Research, **12**: 246, 1952. 39) Scherer, W. F., Syverton, J. T., Gey, G. O.: J. Exper. Med., **97**: 695, 1953. 40) Syverton, J. T., Scherer, W. F., Elwood, P. M.: J. Lab. & Clin. Med., **43**: 286, 1954. 41) Syverton, J. T., Scherer, W. F.: Ann. New York. Acad. of Sciences, **58**: 1056, 1954. 42) 甲野礼作: 臨床病理, **2**: 356, 1954. 43) Reed, L. J., Muench, H.: Am. J. Hyg., **27**: 493, 1938. 44) Melnick, J. L., Horstmann, D. M.: J. Exper. Med., **85**: 287, 1947. 45) Horstmann, D. M., Melnick, J. L.: J. Exper. Med., **91**: 573, 1950. 46) Howe, H. A., Bodian, D., Morgan, I. M.: Am. J. Hyg., **51**: 85, 1950. 47) von Magnus, H., Melnick, J. L.: J. Immunol., **60**: 583, 1948. 48) Melnick, J. L., Ledinko, N.: J. Immunol., **67**: 213, 1951. 49) Koprowski, H., Jervis, G. A., Norton, T. W.: Am. J. Hyg., **55**: 108, 1952. 50) Melnick,

J. L.: Papers and Discussions Presented at the Second International Poliomyelitis Conference, Philadelphia, Lippincott, 1952. pp. 301. 51) Paul, J. R., Riordan, J. T., Memick, J. L. Am. J. Hyg., **54**: 275, 1951. 52) Winsser, J., Sabin, A. B.: J. Exper. Med., **96**: 477, 1952. 53) 古前敏明, 大原俊夫, 安藤治: ウイルス, 投稿予定. 54) Li, C. P., Schaeffer, M.: J. Immunol., **72**: 123, 1954. 55) Dalldorf, G., Gifford, R.: New England J. Med., **244**: 868, 1954. Sabin, A. B.: J. Exper. Med., **96**: 99, 1952. 57) Kitaoka, M., Miura, T., Hori, K.: Jap. J. Med. Sc. & Biol., **6**: 463, 1953. 58) The Committee on Typing of the national foundation for infantile paralysis: I-V Am. J. Hyg., **54**: 191, 1951. 59) The Committee on Typing of the national foundation for infantile paralysis: VI, Am. J. Hyg., **58**: 74, 1953.

健康児のポリオウイルス3型に対する中和抗体分布の地域的観察

(I) 広島県庄原市に於ける健康(8才)児の血清中和抗体

大 山 昭 郎 ・ 加 藤 陽 治 郎*

AKIO ŌYAMA AND YŌJIRO KATŌ: THE STUDIES ON THE REGIONAL DISTRIBUTION OF THE POLIO NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST THREE TYPES AMONG HEALTHY CHILDREN (I) OF GROUP OF AGE 8 IN SHŌBARA AREA.

[受稿 11月8日1957]

1939年 Armstrong¹⁾ がランシング株ウイルスをマウスに馴化する事に成功し、更にポリオウイルスに対する血清免疫学的研究は、1949年 Enders²⁾ 等が組織培養法に成功して以来長足の進歩を遂げ、本邦に於ても既に2~3^{3)~6)}のポリオウイルス3型に対する中和抗体の年齢分布成績が報告されて居る。此等の成績に依れば全てもポリオウイルスに対する中和抗体保有率は、1~5ヶ月で急激に低下し、6ヶ月から1年の間が最も低く、以後は比較的急激に上昇して7年前後にして一応の水準に達し、以後は除々に上昇するものの様である。そこで我々は、地方に於ける麻痺型、非麻

痺型を含めた意味に於ける Polio の流行状況を明らかにする為に、各年齢別に広く検査する手数を省き、一応中和抗体保有率が水準に達して居ると考えられる特定年齢たる健康(8才)児について、HeLa細胞(Gey)⁷⁾組織細胞に依り血清中和抗体保有率を検索した。然しその一地方とは過去数年間に亘り多数のギラン・バレー症候群を呈する伝染性多発性神経根炎を発生した広島県水呑町を指すのであるが、本編はその対照地域として、最近5ヶ年間全く麻痺型ポリオ患者の発生しなかった広島県庄原市を選び、その健康(8才)児血清について春秋の2回にわたって検索したものの報告で

