



Title	結核動物血清の免疫化學的研究(III) : 血清 γ -globulinによる皮膚反応
Author(s)	奥山, 春枝; OKUYAMA, Harue; 森川, 和雄 他
Description	
Citation	結核の研究, 3, 105-113
Issue Date	1956-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26586
Type	departmental bulletin paper
File Information	3_P105-113.pdf



結核動物血清の免疫化学的研究 (III)

血清 γ -globulin による皮膚反応*

奥山春枝 森川和雄

(北海道大学結核研究所病理部)

(受付 昭和30年12月5日)

結核の免疫機構の解明の手がかりとして著者は、結核動物血清蛋白分層の変動を追求してきた。即ち Tiselius 電気泳動装置¹⁾ 及び濾紙電気泳動装置²⁾ を用いて結核感染兔の血清蛋白分層の変動をしらべて、結核菌感染によつては γ -glob. が著明に増加し、旧ツベルクリン脱感作時、旧ツベルクリンまたは結核菌による試験管内吸取時、及び毒力菌の静脈内再感染時には γ -glob. 及び α -glob. が著しく減少することをみとめたのである。

ここで、最も変動の著しかつた γ -glob. について、ツベルクリンの皮膚アレルギーと如何なる関係にあるか研究するために、分割 γ -glob. で被動性の皮膚反応を行い、更にその組織像について結核動物の腹腔内細胞による被動性の皮膚反応と比較した。

I. 低温アルコール処理法による血清 γ -globulin の分割

1. γ -glob. 分割法

γ -glob. の分割は2度行つたが、** 最初は Cohn³⁾ によつて始められた血漿から分離するアルコール低温処理法を応用し、⁵⁾ 2度目は同様処置で血清から分離する Nichol & Deutsch⁴⁾ の方法によつて行つた。結核家兔血清の γ -glob. (以下結核 γ -glob. と略) は、予じめ tuberculin 反応「以下「ツ」反応と略) を行つて明らかに陽性反応を示し、また血清に旧ツベルクリン (以下旧「ツ」と略) に対する沈降性抗体をもつている兔の血漿または血清を、5羽分混合し、正常家兔血清 γ -glob. (以下正常 γ -glob. と略) は結核感染の機会がなかつた正常兔の血漿または血清

を4羽分混合したものについて分割を行つた。アルコール処理により沈澱した γ -glob. 劃分は凍結乾燥し、使用するまでデシケータ内低温で保存した。

2. 分割 γ -glob. の性状

i. γ -glob. の抗体価

γ -glob. を生理的食塩水 (以下生食水と略) で1%溶液とし、旧「ツ」4倍稀釈液及びH₂菌体水抽出液原液を抗原として、沈降反応重層法で抗体価をしらべた。表1にみるように結核 γ -glob. では4倍乃至8倍稀釈陽性の成績が得られたが、正常 γ -glob. では両抗原に対する抗体は陰性であつた。

表1 γ -globulin の抗体価 (沈降反応重層法)

分割成分 (1%)	抗原	
	旧「ツ」	H ₂ 水抽出液
結核 γ -glob. (a)	1:4	1:4
同上 (b)	1:8	1:4
正常 γ -glob. (a)	1:0	1:0
同上 (b)	1:0	1:0

ii. γ -glob. の濾紙電気泳動図

分割 γ -glob. を結核家兔血清と同時に濾紙電気泳動法⁶⁾ で分析した。図1及び図2は泳動図及び泳動曲線であつて、結核及び正常 γ -glob. 共明らかに血清 γ -glob. と同じ易動度を持ちかつ他の分割を殆んど含まないことが確められた。

* 本論文要旨は、日本病理学会誌、44巻、217 (昭和30) に掲載した。

** 本分割に、北海道大学低温科学研究所林助教授及び前川助手の指導及び御援助を頂いたことを深く感謝する。

1) Meguro, H. and Morikawa, H.: Jap. J. Tbc., 2 229 (1954)

2) 奥山, 森川: 結核の研究, 3, 99 (1955)

3) Cohn, E. J.: J. Amer. Chem. Soc., 68, 459 (1946)

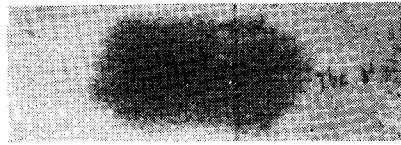
4) Nichol, J. C., & Deutsch, H. F.: J. Amer. Chem. Soc., 70, 80 (1948)

5) Oncley, J. L., Melin, M., Richert, D. A., Cameron, J. W. & Gross, P. M.: J. Amer. Chem. Soc., 71, 54 (1949)

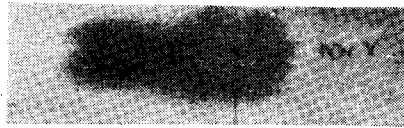
iii. 旧「ツ」による試験管内吸収試験

分割 γ -glob. 1%生食水溶液に等量の旧「ツ」原液を加え、37°C 2時間、一夜水室に放置し、2500 廻転 10 分遠心上清で電気泳動を行った。図3は同時に行つた吸収前後の泳動曲線を重ねてグラフに描いたものであるが、結核 γ -glob. では低易動度側が僅かに減少するのがみられたが、正常 γ -glob. では略同じ曲線が得られた。

結核兔 γ -glob.



正常兔 γ -glob.



