放射性同位元素 ^{45}Ca の感染発症並びに 感染防禦抗体の產生に及ぼす影響

日本医科大学 細菌学教室 (指導 中村敬三教授)

久 木 原 忠 博

Tadahiro Kukihara

緒 言

X-線や γ -線の放射能によつて生体が種々の障害を受けることから考えて、微量の放射能によつて生体の機能が何等かの変調を来す可能性は当然予測される。斯様な意味からする免疫血清学上の研究としては、X-線の抗体產生に及ぼす影響¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾や、生体機能に及ぼす影響⁶⁾⁷⁾、及び感染発症に及ぼす影響の報告^{8)~13)}等がみられる。

放射線の細菌感染に対する影響の研究としては、例えば内因性の種々の腸内細菌による菌血症の出現に及ぼす影響、及びこの菌血症に対する化学療法剤の効果に及ぼす影響等が検討され、更に又放射線の影響による宿主の感染性の増大、或は逆に抵抗性の増強等が研究されている。また一方放射線が有する抗体產生阻止の現象に鑑みて、細菌感染に対する免疫の関連についても検討されて来た。即ち Gowen & Zelle¹⁰⁾(1945) Shechmeister et al.¹¹⁾(1953) 等は X-線照射によつて *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* の感染に対して宿主の感受性が増強することを報じ、茅野¹²⁾(1956) 等も腸炎菌に就て同様な成績を出しているが、遠藤⁹⁾(1958)は *Brucella* 菌に対するマウスの感染性が X-線照射によつて却つて低下すると述べている。また更に Singer¹³⁾(1953)によると、赤血球寄生性の *Plasmodium berghei* の感染が放射線の照射によつて Parasitemia を減弱するとも言われている。

一方放射線の抗体產生に及ぼす影響^{1)~5)}としては、今日の所、主として抗体產生の抑制という意味で理解されており、近年松永⁶⁾(1957)の ^{45}Ca の投与により、モルモット摘出腸管のアナフィラキシー性反応が発現し難くなるという報告も斯様な意味に於いて理解し得るものと思う。

然し乍ら Stoner⁷⁾(1954) 等によると、 ^{60}Co の照射がアナフィラキシー・ショックに対するマウスの感受性を増強するという報告もあり、放射能の生体に与え

る影響にはなお未解決の問題がある。これは放射能の種類と投与量、投与後期間と宿主との組合せ、或は攻撃菌と宿主との組合せに於て種々な要因がかみ合つて来ることに起因すると考えられる。

そこで私は今回、斯様な意味から成る可く長期間に亘つて体内にとどまり、且つ半減期の比較的長い放射性同位元素 ^{45}Ca を用い、これが感染発症並にワクチン接種による感染防禦抗体の產生に如何なる影響を及ぼすやに就て検討し、興味ある一連の結果を得たので茲に一括報告することとした。

実験の材料

1. 放射性同位元素 (^{45}Ca) :

実験に用いた放射性同位元素は、 $^{45}\text{Ca}(\text{p-2})$ で 0.73 N の塩酸中に CaCl_2 の形で存在し、その radioactivity は実験当日は $1.58 \pm 10\% \text{mc/ml}$, specific activity は 19.45mc/g であつた。そこでこれを使用直前に苛性ソーダで中和して pH 7.0 とし、半減期 (180 日) を考慮に入れて、その radioactivity を計算し適量になるよう希釈調整した。

2. 供試動物 :

体重 12.5 g 前後の雄性 dd 系マウスを使用した。各実験群マウスは、何れも同一時期に購入し、固形飼料、及び飲料水を以て同一条件下に飼育し実験に供した。

3. 供試菌 :

マウスに対する感染用攻撃菌としては、予研より分与された腸チフス菌 (*Salmonella typhi*, T-63 株)、及び Dr. H. Slade, Dept. Microbiology, Northwestern University Medical School より分与を受けた溶連菌 (Group A *Streptococcus*, type 12, T-12 株) を使用した。

即ち腸チフス菌は 18 時間培養液を用い、攻撃用菌液は腸チフスワクチン国家検定規準に従い、5% ムチン水を以て希釈調整した。溶連菌は、Todd-Hewitt 培地 18 時間培養液を Hewitt 培地で 10 倍段階希釈し

て使用した。

4. ワクチン：

国家検定に合格した腸パラ混合ワクチン (1 ml 中菌数 15 億を含む) を生理食塩水を以て稀釈したものを用了。

方法と成績

I. 予備実験：

A. ^{45}Ca のマウスに及ぼす致死量の検討

各群数匹宛のマウスを 4 群に分ち、各群マウスに kg 当り、 $8\mu\text{c}$ 、 $16\mu\text{c}$ 、 $32\mu\text{c}$ 、及び $62\mu\text{c}$ の ^{45}Ca を腹腔内に注射した所、 $64\mu\text{c/kg}$ の ^{45}Ca を注射した群では全例 2~30 分以内に死亡したが、 $32\mu\text{c/kg}$ 以下を投与した群では全例生存した。そこで次に ^{45}Ca のマウスに対する毒性が放射性同位元素 ^{45}Ca そのものによるものか、或はその中に含まれる CaCl_2 によるものかを検討す可く、 ^{45}Ca 中に含まれる CaCl_2 量を計算してみた。即ち使用した ^{45}Ca は実験当日に於て、radioactivity が 0.4 mc/ml 即ち $400\mu\text{c/ml}$ に相当するものであり、 ^{45}Ca を $64\mu\text{c/kg}$ の割で注射されたマウス (体重 12 g) 1 匹当りの量は、 ^{45}Ca 原液の $\frac{0.77}{400}\text{ ml}$ に相当する。即ち ^{45}Ca の原液 1 ml 中には、 Ca を 81.25 mg 含有していることが分つているから、マウス 1 匹中に注射された Ca 量は $81.25 \times \frac{0.77}{400} = 0.1564\text{ mg}$ に相当する。

