HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	結核菌体粗蠟分画のArthus現象に及ぼす影響について
Author(s)	佐々木, 卓; 伊藤, 幹夫; 高木, 重敏 他
Description	
Citation	結核の研究, 5, 68-73
Issue Date	1956-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26610
Type	departmental bulletin paper
File Information	5_P68-73.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

結核菌体粗蠟分画の Arthus 現象に及ぼす影響について*

佐々木　卓　伊藤幹夫
高木重敏　小杉秀之進
（北海道大学結核研究所病理部　森川和雄助教授）

（昭和 31 年 8 月 31 日受付）

結核死菌接種が動物にツベルクリン感受性を与える事実は，既に古くから認められていたが，一体菌体のどの成分がその active principle であるかという問題の解決として，従来定説としてあげられるものが無いといつてよいと考えられる。つまり数多くの研究にもかかわらず定型的なツベルクリン型反応を菌体成分によつて与えようとの試みは，多く失敗に帰している。しかしながら，最近のこれ等の問題に対する数々の研究は，非常に明るい見通しをつけたものと考えられよう。

その一つとして Raffel 一派の興味ある報告が見られる。[1)2)] 即ち菌体の Wax 分画に菌体蛋白をを混じて正常動物に注射すると，定型的ツベルクリン型感受性を賦与し得るといい，更に，この wax を添加しさえすれば，菌蛋白だけでなく，結核菌と何の関係もない異種抗原である卵白とか，馬血清でも，それぞれの抗原に対し，ツベルクリン型の，即ち遅延型の反応を起すというのである。

われわれは，これ迄ツベルクリン型アレルギー反応の本質を再検討するために数多くの実験を行つて来たが，その一環として，ここにこの菌体 wax をとりあげ，異種蛋白抗原にこの wax を添加する事が Arthus 現象に如何なる作用をおよぼすかを調べたので，ここにその成績を報告しよう。

実験材料および方法

I）実　験　材　料

1) 動物は体重 2500～2800 g の成熟家兎 6 羽を各群 2 羽宛 3 群に分けて使用した。

2) 感作材料として

① 30 日培養の H 37 Rv 株加熱死菌を ether-alkohol で抽出し，残渣を更に chloroform で再抽出したものを乾燥した粗蠟成分（以下 wax と称する）344 mg を，4 c.c. のオレーフ油に融かし，この半量を 1 %卵白アルブミン溶液 18 c.c. と共に超音波装置の下で乳濁液となし（以下 a 液と称する）第 I 群に使用した。

② 他の半量は対照群である第III群に，18 c.c. 生理食塩水を以て同様の乳濁液として使用した。（以下 c 液と称する）

③ 更に対照として第II群に 1 %卵白アルブミン溶液を使用した。（以下 b 液と称す）

II）実　験　方　法

1) 第 I 群には a 液を隔日 3 回各 3 ml 宛を臀部皮下に注射した。

2) 第II群には b 液を隔日 3 回各 3 ml 宛臀部皮下に注射した。

3) 第III群には，c 液を隔日 3 回各 3 ml 宛臀部皮下に注射した。

4) Arthus 現象を測定するため，感作後 10 日目 30 日目に 1 %卵白アルブミン溶液 0.1 ml を皮内に注射し，注射後 1 時間 3 時間 6 時間 10 時間 24 時間 48 時間 72 時間の Arthus 現象の推移および判定後直ちに反応部を切除し，皮膚反応の組織像を追求した。

