

氏 名 (本籍)	山 本 静 雄 (広島)
学 位 の 種 類	獣 医 学 博 士
学 位 記 番 号	甲 20 号
学位授与の日付	昭和53年3月13日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位論文題名	抗鶏免疫グロブリン血清が <i>Mycoplasma gallisepticum</i> の赤血球凝集抑制反応におよぼす影響について
論文審査委員	(主査) 教授 田 中 享 一 (副査) 教授 越 智 勇 一 教授 古 泉 巖

論 文 内 容 の 要 旨

鶏の血清を用いて、*Mycoplasma gallisepticum* (以下 *M. gallisepticum* と略記) の赤血球凝集抑制反応の系に抗鶏免疫グロブリン血清を加えた抗免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応 (以下抗 IgHI 反応と略記) について検討した。

血清反応の系に抗グロブリン血清を添加することによって反応が増強される現象は、1908年 Moreschi によって初めて報告されているが、あまり知られていない。その後、1945年 Coombs らが赤血球と凝集素の反応系に抗グロブリン血清を加えること (抗グロブリン試験) により、抗 Rh 抗体を検出できるという画期的な報告をして以来本法は同種免疫抗体の検出、自己免疫疾患などの診断や研究に広く応用されるに至り、数々の偉大な業績を残した。

赤血球凝集抑制反応 (以下 HI 反応と略記) への本法の応用は、1971年に Hahon らが初めてインフルエンザウイルスにおいて、抗ヒト Ig G 血清添加赤血球凝集抑制反応 (以下抗 Ig G HI 反応と略記) を実施し、その有用性を報告したのに始まる。

鶏においては、1975年、Baumer が Newcastle disease virus について、単に抗鶏 Ig G 血清を添加した成績を報告しているに過ぎず、どのような抗鶏免疫グロブリンが本反応に関与しているのかは不明であり、これまでのところ抗 Ig HI 反応については、今だ基礎的研究の域を脱していないのが現状である。

本法の基礎的研究を行なって、その実態を明らかにすることは、免疫グロブリンの抗体活性の研究ならびに伝染病の診断などにおける本法の応用性を明らかにできるものと考えられる。

著者は、抗 Ig HI 反応の基礎的条件を検討した上で、抗 Ig HI 反応に関与する免疫グロブリンクラスについて検索するとともに、本法の応用を試みた。その研究成績の概要について述べるとおおよそ次のようである。

I. 供試特異抗鶏免疫グロブリン血清ならびに抗 Ig HI 反応

DEAE-セルロースおよび Sephadex G-200 カラムクロマトグラフィーを組合せて、鶏免疫グロブリンクラスの単離精製を行ない、これらをウサギに免疫して得た抗血清を Glutaraldehyde 処理した不溶性 L 鎖抗原で吸収し、特異性の高い抗 Ig G (抗 γ 鎖)、抗 Ig M (抗 μ 鎖) ならびに抗 Ig A (抗 α 鎖) 血清とした。

M. gallisepticum 感染鶏血清中には、寒冷凝集素が存在することが知られているので、血清反応実施前に可検血清1容に対して5%血球液4容を加えて寒冷凝集素の吸収を行ない、5倍希釈血清を供試した。

HI 反応および抗 Ig HI 反応は、マイクロタイター法による抗体減量法 (β 法) で実施した。希釈液には磷酸食塩緩衝液 (以下 PBS と略記) を用い、*M. gallisepticum* S₆ 株を用いて調製した抗原は 4 HA 単位/0.025 ml の力価に調整して用いた。

II. 抗 Ig HI 反応の条件の検討

抗 Ig HI 反応に関与する因子として考えられる特異抗血清濃度、感作時間ならびに感作温度等について検討を加えた結果、次の所見を得た。

1. 至適特異抗血清濃度

各種濃度に調整した特異抗 Ig G, 抗 Ig M ならびに抗 Ig A 血清を用いて、それらが反応におよぼす影響を調べたところ、いずれの抗血清でも20倍希釈したものをを用いたときに、前地帯ならびに非特異反応が認められず、しかも明瞭な高い抗体価が得られた。

