HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	蛋白質感作に及ぼす結核菌体waxの影響について
Author(s)	奥山, 春枝; 森川, 和雄
Description	
Citation	結核の研究, 13, 80-90
Issue Date	1960-09
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26704
Type	departmental bulletin paper
File Information	13_P80-90.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

蛋白質感作に及ぼす結核菌体 wax の影響について

奥山春枝・森川和雄
(北海道大学結核研究所病理部　主任　森川和雄教授)
(昭和35年6月1日受付)

従来アレルギー反応は即時型反応と遅延型反応の2つに大きく分けられている。この両者の差異は，反応出現の時間的関係，血清内の抗体出現の有無，更に血清による被動感作の可否等専ら現象論的に区別されていて，その本質的差異については未だ解明されていない状態である。

遅延型アレルギー反応は，感染アレルギー特に結核感染時のツベルクリン反応で代表されているが，これを本来即時型反応を惹起する抗原を用いて起させようという試みがなされている。即ち Raffel[1~5] 等の結核菌体 wax をこれら抗原と一緒に感作に用いる方法である。彼等はこのようにして，卵白アルブミン感作或いは結核菌体蛋白感作で遅延型反応を惹起しえたと報告している。

著者等は数年来，電気泳動的分析を続けて来た結果，結核動物血清と卵白アルブミン感作動物血清の間に大きな差異を認めることが出来ず，従つて血清の検索では両者の区別は困難と考えられるのである。ここで我々は我我の立場から，Raffel のいう感作に及ぼす菌体 wax の作用を再検討すると共に，そのような感作動物の毒力結核菌感染に対する菌体 wax の作用についても検討した。

I. 卵白アルブミン感作に及ぼす菌体 wax の影響

1. 実験材料及び実験方法

i) 実験材料

使用抗原としての卵白アルブミンは Cole 法[6] で3回再結晶したもので，それの化学的組成は N＝14.4%，P＝0.05%，G (glucose に換算した多糖類) ＝0.85%である。これを感作，血清反応，皮膚反応及び shock 実験の抗原として用いた。wax はBCG wax で，本研究所予防部の高橋教授によつて精製されたもので，Anderson の精製した wax C 及び D の混合したものに相当し，その化学的組成は N＝0.04%，P＝0.08%，G＝1.03% である。

ii) 実験方法

兎25羽を5羽宛5群に分け，卵白アルブミン抗原の量は全群同じで，wax の量を3段階に分けて感作した。各群の感作量は表1のようである。尚 adjuvant として全例に Arlacel 1：Drackeol 9 を抗原液と同量に混じたものを用いた。上記の1回感作量を隔日3回，臀部皮下に注射した。3回目の感作終了後から経過日数を計算して種々の実験を行なつた。尚 V 群は wax だけの注射群で，同時に実験した第 II 実験の対照も兼ねているものである。

表1. 第 I 実験群感作量

群別	ovalbumin (mg)	wax (mg)	adjuvant Arlacel Drackeol 1：9 (mℓ)	saline (mℓ)
I	20	—	1	1
II	20	0.31	1	1
III	20	3.10	1	1
IV	20	31.00	1	1
V	—	31.00	1	1

感作後 10, 20, 30, 40, 56 日目に心採血によつて血清を分離し，沈降反応による抗体価を測定すると同時に皮膚反応をしらべた。沈降反応は 0.02% 卵白アルブミン液を抗原とし，血清倍数稀釈をして重層法でしらべた。皮膚反応は 0.1% 卵白アルブミン溶液を反応原として背部皮内注射により Arthus 現象を惹起させ，6，24，48 時間後に発赤の大きさ，浮腫の強さを測定した。感作後 70 日目に，卵白アルブミン 31 mg/mℓ の溶液 15 mℓ を静脈内注射をして shock 症状の強さを測定した。又 shock 死をしたものは直ちに，死に至らなかつたものは 24 時間後に屠殺して組織学的変化を hematoxylin-eosin 染色で観察した。

2. 実験成績

i) 血清抗体価

抗体価は感染後 10 日目に V 群を除いて，全群8倍以上の高値を示した。各群毎の平均値を出して図1に示した。ここにみられるように，日数の経過と共に抗体価が上昇しているが，この傾向は wax 量の多い IV 群に強

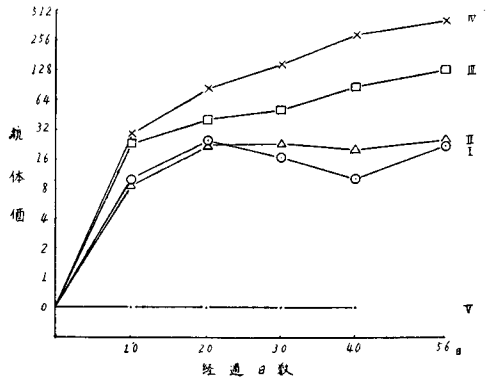

図1. 第Ⅰ実験群抗体価の変動

い。又抗体価の高さも，wax の量に比例して I, II, III, IV 群の順に高くなつている。特に IV 群の W 19 では，56 日目 1,024 倍稀釈陽性を示す程の高値が得られた。V 群の wax だけの対照では全く抗体価の上昇を認めることが出来なかつた。

ii) 皮膚反応

24 時間値をみると，10 日目にすでに相当強い反応が出現した。その発赤平均は 17 mm から 35 mm に達し，大半はその中心に点状出血又は壊死を伴なつていた。図 2 に各群平均の反応の強さを示したが，一般に I, II 群

