

原 著

結核菌より分離抽出せる特異抗原性物質溶液 による皮内反応に関する研究 (III)

ワクチン B および ワクチン C の皮膚反応原性

日本医科大学皮膚科教室(指導 丸山千里教授) 飯 田 康 衛

I 諸 言

わが教室では、人型結核菌の菌体より分離抽出せる特異抗原性物質溶液による、皮膚結核のワクチン療法を実施し、極めて良好なる成績を収めることに成功したが、一部の症例では必ずしも満足すべき成績に到達し得られなかつた。のみならず、病巣反応または全身症状の発現による病勢増悪を経験したものも尠くない。茲において、余等は該抽出物質溶液より刺激因子を能う限り除去し、使用上、より安全にして効果的なワクチンを調製せんと企図した。

従来、人型結核菌の菌体成分中、免疫原性保有成分として、蛋白質劃分は磷脂質劃分と共に極めて重視せられてきたことに鑑み、先ず、さきに調製せる特異抗原性物質溶液(ワクチン A)より多糖類劃分を能う限り除去し、比較的純粋なる蛋白質劃分のみを含有する溶液(ワクチン B)を調製し、これを臨床的に使用せるに、予期に反し、病巣刺激作用強く、症状を極度に増悪せしめた症例数例を出すに至り、該劃分に免疫原性が保有せられると否とにかかわらず、ひとまずその応用を中止するの止むなきに立ち至つた。

次で、前記特異抗原性物質溶液より能う限り蛋白質劃分を除去し、比較的純粋なる多糖類劃分のみを含有する物質の溶液(ワクチン C)を調製し、これを臨床的に使用せるに、病巣反応および全身症状を殆ど認めることなく、治癒作用亦顕著なることを確かめることができた。この成績も亦、従来の文献上の常識より考えて、予期に反するものであつた。

余は今回、上記 2 物質溶液を以て皮内反応を実施し興味ある成績を収めたので、その大要を報告する。

II 抗原調製方法(ワクチン B, C 抽出法)

1) 蛋白質劃分(ワクチン B): 人型結核菌青山株の液体培養を濾別し、液体成分をすて、菌体のみを蒸留水に浮遊させ、水浴中で加熱(100°C 120 分)し、菌体成分を充分浸出せしめる。次で、遠心沈澱を行い、沈澱をすて、上清をベルケフエルト濾過管で濾過し、この濾液にズルフォサリチル酸を 6% の比に加え、遠心沈澱を行

い、生ずる沈澱に 20% 苛性曹達を加えて溶解し、更に pH を修正して 7.0 に至らしめ、これに蒸留水を加え更に 0.85% の比に食塩、0.5% の比に石炭酸を加えて、本物質の 1% 溶液をつくり、これを原液として必要に応じ適宜に稀釈する。該抽出物質は第 1 表に示す如く蛋白諸反応陽性を呈する。

第 1 表

反 応	成 績
Ninhydrin	+
Biuret	+
Millon	+
Xanthoprotein	+
Sulfosalicyls.	卅
Trichloressigs.	卅
Nylander	-
Molisch	±

2) 多糖類劃分(ワクチン C): 人型結核菌青山株の液体培養を濾別し、液体成分をすて、菌体のみを蒸留水に浮遊させ、水浴中で加熱(100°C 120 分)し、菌体成分を充分浸出せしめる。次で、遠心沈澱を行い、沈澱をすて、上清をベルケフエルト濾過管で濾過し、この濾液にズルフォサリチル酸を 6% の比に加え、遠心沈澱を行い、沈澱をすて、上清に 20% 苛性曹達を加えて pH 6.4 に至らしめる。次で、4 倍量の蒸留水を加えたのち 3 倍量の冷無水アルコールを加え、生ずる沈澱を遠心分離して、これに蒸留水を加え更に 0.85% の比に食塩を 0.5% の比に石炭酸を加えて、本物質の 1% 溶液をつくり、これを原液として必要に応じ適宜に稀釈する。該抽出物質は第 2 表に示す如く多糖類劃分を含有し、健康動物(家兎、モルモット)並びに結核動物(モルモット)に對

第 2 表

反 応	成 績
Ninhydrin	-
Biuret	-
Millon	-
Xanthoprotein	-
Sulfosalicyls.	-
Trichloressigs.	-
Nylander	-
Molisch	卅

し、殆ど毒性を示さず、又本物質を以て免疫せる家兎血清中には補体結合性抗体を証明する。但し、ツ・アレール賦与能力は証明できない。

III 実験方法

注射方法、観察方法等は第1報と同様であるが、ただ注射部位として上膊前面を選び、両反応原（ワクチンと対照ツ液）を上下に約4cmの間隔にて夫々0.1cc皮内注射した。実験1)のみは第1報と同様注射部位に左右前膊屈側を選んだ。