2. 感作時間

M. gallisepticum 抗原と可検鶏血清ならびに *M. gallisepticum* 抗原-抗体複合体と抗 Ig 血清との反応時間が反応におよぼす影響について検討した。HI 反応で、*M. gallisepticum* 抗原と抗体の感作時間が、30 分以下よりも30分以上の時により高い抗体価が得られたので、これをもとにこの系に抗 Ig 血清を添加し、その感作時間について検討したところ、10分よりも15分感作の場合の方が抗体価が高く、それ以上の感作では抗体価に差は認められなかった。

3. 感作温度

抗原、抗体、抗 Ig 血清および赤血球を混和するまでの感作温度を検討したところ、すべての操作を22~25°C で行ない、判定を4°C 1時間後にしたときに、最も鮮明な反応が得られた。

III. 抗 Ig HI 反応に関与する抗血清の特異性

HI 反応の系に添加して反応を増強させることのできる抗血清の種類について検討したところ、抗鶏 Ig G, 抗鶏 Ig M および抗鶏 Ig A 血清のいずれによっても反応が増強される事実が明らかとなった。一方、正常ウサギ血清あるいは各種哺乳動物の免疫グロブリンに対する特異抗血清などを用いた抗 Ig HI 反応では、全く反応の増強が認められなかったことから抗鶏免疫グロブリン血清によって特異的に反応が増強されとの確信を得た。

IV. 抗 Ig HI 反応の再現性

56°C、30 分で非働化したのち、20 倍に希釈調整した特異抗血清を用い、上述した至適条件下で *M. gallisepticum* 感染鶏血清について再現性を確認するための試験を繰り返したところ、極めて再現性の高い成績が得られた。

V. 抗 Ig HI 抗体の出現時間と反応増強の持続期間

M. gallisepticum を鼻腔内ならびに静脈内接種した実験鶏の経過血清を用いて、HI および抗 Ig HI 抗体の消長ならびに反応増強に関する検討をした。

鼻腔内接種群のうち1群は、*M. gallisepticum* の感染が成立していることを確認する目的で、接種後1週間隔で9週まで5羽ずつを放血致死させ、血中抗体価の測定と併わせて菌分離を行ない40/45例 (88.8%)

から菌を分離しえた。この実験群においては、*M. gallisepticum* 接種後14日目に HI 反応陽性であることが確認された。一方、抗 Ig M HI 反応ではすでに接種後7日目に抗体価の上昇を示し、明らかに陽性であることが認められた。他方、抗 Ig G HI 価は14日目頃から他の反応よりも高い値を示し、21日目には HI 価の15.8倍も高い抗体価を示した。その後も抗 Ig G HI 反応によって最も強い反応増強が観察され、最高では HI 価の22倍も高い抗体価を示した。また、抗 Ig A HI 反応では抗 Ig M HI 反応につづき、抗 Ig G HI 反応で検出される前に抗体価陽性を示した。

鼻腔内接種群の他の1群では、*M. gallisepticum* 接種後10日目に HI 反応では22倍の抗体価を認めたが、抗 Ig A HI 反応では接種後4日目にすでに22倍の抗体価が認められた。しかしながら、この実験群では接種後14日目以降では、反応の増強が極めて弱くなった。

静脈内接種群においても、*M. gallisepticum* 接種後4日目には抗 Ig M HI 価が最も高い値を示し、7日目あるいは10日目に至ると抗 Ig G HI 価がそれに代わって高い値を示すことが確認された。また、HI 価が上昇の徴しをみせるとそれに先行して抗 Ig HI 価、ことに抗 Ig G HI 価が上昇することが認められた。

これらの成績から、*M. gallisepticum* の抗体クラスと抗 Ig 血清との間には反応を増強させる上に特異的な関係があることが示唆された。

VI. Sephadex G-200 を用いたゲル濾過分画における抗 Ig HI 抗体の分布

実験感染鶏の *M. gallisepticum* 抗体の免疫グロブリンクラスと添加する抗血清との関係を知る目的で、先きに *M. gallisepticum* を鼻腔内接種したのち、経日的に放血致死させた実験鶏のブール血清を用いて、Sephadex G-200 のゲル濾過分画における抗 Ig HI 抗体の分布を検索した。

