

恙虫病病毒に関する研究

第 1 編

恙虫病病毒の精製に関する実験

岡山大学医学部微生物教室 (主任: 村上 栄教授)

大 西 讓

〔昭和 32 年 12 月 23 日受稿〕

緒 言

恙虫病は, Baelz と川上 (明12) が, 内外に紹介して以来, 緒方 (昭2) によつて真の病原体が発見され, さらに, 長与 (昭5) 等は, *Rickettsia orientalis* と名付けて以来, 恙虫病と, その病毒の研究は, 長足の進歩をみた。

Rickettsia (以下, R と略記する) は, 増殖のために, 生活細胞を必要とし, 感受性動物に, 接種することにより, 始めて, その形態を捕捉することができる。

従つて, 病毒材料は, R の外に, 組織成分を含み, 従来, 組織成分と一緒にされたときの R の抗原性が論じられたが, これは必ずしも, R の抗原性のすべてではない。R 以外の組織成分に, R のそれと異なる抗原性が存することを, 発疹熱について浜田 (昭19) が, 恙虫病について折橋 (昭32) が唱え, 痘毒については, 中村 (昭9) の, いわゆる, 随伴物質の研究がある。そこで, R 自体の抗原性を究めるために, R の純化の研究が, 緊要であり, この研究が果されてこそ, R の本質的抗原性が, 明らかにされる。

著者は, カオリンと, ペントナイト吸着法により, R を純化することに成功し, R の抗原性を, より明らかにすることができたので, ここに報告し, 御高批を仰ぐ次第である。

I 実験材料とその方法

1. 抗原原液

昭和29年に, 村上・浜田・軒原等によつて分離同定された, 人系三谷株を供した。この病毒株は, ハツカネズミにおける腹腔系伝達により, 累代保存されたものである。クロルプロマジンにより前処置した天竺鼠の腹腔内に, 三谷株病毒を接種し, 病毒の

著しい増殖を伴う, 滯溜した多量の腹水を, この実験に供した。

2. 抗血清

三谷株病毒によつて免疫された家兎抗血清を, この実験に供した。

3. 吸着剤

片山薬品工業株式会社製の, カオリン・ペントナイト, を供した。

4. 実験方法

1) 精製抗原

腹水を, N/15 KH_2PO_4 で, 10倍にうすめ, カオリン・ペントナイトを, それぞれ, 1%の割に加え, 4°C に, 30分間に亘り, 時々手振りし, 3000 rpm 5分間遠心沈澱した沈澱をとり, これを, 蒸溜水で洗滌しえた沈澱に, 等量の N/100 NaOH を加え 10分間室温で十分に攪拌誘出し, 次いで, 3000 rpm, 5分間, 遠心沈澱し, 上清を採り, 1%醋酸水で pH を補正し, さらに, 3000 rpm, 5分間遠心して得られた上清を実験に供した。

2) 精製病毒による補体結合反応

A) 予備試験

抗血清 56°C で, 30分間加温し非動化した。

補体 3匹の天竺鼠から得た血清を混和し, 本試験には, これの2充単位を供した。

溶血素 緬羊赤血球家兎抗血清をえ, これの3単位を供した。

抗原価の測定 溶血素3単位, 補体2単位を供し, 抗原と抗血清を順次倍数稀釈し, 交叉的にひき起される補体結合を観察し, 完全不溶血と, 75%溶血抑制を示す最高稀釈の血清を, 抗体の1単位と見做し, この4単位のところ, 抗原が75%以上の溶血抑制を示すところを, 抗原の1単位とみなし, 本試験には, この抗

原の2単位を供した。

B) 本試験

本試験には、河野(昭32)の術式に従った。補体結合反応の判定に当り、溶血抑制の程度を次の如く、判読した。

すなわち、

- 4 完全不溶血
- 3 75%溶血抑制
- 2 50%溶血抑制
- 1 25%溶血抑制
- 0 完全溶血

と表示し、反応の終末点は3~4の溶血抑制を示す血清稀釈の倍数を以て示した。

II 実験成績

1. カオリン粒子による吸着・解離の実験。

カオリン粒子による病毒の吸着・解離が pH と如何なる関係にあるかを、知るべく、次に述べる pH の条件下で、実験をすすめ、検討した。

- 1) pH 4.0 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離
 - pH 7.4 における解離
 - pH 7.6 における解離
 - pH 7.8 における解離
 - pH 8.0 における解離
- 2) pH 4.5 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離
 - pH 7.4 における解離
 - pH 7.6 における解離
 - pH 7.8 における解離
 - pH 8.0 における解離
- 3) pH 5.0 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離
 - pH 7.4 における解離
 - pH 7.6 における解離
 - pH 7.8 における解離
 - pH 8.0 における解離
- 4) pH 5.5 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離
 - pH 7.4 における解離
 - pH 7.6 における解離
 - pH 7.8 における解離
 - pH 8.0 における解離
- 5) pH 6.0 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離