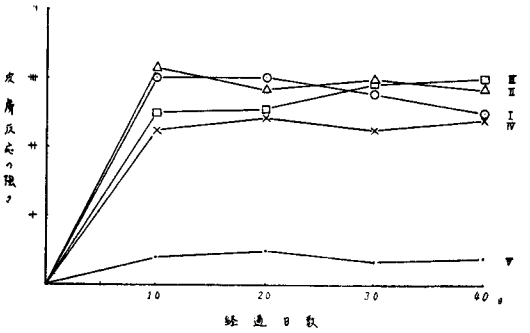

図2. 第Ⅰ実験群皮膚反応性の変動

の，wax がないか或いは少ない群にやや強く，wax 量の多い IV 群では中心出血も小さく，浮腫の程度も弱かつた。又 V 群では，浮腫の伴なわない境界不鮮明なうすい発赤が 24 時間で時にみられた程度であつて，明らかな陽性反応として認めるものがなかつた。次に時間的経過による反応の変動を図 3 にみると，全群共同じような経過で，24 時間が最も強く 48 時間目には低下した。一般に 10 時間値が 48 時間値より高いが，20 日目では 48 時間値の高いこともあつた。又 wax の多少による各群間の差はなく．wax のない I 群でも，全く同様な経過を示した。

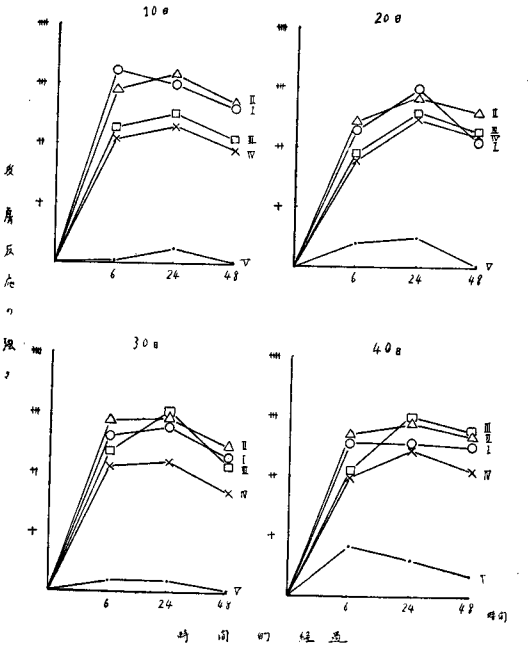

図3. 第Ⅰ実験群皮膚反応の時間的経過

表2. アナフィラキシー・ショックの強さと抗体価 Arthus 現象の強さとの関係

群別	動物番号 (W)	ショック症状	抗体価	Arthus 現象 (24 時間値)
I	1	++++ 死	16	+++
	2	++	16	++
	3	++	16	++
	5	+++	32	++
II	6	++	16	++
	7	+	16	++
	8	+	32	++
	9	++	32	++
	10	+++	16	++
III	11	+++	64	++
	12	++++ 死	64	++
	13	±	128	++
	14	+	256	++
	15	+	128	++
IV	16	++++ 死	512	++
	17	++	128	++
	18	++++ 死	128	++
	19	+++	1,024	+
	20	+	256	++

iii) アナフィラキシーショック実験

I, II, III, IV 群に抗原液を静脈内注射した時のショック症状の強さと，ショック実験前の抗体価及び皮膚反応の強さを表2に示した。注射後，定型的なショック症状を現わして死亡したものは，I 群1例，III 群1例，IV 群1例で，2分30秒後脱力状態で横倒れとなり，3分で痙攣をおこし，次いで大呼吸，時には悲鳴をあげ，4分45秒で瞳孔散大，死に至つた。II 群の W 10 は痙攣をおこしたが，約10分で恢復した。しかし表にみるように，各群間のショック症状の強さに差はなく，同群間では死亡するものもあれば，脱力状態だけを示したものもあつた。又抗体価，皮膚反応の強さとの間に一定の関係が見られなかつた。ショック症状発現の時間は1乃至3分で，症状が発現してから15分以内に恢復する即時型のものであつた。

組織学的所見 (表3)

全群共その根本的な所見は殆んど同じである。II 群以下は特に変つた変化のみを記載する。尚ショック死例と24時間後屠殺例では大差なく，ショック死例の方がむしろ病変が弱かつた。

I 群

肺：滲出炎はあまり強くなく，血管周囲の軽度の細胞浸潤が主である。W 3 では血管周辺に滲出液の貯溜があり，肺胞内にはごく少数の大滲出細胞がみられた。血管攣縮が著明で，血行停止があつて血漿成分が染色され，白血球が血管腔内に増加している。出血はないが全体に軽い充血がある。気管支には軽度の攣縮がみられる。胞隔内には充血と単核細胞の増加があり，軽度の肥厚が認められる。

脾：一般に濾胞の発育は中等度にみられる。W 2, W 3 では濾胞周囲の網状織細胞の増殖が著明である。核崩壊は W 2 によくみられた。洞内に軽度の多形核白血球と単球の浸潤が認められる。

肝：軽度の充血があつて，類洞の拡張している所がみられる。グリソン鞘に円形細胞浸潤があるが，類洞内の細胞浸潤はごく軽微である。W 3 では，所々に出血と多形核白血球の浸潤及び肝細胞の崩壊しているところがある。

II 群

肺：W 7, W 9 は血管周囲に細胞浸潤と出血があり，又 W 10 では肺胞内に広範な滲出液の貯溜がある。W 7 では気管支内に上皮脱落がみとめられた。

脾：W 6, W 8 では芽中心の発達よく，又濾胞周辺の網状織細胞の増殖が著明である。W 9 では核崩壊物を貪喰した細胞が洞内に少数みとめられる。

肝：グリソン鞘内の細胞浸潤はあまり強くない。

III 群

肺：前群に比べて血管周囲の多形核白血球，単球の浸潤の強いものがある。W 13 は肺胞内に単球の出ているのがみられる。W 12 は胞隔に単核細胞が増加して肥厚が著明である。

脾：W 11, W 15 は芽中心の発達よく，濾胞周辺の細胞がよく増殖している。W 12 では洞内に貪喰像が少数みられる。

肝：細胞浸潤は一般にあまり強くない。

IV 群

肺：W 17 では気管支周辺に細胞浸潤がみられる。W 19 では血管周辺に滲出液の貯溜と細胞浸潤がみられる。W 18, W 20 に細胞質が泡沫状の細胞小集団が認められる。

