

## BCG の酸凝集反応に関する研究

## 第2報 表面活性剤及び血清の影響

北海道大学結核研究所予防部(指導 高橋 義夫教授)

山 本 健 一

(昭和 27 年 10 月 10 日受付)

(本研究は文部省科学研究費による。高橋)

## I 緒 言

われわれは先に BCG の酸凝集反応の形態学的追求を行つたが、引続いて、菌液の平等性の保持に関する研究の第1段階として、若干の表面活性剤及び血清の本反応に対する影響を検べたが、表面活性剤の或物及び血清には顕著に酸凝集反応を阻止することが分つた。

## II 実験方法

すべて第1報に記載した通りである。ただ水素イオン濃度を測定する場合、一部誤差の生ずる懼れの大なるものは電氣的に行つた。

## III 実験成績

## 1) 酸凝集に及ぼす 2, 3 の表面活性剤の影響

使用した表面活性剤は、非電離性の Tween 80 及び電離性のものの中でアニオン活性剤である Sodium stearate, Potassium stearate, K-laurylsulfate  $C_{12}H_{25}OSO_3K$ , K-decylsulfate  $C_{10}H_{21}OSO_3K$ , K-tetradecylsulfate  $C_{14}H_{29}OSO_3K$ , Na-octylsulfate  $C_8H_{17}OSO_3Na$ , Na-octadecylsulfate  $C_{18}H_{37}OSO_3Na$ , K-n-octylsulfate  $CH_3(CH_2)_7OSO_3K$  の8種類である。

これ等をその溶解度に応じて 0.001% から 1% の割合に予め McIlvaine 緩衝液中に溶解し、所定の如く菌浮遊液を加え 37°C フラン器中で反応させて経過を観察した。その成績は第1表に示した。成績は反応後 24 時間目の読みである。この表を見ると、非電離性の Tween 80 及び電離性のものの中で、カルボン酸を極性団とするものは酸凝集反応に対し何らの影響を及ぼさないが、これに反して、アニオン活性剤中、強大な親水性のスルフォ基を極性団とするものは、酸凝集反応の至適 PH 域においても、濃度が適当であれば、凝集を完全に阻止することが分る。同様な実験を加熱死菌の菌液を用いて行つたが、結果は全く同様であつた。

次に、まず予め McIlvaine 緩衝液を用い、37°C で反応を行い、反応後 24 時間目に完全凝集を起した試験管列に対し、上記の表面活性剤中、最大の凝集阻止作用を示した K-tetradecylsulfate を 0.01% の割合に加え、凝集塊が平等になる迄振盪し、再び 37°C フラン器中に入れ、24 時間後に観察したところ、凝集は全く見られ

なかつた。

第1表 表面活性剤の酸凝集に及ぼす影響

BCG A株 菌液製造直後 37°C フラン器内放置

表面活性剤名	濃度	1%	0.1%	0.01%	0.001%
	PH				
Tween 80	3.0	##	##	##	##
	3.6	##	##	##	##
Sodium stearate	3.0		##	##	##
	3.6		##	##	##
Potassium stearate	3.0		##	##	##
	3.6		##	##	##
K-laurylsulfate	3.0		—	##	##
	3.6		—	##	##
	4.2		—	##	##
	5.0		—	—	##
K-decylsulfate	3.0		##	##	##
	3.6		##	##	##
	4.2		##	##	##
	5.0		—	##	##
K-tetradecylsulfate	3.0		—	—	##
	3.6		—	—	##
	4.2		—	—	+
	5.0		—	—	+
K-n-octylsulfate	3.0		##	##	##
	3.6		##	##	##
	4.2		##	##	##
	5.0		##	##	##
Na-octylsulfate	3.0		—	—	##
	3.6		—	—	##
	4.2		—	—	##
	5.0		—	—	##
Na-octadecylsulfate	3.0	0.0001%		—	—
	3.6	##		—	—
対 照	3.0	0%			
	3.6	##			
	4.2	##			
	5.0	##			

## 2) 酸凝集反応に対する血清の影響

使用した血清は正常家兎、牛、人及び結核免疫家兎血清の4種類である。実験に当つてはまずこれ等血清の原液、及び蒸溜水で 10 倍、100 倍に稀釈したものを、McIlvaine 緩衝液の各 PH 列 3.5cc にそれぞれ 0.5cc

