

広義発疹チフスの免疫に関する研究

第 II 編

R. prowazeki と R. mooseri の特性に関する研究

岡山大学医学部微生物学教室 (主任: 村上 栄教授)

山 口 英

[昭和 31 年 4 月 6 日受稿]

緒 言

Rickettsia prowazeki (R. p. と略称する) と *Rickettsia mooseri* (R. m. と略称する) が夫々発疹チフス、並に発疹熱の病原体であることについては、先進諸学者によつて既に研究しつくされ今更これを疑う者はない。

発疹チフスと発疹熱が臨床上類似の疾患であり、非定型的な発疹チフスは発疹熱との臨床鑑別が困難であり、臨床上発疹熱が発疹チフスの軽症型と極めて類似するものであることは、多くの学者が指摘し、患者発生地の第一線において活躍する防疫担当者も、臨床症状よりして、適格に両症を鑑別しうることはむしろ困難とする場合が多い。

発疹チフスに罹患耐過した者は、発疹熱病毒に対しても同時に感染防禦能が賦与され、加之、発疹熱に罹患耐過した者は発疹チフスに対してもほぼ同様の免疫性を獲得し、両症の間に交叉免疫が成立する。この事実は、両症病毒に感受性のある天竺鼠においても同じであることについては、既に著者が行つた詳しい研究によつて明らかである。

かくの如く相互に交叉免疫が成立する両症の病毒が、一元起性のものであるか、将又、由来二元起性のものであるかについては、今なお定説がないが、Cox-Craigie 法によつて精製された両症病毒を抗原とする補体結合反応によつて、明らかに両型病毒が区別されるとする業績が報じられ、同時に、R. の抗原分析が旺んとなり、Cox-Craigie 法によつてつくられたワクチンそのものは抗原価が低いが、エーテルで処理し、類脂体その他の交雑物を除けば抗原価が高められ、その時の抗原価

は、卵黄囊の R. 数と平行することは既に Bengtson (1945) によつて指摘された。更に、Cox-Craigie 法によるエーテル処理ワクチンの内には、R. 体抗原の外に可溶性抗原が含まれ、この可溶性抗原には、R. p. 及び R. m. と一部共通するものがあることを Topping (1945) と Sadusk (1947) が明らかにし、加之、R. の抗原分析について、Shepard (1945)、Craigie (1943)、Wishart (1946) 及び Van de Ende (1946) の諸学者が一致して、R. p. と R. m. は夫々特異的な部分抗原の他、両者に共通する抗原を有しており、特異抗原は易熱性であり、共通抗原は耐熱性であることを明らかにした。かゝる両型 R. の特異抗原は、試験管内においてそれぞれ特異的な血清免疫学的反応を呈し、両型 R. の鑑別にあたり大いなる進歩がもたらされた。

両症の病毒が実験動物に対して発現する徴候からそれぞれの病毒に対する特異的な鑑別方法として、雄性天竺鼠を供試したときの、Castaneda (1930) の提唱に係る、Neill-Mooser 反応、即ち、R. m. 病毒を腹腔内に接種した時にみられる供試動物の病変としての滲出性癒着性睪丸炎と、雄性大黒鼠における滲出性非癒着性睪丸炎、即ち Maxcy 現象 (M. ph と略称する) が問題となる。R. m. 病毒を雄性天竺鼠の腹腔内に接種すれば 4~6 日の潜伏期の後に、陰囊の発赤と腫脹が発起され、睪丸炎の内外板は、充血と汚穢灰白色調の線維素性滲出液をもつて被れ、炎膜相互の癒着が現れ、かゝる滲出液の押捺標本を Giemsa, Castaneda, Machiavello 等の染色法に従つて染めれば、顕微鏡下に多くの R. を単核細胞の原形質内に認めることができる。

この所見は Neill (1917) が始めて見出したものであり、次で Mooser (1928) が辜丸莢膜の細胞内に多くの R. を見ており、後年 Castaneda が Neill-Mooser 反応 (N. M. R. と略称する) と呼ぶことを提唱した。

一方 R. p. 病毒をもつて天竺鼠を供する場合、心血心内系接種による伝達が R. p. 病毒株の累代保存に適しており、R. m. 病毒は、天竺鼠の辜丸莢膜に親和性をもつが、R. p. はこの性質を欠き、血管内膜にむしろ高い親和性を示すものであり、かかる性質の相違から、R. p. 及び R. m. の鑑別に資せられるとする北野、岩田 (昭14) 等の業績と、R. p. 病毒をもつてしても、時に軽度ではあるが N. M. R. にまぎらわしい反応が発現することがあるとみる Mooser (1934), Pinkerton (1929, 1931), Castaneda (1930) 及び Zinsser (1934) 等の報告があるが、児玉 (昭7), 高橋 (昭7) 等は、R. p. 病毒の場合に出現する辜丸反応を仮性 N. M. R. とし、R. m. 病毒の示す真正 N. M. R. と区別しうることを指摘している。仮に N. M. R. 乃至 M. ph. が、R. p. 病毒と R. m. 病毒との分類に当り絶体性を示すものではないとしても、R. m. 病毒が天竺鼠乃至大黒鼠の辜丸莢膜に親和性を保有するという事実は消し去ることはできないのみならず、R. p. 病毒が時偶現わす類似反応を認めたことから、R. m. 病毒の辜丸腹腔系伝達の各世代の各個体に毎常発現される N. M. R. 乃至 M. ph. の意義を無視することはできない。病毒の性質を論ずる場合、出現する現象をしてその病毒特有の性質であるとするためには、累代された多くの世代を省み、何れの世代、何れの個体についても常にその現象が発現されておらねばならない。従つて、R. p. 病毒と R. m. 病毒を較べ、何れの病毒が辜丸莢膜親和性を有するかが問題であり、陰囊の発赤腫脹があつたかが問題ではない。その為めには、多くの世代を累ね、多くの個体が観察されるべきであり、偶発された現象は、言い換えるならば、多くの世代に供された多くの個体の極く一部に発現した現象に対しては何等の意味づけもできない。

