

抗酸性菌の抗原性に関する血清学的研究

第1報 ツベルクリン抗原による沈降反応およびリポイド抗原の補体結合反応

新 島 恭 樹

栃木県衛生研究所 (所長 木村貞夫)

結核予防会結核研究所 (所長 隈部英雄)
指導 大林啓二

受付 昭和34年11月2日

I 緒 言

近年における抗原抗体反応術式の改善により血清学の分野には著しい進歩がみられ、これはまた結核に関する免疫学的研究にも応用されてその発展を促している。時に Oudin^{1)~3)} の寒天内沈降反応やさらに Ouchterlony^{2)~5)} の double diffusion technique および Grabar⁶⁾ の免疫電気泳動法は結核菌の抗原構造の研究上の新しい手掛りとなるであろう。

著者は旧ツベルクリンの製造に従事するさいに、均一な生物学的、化学的性状をもつ製品を得ることの困難さに当面していた。これは1つにはツベルクリン中に含まれる結核菌抗原の多元性に由来すると考えこの問題研究の一助として、いろいろな術式による結核血清反応の研究を行なつたのでその成績を報告する。第1報では主として沈降反応および補体結合反応による検討を行なつた。

II 実験方法ならびに実験成績

1. 沈降反応重層法におけるツベルクリンの抗原性

1) 実験方法

各研究所およびツベルクリン製造所保有の人型菌青山 B 株 10 株⁷⁾ を用い、ソートン培地に 37°C で 8 週間培養した。培養終了後 100°C 1 時間殺菌し、濾紙で菌を除き濾液を水浴上で 1/10 量以下に濃縮、0.5% の割に石炭酸を加え、さらに水を加えて原培地量の 1/10 容量とした。ついで氷室 (0~5°C) に約 3 カ月間保存し、その後直径 5 cm の Seitz 細菌濾過器を用いて吸引濾過しツベルクリン原液とした。

この原液を 0.85% 生理的食塩水で 10 倍に希釈し沈降反応重層法抗原原液とし、2_n 乗連続希釈法により希釈した。

抗血清を得るにはウサギを用い、青山 B 株 5 mg/ml および BCG 株 10 mg/ml の生理的食塩水菌液を 3 日間隔で 4 回静脈接種したもの、青山 B 株死菌 10

mg/ml 菌液を 2 日間隔で 7 回静脈接種し、最終接種後 7 日ないし 10 日目に全採血し抗血清を得た。希釈には 1% アラビヤゴム生理的食塩水を用い 2_n 乗連続希釈法により希釈した⁸⁾。

次に常法に従い、青山 B 抗血清 3 例、BCG 抗血清 2 例にツベルクリン原液のタンパク窒素量 74.2 mg/dl (No. 1), 149.0 mg/dl (No. 4), 3.5 mg/dl (No. 5), 4.29 mg/dl (No. 6) を含有するものを選び、2_n 乗希釈血清に [10:2_n] 希釈抗原液を重層して、室温に放置し、1, 3, 5 時間ごとに判定し場の形を作つた。

pH の測定: ガラス電極 pH メーターにより測定した。

タンパク窒素量: 原液に 10% 三塩化醋酸等量を加え氷室に 20 分間放置、その後遠沈し、沈澱を 5% 三塩化醋酸の少量で 2 回洗い、最後の沈澱を 1% 炭酸ソーダに溶かし酸化コルベンに移し、常法に従つて酸化 Makro-Kjeldahl 法によつて測定した。

還元糖量: 各ツベルクリン原液 5 倍希釈液 2.0 ml と 4 N-H₂SO₄ 2.0 ml とを封じたアンプル内で高圧 120°C、1.5 時間加水分解、後 4 N-NaOH 2.0 ml を加えて中和し、その 1.0 ml (すなわち 15 倍希釈液) を検体とし Fujita-Iwatake 法により測定した。

力価試験: 青山 B 株流動パラフィン死菌 6 mg 感作モルモットについて、標準ツベルクリン 2,000 倍希釈液と各試料 2,000 倍希釈液とを比較し、24 時間、48 時間の硬結、発赤を測定した。

