百日咳菌の菌型分類について

第3報 因子分析と吸収試験とによる抗原分析の比較

長 田 富 香

北里研究所 (指導 平野憲正博士)

(指導 高橋暁正博士)

〔受付: 8 月 15 日 1953 年〕

緒 言

第1報に於て、百日咳菌 70 株中より代表的と思われる 11 株を選んで作った 11 種類の免疫血清と、70 株の菌との交叉凝集反応を行い、この実験成績に Holzinger, Harman^{1), 2)} の因子分析法の適用を試みた。即ち凝集価をもとにして、因子負荷量、更に因子得点を計算することにより、夫々の血清及び菌に 4 つの種類 (F_1 F_2 F_3 F_4 及び K_1 K_2 K_3 K_4) の抗体及び抗原と、その含有量に該当すると考えられる数値を推定することが出来、各菌株における 4 つの因子の因子得点 (抗原組成を表わすと考えられるもの) のベクトルの型により、70 株の百日咳菌を次の如く分類することが出来た。

- 1) 4 つの因子共に殆んど平均値に均しく同じ程度に有っているもの、70 株中 37 株 (第 I 型とす)
- 2) 4 つの因子の内のいくつかの因子が平均値からかけ離れた値を示すもの、即ち 1 シグマー以上の値を示すもの、70 株中 33 株 (第 II 型とす) の 2 型に大別した。

第2報に於ては、これらの数学的に分類せられた 2 型が生物学的性状と如何なる関係にあるかを調べ、普通寒天及びブイヨン培地に於ける発育の有無、菌形態の変化等については推計学的に明かに有意な差を認め、生物学的性状とも一定の関係のある事を報告した。

本報に於ては、このような因子分析法による分類が、果して従来細菌分類の手段とされて来た吸収試験と如何なる関係にあるかを追求した結果を報告する。

研究方法

I) 交叉吸収試験の実施方法

因子分析の行われた 11 種類の免疫血清の各々を、11

株の菌で交叉的に吸収し、その吸収血清につき、元の 11 株の菌との交叉凝集反応を行い、吸収状態を観察した。免疫血清は 40 倍稀釈とし、ボルデージャング培地に 37°C で 72 時間培養した菌を、1 cc 当り 270 bil の割合に加え (光電比濁計による) 37°C に 3 時間放置し (その間 30 分毎によく振盪する)、後 9000 廻轉 30 分遠心沈澱した上清につき、11 株の菌と交叉凝集反応を行つた。成績の判定は 37°C に一夜放置し、室温に 3 時間静置後行つた。

II) 因子分析法による抗原分析と、吸収試験による抗原分析との比較方法

吸収試験に於ては、11 種の各血清の凝集価がまちまちであるため、吸収後の血清の凝集価が、吸収前の、吸収菌に対する凝集価の 2^{n-4} ($1/16$) 以下になつたものを 0, 2^{n-3} ($1/8$) のものを 1, 2^{n-2} ($1/4$) を 2, 2^{n-1} ($1/2$) を 3 としてその吸収程度を示した。

因子分析法に於ては、各血清の抗体構成及び各菌の抗原構造を示すと考えた数値、即ち因子負荷量 (第1報の第3表参照) 及び因子得点の値が、各因子毎に平均値からどの位へだたっているかを、その標準偏差 (σ) シグマーを物指しとして計り (第1表) シグマー (σ) 尺の読みが 0.5 以上のものは抗原及び抗体の力価が大で、抗原抗体反応に於ける主役を演ずるものと考えた。0.5 シグマー (σ) 以下のものは、より大きな因子の影響が強いためその作用は現れないものと解釈することとした。従つて例え

OSADA, Fuka: On the classification of *H. pertussis*. III. On the comparison of Holzinger's factor analysis and antigenic analysis by absorption tests. Kitasato Institute for Infectious Diseases —Jap. J. of Bact., 8(7), 763-767, 1953.

