

抗原抗体反応による限局性脳出血病巣の実験的研究

—Arthus 型病巣について—

京都大学医学部脳神経外科学教室 (指導: 半田 肇教授)

田 隅 正 弘

〔原稿受付: 昭和41年1月10日〕

Experimental studies on the production of localized cerebral hemorrhagic softenings by means of antigen-antibody reactions, especially Arthus phenomena

by

MASAHIRO TAZUMI

From the Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School, Kyoto
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

In the present study, the localized hemorrhagic softenings were attempted to produce in dogs by means of antigen-antibody reaction, especially 1) reversed Arthus phenomena, and 2) Arthus-like reaction reported by Cochrane et al. in 1958.

The following results were obtained:

1) As controls, each 0.5 cc of physiological saline solution, normal rabbit serum, normal dog serum and 1% egg white saline solution was injected into the brain of a dog separately.

Localized lesions were produced about in a ratio of 20~30% in each group. However, these lesions produced were mainly linear hemorrhagic lesions which were resulted from a mechanical destruction by injected needle. Thus, these lesions were clearly different from those of the following experimental groups.

2) In group 1, 0.5 cc of the anti-dog brain rabbit serum (dog brain anti-body) was injected into the brain of a dog only once.

Localized lesions were produced in 8 out of 13 cases with titer 5, in all 3 out of 3 cases with titer 6 and in 5 of 8 cases with titer 7.

Although this group belongs to reversed Arthus phenomena, the lesions produced showed non-hemorrhagic necrotic foci in most cases.

This result seems, therefore, to indicate that the lesion in group 1 was induced by a cytotoxic process which was resulted by a combined effect of the brain tissue and brain antibody of a dog.

3) In group 2, 0.5 cc of the anti-dog serum rabbit serum (dog serum antibody) was injected into the brain of a dog only once.

Localized lesions were produced in 14 out of 20 cases with titers 7 and 8, and the lesions were characterized by bleeding, i. e. hemorrhagic necrosis, blood clot, petechiae and so on.

This result corresponds to the findings reported by Davidoff et al. who produced in rabbits by reversed Arthus phenomena.

4) In groups 3 and 4, 0.5 cc of a mixture of so-called soluble antigen-antibody complexes which were prepared by a) dog serum antibody and b) anti-crude egg white rabbit serum was injected into the brain of a dog.

Although these experiments were attempted following Arthus-like reaction reported by Cochrane et al., lesions were produced in 12 out of 16 cases with a complex containing a), and in 7 of 10 cases with a complex containing b).

The lesions in these groups are quite similar in nature as those in group 2, and showed petechiae, small bleeding and blood clot. However, localized necrotic foci were not produced in these groups.

In conclusion localized hemorrhagic cerebral softenings would be produced in dogs by means of reversed Arthus phenomena as well as Arthus-like reaction reported by Cochrane et al. However, further studies are needed as to the elimination of the mechanism of the production of the lesion.

目 次

§ 緒 言

§ 実験材料並びに実験方法

- 1 実験動物
- 2 抗原の調製法
 - A 抗体作成用抗原
 - B 沈降反応用抗原
- 3 家兎免疫法
- 4 抗体価(沈降素価)の測定
- 5 寒天内沈降反応
- 6 犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液及び卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液の調整
- 7 負荷実験方法

8 組織学的検査

§ 実験成績

- 1 対照実験
- 2 第1群: 犬脳抗体負荷
- 3 第2群: 犬血清抗体負荷
- 4 第3群: 犬血清抗体の soluble antigen antibody complex を含む溶液負荷
- 5 第4群: 卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液負荷

§ 考 察

- 1 Arthus 現象
- 2 本実験での病巣発生機序

§ 結 論

緒 言

実験的脳限局性出血巣の作成には現在多数の方法が報告されている。しかし短時日の中に病巣を得るには、中大脳動脈結紮法²⁰⁾²¹⁾³²⁾、脳血管内異物又は凝血片注入法¹⁸⁾³³⁾⁴¹⁾、又は後者に結紮を組合わせる方法¹⁹⁾、更にこれらに、例えば血圧を上昇させる等の条件を負荷する方法などが最も良いようである。

しかし、これらの方法で得られた病巣は、必ずしも出血巣のみ得られるとは限らない。そこで私は、選択

的に、脳局所に限局した出血巣を作成したいと云う意図のもとに、従来報告されている方法と別に、免疫学的方法を用いることにし、その手段として Arthus 現象を応用することとした。

さて、脳局所に Arthus 現象を試みた報告は少ない²⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾²⁷⁾³¹⁾⁴⁰⁾。Kopeloff and Davidoff³¹⁾は猿に、Davidoff, Seegal, and Seegal¹⁰⁾は家兎に卵白、卵白アルブミン、馬血清、赤血球等で感作したのち、脳局所に惹起注射を行ない、血管炎、血管壊死乃至破綻、出血、出血性軟化などを作成している。

しかしこれらの報告による Arthus phenomenon は主として、いわゆる active Arthus phenomenon で、前処置として予め感作したのち惹起注射を脳局所に頻回投与する必要があり、脳実質に対する侵襲もかなり大きい。

本実験では先づ操作が単純であること、しかも脳実質に対する機械的損傷は出来るだけ少くすること、換言すれば前処置を必要とせず唯1回の注射で脳局所に限局性病巣出来れば出血巣を作成しようとしたため、従来の active Arthus phenomenon でなく reversed Arthus phenomenon を応用することにした。

しかし脳に於て reversed Arthus phenomenon を試み、限局性出血巣を作成し得たという報告はない。そこで、上記方法により病巣を作成し得るかどうか、また作成された病巣が果して Arthus 型の病巣であるかどうかを検討する為、犬を用い抗犬脳家兔血清（以下犬脳抗体と称す）及び抗犬血清家兔血清（以下犬血清抗体と称す）を惹起注射として用い以下の実験を行なった。

また (Cochrane⁶) の報告では、牛血清アルブミン (BSA) とこれの家兔抗体 (anti-BSA) とで調整した soluble antigen-antibody complex を家兔の皮下に投与し、その部に血栓、血管壊死等の Arthus 型の病変を作成している。そこで私は、これと同様の反応を脳で起しうるならば操作も簡単で極めて有効な方法と考え、上述の犬血清抗体のいわゆる soluble antigen-antibody complex を含む溶液及び抗卵白アルブミン家兔血清（以下卵白アルブミン抗体と称す）の soluble antigen-antibody complex を含む溶液の2種類の溶液を調整し、これを脳局所に投与した。

実験材料並びに実験方法

1. 実験動物

動物には体重5~12kgの健全雑種犬を用い、抗体作成には体重2.5~3kgの家兔を用いた。

2. 抗原の調整法

抗原として犬脳、犬血清、メルグ製卵白アルブミン粉末を用いた。

A 抗体作成用抗原

a) 犬脳：犬を屠殺後速やかに無菌的に、脳を剔出し、その脳表面に残存する血管を通じ滅菌生理的食塩水にてその表面が蒼白になるまで洗滌したのち、出来るだけ脳軟膏、血管を除去し Teflon homogenizer を用いて乳剤としそれを50%の割合に生理的食塩水で稀釈し、これを抗原とした。

b) 犬血清：犬血清はそのままを用いた。

c) メルク製卵白アルブミン粉末：生理的食塩水に2%の割合にとかして用いた。

B 沈降反応用抗原

a) 犬脳：上記の50%脳乳剤生理的食塩水稀釈液を15000回転で45分間遠沈し、その上澄を更に生理的食塩水で20倍に稀釈したのち使用した。

b) 犬血清：犬血清を生理的食塩水にて2⁰=256倍に稀釈した後使用した。

c) メルク製卵白アルブミン粉末：1%卵白アルブミン生理的食塩水溶液とし、これを更に生理的食塩水にて2⁰=512倍に稀釈した後用いた。

3. 家兔免疫方法

上記抗体作成用抗原 a), b), c) 各々1に対して、Adjuvant (流動パラフィン85cc, Arace A 15cc, 乾燥死滅結核菌170mg) を1.5の割合に混じ、注射筒を用いて water in oil emulsion の形にしたのち抗原に a) を用いた場合は1回量2.5cc, b) を用いた場合は1.0cc, c) を用いた場合2.0cc を家兔の肩胛骨下背筋内に1週1回、連続3週間注射し、その後隔週宛1回合計約5回注射を行なった。