結核動物血清 (T39)

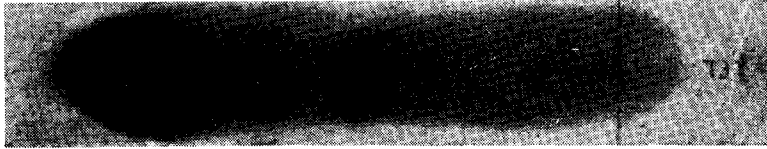


図1 分割 γ -glob. の濾紙電泳動図

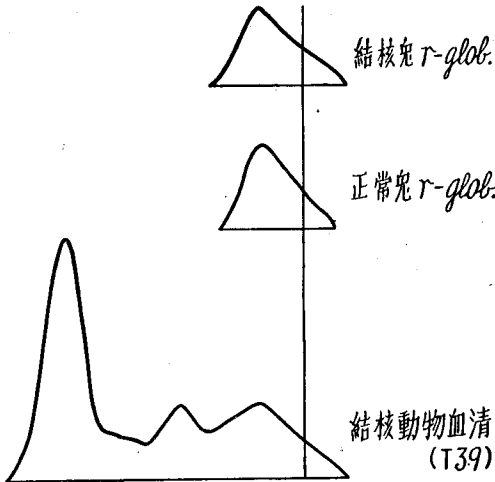


図2 分割 γ -glob. の濾紙電気泳動曲線

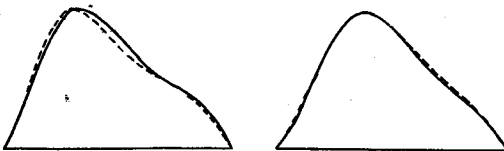


図3 分割 γ -glob. の試験管内吸収前後の泳動曲線 — 吸収前 - - - 吸収後

3. 分割 γ -glob. による皮膚反応

皮膚反応の方法は、Prausnitz-Küstner⁷⁾ 法によつて行つた。すなわち、生食水で γ -glob. の溶液を作り、その 0.2ml を、毛を缺で可及的短く刈つた家兔の背中の皮内に注射し、24時間後旧「ツ」の 40 倍稀釈液 0.1 ml または対照として生食水同量を γ -glob. 注射部位に皮内注射し、更にその 24 時間後に反応の強さを測定した。なお成績を示した表及び図の数値は、発赤の大きさの縦横径をかけたこれに反応部の増加した皮膚の厚さすなわち浮腫の程度をかけ合わせて 100 で割つた値である。いずれも数回の実験結果の平均値である。

i. 正常兔における皮膚反応 γ -glob. の 2, 1, 0.5 及び 0.1

%溶液で得られた成績を図4に示した。すなわち、濃度の増加につれ反応の強さが増加するのがみられた。結核 γ -

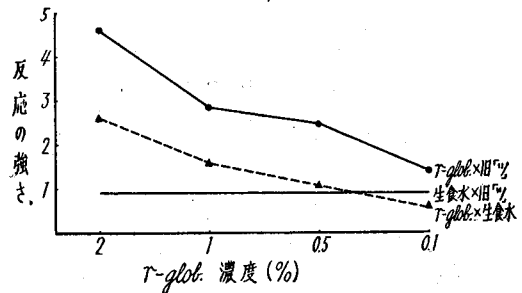


図4 結核兔 γ -glob. による皮膚反応 (1)

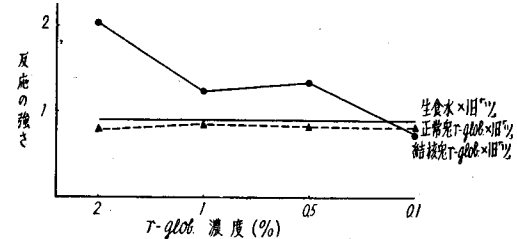


図5 分割 γ -glob. による皮膚反応 (2)

6) 森, 小林: 濾紙電気泳動法の実際, 南江堂 (1955)
7) Pranusnitz, C., and Küstner, H.: Centralbl.

glob. の前処置をした部分に、旧「ツ」の代りに生食水を注射した場合でも、 γ -glob. 濃度の高い方で陽性反応がある程度みられたが、旧「ツ」を注射した方が強い反応を示した。ここで確実に非特異的反応と考えられる γ -glob. 注射部位に生食水を再注射した場合の反応値を、旧「ツ」の注射で得られた反応値から引いて次の図を作製した。5図に見られるように、正常 γ -glob. に旧「ツ」を challenge した場合と、生食水を前処置として旧「ツ」で反応をみた場合とは略同程度の反応であつて、濃度による差は殆んどないといつてよいが、結核 γ -glob. に旧「ツ」を challenge した場合はこれらより強い反応であり、しかも濃度の高い程強い反応がみられた。

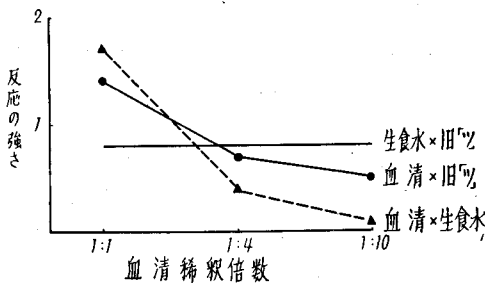


図6 結核兔血清 (T40) による皮膚反応

更に本実験方法により γ -glob. の代りに血清で反応をしらべた。血清は原液、4倍及び10倍稀釈液を用いたのであつて、 γ -glob. の絶対量にすれば前記実験の1%以下の濃度に大体相当するのであるが、それにしてもその程度は非常に弱く、血清に生食水を challenge した時の非特異的反應との差は非常に僅かであつた。

