

ブドウ球菌アレルギーに関する研究

第1報. 各種疾患における抗スタフィロリジン価について.

昭和大学医学部第1内科(指導: 川上保雄教授)

坂 本 孝 雄

(受付: 3月11日, 1968)

緒 言

人体に常在菌として存在する各種の細菌が, アレルギー的な意味においてある種の疾患の発症ないしその進展に関与しているか否かは当教室の研究テーマの一つとなっている. 細菌感染に伴って生ずる, 菌体成分ないしその菌体外産物に対する抗体価の測定は, その疾患の診断に役立つのみでなく, その疾患の成因探求とも関係して重要な意義をもっているものである. たとえば溶連菌感染症についてはASLO等の菌体外産物に対する抗体価の測定が行われ, リウマチ熱及び急性糸球体腎炎の診断に大いに役立てられていることは衆知の事実である.

ブドウ球菌は広く人及び動物の皮膚, 粘膜面及び空中など自然界に常在し, あるものは時に疾病を起す. 人の疾病としては化膿性疾患を起すことが多く, 所謂化膿球菌の代表的なものとされている. 近年ブドウ球菌感染症で注目すべき現象は, 多くの抗生物質が繁用されるようになって以来抗生物質耐性のブドウ球菌がかなり高率に認められるようになり, また今まで知られなかつた菌交代性ブドウ球菌性腸炎, 院内感染による小児肺炎の発生も報告されるようになり¹⁻²⁾, 本症への関心は高まつて来た. しかしその病原性に実際に関与するものが何であるかまた免疫の性質についての確定的知見は未だ乏しい. ブドウ球菌は, 腸内細菌にくらべて多くの毒素ないし酵素を産生するが, この中で病原性に関係があらうと考えられているものは, Coagulase, hemolysin, Leukocidin, fibrinolysin, hyaluronidase, などである. しかしこれら菌体外産物は病気の過程で互に作用するので, それぞれの役割を分析することはむづかしい. これらの中でもCoagulaseについては多くの研究がなされ, この酵素がおそらく感染の足場を作り病像の進展に重要な役割を果たしているのではないかと報告されて来た³⁻⁶⁾. また Ber-

gys' Manual of Determinative Bacteriology (1957) には, 病原株としての黄色ブドウ球菌の判定基準としてCoagulase産生が重要な条件とされている.

Cristie⁷⁾ らはハツカネズミ腹腔内感染実験より, α -hemolysin産生能が動物の致死作用と密接に関係していると言っている. Mark⁸⁾ はCoagulase陽性菌のうち, この毒素を産生しないものは僅かに4%であつて, 人の病巣より分離したブドウ球菌は全て α -hemolysin (α -Toxin) を産生すると述べている.

α -hemolysinは容易にトキシイド化され抗毒性免疫を賦与することが出来るので広く治療や予防に応用されており, また抗 α -Toxin製剤も治療に使用されたりしたが, これらの療法は必ずしも効果があるとは限らず, α -hemolysin抗体を有する人でも屢々再感染を起したりするので, 最近抗 α -Toxinやトキシイドの治療面での意義は低くなつて来ている. しかしブドウ球菌の合併感染肺炎例⁹⁾やその他本菌の小児肺炎などの剖検所見によると¹⁰⁾多数例に強度の肺出血, 浮腫, 細胞浸潤等のToxemia型肺炎像が認められ, またハツカネズミ, ウサギによる実験的研究によれば¹¹⁻¹³⁾, このような所見は主として α -hemolysinの作用によるものとされている. これらのことからKleiger¹⁴⁾らが指摘するように, α -hemolysinによる乳幼児の急性毒素症状と動物実験によつて得られた毒素作用, 症状との間には密接な関連性があり, α -hemolysinが人の病気に相当重要な役割を果たしていることが考えられる.

最近では, ブドウ球菌の病原性に関与する因子として¹⁵⁻¹⁶⁾, 主にCoagulase, α -hemolysin, Leukocidin, に注意が向けられているが, 先にも述べたように人のブドウ球菌感染症において α -hemolysinは重要な役割を演じていることが想定されているので, 著者は α -hemolysinをとりあげ種々検討を試みた.

α -hemolysin には抗原性があるので、 α -hemolysin ブドウ球菌感染症に際しては大きく小なり、抗体を生ずる筈である。従つてこの抗体価を測定することは、溶連菌感染症における Antistreptolysin O 測定と同様に、ブドウ球菌感染症、特に latent な感染を知る手段として役立つであらうし、またブドウ球菌感染後アレルギー的機序が発症に関与するような疾患があれば、リウマチ熱（及び急性糸球体腎炎）における Antistreptolysin O 価上昇と同様に、ある程度疾患特異性をもつものとして役立ち得る可能性があるし、その病因をさぐる一手段ともなると考えられる。この α -hemolysin に対する抗体の測定は、その手技が比較的簡単であるということも、著者がブドウ球菌菌体外産物のうち α -hemolysin をとりあげた一つの理由であり、また先に述べたように人の病巣より分離されたブドウ球菌は殆んど全てが α -hemolysin を産生するという事実もあるからである。

