

# 感作血球の免疫学的研究

## 第 11 報

チフス菌加熱浸出液の免疫原性と感作能因子に関する検討\*

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

松 井 敏 夫

（受付：昭和34年5月13日）

### 緒 言

1948年 Middlebrook & Dubos<sup>1)</sup> の結核症における結核菌浸出液感作血球凝集反応の報告に端を発し Middlebrook,<sup>2)</sup> Smith & Scott<sup>3)</sup> らの報告が相次ぎ、結核症における血清学的研究は長足の進歩を遂げたことは衆知の事実である。

1955年当教室の西東ら<sup>4)</sup> は結核免疫に関する研究の一環として OT 感作血球をウサギに静注することにより容易にかつ高価の抗血清を得ることを報告した。その後小林<sup>5)</sup> は OT 単独静注および OT 感作血球静注の免疫原性を比較し OT 単独静注による抗体産生が OT 感作血球静

注に及ばず、かつ異なった様相を呈することおよび抗 OT 血清中の沈降素が多糖体とより強く反応することを報告した。また登谷<sup>6)</sup> は OT 中の感作能因子を追求してそれが蛋白にも多糖体にもあると述べている。

そこで私も感作血球免疫に関する研究の一環として既に血清学的反応として明瞭な菌凝集反応の認められているチフス菌免疫を対照としてチフス菌浸出液およびその感作血球の免疫学的意義の解明を試みた。ここにその成績の概要を報告する。

### 実験材料ならびに実験方法

- 1) 動物：2.5kg内外の白色健常ウサギで、その血清がチフス菌 No.58株を凝集せず、またチフス菌加熱浸出液感作血球を凝集しないことを確かめた後使用に供した。
- 2) 浸出液の製法：チフス菌 No.58株の3%普通平板培地、37°C、48時間培養のものを50mg/mlの割合に生食水に浮遊し、100°C、30分間加熱後氷室に24時間放置してから1時間遠心沈殿(4,000 r. p. m.)を行い、上澄液をザイツまたはシヤンペランでろ過し、0.5%の割合に石炭酸を加えて氷室に保存した。この化学的性状は第1表のごとくである。
- 3) 血球：自己または同種の正常ウサギの血球を用い

た。採取方法は西東の記載<sup>4)</sup>に従った。

- 4) 感作血球の作製法：血球沈殿量1容に対して10倍希釈浸出液100容を混じ、37°C温浴中に15分ごとに振とうしつつ1時間置いた後、生食水で3回遠沈洗浄し、血球沈殿に生食水を加えて所要濃度の感作血球浮遊液を調製した。
- 5) 注射用菌液：チフス菌 No.58株の普通寒天培地37°C、24時間培養のものを1mg/mlの割合に中性生食水に浮遊し、60°C、30分間加熱殺菌したものを使用した。
- 6) 菌体分画：チフス菌 No.58株の脱脂乾燥菌体より分画した。すなわち蛋白質は蔵<sup>8)</sup>の記載に、多糖

\*本論文の要旨は昭和32年10月27日第11回日本細菌学会北陸地方支部集會にて発表した。

体は秋山<sup>9)</sup>の記載に準じて分画精製したものを使用した。以下それぞれPF, CFと略記する。この化学的性状も第1表に示した。

## 7) 反応術式

### a チフス菌凝集反応

反応術式ならびに判定はともに小西<sup>10)</sup>に準じて行った。

### b 感作血球凝集反応, 溶血反応, 補体結合反応および感作血球凝集反応阻止試験

すべて西東の記載<sup>4)</sup>に従った。ただし判定は1時間後および24時間後に行った。

### c 感作血球およびチフス菌による吸収

菌体による吸収には普通寒天培地に48時間培養したチフス菌 No. 58 株の菌体をかき取り生食水で3回遠沈洗浄し, 抗血清に算出量の倍量を混じ, 37°C, 2時間温浴中に置き, 後30分間遠心(4,000 r. p. m.)して菌体と血清を分離し, 吸収不十分なときは同様操作を繰り返した。感作血球による吸収は抗血清に算出量の倍量の感作血球沈査を加え, 37°C 温浴中に1時間置き, 後遠心分離し前者に準じて行った。

### d 沈降反応(重層法)

抗原には浸出液, PFおよびCFを使用し, 浸出液は原液から, 分画は10mg/mlの濃度から生食水で倍々希釈し, 以下小林<sup>9)</sup>の記載に従った。

### e 寒天層内沈降反応

#### 1) Oakley法

Oakley<sup>11)</sup>の方法に準じて行った, すなわち精製寒天を0.5%の割合に0.9%食塩水に加え, 加

熱溶解後, 1万倍の割にマーズニンを加えて遠心し, 夾雑物を除去して透明な上層部を使用した。試験管は6mm×65mmのものを使用し, 抗血清に等量の40~45°Cに加温した上記寒天溶液を混合し管壁に触れることなく管底より15mmの高さに注入して氷室内で寒天を固め, その上に0.25%の寒天溶液(40~45°Cに加温)を更に15mm注加して中間層を作る。氷室内でこの寒天が固まってからその上に抗原液を重層し4~6°Cの氷室に保存して沈降帯の発現を5日ごとに観察し30日目を最終判定とした。

#### 2) Ouchterlony法

Ouchterlony<sup>12)</sup>およびWilson & Pringle<sup>13)</sup>の法に準じた。すなわちOakley法と同様の1万倍マーズニン加0.5%寒天生食水液に更に5万倍にメチルオレンジを加え, 遠心して夾雑物を除き透明な上層部を使用した。寒天平板作製にはシャーレに加温溶解したこの寒天液を約5ml流し込み, これを基底層として氷室中で固化した後, あらかじめ定めた数場所に径12mmのガラスカップを置き, 更に寒天液を15~18ml加え氷室内で寒天が充分凝固した後カップを抜くと抗原液あるいは抗血清を入れる“溜り池”(basin)ができる。これにそれぞれ抗原, 抗体液を満たして氷室に置き, 両者間の寒天層中に現われる沈降帯のpatternを反応実施後5日ごとに観察し30日目を最終判定とした。

#### f 電気泳動法

すべて藤井<sup>14)</sup>の報告に従って行った。

## 実験成績

### I) 浸出液およびその感作血球の免疫原性

まず私の作製した浸出液および浸出液感作血球の免疫原性の有無を確かめるために, この両者をそれぞれウサギに静注して得られた血清について菌凝集反応, 感作血球凝集反応および溶血反応を行った。

#### 1) チフス菌浸出液による免疫

3倍希釈ザイツろ過およびシャンペランろ過浸出液3mlを3日おきにそれぞれのウサギの耳静脈に7~8回注射し, 最終注射後10日目に全採血し抗体価を測定した。そ

の結果を第2表に示したが, この表から明らかなように, 感作血球凝集反応およびVi凝集反応においては両抗血清ともに2,560~10,240倍の凝集価を示したが, H凝集反応においてはザイツろ過浸出液抗血清は痕跡程度の, シャンペランろ過浸出液抗血清は640倍の凝集価を示した。また溶血価はいずれも1~4万倍であった。

