



Title	家兔大食細胞の抗菌性物質に関する研究
Author(s)	栗村, 敬
Citation	大阪大学, 1965, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28903">https://hdl.handle.net/11094/28903</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【 1 】

氏 名・(本籍)	栗 村 敬 ぐり むら たかし
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 7 2 4 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 4 月 1 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	家兎大食細胞の抗菌性物質に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 天野 恒久 (副査) 教 授 藤野恒三郎 教 授 川俣 順一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

動物の感染に対する抵抗には抗体の関与するものと、関与しないもの、即ち非抗体性抵抗がある。この非抗体性抵抗を家兎の大食細胞について追求し、その自然抵抗及び獲得抵抗の中で果す役割を解明するのが目的である。

〔方法並びに成績〕

Myrvik (1960) の方法を用いて家兎大食細胞を集めた。即ちまず家兎にそれぞれ結核菌  $H_{37}Rv$  株死菌 50mg を Freund complete adjuvant として注射し、3～4 週後に  $H_{37}Rv$  株死菌 5mg を生理食塩水に浮遊したものを耳静脈内に注射し、更に 4 日後に家兎を脱血死させる。肺を気管と共に分離し、Hanks 氏液にて洗いだすことにより、大食細胞を集めた。この集めた大食細胞を磷酸緩衝液 (M/15, pH 7.0) で 2 回洗った後、 $10^8$ /ml の割合になるように順次、磷酸緩衝液 (M/15, pH 7.0), M/4 酢酸加生理食塩水, (pH 3.2), 0.2N 塩酸 (pH 0.8) を加えて凍結融解を 3 回ずつ行ない、それぞれの遠沈上清を中和後、抽出液としてその抗菌作用を調べた。

1) 中性抽出液について

中性抽出液は *E. coli* B, *Vibrio tyroginus*, *S. choleraesuis* (spec. rough) 等に対して殺菌作用を有する。この中に含まれる有効成分について *E. coli* B に対する作用を指標として調べた結果有効物質は硫酸分画で  $\frac{1}{3} \sim \frac{2}{3}$  飽和で沈澱し、比較的耐熱性で  $56^{\circ}C$  30 分加熱に耐えるが、 $70^{\circ}C$  20 分加熱でその作用は失われる。又この画分にはかなり多量のリゾチームを含むが、これは DEAE・セルローズ・カラム・クロマトにより、リゾチームと分離でき、抗菌性物質は単独で *E. coli* B に対し殺菌的・溶菌的に働く。又 pH を 5.3 にすることにより抗菌性物質は沈澱の中に全て回収され、リゾチームは上清に残る。又この有効成分は *E. coli* B の lysozyme/EDTA で作ったスフェ

ロプラストを高張蔗糖液中でとくす。このことよりこの画分の中には、リゾチーム以外の有効物質があり、その中に菌体の cytoplasmic membrane を破壊する成分のあることがわかった。

## 2) 酢酸酸性抽出液について

この画分は *E. coli* B, *V. tyroginus*, *S. choleraesuis* (spec. rough), *B. anthracis* Vollum 等に対して抗菌的に働くことがわかったが、この意義及び詳しい性状については未だ不明である。

