

結核生死菌接種家兎血清中のリパーゼ量

鳥取大学医学部細菌学教室

山本 善三郎・高木 篤

(昭和 26 年 8 月 20 日受付)

1 緒 言

結核感染に対する血清リパーゼ(以下血リと略記す)の態度は Hanriot が Monobutyrylase を, Rona u. Michaelis が Tributyrinase を証明して以来諸家によつて検討されているが, 良性及び初期の結核では増加を来し, 悪性及び末期の結核では減少を来するという点は略略一致した見解である¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾。Frisch u. Kollert⁶⁾はこのような血リの増減は生体の免疫状態と一定の関聯性を有することを主張しているが, この点を動物実験的に研究すべく家兎に結核生死菌を接種してその血リの消長を検索したので結果を報告する。

2 実験方法

血清は空腹時の家兎の耳静脈より採取分離した。

血リの定量法としては Tributyrin 法を用いた。すなわち実験試薬としては次のものを準備する。

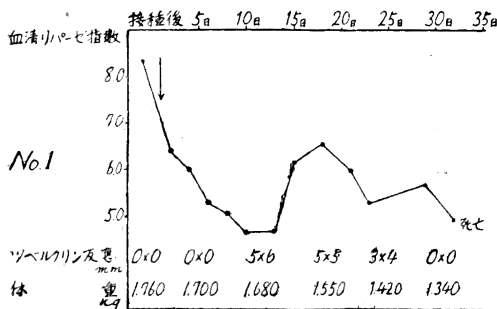
- 1) 1% Tributyrin 生理的食塩水溶液(メルク製)
- 2) $\frac{n}{50}$ NaOH 溶液
- 3) 1% phenol phthalein 酒精溶液

小試験管 4 本にそれぞれ生理的食塩水で 10 倍に稀釈した血清 1cc をとりその中 2 本を対照とし, 対照は煮沸した水浴中に 10 分間浸漬して血清中の酵素を不活性とする。対照が冷却した後前記の Tributyrin 液を 1cc 加えよく振盪した後 37°C の孵卵器中に 24 時間放置する。しかる後マイクロビュレットを用いて phenol phthalein を指示薬として $\frac{n}{50}$ NaOH 溶液で滴定する。そして 2 本の平均値を求め対照との滴定差を得てこれを 10 倍し, この値を血清 1cc 中のリパーゼ指数とした。

3 実験成績

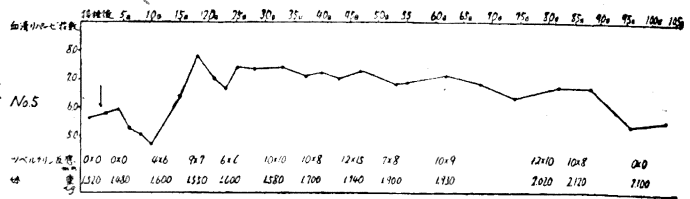
家兎を 10 群に分つて実験を行った。

第 1 図 人型結核菌 5mg 接種感染群



第 1 群, 人型結核菌松本株(教室にて新たに分離したもの)の生菌 5.0mg 静脈内接種感染; 実験例 3 例
接種後血リ指数は急激に減少し 6~10 日で最低に達し, その後一時回復の傾向がみえたが再び減少, 接種後 28~34 日でいずれも死亡した(第 1 図にその 1 例を示す)。

第 2 図 人型結核菌 0.5mg 接種感染群



第 2 群, 人型結核菌松本株生菌 0.5mg 静脈内接種感染; 実験例 3 例

接種後 10 日迄に一時軽度の減少をみたが, その後次第に上昇し 1 ヶ月半~2 ヶ月半高い血リ指数を持続した後 2 ヶ月~3 ヶ月で旧に復した。(第 2 図にその 1 例を示す)。