2) 実験成績

各研究所およびツベルクリン製造所の人型菌青山 B 株 10 株を用いソートン培地に 2 カ月間培養してツベルクリンを作り、pH、タンパク窒素量、還元糖量および力価を調べると表 1 のごとく、pH は 4.6~9.0、タンパク窒素量は 3.5~149.0 mg/dl、還元糖量は 5.93~14.70 mg/ml、力価は注射後 24 時間の判定で、0.90~1.32 と各ツベルクリン間の差異が認められ、さらに各因子相互の関係をみると大体において pH の高いものが、タンパク窒素量、還元糖量が多く、力価も高い。

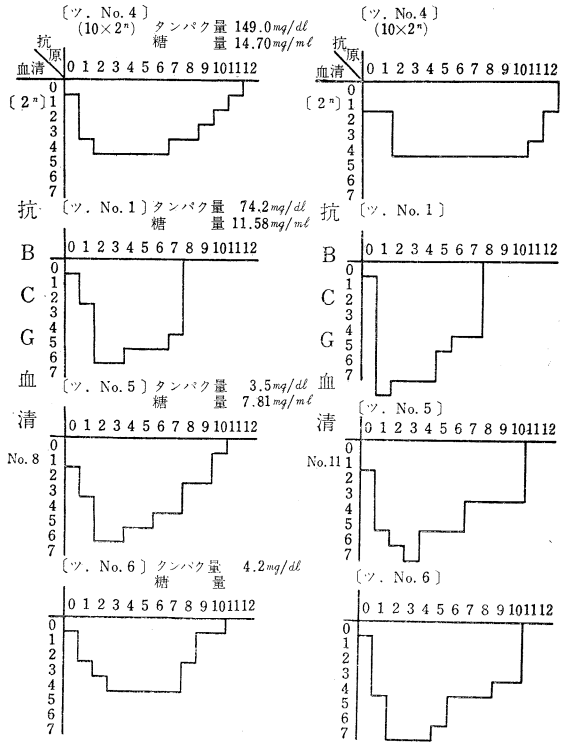
表 1 各青山B株使用ツベルクリンのpH, タンパク窒素量, 還元糖量および力価

青山B株 No.	pH	タンパク N量 mg/dl	還元糖量 ²⁾ mg/ml		力価(1:2,000)		
			加水 分解前	加水 分解後	値	24時間	48時間
			1	8.9	74.2	5.31	16.89
2	7.1	50.0	7.25	13.18	5.93	1.11	1.10
3	8.1	42.1	5.26	12.92	7.66	1.15	1.17
4	9.0	149.0	6.05	20.75	14.70	1.32	1.53
5	5.0	3.5	9.16	18.97	7.81	0.90	0.64
6	4.6	4.2	—	—	—	0.92	0.82
8	6.6	17.4	7.33	15.01	7.68	0.90	0.87
9	6.7	49.3	—	—	—	1.18	1.23
10	7.1	48.5	8.73	16.83	8.10	1.14	1.41
11	6.6	23.9	6.92	13.49	6.57	0.97	1.15

注: 1) Makro-Kjeldahl 法
2) Fujita-Iwatake 法

このうちタンパク窒素量の多いもの, 少ないもの, 中間のもの, 計4種のツベルクリンを選びこれを抗原として抗BCG血清2例との沈降反応重層法をみると図1のごとくタンパク窒素量 149.0 mg/dl のツベルクリン (No. 4) の抗原価は 1 : 20,480, タンパク窒素量 74.2 mg/dl のツベルクリン (No. 1) の抗原価は 1 : 1,280 を示すが, タンパク窒素量 3.5 mg/dl のツベルクリン (No. 5) およびタンパク窒素量 4.2 mg/dl のツベルクリン (No. 6) の2例の抗原価は 1 : 10,240 を示し, ツベルクリンの沈降反応重層法における抗原価とタンパク窒素量とは相関しないことが分かる。また還元糖量においても還元糖量 14.70 mg/ml のツベルクリン (No. 4) の抗原価は 1 : 20,480 を示すが還元糖量 11.58 mg/ml のツベルクリン (No. 1) の抗原価が 1 : 1,280