そこで ^{45}Ca による毒性が、放射性同位元素そのものによるか、或はその中に含まれる Ca によるかを検討す可く、次に CaCl_2 そのものによるマウスの毒性を検べてみた。実験結果は、表 1 に示す如く、マウス

表 1 CaCl_2 のマウスに及ぼす毒性

群	CaCl_2 量 (i.p.)	死亡数/例数	備考
1	50 mg	5/5	3 分以内 全例死亡
2	25 mg	5/5	10 分以内 全例死亡
3	5 mg	0/5	
4	0.5 mg	0/5	

(12 g) 1 匹当り 5.0 mg 以下の腹腔内注射によつては死亡する例を全く見なかつた。一方先に示したように $64\mu\text{c/kg}$ の ^{45}Ca 中の Ca 量は 0.1564 mg であり、この量に相当する Ca を含む CaCl_2 量は 0.434 mg ($0.1564 \times \frac{110.91}{40.08} = 0.434\text{ mg}$) に相当することから考えて、マウスに見られた毒性は ^{45}Ca 中に含まれる Ca による毒性とは考えられず、放射性同位元素その

ものによる影響と思われる結果を得た。そこで実験には ^{45}Ca の $32\mu\text{c}$ 、 $16\mu\text{c}$ 、及び $8\mu\text{c/kg}$ を用いることとした。

B. ^{45}Ca の投与がマウスの白血球数及び血液像に及ぼす影響

^{45}Ca を各群 5 匹以上のマウスに $16\mu\text{c/kg}$ の割で腹腔内に注射し、注射前、及び注射後、1 週、2 週、3 週及び 4 週後に於ける白血球数及び血液像の変動を白血球百分率から比較検討した。実験結果は表 2~5 並に図 1~2 に示す如く、白血球数に於ては、対照無処

図 1 放射性同位元素 ^{45}Ca 投与によるマウスの白血球数の変動

図 2 放射性同位元素 ^{45}Ca 投与によるマウスの白血球数の変動

置群のマウスに比し ^{45}Ca 投与群でも左程の差を認めず、注射 4 週後に稍低下の傾向が見られるが著変は認められない。血液像所見の上からみても、対照群 ^{45}Ca 投与群の間に特記す可き変動は認められない。

II. 本実験

(1) マウスの感染発症に及ぼす ^{45}Ca の影響

A. ^{45}Ca 処置後 10 日目に腸チフス菌感染を行つた

表 2 ^{45}Ca がマウスの白血球数並に白血球像に及ぼす影響
(対照健常マウス群)

動物番号		第一回検査	1 週間後	2 週間後	3 週間後	4 週間後
No. 1	白血球数	10,600	11,600	12,100	14,900	14,200
	好酸球	0	0	0	0	0
	好中球	14	13	22	16	24
	単球	0	0	1	0	0
	好塩基球	0	0	0	0	0
	淋巴球	86	87	77	74	76
No. 2	白血球数	9,000	9,800	10,000	12,100	14,600
	好酸球	0	0	0	0	0
	好中球	35	32	34	19	24
	単球	2	0	2	0	0
	好塩基球	0	0	0	0	0
	淋巴球	63	68	64	81	76
No. 3	白血球数	9,800	13,200	12,100	13,100	12,900
	好酸球	0	0	1	0	0
	好中球	7	0	3	5	2
	単球	0	0	1	1	1
	好塩基球	0	0	0	0	0
	淋巴球	93	100	95	94	97
No. 4	白血球数	10,000	11,000	13,900	16,000	21,600
	好酸球	0	0	0	0	0
	好中球	25	17	23	15	23
	単球	1	1	1	0	2
	好塩基球	0	0	0	0	0
	淋巴球	74	82	76	85	75
No. 5	白血球数	11,600	11,800	14,200	16,200	19,800
	好酸球	0	0	0	0	0
	好中球	14	18	16	21	26
	単球	0	0	1	4	0
	好塩基球	0	0	0	0	0
	淋巴球	86	82	83	75	74

場合。

^{45}Ca の投与によつて、宿主の菌感染に対する感受性が増大するか、或は減弱するかに就て検討した。即ち 1 群 5 匹づつの対照無処置群マウス、及び ^{45}Ca を $8\mu\text{c}$ 、 $16\mu\text{c}$ 、及び $32\mu\text{c/kg}$ の割で腹腔内に 1 週間間隔で 2 回注射した ^{45}Ca 処置群マウスに、腸チフス菌 (T-63) を腹腔内に注射し、各群マウスの LD_{50} を測定した。

実験結果は表 6 に示す如く、対照無処置マウスでは、 10^{-6}mg で全例死亡し、 10^{-7}mg で 5 例中 4 例が 2 日以内に死亡、 10^{-8}mg では 5 例中 1 例が死亡した。即ち LD_{50} が $10^{-7.49}\text{mg}$ を示した。然るに ^{45}Ca 投与群について言えば、 10^{-6}mg で $8\mu\text{c}$ 処置群では 5 例中 4 例、 $16\mu\text{c}$ 処置群では 5 例中 4 例、 $32\mu\text{c}$ 処置群では 4 例中 4 例が死亡したが、死亡例の大部分は菌投与後 2～3 日後に死亡したのである。更に 10^{-7}mg 或は 10^{-8}mg の投与によつては ^{45}Ca 処置群には殆ど死亡したものをみない。即ち LD_{50} からすると $8\mu\text{c}$ の ^{45}Ca 処置群では $10^{-6.38}\text{mg}$ 、 $16\mu\text{c}$ 処置群では $10^{-6.49}\text{mg}$ 、 $32\mu\text{c}$ 処置群では $10^{-6.66}\text{mg}$ であつた。換言すれば ^{45}Ca 処置群マウスの方が、対照無処置群マウスの LD_{50} より寧ろ大きいことが分る。即ち ^{45}Ca の処置により腸チフス菌感染に対する抵抗性が寧ろ高まる傾向を示しているものと言えよう。

