

恙虫病病毒感染天竺鼠における腹水ウイルスに関する研究

第 2 編

変異恙虫病ウイルスにより感染発症した Chlorpromazine 処理
天竺鼠の腹水を抗原とする補体結合反応

岡山大学医学部微生物学教室（主任：村上 栄教授）

三 野 二 郎

〔昭和 34 年 7 月 27 日受稿〕

緒 言

恙虫病病原体である *Rickettsia* (「R」) と以下略記する) が, Chloramphenicol (Cp と以下略記する) に感受性が著しく, Cp が好んで恙虫病の治療に供されることは周知の事柄である。

しかしながら, 生体内に Cp と「R」が長期共存するときに, 「R」は Cp なる衝壁に長期曝露され, 「R」に性質変換が起りうるであろうことは容易に考えられ, 同僚藤村 (昭34) はかかる意図のもとに, ハツカネズミの体内で微量の Cp と恙虫病ウイルスを接触させ, 変異ウイルスとも考えるべきウイルスの分離に成功した。すなわち, 変異ウイルスは, Chlorpromazine (Cpm と以下略記する) を以て処理した天竺鼠に対し, 季節の如何を問わず, 供試天竺鼠に増殖し, 多量の腹水の滯溜と, ウイルスの増殖が著しいとともに, 変異腹水ウイルスは, 原型ウイルスに較べ, 免疫原性が劣ることを明らかにした。

藤村のこの業績は, 日常, 恙虫病ウイルスの累代伝達の途次, 不明の因子による供試ウイルスの変異が起りうるであろうことを暗示するものであり, 恙虫病ワクチンの研究に注目すべき重要な事実を提起した。

一方, 免疫学的分野においても, かかる変異ウイルスに関する性質の吟味に興味深いものがあり, また, これを明らかにすることは, 恙虫病ウイルスワクチンの改良・研究に不可欠の課題であるといわねばならない。

ここにおいて, 著者は, 変異恙虫病ウイルスの補体結合反応における特異性に関する吟味を行つた結果, 重要な知見をえたので, ここにその詳細を報告し, 大方の御高批を仰ぐ次第である。

実験方法とその材料

1. 供試動物

岡山大学医学部微生物学教室に保存する大関株・三谷株ウイルス並びに北里研究所から分与された七島株ウイルスをこの実験に供した。

さらに変異ウイルス株は, ハツカネズミの体重 10 g 当り, Cp の 0.1 mg を連日10日間に亘つて投与し, Cp の投与と同時に, 大関株・三谷株及び七島株ウイルスを供試ハツカネズミの腹腔内に接種し, 接種の後約14日を経過したものを, 致死させ, 肝・脾の混合乳剤を変異ウイルス株のウイルス材料とした。

2. 抗血清

この実験に供する大関株・三谷株・七島株・変異大関株・変異三谷株・変異七島株ウイルスによつて感染・発症せしめられた天竺鼠に滯溜する腹水を, それぞれのウイルス株につき, 家兎 3 匹の静脈内に数回に亘り注射し, 全採血することによつて, 血清を分離・保存した。

3. 補体結合反応の術式

同僚河野 (昭32) が考案した方法に従つた。

すなわち,

抗原

感染天竺鼠からえた腹水を, ドライアイス・アセトン法で, 3 回凍結融解を繰り返して, 軽く遠心沈澱して, 粗組織片を除いたものを抗原として保存した。

溶血素

抗細羊赤血球溶血素をこの実験に供し, 本試験においては, 溶血素の 3 単位を使用した。

補体

天竺鼠の血清を供し, 補体の 2 充単位が, 0.5 ml 内に含まれる如くに, 血清を稀釈した。

抗原の測定

倍数希釈した抗原の 0.25 ml を、血清の同じく倍数希釈した 0.25 ml 及び対照としての食塩水の 0.25 ml 宛加えられた各 9 本宛の試験管列に交叉的に加え、次いで、総ての試験管に、0.5 ml の中に 2 充単位を含む補体を加えて振盪し、4°C に 1 夜放置した。

冷蔵庫より取り出したものは、室温に 15 分間放置して温め、次いで、全部の試験管に 3% 緬羊血球浮游液に、3 単位を含むように希釈した溶血素を同量加えた感作血球浮游液の 0.5 ml 宛を加えてよく振盪し、37°C の浴槽内に 30 分入れた後判定した。

判定

血清の 4 単位に相当する希釈のところにおいて、抗原が 3~4 程度の補体結合反応を起すところを以て、抗原の 1 単位と見做し、実際の補体結合には、抗原の 2 単位を使用した。

本試験においては、溶血抑制の程度を次のように判読した。

すなわち、4 は完全不溶血、3 は 75% 溶血抑制、2 は 50% 溶血抑制、1 は 25% 溶血抑制、0 は完全溶血を示し、3~4 程度の溶血抑制を示すものを有意義反応とした。

I. 実験成績

1. 大関株腹水抗原による抗大関株血清との補体結合反応

抗大関株血清 (OI・OII・OIII) を供し、Cpm 処理天竺鼠からえた腹水を抗原とする補体結合反応を行い、その結果を、表 1 に示した。

OI 血清においては、その 1:40 希釈まで、完全

表 1 大関株抗原による補体結合反応

抗 原	血清希釈	成 績		
		OI血清	OII血清	OIII血清
大 関 株 腹 水 抗 原	1: 10	4	4	4
	20	4	4	4
	40	4	4	4
	80	3	4	4
	160	3	3	4
	320	3	3	3
	640	3	2	3
	1280	1	1	2
対 照 (1:10)		0	0	0

