

交 見 演 説 (5)

溶血連鎖球菌感染における抗體の問題
(主として Antistreptolysin O と Dick 反應について)

工 藤 正 四 郎

この報告は、傳染病研究所、東京都立駒込病院、埼玉縣衛生研究所において夫々分擔研究されている文部省科學試驗研究費による「猩紅熱その他連鎖球菌性疾患に關する研究」の成績の一部である。

溶血連鎖球菌感染における抗體の研究は、以前は専ら、抗菌性及び抗毒性免疫血清による疾病の治療に關することに向けられていた。ところが最近の傾向として、かゝる研究の大部分は、試験管内で行い得る溶連菌産生物質とそれらに対する抗體との研究に關するものとなつた。

従つて、これらの研究は (1)第1は診斷の目的に、(2)第2は抗原抗體反應の本態の究明に向けられてるように考えられる。

もともと、溶連菌感染に対する免疫の成立には、菌體成分である型特異性M蛋白質に対する抗體が大きな役割をもっていることは、周知の事実であるが、今回は菌體成分の問題にはふれることなく、菌體外産生物質に対する抗體の問題を考えてみたい。

さて、今日迄に知られている溶連菌の產生する物質とそれらに対する抗體としては次のものがある。

1. Erythrogenic toxin — Antitoxin
2. Streptolysin O — Antistreptolysin O
3. Streptokinase — Antistreptokinase
(Fibrinolysin) (Antifibrinolysin)
4. Streptodornase — Antistreptodornase
(Desoxyribonuclease) (Antidesoxyribonuclease)
5. Ribonuclease — Antiribonuclease
6. Hyaluronidase — Antihyaluronidase
7. Proteinase — Antiproteinase

この他、溶連菌の產生するものには、Streptolysin S, Hyaluronic acid, Diphosphopyridine nucleotidase などがあるが、今日までのところ、これらには抗體の產生能がないものと考えられている。

上述の抗體の多くは、溶連菌の自然感染によつて形成されること、溶連菌の産生物のはたらきを中和すること、適当な方法でその価を測ることが出来ることなどが明らかにされている。

一般に、これらの抗體は、感染後1週の終り頃から上昇し始め、3—5週後最高に達するが、数週後から徐々に下向き始めるのが普通である¹⁾。

従つて、一定の間隔をおいて検査し、抗體価の上昇が明らかに認められるときは、たとえ溶連菌が検出出来なくとも、溶連菌の感染が推定せられるのである。

又一方、溶連菌は健康者からも検出されることがあるので、このような場合には抗體の有無が問題となるわけである。

然しながら、これらの抗體は溶連菌感染の場合のすべてにおいて認められるとは限らない。例えば、Antistreptolysin O については、その著明な上昇が認められるのは、70—80%位である。他の Antistreptokinase, Antihyaluronidase, Antistreptodornase などについても多くの研究がなされ²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾、その証明は溶連菌感染の診斷の助けとなるといわれているが、その率は Antistreptolysin O よりも劣ることが多いと報告されている。

私は試験管内反應に關する例として、Antistreptolysin O (ASTO) を、生體反應の例とし

て Dick 反応をえらび、我々が行つた実験の成績をのべることにする。

Streptolysin O (STO) は溶連菌の産生する毒素の中、比較的詳しく研究されているものの一つであるが、溶連菌感染の際に生體にいかなる作用を及ぼすかについては、今日にいたるまでまだ明らかでないところがあり、而も本病において極めて重要な役割を演じているという証明もまだない。然しながら、溶連菌感染に際し、その抗體が高率に証明されることおよびその測定法が比較的容易なため、抗體の証明が診断によく用いられるようになった。

先ず、生體におけるASTO形成能と試験管内におけるSTO産生能との関連性をみるため、多数の溶連菌株についてSTOを試験管内で産生するか否かを検査した。

使用した菌株は、溶連菌のA群からO群までの29株、Lancefield から分与されたA群の1型から47型までの42株および Richards, N.Y. 5, S 8, Cook, 55—16 の47株、最近猩紅熱患者から分離されたA群の各型41株、健康者から分離された20株合計 137株である。

検査方法としては、これらの菌を変法 Todd-Hewitt 培地にうえ37°Cの孵卵器に21時間おいた後、その遠心上清を活性化し、これを倍数稀釈した各1 ml に5%家兎赤血球浮游液1 ml を加え37°Cで45分間作用させ、その遠心上清を更に5倍に稀釈後、比色し、50%溶血価を求めた。従つて、検査材料とした培養は反應修正および葡萄糖添加を行わずかつ濃縮も行っていないものである。STOなることは、その溶血作用が活性化によつて始めて認められることおよびASTOグロブリンによつて阻止されることから確かめられた。

検査成績は第1, 2, 3, 4 表に示す通りである。即ち、群については、A群、C群の人系、G群に属する菌株のみがSTOを産生することが認められた。これは Todd¹²⁾ の成績と一致する。A群の標準型株については、型によつてSTOの産生能に差があること、猩紅熱患者から分離されたものでは、同一型に属しながら株によつて産生能に差

があることが認められた。特に、今回の検査では、健康者から分離されたA群溶連菌にはSTOを産生するものが少かつたことは注目すべきである。

第1表 溶連菌各群の STO 産生能

群	菌 株 名	STO u/ml
A	J 17 A 4	3.1
B	O 90 R	—
	V 9	—
C	H K 64	6.3
	10706	44.0
	A C 74	—
	9527	—
D	C 3	—
	10541	—
	4532	—
	10100	—
	9854	—
E	9810	—
	K 131	—
F	6642	—
	H 60 R	—
G	C 628	—
	F 68 A	155
	D 166 B	162
H	6644	29
	F 90 A	—
K	K 208	—
	6646	—
L	D 167 A	—
	D 167 B	—
	9932	—
M	D 168 A'' X''	—
N	7963	—
O	B 357	—