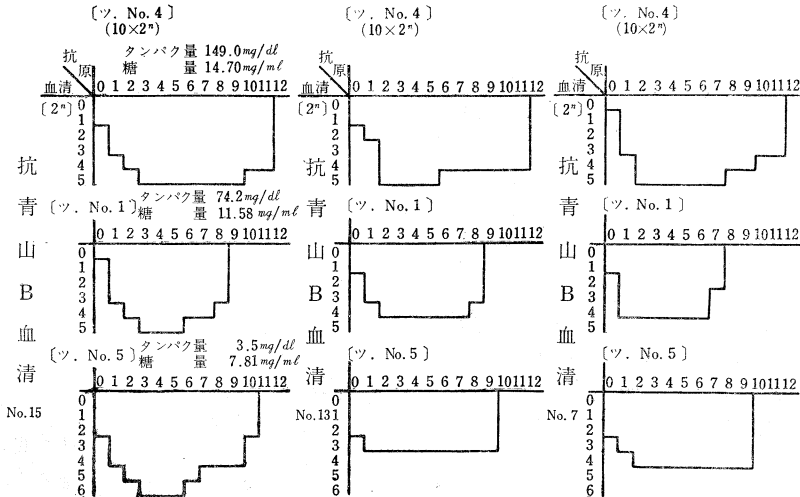
図 1 ツベルクリンと抗BCGウサギ血清との沈降反応重層法



と低いのに反し還元糖量 7.81 mg/ml のツベルクリン (No. 5) では抗原価が 1 : 10,240 と高く, タンパク窒素量の場合と同様還元糖量と沈降反応重層法の力価とは平行しない。

次に No. 1, 4, 5 の3ツベルクリンを抗原とし, 青山B血清3例との沈降反応重層法の成績をみると図2のごとく, タンパク窒素量 149.0 mg/dl のツベル

図 2 ツベルクリンと抗青山Bウサギ血清との沈降反応重層法



クリン (No. 4) の抗原価は 1:20,480, タンパク窒素量 74.2 mg/dl のツベルクリン (No. 1) の抗原価は 1:1,280~2,560 を示すが, タンパク窒素量 3.5 mg/dl のツベルクリン (No. 5) の抗原価はタンパク窒素量に相関しないことが分かる。

また還元糖量 11.58 mg/ml のツベルクリン (No. 1) の抗原価が 1:1,280~2,560 と低く, 還元糖量 7.81 mg/ml のツベルクリン (No. 5) の抗原価が 1:10,240 と高く, 還元糖量においても沈降反応重層法の力価とは平行関係は認められない。

またツベルクリンの抗原価は抗 BCG 血清 2 例, 抗青山 B 血清 3 例のいずれにおいても, ツベルクリンごとにはほぼ一定で抗原価の高いツベルクリンほどの血清においても高く, 抗原価の低いツベルクリンほどの血清においても低い。なお反応の場の形はいずれも階段型であり, 当然のことながらこの反応系が多源性であることを示している。

2. 沈降反応重層法におけるツベルクリン分面の抗原性

1) 実験方法

人型菌青山 B 株 (No. 10) をソートン培地に 37°C 7 週間培養し, 培養終了後培養濾液を Seibert の方法により, PPD-s, ツベルクリン分面 タンパク体 A, B, C, 多糖体 I, II等を作り抗原とした。

各分面の精製 ツベルクリンを 0.85% 生理的食塩水で 1 mg/ml 溶液とし, 抗血清は前述の抗青山 B 血清, 抗 BCG 血清を用いて, 2ⁿ 乗連続希釈法により前述と同様場の形を作った。

2) 実験成績

成績は図 3 のごとく旧ツベルクリン抗原に比較して場の形がより単位的であることが分かる。このことから前述のツベルクリン抗原の沈降反応重層法は, これらの分面の単位的反応が多数重なつてできているものと考えられる。

3. Grabar 法におけるツベルクリン分面の抗原性

1) 実験方法

ソートン培地に青山 B 株を 37°C で 8 週間培養後細菌濾過し, Seibert によるタンパク体 A, B, C および多糖体 I, II を作り抗原とした。各分面 ツベルクリンを生理的食塩水で溶かし 5% 溶液とした。

