



Title	鶏マラリアの免疫に関する研究
Author(s)	永井, 利承
Citation	長崎大学風土病研究所業績 4. p.1502-1508, 1955
Issue Date	1955-11-25
URL	http://hdl.handle.net/10069/4881
Right	

This document is downloaded at: 2020-10-22T08:37:50Z

鶏マラリアの免疫に関する研究

長崎大学風土病研究所病理部 (主任: 登倉登教授)

永 井 利 承
なが い さし つぐ

本編の概要に就いては、日本寄生虫学会第6回南日本支部大会(昭和28年10月22日、鹿児島)で講演発表した。

緒 言

鳥マラリアの免疫に関する研究は、DANILEWSKY (1890) が感染鳥の網内細胞に貪食機能の亢進を確め得たことに始まり、“重感染に対する抵抗”、“交叉免疫”、“再発”、“貪食機能亢進”、“抗体産生”等と感染免疫により生ずる自然免疫現象の観察を主体として進められて来ている。元来、感染免疫 (infection immunity) を本質とするものであるが、能働性並びに受働性の真正免疫の成立を証明しようと企てた幾多の実験も挙げられる。MOLDVAN (1912) は、鳥マラリア原虫に同種免疫血清を 37°C/1 時間作用させ、その感染阻止作用を期待したが、失敗に終わり、W. H. & L. G. TALIAFERRO (1929) も免疫血清投与が感染防止及び治療に何等効果を示さぬので、慢性感染鳥の体液中には免疫抗体の存在を認め得ないと判定した。然るに、SERGENT & CATNEI (1937) は、*Pl. relictum* の実験に於いて、或程度、陳旧感染鳥の血清の防禦作用を認め、使用血清量と宿主自体の防禦力との関係に就いて所見を得、此処に注目すべき体液説 (humoral theory) が強調されるに至った。HEGNER & ESKRIDGE (1938) は、*Pl. cathemerium* 感染鳥の急性期及び慢性期の乾燥血清を投与すると、“感作”現象によつて感染の増悪することを述べたが、HEGNER & DOBLER (1938) の報告に於いては、免疫乾燥血清及び肝臓乳剤の投与により、感染防止は認められないけれども、症候的並び

に病理的には幾分の軽減が見られる。MANWELL & GOLDSTEIN (1938) は、*Pl. circumflexum* を以つて実験し、感染前より感染鳥の血清を大量に連続投与して若干の効果を治め、W. H. & L. G. TALIAFERRO (1938) は、再度の研究の結果、最初否定した抗血清の効果を確め得た。また、最近に於いては、BECKER, SCHWINK, & BRODINE (1950) は、*Pl. lophuræ* の感染から恢復した家鴨の血清中に該原虫に対する抑制因子と防禦因子の存在を認め、その血清蛋白劃分の研究が試みられている。

一方、抗原投与による能働免疫に就いては、MULLIGAN (1933) の猿マラリアに於ける実験以来、幾多の失敗が重ねられたが、GINGRICH (1941) は、*Pl. cathemerium* を加熱又はフォルマリン殺菌して、それを静脈内に多量に注射して2日後検査した結果、防禦物の形跡を若干認めることができた。しかし、一般に言つて、マラリア原虫の免疫原効果の微弱なことは否めないで、他物質を添加し、所謂補助ワクチン (adjuvant vaccine) の形で用いられた実験の報告もある。JACOBS (1943) は、*Pl. lophuræ* 滅菌原虫と葡萄球菌毒素を混じて用い、それによつて原虫抗原性の増加する事を認め、FREUND et al (1945) は、*Pl. lophuræ* にパラフィン油と加熱結核菌を賦活剤として混ぜたワクチンを用い、同様の成績を得た。THOMSON (1947) は、

