

# 精製ツベルクリン実用化についての一省察

小 杉 信 之

名古屋大学医学部予防医学教室 (指導 岡田博教授)

受付 昭和 34 年 12 月 15 日

## I 緒 言

ツベルクリン (以下ツと記す) 反応は結核症の予防および診断に欠くべからざる手段であり、かつまたこの反応が今までに果たしてきた役割の偉大さについては今更言及する要はないほどであるが、近來ツアレルギーの発現様態が大分異なつてきたので、ツ反応の判定基準、使用濃度の検討あるいはさらに精製ツの使用が問題となつてきた。

精製ツは旧ツよりも反応が明確で、判定誤差も少なく、その反応強度と X 線所見も一層合致する傾向が認められ<sup>1)</sup>、勝つている点が多く実用化が要望されるゆえんである。

この精製ツに関しては欧米諸国では夙に汎用せられており<sup>2)~9)</sup>、わが国においてもすでに古くよりこの精製には多くの業績<sup>10)~15)</sup>がみられる。

しかしながらこれらの精製品といえども必ずしも満足なものとはいわれないのであつて、斯界の第一人者たる F.B. Seibert 女史はその作るところの PPD-s においてすら均一性の恒常でないことより研究を重ね、遂に化学的にも生物学的にも区別される 3 種の蛋白質を分離し<sup>16) 17)</sup>、ツ活性物質の解明に重要な知見を提供したことは周知のごとくであり、しかしてこのうちのいずれかが PPD-s に代わり使用せらるるにいたるかを鋭意追求している。

ところで従来精製ツ使用にあつて、その蛋白成分の種類についての考慮は比較的なされていながつたようであり、しかもツ反応の結核診断に果たす意義の重要性を考えると、旧ツを精製ツに代えることはきわめて慎重に取扱うべき問題であつて、なお幾多の検討の余地を残していると考えられる。

以上の見地から Seibert のいわゆる ABC 蛋白、PPD-s、戸田・武谷の  $\pi$  および菌体蛋白を自家精製し、さらに予研製 PPD-s および九大製  $\pi$  を参考とし、それらの物理化学的性状ならびに生物学的観察を行ない、比較検討してその実用化に省察を加へてみた。

## II 実 験 方 法

### 1. 精製法

次のものをそれぞれ下記の方法で分離精製した。

#### a) ツ ABC 蛋白

F.B. Seibert のエタノール分画沈澱法<sup>15)</sup>

#### b) PPD-s

F.B. Seibert & J.T. Glenn により示された硫酸アンモニウム分画沈澱法<sup>3)</sup>

#### c) $\pi$

三塩化酢酸沈澱と塩酸による等電点沈澱による精製法<sup>12)</sup>

#### d) 菌体蛋白

F.B. Seibert & A.M. Fabrizio による尿素抽出法<sup>18)</sup>

### 2. 物理化学的性状

次に記す項目についておのおの 下記の方法で検査した。

#### a) N 量

Micro-Kjeldahl 法

#### b) 糖量

Carbazol 法

#### c) 核酸量

Dische-Diphenylamin 法

#### d) 紫外線吸収曲線

Beckman-Spectrophotometer を使用する。

#### e) 濾紙電気泳動

電気泳動研究会濾紙電気泳動標準操作法<sup>19)</sup>に準拠する。

### 3. 動物によるツ力価と反応様態

#### a) 感作動物

H<sub>37</sub>Rv 株死菌・流動パラフィン感作後 8 週以降経過の海猿総数 82 匹を用いた。

#### b) 試料

各ツの蛋白体 N 量を基にし、予研製 PPD-s を標準として、各試料とも 0.1 ml 中に 5  $\gamma$ 、1  $\gamma$ 、0.2  $\gamma$  当量 N 量を含む液を作つた。観察した試料は ABC 蛋白、BCG 株よりの A+B、菌体蛋白、加熱処理して得た PPD-s、非加熱のもの、BCG 株よりの PPD-s および  $\pi$  の 9 種類である。