著者は、R. p. 病毒と、R. m. 病毒のもつ血管内膜親和性乃至辜丸莢膜親和性が、果して両型病毒の特異性状と見做することができるかについて、再吟味を行うべく、R. p. 並に R. m. 病毒を種々の割合に混合し、心血心内系と辜丸腹腔系等の伝達方法を撰び累代伝達することによつて、混合病毒のそれぞれが単離されるかについて研究した結果、それぞれの病毒の性質に適合した伝達経路を撰ぶことによつて、2型の病毒が単離されるものであることを識り、まさに天竺鼠における血管内膜親和性と辜丸莢膜親和性は、R. p. 並に R. m. 病毒の特異なる性状であり、両型病毒の型別は、試験管内における血清反応のみがよくなしうるものでなく、天竺鼠を供した時の特異なる発症像とその普遍性を吟味することによつてもよく為しうるものであるとする著者のこの研究から、広義の発疹チフス病毒の型決定には天竺鼠を供する動物実験が必要、且つ欠くことのできないものであることを、更めて認識すべき重要な知見を提供することができたものである。

I. 実験方法と材料

1. 供試病毒

この研究に供した病毒株は、発疹チフス病毒である伊東株、並に発疹熱病毒である谷沢株であり、伊東株は心血心内系伝達により、谷沢株は辜丸腹腔系伝達によつて累代されてきた。

2. 供試動物

体重 400g 前後の健康な天竺鼠を撰んだ。

3. 動物実験

R. p. 並に R. m. 病毒により定型的な発症を示した天竺鼠の心血を無菌的に採り、その各々を等量に混和し、1.0ml を心内乃至腹腔内への接種量とした。病毒の接種をうけた供試動物は、毎日早朝、給餌前に肛門内で体温を測定し毎日の体重と共に記録した。心血腹腔内、辜丸腹腔内及び脳腹腔内接種を行つた供試動物は、体温及び体重の消長の他、陰囊の発赤腫脹と辜丸が陰囊内に固定されるか否かを特に注意して観察した。なお、接種に供し

た病毒材料は総て血液寒天並に葡萄糖ブイヨンに培養し、終始動物実験が無菌的にすゝめられているか如何かを確かめた。

採血は、3.8%枸橼酸ソーダを予め注射筒内にとり採血量の1/10の割に含まれるように注意を払った。辜丸及び辜丸莢膜は、ともに一団としてとり出し、滅菌海砂を容れた乳鉢内で丁寧に磨砕、10倍になる如く生理食塩水を注加混和し、1500 r. p. m. の速度をもつて遠心し、接種用の材料を得た。罹患天竺鼠の脳乳剤も、辜丸の場合に準じてつくつた。

4. 補体結合反応

感染卵黄囊に R. が十分に増殖する迄發育卵接種を累ね、R. が十分に増殖している卵黄囊を、ガラス玉を入れた秤量済の壺の中にとり振盪器で約1時間振盪した。次で0.5%にホルマリンを含む緩衝食塩水を加えて R. を不活化すると共に卵黄囊の20重量%の容量にし、4°Cに72時間放置した後ガーゼで濾過し、濾液はもとの卵黄囊重量に対し20%になる如く緩衝食塩水を添加し、4°Cに放置した後に水様層をとり出し、4000 r. p. m. 再遠心を1時間行い、得た沈澱物は再度緩衝食塩水をもとの量に加えて浮游し、分液漏斗の中でエーテルを同量に加えて数回手振振盪を行い、下層の水様液をとり4000 r. p. m. 1時間に互り再遠心を行い、得た沈澱物にもとの緩衝食塩水の1/10の量を加えて浮游させ更にエーテル浸出を累ねて行つた。3~4回エーテル浸出をくり返し、4000 r. p. m. 再遠心して沈澱物をガラス玉と共に振盪し、300ケの卵黄囊が50mlに含まれるように0.2%ホルマリン加食塩水に浮游させた。この様にしてつくつた R. 抗原を補体結合反応に用いた。標準血清は予め2頭宛の家兎の辜丸内に R. p. 乃至 R. m. 生毒を接種、発症せしめ、更に精製した R. p. 乃至 R. m. 浮游液を、4日間隔をもつて反復静脈内に注射して得た。この免疫血清は、既知の抗原2単位をもつて定量し、抗 R. p. 血清の終末価は1:320、抗 R. m. 血清では1:640を得た。各免疫血清は0.25mlの中に4単位含まれる様に稀釈して実験に供

した。

溶血阻止の終末点は3以上とし、溶血阻止の程度は下記の如く記録した。

- 4 —— 溶血完全阻止
- 3 —— 75%溶血阻止
- 2 —— 50%溶血阻止
- 1 —— 25%溶血阻止
- 0 —— 完全溶血

溶血系として、緬羊赤血球並に抗緬羊赤血球溶血素を使用した。

II. 実験成績

1. 心内接種による実験

R. p. 病毒の心血心内接種によつて発症した供試天竺鼠 M 1107 並に R. m. 罹患天竺鼠 M 1186 の心血をとり、この両型病毒血液をよく混和し、その1.0ml宛を、天竺鼠の心内に接種し観察した。その成績を表1に示した。

第1表 混合病毒の心内伝達

R. p. 1107+R. m. 1186

	1208	1209	1210	1211	1212
I	● 9(5)	● 9(3)	● 10(3)	● ↓10(3)	● 10(2)
II	● 8(3)	● ↓8(3)	● 9(4)	● 9(3)	● 9(3)
III	● 9(5)	● 9(3)	● ↓10(4)	● 10(3)	● 10(3)
IV	● 8(5)	● ↓9(4)	● 9(4)	● 10(3)	⊗
V	● 9(4)	● ↓9(4)	● 9(3)	● 10(4)	● 10(4)
VI	● 9(5)	● 10(3)	● 10(3)	● 10(3)	● ↓11(3)
VII	● 8(5)	⊗	● ↓10(4)	● 10(3)	● 10(4)
VIII	● 9(4)	● 9(4)	● 9(3)	● ↓10(4)	● 10(4)
IX	● 10(4)	● ↓10(4)	● 10(4)	● 10(4)	● 10(3)
X	● 9(5)	● 9(4)	● 10(4)	● 10(4)	● 10(4)