Pl. lophurae の免疫に関する実験を進め、接種法、注射部位、免疫持続期間等に就いて検討を試みた。

上に述べたように、鳥マラリア免疫の本態に就いては、感染免疫を主体とする他、能働性並びに受働性の真正免疫が多少は参与する

という報告はないのではないが、いずれも実験成績には微弱な結果しか認められない。著者は、鶏マラリア (Pl. gallinaceum) を用い、同様の実験を試みたが、上記の報告に優る成績は得られなかった。

実験材料及び方法

以下記述しようとする実験に共通な材料及び方法に就いては此処に一括して述べておく。

供試原虫： 鶏マラリア (Pl. gallinaceum) の1株。AFRICA (1940) がフィリピンで野雞から分離した株であつて、大阪帝国大学微生物病研究所、台北帝国大学熱帯医学研究所、台湾大学公共衛生研究所を経て昭和28年4月以来当所に保存されているものである。

実験動物： 実験Ⅰに於ては体重 150g 前後、実験Ⅱでは体重 80g 前後の白色レグホン雄雞を使用

した。

接種方法： 感染雞の血液を生理食塩水を以つて適宜に稀釈し、原虫数を実験Ⅰは (約 5×10^4) 実験Ⅱは (約 1×10^6) にし、それを胸筋内に接種した。

検査方法： 感染状況の消長は、Giemsa 染色血液薄層標本に於ける赤血球10,000に対する原虫数を毎日測定した成績によつて示されたが、効果の判定については、発病率、潜伏期の延長、原虫増殖最高値に至る時日の延長、転帰及び死亡率等を総合的に考慮した。

実験成績並びに考察

【實驗Ⅰ】： 免疫血清授与の実験

急性感染経過後約1ヶ月を経た大型雞を準備し、それに3週間の間隔で2回多量 (約 1×10^9) の同種原虫を静脈注射によつて再接種せしめ (いずれの場合も3~4日後には末梢血より原虫は消失した)、最終接種後3週間を経て、採血量の $\frac{1}{10}$ 容の0.38% 枸橼酸ソーダ生理食塩水を加えて凝固防止をなしつゝ頸静脈より採血し、5,000回転10分の遠心上清を

採り、免疫血清として氷室内に無菌的に保存して供試した。正常血清も健康の雞より同様に採取して対照に供した。

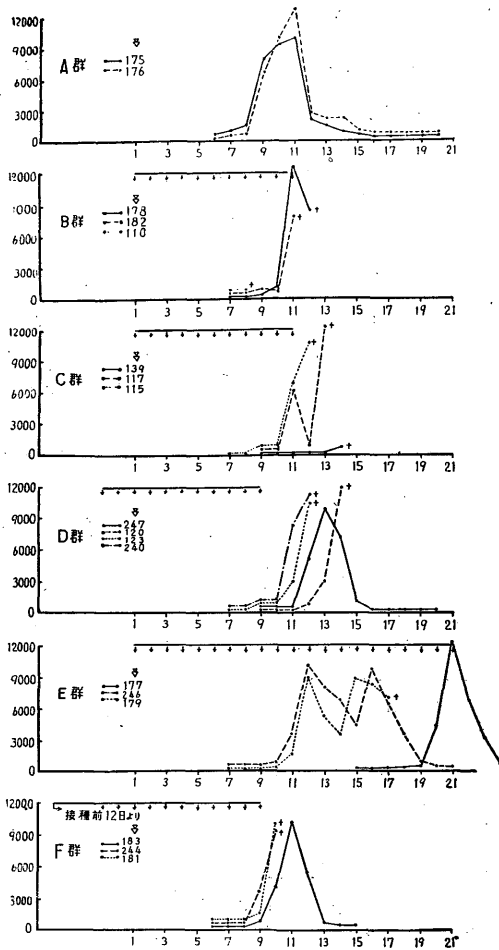
血清の授与は、静脈内注射により、体重100gに対して血清0.2ccを生理食塩水等量で稀釈し、接種後又は接種前から毎日連続して用いた (第1図及び第1表)。