* 岡山大学医学部小児科教室(主任 浜本英次教授)

ある。

実験材料並びに実験方法

1) 被検血清：

広島県庄原市在住の健康（8才）児38名について、1955年4月30日及び同年9月10日の2回に採取した血清について実験を行った。被検血清は採取後実験に使用するまで4℃以下に保存した。

2) 組織培養：

1951年Gey, G. O.⁷⁾に依って、子宮頸部癌から組織培養に馴化された HeLa 細胞を、国立予防衛生研究所竹森信之博士から分与を得て実験に使用した。細胞培養液は成人血清と Hanks 液の等量混合液を用い、Scherer Syverton^{8)~10)}の方法に依って培養したが、Trypsin 液は甲野礼作氏¹¹⁾に倣ひ特田製薬製トリプシリン10,000 H. U. を50cc. の Hanks 液に溶かしたものを用いた。ウイルス中和実験用の培養液も同じく甲野氏¹¹⁾に従い0.2% Lactalbumin hydrolysate (Nutritional Biochemicals Corp.) Hanks 液溶液を使用した。

なお全ての培養液はペニシリン50 i.u./c.c. 及びストレプトマイシン50μg/c.c. を加えた。

3) ウイルス：

Brunhilde (Type I) M. E. F. 1 (Type II) 及び Leon (Type III) の各株を実験に用いた。Brunhilde 株 (Type I) は国立予防衛生研究所森信之博士から分与を得たもので、予研に於て人胎児組織培養に18代継代し其後更に9代 HeLa 細胞に継代馴化したものである。

M. E. F. 1 (Type II) 株は徳丸匡学士を介し Schaeffer, M. 教授から分与を得たものを8代 HeLa 細胞に継代して実験に使用した。Leon 株 (Type III) は、国立予防衛生研究所北岡正見博士より分与されたもので、予研に於て roller tube 法による人胎児組織培養法に依り19代継代し、更に HeLa 細胞に5代継代して実験に用いた。

尚此等の各株は継代後 Johns Hopkins 大学 Howe, H. 教授より分与を受けたポリオウイルス I II III の各型に対する高度免疫猿血清を用いて型を確かめた後実験に使用した。

之等の株は全れも実験迄にドライアイス中に保存した。

4) ウイルス力価測定：

Hanks 液に依り保存株を10進稀釈し各稀釈を5本づつ増殖した HeLa, 細胞組織培養管に各、0.1c.c. 宛

接種し一週間培養を継続観察して Cytopathogenicity を検査し、T. C. I. D₅₀を Reed and Muench の方法で計算しそのウイルス力価を求めた。

実験に使用した各株のウイルス力価は各

Brunhilde = 5.5, M. E. F. 1 = 4.5,

Leon = 4.5, であった。

5) 中和試験：

被検血清を非働化し、Hanks 液で10倍及び100倍に稀釈し、この各に等量の100 T. C. I. D₅₀/0.05c.c. のウイルス液を混じ、室温に1時間放置する。この混合液の各を、夫々2本以上の適当に増殖した HeLa 細胞試験管に、各 0.1c.c. 宛接種し接種後4日目に細胞を観察し半数以上の試験管について細胞の破壊を防禦した時、その最大の血清稀釈倍数を以て血清中和抗体値とした。

各試験毎に増殖した HeLa 細胞試験管、2本宛に10倍血清 0.05. 及びウイルス液 0.05cc を夫々別々に接種し、各を血清対照並びにウイルス対照とした。又更に何も接種しない HeLa 細胞試験管2本を細胞対照として観察した。ウイルスのみを接種した試験管には4日目に完全な細胞破壊と管壁よりの脱落を認め細胞対照及び、血清対照の試験管には全く変化を認めない時のみを実験成績として記録し、対照の不完全な場合は再実験を行った。

実験成績

庄原地方在住の健康（8才）児38例について1955年4月30日及び同年9月10日の2回採取した血清のポリオウイルス3型、Brunhilde M. E. F. 1 及び Leon 株に対する中和抗体検索の結果は第1表（4月30日採血）及び第2表（9月10日の採血）の如くであり、この結果から10倍以上の中和抗体値を陽性として、各型に対する中和抗体保有率を算出して見ると第3表第I図の如くなる。即ち4月に採取した春の血清に於ては、38例中、第1型 Brunhilde 株に対して27例（71%）、第II型 M. E. F. 1. 1株及び第III型 Leon, 株に対しては共に26例（68%）宛陽性で、各型の中和抗体保有率に著明な差は無かった。

9月に採取した秋の血清に於ける成績を春の血清抗体保有率と比較すると、第II型及び第III型で共に春に陰性であったものの中に各1例抗体が出現して居り、中和抗体保有率が71%に上昇したに止る。然し第1型では7例に新に中和抗体が出現し抗体保有率が18%上昇して89%になって居る。

Table 1 Poliomyelitis Antibodies in 8 Year old children, Shōbara City, Hiroshima Prefecture, April, 30, 1955.

