

## 恙虫病ウイルスに関する研究

## 第 2 編

## 精製恙虫病ウイルスの抗原性の実験

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

Cox (1938) は, *Rickettsia prowazeki* (Rp と略記する) よりワクチンを造り, Craigie (1946) は, エーテル処理法を考案し R の増殖と, R 浮游液の純化に成功した。

Otto・Dietlich (1917) 等が発疹チフス患者血清が Rp を特異的に凝集することを発見して以来, 諸家によつて試みられ, Krubowski (1923) は Rp の凝集反応が, Weil-Felix 反応よりも早期に, 著明に現われるとしたが, 抗原を多量に獲得することに困難があつた。

河野 (昭10) は, 虱体内に増殖せしめた R により, 患者血清, または, *Proteus* 菌家兔抗血清との間に, 凝集反応の発現させることをみているが, これも, 多量の R 抗原が得られず, 実用化するには至らない。

一方, 恙虫病ウイルスの分離では, Cox-Wolf (1954) 等は, 卵黄嚢内に増殖したウイルスを, エーテルで処理し, 補体結合反応の抗原とした。

牧角 (1952)・柳沢 (1953) は感染廿日鼠の腹腔液を, 凍結融解・超高速遠心などの処理をほどこすことにより, 抗原をえ, 補体結合反応に成功したという。河野 (1956) は, Chlorpromazine をもつて前処置した天竺鼠の腹腔内に, 恙虫ウイルスを接種し, 濃厚ウイルスを獲得し, これを抗原とする補体結合反応に成功した。

しかしながら, 先人の補体結合反応の研究は, いずれも, R と組織成分の混合抗原であり, 純粋化された R 自体の, 本質的な補体結合性抗原としての性質は, 吟味されていない。

Nicolle (1893) は, 腸チフス菌の浸出液に顆粒状物を添加すれば, 浸出液中の抗原性物質は顆粒物に

吸着され, この吸着した顆粒物に, 抗血清を加えると, 顆粒状物は特異的に凝集することを報告した。

宮田 (1933) は, 塩化亜鉛により, 破傷風毒素の精製を行い, Saleman (1934) は, 天然痘の可溶性抗原を, コロチウムに吸着させ, また, 不破と水島 (1935) は, 天然痘ビールスにカオリンを加え, 凝集の発来を観察した。矢追 (1936) 等は, 病毒材料にカオリンを加え, 病毒の精製に成功した。

コロチウムを使用した研究では, Cannon & Marschall (1940), Eiasler (1941), Maris (1941), Le-well (1943), 佐藤 (1943), Cavelti (1943) 等の業績があり, Suessenguth & Klein (1944) は旋毛虫体抗原をコレステリンに吸着させ, Bozicevich (1951) は, この抗原をベントナイト粒子に吸着させ, 横川 (1956) は, 肺吸虫症の診断にまで, これを発展させた。

細谷 (1946, 1947) は, 明礬をチフテリア毒素の精製に使用し, Borily (1952) 等によるインフルエンザ・ビールス精製の業績がある。赤司 (1954) は, インフルエンザ・ビールスの精製に, イオン交換樹脂, カオリン, 粘土等の吸着剤を供し, 吸着誘出法を行い, 赤司 (1955) は塩化亜鉛・明礬・プロタミンサルフェート等による沈澱誘出法を報告している。

その他, ビールス精製に関しては, 平野 (1936) は, 等電点法による牛痘ビールスの精製を行い, ビールスの損失が比較的少いと報じ, Chamber (1941) 等は, プロタミンサルフェートによるインフルエンザ・ビールスの精製について報告した。Warren (1949) は, プロタミンサルフェートの各種ビールスに対する態度を詳細に検討し, Weil と Warren (1952) 等は, Encephalomyelitis ビールスの精製にプロタミンサルフェートを用いている。中川 (1953) は, デング熱ビールスの精製に, プロタミンサルフ