これらの株の中から数株をえらび生體内においてASTO産生能があるか否かを検した成績は後述する。

血清中のASTO価の測定は他と比較の便宜上 Rantz-Randall の方法¹³⁾によつた。

我々がASTOを測るに用いたSTOは、伝染病研究所(田所一郎ら¹⁴⁾)および、埼玉衛生研究所(飛松源治ら¹⁵⁾)で作つたものである。何れも Richards 株を変法 Todd-Hewitt の培地にうえ、37°Cで培養12時間後、反応の修正と葡萄糖液

の添加とを2時間毎に反覆行つた培養液を遠心沈澱し、その上清を硫酸塩析によつて濃縮、精製したものである。使用するまでには各種の条件を検討し、Copenhagenの血清研究所の標準血清で力価を検定し、DifcoのStreptolysin O Reagentに比して遜色のないことを確かめたものである。

第2表 Lancefield A群各型のSTO産生能

型	菌株名	STO u/ml
1	T1	—
2	T2	3.4
3	T3	80
4	T4	29
5	T5B	22.8
6	S43	27
8	C265	4.2
9	T9	—
10	E14	25
11	T11	—
12	T12	1.9
13	T13	6.2
14	S23	36
15	T15	73
17	J17E	18
18	J17C	24.5
19	J17D	10
22	T22	70
23	T23	20
24	C98	14
25	B3460 OP	4.6
26	J17F	17
27	T27	—
28	T28	—
29	D23	23.5
30	D24	21.5
31	J137	12
32	B344	—
33	C107	20
34	C142	10
35	C171	19
36	C119	—
37	C242	—
38	C141	—
39	C95	15.5
40	C143	26
41	C101	12
42	C113	2.2
43	C126	35
44	C512	—
46	C105	12
47	C744	4
	Richards	92.5
	Cook	—
	N.Y. 5	—
	S 8	16.5
	55—16	3.6

第3表 猩紅熱患者から分離されたA群各型溶連菌のSTO産生能

型	菌株名	STO u/ml
1	K 457	7.7
	K 495	—
	K 508	8.7
	K 544	—
	K 509	7.6
	T1210	4.6
	T1219	—
	T1281	10.1
6	K 465	2.8
	K 487	—
	K 494	1.8
	K 503	8.6
	K 505	7.4
	K 506	4.2
	K 520	6.6
	K 541	—
	K 543	7.4
	T1275	7.9
	T1276	5.8
	T1277	3.2
	T1278	—
	T1279	—
	T1280	—
	T1282	5.8
	T1220	10
	津 島	15.9
9	K 544	—
12	K 453	—
	K 468	6
	K 493	—
	K 49	—
	K 513	3.9
	K 526	—
	K 528	—
	K 546	5.2
	T1289	—
14	K 461	15
	K 466	9.4
18	K 501	4.4
29	K 492	3.1
?	K 533	38

最近、我国においても各方面で諸種疾患についてASTOの研究が行われているが、その測定に用いるSTOは標準血清を以てその価をきめたものでなければ、互に得た成績を比較することは困難であろう。

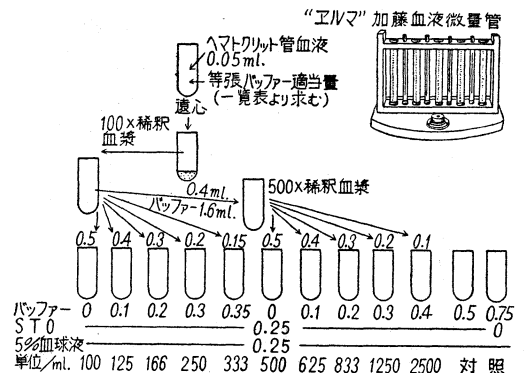
こゝで共同研究者の飛松が考案した微量血液測定法について一言ふれたい。近く日本細菌学雑誌に発表の豫定であるからこゝではその大略をのべるにとどめる。

第4表 健康者から分離された
A群各型溶連菌のSTO産生能

型	菌株名	STO u/ml
6	F 28 ₁	—
	F 28 ₃	—
	F 61 ₃	—
	I 23 ₃	—
	I 28 ₃	—
	I 199 ₃	—
未 決	G 54 ₃	—
	G 63 ₁	—
	H 33 ₃	—
	H 139 ₃	—
	F 51 ₃	—
	F 123 ₁	—
	G 14 ₃	—
	G 23 ₃	—
	G 46 ₃	—
	G 63 ₃	—
定	C 89 ₃	10.0
	F 59 ₃	—
	F 63 ₃	—
	J 26 ₃	3.3

適量の抗凝血剤を加えた全血液を加藤ヘマトクリット管に入れ (0.05 ml), 始め2000r.p.m.20分間, ついで3000r.p.m.20分間遠心沈澱し, ヘマトクリット値をよむ. その値によつて, 表から求めた量の緩衝液に全量の血液を吹き出す. これを遠

第1圖 微量血液によるASTO測定法



心沈澱するとその上液は100倍稀釈の血漿となる. これを緩衝液で稀釈し, 以後の操作は第1図に示す通り行う. 血清と血漿とは, ASTO値に差異がないことを豫めたしかめた.

第5表 正常人のASTO値

抗體價 年齢	<16	16	33	50	71	100	125	166	250	333	500	625	計	平均價
1—5		2	2		1	1							6	44
6—10	4	1	4	1	3	5	2			1		1	22	97
11—15	1	3	1	3	2	4							14	55
16—20		2	3	2			1						8	44
21—25		2	4	2	4	1	1	2					16	69
26—30			1	2			2	1					6	91
31—35		2		6		2	1						11	59
36—40			2	1	1								4	46
41—45	1		5	1	2								9	40
46—50		4	3	1	2								10	35
51—55		1	1	1									3	33
56—60		1		1	1								3	45
61—		2	1		2								6	55
計	6	20	27	21	18	13	8	3		1		1	118	60.1
%	5.7	16.8	22.8	17.8	15.2	11.0	6.6	2.5		0.8		0.8		
	← 63.1 →													
	← 89.3 →													
	← 98.4 →													