A群は無処置対照であつて、全例潜伏期5日で、

第1表

実験群 (例数)	A (2)	B (3)	C (3)		D (4)		E (3)		F (3)
処置	無処置	正常血清 接種後 11日連用	免疫血清 接種後 11日連用	免疫血清 接種前2日 より接種後9 日まで連用	免疫血清 接種前2日 より接種後9 日まで連用	免疫血清 接種後 21日連用	免疫血清 接種後 21日連用	免疫血清 接種前12日 より接種後9 日まで連用	
潜伏期間(日) (例数)	5 (2)	6 (3)	6 (2)	8 (1)	6 (2)	8 (2)	6 (2)	12 (1)	5 (3)
血液感染極期の日 平均	11	11	12.5		13.3		14.3		10.3
発育拘束期間(日) 平均	8	10	11.3		11		13		8.7
転帰(生存)	2/2	0/3	0/3		1/4		2/3		1/3

第1図



十死亡の印 ↓ 免疫血清投与 ↗ 感染接種
 縦軸は赤血球10,000に対する原虫数 } を示す。
 横軸は血清投与及び接種日よりの日数

第11日には血液感染の極期に達し、赤血球10,000に対する原虫の数は10,000~13,000となつたが、其後急減して全例生存した。

B群は正常血清投与を接種と同時に開始して連日11日に及んだ対照であつて、全例潜伏期は6日で、無処置対照より1日遅れて原虫の出現を見たが、第11日には血液感染の極期に達して全例とも死の転帰を取つた。

C群は免疫血清を接種か11日に亘つて注射し、潜伏期は6~8日となつて幾分の遅延を見たが、全例3羽とも第12~14日の中に死亡した。

D群は接種2日前より免疫血清投与を開始したが、

4例中2例は潜伏期8日で、血染感染の極期に至る日数は平均13.3日で対照より2.3日遅延し、就中1例は生存した。

E群は免疫血清を接種と同時に21日間連用した。3例中の2例は、血液感染極期を2回経過し、中の1例は生存、他は死亡し、最後の1例は、14日の潜伏期と、第21日に極期を耐過して生存した。

F群は接種12日前よりE群と同様に注射したものであるが、全体として増悪の傾向があつて、全例とも無処置対照と同様5日の潜伏期で、血液感染極期に至る平均日数は第10.3日で対照より0.7日早かつた。

【考察】：血清療法の効果測定する場合には、抗体の質及び量、投与時期及び径路について考慮しなければならない。

抗体の質については、同種血清の利用が最良と思われ、BECKER (1950) のように血清劃分を分けて不要成分を除去する事が望ましいのであるが、著者の実験に於いては、COGGESHALL & KUMM (1938), REDMOND (1939), MANWELL (1939), TALIAFERRO (1940) の行つた如く、多量原虫の重感染を施して抗体価の上昇を図つた。

抗体の量に就いては、多過ぎてもしけないし、少過ぎてもしけないことは言うまでもない。投与の時期も考慮されねばならないであろう。SERGENT & CATNEI (1937) 以前の研究が失敗に終わったのは、投与血清量の不足に依るものと思われている。HEGNER & ESKRIDGE (1938) は、慢性感染鳥からの乾燥血清が同種の鳥に使用し、“感作”現象が起こつて感染の増悪を来たした事を述べてあるが、恐らく、投与量及び期間の選定を誤ると、“免疫”効果と反対の結果になるのかも知れない。著者の使用量は、TALIAFERRO (1940) の適量 0.2cc/100g に準じたのであるが、投与期間の長過ぎたために過量投与になつたと思われる2群に於いては、E群では血液感染極期が2回起こり、F群では無処置対照群に比して発育拘束期 (lag phase) の延長さえ認められなかつた。

投与の時期に就いては、接種前から始める場合、接種と同時に始める場合、発病後に始める場合と考えられるが、著者の実験に於ては、接種2日前より予防的に使用したD群を他群に比較すると、潜伏期及び拘束期 (lag phase) の延長という点で多少の効果があつたのではないと思われた。投与期間に就いて考えると、D群、E群を比較すれば、感染経過