第 3 群, 人型結核菌松本株(Sauton 培地培養)加熱乾燥死菌 200mg 1 回腹腔内接種; 実験例 3 例

2 例(No. 7, No. 8)は軽度の増減を示しながら経過し 2 ヶ月で接種前と同じ血リ指数に回復した。1 例(No. 9)は接種後急激に減少したが約 15 日で殆んど旧に回復し, その後は多少の増減を示しつつ経過したが 48 日目に死亡した(第 3 図, No. 8 は No. 7 と同様)。

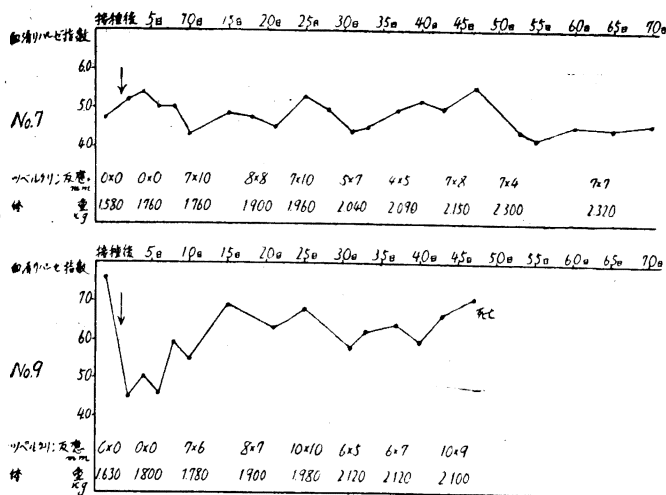
第 4 群, 人型結核菌松本株加熱乾燥死菌 200mg 頻回腹腔内接種; 実験例 4 例

第 1 回接種より第 6 回までは隔日に接種を行つたがこの間全例が減少を示した。第 7 回以後 2 例(No. 12, No. 13)では接種を中止し, 他の 2 例(No. 10, No. 11)は接種を 3~5 日毎に行つたが死亡した 1 例(No. 12)を除いてはいずれもその後増加の傾向を示し約 45 日で殆んど接種前に回復した。その後はいずれも増減を示しながら経過した(第 4 図, No. 11 は No. 10 と同様)。

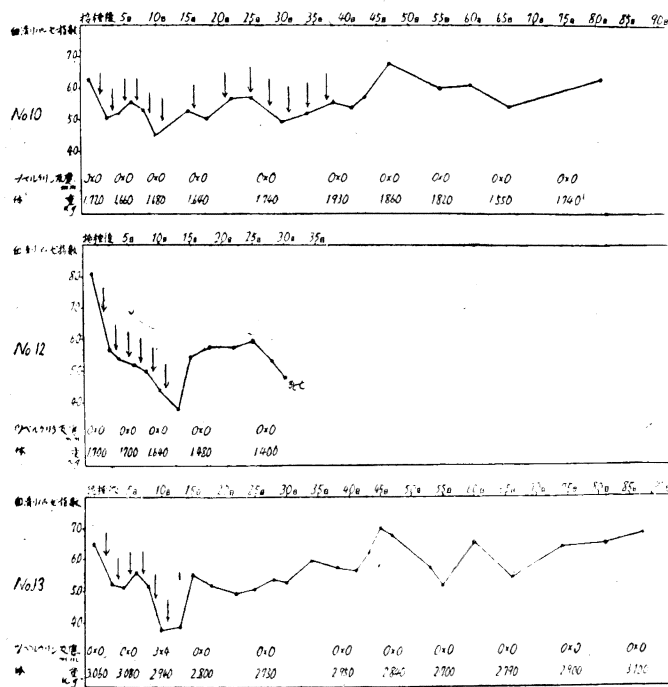
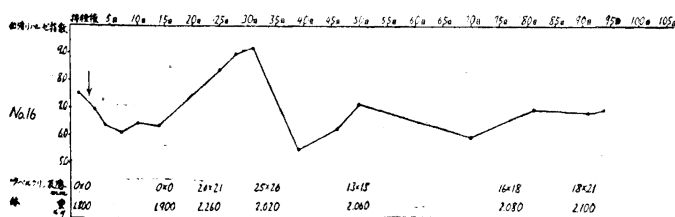
第 5 群, 流動パラフィン包埋人型結核菌松本株加熱乾燥死菌 200mg 筋肉内 1 回接種; 実験例 3 例

