日本脳炎免疫抗体の母親ラツテから新生仔への 移行に関する研究

石 黒 和 彦*

KAZUHIKO ISHIGURO: STUDIES ON TRANSMISSION OF ANTIBODY
AGAINST JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS FROM MOTHER
TO HER NEW BORN RATS.

[受稿 1月16日 1956]

ま え が き

免疫抗体が母親から新生児(仔)へどのようにして移行するかについては、古くから種々の抗体について、種々の動物を用いて実験が行われ、その報告は枚挙にいとまないほどである。それらの報告を要約すると、母親から新生児(仔)への移行経路として一般に胎盤と乳腺とが挙げられた。しかし胎盤の組織構造は動物の種類により異なり、母体血行と胎児(仔)血行とを隔てる組織層の数の少いものほど抗体はより容易に胎盤を通過して胎児(仔)へ、またその組織層の多いもの程、抗体は胎盤を通過し難く、主に乳腺を介して移行すると云われた(Schneider 等¹⁾, Mason等²⁾, Parish³⁾, 平野⁴⁾, 真柄⁵⁾, 安東⁶⁾)。例えばMason等の報告によると、豚ではこの組織層が5層からなり、抗体の胎盤通過は陰性であるが、乳腺を介して陽性に移行し、これに反し齧歯類、猿、人間ではこの層が1層で抗体の胎盤通過は陽性であるが乳腺通過は僅少であると云われている。

しかし同じ動物でも、抗体の種類が異なると抗体の母親から新生児への移行が異なることが報告されている。例えば真柄門下の川平⁷⁾は人間において、抗毒素は胎盤を極めて容易に通過するが乳腺を僅かしか通過せず、之に反し凝集素の胎盤通過は著しく困難であるがその乳腺通過は極めて容易であると述べ、また平野門下の良田^{4,7,8)}はインフルエンザ中和抗体は母血よりも臍帯血の方が多いが、痘毒及び流行性脳炎の中和物質、細菌凝集素及び溶血素ではこのような現象は見られなかつたと報告した。Florman等⁹⁾は母血と臍帯血とについて実験しムンプスウイルスの補体結合抗体及

び血球凝集抑制抗体は母児殆ど同等の価を示すが、連鎖球菌 MG 株凝集素では児は母の1/4以下の価を示したと述べている。因みに胎盤を通過する抗体量は、抗体の種類によつて異なるが、一般には児(仔)と母親とはほぼ等しいか、児(仔)が幾分少ない。しかし人において或る種の抗体、例えばインフルエンザ中和抗体(良田⁷⁾)、ジフテリア抗毒素(真柄等¹⁰⁾, Barr等¹¹⁾) (モルモットについて同様の報告がある小野¹²⁾)、葡萄球菌溶血素(Bryce¹³⁾)、葡萄球菌抗毒素(Murray¹⁴⁾)、急性灰白髄炎及び日本脳炎(北岡・三浦^{15,16)}、北岡・石黒¹⁷⁾)等では、逆に児の方が高いと報告されている。また抗体と関係の深い血清殺菌力(柳沢¹⁸⁾)、γグロブリン(鍋倉¹⁹⁾, 沢崎²⁰⁾)についても児の方が高くなっている。

日本脳炎ウイルスに対する中和抗体の母児(仔)移行問題については、既に竹内²¹⁾、栗山等²²⁾、瀬川²³⁾、良田⁸⁾、北岡・三浦^{15,16)}は人の分娩時の母血と臍帯血とを比較し、また北岡・石黒¹⁷⁾は妊娠初期から満期分娩までの全経過における母血と胎児組織乳剤、臍帯血とについて検索し、また動物においても、三田村等²⁴⁾(馬、犬、家兎、モルモット)、栗山等²⁵⁾(家兎、モルモット)、高木等²⁶⁾(家兎)、北山等²⁷⁾(犬)、鎌田²⁸⁾(家兎)、北岡・三浦等²⁹⁾(馬)、北岡・大久保等³⁰⁾(牛、綿羊、山羊)の報告がある。いづれも抗体の胎盤通過を認めている。しかし乳腺通過の問題については人の乳汁内に中和抗体が証明された(北岡・三浦³¹⁾)のみで、深い研究が未だ発表されていない。そこで著者は日本脳炎免疫抗体の胎盤通過を再検討すると共に乳腺通過の問題をとり挙げ、ラッテについて能動免疫受動免疫、交換哺乳及び抗体経口投与を行った。

* 国立予防衛生研究所研究生(指導 北岡正見部長)

中和抗体について

能動免疫による実験

ウイルス感染後の免疫について母仔抗体移行を追及した。感染免疫には生ウイルスを用いた。この際ラッテは日本脳炎に対し不感受性であるから発症は認められない。但し中和抗体及び血球凝集抑制抗体は産生される。

実験方法

免疫抗原：本教室保存株 GI 株を用いた。本株はマウス脳内累代110～150代のもので、市販のマウス（体重凡そ10～11g）に接種後定型的に発症したものを採脳し、その生理食塩水10%乳剤の3,000 rpm 10分間遠心上清を免疫抗原とし、用に臨み新たに作成した。なおそれらの毒力は凡そ 10^{-7} ～ 10^{-8} であつた。