各世代共に、8~10日の潜伏期を経て、2~5日間に互る熱発を示している。初代のM 1211の心血を発症第2日目に採血し、その

0.5ml 宛を、2 世代の健康天竺鼠 5 匹の心内に接種した。次いで 2 世代は M1217, 3 世代 M1225, 4 世代 M1229, 5 世代 M1237, 6 世代 M1259, 7 世代 M1264, 8 世代 M1270, 9 世代 M1276 は何れも次代接種のために供した。初代の M1209 は、混合ウイルスを心内に接種した 9 日後に発症し、その発熱第 2 日目の心血を雄性天竺鼠の腹腔内に接種して、N. M. R. 発生の有無を観察したが、表 2 に示した如く、各世代の天竺鼠は 6~7 日の潜伏期を以て N. M. R. を発現し、睪丸莖膜の押捺標本より、Castaneda 乃至 Machiavello 染色により、定型的な R. を検出することができた。

第 2 表 M 1209 の睪丸腹腔系伝達

M 1209
↓

	287	288	289
I	● ↓ 6(+)	● 7(+)	● 7(+)
II	● ↓ 7(+)	● 7(+)	● 7(+)
III	● 6(+)	● 7(+)	● 7(+)

● 発病した天竺鼠

6(+) 潜伏期 6 日, N. M. R. 陽性

心内伝達系の 5 世代供試天竺鼠 M 1236 の心血を採り、雄性天竺鼠の腹腔内に 1.0ml 宛接種した成績は表 3 に示した。

即ち、6 世代に互り、接種後 10 日目に睪丸腹腔系による盲目伝達を累ね N. M. R. の発現を観察したが、遂に定型的な発症を示したものは 1 例もみられない。

第 3 表 M 1236 の睪丸腹腔系伝達

M 1236
↓

	339	340	341
I	○	○	○
II	○	○	○
III	○ 9(?)	○	○
IV	○	○	
V	○	○	○
VI	○	○	○

M 1236 病毒の補体結合反応

混合ウイルスの心内伝達 5 世代の M 1236 の心血を發育卵の卵黄嚢内に接種累代し、6 世代の卵黄嚢から得た精製 R. 浮游液を抗原として、既知の抗 R. m. 並に抗 R. p. 血清について実施した補体結合反応の成績は表 4 と 5 に示した。

第 4 表 補体結合反応

(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	抗原 0.25ml	溶血阻止	
		供試抗原	既知 R. p. 抗原
1	1: 5	4	4
2	1: 10	4	4
3	1: 20	4	4
4	1: 40	4	4
5	1: 80	3	3
6	1: 160	3	2
7	1: 320	1	0
8	1: 640	0	0

血清対照

標準血清 4 単位
補体 2 充単位
溶血素 3 単位

第 5 表 補体結合反応

(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 番号	抗原 0.25 ml	溶血阻止		
		供試抗原	既知 R. p. 抗原	既知 R. m. 抗原
1	1: 5	4	1	4
2	1: 10	4	0	4
3	1: 20	4	0	4
4	1: 40	3	0	4
5	1: 80	3	0	3
6	1: 160	2	0	3
7	1: 320	0	0	0
8	1: 640	0	0	0

血清対照

標準血清 4 単位
補体 2 充単位
溶血素 3 単位

標準抗 R. p. 血清を以てする溶血阻止の終末点が、3 以上を示す供試抗原の稀釈は 1: 160 であり、抗 R. m. 血清の場合には、同一の R. 抗原で 1: 80 を示した。即ち、混合

病毒をもつてする心内系伝達5世代の病毒を發育卵の卵黄囊内に接種して得た精製 R. 浮游液は、抗 R. p. 並に抗 R. m. 血清に対し、既知当該抗原価とほぼ同じ程度に溶血阻止がみられたものであり、供試 R. 抗原は、R. p. 抗原のみならず R. m. 抗原をも含むとすべき成績である。

混合病毒の心内系伝達10世代罹患天竺鼠 M1287の心血をとり、雄性天竺鼠の腹腔内に1.0ml 宛接種し、9世代に互り盲目伝達を行いその成績を表6に示した。

第6表 M 1287 の辜丸腹腔系伝達
M 1287

	390	391	392
I	○	○	○
II	393 ○	394 ○	395 ○
III	396 ○	397 ⊗	398 ○
IV	408 ○	409 ○	410 ○
V	411 ○	412 ○	413 ○
VI	414 ○	415 ○	416 ○
VII	417 ○	418 ○	419 ○
VIII	420 ○	424 ○	425 ○
IX	426 ○	427 ○	428 ○

各世代の天竺鼠は何れも何等発症の徴候を示さず、N. M. R. は全く陰性とするべき成績である。

M 1287 病毒の補体結合反応

M1287の心血を發育卵の卵黄囊内に接種、7世代に互り累代し、この感染卵黄囊より既に述べた方法により得た精製 R. 浮游液を用いて、既知の抗 R. p. 血清並に抗 R. m. 血清を標準とする補体結合反応によつて、供試 R. の所屬を追究し、その成績を表7と8に示した。

即ち、抗 R. p. 血清を標準とする補体結合反応において、供試抗原は 1:160 稀釈迄溶血阻止を示し、対照実験として行つた既知 R. p. 抗原のそれと殆ど差がみられない。既知の抗 R. m. 血清の実験では、供試抗原は殆ど有意の溶血阻止を示さず、既知の R. m. 抗

第7表 補体結合反応
(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	抗原 0.25 ml	溶血阻止	
		供試抗原	既知 R. p. 抗原
1	1: 5	3	4
2	1: 10	4	4
3	1: 20	4	4
4	1: 40	4	4
5	1: 80	4	3
6	1: 160	3	3
7	1: 320	2	1
8	1: 640	0	0