1. 感染初期血清のゲル濾過分画における抗 Ig HI 抗体の分布と消長

抗 Ig M HI 価が高く、抗 Ig G HI 価の上昇が認められなかった感染初期の血清では、HI 反応によって Ig M 分画が最も高い8倍、Ig G 分画はわずかに2倍の抗体価を示した。ところが、抗 Ig M HI 反応では、Ig M 分画が64倍と著しく高い抗体価を示し、Ig G 分画は8倍を示した。抗 Ig A HI 反応では、いずれの分画も16倍であった。

2. 感染後期血清のゲル濾過分画における抗 Ig HI 抗体の分布と消長

抗 Ig G HI 価が最も高く認められた感染7週目の血清では、HI 反応で Ig M 分画が16倍、Ig G 分画が32倍を示したが、抗 Ig G HI 反応では Ig G 分画が256倍を示し、Ig M 分画は増強されなかった。また、抗 Ig A HI 反応によっては HI 価に比較していずれの分画も2～3管の増強が認められた。

他の経過血清についても検索を行なったところ、前述同様に血清での抗 Ig HI 反応の増強とゲル濾過分画における抗 Ig HI 反応の増強とは極めてよく一致した成績が得られた。なお、ゲル濾過分画の第3峰 (Alb 分画) は、すべて抗体価陰性であった。

ゲル濾過分画と抗 Ig HI 反応による反応増強の関係が、抗原刺激後の鶏免疫グロブリンの産生順序と極めてよく一致した。この事実から、*M. gallisepticum* 抗体の免疫グロブリンクラスと添加する抗 Ig 血清との間には、反応を増強させる特異的な関係があるものと考えられる。

VII. 抗 Ig HI 反応の機序に関する考察

抗 Ig HI 反応による反応増強の機序に関しては、*M. gallisepticum* 抗原-抗体複合体の免疫グロブリンクラスと添加した抗鶏免疫グロブリン抗体が特異的に結合する結果、*M. gallisepticum* 抗原と鶏赤血球と

の吸着がより強く立体的に障害されるためであろうと推察される。この解明は、*M. gallisepticum* の抗原決定基の解明ならびに鶏免疫グロブリンの生物学的活性のより詳細な解明と同様に今後の課題であろう。

VII. 抗 Ig HI 反応の応用

1. 抗 Ig HI 反応による初生ヒナ血清中の移行抗体の検出

孵化後11～25日齢までの初生ヒナ血清が HI 反応でわずかに *M. gallisepticum* 抗体陽性の成績を示したために、抗 Ig HI 反応を実施した結果、明らかに反応陽性と認められる成績が得られたが、46日齢以降では全例陰性であった。これらの初生ヒナから *M. gallisepticum* の分離を試みたが、全く菌分離はできなかった。

このことから、本法は *M. gallisepticum* の移行抗体を鋭敏に検出することができ、母鶏群（種鶏）の *M. gallisepticum* による汚染状況を知る上に有効であり、家畜衛生学上有用な手段となり得ると考えられる。

2. 野外感染鶏の診断

野外での *M. gallisepticum* 自然感染鶏41例について HI 反応および抗 Ig HI 反応を実施したところ、抗 Ig G HI 反応で65.9%、抗 Ig M HI 反応で75.8%、抗 Ig A HI 反応で68.3%に反応の増強が認められた。ことに HI 価が20倍以下と低い例で、反応の増強が著しく、HI 価が20倍以下を示した28例では、抗 Ig G HI 反応で、75.0%、抗 Ig M HI 反応で85.8%、抗 Ig A HI 反応で78.6%に反応増強が認められた。

IX. 結 論

マイクロタイター法による *M. gallisepticum* の赤血球凝集抑制反応の系に抗鶏免疫グロブリン血清を添加する抗免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応について検討を行ない、次の結論を得た。

1. 抗鶏免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応において、最も高い抗体価を得るには、添加する抗血清の至適量をあらかじめ決定しておくことが必要である。今回の実験に使用した3種の特異抗血清は、いずれも20倍希釈のものを使用するのが最適であった。

2. 可検鶏血清と *M. gallisepticum* 抗原との感作時間は室温（22～25℃）で30分間、*M. gallisepticum* 抗原-抗体複合体と抗鶏免疫グロブリン血清との感作時間は、室温で15分間が至適であると考えられた。

3. 抗免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応は再現性の高い反応であることが確認された。

4. 反応を増強させることのできる抗血清は、抗鶏全血清、抗鶏 Ig G、Ig M および Ig A 血清であり、鶏以外の動物の免疫グロブリンに対する抗血清では反応が増強されなかった。

