



Title	結核蛋白静注による一過性脱感作について
Author(s)	西谷, 暹; NISHIYA, Susumu
Description	
Citation	結核の研究, 19, 24-35
Issue Date	1963
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26740
Type	departmental bulletin paper
File Information	19_P24-35.pdf



結核蛋白静注による一過性脱感作について

西 谷 暹

(北海道大学医学部第一内科 主任 山田豊治教授)
(北海道大学結核研究所予防部 主任 高橋義夫教授)

(昭和34年12月20日受付)

緒 言

結核アレルギー解明の手段として従来から多くの脱感作実験が行なわれてきた。脱感作に使用される抗原としては、結核死菌、旧ツベルクリン(以下OTと略す)、BCG等があり、更に最近では菌体やOTの蛋白画分なども使われ、皮下乃至静脈内に1回又は頻回注射されている。脱感作において主役を演ずるものが結核蛋白であることは、Rich¹⁾以来ほぼ定説となっているが、蛋白画分の抽出法によっても脱感作の程度が可成り異なることが知られている。脱感作という皮膚アレルギーを抑制した状態におくと、血中抗体、補体、血清蛋白が何らかの影響をうけるとする説、全く影響がないという説があり、又結核感染動物を脱感作することによって、内臓やリンパ腺の病変が改善されるとするもの、或いはむしろ増悪するものがあるし、又免疫実験でも脱感作操作によって免疫力が増強されるというもの、否とするもの等、得られた成績は報告者によって様々である。

有馬²⁾等はさきに、結核菌皮下感染後現われるべきツ・アレルギーが、感染と同時に比較的大量のBCGを静注することによって、著明に抑制されること、そして静注する物質がツ・アレルギー賦与能を有するものであるならば、結核死菌或いは菌体残渣でも同じ効果をもつことを明らかにし、かかるツ・アレルギー発来の一過性脱感作を一種の持続的脱感作に基づくものと考えた。そこで著者は先ず結核菌体及びツ由来の蛋白画分の静注実験を行なったところ、そのツ・アレルギー一過性脱感作効果は余り明らかでないが、しかし既に感作された動物に蛋白画分を静注すると速かにツ反応が陰性になることを見出した。前に述べたように、従来の脱感作実験の大部分がOT又は死菌体の頻回皮下注射であり、静注を行なった例は少ない。この中、Corper³⁾等は生菌を頻回静注して脱感作は明白には現われなかったと報じている。そこで本実験では、主として結核菌体及びツの蛋白画分の静注による脱感作という点に焦点を合せ、抗原の量的検討、脱感作の持続時間、又脱感作時の各種血中抗体、補体及び血清蛋白の

変動についてしらべ、更に実験的結核症が蛋白静注によって持続的にhypoergyの状態におかれた場合、いかなる経過を示すかを追究した。

実験材料及び実験方法

1. 動物：体重500g乃至700gの白色モルモット及び体重2kg程度の白色家兔。
2. 感作：ヒト型毒力菌仲野株の加熱死菌10mgに等量のAdjuvant (Arlacel : Drakeol 1 : 9) を混じ皮下に接種した。
3. 結核抗原の静脈内接種：結核抗原として使用した結核蛋白及び多糖体の抽出法ならびに組成の大要は次の通りである。

BR-2：菌体蛋白。BCGをアセトンで殺菌し、20%のウレアで抽出、3塩化醋酸で沈澱させ、その沈澱を90%フェノールで抽出した上清を、メタノールで沈澱させたもの。

TR-3：ツベルクリン蛋白。BCGツベルクリンを濃縮し、塩酸を加えてpH 4.2とし、更にメタノールを42%の割合に加えて沈澱させ、その沈澱を90%のフェノールで抽出し、抽出物に再びメタノールを加えて沈澱させたもの。

TR-1b：ツベルクリン蛋白。H₃₇Rvのソートン培養濾液をTR-3と同様の処理によって抽出したもの。

TR-2：ツベルクリン蛋白。H₃₇Rvのソートン培養濾液を濃縮、遠沈して上清を塩酸でpH 4.2として生じた沈澱を除去し、上清を更に塩酸でpH 2.2として沈澱を得、これを苛性ソーダで溶解、再び塩酸でpH 2.2として沈澱させ、その上清について更に溶解沈澱を3回繰返し精製したもの。

BS-1：菌体多糖体。H₃₇Rvのソートン培養をウレアで抽出、上清を透析の上、10%の3塩化醋酸pH 4.2で沈澱させ上清をザイツ濾過し、濃縮した上メタノールで沈澱、乾燥したもの。尚濾過、沈澱、乾燥を繰返し精製した。

TS-1：ツベルクリン多糖体。H₃₇Rv培養濾液から、

TR-2 を除去した残りのツベルクリン上清に、35% の割合にメタノールを加えて沈澱させ、水を加えて溶解してから再び30% の割合にメタノールを加え、生じた沈澱をアセトンで洗滌したもの。尚水とメタノールで溶解沈澱を繰返して精製した。

TS-2: ツベルクリン多糖体。TR-2 及び TS-1 をとった残りの上清に更にメタノールを80% の割合に加えて沈澱させたもの。同じく溶解沈澱を繰返し精製した。

TS-4: ツベルクリン多糖体。上記の TR-3 をとった上清から、メタノールで沈澱を分離し、Sevag 法を繰返して除蛋白したもの。

尚各画分の組成は表1に示した。

表1 北大結研抽出の結核蛋白及び多糖体の組成

	Glucose (Anthrone 法) (%)	N (%)	P (%)
BR-2	21	12.2	0.32
TR-3	10	12.9	—
TR-1b	1.8	13.3	0.17
TR-2	6.0	12.3	—
BS-1	96	0.1 以下	—
TS-1	107	0.1 以下	—
TS-2	40	0.3	—
TS-4	42	0.56	0.13