- pH 7.4 における解離
- pH 7.6 における解離
- pH 7.8 における解離
- pH 8.0 における解離

2. ベントナイト粒子による病毒の吸着・解離の実験。

ベントナイト粒子による病毒の吸着・解離と、pH の関係を吟味すべく、次に述べる pH の条件下で実験をすすめた。

- 1) pH 4.0 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離
 - pH 7.4 における解離
 - pH 7.6 における解離
 - pH 7.8 における解離
 - pH 8.0 における解離
- 2) pH 4.5 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離
 - pH 7.4 における解離
 - pH 7.6 における解離
 - pH 7.8 における解離
 - pH 8.0 における解離
- 3) pH 5.0 吸着粒子よりの解離
 - pH 7.2 における解離
 - pH 7.4 における解離
 - pH 7.6 における解離
 - pH 7.8 における解離
 - pH 8.0 における解離

1. カオリン粒子を用いての実験

吸着時の pH の条件を、4.0に一定し、解離時の pH の条件を、7.2 にした時の補体結合反応の結果を、表1に示した。

すなわち、実験のIでは、抗血清の1:20稀釈ま

表1 pH 4.0吸着粒子よりの pH 7.2 における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応				
			抗血清 稀釈	I	II	III	IV
カ オ リ ン	4.0	7.2	10	2	2	1	2
			20	2	1	0	1
			40	1	1	0	0
			80	0	1	0	0
			160	0	0	0	0
			320	0	0	0	0
		対 照	0	0	0	0	

で、50%溶血抑制、1:40稀釈では、25%溶血抑制、1:80稀釈以上では、完全溶血を示し、カオリンによる病毒の吸着・解離は、十分ではないと考えられる。

実験のIIに於ては、抗血清の1:10稀釈で50%、1:20・1:40・1:80稀釈で、それぞれ、25%の溶血抑制をみたにすぎない。

実験のIIIでは、抗血清の1:10稀釈で、25%溶血抑制を、実験のIVでは、抗血清の1:10稀釈で、50%溶血抑制を、1:20稀釈では25%溶血抑制を示すに、すぎない。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.0解離時のpHが7.4の条件における、実験の成績を表2、に示した。

表2 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 7.4 における解離

吸着		解離		補体結合反応			
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III	IV
カ オ リ ン	4.0	7.4	10	2	1	2	1
			20	2	1	2	0
			40	0	0	1	0
			80	0	0	0	0
			160	0	0	0	0
			320	0	0	0	0
対照			0	0	0	0	

すなわち、実験のIでは、抗血清の1:10・1:20稀釈で、50%溶血抑制を実験のIIでは、抗血清の1:10、1:20稀釈で25%溶血抑制を示し、実験IIIでは、抗血清の1:10・1:20稀釈で、50%溶血抑制を、1:40稀釈で、25%溶血抑制を示し、実験のIVでは、抗血清の1:10稀釈で、25%溶血抑制を示したに、すぎない。

表3 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 7.6 における解離

吸着		解離		補体結合反応		
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	7.0	7.6	10	1	2	2
			20	1	1	2
			40	0	1	0
			80	0	1	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
対照			0	0	0	

カオリン粒子による吸着時のpHが4.0、解離時のpHが7.6の条件における、実験の結果を、表3に示した。

すなわち、実験のIでは、抗血清の1:10・1:20稀釈で25%溶血抑制を、実験のIIでは、抗血清の1:20稀釈で、50%溶血抑制を、1:20・1:40・1:80稀釈で、25%溶血抑制を示し、実験のIIIでは、抗血清の1:10・1:20稀釈で、50%溶血抑制を示したに、すぎない。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.0、解離時のpHが7.8の条件における、実験の結果を、表4に示した。

表4 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 7.8 における解離

吸着		解離		補体結合反応		
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	4.0	7.8	10	1	2	1
			20	1	2	2
			40	0	0	0
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
対照			0.	0	0	

すなわち、実験のIでは抗血清の1:10・1:20稀釈において、25%溶血抑制を、実験のIIでは、抗血清の同じ稀釈まで、50%溶血抑制を示し、実験のIIIでは、抗血清の1:10稀釈で、25%溶血抑制を、1:20稀釈で、50%溶血抑制を示した。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.0、解離時のpHが8.0の条件における実験の結果を、表5に示した。

表5 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 8.0 における解離

吸着		解離		補体結合反応		
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	4.0	8.0	10	1	2	2
			20	0	2	1
			40	0	1	0
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
対照			0	0	0	

すなわち、抗血清の1:10稀釈では、実験のIにおいて、25%溶血抑制を、実験のII・IIIにおいて、50%溶血抑制を示し、1:20稀釈では、実験のIにおいて完全溶血を、実験のII・IIIでは、それぞれ、50%・25%溶血抑制を示し、1:40稀釈では、実験のIIにおいて、25%溶血抑制を示したにとどまる。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが7.2における、実験の結果を、表6に示した。すなわち、抗血清の1:10稀釈では、実験のI・

