



Title	ツベルクリン蛋白及び同多糖類の抗原性並びに免疫原性に関する実験的研究
Author(s)	小林, 豊司; KOBAYASHI, Toyoji
Description	
Citation	結核の研究, 11, 109-136
Issue Date	1959-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26682
Type	departmental bulletin paper
File Information	11_P109-136.pdf



ツベルクリン蛋白及び同多糖類の抗原性並びに 免疫原性に関する実験的研究*

小林 豊 司

(北海道大学結核研究所病理部 主任 森川和雄教授)

(昭和 34 年 6 月 1 日 受付)

結核菌の菌体成分が結核免疫に占める役割については古くから枚挙にいとまない多くの研究業績が報告せられている。しかしながら今日において定説とあげるべき衆目の一致した成績と云うのは見出し難いのであり、今日においても更に改善せられた抽出方法或いは実験条件において種々なる研究業績が積み重ねられつつある所である。又一方免疫現象に附随した病原性或いは感作原性についても詳細な検討が加えられ、之らの面にも明るい見通しがつきつつあるようである。当研究所においては高橋を中心として、菌体成分の結核症における役割についての一連の総合研究がなされているのであるが、当研究室においては免疫病理学的見地から、血清学的検査及び組織学的検索を中心とした部分を分担している。既に高木¹⁾は種々の抽出段階における菌体の生物学的役割を研究し、報告をなしている。しかしこのような菌体成分の研究と並行して、ツベルクリンの各種分画についての検索も必要であることは当然であり、狹義の免疫現象と云うことから少し離れても、結核症の経過における種々の病変発生に確かにツベルクリンの各種成分が何らかの役を占めていることは論をまたない。結核症にアレルギー現象が密接に関係していることは衆目の一致するところであり、又このアレルギー現象に最も関係しているのは所謂 tuberculoprotein であることも承認せられている。しかるにもかかわらず、ツベルクリン分画に対する研究は専ら「ツ」反応特異抗原としての「ツ」蛋白分画の研究に偏っており、Seibert、その他を除いて、「ツ」分画の生物学的作用については余り研究が行われていない。前述の高木¹⁾は菌体蛋白質及び多糖類がアレルギー反応惹起に重要な因子として働くものであり、免疫能としては、之に結合脂質の参加が必要であることを認めて

いる。しかし之も材料が抽出残渣菌体と云う、いわば間接的推論でしかない。そこで著者は「ツ」蛋白及び多糖類の抗原性、更には之に毒力菌 challenge を行つた際の免疫原性或いは早期のアレルギー現象惹起の有無について詳細な検査を行つた次第である。又菌体或いは多糖類によつて惹起される速時性の云わば Arthus 型の反応形式が、結核病変発生に大きな役割を占めることから推察してもこの様な検索が、結核症における生体内アレルギー反応の解明に役立つと信ずるのである。

第 I 編 ツベルクリン蛋白による実験

従来ツベルクリン(「ツ」)はハプテンであるとして、それ自体では感作能がないとされていた。しかし、免疫化学の進歩につれて、「ツ」活性を有するのはその蛋白分画にあり、又この蛋白質には種々の分子量のものが含まれており、高分子のものは立派な完全抗原であること、更にこのものは速時型の反応性を与えることが出来ると報告されている²⁾。又この様に感作された動物の毒力菌感染に対する反応を理解することは結核症における免疫とアレルギーの相関関係の解明に参考となると思われる。

実験材料及び方法

この詳細は各実験の項にゆづり、ここでは一般的な事項についてのみ記載する。

使用動物：健康白色家兎、体重 2~3 kg. のものを用いた。

ツベルクリン蛋白 (PT)：H 37 Rv 株のソートン 8 週間培養の非加熱 Seitz 濾液を rotary vacuum evaporator (40°C 以下) で原液の 1/20 容量に濃縮し、之を水道水で透析し、複合ストレプトマイシンを沈澱の出来なくなる迄加え³⁾、遠心上清に、三塩化醋酸を加え pH 4.0 で沈澱する分画をとり、之を弱アルカリ性蒸溜水に溶解、

* 本論文要旨は第 48 回日本病理学会総会(昭和 34 年 3 月、東京)において発表した。

この沈澱，溶解を3回繰返し，最後に水道水で透析し，之を凍結乾燥して保存した，淡褐色の軽い粉末である。

感作法：蛋白分画を pH 7.0 の磷酸緩衝液に溶解し，之に滅菌流動パラフィンを加え，超音波装置で完全な oil-in-water emulsion とさせたものを，家兎の臀部筋肉内に1日おきに3回注射した。尚各々の量的関係は夫々の項でのべる。

皮膚反応：1% の前記ツベルクリン蛋白の生理的食塩水稀釈液 0.1 ml を剪毛した背部皮内に注射し，24 時間後発赤，腫張，硬結を測定した。

沈降反応：心採血後血清を分離し，「ツ」蛋白 1% 溶液を抗原原液とし，重層法により4時間判定，最高陽性血清稀釈倍数をもつて抗体価とした。

血清蛋白分層量測定：濾紙電気泳動法で分画し，えた泳動図から各層の面積を測り，えた百分率と，屈折型蛋白計でえた総蛋白量から単位量血清中の各分層の絶対量を計算した。

challenge 菌：当研究所保存の仲野株人型結核菌を用いた。

剖検，組織学的検査：耳静脈から空気栓塞で殺し，直ちに各臓器を取出し，formol 固定，パラフィン切片を hematoxylin-eosin 染色，Elastica-van Gieson 染色，Bielshowsky 銀染色，Ziehl-Neelsen 結核菌染色等を行つて検鏡した。

菌定量培養：剖検時無菌的に取出した肺，脾の一部夫々 1.0 g, 0.5 g について，小川培地を使用した viable colony counting を行つた。

A. 分画「ツ」蛋白の反応原性，感作原性についての予備試験

分画した「ツ」蛋白の性状を調べるために，次のような試験を行つた。

1. 皮膚反応原性について

OT と比較するために BCG 免疫家兎 3 匹，正常家兎 2 匹に上記「ツ」蛋白（以下 PT と略記する）1% 生理的食塩水溶液を原液として，その原液，同 10 倍，100 倍稀釈液 0.1 ml を各側夫々 2ヶ所宛皮内注射し，同時に 40 倍 OT 0.1 ml を注射して反応を調べた。成績は表 1 の通りで，PT 原液及び 10 倍稀釈液では非特異的反応が現われるようで，1% PT 液の 100 倍稀釈液が適当と判断せられた。

2. 沈降反応抗原性について

前記家兎の血清に対する沈降反応抗原性を調べた。成績は表 2 の通りで，抗体価を血清稀釈倍数で現わすためには，PT 1% の 100 倍液が適当と判断せられた。

3. PT の感作原性について

PT 100 mg を前記方法で 17.5 ml の磷酸緩衝液に溶解，之に流動パラフィン 2.5 ml を加え，超音波により emulsion としたものを 3 ml 宛，5 匹の家兎の皮下に 3 回注射した。

感作開始後 21 日目に 1% PT の 100 倍，1000 倍稀釈液で皮内反応を試み，又 21 日，30 日に血清抗体価を測定した。成績は表 3, 4 の通りで，充分な感作原性を有することを知つた。次に感作開始後 28 日目 PT 1% の 100 倍稀釈液を注射し反応の強さを時間的に測定し

表 1 OT, PT による皮内反応

家 兎	番 号	P T				
		O T		原 液 (1%)		
		40 倍 24 hrs.	原 液 24 hrs.	48 hrs.	10 倍 24 hrs.	100 倍 24 hrs.
B C G 免 疫 兎	132	20×23(++)	25×23(++)	7×10(±)	13×15(++)	10×11(+)
		23×25(++)	20×18(++)	15×12(±)	11×12(+)	10×12(+)
	157	20×23(++)	25×20(++)	15×10(+)	20×18(++)	10×15(+)
20×20(++)		25×20(++)	20×28(++)	16×17(++)	10×11(+)	
158	15×13(+)	20×20(++)	14×15(+)	15×14(+)	11×9 (+)	
	16×12(+)	20×18(++)	11×10(+)	11×10(+)	9×9 (+)	
正 常 兎	180	2×3(-)	25×20(++)	10×10(+)	10×10(+)	4×4 (-)
		—	25×22(++)	9×10(+)	9×10(+)	3×4 (-)
	181	4×3(-)	25×27(++)	7×10(+)	7×10(+)	4×3 (-)
		—	18×29(++)	8×9 (+)	8×9 (+)	—

単位：発赤の縦横径，mm. () は浮腫の程度

表 2 PT,OT による沈降反応

家 兔	番 号	抗原 血清 希釈	PT(1%)				OT	K ₁
			1	10	100	10		
B C G 免 疫 兔	132	1	±	+	+	+	-	
		2	±	+	+	+	-	
		4	-	-	+	+	-	
		8	-	-	-	-	-	
		16	-	-	-	-	-	
	157	1	±	+	+	+	-	
		2	-	+	+	+	-	
		4	-	±	+	-	-	
		8	-	-	-	-	-	
		16	-	-	-	-	-	
	158	1	?	+	+	-	-	
		2	+	+	+	+	-	
		4	+	+	+	+	-	
		8	-	±	+	+	-	
		16	-	-	-	-	-	
	正 常 兔	180	1	-	-	-	-	
2			-	-	-	-		
4			-	-	-	-		
181		1	-	-	-	-		
		2	-	-	-	-		
		4	-	-	-	-		
		K ₂	-	-	-	-		

K₁: 0.9% 食塩水

K₂: アラビアゴム液 (1.5%)

た。結果は表 5 に示したが、大体 6~24 時間を頂点とする速時型の反応形式が観取された。

PT を家兔血清と同一濾紙上に泳動させたものが図 1 で易動度は大体兔血清 albumin と α-globulin に類似している。尚窒素量は 9.6% であつた。

B. 「ツ」蛋白感作及び毒力菌 challenge

実験:

予備試験で感作量及び反応原性を確認したので次の challenge 実験の前段階として感作を試みた。

表 3 PT 感作 21 日目の PT に対する皮内反応 (mm)

家 兔 番 号	PT 1%	
	100×	1000×
182	20×20 17×16	15×15 15×13
	20×19 18×17	15×14 10×10

表 4 PT 感作 21, 30 日目の血清沈降反応

番 号	抗原 血清 希釈	21 日			30 日			
		PT 1%	100×	1000×	K ₁	100×	1000×	K ₁
182	1	+	+	+	-	+	+	-
	2	+	+	+	-	+	+	-
	4	+	+	+	-	+	+	-
	8	±	±	±	-	+	+	-
	16	±	±	-	-	+	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-
183	1	+	+	+	-	+	+	-
	2	+	+	+	-	+	+	-
	4	+	+	+	-	+	+	-
	8	+	±	-	-	+	+	-
	16	-	-	-	-	+	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-

K₁: 0.9% 食塩水



図 1 PT の濾紙電気泳動図

表 5 PT 感作兎の OT, PT による皮内反応の時間的推移

家兎 No.	時間 抗原*	時間					
		1	3	6	24	48	72
177	OT	** 15×17(2)	15×15(2.5)	16×17(2)	22×22(2)	11×15(1)	—
	PT	13×14(1)	13×14(1.5)	13×15(1.5)	16×16(1.5)	9×11(0.5)	—
178	OT	14×15(1)	16×17(1.5)	16×17(1.5)	17×18(1.5)	13×14(0.5)	—
	PT	12×14(0.5)	15×16(1.5)	15×16(1.5)	17×17(1)	8×8 (0)	—
179	OT	15×16(2)	14×16(1.5)	14×16(2)	18×18(1.5)	10×10(0.5)	—
	PT	12×12(0.5)	15×15(1)	14×18(0.5)	11×15(1)	10×14(0.5)	—
182	OT	11×13(1.5)	15×15(1.5)	17×17(2)	11×13(1)	3×3 (0.5)	—
	PT	12×13(1)	20×20(2.5)	20×20(3.5)	20×21(1.5)	7×7 (0.5)	—
183	OT	16×20(2)	20×28(2.5)	26×32(2)	28×30(2)	7×7 (0.5)	—
	PT	17×20(1)	25×26(1)	24×25(2.5)	20×20(1)	5×6 (0.5)	—

* OT: 40 倍旧ツベルクリン, PT: 0.01% 「ツ」蛋白溶液

** 発赤の縦横径, mm, () 内は反応部の増加した皮膚の厚さの 2 倍値, mm

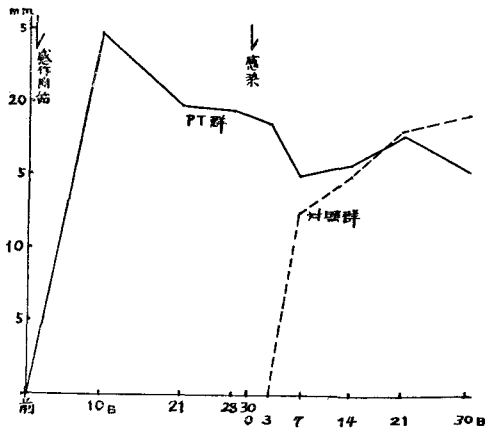


図 2 PT 感作及び毒力菌感染経過中の PT による皮内反応

方法:

280 mg の PT を緩衝液 70 ml に溶解, 更に流動パラフィン 10 ml を加え超音波装置で emulsion としたものを, 8 匹の家兎に 1 匹当り 10 ml を 3 回に分けて隔日皮下注射した。1 匹当りの PT 総量は 35 mg に相当する。

感作後 1 週毎に皮膚反応 (反応原前出), 抗体価, 血清蛋白分層量, 体重を測定した。

感作開始後 30 日後に同数の未処置健康動物と共に毒力菌 2 mg 死を溜水 1 ml に浮遊させたものを耳静脈より接種, 以後 3, 7, 14, 30 日に殺し剖検し, 途中随時

皮膚反応, 血清抗体価, 蛋白分層量, 体重の変動を調べた。

成績:

1. 体重

毒力菌感染迄には変化はない。以後著変ではないが, PT 群では漸増の傾向をとるに反し, 対照群では極く軽度の減少を示した。しかし 4 週後には PT 群に追いついている。

2. 皮膚反応の推移 (図 2 参照)

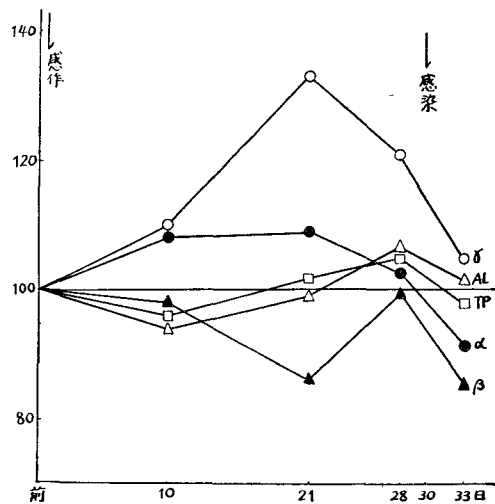


図 3 PT 感作後の血清蛋白分層量の変動 (感作前の各絶対量を 100 として)

PT 1% 溶液の 100 倍稀釈液 0.1 ml 皮内注射による反応を調べた。全例 10 日目には陽性となり、challenge 前迄強陽性反応を呈するが、発赤の縦横径では全体的に見ると僅かに漸減する。そして challenge によつて一段と反応性に低下が起る。殊に 7 日目に著明である。以後 21 日迄再び増強し、30 日ではやや減弱する。一方対照

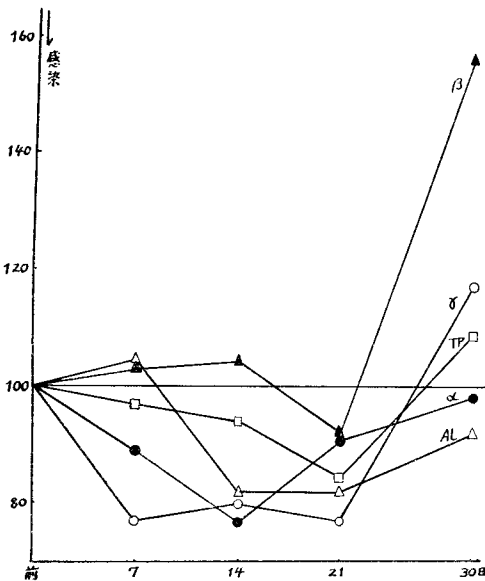


図 4 PT 群感染後の血清蛋白分層量の変動 (感染前の各絶対量を 100 として)