血清対照 0 0 0
標準血清 4 単位
補体 2 充単位
溶血素 3 単位

第8表 補体結合反応
(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 番号	抗原 0.25 ml	溶血阻止		
		供試抗原	既知 R. m. 抗原	既知 R. p. 抗原
1	1: 5	2	4	1
2	1: 10	0	4	1
3	1: 20	0	4	0
4	1: 40	0	4	0
5	1: 80	0	4	0
6	1: 160	0	3	0
7	1: 320	0	2	0
8	1: 640	0	0	0

血清対照 0 0 0 0
標準血清 4 単位
補体 2 充単位
溶血素 3 単位

原が、1:160稀釈迄補体結合を示したのに較べ著しく趣を異にするのみならず、既知の R. p. 抗原も何等有意の溶血阻止を示さないことから、供試 R. 抗原は、R. p. 抗原であるとみるべきであり R. m. 抗原が混在しているとする根拠はない。

2. 混合病毒の辜丸腹腔系伝達の実験

R. p. 病毒による罹患天竺鼠 M 1309, 並に R. m. 病毒による罹患天竺鼠 M1422 の心血を同量に混和し、5匹の雄性天竺鼠の腹腔内に接種し爾後辜丸腹腔系伝達を行い、その結果

第9表 混合ウイルスの睪丸腹腔系伝達
R. p. 1309+R. m. 1422

I	1524 ● 7(+)	1525 ● ↓7(+)	1526 ○	1527 ● 7(+)	1528 ● 8(+)
II	1529 ● 6(+)	1530 ● 6(+)	1531 ● 7(+)	1532 ● 7(+)	1533 ● 8(+)
III	1534 ● 7(+)	1535 ● 7(+)	1536 ● 7(+)	1537 ● 7(+)	1538 ● 7(+)
IV	1539 ● 6(+)	1540 ● 6(+)	1541 ● 6(+)	1542 ● 6(+)	1543 ● 7(+)
V	1544 ● 6(+)	1545 ● 7(+)	1546 ● 7(+)	1547 ● 7(+)	1548 ● 8(+)
VI	1549 ● 7(+)	1550 ● 7(+)	1551 ● 7(+)	1552 ● 7(+)	1553 ● 7(+)
VII	1556 ● 7(+)	1557 ● 7(+)	1558 ● 7(+)	1559 ● 7(+)	1560 ● 8(+)
VIII	1571 ● 5(+)	1572 ● 7(+)	1573 ● 7(+)	1574 ● 8(+)	1575 ● 8(+)
IX	1576 ● 6(+)	1577 ⊗	1578 ● 6(+)	1579 ● 7(+)	1580 ● 6(+)
X	1581 ● 7(+)	1582 ● 7(+)	1583 ● 7(+)	1584 ● 8(+)	1585 ● 8(+)

を表9に示した。

初代の M 1526 を除き、各世代の供試天竺鼠は全例が5~8日の潜伏期をもつて発症し、N. M. R. を発現している。睪丸莖膜よりの塗抹標本では Machiavello 染色により定型的な R. がみられる。2世代における M 1530 と記録された罹患天竺鼠の心血を採り、心血心内系伝達を行つた成績は表10に示した。

初世代に供された5匹の天竺鼠のうち、M 525, M 527, M 528 が8~9日の潜伏期をもつて熱発し、2世代の供試動物では M 533, M 534 が、3世代のものでは M 536, M 537 が熱発を示し、4世代以降の供試動物は例外なく総ての天竺鼠が8~11日の潜伏期をもつて発症し、世代が累ねられるに従い供試動物の発症は固定化されている。2世代の供試動物もなお、接種後15日に至つて発症を示さない。M 533 の心血を採り3世代の5匹の天竺鼠の心内に接種したが、M 536 が接種後12日を経過し、4日間に亘る熱発を始めて示し、この心血を接種材料とすることにより、爾後10世代に至る間心血心内系伝達を行つた。

第10表 M 1530 の心血心内系伝達
M 1530

I	525 ● ↓9(3)	526 ○	527 ● 9(3)	528 ● 8(3)	529 ○
II	530 ○	531 ○	532 ○	533 ● 10(2)	534 ● ↓9(2)
III	535 ○	536 ● ↓12(4)	537 ● 9(3)	538 ○	539 ○
IV	540 ● ↓10(3)	541 ● 11(2)	542 ● 11(2)	543 ⊗	544 ● 13(1)
V	545 ● 9(4)	546 ● 10(3)	547 ● ↓10(3)	548 ● 11(2)	549 ● 11(2)
VI	550 ● 9(3)	551 ● ↓9(3)	552 ● 9(2)	553 ● 10(4)	554 ⊗ 9(1)
VII	555 ● ↓10(4)	556 ● 7(3)	557 ● 11(2)	558 ● 11(4)	559 ● 10(3)
VIII	560 ● 11(3)	561 ● 9(3)	562 ● ↓10(2)	563 ● 10(4)	564 ● 10(2)
IX	565 ● ↓10(4)	566 ● 11(2)	567 ● 11(2)	568 ● 8(4)	569 ● 9(3)
X	570 ● 9(2)	571 ● 11(4)	572 ● 10(4)	573 ● 10(2)	574 ● 9(4)

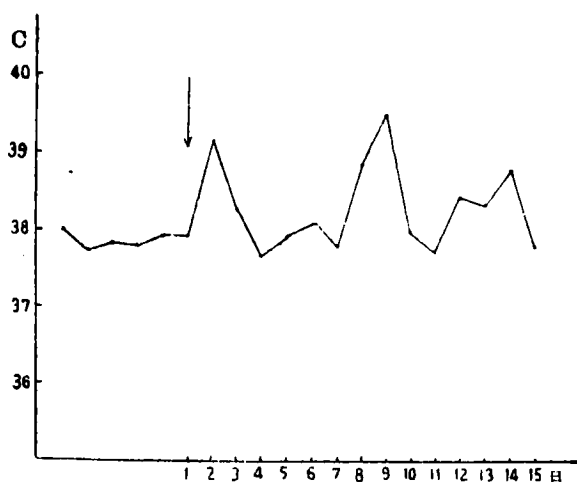
混合ウイルスを腹腔内に接種し、2世代以降、睪丸腹腔系伝達によつて累代され、N. M. R. が陽性に発現した M 1545 の心血を採り10世代に亘り心血心内系伝達を行つた成績を表11に示した。

