

# 結核内皮反應の研究

## 第2報 乾酪性肺炎の家兎肺組織及結核菌体抽出物による皮内反應

北海道大学医学部第2内科教室(主任 中川教授)

高崎 五郎

### 第1章 緒論

近時免疫の研究において、抗元性というものは従来考えられているように簡単なものでなく、病原体感染臓器に可溶性抗元が存在するという新しい構想を抱くものが英米の学者及び本邦の一部の学者に現われてきたことは注目すべきであると報告されている<sup>1)</sup>。

結核症においても、これを補体結合反応及び沈降反応によつて証明することが出来たと Hirsfeld iü. Halber<sup>2)</sup>、中村豊教授及びその門下<sup>3)</sup>、児島<sup>4)</sup>等が報告している。

さきに私は乾酪性肺炎を発生させた家兎の肺組織から酸性加熱法に準じて抽出した物質を以て皮内反応を行い、この反応が活動性結核の診断<sup>5)</sup>に役立つことを報告した。

この物質の化学的性状についてはなお研究中であるが、呈色反応によつてみれば、多糖類を主とし、微量の蛋白を混じている物質からなるものと思われるが、かかる生物学的作用は果して大部分の多糖類と微量の蛋白が適当な比率に混在することによるものか或は一方の物質によるかは別問題としても、此抽出物には菌体成分が混じており、これが果してどんな役割を演じているやに關してはなお検討を要する点である。

私は今回この間の關係の一端を明らかにしようとして実験を試みた。

### 第2章 實驗方法

#### 1. 皮内反應用診断液の製法

##### 1) 結核菌体抽出物

人型結核菌をソートン変法培地に6週間培養後、60°、60分加熱滅菌し、乾燥したものに約2

倍量のアルコール・エーテル混合液(1:1)を加え、孵卵器内に(37°C)5日間、2回抽出し、

#### 第1表 抽出法

##### 脱脂結核菌

- 約200倍の生理的食塩水を加え、これを蒸発皿で約 $\frac{1}{4}$ に濃縮する。
- 弱醋酸でpH 3.8とし、2時間、100°C加熱、その間2~3回反応修正。

遠心沈澱(3000回、30分間)

- 沈澱物
- 上清をシヤンペラン L<sub>3</sub>で濾過する。
  - 濾液を蒸発皿に移し、原量の $\frac{1}{10}$ 量に濃縮。
  - 微量の醋酸ソーダを加え、更に4~5倍量の純アルコールを加え、一晝夜放置

遠心沈澱(3000回、30分間)

沈澱物をクロロフォルム 50 cc + n-ブチルアルコール 10 cc. 中で約12時間振盪してN含有物質の除去にとめ、濾過して乾燥する。

これをクロロフォルム約2倍量で同様に5日間抽出し、遠心沈澱乾燥し、磨砕した脱脂結核菌から第1表に示す通り、組織抽出法と略同様な方法で抽出し、後述するような稀釈液を作り、その0.1 c.c. 用いた。

#### 2) 乾酪性肺炎の家兎肺組織抽出物

武田、新保法によつて乾酪性肺炎を発生させた家兎の肺組織から前回と同様な方法で抽出し、その3万倍溶液を作り、力価検定したものを0.2 c.c. 用いた。

3) 旧ツベルクリンは北里製 2000倍溶液を0.1 c.c. 用いた。

ただ稀釈に際し3反応共に0.5%の割合に石炭酸を加えることを改めて0.25%の割合に石炭酸を加えた生理的食塩水を用いた。

2. 注射方法及び判定法

1 側の前膊屈側面に之等の溶液を先に述べた量を正確に皮内に注射し、48時間後の発赤に浸潤を加味して計測した。

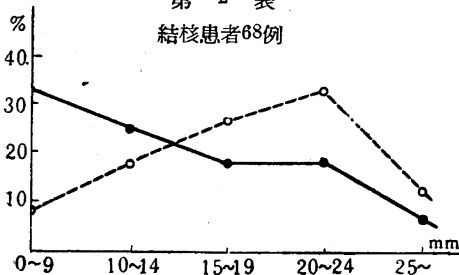
陰陽の判定は便宜上 10 mm 以上を陽性とし、0~9 mm を (-)、10~14 mm を ±、15~19 mm を +、20~24 mm を 卍、25 mm ~ を 卍とした。