接種後 15 日迄にいずれも減少を示した。その後は漸次上昇し 22~31 日で最高の血リ指数を示し, 以後再び減少し約 1 ヶ月半の間は接種前に比べて低い血リ指数を

第3図 人型結核死菌 200mg 1回接種群



第4図 人型結核死菌 200mg 頻回接種群

第5図 流動パラフィン包埋人型結核死菌
200mg 接種群

示したが、それ以後再び増加し、80日以後は多少増減しながらも略々旧に等しい血行指数を示している(第5図にその1例を示す)。

第6群, BCG 生菌 200mg 皮下接種; 実験例3例

接種後7日までに一時増加, その後は減少して14日目には最低を示した。その後再び増加し約20日目から15日間高い血行指数を保持したが、以後減少を来し約50日で殆んど接種前に等しい血行指数を示した。その後約1ヶ月間測定を中止したが、その後の測定の結果血行指数は再び増加して相当高い値を持続し約100日目の値はいずれも接種前に比して高い(第6図に1例を示す)。

第7群, 人型結核菌松本株生菌 5.0mg 接種感染+肝油 1cc 頻回皮下注射; 実験例3例

肝油は日本薬局法強肝油を用い注射は2~3日毎に15回行つた。

菌接種後血行指数は一時減少したが後10日目頃から急激に著しい増加をみ、この高い値を約15日間持続した。しかるに一般状態の悪化、体重の減少と共に再び急速に下降して1例(No. 21)は37日目に死亡した。他の2例も接種前に比べて低い血行指数を示しているが、85日目に病変観察のために殺される迄生存していた(第7図, No. 23はNo. 22と同様)。その他対照として3群を準備した。

第8群, 無処置健康家兎; 実験例2例 多少の増減をみるがその変動は著しくない。この場合幾分下降の傾向を示していた(第8図)。

第9群, 健康家兎+肝油 1cc 頻回皮下注射; 実験例3例

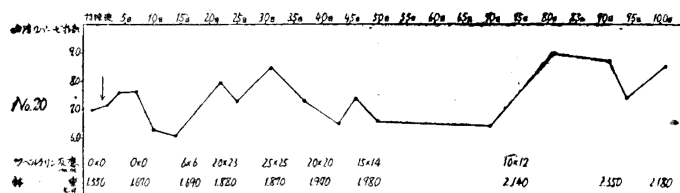
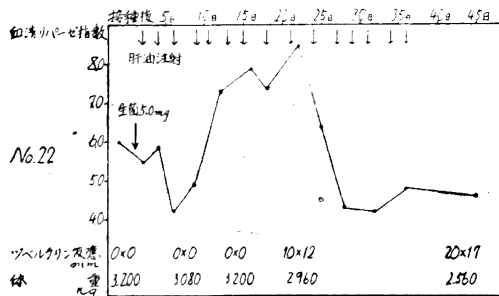
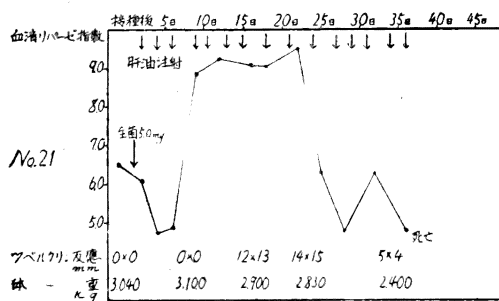
軽度の増減を示す乍らも45日目頃迄の観察では一般に増加の傾向が認められる(第9図にその2例を示す)。