#### 2) 浸出液感作血球による免疫

次に各浸出液感作血球の10%浮遊液5m<sub>l</sub>を3日おきに7~8回ウサギの耳静脈に注

射し、最終注射後10日目に全採血して得た血清の抗体価は第3表に示した。すなわち感作血球凝集価は1:1,280~2,560, Vi, O凝集価は血球凝集価と同じく、H凝集反応は全く陰性であった。また感作血球の溶血価は1:640~1,280で、補体結合反応も陽性であった。(第4表)

以上の実験成績から、私の作製したチフス菌加熱浸出液および浸出液感作血球をそれぞれウサギに静注することにより、容易に高価な菌および血球凝集素、溶血素ならびに補体結合性抗体が産生されることがわかった。なおザイツろ過浸出液とシャンペランろ過浸出液との間には抗体産生能に大差を認めなかったので、以後の実験にはすべてザイツろ過浸出液のみを使用した。

## II) 浸出液、浸出液感作血球および菌体静注による抗体産生の推移ならびに血清蛋白像の変動

前述の実験によって浸出液および浸出液感作血球がウサギに対して抗体産生能をもつことが明らかとなったので、今回はその抗体産生の推移ならびに血清蛋白像の変動を観察しあわせて菌体静注群のそれらと対比した。なお溶血価は凝集価とほとんど同様であったので省略した。

浸出液免疫は3倍希釈浸出液1.5ml, 3.0ml および4.5mlを1週間隔で静注し、感作血球免疫は前回と同様に行った。菌体免疫は1mg/mlの菌液0.5ml, 1.0ml および1.5mlを1週間隔で静注した。

### 1) 感作血球凝集反応(第1~3図)

3群ともに免疫開始1週後より抗体の産生を認めたが、感作血球免疫群の抗体価は最も低かった。また3群とも抗体価は2週後が最も高く、浸出液免疫群では1:4,086、感作血球免疫群では1:340、菌体免疫群では1:8,172となり、以後次第に低下した。

### 2) 菌凝集反応(第1~3図)

3群ともに感作血球凝集反応とほぼ同様の経過をとったが、凝集価はそれぞれの血球凝集価に比して高かった。

### 3) 沈降反応

浸出液免疫群、浸出液感作血球免疫群および菌体免疫群についてそれぞれ1週ごとに行った成績を図4に示した。これらの場の形から判断すると浸出液感作血球免疫血清において反応系が最も少なく、浸出液免疫血清、菌免疫血清の順に多くなった。

### 4) 血清蛋白像(表5および図1~3)

血清総蛋白量は浸出液免疫群では1週後よりわずかに減少し、3週以後更に減少して4週後には6%の低下を示した。感作血球免疫群では2週後に4%増加したが4週後には逆に11%の低下を示した。これに反して菌体免疫群は1週後には約15%増加したが2週以後はほぼ旧値を持続した。

Albumin(以下 Alb. と略記)は3群においてともにそれぞれの総蛋白量の経過と平行した。

$\alpha$ -Globulin(以下  $\alpha$ -G1. と略記)は浸出液免疫群および菌体免疫群ではともに有意の変動を示さなかったが、感作血球免疫群では2~3週後にわずかに増加し、4週後に至って旧値に復した。

$\beta$ -Globulin(以下  $\beta$ -G1. と略記)は浸出液免疫群および感作血球免疫群においてともに抗体価の上昇に平行して増加し、免疫の後期に低下するゆるい山形を呈したが菌体免疫群では免疫の初期には前2群と同様の経過をとり、後期においてもなおわずかな増加を示した。

$\gamma$ -Globulin(以下  $\gamma$ -G1. と略記)は浸出液免疫群および感作血球免疫群では免疫の前半には徐々に増加し、後半に著しく上昇した。菌体免疫群では1週後既に75%の増加を示した。

以上を小括すると、3群を通じて菌および感作血球凝集反応、沈降反応においてと

もにその抗体価は免疫開始2週後が最高となり、後次第に低下する山形を呈し、血清蛋白像では $\beta$ -G1.がこれに平行して消長し、 $\gamma$ -G1.は免疫の後期に増加し、逆にAlb.は免疫の進行とともに低下することが認められ、これら3抗血清間には大きな差異はなかった。また菌凝集価が感作血球凝集価を常にうまわっていたことも3血清において同様であった。

要するに浸出液および浸出液感作血球あるいは菌体をウサギに静注した場合の抗体産生経過には大差がないものと考えられるが、沈降反応の場の形からみると感作血球免疫群は形がきわめて単純であり、その存在する反応系の数が他の2群より少ないと考えられる。

### Ⅲ) 菌体蛋白および菌体多糖体による抗体分析

以上のごとく、浸出液免疫、感作血球免疫および菌体免疫より得た3抗血清が沈降反応の場の形からみて差を有すると思われたので私はこれを更に深く追求しようとして、菌体蛋白および菌体多糖体を用いて感作血球凝集反応阻止試験、沈降反応および寒天層内沈降反応を行ってその間の関係を追求した。

#### 1) 阻止試験

第6表に示すとおり、多糖体分画の阻止力は蛋白分画に比してきわめて強いことがわかった。このことは3抗血清について全く同一であった。

#### 2) 沈降反応 (図5)

- a 菌免疫血清：PF, CF および浸出液との反応において見かけ上それぞれ3, 4および4の反応系が認められた。
- b 浸出液免疫血清：PF および CF との反応では両者とも見かけ上単一な場の形を示した。浸出液を抗原とした場合には5反応系が認められた。
- c 感作血球免疫血清：PF および CF を抗原とすると同形の単一の反応の場を示し浸出液とはこれらよりやや抗原価のみ

高い単一な場の形を示した。

以上のごとく3抗血清は相互に沈降反応において多糖体分画と蛋白分画とに対する反応態度に差異を有し、しかも反応の観察にあたって多糖体分画による反応は起り方が早くかつ鮮明であった。この成績において最も興味ある知見は、浸出液免疫血清および感作血球免疫血清は多糖体および蛋白体とはそれぞれ見かけ上単一の反応系を示し、特に感作血球免疫血清は浸出液との間にも見かけ上単一の反応系を示すことである。これは菌免疫血清における3抗原との反応および浸出液免疫血清と浸出液との間の反応が3~5の反応系を示すことと比較すると、血球に感作される因子がかなり単一なものであることを示すものであろう。

#### 3) 寒天層内沈降反応

##### ④ Oakley 法 (図6)

##### a 菌免疫血清についての観察

浸出液との反応：抗原原液の場合は抗原液と中間寒天層との境界線（以下単に境界線と略記）より測定して1~2mmのところ幅約1mmの濃厚な沈降帯を形成し、詳細に観察すると数本の細い沈降帯の集合して出来た複合沈降帯のようであるがその数は判然としなかった。（便宜上このように抗原側に近く現われた沈降帯群をa群とする）またこのa群よりやや下って6~7mm および9mmのところ、幅約1mmのa群に比してやや薄い2本の沈降帯が見られ、これも数本の細い沈降帯の集りのごとくであった。（この沈降帯群をb群とする）2倍および4倍希釈抗原液との反応でも同様な沈降帯が出現したが、希釈濃度の高いほど沈降帯の濃度は薄くなりかつ出現位置も1~2mm 抗原側に近く現われた。

PFとの反応：b群として膜状の沈降帯が認められたが、浸出液との反応のよう

に細線の集合帯とは見られなかった。また a 群は現われなかった。

CF との反応：境界線より 1.5~2.5mm のところに幅約 1mm の濃厚な沈降帯が現われ、これに続いて約 3mm の薄い沈降帯が現われた (a 群)。また 18~24mm のところにきわめて濃厚な沈降帯が現われたが、その発現速度も他の沈降帯に比して最も早く、したがって大量の沈降物の形成を思わしめた (b 群)。