#### c) 観察

標準液と一試料との 3 稀釈液を 1 群 6 匹の海猿の背部に皮内注射し、注射後 12 時間、24 時間、48 時間、72 時間の 4 回にわたり硬結を検した。

また各試料の N 量当量 0.2  $\gamma$ /0.1 ml の稀釈液を注射

した感作海狸の局所の皮膚組織を3, 6, 12, 24, 48, 72, 96時間ごとの7回にわたって観察した。各時間とも使用海狸は4匹である。

4. 人体における PPD-s および  $\pi$  の反応

結核予防法による定期検診にさいし、九大製  $\pi$  および予研製 PPD-s を使用する機会を得たので、両者の示す反応様態を比較観察した。

すなわち ABC 蛋白の混合物である PPD-s と、主として C のみである  $\pi$  とを対比してみる意図からである。

a) 対象

愛知県春日井市周辺部の小学校児童 174 名で、ツ反応検査および BCG 接種歴の確実なものであり、その上膊屈側(初回施行部と思惟せらる)について検した。

b) 試料

使用ツ液は予研製 PPD-s 0.06  $\gamma$ /0.1 ml および九大製  $\pi$  0.15  $\gamma$ /0.1 ml を用い、左右交互に接種した。

c) 判定

注射後 24 時間および 48 時間に行ない、現行判定基準に従って発赤および硬結につき測定した。またその色調を柳沢らの方法<sup>20)</sup>に従い KPHD に分類した。

III 実験成績および考察

1. 精製

精製法の得失を単に個々の製品を集めて行なつた力価の比較によつて云々することは危険であり、正確な比較には同一の培養濾液を分画して各種の製品を精製し、総合的に検討するを要することはすでに強調せられている事柄である<sup>21)</sup>ので、可及的同一始点よりはじめるべく

大部分は H<sub>37</sub>Rv 株を用いて Sauton 培地に 7~10 週培養したものを混合均分して精製した。ただし一部に BCG 株を用いたものがあり、また教室に分与せられてあつた予研製 PPD-s および九大製  $\pi$  は青山 B 株より作られたものであるがこれらも比較の対象とした。

今回精製してみたツ ABC 蛋白, PPD-s,  $\pi$ , 菌体蛋白などでは、操作には各一長一短あり難容いづれも区々であつてとくに利便を感ずるものはないが、C 蛋白の分離精製はそのうちでも比較的手技も簡単で収量も比較的多く、そのうえ、なおかつ成分が比較的均一なものを得られた。

2. 物理化学的性状

a) 化学的性状

ツ活性蛋白質の精製を主目的とする各種精製法においても、その操作中に分離しにくい多糖体および核酸等が毎常混在してくるので、その化学的性状も各研究者によつてそれぞれ異なつているのであるが、今回分離検討を加えた各製品を一括表示すれば表1のようである。すなわち N 量は PPD-s,  $\pi$ , B, C 等がほぼ 10~13% で顕著な隔差はないが、菌体蛋白および A は比較的低価であつた。このうち自家製品が全般に比較的低い価であるのは、終末処理における凍結乾燥を単に減圧下の乾燥で処理したため、秤取にさいしこのような結果を生ずる因をなしたものと思われる。

多糖体の多いのは A 蛋白, 菌体蛋白, B 蛋白などであり、PPD-s は最少であるが、この量の多寡は各研究者によつても差異が大きく、また核酸の量では  $\pi$ , A および C に比較的少かつた。

b) 物理的性状

表 1 各種ツベルクリンの物理化学的性状

No.	製品名	化学的性状			物理的性状			
		N 量	糖量	核酸	紫外線吸収試験			濾紙電気泳動図型
					波長	Specific Density	最高低吸光率	
1	A-Protein	5.25%	57.6%	3.6%	265 × 10 Å	2.73	1.3	
2	B-Protein	12.53	17.3	0.5?	270	2.05	1.5	
3	C-Protein	12.75	3.7	3.5	260	2.77	1.11	
4	A+B (BCGより)	10.37						
5	PPD-s (非熱)	10.25	3.5	2.3	270	1.01	1.21	
6	PPD-s (加熱)	11.69	7.4	3.2	265	1.47	1.0	
7	PPD-s (BCG)	7.99	3.5	2.5				
8	菌体蛋白	7.97	52.5	3.5	265	2.78	1.08	
9	$\pi$	10.78	5.2	4.5				
10	$\pi$ (九大製)	12.8	4.2	6.2	270	2.27	1.19	
11	PPD-s (予研)	13.26	2.6	2.0	275	1.15	1.64	