不溶血を、1:640 希釈まで 75% 溶血抑制を示し、OII 血清においては、その 1:80 希釈まで完全不溶血を、1:320 希釈まで 75% 溶血抑制を、1:640 希釈まで 50% 溶血抑制を示した。また、OIII 血清については、その 1:160 希釈にまで完全不溶血を、1:640 希釈まで 75% 溶血抑制を、1:1280 希釈まで 50% 溶血抑制を示した。

2. 大関株腹水抗原による抗三谷株血清との補体結合反応

大関株腹水抗原を供し、抗三谷株病毒血清 (MI・MII・MIII) について補体結合反応を行い、その結果を、表 2 に示した。

表 2 大関株抗原による補体結合反応

抗 原	血清希釈	成 績		
		MI血清	MII血清	MIII血清
大 関 株 腹 水 抗 原	1 10	4	4	4
	20	4	4	4
	40	4	4	4
	80	4	4	4
	160	3	3	3
	320	3	3	3
	640	0	3	3
	1280	0	1	2
対 照 (1:10)		0	0	0

すなわち、MI 血清においては、その 1:80 希釈まで完全不溶血を、1:320 希釈まで 75% 溶血抑制をみ、抗大関株病毒血清による成績と大差をみない。さらに MII 血清について同じ実験を行つたが、血清の 1:80 希釈まで完全不溶血を、1:640 希釈まで 75% 溶血抑制を示した。MIII 血清については、その 1:80 希釈まで完全不溶血を、1:640 希釈まで 75% 溶血抑制を示した。

3. 大関株腹水抗原による抗七島株血清との補体結合反応

大関株腹水抗原を供し、抗七島株血清との補体結合反応を行い、その結果を、表 3 に示した。

すなわち、HI 血清においては、その 1:10 希釈にまで完全不溶血をみ、1:20 希釈にまで 75% 溶血抑制をみたにすぎない。また、HII 血清においては、1:10 希釈において 75% 溶血抑制を示し、HIII 血清においては、その 1:10 希釈に 75% 溶血抑制を、HIV 血清においては、その 1:10 希釈において、50% 溶血抑制を示したにすぎない。

表3 大関株抗原による補体結合反応

抗原	血清 稀 釈	成 績			
		HI血清	HII血清	HIII血清	HIV血清
大関株 腹水抗原	1: 10	4	3	3	2
	20	3	2	1	1
	40	1	2	1	1
	80	0	0	0	1
	160	0	0	0	0
	320	0	0	0	0
	640	0	0	0	0
	1280	0	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0	0

4. 大関株腹水抗原による抗変異大関株血清との補体結合反応

大関株腹水抗原を供し、抗変異大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表4に示した。

表4 大関株抗原による補体結合反応

抗原	血清 稀 釈	成 績			
		VO I 血清	VO II 血清	VO III 血清	VO IV 血清
大関株 腹水抗原	1: 10	4	4	4	4
	20	4	4	4	4
	40	4	4	4	4
	80	3	4	4	4
	160	3	3	4	3
	320	3	3	3	3
	640	3	3	2	1
	1280	1	2	2	0
対照 (1:10)		0	0	0	0

すなわち、VOI血清においては、その1:40稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示し、VOII血清においては、その1:80稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示した。

また VOIII血清については、その1:160稀釈まで完全不溶血を、1:320稀釈まで75%溶血抑制を示し、VOIV血清については、その1:80稀釈まで完全不溶血を、1:320稀釈まで75%溶血抑制を示した。

5. 大関株腹水抗原による抗変異三谷株血清との補体結合反応

大関株腹水抗原を供し、抗変異三谷株血清 (VMi・VMII・VMIII・VMIV・VMV) について行つた補体

表5 大関株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成 績				
		VMi 血清	VMII 血清	VMIII 血清	VMIV 血清	VMV 血清
大関株 腹水抗原	1: 10	4	4	4	3	4
	20	4	4	4	4	4
	40	4	4	4	4	4
	80	3	4	3	4	3
	160	3	3	3	4	3
	320	3	3	3	3	3
	640	2	3	3	3	3
	1280	0	1	2	0	3
対照 (1:10)		0	0	0	0	0

結合反応の結果を、表5に示した。

すなわち、VMi血清については、その1:40稀釈まで完全不溶血を、1:320稀釈まで75%溶血抑制を示し、VMII血清については、その1:80稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示した。

また、VMIII血清については、その1:40稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示し、VMIV血清については、その1:160稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示し、VMV血清については、1:40稀釈まで完全不溶血を、1:1280稀釈まで75%溶血抑制を示した。

6. 大関株腹水抗原による抗変異七島株血清との補体結合反応

大関株腹水抗原を供し、抗変異七島株血清 (VHI・VHII・VHIII・VHIV・VHV) について、補体結合反応を行い、その結果を、表6に示した。

すなわち、VHI血清においては、その1:10稀

表6 大関株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成 績				
		VHI 血清	VHII 血清	VHIII 血清	VHIV 血清	VHV 血清
大関株 腹水抗原	1: 10	3	2	3	2	2
	20	1	1	2	2	0
	40	1	0	0	1	0
	80	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0
	320	0	0	0	0	0
	640	0	0	0	0	0
	1280	0	0	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0	0	0