α -hemolysin による動物実験については第Ⅱ報において述べる。

方 法

1930年 Burnet¹⁷⁾ によりブドウ球菌に強力なる α -hemolysin (α -Toxin) を産生させるには寒天を添加した半流動状培地に黄色ブドウ球菌を接種し、炭酸ガスを20～30%の割合に含む混合気体での培養が必要であることが見出され、吾が国において永井¹⁸⁾、大橋¹⁹⁾らにより追試確認され、以後ブドウ球菌 α -Toxin 産生には炭酸ガス及び寒天の存在が不可欠の条件とされて来た。しかし半流動寒天を用いると濾過する時間を要するため α -Toxin の減弱が起つたり、吸着によつて α -Toxin 収量が減少することが考えられ、出来るなら寒天を使用しないで強力な α -Toxin を得たいわけである。MacClean²⁰⁾ は液状培地をカオリン或は硅藻土で処理するが、またはセロファン屑を添加することにより、寒天を加えることなしに α -Toxin の産生を見ている。1945年 Duthie 及び Whyllie²¹⁾ は寒天を含まない液状培地に本菌を接種し、炭酸ガス及び酸素との混合気体内で振盪培養することにより強力な α -Toxin の産生を見ている。しかし炭酸ガス補給しなくても振盪培養により α -Toxin は充分産生されるので、著者は黄色ブドウ球菌寺島株を液状培地に接種し、31°Cにおいて振盪培養することにより強力な毒素を産生せしめるという方法をとつた。

抗スタフロリジン (Anti-Staphylolysin, 以下ASTa) 価測定にさいし、著者は当初炭酸ガス半流動寒天培地により作製した α -hemolysin を使用したが、この方法で

は収量が悪いので後半の実験では振盪培地により作製し凍結乾燥した α -hemolysin を使用した。

I. 炭酸ガス半流動寒天培地作製 α -hemolysin による実験

1) α -hemolysin の作製

Staphylococcus aureus は寺島株を用い、予めこの菌株の溶血性を見るため平板血液寒天に20～24時間培養後溶血性を確認し、Brain heart infusion Broth (Difco) 10ml に普通寒天 1.0ml を加え半流動培地となし、これに寺島株を接種しデシケーターに納め、炭酸ガス20%（ドライアイス使用）を入れた状態とし37°Cにて3日間培養、これを濾紙にて濾過後濾液を3,000回転30分間遠心沈澱し、その上清をザイツ濾過後保存し用いて α -hemolysin として使用した。

2) 赤血球浮遊液

毎回新鮮ウサギ赤血球を用いた。耳静脈より採血し生理的食塩水で3～4回遠心沈澱する。この沈澱血球を原量とみなして生理的食塩水にて2.5%血球浮遊液を作製使用した。

3) 被検血清

被検血清は分離後氷室に保存し、56°C30分非動化したものを使用した。

4) 対照血清

ASTa 価の比較的高い人の血清を56°C30分加温非動化し氷室に保存、対照血清として使用し、ASTa 価の補正に用いた。

5) ASTa 価測定予備試験

培地や培養時間、また保存により α -hemolysin の溶血力が異つて来るので、本試験の前に毎回予備試験を行い最小溶血単位を定めた。上記の培養液遠心沈澱の上清の0.25ml 稀釈系列を生食水にて作り、これに2.5%血球浮遊液0.25ml を加え、37°C恒温槽中に30分間置き、完全に溶血を起す最小濃度をもつて α -hemolysin の最小溶血単位とした。最小溶血単位は通常40倍稀釈程度であり凍結保存により α -hemolysin 力価の低下はみられなかつた。

6) ASTa 価測定本試験

ASTa 価の測定方法は、ASLO価測定方法に準じ、即ち Todd²²⁾ の変法で現在広く行われている完全溶血阻止を指標とする Rantz-Randall^{23,24)} 法に準拠して行つた。

表Ⅰに示すように、予め生理的食塩水で5倍稀釈より始め、被検血清の0.25ml 倍々稀釈系列を作る。各血清

表1 ASTa 価測定法

試験管番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
血清稀釈	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	赤血球 対照	α -lyson 対照
稀釈血清量	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5 (Saline)	0.25 (Saline)
α -hemolysin	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	—	0.25
(2.5最小溶血単位) 静かに振って37°C30分温浴											
2.5% 兎血球	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
静かに振って37°C60分温浴											
判 定	—	—	—	—	+	卅	卅	卅	卅	—	卅

(一) 非溶血, (十) 不完全溶血, (卅) 完全溶血

稀釈系列に 2.5最小溶血単を含むように稀釈した α -hemolysin 液0.25mlを加え, 軽く振盪混和後37°C恒温槽に30分間放置する. 次いで 2.5%赤血球浮遊液0.25ml 宛を各管に加え軽く振盪混和後37°C60分加温する. このさい始めの15分後に一度軽く振盪混和する. 60分加温後, 非溶血, 溶血の境目と思われる前後3~4本の試験管を1,500回転3分間遠心沈澱するか或は室温に2時間放置して各管の上清の溶血の有無を観察する.