群では 7 日目一斉に陽転し、以後 30 日迄漸時増強して行く。この群では浮腫が顕著で、中心部壊死も見られた。

3. 血清抗体価の推移

1% PT の 100 倍稀釈液を抗原とした抗体価の動きを見ると表 6 の通りで、感作後 21 日には全例に沈降素が認められ、抗体価は 28 日には更に増強し、感染により一般に一時的減弱を示す。一方対照群では感染後 30 日 2 倍稀釈陽性を認めるにすぎない。

4. 血清蛋白分層の変動

PT 感作を行つた全例の各分層量の夫々の平均値を感染前 100 としてその後の増減を感染 3 日目迄百分率で現わしたものが図 3 である。之でもわかる通り一番大きな変動は γ -globulin 分画に認められ、21 日以後 120% 以上の高値を示す。又 α -globulin にも軽度ではあるが増加傾向がある。そして感染により 3 日の間に全蛋白分層の減少、殊に γ -globulin に著明な減少が起る。次に challenge 以後実験終了まで生かしておいた例の同様な平均値を示したのが、図 4 (PT 群)、図 5 (対照群) で

表 6 PT 感作及び毒力菌感染による PT に対する血清抗体価の推移 (血清希釈倍数)

群別	家兎番号	PT 感作後日数			毒力菌感染後日数				
		10	21	28	3	7	14	21	30
PT 感作群	182	32	32	128	64	64	128	128	32
	183	8	16	16	1				
	184	0	8	32	8	8	4		
	185	4	4	16	8	4	4		
	186	0	2	16	8	16	4	8	8
	187	0	1	8	4	16			
	188	0	1	2	1	4			
	189	0	2	8	8				
	対照非前処置群	196			0	0	0	0	
197				0	0	0	0		
198				0	0	0	0	0	2
199				0	0	0	0	0	1

ある。

この両図を比較して最も差の現われているのは、 γ -globulin であろう。即ち PT 群は 21 日迄、210% 以上の減少を示すに反し、対照群では 7 日以後 20% 以上の増加を示している。その他 β -globulin が対照群で一般に低値を示すこと、又 albumin が PT 群の 14, 21 日目に低いのが目立っている。更に総蛋白量は 21 日迄 PT 群が一般に低値を保持している。

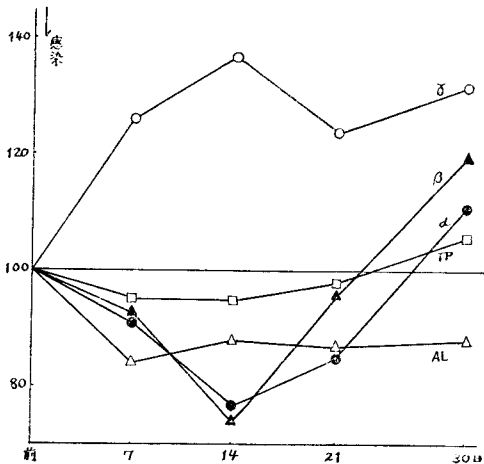


図 5 対照群感染後の血清蛋白分層量の変動 (感染前の各分層絶対量を 100 として)

表 7 病理組織学的所見及び菌量

群別	家兎 No.	感染後 日 数	肺				脾				肝		腎	副腎	
			増殖炎	滲出炎	乾酪 壊死	菌 量 n=* [†]	両肺重 量 g	病変 程度	乾酪 壊死	菌 量 n=* [†]	重量 g	病変 程度	乾酪 壊死	病変 程度	病変 程度
P T 群	183	3	+	+	-	4.477	11.3	±	-	5.397	1.4	±	-	-	-
	189	3	+	+	-	4.778	9.1	+	-	5.278	1.4	±	-	-	-
	187	7	+	+	-	4.602	14.5	+	-	4.903	2.5	±	-	-	-
	188	7	+	+	-	4.000	9.1	+	-	5.000	1.2	±	-	-	-
	184	14	+	+	-	5.380	9.2	+	-	5.880	1.4	+	-	-	-
	185	14	+	+	-	5.929	11.3	+	-	5.716	1.7	+	-	-	-
	182	30	+++	++	+	4.863	10.8	++	-	4.176	3.6	+++	-	+	-
	186	30	+++	++	+	5.004	10.7	++	-	3.845	1.4	++	-	+	-
	対 照 群	193	3	-	±	-	4.633	8.3	-	-	5.176	1.3	±	-	-
194		3	-	-	-	4.903	9.2	-	-	5.041	1.3	-	-	-	-
192		7	±	-	-	4.361	11.3	±	-	5.000	1.2	±	-	-	-
195		7	±	-	-	4.903	10.7	-	-	5.113	2.0	±	-	-	-
196		14	+	±	-	5.342	10.9	±	-	5.556	1.5	-	-	-	-
197		14	+	±	-	4.903	10.0	+	-	5.431	4.9	+	-	-	-
198		30	+++	+	±	4.491	12.1	+++	-	3.301	3.9	++	-	+	+
199	30	+++	+	+	4.954	10.9	++	-	4.000	2.2	++	-	-	-	

* 1g 中のコロニー数, 10ⁿ で現わす

5. 剖検所見

challenge 後 3 日から 30 日迄 4 回に分けて殺した例の病理組織学的所見は表 7 の通りである。便宜上病変程度を (-) から (+++) 迄の記号で記してある。

写真について病変経過を説明すると、

3 日目: (PT 183, PT 189, T 193, T 194)

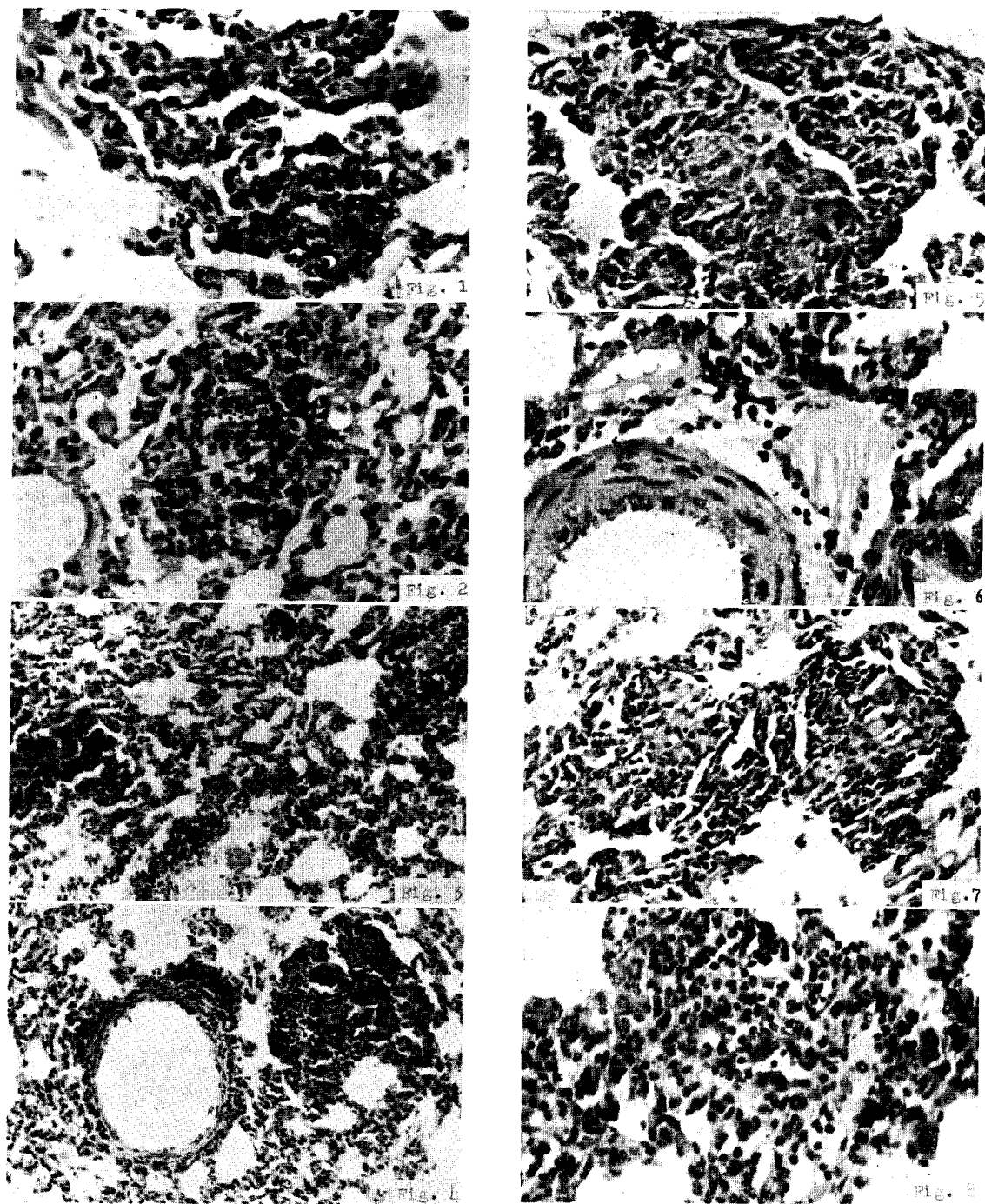
肺を見ると対照群では Fig. 1 のように胞隔の不規則な肥厚と少量の白血球, 単球の胞隔内浸潤が認められたり, 或いは Fig. 2 の様に若干結節様形態をとり始めてはいるが, まだ白血球, 単球の集合巣にすぎず, 又このような場所はごく少量しか認められない。之に対し PT 群では Fig. 3 のように胞隔のあちこちに結節の初期像としての単球性細胞の密な集合巣が認められる。又肺胞内には大滲出細胞, 大単核細胞の滲出が起つている。Fig. 4 は比較的大きな胞隔内結節と, 静脈壁に出来た単球性結節であり, この様な像は対照群には殆んど認められない。そしてその一部を強拡大で見ると Fig. 5 のように既に類上皮細胞の出現が認められる。又 Fig. 6 の

ように動脈周囲にリンパ管のうつ滞, 白血球, 単球の滲出, 外膜部にフィブリンの析出が認められたりする。このように PT 群には増殖炎の早期出現, 滲出炎の発生が認められ, 之らは何れもアレルギー性炎症の表現と認められてよいであろう。

その他脾では PT 群に脾洞の拡張, 洞内に大単核細胞の出現, 崩壊核の貧食像が認められる。肝では PT 群に単核細胞のやや大きい集合巣が存在する。対照群には殆んど変化は見られない。

7 日目: (PT 187, PT 188, T 192, T 195)

対照群は 7 日になると Fig. 7 のように単核細胞結節中に少量の末熟類上皮細胞の出現が肺に認められる。之に対し PT 群では類上皮細胞分化は対照群より進展しており Fig. 8 のようにその成熟型が多く認められるようになっていく。又血管内に白血球が多量に認められ, Fig. 9 のように動脈周囲に外膜の粗性化, フィブリン様物質の析出が著明になつており, 白血球, 単球の滲出も強い。又脾では PT 群のみに類上皮細胞小結節の出現



写真説明——詳細な説明は本文中参照， 全て hematoxylin-eosin 染色

Fig. 1 T 193, 対照群, 仲野株人型菌感染 3 日目の肺

Fig. 2 T 194, 同 3 日目肺

Fig. 2~6 PT 183, PT 35 mg 感作 30 日後, 毒力菌感染 3 日目の肺

Fig. 7 T 195, 対照群, 感染 7 日目の肺

Fig. 8 PT 187, PT 群感染 7 日目の肺



Fig. 9

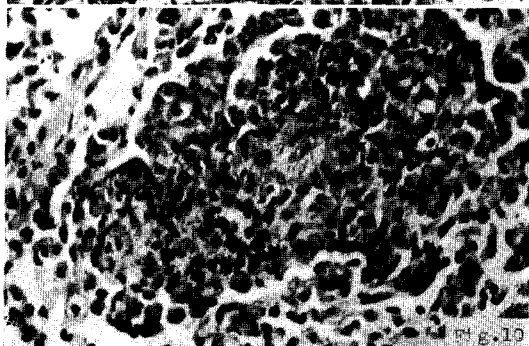


Fig. 10

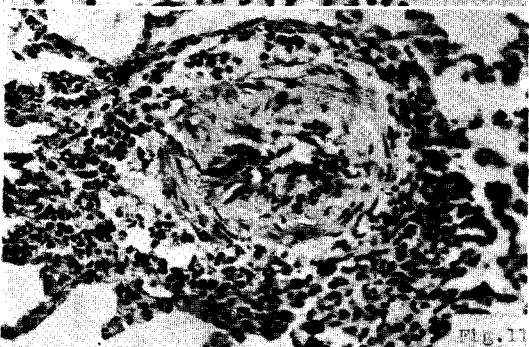


Fig. 11

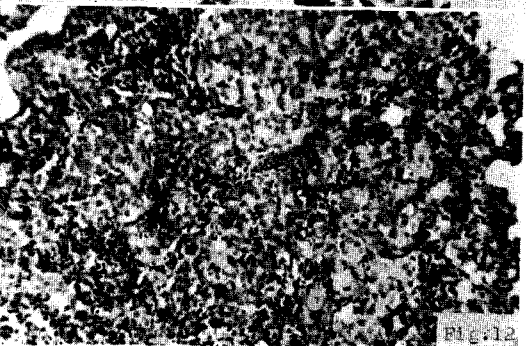


Fig. 12

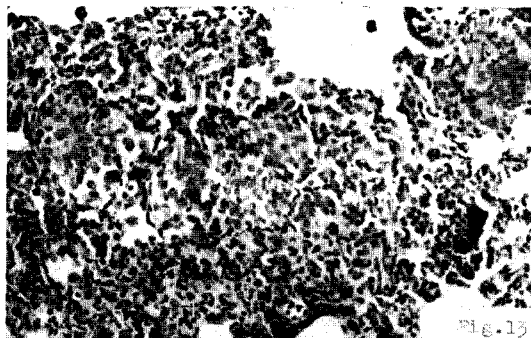


Fig. 13

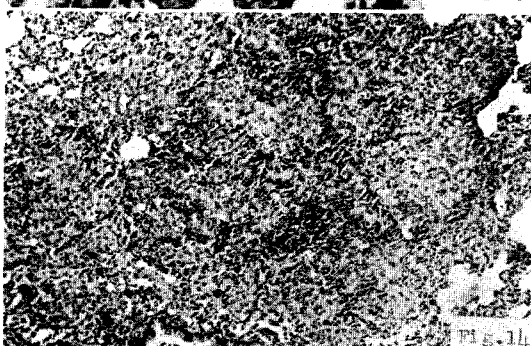


Fig. 14



Fig. 15

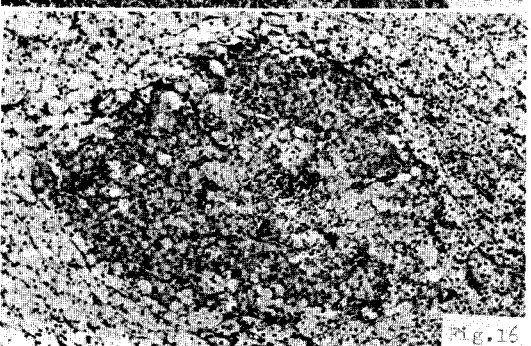


Fig. 16

Fig. 9 PT 187, PT 群感染 7 日目の肺
Fig. 10 T 197, 对照群感染 14 日目の肺
Fig. 11 PT 184, PT 群感染 14 日目の肺
Fig. 12 T 198, 对照群 30 日目の肺

Fig. 13 T 199, 对照群 30 日目の肺
Fig. 14 PT 182, PT 群感染 30 日目の肺
Fig. 15 T 198, 对照群 30 日目の肺
Fig. 16 T 198, 对照群 30 日目の副腎

が一部に起つている。又脾洞の拡張も著しく、大型細胞の多量出現がある。肝では毛細管内に小単核細胞の出現が両群共に認められるが、幾分 PT 群に強い。

このように7日ではPT群に増殖炎の成熟が見られるが、病巣の拡大は認められず、又滲出炎も保持せられている。

14日目：(PT 184, PT 185; T 196, T 197)

2週目に入つて対照群の肺の結節はほぼ完成せられる。Fig. 10 が之で、更に結節周囲に軽度の滲出性反応が起つている。しかし結節は数も少いし又一般に大きさも未だ小さい。一方 PT 群は胞隔は高度に肥厚し、類上皮細胞結節が散在性に認められ、対照群より更に進んでいる。又 Fig. 11 のように動脈周囲に著明な白血球の滲出が起つている。

