
原 著

結核菌類脂肪體ノ免疫ニ就テ (第一回報告)

賦活體トシテ豚血清ヲ加ヘテ免疫スル方法

滿洲醫科大學微生物學教室(主任、戸田忠男教授)

箭 頭 正 男

緒 言

第一章 結核菌類脂肪體分離法

第二章 免疫方法

第一項 酒精「エーテル」浸出類脂肪體免疫

第二項 「エーテル」浸出類脂肪體免疫

第三章 實驗成績

第一項 酒精「エーテル」浸出類脂肪體免疫血清

ニ就テ

第二項 「エーテル」浸出類脂肪體免疫血清ニ就テ

第三項 「エーテル」浸出抗元ト「アルコール」
「エーテル」浸出抗元トノ抗元性ノ差異ニ就テ

結 論

文 獻

緒 言

細菌性類脂肪體ノ抗元性ニ關シテハ既ニ多數ノ實驗報告アリ。Nicolle⁽¹⁾ハ「チフス」菌及ビ大腸菌ノ肉汁培養酒精浸出液ニ就キ陽性ノ成績ヲ報告シ、Much⁽²⁾ハ「ナスチン」ニテ動物ヲ處置シ、「ナスチン」ニ對シテ補體結合反應陽性ノ免疫血清ヲ得タル事ヲ報告セリ。目黒氏⁽³⁾モ亦細菌類脂肪體ハ免疫原的作用ヲ有スト述べ、垣内氏⁽⁴⁾モ亦細菌脂肪體ハ細菌蛋白質ト等シク動物體內ニ於テ特異的抗體ヲ產生スト報告セリ。

然ルニ、一方細菌類脂肪體ノ抗原性ヲ否定スル報告モ亦尠ナカラズ。Kleinshmidt⁽⁵⁾ハ、「ナスチン」ヲ以テ家兎ヲ免疫スルモ抗體ヲ形成スル事ナシト報告シ、鈴木氏⁽⁶⁾モ亦嚴密ナル注意ノモトニ分離シタル「コレラ」菌、「チフス」菌類脂肪體ヲ以テ免疫セル家兎血清中ニハ特異免疫體ノ形成ヲ證スル能ハズト言ヒ、Borcic⁽⁷⁾ハ、「チフス」菌、「コレラ」菌、「ヂフテリー」菌、葡萄狀球菌ヲ、「ペプシン」、「トリブシン」ヲ以テ消化シテ後苛性曹達ヲ以テ該菌類脂肪體ヲ鹼化

シ、「エーテル」及石油「エーテル」ヲ用ヒ隈川須藤氏法ニヨリ脂肪ヲ抽出セシガ是等諸菌ノ類脂肪體ハ凝集免疫トシテノ性質ヲ缺クト述ベタリ。

而シテ細菌中結核菌ハ臘樣體乃至脂肪體ニ富ミ、該菌ヨリ抽出セル物質ノ免疫ハ、結核ノ診斷、治療竝ニ結核菌型分類ニ興味深ク本問題ニ關スル作業亦尠ナカラズ。即チ結核菌類脂肪體單獨ニテ抗元性ヲ有スト論ジタル實驗者トシテMeyer⁽⁸⁾ハ抗結核菌家兎免疫血清ハ結核菌ノ「アセトン」不溶性物質ヲ抗元トシテ補體結合反應ヲ呈スト述べ、渡邊氏⁽⁹⁾ハ結核菌「リボイド」樣物質ヲ以テ家兎ヲ免疫シ得タル血清ハ、抗類脂肪體作用ヲ有スルモ、其ノ力弱シトシ、藤澤氏⁽¹⁰⁾ハ結核菌類脂肪體ハ、爾他類脂肪體ト異ナリ結核菌毒素ニ對スル特殊抗元作用ヲ發揮スル事ヲ得ルト報告セリ。之レニ反シテ結核菌類脂肪體單獨ニテハ抗元性ナシト論ジタル諸家ノ主ナル人々トシテ、兒玉、林氏⁽¹¹⁾等ハ、結核菌ノ