5. 抗免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応では、*M. gallisepticum* の鼻腔内接種4日目に、すでに血液中の抗体価の確認ができた。

6. 抗免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応では、鼻腔内および静脈内接種例のいずれにおいても、感染（あるいは免疫）初期の血清で、従来の赤血球凝集抑制反応の8～16倍と著しく反応が増強された。しかし、感染経過の進行に伴って増強が漸次弱くなる事実も認められた。

7. Sephadex G-200 を用いた可検鶏血清のゲル濾過分画においては、感染初期血清の Ig 分画が抗 Ig M 赤血球凝集抑制反応によって増強された。ところが、感染経過の進行に伴ない、Ig G 分画が抗 Ig G 血清添加赤血球凝集抑制反応によって増強される事実が認められた。しかし、Ig A 分画との関係は明らかにできなかった。

8. 抗免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応によって、初生ヒナにおける移行抗体の検出が可能であった。本法は、母鶏群（種鶏）の *M. gallisepticum* による汚染状況を知る上に有効であると考えられる。
9. 抗免疫グロブリン血清添加赤血球凝集抑制反応は、野外における *M. gallisepticum* の診断に応用できるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

抗免疫グロブリン血清（抗 Ig）を、血清反応系に添加することによって、その反応が増強される現象は、Moreschi (1908) が最初に報告したが、一般には知られていなかった。その後、Coombs ら (1945) が赤血球凝集反応系に抗 Ig を加えることにより、抗 Rh 抗体が検出可能であるという報告を行なって以来、この方法は同種免疫抗体の検出、自己免疫疾患の診断そのほか血清反応に関する研究などに広く利用されるようになった。

抗 Ig 血清を添加して行なう赤血球凝集抑制反応（抗 Ig 加 HI 反応）は、Hahon ら (1971) がインフルエンザウィルスにおいて、抗ヒト Ig G を用いて行なった抗ヒト Ig G 加 HI 反応の報告が初めてである。

一方、鶏においては、Baumer (1975) が、ニューカッスル病ウィルスについて、抗鶏 Ig G 加 HI 反応について報告しているが、Ig M および Ig A を添加した HI 反応、ならびに各種の精製純化 Ig 分画による抗鶏 Ig を添加して HI 反応を検討していない。要するに、鶏疾病を対象とした抗 Ig 加 HI 反応については、いまだ研究の緒についたにすぎないというべきであろう。

筆者は、*Mycoplasma gallisepticum* (*M. g.*) における、抗鶏 Ig 加 HI 反応の基礎的条件を検討し、さらに抗鶏 Ig 加 HI 反応に関する Ig のクラス (Ig G, Ig M, Ig A など) について検索するとともに、野外における *M. g.* 感染鶏における本法の診断的価値について検討を試みた。

本論文は、*M. g.* 感染鶏血清の HI 反応系に抗鶏 Ig ウサギ血清を添加することにより、その HI 反応がどのように影響され、その結果がどうなるかということについて、次の項目に従って検討を行なっている。(1) 反応実施上の各種条件、(2) 抗鶏 Ig 加 HI 反応の特異性、(3) 実験感染鶏血清における HI 抗体、および抗鶏 Ig 加 HI 反応における抗体（抗 Ig 加 HI 抗体）の消長、(4) 感染鶏血清の各 Ig 分画 (Ig G, Ig M, Ig A) における HI 抗体価と抗 Ig 加 HI 抗体価、(5) 抗 Ig 加 HI 反応による移行抗体の検出、(6) *M. g.* の野外感染鶏に対する抗鶏 Ig 加 HI 反応の利用価値。これらの概略をつぎに述べることとする。

1. 供試抗鶏 Ig 血清の作出

DEAE セルロースおよび Sephadex G-200 を用いて、鶏血清から Ig G, Ig M, 鶏胆汁から Ig A を精製分画し、それぞれを用いてウサギを免疫し、抗 Ig G, 抗 Ig M, 抗 Ig A の3種の抗 Ig 血清を作出した。

