家兎の生菌及び死菌免疫による 血清蛋白の變動に就て

慶應義塾大學醫學部內科學教室

吉澤久雄・本田正節

慶應義塾大學醫學部細菌學教室

堀江喜一

Study on Alteration in Serum Protein by Immunisations with Living and Dead Bacteria on Experimental Typhoid Fever of Rabbits

H. Yoshizawa and M. Honda

(Department of Internal Medicine,
(Medical School of Keio Gijuku University)

K. Horie

(Department of Bacteriology, Medical)
(School of Keio Gijuku University)

1) With a view to making clear the difference between immunisations with living and dead bacteria, we studied experimental typhoid fever of rabbits, especially on agglutination, onset-inhibiting power and alteration of serum protein in electrophoretic analysis.

2) Dividing rabbits into two groups we vaccinated the first group with weak living *S. cholerae suis* (R type P 32 strain) and the second group with dead S-type bacteria.

After vaccinating them, we inoculated both groups with the strong "Hokkaido-Strain".

The second group died though they showed strong agglutination. Those in the first group all remained alive, though agglutination was negative.

3) Total serum protein increased in all cases except one. γ -Globulin showed the most remarkable increase, namely two or three fold. We were not able to recognize quantitative difference in γ -globulin between these two groups.

However, the shape of the peak showed a difference. In the first group the shape of the peak of γ -globulin is larger on the side of larger mobility, than on the side of a smaller mobility.

The conditions in those of the second group are completely reverse.

4) It was supposed that there were some relations among the shape of the γ -globulin-peak, agglutination and general immunisation.

1. 緒 言

細菌性疾病の豫防に於て、生菌免疫と死菌免疫との間には明らかな差異があることは免疫學上、臨牀上周知の事實である。

私共は家兎の實驗チフス症に於ける皮膚反應、凝集反應、發症阻止能力と血清蛋白分割とを中心として觀察し生菌、死菌免疫間に如何なる差があるかを究明した。

この實驗の中、皮膚反應に就ては堀江が既に細菌學會に於て發表したので省略し、凝集反應並びに全身免疫と血清蛋白との關係に就て述べることにする。

2. 實驗材料及びに實驗方法

〔供試菌株〕は慶應大學細菌學教室保存の *Salmonera cholerae suis* 17 S 株 (S 型) の H 抗元を缺き、O 抗元も全く異なる R 型變異 P 32 株及び新たに分離した R 型

數株と、強毒株として東京都家畜衛生試験所より分與を受けた北海道株(S型)である。北海道株は生物學的、免疫學的及び培養性狀は17S株に一致し、家兎に対して 10^{-6} mg皮内接種によつてチフス症に續發する敗血症で死亡させることが出来る。堀江の豫備實驗の結果では本菌 10^{-6} mg以上の皮内接種により生殘つた家兎は一羽もなく100%に死亡せしめ得るものと思われる。

3. 實驗方法

實驗方法としては

- 1) 第一群、家兎番號166, 167, 168は豫備實驗に於て無發熱に經過したP32株を選び、靜脈内に生菌 10^{-2} mgを1回接種し、1ヵ月後感染菌として強毒北海道株 10^{-5} mgを皮内に接種した。
- 2) 第二群、家兎番號162, 163, は17S株(S型)の 60°C 30分加熱、死菌を0.1mg靜脈内に接種後1日おいて0.3mg, 次に2日おいて0.6mg, 次いで4日おきに1.0mg 4回靜脈内に接種して免疫し、12日おいて北海道株 10^{-5} mg皮内に接種した。
- 3) 採血は兩群とも死菌及び生菌接種前及び北海道株接種の前日の2回に行つた。透析は電氣泳動研究會規定の磷酸ソーダ緩衝液(pH 8.0)にて16時間行い、泳動條件としては電壓150V, 電流15mA, 水溫 5°C , 泳動時間90分間、ダイアゴナルスリットは 70° として行つた。測定にはすべて下行脚を用いた。血清總蛋白濃度の測定には日立製作所製蛋白計を使用した。
- 4) 凝集反應は採血と同時に行つた。

4. 實驗成績

生菌前處置群(第一群)は前處置によつて發熱し、流血中に菌を認めたが、後處置による發症は著明に抑えられて全例生殘つた。死菌前處置群(第二群)は前處置によつては大した症狀は呈しなかつたが、後處置によりいづれも發症し死亡したのである。

血清蛋白質の變動は第1表に示す如くであるが、血清總蛋白濃度は1例(家兎番號166)を除いて全例増加している。

免疫前の家兎血清に於てはアルブミンと α -グロブリンとは分離不可能であつたが、免疫後では兩者は分離出来るようになった。従つて免疫前後のアルブミンに關しては比較出来ないのやむなくアルブミン+ α -グロブリンとして比較を行つたところ、百分率に於ては何れも減少が認められる。g/dlに於ては總蛋白濃度が増加している關係上著明な變動はないが、百分率に於てははつきりしている。 β -グロブリンは死菌免疫群に於ては2例中1例増加, 1例減少, 生菌免疫群に於ては2例増加,

1例減少を示しているが、生菌免疫群中の1例(家兎番號167)では著明な増加を示している。 γ -グロブリンは免疫後全例に於て2~3倍の増加を示している。生免疫菌群, 死菌免疫群間に γ -グロブリンの量的差異は認められなかつたが, patternの形態に差異があり, 生菌免疫群では輕度ではあるが易動度の大きな側が大きくなつており, 死菌免疫群では易動度の小さい側が大きくなつてゐる。(第1圖參照)