Patient	Serum titer			Patient	Serum titer		
	Type I	Type II	Type III		Type I	Type II	Type III
2	<1:10	>1:100	<1:10	25	>1:100	1:10	1:10
3	1:10	>1:100	<1:10	26	<1:10	<1:10	1:10
4	<1:10	1:10	>1:100	27	>1:100	>1:100	1:10
5	>1:100	>1:100	1:10	28	<1:10	<1:10	>1:100
6	>1:100	<1:10	>1:100	29	>1:100	1:10	<1:10
7	<1:10	<1:10	1:10	31	<1:10	1:10	>1:100
8	>1:100	<1:10	<1:10	32	>1:100	1:10	>1:100
9	>1:100	>1:100	1:10	34	<1:10	>1:100	1:10
10	1:10	1:10	<1:10	35	1:10	<1:10	1:10
11	<1:10	<1:10	<1:10	36	<1:10	>1:100	<1:10
15	1:10	<1:10	>1:100	39	1:10	>1:100	<1:10
16	>1:100	>1:100	1:10	40	>1:100	1:10	1:10
17	>1:100	>1:100	>1:100	41	>1:100	1:10	<1:10
18	<1:10	<1:10	>1:100	42	>1:100	1:10	<1:10
20	<1:10	>1:100	1:10	43	>1:100	>1:100	1:10
21	1:10	<1:10	1:10	44	>1:100	1:10	<1:10
22	>1:100	>1:100	>1:100	45	>1:100	>1:100	>1:100
23	>1:100	<1:10	>1:100	46	1:10	>1:100	>1:100
24	>1:100	1:10	<1:10	47	1:10	<1:10	1:10

Table 2 Poliomyelitis Antibodies in 8 Year old children, Shōbara City, Hiroshima Prefecture, Sept. 10, 1955.

Patient	Serum titer			Patient	Serum titer		
	Type I	Type II	Type III		Type I	Type II	Type III
2	<1:10	>1:100	<1:10	25	>1:100	1:10	1:10
3	>1:100	>1:100	<1:10	26	>1:100	<1:10	1:10
4	<1:10	1:10	>1:100	27	>1:100	>1:100	1:10
5	>1:100	>1:100	1:10	28	1:10	<1:10	>1:100
6	>1:100	1:10	>1:100	29	>1:100	1:10	<1:10
7	1:10	<1:10	1:10	31	>1:100	1:10	>1:100
8	>1:100	<1:10	<1:10	32	>1:100	1:10	>1:100
9	>1:100	>1:100	1:10	34	<1:10	>1:100	1:10
10	>1:100	1:10	<1:10	35	1:10	<1:10	1:10
11	1:10	<1:10	<1:10	36	1:10	>1:100	<1:10
15	1:10	<1:10	>1:100	39	1:10	>1:100	<1:10
16	>1:100	>1:100	1:10	40	>1:100	1:10	1:10
17	>1:100	>1:100	>1:100	41	>1:100	1:10	<1:10
18	<1:10	<1:10	>1:100	42	>1:100	1:10	<1:10
20	1:10	>1:100	1:10	43	>1:100	>1:100	1:10
21	>1:100	<1:10	1:10	44	>1:100	1:10	<1:10
22	>1:100	>1:100	>1:100	45	>1:100	>1:100	>1:100
23	>1:100	<1:10	>1:100	46	1:10	>1:100	>1:100
24	>1:100	1:10	1:10	47	>1:100	<1:10	>1:100

Table 3 Results of Neutralization tests against Poliomyelitis virus in 8 Years old children, Shōbara City, 1955..

