Bordetella pertussis Vaccine の Topics

大阪市立大学名誉教授

桑 島 謙 夫

(日本細菌学会名誉会員)

〔受付：6月1日，1982年〕

1. 先ず、私自身の報告¹⁾について、その概略を語ろう。丹羽の精製 HSF (Histamine-Sensitizing-Factor-ヒスタミン増感因子)²⁾ 200 μ g を Wistar 系のラットの皮下に接種し、副腎の組織反応を見るに、皮質に次のような変化を生じた。Zona glomerulosa には Cytolysis が見られるが、Zona fasciculata 外層と Zona glomerulosa 内の脂質の量は一定であつた。これに反し、Zona fasciculata の内層の脂質の量の消耗には著しいものがあつた。さらに、副腎皮膜の直下から、Zona fasciculata の深部に達する顕著な Zig-Zag 形成がみられた。(図 1, 2) そもそも、ジフテリア外毒素 (exotoxin)* を 350 g のモルモットの皮下に微量接種すると 5 日目頃に致死する (MLD の測定)。剖見するに副腎に著明な出血がみられる。これを参照して、exotoxin である百日咳の HSF をラットに接種すれば、副腎に何らかの変化が起こるだろうとの想定の下に、上記の実験を行い、前記のような変化を見たのである。これら副腎の変化は皮質のホルモン (Cortisol, Aldosteron, Adrenal Androgens) の分泌に重大な障害が起こるだろうことを示している。そして私は、これは stress の結果であると推論した。私の報告には世界中から、いろいろ返事があつたが、大部分は“オザナリ”かまつたく見当違いのものばかりであつた。その中で、私のまつたく予期しなかつたのは Soviet からのものであつた。それは Moscow の Gamaleya Institute の Prof. M. S. Zakharova³⁾ の comment である。それには、私の実験は stress のためばかりではない。むしろ宿主全体の

機能変化としてとらえるべき。これこそ百日咳感染予防の成立に、極めて重大な役割を演じているのであらうとしていた。私は何も気付かなかつたが、改めて実験結果の重大性をさとしたのである。今さらのように、Zakharova の鋭い洞察力には驚嘆した。

しかし、上述の変化 (図 1, 2) もやがて速やかに修復にむかい、一定の時日を経れば、修復とともに hyperfunction と antitoxin の産生が完成するであらう。これに新たに百日咳菌の感染があつても、hyperfunction と antitoxin により菌体は体外に排除され、毒素も中和されて免疫が成立する。無理矢理に preventive antigen を想定する必要は全然ない。殊に Fimbrial Hemagglutinin (HA 抗原) が、予防抗原であるとの説は新井秀雄⁴⁾の鮮かな結晶 HA の証明により完全に否定された。また新井秀雄⁵⁾は HSF, LPF, 易熱性致死毒素を強力に全部有する Pertussigen の結晶化 (百日咳菌全部の exotoxins の単一の結晶) の将来性は刮目に値する。

2. マウスの脳内接種 (IC) が果して唯一無二の効果の決定法であるか?

IC の方法が、全世界にひろがり、なぜ、あたかも聖書のように信じられ、固執されているのか理解にくしむ。埋もれている過去の業績を改めて掘り起こすのが一老学徒の任務である。それは Standfast^{6,7)}の業績である。私はこの業績の存在を NIH の Dr. Margaret Pittman⁸⁾から知らされた。Standfast は IC, IN, IP 3 面から接種法を検討し、また野外実験によりそれぞれの人間に対する効果を検している。それによれば、従来のワクチン (すべての exotoxins を含む) はマウスの IC および野外実験で完全に有効である。しかし 100 C 1 時間加熱ワクチンは IC では全然無効であるが、マウス

*exotoxin とは菌体の内外の存在を問わず、タンパク、易熱性、toxoid 化、生物に接種すれば中和抗体 (抗毒素) を産生するものをいう。経口的ではこの抗体はできない。(例外はある)

Photo 1

Group sensitized with a dose of 200 μ g of purified HSF: Sudan III staining, 5×10 . Marked depletion of lipid content was observed in the inner layer of zona fasciculata. Contrary to this, the lipid content of zona glomerulosa and the outer layer of the zona fasciculata remained in droplets.

Photo 2

Group sensitized with a dose of 200 μ g of purified HSF: H. E. staining, 5×10 . The mass of cloudy acidophil cells was extending from beneath the capsule to the deeper region of the zona fasciculata in wedge-form or in zig-zag form, containing abundant necrotic cells.

