル憶測ニ過ギズ、尙今後ノ研究ニ俟タザルベカラズ。余ノ得タル抽出液モ化學的ニハ純粹ナルモノトハ言ヒ難ク、ソノ抗原性並ビニ免疫原性ハソノ中ニ含マル、Polysaccharid 自體ノ性質ナルヤ或ハ又 Lipoid ガ Schlepper トシテノ作用ヲ分擔セシヤ、ソノ最後の決定ニ就イテハ今後ノ研究ニ俟タザルベカラズ。尙ソノ毒性物質ト抗原性物質トハ同一物質ナリヤ又ハ全然別個ノ存在ナリヤハ興味アル問題ナリ。爾後



ノ研究ノ一礎石トシテ茲ニ第1報ヲ草シ、御批 判ヲ乞フ次第ナリ。

## 第8章 結 論

余ハ Boivin et Mesrobeann ノ方法ニ從ヒ「チフス菌」ニ木株ヨリ 蛋白反應陰性、Molisch 反應陽性ナル抽出液ヲ得タリ。ソノ抗原性並ビニ免疫原性ヲ検討スルニ、

- 1) 「マウス」並ビニ家兎ニ毒性ヲ有シ。
- 2) 「マウス」ノ皮下ニ注射スルニ「チフス菌」ニ對スル感染防禦力ヲ賦與シ得タリ。
- 3) 家兎ヲ免疫スルニ凝集價10000倍、補體結合價10單位ノ免疫血清ヲ得タリ。

4) 免疫家兎血清ハ「マウス」ニ注射シテ、被働的ニ感染防禦性免疫ヲ賦與シ得ル。

5) 余ノ得タル抽出液ハ Vollantigen ノ性状ヲ有ス。

擱筆スルニ當リ、終始御懇篤ナル御指導ト御校閲ヲ賜リシ恩師大里教授ニ深謝ス。又貴重ナル時間ヲ割キテ助力ヲ頂キシ多島學士並ビニ木村學士ニ深ク感謝ス。

## 引 用 文 獻

- 1) 縣；熊本醫學會雜誌，16卷，9號，1313 (昭15)。
- 2) Avery and Goebel；J. of exp. med. 58, 731 (1933)。
- 3) Bazilewsky und Remgild；Zschr. f. Imm. u. exp. Ther. 85, 10 (1935)。
- 4) Boivin et Mesrobeau；C. R. de Soc. Biol. 112, 76. 611. 113, 490. 114, 302. 305. 307. 115, 304。
- 5) Casper；Zschr. f. Hyg. u. Infekt. 109, 170 (1929)。
- 6) Dochez and Avery；J. of exp. med. 26, 477 (1917)。
- 7) Enders and Wu；J. of exp. med. 60, 127 (1934)。
- 8) Furth and Landsteiner；J. of exp. med. 49, 727 (1927)。
- 9) Gasiolowski und Mikulaszek；Zschr. f. Imm. u. exp. Ther. 70, 19 (1931)。
- 10) Goebel and Avery；J. of exp. med. 46, 601 (1927)。
- 11) Gough and Burnet；J. of path. and Bact. 38, 301 (1934)。
- 12) 早川；實驗醫學雜誌，20卷，239 (昭11)。
- 13) Heidelberger and Avery；J. of exp. med. 38, 73. 40, 301 (1923-1924)。
- 14) Heidelberger, Goebel and Avery；J. of exp. med. 42, 701. 709. 727 (1925)。
- 15) Herter and Rettger；J. of immun. 32, 357 (1937)。
- 16) 細谷，進藤，門馬；實驗醫學雜誌，20卷，1334 (昭11)。
- 17) 細谷，川島；實驗醫學雜誌，20卷，913 (昭11)。
- 18) Hitchcock；J. of exp. med. 40, 445. 575 (1924)。
- 19) 伊川；細菌學雜誌，496號，367, 498號，534 (昭12)。
- 20) 小林；實驗醫學雜誌，20卷，151, 164 (昭11)。
- 21) 古賀；滿洲醫學雜誌，25卷，1274 (昭11)。
- 22) 小尾，田中；長崎醫學會雜誌，14卷，849 (昭11)。
- 23) Kraus；Wien. Klin. Wschr. 32, 736 (1897)。
- 24) Laidlaw and Dudley；Brit. J. of exp. path. 6, 197 (1925)。
- 25) Lancefield；J. of exp. med. 47, 91. 481. 843 (1928)。
- 26) Landsteiner and Levine；J. of exp. med. 46, 213 (1927)。
- 27) Mikulaszek；Erg. d. Hyg. 17, 415 (1935)。
- 28) 長瀨；實驗醫學雜誌，14卷，369 (昭5)。
- 29) 大野；第十一回聯合微生物學會記錄。
- 30) 小栗；實驗醫學雜誌，21卷，11號，1535 (昭12)。
- 31) Przesmycki；J. of inf. diseases. 35, 537 (1924)。
- 32) Raistrick and Topley；Brit. J. of exp. path. 15, 113 (1924)。
- 33) Ross；J. of exp. med. 54, 899. 55, 1. 13 (1913-1932)。
- 34) Schiemann and Casper；Zschr. f. Hyg. u. Infekt. 108, 220 (1928)。
- 35) Schiemann, Loewenthal und Hackenthal；Zschr. f. Hyg. u. Infekt. 112, 315 (1931)。
- 36) 進藤；實驗醫學雜誌，20卷，2088 (昭11)。
- 37) 田中；朝鮮醫學會雜誌，23卷，1453 (昭8)。
- 38) 牛圓；十全會雜誌，39卷，2141, (昭9)。
- 39) White；J. of path. and bact. 32, 85 (1925)。
- 40) Zinsser and Parker；J. of exp. med. 38, 275 (1923)。
- 41) Zinsser and Tamiya；J. of exp. med. 42, 311 (1935)。