

結核アレルギー反応に関する生化学的研究

第2報 結核アレルギー性肝臓カタラーゼ反応 (A. L. K. 反応)における抗原特異性と抗原の検討

国立療養所 刀根山病院(院長 渡辺三郎博士)
大阪市立医科大学 刀根山結核研究所(所長 渡辺三郎教授)

矢 坂 茂・遠 藤 一 男
岩 倉 弘 之・山 村 雄 一

(昭和 28 年 6 月 1 日受付)

山村等は第1報¹⁾で、家兎の肝臓において結核アレルギー反応を惹起せしめると、それに伴つて肝臓カタラーゼ作用が低下することを見出し、これを便宜上結核アレルギー性肝臓カタラーゼ反応(A.L.K. 反応)と名づけた。その際家兎の感染には人型結核菌(Frankfurt 株、以下F株と略記する)を使用してツベルクリン反応を陽転せしめ、二次抗原はすべて腸間膜静脈内に注射を行った。しかし二次抗原として人型結核菌・牛型結核菌(三輪株)・BCGの各加熱死菌を使用するとき、一定の抗原特異性が存在することを認め、これによつて人型結核菌(F株)と牛型結核菌(三輪株)及びBCGとは明らかに区別することができた。

今回は牛型結核菌(三輪株)及びBCGを一次抗原として使用し、二次抗原は第1報で述べた各種結核菌の加熱死菌を用いて実験を行い、各菌型間にそれぞれ第1報と同様な抗原特異性が存在することを明らかにし、更にA.L.K. 反応に使用する一次抗原(ツベルクリン反応陽転化に使用した抗原)及び二次抗原(腸間膜静脈内に注射する抗原)について検討を加え、一定の成績を得たのでこれ等をあわせ第2報として報告する。

第1章 実験方法

実験方法は特に記載しない限り第1報において述べた方法に従つた。すなわち肝臓カタラーゼ作用力の測定は von Euler & Josephson の方法²⁾により Katalase fähigkeit = $\frac{k}{\text{酵素材料乾燥量}(g)}$ を以て示すこととした。(以下 Katalase fähigkeit を Kat.f. 値と略記する)但し酵素材料は家兎の肝臓 Homogenate を、k は H₂O₂ のカタラーゼによる分解反応における一次反応速度恒数をあらわす。

第2章 A.L.K. 反応における抗原特異性

第1節 牛型結核菌(三輪株)感染家兎における

A.L.K. 反応の抗原特異性

牛型結核菌(三輪株)の生菌^(湿量)_{10mg/c.c.}を家兎の大腿皮下に注射してツベルクリン反応を陽転せしめた後、牛型結核菌(三輪株)及び人型結核菌(F株)の各加熱死菌^(湿量)を家兎の腸間膜静脈内に注射して逐日的に家兎

を殺し、その肝臓 Kat.f. 値を測定すると、第1表に示す如く二次抗原として牛型結核菌(三輪株)を用いた場合に A.L.K. 反応は最も強く陽性を示し、且つ持続的(14日目陽性)である。しかし一次抗原とは異つた人型結核菌(F株)を二次抗原として用いた場合でも A.L.K. 反応は一過性に(3~5日目)陽性を示すが直ちに陰性となる。これを模式的に示すと第1図の如くである。

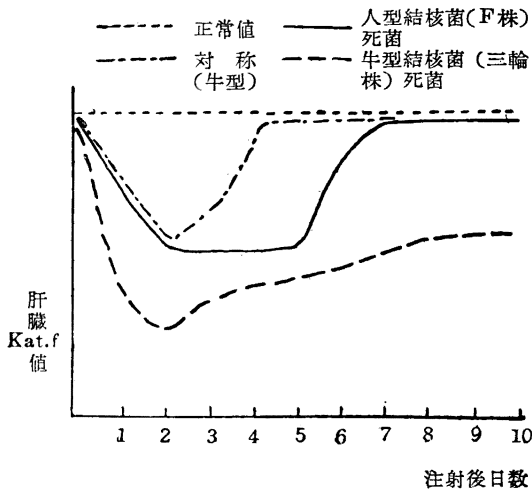
第1表 牛型結核菌(三輪株)感染家兎における A.L.K. 反応による人型結核菌(Frankfurt 株)と牛型結核菌(三輪株)との鑑別