の IN では野外実験とともに、サロメチール添加の普通のワクチンと何等の差もない。このことは従来無視されてきた極めて重要な事実である。100 C 1 時間の加熱によりすべての百日咳菌中の exotoxins はことごとく破壊され、完全に無害のワクチンが得られるからである。ここで思い起こすのは、昔の私の第2次世界大戦中台湾で行われたもので heat-stable neurotoxin⁹⁾と命名した。これが百日咳特有の神経症状を呈することは事実である。しかし、何分にも40年前のことであるから、これが exotoxin かまたは preventive antigen かは不明である。Standfast の heat-stable antigen とだいたい一致するものと推定できる。改めて賢明な諸兄の実験を待つ。

この拙文の掲載を許された日本細菌学会の加藤巖博士に改めて深甚なる謝意を表する。

Literature Cited

- 1) Kuwajima, Y., 1980., Morphological Alterations of the Adrenal Gland following Administration of Histamine-Sensitizing-Factor of *Bordetella pertussis*, *Osaka City Medical J.*, **26**, 61-66.
- 2) Niwa, M., 1962., Histamine-Sensitizing-Factor of *Bordetella pertussis*, *J. Biochem.*, **51**, 222-230.
- 3) Zakharova, M.S., 1981., Personal communication.
- 4) Arai, H. & Munoz, John J., 1979., Purification and Crystallization of Fimbrial Hemag-

- glutin (HA) from *Bordetella pertussis*, INFECTION AND IMMUNITY, **25**, 460-462.
- 5) Arai, H. and Munoz, John J., 1981., Crystallization of Pertussigen from *Bordetella pertussis*, INFECTION AND IMMUNITY, **31**, 495-499.
 - 6) Standfast, A. F. B., 1958., The Comparison between Field Trial and Mouse Protection Test against Intranasal and Intracerebral Challenge with *Bordetella pertussis*, Immunology, **2**, 135-143.
 - 7) Standfast, A. F. B. and Dolby, Jean, M., 1961., A Comparison between intranasal and intracerebral infection of mice with *Bordetella pertussis*, J. Hyg. Camb., **59**, 217-229.
 - 8) Pittman, M., 1972., Personal communication.
 - 9) Kuwajima, Y., 1978., The presence of the heat-stable neurotoxin in the pertussis cells, Osaka City Medical J., **24**, 165-174.

Topics of *Bordetella pertussis* Vaccine

Emeritus Prof. Yoshio KUWAJIMA

Osaka City University

1. As reported previously¹⁾, histopathological changes of adrenal glands in Wistar Rats (male, 100-200 g) were observed with the injection of purified histamine-sensitizing-factor (HSF)²⁾: Zona glomerulosa, the outer layer of zona fasciculata, and their lipid content were constant. Marked cytolysis in zona glomerulosa. Extraordinary depletion of lipids in the inner layer of zona fasciculata. Zig-zag formation from the beneath the capsule reaching the deeper region of the inner layer of zona fasciculata (Fig. 1 and 2).

It is well-known that diphtherial exotoxin* induces marked hemorrhages of adrenal gland. In reference to this, histamine-sensitizing-factor (an exotoxin) of *Bordetella pertussis* might cause any change in the adrenal gland. Under this hypothesis, this experiment was carried out. Consequently, the changes mentioned above (Fig. 1 and 2) were recognized. These changes imply disturbance of secretion of hormones (Cortisol, Aldosterone, Adrenal Androgens). I drew inferences from these facts that these were reported as the results of "stress". I got a lot of letters from everywhere in the world. Unexpectedly, among them, the comment of Prof. M.S. Zakharova at Moscow, USSR, was valuable. She criticized that my findings are not only results of stress, but also they are functional changes of the whole host body. It is of the very importance for establishment of prevention against whooping cough infection. This suggestive comment gave me a hint.

No doubt, the changes (Fig. 1 and 2) express only static stage, followed by rapid repairment, accompanying hyperfunction and production of antitoxin. So that, the forced definition "preventive antigen" is completely useless.

Recently, Arai & Munoz⁴⁾ could crystallize HA (Fimbrial Hemagglutinin), which lacks completely preventivity. Also, Arai & Munoz⁵⁾ could succeed in crystallization of "pertus-

*Bacterial exotoxin means, in my opinion, regardless of location, outside or inside of bacterial cell bodies, having following characteristics: Protein in nature, thermo-labile, toxoid conversion by formalin, production of antitoxin when injected into animals and human being.

sigen" (Package of HSF, LPF & thermo-labile lethal antigen). The future of pertussigen deserves the keen interest.

2. Is IC (INTRACEREBRAL CHALLENGE) of mice the one and only as a test ?

IC method is spread all over the world like the Bible. Oblivious experiments by Standfast^{6,7} whose work I have learned from Dr. Margeret Pittman⁸ of NIH, Md, NSA. Standfast's experiments (1) Usual pertussis vaccine gave good effect on IC mouse protection as well as field trial. (2) Contrary to this, pertussis vaccine heated at 100 C for one hour do not any effect on IC mouse protection at all. However, this heated vaccine gave good effect on IN (INTRANASAL CHALLENGE) mouse protection as well as field trial (human being). This undeniable facts are of the very importance, because package-pertussigen (a group of exotoxins-thermolabile) was vanished away by heating. Hence, one can obtain the most safe pertussis vaccine without any side effect. It reminded of my heat-stable neurotoxin⁹.

I do not know whether it is an exotoxin or not. In spite of unknown character, it shows characteristic whooping cough syndromes. My working hypothesis suggests that "heat-stable antigen" by Standfast might coincident with my "heats-table neurotoxin".

Acknowledgement

I express my deep gratitude for Prof. Masamiki Masui's help to describe this manuscript.