

肺結核患者血清中のいわゆる非定型抗酸菌に対する抗体について

— Ouchterlony 法による研究 —

須子田キヨ・平野憲正*
三神美和・小山千代・竹内富美子**

* 東京女子医科大学細菌学教室

** 東京女子医科大学三神内科

受付 昭和 35 年 6 月 16 日

先に平野および須子田らは当教室長田¹⁾が分離した 12 株の非定型抗酸菌の抗原性について研究した結果、これらの菌は人型菌および牛型結核菌と共通抗原を有し、また 12 株中には生物学的ならびに免疫学的に非常に類似した一群のあることを認めた²⁾。肺結核患者喀痰からかかるいわゆる非定型抗酸菌が検出される率は低く、臨床所見からは特異な点は見出されないという。われわれはまずいわゆる非定型抗酸菌と人型結核菌 ($H_{37}Rv$) をおのおの動物に接種しその動物における抗体産生の有無を Ouchterlony 法によつて検討し、すでに発表した³⁾。本研究においては肺結核患者の血清における非定型抗酸菌に対する抗体のほか、人型および牛型結核菌、非病原性結核菌に対する抗体の有無を検討した。

実験方法

血清：入院および外来の肺結核患者 145 名の血清、2~4 cc を採つて検査し、検査回数 は 1 回だけのものと、毎月 1 回ずつ 2 回、3 回、4 回のものがあった。

健康者対照として看護学院生徒 54 名の血清について同様に実験を行なつた。血清は遠心分離したのち、56°C 30' 非働化したのち、減圧下で原量の約 9/10 まで濃縮した。

抗原：抗原として使用した非定型抗酸菌は肺結核患者喀痰からしばしば分離され、non-chromogenic でハムスターに毒力を有し、抗原関係が非常に類似している一群のもので、大成、長谷川、岩井、市原の 4 株である。その他、人型菌 $H_{37}Rv$ 、牛型菌 BCG, Ravenel (RAV), 263, RO の 5 株と、喀痰由来の抗酸菌のうち scoto-chromogenic な永井、亀田の 2 株および生牛乳から分離された 2 株 (W 11, W 46) を用いた。これらの菌株はそれぞれ 100 cc の人血清加 Youmans 培地に移植し、37°C で 3 ヶ月培養したのち、培養液の上清にマーズンを 10,000 倍となるように加えて抗原として用いた。

寒天内沈降反応：Ouchterlony 法 (O-test と略す)

によつた。すなわち、精製寒天 (極東) 0.8 %, 食塩 0.85 %, メチールオレンジ 0.002 %, 窒化ナトリウム 0.01 % の溶解寒天を平板基底に 6 cc を注いで固め、中心およびこれより 7 mm の距離の周囲にペニシリン用カップを 5 ヶ立て、15 cc の同じ寒天を加えて固まつたのちカップを除き、氷室に保存して 1 週間より 3 週の間のもを使用した。中央の穴に抗原を、周囲の穴に患者血清を入れ、室温に放置し、日をおつて約 3 週間、生じた反応帯を観察した。

実験成績

肺結核患者 145 名の血清について抗原として $H_{37}Rv$ 抗原、牛型菌のうち、1 ないし数株の抗原および非定型抗酸菌のうち 1 株以上の抗原との反応を検し、なお血清に余りのあつた場合にはその他の抗酸菌、または生牛乳株の抗原と反応を行なつた。

その成績は表 1 に示すように $H_{37}Rv$ と反応帯を示

表 1 肺結核患者血清の O-test 陽性者数
(患者数 145 名、延べ 199 名)

抗 原	抗原別	検査数		菌 株 別	
		陽性数	陽性率	陽性率	%
人 型 菌	$H_{37}Rv$	145	38	38/145	26.2
牛 型 菌	BCG	91	5	14/124	10.4
	RAV	30	3		
	263	54	4		
	RO	11	2		
非 定 型 抗 酸 菌	大 成	45	3	7/136	5.2
	長 谷 川	106	4		
	岩 井	74	3		
	市 原	26	1		
非病原性 抗 酸 菌	永 井	31	0	0.57	0
	亀 田	2	0		
	W 11	16	0		
	W 46	6	0		