初 感 染 : 牛型(三輪株) 10mg 皮下
二次抗原 : 加熱死菌 腸間膜静脈内

菌株と菌量	牛型(三輪株) 10mg(湿量)/c.c.		人型(F株) 10mg(湿量)/c.c.	
	Kat.f.	A.L.K. R.	Kat.f.	A.L.K. R.
二次抗原注射後測定までの日数				
1	53.1	±	79.3	—
2	28.9	卍	52.2	±
3	42.0	+	43.0	+
4	37.8	卍	36.1	卍
5	41.2	+	40.3	+
6	36.7	卍	54.1	±
7	42.2	+	62.3	—
10	41.0	+		
14	49.3	+		

この場合、いずれも二次抗原注射後4日目の肝臓 Kat.f. 値が最低値を示すので、両者の差をより判然とさせるため二次抗原に用いる菌量を種々増減してその4日目の A.L.K. 反応を測定することとした。すなわち第2表の如く種々の菌量を注射した場合、牛型結核菌(三輪株・一次抗原)感染後牛型結核菌(三輪株・二次抗原)腸間膜静脈内注射の場合では二次抗原量が^(湿量)_{0.5mg/cc}の如き微量の菌量によつても A.L.K. 反応は陽性となるが、菌型の異つた牛型結核菌(三輪株)感染後人型結核菌(F株)腸間膜静脈内注射の場合では二次抗原量は^(湿量)_{10mg/cc}の大量を用いなければ A.L.K. 反応が陽性とならない。

第1図 牛型結核菌(三輪株)感染家兎の A. L. K. 反応



すなわち両者の差を A.L.K. 反応によって二次抗原注射後4日目に区別するためには、二次抗原に用いる菌量を(湿量) 5mg/cc 以下にすればよいことを知った。

第2表 牛型(三輪株)結核菌感染家兎における A.L.K. 反応の抗原特異性

初感染: 牛型結核菌(三輪株) 10mg 皮下
二次抗原: 加熱死菌 腸間膜静脈内, 耳静脈内
注射後日数: 4日

注射法	腸間膜静脈内				耳静脈内	
菌種	牛型(三輪株)		人型(Frankfurt株)		牛型(三輪株)	
菌量↓	Kat.f.	A.L.K.R.	Kat.f.	A.L.K.R.	Kat.f.	A.L.K.R.
100 mg	26.6	卅			(20mg) 29.6	卅
50 "	26.0	卅			44.1	+
10 "	37.8	卅	36.1	卅	60.3	-
5 "	35.0	卅	54.6	±		
3 "	40.3	+	48.5	+		
1 "	35.7	卅	61.4	-		
0.5 "	39.8	卅				
0.1 "	53.5	±				

次にこれらの成績から、このような微量の牛型結核菌を二次抗原として家兎の腸間膜静脈内に注射しても肝臓 Kat.f. 値が低下するのであるならば、やや大量の菌を耳静脈から注射してもある一定量は肝臓に到達してアレルギー反応が惹起せられ、A.L.K. 反応が陽性となるであろうと考えて実験を行つた。その結核第2表の如く二次抗原として(湿量) 10mg/cc 以上の牛型結核菌(三輪株)加熱死菌を耳静脈から注射すると明らかに A.L.K. 反応が陽性となることを知った。

第2節 BCG感染家兎におけるA.L.K.

反応の抗原特異性

BCG (湿量) 10mg/cc を用いて家兎のツベルクリン反応を陽転せしめて、同様の実験を行い、第3表の如く BCG 感染後 BCG 腸間膜静脈内注射の場合に A.L.K. 反応が最も強く陽性となるが、二次抗原として牛型(三輪株)結核菌を用いた場合には(湿量) 10mg/cc 以上を用いないと反応は陽性とならない。又人型結核菌・鳥型結核菌では殆んど A.L.K. 反応は陰性であつた。すなわちこの場合においても、各菌型間においてもかなりの抗原特異性がみとめられることを知つた。

第3表 B.C.G. 感染家兎における A.L.K.