以上はいずれも北大結研高橋教授により抽出されたものである。

PPD-s: ツベルクリン蛋白。国立予研製

ツ活性ポリペプチッド: 九大山村教授から贈与されたものである。

以上の各結核抗原を家兎には耳静脈より、又モルモットには後肢静脈又は耳静脈より1回又は頻回注射した。

4. ツ反検査: 多くの場合結核感動物に結核抗原を静注してから1時間後に100倍 OT 0.1 ml を皮内注射し、24時間後の発赤の縦横径を測り、その算術平均値をもって反応の強さを表わした。又 OT 以外の結核蛋白を用いた皮内反応でも方法は OT に準じ、且つ OT と等力価になるように注射量を定めた。

5. 血中抗体、補体、血清蛋白分屑の測定

a) 赤血球凝集反応

多糖体抗体の測定は抗原としてツ多糖体 TS-2 を用い Middlebrook-Dubos 法⁴⁾ によって、又蛋白抗体はツ蛋白 PPD-s を用い Boyden 法⁵⁾ によって、更に磷脂質抗体は菌体磷脂質 Pd-n⁶⁾ を用い、高橋法⁷⁾ によって行なった。

b) 溶血反応

上記ツ多糖体 TS-2 を抗原として赤血球凝集反応を行なった後、その完結をまって血清稀釈列について補体4単位を加え、氷庫(4°C)に30分静置した後、37°C 30分 incubate してから溶血価をしらべた。

c) 沈降反応

抗原は同じくツ多糖体 TS-2 を用い重層法によった。

d) 補体

補体価の測定は諸方法⁸⁾ によった。

e) 血清蛋白量及び蛋白分屑

血清蛋白量は日立製屈折蛋白計により測定、蛋白分屑は濾紙電気泳動法によった。装置としては小林式(SA型)を使用、緩衝液は Veronal buffer (pH 8.6, $\mu=0.05$) で0.25 mA/cm, 7時間通電、濾紙は乾燥後 Brom phenol blue で染色、光度計によって吸収度を測定し、これから得た定量曲線から Planimeter によって各分屑の占める面積を求め、百分率で表現した。

尚以上は、補体価の測定に感作モルモットの血清を用いた他は、いずれも感作家兎の血清を使って実施した。

実験例

実験1 結核蛋白のツ反応に及ぼす影響

モルモット42頭を7群に分け、全動物の右下腹部皮下にヒト型毒力菌仲野株 1/500 mg (0.25 ml) を注射し、第 I~III 群には感染直後から結核蛋白 BR-2, TR-3, TR-1b をそれぞれ 20 r (0.25 ml) を隔日に左右の腋窩に交互に皮下注射し、第 IV~VI 群には感染直後に同じ結核蛋白3種をそれぞれ 2 mg (0.5 ml) を後肢静脈内に注射した。第 VII 群は対照として感染以外何等の処置もしなかった。実験開始後毎週体重を測定し、第2及び第3週にツ反検査を行なった。第7週に各群の半数にそれぞれの蛋白を静注し同じくツ反を測定した。

最後に全動物を屠殺して剖検し、脾の一部について型の如くに定量培養を行なって、脾内生菌数を数えた。

成績 表2に示すように、皮下隔日注射群では3画分共、ツ・アレルギー阻止効果は明らかでなく、すべて生菌感染2週後に対照と同程度のツ反が現われた。静注群では、BR-2 及び TR-3 で対照に比し2週目の反応がやや抑制されているような結果が得られたが、3週目の反応の強さは対照と全く同程度であって、BCG 生菌或いは死菌の静注によって得られたような著明なツ反応発現阻止効果は認められなかった。

しかし感染後7週目にツ反が強陽性になってから、それぞれの画分2mgを再静注した結果、ツ・アレルギーは何れの群も速かに消失した。又3画分中 TR-3 は第 II,

第V群を合せて6頭中5頭が、注射後数分でショック死した。

表2 結核蛋白のツ反応に及ぼす影響

群	処置	番号	感染後の時間 (週)		
			2	3	7
ツ反応の大きさ (mm)					
I	BR-2	1	135	155	230
		2	(-)	155	245
	20r sc	3	95	145	(-)
		4	(-)	145	(-)
		5	150	130	(-)
II	TR-3	7	165	100	160
		8	145	130	170
	20r sc	9	100	130	(-)
		10	(-)	100	ショック死
		11	150	175	ショック死
		12	105	140	ショック死
III	TR-1b	14	155	200	240
		15	140	205	210
	20r sc	16	140	185死	(-)
		17	150	205	(-)
		18	100	180	(-)
IV	BR-2	19	75	170	255
		20	(-)	95死	
	2mg iv	21	(-)	110死	
		22	(-)	180	9.5
		23	(-)	(-)死	
		24	110	165	125
V	TR-3	25	(-)	185	210
		26	(-)	165	200
	2mg iv	27	115	170	210
		28	(-)	140	ショック死
		29	(-)	110	170
		30	115	150	ショック死
		VI	TR-1b	31	180
32	(-)			175	200
2mg iv	34		(-)	200	(-)
	35		190	200	(-)
	36		130	210	(-)
VII	対照	37	(-)	205	220
		38	120	140	200
		39	145	190	200
		40	130	165	(-)
		41	130	190死	(-)…PPD-s
		42	(-)	200死	2mg iv