#### b 浸出液免疫血清についての観察

浸出液との反応：境界線より 2~4mm のところに薄い沈降帯が現われ、その中央すなわち境界線より 3mm のところに濃厚な沈降帯が 1 本現われた (a 群)。また 6~8mm のところに幅約 2mm の薄い沈降帯が現われた (b 群)。

PF との反応：陰性であった。

CF との反応：境界線より 6~8mm のところに幅約 2mm の薄い沈降帯が現われたが、発現時期はきわめておそく 20 日以上を要した (a 群)。

#### c 感作血球免疫血清についての観察

浸出液との反応：抗原原液との反応では境界線より 6~8mm にきわめて薄い沈降帯 (a 群) と、9.5~12mm のところに同様に薄い沈降帯 (b 群) と 2 本現われたが、2 倍希釈抗原液との反応では a 群に相当する沈降帯は 4.5~6mm のところに薄く膜状に現われるのに反し、9.5mm のところに b 群と見られる明白な 1 本の沈降帯が現われ、4 倍希釈の場合もほぼ同様であった。

PF および CF との反応：ともに陰性であった。

以上のごとく浸出液と 3 抗血清との反応においてはともに a, b 両群の沈降帯の出現を見たが、多糖体分画との反応では菌体免疫血清が a 群のみ、また蛋白分画との反応では菌体免疫血清のみが b 群

の沈降帯を示した。すなわちこの成績からも多糖体分画が蛋白分画より反応原性の高いことが認められた。また浸出液中に存在すると思われる多糖体および蛋白体と、菌体から精製した多糖体および蛋白とは、抗原性に一部相異のあることが推定された。

#### ⑧ Ouchterlony 法 (図 7)

##### a 菌免疫血清についての観察

浸出液との反応：Oakley 法と同様に抗原側および抗体側にそれぞれ数本の細い沈降帯の集合と考えられる帯状の沈降帯が現われた。抗原側のもは約 6 本、抗体側は約 4 本の細線より成り、とくに抗体側のもは膜状となっているのでその数の算定は非常に困難であった。

Oakley 法と同様に便宜上抗原側の複合沈降帯を a 群、抗体側を b 群とした。

PF との反応：b 群として膜状の沈降帯が現われ a 群は全く現われなかった。

CF との反応：浸出液との場合とほとんど同様であったが、a 群の沈降帯は約 8 本算定され、b 群は著しく強い膜状を呈していたが、少なくとも 4 本以上の沈降帯が認められた。

##### b 浸出液免疫血清についての観察

浸出液との反応：a 群としてはっきりした沈降帯が 1 本だけ現われ、b 群としてややぼやけた 2 本の沈降帯が現われた。

PF との反応：全く陰性であった。

CF との反応：a 群として強い明らかな沈降帯が 1 本現われたのみで、b 群は現われなかった。

##### c 感作血球免疫血清についての観察

浸出液との反応：a 群として痕跡程度の細い 1 本の沈降帯が現われ、b 群として明らかに単一の細く長い沈降帯が 1 本現われた。

PF および CF との反応：ともに陰性

であった。

なお個々の抗血清と浸出液との反応に現われた a, b 両群沈降帯のうち a 群はほとんど完全に, b 群はその一部が分画との反応に現われた a 群, b 群とそれぞれ結合する性質のものであった。次いで各抗血清間における a 群, b 群の相互関係を検索するため, 浸出液を中心にしてその周囲に各抗血清を置いて反応させたところ, 第 7 図に示すように出現した a 群は全部結合したが, b 群についてみると菌体免疫血清と浸出液免疫血清におけるものが部分的に結合し, 感作血球免疫血清のものは他の 2 者とは結合せず, 明らかに独立した沈降帯であった。

以上の成績は Oakley 法における成績に一致し, 識別された沈降帯の数は菌体免疫血清において最も多く, 浸出液免疫血清がこれに次ぎ, 感作血球免疫血清では最も少なかった。また現われた a 群沈降帯は 3 抗血清に共通した同一反応系を意味し, b 群は菌免疫血清と浸出液免疫血清の間で同一反応系のもものと異なった反応系のものとの混在からなっていることを示唆するとともに, 感作血球免疫血清と前 2 者の間では全く別個の反応系に属することを示している。

### Ⅲ) 3 抗血清の菌体および感作血球による交差吸収試験

菌体と感作血球との相異を検討するため, 浸出液免疫血清, 感作血球免疫血清および菌体免疫血清の交差吸収試験を行った。

#### 1) 菌および感作血球凝集反応

第 7 表に示すとおり, 菌体吸収血清は菌凝集反応はもちろん血球凝集反応も全く陰性となったが, 感作血球による吸収によっては菌凝集反応のかかなりの残存を認めた。これは 3 抗血清を通じて同様であった。すなわち浸出液免疫血清および感作血球免疫血清には菌免疫血清と同様, 少なくとも 2

種以上の抗体の産生が考えられる。

#### 2) 沈降反応 (図 8)

菌体で吸収すると 3 抗血清ともすべて反応は陰性となった。一方感作血球による吸収後は菌免疫血清と浸出液, PF および CF との反応の場はいずれも著明に縮小したが場の形は吸収前にほぼ相似した。浸出液免疫血清では PF との反応が消失し, CF との反応がわずかに残り, 浸出液との反応も著しく縮小され, かついずれも反応系は単一に変化した。感作血球免疫血清では浸出液との反応がわずかに残り, PF および CF との反応は消失した。

#### 3) Oakley 法 (図 9)

この方法においても菌体吸収によっては 3 抗血清ともすべて反応陰性となった。一方感作血球による吸収によっては菌免疫血清では浸出液との反応において境界線より 5~11mm のところに膜状の薄い沈降帯が現われるのみで吸収前血清のごとく a, b 2 群を識別できなかった。また PF との反応は全く消失し, CF との反応は境界線より 2~8mm にかけてぼやけた膜状の沈降帯を認め, 浸出液を抗原とする場合と同様に吸収前のごとき 2 本の沈降帯群を認め得なかった。浸出液免疫血清では浸出液との反応は境界線より 6mm のところに幅約 1mm の薄い沈降帯が 1 本現われたのみで, PF, CF との反応はともに陰性であった。感作血球免疫血清では浸出液との反応においては境界線より 6~10mm のところに薄い膜状の沈降帯 1 本の出現を見たが, 2 倍希釈抗原においてのみこの沈降帯はわずかに分離していた。PF, CF との反応はともに陰性であった。

以上を通じていえることは, 吸収前に抗血清と抗原により 2 群の沈降帯を示したものでは, 感作血球吸収により 1 群あて減少しておりこれは沈降帯群のうち 1 群が感作血球に関係あることを示している。

## 4) Ouchterlony 法 (図10)

菌体吸収によっては3抗血清とも全く反応が認められなくなった。一方感作血球による吸収によっては菌免疫血清では浸出液との反応において吸収前のa群と全く同様な沈降帯が現われ、b群に相当する沈降帯はきわめてかすかとなった。PFとの反応は全く陰性となり、CFとの反応は浸出液