ii. 結核兔における皮膚反応

結核兔の「ツ」反応が γ -glob. によつて如何に修飾

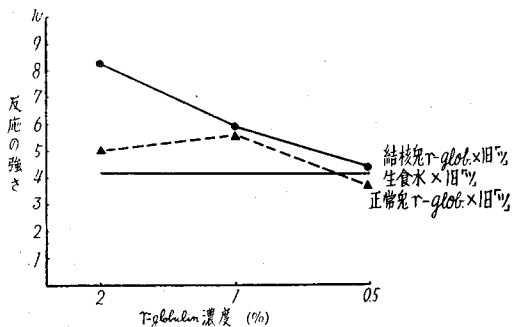


図7 結核兔における分割 γ -glob. による皮膚反応

されるかをみるために実験した。すなわち前記皮膚反応実験における正常家兔の代りに、結核兔を使用したの

る。結果は、図5に示したと同様な図を作製して図7に示した。これで見られるように、被注射兔自体が40倍稀釈旧「ツ」に対し直径15×15mmに達する「ツ」反応を示すのであるが、これに γ -glob. を注射すると、1%及び2%では反応がやや増強し、特に2%溶液では、結核 γ -glob. 注射部ははるかに強い反応がみとめられた。

II. 濾紙電気泳動法による血清蛋白分層の分割

1. 分割法

α -、 β -、及び γ -glob. 各分層を得るのに最も手近なしかも簡便な方法として濾紙電気泳動法を利用した。すなわち、小林式濾紙電気泳動装置によつて分層が可能な程度に多量の結核血清を泳動し、泳動終了後その一部を染色して各分層の進行距離を確かめ、それに合わせて各分層を切離して生食水中に浸し、氷室に一夜おいて翌日液をしぼり出して濾紙を除いた。必要濃度に達するまで同じ生食水溶液で同じ装作を繰返した。なお浸出液中の蛋白濃度は日立蛋白計で測定した。

2. 結核血清分割成分による皮膚反応

α -、 β -、及び γ -glob. はそれぞれ0.4%、1%及び1.1%の溶液を得ることが出来た。この原液0.2mlを用いて Prausnitz-Küstner 法に準じて「ツ」に対する皮膚反応を行つた。表2にみられるように何れも反応が殆んど表われず、処置部に旧「ツ」を注射した場合に僅かにみられるようであるが、しかし他の分層と明らかに区別しうる程のものではなかつた。

3. 吸着剤添加蛋白分層による皮膚反応

表2 結核血清の濾紙電気泳動的分割成分による皮膚反応

前注射	後注射	
	旧「ツ」	生理的食塩水
α -glob. (0.4%)	0	0
β -glob. (1.0%)	0	0
γ -glob. (1.1%)	0.2	0

分割された蛋白溶液に1%の割合に水酸化アルミニウムを加え、37°C 2時間、一夜氷室に放置後、そのまま、0.2mlを皮内に注射して前処置とした。各分層濃度は表2に示したと同じであつて、旧「ツ」注射24時間後の成績を表3に示した。なお結核血清原液に同様処置を行つて皮膚反応を同時に行つた。表にみられるように旧「ツ」の代りに生食水を注射した部でも軽度ではあるが発赤がみられた。その強さは、 α -、及び β -glob. では旧「ツ」を注射した部と同程度であつた。これに反し γ -glob. 注射部は、

表3 吸着剤添加した結核血清及びその濾紙電気泳動的分割成分による皮膚反応

前注射		後注射	旧「ツ」	生理的食塩水
吸着剤添加	α -glob.	(0.4%)	0.2	0.2
	β -glob.	(1.0%)	0.4	0.5
	γ -glob.	(1.1%)	2.6	0.3
	結核血清(原液)		0.9	0.1

生食水対照に比し明らかに旧「ツ」による陽性反応がみられた。また血清注射部における旧「ツ」に対する反応は γ -glob.よりは軽度であるが、生食水対照に比し強い反応がみられた。

4. 吸着剤添加 γ -glob.による皮膚反応の時間的経過

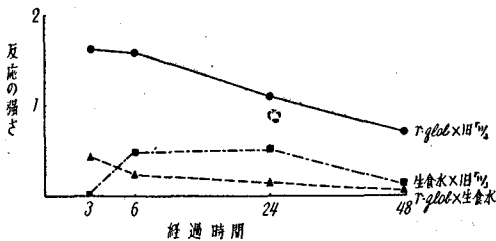


図8 水酸化アルミニウム添加結核 γ -glob.による皮膚反応の時間的経過

図8に示したように吸着剤添加 γ -glob.で前処置した皮膚の部に旧「ツ」を注射すると、3時間後からすでに対照である旧「ツ」の代りに生食水を注射した部より強い反応がみられ、24及び48時間後にはやや減弱を示した。一方食塩水を前処置とした部に旧「ツ」を注射した場合は6、24時間後に僅かに反応が強くなるようであったがその程度は非常に弱いものであった。

III. 結核動物腹腔内細胞による皮膚反応

結核感染後3週間の兔3羽の腹腔内に、滅菌流動パラフィン50ml宛注入し、72時間後屠殺し、クエン酸ソーダ加Tyrode液の大量で腹腔内を洗って細胞を集めた。これを1500回転速心10~15分を数回行つて表5のような細胞浮游液を得た。この細胞液を0.4ml宛正常家兔皮内に注射し、24時間後100倍稀釈旧「ツ」0.1mlを同部に皮内注射して、その後時間毎に反応をしらべた。反応の強さは図9に示した。旧「ツ」注射部は6時間後からすでに相当強い反応がみられ、後減少の一端をたどり、48及び72時間では略同じ強さの反応を示した。旧「ツ」の代りに生食水を前処置した場所に注射した場合は、6、24時

