

昭和28年12月1日

1373—63

人胎盤中の百日咳豫防抗體に關する研究

Studies on the Preventive Antibodies to Whooping-Cough in the Human Placentas

大阪市立醫科大學産婦人科學教室(主任 藤森教授)

大阪市立醫科大學細菌學教室(主任 桑島教授)

醫學士 吉 岡 廣 忠 Hirotada Yoshioka

目 次

緒 言

第1編 胎盤エキスの百日咳に對する感染防禦能に
關する實驗

第1章 實驗方法

- 第1項 百日咳菌株攻撃方法
- 第2項 胎盤エキスの抽出法

第2章 實驗成績

- ・第1項 人胎盤エキス Fr.P の百日咳感染防禦
能の有無檢定
- 第2項 Fr.P の量的差異に基く感染防禦能の吟
味
- 第3項 Fr.P と人血清及び家兔免疫血清との
豫防效果の比較

第3章 考察及び小括

第2編 胎盤エキスの生物學的性狀と感染防禦との
關係

第1章 實驗方法

- 第1項 百日咳菌株攻撃方法
- 第2項 胎盤エキス濃縮法

第2章 實驗成績

- 第1項 Fr.PG の諸性狀
- 第2項 Fr.P と Fr.PG の感染防禦力の比較

第3章 考察及び小括

第3編 胎盤エキス中の γ -globulin の意義

第1章 實驗方法

- 第1項 百日咳菌株攻撃方法
- 第2項 高濃度 γ -globulin 含有胎盤エキスの製
法

第2章 實驗成績

- 第1項 GA, GB, GC の諸性狀
- 第2項 GA, GB, GC の感染防禦力の比較

第3章 考察及び小括

全編の考察

結 論
文 獻

緒 言

母兒兩者の中間に位する胎盤の生物學的機能に關しては既に古くから諸家に依り幾多の研究業績が報告されているが我國に於いても既に廣瀬、白井等は胎盤の向性腺ホルモンとしてトロフォブラストホルモン學説を提唱して Zondek-Aschheim 學説の先驅をなし、勝矢一派¹⁾は胎盤を網狀内被系に屬せしめ得る事を實驗的に立證し、胎盤の解毒機能を解明し最近澤崎²⁾はホルモンと蛋白代謝との關係から胎盤の特殊機能を説明し、三林一派³⁾は人胎盤の絨毛組織加水分解物が蛋白同化作用を促進し、異化作用を抑制し得る事を證明した。

他方胎盤の抗體或は抗體様物質に關する研究も亦尠くない。今試みに注目すべき研究を回顧するにデフテリア抗毒素に關しては之を 1904年 Palano⁴⁾は臍帶血液中に、1936年眞柄⁵⁾は胎盤エキスを證明し、麻疹ヴィールス中和抗體に關しては之を 1923年 Herman⁶⁾、1925年 Debre and Joannon⁷⁾が臍帶血液中に證明し、猩紅熱抗毒素を 1929年 Toomey and August⁸⁾が臍帶血液中に、又灰白脊髓炎ヴィールス中和抗體を 1930年 Aycock and Kramer⁹⁾が矢張り臍帶血液中に證明し、破傷風抗毒素を 1936年眞柄¹⁰⁾は胎盤エキス中に證明している。

又竹田¹¹⁾はトリパノゾーマ、ガンビエンゼ、再歸熱スピロヘータ、脾脫疽菌、プレスラウ菌、インフルエンザ及びラング、ヴィールス、破傷風及びデフテリー毒素等に對する防禦物質は人胎盤グ

ロブリン中に含まれてヒスタミン又はヒスタミン様物質ならんとの推論を下している。

百日咳に関しては Neischadt and Ryskina¹²⁾ (1935) が大量の臍帶血を用いて兒の百日咳を或程度豫防し得たと報告し、近時、眞柄¹³⁾、森山¹⁴⁾、村田¹⁵⁾、宇佐美¹⁶⁾、安達¹⁷⁾、山田¹⁸⁾、杉野¹⁹⁾ 等は母體血と臍帶血の凝集反應、補體結合反應、オプソニン検査を百日咳免疫の効果判定指標として用いて、眞柄の提案する百日咳母兒免疫に關して興味深い臨床的及び實驗的研究を發表している。

上述の如く人胎盤の有する種々の機能は諸家の努力に依り次第に明かになりつつあるけれども、その本態並びに作用機序に關しては未だ不明の點が尠くない。

第1編 胎盤エキスの百日咳に對する感染防禦能に關する實驗

第1章 實驗方法

第1項 百日咳菌株攻撃方法

體重12g前後の健康マウス10匹宛を1群とし、胎盤エキスによる免疫は腹腔内注射法によつた。攻撃に用いた H. Pertussis 菌株は當教室保存の18-323株である。攻撃法は Kendrick²⁰⁾の方法に準じて1% Casein 加水分解物溶液に上記菌株の Bordet-Gengon 培地上48時間37°C培養菌體を適當に浮游せしめ腦内接種を行つた。腦内接種による檢定法はその操作が困難で熟練を要するので私は細菌學教室増井助教授の援助により次の如き注意を遵守して行つた。即ち注射菌數を一定にする爲に菌浮游液作製後、脫脂綿及びガーゼで無菌的に濾過し光電比濁計を用いて所要の菌數に補正した。又生菌數を出來得る限り一定に保つ爲に菌浮游液作製後1時間以内に注射を終えるようにした。攻撃後14日間マウスの生死を觀察し、Leed and Muench²¹⁾の方法に従つて致命率LD₅₀、ED₅₀を算出した。尙攻撃後72時間以内に死亡したマウスは計算から除外した。