IV 実験成績

1) ワクチンBの10000倍稀釈液に就て

東京都内某病院における街娼103名を対象とし、53名

第3表 ワクチンB 10000倍液による発赤の度数分布

時間 発赤mm	24時間		48時間	
	ワクチンB	ツ	ワクチンB	ツ
0	2	4	4	9
1-2	0	1	0	1
3-4	23	33	7	9
5-6	9	19	6	17
7-8	14	6	4	5
9	5	5	2	2
10	4	1	6	2
11-12	3	5	7	7
13-14	12	9	23	14
15-16	10	7	9	9
17-18	9	6	6	8
19-20	3	3	8	4
21-22	4	1	6	2
23-24	2	2	2	1
25-	3	1	3	3
合計	103	103	93	93
硬結	23	12	43	21
二重発赤	4	1	4	2

は右側前膊屈側にワクチンB、左側対称部位にツ液を、50名は反応原を夫々左右逆に皮内注射した。その観察成績は第3表の如くである。

即ち、陽性率、硬結触知率ともにワクチンBの方が高い。而して反応度の一致率は73.79%±4.33(24時間値)65.59%±4.92(48時間値)で、必ずしも低率とは言えないが、48時間値の不一致例をみると、ワクチンBの反応が、ツ反応に比較して、強い例が30例、弱い例が僅かに2例であつた。以上の統計的数値を第1報の第4表、第5表と比較すると、ワクチンAの10000倍液よりワクチンBの10000倍液の方が強い

力価を有することが分る。

2) ワクチンC 10000倍稀釈液に就て

健康成人11名を対象とし、右上膊には、上方にツ液、下方にワクチンCを、左上膊前面には上方にワクチンC、下方にツ液を夫々皮内注射した。その観察成績は第4表の如くである。

24時間値：ワクチンCによる発赤は第1例が9mmを示した他は3~6mmの小発赤である。これに反し、対照のツ反応は陽性、疑陽性、陰性各様の発赤を示した。而して、両反応とも左右上下別の注射の部位的差異は殆ど認められない。

48時間値：軽度の変動を除外すれば、両反応とも24時間値と同型である。第1、9例の如く、ワクチンCによる反応が、

第4表 ワクチンC 10000倍液による皮内反応成績

番号	性	年齢	24時間				48時間			
			右上膊上(ツ)	右上膊下(ツ)	左上膊上(ツ)	左上膊下(ツ)	右上膊上(ツ)	右上膊下(ツ)	左上膊上(ツ)	左上膊下(ツ)
1	♀	20	14×14 17×16	+	7×6 9×9	12×10 12×10(21×16)	12×12 17×16	+	+	11×9 16×11
2	♀	20	4×3 9×9	3×3	4×4	3×3	± 9×7	± 2×2	± 4×4	± 6×6
3	♀	20	13×12 13×12	+	+	± 10×10	16×16 17×15(27×22)	± 7×6	± 9×9	17×14 17×14(27×23)
4	♀	20	3×3 ±	2×2	5×4	3×2	4×4 13×12	± 3×3	± 5×4	± 6×3
5	♀	20	14×12 12×12	4×4	5×4	10×9 15×12	22×18 ±	0 4×4	4×4 ±	14×13 21×21
6	♀	19	± 15×15	4×4	3×3	10×10 19×16	14×13 16×13	± 3×3	± 4×4	± 12×11
7	♀	20	12×12 14×14	+	+	11×10 14×12	20×19 ±	4×2 ±	3×3 +	21×18 +
8	♀	18	± 10×9	± 3×3	± 5×5	± 9×9	± 10×9	± 3×3	± 4×4	± 12×10

9	18	$\frac{10 \times 10}{17 \times 16}$	$\frac{-}{6 \times 4}$	$\frac{-}{6 \times 5}$	$\frac{8 \times 8}{14 \times 12}$	$\frac{14 \times 14}{18 \times 18}$	$\frac{+}{8 \times 7}$	$\frac{+}{9 \times 9}$	$\frac{16 \times 13}{21 \times 17}$
10	34	$\frac{-}{5 \times 4}$	$\frac{-}{4 \times 3}$	$\frac{-}{5 \times 4}$	$\frac{-}{4 \times 3}$	$\frac{-}{5 \times 5}$	$\frac{-}{0}$	$\frac{-}{4 \times 4}$	$\frac{-}{3 \times 2}$
11	16	$\frac{-}{10 \times 7}$	$\frac{-}{4 \times 3}$	$\frac{-}{4 \times 4}$	$\frac{-}{8 \times 7}$	$\frac{+}{15 \times 14}$	$\frac{-}{0}$	$\frac{-}{3 \times 3}$	$\frac{+}{19 \times 16}$