表4 被動感作に用いた結核動物腹腔内細胞液の分析

細胞総数(0.1 ml中)	2,800,000
単球	66.4%
リンパ球	10.9%
多形核白血球	19.2%
上皮細胞	3.5%

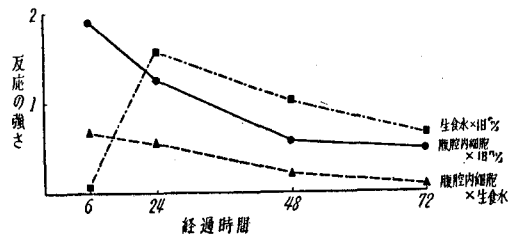


図9 結核兔腹腔内細胞による皮膚反応の時間的経過

間にやや明らかな発赤を示したが48乃至72時間には僅かに発赤がみられる程度となつた。一方前処置として生食水を注射し、24時間後旧「ツ」を注射した部は、6時間では殆んど反応がみられない位であつたが、24時間後は明らかな発赤を示し、しかも細胞液前処置後旧「ツ」を注射した部より強い程であり、後次第に減弱した。

IV. 反応皮膚の組織学的所見

1. 結核動物腹腔内細胞注射部の皮膚反応の組織学的所見

結核動物の腹腔内細胞を0.4ml皮内注射し、24時間後100倍稀釈旧「ツ」0.1mlを同部に注射した時の皮膚反応部を、注射後6、24、48、72時間及び5日後に切りとり、10%ホルマリン液で固定後、hematoxylin-eosin染色標本を作つて観察した。

6時間後の所見では、多形核白血球の浸潤が強く、特に深層に多く、単核細胞はごく僅かであるが、24時間後になると注入した細胞の周囲に単球、組織球、線維芽細胞等の単核細胞が豊富にみられるようになり、多形核白血球は少なくなってくる。しかし深層ではまだかなりあつて、表層になるに従い単核細胞が圧倒的となる。注入した細胞は大半は変性を示し、注入細胞塊の中に侵入した多形核白血球の核破壊物が沢山みられる。48時間後になると、瀰漫性の細胞浸潤がやや弱くなつてはいるが、単核細胞が集団をなしており、多形核白血球はごく僅かにみられるにすぎない。72時間後になると、更に浸潤細胞数は減少し、所々に単核細胞の集団的な浸潤がみられるのみである。これら

の集団は血管周囲に多くみられる。また単核細胞の形は核の大きく明るい大型の細胞が多くなっている。注入した細胞は殆んど全部変性して無構造な塊となつている。5日後になると細胞浸潤は殆んど消失しているが、血管周囲になお僅かな単核細胞の集団が残つている。

細胞液前処置後旧「ツ」の代りに生食水を注射した部では、6時間後強い多形核白血球の浸潤があり、特に注入細胞の周辺に多くみられるが、24時間後から浸潤は少なくなってくる。単核細胞が出現してくるが、なおかなり多形核白血球の浸潤がある。48時間後にもまだ多形核白血球が僅かに残つている。注入細胞の周辺には線維芽細胞の増殖がみられる。72時間後には細胞浸潤は殆んどなく、線維芽細胞の増殖像と、単核細胞の小さな浸潤巣がみられる。5日後には細胞浸潤は殆んど痕跡的にしかみられなくなる。

2. 水酸化アルミニウム添加 γ -glob. 注射部の皮膚反応の組織学的所見

前記実験の細胞浮游液の代りに水酸化アルミニウムを添加した γ -glob. 0.2 ml を皮内に注射し、24時間後100倍稀釈旧「ツ」を0.1 ml 注射した反応部の組織所見を観察した。

旧「ツ」注射6時間後は、多形核白血球の浸潤が中等度にみられる。特に注入 γ -glob. の部分に多形核白血球が多量に浸潤し、核破壊物もみられる。24時間後になると、6時間後より全体として浸潤強く、単核細胞の量が多くなっている。特に γ -glob. 注入部には大型の明るい核をもつた単核細胞が出現している。しかしながら、多形核白血球の浸潤もまだかなりみられ、特に深層部に多く、表層部では単核細胞が多くなっている。一部には核破壊物がみられる。48時間後になると細胞浸潤は弱くなり、所々に小さい集団をなした、線維芽細胞の増殖を伴つた単核細胞の浸潤がみられる。72時間後では更に弱く、注入 γ -glob. の部に局限して単核細胞の強い浸潤がみられる。5日後では殆んど細胞浸潤が消失している。

前処置後旧「ツ」の代りに生食水を注射した部では、6

時間後かなり広汎な瀰漫性の多形核白血球の浸潤があり24時間になると細胞浸潤が6時間より弱く、単核細胞が出現しているが多形核白血球の方がまだ相当多くみられる。48時間後には更に細胞浸潤弱く、僅かな瀰漫性の単核細胞の浸潤のみで、72時間、5日になると殆んど細胞浸潤はみられない。