脾では PT 群の病変が遙かに進んでおり、類上皮細胞結節が大きさや数を増しており、又脾髄細胞の増殖像、濾胞の縮小化が認められる。肝には始めて結節性病変が発生しており、数も大きさも PT 群が進んでいる。

このように2週に入ると PT 群には著しく増殖性病変の進展が認められ、遅々とした対照群病変とは顕著な差となつて現われて来る。殊に肺の滲出性病変は PT 群に特に強く、強い抗原抗体反応の惹起を推察させる。

30日目：(PT 182, PT 186, T 198, T 199)

両群共病変は著しい増悪を示している。Fig. 12 は対照群肺の1部であるが、之は繁殖性炎の強い部分で、密に類上皮細胞及び少数の巨細胞が個々の肺胞を充満しており、胞隔には強いリンパ球浸潤が認められる。Fig. 13 も同様の病巣であるが、細胞の結合がややゆるくなつている部分で治癒への傾向を示すと判断せられる。又壊死を起している大結節も別の部には存在する。一方 PT 群では肺胞内滲出現象が強く、又繁殖性炎の性格も相当強い。又一部に Fig. 14 のように中心壊死の著明な大融合性結節病巣も存在する。

脾では大きな類上皮細胞結節が累々と発生しており、Fig. 15 のように濾胞の構造を破壊しながら孤立性に或いは融合性に相当量の巨細胞を含んだ類上皮細胞結節が出来ている。しかし中心壊死は両群共見られず、又病変程度は若干対照群が進んでいる。肝にも同様な巨細胞の多い類上皮細胞結節或いは小単核細胞結節が出来ているが、PT 群の方が幾分数も大きさもまさつていようである。その他 PT 群 2 例、対照群 1 例の腎に小さな結節病変を認め、又対照群 T 198 の副腎皮質には Fig. 16 のような結節病巣を認めた。中心部は壊死におちいり、ここに結核菌を多数認めることが出来る。興味あることにこの結節を構成している類上皮細胞は本来の皮質細胞

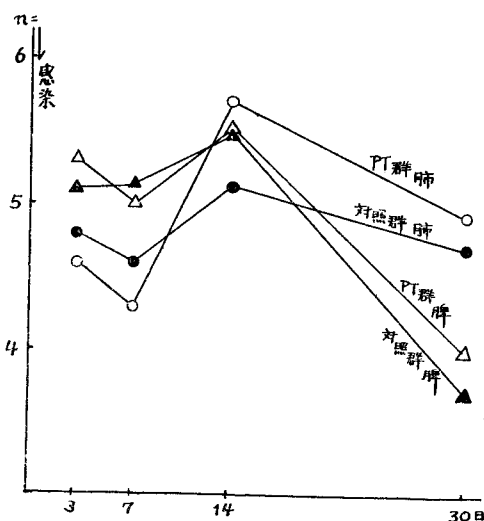


図6 両群肺、脾のコロニー数 ($10^{11}/g$)

に似て、空泡状に見えることで、臓器模倣の1例と判断せられる。

このように30日になると両群の病変差は著明でなくなる。しかし肺、肝について云えばPT群の方に病巣の進展している像が強く又数も多い。

6. 結核菌定量培養成績

肺、脾のコロニー数は表7の一部にのせてあるが、両群の平均値をグラフにすると図6の如くなり、両群両臓器共14日を頂点としている。しかし肺、脾の重量は30日になると増加しているのので、臓器内総菌数から云えば、30日も決して減少しているわけではない。次に両群を比較するとPT群は7日迄菌量が少なく、14日以降は逆に対照群の方が少くなつている。しかしこの場合もPT群の肺、脾重量は対照群より7日迄は重いので、そう著明な差とは云えない。

第I編 小 括

三塩化醋酸により pH 4.0 で非加熱「ツ」より落した蛋白成分 PT は「ツ」皮膚反応抗原として充分のものであり、又 BCG 兔血清の沈降反応抗原としても優秀なものである。之は Seibert の C 蛋白に相当するものであるが、之を流動パラフィンを用いた oil-in-water emulsion として家兎を隔日 5 回感作 (総量 35 mg) すると PT に対する速時型の強い皮膚感受性と、PT に対する沈降素を生ずる。血清蛋白では γ -globulin の著しい増量と若干の α -globulin の増量が起つた。感作開始後 30 日目、毒力菌 (仲野株人型菌) 2 mg を対照の非感作兎と共に静脈内注射を行つた。すると感作群の皮膚反応性、沈

降素の急激な減量が起り、又血清 γ -及び或る程度は α -globulin にも減量が見られた。剖検すると感染3日後、比較的強いアレルギー性滲出炎が認められ、結核結節の早期形成が見られ、14日迄は肺、脾の生菌量は対照群より少ない。しかし感染30日後の所見では病変程度は対照群と同様か又は若干進展している所見であり、菌量にも差は見られなかつた。

つまり「ツ」蛋白感作により発生した抗「ツ」蛋白抗体は、直ちに抗結核性抗体として認めることは出来ないが、感染時菌体蛋白との抗原抗体反応がアレルギー病変として表現されるのを認めた。

第II編 ツベルクリン多糖類による実験

今日「ツ」多糖類は血球凝集反応抗原としてようやく一般的に着目されて来ているが、その感作原性或いは免疫原性に関する研究は決して進んでいるとは云えない。「ツ」蛋白研究の歴史に比べ、「ツ」多糖類のそれは比較的新しいし、又決定的な弱点は純粋な多糖類の抽出が困難だと云うことである。「ツ」蛋白における核酸或いは多糖類の混入の如く、「ツ」多糖類には蛋白と云う混入物の存在が常に問題になつているところである。しかしこの問題は陽性の成績が出た時に云々されるのであつて、今日多糖類に抗結核免疫原性があるとの見解を下すに足る成績はごく少ない。只感作原性については Seibert の高分子多糖類 Ps II が抗原性を有すると報告⁴⁾せられているが、Boyden⁵⁾は脂質と結合状態にある多糖類がその抗原性の原因であると考えているようで、ここにも多糖類そのものの純粋な作用に対する反論のあとが見られるのである。

著者は前編において、「ツ」蛋白が感作原性を有し、感作後毒力菌感染時に一過性のアレルギー性滲出炎の発生を認めた。そこで今度は「ツ」多糖類の場合はどうのような成績がえられるかについて研究を進めたわけである。

実験材料及び方法

使用動物：健康家兎 26羽を用いた。

「ツ」多糖類*：H₃₇Rv株の Sauton 8週間培養の非加熱 Seitz 濾液を rotary evaporator で濃縮(40°C以下)、之に沈澱の出来なくなる迄複合ストレプトマイシンを加え核酸を除去³⁾、上清に三塩化醋酸を加え pH1.0とし、一日氷室に放置、遠心して蛋白を除いた上清を流水で2日間透析、遠心上清に Sevag の方法で chloroform-amylyl alcohol 混合液(4:1)を1/5量加え、分離漏斗で

強く振蕩、之を3回くり返して除蛋白し、之に methanol を加え 45% 飽和で 24時間放置して沈澱したものを、蒸溜水に溶解、再び methanol で沈澱、之をくり返し精製したほぼ白色の粉末である。(N量 0.17%) 之はほぼ Seibert の Ps II に相当するものである。

感作方法：上記多糖類(以下 Ps と略記する) 500mg を 132 ml の生理食塩水に溶解、その 22 ml を更に生理食塩水で2倍に稀釈し、之に滅菌流動パラフィン 6 ml を加え、超音波装置で約 10分、完全な oil-in-water emulsion としたものを用いた。之の 6 ml (Ps 10 mg 含有) 宛を 14羽の家兎の臀部皮下に隔日注射、計5回、総量1羽当たり 50 mg になる。

感作後：感作後 10日目毎に採血し、沈降反応、赤血球凝集反応(Middlebrook-Dubos 法)及び血清蛋白分層の変動を調べた。尚凝集反応に使用した抗原* PsQQ は上記 Ps をとつた上清を濃縮、methanol 濃度 80% になるように methanol を加え沈澱を除き、更にこの上清を再び濃縮、methanol 95% 飽和で出来た沈澱を精製したものを用いた(N量 1.00%)。之は Seibert の Ps I に相当し、小野ら⁶⁾によつて充分な凝集反応抗原となることを確認せられたものである。

毒力菌 challenge：感作開始後 33日目、上記感作家兎及び対照群(以下 K群と略記する)として正常家兎 12羽に牛型結核菌三輪株 1 mg ずつを耳静脈内注射による感染を行つた。尚感作群(以下 Ps 群と略記する)中 2羽を感染前に殺し、以後の病変判定の参考とした。

感染後検査：感染後 1, 4, 7, 14, 21, 28日目に体重測定、「ツ」皮膚反応、沈降反応、赤血球凝集反応、血清蛋白分層の変動を追求した。

剖検：感作後 1, 4, 14日目に両群共 2羽ずつ、28日には4羽ずつを殺して剖検し、又肺、脾については前編同様、定量培養を行つた。

実験成績

1) 体重：Ps 感作によつては殆んど体重に変動を示さない。三輪株感染後における両群の平均体重の変動を見ると、両群共に感染後漸減の傾向を示し、感染後 28日目では Ps 群は 15% の減少、K群では 14% の減少で、両群間に全く変化は見られなかつた。

2) 皮膚反応の推移：Ps による皮内反応は全て陰性である。40倍生理食塩水稀釈旧ツベルクリン 0.1 ml の皮内注射による皮膚反応の結果は表 8 の如くであつた。Ps 群では感染迄は全て陰性であるが感染後 4日目に既

* 本多糖類は当研究所予防部高橋教授が精製し恵与されたものである。

* 本抗原も本研究所予防部において精製したものである。

表 8 感染後の「ツ」反応の推移

(抗原: 40 倍 OT 0.1 ml, 皮内注射)

群別	No.	日数					
		前	4	7	14	21	28
Ps 群	210	—	7×7(±)*				
	212	—	—	13×11(+)	11×10(+)	11×12(±)	15×12(±)
	213	—	—	8×7(±)	10×10(+)	8×7(+)	10×10(+)
	214	—	—	15×15(+)	17×15(+)	—	—
	215	—	8×8(+)	10×12(+)	15×15(±)		
	216	—	—	12×11(+)			
	217	—	8×8(±)	13×13(+)			
	219	—	—				
	220	—	11×11(+)	15×17(±)	17×14(±)	8×10(+)	8×8(+)
	221	—	—	10×10(+)			
K 群	263	—	—	7×7(±)	8×10(+)	13×13(+)	—
	264	—	—	11×11(+)			
	265	—	—	—	11×11(+)	—	—
	266	—	—				
	267	—	—				
	268	—	—	10×10(+)			
	269	—	—	5×5(±)	—	8×7(±)	—
	272	—	—	6×5(±)	10×10(±)		
273	—	—	7×7(±)	12×12(+)			
274	—	—	11×11(+)	8×8(±)	10×10(+)	10×10(±)	

* 発赤径 mm, () 内は硬結の程度

に陽性反応を示すものもあり、7 日目では全例陽性、更に 14 日目では反応が殊に強く、以後少しく減弱の傾向を示したが、28 日目でも 1 例を除き陽性反応を示した。他方 K 群では感染後 4 日目では全例陰性で、7 日目に至り始めて陽性反応を呈し、14 日目でも著明な反応増強も見られず 28 日目では Ps 群と反対に 1 例のみ陽性で他は陰性の成績であつた。

3) 沈降反応: Ps 群における感作後 10 日, 20 日, 30 日目の Ps 100 倍生理的食塩水稀釈液に対する沈降反応の結果は表 9 の如くであつた。即ち 10 日目では全例陰性であつたが、20 日及び 30 日目では大体血清原液程度の反応陽性を示した。更に感染後の両群の成績は表 10 の如くであり、Ps 群で感染後 1 日目に 5 例中 3 例が

血清原液で反応陽性の外、他は何れも陰性の結果に終つた。一方ツベルクリン蛋白質抗原に対しては、ツベルクリン多糖類による感作だけでは陰性、三輪株感染 21 日後では Ps 群の 3/4 例に陽性、28 日目の結果では両群共全例陽性であつたが、Ps 群の方の抗体価が K 群より幾分高いことが注目せられる。

4) 赤血球凝集反応 (Middlebrook-Dubos 法) の経過は表 11 の如く、感作後 10 日目では 12 例中 7 例に反応陽性であつたが、凝集価は低く、20 日目では 12 例中 10 例が陽性となり且凝集価も上昇したが、30 日目では再び減弱し反応陽性を呈するものは 12 例中 4 例にすぎなかつた。他方感染後 21 日及び 28 日目では表 11 に示した如く全例陽性で凝集価は 80 倍から 320 倍まで

表 9 Ps 感作後の沈降反応成績
(血清希釈倍数)

No.	抗原 日数	1% Ps			0.001% 「ツ」蛋白	
		10	20	30	10	20
210	0	2	1	0	0	
211	0	8	1	0	0	
212	0	2	2	0	0	
213	0	1	2	0	0	
214	0	1	1	0	0	
215	0	0	1	0	0	
216	0	1	1	0	0	
217	0	1	1	0	0	
218	0	1	0	0	0	
219	0	4	1	0	0	
220	0	2	2	0	0	
221	0	1	1	0	0	

表 10 感染後の沈降反応成績
(血清希釈倍数)

群別	No.	抗原 日数	1% Ps					0.001% 「ツ」蛋白	
			1	4	7	14	21	28	21
Ps 群	212	1	0	0	0	0	0	0	4
	213	1	0	0	0	0	0	2	8
	214	1	0	0	0	0	0	2	8
	217	0	0	0	0				
	220	0	0	0	0	0	0	2	4
K 群	263	0	0	0	0	0	0	0	4
	265	0	0	0	0	0	0	0	4
	269	0	0	0	0	0	0	0	2
	272	0	0	0	0				
	274	0	0	0	0	0	0	0	8

を示した。尚対照群も之よりはやや低いが、比較的強い凝集素の産生を示した。

5) 血清蛋白分層の変動: ツベルクリン多糖類感作による血清蛋白分層の全例平均変動は図7の如くであつた。即ち感作前の各分層の夫々の平均値を 100 として

表 11 Ps 感作及び毒力菌感染による
Middlebrook-Dubos 赤血球凝集価の推移
(抗原: PsQQ)

群別	家 兎 番 号	感 作 後			感 染 後		
		10	20	30	21	28	
Ps 群	210	0	0	0			
	211	0	0	0			
	212	20	20	0	160	80	
	213	20	20	0	320	320	
	214	80	160	80	160	160	
	215	0	20	0			
	216	20	40	0			
	217	20	20	40			
	218	40	40	0			
	219	20	20	0			
K 群	220	0	40	20	80	40	
	221	0	20	0			
	263				0	80	80
	265				0	160	320
	269				0	160	80
	274				0	80	80

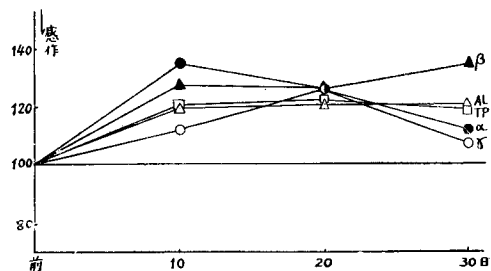


図 7 Ps 感作後の血清蛋白分層量の変動
(感作前の各絶対量を 100 として)

その後の増減を追求すると、総蛋白量は感作 10 日目以降約 20% の増加を示し続け、アルブミンにも之とほぼ同程度の増加が見られた。グロブリンでは PT 感作と異なり、 γ -globulin には 20 日で 26% 程度の増加にすぎず、 α -globulin も 10 日では 35% の増加があつたが、以降 γ -globulin と共に増加率は減少している。むしろ β -globulin の 30 日、35% 増加が目立っている。

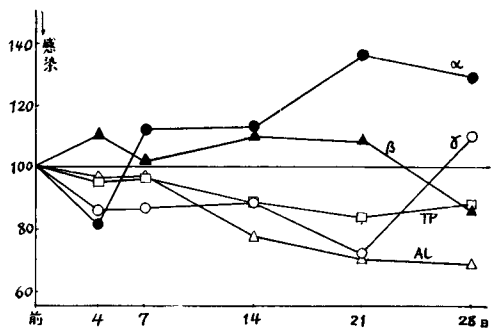


図 8 Ps 群感染後の血清蛋白分層量の変動 (感染前の各絶対量を 100 として)