表6 pH 4.5吸着粒子よりのpH 7.2における解離

吸 着		解離 pH	補 体 結 合 反 応			
粒子	pH		抗血清 稀 釈	I	II	III
カ オ リ ン	4.5	7.2	10	2	2	2
			20	1	2	1
			40	1	0	0
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
		対 照	0	0	0	

II・IIIともに、50%の溶血抑制を示し、1:20稀釈では、実験のI・IIIにおいて、25%溶血抑制を、実験のIIでは、50%溶血抑制を示した。

1:40稀釈では、実験のIにおいてのみ、25%溶血抑制を示し、その他は、完全溶血を示した。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが7.4の条件における、実験の結果を、表7に示した。

表7 pH 4.5吸着粒子よりのpH 7.4における解離

吸 着		解離 pH	補 体 結 合 反 応			
粒子	pH		抗血清 稀 釈	I	II	III
カ オ リ ン	4.5	7.4	10	2	1	2
			20	2	1	1
			40	1	0	1
			80	1	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
		対 照	0	0	0	

すなわち、抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIIにおいて、50%溶血抑制を、実験のIIにおいて、

25%溶血抑制を、1:20稀釈では、実験のIにおいて、50%溶血抑制を、実験のII・IIIにおいて、25%溶血抑制を示し、1:40・1:80稀釈では、実験のIにおいて、25%溶血抑制を、実験のIIにおいて、完全溶血を、実験のIIIにおいて、抗血清の1:40稀釈にのみ、25%溶血抑制を示した。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが7.6の条件における、実験の結果を、表8に示した。

表8 pH 4.5吸着粒子よりのpH 7.6における解離

吸 着		解離 pH	補 体 結 合 反 応				
粒子	pH		抗血清 稀 釈	I	II	III	IV
カ オ リ ン	4.5	7.6	10	1	2	1	1
			20	1	0	0	1
			40	1	0	0	0
			80	0	0	0	0
			160	0	0	0	0
			320	0	0	0	0
		対 照	0	0	0	0	

すなわち、抗血清の10倍稀釈では、実験のIIにおいて、50%溶血抑制を、その他は、25%溶血抑制を示した。

1:20稀釈では、実験のI・IVにおいて、25%溶血抑制を、その他は、完全溶血を示した。

1:40稀釈では、実験のIにおいて、溶血抑制を示すにとどまる。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが7.8の条件における実験の結果を、表9に示した。

表9 pH 4.5吸着粒子よりのpH 7.8における解離

吸 着		解離 pH	補 体 結 合 反 応			
粒子	pH		抗血清 稀 釈	I	II	III
カ オ リ ン	4.5	7.8	10	1	2	1
			20	1	2	1
			40	1	1	0
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
		対 照	0	0	0	

すなわち、抗血清の1:10・1:20稀釈では、実験のⅠ・Ⅲにおいて、25%溶血抑制を、実験のⅡにおいて、50%溶血抑制を示した。

1:40稀釈では、実験のⅠ・Ⅱにおいてのみ、25%溶血抑制を示した。1:80以上の高次の稀釈では、いずれも、完全溶血を示した。

カオリン粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが8.0の条件における実験の結果を、表10に示した。

表10 pH 4.5吸着粒子よりのpH 8.0における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応			
			抗血清 稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	4.5	8.0	10	2	1	2
			20	2	0	1
			40	0	0	1
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
		対照	0	0	0	

すなわち、抗血清の1:10稀釈では、実験のⅠ・Ⅲにおいて、50%溶血抑制を、実験のⅡにおいて、25%溶血抑制を示し、1:20稀釈では、実験のⅠにおいて、50%溶血抑制を、実験のⅡにおいては完全溶血を、実験のⅢにおいて、25%溶血抑制を示し、1:40稀釈では、実験のⅢにおいてのみ、25%溶血抑制を示した。

カオリン粒子による吸着時のpHが5.0、解離時のpHが7.2における、実験の結果成績を、表11に示した。

表11 pH 5.0吸着粒子よりのpH 7.2における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応			
			抗血清 稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.0	7.2	10	4	4	4
			20	4	4	4
			40	3	4	3
			80	3	3	3
			160	1	2	1
			320	0	0	0
		対照	0	0	0	

実験のⅠ・Ⅱ・Ⅲにおいて、完全溶血抑制を示した。1:40稀釈では、実験のⅠ・Ⅲにおいて、75%溶血抑制を、実験のⅡにおいて完全溶血を示した。

1:80稀釈では、実験のⅠ・Ⅱ・Ⅲにおいて、75%の溶血抑制を示し、1:160稀釈では、実験のⅠ・Ⅲにおいて25%、実験のⅡにおいて、50%の溶血抑制を示した。

カオリン粒による吸着時のpHが5.0解離時のpHが7.4の条件における実験の結果を、表12に示した。

表12 pH 5.0吸着粒子よりのpH 7.4における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応			
			抗血清 稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.0	7.4	10	4	4	4
			20	4	3	3
			40	3	3	3
			80	3	3	3
			160	1	2	1
			320	0	0	0
		対照	0	0	0	