免疫及び妊娠：体重凡そ150～200gの成熟雌ラッテ9匹を4匹と5匹の2群に分け、第1群は分娩前に免疫を行い、第2群は分娩後哺乳中に免疫を行つた。即ち第1群は上記免疫抗原の0.5 cc 宛を数日の間隔をおいて、4～13回皮下に接種し、傍ら成熟雄を同居させて妊娠分娩を待つた。分娩時期を予め正確に知ることが出来なかつたので、最終免疫日は分娩前15日から分娩前

日の間に亘つた。分娩の発見次第エーテル麻酔の下に母親から心臓穿刺により無菌的に凡そ1cc 採血し血清を分離した。分娩時の仔1匹の体重は凡そ5gで、それからの採血は容易でない。しかし四肢を固定し胸廓を開き、心臓穿刺により無菌的に凡そ0.1cc 採血出来る。全同胞仔の血液を一括し所要の血清を集めた。第2群は無処置のまま妊娠させ、分娩後、3週間の哺乳期間中に6～10回に亘り、第1群と同様に能動免疫を行つた。分娩後3週まで毎週母仔から採血し、その後は母親と別居させ、それら離乳仔から分娩後5～7週まで毎週採血した。哺乳中の母親から採血する場合、心臓損傷による死亡を避けるため、1回的心臓穿刺で採血出来ない場合は次週まで待つた。仔は3週以後となると一部採血が可能となるが、こゝでは肝臓その他を別の実験に供するため、そのつど全採血した。従つて6週以後の材料のないのは出産仔の少い場合である。1ラッテから採集した血清は最後の血清を得るまで待ち、1系列を揃えて同時に中和試験を行つた。その期間血清は氷室に保存された。

中和試験：術式は北岡³⁾の記載に準じた。分娩時の仔血清には量の少いものがあつたので、被検血清を一律に2倍に稀釈して用いた。但し第2群の中には原血

Table I Transmission of antibody from mother rat immunized before delivery to her new born

Designation of rat	N. T. (H. A. T.) ※		Immunization	
	Before immunization	Delivery	Injections	No. of days from last injection to delivery
R16 Mother Babies	<1.0	2.3 1.1	7	1
R17 Mother Babies	0.1	1.1 (80) >2.1 (<40)	11	4
R21 Mother Babies	0.1	2.1 1.6	11	12
R42 Mother Babies	0.8 (<40)	2.8 (640) 1.0 (80)	4	4
R42' Mother Babies	0.8	2.8 3.7	13	15

※ N. T. : Neutralizing antibody titer

H. A. T. : Hemagglutination inhibiting antibody titer

清のまゝ用いたものがある(第2表註)。免疫前の母血清を対照とした。不明死ら多い中和試験は反復した。因みにこゝでは中和指数の対数で抗体価として表示してある。

実験成績

第1群の成績は第1表に掲げた。4匹のラッテのうち、R16は分娩前日までの間に凡そ6日間隔、7回免疫接種を受けたが、接種開始前及び分娩時の母親の抗体価はそれぞれ<1.0及び2.3で、分娩時の新生仔の抗体価は1.1を示した。R17は分娩前4日までの間に凡そ6日間隔で11回免疫接種を受けたのであるが、免疫前及び分娩時の母親の抗体価はそれぞれ0.1及び1.1、仔のそれは>2.1であつた。分娩前12日までの間に凡そ3日間隔で11回免疫したR21の抗体価は、免疫前0.1、分娩時2.1で、その仔のそれは1.6を示した。分娩前4日までの間に凡そ6日間隔で4回免疫したR42の抗体価は免疫前0.8、分娩時2.8、でその仔のそれは1.0であつた。R42'はR42と同一ラッテで第1回分娩後更に次ぎの分娩前15日までの間に凡そ6日間隔で13回免疫して妊娠したもので、分娩時の抗体価は2.8、その仔のそれは3.7を示した。

第2群は5匹のラッテを用いて行われ、分娩後最初の1週間は連日接種し、次いで哺乳期間中2~3日間隔

で接種した。第2表に示すようにR1では免疫前、分娩1週及び3週後の抗体価はそれぞれ<0、>2.3及び2.0であつた。この親で哺乳された仔群を分娩後7週まで逐週的に殺し抗体価をみたところ、それぞれ0.5、1.7、>2.3、0.8、1.2、<0.3及び<0.3となり、個体差はあるとしても、第3週は最高であつた。R2の免疫前及び分娩3週後の抗体価はそれぞれ<0及び2.4で、その哺乳仔の2週から6週に亘る抗体価はそれぞれ0.6、2.1、1.3、0.7及び0.8で第3週が最高を示した。R4の免疫前及び分娩2週後の抗体価はそれぞれ<1.0及び1.6で、その仔の哺乳2週後の抗体価は1.3を示した。本例は母親が採血時の損傷で死亡したので実験は中断された。R8の免疫前及び分娩3週後の抗体価はそれぞれ<0及び2.3で、その仔の2週から5週までの抗体価はそれぞれ0.5、0.5、>0.3及び1.3で第5週が高く出た。R21の免疫前、分娩後1週から3週までの抗体価はそれぞれ<1.0、2.2、3.2及び3.3で、その仔の哺乳第1から第5週に至る抗体価はそれぞれ1.3、1.8、1.6、0.8及び2.1であつた。