第2項 胎盤エキスの抽出法

百日咳の既往症を有する生鮮人胎盤の卵膜を除去後、肉挽器で細挫し2倍量に2%食鹽水を加え

さて、余は百日咳の母兒免疫可能性に關し特に興味を覺え、之が研究の目標を人胎盤組織中の百日咳抗體の有無に置いて特殊な方法に依り實驗を行つた結果、余の抽出した人胎盤 γ -globulin 中には百日咳菌凝集素及び百日咳菌補體結合抗體兩者共極めて微量しか證明し得なかつたにも拘らず、實驗的マウス百日咳に對する強力な感染防禦體の存在する事を具體的に突き止め、以て百日咳凝集素と感染防禦抗體とが夫々別個のものである事を證明し、凝集素を示標とした從來の百日咳母兒免疫の効果判定方法に對し一つの新しい示唆を與え得たが故に、茲にその内容を發表し、以て百日咳母兒免疫研究上の參考にせんと欲す。

2～3日間氷室で抽出する。遠心して不溶物を除去し上清を40%硫酸アンモンで飽和させる。生じた沈澱を遠心して集め少量の蒸溜水に溶かし、セロファン囊に入れて流水に數日間透析する。透析内液に硫酸アンモンの證明されないことを確めた後、透析内液に0.85%に NaCl 及び1:5000に Merzonin を加える。此の Seitz EK 濾液を Fr.P と名付ける。Fr.Pは淡黃色透明で Micro Kyeldahl 氏法を以て測定した結果 Total N=0.533mg/ml であつた。

第2章 實驗成績

第1項 人胎盤エキス Fr.P の百日咳感染防禦能有無檢定

余が上記の方法に依り百日咳既往症を有する妊婦の胎盤から抽出した Seitz EK 濾液即ち余の所謂 Fr.P 中に百日咳感染防禦抗體が存在するか否かを知る爲に次の如き檢定を行つた。

第1表の如く57匹のマウスを7群に分ち、攻撃2日前、1日前、攻撃當日、攻撃1日後、2日後、3日後、4日後に夫々 Fr.P 0.2ml 宛腹腔内に注射し、之に前記の如く調製した強毒生菌浮游液を $\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg の菌量に於て腦内に接種し、その後14日間マウスの生死を觀察した。百日咳感染防禦

第1表 人胎盤エキスの Fr. P 感染防禦能

免 疫		攻 撃		使 用 マウス数	14日後の結果			
免 疫 日	免疫量 (ml)	攻撃菌株	攻 撃 量		マウス		致命率 (%)	
					生	死		
攻 撃 2 日 前	0.2	18-323株	$\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg	697 LD ₅₀	6	3	50.00	
攻 撃 1 日 前	0.2				9	6	3	33.33
攻 撃 當 日	0.2				9	1	8	88.88
攻 撃 1 日 後	0.2				9	0	9	100.00
攻 撃 2 日 後	0.2				8	0	8	100.00
攻 撃 3 日 後	0.2				8	2	6	75.00
攻 撃 4 日 後	0.2				8	1	7	87.50
攻 撃 對 照			$\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg	LD ₅₀ =582	9	0	9	100.00
			$\frac{1}{4} \times 10^{-5}$ mg		9	1	8	99.99
			$\frac{1}{4} \times 10^{-6}$ mg		10	4	6	73.68
			$\frac{1}{4} \times 10^{-7}$ mg		9	5	4	44.44
		$\frac{1}{4} \times 10^{-8}$ mg	9		5	4	21.05	

(使用マウス数は攻撃後3日以内に死亡したものを除いた数)

能の有無を検する爲に用いた胎盤エキス即ち余の所謂 Fr.P 0.2ml を總窒素量であらわすと 0.1066 mg N となる。尙對照として胎盤エキスを與えず攻撃菌株のみの毒力を知る爲に $\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-5}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-6}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-7}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-8}$ mg の百日咳菌量を夫々健康マウスの脳内に接種した。而してこれら攻撃對照群から LD₅₀ を計算すると LD₅₀=582 となり、この場合の攻撃量は 697LD₅₀ であつた。免疫効果を致命率から調べて見ると 697LD₅₀ の攻撃に對し攻撃1日前に胎盤エキス Fr.P を以て免疫した群は最も效果著明で致命率は 33.33% であつた。攻撃2日前免疫群は之に次ぎ致命率 50% を示し、攻撃3日後免疫群も僅かながら免疫の成立が認められた。然しながら攻撃當日、攻撃1日後、2日後及び4日後の免疫群では殆ど免疫の成立は認められず大部分のマウスが斃死した。即ち此の實驗に於て免疫時期を適當に選べば Fr.P は實驗的マウス百日咳に對し強力な免疫を成立させることを知つた。即ち成人血清中に百日咳感染防禦抗體が存在することは既知の事實であるが、抗體が胎盤エキス中に存在すると云う斯様な實證は、この實驗を以て最初とする。又上記の如き方法により、この抗體を抽出し得ることも判明したと云えよう。(1 mg=150億として計算した菌數。)