第3章 実験成績

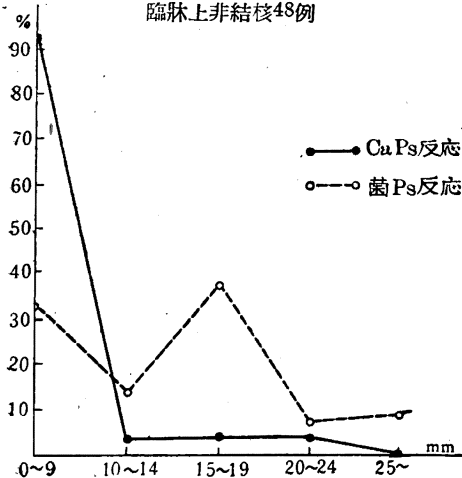
1. 菌体抽出物の 10 万倍溶液による比較成績  
 最初中武<sup>6)</sup>に準じ菌体抽出物の 10 万倍溶液を用い、レ線像、赤沈速度、ツ反応、体温、ガフキ一度、その他の一般状態を総合した結果から、臨牀上非結核 48 例、その中ツ反陽性 33 例 (但し B. C. G. 陽転者を含みます)、ツ反陰性者 15 例及結核 68 例、その中急性進行性患者 20 例、闘争旺盛な患者 33 例、回復期患者 15 例の 5 群に分類して比較した。

その成績は第 2 及 3 表に示す通り、菌体抽出液による皮内反応はツ反陰性の非結核者では常に陰

第 2 表  
結核患者 68 例



臨牀上非結核 48 例



第 3 表  
臨牀上非結核 48 例

ツ 反 応	菌 Ps 反 応	Ca Ps 反 応
+ 33 例	+ 32 例 - 1 例	+ 3 例 - 30 例
- 15 例	+ 0 - 15 例	+ 0 - 15 例

結核患者 68 例

成績 病期	例数	菌 Ps 反 応 陽 性 率	Ca Ps 反 応 陽 性 率	何れか一方のみに陽性例		両反 応 共 に 陰 性 例
				菌 Ps	Ca Ps	
急性進行性の者	20	75%	30%	6	9	0
闘争旺盛な者	33	100%	95%	31	2	0
回復期患者	15	100%	80%	12	3	0

性を呈したが、ツ反陽性者では結核及非結核の別なく大部分が陽性を呈した。然るに組織抽出物による皮内反応の陽性者中の特定の者に見出され且両反応の強度には必ずしも比例しなかつた。即非結核者、急性進行性患者及治癒停止状を呈すると思われる回復期患者、特に肋膜炎及び肋膜肥厚の患者、ストレプトマイシンの投与をうけて驚くべき著効をえた患者においては、ツ反及び菌体抽出物による皮内反応が著しく強い例があるに拘らず、組織抽出物による皮内反応は大部分が陰性を呈した。ただ闘争旺盛な患者に次いで、回復期患者では 3 反応略一致して陽性を呈するものが多かつた。

対照例において組織抽出物による皮内反応が陽性を呈した 6 例の中、3 例は胸部プラツテでは著変を認めない 20 歳代の青年であつて経過を観察中であるが、他の 3 例では増殖硬化型肺結核の合併を偶然見出すことが出来たといつた事実を今回の実験においても経験した。