酒精抽出物、「エーテル、クロ、フォルム」抽出物等ヲ以テ家兎ヲ免疫スルモ、抗體ヲ成立セシメ得ズト報告セリ。

而シテ、Forssman ガ Forssman 氏抗原ヲ以テ家兎ヲ免疫スレバ、抗體ヲ發生スル事ヲ發見シタルモ、純粹類脂肪體ハ、ソレノミ單獨ニテ家兎ヲ免疫スルモ抗體ヲ產生シ難キコトハ、多クノ學者ノ述ブル所ナリ。然ルニ Landsteiner⁽¹²⁾ガ、Forssman 氏類脂肪體ニ、豚血清ヲ附加シテ免疫スレバ、Forssman 氏抗體ヲ產生セシメ得ルト云フ事實ヲ發見シテヨリ細菌類脂肪體ニモコレヲ應用シ、石原及ビ吉田氏⁽¹⁴⁾ハ細菌「リボイト」ハ賦活體ヲ加フルコト無クシテ抗體ノ產生ヲ見ルモ、賦活體ヲ加フレバ抗體形成常ニ優良ナリト述べ、田氏⁽¹⁵⁾モ亦メチニコフ氏及ビデチケ氏兩菌ニツキテ實驗シ、細菌類脂肪體モ亦動物血球竝ニ臟器類脂肪體ト同様類脂肪體單獨ニテハ抗體產生能力殆ンドナク、異種蛋白ト結合シテ初メテ抗體產生能力ヲ獲得スルモ

ノナリト述べタリ。Warden⁽¹⁶⁾モ亦賦活體無クシテハ細菌類脂肪體ノ補體結合性抗體產生ハ疑ハシト言ヒ、Zurukzogl⁽¹⁸⁾ハ、「チフス」菌ノ「エーテル」、「アセトン」酒精浸出物及ビ是等ノ浸出物ニ豚血清ヲ附加セルモノヲ以テ「モルモット」ヲ免疫シタルニ、其ノ免疫血清ハ凝集反應及ビ補體結合反應ヲ示サズト述べタリ。然ルニ A. Klopstock 及 Witebsky⁽¹⁷⁾ハ結核菌及 Proteus ×19 菌ニ就キテ實驗シ、菌ノ酒精浸出物ハ賦活體ヲ加フル事ナクシテ類脂肪抗體ヲ形成スト述べタリ。

此ノ如ク細菌類脂肪體ノ抗原性ニ關シテハ諸報告多キモ未ダ一致スルトコロナキ状態ナリ。茲ニ於テ余モ亦諸種結核菌類脂肪體ノ抗原性ニ關スル研究ヲ企テ、先ヅ人型結核菌類脂肪體ニ、賦活體トシテ豚血清ヲ加ヘ家兎ヲ免疫スルコトニヨリ補體結合性抗體ヲ產生シ得ルヤ否ヤニ關スル實驗ヲ行ヘリ。

第一章 結核菌類脂肪體分離法

結核菌類脂肪體ノ抗原性ノ研究ニ應用セラレタル類脂肪體分離法ハ從來種々アリ。即チ渡邊氏法⁽⁹⁾、藤澤氏法⁽¹⁰⁾、Anderson 氏法、⁽¹¹⁾Heidelberg 及 Avery⁽²⁰⁾ 等ノ分離方法ナリ。余ハ次記ノ方法ニヨレリ。

1. 酒精「エーテル」浸出液。

「グリセリン」肉汁ニ、7 週間培養セル結核菌(奉天株及ビ北里株)ヲコッホ氏蒸氣釜ニテ 30 分間加熱殺菌シ、コレヲ濾紙ニテ濾過シ、生理的食鹽水ニテ充分ニ洗滌シ、洗滌液ノ肉汁色消失スルニ至リ、コノ菌體ヲ濾紙ニテ充分脱水シ、陰壓硫酸乾燥器内ニテ充分ニ乾燥シ、コレヲ乳鉢内ニ

