



Title	結核脱感作の実験的研究：第3報 ツベルクリン蛋白(PPD-S)と菌体蛋白の比較
Author(s)	山本, 健一; YAMAMOTO, Ken-ichi; 有馬, 純 他
Description	
Citation	結核の研究, 20, 13-18
Issue Date	1964
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26745
Type	departmental bulletin paper
File Information	20_P13-18.pdf



結核脱感作の実験的研究

第3報 ツベルクリン蛋白 (PPD-S) と菌体蛋白の比較

山本健一・有馬 純・佐々木昭雄・高橋義夫

(北海道大学結核研究所予防部)

(昭和39年1月10日受付)

緒 言

第1¹⁾、第2報²⁾に於て、結核死菌感作動物を OT, PPD-S, あるいは2, 3の結核菌体蛋白画分で脱感作処置をした場合、血中抗体、ツ型皮膚反応、脾細胞融解現象の3者の間に一定の関係が見出されないこと、又OTに対し脱感作された動物が他の抗原には陽性反応を示すことなどを報告した。しかしながら、これら事実の適正な免疫血清学的解釈は目下のところかなり困難である。それは感作に用いている結核死菌が抗原的に余りにも複雑な組成であるし、更に又、脱感作機構そのものにかかなりの不明の点があるからである。

ところで、第2報²⁾の実験成績では上述の血中抗体、皮膚反応、細胞融解現象などに対するツ蛋白 (PPD-S) と菌体蛋白の脱感作原としての態度がかなり異なることが明かにされた。

そこで本実験では、ツ蛋白と菌体蛋白の免疫血清学的差異を検討する目的で、加熱死菌を用いずに脱感作抗原として用うべきツ蛋白と菌体蛋白で動物を予め感作した。ツ蛋白 PPD-S の感作原性については既に染谷ら³⁾ 浅見ら⁴⁾ の報告があるが、我々もまたツ蛋白および菌体蛋白を使用し、感作、脱感作に関与する因子の単純化を試みた。もとより用いた蛋白画分は現段階では血清学的に単一なものではないが、少くともそうすることによって実験結果の分析がより容易になるのではないかと考えたからである。

実験材料および実験方法

1) 動物：ウサギ

2) 感作方法：ツ蛋白画分としてPPD-S (予研より分与されたもの。N:13.6 P:0.07 G:2.0%)、菌体蛋白画分としてはその組成上窒素含量が PPD-S に近い菌体蛋白画分 BPr を用いた。このものの分画法はヒト型結核菌 仲野株アセトン脱脂乾燥菌体を 0.1N NaOH で抽出、pH 4.2 で沈澱、更に50%飽和硫酸の沈澱を得、再び同様な方法で溶解沈澱し上清に 250 μ の吸収帯がなくな

るまで溶解沈澱を繰返して精製したものである。その組成は N:13.3, P:0.24, G:4.0%である。感作にはこれら PPD-S および BPr を Arlacel, Drackeol 1:9混合液を Adjuvant として、ウサギ1羽にそれぞれ5 mg 宛、各群12羽に1週間隔で2回筋注した。

3) 脱感作処置：最終注射後3週目より両感作群をそれぞれ4羽宛の3群に分ち、その2群には PPD-S, BPr をそれぞれ毎日1回皮下注射した。それらの投与量は400r/ml0.2mlより始め型の如く漸増、0.5mlになってからはこの量を続け8週に及んだ。他の1群は無処置対照群とした。

4) 皮内反応および血中抗体：脱感作開始前、開始後4・6および8週目に PPD-S, BPr それぞれ 25r を皮内注射し皮膚反応を検した。但し、感作に用いたものと同じ蛋白画分で脱感作する実験群では、脱感作前に他の画分での皮膚反応の検査は避けた。これは爾後のアレルギー状態に対する影響を考慮したためである。又、脱感作開始後6週目と8週目には OT 50倍液による皮内反応をも併せて行なった。