## i. 紫外線吸収曲線

Beckman Spectrophotometer を用い、各精製の 0.5 mg/dl あるいは 0.3 mg/dl 溶液の吸光度を 2,300 Å から 3,300 Å の間について測定して紫外線吸収曲線を作製した(図1)。

図1(i) 紫外線吸収曲線

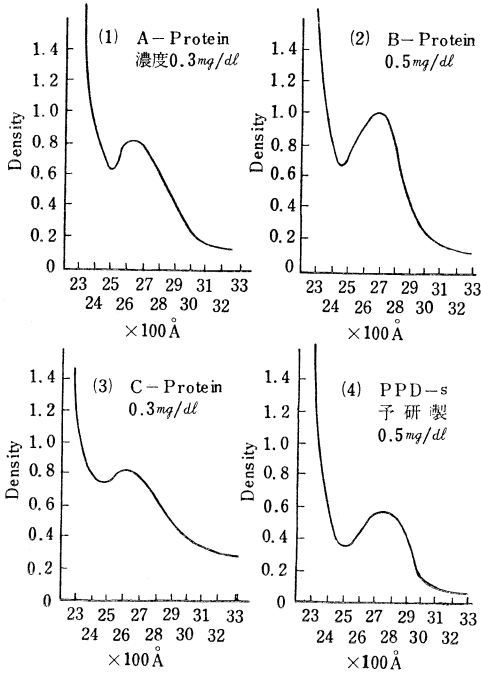
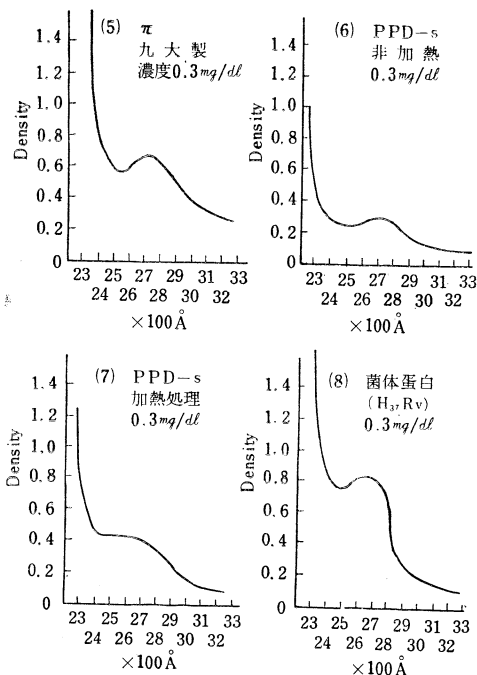


図1(ii)



一般に蛋白は 2,700~2,900 Å, 核酸は 2,600 Å に極大の吸収があるとされているが<sup>22)</sup>, 図表に示すごとく, C 蛋白の 2,600 Å, 加熱処理せる PPD-s および A 蛋白が 2,650 Å, 予研製 PPD-s はじめその他が 2,700 Å に最大の吸収があり, また核酸の含量に応じ Specific Density が高く, 吸収波長の最高が 2,600 Å に近づているのがうかがわれる。

図型はおおむね同様の波型がみられた, また波長の最高最低における Absorption Ratio はおのおのの間にあまり大きな違いを示さなかつたが, C 蛋白は A 蛋白より多少小であり, また 2,500 Å 付近では多少高い Density を示している。これらは Seibert の記載<sup>16)</sup> にほぼ相似した傾向である。

## ii. 濾紙電気泳動による検討

東洋濾紙 No. 52 (巾 2 cm, 液面上有効長 29 cm) を用い、水平法により Veronal 緩衝液 (pH 8.6  $\mu = 0.1$ ) を使用し、定電圧 (6V/cm), 電流 (ほぼ 0.15mA/cm), 泳動時間 16 時間の可及的同一条件下で泳動した。染色には Bromphenolblue を用い、光度計にて直接定量曲線を求め図 2 を得た。