そこで更に Fr.P の免疫期及び免疫量等の關係

を詳細に調べる爲に次の如き實驗を行つた。

第2項 Fr.Pの量的差異に基く感染防禦能の吟味

余は前項記載の實驗に於いて Fr.P の百日咳感染防禦能を確認したが、それは Fr.P 0.2ml の一定量に關しての檢定であつたが故に量的差異による免疫能を吟味せんがために次の實驗を行つた。

健康マウス 210 匹を 30 匹宛 7 群に分ち、夫々攻撃3日前、2日前、1日前、攻撃當日、攻撃1日後、2日後、3日後免疫群とする。30匹宛の各免疫群を更に 10 匹宛 3 群に分ち、夫々の免疫日に 0.5ml, 0.25ml, 0.125ml 宛腹腔内に Fr.P を注射して免疫を施した。これを總窒素量に換算すると夫々 0.266mg N, 0.133mg N, 0.066mg N となる。攻撃は $\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg の菌量を以て行つた。尙對照として攻撃菌の毒力を知る爲に 50 匹の健康マウスを 10 匹宛 5 群に分ち、夫々 $\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-5}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-6}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-7}$ mg, $\frac{1}{4} \times 10^{-8}$ mg の菌量で攻撃した。14日間觀察の結果は第2表の如くであつた。

攻撃對照から攻撃菌の LD₅₀ を計算すると LD₅₀=1105 となり攻撃量は 340LD₅₀ であつた。此の 340LD₅₀ の攻撃に對し、實驗の結果から算出した ED₅₀ は總窒素量であらわすと、攻撃1日後免疫群では 0.1109mg N で最も有效であつた。攻撃2日後免疫群及び攻撃1日前免疫群が之に次ぎ夫々 ED₅₀=

第2表 Fr.P の感染防禦能

免 疫 日	免 疫 量		攻 撃 菌 株	攻 撃 量	使用マウス数	14 日 後 結 果			ED ₅₀	ED ₅₀ per mgN
	ml	mgN				マウス	生	死 致命率 (%)		
攻 撃 3 日 前	0.125	0.066	18-323株	$\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg	10	2	8	91.30	0.2145mgN	1118 LD ₅₀ per mgN
	0.25	0.133			10	3	7	72.22		
	0.5	0.266			10	4	6	40.00		
攻 撃 2 日 前	0.125	0.066			10	3	7	86.95	0.1976mgN	1720 LD ₅₀ per mgN
	0.25	0.133			10	2	8	72.22		
	0.5	0.266			10	5	5	33.33		
攻 撃 1 日 前	0.125	0.066			10	3	7	84.21	0.1485mgN	2289 LD ₅₀ per mgN
	0.25	0.133			10	4	6	56.25		
	0.5	0.266			10	7	3	17.64		
攻 撃 當 日	0.125	0.066			10	5	5	76.37	0.1897mgN	1792 LD ₅₀ per mgN
	0.25	0.133			8	2	6	63.15		
	0.5	0.266			9	3	6	37.50		
攻 撃 1 日 後	0.125	0.066			10	5	5	72.22	0.1109mgN	3065 LD ₅₀ per mgN
	0.25	0.133			10	6	4	42.10		
	0.5	0.266			9	5	4	20.00		
攻 撃 2 日 後	0.125	0.066			9	3	6	83.33	0.1447mgN	2349 LD ₅₀ per mgN
	0.25	0.133			10	4	5	52.93		
	0.5	0.266			8	5	4	28.57		
攻 撃 3 日 後	0.125	0.066			12	3	9	86.95	0.6660mgN	2048 LD ₅₀ per mgN
	0.25	0.133			10	4	6	61.11		
	0.5	0.266			12	7	5	26.31		
攻 撃 對 照				$\frac{1}{4} \times 10^{-4}$ mg	9	0	9	100.00		
				$\frac{1}{4} \times 10^{-5}$ mg	10	3	7	80.00		
				$\frac{1}{4} \times 10^{-6}$ mg	9	4	5	63.15		
				$\frac{1}{4} \times 10^{-7}$ mg	8	4	4	38.38		
				$\frac{1}{4} \times 10^{-8}$ mg	9	6	3	15.00		

(使用マウス数は攻撃後3日以内に死亡したものを除いた数)

0.1447mgN, 0.1485mgN であつた。Fr.P の 1 mgN 當りの ED₅₀ は攻撃2日後及び1日前免疫群では夫々 2349 LD₅₀ per mg N, 2289 LD₅₀ per mgN, となる。即ち 1 mg の N を含有するだけの Fr.P でマウスを免疫した場合、その50%のマウスが攻撃1日後免疫群では3065 LD₅₀, 攻撃2日後又は1日前免疫群では約2300 LD₅₀という強い攻撃に耐え得ることになる。而して攻撃1日後に免疫すると効果が最も大で、攻撃2日後及び1日前免疫が之に次ぎ、攻撃3日後、攻撃當日、攻撃2日前、3日前免疫の順で効果が低下する。即ち以上の実験により人胎盤中には実験的マウス百日咳に對し強力な免疫を成立させる抗體が存在し、その1 mg の N を含有する Fr.P を以て 340 LD₅₀ 攻撃1日前に免疫する場合が最も効果的である事を證明し得た。以上の実験に於て攻撃當日免疫群の豫防効果が前後の免疫群よりも低く、ED₅₀ = 1792 LD₅₀ per mg N を示すことは一見奇異な感を抱かしめる。しかも此の現象は実験を行う度に

