実験的チフス症の研究

(特にマウス対腸炎菌の組合せにおいて)

感染及び免疫に対する脾臓剔出の影響について

本多忠衛・橋本 一・中野 正

群馬大学医学部微生物学教室 (主任 三橋 進 教授)

若 尾 哲 夫

群馬大学医学部第1外科教室 (主任 石原恵三 教授)

“Infections Milz”の言葉が示すように感染に於ける脾臓の役割の大きいことは臨床面で早くから注目されてきた。又他の疾患で脾臓剔出を行なった人に重症感染の報告も多く、実験的にも Krishnan¹⁾等は脾臓を剔出した猿のマラリヤ感染に対する感受性が高まっておると報告している。又 Smith²⁾等は脾臓剔出したマウスの hemolysin titer が殆んど上昇しないことを報告している。この他にも脾臓を剔出すると感染に対する抵抗が弱まるという報告がある。

しかるに一方 Smith³⁾及び Gofstein⁴⁾等は臨床的に脾臓剔出術を行なった子供達の内、重症感染を起した例は僅かに5%に満たないことを記載しており、Rothberg⁵⁾等は脾臓を剔出したラットでは肺炎菌に対する抵抗性に变らないことを報告している。

即ち、一般の細菌感染と脾臓の役割については未だに明確なる輪廓が与えられていない。著者等はこれまでにマウス対 *Salmonella enteritidis* の組合せで実験的チフス症の研究を報告してきた⁶⁻⁹⁾。マウスに *Salmonella enteritidis* 強毒株を静脈内から攻撃すると速かに菌は血中より消失し肝臓及び脾臓にその殆んど全てが捕捉される¹⁰⁾。しかし、一旦肝脾の網内系細胞に捕捉せられた強毒菌は再び肝脾内で増殖を開始し菌は血流中に現われてくる。

このように脾臓は感染に対して重要な関与を持っていることが考えられるので、脾臓を剔出されたマウスは *S. enteritidis* 感染に対してどのような態度を取るかを観察したのでここに報告

する。

実験材料及び方法

(1) 実験動物及び菌：群馬大学医学部中央実験動物舎で生産した ddN 系マウスの雌雄両性5乃至6週令のものを使用した。実験中の飼料は実験動物中央研究所の飼育用飼料及び水道水を用いた。

菌は別報の如く^{11,12)}、*Salmonella enteritidis* の強毒菌116-54株(以下強毒菌)、その Streptomycin 耐性菌 SMR No. 49株、及び弱毒変異菌 SER 株(以下弱毒菌)を夫々アンブル⁶⁾に保存し実験の度毎にアンブルを開き使用した。

死菌ワクチンとして安東氏¹³⁻¹⁵⁾等のクロームワクチンを使用した。

(2) 脾剔出手術：5〜6週令のマウスをミンタール 1 mg を腹腔内に注入4〜5分で適当な麻酔が得られるが、この左側腹壁に切開を加え脾臓を引き出し脾臓に連なる脾動脈及びその他の動静脈を焼灼したエーゼで切断止血して脾臓を剔出した。腹腔には Penicillin 200 単位を注入し腹壁を一層に縫合し脾臓剔出術を完了した。

(3) 感染及び免疫実験：感染及び免疫は全て静脈内より行なった。攻撃菌量は強毒菌、弱毒菌共に 10^{-5} mg を用いた。生菌免疫には弱毒生菌 SER 10^{-5} mg 又死菌免疫にはクロームワクチン 1.4 mg を用い、前者は攻撃を免疫3週間後に、後者は免疫2週間後に行なった。攻撃後一部のマウスは臓器内菌分布状態を時間的に測定し、各時間毎に3匹1群として殺し、実験を行なった。又一部のマウスは *S. enteritidis* 10^{-7} mg を静脈内より攻撃しマウスの生死を観察した。

