



Title	結核症における各種感作赤血球凝集反応の診断価値に関する実験的研究
Author(s)	小野寺, 忠純; ONODERA, Tadazumi
Description	
Citation	結核の研究, 12, 23-40
Issue Date	1960-03
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/26687">https://hdl.handle.net/2115/26687</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	12_P23-40.pdf



# 結核症における各種感作赤血球凝集反応の 診断価値に関する実験的研究

小野 寺 忠 純

(国立療養所旭川病院 北海道大学結核研究所予防部)

(昭和 34 年 11 月 30 日受付)

## 緒 言

結核症の血清反応には従来幾多の試みがなされて来たが、何れも実用的価値に乏しく、実際に応用されるには至らなかつた。

1948 年 Middlebrook-Dubos 等<sup>1)</sup>がツベルクリン感作赤血球凝集反応が結核に特異性の高い反応である事を提唱して以来、本反応を結核の診断に資せんとする研究は枚挙に暇がない。

その後 Middlebrook-Dubos 反応に於ける感作抗原はツベルクリン多糖体である事も明らかにされた<sup>2)~5)</sup>。ツベルクリン蛋白質には本反応における血球感作能力がないとされていたが、1951 年 Boyden<sup>6), 6)</sup>が赤血球をタンニン酸で処理する事によつて蛋白質も赤血球凝集反応の感作元になり得る事を証明した。

以上のツベルクリン多糖体及び蛋白を抗原とする赤血球凝集反応に続いて、高橋<sup>3)</sup>は結核菌体より分離抽出した磷脂質も同様感作抗原として用い得る事を証明した。同時にこの磷脂質感作赤血球凝集反応の抗原抗体系は多糖体及び蛋白質による反応と血清学的に独立した別個のものであることも判明した<sup>3)</sup>。

Middlebrook-Dubos 反応に関する多くの臨牀的研究は特異性と病状の診断的価値の 2 面に向けられて来たが、特異性の点では異論を唱えるものはないが、ツ反応とは必ずしも併行せず、且つ病期との関係に就いては意見の一致を見ていない<sup>8), 9)</sup>。

高橋及び深江<sup>10)</sup>は先に磷脂質感作赤血球凝集反応の臨牀的検討を行い、本反応は従来のツベルクリン多糖体を抗原とする Middlebrook-Dubos 反応よりも明らかに病状に併行する事を認めた。

さて、血清学的診断法の目的は早期診断と予後の推定にあるのであるが、従来のツベルクリン感作赤血球凝集反応の成績をみると、診断的価値から見て、ツ反応、X線検査及び菌検査に対して優位とは考えられず、又予後

との関係に就いても研究者の意見は必ずしも一致していない。

そこで私は北海道大学結核研究所予防部で分離抽出されたツベルクリン多糖体、蛋白質及び結核菌磷脂質に就いて、先づそれらの赤血球感作能力を検討し、続いて実験的結核ウサギに於いて、それら 3 つの抗原を感作元とする赤血球凝集反応の消長を観察し、臨牀的診断価値を比較検討した。

予備実験 各種赤血球凝集反応の基礎的条件の検討。

## 実験方法

### [1] Middlebrook-Dubos 反応の術式に就いて

(i) 緬羊赤血球: 脱線維素緬羊血液に略々等量の Alsver's Solution を加えて氷室に保存したものを pH 7.0 の M/15 磷酸緩衝生理的食塩水(以下 B.S. と記載)を以て 3 回遠沈洗滌して得た赤血球を用いる。

(ii) 抗原: ツベルクリン多糖体はソートンツベルクリンよりメタノール沈澱法によつて分離したもので、30~40% メタノール劃分を除去し、70~80% メタノールで沈澱する部分を、乾燥溶解を繰返して精製したものである。菌株としては人型仲野株及び青山 B 株を用いた。これらの多糖体劃分を B.S. で所要濃度の水溶液とする。

(iii) 感作方法: 緬羊赤血球 0.1 容に 4 容の所定の抗原液を加え 20 分毎振盪混和しつつ 37°C 2 時間感作した。次いで遠沈、上清を棄て 1 回 B.S. で洗滌遠沈した沈渣に 4 容の B.S. を加えて 2.5% 感作赤血球浮游液を作つた。

(iv) 血清は 56°C, 30 分間非働化したのち、異種血球凝集素を除去するために 10% 緬羊赤血球浮游液を血清の 2 倍量加え 10 分間室温に放置する。この操作を更に 1 回反復して都合 2 回の吸収を行い 5 倍稀釈血清を得る。この血清を Vidal 試験管で 0.5 ml. 宛の倍数稀釈列を作つた。

(v) 反応: 血清稀釈列に 2.5% 感作血球浮游液を 1 滴宛滴下混和, 37°C に 3 時間おき, その後室温に放置して翌朝判定した。

(vi) 判定: 反応陰性(-)の場合赤血球は管底に輪廓鮮明な平滑な円盤状沈澱をつくる。弱陽性(±)は円盤沈澱の周辺が不鮮明となりもやの如くなつたもの。陽性(+)は血球が管底に薄く拡がつて膜を形成したもの。この膜は囲りより皺状に収縮する傾向がある。強陽性(++)は前記膜沈澱が強く収縮したもの及び、表面が粗糲で厚味のある固い沈澱をつくるもの。強く凝集した赤血球は振盪によつてもとの浮游液とならず粗大な凝塊にとどまる。

**実験 1. Middlebrook-Dubos 反応の抗元感作濃度に就いて。**

家兎免疫血清(B-A-1)と青山Bツベルクリン多糖体を用い, 抗元を 1.0 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25mg/ml, 0.125 mg/ml の 4 段階の濃度として表 1 の成績を得た。

**表 1 Middlebrook-Dubos 反応**  
(抗元感作濃度の比較)  
免疫血清 B-A-1  
抗元青山Bツ多糖体

抗元濃度	4	8	16	32	64	128	256	512
1.0 mg/cc.	+	+	+	+	+	+	+	±
0.5 "	+	+	+	+	+	+	+	
0.25 "	+	+	+	+	+	±		
0.125 "	+	+	+	+	+	+	±	

表に見られる如く, 抗元濃度の高い方が凝集も強く出るようであるが, 以後の実験には 0.5 mg/ml の濃度を採用した。

**実験 2. 3 種多糖体の比較。**

ツベルクリンより分離した上記の多糖体 2 種及び結核

**表 2 Middlebrook-Dubos 反応**

使用免疫血清 N. V. 60. (仲野加熱死菌静脈免疫ウサギ血清)  
抗元感作濃度 0.5 mg/cc.

抗元	10	20	40	80	160	320	640	1280
仲野ツベルクリン多糖体	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	±
青山Bツ多糖体	卅	卅	卅	+	+	+	±	
U-Lps-1 多糖体 (菌体)	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	

菌 H<sub>37</sub>Rv 株より 10% 尿素による抽出 70~80% メタノールによつて分離した 1 種 (U-Lps-1) を加えて比較検討した。その結果は表 2 の通りであつて 3 者間に感作能の差を認めなかつた。そこで以後仲野ツベルクリン多糖体を実験に供した。

**[II] Boyden 反応の術式に就いて**

(i) 緬羊赤血球は Middlebrook-Dubos 反応と同様。

(ii) 抗元: ツベルクリン蛋白は多糖体分離後のソートンツベルクリンから 3 塩化醋酸によつて分離, 乾燥溶解を繰返して精製したもので, 菌株としては人型結核菌仲野株及び H<sub>37</sub>Rv 株を用いた。この他に H<sub>37</sub>Rv 株の菌体から 10% 尿素によつて抽出, 同様 3 塩化醋酸で沈澱して得た菌体蛋白(U-pt-1)を用いた。これらを B.S. 水溶液とする。

(iii) 感作方法: 緬羊赤血球 0.1 容に B.S. 4 容を加え更に 4 容のタンニン酸水溶液を混和して 37°C, 10 分間静置する。(タンニン酸処理)之を遠沈して B.S. で 1 回洗滌し遠沈する。この沈渣に 4 容の抗元液を加えて 37°C, 15 分間感作した。感作後遠沈して上清を棄て, 0.4% 正常家兎血清で洗滌遠沈し, 最後に 0.4% 正常家兎血清 4 容を加えて 2.5% 感作血球浮游液とした。

(iv) 血清は非働化した後 1% に正常家兎血清を加えた生理食塩水で Middlebrook-Dubos 反応と同じ稀釈列を作つた。

(v) 判定: Boyden 反応に於ける赤血球凝集の形態は Middlebrook-Dubos 反応とやや形を異にし対照も血球は小さい円盤をつくらずやや拡がつて中央のすけて見える沈澱である。

弱陽性(±)は対照に比し周囲がややぼけたもの。陽性(+)は均等な薄い膜状沈澱を形成したもの。強陽性(++)は膜状凝集がひだ様に収縮したものである。

**実験 3. Boyden 反応に於けるタンニン酸処理及び抗元感作濃度の比較。**

Boyden に従い<sup>9)</sup>タンニン酸は 5,000 倍, 10,000 倍, 20,000 倍の 3 段階を, 抗元は 1.0 mg/ml より 0.125 mg/ml 迄の 4 段階の組合せを検討した。