血中抗体については、脱感作開始前、開始後4週目と8週目にそれぞれ前報¹⁾の方法に従ってしらべた。使用した多糖体抗原は Lps (BCG 脱脂菌体の 0.5N 三塩化酢酸抽出残渣を50%フェノール水で抽出、その水層をアセトンで落したもの。P:0.07 G:93%)、磷脂質抗原は前報と同じ、蛋白抗原は TR-1a (H37Rv ツ蛋白で pH 4.2で沈澱したもの。N:13.2 P:0.33 G:3.5%)。

5) 脾細胞融解現象：脱感作処置終了時、各群2羽のウサギの脾細胞について前報¹⁾の方法に従って細胞融解の程度をしらべた。使用抗原濃度は PPD-S, BPr はそれぞれ 100r, OT は5倍液0.1mlである。

実験結果

1) ツ型皮膚反応：脱感作処置後の皮内反応の推移を第1, 第2表に示した。脱感作開始前の反応をみると、明らかに両感作群ともそれぞれの対応する抗原に対してよ

表 1 PPD-S 感作動物の脱感作処置によるツ型皮膚反応の推移

群別	動物番号	抗原			群別	動物番号	抗原			群別	動物番号	抗原					
		時期	PPD 25 r	BPr 25 r			OT 50 \times	時期	PPD 25 r			BPr 25 r	OT 50 \times	時期	PPD 25 r	BPr 25 r	OT 50 \times
PPD-S 群	501	前	++ 22 \times 26	/	/	BPr 群	505	前	++ 21 \times 21	± 10 \times 12	/	対 照 群	509	前	++ 16 \times 18	+ 12 \times 12	/
		4週	++ 15 \times 15	+ 14 \times 14	/			4	++ 22 \times 21	+ 18 \times 18	/			4	++ 20 \times 20	+ 20 \times 17	/
		6	++ 12 \times 12	+ 11 \times 11	-			6	++ 22 \times 22	+ 12 \times 12	-			6	++ 21 \times 21	± 9 \times 9	++ 18 \times 18
		8	+ 17 \times 17	+ 15 \times 13	-			8	++ 20 \times 18	++ 22 \times 22	- 13 \times 13			8	++ 18 \times 18	++ 16 \times 16	-
	502	前	++ 24 \times 24	/	/		506	前	+ 15 \times 15	± 13 \times 13	/		510	前	+ 17 \times 17	± 12 \times 12	/
		4	++ 22 \times 22	- 16 \times 16	/			4	++ 22 \times 16	+ 18 \times 16	/			4	+ 15 \times 15	- 13 \times 13	/
		6	++ 16 \times 20	+ 11 \times 11	-			6	+ 14 \times 14	+ 11 \times 11	-			6	+ 14 \times 14	+ 12 \times 12	± 12 \times 12
		8	++ 25 \times 30	++ 20 \times 21	-			8	-	++ 23 \times 23	-			8	++ 16 \times 18	+ 10 \times 10	++ 10 \times 10
	503	前	++ 21 \times 21	/	/		507	前	+ 12 \times 12	-	/		511	前	++ 20 \times 18	+ 11 \times 11	/
		4	+ 17 \times 17	- 13 \times 13	/			4	++ 10 \times 15	± 15 \times 13	/			4	++ 21 \times 18	+ 13 \times 13	/
		6	++ 14 \times 18	+ 10 \times 10	-			6	+ 12 \times 12	++ 20 \times 20	-			6	++ 15 \times 15	+ 11 \times 11	± 12 \times 13
		8	++ 20 \times 18	+ 16 \times 16	-			8	++ 18 \times 18	++ 28 \times 30	-			8	++ 14 \times 16	+ 13 \times 13	++ 8 \times 8
508	前	++ 18 \times 18	-	/	508	前	++ 18 \times 18	-	/	512	前	++ 17 \times 20	-	/			
	4	++ 20 \times 20	++ 20 \times 20	/		4	++ 20 \times 20	++ 20 \times 20	/		4	+ 16 \times 20	- 14 \times 14	/			
	6	++ 20 \times 20	++ 21 \times 21	-		6	++ 20 \times 20	++ 21 \times 21	-		6	++ 12 \times 17	± 7 \times 7	++ 13 \times 13			
	8	++ 20 \times 18	++ 24 \times 26	-		8	++ 20 \times 18	++ 24 \times 26	-		8	+ 15 \times 17	+ 14 \times 14	++ 13 \times 13			