エート沈澱法を紹介している。

Cox (1950), 福見 (1952) 等により新しく報告されたメタノール沈澱法がある。

さらに、福住 (1956) 等は、孵化鶏卵に培養した恙虫病Rを材料とし、エーテル・メタノール法でワクチンの精製に成功し、吉本 (1956) 等は、Rpの精製に、各種吸着剤による吸着、並にメタノール沈澱法を応用し、補体結合反応価が高く現われたと報告した。

著者は、今までの恙虫病ウイルスの血清学免疫学的研究が、組織成分を伴うRについて行われているのに鑑み、R自体の本質的抗原性を知るべく、Rの純化に工夫を加え、その経過を第1編として、詳しく述べた。さらに、純化Rの補体結合反応性抗原としての性質を究め、重要な結果をう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

**伊試病毒** 村上・浜田・軒原等 (昭28・29) によつて分離された人系病毒である谷沢株、並びに三谷株、既知標準病毒株である、大関株・七島 (大沢) 株、の4株の病毒を実験に供した。

#### 補体結合反応

1. **精製抗原** 三谷株・谷沢株・大関株・七島株病毒を、次の方法で精製し、これを抗原とした。すなわち、天竺鼠の腹腔内に、病毒を接種して得た腹水を、N/15 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> で、10倍にうすめ、カオリンを、それぞれ、1%の割に加え、pHを5.0に補正し、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、蒸留水で洗滌してえた沈澱に、等量の N/100 NaON を加え、10分間、室温で、充分に攪拌誘出し、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7.2に補正し、さらに、3000 rpm、5分間、遠心して得た上清を、この実験に供した。

2. **抗血清** 三谷株・谷沢株・大関株・七島株病毒によつて免疫した家兎抗血清を、この実験に供した。

抗原の使用量の測定に当つては、溶血素3単位、補体2単位を供し、抗原と抗血清を順次倍率稀釈し、交叉的に起る補体結合を観察し、75—100%の補体結合を示す最高稀釈の血清を抗体の1単位と見做し、この4単位の抗体に相当する血清の稀釈のところにおいて、抗原が75—100%の補体結合を示すところを以て、抗原の1単位と見做し、その2単位を本

試験に供した。

本試験は、河野 (昭32) の術式に従つ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、反応の終末点を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

精製病毒の反応原性の実験

#### 1) 三谷株病毒抗原の実験

精製三谷株病毒を抗原とし、抗精製三谷株病毒血清・抗精製谷沢株病毒血清・抗精製大関株病毒血清・抗精製七島株病毒血清について、補体結合反応をみた。

精製三谷株病毒抗原を供し、抗精製三谷株病毒血清について行つた補体結合反応の結果を、表1に示

表1 三谷株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応				
	株	稀釈	I	II	III	IV	V
三谷株病毒	抗三谷株病毒	20	4	4	4	4	4
		40	4	4	4	4	3
		80	3	3	4	3	3
		160	3	3	2	3	3
		320	1	2	2	1	0
		640	0	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	0	

した。

すなわち、実験のIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320稀釈では、25%溶血抑制を示した。

実験のIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320稀釈では、50%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈で、100%溶血抑制を示し、1:160・1:320稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、

100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈では、75%溶血抑制を、1:320稀釈では、25%溶血抑制を示した。

実験のVでは、抗血清の1:20稀釈では、100%溶血抑制を、1:40・1:160稀釈では、75%溶血抑制を示した。

すなわち、抗精製三谷株病血清に対しては、血清の1:160稀釈にまで、有意の溶血抑制が見られる。

精製三谷株病抗原を供し、抗精製谷沢株病血清について行つた補体結合反応の結果を、表2に示した。

表2 三谷株病ウイルス抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応				
	株	稀釈	I	II	III	IV	V
三谷株病ウイルス	抗谷沢株病ウイルス	20	3	3	4	3	4
		40	3	3	3	0	3
		80	2	1	2	0	2
		160	1	1	0	0	0
		320	0	0	0	0	0
		640	0	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	0	