毎回認められた。これはマウスに對し異種蛋白であるところの人胎盤エキスと百日咳菌の脳内接種との相乗作用によりマウスの抵抗性が減弱した爲であろうと考えられる。

第3項 Fr.Pと人血清及び家兎免疫血清との豫防效果の比較

以上の実験により胎盤エキス中に百日咳豫防抗體の存在することが明かになつたので、これと百日咳の既往症を有する成人血清の百日咳豫防效果とを比較する爲に次の如き実験を行つた。尙同時に百日咳家兎免疫血清とも比較した。成人血清は胎盤を採取した母體6名の血清を等量混合したものをを用いた。又百日咳家兎免疫血清は3頭の百日咳菌免疫家兎から採血した血清を等量混合したものでその一相百日咳菌に對する凝集價は 1:25400 であつた。120匹のマウスを30匹宛4群に分ち各々攻撃1日前、攻撃當日、攻撃1日後、2日後免疫群とする。30匹宛の各免疫群を10匹宛3群に分ち、夫々 Fr.P 成人血清及び家兎免疫血清免疫群

第3表 胎盤エキス, 成人血清, 家兎免疫血清の免疫効果の比較

免疫日	免疫原	免疫量 (ml)	攻 撃 量		使 用 マウス数	14 日 後 結 果		
						マウス 生	マウス 死	致命率
攻撃1日前	Fr.P	0.25	$\frac{1}{4} \times 10^{-4} \text{mg}$	817 LD ₅₀	10	5	5	50.00%
	成人血清	0.25			10	5	5	50.00%
	家兎免疫血清	0.25			10	6	4	40.00%
攻撃当日	Fr.P	0.25			10	1	9	90.00%
	成人血清	0.25			10	1	9	90.00%
	家兎免疫血清	0.25			10	3	7	70.00%
攻撃1日後	Fr.P	0.25			10	5	5	50.00%
	成人血清	0.25			9	5	4	44.44%
	家兎免疫血清	0.25			10	8	2	20.00%
攻撃2日後	Fr.P	0.25			9	3	6	66.66%
	成人血清	0.25			9	2	7	88.88%
	家兎免疫血清	0.25			10	5	5	50.00%
攻 撃 対 照			$\frac{1}{4} \times 10^{-4} \text{mg}$	LD ₅₀ =458	10	0	10	100.00%
			$\frac{1}{4} \times 10^{-5} \text{mg}$		9	1	8	95.83%
			$\frac{1}{4} \times 10^{-6} \text{mg}$		9	3	6	78.94%
			$\frac{1}{4} \times 10^{-7} \text{mg}$		10	4	6	52.88%
			$\frac{1}{4} \times 10^{-8} \text{mg}$		10	7	3	18.88%

(使用マウス数は攻撃後3日以内に死亡したものを除いた数)

とした。免疫量は各免疫原共0.25mlとした。攻撃菌量は $\frac{1}{4} \times 10^{-4} \text{mg}$ とし、同時に攻撃対照を置いて攻撃菌株の毒力を知った。

その結果第3表の如き成績を得た。即ち此の場合の LD₅₀ は458菌数で攻撃量は817LD₅₀ となった。攻撃1日前免疫群の致命率はFr.P, 成人血清共に50%, 家兎免疫血清40%であり、攻撃1日後免疫群ではFr.Pは50%, 成人血清は44.44%であるのに家兎免疫血清は20%で最も有効であった。攻撃2日後免疫群では成人血清の致命率が最も高く88%を示したが、Fr.Pは66.66%, 家兎免疫血清は50%の致命率を示した。又攻撃当日免疫群は今迄の實驗と同様に他の免疫日に比べて致命率の高い傾向があり、特にFr.P及び成人血清は共に90%であった。しかしながら家兎免疫血清は兩者に比して致命率低く70%であった。以上の成績を通覧すると絶對的な比較は出来ないが、家兎免疫血清の豫防効果が最も大で、Fr.P及び成人血清は略同等の効果を示すものの如くである。し

かしながらFr.Pは0.15%, 成人血清は7%の總蛋白量を有するから、蛋白量を基礎に置いて考えるとFr.Pの方が成人血清より効果が大であると考えられる。

第3章 考察及び小括

百日咳の既往症を有する生鮮人胎盤の食鹽水抽出液から40%硫酸飽和により粗胎盤 globulin(Fr.P)を得た。Fr.Pは0.533mg/mlの總窒素量を含み、實驗的マウス百日咳に對し豫防効果を有する。このことから百日咳の既往症を有する人胎盤中には百日咳豫防抗體の存在することが明かとなった。而して攻撃1日後に免疫すると最も効果が大きくED₅₀=3065 LD₅₀ per mgNという極めて強力な受動免疫が成立する。Fr.Pの免疫効果は蛋白量を基礎に置いて考えると成人血清の免疫効果よりも大である。又成人血清中の百日咳豫防抗體の存在に關してはBradford⁽²²⁾の所見と同様であった。

第2編 胎盤エキスの生物學的性狀と感染防禦との關係

前編に於て胎盤の食鹽水抽出液、即ち余の所謂Fr.P中には百日咳感染防禦抗體の存在することは確認することが出来た。しかしながらFr.Pは粗

globulinの状態、しかも透析により液量が増し高濃度の製品が得られない難點があるのでFr.Pに次の如き操作を加えて同時に諸種の生物學的性

状を検索した。

第1章 實驗方法

第1項 百日咳菌株攻撃方法

前編の方法に準じて行つた。

第2項 胎盤エキスを濃縮法

既述の透析内液に Na-glutamate を 2.8% に加え、稀鹽酸で pH 5.2 とする。遠心して生じた沈澱を取り、少量の蒸留水に溶解し pH 7.0 に補正して 1:5000 に Merzonin を加え、Seitz EK で濾過する。これを Fr.PG と名付ける。