5) 同時に 30 倍稀釈旧ツベルクリン 0.1ml を皮内に注射し，反応の時間的推移および組織学的検索を行つた。

6) また，感作後 10 日目，30 日目における家兎血清について，沈降反応重層法により抗体価の推移を追求した。

7) 更に，感作前，感作後 10 日目，30 日目の血清蛋白を，濾紙電気泳動法により分画し，蛋白計（日立製）による総蛋白量から各分画の絶対量を測定した。

---

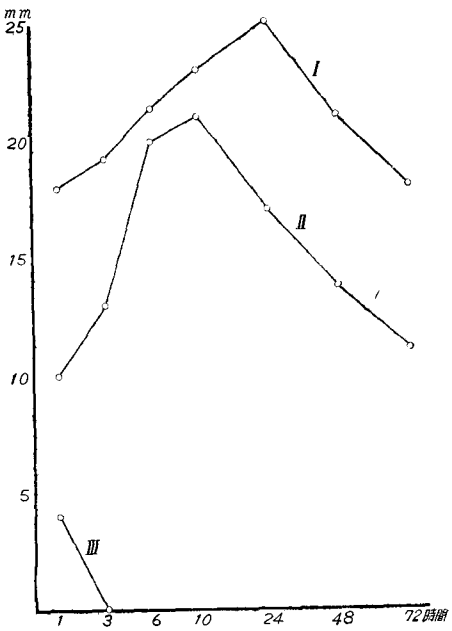
* 本論文要旨は第 45 回日本病理学会総会に発表した。

成　　績

I）感作後 10 日目における卵白アルブミンによる Arthus 現象の推移。（第 I 図参照）

1) 第 I 群においては注射後 1 時間目皮膚反応の大きさは 2 羽の家兎の平均（以下同様）が 18 mm 3 時間 19.2 mm 6 時間 21.4 mm 10 時間 23 mm 24 時間 25 mm 48 時間 21 mm 72 時間 18 mm であつた。

第 1 図　感作後10日目卵白アルブミンによる Arthus 現象の推移



2) 第 II 群においては，1 時間 10 mm 3 時間 13 mm 6 時間では急激に上昇して 20 mm 10 時間では 21 mm 24 時間 17 mm 48 時間 13.7 mm 72 時間 11 mm であつた。

3) 第 I 群においては，1 時間 4 mm で 3 時間目に反応はほとんど消褪し，以後は全くこれを認めなかつた。

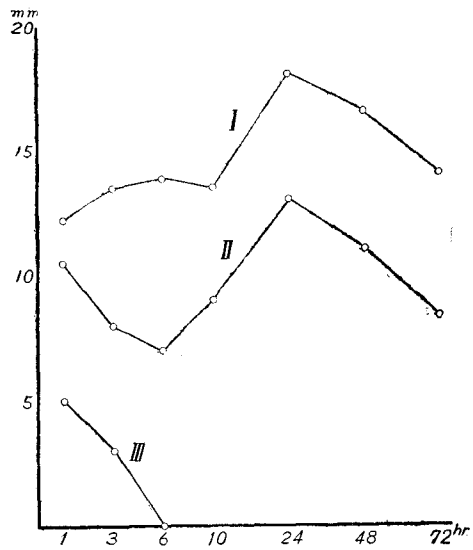
4) 第 I 群，第 II 群の反応の強さの時間的推移には略々平行関係が認められ，且つ，第 I 群においては，何れの時間においても第 II 群よりは強い反応の出現が認められた。

5) 第 I 群第 II 群の両者共，反応は注射後 6 時間から 24 時間の間に最も強く現われ，第 I 群においては 24 時間目に，第 II 群においては 10 時間目に最高の値した。

II）感作後 30 日目における卵白アルブミンによる Arthus 現象の推移。（第 2 図参照）

1) 第 I 群においては注射後 1 時間 12.2 mm 3 時間 13.5 mm 6 時間 13.8 mm 10 時間 13.5 mm 24 時間 18 mm 48 時間 16.5 mm 72 時間 14 mm であつた。

第 2 図　感作後30日目卵白アルブミンによる Arthus 現象の推移



2) 第 II 群においては，注射後 1 時間 10.5 mm 3 時間 8 mm 6 時間 7 mm 10 時間 9 mm 24 時間 13 mm 48 時間 11 mm 72 時間 8.3 mm であつた。

3) 第 III 群においては，注射後 1 時間 5 mm 3 時間 3 mm で 6 時間目以降は認められなかつた。

4) 第 I 群第 II 群の反応の強さの時間的推移には平行関係が認められた。且つ第 I 群においては，何れの時間においても第 II 群よりも高い反応の出現が認められた。

