発疹チフスリケツチャの抗原構造に関する研究

3. 家鶏免疫による所謂 Castaneda の X 因子と B 型物質との関連について

飯 田 毅

東京大学傳染病研究所第五部 (部長 田宮猛雄教授)

〔受付: 8 月 25 日, 1952 年〕

羽里, 飯田, 西岡 (1946) は, 健康海狸の脾臓及び淋巴腺に *R. prowazeki*, *R. mooseri* 及び *Proteus OX₁₉* に共通抗原である所謂 Castaneda (1934-5) X の因子が存在することを, それ等臓器の酸性加熱抽出液を用いての *Proteus OX₁₉* 免疫家兎血清, 発疹チフス患者血清に対する沈降反應, 補体結合反應並びに家兎免疫試験より明らかにし, 発疹チフス及び発疹熱感染海狸の多くに Weil-Felix 反應が陰性であることの理由をそこに求めようとした。

その後, 発疹チフスまたは発疹熱の流行時に臨床的に定型的症候を呈する患者において Weil-Felix 反應の陰性の場合のあることを経験するに及んで, 漠然としてではあるが, 海狸の場合における如く或る特定の血液型に属する人の臓器及び組織中に X 因子と決定群を同じくする物質が存在するのではないかと考え, 研究室員から採血した血球の酸性加熱抽出液をつくり, *Proteus OX₁₉*, 免疫家兎血清に対し沈降反應を行う時は, 非常に弱度ではあるが, 1 部の B 型血球の浸出液に陽性例のあることが認められた。

本実験においては, B 型人血球, 家兎血球, 海狸血球, *Proteus OX₁₉*, *R. prowazeki* 及び *R. mooseri* のそれぞれで家鶏を免疫し, B 型物質と X 因子とが如何なる関係にあるかにつき血清学的に研究した。その結果, X 因子が B 型物質の部分抗原である Bm 型質に非常に密接な関係を有する新しい異性抗原であることを確認すると同時に, *Proteus OX₁₉* にはこの X 因子以外に馬, 牛, 山羊, 綿羊, 海狸及び家兎等の哺乳動物の血球に共通する抗原物質が存在すると考えられる成績が得られたので報告する。

実験材料及び方法

1. *Proteus OX₁₉* 株。米國発疹チフス委員会より分與されたものである。

2. 供試血清

a. 抗 B 型人血球家鶏血清。*Proteus OX₁₉* との共通抗原の存在が考えられる B 型に属する人の枸橼酸血液を, 滅菌生理的食塩水で 5 回洗滌し, 第 1 回に 5% 浮游液 5 cc 第 2 回及び第 3 回に 10% 浮游液 5 cc づつ, 第 4 回に 20% 浮游液 5 cc を隔日 4 回翼静脈内に注射し, 最終注射日より 7 日目に全採血し, 血清を分離し氷室に保存して使用した。なお家鶏血清の個性により 56°C. 30 分間加熱による非働化及び 0.5% 石炭酸添加により沈澱を生じ, 大部分の抗体がこれに移行することが認められたので各血清とも無菌的に保存し用に臨んで稀釈後非働化して使用した。

b. 抗海狸血球及び抗家兎血球家鶏血清。

海狸及び家兎のそれぞれの枸橼酸血液を滅菌生理的食塩水で 5 回洗滌し, 第 1 回及び第 2 回に 10% 浮游液 5 cc., 第 3 回及び第 4 回に 20% 浮游液 5 cc を翼静脈内に注射し, 最終注射日より 7 日目に全採血し血清を分離した。

c. 抗 *Proteus OX₉* 家鶏血清。

寒天斜面 20 時間培養滅菌生理的食塩水 1 cc 中に 2 mg 割合に浮游させた菌液を 60°C 30 分間加熱殺菌し, それを 0.5 cc, 1.0 cc, 1.5 cc, 2.0 cc, 2.5 cc. 及び 5.0 cc,

IIDA, Tsuyoshi: Studies on the antigenic structure of *Rickettsia Prowazeki*. III. On the relationship of so-called Castaneda's X factor to blood group B substance in the chicken immune sera. The Institute for Infectious Diseases: Tokyo University. —Jap. J. of Bact., 8(3): 245-250, 1952.