剖検所見及び脾内生菌数では全体に有意の差はなかったが、感染局所の病変は蛋白静注群において一般に強いように思われた。

実験2 結核蛋白静注によるツ・アレルギー阻止の量的及び時間的検討

a) BCG 菌体蛋白 BR-2 静注の脱感作実験

感作モルモット36頭を6群に分け、第I群は対照として静注を行わず、第II~VI群にはBR-2をそれぞれ

表3 BR-2による皮膚アレルギー阻止の量的、時間的検討

群	BR-2の量 (r)	動物番号	皮内反応 (mm)					
			静注1時間後		静注5日後			
			OT	BR-2	OT	BR-2		
I	0	46	13.5	19.5				
		47	23.0	20.5				
		48	16.5	17.5				
		49	16.5	20.5	14.0	17.5		
		50	16.0	17.5	17.0	16.5		
		51	17.5	23.0	20.5	21.5		
II	1	52	14.0	16.5				
		53	21.5	22.0				
		54	19.5	17.0	17.0	22.5		
		55	18.5	21.0	23.0	18.5		
		56	15.0	21.0	19.5	21.0		
III	10	58	12.5	18.9				
		59	18.5	18.5				
		60	18.5	16.5	20.5	20.0		
		61	20.5	18.0	23.5	11.5		
		62	17.0	17.5	10.5	22.0		
		IV	100	64	(-)	(-)		
65	(±)			(-)				
66	14.5			(-)				
67	11.5			17.5	21.5	20.5		
68	13.0			18.5	17.5	19.5		
69	15.0			19.5	10.5	19.0		
V	1000			70	(-)	(-)		
				71	(-)	(-)		
				72	(-)	(-)		
		73	(-)	(-)	(±)	14.0		
		74	(-)	(-)	14.0	18.0		
		75	(-)	(-)	11.0	10.0		
VI	2000	76	(-)	(-)				
		77	(-)	(-)				
		79	(-)	(-)	13.0	10.5		
		80	(-)	(-)	13.0	10.0		

1, 10, 100, 1000, 2000 r 静注した。静注後1時間目に全動物の左右前胸部に、それぞれ100倍 OT 0.1 ml 及び BR-2 25 r を皮内注射し、24時間後の皮内反応の大きさを測定、更に5日後に同様の皮内反応を行なった。なお100倍 OT 0.1 ml と BR-2 25 r とはほぼ等力価であることは予め確かめておいた。

成績は表3に示すように、静注1時間後の OT 及び BR-2 による皮内反応は共に BR-2 を 100 r 静注した群から反応が陰性になるか又は軽微になり、1000 r で完全に陰性化した。

静注5日後に行なった皮内反応では、100 r の群は既に対照と殆んど差がなく、再び明らかな陽性反応を示した。又 1000~2000 r でも反応は陽性になったが、対照に比較すると可成り軽微であった。

b) PPD-s 静注の脱感作実験

① モルモット 18 頭を、3頭宛6群に分け、各群に PPD-s をそれぞれ 30, 100, 300, 1000, 2000 r 溶解した生食 0.4 ml を耳静脈から注射し、残りの1群には生食 0.4 ml を耳静注して対照とした。

結果は表4実験1°に示すように、30 r から脱感作が起きた。

② 別に動物 18 頭を6群に分け、各群に PPD-s をそれぞれ 1, 5, 10, 50, 100 r を耳静注し、残る1群は生食静注の対照とした。

結果は表4実験2°にみる如く、10 r から脱感作が起きたが、50 r で1頭が弱いながらツ反は陽性であった。

従って、PPD-s 静注による脱感作の最少有効量は、50~100 r と考えられる。

③ 次に PPD-s 静注のツ反阻止効果の持続時間をしらべるため、モルモット 24 頭を使用、16 頭に PPD-s 100 r を含む生食 0.4 ml を耳静注してこれを5群に分けそれぞれ別に静注後1時間、1日、2日、3日、4日にツ反検査を行ない、又生食静注の対照群 8 頭は4群に分けてそれぞれ1時間、1日、2日、3日にツ反を検査した。

結果は表5の如く2日頃からツ反が陽性になり始め、4日目の成績では対照との間に殆んど差がなくなった。

従って、PPD-s 100 r 静注による脱感作の持続時間は2~3日であった。

表4 PPD-s によるツ反阻止の量的検討

実験	PPD-s の量 (r)		ツ反応 (mm)	実験	PPD-s の量 (r)		ツ反応 (mm)
	動物番号	動物番号			動物番号	動物番号	
1°	0	1	22.5	2°	0	19	21.5
		2	21.0			20	22.5
		3	21.5			21	22.5
	30	4	(-)		1	22	(-)
		5	(-)			23	24.5
		6	(-)			24	22.5
	100	7	(-)		5	25	20.5
		8	(-)			26	20.5
		9	(-)			27	22.5
	300	10	(-)		10	28	(-)
		11	(-)			29	16.5
		12	(-)			30	(-)
	1000	13	(-)		50	31	13.5
		14	(-)			32	(-)
		15	(-)			33	(-)
	2000	16	(-)		100	34	(-)
		17	(-)			35	(-)
		18	(-)			36	(-)

表5 PPD-s によるツ反阻止の持続時間

静注後の時間	PPD-s 静注		対照	
	動物番号	ツ反応	動物番号	ツ反応
1時間	1	(-)	17	13.0
	2	(-)	18	15.0
	3	(-)		
	4	(-)		
1日	5	(-)	19	16.5
	6	(-)	20	14.5
	7	(-)		
2日	8	(-)	21	27.0
	9	20.5	22	23.0
	10	7.0		
3日	11	8.0	23	17.5
	12	(-)	24	16.0
	13	14.5		
4日	14	21.0		
	15	15.0		
	16	16.5		

尚 a), b) 両実験を通じて特に副作用と言うべきものはなかったが、ただ BR-2 を大量に静注した動物の中で立毛等の一般状態のよくないものが少数認められた。

実験3 抗原性を異にする各種画分の脱感作効果の比較

感作モルモット 50 頭を 10 群に分け、第 I 群から第 IX 群まで、それぞれ死菌 ($H_{37}Rv$ 株、加熱 $100^{\circ}C$ 、30 分)、OT、結核蛋白として PPD-s、BR-2、TR-2、結核多糖体として BS-1、TS-1、TS-2、TS-4 を耳静脈から注入し、第 X 群は対照とした。使用した量は、死菌及び各画分はすべて 1 mg、OT はツ原液の 5 倍稀釈液 0.25 ml であった。

