

赤血球凝集反応および溶血反応に おける抗体に関する研究

東京大学伝染病研究所臨牀研究部（指導 北本治教授）

斎 藤 典 穂

（受付 昭和 30 年 11 月 15 日）

著者は前報¹⁾において結核の感染から発病治癒に至る各集団において両反応抗体価に多少とも相違のあることおよび²⁾結核患者の病状の経過と両反応抗体価の推移に或程度の開きのあることを認めることが出来た。

赤血球凝集反応抗体と溶血反応抗体との相違について言及している論文は Middle brook, Schwartz, Molloy, Lugentini, 等のものがあるがいずれも臨床例についての検討であり, 両抗体価の相違についても統計的推測の域をでていない。

著者は今回結核感染家兎についてこの点を検討すると共に, その抗血清および結核患者血清の濾紙電気泳動法による各分劃について両抗体の異同を検討することが出来たのでここに報告する。

実験方法

1. 実験動物 体重約 2kg の家兎を用いた。いずれも接種前のツベルクリン反応 (Römer) は陰性であった。

2. 感染方法 人型結核菌青山B株 1mg 乃至 3mg を家兎耳静脈内に注入感染せしめた。

3. 赤血球凝集反応および溶血反応の術式

家兎よりの採血は結核菌接種前および接種後一週毎に行つた。再感染の場合には接種後 5 日迄に毎日行つた。

赤血球凝集反応および溶血反応は前報に報告した通りである。抗原には Pasteur 研究所の l'antigène pour la réaction d' hemagglutination dans la tuberculose を用いた。

4. 濾紙電気泳動法

濾紙電気泳動には小林式濾紙電気泳動装置を用いた。濾紙は東洋濾紙 No. 51 を用いた。電圧 180 volt, 電流 13 mA で約 7 時間泳動した。

赤血球凝集反応および溶血反応の抗体の分析には Payne et al.⁷⁾ の血液型凝集素分析の方法を用いた。すなわち第 1 表に図示した如く予め濾紙上に鉛筆で 0.5 cm の間隔で縦線をいれる。同濾紙上に同じものを 3 本

作る。3 本の鉛筆線上の同一縦線の部に抗血清を同一量 (0.02~0.04 cc) だけ塗布して電気泳動した。泳動後 3 本のうち 1 本 (A) は対照として Brom-phenol-blue 溶液で染色し, 他の 2 本は縦線の部から固々の切片に切り離して, 予め生理的食塩水 0.4 cc を入れた小試験管内に投入する。そしてその 1 本 (B) には溶血反応を, 他の 1 本 (C) については赤血球凝集反応を行つた。

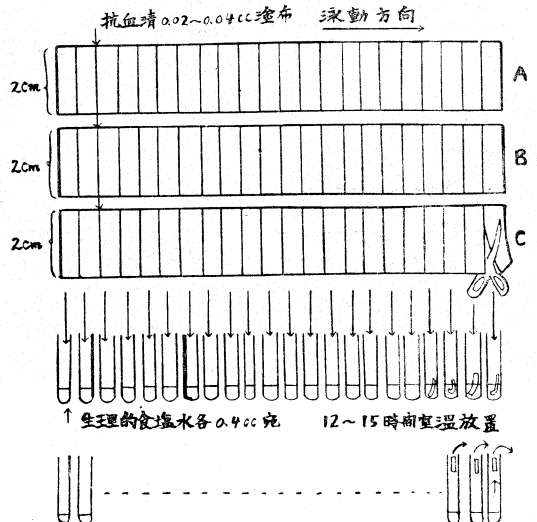
実験成績

1. 青山B株結核菌 1mg, 一回家兎静脈注射による影響

青山B株結核菌 1mg, 一回静注した家兎における赤血球凝集価と溶血価の変動の状況は第 2 表に示した通りである。この成績から感染時に溶血価の方が赤血球凝集価より一層高く現われ当分溶血価の方が高い値を持続する。その上接種前の両反応の値をみると溶血反応はいず