第11表 M 1545 の心血心内系伝達
M 1545

I	614 ● 10(2)	615 ● 9(1)	616 ○
II	617 ● 12(3)	618 ● 10(3)	619 ⊗
III	620 ○	621 ● 14(1)	622 ○
IV	623 ○	624 ○	625 ○
V	626 ○	627 ○	628 ○
VI	629 ○	630 ○	631 ○
VII	632 ○	633 ⊗	634 ⊗
VIII	635 ○	636 ○	637 ○
IX	638 ○	639 ○	640 ○
X	641 ○	642 ○	643 ○

各世代の供試動物は何れも発症の徴を示さず、初世代の M614, M615, 2 世代の M617, M618, 3 世代の M621 のみが表 12 の如く不規則な熱発を示したが、4 世代以降の累代に供された天竺鼠は全く熱発を示さない。累代当初の天竺鼠が示した熱発は、R. m. が伝達保存されたものであり、心内系伝達の途中において中絶されたものと理解されるべきである。

第12表 M 621 の熱型



M 534 病毒の補体結合反応

混合病毒を雄性天竺鼠の腹腔内に接種し 7 日の潜伏期を以て発症し、N. M. R. が発現した M 1525 よりの睪丸腹腔系伝達を行い、その第 2 世代において、6 日の潜伏期の後に発症した M1530 より心血心内系伝達が 10 世代に互つて累ねたが、その第 2 世代の M534 と記録された供試動物が保有する病毒を吟味すべく、発育卵の卵黄囊内接種によつて累代し、感染卵黄囊より精製した R. 浮游液を抗原とする補体結合反応を実施し、その成績を表 13 と 14 に示した。

即ち、標準抗 R. p. 血清を供した補体結合反応では、供試抗原は 1 : 160 稀釈迄溶血阻止がみられ、既知の R. p. 抗原が示した溶血阻止の終末点とよく一致するが、同一供試抗原に標準抗 R. m. 血清を供した補体結合反応にみられる溶血阻止の終末点は、供試抗原の 1 : 40 稀釈であり、既知 R. m. 抗原の終末点が 1 : 80 稀釈である点に徴し、この供試抗原

第13表 補体結合反応
(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	M 534 系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R. p. 抗 原	既知 R. m. 抗 原
1	1 : 5	4	4	2
2	1 : 10	4	4	0
3	1 : 20	4	4	0
4	1 : 40	4	3	0
5	1 : 80	4	3	0
6	1 : 160	3	3	0
7	1 : 320	1	2	0
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0
標準血清		4 単位		
補 体		2 充単位		
溶 血 素		3 単位		

第14表 補体結合反応
(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 号 番	M 534 系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R. p. 抗 原	既知 R. m. 抗 原
1	1 : 5	4	2	4
2	1 : 10	4	1	4
3	1 : 20	4	0	4
4	1 : 40	3	0	3
5	1 : 80	2	0	3
6	1 : 160	1	0	2
7	1 : 320	1	0	0
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0
標準血清		4 単位		
補 体		2 充単位		
溶 血 素		3 単位		

は R. p. と R. m. の両抗原を含むと理解される。

M 570 病毒の補体結合反応

M1530 よりの心血心内系伝達における第 10 世代 M570 の心血を、発育卵の卵黄囊内に接種累代し、感染卵黄囊より精製 R. 浮游液をつくり、標準抗 R. p. 並に R. m. 血清を供することにより補体結合反応を実施し、その結果を表 15 と 16 に示した。

抗 R. p. 血清では供試抗原の溶血阻止の終末点は 1 : 160 稀釈であり、反之、抗 R. m. 血清では同一の供試抗原の 1 : 10 稀釈が 50% 溶

第15表 補体結合反応
(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	M 570 系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R. p. 抗 原	既知 R. m. 抗 原
1	1 : 5	3	4	0
2	1 : 10	4	4	0
3	1 : 20	4	4	0
4	1 : 40	4	3	0
5	1 : 80	4	3	0
6	1 : 160	4	3	0
7	1 : 320	2	1	0
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0
	標準血清	4 単位		
	補 体	2 充単位		
	溶血素	3 単位		

第16表 補体結合反応
(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 番号	M 570 系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R. p. 抗 原	既知 R. m. 抗 原
1	1 : 5	2	1	3
2	1 : 10	2	0	3
3	1 : 20	1	0	4
4	1 : 40	0	0	4
5	1 : 80	0	0	4
6	1 : 160	0	0	2
7	1 : 320	0	0	1
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0
	標準血清	4 単位		
	補 体	2 充単位		
	溶血素	3 単位		

血阻止を示したにすぎず、既知の R. p. 並に R. m. 抗原の示す溶血阻止の終末点に徴し、供試抗原は R. p. 抗原のみを含むものと考えられる。

M 617 病毒の補体結合反応

混合病毒の辜丸腹腔系伝達第5世代供試感染天竺鼠 M 1545 より、心血心内系伝達により累代され、累代当初は発症の徴候を示す天竺鼠が、代を累ねるに従い漸次何等の徴候を示さず病毒の伝達が中絶したものと考えられるが、初世代より第3世代に互り伝達された

病毒を吟味するために、M 617 の心血を發育卵の卵黄囊内に接種累代し、感染卵黄囊よりつくつた精製 R. 浮游液を供した標準抗 R. p. 血清及び標準抗 R. m. 血清との補体結合反応の成績を表17と18に示した。

第17表 補体結合反応
(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	M 617 系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R. p. 抗 原	既知 R. m. 抗 原
1	1 : 5	1	4	2
2	1 : 10	1	4	1
3	1 : 20	0	4	1
4	1 : 40	0	3	0
5	1 : 80	0	3	0
6	1 : 160	0	3	0
7	1 : 320	0	1	0
8	1 : 640	0	1	0
血清対照	0	0	0	0
	標準血清	4 単位		
	補 体	2 充単位		
	溶血素	3 単位		

第18表 補体結合反応
(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 番号	M 617 系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R. p. 抗 原	既知 R. m. 抗 原
1	1 : 5	3	2	4
2	1 : 10	4	1	4
3	1 : 20	4	1	4
4	1 : 40	3	0	3
5	1 : 80	3	0	3
6	1 : 160	1	0	0
7	1 : 320	1	0	0
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0
	標準血清	4 単位		
	補 体	2 充単位		
	溶血素	3 単位		

即ち、標準抗 R. p. 血清を供したときの補体結合反応において、供試抗原が示す溶血阻止は、抗原の 1 : 5 稀釈において 25% 溶血阻止を示すにすぎない。反之、標準抗 R. m. 血清について同一の供試抗原が示す補体結合の終末点は 1 : 80 稀釈とえられ、既知の R. m.