との反応と全く同様であった。浸出液免疫血清では浸出液を抗原とすると、出現位置より判断して吸収前のb群に一致して薄い沈降帯が1本現われたのみで、PFおよびCFとの反応はともに陰性であった。感作血球免疫血清においては浸出液との反応は浸出液免疫血清の場合と同様であり、PFおよびCFとの反応はともに陰性であった。

## 総括ならびに考案

1947年 Keogh<sup>15)</sup> が *Hemophilis influenzae* (Type B) の抽出液により赤血球が感作され、この感作血球が型特異抗体によって凝集されるとの報告に端を発し、結核症に関しては Middlebrook & Dubos<sup>1)</sup> の結核菌体抽出液感作血球凝集反応および Smith & Scott<sup>3)</sup> の OT 感作血球凝集反応の報告が相次ぎ、結核症の血清学分野に一大飛躍もたらされたことは衆知の事実である。

ひるがえってチフス症に関するチフス菌体抽出液感作血球凝集反応は、わずかに木下ら<sup>16)</sup> 及び大西<sup>17)</sup> らにより試みられているのみであってその本質的な検討はほとんど行われていない。

1955年当教室の西東ら<sup>4)</sup> は OT 感作血球の静注により容易にかつ高価な抗 OT 血清を得ることを報告して免疫学分野に新境地を開いたことは既に述べたところである。

そこで私もチフス菌浸出液感作血球を静注しその抗体産生能を追求したところ明らかに抗血清が得られ、OT 感作血球に関する西東ら<sup>4)</sup> の報告に一致した。しかしながら OT 単独静注は OT 感作血球静注より抗体産生能において劣りかつ前者では特に凝集価に比し溶血価が低いという小林<sup>5)</sup> の記載に反して、チフス菌浸出液の単独静注により得られた抗血清は浸出液感作血球の静注によるそれよりも抗体価がきわめて高く、かつその感作血球に対する溶血価と凝集価は平行するという結果が得られた。これは OT とチフス菌浸出液との抗原性の相異による

ものと考えられる。

チフス菌浸出液、その感作血球およびチフス菌体の静注による抗体産生推移を経時的に比較観察すると、3者において抗体価に差はあるがいずれも注射開始2週後に最高の抗体価を呈し以後次第に低下する傾向を示した。

これらの血清蛋白像では  $\beta$ -Gl. が抗体価と平行し、 $\gamma$ -Gl. が免疫の後期に増加して  $\beta$ -Gl. と入れ代わる傾向を示している。このことはチフス菌免疫について既に藤井<sup>14)</sup> が指摘しているところであり、私もまた免疫過程における抗体の質的変動との関連性において重要な知見であると考えられる。

次にこれら3つの免疫方法の差は感作血球凝集ならびに溶血反応からみると抗体価の高低のみであるが、沈降反応からみると更に明らかとなった。すなわち浸出液を抗原として沈降反応を行うと、感作血球免疫血清では他の2抗血清によるより場の形が単純である。更に私がチフス菌体より分画して得た PF および CF をもって沈降反応を行うと、感作血球免疫血清では浸出液、PF および CF のいずれとも見かけ上単一の反応系を示すが、浸出液免疫血清では PF および CF とは見かけ上単一、浸出液とは少なくとも5反応系を示している。これに反し菌体免疫血清ではいずれとも3つ以上の反応系を示している。これを Oakley および Ouchterlony 法で見ると、感作血球免疫血清では浸出液との間にそれぞれ単一の抗原側沈降帯(a群)および抗体

側沈降帯(b群)を、浸出液免疫血清は浸出液との反応で1本のa群と2本のb群を、CFとの反応ではa群のみを現わした。菌体免疫血清ではa群は浸出液およびCFとの反応において、b群は3抗原いずれに対しても数本の沈降帯の集合として現われた。しかして浸出液免疫血清および菌体免疫血清においてはいずれも浸出液との間にみられるa群とCFとの間にみられるa群が交差することなく移行しており、かつPFとの間に2群が認められないことから、a群沈降帯はCFに起因する抗原抗体系であることは明瞭である。しかしてまた菌免疫血清においてb群沈降帯は浸出液、PFおよびCFのいずれとの間にも認められ、かつ抗血清と浸出液、抗血清とPF間のb群は同一抗原抗体系に属すると推定されたが、抗血清とCF間のb群と前2者b群とは全く同系統とは考えられなかった。浸出液およびその感作血球の抗血清とPFおよびCFとの間にはb群は認められなかった。更に興味ある事実はOuchterlony法により浸出液を中心において3抗血清を同時に反応させるとa群の反応は3抗血清間で共通のものであり、b群の反応は浸出液免疫血清と菌体免疫血清との間で共通のものとしからざるものに分れて認められ、感作血球免疫血清と浸出液とのb反応系は前2者と全く異なった反応系であることを示している。このことは3免疫方法で共通沈降素とそれぞれ異なった沈降素の産生されることを推定させるものであり、浸出液中に、血球に吸着されて注射することによって、はじめて抗体を産生する因子が存在するものと考えられ、感作血球の免疫学的意義の重要性を示唆したものといえよう。

感作血球の感作能因子の本態に関しては多糖体説と蛋白説とに大別され、今日まだ一定の見解に達していない。OT感作血球については登谷<sup>18)</sup>はその両者に存在すると述べ、小林<sup>9)</sup>は抗OT血清中の沈降素がCFに由来するものであると報告した。私の実験では前述のごとく

a群がCFによることは明らかであるが、b群はCFおよびPFの両者に由来すると考えられた。現今菌体から純粋なPF、CF分画を得ることが困難であることは衆知の事実であり、私の得たPF、CFはおのおの定性試験の成績からは純粋と考えられても、なお両者がそれぞれ全く単一であると結論することはできない。また前記の抗血清についてPF、CFの凝集反応阻止試験を行うと、一樣にCFの阻止能が強いという結果が得られた。

さて菌体、浸出液および浸出液感作血球免疫血清は、寒天層内沈降反応において共通因子とそれぞれ異なった因子とを有することが明らかにされ、かつ抗浸出液感作血球血清が浸出液感作血球による吸収後も一部沈降反応を残存するという現象が認められたので、更に3抗血清の菌体および感作血球による交差吸収試験で菌体ならびに感作血球凝集反応および沈降反応の場の変化を観察した。その結果菌体で吸収するとすべての反応が消失するに反し、感作血球による吸収では抗菌体血清および抗浸出液血清においては当然と考えられるが、抗感作血球血清においても感作血球凝集反応のみが消失し、菌凝集反応および沈降反応がなおかなり残存するという一見奇異な現象がここでも認められた。その原因についてはなお一層検討を要するところであるが、一般に血球感作能因子が複雑な構成を持っており、ある構成分子は血球に吸着される時いろいろの形をとり(例えば他の構成分子におおわれるなど)感作血球として注射された場合抗体産生にあづかっても、試験管内ではその対応する抗体と反応し難いというようなことが考えられるところである。しかしてチフス菌浸出液中の血球感作能因子の本態について断定することは尙早であるが多糖体が大きな役割を持っていることは明らかである。しかしこの問題の解明には更に浸出液よりの分画および分画感作血球の免疫原性の追求が必要と考えられる。



## 結 論

チフス菌加熱浸出液およびその感作血球をウサギに静注して、抗体産生状況ならびに血清蛋白像の変動を菌体静注ウサギにおけるそれと対比しつつ観察し、更にこれら抗血清と浸出液および菌体分画を用いて抗原抗体反応の分析を行い次の結果を得た。