すなわち、抗血清の、1:10稀釈では、実験のⅠ・Ⅱ・Ⅲにおいて、完全溶血抑制を、1:20稀釈では、実験のⅠにおいて、完全溶血抑制を、実験のⅡ・Ⅲにおいては、75%溶血抑制を、1:40・1:80稀釈では、実験のⅠ・Ⅱ・Ⅲにおいて、ともに、75%溶血抑制を示した、1:160稀釈では、実験のⅠ・Ⅲにおいて、25%溶血抑制を、実験のⅡにおいては、50%溶血抑制を示した。

カオリン粒子による吸着時のpHが5.0、解離時

表13 pH 5.0吸着粒子よりのpH 7.6における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応			
			抗血清 稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.0	7.6	10	3	3	3
			20	1	1	2
			40	1	0	1
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
		対照	0	0	0	

の pH が 7.6 の条件における実験の結果を、表13に示した。

すなわち、抗血清の、1:10稀釈では、実験のⅠ・Ⅱ・Ⅲにおいて、75%溶血抑制を、1:20稀釈では、実験のⅠ・Ⅱにおいて、25%溶血抑制を、実験のⅢにおいて50%溶血抑制を、1:40稀釈では、実験のⅠ・Ⅲにおいて、25%溶血抑制を示した。

カオリン粒子による吸着時の pH が 5.0、解離時の pH が 7.8 の条件における実験の結果を、表14に示した。抗血清の1:10稀釈では、実験のⅠ・Ⅲにおいて、25%溶血抑制を、実験Ⅱにおいて、50%溶血抑制を、1:20稀釈では、25%溶血抑制し、1:40稀釈では、実験Ⅲにのみ25%溶血抑制をみた。

表14 pH 5.0 吸着粒子よりの pH 7.8 における解離

吸 着		解 離		補 体 結 合 反 応		
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.0	7.8	10	1	2	1
			20	1	1	1
			40	0	0	1
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
対 照			0	0	0	

カオリン粒子による吸着時の pH が 5.0、解離時の pH が 8.0 の条件における実験の結果を表15に示した。

表15 pH 5.0 吸着粒子よりの pH 8.0 における解離

吸 着		解 離		補 体 結 合 反 応		
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.0	8.0	10	2	1	
			20	1	1	
			40	0	0	
			80	0	0	
			160	0	0	
			320	0	0	
対 照			0	0	0	

抗血清の 1:10 稀釈では、実験のⅠにおいて50%、実験のⅡにおいて、25%溶血抑制を示し、1:20稀釈では、25%溶血抑制を示した。1:40以上の、高

次稀釈では、完全溶血を示した。

カオリン粒子による吸着時の pH が 5.5、解離時の pH が 7.2 の条件における実験の結果を、表16に示した。

表16 pH 5.5 吸着粒子よりの pH 7.2 における解離

吸 着		解 離		補 体 結 合 反 応		
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.5	7.2	10	2	2	1
			20	1	0	1
			40	1	0	0
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
対 照			0	0	0	

実験のⅠにおいて、抗血清の 1:10 稀釈では、50%溶血抑制を、1:20・1:40稀釈では、25%溶血抑制を、実験のⅡにおいて、1:10稀釈では、50%溶血抑制を示し、1:20以上の高次稀釈では、完全溶血を示した。実験のⅢにおいて、1:10・1:20稀釈ではそれぞれ、25%溶血抑制を示すにとどまる。

カオリン粒子による吸着時の pH が 5.5、解離時の pH が 7.4 における実験の結果を、表17に示した。

表17 pH 5.5 吸着粒子よりの pH 7.4 における解離

吸 着		解 離		補 体 結 合 反 応		
粒子	pH	pH	抗血清稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.5	7.4	10	1	2	
			20	1	1	
			40	1	0	
			80	0	0	
			160	0	0	
			320	0	0	
対 照			0	0	0	

実験のⅠにおいて、抗血清の 1:10:1:20・1:40稀釈では、いずれも、25%溶血抑制を示し、実験のⅡにおいて、1:10稀釈では、50%溶血抑制を、1:20稀釈では、25%溶血抑制を示し、1:80以上の高次稀釈では、すべて、完全溶血を示した。

カオリン粒子吸着時の pH が 5.5、解離時の pH が 7.6 の条件における、実験の結果を、表18に示し

表18 pH 5.5 吸着粒子よりの pH 7.6 に
おける解離

吸着		解離 pH	補体結合反応			
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.5	7.6	10	2	1	2
			20	1	0	1
			40	1	0	1
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
		対照	0	0	0	

た。

実験の I において、抗血清の 1 : 10 稀釈では、50%溶血抑制を示し、1 : 20・1 : 40 稀釈では、25%溶血抑制を示し、実験の II において、1 : 10 稀釈では 25%溶血抑制を示し、実験の III において、1 : 10 稀釈では 50%溶血抑制を示し、1 : 20・1 : 40 稀釈では、25%溶血抑制を示し、1 : 80 以上の高次稀釈では、いずれも完全溶血を示した。