最終注射後7~10日目に耳静脈より試験採血を行ない、後述する抗体価 (沈降素価) 測定方法により抗体価 (沈降素価) の充分なる上昇を確認したのち頸動脈より全採血を行ない、血清を分離し、以後の実験上薬物の混入が好ましくないため防腐剤を加えることなく滅菌アンフルに封入して凍結保存を行なった。

4. 抗体価 (沈降素価) の測定

抗体価の測定に、沈降反応重層法 (抗原一定法) を用いた。即ち沈降反応用小試験管に1.5%アラビアゴム生理的食塩水液で2倍連続稀釈した抗血清を入れ、それに上記沈降反応用抗原 a), b), c) を夫々用いて静かに重層し陽性反応を示した最終抗血清稀釈倍数の ($\times 2^n$) の n で抗体価を表わした。反応の判定は抗原重層後37°C, 1時間、次いで4°C, 30分置いたのち行なった。判定基準は、緒方³⁰⁾の方法に従った。

[2] : 相当厚味のある円板を示すもの

[2'] : [2] より程度の弱いもの

[1] : 薄い円板をなすもの

[1'] : [1] より少し弱いもの

[?] : 沈降物の形成が極めて少ないが、多少上層の液が濁つて、対照に比べると陰性と云えぬもの

[0] : 対照と何等差異のないもの

[=]: 沈降物が上下に分れ二重輪を形成するものは
上記各数字の下に [=] を附記する

即ち例えば

稀釈倍数×2 ⁿ	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	抗体価
判定	2	2	2' [=]	1' [=]	1'	0	5

の如く、陽性反応を示した最終抗血清稀釈倍数は 2⁵ で、5 を抗体価とする。又 2³, 2⁴ で二重輪の形成を示す。これは反応させた抗原・抗体系に少なくとも2種の抗原・抗体系が含まれていて両反応が同時に起るための現象とされている。従つて抗原則から云えば、単一でなく複雑抗原であることを示している。又一方二重輪が形成されない場合でも、必ずしも単一抗原とは限られない。この分析に関しては下記の寒天内沈降反応を用いるべきである。

私が行なつた沈降反応重層法では、抗原 a), b) は何れも明瞭な二重輪を認めたが、c) では二重輪の形成は見られなかつた。

又本反応で用いた犬脳抗体は、犬の全脳組織成分に対する抗体を有していると考えられるが、ここでは可溶性成分に対する抗体のみ扱い、これ以外の成分に対する抗体の検討はしていない。

5. 寒天内沈降反応

本実験で用いた抗原は何れも複雑抗原と考えられ、このことはメルク製卵白アルブミン粉末以外は何れも沈降反応で二重輪を形成することによつても予想せられる。又三宅³⁴⁾によるとメルク製卵白アルブミン粉末は3つの成分を含有していると言う。そこで各抗原の含有成分の分析と、後述する soluble antigen-antibody

complex を含む溶液が果して抗原過剰にあるかどうかを判定するために寒天内沈降反応³⁵⁾ (Ouchterlony 法) を用いた。

即ち粉末寒天12g, 食塩8.5g, 窒化ソーダ1gを蒸留水1000ccに融解し直径10cmのシャーレに全量20cc宛分注し、予め入れて置いた金属鋳型(直径1cmの円柱を中心に、1辺1cmの角柱6コを距離1.2cmの間隔で6角形に並べたもの)を抜きとり出来上つた寒天池に抗原及び抗体を0.2cc宛分注して、寒天内で沈降反応を沈降線で見わたすのち写真記録を行なつた。

これにより私の用いた抗原は何れも複雑抗原と考えられ、特にメルク製卵白アルブミン粉末に於ては少なくとも2種の成分が確認せられた。(図1, 2, 3)

6. 犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液及び卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液の調製

何れも複雑抗原であるため、調製方法としては最も単純な方法をとつた。

1) 犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液

これには次の2種のものを用いた。

a) 抗体と抗原の割合を何れも原液で10:1の割合で混合し、これを37°C30分間放置したのち0~4°Cの氷室に一昼夜置き、この上澄を用いた。

b) 同様の操作で一昼夜0~4°Cの氷室に置いたものの上に、抗原を更に追加し、抗体と抗原の割合が10:6になる様にして再び37°C30分放置後0~4°Cの氷室に一昼夜置き、この上澄を用いた。

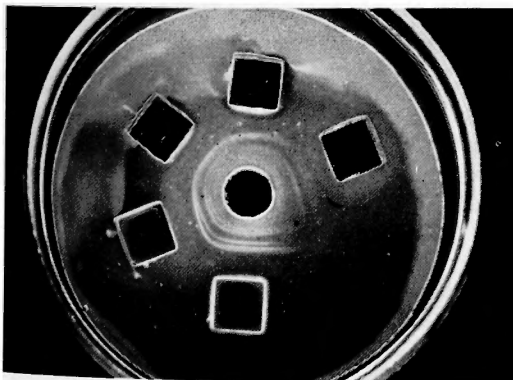


図1 中央の円形池に、犬脳抗体を、周囲の方形池に、右廻りに脳抽出液(抗原)を階段稀釈した液を入れ寒天内沈降反応を行なつた。約5本の沈降線が観察される。

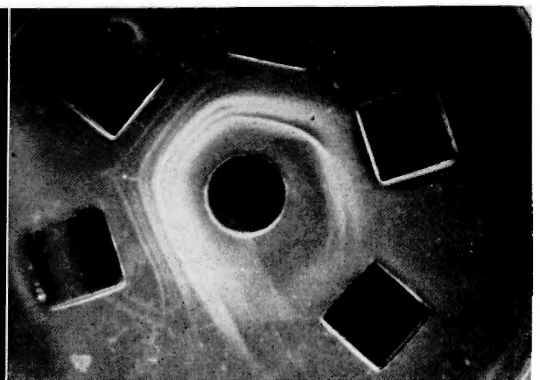


図2 中央に犬血清抗体、周囲の方形池に、階段稀釈された犬血清を入れ寒天内沈降反応を行なつた。無数に沈降線が見られる。

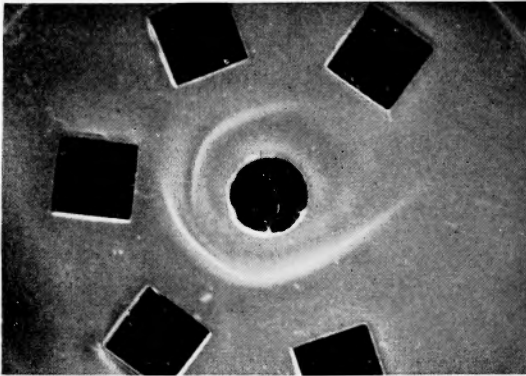


図3 中央の円形池には卵白アルブミン抗体，周辺の方形池に同様階段稀釈された卵白アルブミン液が注入された。約2本の沈降線が見られる。

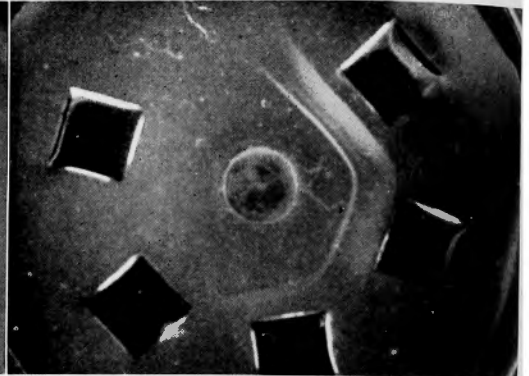


図4 円形池に犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液が，又周囲の方形池に階段稀釈した犬血清抗体が入っている。現われた沈降線は soluble antigen-antibody complex を含む溶液中に，なお遊離の抗原(犬血清)が存在すること即ち抗原過剰となっていることを示す。(混合比10:1)