の順に6回翼静脈内に注射し、最終注射より7日目に全採血し血清を分離した。

d. 抗 R. prowazeki 家鶏血清及び抗 R. mooseri 家鶏血清。

R. prowazeki (Breinl 株), R. mooseri (岩井株) 培養孵化鶏卵々黄囊乳剤より Cox-Craigie 法に準じて作ったワクチン, 3.0 cc, 5.0 cc, 6.0 cc, 10 cc, 及び 10 cc を隔日5回翼静脈内に注射し、最終注射より7日目に全採血し血清を分離した。

e. 抗 Br, Brr 及び Brrr 単一血清。

一般に血液型学の見地よりB型人血球の部分抗原に関しては、山崎 (1932), Friedenreich (1933), 水谷 (1940) 及び古畑 (1947) 等の研究があるが、著者は古畑の分類に従った。従つて Br, Brr 及び Brrr 部分型質に対する単一抗血清を次の如く作った。

抗 Br 血清。B型人血球で家兎を免疫して得た血清をA型人血球で吸収する。

抗 Brr 血清。抗家兎血球家鶏血清をA型人血球で吸収したのち、更に海狼血球で吸収する。

抗 Brrr 血清。抗海狼血球家鶏血清をA型人血球で吸収する。

3. 血球凝集反応。2倍稀釈法によつて段階的に稀釈した血清の各 0.25 cc. に1%血球浮游液, 0.25 cc. を加え 37°C 2時間後凝集鏡で判読した。

4. Weil-Felix 反応。2倍稀釈法で段階的に稀釈した血清各 0.5 cc. に Proteus OX₁₉ 20時間培養を生理食塩水 1cc. に対し 2mg の割合に浮游させた菌液を駒込ピペットで1滴宛滴下し、37°C 孵卵器内に2時間更に氷室に1夜放置した後結果を凝集鏡で判読した。

実験成績

1. 家鶏免疫試験。

比較的正常 β 凝集素の高い家鶏を選び、Proteus XO₁₉, B型人血球, 海狼血球, 家兎血球, R. Prowazki R. mooseri 及びワクチンで免疫して得た血清をA型人血球で吸収したのち、Proteus OX₁₉, B型人血球, 海狼血球及び家兎血球に対する凝集素の産生を観察した(表 1)。

表1に示す如くその各々の間に難易は認められるが、B型人血球, 海狼血球及び家兎血球に対する凝集素と Proteus OX₁₉ に対する凝集素とが同時に上昇するのが認められた。殊に、Proteus OX₁₉ 及びB型人血球並に海狼血球免疫において著明であつた。

2. 吸収試験

顕著な抗体産生が認められた抗 Proteus OX₁₉ 家鶏血清 No. 1 及び抗B型人血球家鶏血清 No. 5 を用い、夫々 Proteus OX₁₉, B型人血球, 海狼血球及び家兎血球で吸収試験を行つた。その成績は表2に示す如くである(表 2)。

a. Proteus OX₁₉ 免疫家鶏血清の凝集素吸収試験。

Proteus OX₁₉ で吸収するときはB型人血球及び海狼血球に対する凝集素が著明に吸収された。然し家兎血球凝集素値には変化がなかつた。B型人血球による吸収では、Proteus OX₁₉ 凝集素及び海狼血球凝集素はその1部のみが吸収され、この際においても家兎血球凝集素は全く吸収されなかつた。海狼血球吸収では、海狼及びB型人血球凝集素は大部分が吸収されるが、Proteus OX₁₉ 及び家兎血球凝集素は1部のみが吸収された。更に家兎血球吸収では、各血球凝集素は全部吸収されたが、Proteus OX₁₉ 凝集素は1管だけ吸収されたに過ぎなかつた。