反応の抗原特異性

初感染: B.C.G. 10mg 皮下

二次抗原: 加熱死菌 腸間膜静脈内

注射後日数: 4日

菌型	菌株	菌量					
		1mg		5mg		10mg	
		Kat.f.	A.L.K.R.	Kat.f.	A.L.K.R.	Kat.f.	A.L.K.R.
B.C.G.		49.3	+	47.8 48.8	+	36.2 29.1	卅 卅
牛型	三輪	55.1	-	52.0	±	43.2	+
人型	Frankfurt					55.0	-
	青山B					68.4	-
鳥型	竹尾	55.0	-	59.3	-	51.6	±

第3章 二次抗原の検討

以上の結核アレルギー性肝臓カタラーゼ反応(A.L.K. 反応)を惹起せしめる為には、二次抗原としてはすべて結核菌の生菌又は死菌菌体を用いてきた。

次にわれわれは結核菌の菌体濾液を化学的に分割を行つて、その各々を二次抗原として、ツベルクリン反応を陽転せしめた家兎の腸間膜静脈内に注射し、肝臓 Kat.f. 値を測定して、各分割の A.L.K. 反応における抗原性の有無を検討した。

第1節 抗原の分割

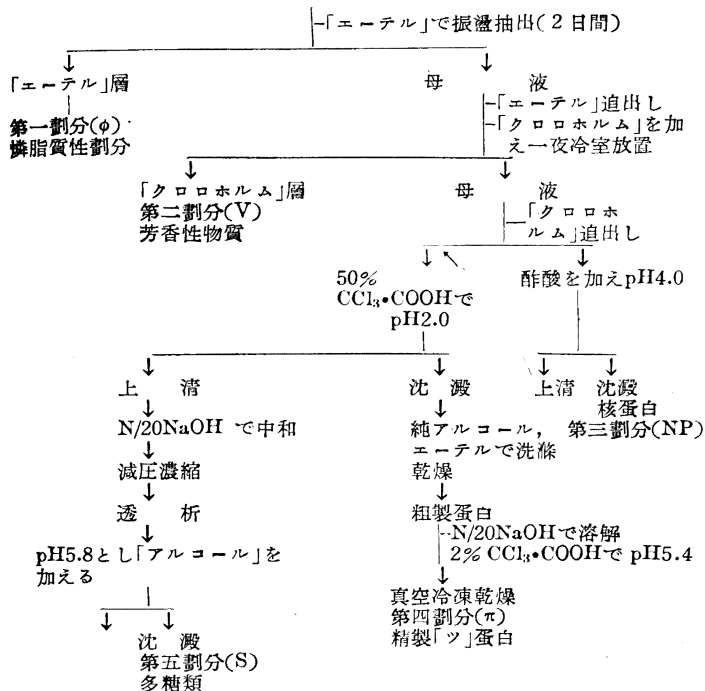
人型結核菌青山B株のキルヒナー氏基礎培地培養4週目の菌を、100°C、30分加熱滅菌して菌体を濾過によつて除去し、その除菌液を第4表に従つて各分割に分割し、その各々を二次抗原として使用することとした。

第2節 実験成績

人型結核菌(F株)の生菌(湿量) 10mg/cc を家兎の大腿皮下に注射して、ツベルクリン反応を陽転せしめた後、上記の各分割をそれぞれ腸間膜静脈内に注射し、注射後4日目に家兎を殺し、その肝臓 Kat.f. 値を測定した。

