炭疽沈降素血清に対するブドウ球菌の反応性

I. 抗血清の作製方法並びにブ球菌の生物学的性状と反応性

高 木 静 雄・馬 場 威

大阪府立大学農学部家畜微生物学教室

〔受付：3月11日・1960年〕

緒 言

従来炭疽沈降素血清（以下炭沈血清）に対する球菌，特にブ球菌の反応性を取扱った研究は極めて少ない様に思う。1911年 Ascoli¹⁾の報告によると炭沈血清に対してブ球菌は全く反応しないと記述している。しかし1954年著者の高木^{2),3)}は抗血清によつてはブ球菌 (staph. aureus 209 p) の反応する場合のあることを認め，特に炭疽免疫原の接種回数の多い場合は極めて強く反応することを報告している。我々はこの問題について更に追究の歩を進めるため今回は先づ抗血清の作製方法によるブ球菌の反応性の差異並びにブ球菌の色調と反応性，及び Goag-ulase 産生能と反応性との関係に就て検討してみたのでその大要を報告する。

実験方法および結果

使用菌株は炭疽菌 Pasteur 第1菌株である。

我々が従来使用して来た免疫原は第1図の〔I〕の方法により作製したもので，即ち Pasteur 第1菌株を18時間寒天培養し，菌をそのまま生理的食塩水に1斜面/1mlの割合に浮遊させ0.5%の割合にホルマリンを加え37°C 48時間感作して殺したものであるが，この免疫原を用い

第1表 Antigen〔I〕による抗血清の反応性 (6回免疫)

抗血清	反応原	Staph. aureus 209 p Extract	Anthrax Extract
		No.	
	12	0	3200
	19	400	3200
	20	400	12800
	21	200	12800
	31	0	25600
	32	0	25600
	33	400	25600
	35	200	25600
	65	400	25600
	115	400	6400
	116	400	12800
	205	0	102400
	206	0	6400

註：1) Extract は dry cell 10 mg/ml 溶液。

2) 数字は反応の力価を示す。

ると次第にその反応性は強くなり第2表に示す結果になつてくる。

然しここで興味あるのは第1図の〔II〕の方法，即ち

第1図 Antigen の 製 法

6回免疫(0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0各斜面接種)によつて得られた抗血清に対する staph. aureus 209 p の反応性は非常に弱い，又は反応しないのである，即ち第1表の如く反応陽性の場合でも400倍迄である。然しながら既報³⁾のようにその接種回数が6回以上にな

TAKAGI Shizuo, BABA Tsuyoshi: Activity of Staphylococcus for Anti-anthrax serum. I. Relationship between activity to anti-serum preparing method and biological characters of Staphylococcus. Department of animal microbiology, Faculty of agriculture, University of Osaka prefecture. —Jap. J. of Bact., 15(9), 871-873, 1960.

第 2 表 Antigen (I) による抗血清の Staph. に対する反応性

免疫回数 抗血清	6 回 接 種 (菌量 5.3 斜面)	9 回 接 種 (菌量 11.85 斜面)	12 回 接 種 (菌量 18.6 斜面)	15 回 接 種 (菌量 26.4 斜面)
No. 33	400	800	1600	6400
No. 35	200	1600	3200	12800

註： 数字は Staph. aur. 209 p 10 mg/ml 溶液倍数稀釈反応価を示す。

第 3 表 Antigen (II) による抗血清の
反応性 (6 回免疫)

抗 血 清	反 応 原	Staph. aur. 209p Extract.	Anthrax Extract
炭疽洗滌菌体と洗滌液を 混合して免疫した抗血清	No. 206	6400	3200
	219	1600	3200
対 炭疽洗滌菌体の みによる抗血清	No. 117	0	0
	118	0	200
	218	0	400
照 炭疽洗滌液のみ による抗血清	No. 123	0	0
	217	0	0

1 斜面/1 ml 乳剤の作製迄は前記免疫原と同様であるがこの乳剤を振盪後遠心沈澱し、得られた洗液と、更に 3 回反覆洗滌した洗菌を再び混合し、0.5%の割合にホルマリンを加えて調製した免疫原を用いて免疫を行うと、単に 6 回接種のみでも第 3 表の如く staph. aureus 209 p に対する反応性は強くなることである。