2 菌体抽出物の 100 万倍及び 500 万倍溶液による成績

菌体抽出物の 100 万倍溶液ではツ反陽性の非結核 11 例中陽性 2 例、疑陽性 6 例、陰性 3 例であり、ツ反陽性の結核 12 例では陽性 5 例、疑陽性

5例、陰性2例であつた。

この500万倍溶液ではツ反陽性の非結核10例中2例が陽性を呈し、ツ反陽性の結核11例中2例が陽性を呈した。

#### 第4章 考 按

結核菌体多糖類は多数の研究者による異つた精製法により異つた成績を示し、精製多糖類に関する研究は、これまでの方法によつては、その本態について決定的な解決を与えることは出来ないと考えられる。従つて私は純度の問題は別として、兎も角現在まで報告されたもののうち、これを臨牀に應用した主なものをあげ、私がえた成績につき考按を試みたい。

中武は Boivin 氏三塩化醋酸抽出法により結核菌体から多糖類をえて、その10万倍溶液を以て皮内反応を行い、ツ反陽性の結核及非結核例の大部分が陽性が陽性を呈したと報告し、丸山<sup>7)</sup>は独自の方法で抽出した特異抗原性物質(多糖類を主とし、微量の蛋白を混する)を抽出し、これをワクチンとして皮膚結核の治療を試み、その際此物質を以て皮内反応を試み、その至適濃度で特異性陽性反応を呈し、マンツール反応において此物質の1万倍溶液を旧ツ2000倍溶液に略々相当し、本抗原を以て結核自然感染並に B.C.G. 接種者について皮内反応を行い、興味ある結果をえていると予報している。

私は組織抽出物による皮内反応の陽性者が既述の如くツ反及び菌体抽出物による皮内反応の陽性者中の特定の者に見出される成績をえたが、菌体抽出物の10万倍溶液では略中武の成績と一致した成績をえた。

B. C. G. 陽転者については後日改めて検討したい。

次に例数は少いのであるが、菌体抽出物による皮内反応は既述の如く、種々稀釈することによつて、結核及非結核の別なく陽性率は漸時低下してゆくようであり、組織抽出物による皮内反応のよるな結果をえることは出来なかつた。

私はさきに健常家兎肺組織及び開放性肺結核患者の喀痰から同様な方法で抽出した1万倍溶液を

もつて結核及び非結核に皮内反応を試み、陰性の結果をえたが、これを今回の実験と比較すれば、開放性結核患者の喀痰にしても、肺結核組織にしても菌体成分が混在しているが、かかる抽出法による稀釈液を以てしては、今回の実験に示されたような菌体成分そのものによる皮膚反応を呈する作用を發揮するに至らないのでないか、更に肺結核組織抽出物のかかる生物学作用は菌体成分の混在によるものでなく別個な作用を有するものでないかと推定されるのであるが、実験未だ中途であり、疑義決定には更に他日を期したい。

#### 第5章 結 論

(イ) 乾酪性肺炎の家兎肺組織抽出物及びこれと略々同様な方法で結核菌体から抽出した物質を以て結核及非結核に皮内反応を行つた。

(ロ) 結核菌体抽出物の10万倍溶液を以てすればツ反陽性者では結核及び非結核の別なく大部分が陽性を呈した。

(ハ) 組織抽出物による皮内反応の陽性者は、ツ反及び菌体抽出物による皮内反応の陽性者中の特定の者に見出され、且つ両反応の強度には必ずしも比例しない。非結核者、急性進行性患者、治癒停止状を呈する回復期患者ではツ反及び菌体抽出物による皮内反応が著るしく強い例があるに拘らず、組織抽出物による皮内反応は大部分陰性を呈した。