対照として赤血球対照, α -hemolysin 対照をおき, 赤血球対照は α -hemolysin が入っていないので非溶血の管であり, α -hemolysin 対照は抗体が入っていないので完全溶血を起す管である. 従つて対照がこの条件を満足しない時は成績判定は出来ない.

以上に述べたような方法では, ASTa 価は上清が溶血を示さない, 換言すれば完全に溶血を阻止する血清の最高稀釈倍数をもつて表わすことになるが, 著者は便宜上稀釈管数をもつて表わした.

II. 振盪培養作製 α -hemolysin による実験

1) α -hemolysin の作製

表2の如く肉エキス10g, ミクニ毒素用ペプトン20g, KH_2PO_4 2g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3g, を蒸留水1,000mlにとかし, NaOHをもつて pH 7.0としたものを培地とし, これを120°C20分高圧滅菌後濾過し, 濾液を振盪培養用コルベンに150ml ずつ分注し, 再び高圧滅菌を行いあらかじめ溶血性を確認した寺島株を接種し, 30°Cで48時間振盪培養を施行した. 振盪条件は財部²⁵⁾が行つた水平振盪とし, 振幅7.5cm, 速度毎分110回で行つた. 培養後8,000回転毎分で15~20分超遠心を

表2 α -hemolysin 作製法

肉エキス	10 g	培養液8000回転/分20
ミクニ毒素用ペプトン	20 g	↓
KH_2PO_4	2 g	分上清液に硫酸結晶 257g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.3 g	($\frac{3}{4}$ 飽和)
Aq	1000ml	↓
	pH 7.0	蒸留水 100ml 加硫酸にて
高圧滅菌		$\frac{2}{3}$ 飽和これを3回繰返し
↓ 濾過		↓ 透析
濾液		凍結乾燥
振盪培養用コルベン分注		
高圧滅菌		
↓		
ブ菌寺島株接種		
30°Cで振盪培養48時間		

行い, その上清液をとり硫酸結晶 570g/l を加えて $\frac{3}{4}$ 飽和として落しこれを蒸留水 100ml にとりかし, このような操作を3回繰返した後充分透析し, これを凍結乾燥して保存した.

2) ASTa 価測定法

表3に示すように, 被検血清の稀釈は生理的食塩水で2倍より始め, 各管0.5mlの倍々稀釈系列とする. これに標準抗血清 $\frac{1}{50}$ 国際単位相当量の α -hemolysin 液0.5ml (伝研より分与された標準抗血清より定めた) を各管に加え, 軽く振盪混和後37°C恒温槽に30分放置し, 次に1%ウサギ血球浮遊液0.5mlを各管に加え振盪混和後37°C恒温槽に60分加温し, 加温後, 非溶血, 溶血の境目あたりと思われる前後3~4本の試験管を1,500回転3分間遠沈するか, 或は室温に2時間放置して各管の上清の溶血の有無を観察して判定する. 対照として表のように赤血球対照と α -hemolysin 対照をおく.

表3 ASTa 価測定法

試験管番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
血清希釈	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	赤血球 対照	α -lysin 対照
希釈血清量	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0 (Saline)	0.5 (Saline)
α -hemolysin	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—	0.5
(標準抗血清 ¹ / ₅₀) 静かに振って37°C30分温浴											
1% 免血球	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
静かに振って37°C60分温浴											
判 定	—	—	—	—	+	卅	卅	卅	卅	—	卅

(一) 非溶血(+) 不完全溶血(卅) 全溶血

表4 各種疾患の ASTa 価

ASTaの価													
平均管数	2.5	2.0	2.9	1.7	2.4	1.7	1.9	1.7	2.8	2.4	1.8	2.4	
6			○	○	○	○			○	○	○	○	○
4	○○○	○	○○○	○○○	○○	○○○	○	○	○○	○○○	○○○	○○○	○○○
	○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○	○○○	○○	○○	○○○	○○○	○○○	○○○
2	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○	○○	○○○	○○○	○○○	○○○
	○	○	○	○○○	○○	○○○	○○○	○○○	○○	○○○	○○○	○○○	○○○
管数				○○○	○○	○○○	○○○	○○○	○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
				○○○	○○○								