積において、75%溶血抑制を示したにすぎず、VHII血清においては、1:10稀釈において、辛うじて、50%溶血抑制を示したにすぎない。VHIII血清においては、その1:10稀釈において75%溶血抑制を、VHIV血清及びVHV血清においては、高50%溶血抑制をみたにすぎない。

7. 三谷株腹水抗原による抗大関株血清との補体結合反応

三谷株腹水抗原を供し、抗大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表7に示した。

表7 三谷株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		OI血清	OII血清	OIII血清
三谷株 腹水 抗原	1: 10	4	4	4
	20	4	4	4
	40	4	3	4
	80	4	3	3
	160	3	3	3
	320	3	3	3
	640	3	2	3
1280	2	1	2	
対 照 (1:10)		0	0	0

すなわち、OI血清については、1:80稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示し、OII血清については、1:20稀釈まで完全不溶血を、1:320稀釈まで75%溶血抑制を示した。OIII血清においては、1:40稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示した。

8. 三谷株腹水抗原による抗三谷株血清との補体結合反応

三谷株腹水抗原を供し、抗三谷株血清について行つた補体結合反応の結果を、表8に示した。

すなわち、MI血清では1:40稀釈まで完全不溶血を、1:320稀釈まで75%溶血抑制を示し、MII血清では、1:160稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示し、さらに、MIII血清では、1:40稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示した。

9. 三谷株腹水抗原による抗七島株血清との補体結合反応

三谷株腹水抗原を供し、抗七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表9に示した。

すなわち、HI血清では、1:10稀釈においての

表8 三谷株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		MI血清	II血清	MIII血清
三谷株 腹水 抗原	1: 10	4	4	4
	20	4	4	4
	40	4	4	4
	80	3	4	3
	160	3	4	3
	320	3	3	3
	640	1	3	3
1280	1	1	0	
対 照 (1:10)		0	0	0

表9 三谷株抗原による補体結合反応

抗 原	血 清 稀 釈	成 績			
		HI血清	HII血清	HIII血清	HIV血清
三谷株 腹水 抗原	1 10	3	2	3	2
	20	1	2	2	2
	40	0	0	1	0
	80	0	0	0	0
	160	0	0	0	0
	320	0	0	0	0
	640	0	0	0	0
1280	0	0	0	0	
対 照 (1:10)		0	0	0	0

み75%溶血抑制を示したにすぎず、HII・HIV血清においては、有意とすべき溶血抑制を示さず、HIII血清では、1:10稀釈においてのみ75%溶血抑制を示したにすぎない。

10. 三谷株腹水抗原による変異大関株血清との補体結合反応

三谷株腹水抗原を供し、抗変異大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表10に示した。

すなわち、VOI血清については1:80稀釈まで完全不溶血を、1:320稀釈まで75%溶血抑制を示し、VOII血清については、1:160稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示し、VOIII血清については、1:40稀釈まで完全不溶血を、1:1280稀釈まで75%溶血抑制を示した。

また、VOIV血清については、1:80稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示した。

表10 三谷株抗原による補体結合反応

抗原	血清 稀 釈	成 績			
		VO I 血清	VO II 血清	VO III 血清	VO IV 血清
三谷株 腹水 抗原	1: 10	4	4	4	4
	20	4	4	4	4
	40	4	4	4	4
	80	4	4	3	4
	160	3	4	3	3
	320	3	3	3	3
	640	2	3	3	3
	1280	1	2	3	1
対 照 (1:10)		0	0	0	0

11. 三谷株腹水抗原による抗変異三谷株血清との補体結合反応

三谷株腹水抗原を供し、抗変異三谷株血清について行つた補体結合反応の結果を、表11に示した。

表11 三谷株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成 績				
		VM I 血清	VM II 血清	VM III 血清	VM IV 血清	VM V 血清
三谷株 腹水 抗原	1: 10	4	4	4	4	4
	20	4	4	4	4	4
	40	3	4	4	4	4
	80	3	3	4	3	4
	160	3	3	3	3	3
	320	3	3	3	3	3
	640	2	3	3	2	3
	1280	0	1	2	0	2
対 照 (1:10)		0	0	0	0	0

すなわち、VM I 血清では、1:20 稀釈まで完全不溶血を、1:320 稀釈まで75%溶血抑制を示し、VM II 血清では1:40 稀釈まで完全不溶血を、1:640稀釈まで75%溶血抑制を示した。さらに VM III 血清では、1:80 稀釈まで完全不溶血を、1:640 稀釈まで75%溶血抑制を示し、VM IV 血清では、1:40 稀釈まで完全不溶血を、1:320 稀釈まで75%溶血抑制を示し、VM V 血清では1:80 稀釈まで完全不溶血を、1:640 稀釈まで75%溶血抑制を示した。