すなわち、実験のIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、50%溶血抑制を、1:160稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20稀釈で、75%溶血抑制を示した。

実験のVでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、50%溶血抑制を示した。

すなわち、精製三谷株病抗原は、抗谷沢株病血清の1:40稀釈にまで有意の溶血抑制を示すにすぎない。

精製三谷株病抗原を供し、抗精製大関株病血清について行つた補体結合反応の結果を、表3に示した。

すなわち、実験のIにおいては、抗血清の1:20

表3 三谷株病ウイルス抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応				
	株	稀釈	I	II	III	IV	V
三谷株病ウイルス	抗大関株病ウイルス	20	4	4	4	4	4
		40	3	4	4	4	4
		80	3	4	3	4	3
		160	3	3	2	3	3
		320	2	3	2	3	1
		640	0	2	1	0	1
	対照	0	0	0	0	0	

稀釈で、100%溶血抑制を、1:40・1:80・1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のIIでは、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈で、100%溶血抑制を、1:160・1:320稀釈で、75%溶血抑制を、1:640稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20、1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80稀釈では、75%溶血抑制を、1:160・1:320稀釈で、50%溶血抑制を、1:640稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈では、100%溶血抑制を、1:160・1:320稀釈で、75%溶血抑制を示した。

実験のVでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320・1:640稀釈で、25%溶血抑制を示した。

すなわち、精製三谷株病抗原は、抗大関株病血清の、1:160稀釈にまで、有意の溶血抑制を示す。

精製三谷株病抗原を供し、抗精製七島株病血清について行つた補体結合反応の結果を、表4に示

表4 三谷株病ウイルス抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応				
	株	稀釈	I	II	III	IV	V
三谷株病ウイルス	抗七島株病ウイルス	20	4	4	3	3	4
		40	3	2	3	3	3
		80	1	2	2	1	0
		160	1	1	0	0	0
		320	1	0	0	0	0
		640	1	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	0	

した。

すなわち、実験のIにおいては、抗血清の1:20稀釈では、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、50%溶血抑制を、1:80・1:160・1:320・1:640稀釈では、25%溶血抑制を示した。

実験のIIにおいては、抗血清の1:20稀釈では、100%溶血抑制を、1:40・1:80稀釈では、50%溶血抑制を、1:160稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈では、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のIVにおいては、抗血清の1:20・1:40稀釈では75%溶血抑制を、1:80稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のVにおいては、抗血清の1:20稀釈では、100%溶血抑制を、1:40稀釈では、75%溶血抑制を示した。

すなわち、精製三谷株病毒抗原を供し、抗七島株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制を示したにすぎない。

## 2) 谷沢株病毒抗原の実験

精製谷沢株病毒を抗原とし、抗精製三谷株病毒血清・抗精製谷沢株病毒血清・抗精製大関株病毒血清・抗精製七島株病毒血清を供し、補体結合反応をみた。

精製谷沢株病毒抗原を供し、抗精製三谷株病毒血清について行つた補体結合反応の結果を、表5に示した。

表5 谷沢株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応				
	株	稀釈	I	II	III	IV	V
谷 沢 株 病 毒	抗 三 谷 株 病 毒	20	3	3	4	3	4
		40	2	3	2	3	3
		80	1	2	1	1	1
		160	0	2	1	0	1
		320	0	0	0	0	0
		640	0	0	0	0	0
	対 照	0	0	0	0	0	

すなわち、実験のIにおいては、抗血清の1:20稀釈では、75%溶血抑制を、1:40稀釈では、50%溶血抑制を、1:80稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIIにおいては、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、抗血清の1:80・1:160稀釈

で、50%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、50%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のVでは、抗血清の1:20稀釈では、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈では、25%溶血抑制を示した。

すなわち、精製谷沢株病毒抗原を供し、抗三谷株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制がみられる。