カオリン粒子吸着時の pH が 5.5、解離時の pH が 7.8 の条件における実験の結果を、表 19 に示した。

表19 pH 5.5 吸着粒子よりの pH 7.8 に
おける解離

吸着		解離 pH	補体結合反応			
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	5.5	7.8	10	2	1	2
			20	2	0	1
			40	0	0	1
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
		対照	0	0	0	

実験の I において、抗血清の 1 : 10・1 : 20 稀釈では、50%溶血抑制を示し、実験の II において、1 : 10 稀釈では 25%溶血抑制を示し、実験の III において、1 : 10 稀釈では、50%溶血抑制を示し、1 : 20・1 : 40 稀釈では、25%溶血抑制を示し、1 : 80 以上の高次稀釈では、すべて、完全溶血を示した。

カオリン粒子吸着時の pH が 5.5、解離時の pH が 8.0 の条件における実験の結果を、表 20 に示した。

表20 pH 5.5 吸着粒子よりの pH 8.0 に
おける解離

吸着		解離 pH	補体結合反応		
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II
カ オ リ ン	5.5	8.0	10	2	1
			20	2	1
			40	1	0
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
		対照	0	0	

実験の I において、抗血清の 1 : 10・1 : 20 稀釈では、50%溶血抑制を示し、1 : 40 稀釈では、25%溶血抑制を示し、実験の II において、1 : 10・1 : 20 稀釈では、いずれも、25%溶血抑制を示すにすぎない。

カオリン粒子吸着時の pH が 6.0、解離時の pH が 7.2 の条件における実験の結果を、表 21 に示した。

表21 pH 6.0 吸着粒子よりの pH 7.2 に
おける解離

吸着		解離 pH	補体結合反応		
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II
カ オ リ ン	6.0	7.2	10	1	2
			20	1	1
			40	0	1
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
		対照	0	0	

表22 pH 6.0 吸着粒子よりの pH 7.4 に
おける解離

吸着		解離 pH	補体結合反応		
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II
カ オ リ ン	6.0	7.4	10	2	1
			20	1	1
			40	1	0
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
		対照	0	0	

実験の I において、抗血清の 1 : 10・1 : 20 稀釈で

は、25%溶血抑制を、実験のⅡにおいて、1:10稀釈では、50%溶血抑制を、1:20・1:40稀釈では、25%溶血抑制を示した。

カオリン粒子吸着時の pH が 6.0 解離時の pH が 7.4 の条件における実験の結果を、表 22 に示した。

実験のⅠにおいて、抗血清の 1:10 稀釈では 50% 抑制溶血を、1:20・1:40稀釈では、25%溶血抑制を示し、実験のⅡにおいて、1:10・1:20稀釈ではともに、25%溶血抑制を示したのとどまる。

カオリン粒子吸着時の pH が 6.0 解離時の pH が 7.6 の条件における実験の結果を、表 23 に示した。

表 23 pH 6.0 吸着粒子よりの pH 7.6 における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
カ オ リ ン	6.0	7.6	10	1	2
			20	1	2
			40	0	0
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
対 照			0	0	

実験のⅠにおいて、抗血清の 1:10・1:20稀釈では 25%溶血抑制を、実験のⅡにおいては、抗血清の 1:10・1:20稀釈では 50%溶血抑制を示すとどまる。

カオリン粒子吸着時の pH が 6.0 解離時の pH が 7.8 の条件における実験の結果を、表 24 に示した。

表 24 pH 6.0 吸着粒子よりの pH 7.8 における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応			
			抗血清 稀釈	I	II	III
カ オ リ ン	6.0	7.8	10	1	2	2
			20	1	1	1
			40	1	1	0
			80	0	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
対 照			0	0	0	

実験のⅠにおいて、抗血清の 1:10・1:20・1:40稀釈では、25%溶血抑制を、実験のⅡにおいて、

抗血清の 1:10稀釈では、50%溶血抑制を、1:20・1:40稀釈では、25%溶血抑制を、実験のⅢにおいて、抗血清 1:10稀釈では、50%溶血抑制を、1:20稀釈では、25%溶血抑制をするにすぎない。

カオリン粒子吸着時の pH が 6.0 解離時の pH が 8.0 の条件における実験の結果を、表 25 に示した。

表 25 pH 6.0 吸着粒子よりの pH 8.0 における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
カ オ リ ン	6.0	8.0	10	1	2
			20	1	0
			40	0	0
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
対 照			0	0	

実験のⅠにおいて、抗血清の 1:10・1:20稀釈では、25%溶血抑制を示し、実験のⅡにおいて、抗血清の 1:10稀釈では、50%溶血抑制を示し、1:40稀釈以上の高次稀釈では、いずれも完全溶血を示した。

2. ペントナイトによる実験

ペントナイト粒子による吸着時の pH が 5.0、解離時の pH が 7.2 における実験の結果を、表 26 に示した。

表 26 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 7.2 における解離

吸着 粒子	pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ペ ン ト ナ イ ト	4.0	7.2	10	3	3
			20	2	1
			40	2	0
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
対 照			0	0	