- 1) チフス菌加熱浸出液、その感作血球および菌体の静注による抗体産生推移はほぼ同じであるが、抗体価は常に菌体免疫において最も高く、浸出液免疫これに次ぎ、浸出液感作血球免疫は最も低かった。
- 2) 血清蛋白像の変動は3群についてはほぼ同様の経過を示し、 $\beta$ -Gl.は抗体価と平行して消長し、 $\gamma$ -Gl.は免疫の後期に増加した。
- 3) この3抗血清について菌体蛋白質および菌体多糖体の感作血球凝集反応阻止試験を行った結果、菌体多糖体に強い阻止が認められた。
- 4) 浸出液および菌体分画と3抗血清との沈降反応ならびに寒天層内沈降反応を行った結果

浸出液とは3抗血清ともに反応を呈したが、菌体多糖体とは菌免疫血清および浸出液免疫血清が反応を呈し、菌体蛋白質と反応を呈したものは菌免疫血清のみであった。また浸出液との寒天層内沈降反応（Ouchterlony法）によってみると、感作血球免疫血清と他の2抗血清との間には共通の反応因子の他に異なった反応因子の存在が認められた。

- 5) 3抗血清の菌体および感作血球による交差吸収試験の結果、菌体で吸収した血清では菌凝集反応はもちろん、感作血球凝集反応も陰性となったが、感作血球で吸収した血清では菌凝集反応のなおかなりの残存が認められた。また沈降反応、寒天層内沈降反応も、菌吸収血清ではすべて陰性であったが、感作血球吸収血清ではなお沈降素の残存が認められた。

（稿を終るにのぞみ、西東助教授の御指導に深謝の意を表します。）

## 文

- 1) Middlebrook, G. & Dubos, R. J. : J. Exp. Med., 88,521,1948.
- 2) Middlebrook, G. : J. Clin. Invest., 24,1480,1950.
- 3) Smith, D. T. & Scott, N. B. : J. Lab. & Clin. Med., 35, 303, 1950.
- 4) Saito, T. et al. : Jap. J. Tuberc., 3,75, 1955.
- 5) 小林博 : 金大結研年報, 14, 187,1956.
- 6) 小林博 : 金大結研年報, 15,79,1957.
- 7) 登谷榮作 : 金大結研年報, 16,31,1958.
- 8) 蔵尚之 : 金大結研年報, 8 (上), 113,1949.
- 9) 秋山舜一 : 金大結研年報, 10 (上), 1,1952.
- 10)

## 献

- 小西健一 : 金大結研年報, 10 (下), 355,1952.
- 11) Oakley, C. L. & Fulthorp, A. J. : J. Path. Bact., 65,49,1953.
- 12) Ouchterlony, o. : Lancet, 1, 346,1949.
- 13) Wilson, M. W. & Pringle, B. H. : J. Immunol., 73(4),232,1954.
- 14) 藤井彰 : 金大結研年報, 14(上),21,1956.
- 15) Keogh, E. V. et al. : Nature, 160,63,1947.
- 16) 木下嘉一, 他 : 最新医学, 7(9),73,1952.
- 17) 大西敏夫 : 日本伝染病学会雑誌, 28,685,1955 ; 29,21,1955.
- 18) 登谷榮作 : 金大結研年報, 16,195,1958.

表 1 チフス菌加熱浸出液, 菌体蛋白質および菌体多糖体の化学的性状

反 応		ザイツろ過 浸 出 液	シヤンペラン ろ 過 浸 出 液	菌体蛋白質	菌体多糖体
蛋 白 反 応	Sulfosalicylic acid reaction	+	+	+	-
	Heller's reaction	+	+	+	-
	Ninhydrin reaction	+	+	+	-
	Picric acid reaction	-	+	+	-
	Millon's reaction	+	+	+	-
	Biuret reaction	+	+	+	-
	T. B. P. E. reaction ※	+	+	+	-
糖 反 応	Molisch's reaction	+	+	-	+
	Phloroglucinol reaction	+	+	-	+
	Seliwanoff's reaction	+	±	-	+
	Nylander's reaction	+	±	-	+
N 量		107.9mg/dl	64.9mg/dl	12.08%	1.84%
還元糖量		235.5mg/dl	146.0mg/dl	•	39.8%

注：1) ※ Tetrabrom phenolphthalein ethylester potassium reaction の略。

2) 定性反応用には浸出液は原液, 菌体分画は1%溶液を使用した。

3) N量は Azotometer により測定した。

4) 還元糖量は10%に  $H_2SO_4$  を加えて加水分解したものについて Hagedorn-Jensen 法により測定した。



表3 浸出液感作血球免疫血清の感作血球凝集反応, チフス菌凝集反応および溶血反応

検査の種類	血清の種類	血球または抗原の種類	血清希釈										対照
			10	20	40	80	160	320	640	1,280	2,560	5,120	
感作血球凝集反応	ザイツろ過浸出液感作血球免疫血清	感作血球	3	3	3	3	3	2	1	1'	0	0	0
		無感作血球	0	0	0	0							0
	シャンペランろ過浸出液感作血球免疫血清	感作血球	3	3	3	3	3	3	2	1	1'	0	0
		無感作血球	0	0	0	0							0
チフス菌凝集反応	ザイツろ過浸出液感作血球免疫血清	V抗原	3	3	3	3	3	2	1	1'	1'	0	0
		H抗原	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		O抗原	3	3	3	2	2	2	1	1	0	0	0
	シャンペランろ過浸出液感作血球免疫血清	V抗原	3	3	3	3	2	1	1	1'	0	0	0
		H抗原	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		O抗原	3	3	3	3	2	2'	1	0	0	0	0
感作血球溶血反応	ザイツろ過浸出液感作血球免疫血清	感作血球	卅	卅	卅	卅	+	+	±	-	-	-	-
		無感作血球	-	-	-	-							-
	シャンペランろ過浸出液感作血球免疫血清	感作血球	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	±	-	-	-
		無感作血球	-	-	-	-							-

表4 浸出液感作血球免疫血清の補体結合反応

(1) ザイツろ過浸出液感作血球免疫血清のザイツろ過浸出液に対する補体結合反応

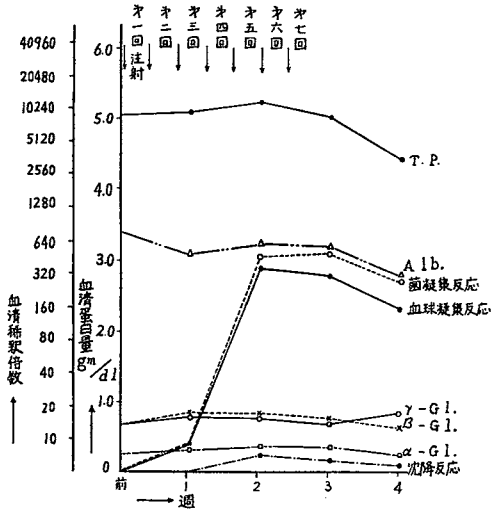
(2) シャンペランろ過浸出液感作血球免疫血清のシャンペランろ過浸出液に対する補体結合反応