脾：W 16, W 17, W 18 では芽中心の発達よく，又 W 16 は濾胞周辺の細網細胞の増殖がよい。核崩壊はみられない。

肝：細胞浸潤はあまり強くない。

表3. ショック注射後の組織学的所見

群別	肺									脾					肝		
	滲出炎				胞隔肥厚	血管栓塞	充出血	血管攣縮	気管支攣縮	濾胞発育	核崩壊	洞内好中球	洞内単核細胞	洞拡張	細胞浸潤	肝細胞変性	sinusoid 拡張
	浸潤程度	血管周囲	単核大細胞	好中球													
I	+	±	±	++	+	+	+	++	++	++	±	+	+	++	+	+	+
II	+	±	+	+	+	+	+	++	+	++	+	±	+	++	+	±	+
III	+	±	+	++	+	+	++	++	+	++	±	+	++	++	+	±	+
IV	+	−	±	++	+	+	+	+	+	++	±	±	+	+	+	±	++

3. 小　　括

兎を5群に分けて，結晶性卵白アルブミンを，3段階に変量した結核菌体 wax 及び adjuvant と混じて感作し，血清抗体価，皮膚反応をしらべ，更にショック実験をした。血清抗体価は wax のみの対照群を除いて相当高値を示し，特に wax 量の多い IV 群が著明に上昇した。一方皮膚反応は，各群共同程度の強さを示したが，IV 群が一番弱い反応を現わした。又ショック実験ではその症状の強さは各群間に差がなく，I, II, IV 群にショック死例が認められた。又ショック症状発現の時間も wax 量とは関係がなかつた。組織学的には全群に同様なショック病変が認められた。

II. 結核菌体蛋白感作における wax の影響

1. 実験材料及び実験方法

i) 実験材料

抗原として結核菌体蛋白総量 320 mg (化学的組成 N=11.5%, G=2.0%) とツベルクリン蛋白 293 mg (N=9.5% P=0.12%, G=1.81%) を混合して用いた。(以下結核菌蛋白と略) このうち結核菌体蛋白は，本研究所予防部高橋教授の精製したものである。wax は第 I 実験に用いたものと同じものである。

ii) 感作方法

兎30羽を6群に分け，第 I 実験よりの通し番号で群別した。V 群は前実験と共通の wax だけの対照であり，X 群は challenge 実験の為の対照であつて蛋白感作を行なわないものである。感作量は表4に示した。以上の量を第 I 実験と同様に adjuvant と混じて隔日3回皮下注射により感作した。

感作後 10, 20, 30, 40 日後に心採血により血清を分離して，0.01% ツベルクリン蛋白に対する沈降反応重層法による抗体価をしらべ，同時に同じ抗原に対する皮膚反応を 6, 24, 48 時間判定でしらべた。

表4. 第 II 実験群感作量

群別	tuberculo-protein (mg)	wax (mg)	adjuvant Arlacel Drackeol 1:9 (mℓ)	saline (mℓ)
V	—	31.00	1	1
VI	10.2	31.00	1	1
VII	10.2	3.10	1	1
VIII	10.2	0.31	1	1
IX	10.2	—	1	1

感作後 46 日目に毒力結核菌三輪株 1 mg を耳静脈内に注射した。そのあと 3, 10, 20 日目に採血して同時に抗体価をしらべ，さらに皮膚反応性を時間的経過によつてしらべた。尚3日後に1群2羽ずつ，20 日後には残り全兎を屠殺して組織所見を観察した。

2. 実験成績

i) 血清抗体価

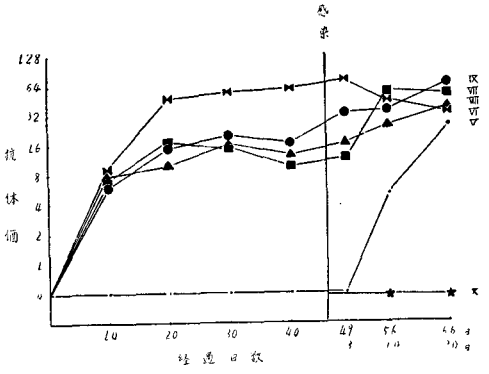

図4. 第 II 実験群感作及び感染後の抗体価の変動

抗体価は，V 群を除いて VI, VII, VIII, IX 群共10日後から明らかに認められ，漸次高くなつている。特に wax 量の多い VI 群は著明に増加しており，40 日目には他群の約4倍の高さに達した。V 群では抗体価の上昇が全然みとめられなかつた。46 日目の challenge 後は，高値を示していた VI 群では 10, 20 日後にはやや低下したが，VII, VIII, IX 群では上昇を示し，20 日目には VI 群と同じかむしろ高い値を示した。一方，結核菌感染だけの X 群では 20 日後も抗体を証明出来なかつたが，wax 対照であつた V 群は 10 日後，20 日後に急激な上昇をみせ，20 日後には他群と殆んど同じ値に達した。

ii) 皮膚反応

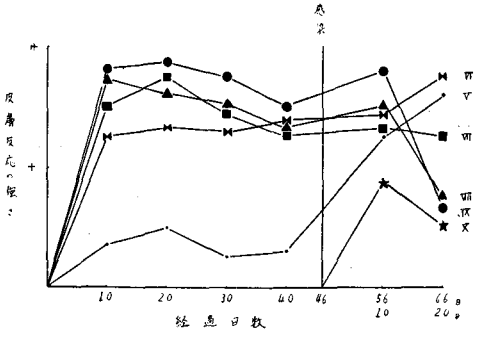

図5. 第 II 実験群皮膚反応性の変動

各群24時間の平均値を図5に示した。これによると，各群間に著明な差がないが，40日目迄は wax を接種していない IX 群が一番強く，wax 量の多い VI 群が一番弱かつた。 challenge 後は10日後にやや上昇を示したが，20日目には殆んどの群が低下し，V 群と VI 群だけが僅かに上昇を示した。