8~9mmの小発赤なるにかかわらず硬結を触知し得た例をみたが、かかる反応は0.5%カルボール加食塩水による皮内反応にはみられない。

以上の成績をみると、対照のツ反応が陽性、疑陽性、陰性各様の発赤を示せるに反し、ワクチンCの10000倍液による反応は24時間、48時間値とも終始3~9mm程度の発赤を示した例が大部分であつて、10mm以上の発赤を示せる例はみられなかつた。

3) ワクチンCの5000倍稀釈液に就て

健康成人62名につき、右側上膊前面を選び、ワクチンCとツ液の比較実験を行つた(被検者を2班に分ち、各班における両反応原の注射部位を上下逆とす)。注射部位の上下別による差異は認められなかつたので、全例を一括した成績につき検討する。

発赤の大きさの度数分布の相関は第5表の如くである。ワクチンCの5000倍液では、24時間値62名中52名(約83.9%)、48時間値52名中37名(約71.2%)が夫々3~6mmを示し、12mm以上を示したものはない。而して、かかる小発赤にもかかわらず硬結触知者は、24

時間値62名中10名(約16.1%)、48時間値52名中33名(約63.5%)を示し、24時間値よりも48時間値に多い。これに反し、対照のツ反応の発赤の大きさは広い撒布を示し、且つ陽性発赤に硬結を伴つた例はみられなかつた。

ワクチンCの5000倍液で発赤径9mm以上を示した5例では、いずれも著明な硬結を伴い、対照のツ反応は強反応を示した(第6表)。然し乍ら、ツ反応の強度なる例が必ずしもワクチンC5000倍液にて硬結を伴つたとも言えない。

発赤の大きさの度数分布における、モードのズレと撒布度の差異、更に硬結の触知状況等を比較考察すると、多糖類劃分の皮膚反応原性が極めて微弱であることを知ると同時に、該反応とツ反応とが、単に数量的にのみ相違を示すものでなく反応それ自体に質的な相違が存在することを考慮せねばならないことに気付くのである。

4) ワクチンCの100倍稀釈液に就て

健康成人11名を対象とし、右側上膊前面を選び、ツ

第5表 ワクチンC 5000 倍液とツ液による発赤の大きさの相関

(24時間)										
ツ mm \ ワクチンC mm	0	1 2	3 4	5 6	7 8	9	10 11	合 計		
0								0		
1—2			1					1		
3—4			1	2				3		
5—6				1				1		
7—8				1				1		
9			1					1		
10—11		1	4	2				7		
12—13	1		6		1			8		
14—15		2	10	3	1			16		
16—17			9	1				10		
18—19			3	3		1	1	8		
20—25			2	2		1		5		
26—30					1			1		
31—35								0		
合 計	1	3	37	15	3	2	1	62		

(48時間)										
ツ mm \ ワクチンC mm	0	1 2	3 4	5 6	7 8	9	10 11	合 計		
0	1		1					2		
1—2								0		
3—4			1	1				2		
5—6				1				1		
7—8								0		
9								0		
10—11			2					2		
12—13			2	1				3		
14—15			6	4				10		
16—17	1		2	4	1	1		9		
18—19			2	3	1		1	7		
20—25	1		4		2		2	9		
26—30				1	1			2		
31—35			1	1	2		1	5		
合 計	3	0	21	16	7	1	4	52		

液を対照として比較実験を行つた。

ワクチンCの100倍液においても亦、その発赤はいずれも11mm以下であつて、前項の実験成績に加うべき何等の新知見をも得ることができなかつた。

5) ワクチンCの10倍稀釈液に就て

健康成人27名を対象とし、前項の実験4)と同様な比較実験を

第6表 ワクチンC 5000倍液にて発赤径 9mm
以上の諸例

番号	6	13	26	30	60
ワクチンC 5000×	+	10×10 9×9	9×8 12×10	7×7 10×10	+
ツ	12×10 16×16	20×18 25×22	14×14 18×17	17×15 32×32	13×13 21×20

行つた。その観察成績は第7表の如くである。

ツ反応陰性又は疑陽性者6例では、ワクチンC 10倍液の反応陰性。ツ反応弱陽性者3例では、ワクチンCの10倍液の反応陰性又は疑陽性。ツ反応中等度又は強陽性者18例では、ワクチンCの10倍液の反応陰性又は疑陽性5例、陽性13例。