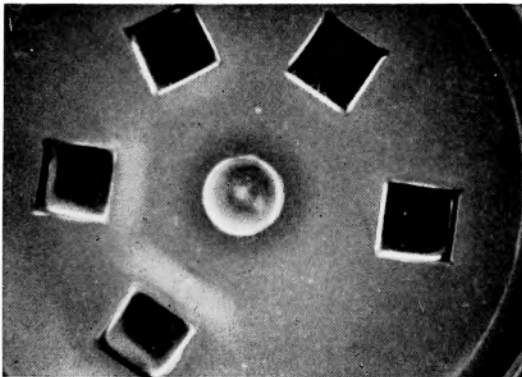


図5 混合比10:6の割合で調整した犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液を用いて，図4と同様の反応を行なった。同じく抗原過剰となっている。

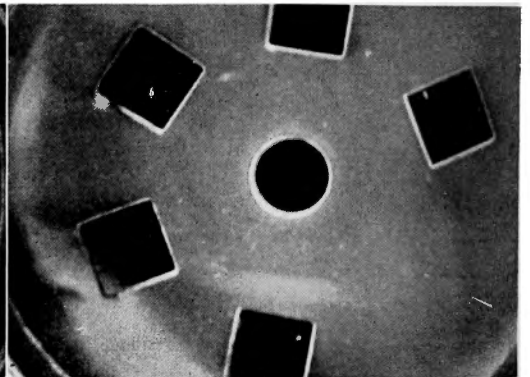


図6 円形池に卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液が，そして方形池に卵白アルブミン抗体が入っており，帯状白線は soluble antigen-antibody complex を含む溶液が抗原過剰となっていることを示す。(混合比10:2.5)

2) 卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液

抗原として1%卵白アルブミン生理的食塩水液を用いて，原液の卵白アルブミン抗体に適量混合して沈降反応を行ない，上記と同様の操作後更に抗原を追加し，沈降物を溶解して用いた。その際の抗体と抗原の割合は，10:2.5であつた。

何れの soluble antigen-antibody complex を含む溶液についても寒天内沈降反応により抗原の過剰を確認し

た。(図4, 5, 6)

又ここで調製した溶液は，使用抗原が何れも複雑抗原である為に最適比が決定出来ず，従つて純粋な soluble antigen-antibody complex でなく，溶液中に添加した抗原が余分に含有されている。

7. 負荷実験方法

実験犬を Nembutal 麻酔したのち側臥位に固定し，側頭上部に直径2~3cmの開頭を行ない，硬膜切開をし，抗体又は soluble antigen-antibody complex を含む

溶液をそれぞれ1回量として0.5 ccを微量用注射器にとりカテラン針を用いて矢状面に対し約30°の角度で深さ2~3 cmの所へ静かに注入した。注射後直ちにゼラチンスポンジを当て、筋膜、皮膚縫合を行なつたのも抗生物質を投与した。術後平均4日目に屠殺し脳を剔出し病巣の有無を検した。

8. 組織学的検査

肉眼的検査を終えたのち、10%ホルマリン液で固定し、病巣部に H. E. 染色を施し、検鏡を行なつた。

実験成績

1. 対照実験

本実験は犬の脳局所に抗体を負荷することにより限局性の病巣が出来るか、否かを検する事にあるので、注射針の刺入だけで機械的出血が起りはしないか、又実験動物(犬)にとり生物学的異物である家兎血清及び1%卵白アルブミン生理的食塩水液に生体反応がどの程度起るかを知ることがある。

そこで先づ生体的食塩水など正常犬血清を圧力を加えて注入し、注入時の機械的並びに圧力による損傷を調べ、又生体反応を観察するために正常家兎血清及び1%卵白アルブミン生理的食塩水液を注入した。

実験成績：生理的食塩水注入群は2例何れも、肉眼的に何等病巣を認めなかつた。正常犬血清注入群は10例中3例(30%)に病巣を認め、この中2例は基底核部に明らかに注射針の刺入による線状出血、1例は脳底部に7mm×1mmのやや大きい凝血が認められた。正常家兎血清注入群では13例中3例(23%)に病巣を認めた。即ち夫々皮質下、脳底部、基底核内に何れも明らかに注射針刺入による線状出血であつた(図7)。1

%卵白アルブミン生理的食塩水液注入群は、4例中1例(25%)に基底核部に線状出血を認めた。

以上の対照実験より正常犬血清、正常家兎血清、1%卵白アルブミン生理的食塩水液を注入した場合、大体20%~30%の例で主として注射針刺入による機械的侵襲によると思われる線状出血を来すようである。然しこの場合の出血はあくまで線状出血であつて、血管炎其の他により惹起された出血巣とは明らかに異なつてゐる。即ち、この対照群における病巣は何れも針刺入部の病巣壁に出血があり、所々脂肪顆粒細胞が散見し、白血球の浸潤が認められる。また病巣壁附近の細血管の増殖がありやや離れた血管に細胞浸潤が認められる(図8)。ただ犬血清、家兎血清次いで卵白アルブミンの順で上記の変化が若干強くなる傾向があり、殊に卵白アルブミン注入により病巣を認めた1例では血管の周囲の細胞浸潤が強く、単なる機核的出血ではなく明らかに異種蛋白の刺戟作用も関与していることを思わせた(図9)。併しこの場合でも病巣は針刺入の先端のみに強く見られ、血管周囲血漿滲出、血栓、血管周囲出血乃至血管壊死の所見は見出し得なかつた。

2. 第1群：犬脳抗体負荷

負荷抗体として、抗体価5, 6, 7の3種の家兎血清を用いた。

実験成績：第1表に示すごとく、抗体価5では13例中8例、6では3例中3例、7では8例中5例に病巣を認めた。

病巣は2日目に屠殺したものに於て、すでに認められた。病巣の肉眼的所見は抗体価5, 6, 7何れを用いた場合も同様であり図10の如く、剖面は中央に帯黄色の壊死巣が見られ境界は比較的鮮明、外見上出血は殆ん

