

フォーカス法で測定した種痘に対する中和抗体反応

北 村 敬 (予研)
新 城 長 重 (琉球衛研)

種痘に於ける中和抗体反応を、培養細胞を用いて測定した報告は、HeLa細胞のTube培養上のCPEの抑制 (Falchetti & Merieux, 1958)、猿腎細胞上のブラック減少 (Cutchins et al, 1960)、HeLa細胞上のブラック減少 (Kitamura et al, 1964) 等があるが、何れも攻撃ウイルスとしてワクチニアウイルスが用いられているもので、Variolaウイルスに対する中和抗体を直接測定した報告はない。演者は1965年度の総会においてHeLa細胞上のフォーカス形成に依りVariolaウイルスを、他ウイルスのブラック法に相当する精度で測定する法報告したが、この方法を用いて中和抗体測定法を確立し、これに依り再種痘に於ける中和抗体反応とワクチンの力価、局所反応との関係を解析したので報告する。

I 中和抗体測定法の確立： 攻撃ウイルスとしてはVariolaウイルスHarvey株、漿尿膜継代2代目を用い、HaLa細胞はこれ迄報告した研究と同じ当室内HL株を用いた。血清及びウイルス材料の希釈はPBS (+) (PH 7.6)とHanks BSSの等量混合物を用いた。血清は予め56°C 30分間加熱処理し、これの4倍階段希釈1.0mlに、1200~2000 ffu/mlに希釈したウイルス材料等容を混合して、37°Cに1時間、次いで4°Cに1晩保つ。細胞は経4.5cmのシャーレで37°CのCO₂フラン器に培養し、ウイルス-血清混合物0.5mlづつを接種し、37°C、2時間吸着させた後、維持液3mlを加える。37°Cで5日間培養後にフォーカスを1:12,000のNeutral redで染めて算定する。各血清希釈2枚づつのシャーレ上のフォーカス数を、同一希釈率の正常兔血清と反応させた対照群上の数と比較してパーセント中和率を算出した。高度免疫兔血清、種痘善感人血清共に、血清の対数希釈率と中和率は、平行なS字状曲線を描き、中央直線部の50%中和を示す希釈率 (ND₅₀) でその中和力価を比較することが出来た。攻撃ウイルス量に対し、同一血清で得られる力価は、対照シャーレ上のフォーカス数が300~700の範囲内で殆ど一定で、有意の変動を示さなかった。又、同一血清を、同一ロットの攻毒ウイルス材料で毎週反復して測定した結果も、有意の差がなく、測定結果の再現性は高かった。以下の実験材料の測定に当っては、対照シャーレで400フォーカス近辺のウイルス量を用いた。

II 接種実験： 19~20才の学生約100名を4グループに分け、国家検定に合格した痘苗を100

倍階段希釈した材料の種類一つで、多圧法に依り種痘を行った。無希釈材料の力価は約 $10^{8.0}$ PFU/mlであった。接種直前及び6週間後の2回採血し、その間の中和抗体の上昇を測定した。接種局所の反応は接種後7日目に測定し、 $8 \times 8 \text{ mm}$ 以上の発赤と、水疱又は膿疱を有する者を善感(+)、 $8 \times 8 \text{ mm}$ 以上の発赤のみで水疱、膿疱を欠くものを疑善感(±)、それ以下を不善感と判定した。測定結果を要約すると以下の表になる。

(表 1) 痘苗力価と抗体上昇

ワクチン 希 釈	力 価 (PFU/ml)	人 数	善感率	平均ND ₅₀ 価		上 昇 比 (後/前)
				接種前	接種後	
10^0	$10^{8.0}$	26	38.5	15.4	62.4	4.05
10^1	$10^{7.0}$	32	21.9	14.9	48.4	3.24
10^2	$10^{6.0}$	31	9.7	15.6	44.5	2.85
10^3	$10^{5.0}$	14	0	13.7	33.1	2.41

総平均 14.9

(表 2) 局所反応と抗体上昇

反 応	人 数	平均 ND ₅₀ 価		上 昇 比
		接 種 前	接 種 後	
+	20	15.9	72.8	4.57
±	23	18.7	50.4	2.78
-	57	18.0	40.3	2.25

(表 3) 局所反応と接種時中和抗体価

ワクチン 希 釈	反応群別接種時 平均中和抗体価		
	+	±	-
10^0	16.3 (10)	16.5 (13)	7.0 (2)
10^1	20.2 (7)	21.4 (7)	9.6 (17)
10^2	4.7 (3)	26.0 (2)	16.0 (25)
10^3	- (0)	1.0 (1)	14.7 (13)

(カッコ内数字は人数)

表1～表3の所見は次のように解釈される。

1) 中和抗体の上昇は力価の高いワクチン程著明である。2) 局所反応の強さと抗体上昇は併行する。3) 局所反応は、ワクチン力価が $10^{7.0}$ PFU/ml以上の場合、接種時、中和抗体のレベルと関係ない。しかし、それより低力価のワクチンでは、善感は、中和抗体価が低レベルである事を表す。即ち善感不善感を以て免疫度を推定する事は、限界的な力価の痘苗を用いて、規格化された手段で行う場合にのみ可能であろう。4) 不善感群に於ても有意の抗体上昇が認められる事は注目に値する。これが再種痘特有の現象であるかどうかは、初期種痘児の調査を本法に依って行って決められるべきであろう。

沖縄における赤痢菌型の変遷について

(1965年～1969年)

大 城 孝 喜

近年、わが邦の赤痢患者から検出される赤痢菌が *Shigella Sonnei* の増加、*Sh. flexneri* の減少を示す傾向が厚生省による全国的な資料から大凡、うかがわれる。明治30年、志賀による赤痢菌発見当時の菌型は *Sh. dysenteriae* がすべてであったが、明治36—41年には部分的な検査成績ではあるが3—9%と減少し、*Sh. flexneri* が主流を占めることとなったといわれる。小張の報告による駒込病院の成績でみると、*Sh. dysenteriae* は昭和20—21年は58.1%、21—22年は68%と再び主流となったが、以後急速に減少して、現在では散発的に報告されているにすぎない。

沖縄における赤痢菌型の分布と年次的変遷について、具志頭が報告しているが、それによると、1956年から1958年までの3ヶ月間の赤痢菌型を見ると、*Sh. flexneri* が流行の主流を成し、現在、主位を占めている *Sh. sonnei* は10%前後を占めてにすぎない。

沖縄で初めて赤痢菌を分離し、且つ、診断血清により菌型を明らかにすることが出来たのが、1954年だと云われ、それ以前の赤痢は臨床的に診断を下したもので、勿論、菌型は不明である。

著者は1965—1969年の5年間における沖縄本島の各保健所の試験室で分離、同定された赤痢菌について、保健所別の菌型分布及び年次的変遷について調査したので報告する。