(4) 臓器内菌数の測定：肝臓及び血液の生菌数は普通寒天平板法によった¹⁰⁾。心、肝、肺、腎、淋巴腺はス

タンブ培養法によった¹⁵⁾。

実験結果

脾臓全剔出術を行なったマウスの体重は 4g 程度減少し、術後 4 日を最低とし以後徐々に回復して 10 日後には術前と同様の体重迄になった。従って実験は全て手術の 2 週間後に開始した。

S. enteritidis 強毒菌感染

S. enteritidis 強毒菌 116-54 株を感染し時間の経過と共に肝臓内及び血液中の菌数を算定した (図 1)。

図 1 正常マウス及び脾臓全剔出マウスに *S. enteritidis* 強毒菌 116-54 株 10^{-5} mg を静脈内より感染せしめた場合の臓器内菌数の動き

肝内菌数は正常マウス、脾臓全剔出マウス共に減少し攻撃 6 時間後最低値を示し、 10^3 個台となったが以後再び増加した。

攻撃後 72 時間後肝 1g 当りの菌数は両者共にほぼ 10^7 個に達した。

攻撃後 12 時間値は脾臓全剔出マウスが高かった。

血液内菌数は正常マウス、脾臓全剔出マウス共に 6 時間後迄急激に減少し正常マウスでは 6 時間

後の全例血中に生菌を認め得なかった。又攻撃後 24 時間迄脾臓全剔出群より低値を示したが攻撃後 24 時間以後は差は認められなかった。

S. enteritidis 弱毒菌感染

S. enteritidis SER 株を投与し日を追って感染菌の臓器内菌分布を算定した (図 2)。

図 2 正常マウス、脾臓全剔出マウスに *S. enteritidis* 弱毒株 10^{-5} mg 静脈内より感染せしめた時の臓器内菌数の動き

実線：脾臓全剔出マウス、点線：正常マウス
●○：肝臓内菌数/g, ■□：血液内菌数/ml
各点はマウス 3 匹の平均値

正常マウス、脾臓全剔出マウス共に感染後菌は一旦減少を示すが、感染後 7 日迄軽度の増加を示し 7 日を増加の山として再びゆるいカーブを描いて減少する。しかし肝、血液を問わず正常マウス、脾臓全剔出マウスの間に著明の差を認め得なかった。

弱毒生菌免疫後 *S. enteritidis* 強毒菌で攻撃した場合

弱毒生菌免疫を施した脾臓全剔出マウス、正常マウス及び免疫を施さなかった無処置対照マウスの三群に *S. enteritidis* 116-54, 10^{-7} mg を攻撃し各マウス群の生残率及び死亡マウスの平均生存日数を見た (表 1)。無処置正常マウス群が

表1 生菌免疫, 死菌免疫マウスの感染
死防禦能に対する脾臓剔出の影響

実験動物群	免疫	攻撃	実験動物数	生残率(%)	死亡マウス攻撃後の平均生存日数(日)
脾臓剔出群	弱毒生菌 10^{-5} mg iv	強毒菌 10^{-2} mg iv	5	60	9.5
対照(正常)群	〃	〃	7	57	9.3
脾臓剔出群	死菌(クロームワクチン) 1.4mgiv	〃	10	40	11.6
対照(正常)群	〃	〃	10	20	10.8
正常群	無処置	〃	6	0	7.8

7.8日で全て死亡したのに対し, 弱毒生菌免疫を施したものは脾臓の有無に拘らず生残率60%前後で, 死亡マウスの平均生存日数は共に9.0日以上を示した。即ち弱毒生菌1回免疫では脾

図3 正常マウス, 脾臓剔出マウスに生菌免疫を施し, *S. enteritidis* 強毒菌を攻撃した場合の臓器内菌数の動き

免疫菌は *S. enteritidis*, 弱毒菌 SER 株 10^{-5} mg 静脈内より投与
免疫3週後 *S. enteritidis* 強毒菌 No.49 株 10^{-5} mg 静脈内より攻撃した。
実線: 脾臓剔出マウス, 点線: 正常マウス
●○: 肝臓内菌数/g, ■□: 血液内菌数/ml
各点はマウス3匹の平均値