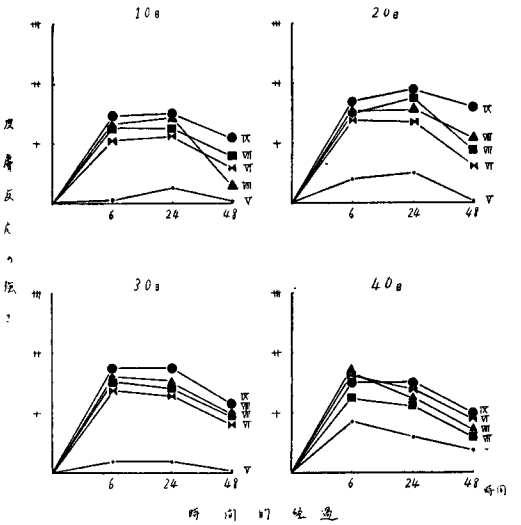

図6. 第 II 実験群皮膚反応の時間的経過

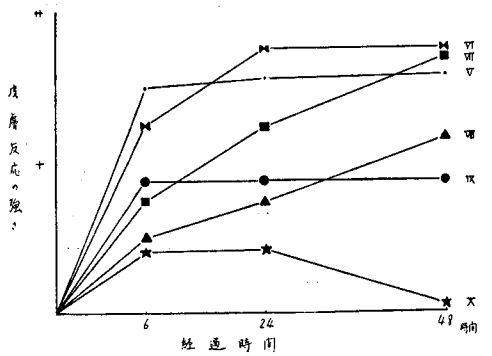

図7. 第 II 実験群皮膚反応の時間的経過
感染後 20日目

時間的経過をみると，図6にみられるように，感作後40日目迄は全群共 wax を接種しない IX 群と同じ経過で，6時間，24時間後の反応が強い即時型の反応であつた。challenge 後は10日後ではまだ即時型に近いが，20日後になると24時間から48時間にむしろ増強する定型的な遅延型の反応を示した。X 群の感染対照は反応が非常に弱く，48時間で消失した。

iii) 免疫実験

Challenge 後の血清抗体価及び皮膚反応の強さは前述したが，20日後屠殺時の各群平均の肺脾の定量的な総菌数を図8に示した。肺では $10^{4.5}$～10^{6} の間に，脾では $10^{5.4}$～$10^{6.6}$ の間に総菌数がみとめられた。肺では対照の X 群が一番少ない値であつて， wax 感作のない IX 群が最も多かつた。脾では VII 群が一番少なく，VIII 群が一番多いが，対照 X 群でもかなり高値であつた。両臓器とも wax 感作量とは全く関係がみとめられなかつた。

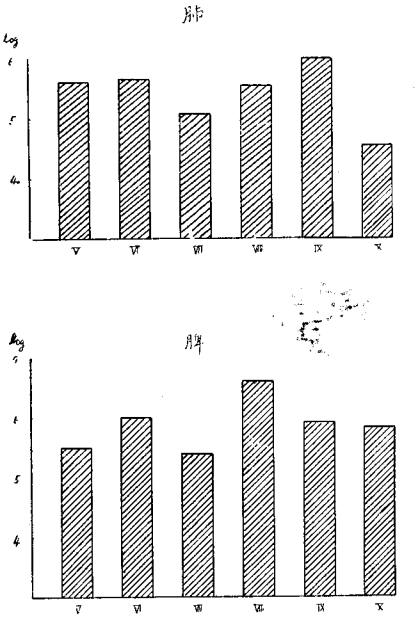

図8. 第 II 実験群肺脾の総菌数
(各群平均)

組織学的所見

3日目所見

V 群

肺：気管支及び血管周囲に広範に滲出液があり，その中に多形核白血球及び単球の浸潤がみられる。 W 21 の例では大単核細胞が気管支周囲の肺胞内に滲出しているのが認められる。又血管は鬱縮し，中に単球，多形核白血球などがつまつている。気管支では上皮が脱落して内腔をふさいでいるものがある。又一部に出血が認められる。胞隔には単球の小集団があり肥厚している。

脾：類上皮細胞小結節が多数脾髄及び濾胞内に形成されており，充血が著明である。

肝：類洞に細胞が増加していて小，単核細胞の小集団が多数みとめられる。

VI 群

肺：前群と同じような所見であるが，滲出液は少ない。気管支上皮は脱落して，周辺には類上皮細胞小結節が少

表5. 毒力結核菌感染後の組織学的所見

感染後(日)	屠殺日数 群別	肺 病変程度	肺 結核結節	肺 滲出炎	肺 繁殖炎	肺 乾酪化	肺 胞隔肥厚	肺 血管病変	肺 気管支病変	脾 病変程度	脾 結核結節	脾 乾酪化	脾 濾胞発育	脾 反応性病変	肝 病変程度	肝 結核結節	肝 乾酪化	肝 細胞浸潤	肝 星細胞活性化
3	V	++	±	++	+	−	+	++	++	+	+	−	++	+	+	+	−	±	+
	VI	++	±	+	±	−	+	+	+	++	++	−	++	++	+	+	−	±	+
	VII	+	+	+	±	−	++	+	±	+++	++	−	+	++	+	+	−	+	+
	VIII	++	+	+	±	−	++	±	+	++	++	−	++	+	+	+	−	+	+
	IX	+	±	+	±	−	+	+	±	++	++	−	+	++	++	+	−	+	±
	X	+	±	±	±	−	+	+	±	+	±	−	++	++	±	±	−	+	±
20	V	+++	+++	++	+++	+	+++	+	+	+++	+++	−	+	±	+++	+++	−	++	±
	VI	+++	++	++	+++	−	++	++	+	+++	+++	−	++	+	+++	+++	−	++	+
	VII	+++	++	+	+++	±	++	++	++	+++	+++	−	++	++	+++	+++	−	++	±
	VIII	+++	+	+	+++	−	++	++	++	+++	+++	−	+	±	+++	+++	−	+	±
	IX	+++	++	++	+++	+	++	++	+	+++	+++	−	±	±	+++	+++	−	++	±
	X	++	+	±	++	−	+++	+	+	+++	++	−	++	+	+++	+++	−	++	+