12. 三谷株腹水抗原による抗変異七島株血清との補体結合反応

三谷株腹水抗原を供し、抗変異七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表12に示す。

表12 三谷株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成 績				
		VH I 血清	VH II 血清	VH III 血清	VH IV 血清	VH V 血清
三谷株 腹水 抗原	1: 10	3	2	3	2	2
	20	2	2	1	1	2
	40	2	1	1	1	0
	80	0	0	1	0	0
	160	0	0	0	0	0
	320	0	0	0	0	0
	640	0	0	0	0	0
	1280	0	0	0	0	0
対 照 (1:10)		0	0	0	0	0

すなわち、VH I と VH III 血清においては、その1:10 稀釈において、辛うじて、75%溶血抑制を示したにとどまる。

13. 七島株腹水抗原による抗大関株血清との補体結合反応

七島株腹水抗原を供し、抗大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表13に示す。

表13 七島株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成 績			
		O I 血清	O II 血清	O III 血清	O IV 血清
七島株 腹水 抗原	1: 10	2	1	3	2
	20	2	1	1	2
	40	2	0	0	1
	80	0	0	0	0
	160	0	0	0	0
	320	0	0	0	0
	640	0	0	0	0
	1280	0	0	0	0
対 照 (1:10)		0	0	0	0

すなわち、O I · O II · O III · O IV 血清について、実験を行つたが、O III 血清にのみ、その1:10 稀釈において75%溶血抑制を示したにすぎない。

14. 七島株腹水抗原による抗三谷株血清との補体結合反応

七島株腹水抗原を供し、抗三谷株血清について行つた補体結合反応の結果を、表14に示した。

すなわち、この実験においては、いずれの抗血清も、有意とすべき溶血抑制をみない。

表14 七島株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		M I血清	M II血清	M III血清
七島株 腹水抗原	1 : 10	2	1	1
	20	2	1	1
	40	1	2	0
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1 : 10)		0	0	0

15. 七島株腹水抗原による抗七島株血清との補体結合反応

七島株腹水抗原を供し、抗七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表15に示した。

表15 七島株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績			
		H I血清	H II血清	H III血清	H IV血清
七島株 腹水抗原	1 . 10	4	4	3	4
	20	4	4	4	4
	40	4	4	4	4
	80	3	4	4	3
	160	3	3	3	3
	320	3	3	3	3
	640	1	2	3	2
	1280	0	0	1	0
対照 (1 : 10)		0	0	0	0

すなわち、H I 血清では 1 : 40 稀釈まで完全不溶血を、1 : 320 稀釈まで75%溶血抑制を示し、H II 血清では、その 1 : 80 稀釈まで完全不溶血を、1 : 320 稀釈まで75%溶血抑制を示し、H III 血清では、その 1 : 80 稀釈まで完全不溶血を、1 : 640 稀釈まで75%溶血抑制を示し、H IV 血清では 1 : 40 稀釈まで完全不溶血を、1 : 320 稀釈まで75%溶血抑制を示した。

16. 七島株腹水抗原による抗変異大関株血清との補体結合反応

七島株腹水抗原を供し、抗変異大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表16に示した。

すなわち、この実験においては、いずれの血清も、有意の溶血抑制を示さない。

表16 七島株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績			
		VO I血清	VO II血清	VO III血清	VO IV血清
七島株 腹水抗原	1 . 10	2	2	2	1
	20	1	2	0	1
	40	1	0	0	0
	80	0	0	0	0
	160	0	0	0	0
	320	0	0	0	0
	640	0	0	0	0
	1280	0	0	0	0
対照 (1 : 10)		0	0	0	0

17. 七島株腹水抗原による抗変異三谷株血清との補体結合反応

七島株腹水抗原を供し、抗変異三谷株血清について行つた補体結合反応を、表17に示した。

表17 七島株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績				
		VM I血清	VM II血清	VM III血清	VM IV血清	VM V血清
七島株 腹水抗原	1 . 10	3	2	2	2	2
	20	1	2	1	2	1
	40	1	0	0	2	0
	80	0	0	0	0	0
	160	0	0	0	0	0
	320	0	0	0	0	0
	640	0	0	0	0	0
	1280	0	0	0	0	0
対照 (1 : 10)		0	0	0	0	0

すなわち、供試血清のうち、VM I 血清においてのみ、その 1 : 10 稀釈において75%溶血抑制を示し、他の変異三谷株抗血清においては、有意なる補体結合を示さない。

18. 七島株腹水抗原による抗変異七島株血清との補体結合反応

七島株腹水抗原を供し、抗変異七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表18に示した。

すなわち、VH I 血清では、1 : 80 稀釈まで完全不溶血を、1 : 320 稀釈まで75%溶血抑制を示し、VH II 血清では、1 : 20 稀釈まで完全不溶血を、1 : 640 稀釈まで75%溶血抑制を示し、VH III 血清では、1 : 80 稀釈まで完全不溶血を、1 : 320 稀釈まで75%溶血抑制を示した。さらに、VH IV 血清で

表18 七島株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成績				
		VHI血清	VHII血清	VHIII血清	VHIV血清	VHV血清
七島株腹水抗原	1:10	4	4	4	4	4
	20	4	4	4	4	4
	40	4	3	4	4	3
	80	4	3	4	3	3
	160	3	3	3	3	3
	320	3	3	3	3	3
	640	2	3	2	3	2
	1280	0	1	1	2	1
対照 (1:10)		0	0	0	0	0