(ニ) 闘争旺盛な者に次いで回復期患者では3反応略一致して陽性を呈する者が多い。

(ホ) 菌体抽出物による皮内反応はこれを種々稀釈することによつて、結核及び非結核の別なく陽性率は低下するようである。

(ヘ) 肺結核組織抽出物のかかる生物学的作用は菌体成分の混在によるものでなく、別個の意義を有するものの如くである。

擧筆するに当り終始御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師中川教授に満腔の感謝を捧ぐ。

#### 文 献

- 1) 日本臨牀、7: 556, 昭24
- 2) Hirszfeld in Halber: Seitsohr. Immun. Forschg. 85: 447~473, 1935

- 3) 中村豊, 佐々木源三郎, 梅田芳次郎: 北海道医学会雑誌, 18: 1954~1971, 昭15  
 4) 児島道弘: 血清免疫学雑誌, 4: 51~80, 昭18  
 5) 高崎五郎: 結核, 25: 85, 昭25

- 6) 中武二良: 熊本医学会雑誌, 19: 1062~1079, 昭18  
 7) 丸山千里: 日本臨牀結核, 8, 4, 昭24

## 結核菌の毒力に関する実験的研究 (第1報)

### 弱毒及び強毒人型菌の皮下接種によるモルモット臓器内の生菌の消長並びに病理組織学的所見について

国立公衆衛生院衛生微生物学部

染谷 四郎・川村 達

国立予防衛生研究所病理学部

江頭 清之

#### 1 ま え が き

著者<sup>①</sup>等はさきに結核菌の毒力に関する研究において、実験に用いる菌株の条件の如何によりその成績に著しい差異があらわれること、すなわちその使用菌が分離後どの位の期間継代培養されてきているかが考慮されねばならないことを述べた。今回は喀痰より分離後長期間の継代培養により弱毒化した人型結核菌と分離して間もない強毒人型結核菌とをモルモットに接種し、体内臓器における結核菌の消長及びその病理組織学的所見を観察し、結核菌の毒力の問題を検討した。その成績の一部は既に他の機会<sup>②③</sup>において発表した、ここにその成績をまとめて報告することにする。

#### 2 実験方法

本実験に用いた結核菌株は芝157株及び馬場株であつて、何れも結核患者の喀痰より分離培養したもので、芝157株は分離後約4年間馬鈴薯グリセリン培地に継代培養を行つたもので、馬場株は分離後間もない人型結核菌である。この両菌株について夫々その0.01mgをツベルクリン反応陰性の体重350瓦乃至450瓦のモルモットの右下腹部皮下に接種し、その後2日、5日、10日、15日、21日、35日、45日、56日及び84日に、芝157株接種群では6頭、馬場株接種群では3頭宛を屠殺剖

検し、まづ肉眼的所見を観察し剖見所見は佐藤法によつて記載した。次に菌接種局所、局所淋巴腺、後腹膜淋巴腺、門脈淋巴腺、気管淋巴腺、肺、肝脾について結核菌の定量培養を小川氏法<sup>④⑤</sup>により行い、発生したコロニー数より各淋巴腺及び臓器内の全結核菌生菌数を概算し、又これに併行して上記各臓器の病理組織学的検索も行つた。この間毎週ツベルクリン反応、接種局所、左右膝蓋淋巴腺、体重、栄養についても観察した。

#### 3 実験成績

##### (1) 接種局所及び淋巴腺の変化について

接種局所の変化は第1表に示すように接種後第1週の観察では芝157株接種群では接種局所の変化は遅く始り治癒傾向は強いのに反し、馬場株接種群では第1週において既に大部分硬結を示し、第5週以後においては殆ど潰瘍となり、接種局所の変化は早く起つて、潰瘍として永く続き、治癒傾向は少いことが見られた。次に膝蓋淋巴腺の変化のうち接種局所淋巴腺については第2表に、その対側淋巴腺については第3表に示す通り、馬場株接種群の方が明かに早くおこり、更に変化が強く殊に接種局所対側の淋巴腺の変化においては両群間の差が著明であつた。

(2) 肉眼的剖検所見について、接種後15日、21日、34日、45日、56日、84日における両菌株接