

# 実験的感染における細網内被系の機能について

## 第6報 牛痘ウイルスの赤血球凝集抑制反応について

金沢大学医学部微生物学教室(主任 谷友次教授)

伏 木 唯 和

*Tadakazu Fushiki*

(昭和30年1月22日受附)

### 第1章 緒 言

前報において牛痘ウイルスの赤血球凝集反応について報告したが、更に赤血球凝集抑制反応について実験を試みた。

Nagler<sup>1)</sup>によれば牛痘ウイルスの赤血球凝集抑制反応は初種痘善感者の血清において最も強く、「免疫反応」者の血清は最も劣ると報じている。North<sup>2)</sup>によれば痘瘡患者の回復期血清においても同様抑制反応を認めたと報告しており、又 Collier<sup>3)</sup>も痘瘡患者80名について行

った結果、平均3000倍の力価を認めたと報告している。本邦にては北岡<sup>4)</sup>等は同反応が痘瘡診断の補助手段としてかなりの応用価値があるとしており、山田<sup>7)</sup>等は本法が優れた痘瘡診断法として応用出来ると結論している。著者はこれらの業績を検討する一方、牛痘ウイルス感染家兎につき実験を試み、更に Adler-Reimann 氏法によるコンゴ赤指数を測定し聊か知見を得たので報告する。

### 第2章 実験材料並びに実験方法

1) 使用牛痘ウイルスは東芝生物化学研究所製組苗を孵化鶏卵脈絡尿膜上に接種し、37°C 3日間培養後その脈絡尿膜を継株材料として10代以上通過して得た脈絡尿膜乳剤を用いた<sup>6)</sup>。

2) 使用家兎は2kg 前後の雌性白色家兎を予め一定食餌にて飼育し健康なることを確かめて使用した。

3) 家兎への牛痘ウイルス接種は前記脈絡尿膜乳剤を2頭の皮内に0.2cc 宛2ヶ所、4頭の家兎の両側睾丸実質内に夫々0.2cc 宛接種した。

4) 被検血清は予め56°C 30分処置し、更に10%鶏赤血球を加え、4°C に一夜放置して自然凝集素を吸収

し遠心して得た上清を用いた。

5) 赤血球凝集抑制反応の術式は主として山田<sup>7)</sup>に従い、抗血清0.25cc を2倍階段希釈をおこない、前記脈絡尿膜乳剤を最終希釈で2凝集単位になる如く加え、37°C 30分後0.25% 鶏赤血球浮游液を0.5cc 宛加え、37°C 2時間後に判定した。

6) 希釈メジウムは生理食塩水を用いたが、使用に際し新たに調製し器具その他についても自然凝集反応を起さぬよう留意した。

7) コンゴ赤指数<sup>10)</sup>の測定は前報<sup>11)-14)</sup>と全く同様の方法でおこなった。

### 第3章 実 験 成 績

**第1節 牛痘ウイルス感染家兎における赤血球凝集抑制抗体について**  
前述の如く皮内、睾丸実質内に牛痘ウイルス

を接種せる家兎について赤血球凝集抑制抗体の消長を検した所第1表に示す如くである。接種後1週間には何れも陰性であるが、2週間後に

至り皮内，辜丸内接種の全家兎に出現し，2～3週を最高として漸次低下の傾向を示した。皮内接種では辜丸内接種に比し，抗体の産生は弱く1頭は7週間後に陰性となった。又他の1頭

も3カ月後には陰性となったが，辜丸内接種では3週に最高512倍を示し，その後は下降を始め4頭中1頭は6週目，1頭は8週目に死亡したが，これらは特に抗体の産生が著明であつた。

第1表 家兎における赤血球凝集抑制反応

	接種前	接種後 1週間	2 "	3 "	4 "	5 "	6 "	7 "	8 "
1号家兎	0	0	64	128	64	16	16	0	0
2 "	0	0	16	64	16	16	16	8	8
3 "	0	0	256	256	512	256	死亡		
4 "	0	0	128	512	128	64	64	32	32
5 "	0	0	256	512	256	64	64	16	16
6 "	0	0	512	512	256	256	256	256	死亡
対 照	0	0	0	0	0	0	0	0	0