第2章 實驗成績

第1項 Fr.PG の諸性状

Fr.PG の全蛋白量は蛋白計によつて測定の結果 0.5% であつた。同時に Fr.P も測定したが 0.15% に過ぎなかつた。Fr.PG の電気泳動圖は第1圖に示す通りであつて γ -globulin 量は全蛋白中 34% であつた。一相百日咳菌に對する凝集素價は 1:8 であつて實際問題として凝集素の存在を無視出来る程度であつた。

第1圖 Fr.PG の電気泳動圖



又 Gundel and Schlucter³³⁾ の方法により一相百日咳菌に對する補體結合抗體を測定したが、その存在を全然證明し得なかつた。一方 *S. typhosa*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B* に對する凝集素は夫々 O=1:32, H=1:32; O=1:64, H=1:16; O=1:32, H=1:16 を示した。Diphtheria 抗毒素は Roemer の方法²⁴⁾ により $1/_{50}$ 抗毒素單位/ml の Diphtheria 抗毒素を有することがわかつた。

第4表 Fr.PG の生物學的性状

全蛋白量(%)		0.5%
全蛋白中の γ -globulin 量(%)		34%
凝集素價	<i>H. pertussis</i>	1:8
	<i>S. typhosa</i>	H=1:32, O=1:32
	<i>S. paratyphi A</i>	H=1:16, O=1:64
	<i>S. paratyphi B</i>	H=1:16, O=1:32
Diphtheria antitoxin		$1/_{50}$ 單位/ml
<i>H. pertussis</i> 補體結合抗體		—

こゝで注意すべきは Fr.PG が百日咳菌の凝集素も補體結合抗體も含有していないことである。

第2項 Fr.P と Fr.PG の感染防禦力の比較

Fr.P と Fr.PG の感染防禦力を比較する爲に次の如き實驗を行つた。54匹の健康マウスを18匹宛3群に分ち、夫々攻撃1日前、攻撃当日及び攻撃1日後免疫群とする。更に各免疫群を9匹宛2群に分ち、各々に Fr.P 及び Fr.PG 各 0.5ml 宛を腹腔内に注射した。此の實驗に於ける攻撃菌の毒力は $LD_{50}=1961$ 菌數で攻撃量は $1784 LD_{50}$ というかなり強力な攻撃であつた。

第5表 Fr.P と Fr.PG の感染防禦能の比較

免疫日	免疫原	免疫量		攻撃量	使用マウス數	14日後の結果		
		ml	蛋白量(%)			マウス生	マウス死	致命率(%)
攻撃1日前	Fr.P	0.5	0.15	1784	8	5	3	37.5
	Fr.PG	0.5	0.50		8	5	3	37.5
攻撃当日	Fr.P	0.5	0.15	$LD_{50}=1961$	8	1	7	87.5
	Fr.PG	0.5	0.50		9	2	7	77.78
攻撃1日後	Fr.P	0.5	0.15	1961	9	2	7	77.78
	Fr.PG	0.5	0.50		7	1	6	71.43

(使用マウス數は攻撃後3日以内に死亡したものを除いた數)

その結果は第5表に示す如くであつて攻撃1日前攻撃群が Fr.P, Fr.PG 共に最も有効で致命率は兩者共 37.5% であつた。その他の攻撃群も兩者間に有意義な差を認めることは出来なかつた。従つて此の程度の精製濃縮では殆ど效果に差は認められない。こゝで興味ある點は胎盤エキスを凝集素や補體結合抗體が殆ど認められないのにマウスに對し感染防禦能を有することである。この事實は凝集素や補體結合抗體とは別個に感染防禦抗體が胎盤中に存在することを意味する。

第3章 考察及び小括

Fr.P は高濃度の製品を得ることが困難なので ion 強度を増す爲に Na-glutamate を加え pH 5.2 で沈澱させ Fr.P を或程度濃縮し蛋白量 0.5% の Fr.PG を得た。 γ -globulin 量は全蛋白中 34% を占める。Fr.PG は實際問題として無視出来る程度の百日咳菌凝集素を有するに過ぎないが、強力な百日咳感染防禦能を示した。このことは百日咳菌凝集素と百日咳感染防禦抗體が別個のものである。

ることを示すものである。しかしこの程度の濃縮では Pr.P と Fr.PG との間に効果の差は認め

られなかつた。

第3編 胎盤エキスの γ -globulin の意義

以上の実験は粗 γ -globulin に就いての成績であつて、胎盤 γ -globulin 中に存在すると考えられる百日咳感染防禦抗體の感染に對する量的關係を調べることが出来なかつた。そこで筆者は γ -globulin の濃度の異つた3種の製品を作り、その感染防禦能が γ -globulin 量に比例することを知つた。