抗原の場合と差はなく、従つて、供試抗原は R. m. 抗原と一致すると推測される。

3. 脳腹腔系伝達の実験

R. p. 病毒による感染 M 1677, 並に R. m. 病毒による罹患天竺鼠 M911 の脳乳剤を混和し、脳腹腔系伝達を 10 世代に互り累代し、M1921 の脳乳剤を發育卵の卵黄囊内に接種累代し、感染卵黄囊より精製 R. 浮游液をつくり、標準抗 R. p. 血清並に抗 R. m. 血清につき補体結合反応を行つた成績を表19と20に示した。

第19表 補体結合反応
(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	M1921系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R.p. 抗 原	既知 R.m. 抗 原
1	1 : 5	3	4	1
2	1 : 10	4	4	1
3	1 : 20	4	4	0
4	1 : 40	4	3	0
5	1 : 80	3	3	0
6	1 : 160	3	3	0
7	1 : 320	1	1	0
8	1 : 640	1	0	0
血清対照	0	0	0	0

標準血清 4 単位
補 体 2 充単位
溶 血 素 3 単位

第20表 補体結合反応
(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 番号	M1921系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R.p. 抗 原	既知 R.m. 抗 原
1	1 : 5	4	2	4
2	1 : 10	4	1	4
3	1 : 20	3	0	4
4	1 : 40	3	0	3
5	1 : 80	1	0	1
6	1 : 160	1	0	0
7	1 : 320	0	0	0
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0

標準血清 4 単位
補 体 2 充単位
溶 血 素 3 単位

即ち、供試抗原の溶血阻止の終末点は、抗 R. p. 乃至抗 R. m. 血清の何れに対しても既知 R. p. 乃至 R. m. 抗原をもつて為された補体結合反応における溶血阻止の終末点にほぼ同じである。従つて、脳腹腔系伝達は、R. p. 病毒乃至 R. m. 病毒の何れもよく伝達保持され、各々の病毒は単離されない。

4. 脳皮下伝達系の実験

R. p. 病毒並に R. m. 病毒によつて発症せしめた M1891 と M937 の 10 倍稀釈脳乳剤を混和し、その 1.0ml 宛を健康天竺鼠の腹部皮下に接種累代した成績は、表21に示した如く、各世代に供された天竺鼠の発症は不定であり、且つ発症したときに示す熱型も定型的であるとはいえない。潜伏期も区々であり 6~12 日を示し、有熱期間も一般に短い。

第21表 混合病毒の皮下接種の実験
R. p. 1891 + R. m. 937

	2138	2139	2140	2141
I	● 7(2)	⊗	● 7(2)	● 11(1)
II	● 10(3)	○	● 8(2)	● 8(4)
III	● 6(2)	⊗	● 12(1)	○
IV	● 11(2)	● 7(2)	○	
V	○	○	● 7(3)	
VI	● 9(1)	○	● 11(3)	
VII	⊗	● 8(2)	⊗	
VIII	○	● 9(2)	○	
IX	● 12(2)	○	○	

かくの如き混合病毒を皮下に接種累代し、該病毒が如何に保存累代されるかを知るために、標準抗 R. p. 並に抗 R. m. 血清を供し補体結合反応を行つた。即ち、M2140 と第 9 世代の M 2179 の混合脳乳剤を發育卵の卵黄囊内に接種累代し、感染卵黄囊を集めて精製 R. 浮游液をつくり、この供試 R. 抗原と標準血

清がどの程度に補体結合を示すものかについて吟味した。その成績が表 22, 23, 24, 25 に示した。

第22表 補体結合反応
(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	M2140系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R.p. 抗 原	既知 R.m. 抗 原
1	1 : 5	3	4	1
2	1 : 10	4	4	1
3	1 : 20	4	3	0
4	1 : 40	3	3	0
5	1 : 80	3	3	0
6	1 : 160	2	3	0
7	1 : 320	0	1	0
8	1 : 640	0	1	0
血清対照	0	0	0	0

標準血清 4 単位
補 体 2 充単位
溶 血 素 3 単位

第23表 補体結合反応
(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 番号	M2140系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R.p. 抗 原	既知 R.m. 抗 原
1	1 : 5	4	1	3
2	1 : 10	4	0	4
3	1 : 20	4	0	4
4	1 : 40	3	0	4
5	1 : 80	3	0	3
6	1 : 160	1	0	2
7	1 : 320	1	0	0
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0

標準血清 4 単位
補 体 2 充単位
溶 血 素 3 単位

即ち、脳皮下伝達系の初世代と 9 世代の感染天竺鼠の脳乳剤を發育卵に接種累代し、感染卵黄囊から得た供試 R. 抗原は、R. p. 抗原と R. m. 抗原の両者を含むと考えられる成績であり、脳皮下伝達によつては、R. p. と R. m. 病毒の単離は困難であるとみななければならない。

第24表 補体結合反応
(標準抗 R. p. 血清による)

試験管 番号	M2179系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R.p. 抗 原	既知 R.m. 抗 原
1	1 : 5	4	4	1
2	1 : 10	4	4	0
3	1 : 20	3	4	0
4	1 : 40	3	4	0
5	1 : 80	3	3	0
6	1 : 160	2	3	0
7	1 : 320	0	1	0
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0

標準血清 4 単位
補 体 2 充単位
溶 血 素 3 単位

第25表 補体結合反応
(標準抗 R. m. 血清による)