B. ^{45}Ca 処置後 77 日目に腸チフス菌感染を行つた場

表 3 ^{45}Ca がマウスの白血球数並に白血球像に及ぼす影響
(^{45}Ca 1 回投与マウス群)

動物 番号		^{45}Ca 注射前	^{45}Ca 16 $\mu\text{c}/$ kg 注射後 1 週間目	^{45}Ca 16 $\mu\text{c}/$ kg 注射後 2 週間目	動物 番号	^{45}Ca 注射前	^{45}Ca 32 $\mu\text{c}/$ kg 注射後 1 週間目	^{45}Ca 32 $\mu\text{c}/$ kg 注射後 3 週間目
No. 26	白血球数	9,200	15,200	19,800	No. 31	9,200	16,200	14,000
	好酸球	0	0	0		0	0	0
	好中球	28	14	24		30	19	33
	単球	1	1	1		1	5	4
	好塩基球	0	0	0		0	0	0
	淋巴球	71	85	75		69	76	63
No. 27	白血球数	9,400	13,600	12,800	No. 32	8,400	11,600	15,600
	好酸球	0	0	0		0	0	1
	好中球	21	5	9		26	12	21
	単球	3	2	1		4	3	1
	好塩基球	0	0	0		0	0	0
	淋巴球	76	93	90		70	85	77
No. 28	白血球数	8,000	13,000	15,200	No. 33	7,000	14,000	13,600
	好酸球	0	0	0		1	0	0
	好中球	22	4	15		16	13	15
	単球	6	0	4		2	4	2
	好塩基球	0	0	0		0	0	0
	淋巴球	72	96	81		81	83	83
No. 29	白血球数	10,000	11,600	14,200	No. 34	9,200	死	死
	好酸球	0	0	0		0		
	好中球	23	18	26		23		
	単球	6	3	2		4		
	好塩基球	0	0	0		0		
	淋巴球	71	79	72		73		
No. 30	白血球数	8,600	14,600	14,800	No. 35	11,000	10,800	16,200
	好酸球	0	0	0		0	0	0
	好中球	13	16	9		31	31	26
	単球	2	4	4		3	1	0
	好酸基球	0	0	0		0	0	0
	淋巴球	85	80	87		66	68	74

表 4 ^{45}Ca がマウスの白血球数並に白血球像に及ぼす影響
(^{45}Ca 2 回投与マウス群)

動物 番号		Ca 45 注 射前	^{45}Ca 16 μ c/kg 注 射後 1 週間後	^{45}Ca 16 μ c/kg (再 に第二 回注射) 2 週間後	3 週間後	動物 番号	^{45}Ca 注 射前	^{45}Ca 32 μ c/kg 注 射後 1 週間後	^{45}Ca 32 μ c/kg (再 に第二 回注射) 2 週間後	3 週間後
No. 16	白血球数	9,200	14,600	18,400	20,000	No. 21	10,000	14,200	13,000	16,000
	好酸球	0	0	0	0		0	0	0	0
	好中球	10	16	9	7		10	12	13	16
	単球	0	1	0	3		0	1	2	1
	好塩基球	0	0	0	0		0	0	0	0
	淋巴球	90	83	91	90		90	87	85	83
No. 17	白血球数	11,000	10,000	14,000	11,400	No. 22	11,000	12,400	8,000	13,000
	好酸球	0	0	0	0		0	0	0	0
	好中球	13	9	8	15		16	16	17	15
	単球	2	0	3	3		0	2	0	1
	好塩基球	0	0	0	0		0	0	0	0
	淋巴球	85	91	89	82		84	82	83	84
No. 18	白血球数	14,000	13,200	16,800	18,600	No. 23	14,900	19,600	22,000	22,000
	好酸球	0	0	0	0		0	0	0	0
	好中球	17	6	11	22		13	18	11	16
	単球	1	1	0	2		3	7	5	5
	好塩基球	0	0	0	0		0	0	0	0
	淋巴球	82	93	89	76		84	75	84	79
No. 19	白血球数	14,600	19,200	21,000	21,200	No. 24	7,200	14,800	16,200	17,000
	好酸球	0	0	0	0		0	0	0	0
	好中球	3	13	3	5		26	29	35	25
	単球	3	1	0	3		1	0	3	2
	好塩基球	0	0	0	0		0	0	0	0
	淋巴球	94	86	97	92		73	71	62	73
No. 20	白血球数	10,600	12,900	14,900	15,000	No. 25	9,600	死	死	死
	好酸球	0	0	0	0		0			
	好中球	23	33	24	12		26			
	単球	1	4	2	1		4			
	好塩基球	0	0	0	0		0			
	淋巴球	76	63	74	87		70			