総括及び考按

緒言に述べたように、結核動物血清の蛋白分層の変動の追求^{1,2)}によつて、 α -及び γ -glob. 特に γ -glob. は著明な変動を示すことが確かめられ、これらの分層が結核感染と何らかの関係をもつことが知られたのである。今日までの多くの研究者の報告の中にも γ -glob. と各種抗体間の関係について論じているのが見出される。すなわち、Emmart & Seibert⁸⁾ は、孵化鶏卵漿尿膜上の結核結節形成が γ -glob. によつて抑制されるといい、松岡⁹⁾ は slide cell culture 法を用いて結核菌増殖阻止作用のあることを述べ、西谷、浅野¹⁰⁾ もまた γ -glob. 結核菌発育阻止作用を報告している。また血清学的反応の方面においても相互の関係が認められている。^{11,12,13)} しかし「ツ」反応との関係については明らかでなく、金上¹⁴⁾ は「ツ」反応の強さと γ -glob. の量との間には相関関係は認められないといっている。最近発表された Cole & Favour¹⁵⁾ 等の血漿分劃成分の被動性皮膚反応に関する報告によると、 α -glob. 分劃が tuberculoprotein に対し遷延性の反応を表わし、 γ -glob. 分劃は tuberculopolysaccharide に対し即時性反応を示す抗体を含んでいるといっている。このように血清蛋白分層と「ツ」反応における抗体との関係は現在のところ決定的な証明がないといえる。

皮膚反応に関与する抗体は、血清学的な免疫反応を示す抗体と如何なる関係にあるかということは結核においてのみならず、異種蛋白感作時あるいは他の感染時においても問題のある所である。異種蛋白感作時に於ては、血清学的な抗体と皮膚反応性抗体が密接な関係をもつものであるが、¹⁶⁻²⁰⁾ 最近では非沈降性の抗体²¹⁾ というものが

- 8) Emmart, E. W. & Seibert, F. B.: J. Immunol., 50, 143 (1945)
- 9) 松岡: 結核, 29, 42 (1954)
- 10) 西谷, 浅野: 医学と生物学, 23, 104 (昭27)
- 11) Brodhage, H.: Beitr. Klin. Tbk., 107, 494 (1952)
- 12) Baldawin, R. W., Iland, C. N.: Amer. Rev. Tbc., 68, 372 (1953)
- 13) 原沢, 吉田, 土屋: 総合医学, 10, 477 (1953)
- 14) 金上: 抗菌病誌, 1, 124 (昭28)
- 15) Cole, L. R. & Favour, C. B.: J. Exp. Med., 101,

391 (1955)

- 16) Culbertson, J. T.: J. Immunol., 29, 29 (1935)
- 17) Cannon, P. R. & Marshall, C. E.: J. Immunol., 40, 127 (1941)
- 18) 緒方: 血清学の領域から (1945)
- 19) Fischel, E. E. & Kabat, B. A.: J. Immunol., 55, 337 (1947)
- 20) Benacerraf, B. & Kabat, E. A.: J. Immunol., 64, 1 (1950)

大きな問題となつてきているようである。例えばチフテリアの場合^{22,23,24} また pollen allergy^{25,26} の場合、非沈降性抗体が皮膚反応に大きな役割をもつていると考えられるようになってきている。結核における皮膚反応性は、Corper²⁷ によれば結核免疫とは全然別個のものであるといわれており、血清による被動性の皮膚反応が出深ないといわれていることと共に、結核感染時の免疫反応機構は異種蛋白感作時のように簡単なものではないことを考えさせるのである。しかしまた「ツ」反応陽性を示す結核動物または結核患者では、 γ -glob. が最も変動が著しいことや、Kuhns²³ がチフテリア血清で、皮膚反応をおこす抗体が γ -glob. にあることを述べていることから、一応 γ -glob. と皮膚反応性抗体との関係を追求する必要があると思うのである。著者等はこの考えから γ -glob. を分割して被動性の皮膚反応をおこそうと試みたのである。

血清蛋白分層の分離法には塩析法、電気泳動法及びアルコール低温処理法等があるが、著者の今回の γ -glob. の分割法としては最後の方法を用いた。この方法によると、血清からは一番初めに、また血漿からは線維素原の次に、沈澱として得られるので収量は割合に多い。かくして得られた分割を濾紙電気泳動法で分析すると単一の曲線を描き、 γ -glob. だけが含まれているものと思われる。しかし試験管内吸収試験では吸収前後の曲線の形の変化はあまりみられなかつた。一方各 glob. 分層の分割には濾紙電気泳動法を利用した。Wunderly²⁸ 等によると、泳動濾紙を0.85%食塩水に2°C 6~8時間浸し、後しぼり出して、これを15%の高分子のdextranで透析して濃縮する方法をのべているが、著者は濃縮の手数を省略するために、できるだけ少量の食塩水で溶出し、蛋白濃度を高めるために同じ生食水で何度も溶出を行つた。この方法は、大量の生食水で溶出して濃縮する方法に比較して、利用されずに捨てられる蛋白質が多くなるが、実際にはこの方が簡便であり、しかも蛋白濃度1%濃度のものが3回位の溶出で得られた。

アルコール分割法で得た γ -glob. は、その1%溶液でしらべた所では、沈降反応でみられたように明らかに抗体を含んでいる。抗体価は4倍または8倍稀釈陽性であつて結核動物血清にみられる16乃至32倍陽性に比し低いよ

うであるが、この場合の血清内の γ -glob. 量は少なくとも1.0g/dl以上になつていることから、この実験の1% γ -glob. 濃度の抗体価は当然と考えられる。