第10群, チモテー菌 200mg 静脈内接種; 実験例2例

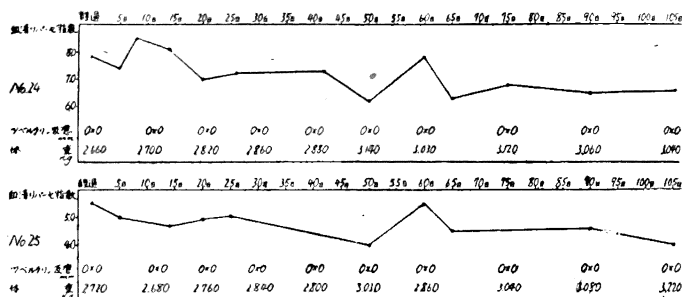
1例(No. 29)は変動は少いが次第に減少し、他の1例(No. 30)は多少の増減を示しながら若干増加の傾向を示した(第10図)。

なお本実験と並行して、各群に20倍 Sauton-tuberculin を用いて Tuberculin

第6図 BCG 生菌 200mg 接種群

第7図 人型結核生菌 5.0 mg 接種感染+
肝油頻回注射群

第8図 無処置健康家兔群



皮下反応を約1週間毎に行い、又体重の測定を頻回に行つたが、これらの成績は図に併記した。

4 考 察

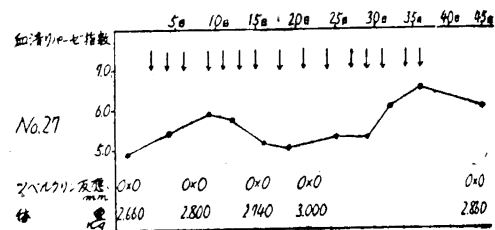
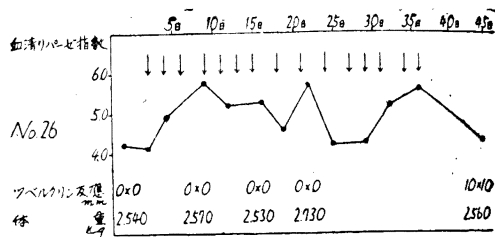
結核生死菌の接種によつて血流量に変動を来すことは本実験によつても認められるところであるが、Frisch u. Kollert によればかかる場合の血流量の増加は脂肪体を含む結核菌体に対して生体が闘争を行つて獲得した免疫状態が血清に一定の脂肪分解能力を喚起するのであると説明している⁶⁾。

又一方徳山・神津⁷⁾は動物実験の結果肝油その他の脂肪体を非経口的に与えることによつても血流量が増加す

ることを証明しており、結核免疫の発現に対して菌蛋白はいうまでもなく菌脂肪体の作用も重要な要素であるが、異種脂肪が生体に移行した時に之に対する対抗物質としてリパーゼが産生され、それが免疫学的に特異性をもつとすれば興味深い現象であるうと述べている。

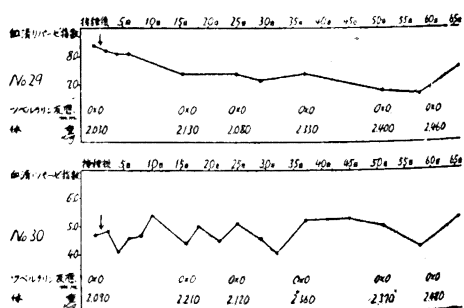
我々の実験では死菌1回接種の2例及び対照を除いた総ての家兎において接種後数日間多少とも血流量の減少をみたが、これは6~15日で再び回復に向つてゐる。しかし生死菌共大量を接種してその後死の転帰をとつたものでは再び減少している。このことはこのような家兎で

第9図 健康家兎+肝油頻回注射群



は総て体重の減少がみられることと考え合せて結核菌の毒素による一般的な障礙に係があるかと思われる。その他の家兎では一般に血流量は次第に増加し15~45日で旧の値を越え、2ヶ月~3ヶ月後には最初の値前後に復するか或いは増加を示している。そして脂質に富んだ抗酸性菌を生死に拘わらず、多量に接種したものの程血流量の増加が顕著であるかというそのような関係は認められず、むしろ毒