臓剔出マウス群も正常マウス群と同様な免疫を獲得した。

一方攻撃菌の肝, 血液内分布の時間的推移を知るために次の実験を行なった。

即ち, 正常マウス, 脾臓剔出マウスに *S. enteritidis* SMR No. 49 (強毒菌) 10^{-5} mg を静脈内より攻撃し時間を追って肝, 血液内菌数を測定した (図3)。図に示す如く, 肝, 血液内菌数共に正常マウス, 脾臓剔出マウスの間に大差を認め得なかった。図1の結果と比較して, 特に注目される点は血液内菌数の減少が共に著明で攻撃24時間後もなお弱毒生菌免疫1回マウスの血液内に菌を証明し得ない点の特長的である。

免疫を施さなかった対照正常マウス群は7.8日で全数死亡したのに対し死菌ワクチン免疫群では20~40%の生残率を示し, 死亡マウスもその平均生存日数夫々10.8, 11.6日で正常マウス

図4 正常マウス, 脾臓剔出マウスに死菌ワクチン免疫を施し, *S. enteritidis* 強毒菌を攻撃した場合の臓器内菌数の動き

死菌ワクチンは1.4mg 静脈内より免疫し2週後 *S. enteritidis* 強毒菌 10^{-5} mg 静脈内より攻撃した。
実線: 脾臓剔出マウス, 点線: 正常マウス
●○: 肝臓内菌数/g, ■□: 血液内菌数/ml
各点はマウス3匹の平均値

群, 脾剔出マウス群の間に差違を認め得なかった。

正常マウス, 脾剔出マウスに死菌ワクチン免疫を施し, 2週間後に *S. enteritidis* SMR No. 49 (強毒菌) 10^{-5} mg を静脈内より攻撃した場合の肝, 血液内菌数を時間的に追って測定した (図4)。

図に示す如く死菌ワクチン免疫を施した正常マウス, 脾剔出マウスの間に著明な差違を認め得なかった。図1に比較して両群共血液内から菌の clearance が著明で攻撃24時間後も血液内に菌を証明し得なかった点が特長的である。

正常マウス, 脾剔出マウスに死菌ワクチン免疫を施し, 各週毎に血清をとって *S. enteritidis* 強毒菌に対するO, OH抗体価を測定した。

表2に示す如く, 脾剔出マウスの場合, O, OH抗体価は常に正常マウスに比し低いことが

確められた。

総 括

facultative cytotropic bacteria の感染に対する脾臓の意義は充分明らかでない。

感染脾の示す如く, チフス症に於いて感染後の脾臓の腫脹, 菌の血流からの捕捉, チホームの形成等の示す如く感染に於ける脾の役割の重要性が予想せられる。

脾剔出マウスと正常マウスを用いて, マウスに激しいチフス症を起す *S. enteritidis* 強毒株及び弱毒株を攻撃し, その感染像及び菌の生体内分布 (肝, 血液) を観察した。しかるに両群の間に著明な差違を認め得なかった。

又脾剔出マウス, 正常マウスに弱毒生菌SER一回免疫, 死菌ワクチン一回免疫を夫々施し, *S. enteritidis* 強毒株の攻撃に対する防禦反応の態度を比較した。しかし生残率, 死亡マウスの攻撃後の平均生存日数共, 両者の間に殆んど差違を認め得なかった。

脾剔出によるマウス体重の減少は平均4gで体重の約1/5の減少を示すことはマウスに対する侵襲の大であることを物語っている。しかるに体重は術後2週間でほぼ術前の体重にもどる。

脾剔出マウスが正常マウスに比し *S. enteritidis* 強毒菌感染に対し, 免疫 (弱毒生菌一回, 死菌ワクチン一回) 後の強毒菌の感染に対し, 殆んど両群に差違を認め得なかった点は興味深い。

このことはマウス脾臓の重量が肝臓の約1/6であること, チフス症に於ける生体防衛には網内系細胞の代償的活性化と全身網内系細胞にかなり余裕のあること等を考えて理解される問題であろう。