Date of bleeding	Number of tested	Type I		Type II		Type III	
		No. of Pos.	% Pos.	No. of Pos.	% Pos.	No. of Pos.	% Pos.
Apr. 30	38	27	71	26	68	26	68
Sept. 10	38	34	89	27	71	27	71

又第Ⅰ型に対する中和抗体は新たに抗体の出現した7例の外に春の血清で10倍陽性であったもののうち4例が秋の血清で100倍以上の中和抗体を示し、抗体値の上昇が証明された。

次に全ての型を通じて、春より秋の血清の方が中和抗体値の低下を認めたものはなかった。以上の結果を更に、どの型の抗体をも持たぬもの、一つの型の抗体のみを持つもの、二つの型の抗体をもつもの、三型全部の抗体を持って居るものの群に別けて見ると、第Ⅳ表の如くなり、全く抗体を認めないものは春の血清に一例認められたのみであった。そしてこの一例も秋の血清では第Ⅰ型の抗体を認めて居るので、秋では全例に何れか一つ以上の抗体を保有して居る事となった。一方全例の1/3では即ち3型全てに対する抗体のある事が解った。

Table 4 Results of Neutralization test against Poliomyelitis virus in 8 Year old children. April 30, and Sept. 10, 1955.

Date of bleeding	April. 30. 1955.		Sept. 10. 1955	
	Number Pos.	Per cent Pos.	Number pos.	Per cent Pos.
No Antibody	1	3	0	0
Antibody for 1	7	18	4	11
Antibody for 2	18	47	18	47
Antibody for 3	12	32	16	42

考 按

著者の一人加藤の調査に依れば、人口33,000人の広島県庄原市には過去5ヶ年間、全く麻痺型ポリオ患者が発生して居らず、この町は地域的にも中国山脈の中央部に位して居り、ポリオウイルス3型に対する中和抗体保有率は、比較的低いものと想像されたのであるが、実験の結果は予期に反して各型の中和抗体を、各70%以上に証明した。単一年令の多数について、ポリオウイルス3型に対する中和抗体を検索した成績の報告が見られない為に、他の成績との比較はやや困難で

Fig. 1 Results of neutralization test against threetypes of poliomyelitis virus in 8 year old children, Shobara City., 1955.

あるが、この成績を既に発表されて居る中和抗体の年令分布成績と比較して見ると次の如くである。

Melnick¹³⁾等は Winston Salem (1948) で7~9才群に於て流行前に第Ⅰ型の抗体保有率30%第Ⅲ型の抗体保有率が57%であるのを見て居り、Hammon等¹⁴⁾も San Franciscoで10~12才群に於て最高40%、Mexico Cityではほぼ70%前後であるのを見た。この値は大略庄原地方と同程度と考えられる。Li¹⁵⁾等の報告では、米国 Georgia 州のThomasvilleの血清は、5~9才群が第Ⅰ型60%、第Ⅱ型75%、第Ⅲ型38.1%の抗体保有率を示して居り、庄原の8才迄の夫よりもや

、低い様である。

又本邦では、この実験と同時に岡大小児科教室の古前等³⁾がLi¹⁵⁾の方法で行った、岡山地方健康小児の抗体分布成績が、5～9才群に於て各第Ⅰ型、45.8%第Ⅱ型66.7%、第Ⅲ型29.2%を示して居り、庄司⁴⁾に依る東京地方の夫では4～7才群で第Ⅰ型75%、第Ⅱ型80%、第Ⅲ型70%、同じく庄司⁵⁾に依る札幌の成績は第Ⅰ型60%、第Ⅱ型80%、第Ⅲ型67%、又巽氏等⁶⁾の大阪地方では7～9才群で第Ⅰ型50%、第Ⅱ型66.7%、第Ⅲ型63.3%である。庄原地方のポリオ3型に対する中和抗体分布率を、此等の成績と比較してみると、東京地方よりは、低く、岡山地方、札幌地方等とはほぼ同程度と考えられ、庄原地方にも広くポリオウイルス3型の徹布が有った事が解った。