2% 寒天ペロナール塩酸緩衝液 (Sodium barbiturate M/10, 770 ml : HCIN/10, 230 ml pH 8.2 イオン強度 0.05) をガラス板 (6 cm × 16 cm) 上に寒天層が 3 mm になるように流し, 精製ツベルクリン抗原を入れる穴および抗血清を入れる溝を作り, 次に 5% 溶液の精製ツベルクリン, タンパク体 A, B, C および多糖体 I, II を図 4 に示す穴に入れ, 電気泳動装置にて電圧 3.5 Volt/cm, 電流 35~40 mA で 4 時間泳動して後

図 3 ツベルクリン分面抗原に対する沈降反応重層法

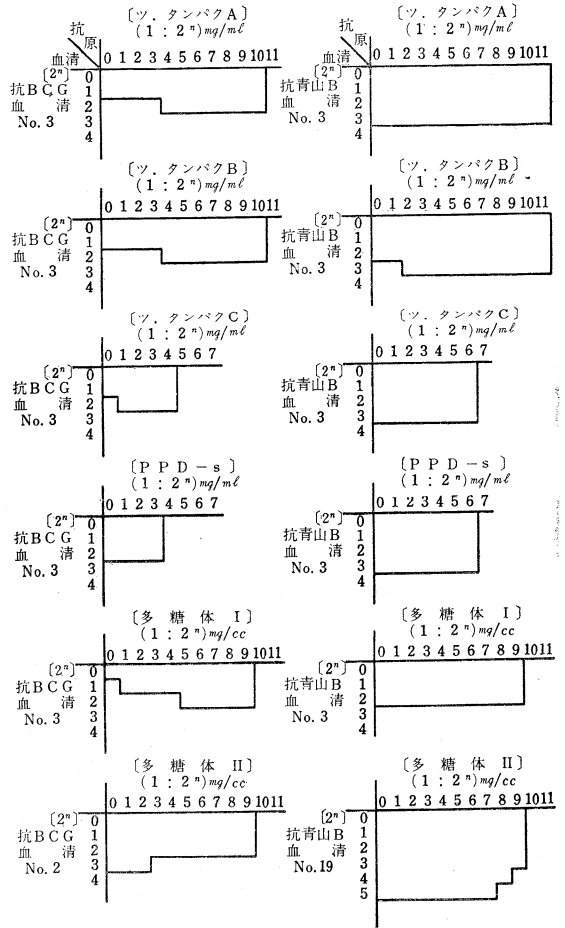
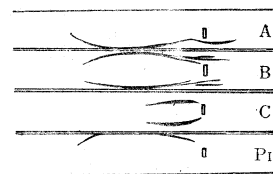


図 4 ツベルクリン分面抗原に対する Grabar 法



抗 BCG 血清

とらずし溝に抗 BCG 血清を入れ室温に放置, 翌日判定した。

2) 実験成績

ツベルクリン分面のタンパク体 A, B, C, 多糖体 I, II を抗原とし抗 BCG ウサギ血清の沈降帯をみると図 4 のごとく, B は 3 本, A は 2 本, C および多糖体 I は 1 本の沈降帯を示したが, 多糖体 II は沈降帯を示さなかつた。