大部分のものが 2~3 峰の一塊の山を画いたが、加熱処理したものはしからざるものに比べこの山が原点を遠ざかつて形成される傾向がある。また C 蛋白は原点での吸着が多いが比較的純一な高いピークを画き、このものと  $\pi$  とはほとんど相似の図型を得た。菌体蛋白は加熱処理した PPD-s ないしは C 蛋白にやや似た図型を示す。なおツ原液についてもみても原点での吸着もはなはだしく、脈波もなだらかではなく、染色、透析、濃縮などの過程を考慮してもなおある程度精製したものでなければ本法では検討しにくいようである。

以上物理化学的性状を総括的にみると、PPD-s が核酸および多糖体の含量も少なく純度は優れているが、濾紙電気泳動による蛋白成分の均一性では C 蛋白や  $\pi$  が勝っていた。ことに核酸の除去に対しクロロフォルム<sup>12) 25)</sup> や Dihydro Streptomycin 等を使った研究もあり、処理後のツ活性にも変化をきたさない模様であるので、C 蛋白へのこれらの応用によりさらに純良なものを得るならば PPD-s につきうるものであろう。

## 3. 動物による観察

さきに検査して得られた N 量を基にして予研製 PPD-s と同 N 量当りの各量を算出し、これらを磷酸塩加生理食塩水に稀釈して作ったツ液の示した硬結の長短 2 交直の径の Ratio を求め表 2 を得た。

A 蛋白は Standard と同程度あるいはやや強い Ratio を示す、ことに初期の反応が強く出ている。B 蛋白はほとんど同程度の力価であつた。C 蛋白では全般にやや弱く発現しているが、48 時間以後の Ratio はほぼ同程度を示した。BCG より製した AB 混合物はやや高

図2 濾紙電気泳動図

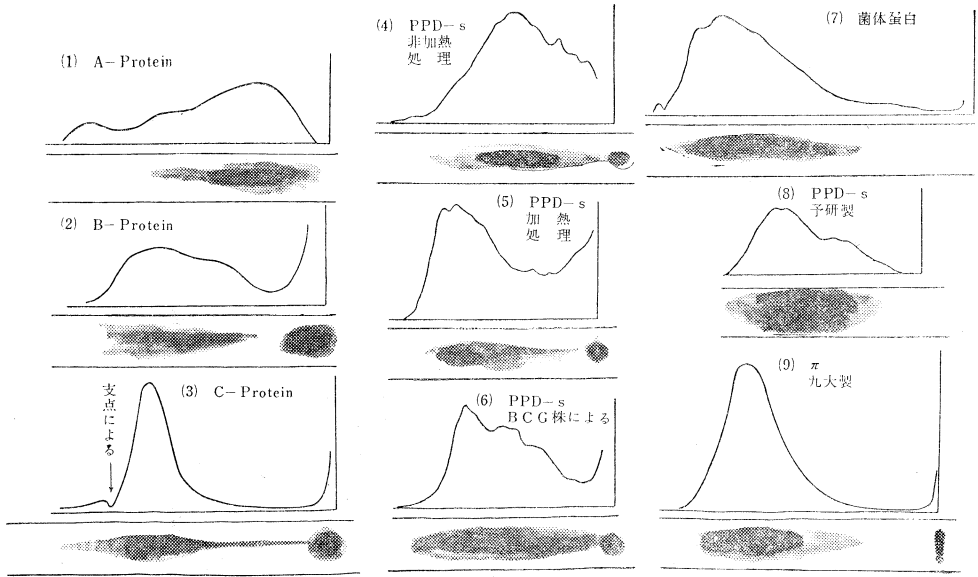
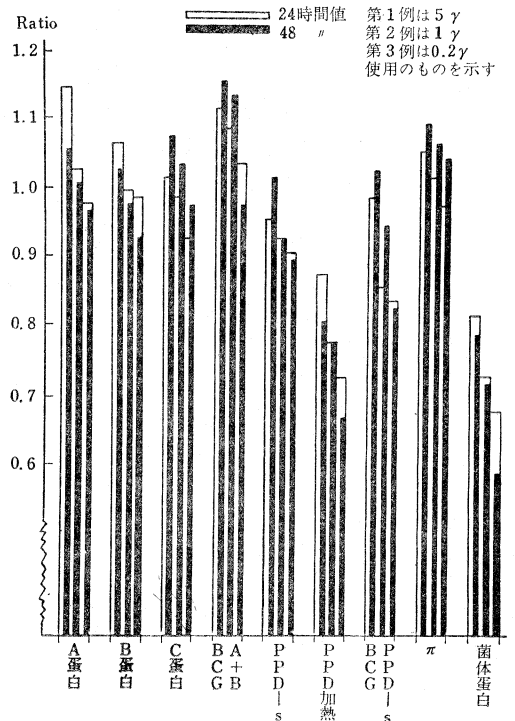