精製谷沢株病毒抗原を供し、抗精製谷沢株病毒血清について行つた補体結合反応の結果を、表6に示した。

表6 谷沢株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応				
	株	稀釈	I	II	III	IV	V
谷 沢 株 病 毒	抗 谷 沢 株 病 毒	20	4	4	4	4	4
		40	4	4	4	4	4
		80	4	3	4	3	4
		160	3	3	3	3	3
		320	1	3	1	2	1
		640	1	2	0	2	1
	対 照	0	0	0	0	0	

すなわち、実験のIにおいては、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈で、100%溶血抑制を、1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320・1:640稀釈では、25%溶血抑制を示した。

実験のIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160・1:320稀釈で、それぞれ、75%溶血抑制を、1:640稀釈で、50%溶血抑制を、抗血清の1:320稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈で、それぞれ、100%溶血抑制を、1:160稀釈では、75%溶血抑制を、1:320稀釈では、25%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、75%の溶血抑制を、1:320・1:640稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のVでは、抗血清の1:20・1:40・1:80稀

釈で、それぞれ、100%溶血抑制を、1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320・1:640稀釈で、25%溶血抑制を示した。

すなわち、精製谷沢株病毒抗原を供し、抗谷沢株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:160稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

精製谷沢株病毒抗原を供し、抗精製大関株病毒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 谷沢株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
谷沢株病毒	抗大関株病毒	20	4	3	3	4
		40	2	3	3	3
		80	2	1	2	1
		160	0	1	1	1
		320	0	0	1	0
		640	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	

すなわち、実験のIにおいては、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40・1:80稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、25%溶血抑制を示すにすぎない。

実験のIIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、50%溶血抑制を、1:160・1:320稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、25%溶血抑制を示した。

すなわち、精製谷沢株病毒抗原を供し、抗大関株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制をみたにすぎない。

精製谷沢株病毒抗原を供し、抗精製七島株病毒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、実験のIにおいては、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈で、100%溶血抑制を、1:160・1:320稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、75%溶血抑制を示した。

表8 谷沢株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応				
	株	稀釈	I	II	III	IV	V
谷沢株病毒	抗七島株病毒	20	4	4	4	4	4
		40	4	4	3	4	4
		80	4	3	3	3	3
		160	2	3	3	3	3
		320	2	1	2	1	3
		640	0	0	1	1	0
	対照	0	0	0	0	0	

血抑制を、1:320稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40・1:80・1:160稀釈で、それぞれ、75%溶血抑制を、1:320稀釈で、50%溶血抑制を、1:640稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320・1:640稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のVでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160・1:320稀釈で、それぞれ、75%溶血抑制を示した。

すなわち、精製谷沢株病毒抗原を供し、抗七島株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:160稀釈にまで、有意の溶血抑制を示した。

3) 大関株病毒抗原の実験

精製大関株病毒を抗原とし、抗精製三谷株病毒血清・抗精製谷沢株病毒血清・抗精製大関株病毒血清・抗精製七島株病毒血清について、補体結合反応をみた。

精製大関株病毒抗原を供し、抗精製三谷株病毒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。

表9 大関株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
大関株病毒	抗三谷株病毒	20	4	4	4	4
		40	4	4	3	4
		80	4	3	3	3
		160	3	3	3	3
		320	1	3	3	2
		640	1	0	2	0
	対照	0	0	0	0	

した。

すなわち、実験の I においては、抗血清の 1:20・1:40・1:80 稀釈で、それぞれ、100% 溶血抑制を、1:160 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:320・1:640 稀釈で、25% 溶血抑制を示した。

実験の II では、抗血清の 1:20・1:40 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:80・1:160・1:320 稀釈では、それぞれ、75% 溶血抑制を示した。

実験の III では、抗血清の 1:20 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:40・1:80・1:160・1:320 稀釈では、それぞれ、75% の溶血抑制を、1:640 稀釈で、50% 溶血抑制を示した。

