HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | 結核菌毒性脂質(cord factor)を抗原とする患者血清の沈降反応について |
| Author(s) | 石山, 司浪; 澄川, 栄一郎; 新明, 美仁 |
| Description | |
| Citation | 結核の研究, 8, 33-37 |
| Issue Date | 1958-03 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/26641 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 8_P33-37.pdf |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# 結核菌毒性脂質(cord factor)を抗原とする患者血清の沈降反応について

石山司浪・澄川栄一郎・新明美仁
(北海道大学結核研究所細菌部　主任　大原達教授)

(昭和32年12月28日受付)

## 緒　　言

結核菌の脂質に関する研究は近年益々盛に行われつつあり，殊にこれと毒力との関係に着目した Bloch 等[1)-8)] の cord factor についての一連の研究や，山村等[9)-13)] のアレルギー(空洞形成)とリポ蛋白質に関する業績など注目を惹く報告が次々と行われている。

しかしながら，脂質を結核の血清反応に用いた報告は比較的少なく，殊にクロノホルム可溶性脂質に関するこの種の報告のうちでは僅かに武田等[14)15)] の研究をその主たるものとして挙げ得るに過ぎない。さきに著者の一人新明[16)] は Bloch の所謂 cord factor についての研究において，この cord factor を含むと思われる Wax C 類似の脂質画分が，結核免疫家兎血清に対して陽性の沈降反応を呈すること，及びこの material に豚血清を付加して家兎を免疫すると，これに対する特異的な precipitating antibody を産生することを認めた。我々は更にこれと同じ material を用いて，結核患者血清について沈降反応を試み，興味ある成績を得たので以下に報告する。

## 実験材料及び実験方法

1) 結核菌脂質(cord factor)の抽出法：新明[16)] の方法と同じ。尚この material を cord factor と称することは，cord factor が純粋な形で取り出されるようになつた今日では問題があると思われるが，このことに関してはさきの報告[16)] にすでに述べたところであり，厳密には cord factor を含む lipid material と云わねばならぬと思われるが，以下便宜上，単に cord factor と称して記述する。

なお本実験に用いた material は，その融点 40～50°C，窒素含有量 0.8% のもので，腹腔内に反復注射することにより，マウスに対し高度の毒性を示した。その性状から見て，所謂 Wax C に近似するものと思われるが，未だ純粋のものではないから，Wax D が混入していないとは云えない。

2) 沈降反応用抗原：上記 cord factor の外，菌体の中性加熱浸出液が比較のため用いられた。

(i) $H_2$ 抗原：人型結核菌 $H_2$ 株よりの蒸溜水加熱浸出液で，大原等[17)] の方法に従つて調製した。

(ii) CF 抗原：cord factor のプロピレングリコール溶液を生理的食塩水で稀釈したもので，新明[16)] に従つて調製された。

3) 被検血清：重症，中等症，軽症の各肺結核患者血清，正常健康人血清，結核以外の各種疾患患者血清，各種の菌株で免疫した家兎血清を被検血清として用いた。尚，結核患者の病症度はレントゲン学的並びに全身症状より区別したものである。

4) 沈降反応：抗体即ち血清稀釈法によつて型の如く行つた。

## 実 験 成 績

1) 結核免疫家兎血清の沈降反応成績

以前の新明[16)] の成績を確認する意味で，種々の菌株で免疫した家兎の血清について，CF 及び $H_2$ 抗原を用いて沈降反応を行つて見た。成績は第1表に示した如くで，$H_2$ 抗原による成績と CF 抗原による成績とは平行しているものもあり，然らざるものもあるが，CF 抗原が結核菌で免疫した家兎血清に対し，充分に反応原となり得ることはこの表からも明らかである。

2) 結核患者血清の沈降反応成績

重症 14 例，中等症 13 例，軽症 15 例，計 42 例の肺結核患者血清についての成績を，第2表より第3表迄に示した。一般的に見て，沈降反応陽性を示す例は重症患者血清に最も多く，中等症例ではごく少なく，軽症例では1例を除きすべて陰性であつた。なお人血清においてはその抗体価はいずれも低く，16 倍が最高であつた。

**第 1 表**　各株結核菌免疫家兎血清の沈降反応成績

| 家兎番号 | 免疫菌株 | 抗原抗体価 | CF 1× | CF 2× | CF 4× | CF 8× | CF 16× | CF 32× | $H_2$ 1× | $H_2$ 2× | $H_2$ 4× | $H_2$ 8× | $H_2$ 16× | $H_2$ 32× |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $H_{37}Rv$ | | | − | − | − | − | | | + | + | + | − | |
| 2 | $H_2$ | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − |
| 3 | BCG | | + | + | + | + | − | − | + | + | + | + | − | − |
| 4 | BCG | | + | + | + | + | − | − | + | + | + | − | − | |
| 5 | 仲野 | | + | + | + | − | − | − | + | + | + | − | − | |
| 6 | 仲野 | | − | − | − | − | − | − | + | + | + | + | − | − |
| 7 | 仲野 | | + | + | + | + | ± | − | ++ | + | + | + | + | + |
| 8 | 仲野 | | + | + | + | + | − | − | + | + | + | − | − | − |