成績判定は溶血を完全に阻止し得る血清の最大稀積度をもつてその血清の ASTa 価とした。

この場合にも便宜上稀積管数をもつて ASTa 価を表わした。

成 績

I. 炭酸ガス半流動寒天培地作製 α -hemolysin による各種疾患の ASTa 価

昭和大学第1内科外来及び入院患者 406例を13群に分ち、更に健常者16名についてASTa 価を測定した。その成績は表4に示す通りである。

急性腎炎

急性腎炎19例の ASTa 価は平均 2.5管とリウマチ熱群について高かった。

慢性腎炎

慢性腎炎の患者は23例で平均管数 2.0とやや高めである。

リウマチ熱

各群中最も高値を示し28名の平均管数は 2.9である。

リウマチ様関節炎

平均管数は餘り高くなく 1.7と低値を示している。

心臓弁膜症

平均管数は 2.4とかなり高めでありこれにはリウマチ熱罹患後に生じた僧帽弁膜症がかなり含まれていることも関係していることと思われる。

急性肝炎、慢性肝炎、肝硬変群、リウマチ以外の膠原病群、中枢神経系疾患群、これらの疾患の平均管数はいづれも低い。

糖尿病群

糖尿病患者は例数が少いが平均管数が 2.8とかなり高値を示している。これは糖尿病患者では癰等のブドウ球菌感染を起し易いことに関係があるかも知れない。

呼吸器疾患群

この中には気管支喘息、慢性気管支炎、気管支拡張症、肺炎等が含まれているが平均管数が比較的高く 2.5である。この中にはブドウ球菌性肺炎と診断されたものが2名含まれておりそのASTa 価はそれぞれ 7.0, 8.0であつた。

健常者群

医師及び看護婦を対照としたが職業上ブドウ球菌感染にさらされることが頻回なるためと思われるが、平均管数が 2.5と高く著者は最も高く 5.0であつた。

その他の疾患群

この中にはブドウ球菌性骨髓炎が2名含まれ、それぞれ7.0及び8.0と高値を示しており、又癌患者の中にもかなり高値を示すものが見られた。

そこで各群中比較的高値を示したものについて各種臨床検査との関係をみてみると当然のことながらブドウ球菌感染との関連性が推定される成績を示している(表8)。

Ⅱ. 振盪培養作製 α -hemolysin による各種疾患の ASTa 価

入院及び外来通院中の諸種疾患患者 248名について特に呼吸器疾患、尿路感染症、術後化膿症、膠原病等を主な対象として ASTa 価を測定し、又健常者14名(医師及び看護婦)についても測定してみた。その成績は表5に示す通りである。

表5 各種疾患の ASTa 価

平均管数	1.7	2.3	1.3	1.7	2.3	2.2	2.7	4.0	3.5	0.4	1.1	3.4
管数	6											
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
疾患	腎炎	リウマチ熱	リウマチ様関節炎	その他の関節炎	膠原病	肝臓病	糖尿病	呼吸器疾患	尿路感染症	術後化膿症	心臓疾患	その他の疾患
例数	18	9	14	9	12	8	124	31	8	7	10	14

膠原病

リウマチ熱、リウマチ様関節炎、その他の膠原病等においては症例数も少ないが余り高い ASTa 価は示さず、平均管数はそれぞれ 2.3, 1.3, 2.3と比較的低いが、中には 6.0, 7.0と高値を示しているものがある。

呼吸器疾患

呼吸器疾患は、主として気管支喘息、慢性気管支炎、急性肺炎、気管支拡張症、肺気腫、肺線維症等を対象としたが表からもわかるように比較的高値を示すものもあり、平均管数が 2.7であつた。

これら呼吸器疾患を第Ⅰ群気管支喘息、第Ⅱ群慢性気管支炎(気管支喘息に慢性気管支炎を合併せるものも含む)、第Ⅲ群気管支拡張症、肺線維症、肺気腫として比較検討してみたが、表6に示すように第Ⅲ群の平均管数が 3.1と最も高く、第Ⅰ群にもかなり高値を示すものが見

表6 呼吸器疾患の ASTa 価

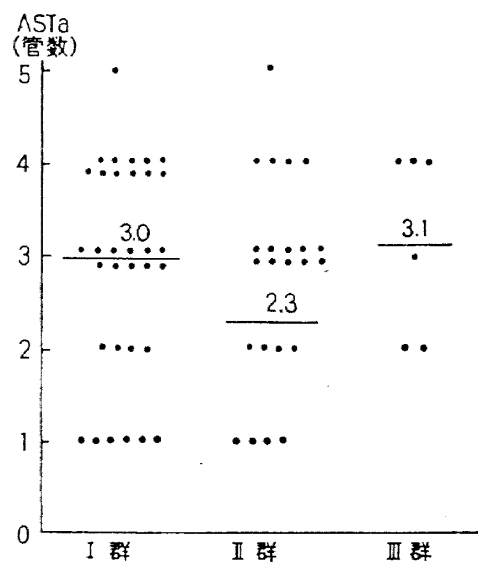
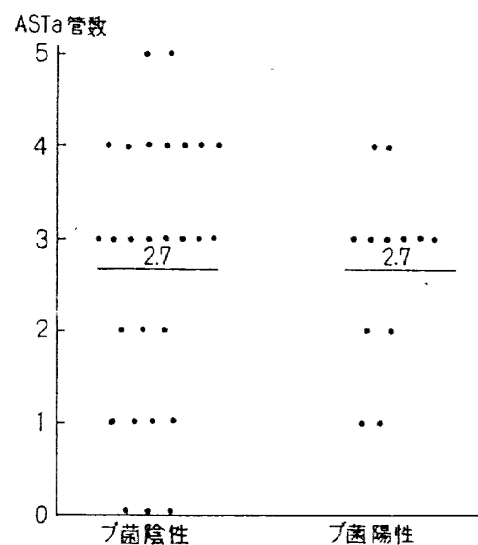