なお、実験動物或は患者の血液の抗體価 100単位以下の測定に際しては、0.05ml (20倍からの倍数稀釈法) 又は 0.1ml (10倍からの倍数稀釈法) の血液を用いる方法も考案されている。

いかなる疾患においてASTO価の上昇が認められるか。

先ず正常人のASTO価についてのべる。第5表に示す如く¹⁵⁾、1—71歳の正常人 118名についての価は、98%までは166単位以内で、過半数は50単位以下、平均60.1単位である。この価はMorales-Otero and Pomales-Lebrón (約64単位,¹⁶⁾ Coburn and Pauli (約50単位,¹⁷⁾ Longcope (75%は25—50単位,¹⁸⁾ Rantz, Caprio and Randall (約90単位,¹¹⁾ の価に近い。ただ林ら¹⁹⁾の報告のみはより高い価を示している。

Mote ら²⁾は150単位以下を正常価とみなし、Rantzら¹¹⁾は50単位以下では溶連菌感染を否定し得ようとのべているが、我々も大體同様の見解である。

次に各種溶連菌性疾患その他におけるASTO価をしらべた。

猩紅熱

猩紅熱については(矢倉), 第6表に示す如く、駒込病院入院患者 171名について、入院時から退

第6表 猩紅熱患者におけるASTO 價

病 日	検 査 数	平 均 價 (単位)
第10病日まで	164	113
第20病日まで	160	273
第30病日まで	161	467
第45病日まで	16	373

院時までの間に、503回採血してしらべた結果を病日別にみると、10病日迄は平均 113単位、20病日迄は平均 273単位、30病日迄は平均 467単位、

45病日迄は平均 373単位となつている。3回以上連続採血したものの133名の中、ASTO価の上昇したものは112名(84.2%)で、上昇しなかつたものは21名(15.8%)に過ぎなかつた(第7表)。

第7表 猩紅熱患者におけるASTO價の上昇

	患 者 数	%
上 昇 し な か っ た も の	21	15.8
上 昇 し た も の	5倍まで	65
	10倍まで	10
	20倍まで	15
	100倍まで	16
	100倍以上	6
計	133	100.0

更に菌検出の有無によるASTO価の上昇を比較してみると、全経過を通じて菌検出不可能だったものでは、250単位以上に昇つたものが20%にすぎないのに反し、菌が検出されたものでは、約58%に及んでいる(第8表)。

溶連菌感染において抗生物質の使用が抗體の産生に影響を及ぼすことは容易に想像せられるところであり、この方面の研究も少くない^{20)~25)}。今各種抗生物質のASTO価に及ぼす影響をみると、第9表に示す如くである。即ち、全経過を通じて抗生物質を用いなかつたものでは、250単位以上の価を示したものは90%に及んでいるが、ペニシリン、バイシリン併用群では52%、サイクリン系統治療群では30%、エリスロマイシン治療群では50%にすぎず、クロラムフェニコール治療群のみは87%に達した。

抗生物質の種類だけでなく、使用の時期、期間および方法なども関係することはいうまでもないが、抗生物質使用によつて菌が早期に消失した場合には、ASTOの産生が少いものと考えられる。

第8表 A群溶連菌検出の有無によるASTO 價(猩紅熱)

	単位 例数	<12	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500	5000	平均價
全経過を通じてA群 溶連菌陰性のもの	15	2	1	4	1	2	2	1	1	1						131
		← 80% →					← 20% →									
A群溶連菌の 検出されたもの	26	1	1	3	2	2	2	2	3	3	2		2	2	1	680
		← 42% →					← 58% →									

第9表 種々の抗生剤による治療のASTO價に及ぼす影響（猩紅熱）

抗生剤の種類	単位 例數	<12	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500	5000	平均價
ペニシリン	27	2	1	4		4	2	5	2	3	1	1		1	1	497
バイシリン		← 48% →						← 52% →								
サイクリン系統	13	1	1	1	2		4	1	1		2					204
		← 70% →						← 30% →								
エリスロ マイシン	8			1	1	1	1		2	1			1			357
		← 50% →						← 50% →								
クロラム フェルコール	7						1	3			2		1			488
		← 13% →						← 87% →								
全経過を通じ抗生剤 を用いなかつたもの	10						1	5		1		1	1	1		650
		← 10% →						← 90% →								

第10表 各種疾患における ASTO 價

疾患名	單位 例數	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500	平均價
急性リウマチ	9		1	1	1			1		1	1	1	2	657
慢性リウマチ	35		3	6	2		9	1	8	3	1	1	1	401
心臓瓣膜症	13	3	2	1		1	3		3					204
腎臓炎	68	5	4	4	2	7	9	6	7	8	8	7	1	481
結核症	30	1	3	1	7	2	8	1	4	1		2		298
肋膜炎	14		3	1		1	1		7	1				342
肝臓疾患	65	14	14	5	12	9	4	1		2	1	1	2	216

次に溶連菌と関連ある1,2の疾患の場合について検討した。

第10表に示す如く、急性リウマチ、慢性リウマチにおいては高い抗體価が認められる。この成績は多くの報告者の成績²⁾⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁷⁾²⁶⁾²⁷⁾と大體一致する。

又、腎臓炎については、68例の平均価は481単位を示している。なお、これらの中一定の間隔をおいて2回以上採血したもので、明らかに抗體価の上昇が認められたものがある。

その他、溶連菌とは直接の関係はないが、結核症、肋膜炎においても強いSTO阻止作用を示すものゝあることを認めているが、これらの意味づ

けについては更に検討を必要とする。

第11表 泉熱患者における ASTO 價

患者 番 號	第1回採血 (2—15病日)	第2回採血 (16—25病日)
1	333	333
2	50	100
3	12	12
6	100	100
7	50	12
9	125	125
10	12	12
11	50	12
14	125	166

田坂内科岩本氏の御厚意により入手した肝臓疾患患者血清65例の平均価は216単位であるが、そ

第12表 泉熱患者における ASTO 價

	單位 例數	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	平均價
第 1 回採血 (2—15病日)	18	3	6	1	3	3	2					109
		← 88.9% →						← 11.1% →				
第 2 回採血 (16—25病日)	21	8	2	3	4	3	1					87
		← 95.2% →						← 4.8% →				