第 1 表

(1) 各血清の因子負荷量

(シグマ尺による測定)

血清	因子	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄
1	1	1	-1.5	-2	-0.5
2	1	1	0.5	-1.5	1
3	0.75	0.75	-1	2	3
4	0.75	0	0	-0.5	-0.75
5	1	0.75	-0.5	-0.5	-2
6	1	-2	1.5	-0.5	-0.5
7	-0.5	-0.5	-0.5	-1	1.5
8	-0.5	0.5	-1.5	1.5	-0.5
9	-1.5	2	-0.5	-0.5	-0.5
10	-2	1	1	-0.5	0.5
11	-2	1	1.5	0.5	

(2) 各菌株の因子得点

(シグマ尺による測定)

菌株	因子	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄
1	1	1	0.5	1	1
2	-0.5	0.75	-0.5	1	
3	0.5	-0.5	-0.5	-1.5	
4	0.75	-0.5	0.5	0.5	
5	0.75	0.5	0.5	-2	
6	0.5	-0.5	-0.5	-0.5	
7	0.5	-1.5	-3	-0.5	
8	1	0.5	-0.5	1.5	
9	-3	-0.5	-0.5	-2	
10	-2	2	1.5	-0.5	
11	-2	1.5	1	1	

第 2 表 因子分析と吸収試験との抗原分析の比較 (1 例)

No. 2 血清の場合

No. 2 血清の因子負荷量 $\begin{cases} K_1=0.89(1 \text{ シグマ}) \\ K_2=0.25(0.5 \text{ シグマ}) \end{cases}$

吸収菌	因子分析				吸収試験
	(A)血清の抗体価 (シグマ尺)	(B)菌の抗原価 (シグマ尺)	シグマ尺の差 (A)-(B)	吸収結果の推定	実測
1	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =1 K ₂ =0.5	0	0	0
2	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =-0.5 K ₂ =0.75	1.5 0	1.2	2
3	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =0.5 K ₂ =-0.5	0.5 1.0	*0.6	4
4	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =0.75 K ₂ =-0.5	0.25 1.0	0.4	3
5	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =0.75 K ₂ =0.5	0.25 0	0.2	3
6	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =0.5 K ₂ =-0.5	0.5 1.0	0.6	3
7	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =0.5 K ₂ =-1.5	0.5 2.0	0.8	2
8	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =1 K ₂ =0.5	0	0	0
9	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =-3 K ₂ =-0.5	4.0 1.0	3.3	4
10	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =-2 K ₂ =2	3.0 0	2.3	4
11	K ₁ =1 K ₂ =0.5	K ₁ =-2 K ₂ =1.5	3.0 0	2.3	4

*吸収結果の推定値の求め方 $\frac{0.5 \times 0.89 + 1.0 \times 0.25}{0.89 + 0.25} = 0.6$

ば或血清の第1因子の因子負荷量(血清の抗体価, 第1表の1)が1シグマ(σ)で, 或菌の第1因子の因子得点(菌の抗原力価, 第1表の2)も1シグマ(σ)の場合, この組合せによる吸収試験の結果は理論的には, 陰性(O)と推定される。

同じように或血清の第1因子の因子負荷量(抗体力価)が1シグマ(σ)の血清を, 或菌の第1因子の因子得点(抗原力価)が0.5シグマの菌で吸収した時は, 完全に吸収しきれずに1-0.5=0.5程度の抗体が残るものと推定した。又或る血清に於て2つ以上の因子, 例えば第1因子と第2因子とが0.5シグマ以上である場合は(1例として No.2 血清の場合を第2表に示す) 各々因子負荷量と因子得点とのシグマ尺の読みの差に, 当該血清の第1因子及び第2因子の因子負荷量の数値を重みとして掛け合せ, その積の和を第1因子と第2因子の因子負荷量の値の和で割った値, 即ち, いくつかの因子に由来する所の理論的に吸収しきれない抗体量を比例配分により計算した結果を以て, 理論的吸收程度を示すこととした。かゝる方法で因子分析法

第 3 表

因子分析法による吸収結果の推定と吸収試験成績

血清 No.	No.1		No.2		No.3		No.4		No.5		No.6		No.7		No.8		No.9		No.10		No.11	
	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測	推定	実測
1	0	0	0	0	0.4	2	0	2	0	0	0.1	0	0	0	0	2	1.5	1	0.3	1	0.5	1
2	1.5	3	1.2	2	1.7	4	1.3	4	1.5	2	1.6	4	0	4	0	3	1.3	2	0.7	1	1.0	1
3	0.5	1	0.6	4	1.1	0	0.3	0	0.7	0	0.9	0	0	2	1.0	3	2.5	2	1.5	2	1.7	1
4	0.3	2	0.4	3	0.5	1	0	0	0.5	0	0.4	2	0	2	1.0	4	2.5	2	1.1	1	1.3	1
5	0.3	3	0.2	3	0.5	3	0	2	0	0	0.4	2	0	0	0	4	1.5	1	0.5	2	0.7	1
6	0.5	1	0.6	3	1.1	1	0.3	1	0.7	0	0.9	2	0	2	1.0	3	2.5	2	1.5	2	1.7	2
7	0.5	0	0.8	2	2.0	3	0.3	3	1.0	0	1.5	2	2.0	0	2.0	4	3.5	1	3.1	2	3.4	1
8	0	4	0	0	0.9	4	0	4	0.1	2	0.5	4	0	3	0	0	1.5	1	0.9	2	1.2	1
9	4.0	4	3.3	4	3.3	4	3.8	4	4.0	3	3.5	4	2.5	4	1.0	4	2.5	0	1.5	0	1.7	0
10	3.0	4	2.3	4	2.0	4	3.8	4	3.0	3	2.2	4	1.5	4	0	4	0	0	0	0	0	0
11	3.0	4	2.3	4	2.1	4	3.8	4	3.0	4	3.4	4	1.5	4	0	4	0.5	0	0	0	0.2	0