b. B型人血球免疫家鶏血清の凝集素吸収試験。

Proteus OX₁₉ 吸収により Proteus OX₁₉ 凝集素は完

表 1 家 鶏 免 疫 試 験

免 疫 原	家鶏番號	反 應 原			
		Proteus OX ₁₉	B 型 人 血 球	海 狼 血 球	家 兎 血 球
Proteus OX ₁₉	1	*160→1280	40→ 320	40→1280	160→ 2560
	2	40→2560	40→ 80	20→ 80	160→ 2560
海 狼 血 球	3	40→ 160	40→ 320	40→1280	80→ 2560
	4	80→ 640	320→ 1280	80→ 640	80→ 2560
B 型 人 血 球	5	80→1280	320→10240	160→1280	1280→10240
R. prowazeki	6	80→ 640	20→ 20	20→ 40	320→ 320
R. mooseri	7	80→ 320	20→ 40	20→ 40	320→ 320
家 兎 血 球	8	40→ 80	40→ 320	40→ 640	40→ 1280

* 免疫前後の凝集値を示す。

表 2 吸 收 試 験

免疫血清	凝 集 原	免 疫 前 後 の 凝 集 價	吸 收 原 料					馬血球
			Proteus OX ₁₉	B型人血球	海狸血球	家兎血球	R.p.	
抗 OX ₁₉ 家 鷄 血 清 No. 1	Proteus OX ₁₉	160→ 1280	0	640	640	640	160	320
	B 型 人 血 球	40→ 320	40	0	40	0	0	320
	海 狸 血 球	40→ 640	40	320	40	0	160	320
	家 兎 血 球	160→ 2560	2560	2560	1280	0		1280
	馬 血 球	40→ 640	320	640	320	40		0
抗球 B家 型鷄 人血 血清 No. 5	Proteus OX ₁₉	80→ 1280	0	1280	640	1280	80	
	B 型 人 血 球	320→ 5120	5120	0	5120	640	1280	
	海 狸 血 球	160→ 640	320	0	0	0	40	
	家 兎 血 球	1280→10240	10240	10240	10240	0		

全に吸収されるが、海狸血球凝集素は1部のみが吸収され、B型人血球及び家兎血球凝集素は全く吸収されなかつた。B型人血球吸収では、B型人血球及び海狸血球凝集素は全く吸収されたが、Proteus OX₁₉、家兎血球凝集素は全然吸収されなかつた。海狸血球吸収では、海狸血球凝集素は完全に吸収されたが、Proteus OX₁₉ 凝集素の吸収は1部であり、家兎血球凝集素に変化は認められなかつた。更に家兎血球吸収では、家兎及び海狸血球凝集素は吸収し盡された。この際B型人血球凝集素も可成に吸収されたが、Proteus OX₁₉ 凝集素は全く吸収されなかつた。

c. R. Prowazeki による吸収試験。

R. Prowazeki ワクチンの高速遠心沈澱により得た R. prowazeki で上記の Proteus OX₁₉ 並にB型人血球免疫家鷄血清を吸収した。この場合においても明らかに

Proteus OX₁₉ 凝集素の吸収と同時にB型人血球及び海狸血球凝集素の吸収を著明にみる事が出来た。

以上の吸収試験の結果と動物の血球中に存在するB型物質の血清学的分析に関する従来の研究とより Proteus OX₁₉ がB型物質の部分抗原である B_{III} 抗原に特異的關係にあり、しかもこの型物質が所謂 Castaneda のX因子に密接な關係を有することが充分推定されよう。唯この吸収試験において注目すべきことは、各血球による Proteus OX₁₉ 凝集素の吸収が困難であつたことである。

3. Proteus OX₁₉ より抽出したX因子の単一血清に対する血球凝集反應阻止試験。

Castaneda のX因子と B_{III} 部分型質との關係を更に明かにする目的を以て、抗 B_I、抗 B_{II} 及び抗 B_{III} 単一血清を用い、Castaneda のアンチフォルミン抽出法によつて得たX因子による血球凝集反應阻止試験を行つた。X

