

ツベルクリン・アレルギーの実験的研究

第2編 ツベルクリン・アレルギーの成立機構に於ける類脂体の意義

小 崎 克 巳

京都大学結核研究所細菌血清学部 (指導 植田三郎教授)

受 付 昭 和 32 年 1 月 4 日

第1章 緒 論

結核菌の菌体成分の抗原性については、幾多の研究がなされてきた。そして Raffel^{1,5)}, Myrvik, Weiser²⁾ は類脂体が「ツ」型アレルギーを起す最も重要な要因であると考えた。Raffel および Forney は Picrylchloride⁴⁾, 卵白⁵⁾ さらに黄色葡萄球菌⁶⁾ 等の抗原に結核菌の類脂体ばかりでなく非病原性のスメグマ菌の類脂体を添加することによつて、その反応をアナフィラキシー反応から遅延型の反応に変化せしめることおよびこれを流バラ懸濁液とすることによつて一層この傾向を顕著とすることを観察した。

結核感染による抗体産生は本質的には菌体蛋白に基因することは明らかであるが、その際、細胞鉤着性の「ツ」抗体を産生せしめるように協力するものは類脂体であると考えられる。下記の実験によつて「ツ」アレルギー成立機構における類脂体の役割について、さらに検討を加えてみた。

第2章 脱脂結核菌による「ツ」アレルギーについて

結核菌体に抗酸性を与える類脂体を完全に除去することができたとすれば、このような脱脂菌体の投与に対して起る生体の反応性は、当然「ツ」型、すなわち細胞鉤着性のものとはならずして、一般抗原の場合の如く血清抗体による Arthus 型ないしはアナフィラキシーの型を取るべきことが予期せられる。

事実、Raffel^{1,5)} は脱脂結核菌の接種によつては「ツ」蛋白に対して強いアナフィラキシーを起し、決して「ツ」型の反応を示さないことを報告している。下記の実験は脱脂結核菌を注射した場合、海狸はどのような反応をするか、さらにまた第1編第2章¹⁰⁾ におけると同様にして、脱脂結核菌を流バラ懸濁液として使用した時は、海狸の反応は質的にどのように変化するかについて検討したものであるが、その結果は「ツ」アレルギー成立機構における類脂体の役割を若干明らかにするに資するところがあった。

材料:

体重450~540g の健康海狸 6 匹を使用した。

脱脂結核菌は Sauton 培地に 4 週間培養した H₃₇Rv 株から作つた。すなわち 100°C 30 分間加熱殺菌し、菌体を集め、充分乾燥したものをエーテルとエタノールの等量液で 10 日間よく振盪し、菌体を集め、50ml のクロロホルム中に 20 日間放置し、その間約 3 回振盪浸出した。Seitz 濾過器で濾過して集めた菌体は、Ziehl-Neelsen 法で染色すると、最早や抗酸性に染色される部分はなく、大部分易染性の菌体となる。この脱脂菌体を乾燥磨砕して貯蔵し、実験の都度計量使用した。

方法:

脱脂結核菌 100mg あるいは 50mg を生理的食塩水 1.0 ml を加えて乳鉢中でよく潰混和して、3 匹の海狸の大腿皮内あるいは皮下に注射し、また脱脂菌体 100mg あるいは 50mg を流バラ 1.0ml の懸濁液として、他の 3 匹の海狸の皮内あるいは皮下に注射した。注射 2 週、1, 2, 3 カ月後に 10×「ツ」0.1ml の皮内注射を行つて「ツ」アレルギーの程度を調べた。

成績:

成績は表 1 に示した如く脱脂菌 100mg あるいは 50mg をそれぞれ流バラ懸濁液として、皮内あるいは大腿皮下に 1 回ないし 2 回注射した No. 363, No. 96, No. 62 の 3 匹は、いずれも 2 週後において中等度の「ツ」反応陽性を示し、1, 2, 3 カ月と進むにしたがつて、アレルギーは増強し、いずれも強度の「ツ」反応を示すようになった。この際の反応は発赤、硬結は共に「ツ」型のものであつた。これに反して No. 362, No. 67, No. 69 の如く脱脂菌体 100mg および 50mg を生理的食塩水で浮遊液として注射した海狸はいずれも 2 週後の「ツ」反応が陰性であり、2 カ月後において 1 匹だけ (No. 67) が辛じて認めうる程度の陽性を示し、3 カ月後にはかなり強度の反応を呈したにすぎない。残りの 2 匹は 3 カ月後においてもなおかつ顕著な反応を示さなかつたが、反応は少しずつ強くなつて行く傾向があつた。そして一般に反応は硬結の程度は弱く、発赤の様相も「ツ」型というよりも、むしろ Arthus 型に近い感があつて、48 時間後の反応値は 24 時間値に比し強く減弱する傾向が見られた。また脱脂菌 100mg を皮内に注射した No. 363, No. 362 は局所に大きい潰瘍を作つたが、流バラを共に与えた No. 363 の方が

表 1

海 獺 番 号	注射部 位回数	注 射 菌 量	注 射 方 法	10 × 「ツ」 0.1 ml 反応値							
				2 週 後		1 カ 月 後		2 カ 月 後		3 カ 月 後	
				24時間値	48 "	24 "	48 "	24 "	48 "	24 "	48 "
No. 363	皮内1回	100mg	+流バラ 1.0ml	16×16	10×10	20×20	13×13	24×23	17×17	27×27	24×24
No. 362	"	"	+生 食 1.0ml	0×0	0×0	6×6	0×0	6×6	0×0	14×14	7×7
No. 69	皮下2回	50mg	+流バラ 1.0ml	17×17	16×15	19×19	19×19	26×26	26×25	26×26	25×25
No. 67	"	"	+生 食 1.0ml	8×8	0×0	14×14	8×5	19×19	16×16	21×21	13×13
No. 62	皮下1回	"	+流バラ 1.0ml	11×11	8×8	16×16	13×13	19×19	14×15	19×19	15×15
No. 96	"	"	+生 食 1.0ml	6×6	0×0	6×6	5×5	6×6	5×5	10×10	7×7

遙に潰瘍も大きく、かつ局処の反応もまた高度であつた。
小括：

本実験において使用した脱脂菌が完全に脱脂されているか否かは疑問であるが、Ziehl-Neelsen 法でほとんど抗酸性物質は認められなかつた。この脱脂菌体を生理的食塩水浮遊液として注射した時は、ほとんど「ツ」アレルギーは発現しないか、あるいはまた遅く発現した。しかるに同一菌体を流バラ懸濁液として注射した動物に起つた反応は上記に比し時間的にも、反応の強さにおいてもともに格段の差があつた。このことは流バラ自身による効果であつて、一概に adjuvant としてだけの意義に留まらず、感作海獺の反応性を強化させると共にその反応性の性格をも変えたものと考えられる。両者の差は海獺に起る細胞反応の相違に基くものであつて、このことは第1編第2章¹⁰⁾において「ツ」を流バラ懸濁液として注射して海獺に「ツ」アレルギーを惹起せしめえた実験を併せ考えるならば、成立の機構を同じくする現象と考えられる。上記の実験から考えると Raffel¹⁾あるいは Myrvik および Weiser²⁾ らが主張する如く、結核菌の類脂体に生物学的活性によつて特異的な「ツ」アレルギーを起す本質的な因子があるとする考え方は若干訂正せられなければならないと考える。すなわち氏は結核菌類脂体の生物学的活性も流バラの併用によつて強化されることを述べているのであるが、このことは流バラと脂質の化学的な協同作用によるものとするよりも、むしろ流バラの物理的作用によつて遅延型の反応を生体により強く起させているためと考えた方がよいのではなからうか。上記実験においては、かかる結核菌に由来する脂質が存在しなくとも、脱脂結核菌を流バラ中に懸濁させて注射するだけでおかつ、海獺をよく「ツ」過敏とすることができるからである。もちろん結核菌類脂体の生物学的活性を完全に否定するような実験がない限りは、上述のような考え方は成立しないのであるが、「ツ」型を与える本質的な原因が類脂体にあつて、その際の類脂体の意義はむしろ異物的な反応、換言すれば、単核性細胞の反応を起させることにかかっていると考えられる。上記

の実験からすれば、類脂体の作用はその生物学的作用と同時に流バラと類似した物理的な作用にもまたよるものと考察すべきであろう。

第3章 Forney の実験の追試ならびに疑義について (黄色葡萄球菌を流バラ懸濁液として注射した場合に起るアレルギーについて)