表7 ASTa 価と咽頭喀痰中黄色ブドウ球菌



られたが平均管数は第Ⅲ群に比較して低値を示している第Ⅲ群は例数も少いためと思われるが、これら3群の間に有意の差があるとはいえない。

表7は ASTa 価と咽頭粘液ないし喀痰中の黄色ブドウ球菌との関係をみたものであるが、ブドウ球菌陰性のものとブドウ球菌陽性のものの ASTa 価は平均管数それぞれ 2.7であり、差は認められなかつた。

尿路感染症は主として腎盂炎ないし腎盂、腎炎、腎結核腎腫瘍、腎結石、(何れも細菌の染を合併せるもの)、腎化膿症等を含んでいるが、諸疾患の中で最も ASTa 価が高く、平均管数が 4.0を示し、5.0, 6.0を示すものが約半数に見られた。

表8 ASTa の高値を示した例と検査所見

No.	氏名	性	病名	ASTa	ASLO	CRP	Ra	血沈	白血球	検体よりの黄色ブ菌
1	Y. K	♀	腎結核	6	12	卅	—	60/1h	8700	尿より黄色ブ菌(卅)
2	N. N	♀	腎盂炎	6	160	卅	+	28/1h	4800	尿より黄色ブ菌卅腸球菌
3	T. I	♀	慢性腎炎	5	40	+	—	50/1h	6400	—
4	S. T	♂	ネフローゼ	5	40	—	—	48/1h	5500	—
5	Y. I	♂	急性肺炎	6	100	卅	—	17/1h	12000	喀痰より黄色ブ菌(卅)
6	K. Y	♂	急性肺炎	8	20	卅	—	110/1h	9600	喀痰より黄色ブ菌(卅)
7	M. H	♂	骨髓炎	8	80	卅	—	60/1h	5000	患部より黄色ブ菌(卅)
8	K. M	♂	骨髓炎	7	40	+	—	32/1h	7000	患部より黄色ブ菌(卅)
9	Y. I	♀	頸部膿瘍	6	20	+	—	42/1h	16000	患部より黄色ブ菌(卅)
10	T. N	♂	気管支喘息	6	160	—	—	—	—	喀痰より黄色ブ菌(卅)
11	A. T	♂	関節リウマチ	4	—	—	—	—	—	—
12	N. O	♀	リウマチ熱	5	1280	卅	—	85/1h	4300	咽頭より黄色ブ菌(卅)
13	M. I	♂	肝硬変	5	40	+	—	10/1h	5500	—
14	H. B	♀	SLE	4	40	卅	+	137/1h	8400	咽頭より黄色ブ菌(卅)
15	K. Y	♂	糖尿病	6	40	—	—	23/1h	5000	—

尿路感染症を腎盂炎、腎結核、腎腫瘍を区別して ASTa 価を比較して見ると腎結核がやや高く平均管数が 4.4 であったが、他群との間に有意な差は認められなかった。尿中黄色ブドウ球菌について、陰性のものと陽性のものについて比較検討して見ると、表 9 に示される如く黄色ブドウ球菌陽性のものが陰性のものより ASTa 価の高いものが多くその平均管数は陰性のもの 3.3、陽性のもの 4.2 であった。

術後化膿症

術後化膿症には、6.0、7.0 と高値を示すものが見られたが、この高値を示したものはブドウ球菌性頸部膿瘍及び骨髓炎であった。

健常者

医師及び看護婦が対照となつているためか平均管数が 3.4 と比較的高い値を示している。

ASTa 価と赤沈、CRP、ASLO 価との関係

諸種疾患の ASTa 価と赤沈との間に相関関係は見られないが ASTa 価と CRP については、CRP 陽性群は ASTa 価が高い傾向を示している。

ASTa 価と ASLO 価の間には相関関係は見られなかった。

考 按

黄色ブドウ球菌は腸内細菌に比較して多くの菌体外産物を産生している。この中でも Coagulase の産生が病原株の判定に重要な条件とされ、この酵素が感染病像の進展に最も関係していると考えられ多くの研究がなされて

来た。しかし Christie⁷⁾, Mark⁸⁾ らは α -hemolysin 産生能が動物の致死作用と密接な関係があると言っており、ブドウ球菌の合併感染肺炎や本菌による小児肺炎の剖検所見において、強度の肺出血や浮腫など Toxaemia 型の肺炎像が認められ、このような所見は主として α -hemolysin の作用によると考えられ、 α -hemolysin の意義は Coagulase 以上に重要であると強調している。