5) 第 I 群第 II 群共に注射後 24 時間で最高値に達した。

III）ツベルクリン反応

ツベルクリン反応は接種後 30 時間目，48 時間目に検討したが全群を通じ総て陰性であつた。

IV）卵白アルブミンに対する血清抗体価

陽性反応を示す最終稀釈（血清稀釈×抗原稀釈）で示すと第 1 表の如くなる。

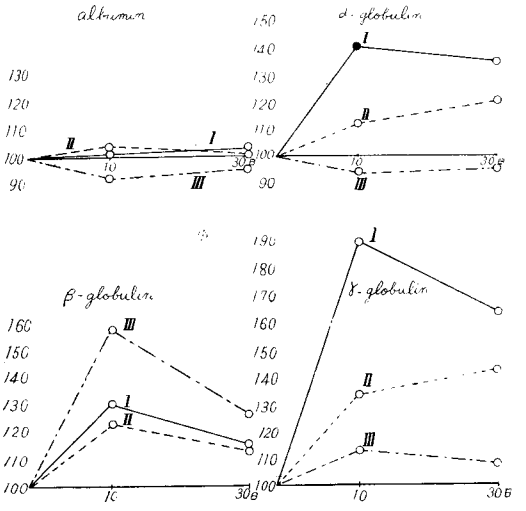
V）血 清 蛋 白 像

（第 1 表参照）第 I 群は γ-globulin の増量が著明であり，また α-globulin 量にも増加が認められる。第 II 群はこれより若干程度は低いが，同傾向を示している。感作前量を各分度 100 として百分率の変動に変えると第 3 図の如くなる。

第1表 血清蛋白分屑量（g/dl serum）および抗体價

		感作前	10日後	30日後
第Ⅰ群	Alb.	2.51	2.53	2.58
	α-G	0.58	0.81	0.78
	β-G	0.76	0.99	0.80
	γ-G	1.28	2.42	2.09
	抗体價	—	32×1600 64×1600	64×800 64×1600
第Ⅱ群	Alb.	2.76	2.86	2.79
	α-G	0.59	0.66	0.71
	β-G	0.98	1.20	1.11
	γ-G	1.42	1.89	2.02
	抗体價	—	32×1600 32×800	64×800 64×800
第Ⅲ群	Alb.	2.67	2.62	2.54
	α-G	0.63	0.59	0.60
	β-G	0.85	1.34	1.07
	γ-G	1.56	1.76	1.69
	抗体價	—	—	—

第3図 各群血清蛋白量の変動（感作前量を100として）



Ⅵ）組 織 所 見

Ⅰ）第 Ⅰ 群

1） Albumin 注射後1時間

皮下小血管周囲に多核球の滲出が中等度に見られる。皮下結合織の浮腫若干著明。

2） 同3時間

皮下深層に多核球の滲出顕著。膠原線維の膨化が起つている。

3） 同6時間

皮下全層に亘つて多核球性反応強烈。殊に深層に著明。

4） 同 10 時間

小血管内に多核球の血栓様栓塞著明。6時間同様多核球性反応著明。

5） 同 24 時間

出血を伴つた強烈な多核球性反応著明。血栓様像も随所に認められる。浅層には若干の単核球性反応も認められるが程度は軽い。

6） 同 48 時間

単核球性反応が著明となり，出血巣および軽度の壊死巣の出現を認める。また，単核球による血管栓塞像も見られる。しかしながら，多核球も相当量出現している。

7） 同 72 時間

更に単核球性反応が著明となり，滲出細胞の大半を占めるに至つているが，壊死巣，およびこの周辺には多核球性反応が相当顕著に認められる。単核球栓塞像も前同様著明に認めることが出来る。