この γ -glob. を Prausnitz-Küstner 法で皮膚反応を行い、この際対照として γ -glob. を注射して24時間後に旧「ツ」の代りに生食水を注射したのであるが、対照においても発赤がある程度表われるようである。これは、 γ -glob. による非特異的な反応と考えられるのであるが、低温で処置するとはいえ、血清をアルコールで処理することはいくらかの変性を γ -glob. に採すことも一因となるであろう。5図に示したように旧「ツ」を注射して表われた反応値から生食水によつて表われた反応値を引いた値は、前処置が正常 γ -glob. の場合についていうと、その対照実験である γ -glob. の代りに生食水を注射しておいて旧「ツ」を注射した部と殆んど同じか、むしろ弱い位の値が示されている。このことから、正常 γ -glob. では旧「ツ」と反応するものが殆んどないと考えてよいと思われる。これに反し結核血清の γ -glob. では対照より明らかに高い値を示している。特に2%という高濃度では差が大きい。また結核兎の皮膚を用いた場合も同様著明な差がみられる。これらのことから、高濃度の γ -glob. は、旧「ツ」と皮膚反応をおこし得るものと思われる。

次に、Prausnitz-Küstner 法の場合は、当然注入した血清また γ -glob. は相当量その部より失われる可能性がある。そこで、できるだけ長い間局所に γ -glob. を留めておく目的で、吸着剤として使われている水酸化アルミニウムを加えた。この遠心上清についても電気泳動を行い更にその抗体価をしらべたが、吸着剤添加前後では8倍稀釈陽性のものが4倍稀釈陽性まで低下し、また遠心により沈澱した水酸化アルミニウムを、生食水でもとの濃度とした液を皮膚に注射して旧「ツ」との反応をみると、生食水対照部より、遠心しない場合に比し軽度であるが強い反応がみられている。更に α -及び β -glob. 分割を水酸化アルミニウムと混合し、これで旧「ツ」との皮膚反応をみたが対照の生食水注射の場合と差がなかつたが、 α -glob. については濃度がうすかつたために β -あるいは γ -glob. と同じ様には判定出来ずまた結論も下し得ない。これらの成績から γ -glob. で陽性成績を得たことは吸着剤の添加が γ -

21) Waksman, B. H.: J. Immunol., 70, 331 (1953)

22) Kuhns, W. F. & Pappenheimer, A. M.: J. Exp. Med., 95, 363; 375 (1952)

23) Kuhns W. F.: J. Exp. Med., 99, 577 (1954)

24) Ovary, Z. & Biozzi, G.: Int. Arch. Allergy, 5, 241 (1954)

25) Sherman, W. B., Stull, A. & Hampton, S. F.: J.

Immunol., 36, 447 (1937)

26) Winkenwerder, W. L., Eagle, H. & Arbersman, C. E.: J. Immunol., 36, 435 (1939)

27) Corper, H. J.: J. Lab. Clin. Med., 31, 346 (1946)

28) Wunderly, C., Gloor, E. and Hässig, A.: Brit. J. Exp. Path., 34, 81 (1953)

glob. を局所により豊富にとどめているものと思われる。

以上の成績からみると、 γ -glob. には、被動性に注射すると旧「ツ」と反応して皮膚反応をおこす物質が含まれると考えたい。然し、ここまでの実験は全部旧「ツ」注射後 24 時間の判定成績である。従つてここに表われた陽性反応がツベルクリンに含まれる何かの抗原物質に対する Arthus 現象かもしれないのである。今日までの「ツ」反応の被動感作に関する報告を通覧すると、結核動物の血清で成功したと云うのは Zinsser & Mueller²⁹⁾ の報告位のもので、1945年に Chase³⁰⁾が腹腔内細胞で被動感作が出来ることを報告して以来は、専らこの方面の研究が盛³¹⁻³⁶⁾になされ、そして成功しているのである。そして Schmid et al³⁷⁾ は、組織液中に証明される結核性抗体は、細胞の生理的崩壊によつて、細胞から組織液に移行したものであると述べている。一方 Lawrence³⁸⁾ は人間の末梢白血球の融解したもので「ツ」感受性を移行できるといい、また Cole & Favour¹⁹⁾ も分割した血清蛋白分屑で被動性の「ツ」反応をおこし得たと報告している。但し彼等は、 γ -glob. では tuberculopolysaccharide に対する反応であつて即時性の反応を示すといつている。

今回著者等の実験においても、 γ -glob. による皮膚反応が軽度ながら証明し得たのであるが、この性状の決定のための方法として、旧「ツ」注射後の時間的経過と、その時の組織所見をしらべてみた。肉眼的には、水酸化アルミニウム添加結核 γ -glob. では、3 時間からすでに強い発赤がみられ、爾後次第に減弱の傾向がみられている。 γ -glob. 注射部に生食水を注射した場合も同様に次第に減少の傾向であるが、その反応程度は全体的にはるかに低い。ところが γ -glob. の代りに生食水を注射しておいて旧「ツ」を注射すると、6 時間から反応が表われ、24 時間が最高で 48 時間では低下している。また結核動物腹腔内細胞液で被動感作を行つて γ -glob. の成績と比較してみたが、この場合も案に相違して、細胞液注射部に旧「ツ」を注射した所は初めが最も強く次第に減弱する傾向がある。そしてこのように被動感作を行つた動物に、細胞を注射していない部の皮内に旧「ツ」を注射した場合は、初期の反応がな