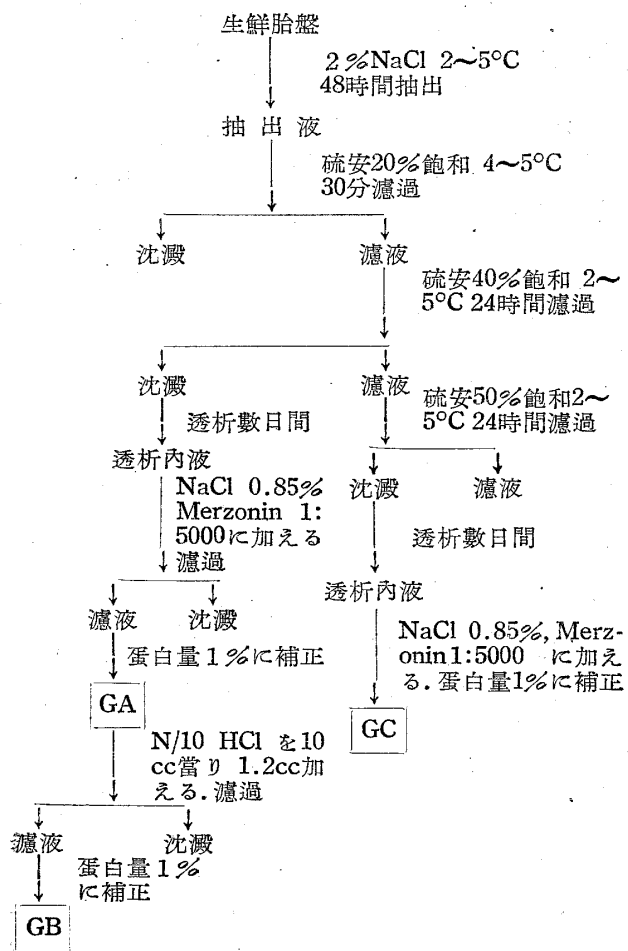
第1章 實驗方法

第1項 百日咳菌株攻撃方法

前編の方法に準じて行つた。

第2項 高濃度 γ -globulin 含有胎盤エキスの製法

第6表 胎盤 γ -globulin の製法



製法は本學細菌學教室の方法に従つた。その概

略は第6表の通りである。胎盤を2% NaCl水溶液で48時間氷室で抽出後、20%に硫酸アンモンを飽和させ4~5°C 30分間放置する。沈澱を濾過し濾液を40%に硫酸アンモンで飽和させ2~5°C に24時間放置する。

生じた沈澱を濾別して集め、セロファン囊中に入れ流水で數日間透析し硫酸アンモンを透析し去る。このものにNaClを0.85%, Merzoninを1:5000に加えてSeitz EKで濾過し蛋白計にて蛋白量1%に補正する。このものをGAと名付ける。

此の10mlにN/10HCl溶液を1.2mlの割合に加え生じた沈澱を除去しSeitz EKで濾過、蛋白計で蛋白量1%に補正する。之をGBとする。

又前述の40%硫酸アンモン飽和後生じた沈澱を濾別し、その濾液を更に硫酸アンモンで50%に飽和し、生じた沈澱を集めセロファン囊に入れて流水に數日間透析する。透析内液中に硫酸アンモンが證明されないことを確めた後、透析内液中にNaClを0.8%, Merzoninを1:5000に加えてSeitz EKで濾過後、蛋白計で蛋白量を1%に補正する。これをGCとする。

第2章 實驗成績

第1項 GA, GB, GC の諸性状

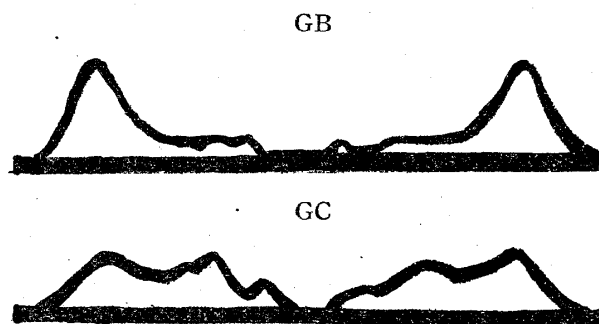
第7表 GA, GB, GC の生物學的性状

	GA	GB	GC
全蛋白量(%)	1.0%	1.0%	1.0%
全蛋白中の γ -globulin量(%)	68%	82%	40%
凝集素價	H.pertussis	0	0
	S.typhosa	1:48	1:6
	S.paratyphi A	1:12	1:6
	S.paratyphi B	1:96	1:12

第2圖 G.A, G.B, GC の電気泳動圖

GA





GA, GB, GC の諸性状は第7表に示す如くであつて、總蛋白量は蛋白計で測定すると夫々1%である。電気泳動圖は第2圖の如くであつて、之より總蛋白中の γ -globulin 量を測定すると GA=68%, GB=82%, GC=40% で、GB の γ -globulin 量が最も多い。第一相百日咳菌の凝集素は全然證明されなかつたが、*S.typhosa*, *S.paratyphi A*, *S.paratyphi B* に対する O 凝集價は各々に認められ、中でも GA は最も凝集價が高く、*S.typhosa*=1:48, *S.paratyphi A*=1:12, *S.paratyphi B*=1:96 を示した。

第2項 GA, GB, GCの感染防禦力の比較

120匹のマウスを30匹宛4群に分ち、夫々 PG, GA, GB, GC 免疫群とする。30匹宛の各群を更に10匹宛3群に分ち、各群のマウスに上記4種の胎盤エキスを夫々 0.5ml, 0.25ml, 0.125ml 宛腹腔内に注射する。免疫日としては攻撃の前日1回のみ行つた。攻撃菌の毒力を知る爲、別に50匹のマウスを用いて LD_{50} を算出した。