は、1:40 稀釈まで完全不溶血を、1:640 稀釈まで75%溶血抑制を示した。また、VHV 血清では、1:20 稀釈まで完全不溶血を、1:320 稀釈まで75%溶血抑制を示した。

19. 変異大関株腹水抗原による抗大関株血清との補体結合反応

変異大関株腹水抗原を供し、抗大関株血清との補体結合反応を行い、変異大関株腹水抗原の、反応原性を吟味し、その結果を表19に示した。

表19 変異大関株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成績		
		OI血清	OII血清	OIII血清
変異大関株腹水抗原	1:10	4	4	4
	20	4	3	3
	40	3	2	3
	80	1	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0

OI 血清では1:20 稀釈まで完全不溶血を、1:40 稀釈まで75%溶血抑制を示し、OII 血清では、1:10 稀釈まで完全不溶血を、1:20 稀釈まで75%溶血抑制をみた。OIII 血清では、1:10 稀釈まで完全不溶血を、1:40 稀釈まで75%溶血抑制をみた。

20. 変異大関株腹水抗原による抗三谷株血清との補体結合反応

変異大関株腹水抗原を供し、抗三谷株血清につき行つた補体結合反応の結果を、表20に示した。

表20 変異大関株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成績		
		MI血清	MII血清	MIII血清
変異大関株腹水抗原	1:10	4	4	3
	20	3	3	3
	40	1	2	1
	80	0	2	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0

すなわち、MI 血清では1:10 稀釈において完全不溶血を、1:20 稀釈において75%溶血抑制をみ、MII 血清では1:10 稀釈において完全不溶血を、1:20 稀釈において75%溶血抑制を示し、MIII 血清では1:20 稀釈まで75%溶血抑制をみるにすぎない。

21. 変異大関株腹水抗原による抗七島株血清との補体結合反応

変異大関株腹水抗原を供し、抗七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表21に示した。

表21 変異大関株抗原による補体結合反応

抗原	血清稀釈	成績		
		HI血清	HII血清	HIII血清
変異大関株腹水抗原	1:10	3	4	4
	20	3	3	2
	40	0	1	0
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0

すなわち、HI 血清では、1:20 稀釈まで75%溶血抑制をみ、HII 血清では、1:10 稀釈まで完全不溶血を、1:20 稀釈まで75%溶血抑制を示し、HIII 血清では1:10 稀釈に完全不溶血を示したにすぎない。

22. 変異大関株腹水抗原による抗変異大関株血清との補体結合反応

変異大関株腹水抗原を供し、抗変異大関株血清に

ついて行つた補体結合反応の結果を、表22に示す。

すなわち、VOI 血清では 1:40 稀釈まで75%溶血抑制をみ、VOII 血清では 1:10 稀釈において完全不溶血を、1:20 稀釈まで75%溶血抑制を示し、VOIII 血清では 1:20 稀釈まで75%溶血抑制を示した。

表22 変異大関株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		VOI 血清	VOII 血清	VOIII 血清
変異大関株腹水抗原	1: 10	3	4	3
	20	3	3	3
	40	3	2	1
	80	1	2	1
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1:10)	0	0	0	

23. 変異大関株腹水抗原による抗変異三谷株血清との補体結合反応

変異大関株腹水抗原を供し、抗変異三谷株血清について行つた補体結合反応の結果を、表23に示した。

VM I 血清では 1:10 稀釈において完全不溶血を示し、VM II 血清では 1:20 稀釈まで75%溶血抑制を示し、さらに、VM III 血清では、1:10 稀釈において完全不溶血を示したにとどまる。

表23 変異大関株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		VM I 血清	VM II 血清	VM III 血清
変異大関株腹水抗原	1: 10	4	3	4
	20	0	3	1
	40	0	1	1
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1:10)	0	0	0	

24. 変異大関株腹水抗原による抗変異七島株血清との補体結合反応

変異大関株腹水抗原を供し、抗変異七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表24に示した。

表24 変異大関株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		VHI 血清	VHII 血清	VHIII 血清
変異大関株腹水抗原	1: 10	4	3	4
	20	4	1	1
	40	2	1	0
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1:10)	0	0	0	

VHI 血清では 1:20 稀釈まで完全不溶血を示し、VHII 血清では 1:10 稀釈まで75%溶血抑制を示し、VHIII 血清では 1:10 稀釈において完全不溶血を示したにすぎない。

25. 変異三谷株腹水抗原による抗大関株血清との補体結合反応

変異三谷株腹水抗原を供し、抗大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表25に示した。

表25 変異三谷株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		O I 血清	O II 血清	O III 血清
変異三谷株腹水抗原	1: 10	3	4	3
	20	3	1	2
	40	1	0	1
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1:10)	0	0	0	

すなわち、OI 血清においては、その 1:20 稀釈まで75%溶血抑制を示し、OII 血清においては、その 1:10 稀釈において75%溶血抑制を示した。

26. 変異三谷株腹水抗原による抗三谷株血清との補体結合反応

変異三谷株腹水抗原を供し、抗三谷株血清について行つた補体結合反応の結果を、表26に示した。

すなわち、MI 血清では 1:10 稀釈まで完全不溶血を、MII 血清では 1:10 稀釈まで75%溶血抑制を示し、MIII 血清では 1:10 稀釈で完全不溶血を