2. HI 反応および抗鶏 Ig 加 HI 反応の方法

マイクロタイター法による抗体減量法 (β 法) を用い、抗原には *M. g.* S₀ 株を使用した。

3. 抗鶏 Ig 加 HI 反応の諸条件の検討

(1) 抗鶏 Ig 血清の至適濃度：抗鶏 Ig G, 抗鶏 Ig M, 抗鶏 Ig A の3血清について、至適濃度を検討

したところ、いずれの抗血清も20倍希釈が至適濃度で、高い抗体価を示した。

(2) 感作時間：HI 反応における、M. g. 抗原と抗体との感作時間は、30分以上が良好であり、これにもとづきこの系に抗鶏 Ig を添加し、さらにその感作時間を検討したところ、15分感作が抗体価を高く示すことを認めた。

(3) 感作温度：抗原、抗体、抗鶏 Ig および赤血球を混和するまでの感作温度を検討したところ、すべての操作を22～25℃で行ない、判定を4℃1時間後にしたときに、最も明確な反応が得られることを知った。

4. 抗鶏 Ig 加 HI 反応に關与する抗血清の特異性

HI 反応の系に添加して反応を増強させることのできる抗血清の種類について検討したところ、抗鶏 Ig G、抗鶏 Ig M および抗鶏 Ig A 血清のいずれも反応を増強することが明らかとなった。一方、正常ウサギ血清あるいは各種哺乳動物の免疫グロブリンに対する特異抗血清などを用いた抗 Ig 加 HI 反応では、全く反応の増強が認められなかった。このことから抗鶏 Ig 血清によって特異的に反応が増強されることが明らかとなった。

5. 抗 Ig 加 HI 反応の再現性

上述した各種の至適条件下で、M. g. 感染鶏血清について試験を繰り返し再現性を検討したところ、再現性の高い成績を得た。

6. 抗鶏 Ig 加 HI 抗体の出現時期と反応増強の持続期間

M. g. を鼻腔または静脈内接種した実験鶏の経過血清を用いて、HI および抗鶏 Ig 加 HI 抗体の消長、ならびに反応増強に関する検討を行なった。

(1) 鼻腔内接種群：2つの接種群で、その成績に若干の差はあったが、いずれの群でも、M. g. 接種後10～14日目に HI 抗体を認め、抗鶏 Ig 加 HI 抗体は、それぞれ接種後4日目および7日目から認められた。また、1つの群では、抗鶏 Ig 加 HI 抗体は、接種後の経過の初期(7日目)では抗鶏 Ig M 加 HI 抗体が、14～21日目には抗鶏 Ig G 加 HI 抗体が高価に認められ、その後も抗鶏 Ig G 加 HI 反応は高い値を示していた。また、抗鶏 Ig A 加 HI 反応は、抗 Ig M HI 反応につづいて認められた。

(2) 静脈内接種群においても、M. g. 接種後4日目には抗鶏 Ig M 加 HI 価が最も高い値を示し、7日目あるいは10日目に至ると抗鶏 Ig G 加 HI 価がそれに代わって高い値を示すことが確認された。また、HI 価が上昇の徴しをみせるとそれに先行して抗 Ig 加 HI 価、ことに抗鶏 Ig G 加 HI 価が上昇することが認められた。

これらの成績から、M. g. 抗体クラスと抗 Ig 血清との間には反応を増強させる上に特異的な関係があることが示唆された。

7. 感染鶏血清の各 Ig 分画における抗鶏 Ig 加 HI 抗体の分布

M. g. 感染鶏血清を用いて、Sephadex G-200 のゲル濾過を行ない、その各溶出分画における抗鶏 Ig 加 HI 抗体の分布を検索した。

(1) 感染初期血清のゲル濾過分画における抗 Ig 加 HI 抗体の分布と消長：HI 反応では、感染初期血清のゲル濾過分画のうち、Ig M 分画が最も高い HI 価(8倍)を示し、Ig G 分画は低い価(2倍)を示した。ところが、抗鶏 Ig 加 HI 反応では、感染鶏血清の Ig M 分画を用いたもので64倍と著しく高い価を示し、Ig G 分画を用いたものでは8倍を示した程度であった。また、抗鶏 Ig A 加 HI 反応では、感染鶏