**第 2 表**　重症肺結核患者の沈降反応成績

| 患者番号 | 抗原抗体価 | CF 1× | CF 2× | CF 4× | CF 8× | CF 16× | $H_2$ 1× | $H_2$ 2× | $H_2$ 4× | $H_2$ 8× | $H_2$ 16× |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | + | + | + | + | + | + | ± | − | − | − |
| 2 | | + | + | ++ | + | − | − | − | ± | − | − |
| 3 | | + | + | + | + | − | ++ | + | ± | ± | − |
| 4 | | + | + | + | ± | − | ++ | + | + | ± | − |
| 5 | | + | + | ± | − | | + | + | − | − | |
| 6 | | + | + | ± | − | | + | ± | − | − | |
| 7 | | + | + | ± | ± | | − | − | − | − | |
| 8 | | + | ± | − | − | | + | ± | − | − | |
| 9 | | + | ± | − | − | − | + | − | − | − | − |
| 10 | | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 11 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 12 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 13 | | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 14 | | − | − | − | − | | − | − | − | − | |

**第 3 表**　中等症肺結核患者の沈降反応成績

| 患者番号 | 材料抗体価 | CF 1× | CF 2× | CF 4× | CF 8× | CF 16× | $H_2$ 1× | $H_2$ 2× | $H_2$ 4× | $H_2$ 8× | $H_2$ 16× |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | | + | ± | − | − | | + | − | − | − | |
| 16 | | + | − | − | − | − | + | − | − | − | − |
| 17 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 18 | | − | − | − | − | − | + | + | − | − | − |
| 19 | | | ± | − | − | − | | + | + | − | − |
| 20 | | ± | − | − | − | | ± | − | − | − | |
| 21 | | ± | − | − | − | | ± | − | − | − | |
| 22 | | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 23 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 24 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 25 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 26 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 27 | | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |

**第 4 表**　軽症肺結核患者の沈降反応成績

| 患者番号＼抗原＼抗体価 | CF 1× | CF 2× | CF 4× | CF 8× | CF 16× | $H_2$ 1× | $H_2$ 2× | $H_2$ 4× | $H_2$ 8× | $H_2$ 16× |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 28 | − | − | − | − | − | | + | + | + | + |
| 29 | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 30 | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 31 | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| 32 | ± | − | − | − | − | ± | − | − | − | − |
| 33 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 34 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 35 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 36 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 37 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 38 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 39 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 40 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 41 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| 42 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |

CF 抗原と $H_2$ 抗原とを比較して見ると全体的に見て重症例においてこの両種の抗原に対し共に陽性の反応を示すものが多いが，その個々の抗体価は必ずしも平行していない。尚一般に重症例では CF 抗原に対する反応の方が比較的良く出ているが，中等症では $H_2$ 抗原の方に陽性のものがより多く，又軽症の 1 例が CF 抗原には全く陰性であるのに，$H_2$ 抗原に対し 16 倍の抗体価を示している点が注目を惹く。

3)　正常健康人血清の沈降反応成績

健康人血清の成績は第 5 表に示した如くで，11 例中 1 例が CF 及び $H_2$ 抗原に対し原液のみではあるが陽性に出た。この例については後に診断を行つて見たが異常は認められず，又特別の既往症もなかつた。

4)　結核以外の各種疾患患者血清の沈降反応成績

白血病，腎炎，癌，肺壊疽等 10 種の疾患 13 例について沈降反応を検した。成績は第 6 表に示した通りで，陽性の反応を示したものは 1 例もなかつた。

## 総括並びに考按

上記の成績によりクロロホルム可溶性脂質中の cord factor を含む lipid material は，結核血清を用いての沈降反応の抗原となり得ることが明らかにされた。但し

**第 5 表**　正常健康人血清の沈降反応成績

| 血清番号＼抗原＼抗体価 | CF 1× | CF 2× | CF 4× | CF 8× | CF 16× | $H_2$ 1× | $H_2$ 2× | $H_2$ 4× | $H_2$ 8× | $H_2$ 16× |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| N 1 | − | − | − | − | | ± | − | − | − | |
| N 2 | + | − | − | − | | + | − | − | − | |
| N 3 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| N 4 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| N 5 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| N 6 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| N 7 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| N 8 | − | − | − | − | | ± | − | − | − | |
| N 9 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| N 10 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| N 11 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |

**第 6 表　各種疾患患者血清の沈降反応成績**

| 患者番号 | 疾患名 ＼ 抗原 ／ 抗体価 | CF 1× | CF 2× | CF 4× | CF 8× | CF 16× | $H_2$ 1× | $H_2$ 2× | $H_2$ 4× | $H_2$ 8× | $H_2$ 16× |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| P 1 | 急性胆嚢炎 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 2 | 急性白血病 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 3 | 慢性腎炎 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 4 | 糖尿病 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 5 | 機械性黄疸 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 6 | 胃癌 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 7 | 肺壊疽 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 8 | 非定形肺炎 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 9 | 腐敗性氣管支炎 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 10 | カンジダ症 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 11 | 慢性白血病 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 12 | 腐敗性氣管支炎 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |
| P 13 | 慢性腎炎 | − | − | − | − | | − | − | − | − | |

この CF 抗原に対する抗体価は家兎血清の場合はともかく，患者血清では余り高いものではない（ツベルクリン $H_2$–抗原その他の結核抗原を用いた場合も，人血清は家兎血清と異り高い抗原価を示さない)。従つて，未だ診断的な有用性と云うことには程遠いのであるが，ただ結核患者血清についての成績を眺めて見る時，CF 抗原の方が $H_2$ 抗原よりもむしろ疾患の重症度に比較的平行している様に思われる。尚，軽症患者の 1 例が CF 抗原に対し全く陰性であるのに，$H_2$ 抗原に対して比較的高い抗体価を示している理由については種々の事が考えられるのであるが，本実験の成績のみではこれに対し何等の説明も与える事は出来ない。正常健康人の 1 例が CF，$H_2$ の両抗原に対し，原液のみではあつたが，陽性を示していることも同様に充分な説明は与えられない。前述の如く，この例では何等の身体的異常も，又特別の既往症も認められなかつたのであるが，ただツベルクリン反応が平常異常に強く出る例であつた。元来正常健康人血清としては，ツ反応陰性者の血清を使用すべきであると思うのであるが，実際にツ反陰性の健康人の例を集めるのは困難なため，本実験には一般のツ反陽性の健康人血清が用いられたのである。結核以外の他種疾患では，すべて陰性であつたことは当然の結果であるが，以上の成績から推して CF 抗原が或程度は結核の重症度を見る指標になるのではないかと云う希望を我々に抱かせた。勿論，本実験の範囲では何等結論的なことを云うことは出来ないのであるが，例えば梅毒血清沈降反応に用いる抗原の如く，何等かの反応原性を高める物質を添加することにより，いくらかでもこの結核菌脂質より得た CF 抗原による沈降反応の鋭敏度がたかまり，診断的有用性に一歩でも近ずくと云う可能性はないものであろうか。この点については今後更に実験を重ねたいと思つている。

次に CF 抗原と $H_2$ 抗原との間に共通抗原があるか否かの問題であるが，この点に関してはこの両者共純粋な物質ではない上に，この種の研究が従来無いために未だ決定的な事を云う段階ではない。ただ著者の一人澄川[16] が Ouchterlony の technique によつて寒天内沈降反応を行つた成績によれば，やはり免疫家兎血清と CF 抗原との間に反応が起ることを認めているが，$H_2$ 抗原と CF 抗原との間に直接共通する抗原部分があると云う結果は得られていない。

更に CF 抗原を用いて沈降反応が陽性に出るのは，CF 抗原の中の如何なる成分がこれに関与しているのかも不明である。前述の如く，この material は Wax C に近いものと考えられるが，Wax D も混入していないとは云えないのであるから，もし混入しているとすればそのどちらが反応原として作用するのか，又両者共に関与するのかは不明であり，更に又他の夾雑物の関与も絶対的には否定することは出来ない。従つて，厳格に云えばこの material 中の毒性物質即ち cord factor に対する抗体が，この CF 抗原に対し陽性の沈降反応を示す本態であるとは断じ切れない。Bloch[7] は cord frctor が体液中に溶出する可能性について述べているが，我々の material は未だ純粋の状態で得られたものでないから，この問題もまだ不明であると云わざるを得ない。