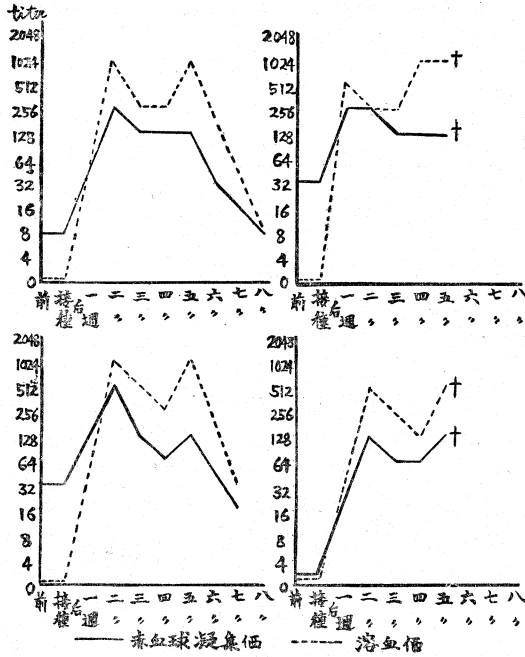
第 1 表

濾紙電気泳動法による赤血球凝集反応および溶血反応抗体の分析法について



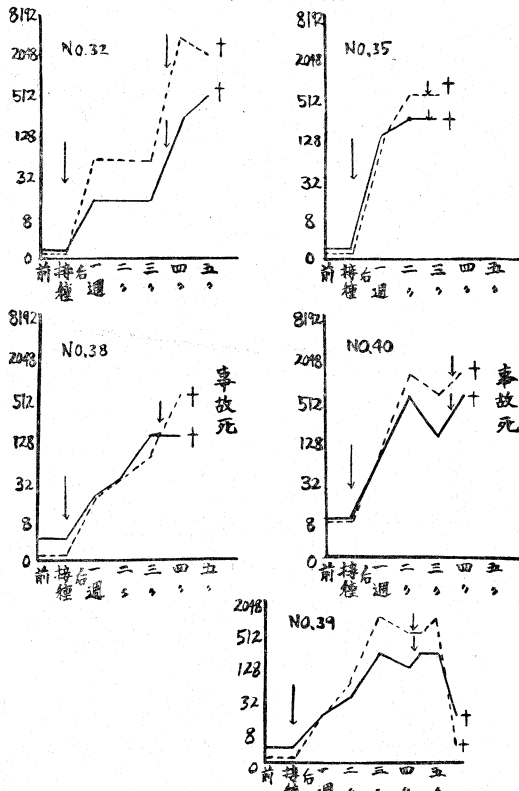
第2表

青山B株結核菌 1mg 静注家兎の抗体価



第3表

再感染の影響



れも陰性であるのに赤血球凝集価では接種前から 8x, 32x の値を示すものがあり, 非特異的反應も溶血反應の

方が少いようである。

2. 青山B株結核菌 3mg, 静注後3週目青山B株結核菌 3mg, 静注による再感染の影響

青山B株 3mg を家兎耳静脈内に注入感染せしめ, 感染後3週目に同じく青山B株 3mg を静注感染せしめた際の成績は第3表の通りである。この群の家兎はいずれも死亡して経過の観察は不十分であつた。図のNo. 38, No. 40 は事故により死亡した。この群でも溶血価が一般に凝集価より高い値を示したが, No. 32 を除くと他の4匹はいずれも初回の青山B株 3mg 静注による凝集価及び溶血価の変動に比し弱く現われている。小西池⁸⁾は種々な量の B. C. G によつて皮下免疫された家兎に人型菌戸田 K 株の比較的大量(20mg)を気管内に再感染せしめその赤血球凝集価の変動を観察している。その報告を見ると再感染時一時急激に赤血球凝集価が下降し, 次で初回感染を上廻るような抗体価の上昇のあるものを認めているが, 著者の場合は接種量, 感染様式等の相違からそのような現象は見られなかつた。