註： 1号，2号家兎は皮内接種3号～6号は辜丸実質内接種

た。

更に接種後3カ月で陰転せる2頭の家兎に1頭（1号家兎）は皮内，他（2号家兎）は静脈内に脈絡尿膜乳剤の0.25cc宛を再接種して検した所，皮内再接種せるものはならん発症せず，僅かに局所に「免疫反応」を呈したのみで抗体の出現も見られなかつたが，静脈内再接種せる例では2週間後に256倍の抑制価を示したが，死亡せるためその後の検査は不能であつた。

## 第2節 人体における赤血球凝集抑制抗体について

本反応が痘瘡の診断に用いられるためには，本邦の如く種痘の普及している所ではその影響を除外することは出来ない。よつて主として健康人について種痘と本抗体との関係を検討し，一方水痘その他の患者について抗体の産生の有無を検したがその結果は次の如くである。

先づ初種痘者については経過を追つた材料が得られなかつたが，その成績は第2表に示す如くで，未種痘の乳児では陰性であるが，種痘後3週間目に強い抑制抗体の出現を認めた。又1カ月目のものも抗体を認めたが，5カ月～1年のものは個体差があり，2年以後のものは何れ

も陰性であつた。

第2表 初種痘者の赤血球凝集抑制反応

被検者 番号	種痘の 結果	種痘から 採血まで の年月	抑制抗体価	
			種痘前	今回
1	完全痘瘡	3週間	0	256
2	"	1ヶ月		128
3	"	5ヶ月		0
4	"	6ヶ月		16
5	"	8ヶ月		0
6	"	2年5ヶ月		0
7	"	2年5ヶ月		0
8	"	4年		0

再種痘者については種痘前と，種痘後の各時期について調べた。種痘は型の如く上膊外側に4カ所接種し，1週間毎に採血したがその成績は第3表に示す如くで，完全痘瘡を認めた6例では全例に抑制抗体が出現した。これらは何れも種痘前には陰性で，1例は1週間後，3例は2週間後，2例は3週間後に抑制抗体の出現を認めた。その消長を観察するに1週間後に陽性になつた例では2週間後に最高に達したがその後は低下の傾向を示し，5週間後には消失した。

第3表 再種痘者の赤血球凝集抑制反応

被検者 番 号	前回種痘 よりの年月	今回の種 痘の結果	赤血球凝集抑制抗体価						
			種痘前	種痘後 1週間	2 "	3 "	4 "	5 "	6 "
1	4 年	「完全痘瘡」	0	0	32	32	16	16	16
2	4 年	〃	0	0	64	64	64	64	64
3	6 年	〃	0	8	32	32	16	0	0
4	6 年	〃	0	0	128	64	64	64	32
5	13 年	〃	0	0	0	16	16	0	0
6	25 年	〃	0	0	32	32	16	16	0
7	8 ケ 月	「免疫反応」	0	0	0	0	0	0	0
8	〃	〃	0	0	8	8	0	0	0
9	〃	〃	0	0	32	0	0	0	0
10	1年2ケ月	〃	0	0	0	0	0	0	0
11	1年6ケ月	〃	0	0	0	0	0	0	0
12	2 年	〃	0	0	0	0	0	0	0
13	〃	〃	0	0	0	0	0	0	0
14	〃	〃	0	0	0	0	0	0	0
15	〃	〃	0	0	0	0	0	0	0
16	5 年	〃	0	0	0	0	0	0	0
17	6 年	〃	0	0	0	0	0	0	0

他の例は何れも抗体の出現時に最高値を示しその後は漸次低下した。

「免疫反応」を示した11例についてはそのうち2例に2~3週間後に弱い抑制価を示したのみで他はみな陰性であった。

又種痘後2年以上経過せるもの20名につき検した所第4表に示す如く1例を除き何れも陰性であった。この陽性の1名は抑制価16倍で、前回種痘後3年7カ月を経過し、痘瘡の既往もなく、問診によれば前回の種痘も「免疫反応」と思われるので、種痘善感後相当の年月を経ているがその時より継続して抗体を保持せるものか、或いはその他の原因によるものか全く不明である。

第4表 種痘歴と赤血球凝集抑制反応

種痘歴	被検者数	陽性	陰性
2~3年前	14	0	14
3~5年前	4	1	3
5年以上前	2	0	2

更に水痘その他の発疹性疾患の患者血清につき検したがその結果は第5表に示す如くで1例を除いては陰性であった。しかしこの陽性例も3カ月前に種痘善感の既往があるためその影響と考えられる。