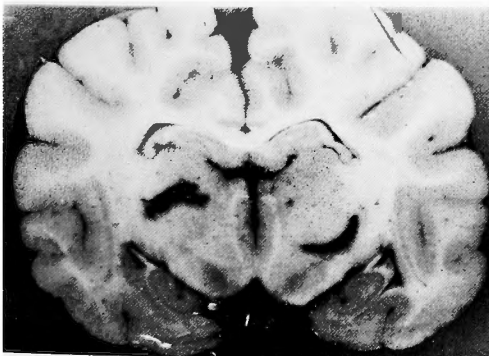


図7 正常家兎血清注入例 基底核の両側に針刺入による線状出血を認む。

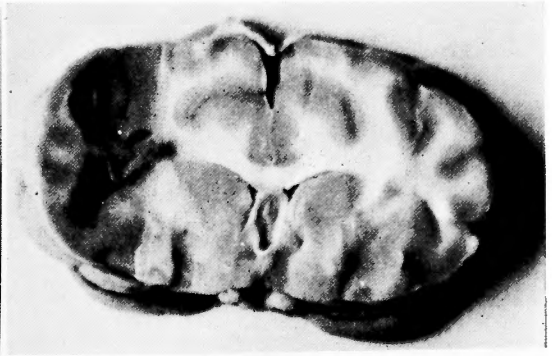


図10 犬脳抗体負荷例(抗体価6) 白質に限局する帯黄色の壊死出血は肉眼的に殆んど認められない。

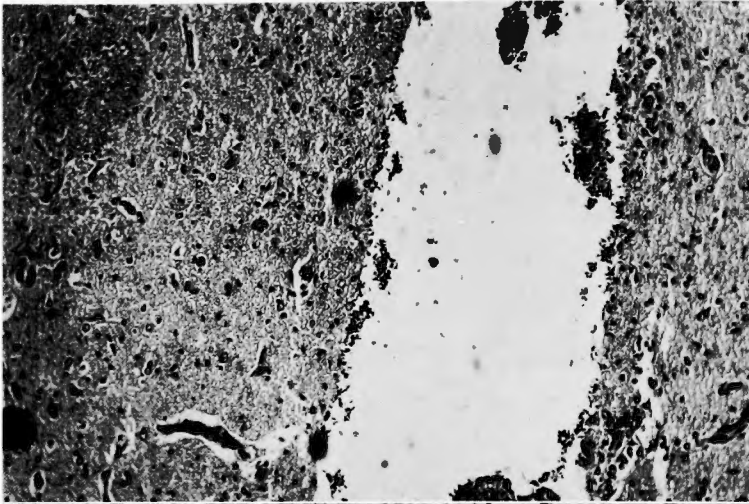


図8 図7の組織所見, 壁に赤血球が僅か認められる。又白血球浸潤も所々見られる。

×100

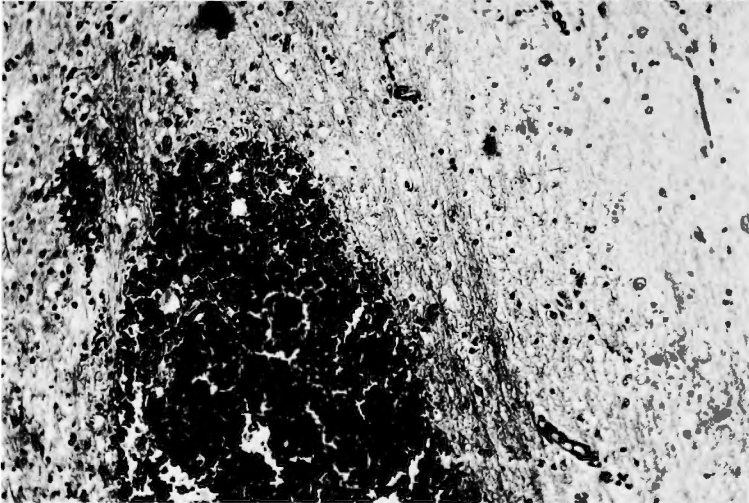


図9 1%卵白アルブミン注入例の組織所見。針先の尖端部に相当しやや出血が強く見られる。左真中頃にやや強い白血球の浸潤が見られる。

×100

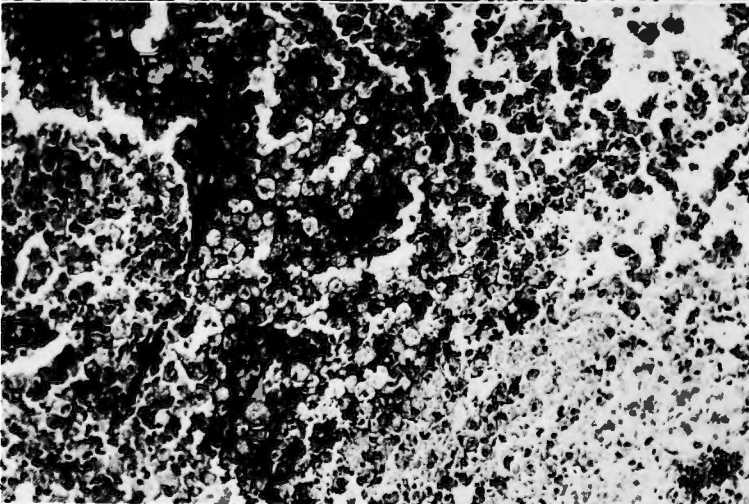


図11 図10(犬脳抗体負荷例)の病巣部の組織所見を示す。中心に、脂肪顆粒細胞が一面に見られ、所々に多核白血球、赤血球及び単核球が散在する。

×100

第1表 第1群：脳抗体負荷

抗体価	例数	病巣数	作成率	経過日数	註
5	13	8	8/13	7	7例：無出血性壊死（皮質下）
6	3	3	3/3	10	2例：出血性壊死（外包，基底核）+無出血性壊死（皮質下）
7	8	4	5/8	3	2例：円形の出血性壊死（基底核）
		2		0	3例：病巣周辺の帯状出血性壊死（皮質下）
		2		2	2例：凝血（脳底部）

ど認められない。唯抗体価 5, 7 の負例に於てはやや出血傾向を示し、病巣内に一部出血を伴うもの、周辺に血性を帯びるものを認め、又 2 例に於ては凝血を示した。

病巣の形状は図10の如く多角形をとるものもあつたが、一般に注入部位を中心とする円形を示すものが多く、殊に基底核内に病巣の生じた例ではすべて円形を示した。又何れも病変は灰白質には波及していなかつた。

又抗体価と病巣作成率との関係は第1表の如く抗体価 5 では 8/13, 6 では 3/3, 7 では 5/8 と如何にも抗体価 6 の場合高率に認められるように思われるが、抗体価 7 の抗血清を生理的食塩水で稀釈を行ない×2 稀釈して抗体価 6 としたもの 4 例に、又×8 倍稀釈して抗体価 4 としたものを 2 例に、それぞれ負荷を行なつたが何れも病巣は全く作成出来なかつた。

従つて抗体価と病巣作成率との間には明らかな平行関係はない様に思われる。

この群の病巣の組織学的所見の特徴は、組織の変性、壊死が強く物質欠損が著しい事と、病巣部は白質に限局し灰白質には殆んど波及していないことである。即ち白質に限局する壊死巣は、中心部は脂肪顆粒細胞で一面に占められ、病巣壁部も脂肪顆粒と赤血球とが散在性に存在している。輪状出血は認められず、血管には細胞浸潤が若干認められた（図11）。

小括：本病巣の特徴は脳組織の崩壊乃至壊死の程度に比し、一般に出血や血管の変化が少なく、基本的には無出血性壊死巣と考えられる。

一方約半数の多少とも出血を有する病巣に於ては、組織学的に漏出性出血や、輪状出血様の赤血球集積が無出血性のものに比して、やや多く観察出来る。しかし本実験で用いた犬脳抗体は、寒天内沈降反応によると図12で示す様に犬血清抗体を含有しており、この犬脳抗体は後述する様な作用を有していることから、こ

れらの出血性の変化は犬脳抗体自身によるものでなく、むしろ犬血清抗体のためと考えられる。

3. 第2群：犬血清抗体負荷

負荷用抗体として、抗体価 8 の家兎血清を用いた。

実験成績：第2表に示す如く18例中13例に病巣を認めた。

作成病巣は図13に例示する如く、第1群と同様に病巣は灰白質に波及しない。形は一般に多角形及び帯状をとるものが多く、第1群の如き円形病巣は認められなかつた。

一般に病巣は出血性で、所々点状出血斑を混ずるものであり、基底核部、脳底・外包部では帯状の凝血を形成しており、第1群に比して明らかに出血傾向が大であつた。

又第1群で行なつた様に、抗体価 8 のものを生理的食塩水で×2 倍稀釈し、抗体価 7 としたものを 2 例に負荷し 1 例に小出血巣を得たが例数が少ないので結論は出せないが、対照群の線状出血より大きく、第1群の病巣と明らかに性質が異なる出血性病巣を示した。

組織学的所見は、一般に病巣の大きい例ほど物質欠損も著明であるが、病巣の中心はあくまで血管中心性で、軽度のものには血管周囲の漿液及び線維素の滲出、漏出性出血、輪状出血に過ぎないが、出血巣の大きい場合には血管内膜の膨化及び消失、血栓、血管壊死を示している。又血管壁の多核白血球浸潤は、4 日目に屠殺した例に於ては殆んど認められなかつた。脂肪顆粒細胞は、病巣内及び壁に於て認められるが、第1群に比して少ない。

多核白血球は、病巣内及び病巣壁になお多少認められ又単核球が同時に認められた。

一方周囲組織は粗大海綿状をなし、同時に神経細胞の壊死が所々散在し、病巣よりやや離れた所に血管の細胞浸潤が認められる（図14）。

7 日目に屠殺した例では、中心部の炎症が消滅し、

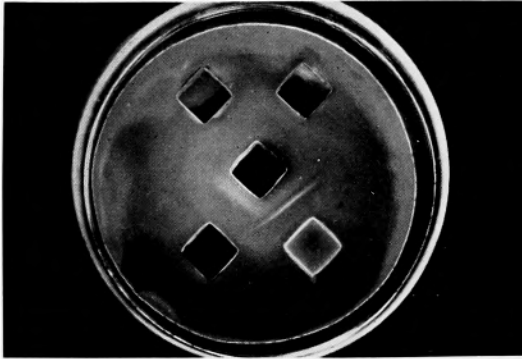


図12 中央方形池に脳抗体，下右方形池に犬脳抗原，下左方形池に犬血清が入っている。中央と下右方形池の間の線が犬脳に由来する沈降線を示し，それより内側の下右，下左方形池に対応する薄い線は共通抗原（血清）による沈降線を示し，犬脳抗体中に犬血清抗体成分のあることを示す。