しかし従来報告に示された如く, 抗体産生には脾剔出マウスが正常マウスに比しやや劣る傾向を示した点は興味深い。

脾臓剔出マウスの感染及び免疫時の病理組織像については追って報告する。

表2 正常マウス, 脾剔出マウスに死菌ワクチン1.4mg, 静脈内免疫した場合のO及びOH抗体価

免疫後の週 マウス 抗体		0	1	2	3
脾剔出群	OH	2	128	256	4096
		2	128	128	512
		<2	64	64	256
		—	16	64	256
		—	16	32	128
	O	2	8	32	32
		<2	4	16	32
		<2	4	16	8
		—	2	8	8
		—	—	4	<2
正常対照群	OH	4	256	4096	4096
		2	128	1024	2048
		<2	128	1024	512
		—	128	512	256
		—	64	64	256
	O	<2	16	64	128
		<2	8	64	128
		<2	8	64	64
		—	4	32	32
		—	4	32	32

結 論

マウス対 *S. enteritidis* の組合せに於ける実験的チフス症において、脾剔出マウスと正常マウスとの間には感染及び免疫（弱毒生菌、死菌ワクチン）後の感染に対する態度に著明な差違を認め得なかった。

しかし死菌ワクチン免疫後O及びOH抗体価はつねに脾剔出マウス群は正常マウス群に比し低い価を示した。

文 献

- 1) Krishnan, K. V., Smith, R. O. A., Lal, C., : Indian J. Med. Res. 21 : 343, 1933.
- 2) Smith, F., Grenan, M. M., Lunde, K., : Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 101 : 361, 1959.
- 3) Smith, C. H., Erlandson, M., Schulman, I., Stern, G., : Am. J. Med. 22 : 390, 1957.
- 4) Gofstein, R., Gellis, S. S., : Am. J. Dis. Child 91 : 566, 1956.
- 5) Rothberg, H., Corallo, L. A., : Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 100 : 220, 1959.
- 6) 三橋進, 他 : 日本細菌学雑誌, 13 : 323, 1958.
- 7) 三橋進, 他 : 日本細菌学雑誌, 13 : 535, 1958.
- 8) 三橋進, 永井正彦 : 日本細菌学雑誌, 13 : 631, 1958.
- 9) 三橋進, 他 : 日本細菌学雑誌, 13 : 704, 1958.
- 10) 三橋進, 他 : 日本細菌学雑誌, 13 : 366, 1958.
- 11) 武井誠司 : 北関東医学, 8 : 104, 1958.
- 12) 安東洪次, 他 : 医学通信, 7 : 3, 1952.
- 13) 竹井静真 : 日本細菌学雑誌, 9 : 237, 1954.
- 14) 下条寛人 : 日本細菌学雑誌, 9 : 849, 1954.
- 15) 三橋進, 他 : 日本細菌学雑誌, 投稿中.

STUDIES ON THE EXPERIMENTAL TYPHOID

THE EFFECT OF SPLENECTOMY IN THE INFECTION AND IMMUNITY

by

Tadac Honda, Hajime Hashimoto, Tadashi Nakano.

Department of Microbiology, School of Medicine, Gunma University.

(Director : Prof. S. Mitsuhashi)

Tetsuo Wakao

The First Surgical Department, School of Medicine, Gunma University.

(Director : Prof. K. Ishihara)

Splenectomized and control mice were infected with an attenuated strain or a virulent strain of *S. enteritidis*. There was no difference in both the distribution of infected microorganisms and the growth of them in the sensitive organs.

After mice received the operation of splenectomy, they were immunized with living or killed vaccine, and 2 weeks later, they were challenged with a virulent strain of *S. enteritidis*.

In normal and splenectomized mice, it was found no difference in the survival rate and the clearance of challenged microorganisms in the infected organs.

In the antibody formation, the splenectomized mice showed lower O and OH titer than normal mice.