第5表 発疹性疾患患者血清の赤血球凝集抑制反応

被検者 番 号	病 名	種痘歴	抑制抗 体 価
1	水痘	2 年 前	0
2	〃	1 年 3 ケ 月 前	0
3	〃	3 年 前	0
4	麻疹	3ケ月前(完全痘瘡)	32
5	〃	1 年 2 ケ 月 前	0
6	膿痂疹	4 年 前	0

第3節 牛痘ウイルス感染家兎におけるコンゴ赤指数について

第1節の実験に平行して同じ6頭の家兎につき、接種前と接種後1週間目より毎週1回コンゴ赤指数を検した所その成績は第6表に示す

如くで、皮内接種せる家兎では1～2週間後に稍々機能亢進を認めたがその後間もなく正常に復した。睾丸実質内接種のものでは、2頭（4号、5号家兎）は皮内接種によく似た傾向が見られ2～3週間後までは機能亢進を示し、その

後は症状の消退に伴い正常に復した。実験途中にて死亡せる2頭のうち1頭（6号家兎）は初め機能亢進、死亡前には機能低下が認められ、他の1頭（3号家兎）は初めより機能低下を示していた。

第6表 牛痘ウイルス感染家兎におけるコンゴ赤指数

家 兎 番 号	接種前	接種後 1週間	2 "	3 "	4 "	5 "	6 "	7 "	8 "
1	50.0	45.5	40.0	53.3	53.3	52.0	50.3	53.3	51.0
2	49.8	45.5	43.3	49.8	51.3	52.0	51.3	50.0	50.0
3	50.0	63.3	60.0	65.5	69.8	66.6	死 亡		
4	51.3	40.0	45.3	43.3	51.0	50.0	52.3	55.0	50.0
5	48.3	40.0	44.3	51.0	48.8	43.3	50.0	53.3	49.3
6	53.3	40.0	38.8	50.0	53.3	51.3	55.5	61.3	死亡
対 照	50.0	51.3	49.8	50.0	50.0	51.0	51.0	49.0	51.3

註： 1号、2号家兎は皮内接種、3号～6号家兎は睾丸実質内接種

#### 第4章 総括並びに考按

以上の実験成績を総括するに、家兎における実験では、皮内、睾丸実質内の両接種共に赤血球凝集抑制抗体の産生を認めた。その発現は何れも接種後2週間で、3週間後には最高に達しその後は漸次低下の傾向が見られた。皮内接種と睾丸内接種の両者を比較すると皮内接種の方が症状も軽く、又抑制抗体の産生も弱く早期に陰転した。睾丸内接種では4頭中2頭が実験途中にて死亡し、抗体の産生も著明で且つ長期にわたり持続した。以上の結果より考えるに牛痘ウイルス感染家兎における赤血球凝集抑制抗体は感染後2～3週間にて急激に産生せられ、その後は漸次低下し、接種部位等によりその産生度は異なるが重篤な症状を呈したもの程強く産生せられ、又その持続期間も長いと考えられる。

又再接種においては少量の皮内接種では何ら発症せず、局所に僅かに発赤を認めた程度で発症は見られなかつた。これはもとより先の接種により感染防禦抗体が体内に産生せられたためと考えられるが、この例では抑制抗体が全く産生されなかつた。然るに静脈内接種せる例で

は、2週間後に相当高い抑制価を認めたが間もなく死亡した。以上のことから再感染の場合も初感染と同様重篤なる症状を示せるものは抑制抗体の産生が著明で接種部位により差のあることがわかつた。又感染防禦力を有するにも拘わらず抑制抗体を認めなかつたことにより、本抗体の消長は必ずしも感染防禦力の判定になり得ないことを知つた。

次に人体について、種痘による赤血球凝集抑制抗体の消長を調べて見たが、初種痘者においては経過を追つた材料が得られなかつたが、幼児の未種痘例は陰性で、これに種痘を行つた所3週間後に256倍なる抑制価を得た。僅か1例ではあるがこれにより先天的に抑制抗体を有することはなく、初回種痘により相当高い抑制抗体の産生を認めることを知つた。更に他の例では初種痘後1カ月で128倍、1例は6カ月で16倍なる値を得たが他の例は何れも陰性であつた。これらは何れも種痘後の経過年月が異なり又個人差もあるので比較することは困難であるが、初種痘においても6カ月以上経過すると抑制抗体の産生はないか或いはあつても非常に弱