実験の IV では、抗血清の 1:20・1:40 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:80・1:160 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:320 稀釈では、50% 溶血抑制を示した。

すなわち、精製大関株病毒抗原を併し、抗三谷株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の 1:160 稀釈にまで、有意の溶血抑制を示した。

精製大関株病毒を抗原に併し、抗精製谷沢株病毒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。

表 10 大関株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
大 関 株 病 毒	抗 谷 沢 株 病 毒	20	3	4	4	4
		40	3	2	3	2
		80	1	1	3	2
		160	1	0	2	1
		320	0	0	0	0
		640	0	0	0	0
	対 照	0	0	0	0	

すなわち、実験の I においては、抗血清の 1:20・1:40 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:80・1:160 稀釈で、25% 溶血抑制を示すにすぎない。

実験の II では、抗血清の 1:20 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:40 稀釈で、50% 溶血抑制を、1:80 稀釈では、25% 溶血抑制を示した。

実験の III では、抗血清の 1:20 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:40・1:80 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:160 稀釈で、50% の溶血抑制を示した。

実験の IV では、抗血清の 1:20 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:40・1:80 稀釈では、50% 溶血抑制を、1:160 稀釈では、25% 溶血抑制を示した。

すなわち、精製大関株病毒抗原を併し、抗谷沢株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の 1:40 稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

精製大関株病毒を抗原に併し、抗精製大関株病毒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 大関株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
大 関 株 病 毒	抗 大 関 株 病 毒	20	4	4	4	4
		40	4	4	3	4
		80	4	3	3	3
		160	3	3	3	3
		320	1	2	2	3
		640	1	0	1	0
	対 照	0	0	0	0	

すなわち、実験の I においては、抗血清の 1:20・1:40・1:80 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:160 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:320・1:640 稀釈で 25% 溶血抑制を示した。

実験の II では、抗血清の 1:20・1:40 稀釈で 100% 溶血抑制を、1:80・1:160 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:320 稀釈で、50% 溶血抑制を示した。

実験の III では、抗血清の 1:20 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:40・1:80・1:160 稀釈では、それぞれ、75% 溶血抑制を、1:320 稀釈で、50% 溶血抑制を、1:640 稀釈で、25% 溶血抑制を示した。

実験の IV では、抗血清の 1:20・1:40 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:80・1:160・1:320 稀釈では、それぞれ、75% の溶血抑制を示した。

すなわち、精製大関株病毒抗原を併し、抗大関株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の 1:160 稀釈にまで、有意の溶血抑制を示した。

精製大関株病毒を抗原に併し、抗精製七島株病毒血清について行つた補体結合反応の結果を、表 12 に示した。

すなわち、実験の I では、抗血清の 1:20 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:40・1:80 稀釈で、50% 溶血抑制を、1:160 稀釈で、25% 溶血抑制を示した。

実験の II では、抗血清の 1:20 稀釈で、100% 溶血抑制を、1:40 稀釈で、75% 溶血抑制を、1:80・1:160・1:320 稀釈では、25% 溶血抑制を示すにす

表12 大関株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
大関株病毒	抗七島株病毒	20	3	4	4	3
		40	2	3	3	3
		80	2	1	2	1
		160	1	1	2	0
		320	0	1	0	0
		640	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	

ぎない。

実験のⅢでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のⅣでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、25%溶血抑制を示すにすぎない。

すなわち、精製大関株病毒抗原を供し、抗精製七島株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

4) 七島株病毒抗原の実験

精製七島株病毒を抗原とし、抗精製三谷株病毒血清・抗精製谷沢株病毒血清・抗精製大関株病毒血清・抗精製七島株病毒血清について、補体結合反応をみた。

精製七島株病毒抗原を供し、抗精製三谷株病毒血清について行つた補体結合反応の結果を、表13に示した。

表13 七島株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
七島株病毒	抗三谷株病毒	20	3	4	3	3
		40	3	2	3	2
		80	1	2	2	2
		160	1	1	1	2
		320	0	1	0	0
		640	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	