次に感染による血清蛋白分層の変動は、図 8, 9 に示したが、Ps 群においては、4日以降 γ -globulin の低値保持が目立ち、 α -globulin にも 4日のみ約 20% の減少があつたが、PT 感作群における減少又は低値保持に比べると、その程度は軽い。尚対照群と比べ差のあるのは、 γ -globulin が対照群では次第に増量し、28 日では 176% にもなる点が最も異なり、又前述の Ps 群の α -globulin の一時的減少、更には後期におけるその増量が異なつている。その他の点では余り著明な差とは云え

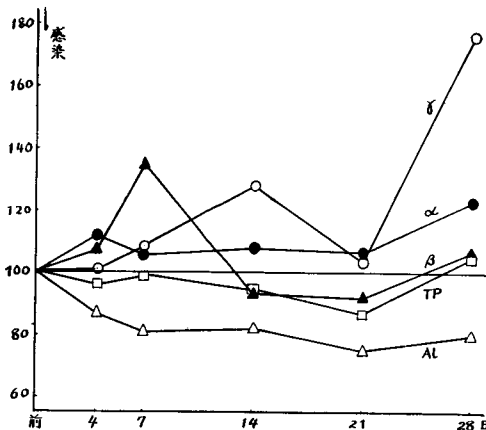


図 9 対照群感染後の血清蛋白分層量の変動 (感染前の各絶対量を 100 として)

ない。

以上からPs群においてもPT感作同様、若干 γ -globulin が増量し、感染後 α -及び γ -globulin の減少が起ることがわかつたが、その程度は PT 群には及ばないことを知つた。

6) 剖検所見：実験開始時の体重、剖検時の左右別

表 12 体重、剖検時の肺、脾重量及び菌量

家兎 番号	感 染 後 日 数	Ps 群						K 群						
		体 重 kg	肺		脾		家 兎 番 号	体 重 kg	肺		脾			
			左 g	右 g	菌 量 $\times 10^3/g$	重 量 g			菌 量 $\times 10^3/g$	左 g	右 g	菌 量 $\times 10^3/g$	重 量 g	菌 量 $\times 10^3/g$
222	0	2.14	3.8	5.0		0.5								
223	0	2.32	3.6	5.2		0.6								
211	1	2.44	3.8	5.3		1.0		270	1.96	3.4	5.0		1.3	
218	1	2.58	3.9	5.5		1.6		271	1.99	4.1	5.8		1.3	
210	4	3.24	4.2	5.8	13	1.8	60	266	2.20	3.4	4.9	36	1.1	99
219	4	2.58	3.5	4.5	18	0.9	39	267	2.00	3.0	5.0	36	1.3	116
216	7	3.34	5.4	8.6	74	2.1	170	264	2.20	3.7	5.1	47	1.8	137
221	7	2.68	7.2	6.9	62	1.6	78	268	2.34	4.7	6.9	93	1.4	168
215	14	2.60	5.2	7.9	150	2.8	420	272	1.81	3.8	5.4	140	2.0	2750
217	14	2.82	5.7	8.7	160	3.9	230	273	1.63	3.8	5.5	290	3.2	5000
212	28	2.09	4.9	7.5	41	1.3	12	263	2.07	4.0	5.8	6	3.2	5
213	28	2.65	7.0	8.9	83	3.9	720	265	1.96	3.8	5.7	9	1.9	4
214	28	2.70	5.5	7.7	500	2.7	940	269	1.86	3.7	5.8	530	2.5	86
220	28	2.32	6.0	8.8	49	3.1	360	274	2.74	6.8	8.8	49	5.9	5

表 13 肺, 脾重量及び菌量の平均値

		感作後日数					
		1	4	7	14	28	
肺	重量 g	Ps	9.3	9.0	14.1	13.3	14.3
		K	9.2	8.2	10.2	9.3	11.1
	菌量 $\times 10^3/g$	Ps		16	68	155	168
		K		36	70	215	144
脾	重量 g	Ps	1.3	1.4	1.9	3.4	4.0
		K	1.3	1.2	1.6	2.6	3.4
	菌量 $\times 10^3/g$	Ps		50	124	325	1016
		K		108	153	3875	26

肺, 脾重量, 及び肺, 脾 1g あたりの生菌単位は表 12 の如くである。この平均値を求めると表 13 の如くなる。

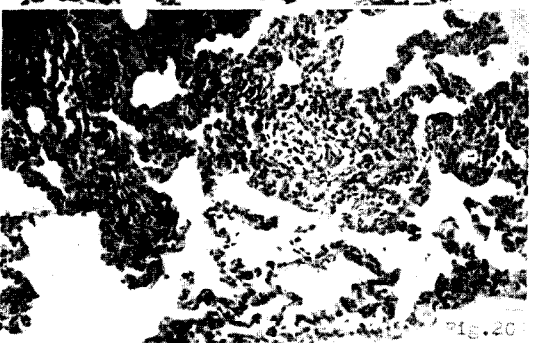
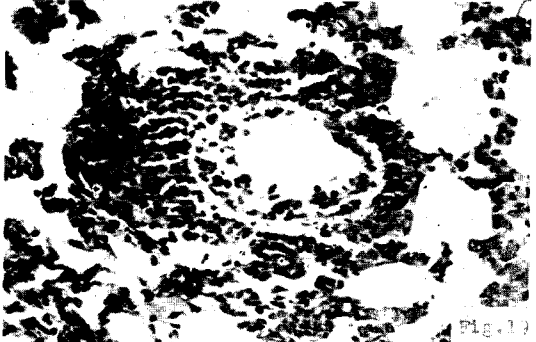
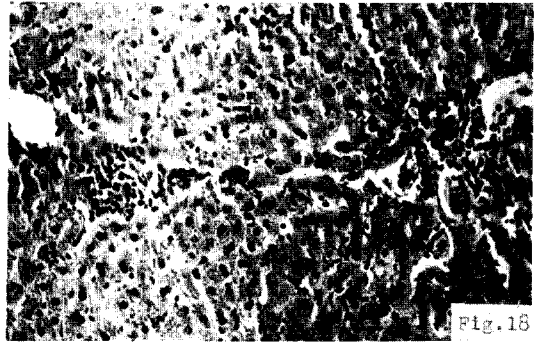
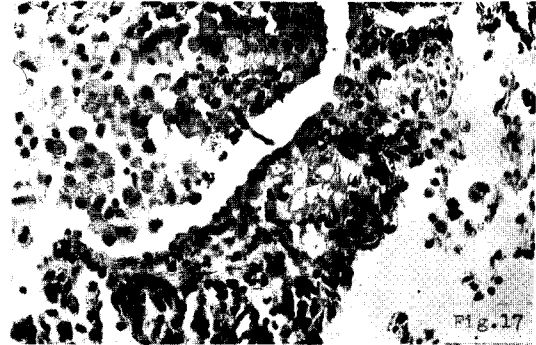
先ず重量では肺, 脾共に Ps 群が重い傾向を有する。しかし平均体重を見ると Ps 群の方が全期間を通じて K 群の 113~140% と云う重量を示しているので必ずしもこの表に現われた数値だけで比較するのは不当であろう。従つて両群の差はこの数値よりもつと接近するものと考えられる。次に菌量を見ると肺, 脾共に感染 14 日迄は幾分 Ps 群が少なく, そして 28 日には逆に K 群が少ない成績である。しかし之も肺, 脾内にある全菌量を推定する場合は之に肺重量を乗ずるわけであるから, Ps 群の 14 日迄の菌量の少なさが, 重量の重さで差引かれ, 両群の差は著明でなくなる。従つて 28 日の Ps 群の全菌量はこの表に現われた以上に多い結果となる。

次に組織学的所見について概説する。第 I 編に準じ写真の説明によつて述べよう。尚便宜上病変程度を数的に現わしたのが表 14 である。

先ず Ps 感作だけによる病変を毒力感染当日に調べると (Ps 222, Ps 223), 肺には充血が若干ある程度で著変がない。又脾では濾胞の発育がよく, 脾洞にも変化は見られない。肝, 腎, 副腎にも変化を認めない。

感染 1 日目: (Ps T 211, PsT 218, KT 270 KT 271)

先ず肺を見ると, Ps 群では胞隔の肥厚が特に著明で, 静脈周囲及び胞隔内に単球及び少量の白血球の浸潤があり, 静脈内膜に単球の附着が認められる。PsT 211 の肺胞には大滲出細胞性肺炎像がある (Fig. 17)。又 PsT 218 では結節性単核細胞浸潤が少数認められる。肝には単球と白血球からなる細胞浸潤が間質殊にグリソン鞘に多くあり (Fig. 18) 類洞内に小単核細胞の増量が認められる。脾には洞内白血球の増量がある程度で著変はない。



写真説明——詳細な説明は本文中参照

Fig. 17 PsT 211, Ps 50 mg 感作 33 日後, 三輪株牛型菌 1 mg 感染 1 日目の肺

Fig. 18 PsT 218, Ps 群感染 1 日目の肝

Fig. 19 PsT 219, Ps 群感染 4 日目の肺

Fig. 20 PsT 216, Ps 群感染 7 日目の肺

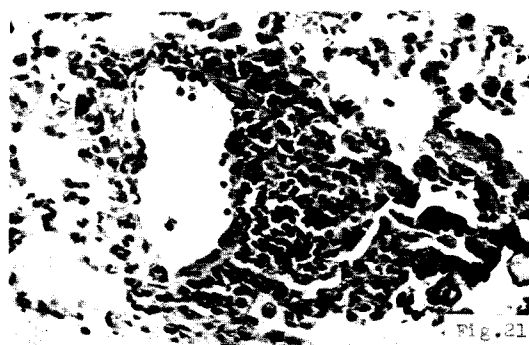


Fig. 21

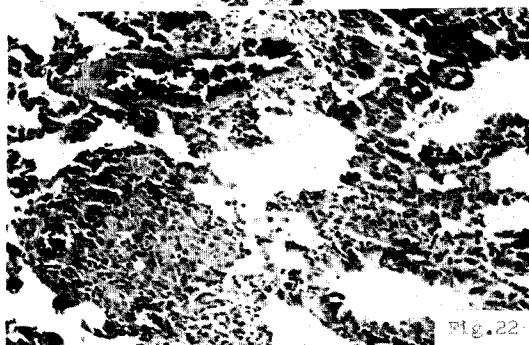


Fig. 22

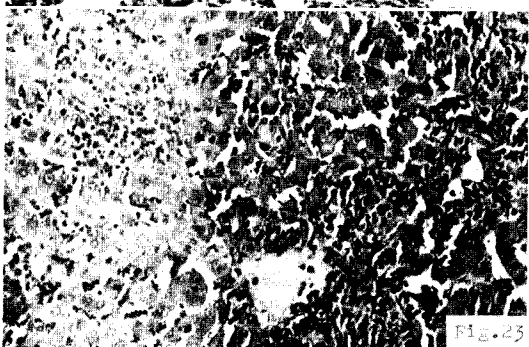


Fig. 23

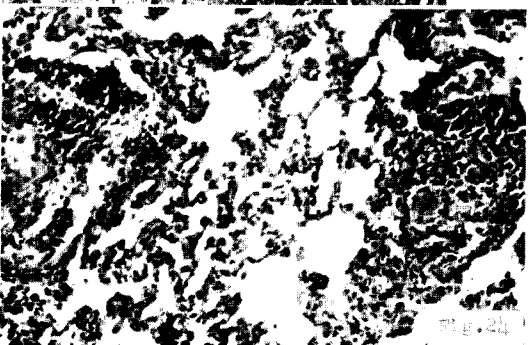


Fig. 24



Fig. 25

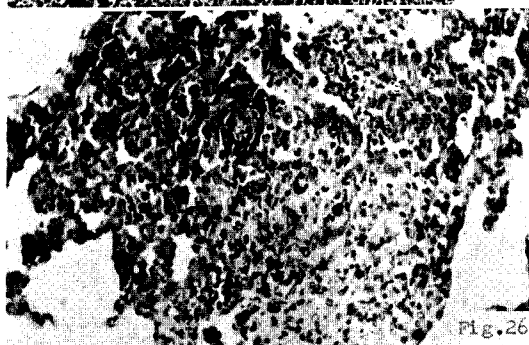


Fig. 26

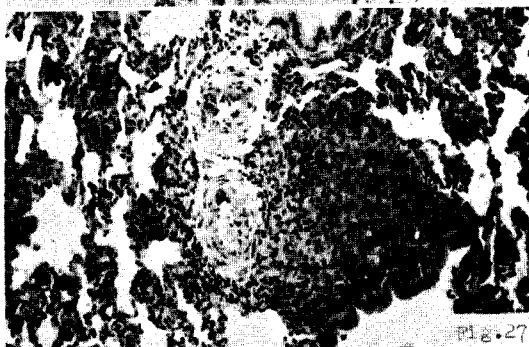


Fig. 27

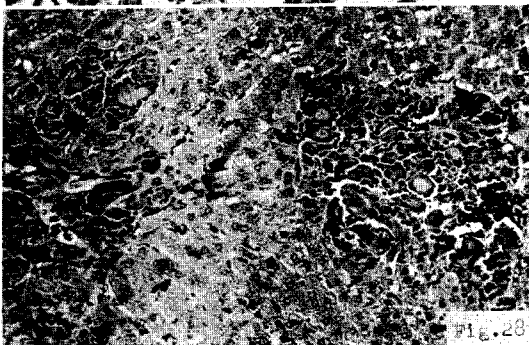


Fig. 28

Fig. 21 KT 268, 对照群感染 7 日目の肺
Fig. 22 PsT 215, Ps 群感染 14 日目の肺
Fig. 23 PsT 215, Ps 群感染 14 日目の肝
Fig. 24 KT 272, 对照群感染 14 日目の肺

Fig. 25 KT 273, 对照群感染 14 日目の肺
Fig. 26 PsT 220, Ps 群感染 28 日目の肺
Fig. 27 KT 274, 对照群感染 28 日目の肺
Fig. 28 KT 263, 对照群感染 28 日目の肝

表 14 組織学的に見た病変程度

群別	前処置	後処置	感染後 日数	家 番	兎 号	肺	脾	肝	腎	副 腎
Ps 群	Ps 50 mg 皮 下 注 射	三 輪 株 牛 型 結 核 菌 1 mg 耳 靜 脈 内 注 射	1	222	—	—	—	—	—	—
				223	—	—	—	—	—	—
			4	211	+	±	±	—	±	—
				218	+	—	+	—	—	—
			7	210	±	—	±	—	—	—
				219	+	+	+	—	—	—
			14	216	±	+	+	—	—	—
				221	±	+	±	+	—	—
			28	215	±	±	±	—	—	—
				217	±	±	±	—	—	—
				212	±	±	±	±	±	—
				213	±	±	±	+	±	—
				214	±	±	±	+	±	—
				220	±	±	±	—	±	—
K 群	K 50 mg 皮 下 注 射	三 輪 株 牛 型 結 核 菌 1 mg 耳 靜 脈 内 注 射	1	270	±	—	±	—	—	
				271	±	—	±	—	—	
			4	266	±	+	—	—	—	—
				267	±	+	+	—	—	—
			7	264	+	+	±	—	—	—
				268	±	+	±	—	—	—
			14	272	±	±	±	—	—	—
				273	±	±	±	—	—	—
			28	263	±	±	±	+	+	—
				265	±	±	±	±	±	—
269	±	±		±	±	±	—			
274	±	±		±	±	±	—			

之に対しK群では、肺に軽い白血球浸潤、それによる胞隔の肥厚がある程度で滲出傾向はごく弱い。肝類洞内に単球の増加が少し認められる。その他には殆んど病変を認めない。

4日目：(PsT 210, PsT 219; KT 266, KT 267)

Ps群の肺には、顕著な血管周囲の外殻状単球性細胞浸潤があり、それに相当した内臓の空泡状肥厚が認めら

れる (Fig. 19)。胞隔内には小単核細胞の著明な浸潤が存在する。剝離上皮、大滲出細胞が肺胞内に比較的多目にある。又動脈周囲リンパ管にリンパの強いうつ滞を認める。脾では濾胞の構造の分散傾向、濾胞周辺及び洞内に多量の白血球がある。しかし洞の拡張は余り著明でない。肝にはグリソン鞘の単核細胞浸潤、類洞に単球及び白血球量が1日目より更に増量しており、PsT 219では殊にそれらが集団をなして存在する。K群では胞隔の肥厚が目立ち、単核細胞が少し浸潤し、又動脈周囲に白血球が少し出ている。脾には濾胞の拡大、周辺に軽度の白血球浸潤がある。肝では類洞に単球の増加がある。病変は遙かにPs群より弱く、又遅れている。