8） 旧ツベルクリン注射後 30 時間

ごく少量の多核球，および単核球の滲出があるが，血管周囲においても著明でない。膠原線維，血管壁にはほとんど異常を認めない。

9） 同 48 時間後

若干の単核球が散在性に認められる。その他の変化を認め得ない。

Ⅱ）第 Ⅱ 群

1） Albumin 注射1時間

比較的皮下の深層または中間層の血管周囲に多核球が散在性に認められる。

2） 同3時間

充血高度となり，一部の小血管に多核球栓塞を認め，多核球性反応が血管周囲に中等度起つている。膠原線維の膨化著明。

3） 同6時間

前同様血管周囲に限局した多核球性滲出が認められ，程度は幾分増強している。

4） 同 10 時間

全視野一面に強い多核球滲出像が認められるが，第Ⅰ群よりは程度が軽い。

5） 同 24 時間

浮腫は減退しており，全般的に多核球性反応も幾分弱まつて，単核球の滲出が幾分著明になつて来ている。一部に軽度の壊死巣を認め，多核球の強い反応が起つている。

6） 同 48 時間

単核性細胞が優位に立ち，血管周囲に殊に著明であるが，多核球も相当認めることが出来る。

7） 同 72 時間

多核球は著明に減少し，単核性細胞が更に増量し，殊に皮下の浅層に著明に滲出している。線維芽細胞の軽い増殖像が散見せられる。

8） 旧ツベルクリン注射 30 時間

ごく限局性に，また，ごく浅層に，弱い多核球性および単核球反応が認められるに過ぎない。

9） 同 48 時間

ほとんど 30 時間と同様の滲出細胞を認め得るに過ぎない。

Ⅲ）第 Ⅲ 群

1） Albumin 注射 1 時間

小血管壁に多核球がごく少量滲出している。若干の浮腫を認める。

2） 同 3 時間後

深層に中等度の多核球滲出を見る。

3） 同 6 時間後

浅層に散在性に多核球滲出を認める。

4） 同 10 時間後

部分的に多核球集団を認めるが，程度は弱い。

5） 同 24 時間

細胞反応は著しく弱くなつているが，単核球性反応として認められる。

6） 同 48 時間

少量の多核球も認められるが，一般に単核球の方が多い。反応程度は極く弱い。

7） 同 72 時間

更に反応は減弱し浅層に瀰漫性に単核球の滲出を認めるに過ぎない。

8） 旧ツベルクリン注射後 30 時間

ごく少量の多核球，単核球が散在性に見られる。

9） 同 48 時間

一部にごく軽い単核球滲出を認めるに過ぎない。

総 括 考 按

以上の成績を通覧すると，先ずアルブミン感作の際 wax の添加は，確実に有意の影響をおよぼしたことが判断せられる。即ち wax 添加群の Arthus 現象は，Albumin のみの感作群より，10 日，30 日目何れにおいても遙かに強いものであつた。そしてこの Arthus 現象の時間的経過を肉眼的に観察した際には，第Ⅱ群即ち Albumin 単独感作群の 10 日目，血清抗体価の若干低い時期においてのみ，反応原注射後 10 時間目が最高で，同群 30 日目および第 I 群即ち wax 添加感作群は 10 日目も 30 日目も何れも 24 時間を頂点とする反応と測定された。従来 Arthus 現象は惹起注射後 6～10 時間を極期とする所謂迅速反応であると理解されており，また，これが Arthus 型アレルーギ反応の特徴ともされていたのである。しかしながらこの原則は，全ての場合に適用されるとは限らない。この実験でも観察されたように，兎においては一般に頂点が後期にずれるとされており[3]，また強烈な反応惹起の場合は極期が同様遅延性となるといわれている[4]。われわれの成績は全くこの考えに一致するもので，抗体価の高い即ち反応の強い時期のものは全て 24 時間を頂点とする幾分遅延性の性格を帯びたものであつた。このように兎においては，肉眼的判断によつて，遅延性反応を同定することは困難であつて，第 1 群の wax 添加が Raffel のいう遅延性反応へ導いたかどうか，これだけでは断定出来ないが，只所謂定型的遅延性反応においては，48 時間迄の反応量が問題であつて，定型的ツベルクリン反応を時間的に測定すると，かりに 24 時間が最高であつたとしても，48 時間の測定値はこれとほとんど変らないか，またはごく少し低い程度に過ぎないのである。この点を考え合わせると，われわれの第 I 群の反応は 10 日目，30 日目共，遅延性反応とは程遠いものであると考えねばならない。

