ジフテリア抗毒素性免疫に関する研究 (第2報)

血中抗毒素の産生経過と毒素に対する中和能との関係に就いて

黒川 正身 村田 良介 中野 健司
山田 隆子 久保田 憲太郎

(国立予防衛生研究所検定部)

〔受付: 3月29日, 1951〕

まえがき

前報(黒川等, 1951)では, ジフテリアトキソイドで免疫されたモルモットの, 免疫後一定期間後の血中抗毒素価と, 皮下及び皮内に注射された毒素に対する中和能との関係をみた結果を検討し, 2~3の問題を提供した。

本報では, モルモットにトキソイドを注射した後, 定期的に血中抗毒素価を測定して, 抗毒素価の産生状況, 及びその後の経過を見た実験, 及びその動物の皮内に注射された毒素に対する中和能の関係を観察した結果を述べる。

実験材料及び実験方法

免疫につかつたトキソイドは粗トキソイド及び, そのトキソイドから得た高度に純化された精製トキソイドで $N/Lf=0.00069\text{mg}$ 即ち純度約65%, $Kfs=60$ である。定量的ショック反応(Glenny & Waddington, 1929, 黒川等, 1951) 及び攻撃に使用した毒素は前報(黒川等1951)につかつた PSSC18で毒素稀釈液は0.02%ゲラチン加磷酸塩緩衝液でうすめたもので, 一部を除き, 全実験を通じて, 同一稀釈液をつかつた。稀釈液の製造の時期を異にする場合は, 両者を同一モルモットに注射して, 同一力価をもつことが確かめられた。

上記のトキソイドの必要量($Lf\ 20$)を1mlに含むようにうすめて, その1mlを30~40頭の300gr前後のモルモットの腹部皮下に1回注射し, 以後表に示した時期に採血, 同時に定量的ショック反応を行つた。一度使用した動物は2回以上本実験には使用されていない。血中抗毒素はウサギ皮内反応で測定した。

実験結果

粗トキソイド及び精製トキソイドを同時に各約20Lfが1ml中に含まれるようにうすめて注射したモルモットについて併行的にうすめた実験, 次にトキソイド注射後抗毒素が血液中に検出され始める時期の経過をより詳しく追つた実験(粗トキソイド使用)及びその他1~2の実験例をも含めて, 血中抗毒素価, 及び中和能の消長を夫

々別個にまとめたものが第1図上半及び下半である。

第1図にみられるように, 血清中に抗毒素の検出され始めるのは, この実験条件では, トキソイド注射後10日以後で, その一部に確実に証明され始めるのは2週目前後である。この時期には個体側の因子の影響の著しいことがみられる。即ち14日目に測定した7例中3例は既に $1/100\text{u/ml}$ 以上の抗毒素価を検出したが他の例は $1/100\text{u/ml}$ 以下でその存在を検出しえなかつた。抗毒素価はこの前後に急速に上昇して, 17日目の採血例では既に殆ど全例共に $1/100\sim 1/50\text{u/ml}$ 以上の抗毒素価をもっていることが認められた。抗毒素価は3~4週目頃に最高に達し, 以後実験の範囲では, 少くとも15週は略々その水準を維持するものとみられる。約6ヵ月後の抗毒素価はやゝ低いが, これは, この頃には既に低下し始めていると結論するのは早計である。脚註) 粗トキソイドと精製トキソイドとの間には上にのべた経過の点では別に差異は認められないが, 抗毒素価には明らかに差がみられる。今まで度々述べて来たように, 高度に純化された精製トキソイドはゲラチン加磷酸塩緩衝液(脚註2)でうすめて粗トキソイドに比べて劣っていることが認められた。

一方皮内に注射された毒素に対する中和能は, 12日目頃にすでに軽度の中和能がみられ, 14日目前後に急速に

KUROKAWA, Masami, MURATA, Ryosuke; NAKANO, Takeshi; YAMADA, Takako and KUBOTA, Kentaro:

Studies on the Antitoxic Immunity of Diphtheria (II) Serial examinations of antitoxic content of serum and tolerance to toxin following inoculation of toxoid.