静注直後に動物の肛門体温を測定し、1 時間目にツ反を行なった。更に各群の半数を選んで 4 日後に同じ方法でツ反検査を行ない、脱感作の持続性をしらべた。

又別に、充分感作したモルモット 8 頭を使用し、これを 2 群に分け 4 頭にはツ活性ポリペプチッドを 1 mg 耳

静注し、他の 4 頭には生食を静注して対照とし、共に静注後 1 時間目にツ反検査を実施した。

成績 表 6 にみるように、死菌、OT 及び結核蛋白 PPD-s、BR-2、TR-2 を静注した群では、No. 105 を除いて完全にツ反応が阻止された。これに対して結核多糖体 BS-1、TS-1、TS-2、TS-4 を静注した群では対照に比べて反応の程度がやや弱いようではあるが、ツ反応の陰性化はみられなかった。

静注直後の肛門体温は PPD-s 群のみが他よりも平均 $1^{\circ}C$ 上昇した。

又表 7 のように静注 4 日後にはツ反が再び陽転してくるが、OT、PPD-s、BR-2 のツ反は対照に比較して可成り弱かった。

表 6 結核感作モルモットにおける結核蛋白及び多糖体静注後のツ反応

群	処置	番号	ツ反応 (静注後 1時間)	体温	群	処置	番号	ツ反応 (静注後 1時間)	体温
I	死菌 1 mg	81	(-)	37.0	VI	BS-1 1 mg	106	17.5	36.5
		82	(-)	36.5			107	16.0	36.5
		83	(-)	37.0			108	17.0	36.0
		84	(-)	35.0			109	16.0	36.0
		85	(-)	38.5			110	17.5	36.5
II	OT $5 \times 0.25\text{ ml}$	87	(-)	37.0	VII	TS-1 1 mg	111	21.0	37.0
		88	(-)	36.0			112	17.5	36.5
		89	(-)	37.0			113	20.5	36.5
		90	(-)	36.0			114	21.0	36.5
III	PPD-s 1 mg	91	(-)	38.5	VIII	TS-2 1 mg	116	12.5	36.5
		92	(-)	38.0			117	21.5	37.0
		93	(-)	37.5			118	10.0	37.0
		94	(-)	38.0			119	16.5	37.0
		95	(-)	38.0			120	16.5	37.5
IV	BR-2 1 mg	96	(-)	37.0	IX	TS-4 1 mg	121	14.5	38.0
		98	(-)	36.0			122	15.0	37.5
		99	(-)	37.5			123	18.0	38.0
		100	(-)	37.0			124	(-)	36.0
V	TR-2 1 mg	101	(-)	37.0	X	対照	126	21.5	37.0
		102	(-)	37.0			127	20.5	37.0
		103	(-)	37.0			128	22.5	36.7
		104	(-)	37.0			129	21.0	37.0
		105	12.5	38.0			130	21.0	37.5

表 7 結核蛋白静注によるツ反応阻止持続時間

群	処置	番号	ツ 反 応		群	処置	番号	ツ 反 応	
			静 注 後					静 注 後	
			1時間	4日				1時間	4日
I	死 菌 1 mg	81	(-)	24.5	VI	BS-1 1 mg	106	17.5	19.0
		82	(-)	17.0			107	16.0	21.0
		83	(-)	20.0			108	17.0	18.0
II	OT 5×0.25 ml	84	(-)	19.5	VII	TS-1 1 mg	111	21.0	25.0
		88	(-)	11.5			112	17.5	22.5
		89	(-)	15.5			113	20.5	26.5
III	PPD-s 1 mg	91	(-)	6.5	VIII	TS-2 1 mg	116	12.5	21.0
		92	(-)	18.0			117	21.5	26.0
		93	(-)	9.0			118	10.0	19.0
IV	BR-2 1 mg	96	(-)	(-)	IX	TS-4 1 mg	121	14.5	13.0
		97	(-)	14.5			122	15.0	16.0
		98	(-)	16.0			123	18.0	24.0
V	TR-2 1 mg	101	(-)	22.0	X	対 照	126	21.5	18.5
		102	(-)	18.0			127	20.5	18.5
		103	(-)	19.0			128	22.5	24.5

九大山村教授のツ活性ポリペプチッドも表8にみるように1 mgの静注で完全な脱感作を起し得た。

表 8 結核ポリペプチッド静注後のツ反応

	動物番号	ツ反応		動物番号	ツ反応
		(静注1時間後)			(静注1時間後)
ポリペプチッド 1 mg 静注	131	(-)	生 食 0.2 ml 静注	135	17.0
	132	(-)		136	22.5
	133	(-)		137	19.5
	134	(-)		138	17.0

実験4 PPD-s 静注の血中抗体、補体及び血清蛋白に及ぼす影響

充分に感作した家兎16頭を使用、先ずツ反検査を実施してすべて強陽性にすることを確かめてから、その中12頭にPPD-s 1 mgを生食溶液2 mlとして耳静注し、残りの4頭には生食2 mlを耳静注して対照とした。PPD-s群では、静注後1時間目に行なった100倍稀釈OTを用いたツ反は完全に陰性であり、対照群はいずれも強陽性であった。

まずPPD-s群、対照群共に4頭宛から、それぞれ静注前及び後1時間目に採血し血清を分離の上、赤血球凝

集反応を蛋白画分、多糖体画分、磷脂質画分を抗原として実施し、更に蛋白分屑を測定した。次にPPD-s群の残り8頭中4頭について静注前及び後4時間目に採血、その血清について多糖体画分を感作抗原とする赤血球凝集反応並びに沈降反応を行ない、更に残りの4頭についてPPD-s静注前及び後10時間目の血清を用いて赤血球凝集反応と溶血反応とを実施した。