その成績は表 3 に示す通りであつて, 以上の組合せ中タンニン酸 5,000 倍と抗元 0.125 mg/ml の組合せのみが凝集価低く, 他はほとんど差がなかつたので Middlebrook-Dubos 反応に準じて抗元濃度 0.5mg/ml と 5000 倍タンニン酸を採用した。

**実験 4. Boyden 反応に於ける 3 種抗元の比較。**

抗元は上記の 3 種であるがこのうち H<sub>37</sub>Rv 結核菌体より抽出した U-pt-1 の凝集価が最も低かつた。(表 4)

表 3 Boyden 反応 (抗原及びタンニン処理濃度の比較)  
免疫血清 No. 30  
抗原青山 B ツ蛋白

タンニン酸	抗 元	10	20	40	80	160	320	640
5000×	1.0mg	+	+	+	+	+	+	+
"	0.5	+	+	+	+	+	±	
"	0.25	+	+	+	+	+	±	
"	0.125	+	+	+				
10000×	1.0	+	+	+	+	±	±	±
"	0.5	+	+	+	+	+	+	±
"	0.25	+	+	+	+	+	+	±
"	0.125	+	+	+	+	±	±	
20000×	1.0	+	+	+	+	+	±	
"	0.5	+	+	+	+	+	±	
"	0.25	+	+	+	+	±	±	
"	0.125	+	+	+	+	±	±	

表 4 Boyden 反応

免疫血清 N. V. 60 (人型仲野株加熱死菌静脈  
免疫ウサギ血清)  
抗原濃度 0.5 mg/cc.  
タンニン酸 5000 倍液処理

抗 元	10	20	40	80	160	320	640
仲野ツ蛋白	+	+	+	+	+	+	
H <sub>37</sub> Rv ツ蛋白	+	+	+	+	+	+	
Upt-7 (菌体)	+	+	±				

仲野ツ蛋白と H<sub>37</sub>Rv ツ蛋白には差がなく、Middlebrook-Dubos 反応に仲野ツ多糖体を採用した関係で Boyden 反応にも仲野ツ蛋白を用いる事とした。

### [III] 磷脂質感作赤血球凝集反応の手技に就いて

磷脂質は 2 mg/ml メタノール溶液として保存し、用いの際に懸濁液にした。方法は小野<sup>7)</sup>に従い、抗原 1 容に対し B. S. 4 容をとり B. S. をマグネチックスターラーで攪拌しつつその中に磷脂質メタノール溶液を徐々に滴下する。磷脂質は水に難溶性のため液は微かに白濁するが、之を温浴上で加熱してメタノールを蒸発せしめ、全量が略々半減した時蒸溜水を加えてもとの 4 容とした。斯くして磷脂質の水懸濁液を得た。

赤血球の感作方法及び血清稀釈は Middlebrook-Dubos 反応と全く同様である。

判定の際に磷脂質による血球凝集は多糖体を抗原とする Middlebrook-Dubos 反応の場合よりやや柔い様であつて振盪により凝集は容易に破壊する。

### 実験 5. 磷脂質感作赤血球凝集反応の抗原の比較。

用いた磷脂質抗原は仲野株から分離した Pd-n, H<sub>37</sub>Rv 株及び青山 B 株の混合菌体から分離した Pd-ha, 及び H<sub>37</sub>Rv 株から分離した MePd-1 である。抽出方法の概要は先づアセトン致死乾燥菌体をアセトン抽出、残渣を乾燥、メタノール抽出、メタノール抽出液を乾燥、抽出物を熱アセトン処理、ついでクロロホルム溶解、クロロホルム可溶部分をアセトン沈澱する。この沈澱物をクロロホルム溶解、アセトン沈澱を数回繰返して精製抗原とする。但し MePd-1 はクロロホルム溶解前のものである。結果は表 5 に示すように Pd-ha が最も高い凝集を示したので、之を以後の実験に使用した。

表 5 磷脂質感作赤血球凝集反応

使用抗原 Pd-n (人型仲野株菌体磷脂質)

Pd-ha (H<sub>37</sub>Rv 及び青山 B 株の混合磷脂質)

MePd-1 (H<sub>37</sub>Rv 粗磷脂質)

免疫血清 N. V. 60 (人型仲野株加熱死菌静脈免疫ウサギ血清)

抗 元	倍 率	10	20	40	80	160	320	640	1280
Pd-n		+	+	+	+	+	+	+	
Pd-ha		+	+	+	+	+	+	+	+
MePd-1		+	+	+	+	+	+		

実験 6. 以上の実験で決定した 3 つの抗原による赤血球凝集反応を BCG 皮下免疫家兎血清で実施し、表 6 の結果を得た。

表 6 BCG 皮下 (パラフィンアヂュバント) 免疫ウサギ血清について

Middlebrook-Dubos 反応 (抗原: 仲野ツ多糖体)

Boyden 反応 (抗原仲野ツ蛋白)

Pd-反応 (Pd-ha)

	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
M-D	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Boyden	+	+	+	+	+	+			
Pd-ha	+	+	+	+	+	+	+	+	±

強く免疫した血清では Middlebrook-Dubos 反応は 2560 倍迄、Boyden 反応は 320 倍迄、磷脂質反応は 2560 倍迄陽性となつた。

一方正常家兎血清で 3 反応を検したところ表 7 のように Middlebrook-Dubos 反応は 40 倍迄陽性を示したの

で、この程度までは非特異凝集とみななければならない事が判つた。Boyden 反応及び磷脂質凝集反応は 10 倍稀釈血清で陰性であつた。

表 7 正常家兎血清に就て

	10	20	40	80	160	320
M-D	+	+	+	-	-	-
Boyden	-	-	-	-	-	-
Pd-ha	-	-	-	-	-	-

実験 I BCG 免疫及び毒力菌感染ウサギに於ける血清抗体の消長。

実験目的： 前編の 3 反応がウサギの BCG 免疫及び毒力菌感染の際如何なる経過をとるかを見るために実験

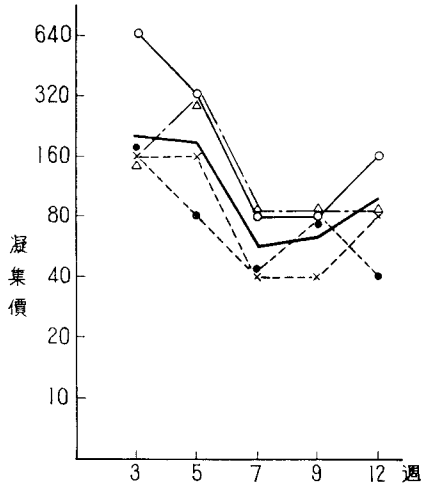
を行つた。

実験方法： 毒力菌には人型仲野株を、免疫には BCG を用いた。両株共菌液は 1% 小川培地 2 週間培養の菌苔より手振法によつて 1 mg/ml のものを作り、その 1 ml 宛それぞれ下腹部皮下或は耳静脈に接種した。生菌単位は BCG  $1.6 \times 10^7$ /mg, 仲野株  $2.5 \times 10^7$ /mg であつた。ウサギは体重 2 乃至 3 kg の成熟ウサギを用い、1 群 4 頭とし第 1 群は BCG 皮下免疫、第 2 群は BCG 静脈内免疫、第 3 群は仲野株皮下感染、第 4 群は仲野株静脈内感染とした。

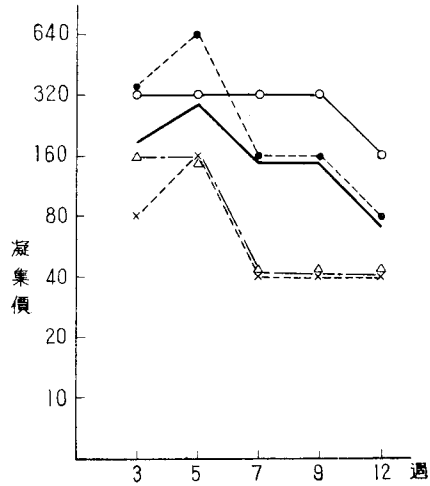
検査間隔： 接種後 3, 5, 7, 9, 12 週の 5 回に恆つてツベルクリン反応及び赤血球凝集反応を実施した。