テ磨碎シテ微細ナル粉末トナセリ。之ヲソクスレット浸出器ニテ先ヅ、酒精ニテ 1 週間浸出シ更ニ「エーテル」ニテ 1 週間浸出シ、無菌的溶液トナシコレヲ蒸發セシメテ黃褐色ノ蠟様物質ヲ得タリ。假リニコレヲ酒精「エーテル」浸出類脂肪體ト稱ス。

2. 「エーテル」浸出液。

前項同様ナル操作ヲ施シ、ソクスレット浸出器ニテ「エーテル」ヲ以テ浸出シ、黃褐色臘様物質ヲ得、コノ物質ヲ「エーテル」浸出類脂肪體トシテ實驗ニ使用セリ。

第二章 免疫方法

第一項 酒精「エーテル」浸出類脂肪體免疫

實驗動物ハ、體重 1300 瓦内外ノ健康支那產家兎ヲ選ビ、3 匹宛ニ群ニ分チ、類脂肪體ノ賦活

體トシテ豚血清ヲ用ヒタリ。而シテ後述スルガ如キ量ヲ、10 日間毎日耳靜脈内ニ注射シ、最後ノ注射ヨリ 10 日後、全採血ヲ行ヒ血清ヲ採取ス。

第1群。結核菌100 疋ニ相當スル酒精「エーテル」浸出類脂肪體ヲ10%豚血清3 兎ニ浮游セシメ1日量トシテ注射セリ。

第2群。結核菌100 疋ニ相當スル酒精「エーテル」浸出類脂肪體ヲ生理的食鹽水3 兎ニ浮游セシメタルモノヲ1日量トシテ注射セリ。

第3群。10%豚血清3 兎ヲ1日量トシテ注射セリ。

第4群。結核菌100 疋ヲコッホ氏蒸氣釜ニテ30分間加熱殺菌シ、コレヲ乳鉢ニテ充分ニ磨碎シ生理的食鹽水1 兎ニ浮游セシメタルモノヲ1日量トシテ注射セリ。

第2群、第3群、第4群ハ對稱トシテ行ヘルモノナリ。

第二項 「エーテル」浸出類脂肪體免疫

實驗動物ハ、體重1600 瓦内外ノ健康支那產家兎ヲ3 匹宛4 群ニ分チ、賦活體トシテハ前實驗ト同様豚血清ヲ用ヒ、注射方法ハ、抗體產生ヲ充分ナラシメルタメ、10日間毎日連続的ニ注射シ次デ5日間中止シ、再ビ10日間第1回注射量ノ倍量ヲ注射シ、後5日間中止シ、更ニ第1回量ノ3倍量ヲ1週間連日注射セリ。最後ノ注射ヨリ10日間後全採血ヲナス。

第1群。先ヅ結核菌100 疋ニ相當スル類脂肪體ヲ10%豚血清3 兎ニ浮游セシメタルモノヲ1日量トシテ10日間注射ス。次ニ5日後類脂肪體ハ第1回ノ倍量ヲ10%豚血清3 兎ニ浮游セシメタルモノヲ1日量トシテ10日間注射ス。猶5日後第1回ノ3倍量ノ類脂肪體ヲ10%豚血清3 兎ニ浮游セシメタルモノヲ1日量トシテ7日間注射ス。

第2群。第1群ト全く同量、同方法、同期間ヲ類脂肪體ノミニテ免疫セリ。

第3群。10%豚血清ノミニテ免疫セリ。

第4群。先ヅ結核菌100 疋ニ生理的食鹽水3 兎ヲ加ヘタルモノヲ1日量トシテ10日間連續注射ス。次デ5日後ニ第1回量ノ結核菌ヲ生理的食鹽水3 兎ヲ浮游セシメタルモノヲ1日量トシテ10日間連續注射ス。猶5日後ニ第1回量ノ3倍量ノ結核菌ヲ生理的食鹽水3 兎ニテ浮游セシメタルモノヲ1日量トシテ7日間連續注射ス。