以上第1及び第2群の成績を要約すると、第1群の実験において分娩時の母の抗体価は免疫前のそれに比して上昇していることは否めない。また後述の交換哺乳で示すように無処置親からの新生仔の血清内には1.0以上の抗体は証明されないが、ここでは分娩時の新

Table II Transmission of antibody from mother rat immunized during lactation period to her new born

Designation of rat		N. T. (H. A. T.)							Immunization (Injections)	
		Before immunization	Weeks after delivery							
			1	2	3	4	5	6		7
R 1*	Mother Babies	< 0	>2.3 0.5	2 1.7	2.0 >2.3	4 0.8	5 1.2	6 <0.3	7 <0.3	10
R 2*	Mother Babies	< 0	2.4 0.6 2.1 1.3 0.7 0.8							8
R 4*	Mother Babies	<1.0	1.6 1.3							6
R 8*	Mother Babies	< 0	2.3 0.5 0.5 <0.3 1.3							9
R21	Mother Babies	<1.0 (<40)	2.2 (<40)	3.2 (40)	3.3 (40)					10
			1.3 (<40)	1.8 (<40)	1.6 (<40)	0.8 (<40)	2.1 (<40)			

※ Neutralization test on undiluted serum

生仔の血清内にいづれも1.0以上、殊にR17及びR42'ではそれぞれ>2.1及び3.7という母よりも高い抗体価が認められた。第2群の実験において、R21を除く4匹のラッテでは原血清を用いたとは云え、分娩後の免疫によつて抗体価の上昇が認められ、それらによつて哺乳された仔の血清内にも分娩2乃至3週後に最高の抗体価が認められ、次いで逐次的に低下し殊に離乳によつて消失の傾向がみられた。分娩後1~2週の血清は数匹の仔の混合であつたが、3週以後では各1匹宛となり従つてR1の仔でみられるように個体差と思われる成績が認められた。

以上の所見は、母親の抗体が妊娠中に胎盤或は乳腺を介して新生仔に移行するようであるが、それには次ぎの点を明かにする必要がある。先づ証明された陽性抗体価が悉く特異的抗体であること、次いで第1及び第2群の免疫には共に生ウイルスが用いられ、そのウイルスが胎盤或は乳腺を介して仔に移行し、仔の体内で抗体を産生するのでないかとの疑問である。しかし今日では抗原の胎盤及び乳腺の通過は否定され (Parish³⁹)、日本脳炎ウイルスについても家兎及びマウス鎌田³⁹、家兎、モルモット及びラッテ (北岡³⁹) の実験において胎盤通過が否定された。しかし Rh 因子による胎児の赤芽細胞症はその成因機構として Rh 抗原が胎盤を通過することによつて説明され、また妊婦の風疹感染による奇形児の出産は風疹ウイルスの胎盤通過によると考えられ³⁹、真柄³⁹もジフテリア免疫の場

合、母に注射された抗原が胎盤を透して児に移行し、胎児は抗体を産生する能力があると述べている。

受動免疫による実験

生ウイルスを用いる能動免疫実験のみでは抗体が確実に胎盤乃至乳腺を通過するとの証明にならないので受動免疫実験を行つた。使用免疫血清が異種血清であると胎盤を通過しないといわれる (Hartley³¹) ので免疫ラッテ血清を作つて実験を行つた。

実験方法

免疫血清：成熟ラッテを用い能動免疫した。1匹のラッテからは凡そ3~4 cc しか血清が得られないので2~3匹の分を混合して実験に用いた。また実験列毎に異なつた免疫血清が用いられたが、それらの抗体価は第3及び第4表に掲げてある。1日1回4~7cc宛を1回乃至連日3日間背部皮下に接種した。

免疫及び妊娠：1群は妊娠末期に、他の群は哺乳中にそれぞれ受動免疫を施した。第1群では分娩日を正確に予知出来なかつたため、最後の血清接種が分娩前1~5日に亘つた。分娩発見次第母及び新生仔から採血した。第2群では無処置のまゝ分娩を待ち、分娩後1~10日から免疫血清を1日1回、1~3回連日皮下に接種し、最後の接種から主に翌日母仔より採血した。因みに同胞新生仔のうち数匹を残し、そのまゝ哺乳させ更に10~20日後再び母仔より採血した。

中和試験：免疫前の母親血清を対照とし、上述の方

Table III Transmission of antibody from mother rat passively immunized before delivery to her new born