[I] Middlebrook-Dubos 反応の経過。

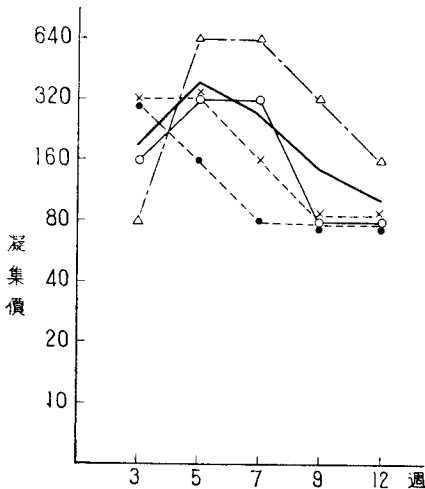
表 1 及び図 1 に示したように、4 群共 3 週後の凝集価



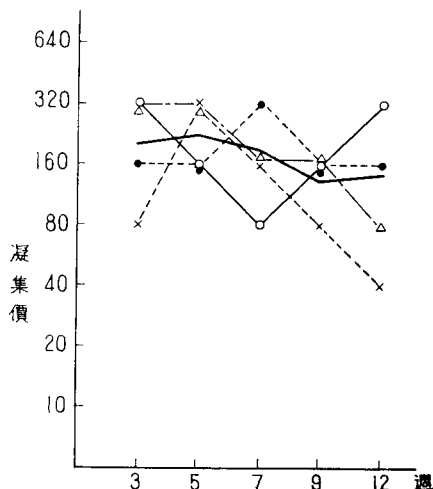
第 1 群 BCG 皮下



第 2 群 BCG 静脈



第 3 群 仲野皮下



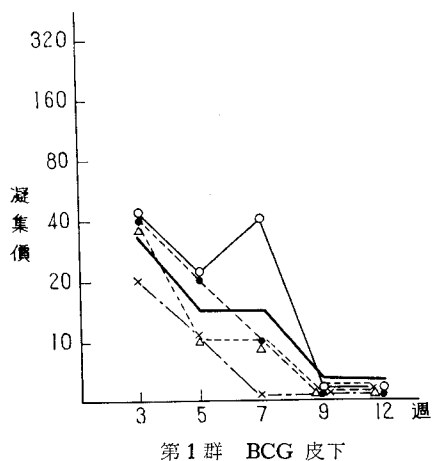
第 4 群 仲野静脈

図 1 Middlebrook-Dubos 反応の経過 (註： 図中太実線は各群中、動物の算術平均値をあらわす)

表 1 Middlebrook-Dubos 反応の経過

接種方法	家 兎 No.	凝 集 価				
		3 週	5 週	7 週	9 週	12 週
第 1 群 BCG 皮下	1	640	320	80	80	160
	2	160	160	40	40	80
	3	160	320	80	80	80
	4	160	80	40	80	40
第 2 群 BCG 静脈	5	320	320	320	320	160
	6	80	160	40	40	40
	7	160	160	40	40	40
	8	320	640	160	160	80
第 3 群 仲野 皮下	9	160	320	320	80	80
	10	320	320	160	80	80
	11	80	640	640	320	160
	12	320	160	80	80	80
第 4 群 仲野 静脈	13	320	160	80	160	320
	14	80	320	160	80	40
	15	320	320	160	160	80
	16	160	160	320	160	160

は略々 80 倍より 320 倍の間にあつて、第 1 群を除く他の 3 群は 5 週目迄徐々に上昇を続け、その後は 4 群共下降傾向を示した。第 1 群のみ 7 週にやや低い凝集価を示したが、他の 3 群に著差はなかつた。以上の成績から見ると、多糖体を感作抗原とする Middlebrook-Dubos 反応は菌の毒力には関係がないものと考えられる。又感染



経路の点に就いては第 1 群がやや異つた経過を示したが第 3, 第 4 群間には差違がなかつたところから見ると、結局本反応は感染経路にも関係なく、大体一様に出現するものと思われる。

### 【II】 Boyden 反応の経過。

反応の経過は表 2 及び図 2 に示した。4 群共 3 週目に

表 2 Beyden 反応の過経

接種方法	家 兎 No.	凝 集 価				
		3 週	5 週	7 週	9 週	12 週
第 1 群 BCG 皮下	1	40	20	10	—	—
	2	40	10	10	—	—
	3	40	20	40	—	—
	4	20	10	—	—	—
第 2 群 BCG 静脈	5	40	20	20	—	—
	6	20	10	20	—	—
	7	20	20	20	—	—
	8	20	20	40	—	—
第 3 群 仲野 皮下	9	20	10	20	10	—
	10	40	20	20	—	—
	11	40	80	160	40	160
	12	20	20	10	—	—
第 4 群 仲野 静脈	13	40	20	20	40	160
	14	40	10	—	—	—
	15	20	40	10	—	—
	16	40	20	80	40	160

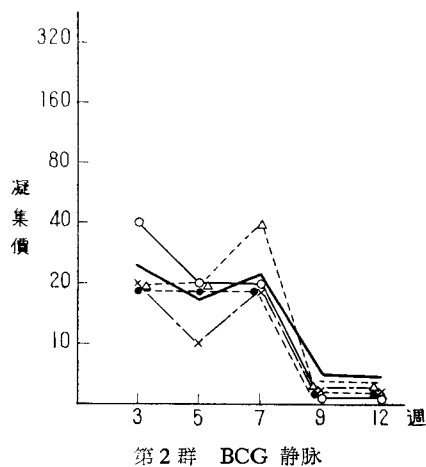


図 2 Boyden 反応の経過

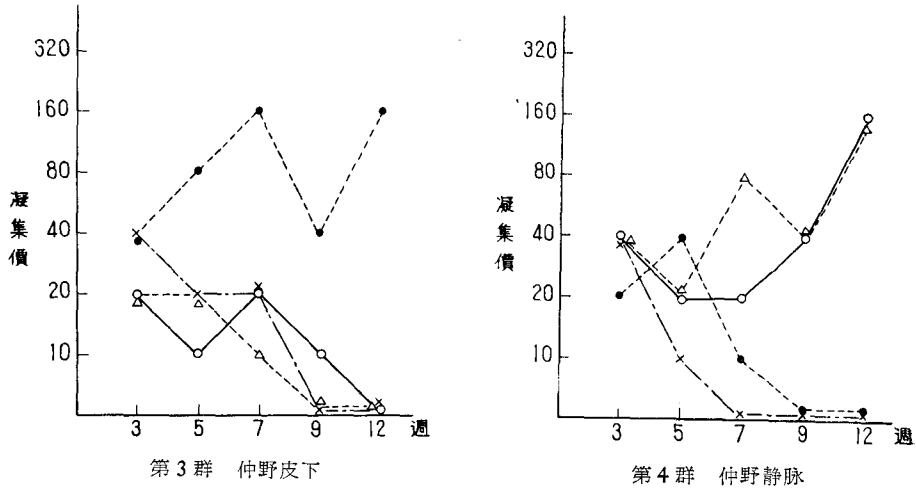


図 2 Boyden 反応の経過

註：図中太実線は各群中、動物の算術平均をあらわす。

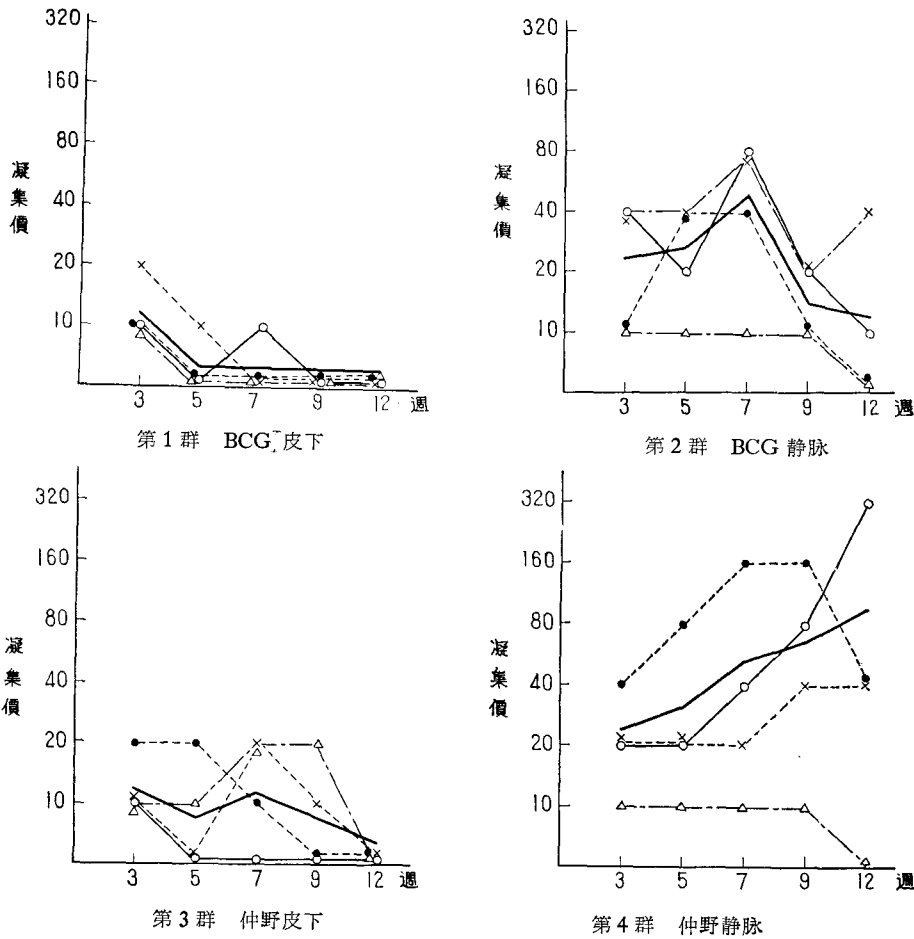


図 3 磷脂質感作赤血球凝集反応の経過

註：図中太実線は各群中、動物の算術平均をあらわす。

は略々 20 乃至 40 倍の凝集価であつたがその後菌株による差を認めた。即ち BCG 免疫の 2 群は共に多少の動揺はあつたが漸時低下して 9 週以降全例陰性化した。一方仲野株感染の両群は比較的個体差が著しく漸時増強するものと陰性化するものの 2 種類があつた。即ち第 3 群中 3 頭、第 4 群中 2 頭の合計 5 頭が BCG 免疫群と同様に経過し、他の 3 頭に於いては凝集価が上昇した。この事から Boyden 反応は毒力菌感染の場合と BCG 免疫の場合とはやや異なるように思われるが、然しこの事をこの成績だけから一般的傾向として結論する事は未だ出来ないようである。然し Middlebrook-Dubos 反応に比べると菌の毒力にかなり関係がある事がうかがわれる。但し感染経路の点では BCG 免疫、仲野株感染の場合共に差違が認められなかつた。