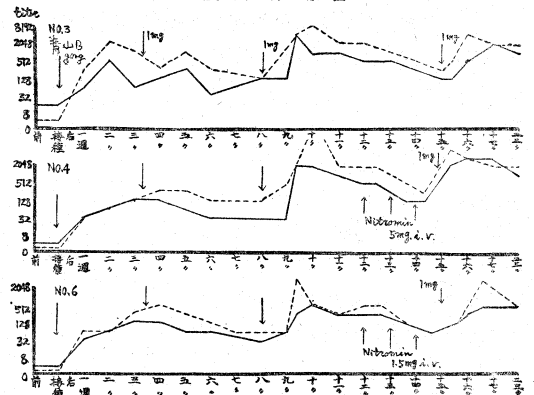
No. 39は衰弱死亡した例であるが, 死亡前に両反応値とも急激に下降しその下降度は溶血価で一層顕著であつた。

3. 青山B株結核菌の再三の静注による影響

第4表に青山B株結核菌の再三の感染による赤血球凝集価および溶血価におよぼす影響を示した。表に見られるように初回の感染では接種後一週より両反応値とも著明な上昇を見てをり2ないし3週で Peak に達する。この際の赤血球凝集価と溶血価の上昇の模様は第3表と同様である。二度目の感染に対する反応では両抗体価の上昇した Peak の時期に行われた感染ではその後の両抗体価の上昇はほとんど見られない。これに対して Peak の時期をややすぎて両抗体価が下降の傾向を示す頃では再度の感染に対する反応が現われている。しかし Peak 時期より再感染迄の期間が短いためか赤血球凝集価, 溶血価とも初回の感染による両抗体価の上昇を上廻るような

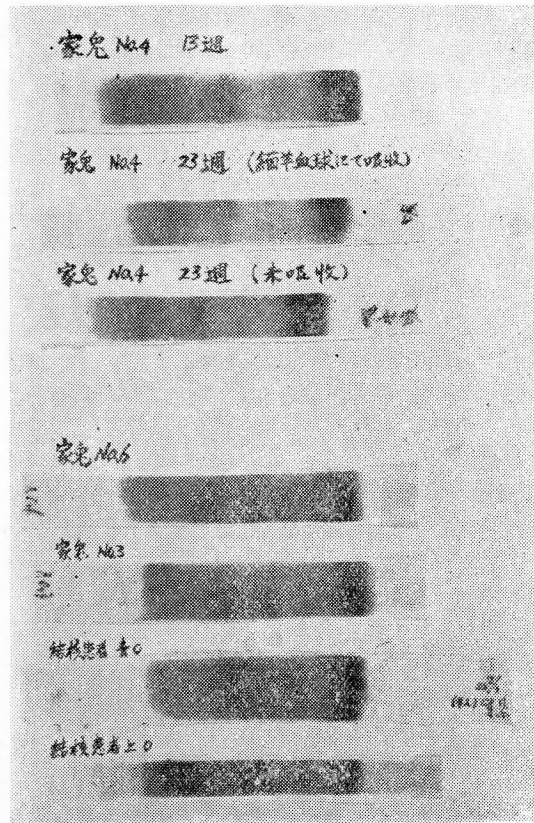
第4表

反覆再注射の影響



値を示さなかつた。なお二度目の感染後5週を経ても赤血球凝集価および溶血価は多少下降はするが、依然相当高い陽性価をもつていて感染前の値には戻っていない。5週後に今度は青山B株 1mg. を再度静注すると、菌量は少いにもかかわらずかなり著明な両抗体価の上昇が見られた。この上昇は静注感染後1週間は起らず2週目から急激に上昇が起つた。この関係は赤血球凝集価、溶血価とも同様であるが、溶血価の方がやや早くまた一層顕著に上昇するようである。なお今回の上昇後は両抗体価とも下降はかなり緩慢で相当の値を持続する傾向があつた。

次にこの下降の際にNo.4, No.6 に白血球減少のない程度の少量の Nitromin を静注前処置してをき、続いて青山B株 1mg を静注再感染してみた。



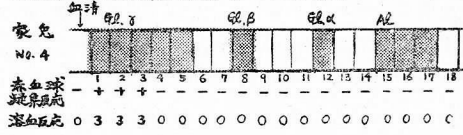
この結果は Nitromin の静注を行つたものも行わなかつたものも抗体価の上昇に著しい差異を認めなかつたが、4度目の静注では Nitromin 注射家兔では溶血価は注射後一週目に Peak に達し赤血球凝集価はやや遅れて Peak に達した。Nitromin 非注射家兔ではこの関係ははつきりしなかつた。なお今回は Peak に達する期間が3度目の再感染時より早かつた。