表 5 ^{45}Ca がマウスの白血球数並に白血球像 (^{45}Ca 3 回投与群) に及ぼす影響

動物番号		Ca 45 注 射前	^{45}Ca 16 μ c/kg 注 射後 1 週間後	^{45}Ca 16 μ c/kg (再 に第三 回注 射) 2 週間後	^{45}Ca 16 μ c/kg (再 に第三 回注 射) 3 週間後	4 週間後	動物 番号	^{45}Ca 注 射前	^{45}Ca 32 μ c/kg 注 射後 1 週間後	^{45}Ca 32 μ c/kg (再 に第三 回注 射) 2 週間後	^{45}Ca 32 μ c/kg (再 に第三 回注 射) 3 週間後	4 週間後
No. 6	白血球数	9,800	10,600	15,800	18,000	16,000	No. 11	11,600	12,600	14,400	21,200	1,800
	好酸球	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	好中球	39	35	24	5	5		24	26	17	4	5
	単球	2	3	1	2	2		5	3	2	3	1
	好塩基球	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	淋巴球	59	72	75	93	93		71	71	81	93	94
No. 7	白血球数	12,690	17,600	19,400	19,800	16,400	No. 12	8,900	9,600	11,600	17,000	16,000
	好酸球	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	好中球	6	13	30	6	4		37	35	21	10	13
	単球	2	3	2	4	1		2	3	3	1	4
	好塩基球	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	淋巴球	92	84	68	90	95		61	62	76	89	83
No. 8	白血球数	10,100	12,600	14,000	14,300	14,900	No. 13	12,600	11,900	13,900	16,700	16,000
	好酸球	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	好中球	12	13	22	11	13		3	6	7	10	3
	単球	4	6	3	7	3		2	7	8	2	4
	好塩基球	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0
	淋巴球	84	81	75	82	84		95	87	85	88	93
No. 9	白血球数	8,200	9,600	11,200	13,600	12,900	No. 14	14,200	12,900	死	死	死
	好酸球	0	0	0	0	0		0	0			
	好中球	4	11	7	16	9		33	23			
	単球	2	4	2	4	6		7	10			
	好塩基球	0	0	0	0	0		0	0			
	淋巴球	94	85	91	80	85		60	67			
No. 10	白血球数	11,800	9,400	死	死	死	No. 15	11,600	11,800	14,400	13,900	15,000
	好酸球	0	0					0	0	0	0	0
	好中球	33	46					44	41	56	35	51
	単球	4	2					1	0	0	2	0
	好塩基球	0	0					0	0	0	0	0
	淋巴球	63	52					55	59	44	63	49

合、表7は、同様な実験であるが ^{45}Ca を1週間間隔で2回腹腔内に注射してから77日目に腸チフス菌 (T-63) を以て攻撃したもので、 ^{45}Ca の投与後放射能による生体の反応性、或は機能の変調が起り得るに充分な期間をおいた。即ち、表7に示すように、対照無処置群では 10^{-7}mg で菌投与後24時間以内に全例死亡し、 10^{-6}mg でも5例中4例が24時間以内に死亡、 10^{-7}mg では5例中3例が死亡した。然るに ^{45}Ca $8\mu\text{c}$ の処置群では、 10^{-6}mg で5例中3例、 10^{-7}mg で5例中1例死亡。LD₅₀ は $10^{-6.30}\text{mg}$ を示し、 $16\mu\text{c}$ 、及び $32\mu\text{c}$ 処置群では 10^{-6}mg では全例死亡したが 10^{-7}mg では $16\mu\text{c}$ 処置群で5例中1例、 $32\mu\text{c}$ 処置群で5例中2例が死亡した。これらの実験結果から LD₅₀ を計算すると $16\mu\text{c}$ 処置群では $10^{-6.86}\text{mg}$ 、 $32\mu\text{c}$ 処置群では 10^{-7}mg を示し、対照無処置群の LD₅₀ が $10^{-7.36}\text{mg}$ と較べると、 ^{45}Ca 処置群の方が対照無処置群より、腸チフス菌感染に対する抵抗性が僅かではあるが高まっているように思われる。

C. ^{45}Ca 処置後3ヶ月以後に腸チフス菌感染を行つた場合。表8に示す如く、 ^{45}Ca を $8\mu\text{c}$ 、 $16\mu\text{c}$ 、及び $32\mu\text{c/kg}$ の割で1週間間隔で2回腹腔内に注射し、3ヶ月以後に腸チフス菌 (T-63) を接種した所、無処置

対照群マウスでは、 10^{-7}mg 以上を接種されたものは全例死亡した。然るに ^{45}Ca 処置群マウスではその100倍菌量、即ち 10^{-5}mg を接種されたものの中で死亡した例はなく、 10^{-4}mg を接種されたものの中にすら、僅か1例の死亡例をみに過ぎなかつた。以上の実験結果は、明かに ^{45}Ca の処置後3ヶ月以上の充分

表6 マウスの腸チフス菌感染に及ぼす ^{45}Ca の影響

マウス群		攻撃菌量 (mg)	実験例					死亡数/例数	LD ₅₀ (mg)
対照無処置群		10^{-5}	D ₁ **	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	5/5	$10^{-7.49}$
		10^{-6}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	D ₂	5/5	
		10^{-7}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₂	S	4/5	
		10^{-8}	D ₁	S	S	S	S	1/5	
^{45}Ca 投与群*	8 μc (1週間 間隔2回 腹腔内注射)	10^{-6}	D ₁	D ₁	D ₂	D ₂	S	4/5	$10^{-6.38}$
		10^{-7}	S	S	S	S	S	0/5	
		10^{-8}	S	S	S	S	S	0/5	
	16 μc (1週間 間隔2回 腹腔内注射)	10^{-6}	D ₁	D ₂	D ₂	D ₃	S	4/5	$10^{-6.49}$
		10^{-7}	D ₁	S	S	S	S	1/5	
		10^{-8}	S	S	S	S	S	0/5	
	32 μc (1週間 間隔2回 腹腔内注射)	10^{-6}	D ₁	D ₂	D ₂	D ₃		4/4	$10^{-6.66}$
		10^{-7}	S	S	S			0/3	
		10^{-8}	D ₁	S	S	S		1/4	