表 2

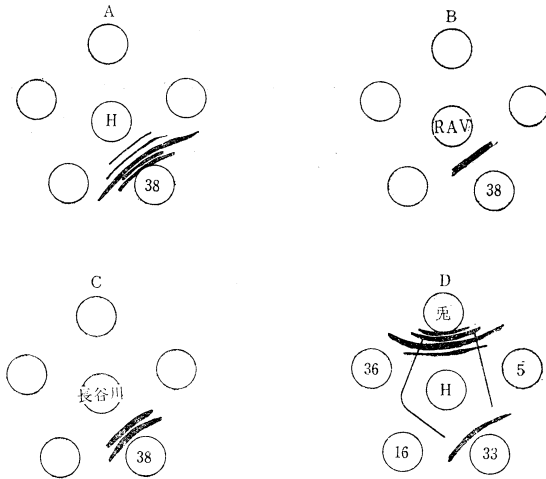
人型菌にのみ反応した血清				共通抗原に反応を示した血清					
患者 No.	抗原	牛型菌			患者 No.	抗原	非定型抗酸菌		
	人型菌	BCG	RAV	R O ₂₆₃		人型菌	BCG	RAV	R O ₂₆₃
	H ₃₇ Rv					H ₃₇ Rv			
1	+	-	-	-	30	+	+	-	-
2	+	-	-	-	31	+	-	+	-
3	+	-	-	-	32	+	-	+	-
4	+	-	-	-	33	+	+	-	-
5	+	-	-	-	34	+	-	+	-
6	+	-	-	-	35	+	+	+	-
7	+	-	-	-	36	+	-	-	+
8	+	-	-	-	37	+	-	-	+
9	+	-	-	-	38	+	+	-	+
10	+	-	-	-	39	-	+	+	-
11	+	-	-	-	40	-	+	-	-
12	+	-	-	-	41	-	+	-	-
13	+	-	-	-	42	-	-	+	-
14	+	-	-	-	43	-	+	-	-
15	+	-	-	-	44	-	-	-	+
16	+	-	-	-	45	-	+	+	-
17	+	-	-	-	46	-	-	-	+
18	+	-	-	-	47	-	-	-	-
19	+	-	-	-	健康 A	-	-	-	+
20	+	-	-	-					
21	+	-	-	-					
22	+	-	-	-					
23	+	-	-	-					
24	+	-	-	-					
25	+	-	-	-					
26	+	-	-	-					
27	+	-	-	-					
28	+	-	-	-					
29	+	-	-	-					

注：空欄は検査せず。

したものは 145 名中 38 名で 26.2%，BCG に対しては検査人数 91 名中 5 名，RAV に対して 30 名中 3 名，263 に対しては 54 名中 4 名，RO に対しては 11 名中 2 名が陽性反応を示した。これらのうち 2 株以上の牛型菌抗原に反応したものを牛型菌に対する反応として 1 株のみに反応したものと同列にすると，牛型菌抗原に対する陽性率は 124 名中 14 名で 10.4% となる。同様に非定型抗酸菌の抗原に対しては大成株 45 名中 3 名，長谷川株 106 名中 4 名，岩井株 74 名中 3 名，市原株 26 名中 1 名であつて，検査人数 136 名中非定型抗酸菌に対して陽性反応を示したのは 7 名で 5.2% であつた。その他の非病原性抗酸菌の抗原に対しては 57 名中陽性反応を示したものはなかつた。以上の成績から肺結核患者の血清がいずれかの抗原と沈降帯

を示したものは 145 名中 47 名であつて，これら陽性反応の共通抗原についてみると，H₃₇Rv 抗原に陽性反応を示した 38 名中 29 名の血清は表 2 に示すように H₃₇Rv の抗原にのみ陽性反応を示し，人型菌と牛型菌の両者抗原に陽性反応を示したものの 6 名，人型菌と非定型抗酸菌の両方に反応したものの 2 名，人型菌，牛型菌，非定型抗酸菌の 3 者に陽性を示したものの 1 名であつた (図 A, B, C 参照)。牛型菌に反応したもののうち牛型菌の抗原にのみ反応した 5 名，牛型菌と非定型抗酸菌の両方に反応したものの 2 名で，非定型抗酸菌のみ反応したのもも 2 名あつた。