本免疫試験ハ實驗期間長キ爲中途ニテ斃死セルモノアリ、カ、ル時ハ、新シキ家兎ヲ補ヒ第1回ヨリノ注射ヲ爲セリ。

第三章 實驗成績

第一項 酒精「エーテル」浸出類脂肪體免疫血清ニ就テ

抗元原液ノ製法。結核菌3 瓦ニ相當スル酒精「エーテル」浸出類脂肪體ヲ、0.5 兎ノ無水酒精ニ溶解シ9.5 兎ノ生理的食鹽水ヲ加ヘタルモノヲ抗元原液トス。

溶血素。山羊血球免疫家兎血清ヲ非動性トナシ本試験ニハ溶血量ノ2倍量ヲ用ヒタリ。

血球浮游液。山羊ノ脱纖維血液ヲ生理的食鹽水ニテ3回洗滌シ、5%浮游液トナシタルモノヲ用ヒタリ。

補體。新鮮「モルモット」血清ヲ10倍ニ稀釋シ、ソノ0.5 兎ヲ使用セリ。

而シテ試験管ノ試験全容量ヲ、2.5 兎トセリ。

I. 抗元ノ抗補體價測定。

抗元ノ原液及ビ其10倍稀釋液ヲ遞減的ニ、小試験管ニ注加シ、是ニ10倍稀釋補體0.5 兎ヲ加ヘ、更ニ生理的食鹽水ヲ加ヘテ全量1.5 兎トス、コレヲ37度孵卵器内ニ、1時間保チタル後、溶血素ノ二單位ト、5%血球液0.5 兎ヲ注加シ、充分ニ混和シ、37度孵卵器内ニ、2時間保チタル後結果ヲ判讀シ約20時間冷室内ニ置キ再ビ檢ス。

成績。1. 本抗元ノ原液ハ、單獨ニテソノ0.2 兎ハ血球溶解作用ヲ障碍ス。

2. 10倍稀釋ノ本抗元0.2及ビ0.1 兎加ヘタルモノニ於テハ、血球完全ニ溶解シテ防止作用ヲ示サズ。

第 一 表

抗原量cc	成績	抗原量cc	成績
0.5	O	0.05	st
0.2	O	0.02	K
0.1	mK	0.01	K

備考 O. ハ非溶血、sp. ハ痕跡溶血
mk. ハ弱溶血、st. ハ強溶血
fK. ハ殆ンド溶血
K. ハ完全溶血ヲ意味ス

3. 本抗原ノ使用量ハ、溶血防止作用ナキ最少量ノ2分ノ1。即チ10倍液ノ0.1兊トス。

II. 抗原ノ單獨血球溶解作用ノ有無試験。

抗原ハ原液或ハ其10倍稀釋液ヲ小試験管ニ遞減的ニ注加シ、5%血球液ヲ加ヘテ振盪混和シ、

生理的食鹽水ヲ加ヘテ全量ヲ2.5兊トシテ時々振盪シツ、37度ノ孵卵器内ニ、2時間收メ後、結果ヲ見、更ニ冷室ニ約20時間置キタル後再ビ判讀セルニ單獨ニテハ、血球溶解作用ナキコトヲ知レリ。

III. 本試験

各非動性免疫血清ヲ0.2兊ヨリ遞減的ニ小試験管ニ入レ、コレニ10倍稀釋抗原ノ0.1兊宛ヲ加ヘ、更ニ10倍補體0.5兊宛ヲ加ヘ、生理的食鹽水ニテ全量ヲ1.5兊トナシ、37度ニ、1時間保テ後、感作血球液1兊宛ヲ加ヘテ、37度ノ孵卵器内ニ2時間收メテ成績ヲ判讀シ、更ニ翌朝迄冷室ニ置キ、再ビ成績ヲ判讀ス。