別にPPD-s静注の補体価に対する影響をみるため、結核感作モルモット4頭にPPD-sを100r静注し、注射前及び後1時間の血清について補体価を測定した。

成績表9にみる如く、結核多糖体・磷脂質・蛋白を感作抗原とした3種の赤血球凝集反応についてPPD-s静注前後における差及び対照群との差は明かではなかった。

又表10に示すように緒方法によって測定した補体価についても、PPD-s静注の影響は認められなかった。

同様に表11にみる如く、多糖体TS-2を感作抗原として行なった赤血球凝集反応及びその完結後に補体を添加して実施した溶血反応についても、PPD-s静注前及び後4時間並びに10時間の値に特に著しい差はなかった。

又表12の如く、多糖体TS-2を抗原として実施した沈降反応においても、PPD-s静注前及び後4時間の値に特別の変動は認められなかった。

表 9 PPD-s 静注の血中抗体に及ぼす影響 (赤血球凝集反応)

静注材料	動物番号	静注	多糖体抗体	磷脂質抗体	蛋白質	静注材料	動物番号	静注	多糖体抗体	磷脂質抗体	蛋白質
生食	1	前	160	1280	320	PPD-s	5	前	1280	2560	5120
		後	80	640	320			後	1280	2560	5120
	2	前	320	1280	1280		6	前	320	320	1280
		後	160	640	1280			後	640	320	1280
3	前	320	640	1280	7		前	320	1280	2560	
	後	320	320	1280			後	320	2560	2560	
4	前	320	640	1280	8		前*	40	320	160	
	後	320	640	1280			後	160	640	320	

* 溶血

表 10 PPD-s 静注の補体に及ぼす影響

静注材料	動物番号	静注	試験管番号								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
PPD-s	1	前	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		後	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	2	前	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		後	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	3	前	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		後	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	4	前	+	+	+	+	+	+	-	-	-
		後	+	+	+	+	-	-	-	-	-

(緒方法による)

表 11 PPD-s 静注の血中抗体に及ぼす影響 (赤血球凝集反応と溶血反応)

実験	動物番号	静注	多糖体感作赤血球凝集反応	溶血反応	実験	動物番号	静注	多糖体感作赤血球凝集反応	溶血反応
PPD-s 静注 4時間	1	前	320	5120	PPD-s 静注 10時間	5	前	160	1280
		後	320	2560			後	160	2560
	2	前	160	2560		6	前	320	2560
		後	160	2560			後	320	2560
	3	前	2560	10240		7	前	5120	10240
		後	2560	10240			後	5120	10240
	4	前	320	10240		8	前	160	2560
		後	320	5120			後	160	2560

表 12 PPD-s 静注の血中抗体に及ぼす影響 (沈降反応)

動物 番号	抗 原 清 血	時 期															
		PPD-s 静注前								PPD-s 静注4時間後							
		5万倍	10	20	40	80	160	320	640	5万倍	10	20	40	80	160	320	640
1	8倍	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	8	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	16	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	8	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	16	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	32	+	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	+	+	+	±	-
	64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	8	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	+	+	+	±	-	-
	16	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	+	+	±	-	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

抗原: ツ多糖体 TS-2

更に図1にみる如く、血清蛋白分画も PPD-s 静注前及び後1時間の値に有意の差は認められなかった。

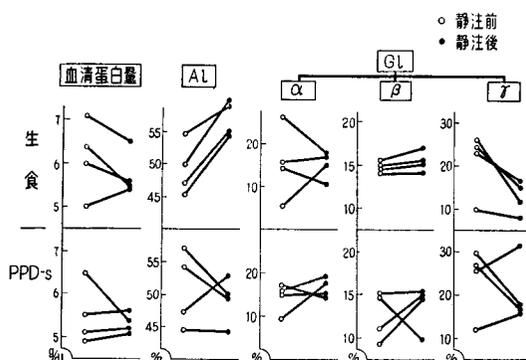


図 1 PPD-s 静注の血清蛋白分画に及ぼす影響

実験5 PPD-s 頻回静注の実験的結核症に及ぼす影響

ヒト型毒力菌仲野株 1/1000 mg を皮下注射したモルモット 25 頭を 3 群に分け、第 I 群 8 頭には感染後第 1 週から、第 II 群 8 頭には感染後第 4 週からそれぞれ PPD-s 10r を 0.2 ml の生食に溶して、毎週 2 回、7 週まで耳静注した。第 III 群 9 頭は対照として 1 週から 7 週まで、週 2 回生食 0.2 ml を耳静注した。

全動物は毎週体重を測定し、菌接種局所とリンパ腺の状態を観察した。ツ反検査は 3 週と 6 週に行なった。

第 8 週に全動物を屠殺し、内臓並びにリンパ腺の病変を観察するとともに、型のごとくに脾の定量培養を実施した。

成績 第 I 群の 1 頭が 2 週の終りに斃死した他は全動物は 4 週まで一般状態が良好で体重も順調に増加した。5 週以後体重は幾分減少し一部に立毛等一般状態の不良のものも現われたが斃死したものはなかった。一般状態は上記 3 群の間に取り立て言う程の差は認められなかったが、PPD-s 静注群が対照群よりも幾分良いように思われた。

接種局所は 4 週から膿瘍となり 5~7 週に潰瘍化し、一部に痂皮を生じた。又局所リンパ腺も 3 週から触れ週毎に増大したが、これらの病変について 3 群の間に明瞭な差は認められなかった。

ツ反は 3 週と 6 週に行なったが、第 I、第 II 群で PPD-s 静注直後に実施したものは、第 III 群に比して著しく弱かった。

8 週目に行なった剖検の成績を図 2 に、各群について平均脾重量と臓器及びリンパ腺の病変度をヒストグラムで示した。これによれば、第 I、第 II 群の内臓及びリン

パ腺の病変は対照群に比して弱いようであるが、これをもって PPD-s の静注が結核臓器に好影響を与えるとは断言できない。殊に脾の重量の点では、PPD-s 静注を感染1週目から行なった第1群の平均重量が他の群よりも甚しく高かった。