* ^{45}Ca を1週間間隔で2回腹腔内注射し10日後に腸チフス菌 (T-63) を以て攻撃す。

** D₁ は菌接種後1日目に死亡したことを意味し、Sは生存を表わす。

表7 マウスの腸チフス菌感染に及ぼす ^{45}Ca の影響

マウス群		攻撃菌量 (mg)	実験例					死亡数/例数	LD ₅₀ (mg)
対照無処置群		10^{-5}	D ₁ **	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	5/5	$10^{-7.36}$
		10^{-6}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	S	4/5	
		10^{-7}	D ₁	D ₁	D ₁	S ₂	S	3/5	
		10^{-8}	D ₁	S	S	S	S	1/5	
^{45}Ca 処置群*	8 μc (1週間 間隔2回 腹腔内注射)	10^{-6}	D ₁	D ₁	D ₁	S	S	3/5	$10^{-6.30}$
		10^{-7}	D ₁	S	S	S	S	1/5	
		10^{-8}	S	S	S	S	S	0/5	
	16 μc (1週間 間隔2回 腹腔内注射)	10^{-6}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	5/5	$10^{-6.86}$
		10^{-7}	D ₁	S	S	S	S	1/5	
		10^{-8}	D ₁	D ₁	S	S	S	2/5	
	32 μc (1週間 間隔2回 腹腔内注射)	10^{-6}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	D ₂	5/5	$10^{-7.0}$
		10^{-7}	D ₁	D ₁	S	S	S	2/5	
		10^{-8}	D ₁	S	S	S	S	1/5	

* ^{45}Ca を1週間間隔にて2回腹腔内注射し、77日後に腸チフス菌 (T-63) を以て攻撃す。

** D₁ は菌接種後1日目に死亡したことを意味しSは生存を表わす。

な期間をおくことによつて、感染に対する抵抗性を ^{45}Ca 処置マウスが獲得したものと考へてよからう。

D. ^{45}Ca 処置後100日目に溶連菌感染を起させた場合。

^{45}Ca を $8\mu\text{c}$ 、 $16\mu\text{c}$ 、及び $32\mu\text{c/kg}$ の割で1週間間隔で2回腹腔内に注射した後、100日目に溶連菌、

表 8 ^{45}Ca 処置 3 ヶ月以後に腸チフス菌感染を行つた場合

マウス群		攻撃菌量 (T-63) (mg)	実 験 例					死亡数/例数
対照無処置群		10^{-10}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-9}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	5/5
		10^{-8}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	D ₂	5/5
		10^{-7}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	5/5
		10^{-6}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	D ₁	5/5
^{45}Ca 処置群	8 μc	10^{-7}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-6}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-5}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-4}	S	S	S	S	S	0/5
	16 μc	10^{-7}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-6}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-5}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-4}	D ₁	S	S	S	S	1/5
	32 μc	10^{-7}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-6}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-5}	S	S	S	S	S	0/5
		10^{-4}	S	S	S	S	S	0/5

表 9 マウスの溶連菌感染に及ぼす ^{45}Ca の影響

マウス群		攻撃菌量 (group A strept. T 12)	実 験 例					死亡数/ 例数	LD ₅₀ (mg)
対照無処置群		10^{-7}	D ₂	S	S	S ₁	S	1/5	$10^{-5.5}$
		10^{-6}	D ₃	S ₁	S	S	S	1/5	
		10^{-5}	D ₂	D ₂	D ₂	D ₂	S	4/5	
		10^{-4}	D ₁	D ₁	D ₁	D ₂	D ₂	5/5	
^{45}Ca 処置群	8 μc	10^{-7}	S	S	S	S	S	0/5	$10^{-3.73}$
		10^{-6}	D ₂	D ₂	S	S	S	2/5	
		10^{-5}	D ₂	D ₂	S	S	S	2/5	
		10^{-4}	D ₁	D ₂	S	S	S	2/5	
		10^{-3}	D ₁	D ₂	D ₂	D ₃	D ₃	5/5	
	16 μc	10^{-7}	S	S	S	S	S	0/5	$10^{-4.5}$
		10^{-6}	S	S	S	S	S	0/5	
		10^{-5}	D ₂	S	S	S	S	1/5	
		10^{-4}	D ₂	D ₂	D ₂	D ₂	S	4/5	
		10^{-3}							
	32 μc	10^{-7}	D ₃	S	S	S	S	1/5	$10^{-4.25}$
		10^{-6}	S	S	S	S	S	0/5	
		10^{-5}	D ₂	S	S	S	S	1/5	
		10^{-4}	D ₂	D ₂	D ₂	S	S	3/5	
		10^{-3}	D ₂	D ₂	D ₃	D ₃	S	4/5	

group A Streptococcus type 12 (T-12) を接種した。
実験結果は表 9 に示す如く、対照処置群では、 10^{-4}mg

す如く、ワクチン無処置の対照群に於ける LD₅₀ は、
 $10^{-6.76}\text{mg}$ であつたが、ワクチン処置群では、 $10\sim 20$

では全例死亡し、 10^{-5}mg でも
5 例中 4 例死亡した。然るに
 ^{45}Ca の $8\mu\text{c}$ 処置群では 10^{-3}mg
では全例、 10^{-4}mg では 5 例
中 2 例が死亡したに過ぎない。
又 $16\mu\text{c}$ の ^{45}Ca 処置群では
 10^{-4}mg で 5 例中 4 例、 10^{-5}mg
で 5 例中 1 例が死亡した。更に
 $32\mu\text{c}$ 処置群では、 10^{-3}mg で
5 例中 4 例が、 10^{-4}mg で 5 例
中 3 例が死亡した。これらの実
験結果から計算すると、対照無
処置群では LD₅₀ $10^{-5.5}\text{mg}$ であ
つたが、 ^{45}Ca 処置群マウスでは
LD₅₀ が $10^{-3.73}\sim 10^{-4.25}\text{mg}$ を示
し、前述腸チフス菌の場合と同
様菌感染に対する抵抗性を多少
とも増大しているように観察さ
れた。

II. ワクチン効果に及ぼす ^{45}Ca の影響。

X-線の照射が抗体産生を抑制
することが従来より認められ
ているし、また ^{45}Ca の注射に
よつてアナフィラキシー性腸管
反応が起り難くなるとの松永⁶⁾
の報告からしても、 ^{45}Ca の前処
置がワクチン接種による抗体産
生を抑制し、ワクチン効果を寧ろ
減弱せしめるであろうことが
充分予想される。そこで私は今
回腸チフスワクチンの効果に及
ぼす ^{45}Ca 影響について検討し
た。

