マウスの弱毒肺炎球菌感染について

2. 感染と免疫機序との関係について

沢 井 芳 男

東京大学傳染病研究所

〔受付: 10 月 18 日, 1952 年〕

私は前の報告¹⁾において、毒力の強い肺炎球菌の1型菌を、同型の免疫ウサギ血清をふくむブイオンに継代してえた弱毒変異株がマウスに対して毒力が低下したばかりでなく、原菌株とは異つた病原性を獲得するようになったことをのべた。すなわち強毒な原菌株が菌の特異的な莢膜のために体内で食菌作用をまぬかれて一方的に増殖していくのに反して、弱毒変異株は局所に滲出した白血球に直接障害作用を及ぼして、体細胞による食菌作用をさまたげる結果、自由に体内で増殖して遂には敗血症へ導いていくのがその特徴であることをのべた。

このように原菌株とは異つた病原性を獲得した弱毒変異株の免疫機序を検討することはさらに興味が深いと考えられるのでここに実験の概要を報告する。

実験方法

菌株は前の実験と同様に肺炎球菌の1型菌と弱毒変異菌1 R/44 株を用いた。マウスに対する免疫原としては、S形菌を血液ブイオンに20時間培養し、3500 r.p.m. 15分遠心してその上清をすて、沈澱を生理食塩水に浮游して原量とし、1%のわり合にホルマリンを加えて室温に一夜放置したのちに再び遠心してその沈澱を生理食塩水に $\frac{1}{2}$ 量に濃縮して浮游し、75°C 15分温浴したものを0.5 ml ずつマウスの大腿の皮下に接種した。注射間隔は1日おきに3回連続して注射し、5日休む方法を2回あるいは3回くりかえして行つた。

R型菌による免疫は、1 R/44 株の血液ブイオン培養の0.5 ml をマウスに注射し、S形菌のばあいと同じ方法で2回あるいは3回をくりかえした。

これらの免疫動物に対してそれぞれS形菌およびR形菌のブイオン培養を0.5 ml ずつ腹腔内に注射し、その反応をとくに食菌作用を中心にして観察した。すなわち注射後1, 3, 5, 7時間および生存していたものは24時間後にガラスの毛細管で腹腔液をとりのせガラスに塗抹標本を作り、3ないし7時間の腹腔液について白血球数

の計算を行つた。塗抹標本は細胞外の菌の増減の有無、多核白血球と単核白血球との比率、および食菌数の計算を行つた。

実験成績

1) 免疫処置マウスに対するR形菌の攻撃

R形菌およびS形菌で免疫したマウス3匹ずつを1群として、R形菌の血液ブイオン20時間培養を3500 r.p.m. 15分遠心してその沈澱を生理食塩水に $\frac{1}{10}$ に濃縮して浮游し(菌数は 2.4×10^{10} /ml) その0.5 ml ずつをそれぞれのマウスの腹腔に注射した。この濃縮した菌液を

第1表 R形菌およびS形菌で免疫されたマウスに対するR形菌による感染

接 種 量	R形菌免疫群	S形菌免疫群	無処置対照群
1.2×10^{10}	3/3	3/3	3/3
0.6×10^{10}	0/3	3/3	3/3
3.0×10^9	0/3	2/3	2/3
1.5×10^9	0/3	0/3	0/3

註 表中の分数の分子は死亡数、分母は使用したマウス数

もとにして1:2, 1:4, 1:8に稀釈し、さらにその0.5 ml ずつを別の免疫群に接種し、対照として正常の無処置マウスおよびS形菌で免疫したマウスに対しても同様の接種を行つた。これらの実験成績は第1表に示されたようにR形菌の免疫群マウスのなかで、1:2, および1:5に稀釈した菌液の攻撃をうけた群が感染を防禦して生存した。そのほかの感染をおこしたマウスは6時間から20時間のあいだに死んだ。

SAWAI, Yoshio: Studies on the Infection in Mice caused by R Type of Pneumococcus. II. On the Relationship between Infection and Immunity. The Institute for Infectious Diseases, The University of Tokyo. — Jap. J. of Bact., 8(2): 207-209 1953.

腹腔液の塗抹標本は、10 倍に濃縮した菌の接種群では R 形菌免疫を行ったものでは、S 形菌あるいは無処置の対照にくらべると、菌の増殖がおくれ、局所の滲出白血球の溶解が多少おくれる傾向がみられるだけであつた。

すなわち前者では白血球の減少は感染後 7 時間で著明にみられたのに反して後者では 3 時間ですでに著明であつた。つぎに感染を防禦した動物群すなわち 1:2 に稀釈した菌液を接種した R 形菌免疫群では腹腔にいれた菌は 3 時間あるいは少くとも 5 時間以内に腹腔から消失し、白血球の溶解現象はみられずに白血球の増加が順調におこり食作用が有効にはたらいて、細胞外の菌が消失したのちも、7 時間までの標本には多数の菌が細胞内にとりこまれているのがみられた。もちろん 24 時間後は細胞内の菌も陰性となつた。滲出細胞の種類の 3 時間ないし 5 時間から単核の食細胞から多核白血球にかわり、食菌も主として後者の細胞によつて行われた。またさらに 1:5 に稀釈した菌液を接種した R 形菌免疫群についても、ほぼ同様の所見がえられた。これに反して S 形菌免疫群及び無処置の対照群では、3 時間ないし 5 時間で白血球の崩解と菌の増殖が著明におこり、ごく少数の残された白血球は多数の菌をとりこんでいたが、いずれも障害をうけ細胞の境界が不明瞭であつたために細胞内の菌数を正確に計算することが困難であつた。