7日目：(PsT 216, PsT 221; KT 264, KT 268)

Ps群の肺には Fig. 20 のように閉塞した小血管を中心として、或いは胞隔内に単球性小結節の形成が数多く認められ、一部の結節には白血球も混入している。静脈管内に単球の増加、或いは血栓様に附着しているのも認められる。脾には濾胞の萎縮、脾髄の増殖初期像、脾洞の軽い拡張、洞内に白血球の塊状集合像を認める。肝では類洞内白血球の増量が目立ち、単核細胞の結節様小集合が所々に認められ、グリソン鞘の単核細胞浸潤は更に著明となつている。尚 PsT 221 の腎の間質に単核細胞浸潤のやや強い場所を認めた。K群では肺に Fig. 21 のように胞隔の空泡状肥厚、単球性結節形成があり、血管周囲に単球浸潤、肺胞内大滲出細胞及び剝離上皮を認めるが程度はPs群に及ばない。脾では濾胞の萎縮、単核細胞性小結節の形成がある。肝ではごく小さな単球性小結節が非常に沢山存在し、之に白血球が多く参与している。類洞内白血球、単球の増加が目立っている。

14日目：(PsT 215, PsT 217; KT 272, KT 273)

Ps群の肺では多数の結節形成が認められ、中心部には典型的類上皮細胞の出現がある (Fig. 22)。その多くのは静脈管を閉塞し、或いはその周囲に多量の外殻状単球結節を示す。一部には肺胞内類上皮細胞増殖即ち増殖性肺炎の形を呈している。脾は7日目から見ると、病変は著しく進展し、濾胞の大半を類上皮細胞が占め、脾髄にも多数の類上皮細胞小結節を見せる。洞内には白血球が著しく多量に存在し、血管内には単球性細胞の著明な増量が認められる。肝にも同様な結節が多発し (Fig. 23)、7日より著しく大きさを増し、巨細胞も混在している。K群の病変も大体之に類似しているが、肺では類上皮細胞性分化が一般にPs群より遅れており、肺胞内に大滲出細胞がより多く出ている (Fig. 24)。脾ではPs群のように濾胞を完全に結節性病変が置換してしまつている像を認めえない (Fig. 25)。肝は殆んどPs

群に似ている。

28 日目：(PsT 212, PsT 213, PsT 214, PsT 220;
KT 263, KT 265, KT 269, KT 274)

Ps 群の肺の病変は大体 14 日目に類似し、結節の成熟著明な増殖性肺炎、剝離性肺炎等の像が混在し、肺隔にはび慢性に単核細胞の浸潤が見られ、気管支周囲リンパ装置中に著明な結節形成がある (Fig. 26)。脾では類上皮細胞結節が無数に出来ているが、大きさは 14 日目と変わらない。しかし PsT 220 では特に広大な壊死巣の形成を示し、多量の赤血球がこの中に浸漬している。肝では結節の多発が見られ、完全に成熟しているが、余り大きな結節は見られない。腎には PsT 220 を除く 3 例に皮質深層に少数ではあるが類上皮細胞結節を認める。附近には単核細胞浸潤も強い。副腎にも同様な結節が認められ、PsT 214 では特に中心壊死を示している。次に K 群を見ると、病変は殆んど Ps 群と同一である。ただ肺では増殖炎の程度は幾分 Ps 群より更に進展し、病巣の大きいもの (Fig. 27)、或いは中心壊死の著明な例が多い。脾では KT 263 に PsT 220 同様な広大な壊死巣を認め、又リンパ球のび慢性浸潤、或いは濾胞の新生像も認められ、又肝では Fig. 28 のように特に巨細胞の多い結節を示すものが多く、しかも結節の形は正円型を呈し、一般に Ps 群より、更に進展した或いは治癒へより近よつた病変を呈している。尚腎、副腎の結節には巨細胞を混じ、中心壊死の著明な例も存在する。

以上の組織所見をまとめると、Ps 群は感染初期に軽くはあるがアレルギー性滲出炎を呈し、結節の若干早期形成、類上皮細胞の早期分化があり、以降病変は 14 日を頂点として、比較的進展が停止している。之に対し対照群は初期病変はごく軽い、日数と共に之に追付き 28 日ではむしろ Ps 群より病期では追越している。

第Ⅱ編 小 括

除蛋白した非加熱培養濾液からメタノール濃度 45% で沈降する「ツ」多糖類画分を用いてその抗原性及び免疫原性を調べた。

まず、之の多糖類 (Ps) 50 mg を adjuvant と共に家兎に 5 回に分割注射すると、Ps に対する沈降素が現われ、又 PsQQ (Ps を落した後 methanol 濃度 95% にして沈降する画分) を抗原とした Middlebrook-Dubos 血球凝集反応抗体が現われる。しかし「ツ」蛋白 (PT) に対する皮膚反応性、血清抗体は現われない。血清蛋白では全分層の 10~30% の増量があり、第 I 編の PT 感作の如き γ - 及び α -globulin の特に強い増量は認められない。次に之に毒力牛型菌を静脈内から感染すると、

Ps に対する沈降素は消失し、PT に対する皮膚反応性及び沈降素が、対照の非前処置群より先にしかも強く現われた。前述血球凝集価も対照群より高い。血清蛋白では感染初期に α -globulin の減少、感染 21 日迄の γ -globulin の低値保持が見られ、著しい γ -globulin の増量を示す対照群と顕著な対比を示している。組織学的には、感染初期に軽い滲出炎の発生、結節のやや早期形成があり、病変はより早く成熟し、後期にはそのままの病像を保持している。之に対し対照群では初期の病変はごく軽い、次第に増悪し、後期では追越してしまう。肺、脾の生菌量を計ると、14 日迄は Ps 群が若干少く、28 日では逆に多くなっている。

以上から著者の用いた「ツ」多糖類は感作原性を有し、沈降素、血球凝集素を産生するが、之の免疫抗体としての役割は余り強くない。しかし感染初期の成績から見ると、「ツ」蛋白と或る程度類似した作用を有することを認めた。

第Ⅲ編 モルモットにおける 「ツ」多糖類実験*

前述第Ⅱ編において家兎における「ツ」多糖類感作及び challenge 実験を行い、多糖類は多糖類に対する沈降素、血球凝集素を産生するを知り、更にこのような感作による抗体は毒力菌 challenge に対して感染初期 14 日位迄は若干抑制的ではあるが、28 日では殆んど抵抗性を示さないことがわかつた。

ここで「ツ」多糖類について詳細な検討を行つている Seibert 一門の成績を見ると、一般に BCG 免疫兎で抗多糖類沈降素価の高い例に著明な抗菌免疫の存在を認めている⁷⁾、又抗多糖類血清及び多糖類単独では in vitro で菌の増殖に作用を及ぼさないが、BCG 免疫血清に多糖類を加えることによつて菌の増殖が抑制される。更に正常血清においても同様な作用が見られることから、抗多糖類抗体による特異的免疫現象の他に、非特異的な lysozyme 或いは properdin 様作用を想定している⁸⁾。このように考えると、多糖類は菌と共に動物を免疫することによつて、菌の免疫原性が増強されると云う可能性も出て来るわけである。そこで死菌及び生菌のアセトン抽出残渣を用いて、之に多糖類の添加感作を行つて見たわけである。

実験材料及び方法

* 本実験は予防部との共同研究であり、便宜上ここに記載した。共同研究者名：山本健一、小野勝男 (主任 高橋義夫教授)

使用動物：健康白色モルモット 40 匹，体重 330~550 g のものを使用した。

感作材料：1) BC: H₃₇Rv の 100°C 加温死菌

2) RA: H₃₇Rv を生のまま軽く水洗，水を切つてからアセトンに入れ，48 時間で死菌とし，更に 50°C soxlet でアセトン抽出を行い，残渣を乾燥したもの。

3) Ps: 第II編実験に用いたと同じ「ツ」多糖類分画。感作法：第I群：BC 1 mg/ml を 0.5 ml 腹腔内注射，2 週後再び同量と同じ方法で再感作。

第II群：RA を BC と全く同じ方法，同じ量宛感作。

第III群：RA 1 mg/ml, 0.5 ml と Ps 1 mg/ml, 0.5 ml とを混合して前群と同様に感作。

第IV群：Ps 1 mg/ml を 0.5 ml 同様に感作。

第V群：このような前処置を行わない対照群。

感染方法：上記感作終了後，3 週目に即ち初回感作後，35 日目に仲野株人型結核菌 1/10,000 mg を右鼠蹊部皮下に接種した。

検査方法：100 倍 OT による皮膚反応を随時測定，感染後 4 週目に全例を殺し，剖検し，脾，肺，肝，局所リンパ節については組織学的に検査を行った。

成 績

1. 「ツ」反応の経過

之は表 15 に示した。即ち初回感染後 2 週目 BC 群は全例陽転して了つており，RA 群及び RA+Ps 群は半数が陽転しているが，再感作 2 週目では一部の例を除き殆んど全例が陽転する。しかし，Ps 群では感染迄 1 例を除き陽転はしない。感染後 4 週目，全実験例が陽性反応を呈しているが，一般に対照群より前処置群の反応は強く，感染前陰性であつた Ps 群も強い陽性反応を呈した。

2. 肉眼的所見

剖検時の肉眼的変化の程度を便宜上数的に表現し，之を積算して，内臓及びリンパ節についてヒストグラムを作製すると図 10 の如くなり，Ps 群は対照群と殆んど同程度の病変を示す。BA 群は病変は軽く，之に RA 群及び RA+Ps 群が続く。横に記した平均脾重量も大体以上の成績に類似した傾向を示している。

3. 組織学的所見

肉眼的変化の場合に準じて病変程度を数的に現わし表記すると表 16 がえられる。

動物にモルモットを使用した結核感染実験では脾が最も良い病変程度判定規準となるのであるが，この表からもわかる通り，第IV群即ち Ps 単独注射群は対照非前処置群と殆んど変らない病変程度を示している。ここで簡

表 15 「ツ」反応と体重

群別	モルモット号	開始時体重 g	「ツ」反応*				剖検時体重 g
			初感作回時	2 週後	4 週後 (再感作時)	感作後 2 月 (感染後 4 週)	
I (BC) 群	401	420	-	11(±)	21 (++)	20 (++)	350
	402	420	-	16(+)	21 (++)	22(++B)	350
	403	360	-	14(+)	18 (+)	23(++B)	300
	404	420	-	19(+)	22 (++)	22(++B)	350
	405	420	-	20(+)	20 (+)	23(++B)	420
	406	430	-	18(+)	21 (++)		
	407	530	-	20(++)	18 (+)	22 (++)	460
	408	470	-	21(+)	25(++B)		
II (RA) 群	409	380	-	-	13 (+)	26 (++)	320
	410	450	-	18(+)	17 (+)	23(++B)	450
	411	490	-	17(+)	18 (+)	20 (++)	460
	412	410	-	-	-	19 (+)	320
	413	440	-	11(±)	-		
	414	420	-	-	13 (+)	13 (+)	330
	415	400	-	-	10 (+)	19 (++)	400
	416	420	-	22(+)	20(++N)		
III (RA+Ps) 群	417	500	-	-	20 (+)	19 (++)	450
	418	550	-	-	19 (+)	18(++B)	420
	419	350	-	10(-)	12 (+)	21 (+)	380
	420	370	-	8(-)	19 (++)	22 (++)	470
	421	400	-	-	-	11 (±)	320
	422	450	-	11(±)	13 (+)	17 (+)	450
	423	400	-	17(+)	18 (+)	23(++B)	400
	424	460	-	-	19 (+)	17 (+)	450
IV (Ps) 群	425	410	-	-	-	21(++B)	480
	426	410	-	-	-	21(++B)	420
	427	450	-	-	-	12 (±)	370
	428	360	-	-	11 (±)	11 (±)	360
	429	360	-	-	-	20(++B)	330
	430	330	-	-	-		
	431	360	-	-	-	20(++B)	360
	432	370	-	-	-	19 (+)	460
V (対照) 群	433	500			-	18 (+)	490
	434	530			-	15 (++)	530
	435	620			-	13 (+)	550
	436	480			-	13 (+)	480
	437	410			-	-	350
	438	420			-		
	439	460			-	19 (+)	400
	440	350			-		

* 発赤縦横平均 mm, () 内硬結の程度, B: 水泡, N: 壊死

表 16 病理組織学的所見及び脾の重量, 菌量

群別	前処置	後処置	動物番号	脾				肺		肝病変程度	リンパ節病変程度
				病変程度	乾酪壊死	菌量 $\times 10^3/g$	重量 g	病変程度	乾酪壊死		
I	B C 1mg	仲野株人型結核菌 10^{-4} mg	401	-	-	0	0.3	±	-	±	-
			402	-	-	0	0.6	-	-	+	-
			403	-	-	0.3	0.4	+	-	+	卅
			404	±	-	0	0.5	-	-	+	-
			405	-	-	3.3	0.7	±	-	+	±
			407	±	-	0	0.7	±	-	±	-
II	R A 1mg		409	-	-	9	0.4	±	-	+	-
			410	±	-	0	0.9	卅	-	±	卅
			411	±	-	0	0.7	+	-	±	±
			412	卅	卅	310	0.5	±	-	±	±
			415	卅	-	36	0.6	卅	+	±	-
III	R A + Ps 各 1mg		417	-	-	57	0.3	-	-	卅	-
			418	-	-	16	0.4	+	-	+	-
			419	卅	卅	4500	1.2	卅	-	卅	-
			420	-	-	0	0.5	+	-	-	-
			421	卅	+	1700	0.7	±	-	卅	+
			422	卅	卅	53	0.5	+	-	±	-
			423	-	-	89	0.6	±	-	±	-
			424	卅	卅	200	0.8	-	-	±	±
IV	Ps 1mg		425	卅	±	110	0.6	卅	-	+	+
			426	卅	-	1200	1.0	卅	-	-	±
			428	卅	卅	1500	2.7	卅	卅	卅	卅
			429	卅	卅	3700	1.9	卅	-	+	-
			432	卅	-	320	1.0	卅	-	-	-
V		433	卅	+	1800	1.9	卅	-	卅	卅	
		434	卅	±	980	1.0	+	-	卅	卅	
		435	卅	+	2100	1.5	卅	-	卅	+	
		436	卅	卅	3000	1.5	卅	卅	+	±	
		439	卅	卅	103	1.4	卅	-	+	±	

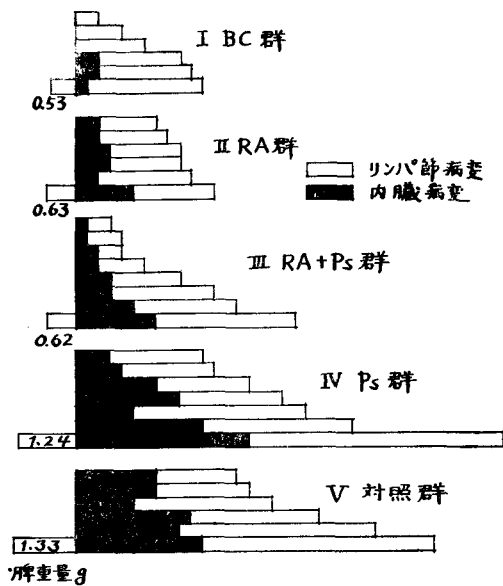


図 10 各群肉眼的病変のヒストグラム

単に各群の病変を記載して見よう。

脾：対照群では中心乾酪化を起した類上皮細胞結節が互いに融合して、非常に大きくなつたものが、視野の大半を占める状態であり、第IV群でも2例には壊死巣形成が著明であり、大結節が多数に存在する。しかし他の3例では、結節の融合傾向は少なく、むしろ脾髄の増殖と云つた病変が強く、結節性成分をこの増殖組織が分断して、幾分治癒傾向を示している。即ち第IV群では対照群と変らない程病変の進展した例と、比較的病変の軽い例とが約半々に混つている。この様な傾向は第III群においても見られる。但し、この群では、病変の軽い例が、進展している例より多くなつている。大結節を有する例もあるが壊死傾向は弱く、脾髄の増殖が結節を外側の一部から恰かも侵蝕するかのように入りこみ、丁度横断面では馬蹄型の結節形態を示す例があり、そして半数例には殆んど病変を認めない。次に第I、II群を見ると、第II群の2例を除き、殆んど病変は認められない。その2例には大結節は認められるが、孤立性で数も少なく、他群の病変よりは遙かに軽度ですんでいる。尚病変の見られない例には、リンパ濾胞の旺盛な発達が見られ、胚中心は活潑に働いているのが認められる。