1) 予備実験

第 1 に予備実験として、供試
腸チフスワクチンを $10\times\sim 50\times$
迄段階希釈し、その各 0.5ml
をマウスの腹腔内に注射し、10
日後に腸チフス菌 (T-63) を各
種濃度菌量を以てマウスを攻撃
し、LD₅₀ を求めた所表 10 に示

倍希釈ワクチン処置群ではLD₅₀が10^{-3.5}mg, 30~40 倍希釈ワクチン処置群ではLD₅₀が10^{-3.74}mgを示した。即ちこの程度の希釈された腸チフス菌の接種により、マウスは大略1,000 倍菌量の腸チフス菌の攻撃に耐え得るものなることを示している。そこで以下の実験には、国家検定基準に従うワクチン濃度の20 倍希釈液を用いることとした。

2) 本実験

次に⁴⁵Caを8μc, 16μc, 及び32μcの割で1週間間隔で2回腹腔内に接種し,⁴⁵Caの第2回注射後、直に腸チフスワクチンの20 倍希釈液0.5mlを腹腔内に注射し、ワクチン接種後10日目に腸チフス菌(T-63)を以て攻撃し、LD₅₀菌量を求めた。実験結果は、表11に示す如く、⁴⁵Caの無処置対照群では腸チフス菌の10⁻⁴mg菌以下の接種によつては死亡したものはなく、10⁻³mg菌の接種によつて5例中僅に1例の感染死をみたに止まる。然るに⁴⁵Ca処置群では何れに於ても、LD₅₀が10^{-3.16}~10^{-3.62}mgの間にあつた。即ち⁴⁵Caをkg当り8μcの割で注射されたマウス群では、10⁻³mg菌の接種によつて4例中3例が、10⁻⁴mg菌では3例中1例が死亡した。又16μc及び32μcの処置群マウスに於ても、10⁻³mg菌の接種によつて各々5例中3例及び4例中4例の死亡例を示した。以上の実験結果からみると、⁴⁵Ca無処置の対照群(対照II)に比し、⁴⁵Ca処置群の方が寧ろ感染死を来し易いという結果を示している。

表 10 腸チフス・ワクチンのマウスの腸チフス感染に対する感染防禦効果(ワクチン量と攻撃菌量との関係)

接種腸チフスワクチン量 (0.5 ml 腹腔内)	攻撃菌量 (T-63) (mg)	実 験 例	死亡数/ 例数	LD ₅₀ (mg)
対 照 (無処置)	10 ⁻⁴	D ₁ D ₁ D ₁ D ₁	4/4	10 ^{-6.76}
	10 ⁻⁵	D ₁ D ₁ D ₂ D ₂	4/4	
	10 ⁻⁶	D ₁ D ₁ D ₁ S	3/4	
	10 ⁻⁷	D ₁ D ₁ S S	2/4	
	10 ⁻⁸	S S S S	1/4	
10 ×	10 ⁻³	D ₁ D ₁ D ₁	3/3	10 ^{-3.5}
	10 ⁻⁴	S S S	0/3	
	10 ⁻⁵	S S S	0/3	
20 ×	10 ⁻³	D ₁ D ₁ D ₂	3/3	10 ^{-3.5}
	10 ⁻⁴	S S S	0/3	
	10 ⁻⁵	S S S	0/3	
30 ×	10 ⁻³	D ₁ D ₁ D ₁	3/3	10 ^{-3.74}
	10 ⁻⁴	D ₂ S S	1/3	
	10 ⁻⁵	S S S S	0/4	
40 ×	10 ⁻³	D ₁ D ₁ D ₂	3/3	10 ^{-3.74}
	10 ⁻⁴	D ₁ S S	1/3	
	10 ⁻⁵	S S S S	0/4	
50 ×	10 ⁻³	D ₁ D ₁ S	2/3	10 ⁻⁴
	10 ⁻⁴	D ₁ D ₁ S	2/3	
	10 ⁻⁵	S S S	0/3	

表 11 ⁴⁵Ca の腸チフス・ワクチンの効果に及ぼす影響(注射後、10 日目に腸チフス菌を以て攻撃した場合)

マウス群	ワクチン接種	攻撃菌量 (mg)	実 験 例	死亡数/ 例数	LD ₅₀ (mg)
対 照 I (⁴⁵ Ca 無処置)	接種せず	10 ⁻⁵	D ₁ D ₁ D ₁ D ₁ D ₁	5/5	10 ^{-7.49}
		10 ⁻⁶	D ₁ D ₁ D ₁ D ₁ D ₂	5/5	
		10 ⁻⁷	D ₁ D ₁ D ₁ D ₂ S	4/5	
		10 ⁻⁸	D ₁ S S S S	1/5	
対 照 II (⁴⁵ Ca 無処置) (×20 0.5ml)	接 種	10 ⁻³	D ₁ S S S S	1/5	>10 ⁻³
		10 ⁻⁴	S S S S S	0/5	
		10 ⁻⁵	S S S S S	0/5	
⁴⁵ Ca 処 置 群	8 μc "	10 ⁻³	D ₂ D ₂ D ₂ S	3/4	10 ^{-3.54}
		10 ⁻⁴	D ₂ S S	1/3	
		10 ⁻⁵	S S S S	0/4	
	16 μc "	10 ⁻³	D ₂ D ₂ D ₂ S S	3/5	10 ^{-3.16}
		10 ⁻⁴	S S S S S	0/5	
		10 ⁻⁵	S S S S S	0/5	
	32 μc "	10 ⁻³	D ₁ D ₂ D ₂ D ₂	4/4	10 ^{-3.62}
		10 ⁻⁴	S S S S	0/4	
		10 ⁻⁵	S S S S	0/4	