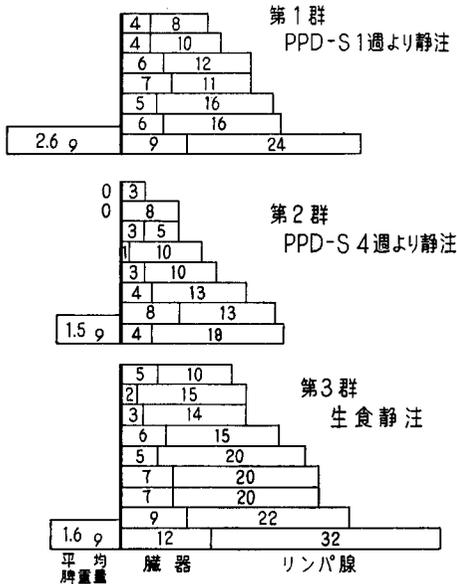


図2 PPD-s 静注の結核臓器並びにリンパ腺に及ぼす影響

考 按

結核動物において免疫とアレルギーとがいかなる関係をもつかという点について多くの研究がなされているが、今日なお明確にはなっていない。Rich⁹⁾ 以来この問題解明の一手段として菌体や OT や、又はそれらの抽出物による脱感作方法が用いられ、ツベルクルン型皮膚アレルギーを抑制した場合において生体がいかなる態度をとるか、殊にその免疫力がどのように影響されるかという点について多数の検討が行なわれてきた。この論文も亦、この趣旨にそってまず脱感作を起す条件を検討し、ついで脱感作によって血中抗体、補体、血清蛋白がいかなる変動を来たすか、更に実験的結核症の進展がいかに影響されるか等についてしらべたものである。

先に有馬等²⁾ は、結核菌感染と同時に BCG を 10 mg 静注すると、ツ・アレルギー反応が著明に抑制され、その発現が約 2 週間遅れることを報告しているが、今回著者の用いた結核菌体蛋白及びツ蛋白では、ツ・アレルギー遅延効果は明らかでなかった。結核菌体又はその残渣の静注によるツ・アレルギー発現の遅延の機序は明らかでは

ないが、有馬等は静注された比較的大量の結核抗原による持続的脱感作と考えているのであるが、蛋白画分にかかる効果が顕著でないのは恐らく菌体又は残渣と蛋白画分との抗原性の差異や量的な関係もあろうが、静注された蛋白画分が比較的短時間に分解排除されて了うためであらう。

かかる点も考慮して、蛋白画分を隔日に皮下に連続注射する実験を行なったのであるが、やはり脱感作効果はみられなかった。しかし感染 7 週後に各群の半数の動物に、最初に用いたと同じ画分を 2 mg 静注したところ、TR-3 群を除いた殆んど大部分の動物のツ反が陰性となった。即ち結核菌感染直後に結核蛋白を静注しても、或いは感染直後から皮下に反復注射しても、ツ・アレルギーの発現を抑制することはできないが、ツ陽性となった動物にこれら蛋白画分を静注することによって速かにツ・アレルギーを消失させ得るわけである。

尚この実験で TR-3 静注の場合、6 頭中 5 頭のモルモットが静注後数分でショック死したが、結核動物のアナフィラキシー・ショックがツ由来の多糖体画分によるとする知見は、古くは Enders¹⁰⁾、又最近では岡田¹¹⁾ が報じており、今回の成績と異なることは興味深い。

著者の用いた蛋白画分 TR-3 にも約 10% の多糖体(グルコースとして)が含まれているから、これらの多糖体の作用を考えなくてはならないが、或いは結核蛋白中にもアナフィラキシーを惹起する因子が存在するのかも知れない。

脱感作を起し得るものは結核蛋白であって、結核多糖体にはその作用がないということは、Rich¹⁾ 以来ほぼ定説となっているが、本実験結果も亦そのことを証明している。即ち菌体及びその蛋白画分 BR-2, OT 及びその蛋白画分 PPD-s, TR-2 はすべて脱感作効果を示すのに対し、菌体多糖体画分 BS-1 及び OT 多糖体画分 TS-1 TS-2, TS-4 にはいずれも脱感作効果が認められない。勿論両者とも、化学的にみて完全に純粋であるとはいえず、殊に結核蛋白画分中には或る程度多糖体が含まれていることは事実であって、その抗原性は無視できないであらう。しかし問題はその量比であって、少量の多糖体を含んだ蛋白画分が脱感作を起し、多糖体画分は起さないのであるから、兎に角脱感作に関係するものは結核蛋白であるとして差支えないと考える。

尚、八木¹²⁾ は Azo 化した OT に OT と同様の脱感作効果を認め、今回著者はツ活性ポリプテッドを静注して蛋白画分と同様脱感作を起し得た。このことは結核蛋白のみならず、ポリペプテッドの段階に至っても尚脱感作能を保有していることを示すものである。

しかし一方染谷等¹³⁾によれば、このポリペプチッド 5 mg を等量の Adjuvant に混じて筋注しても、10 週後の PPD-s, π (九大分離の精製ツ蛋白) 及びツ活性ポリペプチッドをもってする皮膚反応に対し、アルツス型、ツベルクリン型いずれの反応も陰性であったというから、ポリペプチッドは多糖体や磷脂質と同様にツ・アレルギー賦与能をもたぬことになる。従って脱感作を起すためにはツ活性ポリペプチッドの如く、そのものにツ・アレルギー賦与能がなくとも、結核動物に陽性のツベルクリン型皮膚アレルギーを起すものであればよいとすることができよう。

さて著者は、菌体蛋白 BR-2 及びツ蛋白 PPD-s について脱感作に要する最少有効量と凡その持続時間とをしらべたが、BR-2 が 1000 r で 1~2 日、PPD-s が 50~100 r で 2~3 日という成績を得た。