中極期を過ぎるまで使用するのがよいということになる。

第1表の成績を検討すると、要するに、死亡率の点から見れば、無処置のA群が最も優れているのであつて、免疫血清の投与は無効であるばかりでなく有害であるように見えるのであるが、接種後血液感染の極期に至るまでの時日は確実に延長されているので、或程度、原虫発育阻止作用は認められる。しかし、正常血清を用いたB群の死亡率がA群のそれより断然劣る理由は、血清投与の方法に帰せられるのであつて、この点、HEGNER & ESKRIDGE (1938)の実験への興味を喚起される。畢竟、免疫血清そのものに就いては、予防、治療効果の存在を唱道する事も又否定も出来ない程の陰性結果であつたが、患鶏自身の持つ免疫体へ協力作用は有しているとは言えよう。

【実験II】：ワクチン接種の実験

供試ワクチンの構成は、主剤、補助剤、催炎剤より成る。主剤の成分は、死滅原虫浮游液であつて、感染極期鶏の血液塗抹標本の赤血球数に対する原虫数を概算し、その所要量に1/10容の0.35%枸橼酸ソーダ生理食塩水を加えて、凝固を防止しつつ採血、

2,000回転10分遠心して上清を除去し、生理食塩水を以つて2回遠心洗滌後、0.1%フォルマリン3容を加えて混和し、氷室に一夜静置して殺菌、次いで再び遠心洗滌した原虫感染血球より成る沈渣を倍量の生理食塩水に浮游せしめて作成した。なお、免疫原の効果を增強するために赤外型の存する肝臓の乳剤を加えたが、組織塗抹標本で赤外型の存在を認めた肝臓切片を生理食塩水を以つて乳様に磨砕し、脱脂綿で漏過した後、赤血球浮游液と同じ過程で処理して用いた。補助剤 (adjuvant) には鳥型結核菌を用いたが、Souton 培地に2週間培養された該菌を100°C/1時間滅菌後に遠心洗滌し、減圧乾燥して貯え、菜種白絞油を滴下しつつ乳鉢で研磨して懸濁剤として使つた。局所催炎剤としてカンフルチンキを用いたが、それは精製カンフル末10mgを局方アルコール0.1mlに溶かしたものである。また、対照ワクチンとして、非感染鶏の正常血球を同様に処理して用いた。

以上の成分は、第2表に示すような各種の割合に、振盪機にかけて混和してワクチンとして用いた。

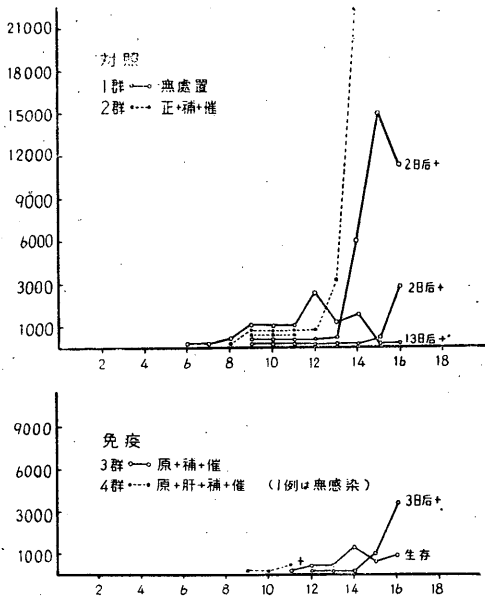
ワクチンの接種は、胸筋内4ヶ所に4週間の間隔で3回注射し、第1回接種は生後3週間で体重平均