の中 166単位以下のものが83%を占め、250単位以上のものは僅かに17%にすぎない。伝染性肝炎の場合に、その血清は非特異的にSTOの作用を

強く阻止することのあることが報告せられているが²⁸⁾、我々が検査した肝臓炎の場合においてはかゝる強い阻止作用は認められなかった。

第13表 溶連菌の接種を受けた家兎血清の ASTO 價

家兎 番 號	接 種 菌 株	接 種 方 法 及 接 種 量	A S T O 價								
			接種前	接 種 後							
				1 週	2 週	3 週	4 週	2 月	3 月	4 月	5 月
1	Richards	皮 下 ブイヨン培養 1 ml	—	—	—	—	—	—	—	—	
2			—	—	—	—	—	—	—	—	
4			—	—	—	—	—	—	—	—	
5			—	—	—	—	—	—	—	—	
6			—	—	—	—	—	—	—	—	
7	Richards	静 脈 内 ブイヨン培養 1 ml	—	—	50	50	12	12	8	4	
8			—	—	12	50	50	50	死(—)		
9			—	—	8	12	12	12	4	4	4
10			—	—	4	12	12	12	100	125	50
11			—	—	4	12	12	8	8	4	
13	T I	静 脈 内 ブイヨン培養 10 ⁻¹ , 0.5ml	—	—	—	—	—	死(—)			
14			—	—	—	—	—	死(—)			
15			—	—	—	—	—	—	—	—	
16			—	—	—	—	—	死(+)			
17			—	死(+)							
18	N. Y. 5	静 脈 内 ブイヨン培養 1 ml	—	死(—)							
19			—	—	—	12	12	4	4	4	
20			—	死(+)							
21			—	—	12	12	12	死(—)			
22			—	—	死(—)						
23	N. Y. 5	静 脈 内 ブイヨン培養 10 ⁻¹ , 1ml. 3回 原液 0.5ml. 3回	—	—	—	4	12	50	死(—)		
24			—	—	12	8	死(—)				
25			—	—	12	12	12	12	12	12	
26			—	—	12	8	50	死(—)			
27			—	—	—	4	100	12	12	12	12
29	N. Y. 5	静 脈 内 ブイヨン培養 5 回*	—	—		12		50	12	12	12
30	"	" 3 回	—	—	死(+)						
33	S 8	" 8 回	—		100	50	50	50	12	12	12
34	"	" "	—		12	12	死(+)				
35	Richards	" "	—		125	50	50	50	12	12	12
3	無 處 置		—	—	—	—	—	—	死		
12			—	—	—	—	—	—	死		
28			—	—	—	—	—	—	死		
31			—	—	—	—	—	—	—	—	死
32			—	—	—	—	—	—	—	—	—

註：死 (+) は溶連菌を培養出来たもの

死 (—) は溶連菌を培養出来なかったもの

* 0.5— 1.0ml

なお、臨床的に猩紅熱と區別することが困難な場合のある泉熱患者血清について検査した成績は第11, 12表に示す如くである(内ヶ崎). 患者9名について、発病後2—15日の血清と発病後16—25日の血清とを比較してみると、ASTO価には殆んど変動は認められない。

平均価を比較すると、2—15日までの18名の平均は109単位、16—25日までの21名のそれは87単位で、有意の差異は認められない。而も後者では、166単位以下のものが95.2%を占めている。これは正常人の抗體価に近く、猩紅熱患者におけるものと比較して明らかに區別出来る。

少数例であるから、今後なお多くの例について検査する必要があるが、猩紅熱と泉熱とを鑑別する一つ的手段としてASTO価をも考慮すべきであると思う。特に一定の時日を経過した後においては、兩疾患を血清学的に鑑別することが可能となることと考えられる。

次に動物実験における成績(井上)についてのべる。

動物は體重2—2.5kgの家兎で、35匹を1群5匹ずつの7群に分け、最後の1群のみは無処置の対照として飼育した。

使用菌株は、A群に属するRichards (92.5 u/ml), N.Y. 5 (0 u/ml), S 8 (16.5u/ml), T 1 (0u/ml) である。何れもブイヨン培養で、

第13表に示すように、豫め測定したLD₅₀に近い量およびそれ以下の種々の量を静脈内又は皮下に注射した。最初の1カ月は1週に1回、1カ月後から1月に1回試血してASTO価を測定した。なお観察途中で斃死した家兎は剖見して諸臓器の変化をみ、心血、脾、肝等から培養によつて溶連菌の検出を行つた。

Richards, N.Y. 5, S 8株のブイヨン培養を静脈内に注射したものにおいては、大多数は第2—3週からASTO価の上昇が認められ、4単位以上125単位に及んだ。

これらの多くのものにおいては、接種後4カ月を経過した後でも、多少低下するが依然としてASTOが証明せられたことからして、抗體は相当長期間にわたり存在するものと思われる。

Richards 株を皮下に1回注射した群および試験管内では、STOの産生能の認められなかつたT 1株を静脈内に注射した家兎においては、ASTOの証明は出来なかつた。

すべての接種前の家兎血清および無処置家兎血清においてはASTOの認められなかつたことは表に示す通りである。

第1回接種から4カ月後、これらの家兎に夫々最初の接種のときと同じ菌株を静脈内に再接種すると、第14表に示すように、1週後既にASTO価が上昇し、625単位に達したものがあつた。但

第14表 再接種家兎におけるASTO 價

家兎 番號	種菌株接	接 種 方 法 及 接 種 量	A S T O 價							
			再接 種前	再 接 種 後						
				1 日	1 週	2 週	3 週	4 週	2 月	3 月
1	Richards	靜脈内, ブイヨン培養 10 ⁻¹ , 1 ml	—	—	12	50	12	12	4	4
2			—	—	166	250	166	166	50	12
4			—	—	12	12	12	12	50	50
5	Richards	靜脈内, ブイヨン培養 0.5 ml	—	—	12	12	12	12	8	4
6			—	—	12	500	死(+)			
7	Richards	靜脈内, ブイヨン培養 3 ml	4	4	625	625	333	333	4	4
11			4	4	125	250	125	125	50	50
15	T 1	靜脈内, ブイヨン培養 2 ml	—	—	—	—	8	12	8	4
19	N.Y. 5	靜脈内, ブイヨン培養 3 ml	4	2	死(+)					
25			12	12	死(+)					