次に脱感作と血中抗体との関係についてであるが、複雑な抗原性を有する結核菌を接種することによって、感作動物の体内にはそれぞれ多数の抗原抗体系が生ずるわけであり、それらの結果産生される抗体は血中或いは組織鉤着の状態で動物の体内に広く分布するものと考えられる。脱感作という皮膚アレルギーを抑制する現象を捉えて、この状態における血中抗体の変動を検査した文献は少なくない。脱感作時において血中抗体が減少し、ツ反の強さと血中抗体価とが平行するというもの^{14), 15), 16)}、全く関係がないとするもの^{17), 18)}、逆に抗体価は上昇するというもの¹⁹⁾ など様々である。

著者は家兎を用い PPD-s の静注による脱感作状態において、血中抗体を赤血球凝集反応、沈降反応、溶血反応によって追究し、結核蛋白・多糖体・磷脂質を感作抗原とする赤血球凝集反応でも、多糖体を抗原とする沈降反応、溶血反応においても、脱感作と血中抗体とは全く関係がないという結論を得た。

又脱感作と補体との関係についてみると、奥山等²⁰⁾は卵白アルブミン及び OT による脱感作時において、補体価が最初急激に減少し、6 時間後にやや回復、10 時間後に再び減少、その後次第に回復すると述べている。また Rice²¹⁾ もショック状態の場合、補体価の急激な低下を来たすと述べているが、本実験では脱感作の前後に補体価の変動は認められず、又 PPD-s 静注 4 時間後及び 10 時間後における溶血反応でも抗体価の変動は著明でなかった。ところで、進藤¹⁶⁾の言う所謂結核の完全抗体が赤血球凝集反応によって、又不完全抗体が補体の関与する溶血反応によって表現され、殊に後者が主として皮膚アレルギーに関係ありとするならば、今回の如き蛋白静注後にみられる脱感作状態において、これらの抗体中特にア

レルギーに関する抗体は少なくとも何等かの影響を受けるべきと考えられるが、実際には本実験方法に関する限り、何れにおいてもかかる結果は得られなかった。

更に血中抗体や補体と血清グロブリンとの関連の追究から、脱感作前後の血清蛋白分層の測定を行なったが、特に脱感作による影響は認められなかった。

従って、このように脱感作には血中抗体が関与する可能性が少ないと考えざるを得ないので、ここに血中抗体以外に組織鉤着性抗体の問題が生じてくるのであるが、これは脱感作局所の皮膚抗体等の研究に俟たねばならないであろう。只 Lawrence^{22), 23)} が報告しているように、感作細胞の抽出物によっても受動的にツ・アレルギーが伝達されるということから、アレルギーに関する抗体が一旦流血中に出て、それから組織鉤着性抗体となることも考えられるから、脱感作によって血中抗体も亦何等かの影響を受けてもよいように思われる。にも拘らず、本実験では全く無関係であったということは、Lawrence のような形で存在するアレルギー抗体を、現在われわれが使用している血清学的手法では全く捉え得ないのか、或いは又何か別の因子、例えば Cora²⁴⁾ などの言う阻止抗体とか中和抗体とかの出現を考えなくてはならぬのかも知れない。

次に著者は脱感作が結核動物の内臓やリンパ腺に与える影響をしらべるために、感染直後からの持続的脱感作実験を行なった。本実験には従来からよく使用されてきた抗原の皮下反復注射による脱感作法ではなく、PPD-s を静注して一過性ではあるが速やかに脱感作する方法を用いた。静注を反復することによって、或る程度の脱感作状態を可成り長い期間持続させ得ると考えたわけである。勿論静注法はショックその他の副作用を起すおそれはあるにしても、皮下反復法の如く時間がかからない点、又皮膚の感受性の変化等を考慮しなくてもよいなどの利点があると思われる。尚、モルモットに何回も静注する場合、著者は耳静脈を用いたが、注入液が余り粘稠でなく、又量も余り多くなければ、慎重に行なうことによって、余程一般状態が不良にならぬ限り十数回の注射は可能である。

さて、脱感作と臓器の結核病変との関係は、ひいてはアレルギーと免疫との関係の一端を示すものとして、従来から多くの研究が行なわれてきた。Rich^{9), 25)} は免疫とアレルギーとは別個の現象であると主張し、脱感作法をその研究手段とした。彼は *Pasteurella aviseptica* 及び *Pneumococcus* の死菌による脱感作を行ない、脱感作した動物も再感染に対し、対照と殆んど変らない免疫力を有することを証明、彼の門下の Rothschild 等²⁶⁾ も亦

多くの脱感作実験を行ない、いかに完全に脱感作しても再感染に対する免疫力は低下しないことを証明した。またDerick²⁷⁾は結核加熱死菌で、Branch²⁸⁾はOTで脱感作を行なって、それぞれ内臓病変が対照より軽かったと報じている。

又本邦においても、林^{29),30)}がOTによる脱感作で内臓病変が軽減し、殊にSMと併用した場合にはその肉眼的所見が、SM単独使用の例よりも明らかに好転したと述べ、又磯³¹⁾もOT脱感作で内臓病変が軽減され、生存日数も延長したと発表している。

しかし他方では脱感作のかかる好影響は明確でないとの論文もあり、Willis³²⁾はOT脱感作で却って病変が重くなり生存日数も短縮したと言ひ、会田¹⁹⁾は脱感作動物からの細胞抗菌力は変らないと述べ、又土屋¹⁷⁾は脱感作しても病変は対照と差異がなかったと報じている。また長田^{33),34)}はOT及びPPDによる脱感作で内臓病変の軽減があるが、量が過ぎれば却って悪化すると報告、又別の論文¹⁴⁾でOT中の蛋白画分による脱感作で組織学的に内臓病変を軽減させたと述べている。又柳沢³⁵⁾はコーチゾンによる脱感作は免疫力と完全に平行し、アレルギーの低下したものは免疫力も共に低下し、病変もきわめて悪化したと述べている。