次に組織学的に見た細胞反応から考えて見よう。従来 Dienes & Mallory[5] によつて，ツベルクリン型反応は単球性反応であるといわれ，殊に初期の単球性反応が重視せられた。その後若干の追試者がこの説を承認したが，数多くの研究者は，現在この反応初期の単球性格は信じていない。只後期の単球性反応が他の場合より遙かに強いことは，誰もが認めるところである。さて，われわれの実験成績を見ると wax 添加群の反応では後期の単球性反応が強かつたことが見出される。この事実をツベルクリン型の反応と見なすことが出来るであろうか。Arthus 現象にも決して後期の単球性反応を欠如する訳ではない。只初期の強い，多核球性反応に幻惑されているに過ぎない。だから強い Arthus 現象の際には，後期の単球性反応も強いと考えることは不可能であろうか。殊にこの第 I 群の初期の強い多核球性反応を見ると，この反応が全体を通じて単球性性格のものと判断するのはどうしても出来ないのである。

このように考えを進めると，wax 添加は Arthus 現象の性格に本質的な改変を与えたとは見なし難い。Raffel[2] 自身が明瞭に否定している，wax の adjuvant 的役割を，われわれは肯定しなければならない結果となつて了つた訳である。その一つの裏付けとして，抗体価と γ-globulin 量の成績を出さねばならない。異種蛋白感作の際，抗体価と血清 γ-globulin 量との間には密接な正の相関々係があ

ることは，数多く報告せられ，われわれも認めている。今度の実験成績を見ると，抗体価は第Ⅰ群が，他群より高く，また，γ-globulin 量も感作後著しい増量を示し，その絶対量も第Ⅱ群より遙かに多い。この事実を見るとき，ここにおいても wax の adjuvant としての役割を認めねばならない。

次にこれに関連して血清 α-globulin に就いて触れて見よう。α-globulin が抗元抗体反応に関係していることを認める研究者は決して少くない。Deutsch[6]，Seibert 等[7] 奥山等[8] も異種蛋白感作動物血清に α-globulin 分画の増量を認め，共に試験管内吸収試験で著しい同分画の減少を見て，Seibert は α-globulin 分画の増量が異種蛋白感作の特徴であり，抗体は α-globulin と同じかまたは同様の移動度を持つと迄いつている。われわれの今回の成績は，前の奥山等の成績と一致するもので，第Ⅲ群では若干減少したにもかかわらず，第Ⅰ，第Ⅱ群は著明な増量を示した。殊に第Ⅰ群に顕著である。このことは，抗体価と α-globulin 量の間には一定の並行性を認めたい結果であり，Arthus 現象の強さは，α- と γ-globulin との両者の量で表現出来ると考えられるのである。最近，Cole & Favour[9] は遅延性反応に与るのは結核免疫動物の血清 α-globulin 分画であるとの興味ある報告を発表したが，既報[10]のわれわれの成績では，結核感染による α-globulin 分画量の増加は著明でなく，また，量的な問題が残されているが，α-globulin 分画には正常動物に被動性にツベルクリン陽性反応を興え得る能力は認める事が出来なかつた。只再感染，ツベルクリン大量注射の際，血清 α-globulin 分画が著明に減量する事が判り，またその際に補体の著しい低下を来すことから，α-Globulin の減量には補体の消失も関与していることを知つたのである[11]。このように Albumin 感作動物，結核免疫動物に夫々反応原である Albumin またはツベルクリンを注射すると，共に α-globulin 分画の減量を来す事実は，抗体として特異的抗原抗体反応そのものに参与するためによるものか，それとも間接的に同反応の一部に加えられるためによるものか，今後に残された課題であろう。只われわれは，異種蛋白アレルギーの際には，抗体成分としての α-globulin の参与を認めたい考えである。