第7表 ワクチンC 10倍液による皮内反応成績

番号	性	年 齢	24 時 間		48 時 間		合 計
			ワクチンC 10×	ツ	ワクチンC 10×	ツ	
1	♀	16	— 5×5	— 2×2	— 4×4	— 2×2	—
6	♀	17	— 4×4	— 6×5	— 3×3	— 6×6	±
8	♀	22	— 4×4	— 4×3	— 4×3	— 2×2	—
2	♀	18	— 13×11	— 11×9	— 6×6	± 14×11	+
18	♂	22	— 4×4	— 14×12	— 4×3	— 14×12	+
5	♀	18	— 12×11	10×10 15×15	— 9×6	± 13×11 18×16	±
22	♀	24	— 7×7	— 12×12	— 5×5	± 10×10 10×10(24×20)	±
9	♀	20	— 10×8	— 10×8	— 11×10	+ 16×16	±
14	♀	30	— 15×15	— 15×15	— 11×10	+ 21×20	±
10	♀	20	— 9×9	13×13 20×19	9×9 14×14	± 26×18 36×36	±
17	♂	26	11×11 14×13	11×10 14×14	11×10 16×15	± 13×13 13×13(21×23)	±

即ち、ツ反応陰性、疑陽性、弱陽性例では、ワクチンCの10倍液による反応は多くは陰性、時に疑陽性を示し、ツ反応の強度なる例では、ワクチンCの10倍液の反応が陽性を示すことがある。然し乍ら、ツ反応の強度なる例に必ずしもワクチンCの10倍液による反応の陽性を期待できない。両反応の並行関係は完全でないとい得る。

実験2)~4)において、ワクチンCの10000~100倍液につき明割な皮膚反応原性を立証し得なかつたのであ

るが、本実験において、ワクチンCの10倍液に陽性反応が期待でき、且つ該反応が非特異反応(ツ反応陰性者に陽性を示す如き)でないことを系統的に理解した。而して、該皮膚反応原性はワクチンA、ワクチンBに比較できぬ程微弱なものであつたのである。

6) ワクチンCの原液に就て

健康成人21名を対象とし、前項の実験4)と同様な比較実験を行つた。観察は注射直後より10時間後まで継時的に行い、24時間後、48時間後にも行つた。以下、8例の成績を表示し(第8表)、これを中心に、全成績を一括要約する。

ワクチンCの原液では、注射時注射部位に生ぜる丘疹が吸収消失することなく、引続き硬結として、48時間後

にも尙明確に認められることが多い。これに反し、ツ反応では、該丘疹は注射後1~3時間にして一旦消失するが、強反応者においては後刻該部位に硬結の形成をみるに至ることが多い。

而して、注射後10時間値までは、ワクチンC原液の反応は発赤、硬結ともにツ反応に比し大であるが、48時間値では、引続き発赤、硬結ともにツ反応に比し大なる例と、ツ反応に比し発赤小にして硬結大なる例(ワクチンの発赤消褪傾向、ツ反応の発赤増大傾向の結果)と、発赤全く消失し、小硬結のみ残留する例とがある。

24時間値は、10時間値までと48時間値との中間型を示す。従て、反応の全経過を追つて比較観察するとき、始めて両反応の形態的相違を把握できる。

ツ反応48時間値陽性例において、ワクチンC原液の反応の48時間値が陰性で4~6時間値が陽性発赤である場合(第10表4, 5, 7番)、ワクチンC原液に早期4~6時間反応が認められると即断することは聊か早計である。かかる早期反応はツ反応48時間値陰性例においても亦見出すことができる。

V 総 括

ツおよび結核菌々体より分離した多糖類割分に関する報告は必ずしも尠くない(1~20)。茲に、その皮内反応に関連ある業績を中心として、余の実験成績を比較検討したい。

Cournand, Lester は, Heidelberger-Menzel 調製のトリブシン処理ツ多糖類に4時間反応が認められることを報告し、これに対し, McCarter, Watson はツ多糖類に早期6時間反応がみられなかつたこと、反応を惹起