第 1 図 各血清に於ける共通度 (h^2) と、推定と実際との一致率との相関図

血清	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
共通度 (h^2)	0.84	0.94	0.89	0.56	0.75	0.90	0.12	0.16	0.45	0.76	0.86
推定と実測の一致率	82	100	91	64	64	82	50	55	82	91	91

からの吸収結果の推定を行い、第3表に見る如く、この推定結果と実際に行つた吸収試験による吸収状態を比較し、その一致率を求めた。

研究成績

理論と実験結果との比較成績

吸収は交叉的に行い、更にその各吸収血清につき交叉凝集反応を行つたので 11³の結果につき比較検討を加えたが、こゝでは次の如き代表的な場合につき論ずることとする。即ち、No.1~11の各血清につき、例えばその中の X 血清を No.1~11 菌で吸収し、その吸収血清

と、X 菌との凝集反応による抗体の吸収状態を一覧表にして第3表に示した。

第1表の〔1〕に見る如く、No.1血清については、第1因子のみが1シグマーであるが、之と No.1~11 菌の第1因子抗原のシグマー値を第1表の〔2〕より求めて両者を比較し、理論的な吸収結果の推定を行つた。第3表に見られるように、之と実際の吸収試験成績とを比較すると、No.7 及び 8 菌以外は吸収の程度に多少の差は見られるが両者がよく一致している事が知られる。No.7 及び No.8 菌に於ける吸収は、第I報(II-C)-(b))各血清に於ける共通度と独自度、の項において呈示した如く、($h^2 \ll u^2$)、之等の菌で免疫された血清に於ては因子負荷量に示された4つの因子以外に本分析法では収録される事なく誤差として放置されている因子が特に多いと考えられる事から、不一致の可能性を予想することが出来る。

以下、推定は0であるのに実際は凝集素が残るか、或はその逆の場合を不一致とみなし、一致率を求めると、この場合の一致率は $9/11=82\%$ である。

No.2 血清については(推定方法の一例として、第2表に詳細な推定計算経過を示す表を掲ぐ)、血清の第1因子が1シグマー、第2因子が0.5シグマーを示すので(第1表の〔1〕)、No.1~11 菌の第1、第2因子のシグマー値(第1表の〔2〕)と比較して吸収成績を推定すると、之は実際の吸収試験成績とよく一致している。此の場合に、No.2 血清を No.2 菌で吸収して尙凝集素が吸収しきれないのは、因子分析に於ては第1表〔1〕及び〔2〕に見る如く本血清の第1因子の因子の負荷量は1シグマー以上の高い値を示し、抗体産生力は強いが、本

菌の第1因子の因子得点は -0.5 シグマー以下の低い値を示し、凝集素吸収能又は凝集力が弱いために、この程度(270 bil/cc)の吸収では第1因子が残り、吸収試験成績は、尙陽性(2)を示すものと解釈出来る。この場合に於ける推定と実際の一致率は100%である。

No. 3血清に於ては、第1・3・4因子が 0.5 シグマー以上を示し、推定上、本実験に於ける程度の吸収菌量ではいずれも完全には吸収出来ない筈であるが、実際にはNo. 3菌による吸収のみは完全に吸収されている。第4因子については生物学的性状との対照の場合にも意味がないものとして考慮の外においたが、吸収試験の場合にも第1因子の影響が最も大きく、次で次第に意味が少くなり、第4因子は殆んど無視し得るものと考えられる。従つて第4因子は 0.5 シグマー以上のものも取り上げないこととする。No. 3血清の吸収に於ける推定と実際の一致率は $^{10}/_{11}=91\%$ である。