表26 変異三谷株抗原による補体結合反応

抗原	血清希釈	成績		
		M _I 血清	M _{II} 血清	M _{III} 血清
変異三谷株腹水抗原	1: 10	4	3	4
	20	0	1	1
	40	0	1	0
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0

示したにすぎない。

27. 変異三谷株腹水抗原による抗七島株血清との補体結合反応

変異三谷株腹水抗原を供し、抗七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表27に示した。

表27 変異三谷株抗原による補体結合反応

抗原	血清希釈	成績		
		H _I 血清	H _{II} 血清	H _{III} 血清
変異三谷株腹水抗原	1: 10	3	4	3
	20	1	3	3
	40	0	0	1
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0

すなわち、H_I血清においては、その1:10希釈において75%溶血抑制を示し、H_{II}血清においては、その1:10希釈において完全不溶血を、1:20希釈まで75%溶血抑制を示した。またH_{III}血清においては、その1:20希釈において75%溶血抑制を示した。

28. 変異三谷株腹水抗原による抗変異大関株血清との補体結合反応

変異三谷株腹水抗原を供し、抗変異大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表28に示した。

すなわち、VO_I・VO_{II}及びVO_{III}血清では、ともに1:10希釈まで75%溶血抑制をみた。

表28 変異三谷株抗原による補体結合反応

抗原	血清希釈	成績		
		VO _I 血清	VO _{II} 血清	VO _{III} 血清
変異三谷株腹水抗原	1: 10	3	3	3
	20	0	1	2
	40	0	1	0
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0

29. 変異三谷株腹水抗原による抗変異三谷株血清との補体結合反応

変異三谷株腹水抗原を供し、抗変異三谷株血清との補体結合反応の結果を、表29に示した。

表29 変異三谷株抗原による補体結合反応

抗原	血清希釈	成績		
		VM _I 血清	VM _{II} 血清	VM _{III} 血清
変異三谷株腹水抗原	1: 10	3	3	4
	20	3	3	1
	40	1	2	1
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対照 (1:10)		0	0	0

すなわち、VM_I・VM_{II}血清では、ともにその1:20希釈まで75%溶血抑制を示し、VM_{III}血清では、その1:10希釈において完全不溶血を示すとどまる。

30. 変異三谷株腹水抗原による抗変異七島株血清との補体結合反応

変異三谷株腹水抗原を供し、抗変異七島株血清との補体結合反応の結果を、表30に示した。

すなわち、VH_I血清においては、有意とすべき補体結合を示すことなく、VH_{II}血清では1:10希釈で完全不溶血を示し、VH_{III}血清では1:10希釈で完全不溶血を、1:20希釈で75%溶血抑制を示すにすぎない。

表30 変異三谷株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		VHI 血清	VHII 血清	VHIII 血清
変異三谷株腹水抗原	1 · 10	2	4	4
	20	2	1	3
	40	1	0	1
	80	0	0	1
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1 : 10)		0	0	0

31. 変異七島株腹水抗原による抗大関株血清との補体結合反応

変異七島株腹水抗原を供し、抗大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表31に示す。

表31 変異七島株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		OI 血清	OII 血清	OIII 血清
変異七島株腹水抗原	1 · 10	2	3	3
	20	1	0	1
	40	1	0	1
	80	1	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1 : 10)		0	0	0

すなわち、OII・OIII 血清では、1 : 10 稀釈で75%溶血抑制を示すが、OI 血清においては、有意とすべき補体結合はみられない。

32. 変異七島株腹水抗原による抗三谷株血清との補体結合反応

変異七島株腹水抗原を供し、抗三谷株血清について行つた補体結合反応の結果を、表32に示す。

すなわち、MI・MIII 血清では 1 : 10 稀釈において75%溶血抑制を示すが、MII 血清においては、有意とすべき補体結合をみない。

33. 変異七島株腹水抗原による抗七島株血清との補体結合反応

変異七島株腹水抗原を供し、抗七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表33に示す。

表32 変異七島株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		MI 血清	MII 血清	MIII 血清
変異七島株腹水抗原	1 · 10	3	1	3
	20	0	1	1
	40	0	1	0
	80	0	0	0
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1 : 10)		0	0	0

表33 変異七島株抗原による補体結合反応

抗 原	血清稀釈	成 績		
		HI 血清	HII 血清	HIII 血清
変異七島株腹水抗原	1 · 10	4	4	3
	20	1	2	1
	40	1	2	1
	80	0	0	1
	160	0	0	0
	320	0	0	0
	640	0	0	0
	1280	0	0	0
対 照 (1 : 10)		0	0	0

HI・HII 血清では、ともに 1 : 10 稀釈で完全不溶血を示すが、HIII 血清では 1 : 10 稀釈において75%溶血抑制を示した。

34. 変異七島株腹水抗原による抗変異大関株血清との補体結合反応

変異七島株腹水抗原を供し、抗変異大関株血清について行つた補体結合反応の結果を、表34に示した。

VOI・VOII 血清では 1 : 10 稀釈で75%溶血抑制を示すが、VOIII 血清では、有意とすべき補体結合をみない。

35. 変異七島株腹水抗原による抗変異三谷株血清との補体結合反応

変異七島株腹水抗原を供し、抗変異三谷株血清について行つた補体結合反応の結果を、表35に示した。

すなわち、VMI 血清の 1 : 10 稀釈において完全不溶血をめたが、VMII・VMIII 血清では、ともに、有意の補体結合を示さない。

表34 変異七島株抗原による補体結合反応

抗原	血清希釈		成績		
			VOI 血清	VOII 血清	VOIII 血清
変異七島株腹水抗原	1	10	3	3	2
		20	0	1	1
		40	0	1	0
		80	0	0	0
		160	0	0	0
		320	0	0	0
		640	0	0	0
		1280	0	0	0
対照 (1:10)			0	0	0