第 8 表 ヲ ク チ ャ ン C 順 液 に よ る 皮 内 反 応 成 績

番号 反応順	時間 30'	1										24	48	判定
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	C	$\frac{13 \times 13}{25 \times 22}$	$\frac{12 \times 12}{19 \times 19}$	$\frac{10 \times 9}{15 \times 15}$	$\frac{9 \times 8}{11 \times 10}$	$\frac{9 \times 8}{15 \times 12}$	$\frac{9 \times 9}{15 \times 13}$	$\frac{9 \times 9}{15 \times 12}$	$\frac{9 \times 9}{15 \times 14}$			$\frac{9 \times 9}{12 \times 11}$	$\frac{9 \times 9}{10 \times 10}$	+
	ツ	$\frac{10 \times 10}{23 \times 17}$	$\frac{13 \times 13}{0}$	$\frac{8 \times 7}{-}$	$\frac{7 \times 6}{-}$	$\frac{6 \times 5}{-}$	$\frac{7 \times 7}{-}$	$\frac{11 \times 10}{-}$	$\frac{18 \times 12}{-}$			$\frac{20 \times 17}{19 \times 17}$	$\frac{24 \times 20}{10 \times 10}$	+
2	C	$\frac{12 \times 12}{26 \times 24}$	$\frac{13 \times 13}{0}$	$\frac{13 \times 13}{6 \times 5}$	$\frac{10 \times 10}{7 \times 7}$	$\frac{9 \times 9}{9 \times 9}$	$\frac{9 \times 8}{9 \times 9}$	$\frac{9 \times 8}{9 \times 9}$	$\frac{12 \times 11}{17 \times 15}$			$\frac{28 \times 27}{-}$	$\frac{11 \times 11}{-}$	+
	ツ	$\frac{10 \times 10}{16 \times 16}$	$\frac{13 \times 13}{0}$	$\frac{13 \times 13}{6 \times 5}$	$\frac{7 \times 6}{+}$	$\frac{8 \times 6}{-}$	$\frac{7 \times 7}{-}$	$\frac{9 \times 9}{-}$	$\frac{13 \times 11}{-}$			$\frac{22 \times 18}{-}$	$\frac{23 \times 22}{-}$	+
3	C	$\frac{10 \times 10}{23 \times 19}$	$\frac{10 \times 10}{16 \times 14}$	$\frac{8 \times 8}{13 \times 13}$	$\frac{11 \times 10}{18 \times 16}$	$\frac{11 \times 11}{20 \times 20}$	$\frac{14 \times 12}{22 \times 22}$	$\frac{12 \times 12}{29 \times 26}$	$\frac{14 \times 11}{24 \times 24}$	$\frac{14 \times 13}{24 \times 22}$	$\frac{10 \times 10}{26 \times 26}$	$\frac{14 \times 14}{15 \times 16(27 \times 28)}$	$\frac{17 \times 17}{18 \times 18(28 \times 34)}$	+
	ツ	$\frac{11 \times 10}{0}$	$\frac{11 \times 10}{\pm}$	$\frac{8 \times 8}{-}$	$\frac{8 \times 8}{-}$	$\frac{11 \times 10}{-}$	$\frac{11 \times 10}{-}$	$\frac{12 \times 11}{-}$	$\frac{14 \times 13}{-}$	$\frac{13 \times 10}{-}$	$\frac{16 \times 12}{-}$	$\frac{10 \times 10}{16 \times 16}$	$\frac{12 \times 10}{22 \times 21}$	+
4	C	$\frac{9 \times 8}{25 \times 19}$	$\frac{10 \times 9}{0}$	$\frac{9 \times 9}{0}$	$\frac{8 \times 6}{11 \times 9}$	$\frac{8 \times 8}{10 \times 10}$	$\frac{9 \times 9}{-}$	$\frac{11 \times 11}{0}$	$\frac{9 \times 8}{19 \times 18}$	$\frac{9 \times 8}{18 \times 15}$	$\frac{7 \times 6}{13 \times 13}$	$\frac{8 \times 8}{34 \times 29}$	$\frac{7 \times 7}{0}$	+
	ツ	$\frac{9 \times 9}{14 \times 12}$	$\frac{8 \times 8}{0}$	$\frac{6 \times 6}{8 \times 7}$	$\frac{6 \times 6}{8 \times 8}$	$\frac{8 \times 8}{10 \times 9}$	$\frac{7 \times 7}{0}$	$\frac{11 \times 10}{-}$	$\frac{13 \times 12}{9 \times 9}$	$\frac{13 \times 13}{17 \times 15}$	$\frac{9 \times 9}{11 \times 10}$	$\frac{16 \times 14}{7 \times 6}$	$\frac{19 \times 18}{8 \times 8}$	+