## 3) 塩酸酸性抽出液について

塩酸酸性抽出液は、上記の菌の他に *Staph. aureus* に対しても殺菌的に働く。又この画分は、*S. choleraesuis* 1348株, spec. rough に対しては殺菌的であるが、兎に対して virulent な北海道株には無効である。すでに小林・牛場らにより豚コレラ菌対家兎の組合せは、チフス症を惹起することが知られ、更に、その感染防禦には死菌免疫はほとんど無効で生菌による免疫が有効であることが知られている。そこで *S. choleraesuis* 1348, *S. choleraesuis* var. Kunzendorf 5210 を用いて家兎に生菌免疫をほどこし、それによって北海道株に対する感染死防禦が成立することを確認し、更に家兎を三群にわけ、それぞれ生菌免疫、フォルマリン死菌免疫及び対照として免疫を行なわなかったものについて、「方法並びに成績」の項で記述した如く、大食細胞抽出液を作成した。そして塩酸酸性抽出液の抗菌作用を比較したところ、生菌免疫をほどこした家兎群よりの抽出液は他の群のものより強く抗菌的で、北海道株に対しても強い殺菌作用を示した。この増強された抗菌作用は 0-抗原の特異性とは全く無関係に、即ち豚コレラ菌とは抗原構造を異にするサルモネラ属の菌に対しても認められた。但し、腸チフス菌の中に抗菌作用に対し非感受性の菌株も認められたが、その理由については追求中である。又このような現象は結核菌  $H_{37}Rv$  株の死菌体を用いるアレルギーを起さないで、大食細胞を集めた場合にも認められるので、結核アレルギーとは関係ないと思われる。この抽出液は殺菌的であると同時に溶菌作用をもつことが、生菌計算 (colony count), 菌液の濁度測定、更には位相差顕微鏡を用いての Petroff-Hausser 計算盤による全菌数測定、染色標本所見により明らかとなった。又この抽出液は *S. choleraesuis* var. Kunzendorf 5210 の lysozyme/EDTA で作ったスフェロプラストを高張蔗糖液中で破壊することにより、菌体の cytoplasmic membrane に作用する物質を含むことが明らかである。又この塩酸酸性抽出液は、pH 中性で 100°C 10分加熱でその活性は約 1/4 となる。この物質のヒストンとの異同については今後更に検討したい。

最近、Jenkin らはマウス対 *S. typhimurium* の組合せの感染症において、感染防禦に抗体が大きな役割を果たすこと、更に免疫が血清によって passive に transfer されると述べているので、著者は、アセトン死菌、アルコール死菌を家兎に 8 回 ( $5 \times 10^8$  1 回,  $10^9$  2 回,  $2 \times 10^9$  5 回) 注射したが、家兎は北海道株に対する感染死防禦能を獲得しなかった。更にフォルマリン死菌の免疫を行なった家兎血清、又は、生菌で免疫を行なった家兎血清を正常家兎に与えても感染死防禦は成立しなかった。これらのことから著者の用いた実験的チフス症の系では、血清成分より細胞成分が免疫に大きな役割を果たしているものと思われる。

## 〔総括〕

家兎大食細胞抽出液には、これ迄に知られているリゾチーム以外にもいくつかの抗菌性物質があ

ることがわかった。更に塩酸酸性抽出液画分には、豚コレラ菌免疫によって増強される抗菌性物質があり、この物質は免疫に用いた豚コレラ菌と抗原の共通しない菌株にも抗菌的に働く。又実験的チフス症では生菌免疫が極めて有効で、細胞性の免疫を附与することを示唆する結果を得た。

## 論文の審査結果の要旨

生体の感染に対する抵抗には大別すると抗体の関与するものと、関与しないもの、即ち非抗体性抵抗がある。本論文はこの非抗体性抵抗を家兎の大食細胞について追求し、その自然抵抗及び獲得抵抗の中で果す役割を解明せんとしたものである。

家兎大食細胞を肺より集め、それを中性・醋酸酸性・塩酸酸性で順次抽出し、それぞれ中和後その抗菌作用を調べている。その結果、中性抽出液中には、E. coli B などに対し、殺菌的・溶菌的に働く作用があり、リゾチームとは分離されている。又この画分はスフェロプラストを高張蔗糖液中で破壊することより Cytoplasmic Membrane に作用することを明らかにしている。

塩酸酸性抽出液については、種々の菌に対し抗菌的に働くことを示しているが、特に家兎対豚コレラ菌の感染症において、家兎をあらかじめ、弱毒生菌で免疫することによりこの抽出液中の抗菌作用が増強されることを認め、その抗菌スペクトルは、免疫に使用した菌株の既知の抗原構造とは全く関連性のないことを示している。又この画分は、殺菌的溶菌的に作用し、菌体の Cytoplasmic Membrane を破かいすることを明らかにしている。家兎対豚コレラ菌の感染症では死菌免疫、血清による受動免疫は感染死防禦を成立せしめないことを明らかにしている。

以上本論文は、家兎大食細胞抽出液中に、これまで知られていない抗菌作用のあることを明らかにし、更にその物質が獲得抵抗と密接な関係があることを明らかにしたもので、細胞性免疫研究の分野に寄与するところ大であり、価値あるものと認定した。