表35 変異七島株抗原による補体結合反応

抗原	血清希釈		成績		
			VM I 血清	VM II 血清	VM III 血清
変異七島株腹水抗原	1	10	4	2	2
		20	1	2	1
		40	0	0	0
		80	0	0	0
		160	0	0	0
		320	0	0	0
		640	0	0	0
		1280	0	0	0
対照 (1:10)			0	0	0

36. 変異七島株腹水抗原による抗変異七島株血清との補体結合反応

変異七島株腹水抗原を供し、抗変異七島株血清について行つた補体結合反応の結果を、表36に示す。すなわち、VHI 血清においては、その 1:10 稀

表36 変異七島株抗原による補体結合反応

抗原	血清希釈		成績		
			VHI 血清	VHII 血清	VHIII 血清
変異七島株腹水抗原	1	10	3	4	2
		20	2	0	2
		40	2	0	1
		80	1	0	0
		160	0	0	0
		320	0	0	0
		640	0	0	0
		1280	0	0	0
対照 (1:10)			0	0	0

釈で75%溶血抑制を示し、VHII 血清では 1:10 稀釈で完全不溶血を示し、VHIII 血清においては、有意とすべき補体結合を示さない。

考 察

恙虫病ウイルスが、ハツカネズミの生体内において、Chloramphenicol なる衝壁に常時衝突するときに、何らかの性質変換が起りうるであろうことが予測され、藤村(昭34)が、微量の Chloramphenicol をハツカネズミに投与するとともに、恙虫病ウイルスを接種したときに分離したウイルス株は、由来の性質と変り、Chlorpromazine 処理天竺鼠に病原性を増すとともに、この天竺鼠からえた腹水による、いわゆる腹水ワクチンの感染防禦賦与能としての免疫原性が、原型株ウイルスに較べ、はるかに劣り、Chloramphenicol による供試ウイルスの性質変換であると理解した。

しかしながら、このウイルスに関する性質変換については、なお吟味すべき多くの重要な課題が残されている。

ここにおいて、著者は、恙虫病ウイルスの変異株が示す補体結合反応における反応原性について、詳細なる実験を行つたところ、興味ある、かつ、重要な知見をえたので、以下に、その成績の概要を要約して述べる。

1. Chlorpromazine 処理天竺鼠に、ハツカネズミの腹腔系伝達を累ねた大関株ウイルスを接種してえた腹水を抗原とし、抗大関株・抗三谷株・抗七島株・抗変異大関株・抗変異三谷株・抗変異七島株病家兔血清について行つた補体結合反応では、抗大関株・抗三谷株・抗変異大関株・抗変異三谷株ウイルスの血清の高次の稀釈にまで、有意なる溶血抑制を示すが、抗七島株病血清・抗変異七島株病血清には、有意とすべき溶血抑制を示さないか、または、その程度がはるかに低い。

2. 三谷株ウイルス腹水を抗原とする補体結合反応においては、抗大関株・抗三谷株・抗変異大関株・抗変異三谷株病血清について、有意なる溶血抑制を示すが、抗七島株・抗変異七島株病血清については、有意とすべき溶血抑制を示さない。

すなわち、大関株・三谷株抗原は、異型株病血清については、溶血抑制をほとんど示さないといえる。

3. 七島株腹水抗原を供し、抗七島株・抗変異七島株病血清について行つた補体結合反応では、いずれも、血清の高次稀釈にまで、有意の溶血抑制を

示すが、抗大関株・抗三谷株・抗変異大関株・抗変異三谷株病毒血清については、何等の有意なる溶血抑制をみない。

すなわち、七島株腹水抗原を供する補体結合反応においては、抗七島株・抗変異七島株病毒血清について、有意なる補体結合反応を示すが、非当該株病毒血清とは、有意なる溶血抑制を示さない。

4. 変異大関株腹水を抗原とする補体結合反応では、何れの抗血清に対しても、溶血抑制の程度は弱く、当該株病毒血清においても、非当該株病毒血清においても、補体結合の程度に差をみない。

5. 変異三谷株腹水を抗原とする補体結合反応では、何れの抗血清に対しても、溶血抑制の程度は弱く、また、供試抗原の特異性は、ほとんどみられない。

6. 変異七島株腹水を抗原とする補体結合反応では、何れの抗血清についても、特異な補体結合を示さず、溶血抑制の程度は弱い。

7. 原型株病毒である大関株・三谷株腹水抗原は、当該系病毒血清である抗大関株・抗三谷株・抗変異大関株・抗変異三谷株病毒血清に、著明なる、溶血抑制を示し、七島株腹水抗原は、当該系病毒血清について、著明なる補体結合を示すが、変異株腹水病原は、特異性のある由来の反応原性を消失し、いずれの抗血清についても、軽度の溶血抑制を示すにすぎない。