この様にして R 形菌による免疫マウスは攻撃菌による食細胞の溶解をふせぐことによつて感染を防禦することができたが、S 形菌の免疫群と無処置の対照群は共に感染を防禦することができなかつた。

2) 免疫処置マウスに対する S 形菌の攻撃

R 形菌および S 形菌で免疫したマウスに S 形菌の攻撃を行い、その LD₅₀ を第 2 表に示した。すなわち 3 匹ずつのマウスを一群として、S 形菌の血液ブイオン培養を 10⁻¹ から 10⁻⁹ まで階段稀釈を行つて、その 0.5 ml ずつ

第 2 表 R 形菌および S 形菌で免疫されたマウスの S 形菌感染による LD₅₀ の差異

免 疫 原	S 形菌に対する LD ₅₀
R 形 菌	10 ^{-5.5}
S 形 菌	10 ^{-1.5}
無 處 置 対 照	10 ^{-8.8}

つをマウスの腹腔に注射すると、前の実験で R 形菌の攻撃に対して全く無抵抗であつた S 形菌免疫群のマウスは、S 形菌の攻撃に対して強い抵抗性をしめした。すなわち LD₅₀ が無処置の対照が 10^{-8.8} であるのに、S 形菌

免疫マウスでは 10^{-1.5} であつた。

ところが型特異性を失つた R 形菌で免疫した群のマウスにも、S 形菌免疫群にくらべれば劣つてはいるが、その LD₅₀ は 10^{-5.5} を示し、なおかなりの程度の感染防禦能のあることを示している。

このばあい 10⁻¹ に稀釈した S 形菌を 0.5 ml ずつ注射した群では、3 匹のうち 2 匹が生存し、1 匹が 20 時間以内に死亡したが、これらの動物の腹腔内の食菌の状態をたどつてみると、生存例では菌は注射後 2 時間ないし 3 時間で局所から消失したが、死亡例では無処置の対照にくらべて菌の増殖がやみおくれる傾向を示したが、注射後 5 時間ぐらいから増殖が著しくなり、やがて敗血症に移行した。滲出性の多核白血球、及びそれらと単核白血球との比率は、正常動物に対する S 形菌の感染の対照とほとんど変りがなかつた。またこれらの細胞による食作用は接種菌量が少く菌の消失が早いために、注射後 1 時間ないし 2 時間後の塗抹標本にわずかにみられたにすぎなかつた。R 形菌免疫群に対して 10⁻¹ の S 形菌を接種して死亡した動物の腹腔内の所見は無処置の対照群と区別できなかつた。

考 察

以上の実験から、S 形菌で免疫した動物は S 形菌の攻撃に対しては強い防禦能力をもちながら、R 形菌の感染には全く無能であるという事実からして両者の菌による免疫機序が異なっていることが推測される。すなわち S 形菌に対する免疫機序は従来からみとめられているように anti-capsular であるのに反して、R 形菌に対する免疫機序は anti-leucolytic であるといえる。何故ならば R 形菌の免疫によつて、対照の無処置の動物におこつてくる滲出白血球の溶解がくいとめられて、正常の食菌能力が保持されたからである。

たゞひとつの問題は、S 形菌による免疫では何故この anti-leucolytic の能力が附與されないのかということであるが、現在のところなお不明である。あるいは免疫原の製法に問題があるのかも知れない。

つぎに R 形菌で免疫したマウスは S 形菌の感染もある程度ふせいでいることからして、もし R 形菌が全く型特異的な多糖質に対する抗体を作る能力をもたないとすれば、S 形菌に対する免疫機序は單に anti-capsular のみであるかどうか疑問となつてくる。これ等の事実と関連して Tillett²⁾ (1927, 1928 年) が弱毒変異菌の免疫によつて型特異的な肺炎球菌の感染を防ぐことができることを示している。

総 括

肺炎球菌の1型菌から変異したR形の弱毒菌 (IR/44株) に対するマウスの免疫機序は, 原株のそれとは異つて, R形菌による局所の滲出細胞の溶解を防いで, 食作用を維持して感染を防禦するところの anti-leucolytic なるものである。

(本研究の概要は昭和27年6月20日第6回日本細菌学会関東支部総会で演述された。)

文 献

- 1) 沢井芳男, 田中光: 日本細菌学雑誌. 7(5), 515-518, 1952.
- 2) Tillett, W. S.: J. Exp. Med., 46, 343, 1927.
- 3) Tillett, W. S.: J. Exp. Med., 48, 791, 1928.