しT 1株接種家兎においては、再接種後3週にしてようやく抗體の産生が認められる程度である。

T 1株は試験管内ではS T Oの産生が認められず、第1回の動物接種の場合においては、抗體の形成は認められなかつたものである。

更に新しい家兎を用い、T 1株及び試験管内でS T Oの産生の認められなかつたT 9株ならびにS T O産生能の弱いT 12株を注射した場合には、たとえLD₅₀ 近くの菌量を注射したもので、3週後なおA S T Oの証明は出来なかつた。これらについては更に観察を続けることになっている。

以上の成績の示す如く、試験管内でS T Oの産生能の認められない又は弱い菌株は、動物に唯1回注射しただけでは、生體においてもA S T Oの形成が認められなかつたことからして、試験管内でS T Oの産生能の弱い菌株は、生体内においてもA S T Oの形成能の弱いものと考えられよう。然しながら、N.Y. 5の如く試験管内ではS T O産生能がないに拘らず、動物体内ではA S T O産生能のあるものがあることから、試験管内の成績と生体内のそれとは必ずしも一致するとはいえない。生體の場合には、個体差は勿論、接種菌株および菌量の外、菌の生体内で病巣を作るかどうか、又その存在期間が長いかどうか等の種々の因子が関係するものと考えられる。

第1回、第2回の生菌接種にたえて生残つた動物で、なおA S T Oが証明されるものに、同一株の加熱死菌或は他の菌種の加熱死菌を静脈内に注射した場合には、A S T O価の上昇は認められなかつた。この際、生菌注射をうけたものでは明らかに抗體価の上昇が認められた。従つて、溶連菌生菌注射以外は、たとえ以上のような操作を加えても既に存在していた抗體価の上昇をひきおこすことは不可能である。

以上のように、接種前にA S T Oの証明出来なかつた家兎において、溶連菌接種によつてその血清中にA S T Oの産生が認められること、および非接種の家兎血清中には、数カ月後なお抗體の証明出来ないことから、この抗體は菌接種によつて産生された特異的なものと考えられよう。

一方、非特異的にある種の血清がS T Oの作用を阻止することのあることが報告されている²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾。

先ずあげられるものは、血清がある種の細菌によつて汚染される場合であるが、第15表に示す如く、我々は26株の細菌を正常家兎血清に入れ、37°Cの孵卵器に放置したところ、その遠心上清は1週間後既に緑膿菌および靈菌では2500倍、コレラ菌では166倍でS T Oの作用を阻止することを認めた。この性質は Seitz-E.K. で濾過した濾液にはもはや認められない。

第15表 各種細菌により汚染された血清の S T O 阻止作用

細菌の種類	培養期間(汚染)			
	1週	2週	3週	4週
溶血連鎖球菌(Richards)	—	—	—	—
〃 (Cook)	—	—	—	—
緑色連鎖球菌(39)	—	—	—	—
黄色ブドウ球菌(寺島)	—	—	—	—
レモン色ブドウ球菌	—	—	—	—
白色ブドウ球菌	—	—	—	—
大腸菌(C 1)	—	—	—	—
A. aerogenes(3320)	—	—	—	—
緑膿菌(土島)	2500	1250	2500	—
枯草菌(P C I)	—	—	—	—
靈菌(16)	2500	2500	2500	—
變形菌(B)	—	—	—	—
巨大菌	—	—	—	—
牛流産菌(高梨)	—	—	—	—
マルタ熱菌(Iseji)	—	—	—	—
豚流産菌(14)	—	—	—	—
コレラ菌(稻葉)	166	2500	2500	2500
赤痢菌(1199)	—	—	—	—
ジフテリア菌(P.W. 8)	—	—	—	—
炭疽菌(115)	—	50	50	50
チフス菌(H 901)	—	—	—	—
パラチフスA菌(PB 41—H-6)	—	—	—	—
肺炎球菌I型(Neufeld)	—	—	—	—
馬鈴薯菌	—	—	—	—
對 照 (非處置)	—	—	—	—

何故このようなS T O阻止作用が起るかについては既に Cholesterol その他が関与するとの報告

第16表 猩紅熱患者血清の STO による吸収

血清	處 置	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500	5000
A	血 清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	血清+STO	++	++	+++	+++'	+++'	+++'	+++	+++	+++	+++	
	血清+Buffer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	血清+加熱 STO	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
B	血 清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
	血清+STO	—	—	—	++	++	++	+++'	+++'	+++	+++	
	血清+Buffer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	
	血清+加熱 STO	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	
C	血 清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
	血清+STO	++	+++	+++'	+++'	+++	+++'	+++	+++	+++	+++	
	血清+Buffer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	
	血清+加熱 STO	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	

註. +++は完全溶血, —は不溶血を示す.

がある²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾. 我々もこの点について検討中であるが, 未だその本態を明らかにすることは出来ない.

菌による汚染がない限り, 血清を37°C, 室温, 0°—4°C, —10°Cに2カ月間保存しておいても, STOの作用を阻止するようにはならなかった.

なお, 特異的抗體は, STOで吸収することによつてなくなるが, 加熱してその作用をなくしたSTO液によつては吸収されないことは, 第16表に示す通りである. 吸収の方法は, STO液で血清を100倍に稀釈し, 37°C, 15分間作用させた後, 56°C30分間加熱して液中のSTOを破壊したものである. この成績は Packalén の成績と一致する. 然しながら, 非特異的阻止物質についてのSTOによる吸収試験に関しては, 必ずしもPackalénの所見とは一致せず, かなり複雑な因子が関与するものゝ如くである. この問題については目下検討中である.