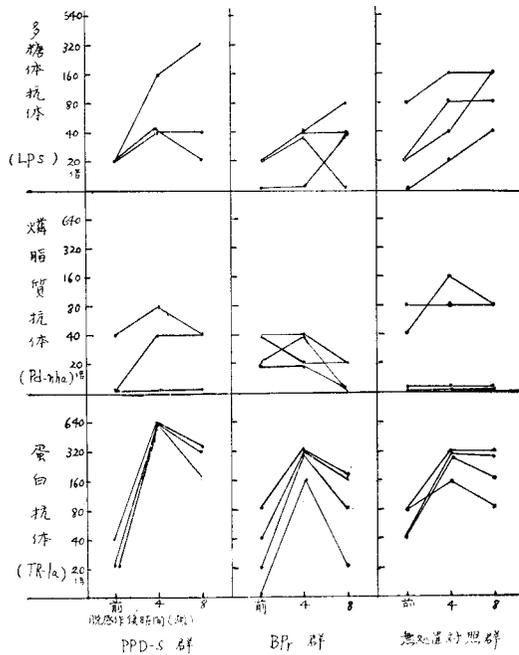
表 2 BPr 感作動物の脱感作処置によるツ型皮膚反応の推移

群別	動物番号	抗原		PPD-S 25r	BPr 25r	OT 50×	群別	動物番号	抗原		PPD-S 25r	BPr 25r	OT 50×	群別	動物番号	抗原		PPD-S 25r	BPr 25r	OT 50×				
		時期	時期						時期	時期						時期	時期							
BPr 群	513	前	/	+	/		PPDS 群	517	前	+	+	/	対 照 群	523	前	+	+	/						
		4週	±	+	/	4			20×20	18×18	/	4			13×13	18×16	/							
		6	-	+	-	6			20×20	-	-	6			+	+	/							
		8	+	+	-	8			16×17	8×8	-	8			-	+	+	/						
	514	前	/	+	/	PPDS 群		518	前	-	+	/		対 照 群	524	前	+	+	/					
		4	-	+	/				4	11×11	20×22	/				4	+	+	/					
		6	+	+	-				6	18×18	-	-				6	+	+	/					
		8	+	+	-				8	16×16	-	-				8	+	+	/					
	515	前	/	+	/			PPDS 群	519	前	-	+			/	対 照 群	524	前	+	+	/			
		4	+	+	/					4	+	±			/			4	+	+	/			
		6	-	+	-					6	21×25	13×13			/			6	+	+	/			
		8	+	+	-					8	20×20	11×11			10×10			8	+	+	/			
520	前	/	+	/	PPDS 群		520		前	-	+	/	対 照 群		524		前	+	+	/				
	4	+	+	/					4	22×28	20×20	/					4	+	+	/				
	6	-	+	-					6	20×20	13×15	/					6	+	+	/				
	8	+	+	-					8	16×18	11×11	-					8	+	+	/				

り強い反応を示す。例えば第1表で PPD-S 感作の実験群を見ると、PPD-S 処置群では実験経過に従って PPD-S と BPr に対する反応に変化なく、OT に対する反応のみ減弱した。一方、BPr 群では明らかに BPr に対する反応が増強し、PPD-S に対しては特に変化なく、OT に対しては PPD-S 群同様反応に殆ど出現しなかった。第2表の BPr 感作動物では、BPr 群の PPD-S, BPr に対する反応には変化が見られず、一方、PPD-S 群では PPD-S に対する反応が増強する傾向が見られたが、BPr に対しては余り変化を示さなかった。しかし、BPr, PPD-S 両群ともに OT に対しては殆ど反応が見られなかった。

2) 血中抗体：血中抗体の推移に関しては PPD-S 感作群のものを図1に、BPr 感作群のものを表3に示したが

図1 PPD-S 感作動物に於ける血中抗体の推移



PPD-S 感作の場合、各群とも何れの抗体の推移に対しても特異なパターンを示さなかった。又、表3に示されているように BPr 感作群の血中抗体価は極めて低かったため、その推移をあきらかに出来なかった。