表 12 ^{45}Ca が腸チフス・ワクチンの感染防禦効果に及ぼす影響
(注射後, 77 日目に腸チフス菌を以て攻撃した場合)

マウス群	ワクチン接種	攻撃菌量 (mg)	実 験 例	死亡数/ 例数	LD ₅₀ (mg)
対 照 I (^{45}Ca 無処置)	接種せず	10^{-5}	D ₁ D ₁ D ₁ D ₁ D ₁	5/5	$10^{-7.36}$
		10^{-6}	D ₁ D ₁ D ₁ D ₁ S	4/5	
		10^{-7}	D ₁ D ₁ D ₁ D ₂ S	4/5	
		10^{-8}	D S S S S	1/5	
対 照 II (^{45}Ca 無処置)	接 種 ($20 \times 0.5\text{ml}$)	10^{-3}	D ₁ S S S	1/4	$>10^{-3}$
		10^{-4}	S S S S	0/4	
		10^{-5}	S S S S	0/4	
^{45}Ca 処 置 群	8 μc "	10^{-3}	D ₁ D ₁ D ₁ D ₁ D ₁	5/5	$10^{-4.23}$
		10^{-4}	D ₁ D ₁ S S S	2/5	
		10^{-5}	D ₁ D ₁ S S S	2/5	
	16 μc "	10^{-2}	D ₁ D ₁ D ₁ D ₂ S S	4/6	$10^{-3.23}$
		10^{-4}	S S S S S S	0/6	
		10^{-5}	S S S S S S	0/6	
	32 μc "	10^{-3}	D ₁ D ₁ D ₁ D ₁ S	4/5	$10^{-3.49}$
		10^{-4}	D ₁ S S S S	1/5	
		10^{-5}	S S S S S	0/5	

表 12 は, 前実験と略々同様なことを繰り返したものであるが, この場合は ^{45}Ca 処置後 77 日目に腸チフス菌を以て攻撃した例を示している。即ち ^{45}Ca を 8 μc , 16 μc 及び 32 $\mu\text{c}/\text{kg}$ の割でマウスの腹腔内に注射してから, 66 日目に腸チフス菌の 20 倍稀釈液 0.5 ml を腹腔内に注射し, 更にワクチン接種後 10 日目に腸チフス菌 (T-63) を以て攻撃した。実験結果は表 12 に示す如く ^{45}Ca 無処置群の中, 対照 I のワクチン未接種群の LD₅₀ は $10^{-7.36}\text{mg}$ であったが, 対照 II のワクチン接種群では, 10^{-3}mg 菌を投与された 4 例中 1 例が死亡したのみで, 10^{-4}mg 以下では全例生存した。然るに ^{45}Ca 処置群マウスでは, LD₅₀ が $10^{-1.21} \sim 10^{-3.23}\text{mg}$ を示し, 前実験同様 ^{45}Ca 処置群の方が寧ろ逆に菌感染に対する感受性を亢進しているという結果を示した。この事実は前実験の結果から ^{45}Ca の処置が菌感染に対する抵抗性を高める事実と考え合せて, ^{45}Ca による生体前処置は, ワクチン効果を寧ろ減殺しているものとい得よう。この事実は放射線が抗体産生を抑制するという報告を裏付けるものとい得よう。

総括並に考按

X-線を始め種々な放射能が生体の諸種な機能に影響を及ぼすことは周知の事実である。免疫血清学上に於ける放射線の及ぼす影響についての研究としては,

第一に抗体産生に及ぼす影響が検討され^{1)~5)}, 更に進んで生体の機能に及ぼす影響^{6)~7)}, 或は感染発症に及ぼす影響についての研究^{8)~13)} がなされたが, それらの大部分は X-線について行われたものである。

即ち感染発症に及ぼす影響の研究としては Gowen & Zelle¹⁰⁾ (1945), Shechmeister et al¹¹⁾ (1953) 等は X-線照射によつてネズミチフス菌, 或は腸炎菌感染に対する宿主の感受性が増大すると言ひ, 茅野¹²⁾ (1956) も腸炎菌について同じような成績を報じている。又遠藤⁹⁾ (1958) はブルセラ菌に対するマウスの感染性が X-線照射によつて却つて低下すると述べている。また Singer¹³⁾ (1953) 等も, 赤血球

寄生性の *Plasmodium berghei* の感染が放射線の照射によつて Parasitemia を却つて減弱すると報告している。

斯様に放射線と宿主の感染抵抗力の問題にはなお疑義がある所であり, 而かも従来の大部分の研究が X-線との関係についてののみ行われて来た点に鑑み, 私は放射性同位元素がマウスの感染発症或は感染防禦抗体の産生に如何なる影響を与えるかについて検討した。従来放射性同位元素を生体の機能変調, 或は抗体産生に及ぼす影響という意味で用いた実験は極めて少い。僅に Stoner⁷⁾ (1954) が ^{60}Co をマウスに照射した場合にアナフィラキシー性が強くなつたという報告と, 松永⁶⁾ (1957) が ^{45}Ca を投与したモルモットの腸管のアナフィラキシー性が起り難くなつたという報告をみるにとどまる。

所で今回は斯様な目的を満足する放射性同位元素として, 半減期が比較的長く而かも生体内に長く存在する ^{45}Ca を使用した。

先ず予備実験として, ^{45}Ca のマウスに及ぼす毒性を検討したが, マウスに kg 当り 8 μc , 16 μc , 及び 32 μc を腹腔内注射しても何等の症状は認められなかつたが, 64 μc を注射した群では全例死亡した。一方 CaCl_2 によるマウスの毒性試験の成績と, ^{45}Ca 64 $\mu\text{c}/\text{kg}$ 中に含まれる CaCl_2 の計算量から考えて, 64 μc