Designation of rat	N. T. (H. A. T.)		Immunization		
	Before immunization	Delivery	N. T. (H. A. T.) of immune serum	Dosage (cc)	No. of days from injection to delivery
R29 Mother Babies	0.2	>1.8 1.7	>1.8	8	2, 1
R33 Mother Babies	< 0 (< 40)	1.7 (80) 1.3	>1.8 (640)	7	1
R36 Mother Babies	0.6 (< 40)	3.4 (< 40) 1.1 (< 40)	2.8 (320)	5	3
R45 Mother Babies	0.5	0.5 0	0.5	10	6, 5

法で中和試験が行われた。

実験成績

第1群では第3表に示すように母親ラッテ4匹中、R29には >1.8 の抗体価血清8ccを2回に分けて接種したところ、接種前の血清抗体価0.2のものが分娩時には >1.8 に上昇し、新生仔は1.7を示し、R33に免疫血清7ccを1回接種したところ免疫前の抗体価 <0 のものが分娩時1.7となり、その仔は1.3を示した。またR36に免疫血清5ccを1回接種したところ免疫前の抗体価0.6のものが分娩時には3.4、その仔は1.1であつた。因みにR45に抗体価の低い免疫血清10ccを2回に分けて接種したが、母仔共に抗体価の上昇は認められなかつた。

第2群の5匹の母親ラッテに対しては、その分娩を待つて種々の時期に免疫血清を接種した。第4表に示す如く、R17では分娩10日後に抗体価4.5の免疫血清5ccを接種したところ、接種前の抗体価0.1の母親が1.6に上昇したが、これによつて哺乳された仔の抗体価は0.6であつた。R33では分娩当日とその翌日の2回にわ

たり、抗体価 >1.8 の免疫血清計4ccを接種したところ、母親の抗体価は接種前0.8のものが >1.8 に上昇、その仔のそれは1.3を示した。しかし20日後には母親の抗体価は0.6、仔のそれは1.0となつた。R37でも免疫血清の接種後、接種前の母親の抗体価 <0 のものが1.6となり、仔のそれは1.1であつた。しかし12日後には母親の抗体価は0.2、仔のそれは0となつた。R41の免疫前の抗体価は <0 であつたが免疫血清接種後は >1.0 となりその仔のそれは1.1で、更に12日後には、母仔の抗体価はそれぞれ0.9及び1.1となつた。R44の免疫前の抗体価は0.7であつたが免疫血清接種後には >3.8 、仔のそれは3.0となり、更に10日後でも母の抗体価は2.7、仔のそれは2.2であつた。

以上第1及び第2群の成績を要約すると、母親をその妊娠末期に一定力価のある免疫血清で受動免疫すると、母親において抗体の上昇が、新生仔においてもその存在が証明されるが、力価のない血清を接種したのでは、すべては陰性であつた(R45)。また哺乳中の母親を分娩後種々の時期に一定力価のある免疫血清で受動免疫し、母仔血清内の抗体価を比較すると、母親

Table IV Transmission of antibody from mother rat passively immunized during lactation period to her new born

Designation of rat	N. T. (H. A. T.)			Immunization			No. of days after delivery when blood sample was taken	
	Before immuni- zation	After immunization		N.T.(H.A.T.) of immune serum	Dosage (cc)	Day of in- jection, co- unted from delivery	I	II
		I	II					
R17 Mother Babies	0.1	1.6 0.6		4.5	5	10	13	
R33 Mother Babies	0.8 (<40)	>1.8 (80) 1.3 (<40)	0.6 (<40) 1.0 (<40)	>1.8 (640)	4	1, 2	3	23
R37 Mother Babies	< 0 (<40)	1.6 (160) 1.1 (<40)	0.2 (<40) 0 (<40)	2.1 (640)	10	4, 5	6	18
R41 Mother Babies	< 0	>1.0 1.1	0.9 1.1	2.1	10	3, 4	5	17
R44 Mother Babies	0.7 (<80)	>3.8 (80) 3.0 (<40)	2.7 (<40) 2.2 (<80)	3.2 (640)	15	3, 4, 5	7	17

において抗体価の上昇が、また新生仔にもその出現が認められ、また母親の抗体価の低下と共に新生仔でも抗体が証明されなくなった。この際抗体の新生仔血清内への移行の難易と分娩後の日数との間に或る関係が存するようであるが更に検討を要する。また接種免疫血清が母親ラッテ体重の1/10以下であるに拘らず第1群の R36 及び第2群の R44 の抗体価は接種免疫血清のそれよりも高く出たことは今後検討さるべきである。

交換哺乳による実験

受動免疫により日本脳炎中和抗体がラッテの胎盤を介し、或は乳腺を介して新生仔に移行することはほぼ立証されたが、更に交換哺乳によつてこれを裏書きしようとした。即ち免疫母親から生れた仔を、分娩後直ちに無処置母親で哺乳させ、他方において無処置母親から生れた仔を免疫母親で哺乳させ、抗体が妊娠中に

Table V Antibody of suckling rat through cross lactation between immunized and healthy mother rat