### [III] 磷脂質感赤血球凝集反応の推移。

成績は表 3、図 3 に示したが本反応の凝集価は 3 週後に 10 倍乃至 20 倍迄上昇しているが、その後の経過は菌の毒力と感染経路によりかなり著明な差違が認められた。

即ち皮下接種の第 1、第 3 の両群は共に 20 倍迄の凝

表 3 磷脂質赤血球凝集反応の経過

接種方法	家 兎 No.	凝 集 価				
		3 週	5 週	7 週	9 週	12 週
第 1 群 BCG 皮下	1	10	—	10	—	—
	2	20	10	—	—	—
	3	10	—	—	—	—
	4	10	—	—	—	—
第 2 群 BCG 静脈	5	40	20	80	20	10
	6	40	40	80	20	40
	7	10	10	10	10	—
	8	10	40	40	10	—
第 3 群 仲野 皮下	9	10	—	—	—	—
	10	10	—	20	10	—
	11	10	10	20	20	—
第 4 群 仲野 静脈	12	20	20	10	—	—
	13	20	20	40	80	320
	14	20	20	20	40	40
	15	10	10	10	10	—
	16	40	80	160	160	40

集価を最高とし、その後第 1 群は比較的速やかに陰性化し、第 3 群は漸減して 12 週後全て陰性化した。

然し図 3 で見られるように毒力の差を軽度ながら認める事が出来る。

静脈内接種の 2 群は皮下の場合と明らかに異なる消長を示した。第 2 群では 7 週迄漸時上昇して後、比較的速やかに低下し第 4 群は 4 頭中 3 頭が 12 週まで上昇傾向を続けた。以上の成績から本反応は皮下接種より静脈内接種の場合に、又 BCG より毒力菌感染の場合に高く且つ長く持続するものと考えられる。

### [IV] ツ反応の消長。

成績は表 4 に示した。概ね 3 週後に全例陽転したが、第 2 群のみ遅延し且つ弱かつた。全群 12 週後に約半数宛陰性化した各群間に特に差を認めなかつた。

表 4 ツベルクリン反応の経過

	週	3	5	7	9	12
第 1 群 BCG 皮下	1	20×16	24×18	17×17	15×11	—
	2	12×20	19×19	19×20	13×13	5×5
	3	22×21	20×19	10×10	12×10	—
	4	24×24	23×16	25×20	20×17	10×10
第 2 群 BCG 静脈	5	20×20	12×12	18×21	20×15	13×20
	6	—	—	10×8	—	—
	7	—	—	11×14	—	—
	8	—	15×22	15×22	15×20	12×13
第 3 群 仲野 皮下	9	20×20	21×20	21×25	20×18	—
	10	28×23	15×24	20×27	22×15	13×13
	11	17×27	30×20	20×28	20×30	28×18
	12	12×16	20×18	13×13	15×14	—
第 4 群 仲野 静脈	13	12×16	13×18	12×12	5×6	—
	14	13×20	18×18	22×20	18×12	—
	15	11×14	13×13	20×22	18×20	10×15
	16	13×27	22×20	13×14	15×16	18×23

### [V] 凝集価と肺病変の関係。

12 週後に動物を全例剖検し肺の肉眼的所見を検査し同時に定量培養を行つた。

成績は図 4 に示したが、BCG 免疫の両群は肺に全く肉眼的病変を認めなかつたが、仲野株感染群は種々の程度の病変を示した。病変の程度は全肺に 50 ケ以内の結

群 家 免 價 No.	Middlebrook-Dubos反応					Boyden 反応					Pd-反応					肺病変				肺の 生菌単位
	10	20	40	80	160	10	20	40	80	160	10	20	40	80	160	+	++	+++	++++	
第1群	1																			—
	2																			—
	3																			—
BCG皮下	4																			—
第2群	5																			—
	6																			1X10 <sup>2</sup>
	7																			—
BCG静脈	8																		—	
第3群	9																			4.6X10 <sup>4</sup>
	10																			4X10 <sup>2</sup>
	11																			—
仲野皮下	12																			6X10 <sup>5</sup>
第4群	13																			25X10 <sup>6</sup>
	14																			2X10 <sup>5</sup>
	15																			33X10 <sup>4</sup>
仲野静脈	16																			28X10 <sup>6</sup>

図4 各赤血球凝集反応(12週)と病変の関係

節をみるものを(+), 100ヶ位迄のものを(++)、それ以上の数はあるが個々の結節は尚分離しているものを(!!!), 全肺表面が一様に結節に掩われているものを(!!!!)に区別した。

肺病変は第3群で(-)1頭, (+)2頭, (!!!)1頭であつて第4群は(+ )1頭, (!!!)1頭, (!!!!)2頭と後者が明らかに強い病変を有した。生菌量も略々之に併行した。

第12週の3凝集反応をみると、Middlebrook-Dubos反応では4群間に差を見出し難い。Boyden反応はBCG群には全て陰性化しており、毒力菌感染群では第3群に1頭(No. 11)、第4群に2頭(No. 13, 14)の160倍陽性のものがあつた。これらの動物の肺病変と凝集価を比較すると、前者に於いては関係が認められず、後者2頭に於いては併行関係が認められた。

磷脂質凝集反応は第2群のNo. 6が40倍陽性で培養によつてBCGを証明した。第1, 第3両群は全て陰性、第4群で40倍陽性2例、320倍陽性1例、陰性1例あり、之を肺病変と比較すると比較的併行関係が認め

られた。但しNo. 12の如く仲野皮下感染で病変と凝集価の併行せぬ例もあつて完全に一致するものとは考えられない。

以上3反応を肺の病変と比較して見ると磷脂質感作赤血球凝集反応が最も関係性があるものようであつた。

### 総括並びに考按

結核症における特異反応としては現在ツベルクリン皮内反応が一般に用いられているが、本反応は感染の診断であつて、発病乃至は病状経過の診断にはさして役に立たない事は周知の事実である。従つて発病乃至は病状経過の診断のための血清反応が要請され、そのためMiddlebrook-Dubos反応が注目的になつて来たのである。

さて、従来Middlebrook-Dubos反応に於いては多くツベルクリン感作抗原として用いて来たが、その後本反応に関与する物質はツベルクリン中の多糖体である事が判明した。又Middlebrook-Dubos反応の臨床的研究に関する従来成績を見ると、本反応が結核に特異性をもっている点では略々成績の一致を見、且つ高い陽性率

が報告されているが、病状経過乃至は予後との関係に就いて必ずしも報告者の意見が一致しているとはいわれない。

Boyden はその後ツベルクリン中の蛋白劃分がタンニン酸処理赤血球を用いる事によつて赤血球凝集反応の感作抗原となり得る事を証明した。更に近年高橋は従来赤血球凝集反応の感作元にならないとされていた結核菌体磷脂質<sup>11)</sup>も亦赤血球感作時の抗原の量的関係を考慮すれば、多糖体、蛋白同様の感作元となり得る事、且つ又、この磷脂質赤血球凝集反応の抗原抗体系は多糖体、蛋白のそれとは全く別個で独立したものである事を立証した<sup>7)</sup>。更に高橋深江は、これら3種の抗原を用いた赤血球凝集反応の中で磷脂質赤血球凝集反応が臨床上最も病状経過に併行する事を報告している<sup>10)</sup>。

私が今回、ツベルクリン多糖体蛋白質及び菌体磷脂質を感作元として実験的結核ウサギについて赤血球凝集反応の消長を調べたところによると、以上3種の異なる劃分はいずれ劣らず赤血球凝集反応の感作元になり得る事、及び3種の抗原を以てする反応は結核症の経過と共に全く異つた消長をとる事が実験的に明らかになつた。

さて、以上3種の赤血球凝集反応の中、得られた成績からいづれが結核の臨床上病状経過の診断に応用し得るかを考察してみると、先づその条件としては、反応の抗体価が高く出て判定に錯誤を生じない事は勿論、反応そのものの消長が病状の軽快増悪乃至は停止を出来るだけ反映してくれるものでなければならない。この観点から以上3種の赤血球凝集反応の優劣を比較検討してみよう。

周知の如く一般に BCG は実験動物に接種しても進行性病変を形成せず、形成せられた病変は必ず短時日の中に自然治癒し、体内の BCG は必ず消失するものであつて、進行性病変を形成してついに動物を致死せしめる有毒菌とは全く趣を異にする。そこで先づこのいわば無害の感染をめぐる、各種抗体の産生がどのような消長をとるかを、有毒菌感染の場合と比較してみると、先づ BCG 接種の場合 Middlebrook-Dubos 反応によつて証明される多糖体抗体は BCG 感染後速かに出現し、3~5週で最高値に達するが以後の低下は極めて緩慢で、体内で BCG による病変が既に自然治癒の状態に入つてと思われる接種後 12 週目に於いても尚かなり高い凝集価を示している。この点生体内で菌が増殖を続け病変が次から次へと形成されて行く毒力菌感染の場合と何等えらぶところがないと考えられる。結局多糖体を感作元とする Middlebrook-Dubos 反応は結核感染の有無を知るための手段にはなるが、病変の進行状態、即ち病状経