結果は第8表に示す如くであつた。この實驗に於て LD_{50} =1218, 攻撃量は $285LD_{50}$ となつた。攻撃14日後の結果から致命率を算出したところ、GA, GB の 0.5ml 免疫群の致命率は0%で全数のマウスが生存したが、夫々の 0.25ml 免疫群では GB の致命率5.55%であるのに比して GA では12.50%となり、明かに γ -globulin 量の多い

第8表 PG, GA, GB, GC の感染防禦能の比較

免疫原	免疫量 (ml)	攻 撃 量	使用マウス数	14日後の結果		
				マウス生	マウス死	致命率 (%)
PG	0.5	$1/4 \times 10^{-4}mg$ $285LD_{50}$	10	7	3	17.64
	0.25		10	5	5	53.33
	0.125		10	2	8	88.88
GA	0.5		10	10	0	0
	0.25		9	7	2	12.50
	0.125		9	7	2	36.36
GB	0.5		10	10	0	0
	0.25		10	9	1	5.55
	0.125		9	8	1	20.00
GC	0.5		10	9	1	4.39
	0.25		10	6	4	27.77
	0.125		9	7	2	50.00
攻撃對照	$1/4 \times 10^{-4}mg$	$LD_{50}=1218$	10	1	9	96.00
	$1/4 \times 10^{-5}mg$		10	3	7	78.94
	$1/4 \times 10^{-6}mg$		10	5	5	41.17
	$1/4 \times 10^{-7}mg$		10	7	3	16.66
	$1/4 \times 10^{-8}mg$		9	9	0	0

(使用マウス数は攻撃後3日以内に死亡したものを除いた数)

GB の感染防禦力が最もすぐれていた。尙 GC 0.25ml の免疫群の致命率は27.77%で GA に次ぎ、PG 0.25ml 免疫群は致命率が53.33%となり最も豫防効果が劣るという成績を得た。即ちマウスの實驗的百日咳に對する豫防効果は γ -globulin の含量に比例し、 γ -globulin 量の最も多い GB が最も有効で含量の少ない GA, GC, PG の順に劣るという結果を得た。

第3章 考察及び小括

胎盤エキス中の γ -globulin の意義を明かにする爲に硫酸鹽析法を用いて蛋白量1%の3種の γ -globulin 製品を作つた。即ちその全蛋白量中の γ -globulin 量は GA=68%, GB=82%, GC=40% である。GA, GB, GC 共に百日咳菌凝集素は證明されなかつた。マウスの實驗的百日咳に對する豫防効果は γ -globulin 量の最も多い GB が最も有効で、GA, GCの順になり、豫防効果は γ -globulin の含量に比例することがわかつた。

全 編 の 考 察

百日咳既往症を有する成人血清中に百日咳豫防抗體の存在することは周知の事實で、成人血清 γ -globulin 製劑が百日咳豫防にも用いられている

し²⁵⁾、又臍帶血中にも豫防抗體が存することも知られている¹²⁾。しかして妊婦血清の百日咳菌に對する Opsonin index が増強するという事²⁶⁾は妊

婦の抗体産生能の旺盛なことを示すものである。このようにして豊富に産生された抗体が胎盤を通して臍帯から胎児に移行し所謂先天性免疫が生じるであろうと想像される。この豫想は余の胎盤より抽出した *r-globulin* 中に百日咳豫防抗体の存在することによつても裏付けが出来る。従つて百日咳先天免疫は母體中の百日咳豫防抗体が胎盤を通して胎児に移行することも推論に難くない。しかも余の今回の實驗に於いて此の感染防禦抗体の含量は *r-globulin* 含量に比例するという事實から、主として本抗体は *r-globulin* 分屑中に存在するものと考えられる。又以上の實驗からして母體の百日咳ワクチンで免疫して乳幼児に強力な免疫を成立させ得る可能性も合理的に肯定し得よう。

更に又、余の今回の研究に於ける興味ある點は余の抽出した人胎盤 *r-globulin* 中には百日咳菌凝集素及び百日咳菌補體結合抗体の兩者共に殆んど證明出来なかつたにも拘らず、この胎盤エキスを以て實驗的マウス百日咳に對し強力な感染防禦を成立せしめ得た事實である。即ち胎盤中には百日咳菌凝集素及び補體結合抗体が殆ど證明されないが百日咳感染防禦抗体は豊富に存在する事を實驗的に證明し得たのである。斯かる實驗成績に對しては、効果の判定方法として一般に補體結合反應及び凝集反應が用いられた習慣から考えるならば、些か奇異の感を抱かざるを得ないけれども、余の實驗成績は嘗て Hink and Johnson²⁷⁾ が家兎免疫血清を以ての實驗に於いて、百日咳菌凝集素は主として *globulin* 中の r_1 分屑に在り、百日咳感染防禦抗体は主として r_2 分屑に存在すると述べた見解と偶然にも一致せる結果とも考え得るのであつて、免疫効果判定の基準を補體結合反應や凝集素のみに置くの不合理を指摘し得る一證左とも評し得べきか。