No. 4血清では、第1因子のみ 0.75 シグマーで、これに基づく推定結果と吸収試験とを比較すると、No. 1・3・5・8菌による吸収の場合には一致しない。即ち推定と実際の一致率は $^7/_{11}=64\%$ である。

No. 5血清に於いては、第1因子が 1 シグマー、第2因子が 0.75 シグマーを示し、凝集反應上は抗原性が強いように見えるが、推定と実際の不一致のものが少ない。推定と実際の一致率は $^7/_{11}=64\%$ である。

No. 6血清の場合は、No. 1及びNo. 3菌による吸収成績については一致しない。推定と実際の一致率は $^9/_{11}=82\%$ である。

No. 7血清は因子、負荷量の値がいずれも平均値に近く、理論上は吸収される筈のものが多くにもかかわらず実際には吸収されていないものが多い。推定と実際の一致率は $^5/_{11}=50\%$ である。

No. 8血清に於いては、第2因子が 0.5 シグマーであるが、第2因子の因子得点の値と比較して、推定結果では吸収される筈のものが、いずれも実際には吸収されない。この場合の推定と実際の一致率は $^6/_{11}=55\%$ である。No. 7、No. 8血清に於ける一致率が特に低い原因は、第1報〔II-c)・(b)及び第4表〕に見る如く、之等両血清は $h^2 \ll u^2$ の値を示し共通度が著しく小さく、こゝに収録された4つの因子以外に他のいずれの血清にも含まれていない別な因子が分析より見逃されていると考えられ、従つて推定では第2因子が吸収され陰性となつても、実際には因子分析による之等第1～第4因子以外の因子が、(それはしかも他の血清には含まれていないものである)で吸収されずに残ることによると考えられる。

No. 9血清は第2因子が 2 シグマーで、No. 9及び11菌による吸収の場合に推定と実験とが一致しない。この場合の一致率は $^9/_{11}=82\%$ である。

No. 10及びNo. 11血清についても、No. 9菌による吸収のみ一致しない。この場合の一致率は $^{10}/_{11}=91\%$ である。

更にこゝに求めた因子分析法により得られた数値による吸収結果の推定と実際の吸収試験成績との一致率に対し、第1報に於て計算した共通度(各血清に於て因子負荷量の4つの因子に収録されている部分の割合)との相関図を作ると、第1図に見る如く両者の間には明かに正相関の存在することを認めることが出来る。又一一致率の50%以下のものがない事を知つた。因子分析に於ける共通度の高い血清程、吸収試験成績と因子分析による推定との一致率が高く、正相関を示すと云う事は、因子分析法の適用による抗原分析の妥当性を暗示するものである。

上述の比較に際して、多少の不一致が見られる原因は1つには因子分析の理論自体にも求められなければならないが、他方出発点に於ける現象の構造に関する想定、即ち、(1)、菌自体の抗原組成と抗体産生量との比例関係(2)抗原抗体反應の特異性(類属反應の否定)等が完全に成立つていない可能性をも考えなければならないのであるが、これは以上の様な多因子模型の因子分析では、誤差として一括されざるを得ないものである。何れにしても平均77.5%の推定と実際の一致率を得たと云うことは、可成り注目に値することであると思う。

小 括

因子分析法を應用した数学的方法により、各菌及び各血清について、抗体及び抗原に該当すると考えられる4つの種類の因子及び対因子の量を計算し、これによつて吸収試験の結果を推定して実際の吸収試験成績と比較した所、No. 7及びNo. 8血清を除くと両者の一致率は100～64% (第1図)の間にあり、平均83%と云う可成り満足すべき一致の見られる事を知つた。No. 7及びNo. 8血清に於ては、第1報の第4表に見る如く $h^2 \ll u^2$ で、即ち因子分析により求められた4つの因子による因子構造では収録される部分が極めて少なく(h^2 =共通度が小)他の血清には含まれていないこれ以外の大きな因子が誤差として因子分析から見逃されている(独自度= u^2 が大)と考えることが出来るので、吸収試験に於てはこれ等の因子を持つていない他の多くの菌による吸収では凝集素が残り、推定と実測の不一致が大である事は予想される。この両血清の一致率を加えると、11種血清に於ける一致率は平均77.5%である。

又理論と実際の一致率を個々の血清について見るといずれも 50 %以上を示し、その共通度との相関図も明かに正相関を示した。

即ち因子分析法による抗原分析の結果によつて、従来の吸収試験による成績を解釈すると、これを可成り合理的に理解することが出来、こゝに得られている因子及び対因子は、実際の抗原抗体に可成りよく対応するものであり、細菌の抗原分析上有力な一手段となり得る事を示すものと考えられる。