最後に菌体 wax による，ツベルクリン感受性賦与の問題が残される。Raffel[1] によれば，所謂 soft wax には菌体蛋白が含まれているために wax 接種，殊に wax に更に菌体蛋白を混合して接種すれば，立派にツベルクリン感受性を与え得るといつている。今回のわれわれの成績はこの事実と反して，全く wax 注射群にはツベルクリン陽性反応を認める事が出来なかつた。組織学的にも Albumin 感作群に見た非特異的なツベルクリン異物反応と全く同様であつた。もつとも，われわれの作つた wax は，厳密には Raffel らの方法とは一致していないし，また量的な検討を加えていないので，今回はこれ以上の考按を加える事は不可能である。

只 Choucroun[12]，柳沢[13] らの菌体流動パラフイン抽出液，即ち sensitizing antigen が正常モルモットに定型的ツベルクリンアレルギーを賦与させ得る報告を見れば，菌体 wax のこの際の役割は相当重要視されねばならないが，しかし精製ツベルクリンのみを oil in water 乳剤とすると，定型的ツベルクリン反応と少しも変る所のないツベルクリン陽性反応を起すという事実から判断すれば wax は単なる adjuvant 的存在ではなかろうかとも考えられるのである。

結　　論

兎を結核菌体 wax 添加 Albumin（第Ⅰ群）Albumin 単独（第Ⅱ群）および wax 単独（第Ⅲ群）で感作し，10 日目，30 日目に Albumin，旧ツベルクリンを皮内に注射し，反応の時間的経過観察，反応部位の組織学的検索および血清蛋白分屑の量的測定および血清抗体価等の検討を行い，次のような成績を得た。

1） 第Ⅰ群の卵白アルブミンによる Arthus 現象は，10 日目も 30 日目も他群より遙かに強烈であつた。

2） 第Ⅲ群では，卵白アルブミン注射による反応はごく弱かつた。

3） 第Ⅰ，第Ⅱ群の Arthus 現象の極期は，全て注射後 24 時間目であつた。只，第Ⅱ群の 10 日目，血清抗体価の若干低い時期においては 10 時間目が最高であつた。

4） 全群共，旧ツベルクリン皮内注射によつて陽性反応は現れなかつた。

5） 血清 γ-globulin は反応の強い群程多量に含まれ，従つて第Ⅰ群が圧倒的に著明な増量を示し，絶対量も一番多かつた。

6） 血清 α-globulin 量は第Ⅰ，第Ⅱ群殊に第Ⅰ群に相当増量を示した。

7） 血清抗体価は γ-globulin 量と並行した。

8） 組織学的に初期の細胞反応は全例一様に多核球型で，48 時間以降始めて単球型と変つた。第Ⅰ群の後期の反応の単球性性格は他群よりかなり強かつたが第Ⅱ群との間に質的差異を認めることは出来なかつた。

9） 以上の成績から，結核菌体 wax は，所謂 adjuvant として働いたものであろうと考えられる。

引 用 文 献

1) Raffel, S. : J. Infect. Dis., 82, 267, 1948.
2) Raffel, S. et al : J. Exper. Med., 90, 53, 1949.
3) Zinsser, H : J. Exper. Med., 34, 495, 1921.
4) 小野江為則：アレルギー, 2, 57, 1954.
5) Dienes, L. & Mallory, T. B.: Amer. J. Path. 8, 689, 1982.
6) Deutsch, H.E. et al : J. Immunol., 63, 195, 1949.
7) Seibert. F.B. & Nelson, J.W. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 49, 77, 1942.
8) 奥山　春枝：札幌医誌, 9, 90, 1956.
9) Cole, L.R. & Favour, C.B. : J. Exper. Med., 101, 391, 1955.
10) 奥山春枝, 森川和雄：結核の研究, 3, 105, 1955.
11) 森川和雄　外：第45回日本病理学会総会に発表
12) Choucroun, N.: Am. Rev. Tuberc., 56, 203, 1947.
13) 柳沢　謙：アレルギー, 4, 73, 1955.