第 二 表

免疫血清量cc	免疫原「アルコール、エーテル」浸出類脂肪體						結核菌體			10%豚血清		
	10%豚血清			單獨			40	43	7	74	185	76
	80	81	15	79	78	73						
0.1	O	O	O	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.05	O	O	O	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.01	mK	fK	st	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.005	fK	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.001	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K

第二表ニ示スガ如ク、結核菌ノ酒精「エーテル」浸出類脂肪體ヲ抗原トシ、同抗原ト豚血清ヲ加ヘテ免疫シタル免疫血清トノ補體結合反應ハ、陽性ナリ。然レドモ、類脂肪體ノミニヨル免疫血清、豚血清ノミノ免疫血清及ビ結核菌體ノミノ免疫血清ニテハ、補體結合反應ハ陰性ナリ。表ニ示サザリシモ、補體結合反應陽性大ナリシ各免疫血清ハ自家溶血防止作用ヲ示サザリキ。

第二項 「エーテル」浸出類脂肪體
免疫血清ニ就テ

抗原原液ノ製法。結核菌2兊ニ相當スル結核菌「エーテル」浸出類脂肪量ヲ0.5兊ノ無水酒精ニ溶解シ、9.5兊ノ生理的食鹽水ヲ加ヘタルモノヲ抗原原液トス。

I. 前項ト同様ニ抗原ノ單獨血球溶解作用ノ有

無試験ヲ行ヘルニ、本抗原モ亦原液及ビ10倍稀釋液ヲ使用スルモ、單獨ニテハ血球溶解作用ナキコトヲ知レリ。

II. 抗原ノ抗補體價測定モ前項ト同様ニシテ行ヘルニ、第三表ノ如キ結果ヲ得タリ。即チ本抗原ノ原液ハ單獨ニテ血球溶解作用ヲ防止シ、最少完全溶血量ハ、0.2兊ナリ。故ニソノ使用量ハ、0.1兊トセリ。

第 三 表

抗原量cc	成績	抗原量cc	成績
0.5	O	0.05	st
0.2	O	0.02	K
0.1	mK	0.01	K

III. 本試験。

實驗方法ハ、前項ト同ジ。ソノ結果ハ、第四表ガ示スガ如ク結核菌「エーテル」浸出類脂肪體ト

10%豚血清トヲ加ヘ免疫シテ得タル免疫血清トノ間ノ補體結合反應ハ陽性ナルモ、豚血清免疫血清、類脂肪體ノミニヨル免疫血清、菌體ノミ

ノ免疫血清トハ、補體結合反應ヲ示サズ。表ニ示サザリシモ補體結合反應陽性ナリシ免疫血清ハ自家溶血防止作用ヲ示サザリキ。

第 四 表

免疫血清量cc 免疫血清番號	「エーテル」浸出類脂肪體						結核菌體			10%豚血清		
	10%豚血清		單 獨				164	78	75	183	187	188
	77	186	182	184	181	185						
0.1	O	O	O	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.05	O	O	O	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.01	mK	mK	st	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.005	mK	fK	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.001	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K

第 五 表

免疫血清量cc 免疫血清番號	結核菌「アルコール、エーテル」浸出類脂肪體			結核菌「エーテル」浸出類脂肪體		
	「エーテル」浸出類脂肪體 + 10%豚血清			「アルコール、エーテル」浸出類脂肪體 + 10%豚血清		
	77	182	186	80	81	15
0.1	O	O	O	O	O	O
0.05	O	O	O	O	O	O
0.01	mK	mK	mK	mK	mK	mK
0.005	mK	st	fK	fK	mK	mK
0.001	K	K	K	K	K	K
0	K	K	K	K	K	K