さて、著者の実験ではPPD-sを10r宛3~4日の間隔で静注する方法を用いたのであるが、多くの従来からの治療実験と異なつて、PPD-s静注後、速やかにアレルギーが消失するにしても、次の注射時までに或る程度のアレルギーが恢復することが、前述の実験成績から当然考えられるわけで、従つて今回の方法によつて感染動物が持続的に完全に脱感作の状態にあつたとは言えない。この辺りに問題はあろうが、兎に角今回の実験では、内臓及びリンパ腺の病変において対照と余り著明な差異は認められなかつた。又PPD-s 100rをより頻回静注して行なつた次の実験(未発表)でも、結果はほぼ同様であつた。

しかし、脱感作を行なつた動物の一般状態が対照に比して比較的良好だつたことは、アレルギーを除去することが生体にとって有利であることを示唆するものではなからうか。

結 論

結核アレルギーの本態を明らかにする手段として、結核蛋白静注による脱感作現象について実験を行なつた。

モルモットに結核菌を接種し、感染直後から、結核菌体蛋白を反復皮下注射しても、ツ反の発現を抑制することはできない。

しかし、モルモット及びウサギを結核死菌で強く感作し、ツ反の1時間前に菌体蛋白或いはツ蛋白を静注するとツ反は現われない。ツ活性ポリペプチドの静注によつても同様である。かかるツ・アレルギーの消失は数日間続き元に復する。結核多糖体にはツ・アレルギーの抑制効果はない。結核蛋白中、副作用の少ないPPD-sについて主としてしらべた結果、脱感作に要するPPD-sの最少有効量は50~100rである。

PPD-s静注により、各種血中抗体価(赤血球凝集反応、溶血反応、沈降反応により測定)及び補体価に変動はみられず、血清蛋白分屑にも明らかな異常はない。

又脱感作の結核臓器及びリンパ腺に及ぼす影響についても、著明なものは認められない。

稿を終えるに當つて御指導御校閲を賜つた山田教授に深謝し、又終始御懇篤な御指導御援助をいただいた北大結核研究所、有馬助教授、山本助教授並びに御指導下された高橋教授に深甚の謝意を表します。

(本論文の要旨の一部は、昭和36年9月第41回北海道医学会結核系分科会並びに昭和36年9月日仏生物学会及び昭和37年4月第37回日本結核病学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Rich, A. R.: The Pathogenesis of Tuberculosis Springfield, Illinois, 357, 1951.
- 2) 有馬純・山本健一・小野勝男・高橋義夫: 結核の研究, 16, 1, 1962.
- 3) Corper, H. J. & Cohn, M. L.: Amer. J. Clin. Path. 14 (6), 344, 1944.
- 4) Middlebrook, G. & Dubos, R. J.: J. Exp. Med. 88, 521, 1948.
- 5) Boyden, S.: ibid 93, 107, 1951,
- 6) 小野寺忠純: 結核の研究, 12, 23, 1959.
- 7) 高橋義夫・小野勝男: ibid 7, 1, 1957.
- 8) 緒方富雄: 梅毒の新らしい血清学的検査法, 南山堂, 13, 1951.
- 9) Rich, A. R.: Bull. Johns Hopk. Hosp. 44, 273, 1929.
- 10) Enders, C. F.: J. Exp. Med. 50 (6), 777, 1929.
- 11) 岡田吉美: 結核化学研究グループ総会, April 1962.
- 12) 八木静馬: 金沢医大結核年報, 14 (上), 43, 1956.
- 13) Someya, S., Hayashi, O. & Yamamura, Y.: Amer. Rev. Resp. Dis. 86 (4), 542, 1962.
- 14) 長田進・浅見望・三浦馨: 最新医学, 15 (8), 163, 1960.
- 15) 細田行雄: アレルギー, 7 (3), 219, 1958.
- 16) 進藤宙二: 日本の医学の1959年 (III), 458, 1959.
- 17) 土屋院司: 東女医大雑誌, 30 (7), 1223, 1960.

- 18) 会田謙吉：新潟医誌, **73**(9), 1257, 1959.
- 19) 八木静馬：金沢医大結研年報, **14**(上), 31, 1956.
- 20) 奥山春枝・時田広・高木重敏・橋本徹二：結核の研究, **6**, 84, 1957.
- 21) Rice, C. E. : J. Immun. **75**, 85, 1955.
- 22) Lawrence, H. S. : J. Clin. Invest. **33**, 951, 1954.
- 23) Lawrence, H. S. : Amer. J. Med. **20**, 428, 1956.
- 24) Cora, D. M, Fevuraly, J. & Meyer, M. M. : J. Immun. **75**, 35, 1955.
- 25) Rich, A. R. : Bull. Johns Hopk. Hosp. **53**, 172, 1933.
- 26) Rothschild, H., Friedenwald, J. S. & Bernstein, C. : *ibid.* **54**, 232, 1934.
- 27) Derick, C. L., Branch, A. & Crane, M. P. : Amer. Rev. Tuberc. **32**(2), 218, 1935.
- 28) Branch, A. & Knoop, G. V. : *ibid* **35**(2), 274, 1937.
- 29) 林 久子：結核, **31**, 477, 1956.
- 30) 林 久子：*ibid* **33**, 195, 1958.
- 31) 磯 俊六：東京医学会雑誌, **55**(4), 70, 1941.
- 32) Willis, H. S., Woodruff, C. E., Kelly, R. C. & Voldrich, M. : Amer. Rev. Tuberc. **38**, 10, 1938.
- 33) 長田 進：日本細菌学雑誌, **14**(10), 829, 1959.
- 34) 長田進・浅見望：*ibid* **15**(1), 16, 1960.
- 35) 柳沢 謙：日本の医学の1959年(III), 464, 1959.