4. Ouchterlony 法および Grabar 法における精製ツベルクリンの抗原性

1) 実験方法

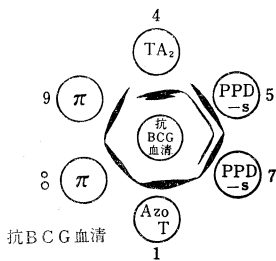
a) Ouchterlony 法

ペロナル 塩酸緩衝液 (pH 8.2) に硝酸 カドミウム 0.03 %, 寒天 1 % の割合に加え, Crowle の寒天ゲルの方法⁹⁾ によつて作つた寒天を用い直径 10 cm のシャーレに7つの穴を作つた。抗原精製ツベルクリンを作るには青山 B 株の単個菌より出発した培養を用いソートン培地で 7.5 週間培養後 100°C で 40 分間加熱殺菌し, 濾紙で菌体を除きさらに 80°C で 30 分間加熱殺菌したものを原材料とした。同一ロットの原液より表2に示すようないろいろな精製法による精製ツベルクリン (ツベルクリン製法研究協議会製) すなわち Azo ツベルクリン (No. 1), TA₂ (No. 4), PPD-s (No. 5, 7), π (No. 8, 9) 等が作られた。ツベルクリン製法研究協議会によるこれらの精製ツベルクリンの化学的性状の検査成績は表2のようであつた。

表 2 精製ツベルクリンの化学的性状

精製 ツベルクリン	No.	化学的性状		
		タンパク N %	糖 %	核酸 %
AzoT	1	—	—	—
	2	—	—	—
TA ₂	3	13.0	9.5	13.8
	4	12.8	2.7	12.5
PPD-s	5	15.0	2.0	< 2.0
	6	13.3	3.5	2.1
	7	14.2	2.0	2.3
π	8	10.5	5.2	4.9
	9	11.2	4.2	12.0
	10	15.0	3.8	7.7

図 5 精製ツベルクリン抗原に対する Ouchterlony 法



各精製ツベルクリン 2.5 mg を 0.2 ml の生理的食塩水に溶かし (1.25 %), まず中央の穴に抗 BCG 血清を入れ, 他の穴には図5のごとく各抗原精製ツベルクリンを入れた。

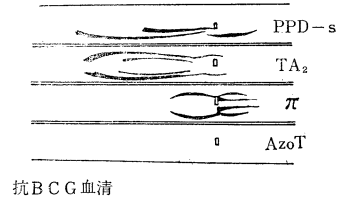
その後 30°C フラン器に放置, 1 週間毎日観察した。

b) Grabar 法

ツベルクリン製法研究協議会製精製ツベルクリン PP

D-s, TA₂, π, Azo ツベルクリンを生理的食塩水で, 5 % となるように溶かし (Azo ツベルクリンは N/10 NaOH を適量加える) 抗原液とした。図 6 に示す穴に入れ前述同様 2 % 寒天ペロナル 塩酸緩衝液 (pH 8.2) をガラス板上で, 電圧 3.5 Volt/cm で 4 時間抗原の泳動を行なつた。その後とりはずし抗 BCG 血清により沈降反応を行ない翌日判定した。

図 6 精製ツベルクリン抗原に対する Grabar 法



2) 実験成績

精製ツベルクリン PPD-s, TA₂, π, Azo ツベルクリンを抗原とし抗 BCG 血清の Ouchterlony 法による沈降帯をみると図 5のごとく PPD-s, TA₂ に対しては 2 本の沈降帯が現われ, π, Azo ツベルクリンに対しては 1 本の沈降帯が現われた。PPD-s の外側の沈降帯と π, Azo ツベルクリンの沈降帯は同一系統のものと考えられ, また PPD-s の内側の沈降帯と TA₂ の外側の沈降帯とは同一系統と考えられる。次に PPD-s, TA₂, π, Azo ツベルクリンを抗原とし抗 BCG 血清の Grabar 法による沈降帯をみると図6のごとく PPD-s, TA₂, π は 3 本の沈降帯を示し, Azo ツベルクリンは沈降帯を示さなかつた。

5. 沈降反応重層法における旧ツベルクリンと BCG ツベルクリンの抗原性

1) 実験方法

青山 B 株および BCG をソートン培地 37°C で 8 週間培養し, 前述 1 と同様 100°C 1 時間殺菌, 菌体を除き培地量の 1/10 容量に濃縮して作つた旧ツベルクリンおよび BCG ツベルクリンを抗原とし, 抗青山 B 血清および抗 BCG 血清で交差沈降反応をみた。