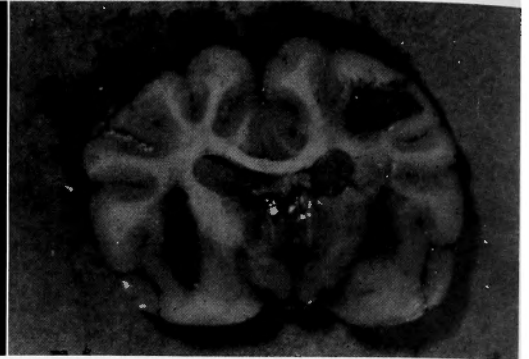


図15 犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液（混合比10：1）の負荷例。左下，凝血と線維素様の物質で濁された病巣。右上，下，点状出血及び凝血を示す。

第2表 第2群：犬血清抗体負荷

抗体価	例数	病巣数	作成率	経過日数	註
8	18	2	2	48時間以内死亡	4例：出血性壊死（皮質下） 6例：凝血（基底核4例，脳底・外包部2例） 3例：点状出血（皮質下）
		14	9		
		2	2	6	
7	2	1	1/2	6	1例：小出血（皮質下）稀釈抗体使用

第3表 第3群：犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液負荷

混合比	例数	病巣数	作成率	経過日数	註
10：1	16	12	10	4	4例：線状出血（基底核3例，脳底部1例） 4例：線維素+凝血（皮質下2例，脳底部2例） 2例：凝血（脳底部） 2例：点状出血（皮質下）
10：6		4	2		

中心より可成り離れたところになお炎症像があり，炎症が周囲にむかつて徐々に波及している像を思わせる。

小括：本病巣は肉眼的に出血を伴う壊死を示し，組織学的所見では，殆んど術後4日目に観察しているため血管壁に多核白血球は認めなかつたが，病変はあくまで血管中心性であり，これは Davidoff¹⁰⁾等の5～6日目の所見と類似している。

又病変は灰白質に波及していないことを観察したが Davidoff¹⁰⁾，Alexander²⁾ 達も同様の所見を報告している。

4. 第3群：犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液負荷

負荷用抗体として，既述した方法で調製した2種の soluble antigen-antibody complex を含む溶液を用いた。

実験成績：第3表に示す如く，混合比10：1を使用したもの12例中10例に，又混合比10：6を使用したもの4例中2例に病巣を認めた。

肉眼的所見としては図15に示す如き線維素を混じた凝血塊，点状出血巣等を認めた。

一般に病巣は小さく，反応は第2群に比して軽度である。又第1群，第2群と同様病巣は灰白質に波及し

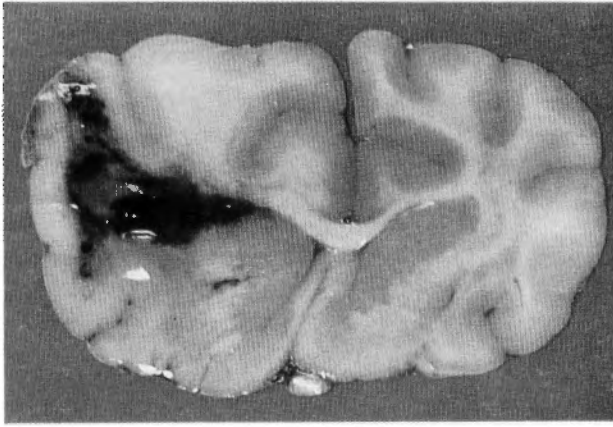


図13 犬血清抗体負荷例。白質に限局する病巣で強い出血を示す。



図14 図13(犬血清抗体負荷例)の組織所見を示す。中央やや右上の血管は周囲に血漿滲出像を示している。図の黒い部分は赤血球で、所々単核球が見られる。

×100



図16 図15(犬血清抗体のsoluble antigen-antibody complexを含む溶液の負荷例)の組織所見を示す。右上、血管には周囲の血漿滲出像が見られ、これを取り巻く様に赤血球が並び、所々に単核球が見られる。

×100



図17 図16の血管の拡大図。内皮細胞は一部膨化核消失を示している。

×200

ていない。又混合比10:6のものに病巣作成率が悪いのは、有効成分が稀釈されている為と考えられる。

組織学的所見：一般に第2群と同様の所見を呈するも反応の程度は、第2群に比して軽度で物質欠損～壊死巣が明らかに少ない。

病巣内及び病巣壁に出血を認め、脂肪顆粒細胞も僅かに認められる。又多核白血球が病巣内に散在する。周囲組織の粗大海綿状構造は、第2群に比して小範囲で、その中に神経細胞の壊死が所々散在している。輪状出血は時に認める。又血管周囲の血漿滲出は常に認められる所見である。併しこれらの血管に於て壊死に至るものは認められなかつた(図16, 17)。混合比10:6の組織学的所見は、一般に程度が軽く、血管周囲の漿液滲出像が認められる。

小括：本群の実験で得た病巣は、犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液負荷により得たものであり、肉眼的にも組織学的所見にも反応の程度は弱い第2群で得た病巣と類似している。しかし現在 soluble antigen-antibody complex の生体に対する作用機序にまだ不明の点が多いため、この反応が犬血清抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液により起つたものか、その溶液の構成々分である犬血清抗体そのものによる反応であるか明らかではない。

そこで実験動物と全く無関係な物質(卵白アルブミン)を使用することにより第4群の実験を行ないこの点を検討した。

5. 第4群：卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液負荷

実験成績：第4表に示す如く、10例中7例に病巣を認めた。又病巣の肉眼的所見は全例殆んど同様で図18に示す如きもので、病巣は一般に小さく、又壊死巣を示さない。そして小出血巣は点状出血巣であつた。又出血巣は、白質内に限局され灰白質に波及していない。

組織学的所見：第2群所見と類似し病巣は殆んど赤血球で満たされ、所々に多核白血球、無構造を示す線維素塊が認められた。脂肪顆粒細胞は殆んど認めない。一方病巣の周辺組織は粗大海綿状を示し、その中に神経細胞の壊死がかなり見られる。又輪状出血も認められ、血管はことごとくその周囲に血漿滲出像を示し、又血栓も認められた。血管内壁の細胞は膨化を示すものから、壊死まで様々の経過を示している(図19)。即ち1%卵白アルブミン生理的食塩水液投与による組織学的所見と明らかに相違している。そして血管の変化は、第3群に比して著しかつた。

これらの所見は Cochrane⁶⁾が行なつた家兎の皮膚反応の所見と類似を示している。

第4表 第4群：卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液の負荷

混合比	例数	病巣数	作成率	経過日数	註
10:2.5	10	7	7/10	4	4例：点状出血(皮質下)中1例は基底核に小出血を伴なう 3例：小出血(皮質下)

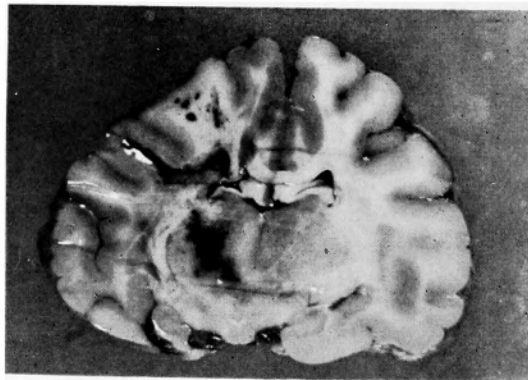


図18 卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液の(混合比10:2.5)負荷例。基底核内の小出血並び皮質下の点状出血。



図19 図18 (卵白アルブミン抗体の soluble antigen-antibody complex を含む溶液負荷)の組織所見を示す。右下に輪状出血が見られ、周辺の血管は血漿滲出像を示す。
×100

小括：第4群は、実験動物と全く無関係な、卵白アルブミンと、家兎から得た卵白アルブミン抗体とから調整したComplexのみの投与で、上記の病巣が得られた。そして正常家兎血清のみの投与や、1%卵白アルブミン生理的食塩水液のみの投与をした対照群で全く示さなかつた特徴ある血管の変化を示している。この事から、かかる変化は抗原及び抗体が夫々単独で有しなかつた性質が、抗原と抗体が結合することによつて生じたと推定される。従つて抗原が動物の組織と直接関係なくても同様の病変を作成しうるとは明らかである。