/kg の ^{45}Ca により齎された毒性は、 CaCl_2 によるものではなく、その中に含まれる放射性同位元素そのものに由来することが想像される。この予備実験量に従い、マウスに ^{45}Ca を $8\mu\text{c}$, $16\mu\text{c}$, 及び $32\mu\text{c/kg}$ の割で1週間間隔で2回或は3回注射し、白血球数、白血球像に及ぼす影響を検べたが、斯様な量の範囲内では著変を与えないことも明かにされた。

そこで次にマウスに ^{45}Ca を $8\sim 32\mu\text{c/kg}$ 宛1週間間隔で2回腹腔内注射し、10日、77日及び100日後に腸チフス菌或は溶連菌の毒力株を以て攻撃し、 ^{45}Ca の投与がマウスの感染発症に対し如何なる影響を与えるかを対照無処置群マウスと比較してみた。マウス各群の LD_{50} からみて、 ^{45}Ca の投与によつて何れの場合も菌感染に対する抵抗性が增強されているような結果を得た。特に ^{45}Ca 投与後3ヶ月以上を経て感染実験を行つた例で最も顕著であつた事実は興味深い。

所で先にも述べたように、放射線の菌感染に与える影響には相反する論があり、X-線を照射されたマウスに於て Gowen¹⁰⁾ 等、Shechmeister 等¹¹⁾ 及び茅野¹²⁾ 等はネズミチフス菌、腸炎菌等の感染性が亢まつたとし、遠藤⁸⁾⁹⁾ は *Brucella* 菌では逆に感染性を低下したという。遠藤⁹⁾ はこの相反する現象を感染菌の宿主細胞に対する寄生性の大小に由来する如く推論しているが、今回の実験結果と比較してみて勿論菌種相違もあるが、放射線の種類の相違も考慮に入れねばなるまい。事実同じく放射性同位元素にしても、Stoner⁷⁾ 等の用いた ^{60}Co の照射はマウスのアナフィラキシー性を増大したのに、松永⁶⁾ は ^{45}Ca がモルモットのアナフィラキシー性反応を抑制したと報告しているからである。

一方第2の実験としては ^{45}Ca のワクチン効果に及ぼす影響を検べた。即ち ^{45}Ca 投与マウスに腸チフスワクチンを接種し、一定期間後に腸チフス菌を以て攻撃し、ワクチンの感染防禦効果に与える ^{45}Ca の影響を検討した。本実験からすると ^{45}Ca の投与が却つてワクチンによる免疫効果を減殺しているという結果になつた。この事実は従来からいわれている放射線の照射が、抗体産生を抑制するという報告³⁾⁴⁾ を裏書きすることにもなる。

結 論

1) マウスに ^{45}Ca を $32\mu\text{c/kg}$ の割で腹腔内に注射しても何等の急性症状は認められない。又 ^{45}Ca を $8\mu\text{c}$, $16\mu\text{c}$, 或は $32\mu\text{c/kg}$ の割で1週間隔で2~3

回腹腔内注射しても、白血球数、血液像所見に認む可き著変はみられない。

2) マウスに ^{45}Ca を $64\mu\text{c/kg}$ の割で腹腔内注射すると死亡するが、その毒作用は ^{45}Ca 中に含まれる CaCl_2 によるものではなく、放射性同位元素そのものによるものと考えられる。

3) ^{45}Ca を以て処置されたマウスは、腸チフス菌及び溶連菌感染に対する抵抗性を稍々増強したように思われる。特に ^{45}Ca 投与後長期間(100日)経過したマウスに於てはこの現象が顕著であつた。

4) ^{45}Ca の投与は、マウスに対する腸パラワクチンの感染防禦効果を減殺する如く思われる。

稿を終るに臨み御指導、御校閱を賜つた恩師中村敬三教授、木村義民助教授に謝意を表わし、終始御援助を惜まれなかつた教室員各位に厚く感謝致します。なお ^{45}Ca を分与下さつた国立予衛生研究所血清部長村田良介博士並に各位に厚く感謝致します。

文 献

- 1) Hekton, L. : J. Infect. Dis., **17**, 415 (1915)
- 2) Graham, J.B., Graham, R.M., Neri, L. & Wright, K.A. : Enhanced Production of Antibodies by local Irradiation, J. Immunol., **76**, 103 (1955)
- 3) Graham, J.B. & Lesko-Wital, S. : Enhanced Production of Antibodies by Local Irradiation J. Immunol., **76**, 110 (1956)
- 4) Dixon, F.J., Talmage, D.W. & Mauer, P.H. : Radiosensitive and Radioresistant phases in the Antibody Response, J. Immunol., **68**, 693 (1952)
- 5) Cummings, M.M., Hudgins, P.C., Patnode, R.A., & Bersach, S.R. : The Influence of X-Irradiation on the Passive Transfer of Tuberculin Hypersensitivity in the Guinea Pig, J. Immunol., **74**, 142 (1954)
- 6) 松永節男：放射性同位元素 ^{45}Ca のアナフィラキシーに及ぼす影響、アレルギー, **6**(4), 271 (1957)
- 7) Stoner, R.D. & Hale, W.M.M. : J. Immunol., **72**, 419 (1954)
- 8) Endo, T. : Some aspects on the course of brucella infections against X-irradiated mice, Jap. J. Bact., **13** (11), 1047 (1958)
- 9) 遠藤武：X線全身照射がマウスのブルセラ感染にあたえる影響について、特に腸炎感染における所見との比較について、日本細菌学雑誌, **13**, (11), 1047 (1958)
- 10) Gowen, J.W. & Zelle, M.R. : J. Inf. Dis., **77**, 85-91 (1945)
- 11) Shechmeister, I.L., Paulission, L.T. & Fischman, M. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **83**, 205 (1953)
- 12) 茅野秀孝：日本細菌学雑誌, **11**, 719 (1956)
- 13) Singer, I. : J. Inf. Dis., **94**, 159 (1953)