第10図 チモテー菌 200mg 接種群



性の強いものを、あるいは同種のものならば大量を接種したもの程、換言すれば動物の体重その他衰弱の強く認められるもの程血り量の減少の状態がよく認められた。

死菌1回接種群と流動パラフィン包埋死菌1回接種群とを比較すると著明な差異はないが、後者において接種後20~35日に血り量の稍々著明の増加がみられる。死菌免疫における流動パラフィンの価値と関係があるかも知れない。そして又 Tuberculin-allergy の発現も後者に強度であることは先人の成績にも一致する⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。

又異種脂肪としての肝油の投与による影響をみると、生菌接種後頻回に肝油を皮下注射した群では生菌接種後肝油を与えなかつた群に比べて血り量の一時的増加が著明であり、又減少をみた際にもその程度が軽度である。そして後者では実験例が総て28~34日で死亡したのに対し、前者は3例中1例は36日目に死亡したが、他の2例は85日目に感染状態を観察するために殺されるまで生存し体重も増加を示していた。すなわち高木¹¹⁾が他の動物実験の場合に発表したように肝油の連続投与が結核の成立に対して抵抗を与えていることがこゝでも窺われると共に、血りの増加にもあずかると考えることができる。このことは又第9群における実験で血りの増加が不著明ながら全例にみられることから推測し得られることである。

死菌頻回接種群において接種中止後に次第に血りの増加をみたことは動物の一般状態の回復が血りの生成に好適に働いたものと思われる。

次に Tuberculin 反応発現の様相をみると、死菌頻回接種群及び対照群を除いた他の多くの家兎においては血りの上昇とはほぼ時を同じくして陽性発現を来している。血りの増減と Tuberculin 反応陽性度とを対比してみても、両者間に厳密な意味において平行状態があるとはいえない難いが、Tuberculin 反応の出現（結核免疫の発現を凡そ推知せしめる）の時期と血り量の増加を示してくる時期と平行し、Tuberculin 陽性度の強いもの程血り量の増加が高い傾向にあることは興味深い。

死菌頻回接種群では最後まで Tuberculin 反応陰性に終っているが、これは頻回の死菌接種による脱感作が考えられる。斯様なものでも頻回の接種に耐えたものでは

血りの増加がみられる。

なお、第9群では肝油のみの投与によつても1例に Tuberculin 反応が現われたことは油脂による非特異的反応と思われる¹²⁾。

5 総括と結論

家兎に結核生死菌を接種してその血清中のリパーゼ量の消長を検索して次の結果を得た。

- 1) 多くの家兎において接種後1~2週の間血り量の減少がみられる。この時は Tuberculin 反応は陰性である。
- 2) 多くの家兎において接種2~3週で血り量は増加を来し、これと共に Tuberculin 反応も陽性に転ずる。
- 3) 血り量増加の度合は生死に拘わらず脂質分に富んだ菌という見地からみて接種菌量と直接の関係はない。
- 4) 生死菌共大量接種によつて死亡した家兎は死亡前に血り量の減少を示した。
- 5) 肝油を頻回に投与した時は血り量の増加を認める。
- 6) Tuberculin 反応陽性度と血り量の変動とは必ずしも平行しないが陽転度の強いものは血り量の増加の現われ方が顕著であるという傾向はある。

参考文献

- 1) 飯塚忠治：児科雑誌，354；1890，昭4。
- 2) 大塚友蔵：北海道医学雑誌，9；335，昭6。
- 3) 柳錫均：朝鮮医学雑誌，24：305，昭9。
- 4) 梁珍鴻：京城医専紀要，5：587，昭10。
- 5) 辻宗俊：日大医学雑誌，9：9，昭15。
- 6) Frisch u. Kollert；Beitr.Klin. The. 43：305，1920。
- 7) 徳山康秀・神津修：東北医学雑誌；16：349，昭8。
- 8) 岡捨巳・山田俊一郎・新津泰孝：日本臨床結核，8；275，昭24。
- 9) 大林容二・岩崎龍郎・大森勝：実験医学雑誌，27；307，昭18。
- 10) 岡捨巳：東京医事新誌，67巻，2号，20，昭25。
- 11) 高木篤：臨床と研究，23：599，昭21。
- 12) 若葉秋三：医学研究，13：2809，昭14。