コホルル、エーテル」浸出抗元性ノ差異ニ就テ

酒精、「エーテル」浸出抗元ト「エーテル」浸出抗元トニ對シ是等ノ抗元ニ賦活體ヲ附加シテ免疫セル家兔血清トノ間ニ交互ニ補體結合反應ヲ行ヒシ一、第五表ニ示ス如クソノ反應ノ程度ハ同質抗原及抗體反應ト同程度ナリ。即チ兩種浸出法ニヨリテ得タル類脂肪體ノ抗元性ニ差異ナキコトヲ認

第三項 「エーテル」浸出抗元ト「アル

メタリ。

結 論

1. 人型結核菌ノ「アルコール、エーテル」浸出混合類脂肪體及ビ「エーテル」浸出類脂肪體ハ、單獨ニテハ家兔ニ抗體ヲ產生セシメ得ザルモ、賦活體トシテ豚血清ヲ混合免疫スル時ハ、免疫ニ用ヒタル類脂肪體ニ反應スル補體結合性抗體ヲ產生セシメ得。
2. 「アルコール」、「エーテル」浸出混合類脂肪體及ビ「エーテル」單獨浸出類脂肪體ハ同一性質ヲ有シ相互ニ同一程度ニ補體結合反應ヲ呈セリ。

3. 豚血清家兔免疫血清、結核菌家兔免疫血清竝ニ、前記兩類脂肪體單獨免疫血清ハ、兩類脂肪體ヲ抗元トスル補體結合反應ニ陰性反應ヲ呈セリ。
4. 以上證明セル補體結合性抗體ヲ各型結核菌類脂肪體ト反應セシメ人型結核菌類脂肪體ニ特異ナリヤ否ヤニ關シテハ第二回報告ニ讓ル。摺筆ニ臨ミ、恩師豊田前教授及ビ戸田教授ノ懇篤ナル御指導及校閲ニ對シ滿腔ノ謝意ヲ表ス。

文 獻

- 1) **Much, H.**, Münch. med. Woch., 1912. Bd. 53. S. 685. 2) **垣内善八**, 衛生傳染病學雜誌, 昭和三年. 23 卷. 115 頁. 3) **目黒庸三郎**, 細菌學雜誌, 大正六年. 264 號. 752 頁. 4) **Klein-schmid, H.**, Berl. klin. Woch., 1910. Bd. 47. S. 57. 5) **鈴木三郎**, 細菌學雜誌. 大正 9 年. 295 號. 205 頁. 6) **Borcic, B.**, Biochem. Zeit., 1920. Bd. 106. S. 212. 7) **Nicolle**, 石原, 吉田氏ノ論文ニヨル. 8) **Meyer, K.**, Zeit. für Immunitätsforsch. Orig., 1912. Bd. 14. S. 359. 9) **渡邊義政**, 細菌學雜誌. 大正六年. 264 號. 717 頁. 10) **藤澤義雄**, 結核. 大正十二年. 1 卷. 694 頁. 11) **兒玉豐次郎**, **林武雄**, 十全會雜誌. 大正八年. 24 卷. 465 頁. 12) **Landsteiner, K.** and **Simmus, S.**, J. Exp. Med., 1923. Vol. 38, p. 127. 13) **石原房雄**, **吉田次郎**, 實驗醫學雜誌, 昭和三年. 12 卷. 544 頁. 14) **田章吾**, 社會醫學雜誌, 昭和四年. 514 號. 1082 頁. 15) **Warden, C. C.**, J. Infect. Disease., 1918, Vol. 22. p. 123. 16) **Klopstock A. u. Witebsky, E.**, Klin. Woch., 1927. Bd. 6. 8. 119. 17) **Zurukzoglu, St.**, Zeit. für Immunitäts., 1927. Bd. 49. S. 304. 18) **Anderson, R. J.**, J. Biolog. Chem., 1927. Vol. 74. p. 525. 19) **Heidelberger, M. and Avery, O. J.**, J. Exp. Med., 1923. Vol. 38, p. 73. Eisler M. u. Ehrlich, E., Zeit. f. Immunitäts., 1927. Bd. 53. S. 151.