肺：第IV、V群は殆んど同様な病変程度を示し、肋膜下、気管支周囲、或いは血管周囲に多量の類上皮細胞結節を示している。次に第II、III群は互いに似た病変程度で、肺胞隔の肥厚が著明で、血管周囲に外套状に小円形細胞の浸潤、及び類上皮細胞小結節を少数示すにすぎない。

い。第I群では1例を除き、定型的結節は見られず、胞隔肥厚、外套状円形細胞浸潤を残す程度でしかなく、著明な治癒傾向を示していると判断せられる。

肝：第V群にはグリソン鞘、及び小葉内に粟粒大結節が散在性に多数存在する。第IV群にも一部の例にあるが、他は一般に結節がごく小さく、吸収近きを思わせる類上皮細胞からなつている。第III群にも同様な傾向がある。第I、II群では病変の認められた例の結節は全てごく小さく、肉眼では殆んど認め難い。結節を構成している細胞も、変性した類上皮細胞、及び小数の巨細胞のものもあるが、之らを全く欠いたリンパ球結節と呼ぶべきものが相当多い。そして星細胞は腫大を示している。

リンパ節：この病変は一般に不定で、各群共ごく一部の例に、強い腫張が認められ、組織学的にはごく薄い類上皮細胞層を有し、中心部は大部分乾酪壊死を起している。又多くの例では、病変は存在せず、あつてもリンパ濾胞に小さな類上皮細胞結節を示す程度にすぎない。只第V群では、病変の増悪した例が前処置群より若干多い傾向を示す。

以上を小括すると、対照群と比べ、第IV群は若干軽いか或いは殆んど同様な病変程度を示し、I、II、III群とは相当違つた強い病変を示す。次にI、II、III群を見るとI、II群間の差は余り著明ではないが、III群は之ら両群例より進展している病変を示す例が多いようである。以上の成績は大体表16に記載した脾内生菌量と比例している。つまりBCとRAとの差、即ちアセトン可溶性脂肪は著明な免疫原性を示さない。又PsはRAの免疫原性を増強させる力は弱い。又Ps自身には強い免疫原性を認めえないこのような結果が出たわけである。

第IV編 全編に対する総括、考按及び結論

BCGが用いられるようになって約50年、その間における一般免疫化学の進歩には目ざましいものがあるのであるが、結核免疫については今日においても、依然としてBCGは最も良い抗原として用いられている。このような現状を見ると、いかに結核症の免疫学の進歩が遅々としているかを痛感せられる。結核死菌は立派な免疫原性を持つている。そうであれば当然死菌菌体内に含まれる免疫原物質がある筈である。過去、数十年の結核免疫学者の望みは、この免疫原物質の抽出と云う一言につきると云つて差支えない。しかしながら今日の医学を以てしてもまだこの様な望みは依然として、望み以外の何物でもない。

一方ツベルクリンは診断的価値において、結核症医学

に必要不可欠のものではあるが、その最初は結核治療薬剤としての出発と云う経歴を持つている。今日若干の治療面への応用は報告せられているが、専ら反応原としての位置に止まり、免疫原性物質と云う方面の研究には対象となつていない。従つてその抗原性、免疫原性に関する研究は菌体のそれに比べ余りにも少ない。

今回の著者の実験成績を総括するに當つて之ら先人の業績をひもといて、理解に便ならしめたいと考える。今回の実験は大きく、感作原性実験と免疫原性実験との2つに分けることが出来よう。

1. 「ツ」蛋白及び多糖類の感作原性について、

先ず「ツ」蛋白についてであるが、蛋白質である以上は感作原性を持つているのが当然である。しかし従来「ツ」はハブテンとして、反応原性は有するが、抗原性（感作原性）は有さないものとされていた。旧「ツ」に感作原性がなければ、それから取出した蛋白も当然感作原性を欠く筈である。しかし、その後の研究は大量の「ツ」を繰返し注射すれば立派な抗原性が見られること、又抽出蛋白質にもこの抗原性のあることが見出されている。この問題に最も研究歴の長いのは Seibert であろう。OT から TPA, TPT 更には PPD, 次に純粋な PPD-S, 更に最近では alcohol fractionation を利用した3種の蛋白へと進歩の跡が見られる。

1941年彼女の書いた「ツ」活性因子研究歴史²⁾の中には、当時の PPD は抗結核血清と沈降反応を起さず、感作原性もない。だが、水酸化アルミとか活性炭に吸着させると沈降素を産生すると述べている。その後純化された PPD-S が「ツ」感受性を動物に与え、PPD-S に対する沈降素を作り、この感作動物に Arthus 型の皮膚反応を起すことも報告している¹⁰⁾。更にその後非加熱培養濾液からとり出した3種の蛋白 A, B, C はCを除き完全抗原として確認せられている¹¹⁾。所で著者の実験に用いた蛋白は製法から推定すれば Seibert のC蛋白に当るのである。C蛋白は完全抗原とは考えられておらず、加熱によつて不変であり、電気泳動易動度は pH 7.7, $\mu=0.1$ の燐酸緩衝液では $-6.1 \sim -7.3 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{volt. sec.}$ と報告され¹²⁾、分子量は heterogeneous で決定出来ず、「ツ」反応抗原としては他の蛋白よりも弱いと云われている。著者の蛋白は濾紙電気泳動では pH 8.6, $\mu=0.04$ Veronal-Na-酢酸ソーダ緩衝液で、兎血清 albumin から α -globulin 位に渉るやや広い山を示し、Seibert の易動度から推定するとそのCとB位に相当するものである。そして之らと同様に立派な感作原性を持つている。只C蛋白は補体結合反応で良い反応原になるし、大量に感作すれば軽い発赤は見られると述べている¹³⁾。しかし

このような反応原性の強さの差は皮膚反応について云えば、人間ではAが最も強く、Bが之に次ぎ、Cは最も弱い反応を呈するのであるが、PPD-S は低感受性の人ではこのBとCの中間に位する強さを持つているが、高感受性の人では逆に fraction の方が弱く又 BCG 免疫モルモットでは、A及びCは共に PPD-S より強く反応を起すと報告¹²⁾しており、必ずしも常に同一の性格を示すとは限つていない。

次に之らの蛋白感作によつて惹起される皮膚感受性であるが、感作原と反応原に同一組合せをとれば、当然通常の Arthus 型の反応が起る筈である。しかしながら Seibert の 1932 年の報告¹⁴⁾を見ると、この際の反応を Arthus phenomenon と明瞭に書いておりながら This sensitization is of the same type as that produced by infection with live tubercle bacilli or by injection of dead bacilli. と述べている。Zinsser¹⁵⁾⁻¹⁸⁾ が 1921 年から 1926 年迄「ツ」蛋白感作によつて出来る反応性は tuberculin type でなく、之は生菌感染によつてしかえられないと述べた意見を無視している。その後 1952 年 Seibert 一門の Fabrizio¹⁹⁾ は組織培養実験で A, B, C 蛋白の結核細胞増殖抑制作用を報告しているが、元來この細胞増殖抑制作用は「ツ」型感受性例でないと思われたいとされていたものである。

所でこの報告に引続き、之ら蛋白感作動物の細胞が同種抗原で特異的に障害されたと報告している²⁰⁾。之は従来の考えをもつてすれば、明らかに Arthus 型の感作とは異なるわけである。但し Seibert 自身はこの様な組織培養成績上の tuberculin 型抑制現象の強さは余り強いものでなく、対照群のせいぜい2倍位にすぎないと述べている所から見ると、彼女自身この成績を以て、直ちに tuberculin 型の感受性を「ツ」蛋白で与え得たと判断はしていないようである。後述の予定の菌体成分の感作能についての多くの実験でも適用する事実であるが、どうも「ツ」に対する感受性の発表を全て「ツ」反応陽転と考える傾向が強く、真の「ツ」型反応型式を確める努力がはらわれていないかの感がある。その点 Raffel²¹⁾ は、多種類の菌体成分の感作原性、免疫原性を調べる実験をやつては、それにおいては、一応この組織培養実験成績を参考にして菌体 wax を菌体蛋白に混ぜれば、典型的「ツ」型感受性をうると述べている。

所でここに「ツ」型反応性と Arthus 型反応性の差と云うことが問題になるのであるが、当研究室の森川²²⁾が述べる如く、両反応型は従来考えられて来ている程、厳格に異なつた2つのアレルギー反応ではなく、両型に共通の多くの反応型式が見出されつつあるようである。そ

の意味で、組織培養実験は必ずしも適当な両型の鑑別法とは云えないようである。この問題を追求するのは本実験の目的ではないが、著者の場合、蛋白感作によつてえられた反応性は時間的計測から云えば Arthus 型の、即ち速時型の反応性であつたことはたしかである。著者の場合、蛋白感作の後に結核感染を行つて、皮膚の「ツ」蛋白感受性を継続的に測定したわけであるが、感作による Arthus 型反応性は発赤経では 10 日目に最高値を示し、4 週迄弱化する。そして菌感染で著しく弱化するが 2 週後より増強した。重感染初期の弱化は、当研究室の Meguro & Morikawa²³⁾ が記載している如く、BCG 免疫兔に challenge した場合も見られる所から菌体蛋白による蛋白抗体の消費が行われたものであろう。更に 2 週以降の増強は本来の「ツ」型抗体の出現であろうと考えられる。このように、BCG 免疫兔に存在した「ツ」皮膚抗体が「ツ」蛋白抗体と同様な減少増加を示したことは興味ある成績で、通常の結核アレルギー現象に Arthus 型因子が深く介入していることを示す有力な事実であると考えられる。尚 Boyden²⁴⁾ は「ツ」蛋白感作モルモットに BCG 接種を行つた場合の PPD による皮膚反応の比較を見ているが、蛋白感作は BCG による遅延性アレルギー反応性の発現を遅延させる。しかし牛血清 albumin による Arthus 現象が、同時に起させたその場所の「ツ」反応の発現に何ら邪魔にならぬことを報告し、「ツ」蛋白抗体と「ツ」アレルギー抗体との相似性を支持するかの意見をのべている。

次に抗体価の動きを見ると、皮膚感受性より若干遅れて 21 日目に始めて全例血清原液以上 32 倍迄の値を示し、28 日目には「ツ」反応の弱化とは相反して若干高値を示した。之が感染 7 日には全般的に低下が起つている。この事実は「ツ」蛋白皮膚反応の場合に同じく、脱感作的表現であろう。只その発現がやや遅れていることは不思議である。次に感染後 30 日迄増強が見られないのは対照群の抗体価に見られる如く、抗体価の感染後の増強が弱かつたことで説明せられる。

さて著者は当研究室において以前より行われている血清蛋白の変動をこの実験でも取り上げ経過を追つて観察したのであるが、森川²⁵⁾の述べる通り、「ツ」皮膚反応、抗体価に密接に関係しているのは α と γ -globulin であり、著者の実験では最も大きな量的変動は γ -globulin 分層に見られた。即ち「ツ」蛋白感作後、 γ -globulin には 30% 以上に及ぶ増量が見られている。その最高値は 21 日目に見られ、皮膚反応性同様 28 日目には若干減少するが、感染後は著しい低値を保持し、対照非免疫群に見る感染後の漸増傾向とは著明な対比を示している。尚

感作後 α -globulin にも若干の増加が見られた。之は Seibert & Nelson²⁶⁾ の一般蛋白感作に見る成績に一致するものである。Seibert¹⁾ も 1950 年、各種「ツ」蛋白、多糖類感作及び challenge 実験の際の電気泳動的分析を行つているが、少数ではあるが、PPD-S 感作により γ -globulin の増量、albumin の減量、 α , β -globulin の若干の増量を認め、之が TPA 感作では「ツ」感受性も出来ないかわり、之ら血清蛋白の動きも余り著明でない。尚感染後は初期に全 globulin の減少、後期には逆に増量を認めているが、観察の間隔が開いていて詳しいことはその報告からは知るよしもない。しかし著者の成績でも、感染により、総蛋白量を始め全血清蛋白成分の減量が起る事を 3 日目に確認している。この様な現象は BCG 免疫兔に毒力菌重感染試験においても認められた事実で、ここにおいても、「ツ」蛋白感作血清と、BCG 免疫血清との相関性を見うるのである。且て Meguro & Morikawa²³⁾ が、之とは逆な例として BCG 免疫兔に毒力菌重感染を行つても、旧「ツ」の大量注射を行つても、血清蛋白量の変動には殆んど質的差異を認めなかつた事実と照合すると、結核免疫血清の中に「ツ」蛋白抗体の占める位置は相当に高いものであることに気付くのである。

Raffel²⁶⁾ は菌体成分によるアレルギーと免疫の実験を詳細に組合せて行つているが、菌体から chloroform 可溶性の脂質を抽出してしまうと同時に細菌性アレルギー感作原性を失つてしまうと報告し、逆に chloroform 抽出分画から取り出した Anderson²⁷⁾ の wax 成分が delayed の反応を起す鍵であると述べている。所で当研究室で高木¹⁾はアセトン死菌から acetone, chloroform で抽出した菌体残渣も chloroform 抽出以前の菌体と同様の「ツ」感作原性を持つことを報告している。従つて chloroform 可溶成分は必ずしも感作原性に関係がないと云うことも推察出来る。更に高木は chloroform 抽出菌体から加温 HCl-alcohol で結合脂質を抽出すると感作原性が全くなるとを認めており、chloroform 可溶成分よりも、むしろ“firmly bound lipid”と呼ばれるものに「ツ」感受性のもとがひそんでいるのではないかと結論している。その他 Choucroun²⁸⁾ の sensitizing fraction 或いは Raffel²¹⁾ の wax 成分(之には蛋白が含まれていることを自身で記載している)、その他の実験成績で、数多くの成分は「ツ」アレルギーを賦与するとの報告は数多く見られる。そしてそれらに共通の事実は「ツ」蛋白をその成分の中に含んでいると云うことである。ここでも「ツ」アレルギーとして記載された事実が果して真の「ツ」型アレルギー性であつたかと云うこと

には疑問がある。その意味で「ツ」蛋白と菌 *lipo-poly-saccharide* 或いは同蛋白と菌体蠟分画との結合物或いは混合物が *delayed type* のアレルギー反応を惹起すると云う事実²⁹⁾と、山村のとり出した「ツ」活性ポリペプチドがそれ自身では「ツ」感作原性を持たない³⁰⁾と云う2つの事実を銘記すべきであろう。尚この問題については再び免疫原性の考按の部分で取上げるつもりである。

次に「ツ」多糖類の感作原性について若干考按を加えたい。菌体多糖類の抗原性については肺炎菌について深い研究がなされているが、結核菌についても決して見落すことの出来ない研究報告がなされている。

従来結核菌多糖類はパプテンの性質のみもつていて、結核菌感染によつて生じた抗体と *in vitro* で反応するし、この抗体を持つ個体に *anaphylactic shock* を起しうる³¹⁾。けれどそれ自身では抗体を産生出来ず³²⁾、又 *shock* 性も起しえない³³⁾とされていた。しかしながら最近の Seibert 一門の研究はたしかに「ツ」多糖類に感作原性のあることを確認している⁴⁾。即ち彼女の *polysaccharide II* は非加熱培養濾液から pH 4.0 で蛋白 C を落した上清からアルコール濃度 30% で落ちてくる白いゲラチン様沈降物で分子量 10,000 位の高分子多糖類で、水に溶解すると乳光を呈する。そして之は沈降素を動物に作らせる能力を有し、結核菌感作馬血清とは強く沈降反応を行うし、結核菌及び患者血清とも沈降反応を行う。しかし「ツ」反応抗原にはならないと述べている。今回の著者の用いた「ツ」多糖類は若干作り方が異なるが大體この *polysaccharide II* に相当するものと考えられる。*oil-in-water emulsion* として兎を感作すると同抗原に対する沈降素を感作 20 日以降に生ずるのを知つた。titer はそう高くはないが、確実な陽性成績である。そしてこの沈降価は 20 日を頂点として次第に低下し感染後は全く陰性となつた。尚「ツ」蛋白に対する抗体は 20 日迄では原液疑陽性 2 例を見たのみで全例沈降素としては見つからなかつた。又一方小野ら⁶⁾によるとこの多糖類は Middlebrook & Dubos の血球凝集反応抗原としては不適當であつて、Seibert の *polysaccharide I* に相当するかと考えられる *methanol* 濃度 95% で落ちる多糖類が血球凝集反応抗原として適當であることが報告されている。著者もこの方の多糖類を使つて同反応を試みた所、感作後 20 日目には 10/12 が 20~160 倍陽性の成績であつたが、30 日には沈降素と同様低下を示した。しかし感染によつて再び凝集価は上昇し、40~320 倍の高値を示すに致つた。