5	C	$\frac{8 \times 8}{15 \times 12}$	$\frac{10 \times 10}{0}$	$\frac{9 \times 9}{8 \times 8}$	$\frac{7 \times 7}{10 \times 10}$	$\frac{9 \times 8}{14 \times 11}$	$\frac{8 \times 8}{12 \times 10}$	$\frac{10 \times 10}{13 \times 13}$	$\frac{15 \times 14}{-}$			$\frac{22 \times 18}{-}$	$\frac{22 \times 18}{-}$	+
	ツ	$\frac{9 \times 9}{15 \times 14}$	$\frac{8 \times 7}{8 \times 7}$	$\frac{6 \times 6}{6 \times 6}$	$\frac{8 \times 6}{-}$	$\frac{8 \times 8}{-}$	$\frac{10 \times 10}{8 \times 6}$	$\frac{10 \times 10}{7 \times 7}$	$\frac{10 \times 10}{7 \times 6}$	$\frac{11 \times 11}{7 \times 7}$	$\frac{9 \times 9}{8 \times 7}$	$\frac{12 \times 12}{9 \times 7}$	$\frac{13 \times 12}{8 \times 8}$	+
6	C	$\frac{8 \times 8}{13 \times 12}$	$\frac{8 \times 7}{0}$	$\frac{10 \times 8}{0}$	$\frac{7 \times 7}{11 \times 10}$	$\frac{8 \times 7}{11 \times 11}$	$\frac{8 \times 6}{11 \times 11}$	$\frac{7 \times 7}{11 \times 11}$	$\frac{7 \times 6}{11 \times 11}$			$\frac{8 \times 7}{0}$	$\frac{8 \times 8}{0}$	+
	ツ	$\frac{13 \times 10}{15 \times 12}$	$\frac{5 \times 5}{0}$	$\frac{6 \times 6}{9 \times 8}$	$\frac{8 \times 6}{11 \times 10}$	$\frac{11 \times 10}{11 \times 10}$	$\frac{10 \times 10}{10 \times 10}$	$\frac{9 \times 9}{-}$	$\frac{4 \times 4}{-}$	$\frac{13 \times 11}{-}$	$\frac{9 \times 9}{-}$	$\frac{9 \times 9}{13 \times 13}$	$\frac{8 \times 8}{0}$	+
7	C	$\frac{14 \times 13}{14 \times 13}$	$\frac{11 \times 11}{0}$	$\frac{11 \times 10}{8 \times 6}$	$\frac{10 \times 10}{10 \times 8}$	$\frac{11 \times 11}{12 \times 11}$	$\frac{10 \times 10}{11 \times 11}$	$\frac{9 \times 7}{14 \times 13}$	$\frac{10 \times 7}{12 \times 10}$			$\frac{10 \times 9}{10 \times 10}$	$\frac{8 \times 8}{0}$	+
	ツ	$\frac{10 \times 10}{10 \times 10}$	$\frac{10 \times 9}{6 \times 6}$	$\frac{5 \times 5}{7 \times 5}$	$\frac{4 \times 4}{7 \times 6}$	$\frac{9 \times 9}{-}$	$\frac{8 \times 7}{-}$	$\frac{9 \times 9}{-}$	$\frac{7 \times 7}{-}$	$\frac{7 \times 6}{-}$	$\frac{6 \times 6}{-}$	$\frac{8 \times 7}{11 \times 11}$	$\frac{16 \times 15}{-}$	+
8	C	$\frac{10 \times 10}{0}$	$\frac{11 \times 10}{0}$	$\frac{9 \times 8}{9 \times 7}$	$\frac{11 \times 11}{0}$	$\frac{13 \times 11}{0}$	$\frac{10 \times 8}{13 \times 12}$	$\frac{10 \times 9}{0}$	$\frac{10 \times 7}{10 \times 10}$	$\frac{9 \times 8}{11 \times 10}$	$\frac{9 \times 8}{10 \times 10}$	$\frac{9 \times 8}{14 \times 12}$	$\frac{8 \times 7}{11 \times 9}$	+
	ツ	$\frac{7 \times 6}{11 \times 10}$	$\frac{6 \times 4}{6 \times 6}$	$\frac{11 \times 11}{7 \times 5}$	$\frac{9 \times 8}{7 \times 7}$	$\frac{13 \times 11}{9 \times 8}$	$\frac{10 \times 8}{8 \times 7}$	$\frac{10 \times 9}{9 \times 9}$	$\frac{10 \times 7}{7 \times 7}$	$\frac{9 \times 8}{7 \times 6}$	$\frac{9 \times 8}{6 \times 6}$	$\frac{9 \times 8}{14 \times 12}$	$\frac{8 \times 7}{14 \times 12}$	+