なお全経過を通じて溶血価の方が凝集価より高かつた。

以上三つの成績から両反応抗体は同一で唯反応型式が

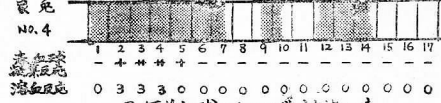
第5表
電気泳動所見 (I)

結核菌感染後13週に於ける赤血球凝集価と溶血価(凝集血清0.500に細菌血球0.200の非特異的抗体を吸収後電気泳動所見)

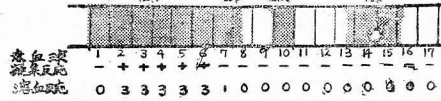


結核菌感染後23週に於ける赤血球凝集価と溶血価

A. 細菌血球による吸収後血清



B. 細菌血球による吸収未処理血清

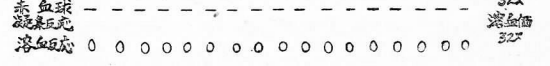
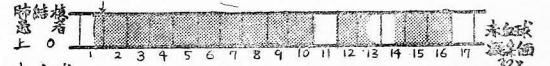
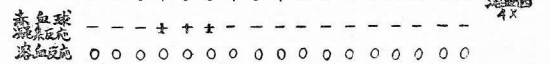
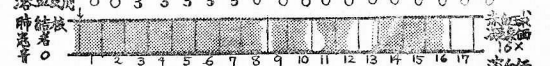
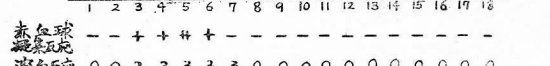
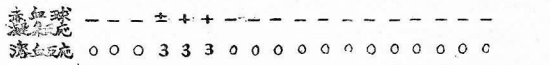
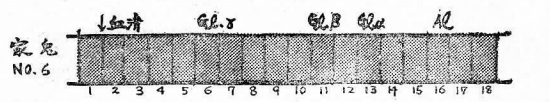


異なるものと考えよりむしろ両抗体が別個のものと考えの方が妥当と思われる。

4. 濾紙電気泳動法による赤血球凝集素および溶血素の分析

上述の家兔 No.4 の結核菌感染後13週および23週における抗血清を濾紙電気泳動法によつて各分割に分ち、その分割中における赤血球凝集素と溶血素の存在を検討した。その成績は次に示す通りである。これは先にも述べた如く泳動後の濾紙を B.P.B にて染色し各血清分割に分つたものであるが、写真ではやや不鮮明なため第5表の如くこれを分り易く図示して各血清分割を分析し、その切片について両反応を行つてみた。表によれば両抗体はいずれも γ -Globulin の部に存在しその範囲は大体同様である。

第6表
電気泳動所見 (II)



なお23週の血清では赤血球凝集素の方が少しその範囲が広がっている。ついで23週の血清につき予め綿羊血球で吸収しないものについて一例を示したが、その反応部位は吸収血清に比してかなり広がっている。唯この場合も反応物質は γ -globulin にある。つぎに同様にして免疫家兎 No. 3, No. 6 の血清および結核患者 6 名の血清について分析を行った。その成績は第 6 表の通りで、抗体価の充分高い免疫家兎血清では大体 γ -globulin の同じような泳動部位に両抗体が存するが、抗体価の比較的低い患者血清においては濾紙電気泳動法で用いる位の微量の血清中には明瞭に両抗体を証明しえなかつたものが 3 名、証明しえたものが 3 名あつた。

証明されなかつたものは用いた血清量が余りに少なすぎた為と思われた。証明された 3 名はやや大量の血清を用いたものである。このものは両抗体価に相違があり、赤血球凝集価が高く溶血価の低いものでは溶血抗体は証明されないが赤血球凝集抗体は証明された。これらの成績から両抗体は違うもののように考えられた。しかしながら高単位の免疫血清については確証が得られたとは断言出来ない。この点は電気泳動装置の改良其他技術的の点になお検討の余地があるかもしれない。