尚 PsT 212, PsT 213 は共に 30 日凝集価 20 倍以下に下つた例で、之が感染後 21 日には夫々 160~320 倍

と急激な上昇を示したのである。尚感染後、「ツ」多糖類に対する沈降素は感作群に認められなかつたことは述べたが、対照の非感作群即ち単純結核感染兎にもこの沈降素は認められなかつた。しかし「ツ」蛋白に対する沈降素は前処置の有無に関せず、感染後の両群兎に認めることが出来た。尚感染迄は「ツ」蛋白、多糖類夫々を反応原とした皮膚反応は陰性であつた。

このような成績は Seibert の *polysaccharide II* によるもの¹¹⁾と殆んど一致するものである。只今回の成績で變つていると考えられるのは、先ず血清蛋白について考えると Seibert は血清蛋白中 α -globulin の増加を強調していることで、著者の場合、血清蛋白は感作後全成分が一様に増量し、10 日でたしかに α が一番増量の度が高いが、他に比べそう著明な差とは云えず、以降次第に減少している。むしろ β -globulin の著明な増量を今回は意識したい。尚、この血清蛋白の変動を「ツ」蛋白感作の場合に比べると、蛋白では γ -globulin と α -globulin の増量が他の成分より著しく優つていた点異なるし、又 *challenge* によつて多糖類感作群でも γ と α -globulin の低下が目立つてはいるが、蛋白感作の如き急激著明なものではなかつたことに気付く。そして β -globulin は、多糖類感作で一般に増量したのに、蛋白感作では著しい低下を保持した結果を示し、明らかな対比を示している。次に注目される事は皮膚反応である。「ツ」多糖類は血清に多糖類抗体を有する例にも皮膚反応抗原とはならないことは述べたが、「ツ」蛋白による皮膚反応が、多糖類感作群では、対照非感作群より先にしかも強く出たことである。この事実は抗「ツ」蛋白沈降素においても感作群の方により早く現われた事実と符合するかも知れない。

ここで問題になることは感作に用いた多糖類分画の中の蛋白の混入と云うことである。元來結核菌多糖類は独立した成分として含まれることは少なく、多くは他の構成成分と結合しており、脂質、核酸、核蛋白質中の構成成分として或いは蛋白質、脂質と結合した高分子 complex としても存在する³⁴⁾。殊に蛋白質とは強固に結合しているものであり、普通の抽出法では蛋白の混入はさげられないものである。今回の使用材料は窒素量 0.17% であるが、電気泳動を利用した分画法でえた Seibert の *polysaccharide II* には脂質とアミノ糖を含んでおり、窒素量は 0.31% 含まれている¹³⁾。之は今回の材料の窒素含量よりむしろ多い位で、著者の材料のは比較的安心出来る数値ではあるが、多少の蛋白の混入はあるのではないか。先述の沈降素と皮膚反応の成績の理解は多分このことによつて説明するのが容易ではないかと考えるのであ

る。但しその混入は感作中に抗蛋白抗体が沈降反応、皮膚反応でつかまらない位微量なものであることはたしかである。但し之に関してもう一つ考えねばならぬ実験報告がある。Seibert³⁹⁾ は 1956 年、多糖類と或る程度は蛋白 (A 及び B) も *in vitro*, *in vivo* で抗原抗体反応をおさえると云うことを報告している。之は BCG 免疫血清には「ツ」蛋白及び多糖類に対する沈降素が見られ、同蛋白を抗原とする補体結合反応は高く陽性に出るのに同多糖類を抗原とすると全く出ない。又多糖類にも蛋白にも抗補体作用は認められない。更に PPD-S に多糖類を混入すると 37°C では PPD-S の補体結合価を低下させる³⁹⁾。之は多糖類が PPD-S の補体との結合を邪魔する。つまり、多糖類が先に補体と結合し、第二段として補体を溶血系に放出する。従つて補体結合反応は起らないと云う考えである。このような作用が結核症の病変成立に逆関係している³⁹⁾と云う彼女の想定する如くであるならば、微量の混入蛋白が多量の多糖類によつて、本来の抗原性を発揮出来なかつたとの推察は容易であろう。後述の如く、多糖類感作動物にも感染初期に軽いけれど一過性の滲出現象を起した事実は更にこの推察をより具体化してくれるのではないかと考えるのである。

多糖類の感作原性に関する考按の最後に、今述べた混入の問題について 2 つの報告を提示したい。1 つは前述した如く Boyden³⁷⁾ は「ツ」多糖類の感作原性は lipopolysaccharide と云う形で脂質と複合体を作っているためであると云う考えと、もう 1 つは Iland & Peacock³⁷⁾ が引用しているのであるが、Hall³⁵⁾ は Seibert & Watson³⁹⁾ の S4 と云う多糖類を使つて、又 Pound⁴⁰⁾ も共に「純化された多糖類は血球凝集反応抗原とはならない」と云うことである。

最も Iland ら³⁷⁾の報告は Middlebook & Dubos 血球凝集反応を全く非特異的現象であるときめつける材料に使用したものであり、又感作と云つても血球感作の問題で今ここに取りあげるのはいさはずれているかも知れないが、complex の多糖類が始めて感作原性を有するのではないかと云う事例にはなるであろう。このように報告者によつて純度の高いものを使用しているにも拘わらず、成績が異なると云う事実はこの問題のみには限らないが、殊に材料が「ツ」のように菌の培養濾液であるだけに、菌株、培養日数にも違いがあるであろうし、又同条件の場合でも、各 lot によつて必ずしも一致していない成績がえられているわけで、比較の困難な問題が多数あることはたしかである。

2. 「ツ」蛋白及び多糖類の免疫原性について。

この主題についても古来幾多の研究がなされている

が、内容が結核のアレルギーと免疫の関係と云う問題に附随したことだけに議論も多い所である。さて数多くの報告を見ると、一般に之らの成分に免疫原性を認めえない報告の方が遙かに多いようである。

文献的に先ず「ツ」蛋白の免疫原性について見ると、既に 1933 年 Seibert⁴¹⁾ は TPT (「ツ」三塩化醋酸沈降蛋白) を用いてモルモットにアレルギー性を与えてはいるが、免疫は与えることには成功していない。しかしその後「ツ」蛋白感作血清から取出した γ -globulin が *in vitro* の結核菌増殖を抑えること、更に之が孵化鶏卵漿尿膜の結核病変の発生を抑制する⁴²⁾ことを見出し、その後非加熱「ツ」蛋白 A, B, C の大量を注射したが兎を免疫することは出来なかつた⁴¹⁾と報告している。Corper⁴³⁾ も培養濾液、その濃縮液、及び之からとつた蛋白分画、何れも免疫原性を持たないといひ、Raffel⁴⁴⁾ は硫酸沈降法でえた非加熱「ツ」蛋白が抗体を作らせても免疫は出来なかつた。量的な問題を入れると Klopstock⁴⁵⁾ は 149 日間、総量にして旧「ツ」の 24 ml、又 Follis⁴⁶⁾ は濃縮濾液を 2 ml 隔日 6 週間用ひ、感染後も 44 日間続け、総量 130 ml に及ぶ大量注射を行つてはいるが、何れも免疫効果は認めていない。一方菌体から取つた蛋白についても、Seibert & Fabrizio³⁹⁾, Crowle⁴⁷⁾, Raffel²¹⁾ らの報告は免疫原性を否定している。

しかしながら一方において旧「ツ」が長い間の沈黙を破つて再び結核治療方面に対する補助薬剤としてのカムバックが最近起りつつあるようである。即ち旧「ツ」による特異的脱感作療法⁴⁸⁾と抗結核薬剤との併用療法⁴⁹⁾とが問題になつてはいる。何れにせよアレルギー現象に深く関係している事項だけに、旧「ツ」に含まれる蛋白質の役割は決してないがしろに出来ないと思ふのである。又結核動物血清 γ -globulin が少なくとも *in vitro* においては抗結核作用を有する報告も認められる⁴²⁾³⁰⁾⁵¹⁾、抗体 γ -globulin を一番強く、又能率的に産生するものの本態としては蛋白質にしくはものはない。この様に考えると「ツ」蛋白感作が抗結核免疫を与えないのは不思議と云わねばならない。所で Smithburn ら⁵²⁾は旧「ツ」で繰返し兎を感作すると BCG には遙かに及ばないが或る程度の免疫の発生を認めている。又木内⁵³⁾は脱脂菌から 10% の水酸化バリウムでとつた蛋白分画が強い免疫を発揮した。又柳沢ら⁵⁴⁾は *o*-aminophenol azotuberculin の oil-in-water emulsion でモルモットに立派な免疫を産生することが出来たと云つてはいる。

ここで 1 つ考えておかねばならぬことは、毒力菌 challenge の程度である。菌体成分の有する免疫原性は絶対的に死菌全菌体によるものより高い筈はない。しか

もこの死菌ですら BCG に比べると遙かに弱いことも確かである。その点で従来報告された実験には不備なものもある。例えば Seibert⁴¹⁾ は challenge 実験で「ツ」分画は勿論、BCG にさえ著明な免疫原性を認めなかつたことを記載している。又 Raffel²¹⁾ はモルモットを使用した免疫原性実験で challenge に毒力菌 1 mg の感染を以て行つている。之では当然 BCG にさえ免疫性はないと結論せざるをえなくなる。この様に考えると免疫原性判断のためにはどうしても死菌免疫と云う対照群を置く必要性が感ぜられるわけである。

さて、ここで今回の実験を見ると、先ず毒力菌接種により、肺に強いアレルギー性渗出炎の発生を見た。又結節炎の早期発生も認めることが出来た。之は BCG 免疫兔に毒力菌 challenge を行つた場合に見られる所見である。又今回とは逆に BCG 免疫兔に大量の「ツ」を静脈内注射した場合に発生する所見でもある⁵²⁾。之らの間には量的な差異が認められるのみで、質的な差異は殆んど存在しない。血清蛋白においては著しい γ -globulin と若干著明な α -globulin の減少が認められている。又皮膚反応性は Arthus 型であつたにせよ著しい減弱化が起つている。この様な成績においても、当研究室の目黒らの報告²³⁾に一致している。つまり結核重感染或いは再感染時初期に見られるアレルギー反応は菌体蛋白系の抗原抗体反応が主体であると判断してよいのではない。

次にこの様な渗出現象は 7 日迄一旦弱化し、14 日から再び増強せられ、結局 30 日では対照群より僅か強い病変程度を呈する。肺の生菌数の成績から判断すると 7 日迄は或る程度菌の増殖を抑え、14 日以降には逆に対照群に優る菌数となつてしまう。脾の成績も大体之に準じている。この点は Seibert⁴¹⁾ が「ツ」蛋白には免疫原性は全くなく、むしろ病変の悪化を促進すると述べている成績に少し似通つている。とにかく結果論から云えば今回の成績では、やはり「ツ」蛋白に免疫原性を認めえなかつたことになる。

しかし感染初期の菌量の対照群との差を取上げるとすれば、抗蛋白抗体が之に預つているとも考えられ、この抗体の消耗がその後の病変進展の一助になつてはいないか。従つて溶液性の比較的消失され易い抗原には抗体形成の弱いこと、及び一旦抗原抗体系に入つてしまえば跡に何も残らない結果が生れる。菌体と云う殻に入つているだけ、死菌は抗体形成を比較的長期間推進し続けると云う想像も成り立つ。柳沢⁵²⁾の water-in-oil emulsion が単に抗体形成を強力にさせると云う意味の他に、抗原の長期存続に役立つのではないかと推察する可能性もあると思われる。

ここで当研究室の高木¹⁾の報告を見ると、生菌体から色々の成分を取り除いて行くと、免疫原性については「ツ」アレルギー同様結合脂質の除去が重要な鍵であるらしく、之が除かれて、成分としては蛋白質と多糖類からなる RHA にはその前の段階の抽出残渣とは比較にならない程の免疫力しかなく、対照である非免疫群にほぼ近い病変程度を示した。しかし若干の抵抗性増強は認められたようである。RHA は加熱 HCl-alcohol 処理と云う菌体にとつては激しすぎる処理が加えられており、もはや抗酸性も有しない菌体のかけらにすぎないものであるが、やはり固型成分であると云うことが、今回の「ツ」蛋白感作実験成績との相違をもたらしたのではないかと考えられるのである。このように「ツ」蛋白の単独感作は免疫を与えないと云うのが一般的に強い意見のようである。次に多糖類について考えて見たい。

多糖類については、先ず Seibert⁴¹⁾ は polysaccharide I (10 mg 宛 4 回) 或いは polysaccharide II (110 mg) の注射が若干 challenge 後の兔の survival time を延長させたが、対照群とはそう大きな差が見られないし、病変にも特別良好な影響を認めえないと述べている。Raffel⁴²⁾ も「ツ」及び脱脂菌からとつた多糖類に免疫原性を認めていない。Jespersen & Magnusson⁵⁶⁾ も菌体多糖類で失敗している。只 positive のデータは Toda & Murata⁵⁷⁾ が培養濾液を醋酸で pH 3.8 以下にして沈降する蛋白を除き之にカオリンを入れて polypeptide を吸着させて除き、之からアルコールで多糖類を抽出したものをモルモットに用い、中等度の免疫原性を認めたと報告している。しかしこの成績に対する追試報告も見られず、又報告者自身のそれ以後の報告もその後見られない。

さてここで今回の成績を見ると、先ず毒力菌 challenge によつて初期に軽度ではあるが一過性の渗出炎の発生を肺に見た。即ち白血球、単球浸潤、剝離性肺炎様肺内滲出現象が認められている。この事実の理解については前述したが、元来「ツ」多糖類は同抗体を有する動物にも皮膚反応抗原とはならない。つまり皮膚に測定出来るようなアレルギー性滲出現象を起さないわけである。従つて、challenge によつて現われた滲出現象は多糖類抗原抗体反応とは見なし難い。血清蛋白には多糖類感作による γ -globulin の増量は蛋白感作例に比べ少ないが、やはり challenge 後一定の低下を示している。しかも α -globulin にも同様な傾向が認められる。更に前述の抗「ツ」蛋白皮膚反応性の出現が対照群より早い。この様な数多くの事実を考え合せると、どうしても多糖類分画に混入した微量の蛋白の作用を認めたくなる。

次に challenge 後の病変経過を見ると、一般に 14 日迄は対照群より幾分軽度ですんでいる感がある。又肺、脾の生菌単位も幾分感作群に少ない。しかし全菌量を計算すると必ずしも感作群が少ないとは限らない。又病変程度も 28 日では殆んど対照群と同程度となつてしまつてゐる。このように、著者の「ツ」多糖類の有する抗結核免疫原性は弱いことが確認せられる。但し之は後述するが、「ツ」多糖類単独では』と云う条件の限定が必要であらう。

このように「ツ」多糖類感作による抗結核免疫は期待のうすいものであるが、之に関係して興味あるのは Seibert 及びその一門の報告¹³⁷⁾である。即ち蛋白質と多糖類に対する抗体のバランスが結核免疫の発現に必要なことではないか。例えば「ツ」蛋白或いは同多糖類のどちらかのみ抗体を持つてゐる動物は免疫性を持たない。所がその両方の抗体の発現を招来する BCG 免疫は明らかな免疫性を示すと云うわけである。この想定の下に、BCG 免疫の強さを毒力菌 challenge 実験で計つたところ、「ツ」多糖類に対する抗体の出来易い例程病変が軽かつた事を見出し、多糖類抗体の方が蛋白抗体よりも免疫現象に深い関係を持つと述べ、更に抗原抗体沈降物が抗原過剰により（殊に抗原として多糖類を用いた場合には）再溶解する現象を認め⁸⁰⁾、生体における結核性乾酪物質をこの抗原抗体沈降物と見なすと、感染菌体よりの抗原成分がこの乾酪物質を再溶解して軟化—液化が起るのではないかと考へてゐる。又 *in vitro* の結核菌の増殖に対する抗多糖類抗体の作用を調べた結果、抗多糖類抗体は免疫に間接的ではあるが重要な役割をする。即ち抗多糖類抗体を含んだ血清に多糖類を加えると菌の増殖が抑制せられる。之はこの抗原が抗体と結合することによつて非特異的な抗菌性物質或いは lysozyme の様なものを活性化させると云う想像であらう。