血清のいずれの分画も16倍の価を示していた。

(2) 感染後期血清のゲル過分画における抗鶏 Ig 加 HI 抗体の分布と消長: M. g. 感染7週目の血清では、その Ig M 分画の HI 価は32倍であったが、この HI 反応系に抗鶏 Ig G を加えた HI 反応では256倍の高値を示した。しかし、Ig M 分画および Ig A 分画を用いた HI 反応系に、抗鶏 Ig G および M, A を加えた抗鶏 Ig 加 HI 反応では、ほとんど増強が認められなかった。

(3) (1)および(2)に述べたように、鶏血清の各 Ig 分画を用いた抗鶏 Ig 加 HI 反応による増強の成績は、抗原接種後の鶏 Ig の出現順序とよく一致していた。この事実から、M. g. 抗体の各 Ig 分画と添加抗 Ig 分画との間には、反応を増強させる特異な関係があるものと考えられた。

8. 抗鶏 Ig 加 HI 反応の応用

(1) 抗鶏 Ig 加 HI 反応による初生ヒナ血清中の移行抗体の検出: HI 反応がわずかに陽性の11~25日齢の初生ヒナ血清について、抗鶏 Ig 加 HI 反応を行なったところ、明らかに増強反応を認めたが、46日齢以降の中ヒナ血清では、反応がすべて陰性であった。

初生ヒナでの抗鶏 Ig 添加による HI 反応の増強は、微量に存在した移行抗体を明示したもので、このことは母鶏群の M. g. 汚染を間接的に証明したこととなろう。

(2) 抗 Ig 加 HI 反応の野外感染鶏の診断的利用価値: M. g. 自然感染鶏41例について、HI 反応および抗鶏 Ig 加 HI 反応を実施したところ、抗鶏 Ig G 加 HI 反応で65.9%、抗鶏 Ig M 加 HI 反応で75.8%、抗鶏 Ig A 加 HI 反応で68.3%に反応の増強が認められた。ことに HI 価が20倍以下と低い例で、反応の増強が著しく、HI 価が20倍以下を示した28例では、抗鶏 Ig G 加 HI 反応で75.0%、抗鶏 Ig M 加 HI 反応で85.8%、抗鶏 Ig A 加 HI 反応で78.6%に反応増強が認められた。このように野外の自然感染鶏における抗鶏 Ig 加 HI 反応法は、診断的利用価値の大きいことを示した。

9. 結 論

筆者は、マイクロタイター法による M. g. の HI 反応の系に、抗鶏 Ig ウサギ血清を添加する抗鶏 Ig 加 HI 反応について検討を行ない、次の結論を得た。

(1) 抗鶏 Ig 加 HI 反応において、添加する抗鶏 Ig 血清の希釈率が至適であり、さらに可検鶏血清、M. g. 抗原、抗鶏 Ig 血清などの感作時間が適切であるならば、再現性の高い反応価が得られる。

(2) HI 反応を増強させることの出来る添加抗血清は、抗鶏全血清、抗鶏 Ig G、Ig M および Ig A であり、鶏以外の動物の Ig を用いて作出された抗血清では反応増強されなかった。

(3) 抗鶏 Ig 加 HI 反応を用いることにより、HI 反応の明かでない感染初期の血中抗体を確認することが出来るばかりでなく、初生ヒナの移行抗体も確認することが出来る。この移行抗体の確認から、その母鶏群における M. g. 汚染の状況を推定することも可能である。また、HI 反応の明確でない野外 M. g. 感染鶏の診断に有効な方法でもある。

(4) このほか、M. g. 感染の経過によって、HI 反応の出現程度が感染鶏血清の Ig 分画のクラスによって差異があること、また添加される抗鶏 Ig 血清のクラスの差、すなわち、抗 Ig M、抗 Ig G、抗 Ig A などの違いも、抗 Ig 加 HI 反応の陽性度の差と関連性があることが認められた。

上述のように、本論文は *Mycoplasma gallisepticum* の赤血球凝集抑制反応の系に、抗鶏免疫グロブリンウサギ血清を添加して、その赤血球凝集抑制反応を増強させることに成功し、さらに Ig M、Ig G、Ig A

などの各クラスの抗 Ig ウサギ血清を添加して本反応の高度化を行なった。ついでこの反応の応用により、野外における *Mycoplasma gallisepticum* 感染鶏の検出、診断が確立されることを示唆している。

このような研究業績は、将来の獣医学界に大いに寄与するものと考え、獣医学博士を授与するにふさわしいものとして高く評価する。