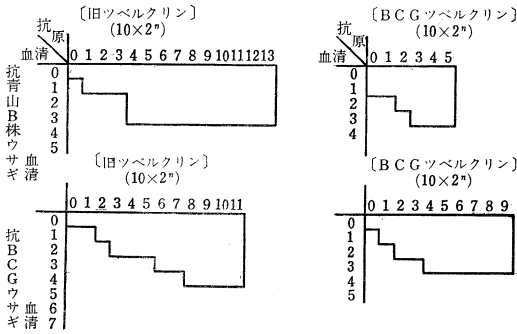
2) 実験成績

図7に示すごとく抗青山 B 血清を用いた場合旧ツベルクリンの抗原価は BCG ツベルクリンの抗原価より著しく高いが抗 BCG 血清においては両抗原価の差が僅少となる。すなわち BCG ツベルクリンの抗原価は抗 BCG 血清においては抗青山 B 血清におけるよりも高く, 一方旧ツベルクリンの抗原価は抗青山 B 血清に対するものが抗 BCG 血清に対するものよりもいく分高い。

6. 補体結合反応における青山 B 菌体リポイドと BCG 菌体リポイドの抗原性

1) 実験方法

図7 旧ツベルクリンとBCGツベルクリンの
交叉沈降反応重層法



a) 人型菌青山 B 菌体および BCG 菌体よりのリポイド抗原の抽出

青山 B 株をソートン培地に 37°C で 2 カ月間培養し 100°C 1 時間加熱殺菌した菌体を乾燥するこの菌体 10 g にアセトン 100 ml を加え、ソクスレー抽出器で 1 日 16 時間ずつ 2 日間抽出し、その後アセトンを除去しアルコール 100 ml を加えて再びソクスレー抽出器で 1 日 8 時間ずつ 10 日間抽出したものをリポイド抗原とした。

BCG の場合はソートン培地上に 37°C で 2 週間培養し菌体を乾燥して、乾燥菌体 10 g にアセトン 100 ml 加え、ソクスレー抽出器で 1 日 8 時間 3 日間抽出し、その後アセトンを除去し、アルコール 100 ml 加えて 1 日 8 時間 10 日間ソクスレー抽出器で抽出したものをリポイド抗原とした。

b) 抗原の抑制試験

抗原 1.8 ml に 1% コレステリン 0.2 ml を加え、コレステリン加抗原原液として、抗原原液を 2n 乗希釈法により希釈、溶血反応によりコレステリン加抗原原液の抑制試験の結果 1:300 を抗原原液として、使用した。

補体結合反応は沼田のワッセルマン反応術式によつた。

2) 実験成績

成績は表 3 のごとく青山 B 菌体リポイドの抗青山 B 血清に対する抗体価は BCG 菌体リポイドの抗青山 B 血清に対する抗体価より著しく高いが、抗 BCG 血清においては両抗原の示す抗体価の差が僅少となる。すなわち BCG 菌体リポイドの抗 BCG 血清に対する抗体価が抗青山 B 血清におけるよりも高く一方青山 B 菌体リポイドの抗青山 B 血清に対する抗体価は抗 BCG 血清に対するものよりもやや高い。

III 考 察

上述のように旧ツベルクリンの力価は、それが同じ青山 B 株より作られた場合であつても、製品によつてか

表 3 結核菌体リポイドの補体結合反応

抗青山 B 血清	1:1	1:1.5	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	対照
抗原	H	H	H	H	H	H	H	K	K	L
抗青山 B 血清	1:1	1:1.5	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	対照
抗原	H	H	H	K	K	K	k	k	k	L
抗 BCG 血清	1:1	1:1.5	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	対照
抗原	H	H	H	H	H	H	K	k	k	L
抗 BCG 血清	1:1	1:1.5	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	対照
抗原	H	H	H	H	K	K	k	k	k	L