考 察

1. Arthus 現象

Arthus 現象は古くからアレルギー性炎症の基本として最もよく研究されている。この現象は元来皮膚に於ける現象であり、1) 抗原をくりかえし注射することにより能動的に感作した家兎の皮下に、元の抗原を注射すると、その直後より局所に腫脹、発赤、浮腫、出血斑を生じ、強い場合は壊死に発展し、組織学的には血管周囲の炎症の形で現われる。これをactive (classical) Arthus phenomenon と称する。(これ以外に2)1)の如く能動的に感作する代りに、直接静脈内に抗体を投与して正常動物を被動物に感作し、以後同様の操作を行なう passive Arthus phenomenon。3) 抗体を正常動物の局所(皮膚)投与したのち、対応抗原を同じく局所(皮

膚)に注射する local passive Arthus phenomenon²⁹⁾、4) 更にアナフィラキシーに於ける逆アナフィラキシーと同様、抗原を最初静脈内に注射しておいた後、皮膚に抗体を投与する reversed passive Arthus phenomenon²⁹⁾や、5) 又は最初に抗原、次いで抗体と何れも局所に投与する reversed local passive Arthus phenomenon が知られている。

この Arthus 現象は、其の後皮膚以外にも肝、腎、率丸、関節等あらゆる臓器に起ることが知られ、脳に於ても可成り報告されている。即ち Davidoff and Kopeloff³⁰⁾は犬に馬血清を用い主として臨床所見の報告をなし、Davidoff, Seegal and Seegal¹⁰⁾は家兎に馬血清、卵白アルブミン、赤血球等を用いて感作し、それぞれを惹起注射として脳に投与し肉眼的に出血、壊死、脳浮腫を、組織学的所見として白血球浸潤、出血、病巣内の紅色無構造物質、血管内膜膨化、血管壊死を生じたと報告し、皮膚 Arthus 現象の所見と類似するとのべている。又 Kopeloff, Davidoff and Kopeloff³¹⁾は猿に、卵白で感作後脳局所に惹起注射を行なつて出血性軟化巣を得たと報告し、Jervis, Ferraro²⁷⁾ 達も Kopeloff³¹⁾達と全く同様の実験を行なつて組織学的所見で、他の部位に於ける Arthus 現象の所見と基本的に同一であると述べている。

併し従来報告されているこれら脳に対する Arthus 現象の実験的研究には私の実験目的である脳実質に対する侵襲が少なく、且つ出来るだけ簡単な操作で脳局所

に限局性の出血巣を作成しようとする為には幾多の欠点がある。

先づ第1は上記報告の何れも active Arthus phenomenon を応用したもので、当然動物を感作する為には頻回の抗原投与と長期の日数を要する。第2は例えば Kopeloff, Davidoff and Kopeloff³¹⁾や Davidoff, Seegal and Seegal¹⁰⁾は脳に惹起注射を頻回行なっているが、これは脳に対する機械的損傷も可成り大きいと考えられる。第3は Kopeloff³¹⁾達の報告では1回投与量10ccの卵白注射を行なっている。従つて脳に対し機械的損傷の他に卵白自体による強い異物反応も加わることが当然考えられ、果して Arthus 現象のみによる病巣かどうか疑わしいなどである。

勿論比較的簡単な操作で脳に Arthus 現象を起させたと言う報告もある。例えば Alexander and Campbell²⁾はモルモットを、馬血清で唯1回腹腔内投与して約3週間後に唯1回の脳局所惹起注射を行なっている。この場合抗原投与が唯1回であり充分な抗体価が得られず、従つて反応も弱いと考えられる。事実病巣は出来てはいるが一般に小さい。

我国では若林・本間⁴⁰⁾が家兎を緑膿菌内毒素を用いて能動的及び被動的に感作を行ない、惹起注射を脳槽内に頻回投与を行ない、脳、脊髓に瀰漫性の出血を認めているが、当然の事乍ら壊死巣は発生していない。

そこで上記の諸家の成績から、予め抗体価の充分高い抗体を作成して置き、これを惹起注射として脳局所に投与する逆反応を用いるならば、既述の欠点も幾分減少させ、その上各実験動物の感作に対する個体差を考慮に入れなくともよくなる。

更に惹起用の抗体として、実験動物の生体内成分に対する抗体を用いることとすれば、前処置としての抗原投与を省略することが出来るとの考えのもとに第1群、第2群に夫々犬脳抗体及び犬血清抗体を用いることとした。

さてこの反応形式は、anaphylaxis に対する reversed anaphylaxis……例えば、Forssman¹⁴⁾抗原を生体内諸臓器に先天的に有するモルモット型の動物に、Forssman 抗体を静脈内に注射することにより生ずる現象で……これに対応して reversed Arthus phenomenon と名づべきものである。

さて第1群で得た病巣は成績のところ述べて如く、一般に出血や血管の変化が少なく、基本的には無出血性壊死変化と考えられ、従来報告されている Arthus 型の病巣といささかかけ離れた所見であつたが元来

Arthus型の病巣を呈すべきものであつたと考えたい。この理由については後に触れる。

第2群では肉眼的に出血性壊死巣を示し、組織学的所見として病巣内の大量出血、血管周囲の血漿滲出、輪状出血、血管内膜膨化、血栓、血管壊死、病巣内多核白血球の出現を認め、周囲の血管に細胞浸潤を示し、明らかに Arthus 型の病巣を示した。

一方 anaphylaxis の実験で抗原と抗体の混合液が正常モルモットに anaphylaxis 様の反応を来たことが古くから知られており (Frieberger¹²⁾, Friedmann¹³⁾、最近になり Germuth and McKinnon¹⁷⁾ は沈降反応に於ける上清をモルモットの静脈内に投与して、抗原過剰域に於ける上澄に於てのみ anaphylaxis 様のショックを来たすことを見つけ、抗原過剰域では抗原抗体沈降物は可溶性の結合物となつて存在していることから、このショックは可溶性抗原抗体結合物 (soluble antigen-antibody complex) によるものと考え、沈降反応の沈澱物に、過剰の抗原を追加して、これを溶解し可溶性結合物と遊離抗原の混合物を正常家兎に注射し、同様のショックを起させた。

又 Trapani³⁹⁾ 達は local anaphylaxis の表現として正常モルモットの腸管に、沈降反応の上澄を作用させて、腸管の収縮を認め、皮膚反応として Humphrey and Jaques²²⁾は抗原抗体混合液を家兎の皮膚に投与して、cutaneous anaphylaxis に於て見られると同様の血管の透過性の上昇を観察し、次いで Ishizaka²³⁾²⁴⁾ 達は可溶性抗原抗体結合物により同様の血管の透過性の上昇を認め、更に一連の実験を²⁵⁾²⁶⁾⁴²⁾を行なつて、可溶性抗原抗体結合物の分子構造から、anaphylaxis 発生の機序は相隣る組織に夫々結合を行なっている抗体が、同一抗原に結合し、二量体化するため抗体の組織との結合部は活性化が起り細胞が刺激され anaphylaxis が生ずると述べている。

以上の如く可溶性抗原抗体結合物は、anaphylaxis のみならず Arthus 様の反応も惹起する。Cochrane⁶⁾ は牛血清アルブミン (BSA) とこれの家兎抗体 (anti-BSA) とで調製した可溶性抗原抗体結合物を家兎の皮下に投与して Arthus 様の病変を得ている。

そこで可溶性抗原抗体結合物が脳に対しても同様の作用があるならばとの考えのもとに、第3群、第4群の実験を行なつた。

この場合、第3群で用いた可溶性結合物は第2群で用いた抗体で調製したもので、第4群では実験動物と全く無関係な卵白アルブミン抗体で調製したものを

いた。

その理由は、現在可溶性結合物の作用機序は Arthus 様現象に関しては、anaphylaxis の如く判っていないため、たとえ病巣が出来ても、果して可溶性結合物により起つたものか、又は元の抗体の為に発生したものか不明であるので、これをはつきり鑑別しようとしたのである。