Experiment number	Designation of rat	N. T. (H. A. T.)						Immunization	
		Delivery	Days after delivery					Injections	No. of days from last injection to delivery
			10	20	30	40	50		
1	Mother	R 16(+)	>2.1	2.0				12	10
		R 24(-)	0						
	Babies	(+)(-)※	0.8	0.9	0.5	0.5	< 0		
		(-)(+)	1.6	1.6	1.6				
		(+)(+)	2.1		0.9				
		(-)(-)	0.7						
2	Mother	R 42(+)	3.8 (320)	>1.8 (80)				11	4
		R 43(-)	0.8 (<40)						
	Babies	(+)(-)	>1.8 (<40)	>1.8 (<40)	1.5 (<40)	0.7			
		(-)(+)	>1.8 (160)	>1.8 (80)	1.7 (40)	>1.8 (<40)			
		(-)(-)	0.8 (<40)						
3	Mother	R 21(+)	>1.8 (320)		>1.8 (320)			23	5
		R 47(-)	0.7						
	Babies	(+)(-)	1.6 (<160)	>1.8 (<80)					
		(-)(+)	>1.8 (80)	>1.8 (40)	1.7 (<40)	1.0 (160)			
		(+)(+)		1.7	>1.8				
		(-)(-)			0.6 (<40)				
4	Mother	R 21(+)	>1.8 (320)		>1.8 (320)			23	5
		R 48(-)	0 (<40)						
	Babies	(-)(+)	<1.8 (80)	>1.8 (80)	1.6 (<40)	1.7 (<40)			
		(-)(-)		1.0 (<40)					

※ Suckling rat borne by R16(+) and suckled by R24(-)

胎盤を介して胎仔に移行するか否か、また哺乳によって乳腺を介して新生仔に移行するか否かを追及した。

実験方法

交換哺乳：4実験例が行われた。即ち無処置ラッテが分娩した場合、その新生仔を2群に分け1群はそのまま哺乳をつけ、他群は能動免疫妊娠ラッテの分娩を待つてこれに哺乳させた。またその能動免疫ラッテの新生仔を2群に分け、1群をそのまま哺乳させ、他群を上述の無処置分娩ラッテに哺乳させた(第5表)。第1から第3実験例では無処置ラッテの分娩日は能動免疫ラッテのそれより2日早かったが、第4実験例では無処置ラッテの分娩日は能動免疫ラッテのそれより10日後のものである。また免疫母親の新生仔と無処置母親のそれとは前者の尾を結紮することによつて区別した。かくして各実験例は免疫親とその新生仔、無処置親とその新生仔が互に交換され、4系列に分れることとなるが、第2実験例では免疫親の仔をそのまま哺乳させたものがすべて親に殺されたため1系列が欠け、また第4実験例では免疫親が第3実験例と共通であるが無処置親の分娩が免疫親のそれより10日後になったため、免疫親の分娩直後の新生仔を無処置親につけることは不可能となった。

血清採取及び中和試験：免疫親からは分娩時、分娩後10日、20日(30日)に、また無処置親からは分娩後にそれぞれ採血した。各系列の仔からは出来得る限り分娩後10日毎に、最長50日まで採血した。これらの血清について上述の方法で中和試験を行った。

実験成績

第1実験例R16(+)と**R24(-)**：免疫親R16(+)の抗体価は分娩時、分娩10日後共に >2.1 で20日後には2.0となった。無処置親R24(-)の抗体価は分娩時0であつた。なお表中の仔で前の括弧内は新生仔の産みの親を、後の括弧内はその哺乳親を、また+は免疫、-は無処置を示してある。その結果(+)(-)では分娩後10、20、30、40及び50日にはそれぞれ0.8、0.9、0.5、0.5及び <0 となり、(-)(+)では分娩後10、20及び30日は共に1.6、(+) (+)では分娩後10及び30日にはそれぞれ2.1及び0.9となり、(-)(-)は分娩後10日の抗体価が0.7であつた。

第2実験例R42(+)と**R43(-)**：R42(+)の抗体価は分娩時3.8、20日後 >1.8 で、R43(-)のそれは分娩時0.8であつた。仔の抗体価をみると(+) (-)で

は分〇後10日、20日、30日及び40日にはそれぞれ >1.8 、 >1.8 、1.5及び0.7、(-)(+)では分娩後10日、20日30日及び40日にはそれぞれ >1.8 、 >1.8 、1.7、 >1.8 であつた。(-)(-)は分娩後10日に0.8を示した。

第3実験例R21(+)と**R47(-)**：R21(+)の抗体価は分娩時、分娩後30日共に >1.8 で、R47(-)のそれは分娩時0.7であつた。仔の抗体価についてみると、(+) (-)では分娩後10日1.6、20日 >1.8 で、(-)(+)では分娩後10日、20日、30日及び40日にはそれぞれ >1.8 、 >1.8 、1.7及び1.0を示し、(+) (+)では分娩後20日及び30日はそれぞれ1.7、 >1.8 で、(-)(-)では分娩後30日に0.6の価を示した。

第4実験例R21(+)と**R48(-)**：R21(+)は第3実験例と共通でその抗体価及び(+) (+)のそれは既に述べた。R48(-)の分娩時の抗体価は0であつた。仔の抗体価についてみると(-)(+)では分娩後10日、20日、30日及び40日ではそれぞれ >1.8 、 >1.8 、1.6、1.7で、(-)(-)では分娩後20日1.0を示した。