く、24 時間が最高であり、以後次第に低下するという成績を得ている。これをみると、上述の 3 時間乃至 6 時間が最も強い反応が表われたのは、水酸化アルミニウム添加または細胞そのものの注射が、皮膚局所に強い異物性刺激を与えたためでないかと考える。しかし、旧「ツ」の代りに生食水を注射した部は割合に反応が低いのであるが、それ自身で毒性をもつている旧「ツ」の注射は、更にその異物性刺激を高めるのではないかと考えられるので、旧「ツ」注射後短時間の強い反応は特異的反應というより異物反応によるものであろう。従つて、水酸化アルミニウム添加 γ -glob. 乃至結核動物腹腔内細胞液の被動感作を行つた兎の、前処置場所より離れた新しい場所に旧「ツ」を注射した場合の反応が本来の「ツ」感受性判断の資料にならう。即ち細胞注射にはこの旧「ツ」に対する反応は 24 時間が最高で、48 時間及び 72 時間には次第に低下を示している。この際の曲線は、いわゆる遷延性の反応型を示していると思われる。一方 γ -glob. 注射の場合は旧「ツ」に対する反応が非常に弱いが、6 時間より反応が表われ始め 24 時間が最高で、48 時間では僅かの発赤を示す程度となる。これは細胞注射時よりも反応が速く経過するようであり、また旧「ツ」に反応する物質の量が細胞注射の方がはるかに多いことを示している。その組織所見においては、細胞注射時は初め多形核白血球が多数出るが、24 時間後からは単核細胞が圧倒的となり、次第に減少し始めるが、5 日後もなお少数の単核細胞の集団がみられる。 γ -glob. 注射部は、細胞注射部より全体としての反応が弱いが、初期はやはり多形核白血球の浸潤が強く、24 時間後になり単核細胞が多くなつてきて、注入した γ -glob. の周辺に豊富にみられるが、多形核白血球もまだかなり多くみられる。そして 72 時間頃まで細胞浸潤が軽度ながら認められるが、5 日では殆んどみられなくなつていく。即ち細胞液注射時より消失が速いようである。しかし旧「ツ」の代りに生食水を注射した対照に比較すると、反応は強く、また単核細胞の出現が割合速く高度であり、その全経過もやや長びくようである。即ち、 γ -glob. 注射部に旧「ツ」を注射した場合の反応の経過中の細胞浸潤の程度及び経過時間は、細胞浮游

- 29) Zinsser, H. & Mueller, J. H.: J. Exp. Med., 41, 159 (1925)
 30) Chase, M. W.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 59, 134 (1945)
 31) Kirchheimer, W. F. & Weisser, R. S.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 66, 166 (1947)
 32) Stavitsky, A. B.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 67, 225 (1948)
 33) Metaxas, M. N. & Metaxas-Bühler, M.: Proc. Soc.

- Exp. Biol. & Med., 69, 163 (1948)
 34) Sandage, C. N. & Birkeland, J. M.: Soc. Amer. Bact., 49, 74 (1949)
 35) Wesslen, T.: Acta tuberc. Scandinav., 26, 175 (1952)
 36) 深瀬他: 日本内科学会雑誌, 42, 61 (昭28)
 37) Schmid, F., Essler, H. and Hagge, W.: Beitr. Klin. Tbk., 108, 237 (1953)
 38) Lawrence, S. H.: J. Clin. Inv., 33, 951 (1954)

液注射部に旧「ツ」を注射した場合におこる遷延性の反応と、 γ -glob. 注射部に生食水を注射した対照との丁度中間の形を示している。

「ツ」反応の Arthus 現象乃至異物反応と異なる所は遷延性の反応であつて、その組織像においては、Dienes & Mallory³⁹⁾ が単核細胞の反応が主で、多形核白血球が優位を占めることがないというのである。しかしこれらに対する反証も豊富であり、Rich⁴⁰⁾ は「ツ」反応でも初期は多形核白血球が優位で、次いで単核細胞が優位になるのであつて、基本的には普通の炎症反応と変らないと述べている。また仙場⁴¹⁾、仙場、小野江⁴²⁾ は精製したツベクリン蛋白劃分による反応において、初期はやはり多形核白血球性反応であつて、Arthus 現象とはその本質的な細胞浸潤の推移は変りなく、ただ「ツ」反応の方が単球性の性格が強かつ遷延性であるといつている。また、別の立場より Raffel et al⁴³⁾ は、卵白アルブミンであつても結核菌の wax と混じて感作すると、その皮膚反応は遷延性になることを報告しており、Gell and Hinde⁴⁴⁾ は、Arthus 現象に遷延性の要素が混合しているといい、Arthus 型の反応の場合は、単核細胞が形質細胞まで増殖して遊離性の抗体を産生するが、「ツ」型の反応は形質細胞の産生までいかない所の不完全な免疫反応であるという作業仮説をたてている。これらの報告を総合して考えてみると、Arthus 現象と「ツ」反応を、反応経過における組織学的な細胞の変化のみでは確然とした境界を劃することはむずかしいと思われる。著者等の γ -glob. による被動感作の成績は、前述の如く細胞性被動感作例にみた反応より弱く、また一方 γ -glob. そのものによる非特異的反應よりはたしかに強く、丁度その中間型を示しているものと思われ、従つて「ツ」型皮膚反応を起しえたという積極的証明は出来なかつたが、さりとて Arthus 型の反応とみるのも若干の不都合が感ぜられ、再検討が必要である。

また今回の実験で検討した γ -glob. のみでなく、他の glob. 分層についても尚研究の余地があり、また抗原分析により純粋な「ツ」型の反応を見出すことが出来る可能性もあると考える。これらについては今後研究をしてみたいと思つている。