Dick 反応について

従来報告によれば, 猩紅熱患者の多くは, 病日が進み回復期に入ると共に, 最初 Dick 反応陽性だったものも陰性を示すようになる. これは, erythrogenic toxin を中和する抗體が生體で形成せられるためと考えられている. そして以後は猩紅熱に対して免疫となり再び罹患することは稀である. 但し, 稀に再び罹患することがあるのは, 血清学的に異つた毒素があることから, 理論

的には可能なわけであり, 又個體によつて抗體產生能の弱いものゝあることから当然考えられよう. 従つて, 例外はあるにしても, 陽性反応は猩紅熱に対し感受性があること, 陰性反応は程度の差はあるが猩紅熱に対する抗毒性免疫があることを示すものといわれているが, 反応の信頼度はS-chick 反応のそれ程高くないことも一般に認められている.

とにかく, Dick 反応は猩紅熱に対する免疫性の有無を知るための重要な示標となる反応であると考えて差支えなからう.

然しながら, Dick 反応検査を実際に行う際, 考慮しなければならぬ幾つかの問題がなお残されていると思う. その主なものとして,

1. Dick 毒素を作るに用いる菌株の問題
 2. 非特異性反応を除くための毒素の精製の問題
 3. Dick 毒素の検定の問題
 4. Dick 反応判定方法の問題
- などがあげられよう.

従つて, Dick 反應用毒素液を先ず取りあげる必要がある.

我々は数年前から Dick 反應用毒素の研究を行っている(留岡, 田所, 工藤). 毒素は, S8株をStockのdiffusate mediumに培養することによつて得られたものである. この毒素と米国N.I.

H. の標準毒素とを、先ず家兎を用いて比較した。市販の家兎は毒素に対する反応性に甚だしい個体差があるため使用出来るものは3分の1にも足りなかつたが、New Zealand white 系の家兎は毒素に対する皮膚反応性が強く、その殆んどすべてを使用することが出来た。それ故毒素検定用の動物として主として New Zealand white 系の家兎を用いることにした。家兎で検定した後、感受性のある人體で比較してその1 Skin Test Dose (S.T.D.) をきめた。この際、何等認められるような副作用もないので、人體の Dick 反応検査に用いられると考えられるにいたつた。そして多数の人に試みたところ、極少数例ながら、同一人で両毒素に対して異つた反応を示すものゝあることに気がついたので、この問題を検討していた。

一方、急性腎炎患者から分離され、豫防衛生研究所に送附されたA群溶連菌55-15株の分与を受けてその毒素を作り、これとN.Y. 5, S 8, T

12の毒素との異同をしらべた。

その方法は、1. 標準抗毒素血清による中和試験、2. 毒素免疫家兎における各毒素に対する交叉皮膚反応試験によつた。

その結果は、1. 標準抗毒素血清による各毒素の中和試験の成績は第17表に示すように、N.Y. 5, S 8, T 12の毒素は略と同程度に中和されるに反し、55-15毒素は殆んど中和されなかつた。2. N.Y. 5, S 8, 55-15毒素をもつて家兎を強力に免疫し(1回の注射量は0.5 ml から30 ml にいたり、総注射量は約130 ml で、何れも皮下に注射した)、免疫前後の皮内反応を各毒素について比較した(第18, 19, 20表)。S 8 毒素免疫家兎ではS 8 毒素に対して免疫前後における皮膚発赤に著明な差がみられ、本毒素に対する免疫の成立が明らかに認められるが、N.Y. 5 毒素に対しては弱く、55-15毒素に対しては認められない。N.Y. 5 免疫家兎では、S 8 毒素免疫家兎の場合と大體同じような傾向がみられるが、S 8, 55-15毒素に対し

第17表 標準抗毒素血清による各毒素の中和試験

毒 素	家 兎 番 號	測 定 時 間	毒素5 S.T.D.+稀釋血清					對			照				
			1280 倍	640 倍	320 倍	160 倍	80 倍	血清 80倍	毒素 5 S.T.D	加熱 毒素 5 (S.T.D)	標 準 毒 素 (S.T.D)				
											1	0.5	0.25	0.125	0.01
標準 毒素	1	20	+	±	—	—	—	—	++	—	+	—	—	—	—
		44	+	+	—	—	—	—	++	—	+	—	—	—	—
	2	20	+	—	—	—	—	—	++	—	++	+	+	+	+
		44	+	+	±	—	—	—	++	—	+	—	—	—	—
N.Y. 5	1	20	±	—	—	—	—	—	++	—	註：反應の表わし方 ++ 發赤の直徑 2 cm 以上 ++ " 1.5—1.9cm + " 1.0—1.4cm ± " 0.5—0.9cm — " 0.4cm 以下 ' 浮腫を示す。				
		44	±	—	—	—	—	—	++	—					
	2	20	+	+	±	—	—	—	++	—					
		44	±	±	±	—	—	—	+	—					
S 8	1	20	+	—	—	—	—	—	++	—					
		44	+	±	—	—	—	—	++	—					
	2	20	+	±	—	—	—	—	++	—					
		44	+	±	—	—	—	—	++	—					
T 12	1	20	±	—	—	—	—	—	++	—					
		44	±	—	—	—	—	—	++	—					
	2	20	±	—	—	—	—	—	++	—					
		44	—	—	—	—	—	—	+	—					
55-15	1	20	+	±	—	—	—	—	++	—					
		44	+	+	+	+	+	—	++	—					
	2	20	++	+	+	+	+	—	++	—					
		44	++	+	+	+	±	—	++	—					

第18表 S 8 毒素免疫家兎における皮膚反應

家兎 番號	免疫 原	被檢 毒素	皮内 反應	毒 素 稀 釋 倍 數				
				10	100	1,000	10,000	100,000
1	S 8 毒 素	S 8	免疫前	/	+++	+	+	±
			免疫後	++	±	-	-	-
		N.Y. 5	免疫前	/	+++	+	+	±
			免疫後	++	+	+	±	-
		55-15	免疫前	+++	+++	+	±	/
			免疫後	++	+	+	±	-
2	S 8 毒 素	S 8	免疫前	/	+	+	+	±
			免疫後	++	+	-	-	-
		N.Y. 5	免疫前	/	++	+	±	±
			免疫後	+	++	++	+	±
		55-15	免疫前	+++	++	+	±	/
			免疫後	++	++	+	-	-

註：毒素免疫家兎における皮膚反應検査に使用した S 8, N.Y. 5, 55-15. 毒素の家兎に對する 1 S.T.D. は 1,000—10,000倍. 0.1ml である. 第19, 20表についても同様.

