

## 47.

## 凝集反應として工夫した梅毒反應

緒方 富雄 佐藤 中夫

(東京帝國大學醫學部病理學教室血清學部)

梅毒の血清診斷法としては、補體結合反應（ワッセルマン反應）以外のものは、反應形式からいへば、沈降反應乃至絮狀反應の部類に屬する。後者はいづれも、抗原浮游液中のいはゆる類脂體粒子が、梅毒血清中の抗體と結びついて、よりあらい、より大きな粒子をつくる事實を應用したものである。今日ではこの反應を敏感にするために、いろいろの物質を抗原液に加へる。いふまでもなく抗原液は、今日では大抵のものはウシその他の動物の心臓、その他の臓器のアルコール抽出液である。それを食鹽水に混じて浮游液をつくるのであるから、加へるべき物質は、今日までに報告せられたものは、すべてアルコールに溶解する物質であつて、次の如きものがある。コレステリン（これは、今日最も一般的に使はれてゐる）、トルーバルサム、安息香脂、安息香酸、乳香、Corn germ sterol (Eagle) その他<sup>1)</sup>。

今日までの報告によれば、これらの添加物質は、抗原物質と共に、食鹽水に混ぜられる時に析出して、抗原類脂體の核となり浮游粒子の大きさを加減することに役立つと考へられてゐる。我々は、はじめからかなり大きな粒子をつかつて、あらい抗原粒子をつくり、凝集反應の形式で起させるやうに工夫した。その目的に最近よく應用されるコロヂウム粒子を使つた<sup>2)</sup>。このほかにカオリンも使ふことができるが、ここでは専ら前者による實驗を述べる。

1) 詳細は次のやうな參考書にゆづる。

i) **A. Klopstock**: Die Methoden zur Serodiagnostik der Syphilis. *Abderhalden Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*. 13 (2): 1243-1476, 1933. ii) **H. Eagle**: The Laboratory Diagnosis of Syphilis. Mosby, 1937.

2) **F. S. Jones**: Agglutination by precipitation. *J. Exper. Med.* 46: 303-314, 1927. 48: 183-192, 1928.

[醫學と生物學・第1巻・第4號・頁157-160・昭和17年2月20日]

コロヂウム粒子の作り方は、Cannon & Marshall<sup>4)</sup>の方法をすこし簡単にした。その大要は次の通りである。水をよくかきまはしながら、市販のコロヂウム液(エーテル-アセトン溶液)を、すこしづつ流し込むと、綿のやうなコロヂウムの塊りが析出する。これをよく洗つて乾かして、約5%の割合にアセトンに溶かす。次にアセトン1容量と水3容量の混合液をつくり、これをすこしづつさきのコロヂウム-アセトン溶液に加へて行く。この際液は40°C位に温ため、攪拌器を使つて液をはげしく廻しておく。加へられた水がある量にまで達すると、乳白色の混濁を生じて来る。この量はコロヂウム-アセトン溶液70ccに對し、水-アセトン混合液30cc位の割合である。この混濁した液を他の容器に移し、この液の約3倍量の冷水を速やかに流し込むと強く混濁して来る。これが即ちコロヂウム粒子の浮游液である。この中からアセトンを蒸發させて除き、遠心沈澱によつてコロヂウム粒子をおとし、上清をすて、更に數回蒸溜水で粒子を洗ひ、上清がおよそ透明になるまで繰り返す。次に遅い回轉(約1000回1分)で遠心沈澱し、稍大きな粒子を除く。最後に目盛附遠心管に入れて、一定速度で一定時間遠心沈澱(例へば2500回5分)し、コロヂウム粒子の量(容積)をはかり、これによつて希望の%の浮游液をつくる。鹽類が存在すると粒子が凝集する傾向があるから、蒸溜水を用ひる必要がある。なるべく3回蒸溜の蒸溜水を用ひることが望ましい。

抗原としては牛の心臓のアルコールエキス(肉ひきでひいたものを約10倍量の96%アルコールで抽出する)を使ふ。まづ抗原液を次のやうにして作る。

抗原エキス	0.2 cc
1%コロヂウム粒子浮游液	0.4 cc
生理的食鹽水	7.4 cc

この割合に3因子を速かによく混じ、室温に約30分置く。檢すべき血清は56°Cに30分あたゝめて非働化する。同じ血清の二度目、三度目の検査の時は10分間あたためる。