結 論

結核動物血清から、アルコール低温処理法及び濾紙電

気泳動法により蛋白分層を分離し、主として γ -glob. について Prausnitz-Küstner 法による家兎の被動性皮膚反応を行い、次の結果を得た。

1. 結核動物血清のアルコール低温処理法で得られた γ -glob. は、その 1% 溶液で 4 乃至 8 倍陽性の抗体価を示した。

2. γ -glob. 注射部の旧「ツ」による皮膚反応は、生理的食塩水対照より強い反応を示し、特に 2% γ -glob. 濃度で著明であつた。

3. 濾紙電気泳動法で劃分した α - 及び β -glob. 分層は、被動性の皮膚反応を示さなかつた。

4. γ -glob. に水酸化アルミニウムを添加した場合は明らかに陽性反応がみられた。特に γ -glob. 注射部以外の部で、旧「ツ」だけを注射した反応は、6 時間後から出現し、24 時間が若干高く、48 時間では殆んど消失した。

5. 皮膚反応部の組織所見を、結核動物腹腔内細胞被動感作部の皮膚反応のそれと比較した所、初期は何れも多形核白血球の浸潤が強いが、単核細胞浸潤は、特に細胞浮游液注射時において長期かつ強度であつた。

6. 以上の成績から、 γ -glob. 注射により旧「ツ」に対する皮膚反応が生じられることが証明されたが、その反応が「ツ」型のものであると断定するには若干の再検討の余地を残している。

写 真 説 明

写真 1 結核家兎腹腔細胞 0.4 ml を正常家兎の皮内に注射後、24 時間目に旧「ツ」100 倍稀釈液 0.1 ml を同じ場所の皮内に注射し、24 時間後の所見。単核細胞の強い浸潤がみられる。

写真 2 結核家兎血清 γ -globulin 2% 液 0.2 ml を正常家兎の皮内に注射後、24 時間目に旧「ツ」100 倍稀釈液を同じ場所の皮内に注射し、24 時間後の所見。単核細胞の浸潤の他にかなりの多核球が認められる。

写真 3 同上 γ -globulin に水酸化アルミニウムを添加した浮游液 0.2 ml を同様に注射した部に、24 時間後旧「ツ」100 倍稀釈液 0.1 ml を注射し、24 時間後の所見。浸潤細胞として単核細胞が優勢に認められる。

写真 4 同上 48 時間後の所見。24 時間後より反応は弱いが、殆んど単核細胞からなる。

以上染色は全て hematoxylin-eosin 染色。

39) Dienes, L. & Mallory, T. B.: Amer. J. Path., 8, 689 (1932)

40) 隈部: リッパ結核の病理発生論上, 岩波 (昭29)

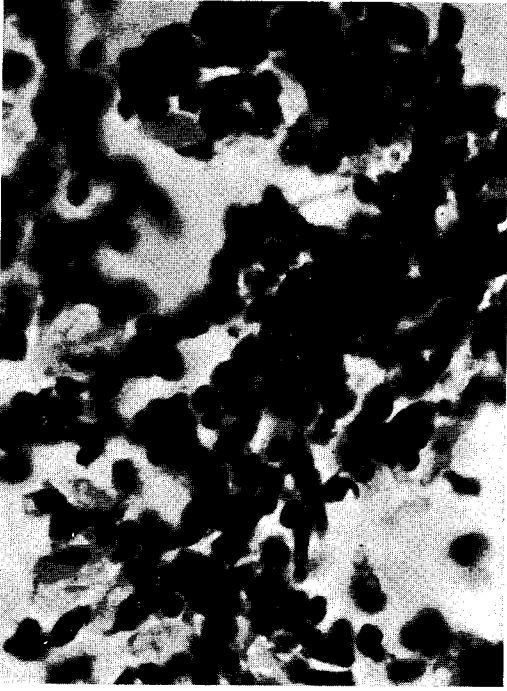
41) 仙場: 札幌紀要, 2, 184 (1951)

42) 仙場, 小野江: 日本病理学会々誌, 39, 地方会号 82

(1950)

43) Raffel, S., Arnaud, L. E., Dukes, C. D. & Huany, J. B.: J. Exp. Med., 90, 53 (1949)

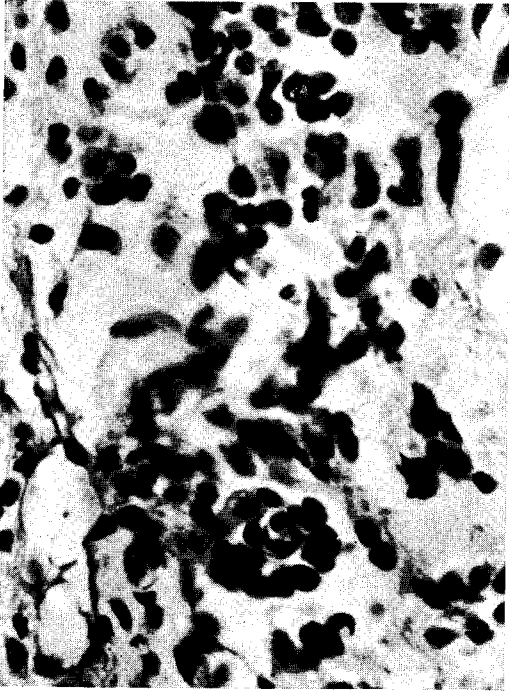
44) Gell, P. G. H. & Hinde, I. T.: Int. Arch. Allergy, 5, 23 (1954)



写 真 1



写 真 2



写 真 3



写 真 4