表2 動物による力価試験

No.	品目	濃度	12時間	24時間	48時間	72時間
1	A蛋白	5 γ	1.26	1.15	1.06	1.13
		1	1.09	1.03	1.01	1.03
		0.2	1.01	0.98	0.97	0.97
2	B蛋白	5 γ	1.18	1.07	1.03	0.97
		1	1.01	1.00	0.98	0.95
		0.2	0.96	0.99	0.93	0.89
3	C蛋白	5 γ	0.92	1.02	1.08	1.05
		1	0.92	0.99	1.04	1.02
		0.2	0.88	0.93	0.98	0.98
4	BCGによるA+B蛋白	5 γ	1.12	1.12	1.16	1.11
		1	1.07	1.09	1.14	0.92
		0.2	0.99	1.04	0.98	0.89
5	菌体蛋白	5 γ	1.00	0.82	0.79	0.77
		1	0.91	0.72	0.73	0.70
		0.2	0.85	0.68	0.59	0.56
6	PPD非加熱	5 γ	0.99	0.96	1.02	1.00
		1	0.98	0.93	0.93	0.98
		0.2	0.98	0.91	0.90	0.95
7	PPD加熱	5 γ	1.02	0.88	0.81	0.85
		1	1.00	0.78	0.78	0.81
		0.2	0.99	0.73	0.67	0.64
8	BCGによるPPD-s	5 γ	1.14	0.99	1.03	0.98
		1	0.95	0.86	0.95	0.95
		0.2	0.92	0.84	0.83	0.86
9	π	5 γ	0.96	1.06	1.10	1.19
		1	0.92	1.02	1.07	1.09
		0.2	0.86	0.98	1.05	1.09

予研製 PPD-s を Standard とし N 量当り同一濃度で調べた Ratio

図3 動物による力価の比較



い Ratio である。

以上あまり著しい強度差は示さなかつたが先人の研究<sup>16)~18)</sup>より予測していたおりの傾向を認めた。ただし上記のごとく ABC 3 者中 C 蛋白は比較的強力価であるのでこれが予備的除去 (これは pH 4.0 における沈澱により容易になしえられる) によりさらに強力

な活性ツを AB からあるいは A か B より得ようとする企画が出てくる<sup>17)</sup>。しかしながらツ中の ABC 3 者の量的割合と操作の煩雑化あるいは使用の量的関係を考えあわせれば、実用化という面でいずれをとるが利か十分な検討を要することである。

また自家製人型菌 PPD-s は Standard よりはやや弱力であるがほぼ同様の経過をとり、反応の発現様態は相似たものであつた。これに対し熱処理を加えたものでは初期同程度であるが経時的にこの平均値は小さくなつてゐる。また BCG より得た PPD-s では全般に同程度の反応様態を示すが全体にやや弱かつた。

$\pi$  に関しては初期の反応様態はやや弱いが、24 時間以後においては同様あるいは強く発現し、かつ持続する。C 蛋白や  $\pi$  の示すこの傾向は精製ツを旧ツと比べて反応の様相において各種のものにてみられたことであるが<sup>24)~26)</sup>、PPD-s と対比してもなおかかる傾向が認められたのは興味深い。菌体より得たる蛋白でははじめより弱かつ比較的早く減弱した。