すなわち、実験のⅠにおいては、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、25%溶血抑制を示すにすぎない。

実験のⅡでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40・1:80稀釈で、50%溶血抑制を、1:160・1:320稀釈で、25%溶血抑制を示すにすぎない。

実験のⅢでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈で、50%溶血抑制を、1:160稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のⅣでは、抗血清の1:20稀釈で、75%溶血抑制を、1:40・1:80・1:160稀釈では、それぞれ、50%溶血抑制を示した。

すなわち、精製七島株病毒抗原を供し、抗三谷株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

精製七島株病毒抗原を供し、抗谷沢株病毒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。

表14 七島株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
七島株病毒	抗谷沢株病毒	20	4	4	4	4
		40	4	3	4	4
		80	3	3	3	4
		160	3	3	2	3
		320	1	2	0	3
		640	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	

すなわち、実験のⅠにおいては、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、75%溶血抑制を、1:320稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のⅡでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40・1:80・1:160稀釈では、それぞれ、75%溶血抑制を、1:320稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のⅢでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80稀釈では、75%溶血抑制を、1:160稀釈で、50%溶血抑制を示した。

実験のⅣでは、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈で、それぞれ、100%溶血抑制を、1:160・1:320稀釈で、75%溶血抑制を示した。

すなわち、精製七島株病毒抗原を供し、抗谷沢株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:160稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

精製七島株病毒抗原を供し、抗精製大関株病毒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 七島株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
七島株病毒	抗大関株病毒	20	3	4	3	3
		40	2	3	3	2
		80	1	2	0	2
		160	1	0	0	1
		320	0	0	0	0
		640	0	0	0	0
	対照	0	0	0	0	

すなわち、実験のIでは、抗血清の1:20稀釈で、75%溶血抑制を、1:40稀釈で、50%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈で、25%溶血抑制を示すにすぎない。

実験のIIでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、1:40稀釈で、75%溶血抑制を、1:80稀釈では、50%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、75%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20稀釈で、75%溶血抑制を、1:40・1:80稀釈では、50%溶血抑制を、1:160稀釈で、25%溶血抑制を示すにすぎない。

すなわち、精製七島株病毒抗原を供し、抗大関株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

精製七島株病毒抗原に供し、抗精製七島株病毒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。

表16 七島株病毒抗原の反応原性

抗原	抗血清		補体結合反応			
	株	稀釈	I	II	III	IV
七島株病毒	抗七島株病毒	20	4	4	4	4
		40	4	4	3	4
		80	3	4	3	3
		160	3	3	3	3
		320	2	1	3	2
		640	0	1	0	0
	対照	0	0	0	0	

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

実験のIIでは、抗血清の1:20・1:40・1:80稀釈で、それぞれ、100%溶血抑制を、1:160稀釈では、75%溶血抑制を、1:320・1:640稀釈で、25%溶血抑制を示した。

実験のIIIでは、抗血清の1:20稀釈で、100%溶血抑制を、抗血清の1:40・1:80・1:160・1:320稀釈で、それぞれ、75%溶血抑制を示した。

実験のIVでは、抗血清の1:20・1:40稀釈で、100%溶血抑制を、1:80・1:160稀釈では、75%溶血抑制を、1:320稀釈で、50%溶血抑制を示した。

すなわち、精製七島株病毒抗原を供し、抗七島株病毒血清について行つた補体結合反応では、血清の1:160稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

## 考 察

恙虫病病毒の血清学・免疫学的研究において、R自体の本質的抗原性を知るため、Rの純化に関する実験について、第1編に詳しく述べた。

著者は、第1編に述べたカオリンを使用し、精製した恙虫病病毒について、交叉的に補体結合反応原性を究めた、その結果を、以下に、要約して述べる。

1. 精製三谷株病毒を抗原とする、補体結合反応では、抗精製三谷株病毒血清については、血清の1:160稀釈まで、有意の溶血抑制をみ、抗谷沢株・抗七島株血清については、1:40稀釈まで、有意の溶血抑制をみ、抗大関株血清については、1:160稀釈まで、有意の溶血抑制をみた。