以上の成績を要約すると免疫親からの新生仔を無処置親で哺乳させるとその新生仔の抗体価は30~40日後に陰転し、之に反し無処置親からの新生仔を免疫親で哺乳させると、抗体価は既に10日にして陽転し、離乳につれて再び下降の傾向がみられた。そして免疫親がその新生仔を哺乳した場合により顕著な所見がみられた。勿論対照として行われた無処置親がその新生仔を哺乳した場合はすべて1.0以下の抗体価であつた。これらの所見は抗体が胎盤を通過し或は乳腺を通過して、胎仔或は新生仔にそれぞれ移行することを物語るものである。

免疫血清経口投与による実験

母親の抗体は妊娠中に胎盤を通過して胎仔に、また哺乳中は乳腺を介して新生仔に移行するとの所見が得られたが、そのうち哺乳による抗体の移行を積極的に証明しようとした。というのは経口的に摂取した場合、抗体は消化管内で消化作用を受けるからである。しかし異種蛋白は新生仔腸管を容易に通過すると云われているので、こゝでは同種の免疫ラッテ血清を用い、分娩後1週及び2週、更に離乳期の3週の仔に経口投与を行つた。

実験方法

免疫血清：ラッテを用い、上述の能動免疫で述べたと同じ方法で0.5 cc 宛隔日3回皮下に接種し、次いで2週間後に追加免疫し、これより10日後に全採血し

た。かくして約40ccの混合血清を用意した。その力価は2.1で、全実験にこの血清が用いられた。

経口投与：無処置雌ラッテ4匹を妊娠分娩、哺乳させ、それぞれの1, 2及び3週令仔に上記の免疫血清（1回の投与量を各週令仔の平均体重、即ち1週12g, 2週18g, 3週24gに比例してそれぞれ0.25cc, 0.35cc, 0.5ccとする）を連日4回に亘つてそれぞれ経口的にゾンデを用いて胃内に注入した。なお乳房による非投与仔への血清汚染を避けるため非投与仔は他の親で哺乳せしめて対照とした。

血清採取及び中和試験：最後の投与の翌日、投与及び非投与の両群の仔からそれぞれ全採血し、上述の方法で中和試験を行つた。因みに採血量の少い場合は同条件の数匹の仔血清を混合して用いた。

実験成績

成績は第6表に掲げてある。1週令のR41の仔の抗体価は非投与仔のそれが0.6であるのに対し、1.3, 1.0及び1.3を示した。R44の1週令仔の抗体価は非投与仔

のそれに比して余り著しい差は認められなかつた。R43からの2週令仔、及びR38からの3週令仔の抗体価も非投与仔のそれに比して幾分高い傾向が認められるが有意の差は認められなかつた。

以上の所見を要約すると、同種免疫血清を平均体重に比例して、1, 2及び3週令仔に経口的に投与したが、使用免疫血清の力価が低かつたためか、分娩直後でないための消化管からの吸収障害によるのか、経口投与によつて抗体価の上昇の傾向が認められるとは云え、積極的な証明は得られなかつた。因みに仔の週令の多くなる程消化管からの吸収が悪くなる傾向があるようである。

考 え 方

ラッテは妊娠中でも能動免疫及び受動免疫によつて抗体価の上昇が認められた。この際認められた中和抗体の悉くは特異的抗体でないとしても、上述の無処置対照母親ラッテやその新生仔において陰性であつたことから、特異的のものとみて大過でないであろう。そ

Table VI Antibody of suckling rat through oral administration of immune rat serum

Designation of mother rat	Age of suckling rat in weeks	Test serum number	Total dosage of immune serum per suckling rat	N. T.	H. A. T.
R 41	1	1	} 0.25 × 4 (Control)	1.3	<40
		2		1.0	<40
		3		1.3	<40
		4		0.6	<40
R 44	1	1	} 0.25 × 4 (Control)	1.0	<40
		2		1.3	<40
		3		1.0	<40
R 43	2	1	} 0.35 × 4 (Control)	1.0	<40
		2		1.0	<40
		3		1.1	<40
		4		1.1	<40
		5		1.1	<40
		6		0.6	<40
R 38	3	1	} 0.5 × 4 (Control)	0.3	<40
		2		<0.1	<40
		3		0.5	<40
		4		0.3	<40
		5		0.3	<40
		6		<0.1	<40
Administration serum				2.1	320