過の診断のためには、さして価値ある血清反応とはいひ難いようである。

次に蛋白を感作元とする Boyden 反応の成績は、或程度結核菌の毒力による差を生じた。BCG 皮下接種群では3週で最高の凝集を示し静脈内接種では7週までやや平坦に経過したが、いづれの場合も9週後には全て陰性化した。この様に BCG 接種の場合 Boyden 反応は体内における菌の消長にやや併行する傾向が見られたが、毒力菌感染の場合2乃至5週を境として漸減と上昇の2つの傾向が見られた。この事は菌蛋白に対する生体の抗体産生状況が病変によつて異なるためか、或は動物の個体差によるものか不明であるが、いづれにせよ Middlebrook-Dubos 反応と違つて或程度毒力菌感染後の病変の進行に関係ある事がうかがわれると思う。

最後に磷脂質感作赤血球凝集反応の成績には接種菌の毒力及び感染経路によつてかなりの差違が認められた。特に此場合感染経路によつて著しい差が見られた事は興味ある事実である。即ち BCG 皮下接種の場合は3週で最高となり以後下降を示したが、BCG 静脈内接種の場合は7週で上昇を続け以後比較的速かに低下した。仲野株皮下感染では3週後一定値に達してから9週まで略々平坦に経過し、その後陰性化したのに対し静脈内接種では3週以降徐々に上昇を続ける傾向が見られた。

以上3種の感作赤血球凝集の反応成績から、結核菌の多糖体、蛋白、磷脂質に対する生体内の抗体産生状況を比較考察してみると、多糖体及び蛋白抗体は菌の毒力及び感染経路に殆んど関係なく産生され、これに反して磷脂質抗体の産生は、著しくその影響をうける事がうかがわれる。即ち磷脂質抗体は菌と生体の関係のあり方によつて産生状況が異なると考えられる。この事は菌体多糖体及び蛋白は比較的水溶性であるがために体液によく浸透して容易に抗体産生を促すに反し、磷脂質は不溶性であるがために抗体産生は前者の場合程容易に行われず、体内において菌が崩壊するような条件下ではじめて多量に産生されるためとみられる。本実験成績において磷脂質反応は BCG の場合も毒力菌の場合も、静脈内接種の場合に高値を示す事実から見ると、此見方は一応妥当ではなかろうか。更に又、毒力菌感染の場合、皮下接種群においては局所の被包乾酪巣が病変の主体をなして磷脂質反応の凝集価低く、之と反対に、静脈内接種群においては、増殖性の強い結節形成が病変の主体をなして凝集価が高かつた事實は、磷脂質反応が多糖体及び蛋白反応に比べてよりよく病変のあり方を示すものと思われる。即ち本動物実験の結果から磷脂質反応が人の結核症における病状経過をよりよく反映する可能性のある事がうか

がわれる。

## 結 論

(1) 実験的結核ウサギで赤血球凝集反応を行い、ツベルクリン多糖体並びに蛋白質、菌体磷脂質に対する抗体の存在を証明した。

(2) 正常ウサギ血清で本実験に用いたツベルクリン多糖体は 40 倍陽性、蛋白質磷脂質は 10 倍陰性であった。高度免疫血清では多糖体が 2560 倍迄、蛋白質は 320 倍迄、菌体磷脂質は 2560 倍迄陽性を示した。

(3) 実験的結核ウサギでツベルクリン多糖体感作赤血球凝集反応は菌の毒力及び感染経路に関係なく殆んど一様に陽性反応を示した。

(4) Boyden 反応も感染経路によつて殆んど差違が認められなかつた。但し多糖体による Middlebrook-Dubos 反応よりは菌の毒力による差が認められた。

(5) 磷脂質感作赤血球凝集反応は感染経路及び菌の毒力によつてかなりの差を呈し、且本反応の成績が最もよく病変に併行した。

**実験 II.** 実験結核治療時における各種赤血球凝集反応の動き。

前の実験で、ウサギに BCG 及び人型毒力菌種野株接種の際の多糖体、蛋白及び磷脂質に対する血清抗体の消長を観察し、その中で磷脂質赤血球凝集反応が比較的よく結核症の経過を反映する事を知り得た。そこで本実験ではウサギに野株を静脈に接種して結核に感染せしめて後、抗結核剤を以て治療した場合の 3 種抗体の消長を追求してみた。

## 実 験 方 法

体重 2 乃至 3 kg の成熟ウサギ 25 頭を 5 頭宛 5 群にわけ、人型野株を 1 mg 宛静脈内に接種した。接種菌数は  $1.2 \times 10^8$ /mg であつた。

第 1 群、第 2 群は感染 3 週後よりそれぞれ INH 及び SM 治療を開始した。第 3 群、第 4 群は 7 週後よりそれぞれ INH 及び SM 治療を開始し、いずれの場合も 15 週目の剖検前日迄継続した。INH は 1 日量 10 mg (ca4mg/kg)、SM は 50 mg (20 mg/kg) を毎日、日曜日を除き、皮下に注射した。第 5 群は治療せず対照とした。

赤血球凝集反応及びツベルクリン反応は感染後 3, 5, 7, 9, 12, 15 週の 6 回に恆つて行い、15 週剖検し定量培養を行つた。赤血球凝集反応の術式は前実験の場合と全く同様である。

### [I] Middlebrook-Dubos 反応の経過。

成績は表 1、図 1 に示した。3 週後の凝集価は各群

160 倍乃至 320 倍の間にあつて、その後第 4 群、第 5 群が 5 週迄軽度の上昇をみたが他の 3 群はやや低下した。7 週以降は全群共通に下降傾向を示し、第 12 週に最低となり以後再び上昇した。全体の傾向として 3 週乃至 5

表 1 Middlebrook-Dubos 反応の経過

群	家 兎 No.	凝 集 価					
		3 週	5 週	7 週	9 週	12 週	15 週
第 1 群 (INH 3 週)	1	160	80	40	40	20	20
	2	160	160	80	80	40	40
	3	320	160	160	160	160	320
	4	160	80	80	40	20	40
	5	160	80	40	40	40	160
第 2 群 (SM 3 週)	6	160	40	80	80	160	80
	7	160	80	80	80	40	20
	8	320	320	160	160	80	80
	9	160	40	40	160	40	40
第 3 群 (INH 7 週)	10	320	320	320	160	80	160
	11	160	80	80	80	20	80
	12	320	320	40	80	40	80
	13	160	160	80	80	40	80
	14	160	320	160	320	320	320
第 4 群 (SM 7 週)	15	320	320	160	160	160	80
	16	320	320	160	160	80	80
	17	320	640	320	80	40	40
	18	160	160	80	80	40	160
第 5 群 (対照)	19	320	640	640	640	640	640
	20	160	160	160	320	160	160
	21	40	40	40	80	40	40
	22	160	640	320	320	320	320
	23	320	160	80	80	40	160
	24	320	320	160	80	80	80
	25	80	160	320	160	80	160

週で最高の凝集価に達した後漸時軽度の低下が見られたが、対照と比較して 5 群間に特別な差違が認められなかつた。即ち本反応は治療によつて影響を受けないものと考えられる。

