

ツベルクリン感作赤血球凝集反応の免疫学的検討

木村良知・下村康夫

笹岡明一・浦野清彦

大阪府立羽曳野病院（院長 堂野前維摩郷博士）

受付 昭和 32 年 1 月 28 日

緒 言

結核病学の領域における血清学的反応は古くから数多くの研究があるが、いずれも実用的価値に乏しくまた結核免疫との関連についてもなお明らかでない現状である。

1948年Middlebrook-Dubos¹⁾によつて提唱された赤血球凝集反応は従来の血清反応に比してより特異的であることから結核症の活動性診断法として広く多数の人^{2)~6)}によつて追試せられわれわれも数次に亘つて報告してきた^{7)~9)}。

一方結核免疫における体液性因子に関しては、古く Wright¹⁰⁾が Slide cell culture 法 (S.C.C.法と略) によつて in vitro において免疫個体の血清が結核菌の増殖を阻止することを発表して以来、幾多の研究がなされことに今村教授門下¹¹⁾¹²⁾によつて広範な研究が行われ、一応免疫の程度を知る方法として S.C.C.法または S.C.M.法による結核菌増殖阻止作用の測定がとり入れられているようである。そして現在では結核免疫には体液性因子が重要な役割を演ずることが多くの学者によつて認められている。なお最近小谷ら¹³⁾はその本態に関して詳細な報告を行つている。著者らは先に赤血球凝集反応抗体が血清の γ -globulin 分割中に含まれると思われる所見を報告したが¹⁴⁾、今回は本反応が結核免疫と如何なる関連を有するかについて本反応の抗体価と S.C.M.法による血清の結核菌増殖阻止作用との関係を検討したのでその成績を報告する。

実験材料および実験方法

1. 体重 2 kg 前後の「ツ」反応陰性の雄性家兎を使用し、使用菌株は強毒人型菌 H₃₇Rv, BCG, チモテ菌, 鳥型菌を用いた。
2. 赤血球凝集反応は Scott and Smith²⁾の方法に準拠して実施した。
3. S.C.M.法は表 1 に示す如き方法で実施し、菌増殖度は菌膜の短径の中央部で長径の全長にそつて等間隔に 11 視野を選び、視野にあらわれる菌集落の構成菌数を計算し、ついで各視野毎に一集落当りの平均菌数を求め、この値を 11 視野について算術平均したものを菌増殖度と

表 1 S.C.M.法

1. 人型結核菌 H₃₇Rv 株のグリセリン・ブイヨン 2 週間培養の菌を硝子玉入りコルベにとり、菌液を作り遠心器にて 3000 回転 15 分上澄の単個菌を使用する。
2. 健康家兎の血液を採取し、凝固しない間に上記菌液 1 に対し血液を 3 の割合に加えて混和しすみやかに小硝子片に塗布する。
3.  左の容器内へガラス片を入れ、稀釈血清を加えて 37°C 3 日間培養する。(5% CO₂中にて)
4. 液体培地として用いる血清は、生理食塩水にて 2, 4, 8, 16, 32 倍稀釈して用いる。
↓
3 日間 37°C (5% CO₂中にて)
10% フォルマリン (0.5% 氷醋酸加) で 30 分間固定
↓
水洗, 24 時間
チール氏カルボールフクシン洗色 (1 時間)
↓
5% 塩酸アルコール脱色 (30 分間)
↓
レフレルメチレンブラウにて後染色

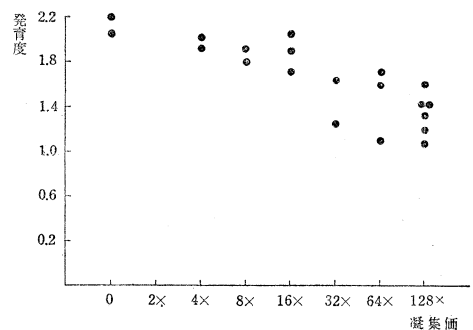
した。

実験成績

1. 患者血清について

種々の病状の結核患者より採血した血清について赤血球凝集反応および S.C.M.法を実施し両者の関係を検討すると図 1 の如く凝集価の高くなるにつれて菌増殖阻止力

図 1 凝集価と発育阻止力の関係(人血清)

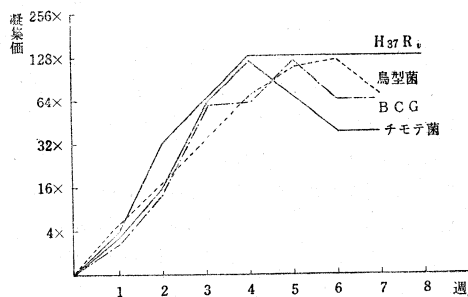


も強まる傾向が認められ、両者はほぼ併行するようである。

2. 家兎免疫血清について

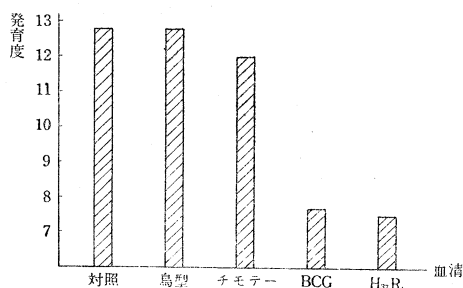
「ツ」反応陰性家兎に人型菌 H₃₇Rv, BCG, チモテ菌および鳥型菌を接種して血球凝集反応の推移をみると図 2 の如くいずれの菌株においても多少の強弱はあるが日を追つて凝集価は上昇し、概ね 4 週目で最高値に達す

図2 各種抗酸菌によるM.D.凝集価(家兔免疫血清)