試験管 番号	M2179系 供試抗原 0.25 ml	溶 血 阻 止		
		供試抗原	既知 R.p. 抗 原	既知 R.m. 抗 原
1	1 : 5	4	1	4
2	1 : 10	4	0	4
3	1 : 20	3	0	4
4	1 : 40	3	0	3
5	1 : 80	1	0	3
6	1 : 160	0	0	1
7	1 : 320	0	0	1
8	1 : 640	0	0	0
血清対照	0	0	0	0

標準血清 4 単位
補 体 2 充単位
溶 血 素 3 単位

考 察

発疹チフスと発疹熱は流行病学的に又、臨床像の上からかなりの相違がみられる。

両症の本質的な差異を何れが重症なりや、脳症と出血疹が発現するか否か、予後は如何という観点から、発疹チフスは重症型であり、死亡率が高く、脳症と出血疹を発現すると理解されている。非定型的な発疹チフスは亦少なく、軽症発疹チフスと発疹熱の相異をその臨床像から納得することは難しい。加之、

両症は互に交叉免疫が成立し W. F. R. をもつてしても両症の鑑別は不可能であるが, Cox-Craigie 法が案出されるに及び両症の鑑別乃至両症 R. の鑑別が補体結合反応により可成容易になり, 更に, R. の抗原分析の進歩は R. p. 及び R. m. の抗原構造を次第に明らかにした。

由来両症 R. の相違を動物実験の立場から理解する努力が, Neill (1917) と Mooser (1928) によつて始めてなされ, 発疹熱 R. を雄性天竺鼠の腹腔内に接種すれば陰嚢の発赤腫脹と, 睪丸が嚢内に固定するに至る癒着性滲出性睪丸炎が發現されることが明らかにされ, 原則として発疹チフス R. にはかくの如き睪丸炎親和性を欠き, むしろ血管内膜親和性であるとされ両症 R. の鑑別に利用されてきたが, 発疹チフス R. の場合にも時に類似の睪丸反応が發来することを認め, 兎玉等 (昭7) は仮性 N. M. R. というべきであるとした。仮性 N. M. R. は發來の程度は軽く, 世代を累ねたときの供試動物の総てに現われるものではなく, 偶發現象であるとするべきであり, 発疹熱 R. が累代されればその各世代の供試動物に, 例外なく發現する現象とは區別される。

即ち, 発疹熱 R. は睪丸炎親和性であり, 発疹チフス R. は時に仮性 N. M. R. を呈することがあるが, 累代された各世代の天竺鼠に例外なく N. M. R. 類似現象を發現させることは困難であり, 従つて発疹チフス R. は, 発疹熱 R. と同じく睪丸炎親和性であるとはいえない。

著者は, 発疹チフス R. の心内膜親和性と発疹熱 R. の睪丸炎親和性は, 両型 R. の特性と見做しうるか否かを知るべく, 混和された両型 R. を心血心内系, 睪丸腹腔系, 脳腹腔系並に脳皮下系の伝達によつて累代し, 如何なる伝達系を撰んだときに混和された両型 R. のうち, 何れの R. が淘汰中絶され, 又何れの R. が累代保存されるかについて研究を行つたので, 以下この成績を要約して述べる。

1. R. p. と R. m. 病毒を混和した材料を以て, 天竺鼠を用いて心血心内系伝達によつて累代し, 第5世代の感染動物の心血を發育卵に接種累代し, 感染卵黄嚢より精製 R. 浮游液をつくり, 標準抗 R. p. 血清と標準抗 R. m. 血清を供し補体結合反応を行つたが, 供試抗原は, 標準抗 R. p. 血清のみに補体結合を示し, 抗 R. m. 血清の場合には何等有意の補体結合がみられない。

加之, 混合病毒の心血心内系伝達第5世代及び第10世代の發症した天竺鼠の睪丸莢膜剝劑を雄性天竺鼠の腹腔内に接種し, 爾後, 睪丸腹腔系盲目伝達を6~9世代に互り行つたが發症した供試動物はみられない。即ち, R. m. 病毒は, 心血心内系伝達の累代途中絶したとみるべきであり, R. p. 病毒のみがよく累代され, R. p. 病毒は心内膜親和性であることが信ぜられる。

2. 雄性天竺鼠の腹腔内に接種された R. p. 及び R. m. 混合病毒は, 睪丸腹腔系伝達により累代すれば, 各世代の天竺鼠は何れも定型的に發症し N. M. R. を發現するが, 累代早期の供試天竺鼠の心血を採り, 心血心内系伝達を10世代に互り累ね, 早期の世代(1~3世代)の供試動物は, 發症を示すものと然らざるものがあつたが, 4世代以降は例外なく定型的に發症を示しており, 反之, 混合病毒の睪丸腹腔系伝達第5世代の供試動物よりつくられた心血心内系伝達は, 累代が極めて困難であり, 第4世代以降における天竺鼠は全く發症の徴を示さない。R. p. と R. m. の混合病毒の睪丸腹腔系伝達の途次, 累代早期にはなお R. p. と R. m. の両型病毒がみられるが, 10世代迄代を累ねた供試動物は R. p. 病毒を保有せず, 従つて, かゝる動物の心血による心血心内系伝達では供試動物に何等の發症の徴も現れない。果して, 睪丸腹腔系伝達により, R. p. 病毒の中絶が發来されたか否かを確認すべく, 混合病毒の睪丸腹腔系伝達5世代の供試動物の脳より, 發育卵黄嚢内接種により累代して得た R. 抗原と標準抗 R. p. 並に抗 R. m. 血清について何れの抗血清の場合に

補体結合がみられるかを観察した結果、供試 R. 抗原は R. m. 抗原のみを含むとすべき結果をえたものであり、辜丸腹腔系伝達は R. m. 病毒のみに適した累代方法であり、R. m. 病毒の示す辜丸莢膜親和性は R. m. 病毒固有の性状であるといえる。