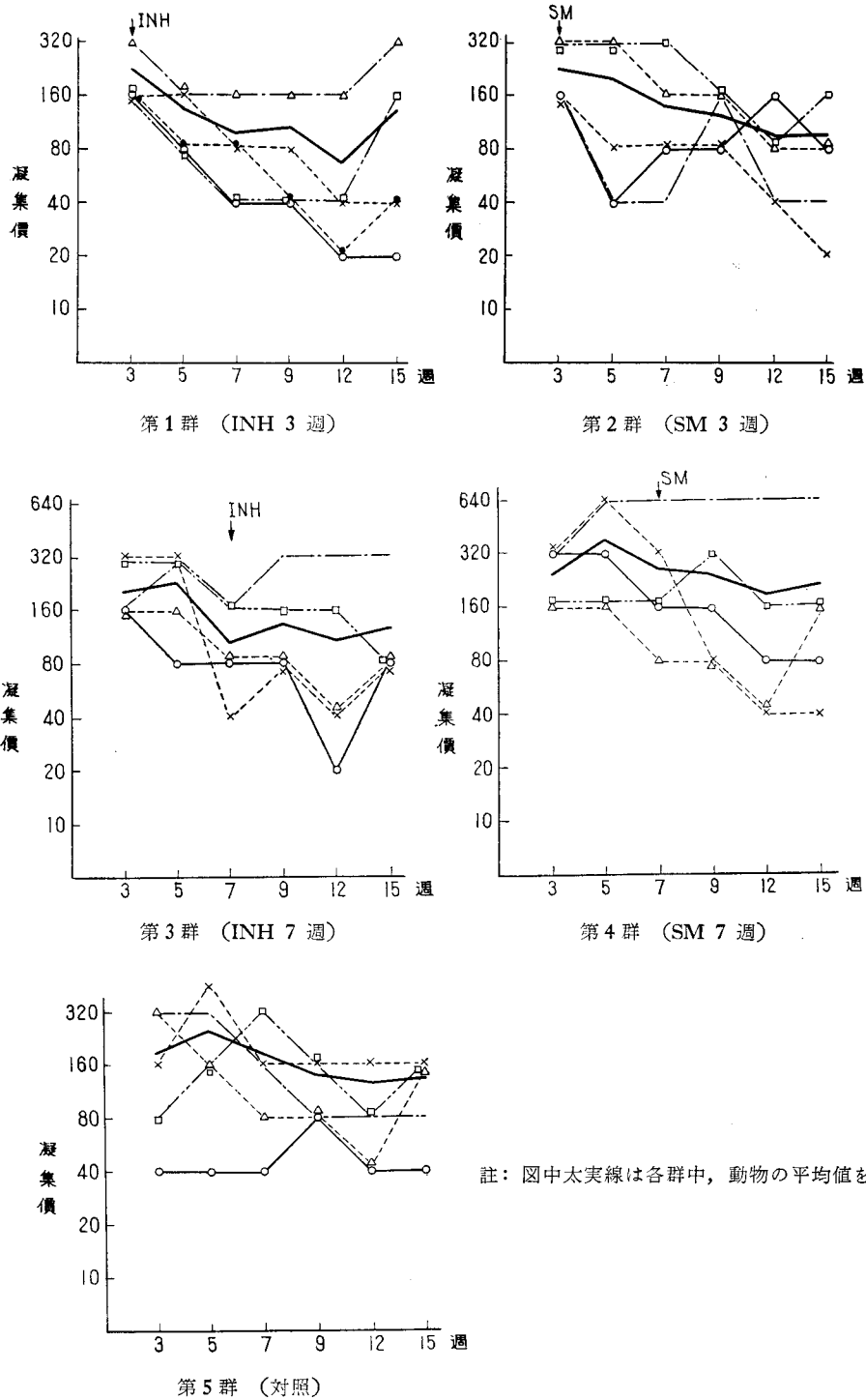


図1 Middlebrook-Dubos 反応の経過

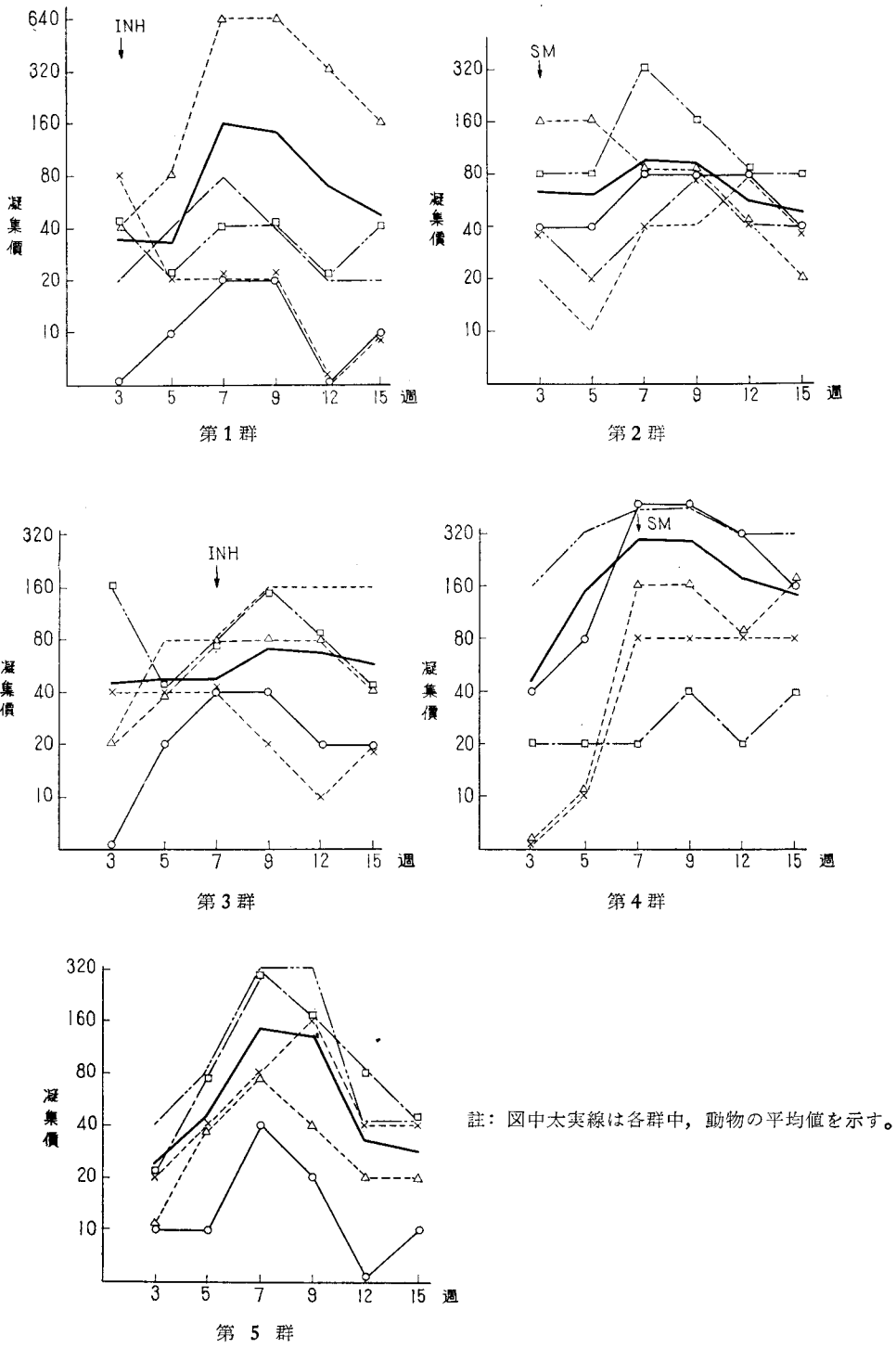


図 2 Boyden 反応の経過

## 〔II〕 Boyden 反応の経過。

成績は表 2, 図 2 に示してあるように, 3 週後の凝集価はウサギによつてかなり不同で, 尚陰性に止まるものより最高 160 倍陽性のものまであつたが各群平均すると大体 40 倍内外となつた。

各群毎にその後の経過を観察すると対照群は漸時上昇して第 7, 9 週に最高となりその後比較的急速に下降して 12 週後平均 40 倍となり 15 週に引続いた。Middle-

brook-Dubos 反応が 3 週後に略々最高値を示したのと比較して本抗体の出現はやや遅れて第 7, 9 週で頂点をつくり又比較的急に減退した。前の実験では上昇を続けるものと下降するものの 2 種があつたが今回は全部一様に低下した。治療群の経過は第 1, 第 4 両群が対照と甚だ類似の傾向を示し第 2, 第 3 両群は比較的平坦に経過した。然し治療群全てが第 7 乃至 9 週に最高値に達する特徴は対照群と同様で, 各群の最高凝集価には差が認めら

表 2 Boyden 反応の経過

群	家兎 No.	凝 集 価					
		3 週	5 週	7 週	9 週	12 週	15 週
第 1 群 (INH 3 週)	1	—	10	20	20	—	10
	2	80	20	20	20	—	10
	3	40	80	640	640	320	160
	4	20	40	80	40	20	20
	5	40	20	40	40	20	40
	6	40	40	80	80	80	40
第 2 群 (SM 3 週)	7	40	20	40	80	40	40
	8	160	160	80	80	40	20
	9	20	10	40	40	80	40
	10	80	80	320	160	80	80
第 3 群 (INH 7 週)	11	—	20	40	40	20	20
	12	40	40	40	20	10	20
	13	20	40	80	80	80	40
	14	20	80	80	160	160	160
	15	160	40	80	160	80	40
第 4 群 (SM 7 週)	16	40	80	640	640	320	160
	17	—	10	80	80	80	80
	18	—	10	160	160	80	160
	19	160	320	640	640	320	320
第 5 群 (対照)	20	20	20	20	40	20	40
	21	10	10	40	20	—	10
	22	20	40	80	160	40	40
	23	10	40	80	40	20	20
	24	40	80	320	320	40	40
25	20	80	320	160	80	40	