即ちこの場合には因子得点の計算により夫々の菌の 4 種類の対因子 (抗原) の量を知る事が出来、第 1 因子が最も強力に主役を演ずる菌群 (第 I 型) と、第 1 因子が著しく小で、第 2, 第 3 因子が 1 シグマ以上の大きい値を示す第 II 型とに大別することが出来た。

菌型分類と病原性について

(第 2 報に対する追加)

代表的な 11 株の百日咳菌について Gundel-Schlüter³⁾の皮内反應を試みた。

ボルデージヤング培地 24 時間培養の菌の生理的食塩水浮游液を作り、モルモットの皮内に 1 bil, 0.5 bili, 0.1 bil, 0.05 bil, の生菌を接種し、6 時間、16 時間、24 時間、48 時間後に定型的壊死反應の発現状態を観察した。

その結果 No. 1~8 の菌はいずれの接種量に於いても定型的壊死を呈し、その程度には大差は無かつたが、No. 9~11 菌に於ては、1 bil. の接種にのみ極めて弱度の反應を見た。

即ち免疫学上より推計学的に大別された II 型菌は、I 型菌に比し遙かに毒性の弱い事を知つた。

考察ならびに総括

我々は 70 株の百日咳菌と 11 種類の免疫血清との交叉凝集反應を行い、70×11 個の測定値から一定の秩序を引き出して之を概観し、比較する事により、分類を行う事を考えた。そのためには従来の吸収試験による抗原の⁴⁵⁾推定とは別な観点に立ち、70 種類の菌の 11 種類の血清に対する凝集價の相関係数を得、之を手掛りとして Holzinger の因子分析法を適用することにより、血清に於ては 4 種類の因子負荷量を、菌については当該 4 種の因子得点を計算した。実験条件より前者は血清の抗体構成を示し、後者は菌の抗原構造を示すものと考え、

従来の吸収試験と比較を行つたが両者の一致率は 77.5% を示し、おゝむねよい一致が見られることを知つた。70 株の百日咳菌は因子分析、吸収試験共に I 型と II 型に大別され、生物学的性状及び病原性についても明かな差異を認め、因子分析法の理論が、細菌の分類に應用出来る事を知ると共に、因子分析の結果からは、更に各菌における 4 つの因子の保有量 (抗原構造) に従つて分類する事が可能であり、特に之により極めて複雑に変異し易い本菌の変異過程を追求する手段を得る事も可能であると思われる。

最近春日⁷⁾等により、本菌には分離後極めて短期間の内に抗原の変異する菌株が多く、或は又稀に相当長期に亘る累代にも安定な株もあり、培養温度、培地の組成等によつても容易に様々な種類の特異性抗原の出現を見る事等が報告された。かくの如く各菌株毎に複雑な抗原構造を示す本菌が、上述の如き生物学的、免疫学的諸現象の数学的方法により分類され、又免疫学上より推計学的に分類された I 型と II 型とが Gundel-Schlüter の皮内反應にも差異を示した事等から考察して、推計学の立場からの細菌の分類は、なお大に攻究すべき問題であると思う。

拙筆に当り御懇切なる御指導と御校閲を賜わりし恩師平野先生並びに東京大学物療内科教室高橋先生に深甚なる謝意を捧ぐ。本実験に於ける山田昇氏の御協力を厚く感謝す。

(本研究は、厚生科学研究費の補助によりなされたものである事を附記して衷心より感謝する。)

文 献

- 1) Holzinger, K. J. & Harman, H. H.: Factor analysis, a synthesis of factorial methods., Chicago Univ. Press, 1941.
- 2) 印東太郎: HOLZINGER, HARMAN の因子分析, 心理学研究, 20, 3, 38-46, 昭 25 (1950).
- 3) Gundel, M. & Schlüter, W.: Zentr. Bakt., Orig., 129, 461-486, 1933.
- 4) 高橋節之助: 成医学雑誌, 49, 35-82, 昭 5 (1930).
- 5) 野崎英勝: 細菌学雑誌, 494, 273-293, 昭 12 (1937).
- 6) Shoetensack, M.: The Kitasato Archiv. Exp. Med., 13, 1, 82-100, 1936.
- 7) 春日忠善, 中瀬安清, 浮島光威: 第 25 回日本細菌学会, 昭 27.