すなわち、恙虫病病毒をして、ハツカネズミの体内で、長時日に亘り、微量の Cp に接触させると、補体結合反応における、特異なる反応原性を消失し、かつ溶血抑制の程度も弱まると理解される。

結 言

恙虫病病毒である大関株・三谷株・七島株病毒を原型株とするとき、Chloramphenicol によつて、ハツカネズミの体内において性質変換せしめた変異大関株・変異三谷株・変異七島株病毒の増殖する天竺鼠の腹水を抗原とする補体結合反応を吟味し、その結果を、以下に要約して述べる。

1. 大関株・三谷株・七島株腹水抗原は、当該系病毒抗血清について、著明なる補体結合を示す。

2. 変異大関株・変異三谷株・変異七島株腹水を抗原とすれば、由来の、型特異性を失い、いずれの抗血清についても、軽度の溶血抑制を示すにすぎず、原型株病毒は、Chloramphenicol によつて性質の一部に変換が起るものであることを確認した。

稿を終るに当り、御懇篤なる御指導、御校閲を賜わつた村上教授並びに種々御教示を忝くした浜田博士に深く感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Ehrlich, J. et al.: Chloromycetin, a new antibiotic from a soil actinomycete Science, 106, 417 (1949)
- 2) Smadel, J. E. and Jackson, E. B.: An tibiotic with chemotherapeutic activity in experimental and viral iufections. Science, 106, 418—419 (1947)
- 3) Smadel, J. E et al.: Chloramphennical (Chloromycetin) in the treatment of tsutsugamushi disease (scrub typhus). J. Clin. Invest. 28. Sep. (Part II) (1949)
- 4) 緒方規雄: 恙虫病の抗生物質療法と免疫との関係, 日本伝染病会雑誌, 27 (1953)
- 5) 桂重鴻: 恙虫病の臨床, 総合医学, 10巻, 6号 (1953)
- 6) 桂, 倉島: 恙虫 Rickettsia 接種マウスに対する各抗生物質の投与成績, 科学試験研究報告集 録医学編, (29年) (1964)
- 7) 桂: 恙虫病に対する抗生剤の少量長期投与療法, Vivus, 6巻, 3号 (1956)
- 8) 村上, 藤原, 三木, 浜田: 滅毒恙虫病病毒の免疫原性に関する研究, 日本細菌学雑誌, 11巻, 2号 (1956)
- 9) 上村忠雄: 恙虫病の免疫持続期間に関する実験的研究, 北越医学会雑誌, 59 (1944)
- 10) 河野: 香川県衛研所報, 37号, 昭32.
- 11) 中村清: 恙虫病の免疫に関する研究 (I) 病毒量と発病, 更に免疫との関係に就いて, 日本細菌学雑誌, 9巻, 8号 (1954)
- 12) 中村清: 恙虫病の免疫に関する研究 (II) 抗生物質で早期に解熱させて了つた接種恙虫病後の免疫, 日本細菌学雑誌, 11巻, 7号 (1956)
- 13) 浜田幸子: 13種の病原生物の皮下注射後の家免の皮下組織, 脾, 血清の抗体量の比較と皮下の

- 組織細胞の鏡検, 日組録, 6巻, 3号 (1954)
- 14) 三井正雄: 恙虫病病毒感染ハツカネズミに成立する免疫の本態に関する研究, 岡山医学会雑誌, 70巻, 昭33.
- 15) 西成田: 弱毒 (澎湖島系) 恙虫病病毒人体接種による免疫の獲得, 日本医学, 3382号 (1944)
- 16) 大西: 恙虫病病毒に関する研究, 岡山医学会雑誌, 70巻, 昭33.
- 17) 宍戸, 高野, 大田原, 北岡: 恙虫病の補体結合反応に関する研究, *Virus*, 3巻, 3号 (1953)
- 18) 佐々学: 恙虫の疫学に於ける最近の知見, 公衆衛生, 10巻, 2号 (1951)

Studies on Ascitic Rickettsia of the Tsutsugamushi
Disease Infected Guinea Pig

Part II Complement Fixation Reaction Using the Ascites of
Tsutsugamushi Disease Infected Guinea Pig as Antigen

By

Jiro MINO

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Sakae MURAKAMI)

It has been already shown that the tsutsugamushi disease rickettsia obtained from the infected mouse of this disease, that mouse was repeatedly injected small dose of chloramphenicol, is highly capable of inducing the disease to the chlorpromazine treated guinea pig leading to the much production of ascites and the antigenic capacity of this ascites was inferior to that obtained from the infected animal by the original strain of the organism owing to the variation on some properties of the organism by chloramphenicol.

The author studied the complement fixation reaction using the original strains, OSEKI's, MITANI's, and HICHITO strains and the strains obtained by variation of these and found some specificity on the antigen. In any case of the test, the ascites was obtained from the organism inoculated guinea pig and used as antigen for complement fixation reaction. From the view of the results, all ascites obtained by inoculation of the original strains showed definite strain specificity to the corresponding antiserum, but those by the varied strains showed only slight inhibition on hemolysis in any case just like having no strain specificity. Hence, it was confirmed that the occurrence of variation on the properties of the tsutsugamushi disease rickettsia by action of chloramphenicol.