反応帯の数は大部分が 1 本であつて，細くて鮮明であり，互いに融合するものが多かつた (図 D)。これらと異なつてやや太く不鮮明な輪廓をもつものもあり，またま



A, B, C は共通抗原に反応した患者 (No. 38) 血清の反応帯模倣図。
D は患者血清とウサギ免疫血清の人間型菌抗原に対する反応帯模倣図。

れには2本以上のものもあつた。これらの反応帯の数および太さ、あるいは鮮明さなどの点についてはよく研究されていないが、 $H_{37}Rv$ 抗原と患者血清との間に起こる反応帯と、 $H_{37}Rv$ 抗原と抗 $H_{37}Rv$ ウサギ血清との示す反応帯とは交叉したので共通性がないようであつた (図 D)。

健康者対照として看護学院生徒54名の血清について、上記と同様の検査を行なつた。これら生徒はかつてBCGを接種され、 \cup 反応は大部分陽性であり、結核性疾患に罹患していないものである。試験の結果、1名が非定型抗酸菌市原株に弱い反応を示しただけで、その他は人型菌、牛型菌、非定型抗酸菌に対して陰性であつた。

考 案

われわれは本教室において肺結核患者の喀痰から分離された non-chromogenic な抗酸菌について生物学的 (長田)、電子顕微鏡学的形態 (山田)⁴⁾、ハムスターに対する毒力 (張)⁵⁾、SM 耐性菌 (長川)⁶⁾、等の研究について報告し、さらにこれらの菌の抗原性について実験を行なつた結果、数株のものは血清学的に1つの群をなすと思われるが、そのうちから任意に1株を選び、その抗原を用いて患者血清中のこれに対する抗体の有無を検した。肺結核患者と診断された患者145名の中には、入院中のものと外来治療中のものを含み、また症状の重いもの軽いものがあり、治療の方法も一様でなく、喀痰からの排菌状態も様々であつた。検査の結果非定型抗酸菌の抗原と陽性を示したものは7名であつて、このうち非定型抗酸菌とのみ反応を示したものは2名で、他の5名は人型菌か牛型菌かあるいはそれら2つの菌と共通の反応を示した。本実験に用いた非定型抗酸菌が

人型菌や牛型菌と共通の抗原をもつことは、非定型抗酸菌で免疫したウサギの血清について行なつた報告でも明らかである。患者血清中2例ではあるが非定型抗酸菌の抗原にのみ反応を示したということは、その患者が非定型抗酸菌に感染したことがあるか、あるいは現在保菌者であるかも知れないと思われるが、同一患者より菌を検出することができなかつたので、本菌による感染を確証することはできなかつた。

O-test 陽性例のうちの患者血清の大部分は人型菌と反応し、この数は全陽性例中、約80%に相当し、人型菌のみに反応したものはそのうち76.3%であつた。4ヵ月間毎月1回検査したなかで、2回以上連続人型菌のみに反応したものの6名、牛型菌のみに反応したものの2名であつた。しかしこのうち1名は1度はRAVに次はBCGに反応した。

Burrell & Rheins⁷⁾ は O-test を用いて、Parlett & Youmans⁸⁾⁹⁾ は Orkley の tube-method⁸⁾⁹⁾ を用いて結核患者血清中の抗体の検出を行ない、人型菌に高率に陽性反応を示し、その他の非病原性の抗酸菌には反応を示さないと報告している。本実験においても非病原性抗酸菌に反応を示したものはなかつたが、人型菌のみでなく、牛型菌、非定型抗酸菌に単独に、あるいは共通の反応を示したものがあつた。