3. R. p. と R. m. の混合病毒を累代すべく脳腹腔系伝達によれば、両型 R. 共によく累代保有され、10世代の罹患天竺鼠の脳乳剤を發育卵に接種累代することにより、補体結合反応のための R. 抗原をえたが、標準抗 R. p. 及び抗 R. m. 血清の何れにも補体結合を示し、脳腹腔系伝達によつては、混合病毒の単離は不可能であると考えられる

4. R. p. 及び R. m. 混合病毒を累代すべく脳皮下系伝達を行つたが、各供試動物が示す発症はやゝ不定であり、各世代に供される天竺鼠の全てが発症するものではない。伝達初世代の罹患天竺鼠から發育卵累代伝達して得た R. 抗原は、標準抗 R. p. 血清と抗 R. m. 血清の何れの場合にも補体結合を示し、脳皮下伝達系の9世代の罹患動物からの發育卵累代伝達において、感染卵黄嚢より得た R. 抗原も、標準抗 R. p. 血清及び抗 R. m. 血清の何れにも補体結合がみられ、脳皮下系伝達方法によつては混合病毒の単離は不可能であると考えられる。

即ち、著者が行つた研究業績は、発疹熱病毒 R. m. が示す辜丸莢膜親和性は、発疹熱病毒に特有な性状であることを立証したものである。何れの臓器乃至組織に親和性を示すかの判断は、世代を累ねた各供試動物の総べてのものが癒着性滲出性辜丸莢膜炎に因る N. M. R. の現象を発現することから理解納得されるべきであり、偶発する仮性 N. M. R. は、

真正の N. M. R. に類似な様相を示すとしても普遍性を欠如する限り、供試発疹チフス病毒 R. p. が辜丸莢膜親和性を有するとすることはできない。故に、N. M. R. は発疹熱病毒 R. m. に特有なる性質に由来する現象であり、発疹熱病毒 R. m. と発疹チフス病毒 R. p. との異同には動物実験上この N. M. R. が重要な根拠を提示するものである。

結 言

発疹チフス病毒 R. p. と、発疹熱病毒 R. m. の相異を天竺鼠を供し腹腔内に病毒を接種した時に発現する Neill-Mooser 反応から論ずることが、妥当であるか否かについて研究を行つた。その成績を要約し以下に述べる。

1. 混和された R. p. 病毒と R. m. 病毒を天竺鼠を供し心血心内系伝達を累ねることにより、R. m. 病毒が中絶され、R. p. 病毒のみが単離されうることを、この単離病毒を發育卵に接種累代して得た R. 抗原が標準抗 R. p. 血清のみと補体結合を示すことから立証した。

2. 混和された発疹チフス病毒と発疹熱病毒を、雄性天竺鼠を供し辜丸腹腔系伝達によつて累代すれば、発疹チフス病毒は中絶され、発疹熱病毒のみが単離累代されうることを、該単離病毒を發育卵に接種累代して得た R. 抗原が標準抗 R. m. 血清のみと補体結合を示すことから立証した。

3. 発疹チフス病毒は血管内膜親和性であり、発疹熱病毒は辜丸莢膜親和性であるがために発現される N. M. R. は、発疹熱病毒に特有なる性質に由来する現象であり、R. p. 病毒と R. m. 病毒との異同に関し動物実験上この N. M. R. が重要な根拠を提示するものであることを更めて確認した。

文 献

- 1) 児玉他3名・細菌学雑誌, 432, 79, 昭7.
- 2) 高橋他2名・細菌学雑誌, 435, 363, 昭7.
- 3) 北野他4名・第15回連合微生物学会記録, 116, 昭16.
- 4) Cox, H. R. Publ. Health Rep. 55, 2241, 1938.
- 5) Neill, M. H. Publ. Health Rep. 32, 1105, 1917.

- | | |
|---|--|
| 6) Mooser, H. J. : Inf. Dis. 43, 241, 261, 1928. | 11) Iwata, S. : Jour. Orient. Med. 30, 193, 昭
14. |
| 7) Pinkerton, H. : Jour. Inf. Dis. 44, 337,
1929. | 12) Bengtson, I. A. : Nat. Inst. Health. Bull.
183, 17, 1945. |
| 8) Pinkerton, H. : Jour. Exper. Med. 54, 181,
187, 1931. | 13) Topping, N. H. : Nat. Inst. Health. Bull.
183, 13, 1945. |
| 9) Castaneda, M. R. . Jour. Exper. Med. 52,
195, 1930. | 14) Sadusk, J. F. Jour. Amer. Med. Ass. 133,
1192, 1947. |
| 10) Zinsser, H. : Amer. Jour. Hyg. 20, 513,
1934. | |

Department of Bacteriology, Okayama University Medical School
(Director : Prof. Dr. Sakae Murakami)

Studies on the Immunization by *Rickettsia prowazeki* and
Rickettsia mooseri

II : About the method to differentiate *Rickettsia prowazeki*
and *Rickettsia mooseri* from each other

By

Ei Yamaguchi

The differences between *R. prowazeki* and *R. mooseri* have been, so far, discussed from their epidemiological traits, clinical signs, affinity for tunica vaginalis of guinea pigs or rats, affinity toward endothelial cells of blood vessels, structure of antigen, and antigenicity of complement fixation test,

In recent time, the way of thinking about the differences between these rickettsiae tends to place great importance on complement fixation test in place of affinity toward tunica vaginalis or endothelial cells of blood vessels of guinea pigs. In order to clear the questionable points to differentiate the two types of rickettsia, the author has studied about the affinity of the rickettsia toward tunica vaginalis of guinea pigs and has considered again about the phenonena occurring in scrota of guinea pigs.

Heart bloods of guinea pigs infected with *R. prowazeki* and *R. mooseri* were mixed, and this mixed blood was used as a starting-material for successive generation. The author found that by the successive generation to 10 generations through intraperitoneal route suiting to *R. mooseri* or through intracardial route suiting to *R. prowazeki*, the rickettsial strains of the original mixed blood could be isolated to each type of rickettsiae on the ground of complement fixation test about the isolated strains.

It is not too much to say that scrotal phenomena caused by *R. mooseri* is, as expected, very important sign to differentiate *R. mooseri* from *R. prowazeki*.