Raffel および Forney⁴⁾ は結核菌の類脂体が生体生物学的活性により、一般抗原に対する生体の反応性を即時型のものから遅延型のものに転換するという考えに基いて、picrylchloride についてその立証に成功した。その後 Raffel, Arnaud, Dukes⁴⁾ および Huang⁵⁾ は卵白に類脂体を添加することによつてもまた、同様に成功し、さらに Forney⁶⁾ は細菌性抗原として黄色葡萄球菌を使用して、これに有毒結核菌 H₃₇Rv 株からえた蠟質と、Mycobacterium smegmatis からえた蠟質を流バラ懸濁液として添加して海獺を感作するときに、その海獺は黄色葡萄球菌の皮内注射に対して「ツ」型の遅延型の反応を呈するようになることを実験した。そして蠟質の生物学的活性は菌の毒力とは無関係なものであることを述べた。毒力に関係がないとするならば、それはむしろ毒力とは無関係な蠟質の物理的な作用によるものではないかと疑われる。そしてこれら一連の実験において蠟質の添加はすべて予め流バラ懸濁液としておかつ、そこにそもそも議論の余地がある。事実前章における脱脂結核菌体ならびに第1編第2章¹⁰⁾における「ツ」を抗原として、それを流バラ懸濁液として注射したときの実験から見ても、蠟質の代りに流バラだけを用いても生体の反応性を変えることができたのであるから、上記 Forney の実験においてもまた、黄色葡萄球菌に対する遅延型の反応を起させるためには必ずしも結核菌の蠟質を必要としないのではないかという疑問が起る。そこで下記実験においては Forney の実験になぞらえ、黄色葡萄球菌に Mycobacterium の蠟質を加えることなく、ただ単に流バラ懸濁液として注射した場合にどのような皮内反応が起るかを吟味し、遅延型の反応を起す条件を検討し、それからこのような場

合における結核菌の蠟質の役割についてもまた多少考察を加えた。

材料:

体重400~540gの健康白色海狸6匹を使用した。また黄色葡萄球菌としては寺島株を用いた。

方法:

黄色葡萄球菌(寺島株)を24時間寒天培地に培養し、菌を集めて1%のホルマリンで殺菌したものを使用した。3匹の海狸にはそれぞれ1白金耳の菌量を流バラ2mlの懸濁液として1週間間隔で3回大腿の皮下に注射した。他の2匹は対照として菌液だけを3回注射した。他の1匹は流バラのみを注射した。そして最終回注射18日後に0.1mgの黄色葡萄球菌浮游液0.1mlを側腹皮内に注射して皮内反応を調べた。

成績:

表2に示す如く感作後皮内反応を行うための菌としては黄色葡萄球菌の生菌の皮内注射では生菌自身による反応があるかも知れないと考え、加熱死菌も使用した。すなわち黄色葡萄球菌を流バラで懸濁液として感作した海狸は他の対照に比し顕著な皮内反応を呈し、その反応は肉眼的に遅延型のものであり、発赤、硬結を伴い、中央部は壊死に陥つた。これに反して3匹の対照はいずれもこのような変化はなく、軽い発赤が見られたにすぎない。

さらに黄色葡萄球菌を流バラ懸濁液として感作したときに起る反応が真の遅延型のものであるか否かを決定するため Chase⁹⁾の細胞性受動性伝達の実験を行つた。すなわち No. 88の腹腔に30mlの流バラを注射し、48時間後腹腔滲出細胞を集める。次に黄色葡萄球菌の菌液を作り、加熱滅菌し、腹腔滲出細胞と菌液とを混合して、健康な海狸の皮内に注射し、対照として菌液だけと、細胞浮游液だけをそれぞれ皮内に注射して、24, 48時間後の反応値を測定した。そしてまた単核性細胞を注射した部位に2日後に黄色葡萄球菌の菌液を注射して局処性受動性感作が起るかどうかを見た。成績は表3の如くである。すなわち単核性細胞と葡萄球菌とを混じて健康海狸の皮内に注射すると、菌液だけあるいは単核性細胞だけを注射したものに較べて著明な発赤、硬結を示した。単核性細胞を注射した部位に2日後黄色葡萄球菌の死菌液を注射するとこの部分にもまた、強い発赤と硬結を起した。この成績よりみて Donor となつた No. 88の過敏症は明らかに「ツ」型のものであつて、その抗体は細胞鉤着性のものであると結論できる。