ここで lysozyme について云へば、之は身体の血清及び組織の中に存在し⁸²⁾、之が *in vitro* で結核菌の増殖を抑制する作用は菌の表面多糖類成分に対する作用であり⁸⁹⁾、化学的には蛋白質であり γ -globulin と同じ電気泳動易動度を示すと云う⁶⁰⁾。

さてこのように抗多糖類抗体のみは何ら免疫的に働かないとしても、この様な作用があるとすれば、死菌の有する弱い免疫原性を少しでも増強する可能性はないかと考へられる。之が第Ⅲ編実験の意図でもあつた。ここで第Ⅲ編実験をふり返つて見ると、「ツ」多糖類添加はアセトン脱脂菌体のモルモットに対する免疫原性を余り増強させることは出来ず、又「ツ」多糖類自身にも兎同様免疫原性を期待する結果は得られなかつた。且て Corper⁶¹⁾

は lysozyme の使用で結核免疫性を増強出来なかつたと報告しているが、Seibert⁸⁹⁾も云う通り、之は充分な抗体が出来る以前に菌と遊離多糖類との接触が終つてしまつたのではないかと云う可能性がある。著者の場合も之に同じく、むしろ治療の方法で多糖類を用いた方が効果を認めることに成功したのではないかと考へるのである。

以上のように「ツ」蛋白、「ツ」多糖類は免疫性抗原とは見なしえないとの結論を出さざるをえない成績である。それでは死菌の有する免疫原性はそのどの部分にあるかと云う問題にも少しふれて見たい。

過去半世紀に渉る菌体成分の研究の歴史を見ると、残念ながら免疫原性成分として今日誰もが承認しうるのは 1 つもないと云つてよい現状である。只その中で幾分注目せられるのは、単一成分としては磷脂質と蠟成分であらう。先ず phosphatide として有名なのは Nègre の antigène methylique⁶²⁾ である。之が実験室的には結核症の予防に又治療に用いられうる事が報告されている。所でこの methyl antigen は lecithin に似た phosphatide であるが⁶²⁾⁶³⁾、更に脂肪や臘、及び含窒素複合成分を含んでいる⁶²⁾。しかもこの磷脂質の部分純化すると抗原性は失われ、単なる haptén になつて了う⁶⁴⁾。そして具合の悪いことは、之による免疫機構は全菌体によるものとは相当の相異が見出されてゐることである⁶⁵⁾。例えば「ツ」アレルギーの発現を必ずしも伴わない。免疫に要する日数が必要でない。抗結核性は長くは続かない。量的に 10 倍から 100 倍量の死菌に相当した量を用いないと抗結核性とはならない。又 Dubos⁶⁶⁾⁶⁷⁾によると結核症のみに限つた抵抗力増強作用ではないようである。このように見ると必ずしも菌体の免疫原性成分の抽出には当はまらない成績とも云える。成分としては之より純粋な Anderson⁶⁸⁾ の A₃ 画分に免疫原性がないとの多くの報告⁴⁴⁾⁶⁹⁾⁷⁰⁾が之を裏書きしている。次に蠟成分については、Chouroun²⁸⁾ の PmKo 分画である。之は菌の流動パラフィン抽出分画から精製したもので wax D に相当する⁶⁹⁾⁷¹⁾。しかしその免疫原性の報告は粗製の抽出液そのものについて行われている。之には蛋白質を含んでおり、おそらくは多糖類も含まれており、脂質との複合体或いは混合状態にあつたのではないかと想像せざるをえない。彼女の sensitizing fraction には、PmKo も蛋白も含まれており、之から PmKo を除くと「ツ」アレルギー賦与能力も失われて了、逆に純化した PmKo は少量の蛋白質を混じなければ「ツ」感受性を与えない事実が証明している⁷²⁾。とに角蠟成分単独には免疫原性がないと云つてよいと考へられるのである。このように通覧して来ると純粋なものより却つて

粗製のものの方が免疫原性が高いようである。

かくして失敗のくり返しの結果として菌体の免疫原性成分の研究は複合化合物と云う面に入らざるをえなくなつた。その代表としては lipoprotein lipopolysaccharide が深く追求されており、流動パラフィン抽出、或いは chloroform 抽出分画に関する成績の再検討が行われている。そして流動パラフィン抽出分画による成績は、「ツ」に対する感作が成立した時のみ免疫は成立する。つまりこの分画には脂質の他に蛋白質多糖類が含まれており、蛋白質の欠けたサンプルには免疫原性はないと考えられる。単独では免疫原性のない「ツ」蛋白が、ここで始めてその力を発揮することになつたわけである。

更にもう1つの進められつつある研究は、今迄記載して来た化学的分画法によらず物理的な破壊、遠心と云う方法である。つまり生物学的な一定の単位を示す分画に対する研究が之である。従来から物理的破壊菌体から抽出した化学的分画成分に免疫原性を認めた報告は認められる。之を基礎にして Youmans⁷³⁾⁷⁴⁾は菌体から全菌体と同様に免疫能を持つ部分を取り出すのに成功している。之は化学的には磷脂質を主成分とし、蛋白質その他を含んでいるもので、細胞学的には菌のミトコンドリア様物質である。酵素活性を司るミトコンドリアが免疫原性分画であるとすれば、結核免疫の研究の方向も自ずから限られて行くであろうし、過去半世紀待ち望んだ結核免疫にすじ道の通つた理解を与えてくれるのではないかと考えられる。この意味でこの方面の研究はもつともつと推進されねばならないであろう。著者の今回の実験は必ずしも免疫原性成分の追求が目的ではないが、感作現象と免疫現象の解明に役立つ基礎的資料となることは確かであり、ひいては結核免疫解結のための1つの礎石になりうればさいわいである。

結 論

結核症に伴う種々のアレルギー現象及び免疫現象を理解する一助として、非加熱ツベルクリンから精製した蛋白質及び多糖類について、その感作原性、反応原性及び免疫原性を実験的に総合追求した。

先ず「ツ」蛋白は、非加熱結核菌培養濾液の三塩化醋酸 pH 4.0 沈降分画分であるが、之は皮内反応及び血清沈降反応抗原として優秀なものであり、之を oil-in-water emulsion として家兔を感作すると血清 γ -globulin の増量を来し、同蛋白に対する速時型の皮膚反応性及び沈降素を生ずる。之に毒力菌感染を行うと、 α -及び γ -globulin の減量及び皮膚反応性、沈降価の減弱が起り、剖検すると比較的強いアレルギー滲出炎と、早期結核結節形

成が認められる。しかし感染 30 日後の病変は対照の非前処置動物のそれと同じか又は少し進展している。

次に多糖類はこの除蛋白培養濾液から methanol 濃度 45% で沈降する画分を用いたが、之は皮膚反応 Middlebrook-Dubos 血球凝集反応抗原とはならず、只沈降反応抗原としては使用出来る。之を蛋白同様の方法で家兔を感作すると、この多糖類画分に対する沈降素及び「ツ」多糖類-PsQQ (methanol 濃度 95% 沈降多糖類画分)に対する Middlebrook-Dubos 血球凝集素を産生する。「ツ」蛋白に対する沈降素は生じない。之に毒力菌感染を行うと、 α -及び γ -globulin に軽度の減少が起り、抗多糖類沈降素は消失し、血球凝集価も一時低下が起る。一方「ツ」蛋白に対する沈降素及び皮膚感受性は非前処置対照群より早くそして高く現われた。剖検すると感染初期に一過性の軽いアレルギー性滲出現象が認められたが、感染 28 日目の所見では、対照群と殆んど同じか或いは若干軽い病変程度を示した。

次にアセトン脱脂結核菌とこの「ツ」多糖類画分とを混合し、又は夫々単独にモルモットを免疫し、之に毒力菌の感染を行つた結果、「ツ」多糖類画分には脱脂菌の免疫効果を増強させる能力は認められず、又多糖類単独にも著明な免疫原性は認められなかつた。「ツ」皮膚感受性は大体免疫力に比例しており、「ツ」多糖類はこの皮膚感受性を左右する力を持たない。

以上から「ツ」蛋白及び多糖類には、夫々に対する抗体を産生する感作原性を有するが、夫々単独感作では抗結核性抗体を産生しない。即ち抗「ツ」蛋白抗体及び抗「ツ」多糖類抗体は免疫抗体とは見なしえないことがわかつた。しかしこの抗体が、結核症に伴う種々のアレルギー現象に重要な役割を演ずることを知つた。

引用文献

- 1) 高木重敏：結核の研究，6, 75 (1956), 7, 86 (1957), 8, 121 (1957).
- 2) Seibert, F.B.: Am. Rev. Tuberc., 44, 1 (1941).
- 3) Cohen, S.S.: J. Biol. Chem., 166, 393 (1946).
- 4) Seibert, F.B., Stacey, M., & Kent, P.W.: Biochim. biophys. acta, 3, 632 (1949).
- 5) Boyden, S.V.: Adv. Tuberc. Research, 7, 17 (1956).
- 6) 小野勝男, 高橋義夫：結核の研究, 9, 1 (1958).
- 7) Seibert, F.B. & Seibert, M.V.: J. Infect. Dis., 101, 109 (1957).
- 8) Seibert, F.B.: J. Infect. Dis., 103, 52 (1958).
- 9) Seibert, F.B.: Am. Rev. Tuberc., 44, 1 (1941).
- 10) Seibert, F.B. & Glenn, J.T.: Am. Rev. Tuberc., 44, 9 (1941).
- 11) Seibert, F.B.: J. Immunol., 65, 297 (1950).

- 12) Seibert, F. B.: *Am. Rev. Tuberc.*, **59**, 86 (1949).
- 13) Seibert, F. B., Miller, E. M., Buseman, U., Seibert, M. V., Soto-Figueroa, E. & Fry, L.: *Am. Rev. Tuberc.*, **73**, 547 (1956).
- 14) Seibert, F.B.: *J. Infect. Dis.*, **51**, 383 (1932).
- 15) Zinsser, H.: *J. Exp. Med.*, **34**, 495 (1921).
- 16) Zinsser, H. & Parker, F.: *J. Exp. Med.*, **37**, 275 (1923).
- 17) Zinsser, H. & Müller, J.H.: *J. Exp. Med.*, **41**, 159 (1925).
- 18) Zinsser, H. & Tamiya, T.: *J. Exp. Med.*, **44**, 753 (1926).
- 19) Fabrizio, A.M.: *Am. Rev. Tuberc.*, **65**, 250 (1952).
- 20) Seibert, F.B. & Fabrizio, A.M.: *Am. Rev. Tuberc.*, **66**, 314 (1952).
- 21) Raffel, S.: *J. Infect. Dis.*, **82**, 267 (1948).
- 22) 森川和雄: *結核の研究*, **3**, 1(1955).
- 23) Meguro, H. & Morikawa, K.: *Jap. J. Tuberc.*, **2**, 229 (1954).
- 24) Boyden, S.V.: *Brit. J. Exp. Pathol.*, **38**, 611 (1957).
- 25) Seibert, F. B. & Nelson, J. W.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **49**, 77 (1942).
- 26) Raffel, S., Arnaud, L.E., Dukes, C.D. & Huang, J.S.: *J. Exp. Med.*, **90**, 53 (1949).
- 27) Anderson, R.J.: *Chem. Rev.*, **29**, 225 (1941).
- 28) Choucroun, N.: *Am. Rev. Tuberc.*, **56**, 203 (1947).
- 29) Raffel, S. & Forney, J.F.: *J. Exp. Med.*, **88**, 485 (1948).
- 30) 染谷四郎: 第15回日本医学会総会, 結核における免疫とアレルギーシンポジウム (昭34).
- 31) Enders, J.F.: *J. Exp. Med.*, **50**, 777 (1929).
- 32) Laidlaw, P.P. & Dudley, H.W.: *Brit. J. Exp. Pathol.*, **6**, 197 (1925).
- 33) Sabin, F.R., Joyner, A.L. & Smithburn, K.C.: *J. Exp. Med.*, **68**, 563 (1938).
- 34) 山村雄一: *結核菌の生化学*, p. 58, 共立出版, 東京 (昭30).
- 35) Seibert, F.B. & Soto-Figueroa, E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **72**, 811 (1956).
- 36) Seibert, F.B.: *J. Infect. Dis.*, **99**, 76 (1956).
- 37) Iland, C.N. & Peacock, D.B.: *Experimental Tuberculosis, A Ciba Found. Symposium*. p. 163, J. & A. Churchill Ltd., London (1955).
- 38) Hall, W.H.: *Bull. Minnesota Hosp. Found.*, **22/31**, 557 (1951).
- 39) Seibert, F.B. & Watson, D.W.: *J. Biol. Chem.*, **140**, 55 (1941).
- 40) Pound, A.W.: 37) より引用
- 41) Seibert, F.B.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **30**, 1274 (1933).
- 42) Emmart, E.W. & Seibert, F.B.: *J. Immunol.*, **50**, 143 (1945).
- 43) Corper, H.J.: *Yale J. Biol. Med.*, **15**, 373 (1943).
- 44) Raffel, S.: *Am. Rev. Tuberc.*, **54**, 564 (1946).
- 45) Klopstock, F.: *Z. Exp. Pathol. Therap.*, **13**, 56 (1913).
- 46) Follis, R.H., Jr.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **39**, 45 (1938).
- 47) Crowle, A.J.: *Bact. Review*, **22**, 183 (1958).
- 48) 安在貞吉: *札幌大紀要*, **2**, 274 (昭27).
- 49) 若井喜久哉: *札幌医誌*, **7**, 247 (1955).
- 50) 松岡正俊: *結核*, **29**, 42 (1954).
- 51) 西谷強, 浅野之康: *医学と生物学*, **23**, 104 (昭27).
- 52) Smithburn, K.C., Sabin, F.R. & Geiger, J.T.: *Am. Rev. Tuberc.*, **29**, 562 (1934).
- 53) Kiuchi, K.: *Jap. J. Bact.*, **9**, 1097 (1954).
- 54) Yanagisawa, K. & Kanai, K.: *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, **5**, 171 (1952).
- 55) 時田 広: *結核の研究*, **4**, 85 (1956).
- 56) Jespersen, A. & Magnusson, M.: *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **39**, 431 (1956).
- 57) Toda, T. & Murata, M.: *Beitr. Klin. Tuberk.*, **93**, 64 (1934).
- 58) Myrvic, Q. & Weiser, R.S.: *J. Immunol.*, **74**, 9 (1955).
- 59) Epstein, L.A. & Chain, E.: *Brit. J. Exp. Pathol.*, **21**, 339 (1940).
- 60) Fevold, H.L.: *Advances in Protein Chem.*, **6**, 187 (1951).
- 61) Corper, H. J.: *Am. Rev. Tuberc.*, **25**, 59 (1932).
- 62) Boquet, A. & Nègre, L.: *Ann. Inst. Pasteur*, **37**, 787 (1923).
- 63) Asselineau, J. & Lederer, E.: *Experientia*, **7**, 281 (1951).
- 64) Macheboeuf, M.A., Levy, G. & Faure, M.: *Bull. soc. chim. biol.*, **17**, 1210 (1935).
- 65) Nègre, L.: *Ann. Inst. Pasteur*, **83**, 429(1952).
- 66) Dubos, R.J. & Schaedler, R.W.: *J. Exp. Med.*, **106**, 703 (1957).
- 67) Schaedler, R.W. & Dubos, R.J.: *J. Exp. Med.*, **106**, 719 (1957).
- 68) Anderson, R.J.: *J. Biol. Chem.*, **74**, 537(1927).
- 69) Kubo, H. et al.: *Acta Path. Jap.*, **1**, 174 (1951).
- 70) Sabin, F. R., Doan, C. A. & Forkner, C.E.: *J. Exp. Med.*, **52**, Suppl. 3 (1930).
- 71) Takeda, Y., Kanai, N. & Aoki, Y.: *Jap. J. Exp. Med.*, **22**, 413 (1952).
- 72) Choucroun, N.: *Tuberculology*, **11**, 25(1949).
- 73) Youmans, G.P., Millman, I. & Youmans, A. S.: *J. Bacteriol.*, **70**, 557 (1955).
- 74) Youmans, A.S., Youmans, G.P. & Millman, I.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **96**, 762 (1957).