表 3 磷脂質赤血球凝集反応の経過

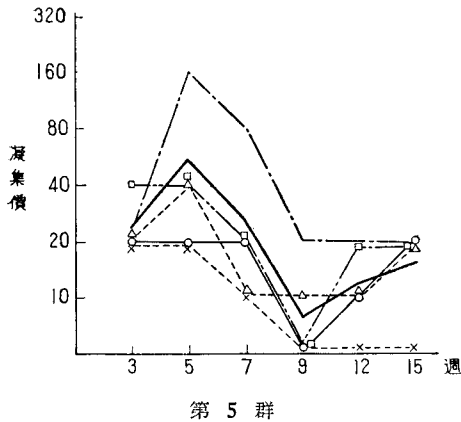
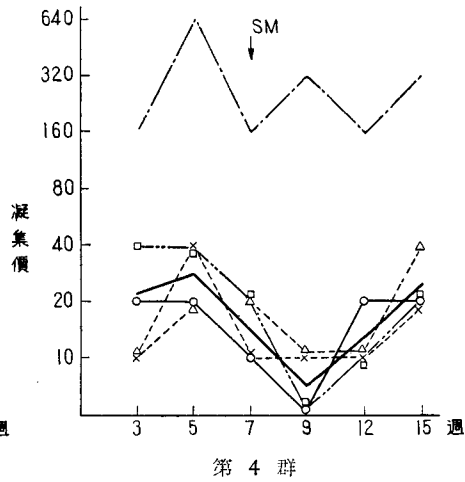
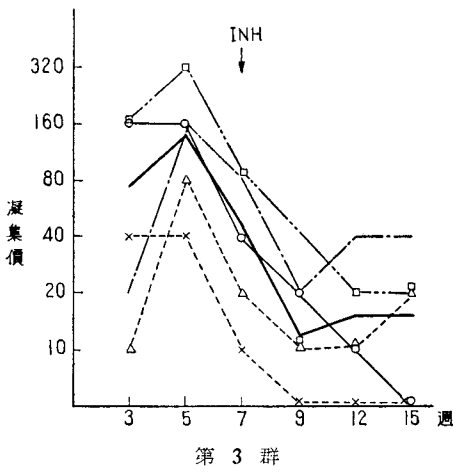
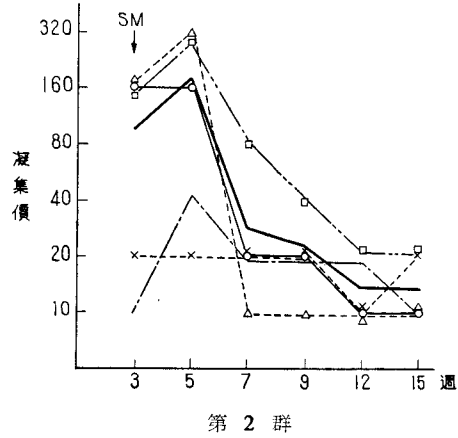
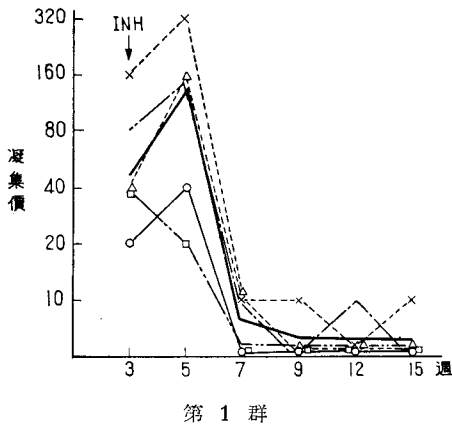
群	家兎 No.	凝 集 価					
		3 週	5 週	7 週	9 週	12 週	15 週
第 1 群 (INH 3 週)	1	20	40	—	—	—	—
	2	160	320	10	10	—	10
	3	40	160	10	—	—	—
	4	80	160	10	—	10	—
	5	40	20	—	—	—	—
	6	160	160	20	20	10	10
第 2 群 (SM 3 週)	7	10	20	20	20	10	20
	8	160	320	10	10	10	10
	9	10	40	20	20	20	10
	10	160	320	80	40	20	20
第 3 群 (INH 7 週)	11	160	160	40	20	10	—
	12	40	40	10	—	—	—
	13	10	80	20	10	10	20
	14	20	160	80	20	40	40
	15	160	320	80	10	20	20
第 4 群 (SM 7 週)	16	20	20	10	—	20	20
	17	10	40	10	10	10	20
	18	10	20	20	10	10	40
	19	160	640	160	320	160	320
第 5 群 (対照)	20	40	40	20	—	10	20
	21	20	20	20	—	10	20
	22	20	20	10	—	—	—
	23	20	40	10	10	10	20
	24	20	160	80	20	20	20
25	40	40	20	—	20	20	

れるが、全体として治療による影響をうけ難いようであつた。本反応は前実験同様 Middlebrook-Dubos 反応に較べて個体差が大きかつた。

〔III〕 磷脂質感作赤血球凝集反応の経過。

成績は表 3, 図 3 に示した。3 週後の凝集価は Boyden

反応と同様にかなり不同であつて最低 10 倍, 最高 160 倍の開きであつたがその後対照群の凝集価は更に上昇して第 5 週で最高値に達した後下降する。第 9 週で最低値になり以後再び上昇した。この曲線は第 2 実験の第 4 群 (仲野株静脈内接種) と異なつた経過を示したが, この両



第 4 群の平均値は No. (19) を除外して算出した。

図 3 磷脂質赤血球凝集反応

者の差は接種菌量の差及び動物の栄養状態等によるものと思われる。即ち第2実験は冬期であつたため飼料は専ら乾燥穀類に依存したのに対し、第3実験は全く野草で飼育したことである。

さて治療群の経過は3週後に治療を開始した第2、第

3両群をみると第5週で最高値に達しその後9週まで低下する模様は同様であつたがそれ以降も共に低下の傾向を続けた。

7週以降に治療を開始した第3、第4群の中第4群の一頭のみ他と全く異なる経過をましたので之を平均より

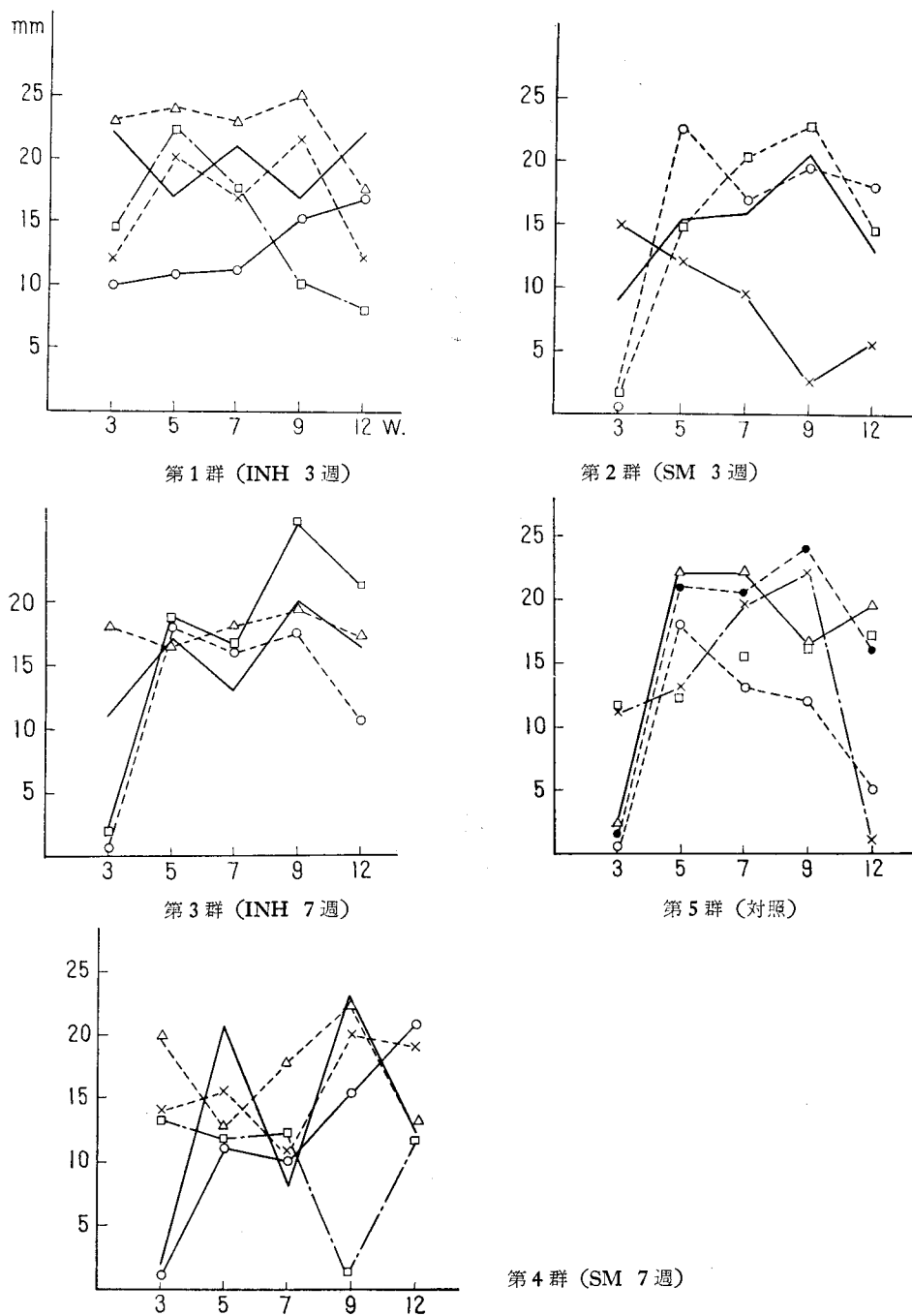


図4 ツ反応の経過

除外した。この他のものの第9週までの経過は第1, 第2群と略々同様の傾向であつたが9週以降は再び凝集価が上昇した。即ち対照群が9週以降上昇したのと同様の曲線であつた。

以上を総括すると対照及び治療群とも第5週に最高値となりその後9週まで下降する傾向がありその後の経過で差があつた。対照群及び7週に治療を開始したものが9週以後再び凝集価が上昇するのに対し3週で治療を開始したものは9週以後も漸時低下の傾向をつづけた。