表 3 Proteus OX₁₉ より抽出したX因子の血球凝集反應抑制試験

単 一 血 清	凝 集 原	抑 制 抗 原 稀 釋 倍 數					終 末 凝 集 價
		10.000	20.000	40.000	80.000	對 照	
抗 B _I 血 清	B 型 人 血 球	+	+	+	+	+	400
	海 狸 血 球	—	—	—	—	—	0
	家 兎 血 球	—	—	—	—	—	0
抗 B _{II} 血 清	B 型 人 血 球	+	+	+	+	+	400
	海 狸 血 球	—	—	—	—	—	0
	家 兎 血 球	+++	+++	+++	+++	+++	1600
抗 B _{III} 血 清	B 型 人 血 球	—	—	—	—	+	400
	海 狸 血 球	+	+	+++	+++	+++	400
	家 兎 血 球	+++	+++	+++	+++	+++	1600

因子を10,000倍から80,000倍まで倍数希釈した各0.25 ccに100倍希釈単一血清を0.25 ccずつ加え、室温に2時間放置した後血球浮遊液を加え、37°C 孵卵器内に入れ対照の凝集を待ち、阻止能を観察した。

表3に示めす如くX因子は抗B_{III}単一血清とB型人血球との反応を著明に抑制し、また海狼血球との反応を弱度ながら抑制することが認められた。これは海狼の有する種族特異性抗体が吸収されていないためと考えられる。また家兎血球との反応においては明確な結果が得られなかつたが、血清希釈の高い処で弱反応であれば阻止されはしないかと考えられる。このX因子は患者血清に対し80,000倍まで沈降反応陽性をしめた。この結果からProteus OX₁₉免疫家鶏血清のB型血球凝集素は抗B_{III}であることが考えられる。

4. 患者の血液型と Weil-Felix 反応との関係。

予防衛生研究所リケツチャ部より分與をうけた患者血清11例につき血液型と Weil-Felix 反応との関係を観察した。

表4 患者の血液型と Weil-Felix 反応との関係

患者血清	Weil-Felix 反 應	補体結合反應		血球凝集反應		血液型
		R.p.	R.m.	A型血球	B型血球	
L. 18	2560			80	160	O
L. 19	1280			320	0	B
L. 20	2560	320	320	0	0	AB
L. 21	160	0	320	160	0	B
L. 31	2560	160	160	320	0	B
L. 32	2560	0	80	1280	0	B
J. 1374	320	40	0	0	0	AB
J. 1399	2560	160	0	0	160	A
61	1280	0	20	0	0	AB
75	640	20	40	0	0	AB
中 村	2560			0	80	A

表4より明かな如く、B型の患者血清4例の中3例は1280~2560倍までWeil-Felix 反応陽性を示めたが、他の1例L. 21はR. mooseriに対する補体結合反應で320倍陽性の血清であるが、Weil-Felix 反應は160倍の價を示めた。AB型の患者血清L. 20は2560倍、61は1280倍、75は640倍、J. 1374は320倍までそれぞれWeil-Felix 反應の價を示めた。またO型の患者血清L. 18、A型の患者血清J. 1399及び中村は、Weil-Felix 反應において2560倍まで陽性を示めたが、β凝集素價は80~160倍で殆ど正常抗体の範囲内であると

思われる價をしめた。勿論この成績から直ちに血液型とWeil-Felix 反應との関係、またWeil-Felix 反應の價とβ凝集素價との関係につき論ずることは出来ないが、B型に属する患者血清の中にはWeil-Felix 反應の價の低い場合のあること、またβ凝集素價はProteus OX₁₉凝集素價の上昇に平行しないのではないのかということが考えられる。なお感染海狼の場合においてもWeil-Felix 反應の陽性の場合があることが認められたので、この問題については目下研究中であらう。

5. Proteus OX₁₉ に存在する哺乳動物血球との共通抗原について。

前述の吸収試験並びにProteus OX₁₉より抽出したX因子の血球凝集反應阻止試験よりProteus OX₁₉の抗B_{III}血清に対する作用群がX因子に緊密な関係を有するものであることが明にされたのであるが、B型人血球免疫家鶏血清をB型人血球で吸収するとB型人血球並びに海狼血球凝集素は全く吸収し盡されるが、Proteus OX₁₉免疫家鶏血清のB型人血球吸収の場合は、B型人血球凝集素は完全に吸収されるに拘らず、海狼血球凝集素は1部が吸収されたのみであつた。この結果は免疫により產生された抗体量の多寡によつて現われたとも考えられるが、更に考慮し得ることは、Proteus OX₁₉にはB_{III}部分型質に関係した異性抗原の他に家兎、海狼及びProteus OX₁₉にのみ共通な別の異性抗原の存在についてである。