抗体希釈 \ 抗原希釈	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
1:64	卅	卅	+	-	-	-
1:128	卅	卅	-	-	-	-
1:256	+	-	-	-	-	-
1:512	±	-	-	-	-	-
1:1,024	±	-	-	-	-	-
1:2,048	-	-	-	-	-	-
対照	-	-	-	-	-	-

抗体希釈 \ 抗原希釈	5	10	20	40	80	160
1:8	卅	卅	卅	卅	+	-
1:16	卅	卅	卅	+	-	-
1:32	卅	卅	+	-	-	-
1:64	卅	±	-	-	-	-
1:128	卅	-	-	-	-	-
1:256	±	-	-	-	-	-
対照	-	-	-	-	-	-

図 1

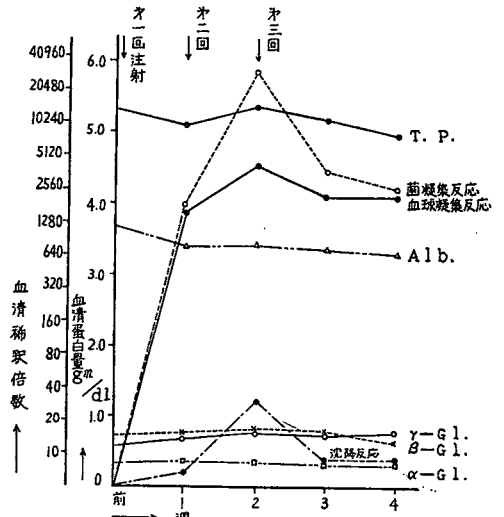
感作血球免疫群における血清蛋白像と菌および血球凝集価ならびに沈降反応抗体価の変動



注：T.P.：総蛋白量  
 Alb.：Albumin α-Gl.：α-Globulin  
 β-Gl.：β-Globulin γ-Gl.：γ-Globulin

図 2

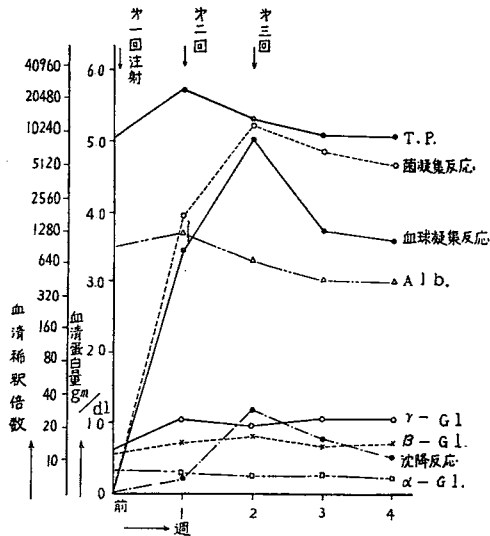
浸出液免疫群における血清蛋白像と菌および血球凝集価ならびに沈降反応抗体価の変動



注：図 1 に同じ

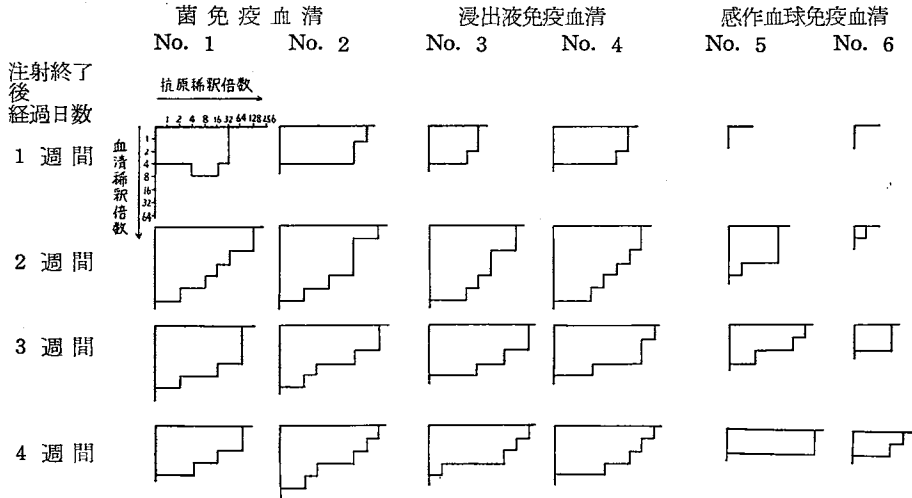
図 3

菌体免疫群における血清蛋白像と菌および血球凝集価ならびに沈降反応抗体価の変動



注：図 1 に同じ

図 4 沈降反応の場の形



注：No. はウサギ番号

表 5 各免疫群における血清蛋白像の変動 (各 2 例平均値)

免疫	検査事項 検査日時	T. P. (gm/dl)	血清蛋白分層% (gm/dl)				A/G	絶対量 (gm/dl) 変動率				
			Alb.	$\alpha$ -Gl.	$\beta$ -Gl.	$\gamma$ -Gl.		T.P.	Alb.	$\alpha$ -Gl.	$\beta$ -Gl.	$\gamma$ -Gl.
感作血球免疫群	前	5.03	67.9 (3.42)	5.9 (0.27)	13.1 (0.67)	13.1 (0.67)	2.12	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	1 週	5.08	61.1 (3.11)	6.3 (0.32)	16.8 (0.85)	15.8 (0.80)	1.58	1.01	0.91	1.19	1.27	1.19
	2 週	5.25	61.8 (3.25)	7.0 (0.36)	16.1 (0.85)	15.1 (0.79)	1.63	1.04	0.95	1.33	1.27	1.18
	3 週	5.03	63.8 (3.21)	7.0 (0.35)	15.1 (0.76)	14.1 (0.71)	1.79	1.00	0.94	1.30	1.13	1.06
	4 週	4.49	62.1 (2.79)	5.7 (0.25)	13.8 (0.62)	18.4 (0.83)	1.64	0.89	0.82	0.93	0.93	1.24
浸出液免疫群	前	5.31	69.3 (3.66)	6.2 (0.33)	13.5 (0.73)	11.0 (0.59)	2.22	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	1 週	5.11	65.5 (3.35)	6.6 (0.34)	14.7 (0.75)	13.2 (0.67)	1.90	0.96	0.92	1.03	1.03	1.14
	2 週	5.36	64.1 (3.41)	6.1 (0.33)	14.9 (0.81)	14.9 (0.81)	1.75	1.01	0.93	1.00	1.11	1.37
	3 週	5.18	65.4 (3.37)	6.0 (0.31)	14.3 (0.75)	14.3 (0.75)	1.86	0.98	0.92	0.94	1.03	1.27
	4 週	4.98	66.5 (3.30)	6.2 (0.32)	12.4 (0.62)	14.9 (0.74)	1.96	0.94	0.90	0.97	0.85	1.25
菌体免疫群	前	5.03	70.4 (3.54)	7.0 (0.35)	10.7 (0.54)	11.9 (0.60)	2.38	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	1 週	5.79	63.7 (3.68)	5.2 (0.31)	13.0 (0.75)	18.1 (1.05)	1.74	1.15	1.03	0.88	1.38	1.75
	2 週	5.35	62.2 (3.33)	4.3 (0.24)	15.4 (0.81)	18.1 (0.97)	1.65	1.06	0.94	0.68	1.50	1.61
	3 週	5.08	60.0 (3.05)	5.5 (0.27)	13.3 (0.68)	21.2 (1.08)	1.50	1.01	0.86	0.77	1.25	1.80
	4 週	5.08	60.1 (3.05)	4.4 (0.22)	14.6 (0.74)	20.9 (1.07)	1.50	1.01	0.86	0.62	1.37	1.78