実験のⅠにおける、抗血清の 1:10 稀釈では、75%溶血抑制を示し、1:20・1:40稀釈では、25%溶血抑制を示し、実験のⅡにおいて、1:10 稀釈では、75%溶血抑制を、1:20 稀釈では、25%溶血抑制を

示した。

ベントナイト粒子による吸着時の pH が 4.0、解離時の pH が 7.4 における実験の結果を、表 27 に示した。

表 27 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 7.4 における解離

吸着		解離 pH	補体結合反応		
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II
ベント ナイト	4.0	7.4	10	4	3
			20	2	1
			40	0	1
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

実験の I において、抗血清 1:10 稀釈では、完全溶血抑制を、1:20 稀釈では、50% 溶血抑制を示し、実験の II において、1:10 稀釈では、75% 溶血抑制を、1:20・1:40 稀釈では、25% 溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時の pH が 4.0、解離時の pH が 7.6 の条件における実験の結果を、表 28 に示した。

表 28 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 7.6 における解離

吸着		解離 pH	補体結合反応		
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II
ベント ナイト	4.0	7.6	10	1	1
			20	1	1
			40	1	0
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

実験の I において、抗血清 1:10・1:20・1:40 稀釈では 25% 溶血抑制を示し、実験の II において、1:10・1:20 稀釈では、25% 溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時の pH が 4.0、解離時の pH が 7.8 の条件における実験の結果を、表 29 に示した。

実験の I において、抗血清の 1:10 稀釈では、50% 溶血抑制を、1:20・1:40・1:80 稀釈では、25%

表 29 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 7.8 における解離

吸着		解離 pH	補体結合反応			
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II	III
ベント ナイト	4.0	7.8	10	2	1	1
			20	1	1	1
			40	1	0	1
			80	1	0	0
			160	0	0	0
			320	0	0	0
			対照	0	0	0

溶血抑制を、実験の II において、1:10・1:20 稀釈では、25% 溶血抑制を示し、実験の III において、1:10・1:20・1:40 稀釈では、いずれも、25% 溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時の pH が 4.0、解離時の pH が 8.0 の条件に於ける実験の結果を、表 30 に示した。

実験の I において、抗血清の 1:10・1:20 稀釈で

表 30 pH 4.0 吸着粒子よりの pH 8.0 における解離

吸着		解離 pH	補体結合反応		
粒子	pH		抗血清 稀釈	I	II
ベント ナイト	4.0	8.0	10	1	2
			20	1	1
			40	0	1
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

は、25% 溶血抑制を示し、実験の II において、1:10 稀釈では、50% 溶血抑制を、1:20・1:40 稀釈では、25% 溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時の pH が 4.5、解離時における pH が 7.2 の条件における実験の結果を、表 31 に示した。

実験の I・II において、抗血清の 1:10・1:20 稀釈では、いずれも、完全溶血抑制を示し、1:40 稀釈では、75% 溶血抑制を示し、1:80 稀釈では、75%、1:160 稀釈では、25% 溶血抑制を、1:320 稀釈では、実験の I において、完全溶血を、実

表31 pH 4.5 吸着粒子よりの pH 7.2 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベントナイト	4.5	7.2	10	4	4
			20	4	4
			40	3	4
			80	3	3
			160	1	2
			320	0	2
			対照	0	0

験のIIにおいて50%溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時のpHが4.5、解離時におけるpHが7.4の条件における実験の結果を、表32に示した。

抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIにおいて、完全溶血抑制を、1:20稀釈では、それぞれ、100・75%溶血抑制を示した。1:40稀釈では、75%溶血抑制を、1:80稀釈では、25・50%溶血抑制を示した。

表32 pH 4.5 吸着粒子よりの pH 7.4 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベントナイト	4.5	7.4	10	4	4
			20	4	3
			40	3	3
			80	1	2
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

ベントナイト粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが7.6の条件における、実験の結果を、表33に示した。

抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIにおいて、75%溶血抑制を、1:20稀釈では、それぞれ、50・25%溶血抑制を、1:40稀釈では、25%溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが7.8の条件における実験の結果を、表34に示した。

抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIにおいて、

表33 pH 4.5 吸着粒子よりの pH 7.6 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベントナイト	4.5	7.6	10	3	3
			20	2	1
			40	1	1
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

表34 pH 4.5 吸着粒子よりの pH 7.8 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベントナイト	4.5	7.8	10	2	2
			20	2	1
			40	0	1
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

50%溶血抑制を、1:20稀釈では、それぞれ、50・25%溶血抑制を、1:40稀釈では、実験のIにおいて、完全溶血を、実験のIIにおいて25%溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時のpHが4.5、解離時のpHが8.0の条件における実験の結果を、表35に示した。

表35 pH 4.5 吸着粒子よりの pH 8.0 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベントナイト	4.5	8.0	10	2	1
			20	1	0
			40	1	0
			80	0	0
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIにおいて、50・25%溶血抑制を、1:20・1:40稀釈では、25%溶血抑制を示し、実験のIIにおいては、完全溶血を示した。