しみられる。動脈内腔には多形核白血球がつまつており内膜内にも多形核白血球の浸潤している所がみられる。W 30 は全般的に弱い病変である。

脾：無数の小結節が出来ており，濾胞周辺の細網細胞の増殖が著明である。W 30 では単核大細胞が洞内に繁殖炎様に増殖している。

肝：前群と同様な所見で，星細胞の貪喰像がみられる。W 30 は結核結節少なく，病変が軽い。

VII 群

肺：W 31 では単核細胞の小集団が数ヵ所あり，血管内に壁在性の血栓形成がみられる。W 33 では胞隔肥厚が強いが滲出炎は弱い。気管支周囲のリンパ節は結核結節形成がみられる。

脾：洞内に大単核細胞が滲出液と共につまつている所が多数みられる。濾胞は萎縮性で，反応性の細網細胞増殖が強い。

肝：小単核細胞小結節が類洞に少量みられる。W 33 ではグリソン鞘に細胞浸潤が強い。

VIII 群

肺：血管の壁在性に多形核白血球，単球が増加している。血管周囲には多形核白血球が多数浸潤している。類上皮細胞小結節が多数形成されており，繁殖炎像を呈したり，それが結核結節に移行している像がある。胞隔肥厚が著明である。

脾：無数の小結節形成があり，又洞内大単核細胞が滲出しているのがみられる。W 37 では芽中心の発達がよい。

肝：類洞内に小結節が多数みられる。

IX 群

肺：一部に滲出液がみられ，血管周囲にリンパ球と単球の浸潤の強い所がある。血管の壁在性に細胞が増加している。

脾：結核結節はやや大きく多数みられる。

肝：一部に出血があつて，肝細胞索がばらばらになつている所がある。単核細胞小結節多数で類洞内の細胞も増加している。

X 群

肺：単球の小集団が少しみられる。血管の壁在性に細胞が増加しており，周辺に多形核白血球と単球の浸潤がみられる。血管内に単核細胞が増殖している所もある。前群に比べて滲出液の貯溜なく，結節形成が弱い。

脾：単核細胞の小集団が散在しており，脾髄細胞の中等度の増生がみられる。濾胞の発育が割合よく，カタル性洞炎の像がみられる。

肝：ごく小さな細胞集団が類洞に少しあり，むしろ類洞内の細胞が増加しているという所見を呈している。グリソン鞘に細胞浸潤があり，一部の中心静脈周囲に出血がみられる。

20日目所見

V 群

肺：肺全体の肺胞内に大型単核細胞が一様に増殖している。即ち繁殖炎の像を呈し，多数の類上皮細胞結節が

あり，滲出液がその間にかなり出ている。血管周囲には多形核白血球，単球の浸潤がある。又静脈の内腔が大単核細胞でびつしりつまつている所がある。気管支上皮脱落が軽度にみられる。結核結節の中心に多形核白血球が集つている所がみられる。W 25 ではやや増殖炎の傾向強く，大きな結核結節の中心は乾酪化しており，巨細胞形成もみられる。滲出液も少ない。

脾：小さな結核結節が無数に出来ていてお互に融合しているが乾酪化はみられない。濾胞はごく僅か残つている。又洞内に大単核細胞が増殖していて繁殖炎の観を呈している所がある。

肝：大小無数の結核結節が類洞，グリソン鞘何れにもあり，W 25 では肝細胞が島嶼状に残つている。細胞浸潤は少ない。

VI 群

肺：血管内に円形細胞がつまつていたり，壁在性に細胞が増加している。血管及び気管支周囲には多形核白血球及び単球の浸潤があり，気管支腔は脱落上皮で充たされているものがある。肺胞内には大円形細胞の増殖した繁殖炎像を呈し，結節形成もあり，中心に多形核白血球の集つている所もある。W 27 では滲出液が多量に出ている。

脾：拡張した洞内に多形核白血球，単球が滲出している。大小の結核結節が，特に濾胞に一致しては大きい結節が多数みられる。結節間脾髄には瀰漫性にリンパ球が増加している。

肝：多数の結核結節があり，中心静脈に単核細胞が充満している所もみられる。類洞が拡がつて肝細胞索がばらばらになつている所がある。巨細胞もみられる。

VII 群

肺：W 32 は一般に病変弱く小さな結節が散在している。滲出液の出ている所や，出血の部が小範囲にみられる。静脈の周囲から結節が形成されている所がみられる。W 35 では中心乾酪化した結節が認められる。気管支が類上皮細胞でうずまつている所がある。

脾：小さな結核結節多数で，洞内に大単核細胞が増殖しているのがみられる。濾胞は非常に萎縮性である。

肝：小さな結核結節多数で，W 34 では肝細胞が島嶼状に残つた感がある。類洞は拡張して小円形細胞が瀰漫性に浸潤している。グリソン鞘に細胞浸潤が強い。

VIII 群

肺：一般に繁殖炎像が強く一部に滲出液が出ている。結節形成は比較的少ない。血管に単核細胞のつまつている所があり，又気管支が周囲の結節に圧しつぶされているのがみられる。瀰漫性にリンパ球がふえている。

脾：結核結節多数である。それと共に洞内に大単核細胞，単球が充満している所がある。

肝：肝細胞索の中に類上皮細胞が入りこんでいつた観を呈し，類洞内にも細胞が増加している。W 38 では巨細胞を作る傾向が強い。W 40 では肝細胞が大半変性している。