第19表 N.Y. 5 毒素免疫家兎における皮膚反應

家兎 番號	免疫 原	被檢 毒素	皮内 反應	毒 素 稀 釋 倍 數				
				10	100	1,000	10,000	100,000
3	N.Y. 5 毒 素	S 8	免疫前	/	+++	++	+	±
			免疫後	++	++	+	-	-
		N.Y. 5	免疫前	/	+++	++	+	-
			免疫後	+	-	-	-	-
		55-15	免疫前	+++	+++	+	±	/
			免疫後	++	++	+	-	-

ても、ある程度の免疫が成立しているように見える。これに反し、55-15毒素免疫家兎においては、55-15毒素に對する免疫のみが認められ、N.Y. 5, S 8 両毒素に對しては、免疫前後において、発赤に何等の差異がなく、従つて免疫の成立は認められない。

以上二つの実験方法による成績から、55-15毒素は N.Y. 5 および S 8 毒素とは異なるものと推定される。

これら免疫家兎の血清について、夫々の毒素を中和する能力があるかどうかをしらべたが、この程度の免疫では、著明な抗毒素の産生を証明することは出来なかつた。

第20表 55-15毒素免疫家兎における皮膚反應

家兎 番號	免疫 原	被檢 毒素	皮内 反應	毒 素 稀 釋 倍 數				
				10	100	1,000	10,000	100,000
4	55-15 毒 素	S 8	免疫前	/	++	±	-	-
			免疫後	++	++	+	-	-
		N.Y. 5	免疫前	/	++	±	-	-
			免疫後	++	++	+	-	-
		55-15	免疫前	/	+	±	-	-
			免疫後	+	-	-	-	-
5	55-15 毒 素	S 8	免疫前	/	++	+	±	-
			免疫後	++	++	+	-	-
		N.Y. 5	免疫前	/	++	+	±	-
			免疫後	++	++	+	-	-
		55-15	免疫前	/	+++	+	+	-
			免疫後	+	-	-	-	-

55-15毒素と従来我々が使用して来た毒素とを人體に併用した場合の成績についての報告は次の機会にゆずりたい。

以上動物実験によつて明らかのように、溶連菌の産生する所謂 Dick 毒素は必ずしも単一であるとは考えられない。外国においては、既に溶連菌の株によつて産生する毒素の異なることが報告されている³¹⁾³²⁾³³⁾³⁴⁾³⁵⁾³⁶⁾。例えば Hooker & Follensbyによれば、N.Y. 5 毒素は A と B とから成り、Dick ii 毒素は A, Cook 毒素は主として B から成るといわれている。

然しながら、標準株と考えられる N.Y. 5 又は S 8 の毒素をもつてしても、感受性のあるすべてのものをとらえることは不可能である。このことは、Dick 反応検査を行う上、および、猩紅熱の疫学的研究において重要な問題である。

我々も、猩紅熱その他溶連菌疾患から分離された多くの株について、その産生毒素が標準抗毒素によつて、どの程度に中和されるかを検討する豫定になつてゐるが、適当な標準抗毒素の入手が遅れているため、まだ実施していない。

以上の他、非特異的反應を除くためには Dick 毒素の精製が必要なわけであり、この問題については我国でも既に安東ら、児玉らの研究報告がある³⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾⁴⁰⁾。

なお、Dick 反應の判定の基準についても問題

がある。従来の判定方法は、1 S.T.D. を 0.1ml 中に含有する毒素液を一方の前膊内側皮内に注射し、18—24時間後の発赤の径1cm以上のものを陽性反応とした。この際対照として、同液を100°C 2時間加熱して毒素を破壊したものを他の腕に注射し、反応のみとめられないことをたしかめる。然しながら、この際陽性と認むべき発赤の大きさ、判定までの時間等なお考慮すべき点が残されている。

最近野辺地らが、我々の試作毒素をもつて多数の小学校生徒について判定の方法の検討を行い、基準をきめようと試みているから、より適当な判定の基準に近い将来確立されるものと信ずる。

参考文献

- 1) McCarty, M.: Streptococcal Infections, 1954, New York, Columbia University Press.
- 2) Mote, J.R. and Jones, T.D.: J. Immunol., **41**, 35, 1941. —3) Kaplan, M. H.: J. Clin. Invest., **25**, 337, 1946. —4) Commission on Acute Respiratory Diseases: J. Clin. Invest., **25**, 352, 1946. —5) Friou, G.J. and Wenner, H.A.: J. Inf. Dis., **80**, 185, 1947. —6) Rothbard, S., Watson, R.F., Swift, H.F. and Wilson, A. T.: Arch. Int. Med., **82**, 229, 1948. —7) Anderson, H. C., Kunkel, H. G. and McCarty, M.: J. Clin. Invest., **27**, 425, 1948. —8) McCarty, M.: J. Exp. Med., **90**, 543, 1949. —9) Harris, S. and Hrrris, T.N.: J. Clin. Invest., **29**, 351, 1950. —10) Quinn, R. W. and Liao, S. J.: J. Clin. Invest., **29**, 1156, 1950. —11) Rantz, L.A., Caprio, M.D. and Randall, E.: Amer. J. Med. Sc., **224**, 194, 1952. —12) Todd, E.W.: J. Hyg., **39**, 1, 1939. —13) Rantz, L. A. and Randall, E.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **59**, 22, 1945. —14) 田所一郎, 山本繁子, 鳴戸弘: 日本細菌学雑誌, **12**, 263, 1957. —15) 飛松源治, 中島日月, 早野正己: 日本細菌学雑誌, **11**, 503, 1956. —16) Morales-Otero, P. and Pomales-Lebrón, A.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **31**, 1170, 1934. —17) Coburn, A.F. and Pauli, R.H.: J. Exp. Med., **62**, 129, 1935. —18) Longcope, W. T.: J. Clin. Invest., **15**, 269, 1936. —19) 林喬義, 前川静枝, 大原吉輝: 日本醫事新報, 1563, 1483, 昭29. —20) Weinstein, L. and Tsao, C. C. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **63**, 449, 1946. —21) Rantz,