また海狸に N 量当量 0.2  $\gamma$ /0.1 dl 宛接種した皮膚の組織を検するに、各反応とも好中球、単核球などによる細胞浸潤および充血ないし水腫などの炎性滲出性反応であり、それに上皮の壊死および変性を伴つたもので、各種ツの間に大差は認めなかつた。しかし A 蛋白では多核白血球が多少とも強く出ていて組織障害がやや強いが、C では初期より単核球反応の性格が強いなど、前者

に Arthus 反応にやや近い傾向があるのに C ではこのような感が少ないのはいささか興味があることであつた。

#### 5. 人体における PPD-s および $\pi$ の反応様態

結核予防法に基づく検診を利用したので、試料は 2,000 倍 OT とほぼ等力価<sup>24) 27)~29)</sup>とみられる PPD-s 0.06  $\gamma$ /0.1 ml および  $\pi$  0.15  $\gamma$ /0.1 ml を使用した。またツの反覆使用の影響を考慮して上膊屈側に接種した (表 3, 図 4)。

24 時間後における陽性率は発赤 10 mm を陽性限界とすると、BCG 接種歴あるものについて PPD-s 53.7%,  $\pi$  72.3%, 48 時間のそれはおのおの 64.1%, 79.8% で明らかに  $\pi$  に陽性率が高く (0.01 > P > 0.001), また反応の色調においても測定を誤りやすい KP 反応を示す割合が  $\pi$  のほうに少ない (0.05 > P > 0.02)。ただしこれを BCG 歴なきのみでみると上記の傾向はうかがわれるが、陽性率、KP 出現率ともに有意性に乏しい。また硬結または 2 重発赤を伴うような強反応ではほぼ同様な反応であつた。すなわちほとんど自然陽性者とみられる BCG 歴なし群では  $\pi$  と PPD-s 間に反応様態に差異はほとんどないといつてよいが、BCG 歴あり群では Ratio も Sign test も  $\pi$  のほうが高位であり、また鮮明な反応を示すものが多い。さらに図 5 の反応度数分布図より、発赤によれば  $\pi$  のほうが特異と非特異の区別が明確である。

表 3 人体による  $\pi$  と PPD-s の比較

品目	判 定		被検数	Ratio		Sign test 値	反 応 の 色 調				陽性率	
				発 赤	硬 結		K およ び P	H	D	2 重発赤		
$\pi$	24時間	BCG 接種歴あり	134	1.51	1.15	+0.35	17.9%	73.8%	9%	0%	72.3%	
		同 な し	40	1.15	0.92	+0.2	22.5	73.5	5	2.5	75.0	
	48時間	BCG 接種歴あり	134	1.61	1.10	+0.54	13.4	84.3	2.3	5.9	73.8	
		同 な し	40	1.35	1.00	+0.35	17.5	77.5	5	12.5	75.4	
PPD-s	24時間	BCG 接種歴あり	134	Standard				23.9	67.2	8.9	0	53.7
		同 な し	40					27.5	72.5	0	2.5	70.0
	48時間	BCG 接種歴あり	134					23.9	72.4	3.7	4.5	64.1
		同 な し	40					22.5	75.0	2.5	12.5	67.5

BCG 歴あるものの24時間判定時における陽性率の比較 0.01 > P > 0.001

BCG 歴あるものの24時間判定時における KP 反応出現率の比較 0.05 > P > 0.02

今までに PPD-s と OT を対比して、陽性率には著差はないが硬結触知率が PPD-s にはるかに高く、また KP 反応の出現率も前者に低いことを認めた諸家<sup>1) 29)~33)</sup>の例は多いが、PPD-s と  $\pi$  を対比して自然陽性者強陽性者はほぼ同様であるが上記のような傾向よりすれば、 $\pi$  は OT よりみればさらに優れた成績のものであると考えられる。

#### IV 要 約

以上を総括するに、R. Koch 以来營々と続けられてきたツ活性因子の分離に対する努力の成果が生んだ、もつとも近代的な精製ツである PPD-s でも、その蛋白成分はいわれるごとく必ずしも単一ではなく、かつその成分比も異なつており、したがつて実用化するうえに重