又第3群、第4群で云う可溶性結合物には遊離の抗原を含有しているが、この抗原は対照実験や Ishizaka 達の cutaneous anaphylaxis の実験から反応に直接関係がないと考えられる。

その結果は既述した如く、第3群では混合比10:6のものは、混合比10:1のものに比して病巣は一般に小さい。又混合比10:1も10:6のものも共に組織学的所見で何れも血管周囲の血漿滲出を示しており、Cochrane の報告している所見と類似しているが既述の理由により可溶性結合物の作用による Arthus 様現象と断定出来ない。又第4群は肉眼的に点状出血、小出血巣が主で壊死巣は見られない。又組織学的には第2群の変化の軽度な状態を示し、殆んど血管の変化が主で血管周囲の漿液滲出、時に血栓、又典型的な輪状出血、血管内膜の膨化が見られ、ごく僅かではあるが血管壊死像も見られた。

これは Cochrane の皮膚所見と類似し、いわゆる可溶性結合物の作用によつて生じた Arthus 様病変と見做してもよい所見と思われる。

2. 本実験での病巣発生機序

古くから Arthus 現象が浮腫、出血、壊死の如き明らかに循環障害に相当する変化をもたらすことから、病巣発生に関し血管での抗原抗体反応の結果起る循環障害によると考えられている。例えば Fröhlich¹⁵⁾ は循環障害を血管壁の弛緩による鬱血と考え、Opie³⁷⁾ は血栓を重視しその血栓の原因を血管内膜での抗原抗体反応の結果起る内膜破壊と考え、或いは Cerlach¹⁶⁾ は血行停止の結果起る周囲組織の腫脹が毛細管を圧迫すると考えるものがある。又天野¹⁾ は抗体産生が血管外膜形質細胞系でなされ、産生抗体は内皮細胞、滑平筋に吸着されていると考えている。従つて local anaphylaxis に際し外膜細胞、内皮の障害で血漿の滲出、白血球の浸潤を、滑平筋の攣縮で循環障害を生ずると考えている。これによると内皮も勿論障害されるが、Opie とは逆にむしろ外膜が反応の中心と考えられる。

又螢光標識法を用いて、抗原又は抗体の側から家兎の皮膚 Arthus 現象を観察した京極³⁰⁾ や Cochrane⁶⁾ に

よると、投与された抗原は血管壁及びその周辺に集積しており、主病変は抗原の集積を認めた血管中心性に起つている。

これらのことから反応の場は、血管の内皮又は外膜と明確に区別は出来ないが、血管を中心とした周囲組織と考えられる。

更に京極によると、高度に感作された家兎は惹起注射以前の状態ですでに組織間隙、特に結合組織線維間に抗体（組織抗体）を認め、この抗体が反応の初期に血管破壊乃至は透過性を高め血中抗体を局所に導入する役目をするとして述べている。

一方免疫学的研究から、anaphylaxis 反応は組織抗体が関係しており、Arthus 現象は血中抗体が主として関係していると考えられている³⁷⁾。

最近の Benacerraf, Overy⁴⁾⁵⁾³⁸⁾ 達のモルモット抗体に関する研究によると、その抗体中の γ_1 グロブリンは組織結合性を示し、anaphylaxis 反応に関係し、 γ_2 グロブリンは組織結合性を示さず、Arthus 現象に関係することが明らかとなつている。

しかし家兎より得られた抗体は、 γ_1 も γ_2 グロブリンも何れも組織結合性を示し、Arthus 現象も起すと云われている²⁶⁾。

さてこれらの事実から、本実験での病巣発生の機序を考えて見ることとする。

先づ第2群実験に於ては、抗原として犬血清を用い、家兎より得た抗体を局所投与する reversed Arthus phenomenon を試みたもので、実験動物（犬）は無感作の状態、従つて局所に京極の云う如き組織抗体が存在しない。即ち反応初期にこれを促進する因子が存在せず、投与した抗体は徐々に周囲の血管へ吸収されて行く。この際抗体は一部組織結合性を示し脳組織に結合されて終う。しかし血管へ達した抗体はここで抗原抗体反応を起こし、血管破壊又は血管透過性を高めその結果として出現した血漿や血液（抗原）が予め結合している抗体と反応をおこし病巣を拡大して行くものと推定される。

第1群実験に於ては抗原として犬脳を用い、家兎より得られた抗体を用いたもので、勿論組織結合性を有してはいるが、一方では組織自体が抗原となつているため投与された抗体は周囲の脳組織に吸着されて終い、血管に対する影響が現われず、本来の Arthus 現象を示さない。そして抗体の cytotoxic²⁸⁾ な作用が、脳組織を壊死に陥らせるものと考えられる。

最後に第3群、第4群の実験について考えて見る

と、現在 soluble antigen-antibody complex の Arthus 様現象の発現機序が不明である。しかし soluble antigen-antibody complex は anaphylaxis 反応の表現である cutaneous reaction を惹起せしめる反面他方で Arthus 様現象も惹起せしめ得る。このことは石坂²⁶⁾の言う家兎抗体の成分である $\gamma_1\gamma_2$ グロブリンの性質から当然考えられることで、恐らく soluble antigen-antibody complex による Arthus 様現象も、anaphylaxis 反応と同一の機序ではないかと考えられる。

更に螢光抗体を用いた成績⁶⁾で soluble antigen-antibody complex と local passive Arthus phenomenon を用いた反応が殆んど等しい所見を呈することからも、このことが想像される。

従つて本群の実験に於て、投与された可溶性抗原抗体結合物は、一部周囲組織に結合し、血管に到達したもののみが Arthus 様現象を起すものと考えられる。そしてこの際起つた血漿滲出や出血は第2群と異なり組織と結合している抗体とは何等反応を起さない。

第3群に関しては既述した理由によりここで触れないが、第4群について考えて見ると、この場合組織と結合している抗体は卵白アルブミン抗体であり、血漿や血液と無関係であり、又例え反応をすとしても既に抗原と結合された状態にあるからである。

このことも、本群の病巣の小さい理由と推定される。

これまで、Arthus 現象乃至は Arthus 様現象につき発生機序を考えて来たが、これに関しては Benacerraf, Overy 達が云う γ_1 グロブリン、 γ_2 グロブリンを用いた更に詳細な検討が必要である。

結 論

脳局所に限局した病巣、出来うれば出血巣を作成しようとして Arthus 現象を応用することにし、脳局所の機械的損傷を出来るだけ避け且操作を簡単にしたいと云う考えから、犬脳抗体、犬血清抗体を実験動物(犬)の脳局所に0.5cc唯1回投与する reversed Arthus phenomenon を用いた。

次いで、可溶性抗原抗体結合物 (soluble antigen-antibody complex) に Arthus 様現象の惹起能力があるとの報告に基づき、惹し脳に於ても同様の作用が起るならば、上記の目的に叶うと云う理由で、犬血清抗体及び卵白アルブミン抗体を用いて調製したいわゆる soluble antigen-antibody complex を脳局所に、同様0.5cc唯1回投与を行ない以下の結論を得た。

1) 対照として生理的食塩水、正常家兎血清、正常

犬血清及び1%卵白アルブミン生理的食塩水液の0.5cc脳局所投与を行なつた所20~30%の割合に、機械的損傷による線状出血が得られた。但しこれらの病巣は第1群~第2群で得た病巣と肉眼的に明らかに區別出来る。

2) 犬脳抗体を用いた第1群の病巣は、基本的には無出血性壊死巣を示し、反応形式からは reversed Arthus phenomenon であるが、成因からむしろ抗体の cytotoxic な作用による壊死と考えられる。又本群中に見られる出血巣は、犬脳抗体中に含有せられる犬血清抗体によるものと考えられる。

3) 犬血清抗体を用いた第2群は、明らかに出血傾向が大で、出血性壊死、凝血、点状出血等の様々の病巣が認められ肉眼的にも、組織学的所見でも本群は reversed Arthus phenomenon により生じた Arthus 型の病巣と思われる。

4) 犬血清抗体及び卵白アルブミン抗体を用いて夫々調整して得た2種の soluble antigen-antibody complex を含む溶液を用いた第3群、第4群に於て点状出血、小出血、凝血を示したが壊死巣は認められなかつた。組織学的所見は、第2群の血管変化と共通しており、作用機序は明らかではないが、Arthus型の病巣と考えられる。