**反應の實施法**は次の通りである。

抗原液	1容量(最小量 0.15-0.2cc)
血清	2容量

これを混じて、3分間強く振り、30分乃至2時間室温に置いた後、遠心(2500回5分間)して再浮游する。

3) P. R. Cannon and C. E. Marshall : An improved serologic method for the determination of the precipitative titers of antisera. *J. Immunol.* 38: 365-376, 1940.

**判定** 陰性血清では浮遊してゐるコロヂウム粒子のために平等に濁つてゐるが、陽性血清では、強さに應じて種々の程度の凝集が認められる。

この反應の敏感度、特異度については、まだ具體的なことを述べ得る程の經驗を持たないが、今までの數百例の經驗では、Kahn や村田の反應などと肩を並べてゐる。

この形式の反應を、實用の立場から考へると、いくつかの長所と短所を持つて居る。短所をいへば、コロヂウム粒子浮游液を作ることの煩はしさと、毎回、毎分 2500 回轉を出し得る遠心器を使はねばならぬことである。

長所をいへば、抗原をかぶつたコロヂウム粒子は、完全に遠心沈澱し得る點である。故に、檢すべき血清を多量使つて、相對的に多くの抗體を抗原粒子に結合させることができるから、かうして敏感度を高くすることができる。

例へば、實驗的に梅毒血清を健康人の血清で系統的に 2 倍稀釋し、試験管の第一列には抗原の 1 容量に對し 2 倍量の血清を、第二列には更にその倍量の血清をとい

表 1

抗原量 cc	血清量 cc	血清稀釋(1:2 <sup>n</sup> )						
		1	2	3	4	5	6	7
0.15	0.3	+	+	+	-	-	-	-
"	0.6	+	+	+	±	-	-	-
"	1.2	+	+	+	+	±	-	-
"	2.4	+	+	+	+	+	±	-

ふやうに、順次に血清量を増して行つて、上述の方法で反應を起させて見る。即ち抗原と血清を混じ、3 分間強く振つた後、室溫に 1 時間置く。その間時々

振る。次に遠心沈澱して上清を捨て、すべての試験管に等量の正常血清を加へて再浮游する。その成績をみると(表 1)、血清量が増すに従つて、敏感度が高くなつて行くことが明らかに認められる。

また、遠心沈澱の度毎に一定量づつの血清をくり返し交換することによつても、同じ目的を達することができる。例へば梅毒血清を正常血清で系統的に 2 倍稀釋し、各稀釋について上述の抗原を使つて反應を起させ、その結果を讀んでから、もう一度遠心して、上清をすて、同じ稀釋の一定量を新しく加へて反應操作をくり返して見る。さうすると、1 回だけの操作で陰性と判定されたものが、回を重ねるに従つて明らかに陽性

になる(表2). この陽性化は, 適當な對照試驗と比較して見ても, 血清中の抗體の連續追加によるものであることが斷言できる. これは他の反

表 2

		血清稀釋 (1:2 <sup>n</sup> )							對照
		1	2	3	4	5	6	7	
操作の回数	I	+	+	±	-	-	-	-	-
	II	+	+	+	+	±	-	-	-
	III	+	+	+	+	+	-	-	-
	IV	+	+	+	+	+	±	-	-
	V	+	+	+	+	+	±	-	-
遠心のみ	(I)	+	+	±	-	-	-	-	-
	(II)	+	+	+	-	-	-	-	-
	(III)	+	+	+	-	-	-	-	-
	(IV)	+	+	+	±	-	-	-	-
	(V)	+	+	+	±	-	-	-	-

應形式に見ない特長である.

なほ, 再浮游ができることに關連して, 再浮游液を他の適當な液に代へることによつて, 溶血の強い血清などの場合に, 反應の判定を容易に可能ならしめることが出来る. [詳細は血清學免疫學雜誌に發表する]

(受附: 昭和17年1月15日)