図4 人体による $\pi$ とPPD-sの比較

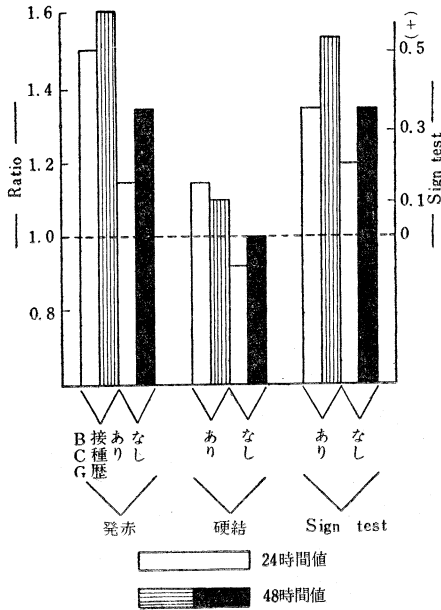


図5 人体による $\pi$ とPPD-sの比較

(a) 48時間発赤硬結度数分布図 (BCG接種歴あるものにつき)

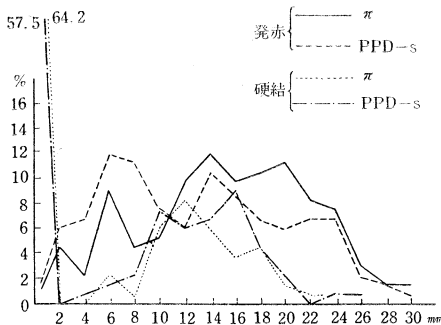
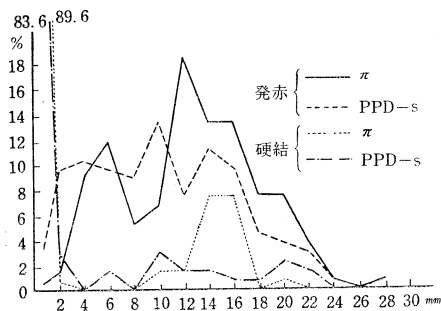


図5 (b) 24時間発赤硬結度数分布図 (BCG接種歴あるものにつき)



要な力価の一定化にも問題があるわけで、その成分の分離が目標となってくる。

今回 C 蛋白、とくにその系列の  $\pi$  の示している成分の均一性、皮膚反応の鮮明さ、非特異性の低位ならび

にその反応の持続性は興味のある観点である。このことは ABC 3 種の蛋白成分のうち、C 蛋白は N 量当りの力価は AB より比較的弱いとされるが、培養濃液中には AB に比しきわめて多量に存在し、また A 画分は一般にかなり多量の多糖体を含みこれを除去するにはかなり煩雑な手数を要するに反し、C 蛋白は等電点沈澱法で比較的簡単に精製されるなど、C 蛋白のみを取り出すような製法の研究の展開は、実用的に均一な成分、恒常な力価を得るためには利点があるものと思せられる。

### V 結 論

旧ツに代わる精製ツの使用には重要な諸問題があるが、Seibert がその PPD-s 中より分画精製した ABC 3 種の精製活性蛋白は PPD-s あるいはその他の精製ツの実用化に方途を示唆するものがあるかと考え、ツ蛋白 ABC、PPD-s、 $\pi$  ならびに菌体蛋白を自家精製し、予研製 PPD-s および九大製  $\pi$  を対照として比較検討した。

1) 純度の優れているのは PPD-s であり、蛋白成分の均一性では C 蛋白が優れていた。また精製方法は難易いずれもほぼ同様であるが、C の分離はそのうちでは比較的良結果を得た。

2) 動物を使用しての力価試験の成績よりみるに予研製 PPD-s との比較では N 量当量使用では AB 蛋白はほとんど等しく、C および  $\pi$  は初期にやや弱いが 24 時間以降はほとんど相等しく、かつこの反応が比較的長く持続した。

3) 人体において  $\pi$  の反応様相を PPD-s と対比するに、Ratio、Sign test とともに  $\pi$  に高く、また発赤の色調も鮮明な反応が多かった。ただし硬結や 2 重発赤を伴うごとき強反応では両者ほとんど同様であつた。