諸種哺乳動物血球間に共通抗原の存在するということは、各種動物の正常血清または免疫血清につき多くの研究者により認められている処である。即ちKrah, Wittebsks (1930)は家兎を免疫して、その血清につき沈降反應、溶血反應及び補体結合反應により、哺乳動物血球相互の共通抗原の存在を検し、またEisler, Howard (1933)は正常家鶏血清を用い人の血液型物質に關係のない哺乳動物血球相互に共通する抗原の存在について報告している。一方吉原 (1935)は、多くの哺乳動物血球で家鴨並びに家鶏を免疫し、家兎、白鼠、牛、豚、犬、海狼、猫、山羊、緬羊及び馬等の哺乳動物血球相互間には共通抗原が存在することを報告した。

著者は山羊、馬及び牛等の血球に対するB型人血球免疫家鶏血清及びProteus OX₁₉免疫家鶏血清の凝集反應及びProteus OX₁₉免疫家鶏血清の馬血球による凝集素吸收の態度を検し次の如き成績を得た。

a. B型人血球免疫家鶏血清及びProteus OX₁₉免疫家鶏血清の山羊、緬羊、馬及び牛血球に対する凝集反應。

表5に示めす如く、B型人血球による家鶏免疫の際に

表 5 抗 *Proteus* OX₁₉ 家鶏血液に対する
哺乳動物血球の凝集反應

哺乳動物血球	血清	血清稀釋倍數					
		1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
山羊	免疫前 免疫後	— ++	— ++	— ++	— +	— —	— —
綿羊	免疫前 免疫後	— ++	— ++	— +	— —	— —	— —
馬	免疫前 免疫後	++ ++	— ++	— ++	— ++	— +	— —
牛	免疫前 免疫後	— ++	— +	— —	— —	— —	— —

は山羊、綿羊、馬及び牛の血球に対する凝集素の産生は認められなかつたが、*Proteus* OX₁₉ による家鶏免疫の際にはこれ等動物血球の何れに対しても著明な凝集素の上昇が見られた。

b. *Proteus* OX₁₉ 免疫家鶏血清の馬血球による吸収試験。

表2に示めた如く、*Proteus* OX₁₉ での免疫により上昇した馬血球凝集素價は、*Proteus* OX₁₉ 及び海狗血球による吸収では、1管のみの低下を来したに過ぎず、またB型人血球による吸収では全然変化がなかつたが、家兎血球による吸収では著明に下降することが認められた。馬血球で吸収する場合は、B型人血球凝集素は全く吸収されず、また海狗血球並びに家兎血球凝集素は殆ど吸収されなかつたが、*Proteus* OX₁₉ 凝集素は1部吸収されることを認めた。

以上の実験成績より *Proteus* OX₁₉ には、B型物質とは無関係に家兎、海狗、山羊、綿羊、馬及び牛等の哺乳動物血球相互間に共通する異性抗原が存在することが推定される。

考 察

Castaneda の X 因子と B 型物質の関連性に関して行った本実験においてあげ得た成績を総括すれば次の通りである。

Proteus OX₁₉, *R. prowazeki*, *R. mooseri*, B 型人血球、家兎血球及び海狗血球で家鶏を免疫すると、抗体産生の程度に差こそあれ、*Proteus* OX₁₉ 並びに各血球に対する凝集素價の上昇が認められた。殊に *Proteus* OX₁₉ 免疫、B 型人血球免疫において顯著であつた。*Proteus* OX₁₉ 免疫家鶏血清及び B 型人血球免疫家鶏血清の *Proteus* OX₁₉, B 型人血球、海狗血球、家兎血球及び *R. prowazeki* による吸収試験の成績より *Proteus* OX₁₉ が