尚対照の洗滌液のみ、又は洗滌菌のみを用いて免疫を行った場合に staph. は勿論、炭疽菌に対する抗体産生能も非常に弱い又は全然無いのである。ところで以上の様にして作った抗血清に対するブ球菌の反応性は、その性状と何等かの関連性があるか否かを検討する為、先ずブ球菌の色調及び Coagulase との関係に就て調べてみた。

この場合の使用菌株は教室保存標準株 15 株と牛乳より分離した 85 株⁹⁾を用いた。即ち第 4 表の如く黄色株 39 株

は Coagulase と関係なく凡て反応陽性であり、白色株は Coagulase 陽性のもの凡てと Coagulase 陰性のごく少数のものが反応し、レモン色株は凡て陰性であった。尚四連球菌、八連球菌は凡て反応陰性であった。

第 2 図 Antigen (II) による抗炭疽血清と抗ブ球菌血清に対する炭疽菌とブ球菌の寒天拡散法

注：A.S.S. ; {Antigen (II) による抗血清} 混合血清
 {抗ブ球菌血清}

S⊕ ; {Antigen (II) による抗血清に対する
 反応陽性ブ球菌 Extract.}

S⊖ ; { " " " " "
 反応陰性ブ球菌 Extract.}

A ; Anthrax Extract.

第 4 表 Antigen (II) による抗血清に対するブ球菌の反応性

反 応 原 抗 血 清	黄 色 39 株		発 色 34 株		レモン色 27 株	四、八連球 33 株
	Coag. +25	Coag. -14	Coag. + 2	Coag. -32	Coag. -27	Coag. -33
No. 206	+ 5 卅~卅20	+ 8 卅~卅6	卅 2	+~卅 2 - 30	- 27	- 33

注：1) 反応原は凡て乾燥菌体 10 mg/ml 溶液。

2) +~卅は反応の強さの程度を示す。

次に其他の生物学的性状と反応性との関係に就ても調べてみたが何等関連性が認められなかった。

又炭疽菌とブ球菌反応陽性株及び陰性株に就て寒天拡散法による反応帯の現れ方を見ると第2図の如くて、炭疽菌、ブ球菌に特有なものの外に両者に共通な連続した帯の現れが見られ、明らかに共通抗原の存在が認められた。

考察及び総括

何故炭疽菌を洗滌して用うとブ球菌に反応する抗体産生が増強されるかは甚だ興味ある問題であるが、一つの考え方として炭疽菌体の表面物質中にはブ球菌反応性抗体産生促進物質が存在するが、そのものの作用は培養した菌体表面に附着した自然の状態のままで抑えられる様な別の物質で菌体が被われていて、洗滌するとそのものが除去される為に抗体産生がよくなるのではなからうかということである。菌体から表面物質を除去すればブ球菌に反応する抗体産生の阻害は認められず、又表面物質無くしては抗体産生は認められない。即ち洗滌菌体に表面物質を加えて初めて抗体産生能が増強されるのである。いずれにしてもこの点に関しては次の研究に待ちたい。以上を要約すれば、

1) Ascoli 等の述べている如と異り抗炭疽沈降素血清に対してブ球菌の反応性のあることが認められ、その反応の強さは炭沈血清を作成する時の免疫原の作り方により可成りの差異がある事が認められた。

2) 次にその反応性とブ球菌の性状との関連性を見ると、

(a) 黄色株は Coagulase 産生能の有無に拘らず凡て陽性反応を示し、レモン色株、四連球菌、八連球菌には反応するものがなかった。

(b) Coagulase 陽性株は黄色株、白色株に関係なく凡て反応陽性を示した。

(c) 他の生物学的性状には反応性と関連せしめる様なものがなかった。

3) 寒天拡散法において炭疽菌とブ球菌の両者に明らかに共通抗原の存在が認められた。

文 献

- 1) Ascoli, A.: Zbl. Bakt., I. Abt., Orig., 58, 63, 1911.
- 2) 高木静雄: 日本細菌学雑誌, 9(10), 885, 1954.
- 3) 高木静雄: 日本細菌学雑誌, 9(12), 1063, 1954.
- 4) 高木, 尾藤, 広直, 馬場: 日本獣医学雑誌, 21 (6), 5, 1959 (学会抄録).