するに非常に大量を必要とすること、然し反応形態はツ蛋白のそれと差異のないこと、ツおよび結核菌々体多糖類の活性は混在する蛋白に帰せらるべきであること等の見解を述べた。ワクチンCについての余の実験では、注射後4~6時間にみられた陽性発赤は、48時間値ツ反応陰性者にも認められたのであり、早期反応の典型（早期出現、早期消褪、且つ判定成績がツ反応48時間値に一致）とは言い得ない（実験6）。

より本質的な問題、いわばツ又は結核菌々体多糖類の皮膚反応原性の有無については、Zinsser, Parkerがこれを認め、Müllerがこれを否定して以来、各報告者により結論は区々であつて、本邦においても武田・太田・佐藤、武田はこれを認め、桑島、中武は微弱であるとし、山崎、伊藤等はこれを認め得なかつたという。最近Seibert(1949)はアルコール沈澱法および電気泳動法により得た多糖類劃分I、IIについて、その活性を混在する蛋白に帰せしめるという前記Watsonの見解を支持した。同様な見解は既に戸田教授(昭18)によつて指摘せられている。かくの如く、必ずしも結論に一致をみないのは、各抽出多糖類劃分の多様性に起因するものであろう。

ワクチンCについての余の実験では、その皮膚反応原性は極めて微弱で、反応を惹起するには著しい高濃度液を使用せねばならないことが分るが、兎も角これを認めたい。然し、これが多糖類劃分そのものの反応であるか、あるいは微量に含有される他の劃分による反応であるかは不明である。この点に関する検討はここでは触れない。

ツ多糖類の反応形態については、槽谷がMaschmann, Küster法に準じて α 物質を得、斎藤はこの α 物質による反応は発赤に比し浸潤が著明であり、この傾向は注射後24時間より48時間において著明となることを報告した。戸田・村田もPSSによる反応が浸潤を主とすることを述べた。これらの動物実験上の諸成績は、余がワクチンCについて実施した実験6)の成績とよく一致し、ワクチンAにおいても既にこの傾向を窺知せることを指摘したのであつた。従て、ツ多糖類とツ蛋白質の両反応に形態上の差異がないとする前記Watsonの見解は疑わしいものと信ずる。

ワクチンBの10000倍液の力価は、ツ反応との対照において、ワクチンAの10000倍液よりも遙かに強いと考えられる(実験1))。斎藤が槽谷の β 物質の反応は、浸潤に比し発赤が著明であるとし、村田が戸田のPPSの反応は、発赤を主とせる反応であるとした諸報告を考え合せると、発赤因子は蛋白質劃分に深いつながりを持つものと考えられる。なお、ワクチンBによる反応が、発赤を主として硬結形成傾向の少ない反応であるかどうかについては、更に実験を重ねて検討したいと思う。

既にSabin(1931)は、結核菌の菌体蛋白質は健康お

よび結核動物に熱反応を起すが、多糖類は起さぬことを報告している。斎藤も亦槽谷の β 物質が致死性および熱反応が著明なるに反し α 物質がその作用の軽微なることを認めた。Sabin(1938)のその後の報告、Heilman, Seibert(1946)の見解等にみるも、ツおよび結核菌々体多糖類は殆ど毒性を示さないものと考えて差支えなからう。のみならず、村田は該劃分に結核個体に対する治療的效果をも認めている。

以上の文献上並びに余の実験上の諸成績を、わが教室における皮膚結核のワクチン療法の実験成績に併せ考えると、発赤因子と病巣刺激因子、硬結因子と治癒因子の関連性に対し矛盾のない示唆が得られるのである。

VI 結 語

人型結核菌の菌体より分離抽出せるワクチンB(蛋白質劃分)、ワクチンC(多糖類劃分)を反応原として皮内反応を試み次の成績を得た。

1) ワクチンBの10000倍液による反応は、陽性率、硬結触知数、反応度等いずれの観点よりみるもツ反応に比し強い。従て、ワクチンBはワクチンAに比し強い反応原性をもつものと考えられる。

2) ワクチンCの10000倍液による反応では、24時間値、48時間値とも陽性発赤を期待し得ない。但し、9mm以下の小発赤なるにもかかわらず硬結を著明に触知し得る例がみられた。

3) ワクチンCの5000倍液による反応では、陽性発赤を期待し得ない。9mm以下の小発赤における硬結触知率は24時間値より48時間値に高い。

4) ワクチンCの100倍液による反応においても、陽性発赤を期待し得ない。

5) ワクチンCの10倍液による反応では、ツ反応陰性者、弱反応者においては陽性発赤を期待し得ないが、ツ反応の強度の個体においては陽性発赤を示すことがある。然し、その反応度はツ反応に比し弱い。従て、ワクチンCの皮膚反応原性は極めて微弱であるといふことができる。

又、ツ反応強陽性者に対して陽性発赤を期待し得ない場合も尠くないので、ツ反応との並行関係は完全ではない。

6) ワクチンCの原液による反応では、所謂早期反応の典型は認められない。反応の全経過からみて、硬結形成傾向が著明で、随伴する発赤は早期に消褪する傾向が認められる。従て、ツ反応とはその反応形態を著しく異にする。

以上の諸成績を、ワクチンBおよびワクチンCの臨床上的使用成績と比較考案すると、皮内反応からみた特異抗原性物質の全貌の一端を窺い知ることができ、これを基礎として更に抗原調製上の飛躍が期待されることと信ずる。(本研究は文部省科学研究費による)