2. 精製谷沢株病毒を抗原とする補体結合反応では、抗三谷株病毒血清・抗大関株病毒血清については、1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制を示し、抗谷沢株病毒血清については、1:320稀釈にまで、抗七島株病毒血清については、1:160稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

3. 精製大関株病毒を抗原とする補体結合反応では、抗三谷株病毒血清については、1:320稀釈にまで、有意の溶血抑制を、抗谷沢株病毒血清については、1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制をみるにすぎないが、抗大関株病毒血清については、1:160稀釈にまで有意の溶血抑制をみ、抗七島株病毒血清については、1:40稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

4. 精製七島株病毒を抗原とする補体結合反応では、抗三谷株病毒血清については、1:40 稀釈にまで、有意の溶血抑制を、抗谷沢株病毒血清については、1:160 稀釈にまで、有意の溶血抑制を、抗大関株病毒血清については、1:40 稀釈にまで、有意の溶血抑制を、抗七島株病毒血清については、1:160 稀釈にまで、有意の溶血抑制をみた。

### 結 語

カオリンによる、精製病毒の反応原性を、補体結合反応によつて、吟味し、その結果を、以下に、要約して述べる。

1. 精製三谷株病毒は、抗三谷株病毒血清・抗大関株病毒血清との間に著しい補体結合を示す。

2. 精製谷沢株病毒は、抗谷沢株病毒血清・抗七島株病毒血清との間に、著しい補体結合を示す。

3. 精製大関株病毒は、抗三谷株病毒血清・抗大関株病毒血清との間に著しい補体結合を示す。

4. 精製七島株病毒は、抗七島株病毒血清・抗谷沢株病毒血清との間に、著しい補体結合を示す。

5. すなわち、精製病毒を抗原とする補体結合反応では、当該病毒株の抗血清について行つたときに、異型病毒株の抗血清を供するときよりも、血清の高次稀釈にまで、有意の溶血抑制がみられる。

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) Cox (1938) Cox, H. R.: Pub. Health. Rep., 53, 2241—2247.
- 2) Craigie, J.: Canada J. Research, Sect. E., 23, 84—103, 1946.
- 3) Otto R. u. Dietlich, A.: Deut. Med. Weschr. 43, 577—580, 1917.
- 4) 河野: 東京医事新誌, 2923, 825, 昭10年(1935)
- 5) 河野: 日本医学及び健康保険, 3298, 1892, 昭17.
- 6) Walf, D.M., Van der Scheer, J., Claucy, C. F. & Cox, H. R.: J. Bact. 51, 247, 255, 1954.
- 7) 牧角: 日本細菌学雑誌, 8巻, 8号, 885 (1952, 昭28)
- 8) 柳沢, 龜山: 日本内科学会雑誌, 42巻, 11号 (1953, 昭29)
- 9) 河野・香川県衛生研究報, 第37号 (1955)
- 10) 宮田 細菌学雑誌, No. 447, 557, 1933.
- 11) Saleman, M. H.: Brit. J. Exp. Path. 15, 381—1934.
- 12) 不破及び水島: 北海道医学雑誌, 47, 1437, 1935.
- 13) 矢追, 笠井: Jap. J. Exp. Med., 7, 243, 1929, Jap. Exp. Med., 14, 311, 1936.
- 14) Cannon, P. R. & Marschall, C. E., J. Immunol, 38, 365, 1940.
- 15) Eisler, D. M.: J. Immunol, 42, 405, 1941.
- 16) Moris, R. P.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 50, 172, 1941.
- 17) Lewell, F. C.: J. Immunol, 46, 177, 1943.
- 18) 佐藤 血清学免疫学雑誌, 4, 365, 1943.
- 19) Cavelti, P. A.: J. Imm., 49, 365, 1943.
- 20) Suessenguth, H. & Kline, B. S.: Amer. J. Clini. Path. 14, 471—484, 1944.
- 21) Bozicevich, J. et al.: Publi. Health. Rep., 66, 25, 806—814, 1951.
- 22) 横川 診断と治療, 44巻, 4号, 1956.
- 23) 細谷 新生医学全書, 1947.
- 24) 細谷: 日本医学, No. 3405, 557, 1933.
- 25) Borily, H. C., Corey, M. and Eaton, M. D.: Precipitation and concentration of Influenzarivirus, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., Vol. 52, 165, 143.
- 26) 赤司 ウイルス, Vol. 4, 122, 1954.
- 27) 赤司 ウイルス, Vol. 5, 89, 1955.
- 28) 平野: 日新医学, Vol. 25, 896, 1936.
- 29) 平野: 東京医事新誌, No. 2981, 1369, 1936.
- 30) Chamber, L. A. and Henle, W.: Precipitation of active influenza virus from extra embryonic fluid by protamin, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., Vol. 48, 481, 1941.
- 31) Warren, J., Weil, M. L., Russ, S. B. and Jiffries, H.: Partial purification of certain viruses by use of protamin sulfate, Pvo. Soc. Exp. Biol. and Med., Vol. 72, 662, 1949.