IX 群

肺：繁殖炎の所が多く，結核結節の中心が出血したり，或いは乾酪化ししたものがある。気管支内には分泌物がつまつている。又滲出液の貯溜もみられる。

脾：全体に無数の結節成分に変つており，濾胞の発育が悪い。

肝：結核結節多数で肝細胞索は寸断されている。類洞内に瀰漫性にリンパ球，単球が増加している。W 42 では偽胆管の形成が強い。

X 群

肺：全体的に病変が軽い。結核結節が少数あり，胞隔肥厚の程度が強い。血管内に小内形細胞のつまつている所がある。

脾：洞内に漿液成分，円形細胞の増量が著明で，結核結節は小さいのが多数あり，瀰漫性にリンパ球，単球，少数の多形核白血球が浸潤している。

肝：結核結節と，瀰漫性の円形細胞浸潤及び出血で，肝細胞索がばらばらになつている。

3. 小　　括

前実験につづき，V, VI, VII, VIII, IX 群の兎に結核菌蛋白及び各量の wax を adjuvant と混じて感作し，10 日毎に血清抗体価，皮膚反応をしらべ，46 日後に毒力結核菌三輪株を challenge して免疫力をしらべた。抗体価は wax 量の多い VI 群に高く，challenge によつて全群同程度の高値を示した。特に wax だけで感作した V 群では急激な抗体価上昇があつて，challenge 20 日後には他群と同じ値に達した。皮膚反応は感作 40 日目までは wax 量に関係なく，即時型の反応であるが，challenge 20 日後に定型的な遅延型の反応になつた。抗体価は，challenge 実験の対照 X 群では全然証明出来ず，皮膚反応も軽度であつた。

Challenge 後の 20 日目屠殺の肺，脾の菌量は，各群間に感作の有無及び wax 量と一定の関係がみられなかつた。組織学的には全群共 20 日目には広範におかされており，蛋白感作又は wax 感作による病変の軽減はなく，むしろ蛋白感作により悪化の傾向がみられるようであつた。

総括及び考按

以上の成績から，waxの作用が種々の方面に現われているのが認められるが，特に抗体価に及ぼす影響が大きいようである。即ち図1，4にみられたようにwaxが多い群程抗体価が高い。殊にアルブミン感作でwax量に比例して抗体価が高い事はwaxの作用によるものと思われる。しかし感作後10日目に既に全群が高値を示していることから，waxばかりでなくadjuvantの仂きも大きい力となつていると思われる。というのは，抗体価に関してはwaxはadjuvantの作用を増強したと考えてもよい。Freund et al.[7]，Fisher et al.[8]がFreund adjuvantから結核菌を除くとその効力が大いに減少するといつているが，これは結核菌体内のwaxには大きなadjuvantとしての力があることを物語つていると思われるのである。又Raffelの実験でも，wax使用群の抗体価が未使用群より高いものが多くみられているが，我々の成績と同様waxのadjuvant的作用の現われと思われる。ここで面白いのは結核菌感染時の抗体価の動きである。未感作群の感染では20日後まで抗体価の上昇はみられなかつたのに反し，waxだけ注射したV群では，感染後10日，20日と急激に抗体価の上昇をしていることである。これは明らかにwax前処置の故であると思われる。その機構として最も考えられることは，waxの中に含まれている少量の蛋白質によつて潜在性に感作されていたということであるが，実験材料で述べたようにwaxのN量は0.04%というごく少量の混入をみるのみである。しかし総量にすれば37 γ のNに相当し，感作原となりうる事が大いに考えられる所である。一方Suter et al.[9]，Pound[10]はwax注射により網内系細胞の過形成がおこると述べているが，この両者が相まつて，後に感作に充分な抗原が入つた時に，早期にしかも高度に反応する原因となつたのであろう。

次に皮膚反応についてみると，24時間値での比較であるが，wax量と反応の強さの間には特別な関連性は認められず，waxの多い方がむしろ弱い様である。これを前述の抗体価の変動と組合わせてみると興味のある結果が出てくる。図9にみられるように，各個体の沈降価と皮膚反応の強さを比較してみると，両者は必ずしも一致していない。特にwax量の多い群では抗体価が非常に高いにもかかわらず，皮膚反応はwaxを注射しないI，IX群よりむしろ弱い位である。これを図10のようにに抗体価を横軸に，皮膚反応の強さを縦軸にとつて図表を描くと更に明瞭となる。即ち抗体価が低い所から16乃至64倍陽性位迄は両者が平行しているが，それ以上の抗体価になるとむしろ反応は減弱してくる様に思われる。Pound[10]のいうwax使用による抗体価及び皮膚反応両者の上昇は，この中等度の抗体価域までにおいては真実である。この両者の平行についてはCulbertson[11]，緒方[12]等古くからいわれていることであるが，抗体価が非常に高い所での両者の解離についての説明は慎重を要すると思われる。数年前著者等の1人奥山[13]は，被仂感作法によつて抗体価と皮膚反応の間の関係を追求し，抗体量と抗原量の相互関係が反応の強さに大きく影響するこ