L……完全溶血
k……大部分溶血
k……中等大の沈澱
K……大なる沈澱
H……完全不溶血

なりの変動があることが知られており、それとともに培地の pH、タンパク窒素量、還元糖量等にもかなりの変動があり、ことにタンパク窒素量において著しい。またこれらの因子相互の関係をみると、ツベルクリン製法研究協議会の報告にもみられるように、本研究においても、タンパク窒素量の多いものは少ないものに比べ力価が比較的高いほかは、一定の傾向が認められなかつた。そこでタンパク窒素量のもつとも多い No. 4、もつとも少ない No. 5、6 中間の No. 1 等のツベルクリンについて抗 BCG 血清および抗青山 B 血清に対する沈降反応を調べた。その成績によると、沈降反応における抗原価にも、各ツベルクリンによつてかなりの差異があることが明らかにされたが、抗原価とタンパク窒素量との間には一定の関係は認められなかつた。また還元糖量においてもタンパク窒素量と同様抗原価と還元糖量との間に一定の関係は認められなかつた。なお各ツベルクリンの抗原価の間の差異については、抗 BCG 血清の場合も抗青山 B 血清の場合も同様であつた。

各ツベルクリンによる沈降反応の場の形は、多くは複雑な階段型を示し、この反応系が多元的であることを物語っている。この点については次の PPD-s やタンパク体 A, B, C, 多糖体 I, II 等による反応の場の形がほぼ矩形に近く、抗原がより単位的なものに近づいて

いるのと対照的である。なお分画抗原の場合の単位重量対の抗原価はタンパク体 A, B, および多糖体 I, II が高く, タンパク体 C, および PPD-s が低かつた。

また青山 B の分画抗原を用いた実験では, 一般に抗青山 B 血清に対する抗原価が抗 BCG 血清に対する抗原価よりも高かつたが, 両者の差異は PPD-s および蛋白体 C において著しかつた。なお抗体価も一般に青山 B 血清のほうが高いが著しい差はない。

次に Ouchterlony 法および Grabar 法によつていろいろな精製法による各種精製ツベルクリン, およびタンパク体 A, B, C, 多糖体 I, II 等について沈降反応を試みたが, Ouchterlony 法では PPD-s および TA₂ に 2 本, π および Azo ツベルクリンに 1 本の沈降帯が認められたが, さらに Grabar 法によると PPD-s, TA₂, π 等にはそれぞれ 3 本の沈降帯が認められ, これらの抗原はなお多元性であるものとみられる。またタンパク体 A, B, C, 多糖体 I の場合, タンパク体 B には 3 本, A には 2 本の沈降帯が認められたが, これに対し, タンパク体 C と多糖体 I には 1 本の沈降帯しか認められなかつた。Seibert¹¹⁾ は double diffusion technique による, 抗 BCG 血清とタンパク体 A, B, C, PPD-s および多糖体 I を抗原として沈降反応を行ない, 大部分の抗原は何本かの沈降帯を生ずることを述べている。

なお小西¹²⁾, 板倉¹³⁾ らは Oudin の方法による結核血清の沈降反応を行ない, 小西は 2 倍旧ツベルクリンで 18 の沈降帯を認め, 希釈度が高くなるにつれて減少することを述べ, 板倉は旧ツベルクリンは最少限 10 コの部分抗原より成ると述べている。

次に BCG ツベルクリンと青山 B ツベルクリンを用いての皮内反応による BCG 陽性と自然感染陽性の鑑別についてはすでに多くの報告^{14)~22)} があるが, いずれもこの問題に実際的な解決を与えるまでにはいたっていないので, 著者はこれについて, 沈降反応と補体結合反応の面から若干の実験を行なつた。小範囲の動物実験であるから, これのみから一般的な結論を述べるのは困難であるが, 成績は沈降反応の場合も補体結合反応の場合も, 従来皮内反応について観察されていたところと大体同様であつた。すなわち両反応のいずれにおいても, また抗 BCG, 抗青山 B, いずれの血清に対しても, 旧ツベルクリンあるいは青山 B リポイドは BCG ツベルクリンまたは BCG リポイドよりも高い抗原価を示す。またこの抗原価は一般に対応する血清に対する場合のほうが高いが, このことはとくに BCG ツベルクリンによる沈降反応の場合に著明で, この場合には, 抗 BCG 血清に対する抗原価が抗青山 B 血清に対する抗体価よりも著しく高い。しかしこの程度の反応性の差異では, たとえ動物実験の範囲でも, BCG 免疫と