[IV] ツ反応の経過は長短経平均値をぐらふ

(図4)に示したが3週で半数陰性で5週に至り全例陽性化しその後各群間に差がなく経過し12週で全体としてやや低下を示した。

[V] 15週後の肺臓剖検所見。

15週後に剖検し肺病変を+, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳの4段階に区別し同時に定量培養を行った。成績は図5にみられるように、肺病変は対照群で最も強く(Ⅳ)2頭, (Ⅲ)2頭, (Ⅱ)1頭であつた。治療群の中第2群が病変最も

群	家免NO.	Middlebrook-Dubos反応					Boyden反応					磷脂質凝集反応					肺病変	生菌数		
		10	20	40	80	160	320	640	10	20	40	80	160	320	640	10			20	40
オ1群 (NH3週)	1	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	0		
	2	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	1.2x10 <sup>3</sup>		
	3	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	0		
	4	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	5x10 <sup>2</sup>		
	5	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	2x10 <sup>2</sup>		
オ2群 (SM3週)	6	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	1x10 <sup>2</sup>		
	7	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	2.3x10 <sup>2</sup>		
	8	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	2.5x10 <sup>3</sup>		
	9	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	9.4x10 <sup>3</sup>		
	10	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	5x10 <sup>3</sup>		
オ3群 (NH7週)	11	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	9x10 <sup>4</sup>		
	12	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	2x10 <sup>3</sup>		
	13	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	1.7x10 <sup>3</sup>		
	14	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	2x10 <sup>5</sup>		
	15	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	4.9x10 <sup>4</sup>		
オ4群 (SM7週)	16	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	8x10 <sup>6</sup>		
	17	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	8x10 <sup>4</sup>		
	18	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	8.2x10 <sup>3</sup>		
	19	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	1.5x10 <sup>2</sup>		
	20	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	4.9x10 <sup>4</sup>		
オ5群 (対照)	21	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	2.5x10 <sup>7</sup>		
	22	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	1.7x10 <sup>4</sup>		
	23	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	2.8x10 <sup>5</sup>		
	24	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	5x10 <sup>4</sup>		
	25	[Bar]					[Bar]					[Bar]					+	3.8x10 <sup>5</sup>		

図5 各赤血球凝集反応(15週後値)と病変との関係, 及び各反応間の比較

少なく他の3群は略々同程度の軽快を示していた。生菌数は第1群で最も少なく, 第2群之に次ぎ第3, 第4群がやや同程度に多かつた。

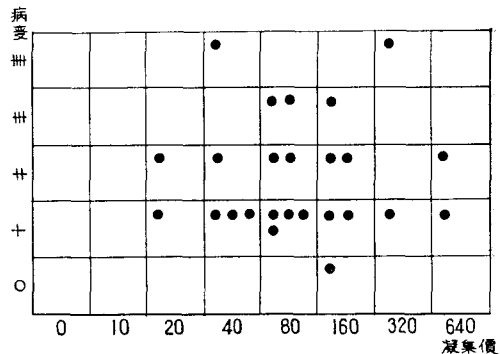
[VI] 15週の3反応凝集価と病変の関係。

成績は表6に示してあるように Middlebrook-Dubos 反応及び Boyden 反応は病変の強さとはほとんど併行関係が認められない。磷脂質反応は No. 22 (凝集価 0, 病変Ⅲ) 及び No. 19 (凝集価 320 倍 病変 +) の2例を除けば前2反応に比し軽度ながら病変の強さと関係性があるように思われる。

この例外2例の中 No. 22 は対照群であつて, 終始磷脂質反応価が上昇せず, 剖検当日病死したもので病変は最大であつた。この例は本反応のみ力価低く他の2反応は比較的高値であつた。No. 19 は第4群中にあつて終始高凝集価を持続した特異例である。要するに磷脂質感

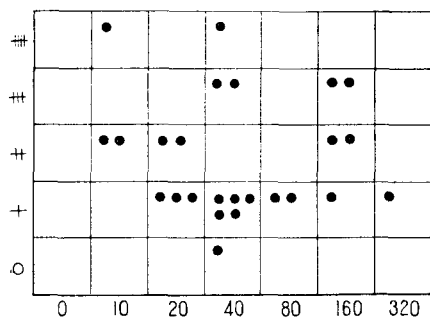
作赤血球凝集反応は, 比較的病変に併行すると思われたが, このような異常な反応を示す場合もあつた。

表6 Middlebrook-Dubos 反応と病変の関係

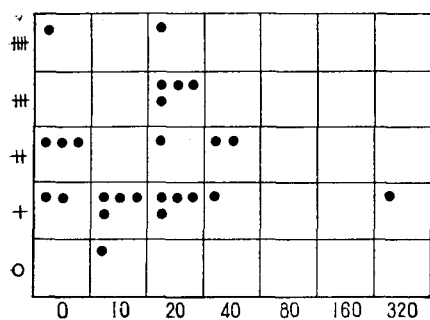


相関係数  $r = -0.01$

表 6 Boyden 反応と病変の関係

相関係数  $r=0.04$ 

磷脂質赤血球凝集反応と病変の関係

相関係数  $r=0.26$ 

### 総括並びに考按

今回の治療実験の成績を総合的に観察すると、多糖体の Middlebrook-Dubos 反応、蛋白の Boyden 反応は化学療法によつて殆んど影響を受けないといえよう。磷脂質による赤血球凝集反応の場合は、今回は第2実験の成績と趣を異にして、化学療法を受けなかつた対照群に於いて一時低下した後再び上昇する傾向が認められた。感染後7週目に INH 及び SM 治療を開始した群は対照群と全く同様に経過し、化学療法の影響は見られなかつたが、感染3週目より治療開始した群では治療後急速に低下し以後殆んど上昇する事なく実験終了まで間断なく低下の一途をたどる傾向が見られたので、感染後間もなく化学療法を開始する場合は磷脂質抗体の産生はかなりの影響をうける事がうかがわれる。

又本実験は、15週という短時間に、しかもウサギに毒力菌 1mg の静脈感染という方法で行われた。このような条件は治療にも増悪にも長い経過をとる人の結核症の場合にはあり得ないので、本実験の成績を直ちに人の結核症にあてはめて考える事は出来ないが、本実験及び第2実験の成績を総合してみると、実験結核の場合、磷脂質抗体の産生は多糖体蛋白のそれと異なつて、感染菌

の毒力、感染経路及び治療というような菌と生体との関係に影響を与えるような諸条件によつてかなりうごき得るという結論に到達せざるを得ない。又実験動物全体の剖検所見と3反応の成績を比較すると、全体として磷脂質反応が最も病変の軽重に併行する傾向が見られる。従つてこれまで検討して来た多糖体、蛋白、磷脂質の3つの赤血球凝集反応のうちで、磷脂質による赤血球凝集反応が臨床的に結核症の病状経過を反映する可能性が最も大きいといえよう。ただし本反応がこの目的のためにどれ程の価値をもつものかは実際に人の結核症に於いて広範、長期に研究してみなければわからない。本実験の成績はそのためのはつきりした足がかりになると思う。

### 結 論

人型毒力菌仲野株静脈感染による結核ウサギに化学療法を施し多糖体蛋白磷脂質による3種の赤血球凝集反応の消長を観察し次の結果を得た。

(1) ツベルクリン多糖体感作赤血球凝集反応は感染3乃至5週後に最高値に達し比較的徐々に減退する。且治療による影響を認めず又剖検所見とも関係が認められなかつた。

(2) Boyden 反応は7乃至9週で頂点となり以後比較的速やかに減退した。此の場合も治療による影響は認められなかつた。

(3) 磷脂質感作赤血球凝集反応は比較的速やかに陽性化し7週以後全群一様に低下した。

感染後早期に治療を開始した群では依然として低下の一途をたどり、おそく治療を開始した群では対照群と同様再び上昇の傾向を示した。即ち早期治療の場合は治療によつて影響をうける。又本反応の成績が病変との併行関係が最も大きかつた。

(4) 以上の成績から磷脂質感作赤血球凝集反応が臨床的に病状経過の診断に最も大きな価値を有する可能性について論じた。

稿を終えるにのぞみ本実験中終始多大の御指導御協力を惜しまれなかつた高橋教授及び北海道大学結核研究所予防部の諸賢並びに国立療養所旭川病院医局同僚の御協力に感謝致します。

### 参 考 文 献

- 1) Middlebrook, G. & Dubos, R.J.; J. Exp. Med. 88: 521, 1948.
- 2) Middlebrook, G.; Am. Rev. Tuberc., 62, 233, 1950.
- 3) Boyden, S. V.; Int. Arch. Allergy 10, 65-81, 1957.

- 4) 守屋外喜夫: 医学と生物学, 29-1, 17~21, 昭和28年10月
- 5) 武田直良: 抗酸菌研究雑誌, 11-2, 177~185, 昭和30年9月
- 6) Boyden, S.V.: J. Exp. Med., 93, 107, 1951.
- 7) 高橋義夫・小野勝男: 結核の研究, 7, 1, 1957.
- 8) H. Nagorny: Beitr. Klin. Tub., 109-3, 283~289 (6. 1953)
- 9) 代々木他: 北海道医学雑誌 28-2, 111~118 (28年2月)
- 10) 高橋義夫・深江 肇: 結核の研究, 7, 1, 1957.
- 11) Gernez-Rieux et A. Tacquet: Fortschritte der Tuberculoseforschung, V, 66, 1952 (Basel)