5) 何れにしても犬脳に於て、reversed Arthus phenomenon 及び Arthus-like reaction を用いることにより、限局性脳出血病巣を作成することは出来る。併しその発生機序に関しては今後の研究が必要である。

稿を終えるにあたり、終始直接御指導頂きました恩師半田 肇教授並びに数々の御助言下さいました第二病理京極方久先生、精神科松岡竜典先生に心からの感謝を致します。

文 献

- 1) 天野重安：血液学の基礎、上巻、丸善、東京、1948.
- 2) Alexander, L. and Campbell, M. B., Local anaphylactic lesions of the brain in guinea pigs. *Am. J. Path.*, **13** : 229, 1937.
- 3) Benacerraf, B., Kabat, E. A., A quantitative study of Arthus phenomenon induced passively in the guinea pig. *J. Immunol.*, **64** : 1, 1950.
- 4) Benacerraf, B. Overy, Z. and Bloch, K. J., Properties of guinea pig γ s antibodies: I. Electro-

- phoretic separation of two types of guinea pig 7s antibodies. *J. Exp. Med.*, **117** : 937, 1963.
- 5) Bloch, K. J. Kourilsky, F. M., Overy, Z. and Benacerraf, B., Properties of guinea pig 7s antibody. : Identification of antibodies involved in complement fixation and hemolysis. *J. Exp. Med.*, **117** : 965, 1963.
 - 6) Cochrane, C. G. and Weigle, W. O., The cutaneous reaction to soluble antigen-antibody complex. *J. Exp. Med.*, **108** : 591, 1958.
 - 7) Culbertson, J. T., The relationship of circulating antibody to the local inflammatory reaction to antigen (the Arthus phenomenon)., *J. Immunol.*, **29** : 29, 1935.
 - 8) Davidoff, L. M. and Kopeloff, N., Local cerebral anaphylaxis in the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **29**, 71 : 1931-32.
 - 9) Davidoff, L. M. and Kopeloff, N., Local cerebral anaphylaxis in the dog. II. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **31**, **980** : 1933-34.
 - 10) Davidoff, L. M., Seegal, B. C. and Seegal, D., The Arthus phenomenon: Local anaphylactic inflammation in the rabbit brain. *J. Exp. Med.*, **55** : 163, 1932.
 - 11) Fazio, C. and Sacchi, U., Experimentally produced red softening of the brain. *J. Neuropath. & Exp. Neurol.* **13** : 476, 1954.
 - 12) Friedberger, E., Cited by (44) *Z. Immunitätsforsch.*, **3** : 692, 1909.
 - 13) Friedeman, U., Cited by (44) *Z. Immunitätsforsch.*, **2** : 591, 1909.
 - 14) Forssman, J., Cited by (29) *Biochem. Zeitschr.*, **110** : 133, 1920.
 - 15) Fröhlich, A., Über lokale gewebliche Anaphylaxie. *Z. Immunitätsforsch.*, **20** : 476, 1914.
 - 16) Gerlach, W., Studien über hyperergische Entzündung. *Virchows Arch.*, **247** : 291, 1923.
 - 17) Germuth, F. G. jr. and McKinnon, G. E., Cited by (43) *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **101** : 13, 1957.
 - 18) 長谷川恒雄: 実験的脳血管障害, 神経研究の進歩 **5** : 333, 1961.
 - 19) Handa, J., Experimental studies on the production and prevention of cerebral infarction in dogs. *J. Neuropath. & Exp. Neurol.*, **23** : 457, 1964.
 - 20) Globus, J. H., Epstein, J. A., Green, M. A. and Morton, M., Focal cerebral hemorrhage experimentally induced. *J. Neuropath. & Exp. Neurol.*, **8** : 113, 1949.
 - 21) Hain, R. F., Westhaysen, P. V. and Swank, R. L., Hemorrhagic cerebral infarction by arterial occlusion: An experimental study. *J. Neuropath. & Exp. Neurol.*, **11** : 34, 1952.
 - 22) Humphrey, J. H. and Jaque, R., The release of histamine and 5 hydroxytryptamine (serotonin) from plateletes by antigen-antibody reaction (in vitro). *J. Physiol.*, **128** : 9, 1955.
 - 23) Ishizaka, K., and Campbell, D. H., Biological activity of soluble antigen-antibody complexes. I. Skin reactive properties. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **97** : 635, 1958.
 - 24) Ishizaka, K., Ishizaka, T. and Campbell, D. H., The biological activity of soluble antigen-antibody complexes. II. Physical properties of soluble complexes having skin-irritating activity. *J. Exp. Med.*, **109** : 127, 1959.
 - 25) Ishizaka, K. and Campbell, D. H., Biologic activity of soluble antigen-antibody complexes. IV. The inhibition of the skin reactivity of soluble complexes and the PCA reaction by heterologous complexes. *J. Immunol.*, **83** : 116, 1959.
 - 26) 石坂公成: アレルギーの免疫化学的機序, 科学 **34** : 353, 1964.
 - 27) Jervis, G. A., Ferraro, A., Kopeloff, L. and Kopeloff, N., Neuropathologic changes associated with experimental anaphylaxis in the monkey. *Arch. Neurol. and Psychiat.*, **45** : 733, 1941.
 - 28) 木村 廉: 細菌学及び免疫学, 147頁, 金原, 1951.
 - 29) 木村義民, 野口義昭, 大島良雄編: アレルギー 金原, 1957.
 - 30) 京極方久: 螢光標識蛋白法による Arthns 現象の研究一特に抗原及び抗体の動きとフィブリンイド変性について一日本体質学雑誌 **24**, **4** : 351, 1959.
 - 31) Kopeloff, N., Davidoff, L. and Kopleoff, L. M.,

- General and cerebral anaphylaxis in the monkey (*Macacus rhesus*). *J. Immunol.*, **30** : 477, 1936.
- 32) Meyer, J. S., Importance of ischemic damage to small vessels in experimental cerebral infarction. *J. Neuropath & Exp. Neurol.*, **17** : 571, 1958.
- 33) Millikan, C. H., Siekert, R. G. and Shick, R. M., Studies in cerebrovascular disease. VI. experimental cerebral infarction: a study of different technics. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.* **30** : 620, 1955.
- 34) 三宅康夫: 抗体産生に関する研究, 倉敷中央病院年報 28, 1 : 38, 1959. 別冊
- 35) 松橋 直: 寒天内沈降反応 (とくに平板寒天を用いるオーケテルロー法について) 臨床検査 **5** : 275, 1961.
- 36) 緒方富雄: 血清学実験法その手ほどきから 南山堂, 2版 1947.
- 37) Opie, E. L., Pathogenesis of the specific inflammatory reaction of immunized animals (Arthus phenomenon). *J. Immunol.*, **9** : 259, 1924.
- 38) Overy, Z., Benacerraf, B. and Bloch, K., Properties of guinea pig 7s antibodies: II. Identification of antibodies involved in passive cutaneous and systemic anaphylaxis. *J. Exp. Med.*, **117** : 951, 1963.
- 39) Trapani, I. L., Gravey, J. S. and Campbell, D. H., Stimulating action of soluble antigen-antibody complexes on normal guinea pig smooth muscle. *Science*, **27** : 700, 1958.
- 40) 若林保司, 本間 遜: 緑膿菌精製内毒によるウサギ脳の Arthus 型病巣アレルギー **9** : 451, 1960.
- 41) Whisnant, J. P., Millikan, C. H., Wakin, K. C. and Sayre, G. P., Experimental production of infarction in animals. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.*, **29** : 613, 1951.
- 42) 山村雄一, 石坂公成編集: 免疫化学, 朝倉書店 1963年版.
- 43) Weigle, W. O., Fate and biological action of antigen-antibody complexes. *Advances in Immunology*, Volume I, 283, 1961., Edited by Tliaferro, W. H. and Humphrey, J. H.

訂 正

- ① 328頁 右行上より4行目の1群～2群を1群より4群に訂正します。
- ② 372頁 図12の中の Classical R. A. で陰性像の T. S. を T. So. に訂正します。
- ③ 375頁 表5の中で K. A. の項, ヨコ1行目, 7, 8, 字の「陰」を×に, 表の説明文中, 最後の行, 1字目の「陰」を×に訂正します。