そこで著者は黄色ブドウ球菌の産生する菌体外毒素のうち α -hemolysin をとりあげ、この α -hemolysin に対する抗体価 (ASTa 価) を各種疾患について測定してみた。

ASTa 価測定法について

ASTa 価の測定については routine work として行われていないためもあるかも知れないが、ASLO 価測定における Rantz-Randall 法のような一定の方式はないように思われる。

しかし抗 α -hemolysin の国際単位が定められており、標準抗血清も作られているので、実際には ASTa 価を国際単位で表わすことが望ましいわけであるが、著者が炭酸ガス半流動寒天培地作製 α -hemolysin による ASTa 価測定を始めた頃は標準抗血清が入手出来なかつたので、ASLO 測定法に準じて、先述の実験条件における最小溶血単位を定め、この 2.5 最小溶血単位を中和し得る被検血清の最高稀釈倍数 (実際は便宜上稀釈管数をもつてした) をもつて ASTa 価とした。ASTa 価測定に用いる α -hemolysin 量はこのような最小溶血単位を

基準とする方法では、 α -hemolysin 作製の過程や保存するうちに hemolysin 活性は失つても、 α -hemolysin としての抗原性は保有している不活性 α -hemolysin の含有量如何により ASTa 価が可成り大きな変動をうける可能性があるので余り適当ではなく、ASTa 価測定には標準抗血清を基準にして α -hemolysin 使用量を決定するのが妥当である。従つて振盪培養作製 α -hemolysin を使用した際には、標準抗血清により使用する α -hemolysin 量 (ASTa 価は一般に低いので、低い値でも測定可能なように Quie & Wannamaker に準じ $1/_{50}$ 国際単位相当量を使用) を定めたが、最小溶血単位を基準とした場合は、ASTa 価補正用に毎回保存対照血清をおいた。しかし実際には一定の実験条件を守つていたためか補正を要するようなことは殆んどなかつた。

各種疾患の ASTa 価

α -hemolysin に対する抗体価の測定は余り行われていないが、Tunevall²⁶⁾ らは成人の ASTa 価はかなりの幅を示し 0.2~2.1u であると述べている。鼻腔保菌者での ASTa 価はかなり高く²⁷⁾、又骨髓炎でも高い値を示すが²⁸⁾、皮膚疾患では特別な増加は示さないとされている。

本邦では従来殆んど ASTa 価の測定は行われていないが、南浦²⁹⁾は健康人 ASTa 価を測定している。それによると ASTa 価は生後 6 カ月から上昇し、年令が進むに従つて上昇傾向が見られ、又老令では漸次低値を示すようになると言っている。

Ragnar³⁰⁾ らは健康人 778 名の ASTa 価を測定し、これらのうち 79.0% は 3.0u 以下の ASTa 価であつたと報告している。又彼は健康人の 1 年の月別の ASTa 価の推移を見ているが、特に変動はなかつたと述べている。

Paul & Lewis³¹⁾ は ASTa 価に関する一連の研究を行つているが、新生児の ASTa 価は 1 カ月より 1 年までの乳児に比較して高く、これは母親の抗体の受動的移動のためとしている。又健康人の年令別 ASTa 価は年令が長ずるに従つて上昇するのをみている。更に彼等は各種疾患、特に急性化膿性骨髓炎、ブドウ球菌性肺炎、再発性ブドウ球菌性皮膚感染症、非再発性ブドウ球菌皮膚感染症、ブドウ球菌性敗血症、皮下膿瘍、脾臓嚢腫等について ASTa 価を測定し、急性化膿性骨髓炎は全例に高い値を示し、ブドウ球菌性肺炎では一般に抗体価の上昇は明らかではなく、再発性ブドウ球菌性皮膚感染症では低く、僅かに存在する程度である非再発性のブドウ球

菌性皮膚感染症では ASTa 価はかなり上昇しているものが見られたが、ブ球菌性膿瘍、敗血症、ブ球菌性深部膿瘍では、一部では高い値を示しているものもあるが、一般に低い値を示したと述べている。

著者は各種疾患患者の血清について、炭酸ガス半流動寒天培地培養法及び振盪培養法によりそれぞれ作製した α -hemolysin による ASTa 価を測定した。

炭酸ガス半流動寒天培地作製 α -hemolysin による ASTa 価は、平均値では、糖尿病、リウマチ熱、急性腎炎、呼吸器疾患、心臓弁膜症、が一般にやや高値を示したが、この中には多数の低値を示すものも見られた。又少数例ながらブドウ球菌性肺炎、ブドウ球菌性骨髓炎、ブドウ球菌性深部膿瘍等についても ASTa 価を測定してあるが、欧米の文献にも述べられているように大体高い値を示した。

振盪培養法作製 α -hemolysin による ASTa 価測定は主として尿路感染症、呼吸器疾患、術後化膿症を中心に測定したが、平均値では尿路感染症が一番高い値を示し、ついで術後化膿症、呼吸器疾患の平均値が高かつた。