これらの抗体が胎仔或は新生仔にどのような経路で移行するかが問題である。勿論母親ラッテ血液内の抗体量やその持続を考慮すると共に胎盤の構造を念頭に置くべきである。因みにラッテの胎盤は豚のそれと異なり抗体の通過を許すことは既に述べた。この際母親から新生仔へ抗体が移行する場合、その量はどれ程であるか、また新生仔組織はこれら移行抗体に対してどのように作用するかの問題はこゝでは触れない。ただこゝでは新生仔の抗体価が母親ラッテのそれより低いとの所見は、北岡・三浦¹⁹⁾、北岡・石黒¹⁷⁾の人間における報告と一致しないのである。これは人とラッテ、自然免疫と人工免疫、その他種々の因子に基づくのであろう。また能動免疫母親ラッテから生れた新生仔における抗体の起原について、母親に接種された抗原が胎仔或は新生仔に移行し二次的に胎仔或は新生仔内で抗体が作られる可能性は否定出来なかつたのであるが、受動免疫或は交換哺乳実験によつて抗体が胎盤或は乳腺を介して新生仔に移行することは最早や否定出来ない。更にこの乳腺を介して抗体の新生仔への移行を客観的に証明しようとしたが、使用免疫血清の力価が2.1であつたこと、また分娩直後（新生仔週令の多い程抗体通過が困難の傾向が認められた）の新生仔が実験に用いられなかつたこと等のためか、積極的に消化管通過の証左は挙げられなかつた。しかし抗体通過の傾向は認められた。

因みにラッテを用いて実験的に発疹熱の免疫抗体が

乳腺を介して新生仔に移行し（徐³⁶⁾）、またTrypanosoma cruziの免疫抗体も実験的に乳腺を介して移行すること（Kolodny³⁷⁾）が認められ、これらの所見は著者の所見と共に、齧齒類では抗体が乳腺を通過したいとのMason等²⁾の説と相容れないものである。

む す び

ラッテを用い、日本脳炎ウイルスに対する中和抗体が妊娠母親から新生仔へどのようにして移行するかを、能動免疫、受動免疫、交換哺乳及び免疫血清経口投与によつて検討し、次ぎの所見を得た。

- 1) 成熟妊娠ラッテは能動、受動のいずれの免疫によつても抗体価の上昇を示す。
- 2) 母親ラッテの抗体は妊娠中に胎盤を介して胎仔に移行するがその量は概して母より低い。この新生仔の抗体は分娩後直ちに抗体を持たない母親に哺乳させると漸次低下し分娩後40～50日で証明出来なくなる。
- 3) 母親ラッテの抗体は哺乳中に乳腺を介して新生仔に移行し、新生仔は母親と同等又は之に近い抗体を獲得する。この抗体は哺乳中の母親の抗体の低下と共に低下し、また母親の抗体が存続しても離乳後漸次低下する。
- 4) 哺乳中の新生仔に免疫血清を経口的に投与すると1～2週令仔では腸管から吸収される傾向が認められ、3週令仔では殆ど認められなくなる。

附 血球凝集抑制抗体について

日本脳炎の免疫抗体として中和抗体のほかに血球凝集抑制抗体、補体結合抗体が知られている。そこで上述の中和試験で残つた血清について、大綱はSabinの方法に準じて血球凝集抑制試験を行つた。その術式の詳細は近く発表される予定である。試験の正確を期するため毎回正常家兎血清及び免疫家兎血清を対照に置いた。抑制抗体価は凝集の完全抑制を示す血清の最終稀釈倍数で表した。その成績は上述の中和抗体価の第1～6表中に並記してあるが、之を要約すると次ぎの通りである。分娩前の能動免疫によつて母親ラッテに抑制抗体価の上昇が認められ、その新生仔にも抗体が証明される。また哺乳中の能動免疫によつて母親ラッテは陽性となるが新生仔ではいづれも陰性に終つた。分娩前並びに哺乳中の受動免疫では母親は陽性となるが新生仔には陽性は認められなかつた。しかし交換哺乳

試験において無処置親の新生仔を免疫親で哺乳させた場合、第2、3及び4実験列において明かに抑制抗体の移行が認められた。これを実験的に証明しようとした免疫血清の経口投与実験では抑制抗体の出現は認められなかつた。

之を要するに抑制抗体はラッテを能動並びに受動免疫することにより出現証明される。また640の高い抑制抗体価を持つていた母親からの新生仔にも同抗体は証明される。注目すべきことは抑制抗体を持つ母親で、無処置母親から生れた新生仔を哺乳させると、新生仔に同抗体が証明されることである。即ち同抗体は中和抗体と同様に乳腺を介して新生仔に移行することが積極的に証明されたのである。