3) 脾細胞融解現象：成績を表4に示した。両感作群の脾細胞は脱感作処置によって、それぞれの抗原に対する感受性が減弱し融解の程度は低下した。

総括および考按

ツ蛋白 PPD-S, 菌体蛋白 BPr でそれぞれ感作した動物を同じ2種の抗原を用いてそれぞれ交叉的に脱感作処

置し、血中抗体の変動、それらの抗原および OT に対する皮内反応、脾細胞融解現象を追求した。

先づ、皮内反応については次の2点が明らかとなった。その1つは感作に用いたものと同じ抗原で脱感作処置を行なった場合、同じ抗原に対しても、又、他の蛋白抗原に対しても皮内反応は終始陽性を維持して容易に脱感作されないことである。例えば、表1に示されているように、PPD-S 感作ウサギを PPD-S で脱感作処置をした場合、PPD-S に対しても BPr に対しても皮内反応は消失しなければ感弱もしないのである。次に、他の1つは感作原と別な抗原で脱感作する場合、例えば PPD-S 感作動物に対して BPr を用いて脱感作処置を行なうと

表3 BPr 感作動物に於ける血中抗体の推移

群別	動物番号	時期 抗体	脱感作	脱感作	脱感作
			前	4週	8週
BPr 群	513	多糖体	—	—	—
		磷脂質蛋白	—	20×	40×
	514	多糖体	—	20×	—
群	515	多糖体	—	—	—
		磷脂質蛋白	—	20×	20×
	517	多糖体	40×	20×	40×
PPD-S 群	518	多糖体	20×	20×	—
		磷脂質蛋白	—	40×	80×
	519	多糖体	80×	80×	80×
群	520	多糖体	—	—	—
		磷脂質蛋白	20×	20×	80×
	521	多糖体	80×	80×	80×
对照群	523	多糖体	—	—	—
		磷脂質蛋白	—	20×	—
	524	多糖体	—	80×	160×
		磷脂質蛋白	—	20×	20×
		蛋白	—	160×	640×

表 4 脱感作処置 8 週目の脾細胞融解

群 別	動物番号	添加抗原	PPD-s	BPr	OT
			100r	100r	5×0.1ml
PPD-s 群	501 502		94%	104	87
			80	94	92
感 作 群	BPr 群	505 506	82	70	93
			97	107	96
	対 照 群	509 510	79	70	83
			65	76	92
BPr 感 作 群	BPr 群	513 514	93	98	98
			92	101	83
	PPD-s 群	517 518	95	107	95
			110	93	107
対 照 群	523 524	64	64	52	
		74	78	63	

BPr に対する皮内反応の増強が見られることである。これは感作原に用いた ツ蛋白 PPD-S と脱感作に用いた菌体蛋白 BPr の間に部分的に抗原性の相違があって、ために BPr の頻回注射により別の新しい感作状態が成立するものと考えられよう。以上の2つの点はツ蛋白と菌体蛋白の間に免疫学的相違があることを明示しているものと思う。

又、両感作群を PPD-S, BPr の何れの抗原で脱感作処置した場合にも、OT に対する皮内反応が消失することは前報迄の結核死菌を感作に用いた場合と軌を一にする。しかしながら本実験では、一見奇異な現象として、PPD-S 感作群が PPD-S に対して脱感作されず、逆に、抗原としてはより複雑であると考えられる OT に対し脱感作がみられた。我々は前々回の報告において結核感作状態は決して1つの純粋な状態ではなくて、結核蛋白抗原の複雑性から見ていろいろ異つた感作状態の総合されたものであるとの考えを述べたが、以上の事実はこれら異つた感作状態の中で簡単に脱感作されるものと、容易に脱感作されないものがあることを示唆しているものではなからうか。PPD-S はツベルクリンから抽出される蛋白質であるが、抽出過程においていろいろな化学的物理的操作が加えられるので、ツベルクリンとは抗原性が異ると考えられる。従って抗原としての PPD-S の中にツベルクリンに対する感作を脱感作する部分があるものと考えられる。しかし、これは飽くまで1つの考