なお対照実験としてツベルクリン反応陰性の正常家兎

第4表 分割法
人型結核菌(青山B株)培養除菌液



腸間膜静脈内に各割分をそれぞれ^(湿量) 10mg/cc 宛注射し、注射後4日目に家兎を殺し、肝臓 Kat.f. 値を測定

第5表 A.L.K. 反応における二次抗原の分割
初感染: 人型(F株)菌 10mg 皮下
二次抗原: 腸間膜静脈内
注射後日数: 4日

実験群	二次抗原		初感染 ↓ 再注射 の 日数	ツ 反 応 性	体重 (g)	肝重 (g)	肝臓 Kat.f. 値	A. L. K. 反 応	
	分割	注射量 (乾燥 量)							
Cπ	π 精製蛋白 pH4.0の醋酸水にサスペンドして注射	10	41	卅	2050	48.0	32.3	卅	
		5	32	卅	2360	47.7	39.7	卅	
		1	41	卅	1950	46.0	27.9	卅	
		0.5	32	卅	2100	45.0	49.5	+	
CNP	NP 核蛋白 pH4.0の醋酸水にサスペンドして注射	10	39	卅	1500	46.7	36.3	卅	
		5	41	+	1800	43.0	39.3	卅	
		1	38	卅	1570	49.5	44.9	+	
Cφ	φ 磷脂質	10	37	+	1980	42.7	66.1	-	
		1	37	+	2100	49.5	54.5	±	
対照	π	10	/	-	1950	50.2	55.1	/	
		NP	10	/	-	1880	40.0	49.2	/
		φ	10	/	-	2300	50.5	57.4	/

することとした。

その成績は第5表に示す如くである。すなわち精製ツベルクリン蛋白(π)を pH4.0 の醋酸水にサスペンドし、これを二次抗原として A.L.K. 反応を検すると、^(湿量) 5mg/cc, 1mg/cc では A.L.K. 反応はすべて強く陽性を示し、0.5mg/cc の微量注射においてもなお A.L.K. 反応は陽性であった。更に「ツ」核蛋白(NP)を同様に pH4.0 の醋酸水にサスペンドし、二次抗原とした場合においても同様に A.L.K. 反応は陽性であった。之に反して「ツ」磷脂質(φ)を生理的食塩水にサスペンドしたものを二次抗原とした場合には、10mg においても A.L.K. 反応は全く陰性であった。なお第1報で述べた如く A.L.K. 反応に使用する抗原としては不溶性の固形成分であつて、肝臓毛細血管において一定程度捕捉される必要がある。しかるに多

糖類は可溶性であるために二次抗原として使用できなかった。又、対照実験では第5表に示す如く、いずれも肝臓 Kat.f. 値は正常家兎のそれに近い値を示した。

以上のことから A.L.K. 反応においては二次抗原として結核菌の菌体と同様にその「ツ」割分も使用し得ることが分り、且つ「ツ」割分中、蛋白割分が A.L.K. 反応陽性を示すことから A.L.K. 反応の活性因子が蛋白割分中に存在することが考えられる。

第4章 一次抗原の検討

われわれはこれまでの実験において、家兎のツベルクリン反応を陽転せしめるために、一次抗原としてはすべて結核菌の生菌を使用してきた。しかし動物を結核菌の生菌で感染させることは実験の操作上不便なことが多い。そこでわれわれは、結核菌は加熱して死菌とし、これに Adjuvant として流動パラフィンを加え、いわゆる流動パラフィン加加熱死菌³⁾を以て家兎を感作し、生菌の場合と同様に家兎のツベルクリン反応を陽転せしめることができた。

結核菌の流動パラフィン加加熱死菌は、人型結核菌(F株)のキルヒナー氏寒天培地培養 3~4 週目の菌を採り、これに流動パラフィンを徐々に加えて十分に乳鉢内で磨碎し、^(湿量) 50mg/cc の人型結核菌流動パラフィン均等浮游液とし、これを 100°C 30分加熱して調整したものである。この浮游液 1c.c. を家兎の大腿内側筋肉内に注射すると、約2週間後に「ツ」反応が陽転する。次いで二次抗原として人型結核菌(F株)加熱死菌 10mg/cc を腸間

膜静脈内に注射し、逐日的に家兎を殺し、その肝臓 Kat.f. 値を測定した。その成績は第 6 表に示す如くであつて、一次抗原として人型結核菌の生菌^(湿量) 10mg/cc を家兎の大腿皮下に注射し、ツベルクリン反応を陽転せしめて行つた実験とほぼ同様の成績を得た。すなわち二次抗原注射後、2 日から 6 日にわたつて肝臓 Kat.f. 値は低下し、A.L.K. 反応は強く陽性を示した。

第 6 表 流動パラフィン加、死菌ワクチン注射家兎における A.L.K. 反応
一次抗原：人型結核菌(F株)加熱死菌流動パラフィン浮游液 (50mg) 筋肉内注射
二次抗原：人型結核菌(F株)加熱死菌 10mg 腸間膜静脈内注射