ベントナイト粒子による吸着時のpHが5.0、解離時のpHが7.2の条件における実験の結果を、表36に示した。

表36 pH 5.0 吸着粒子よりの pH 7.2 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベント ナイト	5.0	7.2	10	4	4
			20	4	4
			40	3	4
			80	3	3
			160	1	2
			320	0	2
			対照	0	0

抗血清の1:10:1:20稀釈では、実験のI・IIにおいて完全溶血抑制を、1:40稀釈では、75・100%溶血抑制を、1:80稀釈では、75%溶血抑制を、1:160稀釈では、25・50%溶血抑制を、1:320稀釈では、実験のIにおいて、完全溶血を、実験のIIにおいて、50%溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時のpHが5.0、解離時のpHが7.4の条件における実験の結果を、表37に示した。

表37 pH 5.0 吸着粒子よりの pH 7.4 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベント ナイト	5.0	7.4	10	4	4
			20	3	4
			40	3	3
			80	1	3
			160	0	1
			320	0	0
			対照	0	0

抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIにおいて完全溶血を、1:20稀釈では、75・100%溶血抑制を、1:40稀釈では、75%溶血抑制を、1:80稀釈では、

25・75%溶血抑制を示した。1:160稀釈では、実験のIIにおいて、25%溶血抑制を、実験のIにおいて、完全溶血を示した。

ベントナイト粒子による吸着時のpHが5.0、解離時のpHが7.6の条件における実験の結果を、表38に示した。

表38 pH 5.0 吸着粒子よりの pH 7.6 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベント ナイト	5.0	7.6	10	3	3
			20	2	1
			40	2	1
			80	0	1
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIにおいて、75%溶血抑制を、1:20・1:40稀釈では、50・25%溶血抑制を、1:80稀釈では、実験のIにおいて、完全溶血を示し、実験のIIにおいて、25%溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時のpHが5.0、解離時のpHが7.8の条件における実験の結果を、表39に示した。

表39 pH 5.0 吸着粒子よりの pH 7.8 における解離

吸着 粒子	吸着 pH	解離 pH	補体結合反応		
			抗血清 稀釈	I	II
ベント ナイト	5.0	7.8	10	2	2
			20	2	1
			40	0	1
			80	0	1
			160	0	0
			320	0	0
			対照	0	0

抗血清の1:10稀釈では、実験のI・IIにおいて50%溶血抑制を、1:20稀釈では、それぞれ、50・25%溶血抑制を、1:40・1:80稀釈では、実験のIにおいて、完全溶血を、実験のIIにおいて、25%溶血抑制を示した。

ベントナイト粒子による吸着時の pH が 5.0, 解離時の pH が 8.0 の条件における実験の結果を, 表 40 に示した。

表 40 pH 5.0 吸着粒子よりの pH 8.0 における解離

吸 着 粒子	pH	解離 pH	補 体 結 合 反 応		
			抗血清 稀 釈	I	II
ベ ン ト ナ イ ト	5.0	8.0	10	2	2
			20	1	1
			40	1	0
			80	1	0
			160	0	0
			320	0	0
			対 照	0	0

抗血清の 1:10 稀釈では, 実験の I・II において, 50%溶血抑制を, 1:20 稀釈では, 25%溶血抑制を, 1:40・1:80 稀釈では, 実験の I において, 25%溶血抑制を, 実験の II において, 完全溶血を示した。

IV 考 察

恙虫病ウイルスと, 精製ウイルスの抗原性に関する研究は, Cox (1938) が, *Rickettsia prowazeki* (Rp と略記する) よりワクチンを造り, Craigie (1946) がエーテル処理法による, ウイルスの純化に成功した。しかし, Rp の粗抗原は, 抗原価が低いが, エーテルで精製し, 莖雑物を除去すれば, その価が高まり, 特異性も強められるものであることについて, Bengtson (1945) が指摘した。

精製ウイルスには, R 体の外に, 可溶性抗原が含まれ, これが, Rp と Rm の共通因子であることが, Topping (1945) と Plotz (1945) の研究によつて, 明らかにされた。

北岡 (昭 22) は, 発育卵黄嚢ワクチンの類属反応は, R 体より解離せられる可溶性抗原によるものであるとした。

一方, 恙虫病ウイルスの分離では, Cox-Wolf (1954) 等が, 卵黄嚢内に増殖したウイルスを, エーテル処理を行い, 補体結合反応用抗原とした。また, 同僚である, 河野 (昭 32) は, Chlorpromazine により前処置した天竺鼠の腹腔内に, 恙虫病ウイルスを接種すれば,

ウイルスの著しい増殖を伴う多量の腹水を, えられることから, この腹水を抗原とする補体結合反応は, 優れた, 免疫反応であることを, 確かめた。

しかし, これらの補体結合反応の研究は, いずれも, ウイルスと組織成分の混合抗原によるものであり, 純化ウイルスの, 補体結合性抗原としての性質は, 十分には吟味しつくされていない。