考 案

結核の赤血球凝集反応抗体と溶血抗体が同一のもので反応型式の差によつて違つて現われるものであるか、または両抗体が別個のものであるかという点についての疑問は初期の³⁾Middlebrook の論文に見出される。しかしながらこの点について検討した Schwartz⁴⁾, Mollov⁵⁾, Lugentini⁶⁾, Hall⁹⁾, 等の論文は多数の結核患者およびその他の結核非罹患者に両反応を行つてその値を比較しているにすぎない。著者¹²⁾ はこの点について先に報告した。今回この点についての観察を結核菌を接種した家兎血清について確めた。その結果、両抗体が同一であつて唯反応型式が違うために現われると考えるよりはむしろ両抗体が別型式のものと考えの方が妥当と思われる成績を得ることが出来た。もし両抗体が同一で反応型式のみの異なるものであるとすれば両抗体の推移を観察してゆけば自らそこに一定の相関々係がみられる筈であるが、そのような関係は求められなかつた。この点についてはツベルクリン中に含まれる抗原が単一でないということも大きく影響しているのであろう。

さらに濾紙電気泳動装置を応用して両抗体の血清分割中の存在を検討した。赤血球凝集素溶血素共に γ -globulin 中にあつた。この点は赤血球凝集反応抗体が γ -globulin にあると結論した原沢, 吉田¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾ 等の成績と一致する。原沢, 吉田等は抗血清とその抗血清を結核菌で吸収した後の血清との差異を Cizelius の電気泳動装置で測定して決定したものであるが、著者は直接 γ -globulin 分

割中にその抗体の存在を証明したわけで原沢, 吉田等の成績を裏づけた。なおこの際赤血球凝集反応抗体と溶血反応抗体の差異をその分割中の位置によつて決定することは出来難かつたが、唯結核患者の血清で溶血反応抗体は証明されず、赤血球凝集反応抗体のみ証明されたものがあつて両反応抗体は別個のもののように考えられた。しかしながら著者の用いた濾紙電気泳動装置は濾紙の長さの比較的短いものであつた為なお得られた成績に不満を感じる。十分に長い濾紙を用いて各分割の存在する部位を明瞭に隔離するようにして実施する必要がある。

結 論

1. 結核菌を健康家兎に感染せしめてその後の血清中の赤血球凝集素および溶血素を追跡した。感染に対する反応は溶血素の方がはるかに鋭敏に反応し、その値は赤血球凝集素の値と関連性を認めず、両抗体は異なるものようであつた。なお再三の感染に際して両抗体とも既往性反応と考えられる急激な強い上昇を示した。

2. 濾紙電気泳動装置により免疫家兎血清および肺結核患者血清中の赤血球凝集素および溶血素を分析した。両抗体共 γ -globulin 分割中に存在した。比較的抗体価の低い肺結核患者では濾紙電動法に用いる微量の血清量では抗体は証明されにくく、証明されたものではいずれも両抗体価に相違があり赤血球凝集価が溶血価より高い場合に赤血球凝集抗体が証明された。

したがつて両者は異なるもののように考えられた。

掘筆するに当り御懇切な御指導御校閲を賜つた北本教授に厚く感謝すると共に、御協力下さつた教室吉田, 高山, 土至田の諸氏に謝意を表します。

文 献

- 1) 齋藤：東京医事新誌, 72: 249, 1955.
- 2) 齋藤：東京医事新誌, 72: 507, 1955.
- 3) Middlebrook and Dubos: J. clin. Invest. 29: 1480, 1950.
- 4) B. Schwartz et al.: Am. Rev. Tbc. 66: 594, 1952.
- 5) M. Mollov et al.: Am. Rev. Tbc. 65: 194, 1952.
- 6) L. Lugentini et al.: Aun. Inst. Past. 82: 55, 1952.
- 7) Payne et al.: J. Immunol. 73: 81, 1954.
- 8) 小西池：大阪大学医学雑誌, 6: 151, 1953.
6: 163, 1953.
- 9) W. H. Hall et al.: J. clin. Invest. 30: 1542, 1951.
- 10) 原沢外：総合医学, 10: 477, 1953.
- 11) 原沢：結核, 28: 431, 1953.
- 12) 吉田：結核, 29: 134, 1954.