参 考 文 献

- (1) Zinsser : J. exper. Med., 34, 495 (1921)
- (2) Zinsser and Parker : J. exper. Med., 37, 275 (1923)
- (3) Zinsser and Müller : J. exper. Med., 41, 159 (1925)
- (4) Zinsser and Tamiya : J. exper. Med., 42, 311 (1925)
- (5) Leidlaw and Dudley : Brit. J. exper. path., 6, 197 (1925)
- (6) Müller : J. exper. Med., 43, 9 (1926)
- (7) Enders : J. exper. Med., 50, 777 (1929)
- (8) Masucci, McAlpine and Glenn : Am. Rev. Tuberc., 22, 669 (1930)
- (9) Renfrew : J. biol. Chem., 89, 619 (1930)
- (10) Chargaff und Anderson : Z. physiol. Chem., 191, 172 (1930)
- (11) Anderson and Roberts : Am. Rev. Tuberc., 22, 664 (1930)
- (12) Maschmann und Küster : Z. physiol. Chem., 193, 215 (1930)
- (13) Heidelberger and Menzel : J. biol. Chem., 127, 221 (1939)
- (14) Sabin and Miller et al : J. exper. Med., 53, 51 (1931)
- (15) Gough : Biochem. J., 26, 248 (1932)
- (16) Hooper, Renfrew and Johnson : Am. Rev. Tuberc., 29, 66 (1934)
- (17) Seibert, Pederson and Tiselius : J. exper. Med., 68, 413 (1938)
- (18) Karjala and Heidelberger : J. biol. Chem., 137, 189 (1941)
- (19) Seibert and Watson : J. biol. Chem., 140, 55 (1941)
- (20) Tennet and Watson : J. Immunol., 45, 179, (1942)
- (21) Courmand and Lester : Proc. 3 Int. Cong. Microbiology, 621 (1939)
- (22) Mc Carter and Watson : J. Immunol., 43, 85 (1942)
- (23) 戸田 : 日本医学及健康保健, 3328, 678 (昭 18)
- (24) Seibert : Am. Rev. Tuberc., 59, 86 (1949)
- (25) 藤原 : 東北医誌, 30, 363 28, 916 (昭 17. 16)
- (26) 武田 : アレルギー時報, 8, 193 (昭 17)
- (27) 糟谷 : 東京医事新誌, 2973, 787 (昭 11)
- (28) 糟谷 : 結核, 24, 236 (昭 24)
- (29) 斎藤 : 結核, 15, 546 (昭 12)
- (30) 戸田・村田 : 東京医事新誌, 3113, 3195 (昭 13)
- (31) Savin et al. : J. exper. Med., 53, 51 (1931)
- (32) Savin et al. : J. exper. Med., 68, 563 (1938)
- (33) Heilman and Seibert : Am. Rev. Tuberc., 53, 71 (1946)
- (34) 村田 : 結核, 17, 209 (昭 14)

ツベルクリン特にその製法に関する再検討

第 4 報 限外濾過濃縮ツベルクリンの透析実験及びツベルクリンの加熱凝固蛋白体について

京都大学結核研究所第七部(主任 植田教授) 白石 正 雄

(本稿の要旨は昭和 25 年 5 月 5 日第 25 回日本結核病学会総会に於て演述した。)

緒 言

前回¹⁾報告したように、青山 B 株ソートン培地培養 2 週培養液よりつくつた「ツ」は糖質を相当含むが、蛋白を殆ど含まず、皮内反応の 24 時間値は 48 時間値より強く(アルツ型)、致死反応陰性であつたのに反し、菌の発育がすすんで「ツ」中の蛋白が多くなると、24 時間値よりも 48 時間値が強く(ツベルクリン型)なり、致死反応も出現してきた。

従来の諸家の報告では、「ツ」多糖体は非透析性であつて皮膚因子とみられ、「ツ」蛋白体は透析性であつて致死因子(皮膚反応をも含めて)とみられてきた(Maschmann und Küster,³⁾ 糟谷⁴⁾, Seibert and Long⁵⁾)。

他方に於て、Seibert の PPD⁶⁾, Boquet et Sandor の磷タングステン酸「ツ」⁷⁾, Maschmann und Küster のカオリン吸着精製「ツ」³⁾は蛋白性のものであつて、人体の皮内反応に用いられている。戸田、貝原⁸⁾は更に磷脂質にも活性が存すると述べている。要するに皮膚反応物質、致死反応物質に関しては未解決の点が多い。

著者は「ツ」を蛋白画分と糖質画分とにわけて皮内反応を実施吟味せんとし、まず限外濾過濃縮「ツ」について透析実験を行つた。さらに「ツ」作製の際培養液の加熱によつて凝固析出する蛋白体の活性についても検討した。

実 験 方 法

1 限外濾過濃縮法及び透析実験