第2表

実験群	接種回数	主 剤					補 助 剤			催炎剤 精カンフル製量	雞平均体重
		死原虫減数	感染血球量	接種量	感染肝臓量	乳剤量	正接種血球量	半潤鳥型量	結核菌量		
対 照	1	無 処 置									
	2	0	0	0	0	0	0.25	10	0.2	20	80
	3	0	0	0	0	0	0.5	10	0.2	20	300
免 疫	1	0	0	0	0	0	0.75	10	0.2	20	800
	2	3×10^8	0.12	0	0	0	10	0.2	20	80	
	3	7×10^8	0.25	0	0	0	10	0.2	20	300	
疫	1	1×10^9	0.4	0	0	0	10	0.2	20	800	
	2	3×10^8	0.12	0.2	0	10	0.2	20	80		
	3	7×10^8	0.25	0.4	0	10	0.2	20	300		
	3	1×10^9	0.4	0.6	0	10	0.2	20	800		

約 80g の白色レグホン雄雛を使用した。供試雛の体重の増加に従つて接種ワクチン量を増し(第2表)、最終接種後3週間を経て、感染接種せしめたが、当時の雛の体重は平均 1.000g であつた。

第 2 図



縦軸は赤血球 10.000 に対する原虫数を示す。
横軸は接種日よりの日数

接種後16日間の観察成績は、第2図、第3表に示す如く：—

第1群は無処置対照群であるが、潜伏期は3例中1例が5日、2例は9日で平均7.6日、血液感染極期は平均して第15日頃と思われ、2例は第16日、1例は第29日に死亡した。

第2群は正常血液浮游液、補助剤、催炎剤を混合したワクチンを使用した対照で、潜伏期は2例中1例は7日、他の1例は8日で平均7.5日、第8日に発病した雛は、血液感染極期は第14日で、23,000に達し死亡、他の1例は極期に達せず死亡した。

第3群は死滅原虫浮游液を主剤としたワクチンで免疫された実験群であるが、潜伏期は2例中1例は10日、他の1例は11日、平均10.5日で、第16日迄極期を示さなかつたが、第11日に発病した雛は、第19日に死亡、他の1例は生存した。

第4群は、死滅原虫の他に死滅赤外型を含む肝臓乳剤が加わっているワクチンで免疫されたものであ

るが、潜伏期は2例中1例は8日で原虫の増加を見ずに死亡したが、残りの1例は16日迄は原虫の出現を見ず、勿論生存した。

【考 察】： 従来、死滅原虫のみに依る免疫賦与の試みは、何れも不成功に終わっているが、JACOBS (1943) が死滅原虫に補助剤 (adjuvant) として細菌毒素を添加したワクチンを用いて免疫賦与に或程度の効果を見ているので、実験的マラリア免疫補助剤を用いることに検討が加えられてよいと思われる。抗原補助剤をワクチンに添加することは、抗原物質の吸収を緩和するとともに、接種局所に炎症を惹起して生体の反応を促し、また、抗原因子が抽出され、免疫効果が増加されるのであると考えられている。FREUND & WALTER (1944) は、寄腐性抗酸細菌とパラフィン油を抗原補助剤として用い、抗体産生力の増強効果を認め、山田 (1952) は、加熱結核死菌の感作能増強の目的にカンフルチンキの催炎性を利用し、或程度の効果を見ている。著者は両者の実験を参考し、免疫誘導体 (Schlepper) として鳥型結核菌を用い、催炎剤としてカンフルチンキを用いたのである。

感染血球の代わりに正常血球を用いた対照試験である第2群の成績が無処置対照の第1群の成績と大差のないのは当然のことであるが、然るに、第2群では2羽とも、而も1羽は極期前に斃死しているのは、この免疫処置が有害であつたのであろう。第3群と第4群とは、感染血球ワクチンを主剤として処置されたものであるが、赤外型含有の肝臓乳剤の有無によつて格別の差を認め得ない。第1～2群の対照群と第3～4群の免疫群とを一括して比較すると、潜伏期は前者の7.25日と後者の9.3日、血液感染極期は前者の13.3日に対して後者は1羽は極期前に死亡したので、これを除くと3羽中3羽に16日迄それを見なかつた。又、転帰について云えば、前者は5例中全例死亡、後者は4例中2例生存するという差がある。以上の所見によれば、著者の用いた方法は、他面では鳥体を損傷する不利な点があつたとは云え、死滅原虫ワクチンによる能働免疫の或程度は成立することを認めてもよいであらう。