実験 No.	日 数		「ツ」反応	性	体重 (g)	肝重 (g)	肝 Kat.f.	A.L.K.R.
	一次抗原 ↓ 二次抗原	二次抗原 ↓ 実 験						
ZC	20	2	+	♂	1750	49.0	28.2	+
	20	3	+	♀	2080	56.5	39.1	+
	20	4	+	♀	2500	65.3	31.8	+
	20	5	+	♀	1850	45.5	38.8	+
	20	6	+	♂	1850	55.5	36.9	+

次に流動パラフィン加加熱死菌(人型 F 株菌)^(湿量) 50mg/cc. を以てツベルクリン反応を陽転せしめた家兎について、二次抗原として第 7 表に示す結核菌の各加熱死菌を家兎の腸間膜静脈内に注射し、その肝臓 Kat.f. 値を測定して抗原の特異性を検討した。その成績は第 7 表の如く人型結核菌 (F 株) 生菌を用いて家兎のツベルクリン反応を陽転せしめて行つた実験と同様に二次抗原として用いた

第 7 表 流動パラフィン加加熱死菌ワクチン注射家兎における A.L.K. 反応の抗原特異性

一次抗原：人型結核菌(F株)加熱死菌 50mg 流動パラフィン筋肉内注射→「ツ」反応陽転
二次抗原：加熱死菌 10mg：腸間膜静脈内注射
数値は肝 Kat.f. 値

菌型	菌 株	二次抗原注射→実験迄の日数	
		4 日	5 日
人	Frankfurt	31.8(+)	38.8(+)
型	青 山 B	57.8(-)	46.7(+)
牛	三 輪	60.4(-)	57.1(-)
型	牛 R ₁₄	46.4(±)	63.2(-)
	B C G	63.1(-)	59.7(-)

人型結核菌と牛型結核菌又は BCG との間には抗原特異性を認めることができた。

次に流動パラフィン加加熱死菌^(湿量) (50mg/cc.) を家兎の大腿内側筋肉内に注射し、約 3 週後ツベルクリン反応が陽転した家兎につきツベルクリン精製蛋白 (π) の醋酸水サスペンション (pH4.0) の 10mg, 5mg, 1mg, 0.5mg の各々を二次抗原として家兎の腸間膜静脈内に注射し、その 4 日目の肝臓 Kat.f. 値を測定した。その成績は第 8 表の如くで、二次抗原の注射量 10mg の場合は人型結核菌 (F 株) 生菌感染家兎の場合の A.L.K. 反応と同様の成績を得たが、二次抗原の注射量 5mg 以下では A.L.K. 反応陽性の程度が弱くなり、0.5mg では陰性であつた。

第 8 表 流動パラフィン加加熱死菌注射家兎における A.L.K. 反応の抗原特異性(2)

一次抗原：人型結核菌(F株)加熱死菌 (50mg) 流動パラフィン浮游液
二次抗原：ツベルクリン精製蛋白 π のサスペンション

実験 No.	日 数		「ツ」反応	二次抗原量	性	体 重 (g)	肝 重 (g)	肝 Kat.f.	A.L.K.R.
	一次抗原 ↓ 二次抗原	二次抗原 ↓ 実 験							
ZCπ	19	4	+	10 ^{mg}	♀	1900	52.0	37.8	+
	19	4	+	5	♂	2050	50.2	47.6	+
	36	4	+	1	♂	2000	53.0	50.9	±
	36	4	+	0.5	♂	1700	43.0	67.5	-

第 5 章 考案並びに結論

1) 牛型結核菌(三輪株)生菌^(湿量) 10mg/cc 感染家兎において、二次抗原として人型結核菌 (F 株) と牛型結核菌 (三輪株) の各加熱死菌を用いて家兎の腸間膜静脈内に注射して、A.L.K. 反応を惹起せしめた場合、牛型結核菌を用いた方が A.L.K. 反応は強く且つ持続的であり、二次抗原注射後 5 日以上を経過すると、両者には明確なる差がみられる。

2) 牛型結核菌(三輪株)生菌^(湿量) 10mg/cc 感染家兎において、二次抗原の注射後 4 日目の A.L.K. 反応を検査して牛型結核菌(三輪株)と人型結核菌 (F 株) を区別するためには、二次抗原の注射菌量を 5mg/cc 以下にすればよい。