宛加え、次で所定の如く菌液を混合し（結局血清はそれぞれ 10倍、100倍、1000倍の割合に加えられたことになる）、37°C フラン器中におさめて反応を観察した。この際、対照として各稀釈血清各々 4 cc に菌液を加えたものを観察した。上記の各血清は皆一様に顕著な阻止効果を示してその間に全く差異が認められなかつたので、1例として、結核免疫家兎血清を添加した場合の成績を第2表に示した。表に明らかなように、原血清及び 10 倍稀釈血清添加の場合、凝集は全く認められず、100 倍稀釈血清の場合は PH4.2 においてのみ凝集が認められた。なお血清添加による PHの変動は電氣的に測定して表中に記載した。

第2表 血清のBCG酸凝集に及ぼす影響  
(結核免疫家兎血清添加)

添加血清	PH							対照血清
	2.2	2.4	3.0	3.6	4.2	5.0	5.6	
原血清	-	-	-	-	-	-	-	+
10倍稀釈血清	-	-	-	-	-	-	-	+
100倍稀釈血清	2.94	3.8	-	4.13	4.72	-	-	-
無添加対照	##	##	##	##	##	+	-	+

#### IV 考 察

本実験において興味あることは、スルホン基を有する電離性アニオン活性剤が酸凝集を阻止し、就中、アルキルの炭素数の多いもの程、大なる阻止作用を呈したことである。これに反し非電離性表面活性剤である Tween 80 には全くこの阻止作用が見られない。この差異は次の如く膠質化学的に考えれば説明できると思ふ<sup>2)3)</sup>。すなわち菌体を酸液中に分散させる作用は、

第1段：菌体は常に陰性に荷電し、強酸のメヂウムの中でも陽性に荷電しないものであるが、表面活性剤は、その強大な表面活性に基き被覆すべき面の電荷の正負如何に関らず菌体に吸着せられ、かくして菌体面と酸液との境界に表面張力の減少を来す。

第2段：同時にこの際、表面活性剤の長鎖状の炭化水素団の末端に異極性の極性団を持つものは、末端のイオンが酸液に接する界面に向つて最も緻密に並列して、界面荷電を高め、かくして菌体に遊離荷電を与え、菌体相互の電氣的反撥効果を大にする。

以上の推定に立脚して、Tween 80 の場合を考えると、Tween 80 はまず溶液の PHに無関係に疎水性団の脂肪属アルキルの鎖でBCG菌体の疎水性の表面に吸着され、ために親水性のエチレンオキサイドの鎖が表面に出ることになる。しかし電氣的陰性の親水性団がないから、上述の第2段の静電的反撥効果を生じないのである。これに反しアニオン活性剤はPHの値の如何にかかわらず、常に荷電するので、第2段の効果も充分に発揮されるわけである。かくして菌の凝集が阻止されると考えられる。

次に酸凝集反応に対する血清の影響については、Michaelis<sup>4)</sup>以来、多数の報告があるが、岡崎<sup>5)</sup>は大腸菌の酸による凝集性は正常及び免疫血清の添加によつて一般に増強すると述べている。BCGを以てしたわれわれの実験では、本菌の酸凝集性は血清添加により却つて阻止された。このことは前記岡崎<sup>5)</sup>及び長沢<sup>6)</sup>の赤痢菌を以てした成績とは逆である。菌の種類によつてこのような反応現象が起きるのは如何なる機転に基くものかわれわれには目下のところ不明である。

#### V 結 論

1) BCGの酸凝集反応はスルホン基を有する電離性アニオン表面活性剤で阻止された。非電離性表面活性剤である Tween 80 にはこの阻止作用は認められなかつた。

2) BCGの酸凝集反応は血清添加により著しく阻止された。

終りに恩師高橋教授の御指導と御校閲を心から感謝し、表面活性剤を快よく御分与下さつた本学工学部高田助教授に深謝する。

#### 文 献

- 1) 山本健一：結核，28，5(212~216)，昭 28.
- 2) 金丸 鏡：界面活性剤：楨書店，昭 26.
- 3) 立花太郎：自然：66号，昭 26.
- 4) Michaelis, L: Deutsh. Med. Wschr., 37: 269, 1911.
- 5) 岡崎 一：千葉医学会雑誌，15: 1017, 昭 12.
- 6) 長沢修三郎：北越医学会雑誌，41; 215, 大 15.