一方 Takeda 等[15] は Wax C 及び D についての赤血球凝集反応の研究において，Wax D はこの反応に

関連した抗体を産生する能力があるが，Wax C にはなく，かかる免疫学的相違はおそらく Wax D における polysaccharide に起因するものであろうと述べている。但し彼等はこの反応に用いる血球の感作に polysaccharide を用いているのであつて，従つて純粋の Wax C のみで免疫した動物の血清が，凝集反応を起さないのは当然とも云えよう。又武田等[14]のかつての報告も，クロロホルムで抽出した菌体蠟成分で免疫した家兎血清につき，結核菌多糖体を抗原として沈降反応を行つて居るのであり，実際に脂質そのものを抗原としているわけではない。彼等の実験では Wax 殊に Wax D の polysaccharde 部分が反応の主役を演じているであろうことは当然想像されるところである。我々の実験では未だ不純ではあるが脂質画分そのものを抗原として使用しているのであり，又新明[16] 澄川[18] は本 material に豚血清を添加して家兎を免疫した場合，沈降反応及び Ouchterlony の方法で証明し得る抗体が産生されることを認めており，(この material 単独で家兎を免疫した時には此等の反応で証明し得る抗体は出来ない) これ等の反応の抗原には免疫に用いたと同じ material を使用しているのである。但し前にも述べた如く，本 material は純粋なものではなく Wax D が混入していないとは云えないから，これ等の反応の主役を演ずる物質が何であるかは現在の所不明な訳である。然しながら Ohara et al[19] の研究によると抗 cord factor 血清には cord factor の毒性を中和する作用のある事が証明されて居り，この点から見て少くとも毒性物質そのものに対する抗体がこの血清中に含まれている事だけは認めて良いと思う。

以上，本実験には未だ不備な点が多いとは云え結核菌のクロロホルム可溶性画分より得た lipid material が沈降反応原となり得ることは興味あることと思われるのであつて，今後本実験を押し進めることによつて，結核症の重症度判定或いは診断の一助にでもなり得る様な方向に発展せしめて行きたいと思考するものである。

## 結　　論

結核菌体より抽出した Bloch の所謂 cord factor を含むと思われる lipid material を抗原として，結核患者血清との間の沈降反応を検し次の結果を得た。

(1) この lipid material より調製した CF 抗原は結核菌体の加熱浸出液である $H_2$ 抗原と同様に結核患者血清に対し，優れた沈降反応原となり得ることが認められた。

(2) 得られた抗体価は低かつたが，一般に重症の患者血清ほど多数例がこの抗原に対し陽性の沈降反応を示した。且，重症例では CF 抗原に対する反応の方が $H_2$ 抗原に対するそれよりも比較的よく出ている様であり，又，中等症及び軽症の患者血清では CF 抗原に対し沈降反応陽性を呈するものは殆んどなく，一般に $H_2$ 抗原よりもむしろ CF 抗原の方が疾患の重症度と比較的平行する様に思われた。

(3) 正常健康人血清では1例を除き，又結核以外の各種疾患患者血清では全例が陰性であつた。

稿を終るに当り，終始御指導御校閲を賜つた恩師大原教授，並びに血清の採取に御協力頂いた市立札幌病院内科の信太学士に深甚の謝意を表する。

## 文　　献


1) Bloch, H.: J. Exp, Med., 91, 197, 1950.
2) Bloch,H. Sorkin, E. Erlenmeyer, H.: Am. Rev. Tuberc, 67 (5) 629, 1953.
3) Noll, H. and Bloch, H.: Am. Rev.Tuberc., 67 (6) 828, 1953.
4) Asselineau, J., Bloch, H. and Lederer, E.: Am. Rev. Tuberc, 67 (6), 853, 1953.
5) Bloch, H. and Noll, H.: J. Exp. Med, 97 (1), 1, 1953.
6) Noll, H. and Bloch, H.: J. Biol, Chem, 214 (1), 251, 1955.
7) Bloch, H. and Noll, H.: Brit, J. Exp. Path., 36, 8, 1955.
8) Noll, H. Bloch, H. Asselineau, J. Lederer, E.: Biochim, Biophys. Acta, 20, 299, 1956.
9) Yamamura, Y. et al: M. J. Osaka. Univ. 5, 87, 1954.
10) Yamamura. Y. et al: M. J. Osaka Univ. 6, 197, 1955.
11) Yamamura, Y. et al.: Proc, Japan, Acad., 31, 36, 1955.
12) 山村雄一：日本臨床，13, 1175, 1955.
13) 山村雄一：日本臨床，15 (8), 1, 1957.
14) 武田徳晴・太田達男・詹湧泉：医学と生物学, 4 (2), 88, 昭 18.
15) Takeda, Y. et al: Jap. J. Tuberc, 2 (4) 361, 1954.
16) 新明美仁：近く日本細菌学雑誌に発表予定（要旨は日本細菌学雑誌 12 (7), 566, 1957 に掲載).
17) 大原達他：結核の研究 第1集，39, 1953.
18) 澄川栄一郎：未発表。
19) Ohara, T. et al: Jap. Journ. Tuberc. (3-4), 1957.