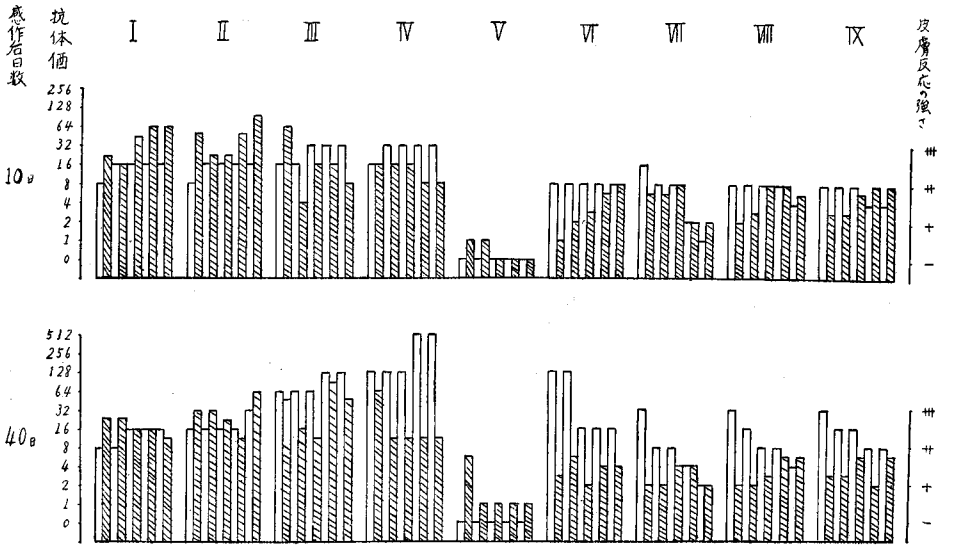

図9. 抗体価と皮膚反応

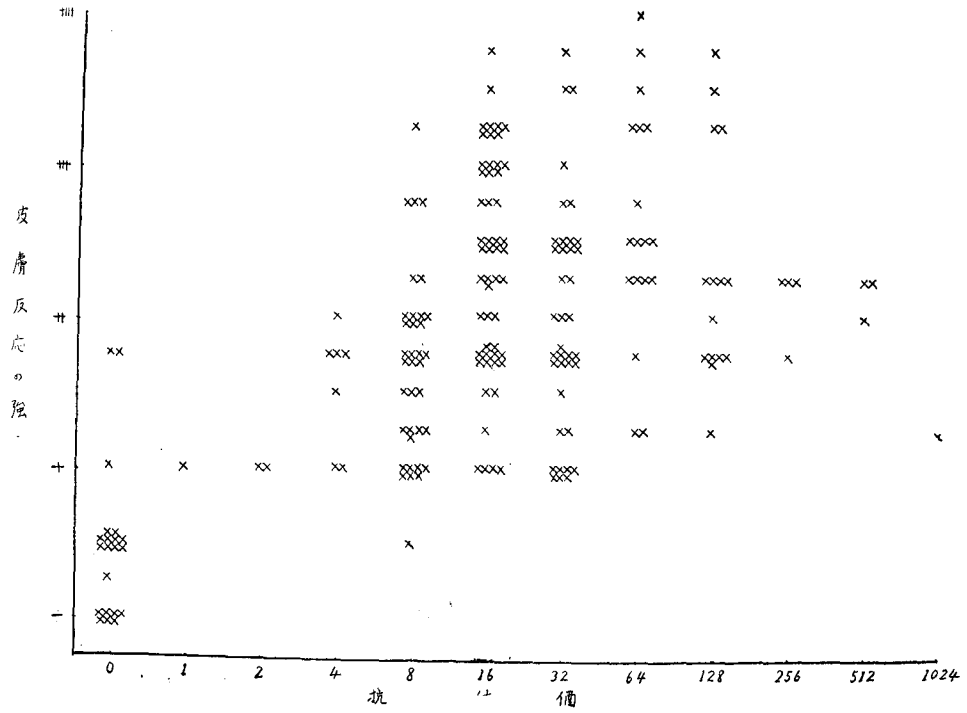

図10. 抗体価と皮膚反応の関係

とを述べ，抗原量に比し抗体量の多い時には反応が弱くなることを報告し，それについて模型図を書いて説明したが，今回の成績もこの説で説明出来ると思う。しかし最近われわれ[14,15]が報告しているように，血清内の皮膚反応性抗体と沈降素とは，血清蛋白分屑内で同一の分布を示していない。従つて厳密には皮膚反応の強さと抗体価の動きを，直接結びつけて議論することは出来ないが，同一抗原で両者の抗体が同時に，同程度に産生されるとすると，前述の奥山の考えを発展して説明しうると思う。従つてここにおける wax の役割は特異的な作用ではなくて，抗体価をより高くする様に作用しただけと思われる。

次に最も問題となるのは，本来即時型の反応をおこす卵白アルブミン又は結核菌体蛋白を wax と混じて感作すると遅延型の反応をおこしうるかどうかという点である。即時型と遅延型の両者をその頂点に達する時間的差によつて分けようとするのであるが，兎においては一般に反応極期が後期にずれるし[16]，又反応の強さによつても一様ではない[17]。従つて我々は，wax を混ぜない蛋白感作だけの群を対照として必ず同時に比較を行なつている。図3，図6にみられるように，wax 混入群と wax のない対照群との間に一見して差のないのがわかる。反応の頂点は6又は24時間であつて，特に結核菌蛋白感作の方が，24及び48時間に低下の傾向を示している。卵白アルブミン感作群では24時間極期が多く，48時間で僅かにしか減弱しないことがある。これは反応が強いということに起因するのであろう。出血又は壊死をおこす様な反応では，特に数的に表現する場合に反応減弱度が少ない。この事が見かけ上遅延型に近いように思わせるが，事実は wax を混入しない対照群との間に全然差異が認められないのである。我々が今回見た反応は，すべて蛋白抗原だけの感作によつておこる反応と同じ即時型反応であるといいたい。結核菌感染後20日目にみられた反応は24時間又は48時間が最高，48時間で上つてさえいるのが多いことからも，兎の場合の遅延型反応は24時間と48時間の間の，反応の推移で定めなければいけないと思う。

卵白アルブミン感作群で70日後にショック実験をしたが，wax の量に関係なく各群平等にショック死例がみられている。しかもその時間は数分で死亡するという定型的な即時型の症状である。24時間後の屠殺例所見にも各群間には差がみられていない。従つてショック実験においては wax の作用は全くみられないといえる。

結核菌蛋白感作群における毒力菌感染による免疫実験

の成績は，一言にしていえば免疫力が認められないといえる。肺，脾の総菌数にしても，組織学的所見にしても，前処置のない対照 X 群に軽い病変がみられている。challenge 後 3 日目，20 日目共に同じ様な傾向であつて，前処置をした V 乃至 IX 群では何れも同程度の繁殖炎像，滲出現象がみられ，血管内の血栓形成等高度にみられる。又結核結節の形成も 3 日後既に僅かであるが認められており，20 日目でも対照 X 群よりかなり多くみられる。この高度の滲出炎や結節形成は，蛋白感作によつて出来た抗体と challenge 菌体蛋白との間のアレルギー反応が大いに関係していると思われる。wax のみの感作群でも他群と同程度の反応がみられているが，感染後抗体価の上昇が早く，著明であつた事から，同じように考えてもよいであろう。近時結核の免疫ということについて疑問がもたれているが，少なくとも菌体蛋白には免疫原性がないということは確実である。又菌体蛋白に wax を混じて感作しても，免疫力を附与しないといわれる[18,19]。Seibert et al.[20,21] や Rich[22] は感作因子と免疫因子の平衡状態が，感染の時に大きな影響を与えるといつているが，今回の我々の実験は免疫となる因子が殆んどなくて，感作のみが成立していた所に challenge したのであるから，その病変は対照群に比し高度であるということがうなづけるであろう。