著者は, この点にかんがみ Chlorpromazine による処置天竺鼠の腹腔に, 軒原の分離した人型三谷株恙虫病ウイルスである, 人系三谷株ウイルスを接種し, えた濃厚な腹水ウイルスを抗原とし, カオリン・ベントナイトを供して, 吸着させ供試ウイルスの精製を企てた。

さらに, この精製ウイルスの補体結合反応原性を究めた。以下に, その結果を要約して, 述べる。

1. カオリン粒子に, ウイルスを吸着させるときの pH が 5.0, 解離時の pH が 7.2 では, 精製抗原が最も高い抗原性を示した。

2. ベントナイト粒子に, ウイルスを吸着させるときの pH 4.5, 解離時の pH が 7.2 で, 精製抗原が最も高い抗原性を示した。

V 結 語

人型三谷株ウイルスを, Chlorpromazine により, 前処置した天竺鼠の腹腔に接種し, えた腹水ウイルスを, カオリンとベントナイト粒子に吸着させ, 次いで解離させることにより純化ウイルスをえ, これを抗原とする補体結合反応を行つた結果を, 以下に, 要約して, 述べる。

1. カオリン粒子を供する, 吸着・解離法によるウイルスの精製には, 吸着時の pH が 5.0, 解離時の pH が 7.2 のときが, 純化ウイルスが, 最も多くえられる。

2. カオリン粒子による精製ウイルスには, 優れた補体結合反応原性を示す。

3. ベントナイト粒子による吸着・解離法による, ウイルスの精製には, 吸着時の pH が 4.5, 解離時の pH が 7.2 のときに, 純化ウイルスが最も多くえられる。

4. ベントナイト粒子による精製ウイルスは, 優れた, 補体結合反応原性を示す。

終りに, 御指導と御校閲を賜つた村上教授並びに御鞭撻と御支援を戴いた香川県衛生研究所長浜田博士に謝意を表します。

文 献

1) 緒方規雄: 恙虫病ウイルスの性状に関する新知見補遺, 東京医事新誌, 2581, 昭 3。

2) 長与又郎他: 実験医学雑誌, XIV, 5, 昭 5。

3) 浜田豊博: 第 1 回発疹チフス研究会議, 昭 19。

- 4) 折橋秋子 岡山医学会雑誌, 39巻, 6号, 昭32.
- 5) 浜田豊博: 所謂馬宿病に関する調査と研究の経過について, 香川県衛研報, 第15号, 昭29.
- 6) 軒原進・馬宿病に関する研究, 第1編, 岡山医学会雑誌, 第716号, 昭30.
- 7) 緒方規雄: *Rickettsia*, 総合医学新書, No. 18, 1951.
- 8) Cox, H. R.: Pub. Health. Rep., 53, 224—2247.
- 9) Craigie, J.: Canad. J. Rese. Research, Sect. E., 24, 84—103, 1946.
- 10) Bengtson, I. A.: Pub. Health. Rep., 61, 1379—1385, 1946.
- 11) Bengtson, I. A.: Pub. Health. Rep., 59, 402—405, 1944.
- 12) Topping, N. H. & Shepard, C. C.: Pub. Health. Rep., 61, 701—707, 1946.
- 13) Topping, N. H. & Schepard, C. C.: Pub. Health. Rep., 61, 778—781, 1946.
- 14) Plotz, H., Bennet, B. L. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 61, 313—317, 1946.
- 15) Cox-Walf, D. M., Van der Scheer, J., Claucy, C. F. & Cox, H. R.: J. Bact. 51, 247, 255, 1954.
- 16) 河野二郎: 香川県衛生研究報, 第37号, 昭32.
- 17) 福住定吉: 恙虫ワクチンの精製と其効力試験, *Virus*, 6巻, 3号, 261, 昭31.
- 18) 福住定吉: 恙虫病ワクチンの研究, (1)紫外線照射不活化ワクチン, 東京医事新誌, 73巻, 10号, 573, 昭31.
- 19) 福住定吉: 恙虫病ワクチンの研究, (2)東京医事新誌, 73巻, 10号, 昭31.
- 20) 吉本盛昭他: *Rickettia Prowazeki* の精製に関する研究, *Virus*, 6巻, 3号, 263, 昭31.

Studies on *Rickettsia tsutsugamushi*

I: Experiments on the Purification of *Rickettsia tsutsugamushi*

By

Yuzuru Ohnishi

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director: Professor Dr. Sakae Murakami)

In the present experiments, Mitani and Tanizawa strains, which had been isolated in Kagawa Prefecture, were used. *Rickettsiae* of each strain were purified with kaolin and bentonite. The results were as follows:

1) In the purification of rickettsiae with kaolin, the adsorption on kaolin at pH 5.0 and the dissociation at pH 7.2 gave the purified rickettsiae in the largest quantity, and thus purified rickettsiae showed a high antigenicity in the complement fixation test.

2) In the purification with bentonite, the adsorption at pH 4.5 and the dissociation at pH 7.2 gave the purified rickettsiae in the richest amount, and the purified rickettsiae thus obtained showed a high antigenicity in the complement fixation test.