本報告を終るに当り終始御懇篤なる御指導と本稿の御校閲を賜りし恩師北岡正見部長ならびに実験にあた

り種々御教示と御協力を忝うした三浦博士、徐博士、緒方技官及び教室員御一同に対し衷心より感謝の意を表する。

文 献

- 1) Schneider, L. und Szathmáry, J.: Über die Immunität der neugeborenen Säugetiere, *Zeitschr. für Immunitätsforschung*, **95**, 465-474, 1939. 2) Mason, J. H., Dalling, T. and Gordon, W. S.: Transmission of maternal immunity, *J. Path. Bact.* **33**, 783-797, 1930. 3) Parish, H. J.: Inherited immunity, *Brit. Med. J.* **1164-1168**, 1951. 4) 平野憲正: 新生児の免疫, *血清学免疫学雑誌*, **2**, 295-306, 1941. 5) 真柄正直: 母児免疫について, *医学の進歩*第1輯, 143-167, 1942. 6) 安東洪次: 感染と免疫, 188-191, 1953. 7) 良田圭子: 人血清ヲ以テセル「インフルエンザウイルス」ノ中和試験, *東京女医学会雑誌*, **8**, 3, 54-62, 1938. 8) 良田圭子: 抗体ノ胎盤通過性並ニ初乳ニ於ケル抗体ニ就テ, *細菌学雑誌*, **544**, 400-418, 1941. 9) Florman, A. L., Schick, B. and Scalettar, H. E.: Placental Transmission of Mumps and Streptococcus MG Antibodies, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **78**, 126-128, 1951. 10) 真柄正直, 小豆畑久治: 乳児ノ抗「ダフテリア」先天性免疫ニ就テ, *実験医学雑誌*, **20**, 1517-1607, 1936. 11) Barr, M., Glenny, A. T. and Randall, K. J.: Concentration of Diphtheria Antitoxin in cord blood, *Lancet*, **2**, 324-326, 1949. 12) 小野忠則: 免疫性ノ遺伝ニ関スル研究, *実験医学雑誌*, **16**, 822-858, 1932. 13) Bryce, L. M. and Burnet, F. M.: *J. Path. Bact.* **35**, 183, 1932. 14) Murray, J., Calman, R. M. and Lepine, A.: Transmission of staphylococcal antitoxin from mother to child, *Lancet*, **2**, 14-16, 1950. 15) 北岡正見, 三浦悌二: 新生児とその母親血清の灰白髄炎並に日本脳炎ウイルスに対する中和抗体について, *医学と生物学*, **17**, 171-173, 1950. 16) 北岡正見, 三浦悌二: 母親とその新生児臍帯血の日本脳炎ウイルスに対する中和抗体の比較, *日本脳炎 1949-50*, 100-102, 1951. 17) 北岡正見, 石黒和彦 (未発表) 18) 柳沢義子: 産婦人科領域に於ける血清殺菌力に関する研究, *日産婦誌*, **5**, 1223-1236, 1953. 19) 鍋倉正夫: 産婦人科領域に於ける血漿蛋白の電気泳動

- による研究, *日産婦誌*, **5**, 595-617, 1953. 20) 沢崎千秋: 産科領域に於ける蛋白代謝の研究, *日産婦誌*, **5**, 545-593, 1953. 21) 竹内松次郎: 流行性脳炎病原に関する研究, *東京医事新誌*, 3029, 1155, 1937. 22) 栗山重信他3名: 小児期血清の流行性脳炎病原体に対する中和能力に就て, *東京医事新誌*, 3074, 667-668, 1938. 23) 瀬川功: 流行性脳炎病原体に対する東京地方小児血清の中和能力の年令的差異, *児科雑誌*, **45**, 1519-1538, 1938. 24) 三田村篤四郎他5名: 日本流行性脳炎に於ける血清の殺病毒性物質の特異性並びに消長について, *東京医事新誌*, 3076, 804-809, 1938. 25) 栗山重信他1名: 血清の流行性脳炎病原体中和能力に関する2, 3の研究, *東京医事新誌*, 3145, 1991-1992, 1939. 26) 高木逸磨他3名: 流行性脳炎病原研究, *東京医事新誌*, 3075, 716-723, 1938. 27) 北山加一郎他9名: 昭和13年度夏期脳炎に関する総合的研究要旨, *東京医事新誌*, 3143, 1855-1871, 1939. 28) 鎌田英夫: 日本流行性脳炎ウイルス並びに滅殺素の胎盤透過性に関する実験的研究, *日本医学及健康保険*, 3316, 101-106, 1943. 29) 北岡正見, 三浦悌二, 緒方隆幸, 川村太郎次: 東北地方の馬の脳炎ウイルスに対する中和抗体並に補体結合抗体の季節的変動: *日本脳炎 1949-50*, 102-109, 1951. 30) 北岡正見, 大久保薫, 緒方隆幸, 兼松満造, 山下四郎: 東北地方の牛, 緬羊, 山羊の母と仔の血清の日本脳炎ウイルスに対する中和抗体の比較, *日本脳炎 1950-51*, 27-32, 1952. 31) Kitaoka, M. and Miura, T.: The neutralization test of normal and convalescent human sera in Tokyo, against the mouse-adapted poliomyelitis virus "Lansing" strain, *Jap. Med. J.* **2**, 285-294, 1949. 32) 北岡正見: 日本脳炎の中和試験とその術式, *家畜衛生*, **3**, 1-4, 1950. 33) 北岡正見: 妊娠中ウイルス病が胎児に及ぼす影響, *診療室*, **5**, 751-755, 1953. 34) 真柄正直: 母児免疫の近況, 治療, **34**, 12-15, 1952. 35) Harsley, P.: *Mon. Bull. Min. Hlth.* **7**, 45, 1948. 36) 徐慶一郎: 発疹チフス発疹熱免疫体の母親から新生児への移行について, *日本細菌学雑誌*, **7**, 577-581, 1952. 37) Kolodny, M. H. The transmission of immunity in experimental trypanosomiasis (*trypanosoma cruzi*) from mother rats to their offspring, *Amer. J. Hyg.* **30**, sec. C. 19-39, 1939.