え方であってこれが事実かどうかは将来の研究に俟たねばならないが、いづれにせよ以上の事実は感作および脱感作機序が極めて複雑であることを示しているものと思われる。

次に血中抗体の推移についてみると、皮内反応と同様 PPD-S と BPr とでは生体内抗原性が異なることが分る。即ち BPr を注射した動物の約半数には血中抗体の出現が見られず、従って脱感作処置の血中抗体に対する影響についても全く知ることが出来なかった。これに反して PPD-S 注射動物では割合高い抗体産生が見られたが、各群間に相違は認められなかった。しかも全体としてみると、今回もまた、ツ・アレルギーと血中抗体の間に何らかの関係があるという証査は得られなかった。ツベルクリン・アレルギーないしは結核アレルギーの本質の解明には山村⁵⁾も指摘してゐるようにはアレルギーに直接関与する抗体を把握することが先決問題であろう。

脾細胞融解現象とツ反応の関係に関しては、今回の実験結果も前回とほぼ同様で、両者間に相関が見出せなかった。このように同じ蛋白系の抗原抗体反応を基調としている筈の細胞融解現象と皮膚反応が同一脱感作処置に対して何故異つた態度を示すのであろうか。これは動物のアナフィラキシーの場合にショック臓器があるように結核の場合も臓器によって感作状態そのものが異なるためではなからうか、臓器によって感作状態に差があれば、同一脱感作処置に対して各臓器が異つた態度を示すことは当然あり得ることであろう。古くから結核病変部が皮膚より速かに脱感作されると考えられていること⁶⁾はその証査であろう。なお又、動物に感作状態を惹起する結核蛋白抗原の多様性も考慮に入れなければならない。先に述べたように抗原の多様性の故に結核感作状態は決して1つの純粋な状態ではなく、異つたいろいろの感作状態の総合されたものと考えられるから、1つの臓器が抗原の1部分に選択的に感作され、他の臓器は抗原の他の部分に選択的に感作されることは当然あり得ると考えられる。このように考察すると我々の実験成績に見られる皮膚と脾細胞の脱感作の場合における差異が一応理解出来るように思うが、將して我々の考察が正しいかどうかは将来に残された研究課題である。

とまれ、結核に於ける脱感作の機序は一般に考えられている程簡単なものではない。古くから考えられているような単なる抗体の中和とか、皮膚反応阻止物質の出現 (Anticutin説) だけでは到底説明出来るようなものでないことは、我々の行なつて来た一連の実験結果から充分窮い知ることが出来るであろう。

結 論

ツ蛋白 PPD-S と結核菌体蛋白 BPr で感作した動物をそれぞれ PPD-S, BPr の両者で脱感作処置を行なって次の結果を得た。

1) 両感作群とも感作に用いたのと同一抗原で脱感作処置をした場合には同じ抗原に対しても他の抗原に対しても皮内反応は陽性を維持した。これに対し別の抗原の脱感作処置では、その抗原に対してのみ皮内反応の増強が見られた。しかし OT に対する皮内反応は何れの抗原の脱感作処置によっても陰性化した。

2) 何れの場合もツ型皮膚反応と血中抗体、脾細胞融解現象の3者間に関連は認められなかった。

3) 特に脱感作に対する皮膚反応と脾細胞融解現象の態

度が差が何故出現するかについて論じた。

終りに PPD-S を分与下さいました国立予防衛生研究所結核部、浅見望博士に深謝致します。

文 献

- 1) 山本健一他：結核の研究に掲載予定。
- 2) 山本健一他：結核の研究に掲載予定。
- 3) 染谷四郎，林治：日本細菌学雑誌，17，862，昭37。
- 4) 浅見望他：日本細菌学雑誌，17，857，昭37。
- 5) 山村雄一：科学，31，546，昭36。
- 6) Rich, A. R. : The pathogenesis of tuberculosis, Charles C. Thomas (1951)