小括:

Mycobacterium の蠟質が遅延型の反応を起させるのは、その生物学的活性によるためであるとした Forney⁶⁾の考え方は、むしろ、その生物学的な作用と同時に物理的な作用にもまたよると訂正した方が合理的のようであ

表 2

海 狸 号	感 作 処 置	検 査 菌	18日後における反応値	
			24時間値	48 "
No. 88	葡萄球菌 +流バラ	生 死 0.1mg 加熱死菌 "	26×26 29×29	17×17 14×14
No. 26	"	生 菌 " 加熱死菌 "	19×17 12×12	14×14 8× 8
No. 82	"	生 菌 " 加熱死菌 "	19×16 16×16	12×12 10×10
No. 96	葡萄球菌	生 菌 " 加熱死菌 "	6× 6 6× 6	4× 4 0× 0
No. 69	"	生 菌 " 加熱死菌 "	10×10 11×11	5× 5 6× 6
No. 39	流 バ ラ	生 菌 " 加熱死菌 "	8×8 6×6(±)	6× 6 0× 0

表 3

	単核性細胞 +葡萄球菌	葡萄球菌	単 核 性 胞 胞	この部分に葡萄球菌を注射した場合
24時間値	13×13(+)	7×7 (±)	7×7 (±)	12×12(+)
48 "	10×10(+)	7×7 (±)	0×0	11×11(+)

る。黄色葡萄球菌は結核菌の蠟質がなくとも、流バラ懸濁液とすることによつて、その抗原性を変化させるといふよりも、むしろ生体側の反応性を変化させて、即時型のものから遅延型のものにする。この事実より考えると、結核菌の蠟質は流バラを注射したときと同じような反応性の変化を生体に惹起させるものであるとすることができる。これは取りも直さず異物性反応であつて、一般抗原も結核菌と同じような状態にすることによつて、結核菌感染と同じような生体内反応を起すように、すなわち細胞鉤着性抗体を保持するようになるのではないかと推論できる。そして結核感染において成立する「ツ」アレルギーの成立機構における基本的要因は菌体に含有せられる蠟質によるのではないかと考えられる。

第4章 総括ならびに考案

Raffel および Forney^{4)~6)}らによる一連の実験、すなわち Picrylchloride, 卵白, さらに細菌抗原として、黄色葡萄球菌等に結核菌の類脂体を添加することによつて、感作海狸の反応性を即時型のものより遅延型のものに変化せしめることができた訳であるが、脱脂結核菌は Zinsser もいう如く「ツ」アレルギーを弱く起すにすぎないが本編の実験から見れば、流バラ懸濁液とすることによつて、さらに強度にまた完全に「ツ」型の反応を呈するようにすることができた。そしてこの事実は脱脂結核菌に結核菌の類脂体を再添加した場合に起る「ツ」反応に対応するものであつた。黄色葡萄球菌についてもま