O-test による結核患者における結核抗体の検出率が低いということは Parlett & Youmans⁸⁾⁹⁾ からも認めているが、本実験においても検出率は低かつた。また反応帯の出方が一様でなかつた。これが抗原の種類あるいは抗原価の差異によるものか患者側の理由によるものかは今後の研究にまたねばならない。また毎月4ヵ月間検査した患者血清のうち陽性のものは毎月陽性成績を示すものが大部分であつたが、時に陰性の成績を示すものもあり、また検査途中で陰性化、あるいは陽性化するものもあつて、この点についてはさらに長期観察によつて検討すべき問題と思う。なお本成績の結果と、臨床所見との関係については近日報告する予定である¹⁰⁾。

結 論

肺結核患者145名の血清について O-test を用いて、流血中における抗体の有無を実験した。抗原としては、人型菌 $H_{37}Rv$ 、牛型菌としてBCGのほか3株、患者喀痰より分離されたいわゆる非定型抗酸菌のうち4株、および非病原性抗酸菌の培養濾液を用いた。その結果、145名の患者のうち47名が陽性反応を示し、そのうち80%は人型菌に反応を示した。しかしこのうち少数のものは他の牛型菌、非定型抗酸菌等と共通の反応を示した。非定型抗酸菌に反応したものは145名中7

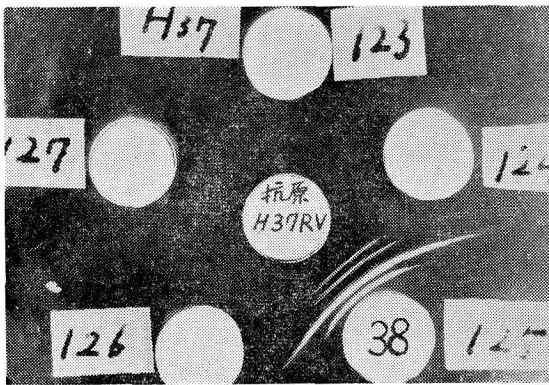
名で、このうち2名のみが非定型抗酸菌と反応し、5名は他の抗酸菌と共通反応を示した。その他、牛型菌のみに反応を示すものもあつたが、非病原性抗酸菌に反応するものはなかつた。対照として健康者54名について調べた結果、1名のみが非定型抗酸菌のうち1株に反応を示した。この被検者は過去においては結核症に感染したことなく、現在も健康である。

文 献

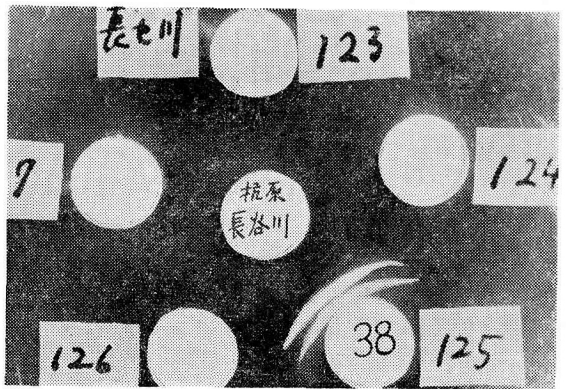
1) 長田富香：日本細菌学雑誌，15：74，昭35。
 2) 平野憲正・須子田キヨ：同上，15：337，昭35。
 3) 須子田キヨ・平野憲正・落合章雄・長川静・全

美善：東京女子医大誌，30：80，昭35。

4) 山田三郎：東京女子医大誌，29：63，昭34。
 5) 張登川：同上，30：100，昭35。
 6) 長川静：同上，30：70，昭35。
 7) Burrell G.R., Rheins M. & Birkeland M.J. :
 Am. Rev. Tuberc., 74 : 239, 1956.
 8) Parlett C.R., Youmans P.G., Rehr C. &
 Lester W. : Am. Rev. Tuberc., 77 : 462, 1958.
 9) Parlett C.R. & Youmans P.G. : Am. Rev.
 Resp. Dis., 80 : 153, 1959.
 10) 竹内富美子：東京女子医大誌，掲載予定。



A



C



D

注：患者 No. 38 = 125 (通し番号)
 No. 5 = 178, No. 33 = 180
 No. 16 = 181, No. 36 = 182
 図 B は反応が弱いため省略。