3) BCG 感染家兎においては、二次抗原が BCG の場合に A.L.K. 反応が最も強く陽性を示し、牛型結核菌(三輪株)がこれに次ぎ、人型結核菌・鳥型結核菌は反応しない。

4) ツベルクリンを分割して得た各分割について、その抗原性の有無を検討したのに、蛋白分割を二次抗原として家兎の腸間膜静脈内に注射した場合には、A.L.K. 反応は明らかに陽性を示した。これに反して磷脂質分割は全く陰性であった。このことから、A.L.K. 反応の活性因子が蛋白分割に存在することが考えられる。なお多糖類は可溶性のため抗原として使用できなかつた。

5) 人型結核菌(F株)の流動パラフィン加加熱死菌を家兎の大腿筋肉内に注射すると、人型結核菌生菌を用いた場合と同様に家兎のツベルクリン反応を陽転せしめ、A.L.K. 反応を惹起せしめることができた。

6) 人型結核菌(F株)の流動パラフィン加加熱死菌によつて家兎のツベルクリン反応を陽転せしめた場合においても、二次抗原として用いた各菌型間に抗原特異性の存在を知つた。

7) 人型結核菌(F株)の流動パラフィン加加熱死菌

を以て、家兎のツベルクリン反応を陽転せしめた後、二次抗原として精製ツベルクリン蛋白(π)を腸間膜静脈内に注射すると、家兎の肝臓 Kat.f. 値は低下し、A.L.K. 反応は陽性を示した。但し人型結核菌(F株)生菌を以て家兎のツベルクリン反応を陽転せしめた場合と比較すると、A.L.K. 反応陽性の程度はやや弱いと思われる。

終りに臨み、御指導と御校閲を賜つた院長渡辺三郎博士に深謝する。

文 献

- 1) 山村雄一・矢坂 茂・今津史郎：結核，27：362，1952.
- 2) von Euler & Josephson：Ber.，56：1749，1923
- 3) J. Freund：Ann. Rev. Microbiol.，1：291，1947.

東京慈恵会医科大学教授 医学博士 片山良亮 著

結核の化学療法

A 5判 370 頁 函入
定価 480 円 千実費

— 殊に骨関節結核について —

本書は骨関節結核の化学療法を述べると共に従來の治療法にも簡単に触れて記述し、または化学療法の施行時或いは実験をするに必要な検査法についてはその総てを網羅している。殊に戦後アメリカ医学の導入による新しい検査法或いは実験法の吸収に大きな努力が払われた。更に記載にあつては本書を見れば実験を実施し得るように懇切を極めていると共に実験中の体験と鮮明な多数の図版とを以て万全を期している。また各事項については夫々文献名を記載して研究の便を図つている。従つて本書は医学者並びに臨床医家諸氏に貴重な参考資料である。

内 容 目 次

- | | |
|----------------------------|-------------------------------|
| 第1章 化学療法剤の発達史とその性状 | 第2章 骨関節結核の病変像と化学療法による影響に関する文献 |
| 第3章 化学療法に必要な臨床的並びに実験検査法の実際 | 第4章 動物実験による化学療法の検討 |
| 第5章 骨関節結核に対する化学療法の臨床応用 | |

医学博士 三輪徳定 著

主な 肛門疾患とその臨牀

A 5判 130 頁 函入
定価 280 円 千実費

諸種の疾患が直腸肛門部にいろいろの障害をきたすと同時に、直腸肛門部の疾患がまた全身的に諸種の障害を起すことが多いことは周知の如くである。

本書は斯界の権威が曩に「痔核・肛門周囲炎・痔瘻」の小著を公にし、世の好評を得たので、更にこれに脱肛・肛門裂創・肛門瘙痒症の項を加えて実地医家の参考に供したものである。

内容目次： 総論 直腸及び肛門の解剖的考察—診断法一般—肛門における局所麻酔法

各論 痔疾—肛門周囲炎—痔瘻—肛門及び直腸脱—肛門及び直腸狭窄—肛門裂創—肛門の瘙痒—肛門部の濕疹

東京都中央区(京橋局区内)銀座西7の1

発行所

株式
会社

東西医学社

電話 銀座(57) 2126—2129 番
振替口座 東京 2818 番