た、結核菌の類脂体を加えずとも、流バラ懸濁液として注射することによつて、蠟質を加えた場合に匹敵するような強い反応を起すことができた。一般抗原に対する反応性を即時型のものから遅延型のものに、あるいは体液性なものから細胞鉤着性のもに變更せしめる生物学的な作用が類脂体にあるためであるとすれば、流バラもまたこのような生物学的活性をもつているといわねばならない。そしてまた有毒結核菌の類脂体も非病原性のスメグマ菌の類脂体も、ともにその生物学的活動性の間に差がなく、さらにまた一般抗原に対する生体の反応性を變更せしめる点において流バラと変りはない。これらのことは結核菌の類脂体も流バラもともに、生体に同一の条件で作用するものであつて、同化吸収されにくい、異物的な条件を与えることによつて、生体をして一般抗原処置の場合とは異なつた反応性を獲得せしめ、そのためにあるいは体液性の抗体から細胞鉤着性の抗体へと、あるいは即時型の反応から遅延型の反応へと、その表現を変えさせるのではないかと考察できる。實際上、葡萄球菌で海狸を感作すれば、海狸の血清中には葡萄球菌に対する沈降素、あるいは凝集素等の抗体が現われるが、流バラ懸濁液として感作するときには、抗体は細胞鉤着性のもとなつて腹腔滲出単核性細胞により受動性伝達が可能となり、また感作細胞と葡萄球菌とを混じて健康海狸皮内に注射すれば、その海狸の皮膚には抗原抗体反応の場として強い発赤、硬結を示す。しかしながら、結核菌の類脂体も流バラもともに類似し抗原性物質とともに授与せられたときは類似した反応性を与えるであろうが、ここで結核菌に由来する類脂体は因より化学的に純粋な物ではなく、Mycolic acidあるいは蛋白その他の種々の菌体成分を含有しているであろう。故に卵白あるいは細菌抗原等に結核菌の類脂体を加えたときの反応性と、単に流バラ懸濁液として与えたときのそれと、生体に現われる反応性はもちろん全く同一ではないと考えねばならないが、ここで問題とすべき作用は単純な物理的性状に基くものではないかと考えられる。

第1編第2章¹⁰⁾において一般に Hapten と考えられている「ツ」を赤血球に吸着させ、あるいは流バラ懸濁液として注射することによつて海狸を「ツ」過敏とすることができた事実もまた、このような機構の解釈から説明し理解することができよう。

さらに第1編および第3編の実験にある如く、腹腔滲出単核性細胞が「ツ」抗体を産生し、また保持、運搬している事実を併せ考えるならば、結核菌の類脂体あるいは流バラこそはこのような単核性の細胞を刺戟して、それぞれの蛋白に対する抗体を産生せしめる重要因子であるとさえ考えねばならない。翻つて、結核感染における「ツ」アレルギーの成立の機構を考えるに、感染菌の発育、増

殖および菌の代謝産物による刺戟とあいまつて、菌体の類脂体が感染個体に一般細菌感染の場合とは異なる単核性細胞の反応を強く惹起し、この細胞系で抗体が産生、保持せられて遅延型の「ツ」反応を起すようになるのではないかと考察できよう。

すなわち、結核感染あるいは各種抗原による実験的アレルギーにおける遅延型の反応および「ツ」型の反応の表現は、結核菌の類脂体によるものであつて、その異物的な物理的性状に基本的なよりどころが求められるべきではないかと考える。

結 論

- 1) 脱脂結核菌を流バラ懸濁液として海狸に与えると、海狸は「ツ」過敏となる。
- 2) 黄色葡萄球菌を流バラ懸濁液として海狸に注射すると、海狸は黄色葡萄球菌に対して遅延型の皮内反応を呈する。

この際の抗体は細胞鉤着性のものであつて、流バラの腹腔内注射によつて滲出した単核性細胞を用いて受動性伝達が可能である。

- 3) 流バラは結核菌の類脂体と類似の機構を生体に起させ、一般抗原に対する即時型反応を遅延型反応に変化せしめる。「ツ」アレルギー成立機構における結核菌の類脂体の役割は、その生物学的活性と同時に、その異物的な物理的性状に負うところが多いのではないかと考へたい。

終りに臨み終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた植田三郎教授に厚く感謝します。

参 考 文 献

- 1) Raffel, S.: Am. Rev. Tuberc., 54: 564, 1946.
- 2) Myrvik, Q. and Weiser, R.S.: J. Immunol., 68: 413, 1952.
- 3) Raffel, S.: J. Infect. Dis., 82: 267, 1948.
- 4) Raffel, S. and Forney, J.E.: J. Exp. Med., 88: 485, 1948.
- 5) Raffel, S., Arnaud, L.E., Dukes, C.D. and Huang, J.S.: J. Exp. Med., 90: 53, 1949.
- 6) Forney, J.E.: Am. Rev. Tuberc., 96: 241, 1954.
- 7) Suter, E. and White, R.G.: Am. Rev. Tuberc., 70: 793, 1954.
- 8) Schmid, F.: Beitr. Klin. Tuberk., 105: 397, 1951.
- 9) Chase, M.W.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 59: 134, 1945.
- 10) 小崎克己: 結核, 32: 599, 1957.