- L.A., Boisvert, P.J. and Spink, W.W.: Science, **103**, 352, 1946. —22) Kirbourn, E.D. and Loge, J. P.: J. Clin. Invest., **27**, 418, 1948. —23) Dai-kos, G. and Weinstein, L.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **78**, 160, 1951. —24) Wannamaker, L. W., Rammelkamp, C.H. Jr., Denny, F. W., Brink, W. R., Houser, H. B., Hahn, E. O., and Dingle, J.H.: Amer. J. Med., **10**, 673, 1951. —25) Quinn, R.W., Seastone, C.V. and Weber, R.W.: J. Inf. Dis., **93**, 57, 1953. —26) Todd, E. W.: Brit. J. Exp. Path., **13**, 248, 1932. —27) Stollerman, G. H. and Bernheimer, A. W.: J. Clin. Invest., **29**, 1147, 1950. —28) Packalén, T.: J. Bact., **56**, 143, 1948. —29) Hewitt, L. F. and Todd, E.W.: J. Path. Bact., **48**, 45, 1939. —30) Robinson, J.J.: J. Immunol., **66**, 661, 1951. —31) Park, W.H. and Spiegel, R.G.: J. Immunol., **10**, 829, 1925. —32) Hooker, S.B. and Follensby, E.M.: J. Immunol., **15**, 601, 1928. —33) Wheeler, M. W.: J. Immunol., **23**, 311, 1932. —34) Hooker, S. B. and Follensby, E. M.: J. Immunol., **27**, 177, 1934. —35) Wadsworth, A. and Coffey, J.M.: J. Immunol., **29**, 505, 1935. —36) Coffey, J. M.: J. Immunol., **35**, 121, 1938. —37) Ando, K., Kurauchi, K. and Nishimura, H.: J. Immunol., **18**, 223, 1930. —38) Ando, K. and Nishimura, H.: J. Immunol., **18**, 257, 1930. —39) Ando, K. and Ozaki, K.: J. Immunol., **18**, 267, 1930. —40) 児玉威: 東京醫事新誌, **60**, 246, 昭11.

交見演説(5)に対する追加

京大小児科 奥田 六郎

西村 慎吾

ASL-O (抗ストレプトリジンO価) 価は溶連菌感染症の指標として役立つようである。そのためには先ず本邦健康小児の ASL-O 価の正常範囲並びに溶連菌感染症の際の本抗體の推移をしらなければならない。この目的で我々が行ってきたことの一部を追加する。

1. 健康小児の ASL-O 価の正常範囲

小児の ASL-O 価の正常範囲についてはすでに発表した、Rantz法はその系列が統計的処理に適さないことが判つたので、今回はこれによらず稀釈系列を25単位毎として測定した。測定期間

Normal Range of ASL-O Titer of Healthy Infants and Children

Age	Cases	ASL-O Titer (Todd u/cc)											Average Titer (t-Dist)	μ	※ Upper Limit
		<25	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250			
1m~12m	12	9	2	1									20.8±10.3	16.2	74
1y~ 4y	66	35	11	10	5	4	1						37.8± 8.7	35.4	98
4y~ 6y	19	3	2	5	3	2	2	1	1				80.9±24.2	50.1	218
6y~ 9y	27	2	3	3	2	4	5	4	2	1		1	111.9±23.8	59.5	255
9y~12y	22		1	3	4	2	4	2	3		2	1	144.3±28.9	65.3	304
12y~15y	13			1	3	2	2	2	2	1			133.5±27.2	44.8	250
Total	159														

※ At least 95% of normal materials < Upper Limits; $\alpha=0.05$

は1956年10月末から1957年2月末までの159名の健康小児を対象とした。その対象とした基準はここ半年間明らかな溶連菌感染症とみなされるものがなく、最近2カ月間は全く健康であるとみられるものを選んだ。使用 STL-O は主として伝研工藤教授より恵与されたもの、一部埼玉衛研製と Difco 製を用いた。その成績は表示の如くである。

2. ASL-O 価の推移

溶連菌感染の明らかな猩紅熱7例、丹毒及び急性腎炎各1例、計9例につき本抗體の推移をみた。入院当初抗生物質を用い、退院後には再感染を防ぐ目的で Bicillin 100万単位を週1度筋注するか、または1日量50万単位を隔日経口投与して、全観察期間、週に1度咽頭溶連菌の培養検索を試み、菌陰性を確かめた症例のみである。ほぼ隔週毎に ASL-O 価を測定した成績は、入院当初低値を示した ASL-O 価は発病2~4週で最高に

達し、その最高値の持続期間はほぼ2週間で比較的短い。また我々のいう ASL-O 価の正常範囲に下降するには2~5週であつた。すなわち、溶連菌感染症発病後2週から約1カ月半~2カ月半迄は ASL-O 価は上昇していると概括し得る。

3. ASL-O 価を指標として溶連菌感染症の頻度の推定の試み

前述1及び2の成績を基として次の事を実施した。半農村の小学校と都会の小・中学校各1校の生徒に就て無選択的に計340名の ASL-O 価を測定した。方法は Rantz 法。時期は本年2月。その結果を要約すると、両校とも ASL-O 価が我々のいう正常範囲よりも上昇している頻度はほぼ等しく17.7%と17.4%とであつた。この数値はそのままこの2カ所の学校児童の最近約2~3カ月間の溶連菌感染症の最低の頻度を示すものと一応推定される。