脚註) この6ヵ目の測定は12月に行われたものであつて, この時期は一般に抗毒素価が低い傾向があつた。
2) 前に述べた通りこの液でうすめると少くとも7日目37°Cに放置してもLfもKfも変らない。

第1図 血中抗毒素價の消長と皮内に注射された毒素に対する中和能の消長との関係。黒丸:粗トキソイド, 白丸:精製トキソイド

上昇し、3週目前後に最高に達するが、その後は血清の抗毒素價の経過と異り、4週目前後までは略々この線を維持し、以後、比較的すみやかに低下して、10週目頃の実験例では最高の時期の中和能の平均の略々 $1/10 \sim 1/20$ 程度にまで低下している。即ち3~4週目頃までは、血清の抗毒素價の経過と略々平行するか、或はやゝ早く最高に達しその後は両者の間に解離が認められる。粗トキソイドと精製トキソイドとの差も抗毒素價と略々平行する。

毒素を皮下に注射して攻撃した場合は、実験例が少いので確実なことはいえないが、実験例が少いので確実なことはいえないが、上記の皮内に注射した場合に近いことを思わせる実験例も私共はもっている。一方 Glenny 等(1921)は逆に毒素抗毒素混合液で免疫後、16週まで次第に動物が耐過しうる毒素量が増すことを示す実験結果を報告している。只、動物の生死をもつて、判断の基礎とする実験方法では、ジフテリアの場合のように、その変化が必ずしも特異でない材料を用いると、実験結果に明確を欠くので、もつと別な実験材料を用いることが得策であろうと考えられる。目下実験中であるので後に述べることができるであろう。

この結果を直ちに一般化する事は極めて危険であるが、人のシクの反應の抗毒素性免疫に於ける意義との関連、或は予防接種後の血中抗毒素價と、その個体が実際にもっているジフテリア感染に対する免疫との関係等も改めて検討を要するのではあるまいか。

又ジフテリアトキソイドの抗元性検定の場合にも、トキソイド注射後、攻撃するまでの間隔が考慮されねばならないと思われる。少くともこの問題の解決までは、4

週目、或は6週目に攻撃した実験結果を同一条件として両者を比較することは危険であるとみられねばならない。一方又上記の結果と、前報の結果からみると、トキソイド注射後17~18日目で大部分のモルモットは $1/100$ u/ml の血中抗毒素價をもっているから、既に10~100 MLD の攻撃に耐えるであろう。

抗毒素性免疫では、上記のような結果に関する報告を、私共は見ることができなかつた。神経親和性ヴィールスで免疫した動物のそのヴィールスに対する感染防禦能と、血清中の中和抗体

價とが必ずしも平行せず、中和抗体量の多少は必ずしも感染防禦能の指標とはならないこと (Casals, 1943, Hodes & Webster, 1938, Olitzky & Cox, 1936, Sabin & Olitzky, 1936)、感染防禦能は早期にあらわれ中和抗体價の最高に達する時期には、すでに感染防禦能は低下していること、(Hades & Webster, 1938) 或は中始め和抗体價は比較的長く保持されるが、感染防禦能は早期に著しく減少すること (Webster, 1939, 中沢 1944) 等が報告されている。或はこの結果をもつて「組織免疫」を直ちに導入しているものもあるが (Schut & Gerharat, 1935) そういう名前をもちこんでも、本態の解決にはなんらの関係もない。いずれにせよこの関係は、私共のジフテリア抗毒素性免疫の場合と比較して、興味ある問題と考えられる。

小林所長の御校閲を謝す。

文 献

- 1) Casals, J.: J. exp. Medd. 48, 447-463, 1943.
- 2) Glenny, A. T. and Südmersen, H. J.: J. hyg. 20, 176- , 1921.
- 3) Glenny, A. T. and Waddington, H.: J. Path. Bact., 32, 275-281, 1929.
- 4) Hodes, H.L. and Webster, L.T.: J. exp. Med., 68, 263-271, 1938.
- 5) 黒川, 村田, 中野(健), 山田, 久保田: 日本細菌誌, 6, 1951 (昭 26).
- 6) Olitzky, P.K., and Cox, H. R.: J. exp. Med., 63, 109-125, 1936.
- 7) Sabin, A.B., and Olitzky, P.K.: J. exp. Med. 64, 739-748, 1936.
- 8) Schut, e. W., and Gelhardt, L.: P. California and Western Med., 43, 111, 1935. cited in. 7.
- 9) Webster, L.T.: J. exp. Med., 70, 87-100, 1939.