【實 験 Ⅲ】： マラリア原虫の血球感染と貧血との関係

実験Ⅲに於いて、原虫出現の観察と同時に赤血球数と血色素量の測定を隔日又は毎日実施し、流血中原虫数 (Parasitaemia) と貧血との関係を調べた。

第3表に示す如く、原虫の増加につれて赤血球数

第 3 表

実 験	番 号	血液内原虫数と赤血球数及び血色素量																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
1 群 無 処 置	117			262		307	0	0	0	0	2	10	10	50	66	180	600	2,900	
			95		90		329		95		291	249	251		250	206	210	141	
											75	80	80		70	60	55	30	
無 処 置	114		244		268	0	0	0	0	100	140	40	175	850	6,000	19,000	11,000		
			90		87		213		75		279		242		254	231	187	102	88
無 処 置	137			258		265	0	1	10	6	110	600	100	2,500	1,200	1,500	250	30	
				90		83		87		266	274	290	198		75	110	123	157	
2 群 正 常 血 球 補 助 劑 催 炎 劑	146		275		299	0	0	0	0	5	27	50							
			85		95		310		80		298		+						
正 常 血 球 補 助 劑 催 炎 劑	148		242		268	0	0	0	1	10	36	200	400	3,400	23,000				
			77		95		286		75		225		327	230	180		+		
3 群 死 滅 原 虫 補 助 劑 催 炎 劑	122		338		295	0	0	0	0	0	0	0	10	66	300	1,000	4,000		
			87		93		340		80		281		313	207	269	276	221		
死 滅 原 虫 補 助 劑 催 炎 劑	124			231		250	0	0	0	0	0	10	40	355	1,430	750	1,000		
			85		80		243		83		261	289		271	172	153	129		
4 群 死 滅 原 虫 補 助 劑 催 炎 劑	131			203		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				70		80		211		187		222		194	227	180	227		
死 滅 原 虫 補 助 劑 催 炎 劑	127			239		217	0	0	0	23	7	5							
				90		77		215		65	70	70	+						

各雞の上段は赤血球 10,000 に対する出現原虫数。
中段は赤血球 1cmm の数、単位は万である。
下段は血色素量、単位は%である。

と血色素量が漸次に減少し、急性期を耐過して治癒する場合には原虫の減少に従って貧血も恢復する (No. 137)。然し、血液感染極期に於いて、最高の貧血を示すものでなく、原虫が減少を始めてから 1~2日遅れてそうなる傾向がある (No. 114, 137, 124)。そして貧血から恢復しないものは斃死するものと思われる。マラリア貧血の本

質は、TOKURA (1951) の言うように、マラリア原虫による溶血にあるばかりでなく、造血系統機能の二次的低下にも負うと思えるのである。又、赤血球数、血色素量の減少程度は、No. 148, 122と No. 137, 117, 124 比較観察すれば虫数に比例していないが、それは供試雞の個体の体質的な差によるものと思われる。

結 論

雞マラリア *Pl. gallinaceum* について、免疫血清（陳旧感染雞の血清）投与、ワクチン（死滅原虫浮游液を主剤とし、鳥型結核菌を補助剤、カンフルチンキを催炎剤として作られた）接種の効果及びマラリア原虫の血球感染と貧血の關係を実験的に観察して次の知見を得た：—