炭酸ガス半流動寒天培地作製 α -hemolysin による ASTa 価が実際に振盪培養法作製 α -hemolysin による ASTa 価のどの程度に相当するかは厳密に比較検討していないが、ASTa 価を管数 (同一管数でも血清稀釈培数は同一でない) で表わした場合にはその差はせいぜい 1 管程度 (後者がやや高い) である。従つて両者を同一レベルで論じても大差はないものと思われる。

先にも述べたように文献的に高値を示すものが多いとされている骨髓炎、続発性ブ球菌感染症等では、著者の成績でも高値を示しているが、Lack³²⁾ 等が報告しているような 8~32u といった高い ASTa 価を示すものはなかつた。(振盪培養法作製 α -hemolysin による ASTa 価では 1u は 5~6 管の間にある)。一般に高値を示すものが多かつた疾患は何らかの意味でブドウ球菌感染と関連の深い疾患が多く、特に尿路感染症に ASTa 価が高いものが多いことは、最近尿路感染症起炎菌として³³⁾ブドウ球菌が重要視されてきたことと考え合せて興味がある。このような意味からブドウ球菌検出の有無と ASTa 価との関係を調べてみたのであるが、尿路感染症ではブドウ球菌の検出された群では陰性群より ASTa 価が高かつたのに反し、呼吸器疾患群では陽性、陰性群の ASTa 価に差を認めることは出来なかつた。しかし表 8 に示したように ASTa 価の高いものではブドウ球菌検

出との間にはかなり密接な関係があるようである。もちろん ASTa 価は ASLO 等と同じように現在のブドウ球菌感染の存在のみを意味するものではなく、既往のブドウ球菌感染をも反映するものであり、ブドウ球菌が検出されなくても ASTa 価が高いものがあつても不思議はない。著者の成績で健康者群の平均値が比較的高いのも先述のように医師ないし看護婦ではブドウ球菌感染の機会が多いことを示しているものといえる。

リウマチ熱、リウマチ様関節炎を始めとする膠原病は、リウマチ熱を除いては感染との関係は明らかではないが、その成因として感染が何らかの役割を果たしているのではないかと推定されている疾患である。著者の成績ではこれらの疾患の ASTa 価は一般に低く、ブドウ球菌感染との関連性を推定させるような材料はえられなかった。リウマチ熱では高値を示したものがあつたが、その意味づけについては先にふれた通りである。リウマチ様関節炎の ASTa 価については本邦では三木、高橋³³⁾の報告があり、正常人、強直性脊髄炎、変形性膝関節症よりもやや高いが、正常値の範囲内にあつたと述べている。その値は 0.72u であり、著者の値よりもやや高めである。

ブドウ球菌の産生物に対する抗体の測定は ASTa の他にも、Anti-Coagulase, Anti-Staphylokinase, Anti-Leucocidin 等が測定されているが、これら 4 種の抗体を骨、関節ブドウ球菌感染症について経過を追って測定した Lack & Towers³⁴⁾の成績では、ASTa よりも Anti-Leucocidin の方がより constant な上昇を示したという。そして彼等は診断的な目的では少くとも 2 つ以上の抗体を測定し単に 1 回の測定値によつてのみ評価することなく、抗体価の上昇に目を向けるべきだと述べている。この見解は溶連菌感染症等についても言われているものであり、当然の見解とも言えるが、ブドウ球菌産生物に対する種々の抗体を併せて測定するならば、ブドウ球菌感染症に対するもう少し詳しい知見がえられるかも知れず、少くともブドウ球菌の証明出来ぬような症例の診断に役立つことと思われる。

結 論

著者の各種疾患の ASTa 価を測定し、次の成績をえた。

1) ASTa 価の平均値は尿路感染症が最も高く、次で術後化膿症であり、呼吸器疾患、リウマチ熱、糖尿病も比較的高い値を示した。

2) その他の疾患では ASTa は一般に低い、骨髄炎では高値を示し、肝癌や胃癌でも高い値を示すものが見られ急性腎炎にも比較的高値を示すものがあつた。

3) ASTa 価とブドウ球菌検出の有無の間には必ずしも相関関係があるとは言えないが、尿路感染症では尿中ブドウ球菌陽性群は陰性群よりも ASTa 価が高く、その他の疾患でも ASTa 価が高値を示したものの多くはブドウ球菌が検出された。