次に春と秋の血清を比較して見ると先づ注目される事は、第Ⅰ型の中和抗体保有率に著明な変動を認める事である。

此の抗体値の上昇は、他型感染に際して起るheterotypicの抗体^{6,7)}出現をも考慮しなければならず、その全てを第Ⅰ型ウイルスの感染に帰せしめる事は出来ぬかもしれないが、第Ⅰ型に対しては、38例中7例について新に中和抗体が出現し、4例で既存の抗体価の上昇が認められておるのに反し、第Ⅱ型第Ⅲ型の中和抗体の変動が殆んど認められ無いので、1955年4月から9月の間に庄原地方ではこの第Ⅰ型ポリオウイルスの小流行が有った事が考えられる。次に第Ⅱ型及び第Ⅲ型に対する中和抗体は、各1例づつ、春に陰性であったものが秋の血清では10倍陽性となって居る。これは夫々の型のウイルスの感染に依って獲得したものか、或はSabin¹⁶⁾ Miller¹⁷⁾等の認めているheterotypicの抗体出現に依るものかは、長期の観察を行うか、或は病毒分離実験を同時に行わねば之を決定する事は困難であろう。又第Ⅱ型第Ⅲ型では既存中和抗体値の上昇を認めたものも無く秋の血清で全く陰性のものがなほ各11例もあったので、1955年4月から9月の間には、恐らく第Ⅱ型及び第Ⅲ型のウイルスの流行は無かったものと考えられる。

結 論

広島県庄原市内の健康(8才)児38例について、1955年4月30日及び、同年9月10日の2回にわたって同一人より血清を得、ポリオウイルス3型に対する中和抗体をHeLa細胞組織培養法に依って検索し、次の結果を得た。

1) 1955年4年に採取した春の血清では、各第Ⅰ型71%第Ⅱ型68%第Ⅲ型68%の中和抗体を証明し、庄原地方にも岡山地方とはほぼ同程度にポリオウイルス3型の徹布のある事が解った。

2) そのうち三つの型全ての抗体を保有するもの32%二つの型47%一つの型18%何れの抗体をも保有せざるもの3%であった。

3) 春の血清で第Ⅰ型の抗体陰性であったものの内7例が秋には陽性となつており又他に4例が既存中和抗体値に於いて春より上昇して居る事を証明した。

以上の事から1955年4月から9月までの間に第Ⅰ型ポリオウイルスの流行が庄原地方にあった事が解った。

4) 第Ⅱ型及び第Ⅲ型に各1例秋の血清に抗体の出現したものがあつたがその意義附けは困難であつた。

終に臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師浜本教授に深甚なる謝意を捧げますと共に種々御教示御協力を賜った国立予防衛生研究所北岡正見博士、竹森信之博士に感謝します。又本研究のために御協力御援助戴いた岡山大学小児科教室古前敏明学士、大原俊夫学士、徳丸匡学士、加藤技術員の各位に敬意を表します。

文 献

- 1) Armstrong, C.: Publ. Health Report, 54: 1719, 1939.
- 2) Enders, J. F., Weller, T. H., Robbins, F. C.: Science, 109: 85, 1949.
- 3) 古前敏明, 大原俊夫: ウイルス, 投稿予定
- 4) 庄司淳一: 日本小児科学会雑誌 60: 864, 1956 (昭和31年)
- 5) 庄司淳一: 日本小児科学会雑誌 60: 872, 1956 (昭和31年)
- 6) 巽稔, 川上勝朗, 谷一, 中山太郎, 甲野礼作, 芦原義守, 松宮恒央, 平山宏宗, 日本小児科雑誌 60: 581, 1956 (昭和31年)
- 7) Gey, G. O., Coffman, W. D., Kubicek, M. T.: Cancer Research, 12: 246, 1952.
- 8) Scherer, W. F., Syverton, J. T., Gey, G. O.: J. Exper. Med., 97: 695, 1953.
- 9) Syverton, J. T., Scherer, W. F., Ellwood, P. M.: J. Lab. & Clin. Med., 43: 286, 1954.
- 10) Syverton, J. T., Scherer, W. F.: Ann. New York Academy of Sciences, 58: 1056, 1954.
- 11) 甲野礼作: 臨床病理 2: 356, 1955.
- 12) Reed, L. J., Muench, H.: Am. J. Hyg., 27: 493, 1938.
- 13) Melnick, J. L., Ledinko, N.: Am. J. Hyg., 57: 207, 1953.
- 14) Hammon, W. McD., Sather, G.: Am. J. Hyg., 57: 185, 1953.
- 15) Li, C. P., Schaeffer, M.: J. Immunol., 72: 123, 1954.
- 16) Sabin, A. B.: J. Exper. Med. 96: 99, 1952.
- 17) Miller, C. A., Wenner, H. A.: Pediatrics, 14: 573, 1954.