表 6 チフス菌免疫血清, チフス菌加熱浸出液免疫血清ならびに浸出液感作血球免疫血清の, 菌体分画および浸出液による, 感作血球凝集反応の阻止試験

血清の種類	阻止物件	阻止物件希釈 (浸出液は10倍より) r/ml												対 照			
		1,000	500	250	125	62.5	31.3	15.6	7.8	3.9	1.9	0.9	0.5	A	B	C	D
浸出液免疫血清 210倍	PF	0	1'	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0
	CF	0	0	0	0	0	0	1	2'	3	3	3	3	3	0	0	0
	浸	0	0	0	0	1	2'	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0
感作血球 免疫血清 50倍	PF	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0
	CF	0	0	0	0	0	0	1	2	3'	3'	3	3	3	0	0	0
	浸	0	0	0	0	0	1'	2	3	3	3	3	3	3	0	0	0
菌体免疫血清 210倍	PF	1'	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0
	CF	0	0	0	0	0	1	3	3	3'	3'	3	3	3	0	0	0
	浸	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2	3	3	3	0	0	0

阻止物件: PF=チフス菌体蛋白質, CF=チフス菌体多糖体, 浸=チフス菌加熱浸出液.  
 対 照: A=血清+生食水+感作血球, B=血清+生食水+無感作血球,  
 C=生食水+無感作血球, D=最高濃度の阻止原+無感作血球.

図 5 チフス菌免疫血清, 浸出液免疫血清および感作血球免疫血清と菌体分画との沈降反応

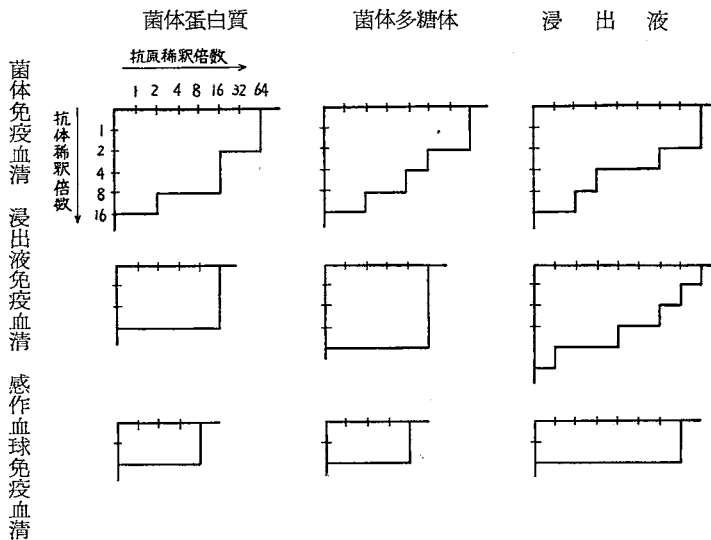
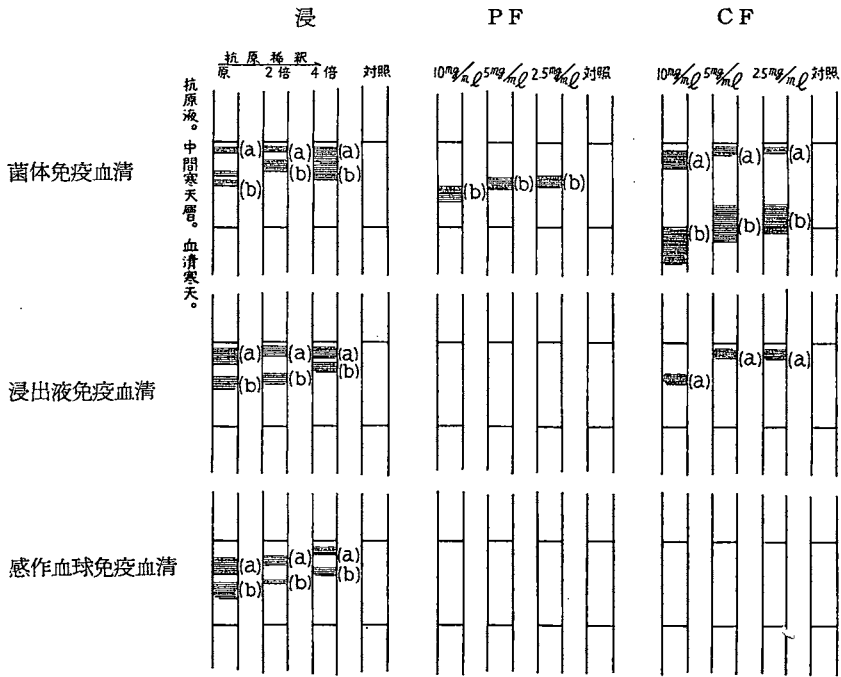


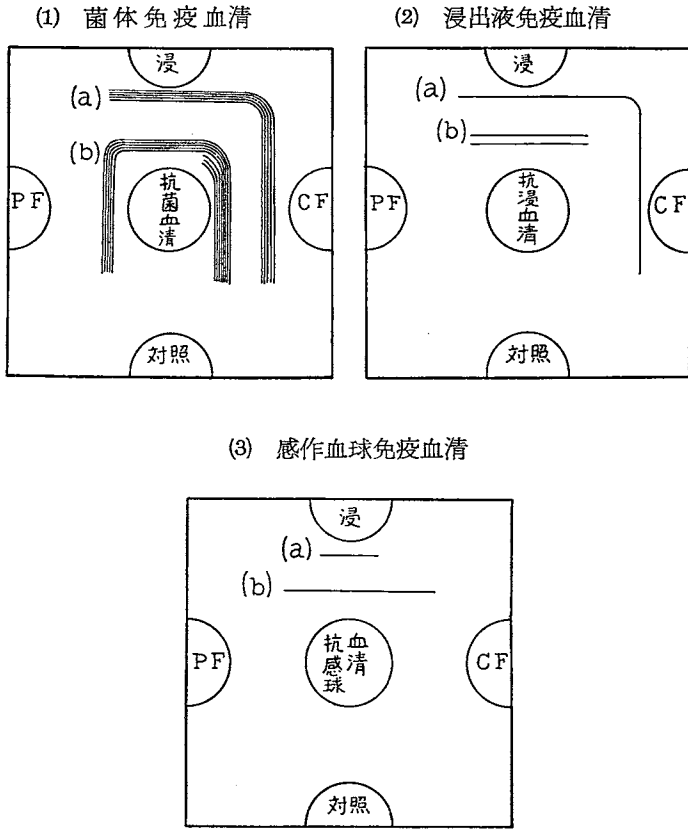
図6 菌体免疫血清、浸出液免疫血清および感作血球免疫血清と浸出液、PFおよびCF との寒天層内沈降反応 (Oakley法)



注：浸=浸出液，PF=菌体蛋白質，CF=菌体多糖体



図7 チフス菌, 浸出液, 感作血球, 各免疫血清と菌体分画および浸出液との寒天層内沈降反応 (Ouchterlony法)



注：浸=浸出液(原液) PF=菌体蛋白質(10mg/ml)  
 CF=菌体多糖体(10mg/ml)