4) 膠原病については、ブドウ球菌感染症との関連性を示す如き成績はえられなかった。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師川上保雄教授に深謝すると共に、終始御教示、御協力をいただいた高橋昭三助教授ならびに第 1 内科教室員の各位に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 長岐佐武郎、斎藤誠：日本臨床，14，581，1956.
- 2) Perrin, T.L. & McGowowan, J.P.: Amer. J. clin. Path., 33, 288, 1960.
- 3) 善養寺浩：モダンメデア，4 (10): 1.
- 4) Blair, J.E.: Ann. Rev. Microbiol., 12, 491, 1958.
- 5) 多田庄三：日本細菌学会雑誌，15，344，1960.
- 6) 三谷安夫：小児診療，22，160，1959.
- 7) Christie, R., North, F.A. & Barbara, P.: Austral. J. Exp. Biol., 24, 73, 1946.
- 8) Majk, J.: J. Path. Bact., 64, 175, 1952.
- 9) Stuart-Harris, C.H.: Brit. Med. J., 1, 1606, 1959.
- 10) Jackson, J.R., Gibbons, R.J. & Magner, D.: Amer. J. Path., 34, 1051, 1958.
- 11) 田中昭生：日伝誌，32，893，1959.
- 12) Flek, S.D. & Levy, E.: Brit. J. Exp. Path., 31, 358, 1950.
- 13) 南浦邦夫他：小児科診療，23，119，1959.
- 14) Kleiger, B. & Blair, J.E.: Sury. Gynecol. Obstet., 71, 770, 1940.
- 15) 牛場大蔵：病原微生物（細菌編）.
- 16) 善養寺浩：医学のあゆみ，35，457，1960.
- 17) Burnet, E.M.: J. Path. Bact., 33, 1, 1930.
- 18) 永井吉郎：実験医学雑誌，21，1651，昭21.
- 19) 大橋久彌：日大医誌，15，335，1956.
- 20) Maclean, D.: J. Path. Bact., 44, 47, 1936.
- 21) Dvithie, E.S. & Whyllie, T.A.H.: Brit. J. Exp. Path., 26, 130, 1945.
- 22) Todd, E.W.: J. Exp. Med., 55, 267, 1932.
- 23) Rantz, L.A. & Raudall, E.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 59, 221, 1945.
- 24) 高橋昭三：臨床病理，8，1，1962.
- 25) 財部正郎：日大医誌，15，601，昭34.

- 26) Tuevall, G.: Acta. Paediat., 35, 231, 1948.
 - 27) Berggoisi, S.: Acta. Med. Scand., 136, 343, 1950.
 - 28) Ivanova, E.Vr: Rev. Microbiol. Epidemiol., 5, 259, 1926.
 - 29) 南浦邦夫：文部省研究報告集録（医学及薬学），昭37年.
 - 30) Ragna, J.: Acta. Path. Microbiol. Scandi. 57, 455,
 - 31) Paul, G & Lewis :
 - 32) 上田泰：内科，12, 236, 昭38.
 - 33) 三木威勇治，高橋利雄：診療，9, 817, 昭31.
 - 34) Lack, C.H. & Towers, A.G.: Brit. Med. J., 2, 1227, 1962.
-

It was 96 cases who were treated with hyposensitization therapy. But in 25 cases the injections were withheld within 3 months (3 cases presenting severe local reaction or asthmatic attack immediately after injection), and 11 cases were suitably reserved to estimate the effect of the treatment. Therefore, it was after all 60 cases that were the object to be estimated the effect of hyposensitization treatment.

Favourable effects (marked effects as in the following parentheses) were observed in 60.0% (30.0%) of serious 10 cases, in 65.2% (34.8%) of 46 middle-grade serious cases, in 100% of 4 less serious cases, and to sum up all, in 66.7% (38.3%) of the total 60 cases, especially in 70.3% (40.7%) of the 27 subjects whose clinical schedule was regularly checked for over one year at least. The above mentioned result of our study on the clinical effects of hyposensitization treatment was nearly the same as were reported by many other preceding investigators.

The proper quantity of antigen extract as maintenance dosage was different case by case. In majority of the subjects the dilution of 10^{-2} ~ 10^{-3} was appropriate for this purpose, while the dilution of 10^{-1} was applied to some cases. And it is necessary not to be over dosage.

As to the period of duration, the author considers that the hyposensitization therapy should be continued as long as possible in case the favourable effect is gained. It is because in some cases asthmatic attacks disappeared while this treatment was carried on for a year to three years and two months, in contrast, however, in some cases taking a favourable course with the hyposensitization treatment, asthmatic attacks began to break out again few months after the stop of this therapy.

Studies on Infectious Allergy of Staphylococcus

Report 1. Anti-staphylolysin α in Various Diseases

Takao Sakamoto

The First Department of Internal Medicine (Director: Prof. Yasuo Kawakami)

School of Medicine, Showa University, Tokyo, Japan

Allergic roles of staphylococcus aureus in human diseases and sensitized animals were studied. Anti- α -hemolysin titers (ASTa) in sera of patients with various diseases were measured.

1) ASTa was found to be highest in diseases of urinary tracts, osteomyelitis and postsurgical pyogenic diseases. Respiratory diseases, rheumatic fever and diabetes also showed relatively high titers of ASTa. Other diseases generally showed low titers, but some of the patients with hepatic or gastric carcinoma and acute glomerulonephritis showed high titers.

2) There could not be found a very intimate relationship between ASTa and staphylococci detected in the clinical specimens, but in urinary tract infections the staphylococcus positive group showed higher titers than the bacteria negative group. In other diseases patients with marked high titers of ASTa generally showed positive staphylococcus cultures.