- 32) Weil, M. L., Warren, J.: Separation of encephalo myelitis virus Tissue component by means of protamin precipitation and enzymic digestion, *J. Bact.* Vol. 63, 99, 1952.
- 33) 中川: ウイルス, Vol. 3, 6, 1953.
- 34) 中川: 四国医学雑誌, Vol. 4, 49, 1953.
- 35) Cox, H. R., Van Scheer, I., Aiston, S. and Bohnel, E.: The purification and concentration of influenza virus by means of alcohol precipitation, *I. Imm.*, Vol. 56, 149, 1947.
- 36) Gollan, F.: Purification of the MM poliomyelitis virus, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, Vol. 67, 364, 1948.
- 37) Brumfield, H. P., Stulberg, C. S. and Haluerson, H. O.: Purification of mouse poliomyelitis virus by methanol precipitation at low temperatures, *Proc. Soc. Biol. and Med.*, Vol. 67, 364, 1948.
- 38) 矢追: 綜合医学, Vol. 10, 841, 1953.
- 39) Mayer, A. W., Scharpless, G. R., Davis, M. C., Winfield, K. and Cox, H. R.: Methanol precipitation of influenza virus, *Science*, 112, 459—460, 1950.
- 40) 福見: Influenza virus の methanol 沈澱法に関する二三の知見, 臨床, Vol. 5, 295, 1952.

---

## Studies on *Rickettsia tsutsugamushi*

### II: Experiments on the Antigenic Properties of Purified *Rickettsiae*

By

Yuzuru Ohnishi

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

In the present experiments, Mitani, Tanizawa, Ohzeki and Shichito strains of *Rickettsia tsutsugamushi* were used. *Rickettsiae* of each strain were purified with kaolin, and their antigenic properties in the complement fixation test were investigated in detail. The results were as follows:

- 1) In the complement fixation test between the purified rickettsiae of Mitani strain and the antiserum of Mitani or Ohzeki strain, marked complement fixation was observed.
- 2) In the complement fixation test between the purified rickettsiae of Tanizawa strain and the antiserum of Tanizawa or Shichito strain, complement fixation was observed to a high degree.
- 3) The purified rickettsiae of Ohzeki strain showed marked complement fixation in the antiserum of Ohzeki or Mitani strain.
- 4) The purified rickettsiae of Shichito strain showed a high degree of complement fixation in the antiserum of Shichito or Tanizawa strain.

Namely, when purified rickettsiae were used as the antigen of the complement fixation test, a significant inhibition of hemolysis was observed to a higher dilution of the antiserum of the homologous strain than that of the heterologous strain.

---