結 論

百日咳の既往症を有する健康婦人胎盤から硫酸アンモン鹽析法により *r-globulin* を抽出し、百日咳菌感染防禦抗体存在の有無を調べ次の結果を得た。

(1) 胎盤エキス中には百日咳菌凝集素、補體結合抗体は證明されないか或いは極めて輕微であるが、百日咳感染防禦抗体を豊富に含有する。

(2) 胎盤エキスの百日咳感染防禦能は、その *r-globulin* 量に比例する。

(3) 實驗的マウス百日咳に於ては百日咳菌攻撃1日後に胎盤エキスで受動免疫を行つた場合最も強力な感染防禦が認められる。

(4) 以上の成績により百日咳先天免疫成立に胎盤が重要な役割を演ずることを立證し得た。

(5) 余が今回の研究に於いて百日咳凝集素と感染防禦抗体が別個のものであることを立證し得た成績は現在凝集素を示標とした百日咳母兒免疫の効果判定法に對し新しい示唆を與えるものであらう。

摺筆するに當り本研究に終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜つた恩師藤森教授、細菌學教室桑島教授、増井助教授に深謝する。尙胎盤エキスの製造に關し終始直接の御援助を賜つた細菌學教室の片桐理學士に謝意を表する。又胎盤 *r-globulin* の製造に當り種々御援助を受けた武田藥品工業光工場細菌部の諸氏に厚く感謝する。

(本論文の要旨は昭和21年10月日本細菌學會關西支部會、昭和27年4月日本産科婦人科學會總會及び昭和28年4月近畿産科婦人科醫會總會に於て發表した。)

主要参考文献

- 1) 勝矢信司: 近畿婦人科學會雜誌, 第15卷第3號, 585, 昭和7.5. —2) 澤崎千秋: 日本産科婦人科學會雜誌, 第5卷第6號, 545, 昭和28.5. —3) 三林隆吉, 大橋敏郎: 日本産科婦人科學會雜誌, 第5卷第7號, 653, 昭和28.6. —4) Palano, O.: Ztsch. Geburtsh. u. Gynaek., 53:456, 1904. —5) 眞柄正直, 小豆畑久治: 實驗醫學雜誌, 20:1517, 1550, 1570, 1589, 1936. —6) Herman, C.: Arch. Pediat., 40: 678, 1923. —7) Debre, R., and Joannon, P.: Bull. Med. Paris, 28:131, 1925. —8) Toomey, J.A. and August, M.H.: Am. J. Dis. Child., 38:953, 1929. —9) Aycock, W.L. and Kramer, S.D.: J. Exp. Med., 52:457, 1930. —10) 眞柄正直, 蛭名勝四郎: 東京醫事新誌, 3142:1797, 1939. —11) 竹田三郎: 京都府立醫科大學雜誌, 第47卷第6號, 361, 昭25.9. —12) Neishtadt, M.I. und E.B. Ryskina: Zbt. gesamt. Kinder heile., 30:466, 1935. —13) 眞柄正直: 日本産科婦人科學會雜誌, 第5卷第3號, 昭和28.3, 第5回日本産科婦人科學會總會講演抄録。

—14) 森山豊: 日本産科婦人科学會雑誌, 第5巻第3號, 昭和28.3, 第5回日本産科婦人科学會總會講演抄録.—15) 村田力: 日本産科婦人科学會雑誌, 第5巻第5號, 465, 昭和28.4.—16) 宇佐美昭: 日本産科婦人科学會雑誌, 第5巻第5號, 463昭和28.4.—17) 安達健二: 日本産科婦人科学會雑誌, 第5巻第2號, 243, 昭和28.2.—18) 山田道生: 日本産科婦人科学會雑誌, 第5巻第3號, 昭和28.3, 第5回日本産科婦人科学會總會講演抄録.—19) 杉野昇: 日本産科婦人科学會雑誌, 第5巻第3號, 昭和28.3, 第5回日本産科婦人科学會總會講演抄録.—20) Kendrick, P.L., Eldering, G., Dixnn, M. K., and Misner, J.: Am. J. Pub. Health, 37:

803, 1947.—21) Leed, L.J. and Muench, H.: Am. J. Hyg., 27, 493, 1938.—22) William L. Bradford, M.D.: Am. J. Dis. Child., 50:918, 1935.—23) Gundel, M. und Schlueter, W.: Zentbl. Bakt. Parasit. Infekt., Originale, 129:461, 1933.—24) 傳染病研究所學友會, 1951: 細菌學實習提要, 350.—25) Pharmacopeia of the United States of America, 14ed: 260, 1950.—26) Kendrick, P.L., Thompson, M. and Eldering, G.: Am. J. Dis. Child., 75:25, 1945.—27) Hink, H.J. and Johnson, F.F.: J. Immunol., 64:39, 1950.

(No. 163 昭28・8・31 受付)

ラヂウム

ラヂウムに關する御用命御相談は何事によらず承ります

日 本 總 代 理 店

フ ジ ヤ マ 交 易 株 式 會 社

東京都中央区日本橋本町1ノ14

電話 日本橋 (24) 3564, 5397

(文 獻 贈 呈)

脳下垂体注射剤!

特 長

近來外国でも微量宛長時間に亘つて連続供給する試みが新しい傾向になつていますが、本剤も従来の製剤のように注射後数時間以内に排泄されて消滅することなく注射後数週間に亘つて徐々に吸収されるところに意味があります。

適応症

脳下垂体性諸疾患には長く奏効しますが婦人科領域の適応症は次の通りであります
不妊症、不感症、月經不順、性腺發育不全、少年症、冷え症、更年期障害諸症、リユーマチス 其他ACTHの奏効する諸症。

スロセリン

支 献 送 呈

昭和薬品化工株式会社 東京都中央区宝町 (味の素ビル)