自然感染による免疫とを実際に鑑別するには, かなりの困難さを伴うものとみられ, これらの点についてはさらに研究を要するものと思う。

IV 結 論

1) 青山 B 株ソートンツベルクリンを抗原として, 抗青山 B 血清および抗 BCG 血清に対する沈降反応をみると, 反応の場の形は複雑な階段形を示し, この反応系の多元性が認められた。

2) ツベルクリンタンパク窒素量または還元糖量と沈降反応抗原価との間に一定の関係は認められない。

3) PPD-s, ツベルクリンタンパク A, B, C, 多糖体 I, II 等を抗原とすれば沈降反応の場の形は矩形に近く, 旧ツベルクリンよりも反応系がより単位的となつていことが認められる。

4) Ouchterlony 法により各種精製ツベルクリンについて沈降反応を行なつたところ, PPD-s と TA₂ に 2 本, π および Azo ツベルクリンに 1 本の沈降帯が認められた。

5) Grabar 法によると, PPD-s, TA₂, π, タンパク体 B では 3 本, タンパク体 A には 2 本, タンパク体 C と多糖体 I には 1 本の沈降帯が認められた。

6) 青山 B ツベルクリンおよび青山 B リポイド, BCG ツベルクリンおよび BCG リポイドを抗原として, 抗青山 B 血清, 抗 BCG 血清に対する沈降反応および補体結合反応を行なつたが, いずれの反応でもまたいずれの血清についても, 青山 B ツベルクリンあるいは青山 B リポイドが BCG ツベルクリンあるいは BCG リポイドよりも高い抗原価を示した。また抗原価は一般に対応する血清との反応において, 対応しない血清との反応におけるよりも高く, ある程度の特異性が認められた。このことはとくに BCG ツベルクリンによる沈降反応のさいに著明であつた。

稿を終るにのぞみ, 御懇篤なる御指導, 御校閲を賜わつた熊本大学教授河盛勇造博士, 結核予防会結核研究所副部長大林容二博士, 日本 BCG 研究所長沢田哲治博士に深く感謝するとともに御援助, 御協力下さつた山本総学兄, 御助言を頂いた東京大学助教授松橋直博博士, 国立予防衛生研究所結核部浅見望博士, 栃木県衛生研究所長木村貞夫博士に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Oudin, J. : Ann. Inst. Past., 75 : 109, 1948.
- 2) 松橋 : 臨床病理, 特集 2) : 203, 昭30.
- 3) 大原 : 日新医学, 44 : 138, 昭32.
- 4) Wilson, M.W. & Pringle, B.H. : J. Immunol., 73 : 232, 1954.

- 5) Wilson, M.W. & Pringle, B.H. : J. Immunol., 75 : 460, 1955.
- 6) Williams, C.A. & Grabar, P. : J. Immunol., 74 : 158, 1955.
- 7) 浅見・細井・松村 : 胸部疾患, 3 : 912, 昭34.
- 8) 緒方 : 血清学実験法, 79, 南山堂, 昭19.
- 9) ツベルクリン製法研究協議会 : 胸部疾患, 3 : 807, 昭34.
- 10) Growle, A.J. : J. Immunol., 81 : 194, 1958.
- 11) Seibert, F.B. & Eva Soto-Egueroa : Am. Rev. Tuberc., 75 : 601, 1957.
- 12) 小西 : 医学と生物学, 30 : 222, 昭29.
- 13) 板倉・今井・高橋 : 結核の研究, 5 : 11, 昭31.
- 14) 岡西 : 結核, 18 : 1269, 昭15.
- 15) 富士 : 日本臨牀結核, 3 : 845, 昭19.
- 16) 富士・山瀬・大泉 : 結核, 21 : 164, 昭18.
- 17) 小松 : 結核研究, 7 : 23, 昭26.
- 18) 高橋 : 結核予防会研究業績, 1 : 58, 昭26.
- 19) 柿下 : 東京医事新誌, 70 : 3, 昭28.
- 20) 河盛・岡田・川村 : 日本臨牀, 12 : 841, 昭29.
- 21) 河盛 : 結核研究の進歩, 特集(7) : 46, 昭29.
- 22) 重松・平山・阿部 : 結核の臨床, 2 : 217, 昭29.