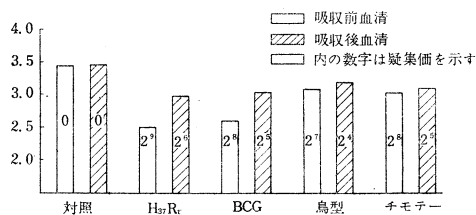
る。元来チモテ菌、鳥型菌は結核に対して免疫付与能力のないことは周知の事実であるが、これら4株接種による家兔血清中には毒力の強弱にかかわらず赤血球凝集抗体はいずれも高度に出現する。

そこでこれら菌株によって作製した凝集価の等しい血清を用いてS.C.M.法を実施し、結核菌の増殖阻止作用を検討してみた。その成績は図3に示す如くH₃₇Rv, BCG

図3 各種抗酸菌による等凝集価血清のH₃₇Rv 発育阻止作用(64倍免疫血清)

G免疫血清では明らかに阻止作用を認めたが、チモテ菌、鳥型菌においては全く阻止作用を認めることができなかった。

次に上記のそれぞれの免疫血清をH₃₇Rv加熱死菌で吸収し、吸収後における凝集価および阻止力の変動を観察してみた。その成績は図4の如くいずれの血清におい

図4 吸収による凝集価と発育阻止力の変動 (H₃₇Rv死菌で吸収)

ても吸収によつて凝集価は低下するが、結核菌増殖阻止作用の低下はH₃₇Rv, BCG血清においてのみ認められ、チモテ菌、鳥型菌においては阻止力の変動は全く認められなかった。

総括ならびに考案

赤血球凝集反応抗体と免疫作用との関連については最近吉田¹⁵⁾がS.C.C.法による全血液静菌作用の変動と本反応の相関について実験を行い、凝集価と全血静菌力との間には平行関係のあることを認めているが、本反応抗体が結核免疫そのものの本態であるとは結論し難いと説べている。氏の実施したS.C.C.法は血中細胞成分を含むためこれをもつて直ちに血中抗体と阻止力との関連を論ずることは多少の難点があると思われる。

著者らはS.C.M.法を用いて血清の結核菌発育阻止作用を直接測定することによって本反応抗体と阻止作用の関連について検討することが細胞成分の影響を除外しうることより、より合理的であると考え実験を行った。

成績に示す如く患者血清においては本反応抗体と結核菌増殖阻止作用の間には、ほぼ平行関係が認められ吉田のS.C.C.法による成績と一致した成績が得られた。

しかし一方本反応が結核菌のみならずBCG, チモテ菌、鳥型菌の感染家兔血清においても著明に出現することから、本反応抗体が免疫抗体と一致するものとするれば当然上記チモテ菌、鳥型菌感染家兔血清で本反応抗体価の高いものは、結核菌発育阻止作用を発揮する筈である。そこでこれら菌株による家兔免疫血清の凝集価の等しいものを用いて結核菌発育阻止作用を比較検討してみたところH₃₇Rv, BCG血清においてのみ阻止作用が認められたが、チモテ菌、鳥型菌においてはこれを認めることができなかった。またこれら免疫血清を結核死菌で吸収した後、凝集価および阻止作用の変動をみると、前者においては凝集価、阻止力共にほぼ平行して低下するが、後者においては凝集価の低下のみで阻止作用の変動はこれに伴わなかった。

以上の成績から本反応の抗体は結核免疫とほぼ平行するように見えるが免疫抗体とは全く別箇のものと考えられる。

結 論

1) 赤血球凝集反応抗体と結核免疫の関係についてS.C.M.法を用いて両者の関係を検討したところ、患者血清においては両者の間にほぼ平行関係が認められた。

2) 家兎を使用しH₃₇Rv, BCG, チモテ菌および鳥型菌を接種した血清においても本反応は高度に出現するので、同一凝集価を有するこれら菌株による免疫血清を使用し、同様実験を試みたところH₃₇Rv, BCGでは阻止作用が認められたが、チモテ菌、鳥型菌では全く阻止作用を認めることができなかった。

3) 前記4株の免疫血清を結核死菌で吸収後凝集価と阻止作用の変動をみると、H₃₇Rv, BCGでは両者はほぼ平行して低下するが、チモテ菌、鳥型菌では凝集価の

低下のみ認められ阻止力は全く変動がみられなかった。

4) 以上の成績から本反応の抗体は免疫抗体とは全く別箇のものと考えられる。

本論文の概要は第13回日本結核病学会近畿地方会において公表した。

稿を終るに臨み院長堂野前博士の御校閲を深謝す。

文 献

- 1) Middlebrook, G. and R.T. Dubos : J. Exp. Med., 88 (5), 1948.
- 2) Scott, N.B. and D.T. Smith : J. Lab. and Clin. Med., 35, 1950.
- 3) Rothbard, S., A.S. Dooneief and K.E. Hite :

Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 74, 1950.

- 4) 矢追秀武 他：総合医学, 8 (4), 1951.
- 5) 熊谷直秀：日新医学, 38 (8), 1951.
- 6) 小路 弘：結核, 26(9.10.11), 合併号, 1951.
- 7) 木村良知 他：結核, 27 (9), 1952.
- 8) 小西池穰一：大阪大学医学雑誌, 6 (2), 1953.
- 9) 堂野前維摩郷 他：結核研究の進歩, 4, 1955.
- 10) Wright, A.E. : Lancet, 24: 365, 1923.
- 11) 今村荒男 他：結核, 11: 209, 1933
- 12) 渋谷・緒方：結核, 10: 247, 1932
- 13) 小谷尙三：結核の臨床, 3: 6~18, 1955.
- 14) 木村良知 他：総合臨床, 5 (1), 1956.
- 15) 吉田清一：結核, 31: (9), 1956.