4) 精製ツの使用にあたり、C 蛋白のみを取り出すような製法の研究発展は、実的に均一な成分、恒常な力価を求めるには便宜があるものと思推する。

終りにのぞみ、御指導、御校閲を賜わつた恩師岡田博教授に深甚なる感謝の意を表するとともに、御協力を頂いた浅野元康博士、窪田二郎博士ならびに教員各位に厚く感謝の意を表します。

本論文の要旨は日本結核病学会東海地方学会第 16 回総会および第 15 回日本公衆衛生学会総会において発表した。

### 文 献

- 岡田博・浅野元康：日本臨牀結核，18：556, 635, 昭34.
- Seibert, F.B. & DuFour, E.H. : Am. Rev.

- Tbc., 69 : 585, 1954.
- 3) Seibert, F.B. & Glenn, J.T. : Am. Rev. Tbc., 44 : 9, 1941.
  - 4) Seibert, F.B. : Am. Rev. Tbc., 30 : 713, 1934.
  - 5) Brey, J. & Lamensans, A. : Compt. Rend. Sean. L'acad. Scien., 232 : 1889, 1951.
  - 6) Prigge, R. : Schweiz. med. Wochshr., 3 : 63, 1945.
  - 7) Green, H.H. : The Vet. Jour., 102 : 267, 1946.
  - 8) Dubose, M.M., Mason, W.R. & Cummings, M.M. : Am. Rev. Tbc., 66 : 345, 1952.
  - 9) Toennissen, E. & Schwenkenbecher, W. : Deutsch. med. Wschr., 75 : 1019, 1950.
  - 10) 貝原守一 : 福岡医学雑誌, 36 : 597, 昭18.
  - 11) 武田徳晴・河西信彦・青木良雄 : 日本細菌学雑誌, 6 : 369, 昭26.
  - 12) 武谷健二 : 医学と生物学, 20 : 200, 昭26.
  - 13) Okamoto, H. : Japan Med. Journ., 3 : 31, 1951.
  - 14) 伊藤政一 : 結核研究委員会細菌科会報告, 昭27.
  - 15) 倉金丘一 : 日本細菌学雑誌, 8 : 981, 昭28.
  - 16) Seibert, F.B. : Am. Rev. Tbc., 59 : 86, 1949.
  - 17) Seibert, F.B., Figueroa, E.S. & Dufour, E.H. : Am. Rev. Tbc., 71 : 704, 1955.
  - 18) Seibert, F.B. & Fabrizio, A.M. : Am. Rev. Tbc., 66 : 314, 1952.
  - 19) 電気泳動研究会濾紙電気泳動標準操作法小委員会 : 生物物理化学, 4 (3) : 62, 昭33.
  - 20) 柳沢謙・室橋豊穂・浅見望・前田道明 : ツベルクリン反応, 金原版, 昭30.
  - 21) 武谷健二 : 結核の臨床, 2 : 313, 昭29.
  - 22) Seibert, F.B. : Faraday Soc. Discussions, 13 : 251, 1953.
  - 23) Takeda, Y. : Jap. J. of Tbc., 2 (2) : 197, 201, 1954.
  - 24) 柳沢謙・浅見望・土屋皖司・戸田忠雄・武谷健二 : 日本医事新報, 1492 : 24, 昭27.
  - 25) 村上勝美・高橋寛・守川昇・渡努・武田徳晴・河西信彦・青木良雄 : 児科診療, 27 : 524, 昭27.
  - 26) 戸田忠雄・武谷健二・瀬川二郎・波田七郎 : 結核, 28 : 389, 昭28.
  - 27) 戸田忠雄 : 医学研究, 28 : 388, 昭33.
  - 28) 前田道明 : 結核, 32 : 699, 昭32.
  - 29) 浅野元康 : 現代医学, 9(2) : 7, 昭32.
  - 30) 前田道明 : 結核, 33 : 7, 昭33.
  - 31) 前田道明 : 結核, 33 : 430, 昭33.
  - 32) 西川量夫 : 名古屋医学, 76 : 135, 昭33.
  - 33) 光永一郎 : 胸部疾患, 3 : 585, 昭34.