いことを示している。

更に再種痘者について経過を追つて観察せる所、善感者では程度の差はあるが全部陽性に現われ、その消長も家兎の場合によく似て2~3週後に高く以後は次第に低下した。しかしその抑制価は初種痘者に比し低い値を示していた。又別の20例につき前回種痘後の経過により分けて観察せる所、1例ではあるが種痘後3年以上を経たもので抑制抗体を認めたものがあり、これはその後の検査が不能で持続的に抗体を有するものか、他の原因により産生せられるものか、或いは特異的なものか全く判断に苦しむが、極めて稀に種痘後相当年月を経ているにも拘わらずなお抑制抗体を有する例があることは注目すべきことと考える。

水痘、麻疹、膿痂疹の患者血清につき赤血球凝集抑制反応を試みたが麻疹患者1名に陽性者を発見した。しかしこれは3カ月前に善感の種

痘歴があるためその影響であろうが、本反応を痘瘡の診断に用いる場合充分種痘歴を検討する必要を痛感した。

一方牛痘ウイルス感染家兎の細網内被系機能の消長を知らんため、コンゴ赤指数を測定したが、それによると一般に初期にはコンゴ赤指数は小さな値を示し機能充進の像を認めるが間もなく正常に復帰する。これを赤血球凝集抑制抗体の消長と比較すると、抗体の産生著明なる時は機能充進を認め、抗体の産生の低下と共にそれに平行してコンゴ赤指数も正常に近付いた。しかし実験中途にて死亡せる2例では必ずしもコンゴ赤指数と赤血球抑制抗体の産生とは平行せず、1例は終始機能減退像を示し他の1例は感染初期は抗体価と平行して機能充進像を示したが、死亡前には赤血球凝集抑制抗体の産生が相当高い値を示しているにも拘わらず著明な機能減退像を示していた。

## 第5章 結

牛痘ウイルス感染家兎並びに人体につき牛痘ウイルスによる赤血球凝集抑制反応を検し、併せてコンゴ赤指数を測定した結果次の如き結論を得た。

1) 牛痘ウイルス感染家兎における赤血球凝集抑制抗体は感染後2~3週間に急激に産生せられ、その後は漸次低下の傾向を認める。その産生の程度は接種部位により差があるが重篤な症状を呈するもの程旺盛で且つ持続期間も長い。又再接種の場合は初接種に比し産生度は弱い。

2) 人体の場合は初接種者は著明に赤血球凝集抑制抗体の産生を認める。再種痘者では痘

## 論

痘形成し善感せるものは抑制抗体を認めるが、初種痘者に比して弱い。又「免疫反応」を呈したものは陰性か或いは陽性でも抑制価は低く持続期間も短い。

3) 種痘後の赤血球凝集抑制抗体の存続期間は概ね6カ月前後と思われるが、稀に長期間を経過した後に認めることがある。

4) 牛痘ウイルス感染家兎のコンゴ赤指数は、実験中途にて死亡せる例を除いては赤血球凝集抑制抗体の産生に平行して機能充進像を示し、抗体の産生低下と共に正常に復した。

(拙筆するに当り恩師谷教授の御懇篤なる御指導と御校閲に深謝致します。)

## 文

- 1) Nagler : Med. J. Austral., 1, 281, (1942). (Nagler<sup>2)</sup>より引用) 2) Nagler : Austral. J. Exp. Biol. & Med. Sci., 22, 29, (1944). 3) North : Austral. J. Exp. Biol. & Med. Sci., 22, 105, (1944). 4) Collier : Zeitschr. Hyg., 131, 555, (1950). 5) 北岡 : Virus, 2, 154, (1952). 6) 北岡 : 日本細菌学雑誌, 8, 605, (1953). 7) 山田 : Virus, 2, 160, (1952). 8) 山

## 献

- 田 : 日本細菌学雑誌, 6, 182, (1951). 9) 伏木 : 十全医学会雑誌投稿予定 10) Adler u. Reimann : Zeit. f. d. ges. exp. Med., 47, 617, (1925). 11) 伏木 : 十全医学会雑誌, 55, 393, (1953). 12) 伏木 : 十全医学会雑誌, 55, 496, (1953). 13) 伏木 : 十全医学会雑誌, 55, 509, (1953). 14) 伏木 : 十全医学会雑誌投稿予定