B 型物質の部分抗原である B_{III} 型質に特異的關係にあることが明かにされ、更にまた *Proteus* OX₁₉ より抽出した X 因子の単一血清を用いての凝集反應に対する阻止試験の結果、X 因子が B_{III}-β_{III} 凝集反應を特異的に阻止することが認められ、B_{III} 部分型質は X 因子に密接な關係を有するものであることが確認された。この実験成績から *Proteus* OX₁₉ は、B 型人血球、海狗血球及び家兎血球等の間に分布する B_{III} 部分型質に関連した新異性抗原が存在することが明かにされたのである。こゝにおいて、既に知られている A 型物質に共通する異性抗原である Forssman 抗原、また O 型物質に関與するものとして Eisler-加賀谷の異性抗原に加うるに、B 型物質に関連する異性抗原の存在が立証せられたのである。

更に患者血清の *Proteus* OX₁₉ 凝集素價と血液型との關係についての実験において、B 型の患者血清 4 例の中 3 例において Weil-Felix 反應 1280~2560 倍陽性の結果が得られたが、他の 1 例においては、*R. mooseri* 抗原に対する補体結合價が 320 倍を示めたにかゝらず、Weil-Felix 凝集價は 160 倍に過ぎなかつた。また、O 型、A 型の患者血清についてみると、Weil-Felix 反應凝集價が高い場合においても、β 凝集素價は正常値の範囲内にあることが認められた。この問題に関しては、多数例につき病日を追つて、補体結合反應と平行して観察した上でなければならぬことは勿論である。血球に B_{III} 及び B_{III} 部分型質を有する家兎において発疹チフス、あるいは発疹熱感染、また *Proteus* OX₁₉ 免疫において毎常 X 因子に対する抗体の産生がみられ、感染海狗においても Weil-Felix 反應の陽性例がみられることなどより、B 型の患者においても *Proteus* OX₁₉ 凝集素の上昇を来すものと、来さぬものとが存在するのではないかということは推定され得るところである。そしてそれが如何なる要約にもとづくものであるかということは、X 因子と B_{III} 部分型質との共通抗原の同定の問題に関連して今後の研究に残された重要な問題であろう。

また吸収試験の結果、海狗血球、家兎血球、及び *Proteus* OX₁₉ の間にもみ共通する他の異性抗原の存在を考へての前述の実験において、*Proteus* OX₁₉ には B 型物質とは無関係に家兎、海狗、山羊、綿羊、馬及び牛等の哺乳動物血球相互間に共通する異性抗原の存在することも推定された。

結 論

1. Castaneda の X 因子には、B 型人血球、海狗血球及び家兎血球に共通する B_{III} 部分型質に緊密な關係を有する一新異性抗原が含まれている。

2. 血液型Bに属する患者血清においても、他の血液型に属するものと同様に高度の *Proteus* OX₁₉ の凝集素価を示すものが多いが、1部においてリケツチャに対する補体結合価よりも低い価を示すものもあることが認められた。

3. 血液型A及びOに属する患者血清の β 凝集素は、一般に正常抗体価の範囲内にあつた。

4. *Proteus* OX₁₉ には、B型物質とは無関係に家兎、海狸、山羊、綿羊、馬及び牛等の血球相互間に共通する異性抗原が存在する。

稿を終るに臨み終始御指導を賜つた田宮、羽里両教授に深謝します。

本研究の要旨は昭和23年5月、第21回日本細菌学会で発表された。

文 献

- 1) Castaneda, R.: J. exp. Med., 60, 1934, 119~125; ibid., 62, 1935, 289-296.
- 2) Eisler, M., and Howard, A.: Zeitschr. für Immunitätsf., 79, 1933, 293-310.
- 3) Friedenreich, v. and With, S.: Zeitschr. für Immunitätsf., 78, 1933, 152-172.
- 4) 古畑種基: 血液型学, 昭22(1947).
- 5) 羽里彦左衛門, 飯田毅, 西岡久壽彌: 昭和21年12月, 傳染病研究所学術集談会発表.
- 6) Krah, E. and Witebsky, E.: Zeitschr. für Immunitätsf., 78, 1933, 152-172.
- 7) 水谷榮夫: 十全会誌, 37, 昭15(1940), 2951-2967.
- 8) 山崎武治: 千葉医学会誌, 11, 昭8(1932), 59-97.
- 9) 吉原眞: 千葉医学会誌, 13, 昭10(1935), 1490-1562.