浸出液と各免疫血清との寒天層内沈降反応における沈降帯の Pattern

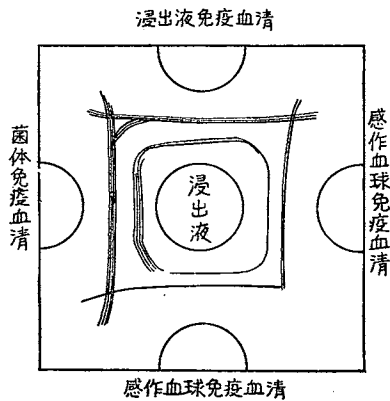


表 7 チフス菌免疫血清, チフス菌加熱浸出液免疫血清ならびに浸出液感作血球免疫血清における, 菌および感作血球の交差吸収試験成績

血清の種類	吸収前後	吸収物件	感 作 血 球 凝 集 反 応										対 照	菌 凝 集 反 応 (Vi)										対 照		
			10	20	40	80	160	320	640	1,280	2,560	5,120		10,240	10	20	40	80	160	320	640	1,280	2,560		5,120	10,240
			1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:		1:	1:
浸出液血清	前	•	3	3	3	3	2	3	3	2	2	1	0	0	3	3	3	3	3	2	2	2	1	1	0	0
	後	菌体	0	0	0	0	0	0	0					0	0	0	0	0	0	0					0	
		感作血球	0	0	0	0	0	0	0					0	3	3	3	3	2	2	2	1	1'	0	0	
感作血球血清	前	•	3	3	3	2	2	2	2	1	0	0	0	3	3	2	2	2	1	1	1	1'	0	0		
	後	菌体	0	0	0	0	0	0	0					0	0	0	0	0	0	0					0	
		感作血球	0	0	0	0	0	0	0					0	3	2	2	2'	2'	1	1'	0	0	0	0	
菌体免疫血清	前	•	3	3	2	3	2	2	2	1	1	1'	0	3	3	3	3	2	2	2	2	1	1'	0	0	
	後	菌体	0	0	0	0	0	0	0					0	0	0	0	0	0	0					0	
		感作血球	0	0	0	0	0	0	0					0	3	3	1	1	1'	1'	0	0			0	

図 8 感作血球で吸収したチフス菌免疫血清, 浸出液免疫血清ならびに感作血球免疫血清と菌体分画および浸出液との沈降反応

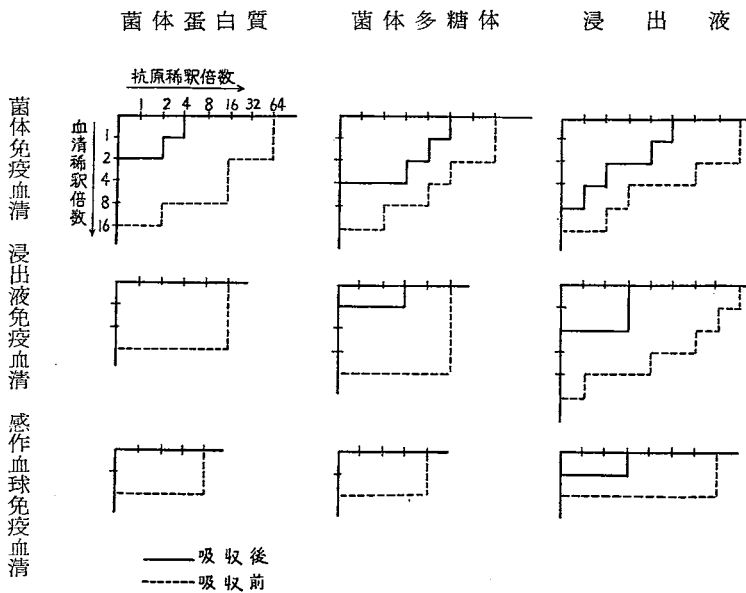
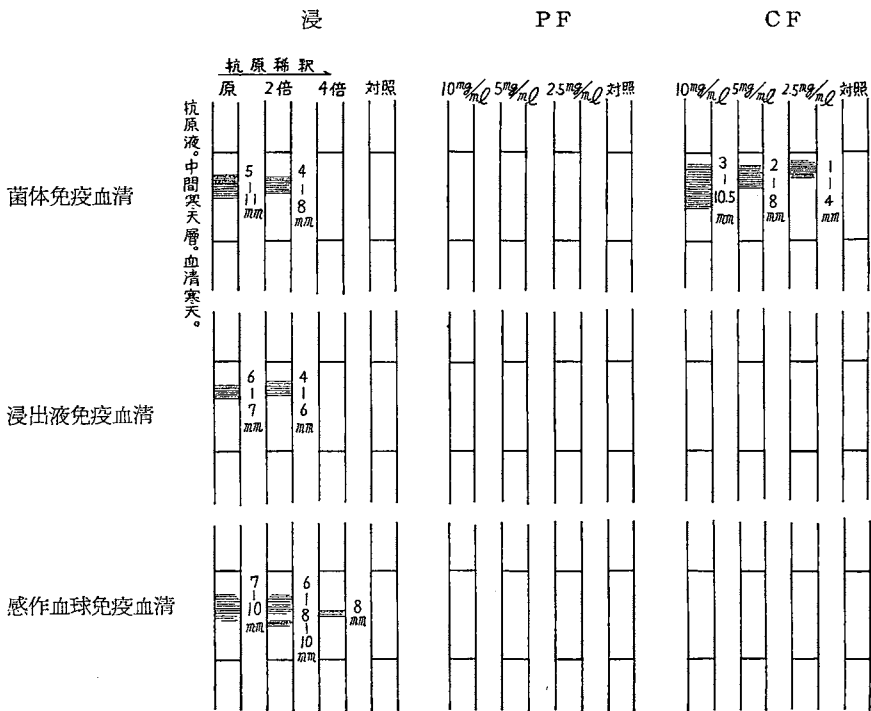
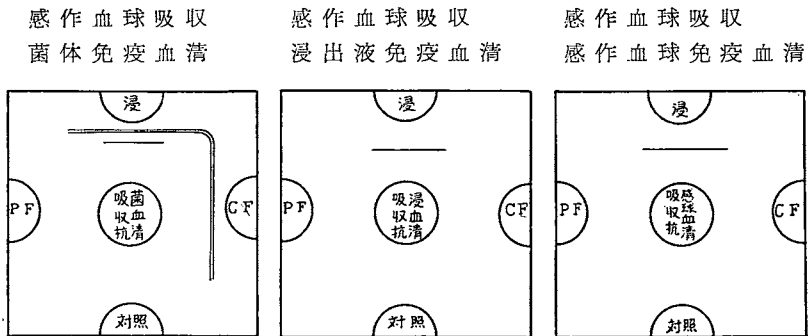


図 9 感作血球で吸収せる菌体免疫血清，浸出液免疫血清および感作血球免疫血清と浸出液，PF および CF との寒天層内沈降反応 (Oakley法)



注：浸=浸出液， PF=菌体蛋白質， CF=菌体多糖体

図 10 感作血球で吸収せる菌体免疫血清，浸出液免疫血清および感作血球免疫血清と浸出液，PF および CF との寒天層内沈降反応 (Ouchterlony法)



注：浸=浸出液 PF=菌体蛋白質 CF=菌体多糖体