凝集反應はH.O抗原(S型生菌)及びO抗原(S型 100°C 加熱菌)に對して行つたが, 第2表に示す如く死菌免疫群に於てはH.O抗原及びO抗原に對して凝集反應を呈するが, 生菌免疫群に於ては全然反應を呈しなかつた。即ち家兎162番はH.O抗原に對して $10240 \times (+)$, O抗原に對しては $160 \times (+)$ であり, 163番はH.O抗原に對しては $20480 \times (+)$, O抗原に對しては $160 \times (+)$ であつたのに反し, 家兎166番, 167番, 168番は全然反應を呈さなかつた。

5. 考察

死菌免疫群は感染菌戻元に對する凝集反應は強陽性を呈しながら, 北海道株接種によつて死亡し, 生菌免疫群は凝集反應は陰性であるが全例生存しており, 凝集反應と全身免疫とは一致しないことを示している。

この場合に血清蛋白分割で著明な變動を示すのはグロブリンである。

アルブミン+ α -グロブリンはに於ては大した變化はないが, 百分率に於ては免疫後減少を示しており, α -グロブリンは免疫前ではアルブミンから分離不可能であつたが免疫後ははつきりと分れている。これは泳動條件等を嚴密に吟味しなければ斷定は下し得ないが, 面白い事實である。然し, α -グロブリンの變動を正確に知ることが出来ないのは遺憾である。

β -グロブリンは増加するものあり, 減少するものあり一定の傾向を示していないので, 本實驗に於て免疫にどのような關係があつたのかは分らない。

ひとり γ -グロブリンのみは兩群共免疫後に2~3倍に増量しているのである。従つて免疫後血清總蛋白濃度の増加があるが, これには γ -グロブリンが相當に重大な役割を演じていることは否めない事實である。 γ -グロブリンの量的關係に於ては死菌免疫群と生菌免疫群の間で大差はみられないが, γ -グロブリンの峰の形が兩群間で差がある。免疫前では全例に於て峰の形は非常によく似ているが, 免疫後では差がある。前述の如く, 生菌免疫群では輕度であるが易動度の大きな側が大きく, 死菌免疫群では反對に易動度の小さな側が大きい。生菌免疫と死菌免疫とによつて發症阻止の効力並びに血清の凝集價が

異なることと、兩種免疫方法によつて増大した γ -グロブリンの峰の形の相異との間になん等かの關係が存するのではないかと推定される。尙、死菌免疫群の中で比較してみると、家兎 163 番では γ -グロブリンの易動度の小さな部分が 162 番のそれよりも大きい。凝集反應では 163 番は HO 抗原に對する凝集價が 162 番のその 2 倍になつてゐる。勿論、複雑な免疫現象を一反應より推測することは危険であり、上記の事は偶然の事實かも知れないが、なかなか興味のあることだと思われる。

とにかく、電気泳動法に於ては峰の形を觀察することも大切なことではないかと思う。

6. 結 論

1) 生菌免疫と死菌免疫に於ける差異を究明するため家兎の實驗チフス症に於て凝集反應、發症阻止能力と血清蛋白質の變動を中心として觀察した。

2) 家兎を群に分け、一群には *S. cholerae suis* の弱毒 R 型菌 P 32 株をもつて生菌免疫を行い、他の一群に S 型菌死菌によつて免疫を行つた後に強毒株である

北海道株を接種したところ、死菌免疫群は強い凝集反應を現わしたが死亡し、生菌免疫群では凝集反應は陰性であつたが全例生存した。

3) 血清總蛋白濃度は 1 例を除いて増加を認めた。血清蛋白分割で著しい變動を示すのは γ -グロブリンであつて、全例に於て 2~3 倍の増加を認めた。生菌免疫、死菌免疫間では γ -グロブリンの量的差異は認められなかつたが、峰の形に差異があつた。死菌免疫群では易動度の小さい側が大きく、生菌免疫群では易動度の大きい側が大きく。

4) γ -グロブリンの峰の形と凝集反應、全身免疫との間にはなん等かの關係があるのではないかと考えられる。(稿を終るに臨み、石田、牛場兩教授、五味助教授の御指導、御校閲を感謝する。)

引 文 用 獻

堀江：細菌學雜誌(近掲)

第 2 表 凝集反應成績

	家兎番號	凝 集 價	
		H. O 抗原	O 抗原
死 菌 免 疫 群	162	10240×	160×
	163	20480×	160×
生 菌 免 疫 群	166	—	—
	167	—	—
	168	—	—

第 1 圖

第 1 表 死菌並びに生菌免疫前後の家兎血清蛋白分割

家 兎 番 號		死 菌 免 疫 群				生 菌 免 疫 群					
		162		163		166		167		168	
免 疫 前	總 蛋 白	4.9 g/dl		6.0		6.4		5.3		5.9	
	蛋白分割	%	g/dl	%	g/dl	%	g/dl	%	g/dl	%	g/dl
	Al	68.7	3.4	70.4	4.2	72.4	4.6	82.1	4.3	70.0	4.1
	α -Gl.	15.9	0.8	18.3	1.1	18.4	1.2	14.3	0.8	14.0	0.8
	β -Gl.	15.4	0.7	11.3	0.7	9.2	0.6	3.6	0.2	16.0	1.0
免 疫 後	總 蛋 白	6.4 g/dl		7.2		6.4		6.6		7.1	
	蛋白分割	%	g/dl	%	g/dl	%	g/dl	%	g/dl	%	g/dl
	Al	55.2	3.5	48.7	3.5	60.8	3.9	63.3	4.2	54.3	3.8
	α -Gl.	3.3	0.2	2.3	0.2	3.5	0.2	6.3	0.4	8.1	0.6
	β -Gl.	18.3	1.2	14.4	1.0	17.6	1.1	21.6	1.4	15.2	1.1
	γ -Gl.	22.2	1.5	34.6	2.5	18.1	1.2	8.8	0.6	22.4	1.6