さて，振返つて wax の遅延型反応惹起における効果をみると，我々の実験では全くその力がなかつたと結論出来る。数年前我々の教室の佐々木等[23]が，卵白アルブミン感作に粗蠟を混じて実験し，wax には adjuvant としての作用しか認めなかつたことを報告しているが，今回の我々の実験でも，wax は優秀な adjuvant 作用を有するものであることを証明した結果となつた。

近年，異なつた角度から遅延型反応と即時型反応の関係についていろいろ研究がなされている。遅延型反応は血中抗体の産生されない前の，即ち Arthus 型反応の出現する前の経過であつて不完全な免疫状態であるという説[24,25]や，更に蛋白に化学物質を結合させて感作し，又は antigen-antibody complex で感作することによつて遅延型反応と即時型反応を分離することが出来るという報告[27,28,29]がみられる。現在では両反応の本質的な差は，血清抗体と細胞鈎着性抗体という点で大まかに分けていた従来の考えを，抗原性状或いは抗体分子そのものの差にまで発展させて考えなければならない段階に至つている。我々は今後この方面に更に研究を進展していきたいと思つている。

結　　論

結核菌体 wax 量を 3 段階に分けて，卵白アルブミン又は結核菌体蛋白の一定量と，Arlacel 及び Drackeol の adjuvant とをそれぞれ混合して兎を感作した。その後 10 日毎に採血して血清抗体価をしらべ，同時に皮膚反応を行なつた。感作後 70 日目に，卵白アルブミン感作群では抗原の静脈内注射でショック実験を行なつた。結核菌蛋白感作群では，46 日目に毒力結核菌を感染させて免疫力をしらべて，次の様な結果を得た。

1. 抗体価は wax 量の多い程高値を示した。又，感染後，未感作対照に比し wax だけで前処置した群に急激な抗体価の上昇がみられた。

2. 皮膚反応の強さは，抗体価の高さと或る程度迄平行して増強するが，抗体価が非常に高くなると低下の傾向がみられた。従つて wax 群では抗体価の上昇に皮膚反応の強さが必ずしも平行せず，wax 量の多い群の方がむしろ反応が弱かつた。

3. 皮膚反応の時間的経過は，wax 混合の有無に関係なく即時型の反応であつた。

4. 卵白アルブミン感作群のショック実験では，wax 量に関係なく即時型のショック症状を示した。

5. 結核菌感染実験では，結核菌蛋白感作及び wax 注射による免疫は認められなかつた。病変は感作群に一様に強い滲出反応及び早期結節形成がみられた。

6. 以上の成績から，菌体 wax は adjuvant としての効果のみを現わしたと思われる。

文　　献

1) Raffel, S.: J. Infect. Dis., **82**, 267 (1948).
2) Raffel, S. & Farney, J. E.: J. Exp. Med., **88**, 485 (1948).
3) Raffel, S., Arnaud, L. E., Dukes, D. C. & Huang, J. S.: J. Exp. Med., **90**, 53 (1949).
4) Raffel, S.: Experientia, **6**, 410 (1950).
5) Asselineau, J. & Lederer, E.: Experientia, **7**, 281 (1951).
6) 緒方富雄：血清学実験法，南山堂 (昭 22).
7) Freund, J. & McDermott, K.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **49**, 548 (1942).
8) Fischer, E. E., Kabat, E. A., Stoerk, H. C. & Beger, A. E.: J. Immunol., **69**, 611 (1952).
9) Suter, E. & White, R. G.: Amer. Rev. Tuberc., **70**, 793 (1954).
10) Pound, A. W.: J. path. & Bact., **75**, 55 (1958).
11) Culbertson, J. T.: J. Immunol. **29**, 29 (1953).
12) 緒方富雄：血清学の領域から，河出書房，東京

(1945).
13) 奥山春枝： 札幌医学雑誌, **8**, 202 (1955).
14) 萩原昭男： 結核の研究, **9**, 76 (1958).
15) 萩原昭男： 結核の研究, **11**, 96 (1959).
16) Zinsser, H.: J. Exp. Med., **34**, 495 (1921).
17) 小野江為則： アレルギー, **2**, 57 (1954).
18) Raffel, S.: Amer. Rev. Tuberc., **54**, 564 (1946).
19) Seibert, F. B.: J. Immunol., **65**, 297 (1950).
20) Seibert, F. B.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **30**, 1274 (1933).
21) Seibert, F. B., Miller, E. E., Buseman, U., Seibert, M. V., Soto-Fiqueroa, E. & Fry, L.: Amer. Rev. Tuberc., **73**, 547 (1956).
22) Rich, A. R.: The Pathogenesis of Tuberculosis. Charles C. Thomas (1944).
23) 佐々木卓・伊藤幹夫・高木重敏・小杉秀之進： 結核の研究, **5**, 68 (1956).
24) Gell, P.G. H. & Hinde, I. T.: Int. Arch. Allergy, **5**, 23 (1954).
25) 大原達： 日本医学の 1959 年, III, 451 (1959).
26) Salvin, S. B.: J. Exp. Med., **107**, 109 (1958).
27) Uhr, J. W., Salvin, S. B. & Pappenheimer, A. M: J. Exp. Med., **105**, 11 (1957).
28) Benacerraf, B. & Gell, P.G. H.: Immunology, **2**, 53; **2**, 64 (1959).
29) Salvin, S. B. & Smith, R. F.: J. Exp. Med., **111**, 465 (1960).