1) 免疫血清 (0.2cc/100g) 連日投与は、潜伏期及び發育拘束期の延長という点で、受

働性の真正免疫を若干成立させる。

2) ワクチン接種は、潜伏期及び發育拘束期の延長という点で、能働免疫を或程度成立させる。

3) マラリア貧血は、原虫数に比例して増悪するが、供試雞の個体の体質的な差に依り、強度については著しい差が見られる。又、貧血の最高期は、血液感染極期より1~2日遅れる。

擱筆するに当たり、終始懇切なる御指導と御校閲を頂いた恩師登倉教授に対して深甚な感謝の意を表します。

参 考 文 献

鳥マラリア免疫に関する文献は、非常に多いのであるが、比較的新らしいものを選んで、本篇に引用しなかつたものも含めて、此処に纏めておく。

1) Becker, E. R., Schwink, T. M. & Brodine, C. E. : The Distribution of Sparing and Protective Factors in Plasma Fractions of Ducks Recovered from Lophurae Malaria. *J. Inf. Dis.*, **89**(1): 16-25, 1951. 2) Coffine, G. S. : Active Immunization of Birds Against Malaria. *J. Inf. Dis.*, **89**(1) : 1-7, 1951. 3) Coffin, G. S. : Passive Immunization of Birds Against Malaria. *J. Inf. Dis.*, **89**(1): 8-15, 1951. 4) Coulston, F. & Huff, C. G. : The Chemotherapy and Immunology of Pre-erythrocytic Stages in Avian Malaria. *J. Parasit.*, **34**(4): 290-298, 1948. 5) Culbertson, J. T. : Immunity Against Animal Parasites. New York, 1941. 6) Doflein, F. & Reichenow, E. : Lehrbuch der Protozoenkunde. Fünfte Auflage, Jena, 1929. 7) Freund, J. & Walter, A. W. : Saprophytic Acidfast Bacilli and Paraffin oil as Adjuvants in Immunization. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **6**: 470, 1944. 8) Hewitt, R. : Bird Malaria. First edition, Baltimore, 1940. 9) Huff, C. C. & Coulston, F. : The Relation of Natural and Acquired Immunity of Various Avian Hosts to the Cryptozoites and Metacryptozoites of *Plasmodium gallinaceum* and *Plasmodium relictum*. *J. Inf. Dis.*, **78** : 99-117, 1946. 10) Jacobs, H. R. : Immunization Against Malaria. Increased Protection by Vaccination of Ducklings with Saline

Insoluble Residues of *Plasmodium Lophurae* Mixed with a Bacterial Toxin. *Am. Jour. Trop. Med.*, **23** : 597-607, 1943. 11) Jacobs H. R. : Immunization Against Malaria. Unsuccessful Attempts to Increase Resistance of Ducklings to *Plasmodium lophurae* Infections by Previous Injections of Materials Containing the Forsman Antigen. *Am. Jour. Trop. Med.*, **25**: 597-606, 1945. 12) Manwell, R. & Goldstein, F. : Passive Immunity in Avian Malaria. *J. Exp. Med.*, **71** : 409-422, 1940. 13) Russel, P. F., West, L. S. & Manwell, R. D. : Practical Malariology. First edition. Philadelphia, 1946. 14) Taliaferro, W. H. & Taliaferro, L. G. : Active and Passive Immunity in Chickens Against *Plasmodium lophurae*. *J. Inf. Dis.*, **66** : 153-165, 1940. 15) Thomson, K. J., Freund, J., Sommer, H. E. & Walter, A. W. : Immunization of Ducks Against Malaria by Means of Killed Parasites with or Without Adjuvants. *Am. J. Trop. Med.* **27** : 79-105, 1947. 16) 登倉 登 : 原虫免疫学序説. 長崎医学会誌. **25**(2): 65-72, 1950. 17) Tokura, N. : A Contribution to Pathogenesis of Malaria and a Suggestion for Immunogenesis from Malaria. *Yokohama Med. Bull.*, **2**(5) : 279-285, 1951. 18) 山田武二郎 : 加熱結核菌の感作能に就いて. 医学研究, **22** (7) : 69-82, 1952.